



INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOMAS DE ZAMORA

MAESTRÍA EN FLORICULTURA



**Caracterización de flora nativa con aptitud para follaje de corte
en Patagonia Sur: el caso de *Polystichum plicatum***

**Tesis presentada por el Ing. Ariel MAZZONI
Para optar por el título de Magister en Floricultura**



LA DRA. GABRIELA FACCIUTO, DEL INSTITUTO DE FLORICULTURA DEL INTA, Y LA DRA. LILIANA SAN MARTINO DE LA ESTACION EXPERIMENTAL AGROPECUARIA SANTA CRUZ DEL INTA, HACEN CONSTAR QUE LA TESIS TITULADA:

Caracterización de flora nativa con aptitud para follaje de corte en Patagonia Sur: el caso de *Polystichum plicatum*

QUE PRESENTA EL ING. ARIEL MAZZONI PARA ASPIRAR AL TÍTULO DE MAGISTER EN FLORICULTURA HA SIDO REALIZADA BAJO SUS DIRECCIONES Y AUTORIZAN SU PRESENTACIÓN.

Y PARA QUE CONSTE, EXPIDEN LA PRESENTE EN LA CIUDAD DE LOMAS DE ZAMORA, PROVINCIA DE BUENOS AIRES, A LOS 26 DÍAS DEL MES DE AGOSTO DE DOS MIL QUINCE.

Dra. Liliana San Martino
FIRMA Y ACLARACIÓN

Dra. Gabriela Facciuto
FIRMA Y ACLARACIÓN

Presentaciones a eventos científicos derivados a partir de la tesis

MAZZONI A., FACCIUTO G. y SAN MARTINO L. *Caracterización preliminar de Polystichum plicatum para uso de follaje de corte en la Patagonia Sur, Argentina.* XI Jornadas Nacionales de Floricultura. Montecarlo, Misiones. Argentina. Octubre de 2009.

MAZZONI A, FACCIUTO G. y SAN MARTINO L. *Caracterización de flora nativa con aptitud para follaje de corte en Patagonia Sur: el caso de Polystichum plicatum.* Conferencia Área Floricultura en el XXXVI Congreso Argentino de Horticultura. Tucumán. Argentina. Septiembre de 2013.

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - Instituto de Floricultura. Registro fotográfico del Ciclo de *Polystichum plicatum*, en Lección 3: Ciclo de Vida. Curso on line: Helechos Nativos de Argentina. PROCADIS – Educación a Distancia, INTA. ISBN: 978-987-521-531-3

Agradecimientos

A Gabriela Facciuto y Liliana San Martino por el respeto y nivel profesional transmitido durante la dirección de esta tesis, que permitió enriquecer mi formación profesional.

A Cintia Orellana por colaborar en los viajes de colecta, ensayo de cultivo y poscosecha. A María Julia Pannunzio por colaborar en el ensayo de germinación. A Martha Ruiz de Aristizabal, productora de flores de corte, por permitirme el uso de las instalaciones en su cultivo. A Lorena Barbaro por la revisión de los análisis de poscosecha. A Marcela Cueto por la traducción y revisión del resumen.

Al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria por el financiamiento, y al Consejo Regional Patagonia Sur del INTA por priorizar la temática de Floricultura para mi formación de posgrado. A la Administración de Parques Nacionales por autorizar los permisos de colecta del material vegetal, objeto de estudio en esta tesis.

A mis compañeros y amigos por todo el apoyo, y a mi familia por el constante acompañamiento desde el primer día.

INDICE GENERAL

RESUMEN	1
ABSTRACT	3
INTRODUCCION.....	5
Panorama mundial del follaje para corte	5
Colecta y uso de helechos de la Región Patagónica.....	9
<i>Polystichum plicatum</i> , helecho nativo de Patagonia	9
OBJETIVOS	13
Objetivo general	13
Objetivos específicos.....	13
HIPÓTESIS	15
MATERIALES Y MÉTODOS	17
Material vegetal	17
Caracterización del ambiente natural.....	18
Germinación esporas.....	18
Evaluación productiva a partir de la propagación por rizomas.....	22
Almacenamiento de frondes	26
Comportamiento en florero.....	28
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
Caracterización del ambiente natural.....	31
Germinación de esporas.....	34
Ciclo biológico de <i>P. plicatum</i>	39
Evaluación productiva a partir de la propagación por rizomas.....	42
Almacenamiento de las frondes.....	50
Comportamiento en florero.....	55
CONCLUSIONES.....	61
BIBLIOGRAFIA.....	63
ANEXO	69

RESUMEN

El follaje de corte ha ido ganando importancia como complemento verde en los arreglos florales. Las frondes de algunos helechos son utilizadas por su buena longevidad poscosecha, sin embargo aún se desconocen las características de muchas especies que podrían ser de interés en un mercado que busca novedades. En la región patagónica crece *Polystichum plicatum*, un helecho nativo con el que se trabajó en esta tesis para su caracterización y uso como follaje de corte. Se identificaron poblaciones naturales al sur del Parque Nacional Los Glaciares. Se colectaron esporas, se evaluó la germinación bajo dos condiciones de luz y se describió el ciclo biológico de la especie. A partir de la división de rizomas se estudió el cultivo de dos años sin y con malla 50% de sombreo, bajo invernadero y al aire libre. Frondes cosechadas del ambiente fueron almacenadas con y sin hidratación en cámara de frío, luego extraídas periódicamente y colocadas en floreros para estudiar aspectos de la poscosecha. La cobertura de germinación a los 95 días desde la siembra superó el 90% para las dos condiciones de luz (12 y 24 $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$). La germinación se inició a los 13 días, la formación del prótalo a los 32 días y del esporofito a los 82 días. El cultivo a partir de rizomas fue viable, con producción de frondes de calidad comercial al segundo año. Las condición con malla de sombreo produjo las frondes de mayor longitud tanto bajo invernadero como al aire libre, con valores de 30,54 y 33,52 cm respectivamente. Al aire libre con malla de sombreo se obtuvieron 25 frondes por planta siendo la condición de cultivo de mayor productividad. La característica del color también fue mejor bajo condiciones de sombreo y se obtuvieron frondes verde oscuro tanto en invernadero como al aire libre, según códigos RHS 139A y 136B respectivamente. En cámara, las frondes sin hidratación y almacenadas por 24 días perdieron menos del 25% de su masa fresca; a partir del día 28 la pérdida superó el 40%. En cambio, en las frondes hidratadas, la pérdida no superó el 15% de la masa fresca inicial para el máximo período de almacenamiento (36 días). Se concluyó que las frondes se pueden mantener hidratadas en cámara hasta 16 días, y sin hidratación hasta 24 días, con una vida en florero esperada de 16 días. Un almacenamiento de 4 días en cámara dieron los máximos tiempos de vida en florero con 22 días para las frondes hidratadas y 27 días para las sin hidratar. Los resultados del estudio de propagación, cultivo y poscosecha permiten definir que *P. plicatum* tiene potencialidad para ser cultivado como follaje de corte.

Palabras clave: *Polystichum*, helecho, espora, cultivo, follaje, fronde, poscosecha, almacenamiento, vida en florero.

ABSTRACT

The cut foliage has gained importance as a green complement in floral arrangements. The fronds of some ferns are used for their good post-harvest longevity, however characteristics of many species are still unknown and could be of interest for a market looking for novelties. In Patagonia region grows *Polystichum plicatum*, a native fern with which we worked on this thesis for characterization and use as cut foliage. Natural populations were identified in the south of the National Park Los Glaciares. Spores were collected, germination was evaluated under two light conditions and the biological cycle of the species was described. After the division of rhizomes, growing of two years was studied with and without shade mesh, in greenhouse and outdoor. Fronds harvested from environment were stored with or without hydration in cold chamber, then they were removed regularly and placed in vases to study aspects of post-harvest. Coverage of germination at 95 days from seeding exceeded 90% for the two light conditions (12 and 24 pmol m² s⁻¹). Germination began at day 13, formation of prothallus at day 32 and formation of sporophyte at day 82. The cultivation from rhizomes was viable, with production of commercial quality fronds in the second year. The shading mesh condition produced the longest fronds both in greenhouse and outdoor, with values of 30.54 and 33.52 cm, respectively. In the outdoor with shading mesh, 25 fronds per plant were obtained being the growing condition of higher productivity. The color characteristic was also better under shade conditions, and dark green fronds were obtained both in greenhouse and outdoor, according to codes RHS 139A and 136B respectively. In chamber, fronds without hydration and stored for 24 days lost less than 25% of its fresh dough; from day 28, the loss exceeded 40%. However, in the hydrated fronds, the loss did not exceed 15% of the initial fresh mass for the maximum storage period (36 days). It was concluded that the fronds may be held hydrated in chamber till 16 days, and without hydration till 24 days, with an expected life of 16 days in vase. A 4-day storage in chamber gave the maximum vase life time with 22 days for the hydrated fronds and 27 days for the unhydrated. The results of the study of propagation, cultivation and post-harvest allow to define that *P. plicatum* has the potential to be cultivated as cut foliage.

Keywords: *Polystichum*, fern, spore, crop, foliage, frond, post-harvest, storage, vase life.

Panorama mundial del follaje para corte

En los últimos años, los follajes de corte han adquirido importancia comercial como productos complementarios para bouquets y arreglos florales; sin embargo, las estadísticas sobre su producción y exportación son escasas y en ellas pocas veces se discriminan los tipos específicos. En el año 2002 los follajes constituyeron un 8,5% del total de productos ornamentales de corte exportados en el mundo, con tendencia al ascenso sobre años anteriores (Gutiérrez *et al.*, 2007).

El estado de la Florida es el mayor productor de follajes de corte en los EEUU, con ventas totales en 2008 de 70,8 millones de dólares a partir de 192 productores mayoristas. El helecho de cuero (*Rumohra adiantiformis*) es el producto más importante en esta zona, representando el 49% del total de ventas de follaje de corte. Otros cultivos para este uso, incluyen varias especies de coníferas de hoja perenne (*Thuja spp.*, *Chamaecyparis spp.*), helecho espárrago (*Asparagus spp.*), pitosporum japonés (*Pittosporum tobira*), hiedra inglesa (*Hedera helix*) y aspidistra (*Aspidistra elatior*), entre otros (NASS, 2009).

El protagonismo de la flor cortada dentro del conjunto del ramo ha ido disminuyendo a favor del acompañamiento o complemento ornamental. Éste tiene como objetivo acompañar a la flor cortada para realzar sus cualidades estéticas. De esta manera ha progresado su valor ornamental y económico y en la actualidad se encuentran casos en los que puede tener mayor preponderancia el follaje que la flor que debe acompañar. Los principios más elementales para las florerías abogan por la combinación de elementos verdes con flores cuando se va a confeccionar un buen ramo. El papel de tales elementos verdes consiste en hacer destacar la belleza de las flores constituyentes del ramo, creando contraste. Como respuesta a esta tendencia, la demanda por ramas verdes o follajes cortados que acompañen dichos arreglos se ha incrementado notoriamente. El mercado exige a la vez follajes diferentes, novedosos, que se aparten de lo

tradicional, los cuales poco a poco desplazan a especies únicas en este segmento como el helecho cuero y el espárrago ornamental o 'Tree fern' (Gutiérrez *et al.*, 2007).

La Unión Europea es considerada el mayor consumidor de flores cortadas y follajes, con importaciones superiores al 60% del total de la producción mundial. Los principales importadores de follajes frescos en la Unión Europea son Holanda, Alemania, Bélgica, Reino Unido y Francia, siendo los dos primeros responsables del 85% del total (Valenzuela de Campo, 2004).

Es importante mencionar el helecho de cuero (*R. adiantiformis*) debido a su gran presencia en el mercado de verdes ornamentales para complemento. El interés y preferencia de uso de este helecho a nivel mundial como follaje en arreglos florales, se debe a la gran durabilidad que tienen sus frondes. En España su producción es limitada por la escasez de ecosistemas en los que se puede desarrollar y adaptar con cierta facilidad, importándose la mayoría del volumen necesario para cubrir una demanda sostenida. En Costa Rica se cultivan 500 ha de las cuales un 95% se exporta, favorecidos por las condiciones ambientales y el bajo costo salarial, aun teniendo en cuenta los elevados costos de transporte aéreo. Otros países como Israel, han adaptado el cultivo perfectamente, de tal manera que no sólo ofrecen una producción comercial de frondes, sino que también se han constituido como fuente exportadora de material de propagación en forma de rizomas y plantas producidas a partir del cultivo de meristemas (González *et al.*, 1998).

En Brasil, probablemente más de la mitad del mercado interno es suministrada por las hojas extraídas directamente en su ambiente natural. El inicio de la extracción en la década de 1970 representó una alternativa económica importante para las familias agrícolas brasileñas, que se expandió hasta los años 1990 (Baldauf *et al.*, 2007).

De esta manera se observa que los helechos (Pteridofitas) representan un producto importante de follaje de corte para mercados internacionales, que tienen su origen a partir de sistemas de producción pero también existen follajes que se obtienen de una colecta directa en la naturaleza.

Pteridofitas de Argentina

Según Ponce *et al.* (2002), en Argentina hay tres centros de naturales de distribución con diversidad de Pteridofitas, dos centros subtropicales en el noroeste (CSNO) y noreste (CSNE) de Argentina, y un tercero en la región templada sur (CTS) que incluye además a Chile alrededor de los 40° latitud (Fig. 1). El CSNE abarca la provincia de Misiones, el CSNO incluye Jujuy, Salta y Tucumán, y el CTS se ubica en los Andes templados y templado-fríos, comprendiendo las regiones de Los Lagos, Biobío, Araucanía y Aisén (Chile) y las provincias de Río Negro y Neuquén (Argentina).



Figura 1. Centros de diversidad pteridofítica: Centro Subtropical del NE (CSNE) de Argentina, Centro Subtropical del NO (CSNO) de Argentina y Centro Templado del S (CTS) de Chile y Argentina (Ponce *et al.*, 2002).

El número de taxa nativos de Pteridofitas de Chile y de Argentina y el número de taxa compartidos entre ambos países, se muestra en la tabla 1. En

promedio el número de especies por familia en el Cono Sur es tres veces mayor en Argentina que en Chile. Los géneros más diversificados de Chile continental son *Hymenophyllum* (18) y *Blechnum* (10), mientras en Argentina éstos son *Thelypteris* (34 especies) y *Asplenium* (32). El género *Trichomanes* es el único de los 41 géneros compartidos que no tiene ninguna especie en común. Los 40 géneros restantes comparten 89 especies comunes, de las cuales se destacan *Lycopodium*, *Hymenophyllum* y *Polystichum* (Ponce *et al.*, 2002).

Tabla1. Número de taxa nativos de Pteridófitas en las floras de Chile y Argentina continentales. Los taxa exclusivos ("excl") son los que sin ser endémicos no se encuentran en ambos países. Se excluyeron las 10 especies introducidas en la región. Fuente: (Ponce *et al.*, 2002).

