



Protocolo de germinación de

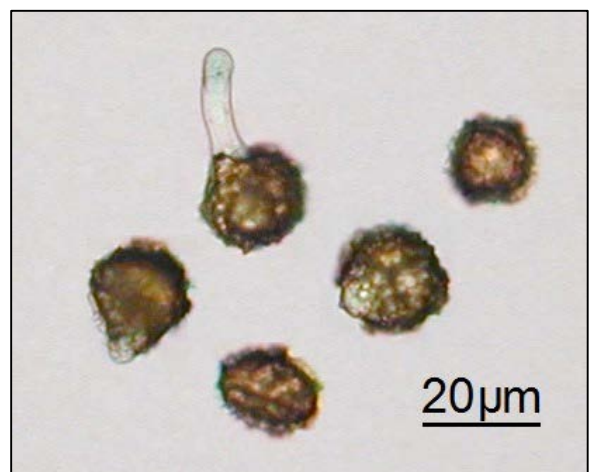
Asplenium marinum L. (ASPLENIACEAE)

y cultivo de planta adulta.

Conseguir un protocolo de propagación a partir de esporas, de un helecho considerado de gran rareza en nuestro territorio, contribuye al éxito en la conservación de sus poblaciones naturales.

Autores: Elena Estrelles & Ana M. Ibars

Jardí Botànic de la Universitat de València, Quart 80,
46008 Valencia, España



Detalle de las esporas en fase germinativa.

Asplenium marinum L

Este pteridofito constituye una especie muy rara en zona mediterránea de la península ibérica, cuyas poblaciones se empobrecen en los territorios más secos. En el este únicamente lo encontramos en las provincias de Gerona, Alicante y Baleares. En la Comunidad Valenciana solo existe una población natural.

Estas poblaciones tienen un gran interés de conservación pues constituyen un reducto de épocas en las que el clima les permitió una mayor distribución, y su identidad genética es de gran valor para la biodiversidad de la flora valenciana, y puede tener la clave de la evolución de las poblaciones ibéricas en esta última era.



Primera fase de desarrollo del gametofito.

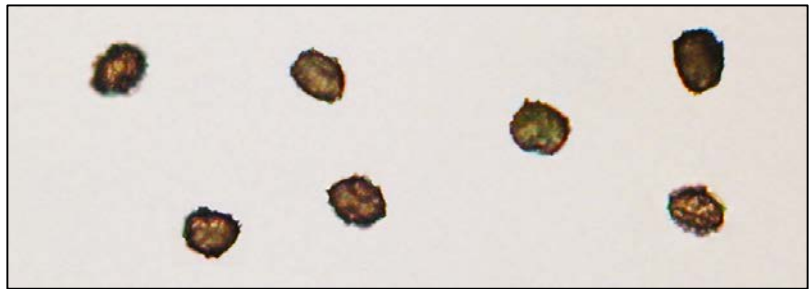


Cultivo de gametofitos.



Detalle de un anteridio liberando los gametos masculinos o anterozoides.

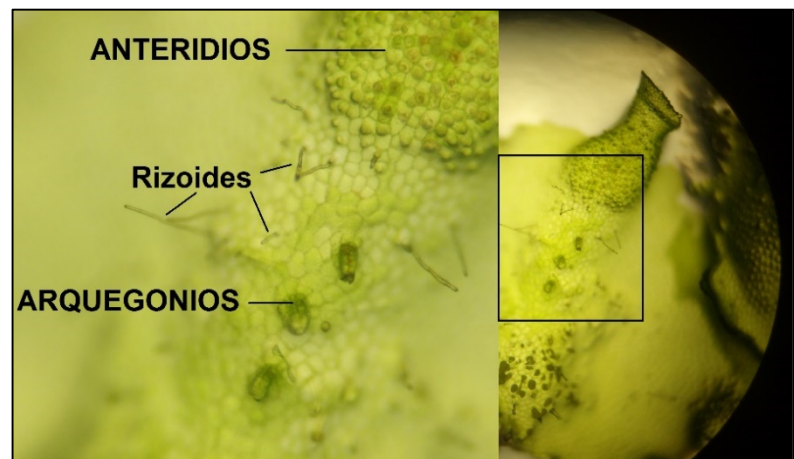
Este helecho, comúnmente conocido como helecho marino, sorprende cuando lo ves por primera vez en paredones, acantilados, roquedos o cuevas, expuesto al efecto del oleaje marino, un hábitat poco común para un pteridofito. Es una planta no muy grande y sin embargo robusta, con hojas lanceoladas, de lámina dividida y endurecida. En el envés se distribuyen los soros, alargados, con indusio que cubre numerosos esporangios, que en plena madurez liberan esporas monoletas, pequeñas, de color marrón rojizo. Las esporas muestran un contorno elíptico y ornamentación crestada.



