



Esporofito adulto de *Phyllitis sagittata* Guinea & Heywood.

Protocolo de

Propagación de helechos

La belleza de los helechos y sus necesidades específicas para lograr su reproducción sexual, convierte en un reto el poner en producción algunas de sus especies a partir de esporas.

Autores: Ana M. Ibars & Elena Estrelles

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



Fronde con esporangios maduros de *Cheilanthes acrostica* (Balb.) Tod.

Los helechos

Son plantas sin flores, por tanto no producen semillas. Estas plantas vasculares se dispersan y reproducen mediante esporas.

A partir de las esporas se iniciará el ciclo de reproducción sexual. Cuando germinan, se desarrolla una pequeña plántula, verde, con forma más o menos acorazonada, algo arqueada, denominada prótalo o gametofito. Se le da este nombre porque en esta plántula se formarán los órganos productores de gametos femeninos y masculinos, los arquegonios y anteridios respectivamente. Siempre en presencia de agua, un anterozoide liberado por un anteridio, nadará, alcanzará la ovocélula y la fecundará. Después crecerá una nueva planta, el esporofito, el helecho que se desarrollará hasta convertirse en adulto maduro, nuevamente productor de esporas.

Este proceso puede variar en tiempo y efectividad según las condiciones ambientales y la especie que pretendamos propagar. En el Jardín Botánico de la Universitat de València estudiamos protocolos específicos para diversas especies. Este artículo pretende dar unas pautas básicas para propagar los helechos en general, utilizando materiales fácilmente accesibles y sin un instrumental específico.

Previo a cualquier trabajo que afecte a especies silvestres debemos conocer la legislación vigente relativa a la conservación de especies vegetales y, si la especie está incluida en alguna categoría de protección, debemos previamente solicitar los permisos necesarios.



Gametofito con esporofito incipiente.

1. Obtención de las esporas.

La elección de la fronde y el momento de recolección son muy importantes para el éxito posterior. Debemos seleccionar una fronde sana, que tenga completamente formados los soros. Hay que observar su tamaño y color. Normalmente, los esporangios cuando están maduros, parecen pequeñas esferas brillantes, sobresalientes, con frecuencia oscuras, dependiendo del color de las esporas que suelen ser marrones o negras; aunque pueden mostrar coloraciones más claras, incluso amarillas.

El momento óptimo de recolección es justo antes de abrirse el esporangio. En este momento se consigue una muestra más limpia y abundante. Así, las esporas que obtengamos sufrirán menor contaminación en el cultivo posterior.

Se corta la fronde u hoja elegida con tijeras; no hay que tirar de ella, pues podemos desarraigar el rizoma y matar la planta. Si la fronde es grande no es necesario tomarla entera, solo un trozo, por ejemplo una o varias pinnas cuando es dividida.

Las frondes o fragmentos de frondes se colocan entre hojas de papel blanco, con un peso ligero encima y se dejan secar en un ambiente lo más seco posible, entre 3 a 10 días, para que se abran los esporangios y liberen las esporas.

Recomendamos que el papel sea lo más satinado posible, para que las esporas no se queden trabadas en la trama del papel, de manera que luego resbalen bien y podamos recogerlas con más facilidad.

Lo ideal es doblar la hoja de papel por la mitad, e introducirla entre hojas de papel de periódico, colocando varios libros encima a modo de prensa.

Si estamos en el campo, recomendamos doblar los bordes del pliego de papel, cerrando las frondes en su interior, a modo de pequeño paquete, para que sea más fácilmente manipulable y no se pierda el material. El pliego así preparado se puede introducir en un libro o carpeta para que quede plano y las hojas no se enrollen al secarse.



Al secarse la hoja, los esporangios se abren liberando las esporas, que pueden observarse como un fino polvillo al levantar la fronde del papel. Las esporas se recogen cuidadosamente golpeando el pliego de papel

doblado, de manera que vayan resbalando hacia el borde sobre el envase donde se vayan a conservar hasta el momento de la siembra. Para asegurar una muestra más limpia podemos utilizar tamices de malla muy fina, de 50 μm a 150 μm , que eliminen esporangios y demás restos.