Nivel taxonómico	Argentina		Chile		Taxa (%) compartidos	Total
	Total	Excl	Total	Excl		
Familias	27	7	20	0	20 (71,4)	27
Géneros	86	45	43	2	41 (47,7)	88
Especies	346	257	116	27	89 (24,3)	373

Giudice (2009), afirma que en Argentina crecen cerca de 375 especies de Pteridofitas, coincidiendo con Ponce (2002) en que las áreas de mayor concentración son el Noroeste, Noreste y Bosques Subantárticos. Además la región Patagónica es el área dentro del cono sur con más del 50% de Pteridofitas endémicas. Una expedición a la Patagonia realizada en 1973 por botánicos italianos, desde Buenos Aires a Tierra del Fuego, se llevó a cabo en la zona oriental de los Andes, a través de las llanuras de la Patagonia y en las regiones costeras hasta Tierra del Fuego donde las colecciones de Pteridofitas fueron de 25 especies (Pichi Sermolli & Bizzarri, 1978).

En Argentina los proyectos de investigación en Pteridofitas están relacionados a la biodiversidad y conservación de las poblaciones naturales que incluyen objetivos de actualización nomenclatural y distribucional de las que crecen en la Argentina, elaboración de la Lista Roja de Argentina, conservación y propagación de especies endémicas, raras o amenazadas, así como otras especies de interés sistemático, biogeográfico u ornamental (Giudice, 2009).

Existe muy poca información sobre el cultivo de helechos nativos de Argentina y gran parte de esta información la manejan los viveristas o coleccionistas con conocimientos empíricos sobre algunas técnicas para su

cultivo. Sin embargo, esta información no está sistematizada ni publicada. En Chile relevamientos realizados en viveros y casas de coleccionistas de estas plantas, permitieron concluir que se cultivan, como plantas ornamentales, al menos 20 especies de helechos nativos (Macaya, 2004).

Colecta y uso de helechos de la Región Patagónica

La extracción de helechos nativos es una actividad problemática en la región patagónica. En este sentido, la Administración de Parques Nacionales (APN) destina a dicha región parte del presupuesto para controlar, mejorar el manejo del recurso y conservarlo (Monjeau *et al.*, 2005). La cosecha de este tipo de materiales directamente del ambiente puede no ser sostenible, si no se cuenta con información sobre la productividad de la planta, su distribución y las interacciones con otras especies (Milton & Moll, 1988).

Los helechos que prosperan a la media sombra de los bosques, son explotados comercialmente desde el año 1995 en los alrededores del Parque Nacional Lago Puelo, para su venta en las florerías de las grandes ciudades. Esto ha originado una disminución dramática del mismo, y una intensa presión ilegal en los bordes del Parque, que hace redoblar los esfuerzos de los guardaparques para evitar la acción de los "helecheros". En el Parque Nacional Lanín, la recolección de helechos es también una actividad realizada por algunas familias indígenas a pedido de compradores provenientes mayormente de la ciudad de Neuquén. Sin embargo, la extracción de helechos no está aun debidamente reglamentada por la APN, si bien hace algunos años que se está monitoreando la zona principal de extracción de este producto (Monjeau *et al.*, 2005).

Polystichum plicatum, helecho nativo de Patagonia

En Argentina y Chile, una de las especies con características ornamentales es *P. plicatum* (Poepp. ex Kunze) Hicken de la familia *Dryopteridaceae*, clase *Pteridophyta*. Es un helecho que presenta rizomas rastreros a subrectos, frondes

bi-pinnadas, erectas a subcurvas de 25-50 cm de largo, con soros en el tercio superior de la lámina (Fig. 2). Esta especie en Argentina presenta un amplio rango de distribución desde la precordillera, Sierra del Nevado en Mendoza hasta Tierra del Fuego, y en Sierra de la Ventana en Buenos Aires, pudiéndose encontrar desde el nivel del mar hasta los 3200 msnm (Correa, 1998).

En el extremo sur de la Patagonia Argentina, esta especie se encuentra en el bosque andino, en cercanías a glaciares, lagunas y ríos de deshielo y lagos donde el clima es templado a frío y húmedo, y las temperaturas medias son de 0,6° C en invierno y 13,4° C en verano, para las zonas más bajas; y en las de mayor altura la temperatura media anual ronda los -3° C. En promedio, la precipitación varía, de este a oeste, entre 500 y 900 mm anuales distribuida casi de forma homogénea a lo largo del año. Hay nevadas abundantes durante los meses más fríos y vientos más intensos en la primavera-verano (APN, 2014).

En Chile, esta especie crece desde la VI Región hasta el extremo sur del país, desde el límite superior de altitud del bosque, hasta elevaciones inferiores y dentro de algunos valles lo que demuestra una amplia distribución desde 2000-500 msm en la cordillera, hasta 500-0 msm en la costa. Hay poblaciones en ambientes de secano, donde el período sin precipitaciones dura 3-5 meses, y alcanzan 400-800 mm anuales, concentrados en invierno. También se encuentra creciendo en áreas con constantes precipitaciones, donde son posibles períodos secos cortos, que no duran más de 1 mes. Crecen en condiciones de luz, expuestas a pleno sol sin ninguna protección en partes planas o laderas de exposición norte; con algo de sombra y protección parcial del sol por vegetación poco espesa, rocas, etc., que filtran aproximadamente el 20 - 40 % de la luz, y también a la sombra, sobre laderas pronunciadas de exposición sur, quebradas hondas, o bien en otros relieves con protección de una capa densa de vegetación, debajo de grandes árboles, con una filtración del 40 - 80% de luz (Belov, 2009)



Figura 2. Planta de *Polystichum plicatum*, a. planta en ambiente cordillera, b. haz de la fronda reproductiva, c. envés con soros.

En Argentina, es importante impulsar la investigación de plantas de follaje que presenten potencial para el uso como complementos en la elaboración de arreglos florales y bouquets, teniendo en cuenta la demanda del mercado creciente, e insatisfecha de los últimos años, y la necesidad de generar alternativas de cultivo viables que permitan disminuir la extracción del ambiente natural. Productos con buena poscosecha, vida en florero (> 2 semanas) y viabilidad de cultivo tienen posibilidades de desarrollo como follaje para corte. En Argentina existe material nativo que aún no ha sido evaluado y podría tener características para dicho uso. Algunos parámetros de base que deberían ser estudiados para optimizar su producción, cosecha y manejo son la propagación, su almacenamiento en frío (transporte) y la vida postcosecha de las frondes (Stamps, 2007).

En la región patagónica, el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria realiza actividades de exploración, recolección y domesticación de flora nativa con fines ornamentales y obtiene información de base que permite identificar especies potenciales y dar inicio a estudios con plantas de follaje para corte en el extremo sur del país (INTA, 2005).

Uno de los casos abordados ha sido la búsqueda de germoplasma con potencial para ser usado como follaje de corte, y las características de las frondes de *P. plicatum* con estructura firme y crecimiento erecto dan indicios que merezca ser estudiada y pueda reunir atributos que determinen dicho uso.

Objetivo general

Evaluar la potencialidad de uso de *Polystichum plicatum* como follaje de corte.

Objetivos específicos

- 1- Definir las técnicas de propagación sexual y asexual para *P. plicatum*
- 2- Describir el ciclo de vida de *P. plicatum*
- 3- Identificar tecnologías de cultivo para producción de frondes de *P. plicatum*
- 4- Evaluar el almacenamiento en frío de *P. plicatum*
- 5- Determinar la vida en florero de *P. plicatum*

Los aspectos de propagación, cultivo y poscosecha permiten definir la potencialidad de *Polystichum plicatum* como cultivo de follaje para corte.

Material vegetal

Se colectaron 108 rizomas, 240 frondes y esporas de una población natural de *P. plicatum* ubicada dentro del Parque Nacional Los Glaciares, provincia de Santa Cruz (República Argentina). La población se encuentra en la zona sur de dicho parque nacional, en el camino de acceso al Glaciar Perito Moreno ($50^{\circ}28'16''\text{S}$ - $72^{\circ}59'51''\text{O}$ 251 msnm) (Fig. 3).

Para el acceso y colecta del material vegetal se solicitó el permiso correspondiente para uso de investigación a la Administración Parques Nacionales. Las esporas fueron utilizadas para el ensayo de germinación, los rizomas para el cultivo y las frondes para evaluar la poscosecha. El criterio de colecta en el caso de rizomas fue extraer una fracción de rizoma por planta dejando mas de la mitad de la planta madre en el ambiente, y para el caso de las frondes la colecta no podía superar el 50% de frondes por planta.



Figura 3. Ubicación geográfica de la población natural de *Polystichum plicatum* en la zona sur del Parque Nacional Los Glaciares (camino de acceso al glaciar Perito Moreno/ $50^{\circ}28'16''\text{S}$ - $72^{\circ}59'51''\text{O}$ 251 msnm).

Caracterización del ambiente natural

Se instaló un registrador automático de datos (HOBO data logger) en el ambiente donde se encontraba la población natural de *P. plicatum* al sur del PN Los Glaciares (Fig. 4). Se registró la temperatura del aire, temperatura del suelo y humedad relativa.



Figura 4. Registrador automático de datos en ambiente natural de *Polystichum plicatum* (50°28'16"S - 72°59'51"O 251 msnm) para el registro de temperaturas del aire y suelo y humedad relativa. (Izquierda: registrador instalado dentro de casilla ventilada. Derecha: descarga de datos).

Considerando la profundidad de crecimiento del rizoma de las plantas de *P. plicatum*, se tomó una muestra de suelo entre los 5 y 20 cm de profundidad, compuesta por diez submuestras distribuidas de forma aleatoria en la superficie del bosque que ocupaba la población natural. La muestra de suelo se envió al laboratorio de análisis agronómicos de la EEA INTA Chubut para su caracterización física y química.

Germinación esporas

Se utilizaron frondes reproductivas recolectadas en mayo de 2009 de una población natural del PN Los Glaciares (Fig. 5). Las frondes se mantuvieron durante dos días en bolsas de papel a temperatura ambiente para favorecer el secado, apertura de los esporangios y liberación de las esporas (Nazario & Arreguín, 2007; Chambi, 2013).

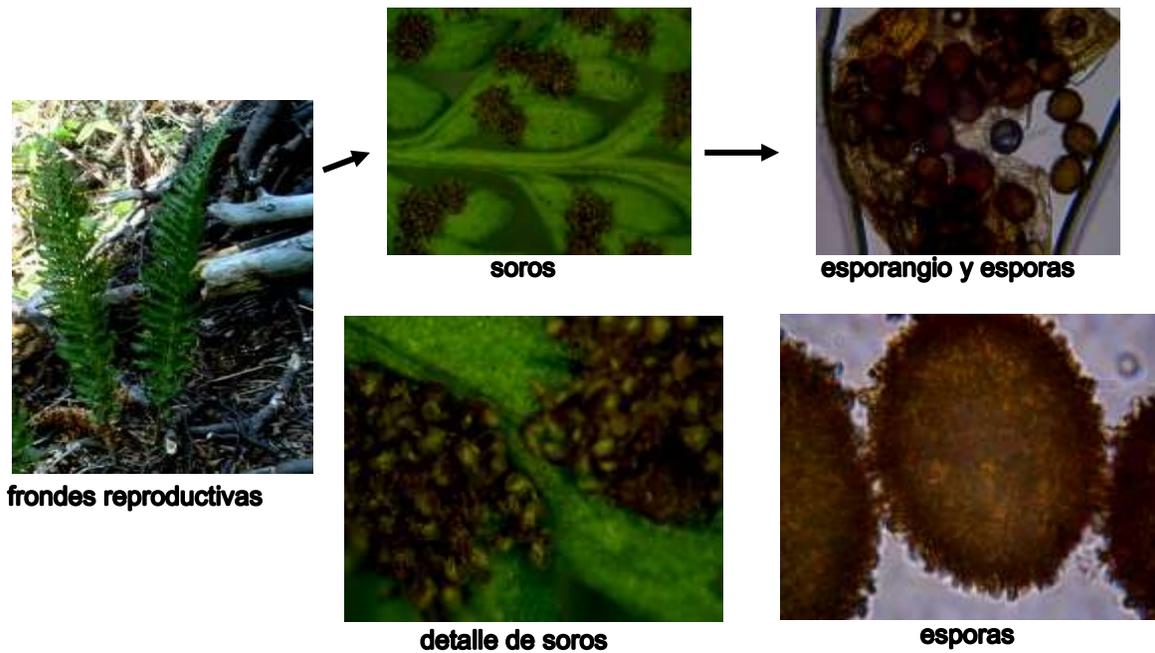


Figura 5. Frondes reproductivas de *Polystichum plicatum* en ambiente natural del bosque andino en Patagonia Sur: detalle de soros, esporangio y esporas.

El material liberado fue tamizado con una malla de 53 μm de apertura (Nazario & Arreguín, 2007) para separar las esporas del resto del material que incluían esporangios (Fig. 6).



Figura 6. Tamizado de esporas y esporangios (apertura: 53 μm) de *Polystichum plicatum* (izquierda) y esporas tamizadas (derecha).

Se utilizaron dos sustratos, uno de turba *Sphagnum* y otro con una mezcla relación 3:1 entre turba *Sphagnum* y vermiculita. Ambos sustratos fueron tamizados (apertura: 1 mm) y humedecidos con 60 ml de agua destilada, volumen previamente determinado para lograr capacidad de contenedor y colocados en cajas de plástico cilíndricas de 7 cm de alto por 12 cm de diámetro con tapa (Fig. 7).



Figura 7. Preparación de sustrato para germinación de esporas de *Polystichum plicatum*, a. turba (arriba) y vermiculita (abajo), b. tamiz utilizado (apertura: 1 mm), c. Sustrato turba y vermiculita tamizado (mezcla 3:1), d. sustrato turba tamizada e hidratada.

Se sembraron alícuotas de 0,005 g de esporas por caja. Se consideraron 3 repeticiones por tratamiento. La germinación se realizó con dos condiciones de luz: $24 \mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$ (lámpara fluorescente) y $12 \mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$. Para lograr este último valor se utilizó tela de sarán con un tramado al 50% de pasaje de luz. Se llevaron a cámara con 16-8 hs luz/oscuridad y $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ (Fig. 8).



Figura 8. Ensayo de germinación de esporas de *Polystichum plicatum* a 16-8 hs luz/oscuridad y $25^\circ\text{C} \pm 2$, con dos mezclas de sustrato y condición de luz de $24 \mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$ y $12 \mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$.