En [Flora Iberica](#) (Nogueira & Ormonde, 1986) se pueden encontrar más detalles sobre el aspecto morfológico de la planta y su distribución en España. Se puede consultar información adicional sobre la población valenciana en el [Banco de Datos de Biodiversidad](#) de la Generalitat Valenciana.

Las características de esta planta la hacen bastante resistente al estrés hídrico causado bien por la sequía o por la salinidad presente en su medio natural. Sin embargo su ciclo vital, como helecho que es, necesita la presencia de agua para su reproducción. En las áreas más secas de nuestro territorio esta reproducción se torna compleja y por ello sus poblaciones son escasas y de menor tamaño, convirtiéndose en objetivo de las acciones de conservación.

Esta ficha aporta datos relevantes para su propagación orientada a la producción de planta adulta: germinación de sus esporas, cultivo de gametofitos y obtención de esporofitos.



Detalle órganos reproductivos, anteridios y arquegonios.

Localidades de origen estudiadas: Cova del Llop, Javea, Alicante, España (140B2002), Faro del Cabo Vidio, Asturias, España (135B2011), Coumeenoole South, Co. Kerry, Irlanda (76B2009).

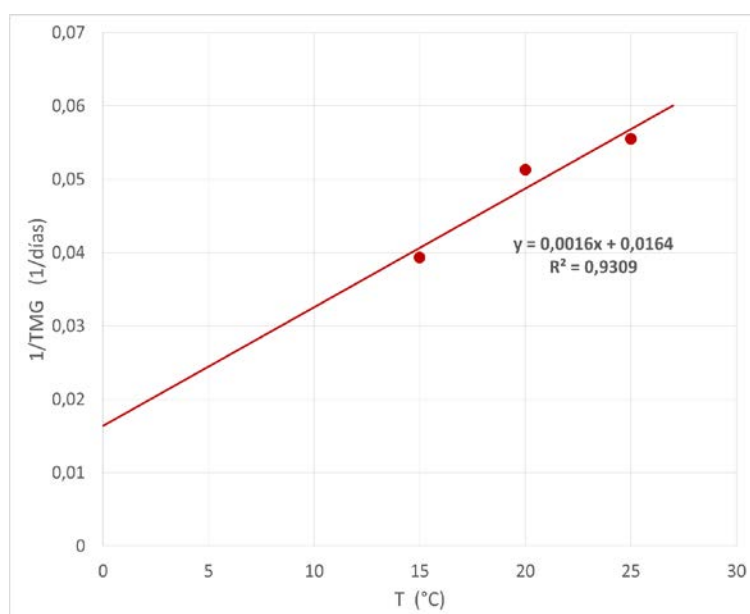
El estudio germinativos se ha realizado sobre un medio mineral nutritivo en base de agar 1% (Dyer 1979) durante un periodo de 30 días. El desarrollo de los gametofitos en una mezcla de turba negra y arena (5:1) en envases de plástico con tapa hermética de 5 cm de diámetro. Todo el estudio se ha realizado con un fotoperiodo 12/12h con intensidad de luz de $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

El cultivo de los esporofitos se ha realizado primero en alvéolos de 4 x 4 cm y posteriormente cuando el desarrollo de las plantas lo requería en macetas de 9 cm de diámetro, siempre dentro de envases cerrados y transparentes.