Se evaluó la germinación de las esporas y desarrollo de prótalos para cada tratamiento. Para ello, se realizaron registros fotográficos a intervalos regulares con cámara Olympus SZX9 (Huerta *et al.*, 2013). Para el análisis de las imágenes se utilizó el programa CobCal 2 versión 2.0 (Ferrari *et al.*, 2008). Se determinó la cobertura de germinación basada en el porcentaje de superficie verde ocupada por los gametofitos dependiendo de la etapa de germinación que corresponda. Los resultados fueron evaluados estadísticamente mediante un análisis de varianza, y en caso de mostrar diferencias significativas se realizó una comparación múltiple de medias de Tukey ($p < 0.05$). Se utilizó el programa estadístico InfoStat/P (Di Rienzo *et al.*, 2015). También se describió el ciclo biológico: fases gametofítica y esporofítica.

Evaluación productiva a partir de la propagación por rizomas

Se utilizaron fracciones de rizomas obtenidos a partir de división de plantas de poblaciones naturales, con un peso de 100 a 150 gramos y al menos 2 frondes y 3 yemas (Gonzalez *et al.*, 1998) (Fig. 9).



Figura 9. Fracción de plantas de *Polystichum plicatum* para cultivo con cuatro frondes (izquierda) y tres frondes (derecha) colectadas del ambiente.

Los rizomas fueron plantados en octubre de 2010 en canteros de 1,2 m de ancho bajo invernadero y al aire libre dentro establecimiento productivo “Cultivos 12 de Abril” en El Calafate. Se plantaron en tres hileras de plantas por cantero distanciados a 30 x 30 cm y a una profundidad de 3 cm a la base de la yema (González, 1998). Se utilizó una mezcla 3:2:1 de turba, arena y suelo del lugar (Fig. 10).

Luego del armado del cantero se tomó una muestra de suelo entre los 5 y 20 cm de profundidad, compuesta por diez submuestras distribuidas de forma aleatoria en las dos condiciones de cultivo. La muestra de suelo se envió al laboratorio de análisis agronómicos de la EEA INTA Chubut para su caracterización física y química.



Figura 10. Canteros de cultivo de *Polystichum plicatum* en El Calafate.
 a. preparación de cantero en invernadero con calefacción, b. cantero con sistema de goteo y protección cortaviento al aire libre, c. plantas en cantero de invernadero con riego con goteo, d. plantas en cantero al aire libre con riego con goteo.

Las plantas se cultivaron tanto en invernadero como al aire libre sin y con cobertura de malla de 50% pasaje de luz (Fig. 11).



Figura 11. Canteros de cultivo de *Polystichum plicatum* sin y con malla 50% pasaje de luz en invernadero (izquierda) y aire libre (derecha).

El invernadero tenía calefacción y cobertura con polietileno de 150 micrones que se encontraba opaco por tener varios años de uso. En el cantero al aire libre se instaló una cortina de protección con malla plástica para disminuir el efecto de posibles daños, que habitualmente son provocados a otros cultivos por la fuerte velocidad del viento predominante en la zona.

El cultivo se regó con un sistema por goteo aplicando diariamente entre 0,5-1 litro/planta, y se fertilizó con Hakaphos Verde (15N-10P₂O₅-15K₂O+2MgO) a dosis de 150 ppm cada 15 días en primavera-verano y cada 30 días en otoño-invierno.

Se consideraron 3 parcelas de 9 rizomas cada una por tratamiento, dispuestas al azar. Al segundo año de cultivo se evaluaron el incremento porcentual de masa del rizoma, número de brotes por planta, número de frondes y largo del pecíolo y lámina. Los resultados fueron evaluados estadísticamente mediante un análisis de varianza, y en caso de mostrar diferencias significativas se realizó una comparación múltiple de medias de Tukey ($p < 0.05$). Se utilizó el programa estadístico InfoStat/P (Di Rienzo *et al.*, 2015).

Se determinó color de la fronde con un RSH Colours Chart (Royal Horticultural Society, 2007). Se instaló un registrador de datos dentro del

invernadero utilizado para el ensayo, que relevó la temperatura del aire y humedad relativa. Para los datos de temperatura y humedad relativa del aire libre, se tomaron los registrados por el Servicio Meteorológico Nacional en su estación del aeropuerto de El Calafate.

Almacenamiento de frondes

En mayo de 2011, se cosecharon en el ambiente natural frondes maduras (Fig. 12), en estado 3 para aceptación de mercado según la clasificación sugerida por Verdugo (2006). Dichas frondes presentaron una estructura turgente, color verde oscuro brillante y buena cobertura de las pinas en todo el largo del fronde.

Desde el sitio de cosecha al lugar de evaluación se trasladaron en heladera con refrigerantes (duración aproximada 30 minutos). Posteriormente, se volvió a cortar la base del tallo para obtener una longitud uniforme y para eliminar las posibles obstrucciones de la superficie.



Figura 12. Colecta de frondes de *Polystichum plicatum* en población natural del sur del PN Los Glaciares.

Las frondes con una masa fresca de 8 a 12 gramos cada una, se agruparon en manojos de doce frondes. La evaluación del almacenamiento se realizó en cámara fría a $5 \pm 1^\circ \text{C}$ y 80-85% HR dentro establecimiento productivo “Cultivos 12 de Abril” en El Calafate.

Se consideró un tratamiento hidratado y otro sin hidratar en seco. Para el almacenamiento hidratado, los manojos de doce frondes se colocaron en recipientes plásticos con agua corriente, con 5-6 cm del pecíolo sumergido (Fig. 13). Para el almacenamiento en seco, cada manojito se colocó en cajones plásticos sellados con polietileno de baja densidad (Fig. 13) (Singh, 2003).

Las frondes fueron pesadas previamente a ser colocadas en las dos condiciones de cámara, y posteriormente fueron sacadas a intervalos de 4 días, y

pesadas nuevamente. Se calculó la variación porcentual de masa fresca de las frondes. Los resultados fueron evaluados estadísticamente mediante un análisis de varianza, y en caso de mostrar diferencias significativas se realizó una comparación múltiple de medias de Tukey ($p < 0.05$). Se utilizó el programa estadístico InfoStat/P (Di Rienzo *et al.*, 2015).



Figura 13. Acondicionamiento de frondes de *Polystichum plicatum* para almacenamiento en cámara ($5 \pm 1^\circ \text{C}$ y 80-85% HR), a. manojo con doce frondes, b. frondes en recipientes con agua, c. frondes para almacenamiento seco en caja plástica, d. caja con cobertura plástica almacenamiento en seco.

Comportamiento en florero

A intervalos regulares de 4 días posteriores al almacenamiento y hasta los 36 días, los manojos de doce frondes de cada tratamiento fueron pesados, se dividieron en 4 grupos de 3 frondes cada uno y se colocaron en floreros con agua corriente (0,06 mS de conductividad eléctrica) con dos valores de pH que correspondieron al propio de la red (pH 7,5) y con agregado de ácido cítrico hasta lograr pH 3,5 (Reid, 2004).

Previamente a colocarlos en florero se realizó un corte en la base del tallo de al menos 2-3 cm para evitar la generación de embolia (Reid, 2004). Se completó la columna de agua en cada florero hasta los 8 a 10 cm y se colocaron en un ambiente a temperatura de $20 \pm 2^\circ \text{C}$ y humedad relativa 40-50% (Fujino & Reid, 1983; Verdugo *et al.*, 2006; Perera *et al.*, 2009; Weerahewa & Somaratne, 2011) (Fig. 14).



Figura 14: Ensayo de vida en florero de *Polystichum plicatum*.

Se registró el peso fresco de las frondes al inicio y final de su vida en florero. Se registró el inicio de enrulamiento como el primer indicio visual de curvatura de zona apical de la fronde. También se evaluó el estadio de enrulamiento, cuando la curvatura comenzaba a manifestarse además en otra zona de la fronde. Para ambos estadios de inicio y enrulamiento se realizó el registro cuando al menos el 50% de las frondes de cada florero reunían esa condición, para cada uno de los tratamientos. La vida en florero fue considerada

como los días que transcurrieron desde la colocación de la fronde en el florero hasta que la curvatura de la lámina se encontraba en estadio de enrulamiento.

Se colocaron seis floreros que sólo contenían agua y se registró el agregado de agua, para compensar la pérdida causada por evaporación. En cada florero con las frondes, también se registró el agregado de agua. El consumo de agua de las frondes se determinó por la diferencia entre el agregado de agua en los floreros con frondes y los floreros que sólo tenían agua (Stamps, 1988; Rebolledo *et al.*, 2007).

Los resultados fueron evaluados estadísticamente mediante un análisis de varianza, y en caso de mostrar diferencias significativas se realizó una comparación múltiple de medias de Tukey ($p < 0.05$). Se utilizó el programa estadístico InfoStat/ P (Di Rienzo *et al.*, 2015).

Caracterización del ambiente natural

Las poblaciones de *P. plicatum* se encontraron creciendo principalmente bajo el dosel del bosque andino patagónico asociado a la especie forestal *Nothofagus pumilio* “Lenga” (Figura 15). Otros ambientes explorados como ser la estepa y bosque con dominancia de la especie forestal *Nothofagus antartica* “Ñire” no mostraron poblaciones de *P. plicatum*, solo comenzaron a observarse algunos ejemplares de *P. plicatum* durante la transición entre bosque de ñire y lenga.



Figura 15. *Polystichum plicatum* en el bosque de *Nothofagus pumilio*. (Izquierda: invierno. Derecha: verano)

Las condiciones de temperatura del aire y del suelo, y humedad relativa del ambiente de la población natural del PN Los Glaciares se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Temperatura media del aire (°C), humedad relativa (%) y temperatura del suelo (°C) en ambiente de bosque, sitio con población natural de *Polystichum plicatum* de la zona sur del PN Los Glaciares. (50°28'16"S - 72°59'51"O 251msnm).

Mes / Año	Temperatura del aire (°C)	Humedad relativa (%)	Temperatura del suelo (°C)*
Julio /2010	1,77	71,94	2,23
Agosto /2010	1,36	63,92	1,44
Septiembre / 2010	5,25	53,70	3,82
Octubre / 2010	6,94	54,86	5,63
Noviembre / 2010	8,65	49,01	7,35
Diciembre / 2010	8,90	52,67	11,83
Enero / 2011	10,99	54,09	17,46
Febrero / 2011	11,52	56,74	9,86
Marzo / 2011	7,91	63,99	7,81
Abril / 2011	6,64	63,95	6,30
Mayo / 2011	5,19	64,22	5,94

*temperatura del suelo a 15 cm de profundidad

Según el informe del laboratorio de análisis agronómico de la EEA INTA Chubut, el suelo del ambiente natural de *P. plicatum* (50°28'16"S - 72°59'51"O 251msnm) fue levemente ácido con pH 6,68 (1:1,25), sin problemas de salinidad ni sodicidad con 0,40 mmhos/cm y 1,30 P.S.I., respectivamente. La permeabilidad en el extracto de saturación fue muy rápida, con textura al tacto del tipo turba. El contenido de materia orgánica fue medio con un valor de 7,08 %, nitrógeno total bajo con 0,228 %, fósforo disponible muy alto de 76,1 ppm y potasio intercambiable muy bajo de 0,25 meq/100 g.

Los registros de temperatura, humedad y características del suelo son inexistentes para este sitio del Parque Nacional Los Glaciares por lo que conocer estas características del ambiente, dan un marco de referencia de las condiciones aptas para el cultivo de *P. plicatum*, siendo necesario para fines productivos estudiar rangos óptimos que permitan los mejores rendimientos y calidad del producto a comercializar.

Esto describe las condiciones previas que tuvo el material que colectado para los ensayos de esta tesis, y es información que además podría ser de utilidad para explicar resultados de otros estudios que en un futuro utilicen *P. plicatum* de

ambientes diferentes. Por ejemplo, frondes de *R. adiantiformis* de producción durante períodos cálidos tienen una vida en florero mucho más corta que las obtenidas durante los meses más fríos (Poole *et al.*, 1984).

Germinación de esporas

La germinación de las esporas generó una cubierta verde que corresponde a distintos estadios de desarrollo del prótalo. En esta tesis se evaluó la superficie que ocupa dicha cubierta como valor de cobertura de germinación (CG %). Dicha cobertura no presentó diferencias significativas entre los sustratos evaluados, turba y turba+vermiculita (3:1) (Tabla 3, Fig. 16).

Tabla 3. Cobertura de germinación de esporas (%) de *Polystichum plicatum* en dos sustratos y dos condiciones de luz.

Sustratos	Intensidad de luz	19 días	26 días	33 días	68 días	95 días
Turba	12 $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$	19,42 a	41,38 a	62,05 a	83,64 a	90,32 a
Turba	24 $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$	28,14 b	49,19 a	65,34 a	87,61 a	92,71 a
turba+vermiculita	12 $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$	19,76 a	41,36 a	63,49 a	84,63 a	91,27 a
turba+vermiculita	24 $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$	28,91 b	47,21 a	65,09 a	86,38 a	91,47 a

*Letras iguales en una misma columna indican la ausencia de diferencias significativas ($p > 0,05$) Test de Tukey.

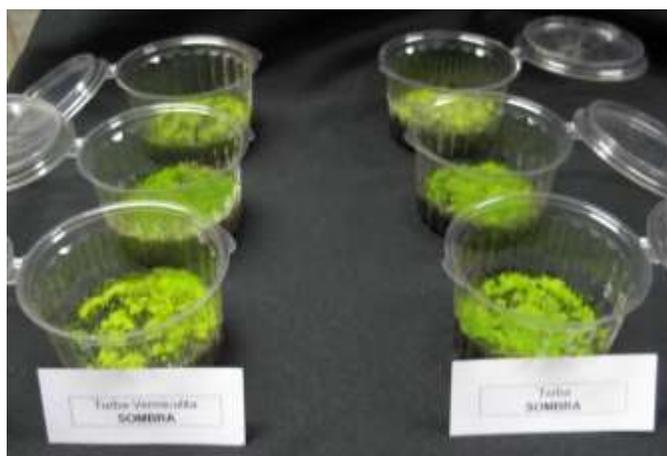


Figura 16. Germinación de esporas de *Polystichum plicatum* a los 68 días desde la siembra, con sustrato de turba (derecha) y turba+vermiculita 3:1 (izquierda) y 12 $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$.

A los 19 días desde la siembra, se observó la germinación de las esporas y desarrollo de filamentos tanto sobre sustrato de turba como sobre las partículas de vermiculita, y la cobertura de germinación (CG %) para 12 $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$ fue de 19,42 % sobre turba y 19,76 % sobre turba+vermiculita, mientras que para 24

$\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$ fue de 28,14 % sobre turba y 28,91 % sobre turba+vermiculita (Tabla 3).

La cobertura de geminación a los 19 días presentó diferencias significativas entre las dos condiciones de luz ($p=0,0012$) (Fig. 20), y a partir de los 26 días no se registraron diferencias (Tabla 3).

La diferencia observada a los 19 días en la cobertura de germinación para las dos condiciones de luz evaluadas, evidencian dos patrones ya observados en estudios de *P. orbiculatum*, que podrían responder a una diferencia en la variabilidad particular que presente la especie respecto a la germinación, lo que podría obedecer a una plasticidad fenotípica o a una variabilidad genética (Gómez, 2013).

Dentro del área geográfica bajo estudio las poblaciones de *P. plicatum* crecen mayormente en condición de sombra bajo el dosel del bosque, pero algunas plantas con frondes más pequeñas también lo hacen a pleno sol. Esta variabilidad fenotípica, que ya fue descrita en *R. adiantiformis* por Torres Boeger *et al.* (2007), permite que las especies respondan a la heterogeneidad de entornos, como una estrategia para colonizar y desarrollarse en las condiciones más exigentes (Sultan, 2000; 2003).

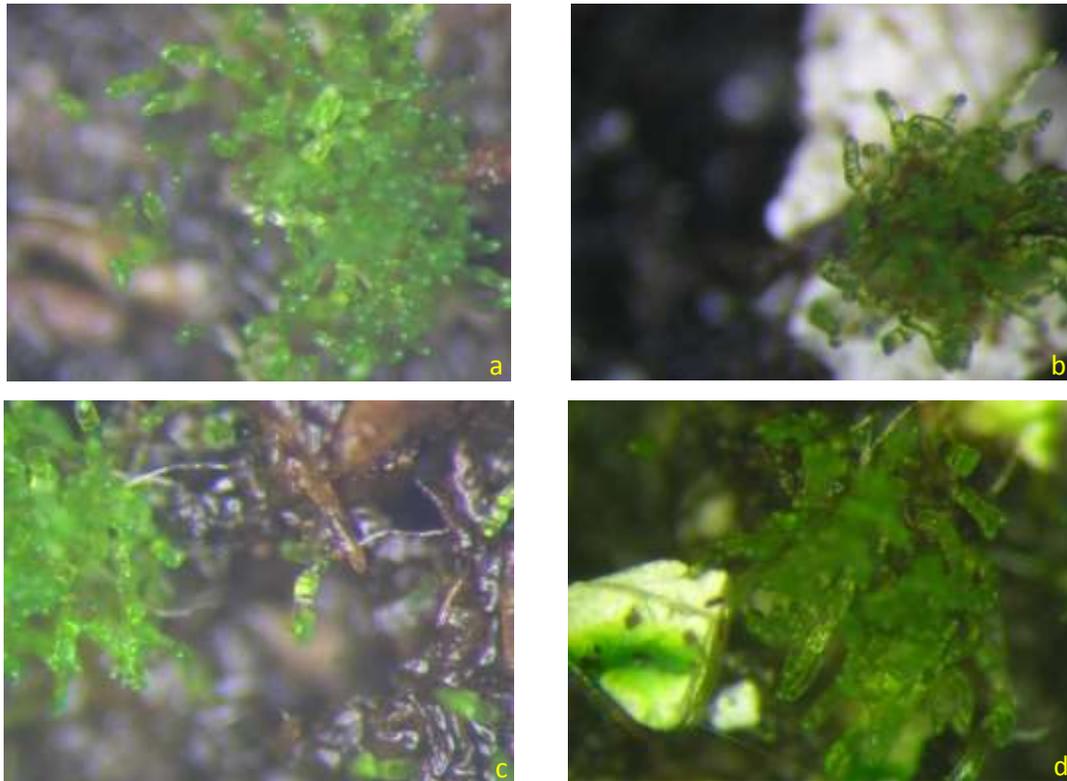


Figura 17. Germinación de esporas de *Polystichum plicatum* a los 19 días de la siembra con dos sustratos y en distintas condiciones de luz. a. Turba y $12 \mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$, b. Turba + Vermiculita (3:1) y $12 \mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$, c. Turba y $24 \mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$, d. Turba + Vermiculita (3:1) y $24 \mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$

A los 33 días los gametofitos jóvenes mostraron mayor desarrollo y se observaron los primeros prótalos desarrollados (Fig. 18).

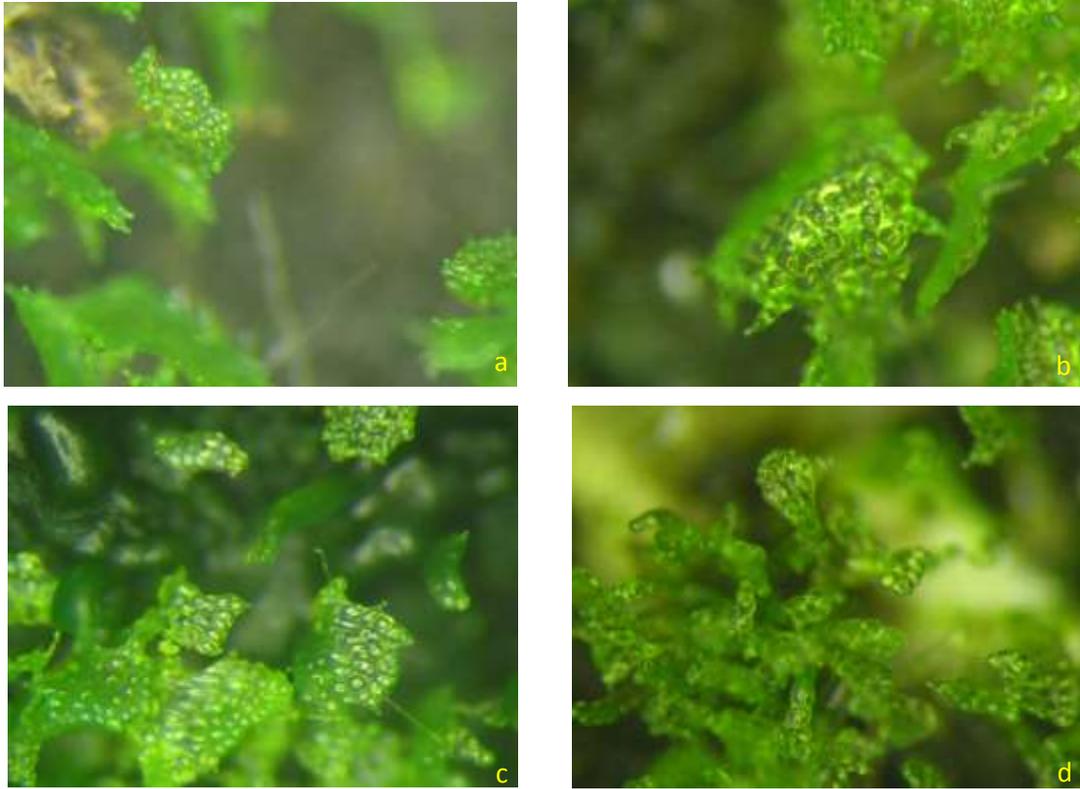


Figura 18. Germinación de esporas de *Polystichum plicatum* a los 33 días desde la siembra con dos sustratos y en distintas condiciones de luz. a. Turba y $12 \mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$, b. Turba + Vermiculita (3:1) y $12 \mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$, c. Turba y $24 \mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$, d. Turba + Vermiculita (3:1) y $24 \mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$.

A los 68 días los prótalos se encontraban definidos (Fig. 19). A los 95 días los valores de cobertura de germinación superaron el 90% en todos los tratamientos (Fig. 20).

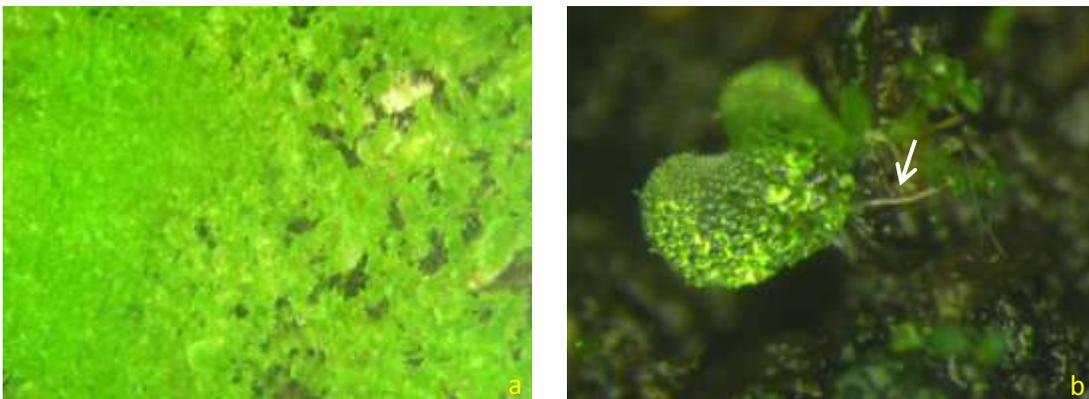


Figura 19. Germinación de esporas de *Polystichum plicatum* a los 68 días de la siembra. a. cobertura de la superficie del sustrato con prótalos desarrollados b. detalle de prótalo, nótese los rizoides.

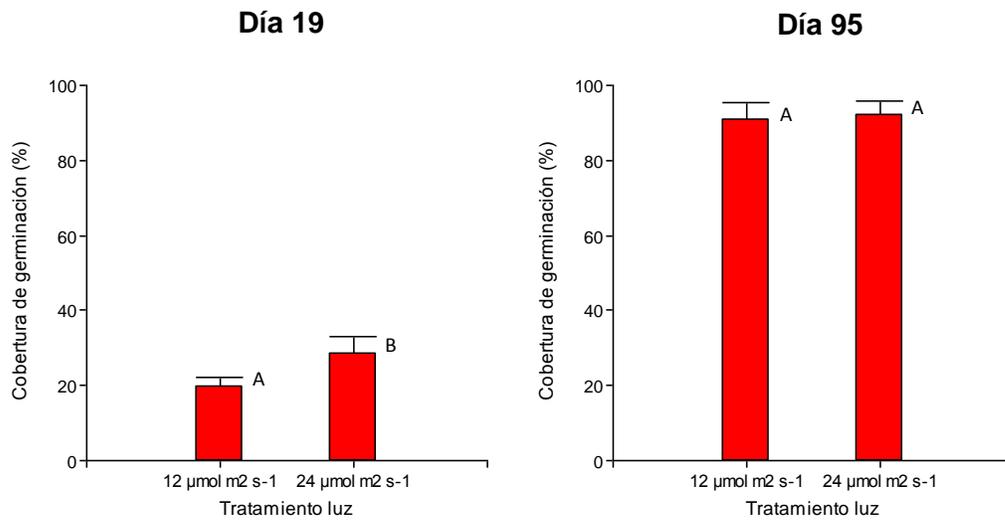


Figura 20. Cobertura de germinación de esporas (%) de *Polystichum plicatum* a los 19 y 95 días desde la siembra en dos condiciones de luz (12 y 24 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Letras iguales en los tratamientos de luz indican la ausencia de diferencias significativas ($p > 0,05$) Test de Tukey.

Ciclo biológico de *P. plicatum*

A partir del día 5 se inició la fase n con la germinación de las esporas que se evidenció con la emergencia de los rizoides (Fig. 21). Dicho tiempo a germinación fue similar al hallado por Migliagro & Gabriel y Galán (2012) para el caso de *P. polyblepharum* y Chambi *et al.* (2013) en *P. montevidense*.

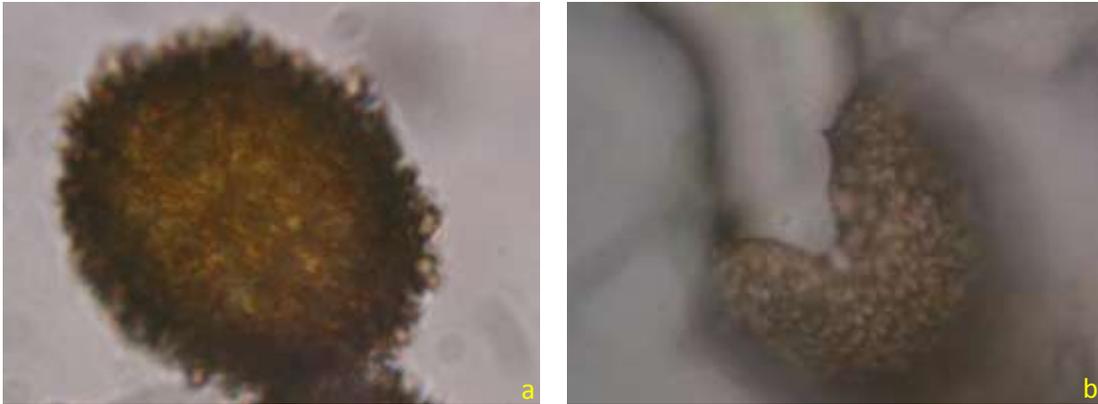


Figura 21. Espora y etapa de germinación de espора de *Polystichum plicatum*. a. espора b. emergencia de rizoide.

A los 13 días desde la siembra se observó un gametofito filamentososo con células distribuidas en hilera (Fig. 22). A los 22 días se observaron células con división longitudinal, dando lugar a la formación inicial de la lámina del prótalo que presentaba forma espatulada con pelos en los bordes, correspondiente a la etapa de gametofito joven (Fig. 22). Al día 32 se encontraron los primeros prótalos de forma acorazonada con tricomas, frecuentes en Dryopteridaceae (Nayar & Kaur, 1971).

La expresión sexual de los gametofitos en *Polystichum* es variada, se han encontrado gametofitos masculinos, femeninos y/o bisexuales (Pangua *et al.* 2003; Nazario-Galindo & Arreguín, 2007; Gabriel y Galán & Prada, 2010; Chambi, 2013). En *P. plicatum* durante este ensayo sólo se lograron identificar gametofitos femeninos, con arquegonios de estructura típica a los helechos leptosporangiados, como lo descrito para otras especies de *Polystichum* (Chambi, 2013).

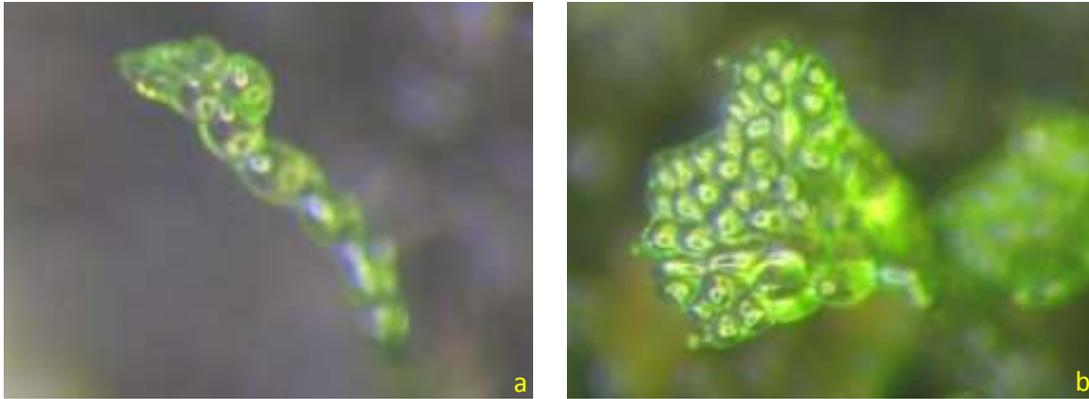


Figura 22. Gametofitos jóvenes de *Polystichum plicatum*. a. fase filamentososa, b. fase laminar.