Pese a su hábitat marino característico, estudios previos indican que la germinación de las esporas es bastante sensible a la sal (Pangua et al. 2009) y se inhibe totalmente cuando la concentración es elevada. El desarrollo de los prótalos y de gametangios también se ve afectado. Pero este estudio proporciona un dato muy importante para entender cómo puede vivir y reproducirse esta planta en un ambiente fuertemente expuesto a la sal. Las esporas a pesar de no germinar en el medio con alta concentración de sal permanecen vivas, recuperando totalmente su capacidad germinativa en cuanto baja la concentración por dilución tras unas lluvias.

Nuestros resultados indican que esta especie germina con facilidad en ausencia de sal. No muestra grandes diferencias entre las temperaturas ensayadas, aunque es algo más rápida a 25°C. En condiciones óptimas tarda una media de 18 días

Muestra	Condiciones	Inicio germinación (días)	Porcentaje	TMG (días)
140B2002	20°C, 12/12h	13	17.8±4.4*	19.5±2.6
135B2011	15°C, 12/12h	13	27.8±3.3	25.4±0.4
135B2011	20°C, 12/12h	11	46.5±6.7	19.6±1.5
135B2011	25°C, 12/12h	7	45.5±4.4	18.0±1.2
76B2009	20°C, 12/12h	9	59.8±5.6	14.4±0.8



Representación de la inversa del tiempo medio de germinación frente a la temperatura de las esporas de la muestra 135B2011, para el cálculo de la temperatura base y tiempo térmico para esta muestra.



Plántula de tamaño adecuado para trasplantar a maceta.

El análisis de la relación de la velocidad de germinación respecto al aumento de la temperatura nos proporciona una temperatura base (T_b) de -10.25°C y un tiempo térmico (S) de 625°C día. Estos valores nos indican que la temperatura no es un factor determinante para la germinación de sus esporas. Esto está relacionado con el hecho de que esta es una planta adaptada a un hábitat poco habitual para los vegetales, cuyo factor limitante no es la temperatura, sino la concentración salina, y con ella la disponibilidad de agua. No es una planta muy competitiva. En este tipo de hábitat no sufre ningún tipo de presión por otras especies, por lo que ser muy competitiva no representa ninguna ventaja.

Sin embargo, comparando los valores germinativos de las diferentes muestras estudiadas, si se observan marcadas diferencias dependiendo del origen de las esporas utilizadas en los ensayos. Las esporas procedentes de poblaciones con una mayor latitud, y por tanto de lugares más frescos, muestran mayor viabilidad, mostrando un mayor porcentaje de germinación. Las esporas de poblaciones situadas en lugares con menor latitud, y mayor estrés causado por unas temperaturas medias más altas y regímenes de lluvias más escasos, muestran un número mayor de esporas inviables, y menor porcentaje de germinación.

El cultivo de la planta no es especialmente complicado. Al ser un helecho moderadamente tolerante al estrés hídrico, no requiere un control de los riegos tan minucioso como ocurre con otras especies de helechos, Pero en épocas de temperaturas elevadas necesitan riegos regulares, un par de veces a la semana.

En el medio natural la germinación se ve favorecida durante las épocas de lluvias, en las que la salinidad del suelo se reduce o incluso desaparece. También es muy importantes la existencia de criptoprecipitaciones en forma de nieblas o rocío. En el caso de la población valenciana que vive en el interior de una cueva, abierta directamente al mar son, por una parte las posibles filtraciones del agua de lluvia por las grietas, y por otra la condensación de la humedad ambiente sobre el techo y las paredes de la cueva, las que proporcionan el agua sin sal necesaria para que las esporas germinen, se desarrollen los gametofitos y se produzca la fecundación que dará lugar al desarrollo de un pequeño esporófito.

La población valenciana posee escasos individuos y se mantiene gracias a la resistencia de las esporas que permanecen viables en el suelo, formando un banco de esporas estable, a la espera de las condiciones adecuadas para reproducir con éxito nuevos individuos que anclarán sus rizomas con fuerza en las grietas más altas de las paredes, o incluso en el techo de la cueva, siempre y cuando haya suficiente suelo para permitir su desarrollo. Allí irán creciendo lentamente hasta llegar a su madurez reproductiva, momento en el que se convierten en productores de millones de esporas capaces de viajar para colonizar nuevas grietas y permanecer allí a la espera de las condiciones óptimas, como verdaderas cápsulas de vida.