La formación de los primeros esporofitos jóvenes se observaron a partir del día 82, dando inicio la fase $2n$ del ciclo de vida del *P. plicatum*.

Los registros y observaciones realizados durante el ensayo de germinación, permitieron determinar las etapas del ciclo biológico de *P. plicatum* (Fig. 23).

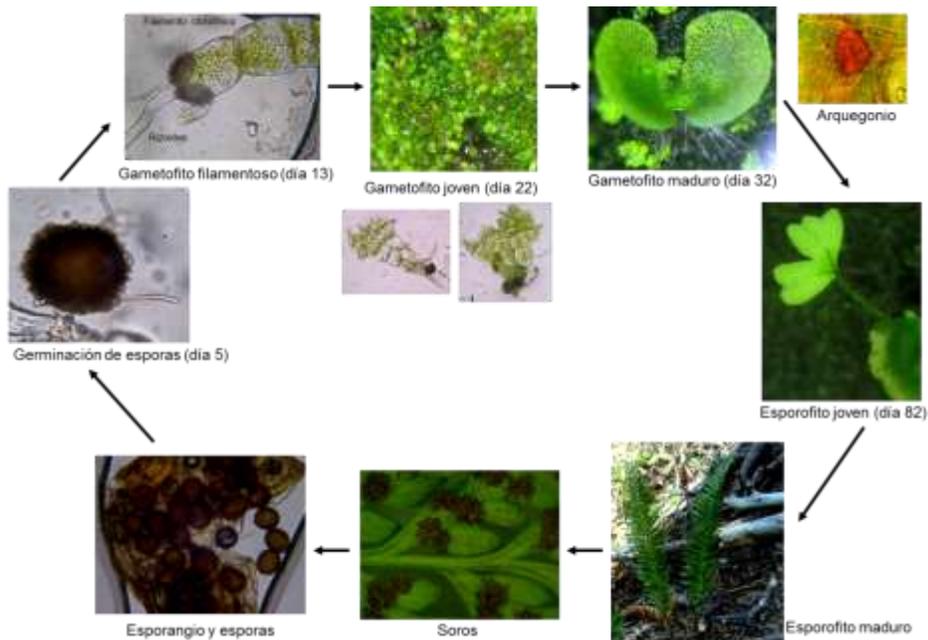


Figura 23. Ciclo biológico del *Polystichum plicatum*

La posibilidad de conocer el ciclo de vida de *P. plicatum*, no sólo permitió determinar la potencialidad de producción de plantas de forma sexual, sino

también describir momentos aptos para desarrollar híbridos entre distintos genotipos selectos (Hoshizaki & Moran, 2001).

Para la producción comercial de frondes de helechos se recomienda establecer un cultivo a partir rizomas obtenidos de propagación asexual (Conover & Loadholtz, 1972; Gonzalez *et al*, 1998), sin embargo es importante el ajuste de metodologías para la producción sexual previendo la necesidad de aumentar la variabilidad y/o asegurar la sanidad del material. Es importante mencionar que los cultivos de helechos se inician generalmente a partir de rizomas por lo que no se dispone de variabilidad genética y puede traer problemas sanitarios.

Evaluación productiva a partir de la propagación por rizomas

Según el informe del laboratorio de análisis agronómico de la EEA INTA Chubut, el suelo de los canteros de cultivo de *P. plicatum* en el predio del productor de El Calafate fue levemente ácido con pH 5,78 (1:1,25), sin problemas de salinidad ni sodicidad con 0,39 mmhos/cm y 0,40 P.S.I. respectivamente. La permeabilidad en el extracto de saturación fue muy rápida, con textura al tacto del tipo arenoso. El contenido de materia orgánica fue muy bajo con un valor de 2,15 %, nitrógeno total muy bajo con 0,098 %, fósforo disponible alto de 24,8 ppm y potasio intercambiable con un valor bajo extremo de 0,14 meq/100 g.

Los rizomas de *P. plicatum* sobrevivieron en un 100%. El primer año se observaron de 1 a 3 frondes expandidas por planta y 3 a 9 brotes tanto en invernadero como al aire libre (datos no presentados) (Fig. 24). Para el caso de *Rumohra* también fue estudiado que la producción de las frondes y su calidad no son comerciales durante el primer año, mejorando esas características a partir del segundo y tercer año de cultivo (Lijalad, 1990; Gonzalez, 1998).

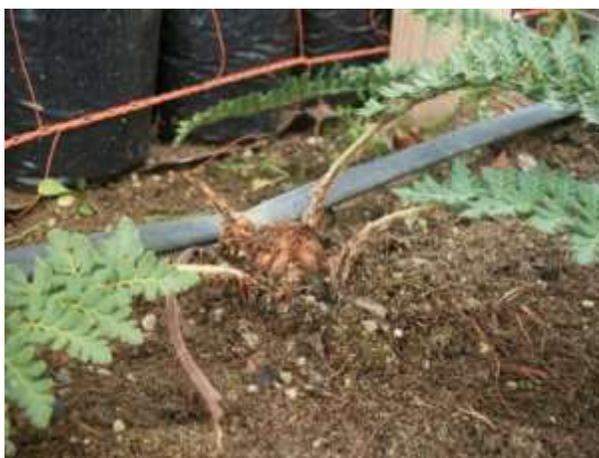


Figura 24. Detalle de brotes y primeras frondes en una planta de *Polystichum plicatum* cultivada un año bajo invernadero en El Calafate.

Las condiciones de temperatura del aire y la humedad relativa dentro del invernadero con calefacción y al aire libre donde se cultivaron durante dos años las plantas de este ensayo, se presentan en la tabla 4.

Tabla 4. Temperatura media del aire (°C) y humedad relativa (%) en el cultivo de *Polystichum plicatum* bajo invernadero y aire libre en El Calafate.

Mes / Año	Invernadero		Aire Libre*	
	Temperatura del aire (°C)	Humedad relativa (%)	Temperatura del aire (°C)	Humedad relativa (%)
Octubre / 2010	14,56	23,97	10,00	55,52
Noviembre / 2010	16,48	23,94	12,36	43,56
Diciembre / 2010	16,85	24,06	13,17	41,18
Enero / 2011	16,73	17,73	15,42	41,08
Febrero / 2011	18,02	24,35	15,71	44,88
Marzo / 2011	13,65	24,14	12,14	46,71
Abril / 2011	12,14	24,20	9,80	52,23
Mayo / 2011	10,17	24,36	6,22	66,28
Junio /201	8,06	26,20	1,95	76,92
Julio /2011	7,59	26,92	1,66	78,45
Agosto /2011	9,11	25,64	2,23	74,39
Septiembre / 2011	15,00	24,05	6,51	59,28
Octubre / 2011	15,92	23,90	10,34	50,45
Noviembre / 2011	16,07	23,89	12,55	42,05
Diciembre / 2011	18,71	23,92	16,47	36,05
Enero / 2012	16,13	23,93	17,08	41,45
Febrero / 2012	15,46	23,92	15,71	44,88
Marzo / 2012	15,62	23,79	14,09	50,24
Abril / 2012	12,49	24,05	7,73	57,97
Mayo / 2012	9,51	24,48	3,69	75,20
Junio /2012	8,56	25,01	0,91	75,12

* Servicio Meteorológico Nacional (estación aeropuerto de El Calafate)

En la tabla 5, se presentan parámetros productivos en plantas de *P. plicatum* registrados en otoño del segundo año de cultivo bajo condiciones de invernadero sin malla (IsM), invernadero con malla de 50% de sombreo (IcM), aire libre sin malla (ALsM), y aire libre con malla de 50% de sombreo (AlcM).

Tabla 5. Parámetros productivos de *Polystichum plicatum* al segundo año de cultivo.

Condición de cultivo	Condición de luz	Incremento de masa fresca de rizomas (%)	Nº de brotes/planta	Nº de frondes/planta
INVERNADERO	mallá 50%	96,33 b	14,32 a	10,57 a
	sin mallá	226,36 c	21,33 b	13,63 a
AIRE LIBRE	mallá 50%	184,36 c	26,23 b	25,12 b
	sin mallá	28,33 a	23,45 b	13,17 a

*Los rizomas plantados pesaron entre 100 a 150 gramos. *Letras iguales en columna indican la ausencia de diferencias significativas (p>0,05) Test de Tukey.



Figura 25. Rizoma y frondes de una planta de *Polystichum plicatum* al segundo año de cultivo bajo sombra en invernadero en El Calafate.

Al segundo año de cultivo (Fig. 25), los rizomas tuvieron un incremento de masa fresca de 226,36 % en IsM y de 184,36 % en AlcM. Mientras que para IcM el 96,33% y en AlsM 28,33% fueron los incrementos en relación a la masa fresca inicial del rizoma (Fig. 26).

La similitud de los valores de incremento de masa de rizomas entre IsM y ALcM podrían explicarse por la luminosidad reducida bajo IsM ya que la cobertura de polietileno de invernadero se opaca por el uso de varios años, tema que debería confirmarse en futuros experimentos.

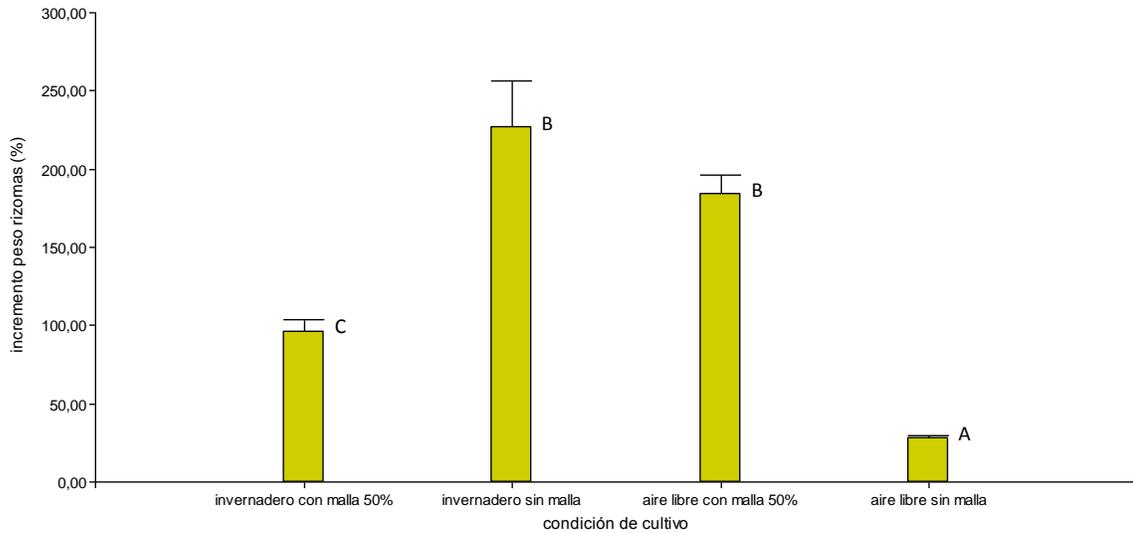


Figura 26. Incremento de masa fresca de rizomas (%) de *Polystichum plicatum* al segundo año de cultivo. Letras iguales en las condiciones de cultivo indican la ausencia de diferencias significativas ($p > 0,05$) Test de Tukey.

En la Fig. 27 se muestran las plantas de *P. plicatum* en invierno al aire libre y bajo invernadero al segundo año de cultivo en El Calafate.



Figura 27. Cultivo de *Polystichum plicatum* en El Calafate. a. invierno del primer año al aire libre, b. verano del segundo año en invernadero.

El mayor número de brotes se registró en ALcM, ALsM y IsM con 26, 23 y 21 respectivamente con diferencias significativas ($p < 0,001$) respecto a IcM, y para

el caso de las frondes el mayor número fue 25, obtenidas en ALcM ($p=0,004$) (Fig. 28). De forma similar, en *Rumohra* se determinó que la máxima producción de follaje se logró bajo condiciones de sombra (Berrocal Domínguez, 1996).

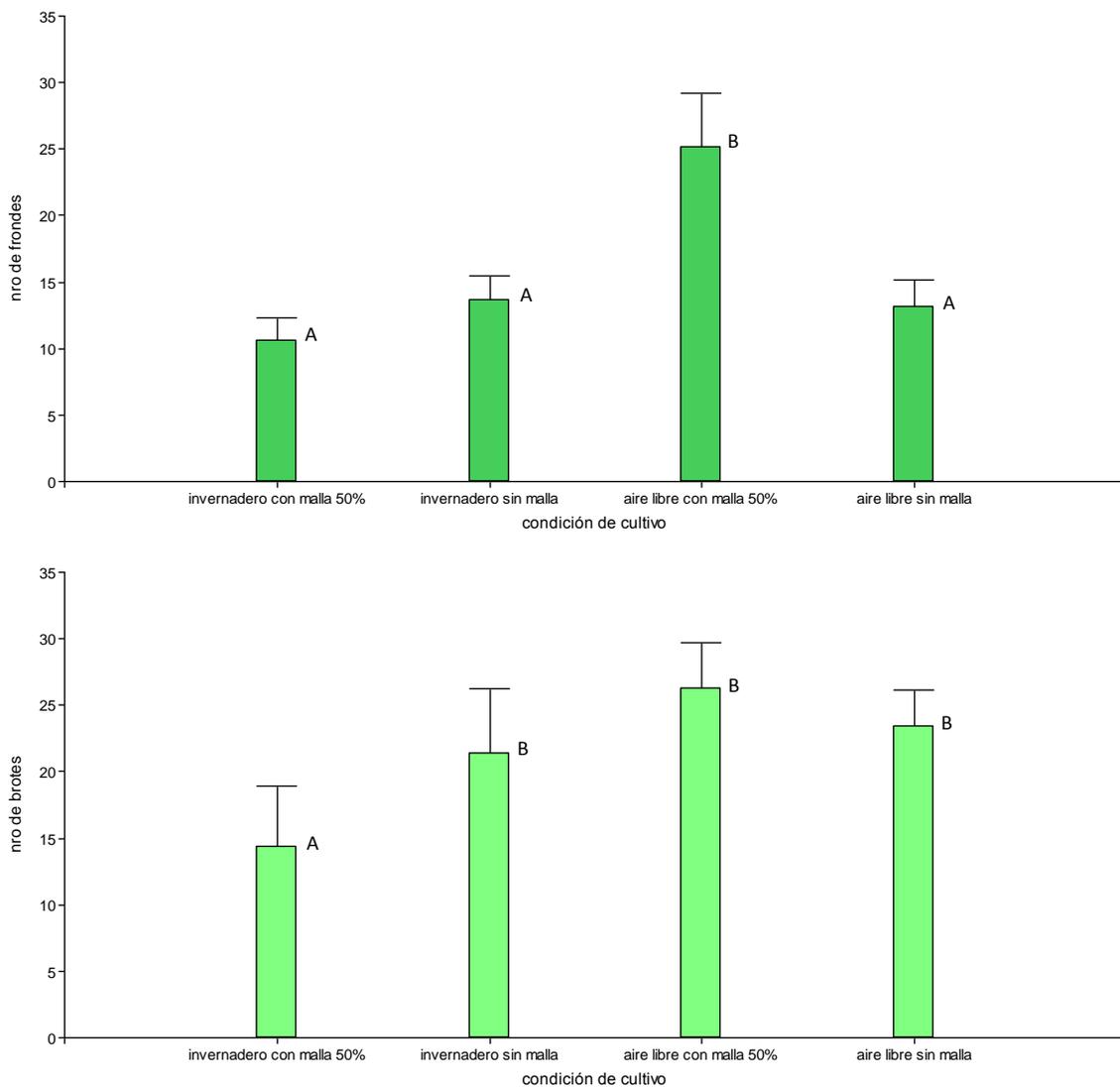


Figura 28. Número de frondes (arriba) y brotes (abajo) en una planta de *Polystichum plicatum* a los dos años de cultivo. Letras iguales en las condiciones de cultivo indican la ausencia de diferencias significativas ($p>0,05$) Test de Tukey.

Características de las frondes producidas

En la tabla 6, se presentan valores de longitud del fronde, ancho del fronde y longitud del peciolo, para plantas de *P. plicatum* cultivadas durante dos años en invernadero y aire libre, bajo dos condiciones de luz.

Tabla 6. Características de las frondes de *Polystichum plicatum*, a 2 años de cultivo en El Calafate.

Condición de cultivo	Condición de luz	Longitud de la lámina (cm)	Ancho de la lámina (cm)	Longitud del peciolo (cm)
INVERNADERO	malla 50%	27,44 c	6,72 b	6,08 c
	sin malla	19,66 b	5,53 b	3,67 b
AIRE LIBRE	malla 50%	25,17 c	6,03 b	5,37 c
	sin malla	6,68 a	2,60 a	2,03 a

*Letras iguales en columna indican la ausencia de diferencias significativas ($p > 0,05$) Test de Tukey.

Las plantas cultivadas en IcM y ALcM presentaron las mayores longitudes de peciolo y lámina (Fig. 29). Las condiciones de IsM, IcM y ALcM registraron valores similares de ancho de lámina. Las plantas cultivadas al ALsM mostraron los menores valores para todos los para parámetros evaluados ($p < 0,001$). Estos valores se atribuyen a la intensidad lumínica que es importante desde el punto de vista productivo, y también determina la forma, color y textura de la hoja de un helecho (Berrocal Domínguez, 1996).

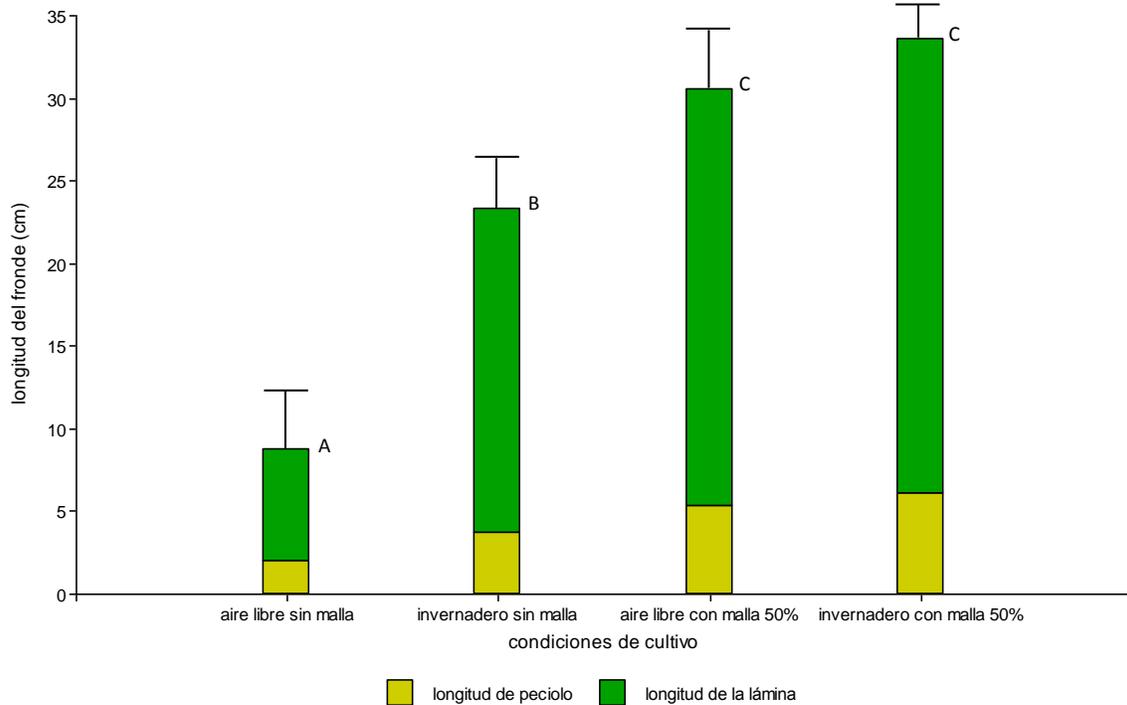


Figura 29. Longitud de frondes de *Polystichum plicatum* de dos años de cultivo en las condiciones de cultivo evaluadas. Letras iguales en las condiciones de cultivo indican la ausencia de diferencias significativas ($p > 0,05$) Test de Tukey.

Basado en el RHS Colours Chart, se determinó el color de las frondes verde oscuro para la condición bajo malla 50%, representado por el código 139A para el cultivo en invernadero y 136B al aire libre. Las frondes cultivadas sin malla presentaron un color verde-amarillo, códigos 146B y N144A para invernadero y aire libre respectivamente (Royal Horticultural Society, 2001) (Fig. 30). El color verde oscuro de las frondes obtenidas bajo malla 50%, indica calidad y es necesario para la comercialización en mercados (Gonzalez *et al.*, 1998; Berrocal Dominguez 1996) (Fig.31).

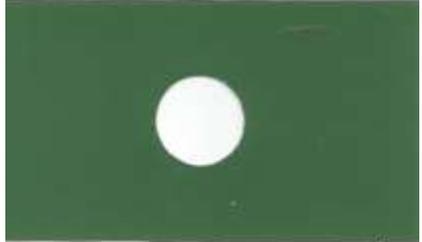
	Invernadero	Aire Libre
Con Malla 50%	<p>GREEN GROUP 139</p>  <p>A</p>	<p>GREEN GROUP 136</p>  <p>B</p>
Sin Malla	<p>YELLOW-GREEN GROUP 146</p>  <p>B</p>	<p>YELLOW-GREEN GROUP N144</p>  <p>A</p>

Figura 30. Color de las frondes de *Polystichum plicatum* producidas en invernadero y al aire libre bajo dos condiciones de luz (con y sin malla 50%), determinado con RHS Colours Chart (Royal Horticultural Society, 2001).



Figura 31. Características de las frondes de *Polystichum plicatum* al segundo año de cultivo bajo malla 50% de pasaje de luz, a. en invernadero, b. al aire libre.

Esta respuesta al nivel de sombreo en *P. plicatum*, es semejante a la hallada en *Rumohra*, donde a pleno sol se producen hojas más pequeñas y de color verde claro, y las hojas se van haciendo más grandes, de color verde oscuro y más duras, en la medida que aumenta el porcentaje de sombreo, considerando que por encima de un 50% de sombreo la producción decrece sensiblemente (Lijalad, 1990).

Las dimensión máxima en el largo del follaje de *P. plicatum*, se obtuvo bajo la malla de 50% de sombreo, con más de 30 cm de largo (lámina + peciolo). Estas dimensiones se encuentran dentro de los parámetros de calidad de otros follajes de corte, que comparado con las categorías comerciales del helecho cuero correspondería según estos largos de las frondas, a un follaje de primera o segunda calidad (Gonzalez *et al.*, 1998).

De esta manera el crecimiento de *P. plicatum* bajo cultivo fue similar a otros cultivos de helechos, donde se esperan características de frondes de calidad comercial, posterior a los 2 años de establecido el cultivo (con malla 50% bajo invernadero y aire libre).

Almacenamiento de las frondes

Las frondes en cámara fría ($4 \pm 0,5^{\circ}$ C y 80-85% HR) mostraron pérdidas en su peso fresco para las dos condiciones de almacenamiento (hidratada y sin hidratar) y todos los tiempos evaluados (Tabla 7). Las frondes a los 8 días en cámara se muestran en la figura 32.

Tabla 7. Pérdida de masa fresca de frondes (%) de *Polystichum plicatum* almacenadas por diferentes tiempos en cámara a $4 \pm 0,5^\circ$ C y 80-85% HR.

Tiempo de almacenamiento en cámara fría (días)	Pérdida de masa fresca de las frondes* (%)	
	sin hidratación	con hidratación
4	7,11 a	6,96 a
8	9,15 a	7,80 a
12	11,39 a	8,24 a
16	13,92 ab	10,67 ab
20	15,18 ab	10,86 ab
24	24,59 b	11,03 ab
28	43,02 c	11,47 ab
32	47,08 cd	13,71 b
36	56,88 d	15,23 b

*La masa de las frondes al momento de cosecha fue de 8-12 gramos. *Letras iguales en columna indican la ausencia de diferencias significativas ($p > 0,05$) Test de Tukey.



Figura 32. Frondes de *Polystichum plicatum* con y sin hidratar a los 8 días de almacenadas a $5 \pm 0,5^\circ$ C y 80-85% HR.

Hasta los 24 días de almacenamiento en condiciones sin hidratar en cámara de frío las frondes presentaron una pérdida de peso menor al 25%, con valores de 7,11; 9,15; 11,39; 15,18 y 24,59% para los 4; 8; 12; 16; 20 y 24 días respectivamente. A partir del día 28 en cámara las frondes perdieron más del 40% de su peso fresco, con valores de 43,02; 47,08 y 56,88% para 28, 32 y 36 días (Tabla 7 y Fig. 33).

Fronde almacenadas hasta 12 días en condiciones con hidratación en cámara de frío perdieron menos del 10% de su peso fresco, con valores de 6,96; 7,80; 8,24 y 10,67 para los 4; 8; 12 y 16 días respectivamente. Esta condición de cámara hasta los 36 días no superó el 15% de pérdida de peso fresco, con valores de 10,86; 11,03; 11,47; 13,71 y 15,23 a los 20; 24; 28; 32 y 36 días respectivamente (Tabla 7 y Fig. 33).

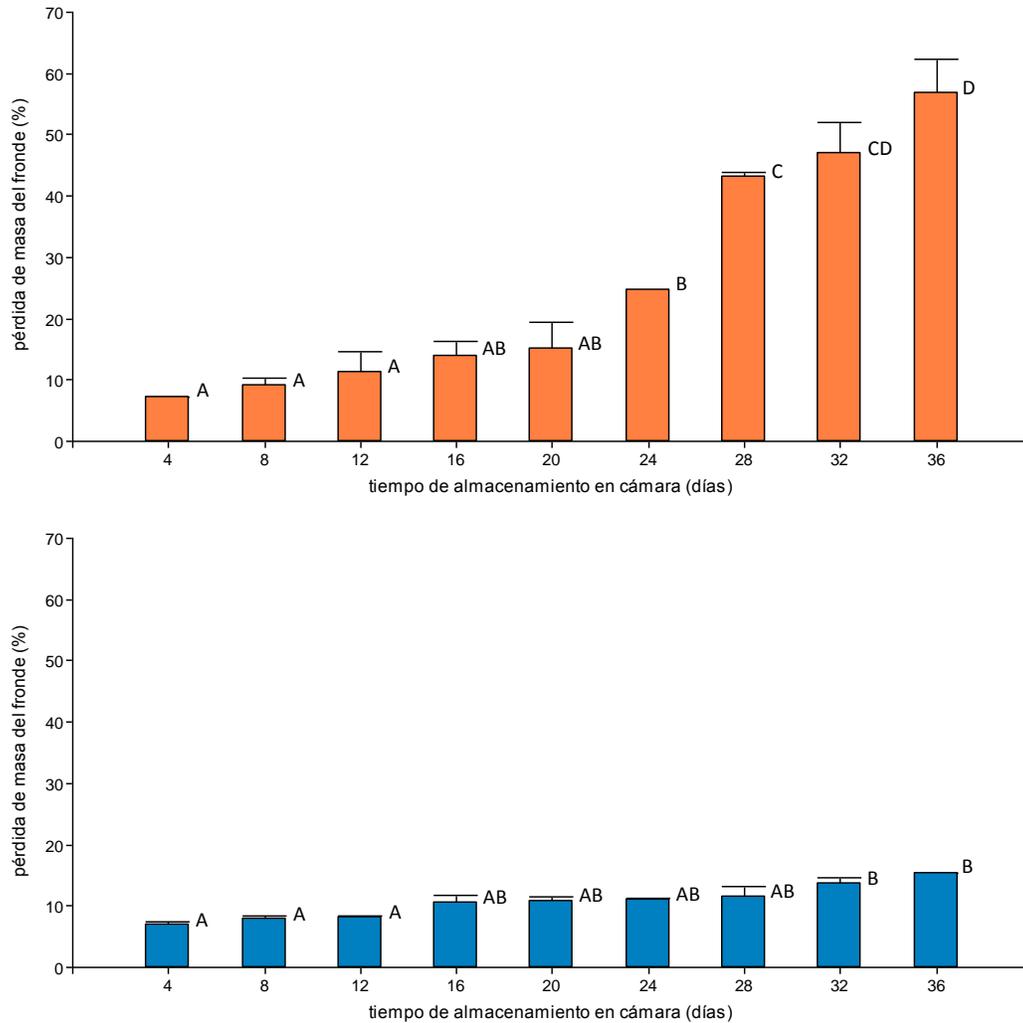


Figura 33. Pérdida de masa fresca (%) de las frondes de *Polystichum plicatum* almacenadas en diferentes tiempos en cámara a $4 \pm 0,5^{\circ}$ C y 80-85% HR, en condición sin hidratación (arriba) e hidratadas (abajo). Letras iguales en los tiempos de almacenamiento en cámara indican la ausencia de diferencias significativas ($p > 0,05$) Test de Tukey.

Con el fin de limitar pérdidas, productores y científicos de varios países investigaron métodos adecuados para la conservación de flores y follaje después de la cosecha, y el transporte para largas distancias a los centros de comercialización (Rudnicki *et al.*, 1991). En este sentido es importante conocer la pérdida de masa fresca de las frondes durante el almacenamiento, ya que para algunos follajes se observó marchitamiento y un efecto sobre la vida en florero (Halevy & Mayak, 1979; Rebolledo *et al.*, 2007).