Siembra a 25°C y luz tenue con un fotoperiodo mínimo de 12h de luz. En estas condiciones la germinación puede comenzar en una semana y finalizar en aproximadamente 1 mes.

Se podrán observar los gametofitos completamente desarrollados y potencialmente fértiles dos meses tras la siembra.

Se recomienda realizar los riegos con spray para favorecer la fecundación. Los esporofitos pueden tardar un par de meses más en aparecer.

Como término medio se puede programar el repicado de los esporofitos jóvenes a tierra para su cultivo y correcto crecimiento a los seis meses después de la siembra.

Cuando la densidad de las plántulas sea excesiva, tanto en la fase de gametófito como en los esporófitos, se recomienda repicar en un nuevo sustrato. Un exceso de densidad impide o ralentiza el crecimiento de las plántulas.

Cuando la planta tenga de tres a cinco frondes bien desarrolladas se recomienda trasplantar a maceta de tamaño adecuado.

Aproximadamente después de un mes ya se puede aclimatar gradualmente al exterior.



Planta aclimatada en el exterior.

Glosario

Anteridio- Órgano reproductor masculino.

Anterozoide- Gameto masculino.

Arquegonio- Órgano reproductor femenino.

Esporangio- Órgano productor de esporas.

Esporófito- En las plantas que presentan alternancia de generaciones, fase del ciclo generalmente diploide que produce esporas haploides.

Fecundación- Fusión de las células reproductoras sexuales (gametos).

Fronde- En general significa hoja, pero más particularmente se utiliza para referirse a las hojas de los helechos.

Gameto- Célula reproductora sexual.

Gametófito- En las plantas que presentan alternancia de generaciones, plántula haploide y generalmente microscópica que genera los órganos reproductores: anteridios y arquegonios. También llamado prótalo.

Gametangio- Órganos reproductores donde se formarán los gametos. Según el sexo se denominan específicamente anteridios y arquegonios.

Hábitat- Lugar en el que vive un ser vivo, en nuestro caso las plantas, considerando todo el conjunto de factores ecológicos que le afectan.

Indusio- Órgano de origen epidérmico de morfología variable, con una o varias capas de células, que protege a los esporangios de los helechos.

Prótalo- Gametófito masculino y/o femenino de los pteridófitos.

Rizoma- Tallo horizontal subterráneo. La mayoría de los helechos mediterráneos presentan este tipo de tallo.

Soro- En los helechos, conjunto de esporangios que se desarrollan y se encuentran reunidos en grupos, protegidos o no por el indusio.



Planta adulta, completamente desarrollada y en fase reproductiva.



Detalle del envés de las frondas completamente desarrolladas. Izquierda: esporangios con esporas maduras, aún cubiertos por el indusio. Derecha: esporangios ya abiertos dispersando esporas.

Agradecimientos

Este trabajo se ha cofinanciado por la Generalitat Valenciana (Consellería de Agricultura, Medio Ambiente, Cambio Climático y Desarrollo Rural, Servicio de Biodiversidad) y la Universitat de València.

Referencias bibliográficas

- Dyer AF. 1979. The culture of fern gametophytes for experimental investigation. In: Dyer AF (Ed.) The experimental biology of ferns. Academic Press. London, pp. 253-305.
- Nogueira I & Ormonde J. 1986. *Asplenium* L. In: Castroviejo & al. (Eds.) Flora Ibérica vol. 1. CSIC. Madrid, pp. 90-92.
- Pangua E, Belmonte R & Pajarón S. 2009. Germination and reproductive biology in salty conditions of *Asplenium marinum* (Aspleniaceae), a European coastal fern. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 204(9): 673-684.



A efectos bibliográficos, se sugiere citar este documento como:

Estrelles E & Ibars AM. 2015. Germinación de las esporas de *Asplenium marinum* L. (ASPLENIACEAE) y cultivo de planta adulta. *Botanic asPPECTS* 1.2: 6 - 10.