Las frondes de *P. plicatum* almacenadas hidratadas hasta 28 días en cámara registraron las menores pérdidas de masa fresca con valores inferiores al 11,47%. Para ese mismo tiempo en cámara las frondes sin hidratar mostraron una pérdida de masa fresca del 43,02%, y una diferencia significativa ($p < 0,001$) respecto a menores tiempos de almacenamiento.

Comportamiento en florero

Los parámetros de poscosecha de *P. plicatum*: inicio de enrulamiento, vida en florero, variación del peso fresco y consumo de agua, con agua pH 3,5 y 7,5 evaluados a partir de frondes almacenados en distintos tiempos, a 5 ± 1 °C y 80-85% HR bajo condiciones hidratadas y sin hidratar se presentan en las tablas 8 y 9, respectivamente.

Tabla 8. Parámetros de poscosecha de frondes de *Polystichum plicatum*, en florero con dos pH de agua, previamente almacenados en diferentes tiempos con hidratación a 5 ± 1 °C y 80-85% HR.

Tiempo de almacenamiento (días)	Inicio enrulamiento del fronde (días)		Vida en florero (días)		Pérdida de masa fresca del fronde (g)		Consumo de agua del florero (ml)	
	pH 3,5	pH 7,5	pH 3,5	pH 7,5	pH 3,5	pH 7,5	pH 3,5	pH 7,5
0	19,0 a	17,0 a	27,0 a	24,0 a	68,8 a	66,2 a	116,3 a	75,4 a
4	16,0 a	12,0 ab	22,0 ab	18,0 ab	66,5 a	63,6 a	111,3 a	72,5 ab
8	15,0 a	12,0 ab	21,0 bc	18,0 ab	63,6 a	62,1 a	98,8 ab	70,9 abc
12	9,0 b	8,0 bc	16,0 cd	14,0 bc	61,7 ab	60,5 a	78,8 bc	53,5 abcd
16	9,0 b	7,0 bc	16,0 cd	14,0 bc	56,5 abc	60,1 a	75,3 bcd	53,0 abcd
20	8,0 b	7,0 bc	15,0 de	14,0 bc	55,4 abc	53,2 ab	57,0 cde	52,4 bcd
24	8,0 b	6,0 cd	15,0 de	13,0 bc	54,3 abc	47,7 ab	56,8 cde	52,0 bcd
28	7,0 b	6,0 cd	15,0 de	12,0 bc	44,6 bcd	45,6 ab	54,8 cde	49,3 cd
32	4,0 bc	4,0 cd	14,0 de	11,0 bc	40,2 cd	38,7 b	51,0 de	44,8 d
36	1,0 c	1,0 d	10,0 e	8,0 c	35,0 d	32,3 b	41,3 e	39,0 d

*Letras iguales en columna indican la ausencia de diferencias significativas ($p > 0,05$) Test de Tukey.

En florero con agua pH 3,5 el inicio de enrulamiento se produjo a los 19, 16 y 15 días para frondes almacenadas con hidratación en cámara 0, 4 y 8 días respectivamente. Entre los 12 y 32 días de conservación en cámara el inicio de enrulamiento en florero se produjo en los 9 y 4 días respectivamente sin mostrar diferencias significativas.

Fronde en agua pH 7,5 conservadas 4 y 8 días en cámara, iniciaron el enrulamiento a los 12 días, sin mostrar diferencias significativas con los 17 días al cual lo manifestaron las frondes sin almacenar. Entre los 12 y 32 días de cámara el enrulamiento no mostró diferencias significativas y se produjo entre los 8 y 4 días, respectivamente.

Fronde en cámara 36 días iniciaron enrulamiento durante el primer día en florero para ambas condiciones de pH del agua.

La mayor vida en florero con agua pH 3,5 fue de 27, 22 y 21 días para tiempos de almacenamiento de 0, 4 y 8 días respectivamente. Entre los 12 y 32 días de almacenamiento la vida en florero fue de 16 a 14 días respectivamente, mientras que 36 días de almacenamiento permitieron 10 días de vida en florero.

En agua pH 7,5 la mayor vida en florero fue de 18 y 16 días almacenadas 4 y 8 días respectivamente, sin diferencias significativas con las frondes sin almacenar de vida en florero de 24 días. Tiempos en cámara entre los 12 y 36 días no presentaron diferencias significativas con una vida entre 14 y 8 días, respectivamente.

La pérdida de masa fresca para frondes colocadas en florero con agua pH 3,5 fue entre 68,8 y 54,3 g para tiempos de almacenamiento hidratados entre 0 y 24 días respectivamente. El menor valor de pérdida de masa lo dieron las frondes almacenadas a 28, 32 y 36 días con valores de 44,6; 40,2 y 35 g respectivamente.

Frondes colocadas en florero con agua pH 7,5 perdieron entre 66,2 y 60,1 g de masa fresca para almacenamiento hidratado de 0 a 16 días respectivamente y se diferenciaron de las frondes almacenadas entre 32 y 36 días con pérdidas de 38,7 y 32,3 g respectivamente.

El consumo de agua fue de 116,3; 111,3 y 98,8 ml para frondes colocadas en florero con agua pH 3,5 previamente almacenadas 0, 4 y 8 días hidratadas en cámara. Almacenamientos entre 12 y 28 días consumieron de 78,8 a 54,8 ml respectivamente, mientras que para 32 y 36 días de almacenadas las frondes consumieron 51 y 41,3 ml de agua del florero.

En florero con agua pH 7,5 las frondes previamente almacenadas hidratadas 0, 4 y 8 días consumieron entre 75,4; 72,5 y 70,9 ml de agua respectivamente, mientras que almacenamientos entre 12 y 36 días presentaron un consumo de 53,5 a 39 ml respectivamente.

Tabla 9. Parámetros de poscosecha de frondes de *Polystichum plicatum*, en florero con dos pH de agua, previamente almacenados en diferentes tiempos sin hidratación a $5 \pm 0,5^\circ \text{C}$ y 80-85% HR.

Tiempo de almacenamiento (días)	Inicio enrulamiento del fronde (días)		Vida en florero (días)		Pérdida de masa fresca del fronde (gr)		Consumo de agua del florero (ml)	
	pH 3,5	pH 7,5	pH 3,5	pH 7,5	pH 3,5	pH 7,5	pH 3,5	pH 7,5
0	19,0 a	17,0 a	27,0 a	24,0 a	68,8 a	66,2 a	116,3 a	75,4 a
4	19,0 a	14,0 ab	27,0 a	23,0 a	72,6 ab	67,7 a	89,0 b	69,5 a
8	17,0 ab	12,0 abc	24,0 ab	19,0 ab	66,2 ab	64,1 ab	79,0 b	49,8 b
12	13,0 bc	11,0 bcd	23,0 ab	17,0 abc	64,4 abc	57,2 abc	76,3 b	39,5 bc
16	10,0 cd	7,0 cde	17,0 bc	12,0 bcd	55,3 abcd	51,7 abcd	74,8 b	37,8 bc
20	9,0 cde	6,0 de	16,0 bc	12,0 bcd	53,5 bcde	48,9 bcd	67,5 b	35,3 bc
24	7,0 def	5,0 e	16,0 bc	12,0 bcd	47,8 cde	41,6 cd	64,0 b	34,4 bc
28	6,0 def	4,0 e	14,0 cd	11,0 bcd	42,2 de	35,7 de	37,6 c	28,9 cd
32	4,0 ef	3,0 e	12,0 cd	10,0 cd	36,3 ef	34,6 de	32,4 cd	25,6 cd
36	3,0 f	3,0 e	6,0 d	6,0 d	20,6 f	19,0 e	11,3 d	9,3 d

*Letras iguales en columna indican la ausencia de diferencias significativas ($p > 0,05$) Test de Tukey.

Para las frondes almacenadas sin hidratar durante 4 días el inicio de enrulamiento en florero con agua pH 3,5 se dio a los 19 días, dato similar a las frondes sin almacenar. Entre los 8 y 12 días se inició el enrulamiento a los 17 y 13 respectivamente. Entre los 16 y 28 días de cámara el enrulamiento en florero fue de 10 a los 6 días, y a los 32 y 36 días de cámara el enrulamiento se inició a los 4 y 3 días.

Con agua pH 7,5 el enrulamiento se inició a los 17, 14, 12 y 11 días luego de que las frondes fueron conservadas 0, 4, 8 y 12 días respectivamente. Entre los 16 y 36 días de conservación en cámara el enrulamiento se manifestó de los 7 a los 3 días respectivamente.

La vida en florero con agua pH 3,5 para un almacenamiento de 4 días fue de 27 días al igual que las frondes evaluadas sin almacenamiento. Para este valor de pH y un almacenamiento de 8 y 12 días la vida en florero fue de 25 días, y a partir de los 16 días de cámara fue inferior a los 20 días, con valores de 17, 17, 16, 15, 12 y 6 días para un almacenamiento de 16, 20, 24, 28, 32 y 36 días.

Fronde almacenadas 0, 4, 8 y 12 días tuvieron una vida en florero con agua pH 7,5 de 24, 23, 19 y 17 días respectivamente. Entre los 16 y 26 días de almacenamiento la vida en florero fue de 12 a 6 días respectivamente.

La pérdida de masa fresca de la fronde para agua en florero con pH 3,5 fue de 68,8; 72,6; 66,2 y 64,4 g en almacenamiento hidratado de 0, 4, 8 y 12 días

respectivamente. Para 16, 20, 24 días de almacenamiento la pérdida fue de 55,3; 53,5 y 47,8 g respectivamente. Y las menores pérdidas de masa fresca fueron para los 28, 32 y 36 días con 42,2; 36,3 y 20,6 g respectivamente.

Para el caso de frondes en florero con pH 7,5 la pérdida de masa fresca fue de 66,2; 67,7 y 64,1 g para 0, 4 y 8 días de almacenamiento sin hidratar respectivamente. Almacenamientos de 12, 16, 20 y 24 días perdieron 57,2; 51,7; 48,9 y 41,6 g de masa fresca respectivamente. Una pérdida de 35,7; 34,6 y 19 g correspondió a frondes almacenadas 28, 32 y 36 días respectivamente.

El consumo de agua fue de 116,3 ml para las frondes sin almacenar colocadas en florero con agua pH 3,5. Los valores de consumo de agua fueron similares para frondes almacenadas sin hidratar entre 4 y 24 días con valores de 89 a 64 ml. Para frondes de 28, 32 y 36 días el consumo de agua fue de 37,6; 32,4 y 19 ml respectivamente.

Para frondes almacenadas 4 días sin hidratar y colocadas en florero con agua pH 7,5 el consumo de agua fue 69,6 ml, sin mostrar diferencias significativas con las frondes sin almacenar que consumieron 75,4 ml. Un consumo entre 49,8 y 34,4 ml de agua fue para frondes almacenadas entre los 8 y 24 días, y un consumo de 28,9 a 9,3 ml para tiempos de almacenamiento entre 28 y 36 días respectivamente.

Son pocas las recomendaciones disponibles en la literatura para el tratamiento posterior a la cosecha de especies de follaje de corte (Forrest, 1991), y los resultados de almacenamiento y vida en florero obtenidos en esta tesis son los primeros para *P. plicatum*.

El almacenamiento en cámara de frío de algunos follajes y su posterior vida en florero en fueron estudiados en varias especies de *Eucalyptus* conservadas sin presentar daños en el follaje en condiciones seca y húmeda con una vida en florero de 31-59 días y 32-69 días para un almacenamiento de dos y cuatro semanas, respectivamente (Forrest, 1991). En *Eucalyptus gunni* la vida en florero fue de 27 días luego 14 días en cámara (Rebolledo *et al.*, 2007), y para *R. adiantiformis* la vida en florero fue mayor a 15 días para frondes almacenadas tres semanas en frío (Stamps, 2001).

En *P. plicatum* las frondes se pueden mantener en cámara hidratadas hasta 16 días, y en seco hasta 24 días, con una vida en florero esperada de 16 días, mientras que los tiempos máximos de vida en florero fueron de 22 días para frondes de cámara hidratadas y 27 días de cámara en seco, ambos conservados hasta 4 días en cámara.

Respecto a la pérdida de masa que registraron las frondes de *P. plicatum*, también fueron observados valores similares en *R. adiantiformis* cuando el porcentaje de peso cayó dramáticamente para frondes en pH bajos a pesar de que las tasas de absorción del agua eran relativamente altas, indicando que las mismas estaban perdiendo agua más rápidamente que la que estaban absorbiendo (Stamps & Nell, 1983).

En la figura 34, se presentan las etapas de pérdida de calidad del fronde de *P. plicatum* durante su vida en florero. Durante el ensayo, se registró como primer parámetro al inicio de enrulamiento definido por un plegado muy incipiente en la zona apical de la fronde. Avanzado este estadio, se observó que el enrulamiento también se provocaba en las pinas laterales de la lámina, que avanzado este último estadio provocaba casi totalmente un pliegue en la fronde por su deshidratación.

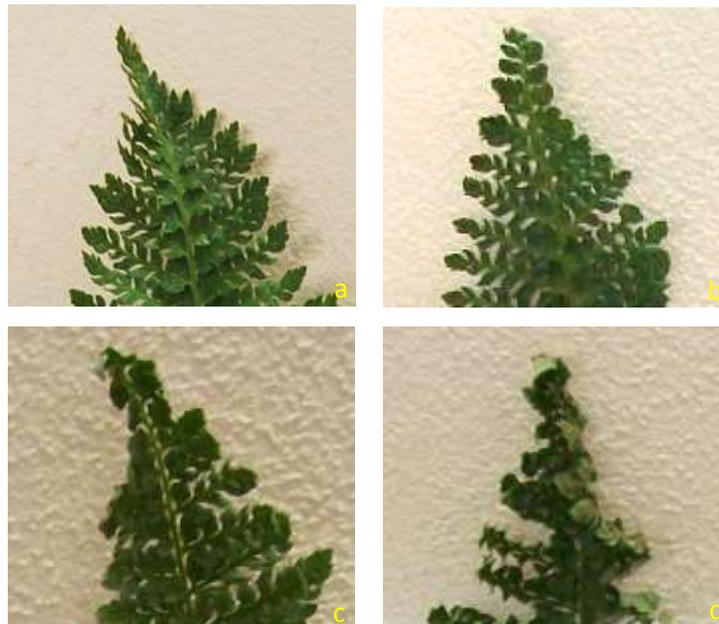


Figura 34. Pérdida de calidad del fronde de *Polystichum plicatum* en florero, a. estado inicial, b. inicio de enrulamiento, c. enrulamiento, d. enrulamiento avanzado.

El inicio de enrulamiento, la vida en florero y la pérdida de masa no mostraron diferencias significativas entre los dos tratamiento de pH para ninguno de los tiempos de almacenamiento evaluados ($p > 0,005$). El consumo de agua del florero sólo presentó diferencias significativas desde el tiempo 0 hasta los 16 días en cámara para frondes previamente almacenadas en cámara con hidratación, mientras que las diferencias para un almacenamiento sin hidratación se extendieron hasta las frondes con 24 días en cámara (Tabla 10).

Tabla 10. Consumo de agua del florero (ml) con dos pH, para frondes de *Polystichum plicatum*, previamente almacenados en cámara en diferentes tiempos con y sin hidratación a $5 \pm 1^\circ \text{C}$ y 80-85% HR.

CONSUMO DE AGUA (ml)		Tiempo de almacenamiento en cámara									
Condición en cámara	pH del agua	0	4	8	12	16	20	24	28	32	36
Con hidratación	pH3,5	116,25 a	111,25 a	98,75 a	78,75 a	75,25 a	57,00 a	56,75 a	54,75 a	51,00 a	41,25 a
	pH7,5	75,38 b	72,50 b	70,88 b	53,50 b	53,00 b	52,38 a	52,00 a	49,25 a	44,75 a	39,00 a
Sin hidratación	pH3,5	116,25 a	89,00 a	79,00 a	76,25 a	74,75 a	67,50 a	64,00 a	37,63 a	32,38 a	11,25 a
	pH7,5	75,38 b	69,50 b	49,75 b	39,50 b	37,75 b	35,25 b	34,38 b	28,88 a	25,63 a	9,25 a

*Letras iguales en columna de cada condición en cámara indican la ausencia de diferencias significativas ($p > 0,05$) Test de Tukey.

Los dos valores de pH del agua del florero dejan de mostrar diferencias sobre el consumo del agua por parte de las frondes cuando la vida en florero es superior a los 15 días para las dos condiciones de almacenamiento en cámara.

Las diferencias de consumo de agua entre las dos condiciones de pH pueden explicarse por el efecto de las bacterias en la obstrucción vascular de hojas cortadas. Este efecto fue estudiado por Van Doorn (1991) en el helecho *Adiantum raddianum* que observó que a pH 7 del agua del florero la obstrucción vascular en el extremo basal del pecíolo era mayor que en soluciones con ácido cítrico (pH 3). Resultados similares en follaje juvenil de *E. gunni* lograron mantener los haces vasculares libre de oclusiones en tratamientos con agregado de ácido cítrico al agua del florero (Rebolledo *et al.*, 2007).

El ciclo de vida de *P. plicatum*, aporta información detallada para futuros programas de mejoramiento, que no solo permitiría aumentar la variabilidad sino también asegurar la sanidad del material.

El cultivo de *P. plicatum* a partir de rizomas se puede realizar en invernadero y al aire libre bajo malla de 50% de sombreo para las condiciones de Patagonia Sur, obteniendo frondes de calidad comercial para corte a partir del segundo año de cultivo. Esto posibilita la producción de follaje a partir de una especie nativa en Patagonia Sur, su introducción en canales de comercialización de verdes de corte y uso final como complemento de ramos en florerías de la región.

Mercados cercanos a lugares de cosecha o transportes eficientes en cámara 8 días hidratados y 12 días sin hidratar, permiten una vida en florero similar a otros follajes importantes del mercado actual, de 21 y 23 días respectivamente.

Se podría transportar y/o conservar en cámara fría hasta 32 días en condición de frondes hidratadas y 28 días sin hidratar, con tiempos aceptables de vida en florero de 12 y 15 días respectivamente.

Los resultados del estudio de propagación, cultivo y poscosecha permiten definir que *P. plicatum* tiene potencialidad en la región patagónica para ser cultivado como follaje para corte.

- APN. 2014. Parque Nacional Los Glaciares: Biodiversidad. Administración Parques Nacionales, Argentina. <http://www.parquesnacionales.gob.ar/>
- Alarcón D. 2011. Proyecto Chilebosque. <http://chilebosque.cl/>
- Baldauf C, Hanazaki N & Sedrez dos Reis M. 2007. Caracterização etnobotânica dos sistemas de manejo de samambaia-preta (*Rumohra adiantiformis* (G. Forst) Ching - Dryopteridaceae) utilizados no sul do Brasil. Acta Bot. Bras. 21(4): 823-834.
- Belov M. 2009. Base de datos de plantas y enciclopedia. Proyecto Chileflora. <http://www.chileflora.com/>
- Berrocal Dominguez L. 1996. Producción de follajes de para la exportación. X Congreso Nacional Agronómico. Costa Rica. 171-177pp.
- Cassa de Pazos L, Vidoz F, Giudice G, Ramos Giacosa J, Luna M & De la Sota E. 2010. Diversidad de helechos y licofitas del Parque Nacional Lago Puelo (Chubut-Argentina). Bol. Soc. Argent. Bot. 45 (3-4): 383-403. ISSN 0373-580.
- Chambi C J, Cardozo R M & Martínez O G. 2013. Germinación de esporas y gametofitos de *Polystichum montevidense* (Spreng.) Rosenst. (Dryopteridaceae). Botánica Complutensis 37: 47-52. ISSN: 0214-4565.
- Conover C & Loadholt L. 1972. Leatherleaf fern production in Florida. Estados Unidos, IFAS. Ornamental Horticulture Report, 70-1, p 26.
- Correa M N. 1998. Flora Patagónica. Parte I Introducción, Clave general de familias, Pteridofitas y Gymnospermas. Colección Científica del INTA. Buenos Aires. 391pp.
- Di Rienzo J, Casanoves F, Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2015. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Ferrari M, Pozzolo O & Ferrari H. 2008. Software CobCal 2. Copyright 2006-2008. Basado en patente n°649082. 3-abril-2008.

- Forrest M. 1991. Post-harvest treatment of cut foliage. *Acta Hort.* (ISHS) 298:255-262
- Fujino DW & Reid MS. 1983. Factors affecting the vase life of fronds of maidenhair fern. *Sci. Hort.* 21:181–188
- Gabriel y Galán JM & Prada C. 2010. Gametophyte of the Andean fern *Polystichum pycnolepis* (Kunze ex Klotzsch) T. Moore (Dryopteridaceae). *Amer. Fern J.* 100: 103–109.
- Giudice G. 2009. Biodiversidad y conservación de las pteridofitas de Argentina. XXXII Jornadas Argentinas de Botánica Huerta Grande, Córdoba.
- Gómez ML. 2013. Ecología de la fase gametofítica de helechos del P.N.N. Chingaza (Cundinamarca, Colombia). Relaciones entre altitud, luz y medio de cultivo. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Tesis Magister Ciencias Biológicas. 135 pp.
- González A, Bañon S & Fernández J A. 1998. Cultivos Ornamentales para complementos del ramo de flor. Mundi-Prensa. 228 pp.
- Gutiérrez I, Guarín S & Rodríguez L. 2007. Prospecting and evaluation of promising foliage species to include in bouquets. *Agron. Colomb.* 25(1): 176-188. ISSN 0120-9965.
- Halevy A & Mayak S. 1979. Senescence and Postharvest Physiology of Cut Flowers, Part 1, in *Horticultural Reviews*, Volume 1 (ed J. Janick), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA. ISBN: 9780870553141
- Hoshizaki BJ & Moran RC. 2001. *Fern Grower's Manual*. Timber Press. 604pp.
- Huerta-Zavala J, Arreguín-Sánchez ML, Quiroz-García D, Fernández-Nava R. 2013. Ciclo de vida de *Pellaea ternifolia* (Cav.) Link subsp. *ternifolia* (Pteridaceae-Polypodiidae). *Revista Polibotanica*.35: 65-84, ISSN 1405-2768; México.
- INTA. 2005. Proyecto Nacional “Obtención de variedades ornamentales a partir de especies nativas” y Proyecto Regional “Desarrollo de la floricultura con especies exóticas y nativas en la Patagonia Austral”. <http://www.inta.gob.ar/>

- Lijalad C. 1990. Gypsophila, Flor de Cera y Helecho de cuero. Horticultura 58: 52-60. ISSN: 1132-2950.
- Macaya J. 2004. Helechos nativos de Chile cultivados con fines ornamentales. Chloris chilensis, Año 7; N° 1. ISSN 0717-4632. <http://www.chlorischile.cl/>
- Mathur D, Stamps R & Conover C. 1982. Postharvest wilt and yellowing of leather leaf fern. Proc. Fla. State Hort. Soc. 95:142-143.
- Migliaro G & Gabriel y Galán JM. 2012. Gametophyte development and reproduction of the Asian fern *Polystichum polyblepharum* (Roem. ex Kunze) C. Presl (Dryopteridaceae, Polypodiopsida). Plant Biosystems 146 (2): 368-373.
- Milton S & Moll E. 1988. Effects of harvesting on frond production of *Rumohra adiantifomis* (Pteridophyta: Aspidiaceae) in South Africa. Journal of Applied Ecology 25: 725-743.
- Monjeau A, Nazar S, Montoni V, Marquez J, Alcalde D, D'lorio A, Galván H, Denholm C, Di Vincenzo A & Gonzalez F. 2005. Perfiles de Parques: Informes del PN Lanín y PN Lago Puelo, Argentina. ParksWatch. Duke University. <http://www.parkswatch.org/>
- Nazario-Galindo A & Arreguín-Sánchez ML. 2007. Descripción del desarrollo del gametofito y primeras fases del esporofito de *Polystichum ordinatum* (Kunze) Liebm. (Dryopteridaceae-Pteridophyta). Revista Polibotánica24: 139-152, ISSN 1405-2768; México.
- NASS. 2009. Floriculture Crops 2008 Summary. National Agricultural Statistics Service (NASS). United States Department of Agriculture (USDA). 71pp.
- Pangua E, Quintanilla LG, Sancho A & Pajarón S. 2003. A comparative study of the gametophytic generation in the *Polystichum aculeatum* group (Pteridophyta). J. Plant Sci. 164(2): 295–303.
- Perera L, Daundasekera W & Wijesundara D. 2009. Maturity at harvest affects postharvest longevity of cut *Calathea* foliage. Ceylon Journal of Science (Biological Sciences); 38(2): 35-38.
- Pichi Sermolli R. y Bizzarri M. 1978. The botanical collections (Pteridophyta and Spermatophyta) of the AMF Mares—G.R.S.T.S. Expedition to Patagonia,

- Tierra del Fuego and Antarctica. *Journal of Plant Taxonomy and Geography*. 32 (2): 455-534.
- Ponce M, Mehltreter K & De La Sota E. 2002. Análisis biogeográfico de la diversidad pteridofítica en Argentina y Chile continental. *Revista Chilena de Historia Natural*. 75: 703-717.
- Poole R T, Conover C A & Stamps R H. 1984. Vase Life of leatherleaf fern harvested at various times of the year and at various frond ages. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 97:266-269.
- Reid M S. 2004. Cut Flowers and Greens. Agriculture Book Hand Number 66. The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks. USDA, ARS.
- Rebolledo C, Figueroa I, Wilckens R & Finot L. 2007. Almacenamiento de postcosecha y vida en florero de follaje juvenil de *Eucalyptus gunnii* Hook. F. (Myrtaceae) para uso en floristería. *Agro Sur* 35 (2): 32-34. ISSN 0304-8802.
- Royal Horticultural Society. 2001. Colour Chart. London, Great Britain (R.H.S.).
- Rudnicki R, Nowak J & Goszczynska D. 1991. Cold storage and transportation conditions for cut flowers cuttings and potted plants. *Acta Hort.* 298:225-236
- Singh P, Singh K & Kumar R. 2003. Study on refrigerated storage of *Nephrolepis* fronds. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* 11: 121-126.
- Science Learning Hub. 2015. Ferns. The University of Waikat. New Zealand. 2007-2015. <http://sciencelearn.org.nz/>
- Sultan, S. 2003. Phenotypic plasticity in plants: a case study in ecological development. *Evolution & Development* 5(1): 25–33.
- Sultan, S. 2000. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Science* 5: 537-542.
- Torres Boeger MR, Cavichiolo LE, Pil MW e Labiak PH. 2007. Variabilidade fenotípica de *Rumohra adiantiformis* (G. Forst) Ching (Dryopteridaceae). *Hoehnea* 34(4): 553-561.
- Stamps R. 2007. Vase Life Characteristics of Fern. *Acta Hort.* 755: 155-162.

- Stamps R. 2001. Effects of postharvest dip treatments on leatherleaf fern (*Rumohra adiantiformis*) frond vase life. *Acta Hort.* 543: 299-303
- Stamps R. 1988. Evaluation of prestorage treatment effects on vase life of leatherleaf fern. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 101: 197-199.
- Stamps R & Nell T. 1983. Storage, pulsing, holding solutions and holding solution pH affect solution uptake, weight change and vase life of cut leatherleaf fern fronds. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 96: 304-306.
- Valenzuela de Ocampo, M. 2004. Follajes de corte. Primera edición. Ediciones Hortitecnia Ltda. Bogota. ISBN: 9589686486. 93 pp.
- Van Doorn W, Zagory D & Reid M. 1991. Role of ethylene and bacteria in vascular blockage of cut fronds from the fern *Adiantum raddianum*. *Scientia Horticulturae*. 46 (1-2): 161-169.
- Verdugo G, Biggi M A, Monteisnos A, Soriano C. & Chahín G. 2006. Manual de Poscosecha de Flores. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Fundación para la Innovación Agraria. 76pp.
- Weerahewa H & Somaratne S. 2011. Effect of some selected vase water additives on vase life of *Cordyline terminalis* 'red' foliage. Annual Academic Sessions 2011. ISSN: 2012-9912. The Open University of Sri Lanka.

Resultados aplicados de esta tesis permitieron la adopción del producto, tecnología y recomendaciones para el manejo del cultivo de *P. plicatum*.

La tecnología de cultivo para la producción de frondes de *P. plicatum* fue adoptada por la productora de flores de corte en El Calafate y actualmente tiene un lote en su establecimiento “Cultivos 12 de Abril”, bajo invernadero con malla media sombra que le permite disponer de follaje de calidad comercial para abastecer a la demanda en la zona para el complemento verde en arreglos florales.



Figura. Establecimiento productivo de flores de corte y follaje de *Polystichum plicatum* en El Calafate, a. productora con varas de liliun cosechadas, b. cantero bajo invernadero con *P. plicatum* cultivados un año, c y d. canteros bajo invernadero con *P. plicatum* cultivados dos años. (Fotos tomadas en enero de 2015).

En relación a la experiencia de uso por parte de la productora y de las características de las frondes, estas serían algunas consideraciones de calidad para *P. plicatum*.

Tabla. Clasificación de calidad, para frondes de *Polystichum plicatum*

Parámetros a evaluar	Categorías de calidad del producto		
	Primera	Segunda	Tercera
Longitud de la lámina (cm)	>25	25-15	<15
Longitud del peciolo (cm)	>10	10-5	<5
Ancho de la lámina (cm)	>10	10-5	<5

Las frondes además deberán:

- Tener coloración verde oscuro, apariencia fresca y brillo.
- Estar libres de manchas, marchitez o cualquier otro daño mecánico.
- No tener parásitos, animales, vegetales, ni daños causados por los mismos.