Se recomienda utilizar un envase pequeño, bote o vial, preferiblemente de vidrio. También puede utilizarse plástico, pero este material suele tener cierto problema de adherencia de las esporas a las paredes, debido a la electricidad estática. En este último caso las esporas que quedan pegadas a la pared se pueden arrastrar en el momento de la siembra con un poco de agua.



Cuando la recolección se realice con fines de conservación de las poblaciones naturales, hay que tener en cuenta que el muestreo debe ser representativo de la variabilidad genética que pueda haber en dicha población. Existen diversos manuales que indican la metodología adecuada para ello (ENSCONET 2009, Bacchetta et al. 2008). En cualquier caso, el sentido común debe regir en los muestreos: debemos asegurar la pervivencia de las poblaciones muestreadas. También se recomienda preparar un pliego testigo, y depositarlo en un herbario de referencia, para poder revisar con posterioridad las características y la adscripción taxonómica de la población recolectada.

2. Germinación.

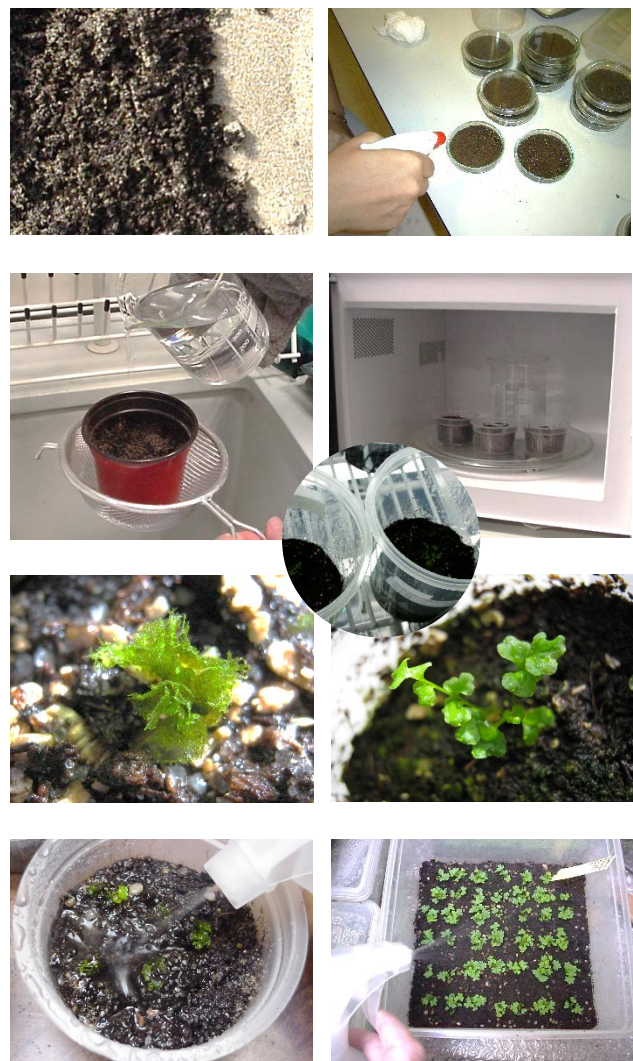
Para la germinación se puede utilizar un sustrato de turba negra y arena fina en proporción 3:1, dispuesto en un envase, preferiblemente transparente, con tapa hermética. En el mercado hay disponible una gran variedad de envases de plástico útiles para este fin.

El sustrato se puede esterilizar para eliminar otras esporas o semillas que lo contaminen, mediante un calentamiento rápido con microondas (junto a un vaso de agua, a máxima potencia durante tres minutos) o mediante un riego superficial con agua hirviendo. Posteriormente, se debe dejar enfriar completamente.

La siembra se realiza espolvoreando una pequeña cantidad de esporas sobre el sustrato humedecido. Cuanto más pequeña sea la cantidad de esporas sembrada, mejor es el desarrollo posterior y menos repicados tendremos que realizar. Si la densidad de plántulas es excesiva, llegará un punto en el que su desarrollo se verá limitado por el espacio y la competencia por los nutrientes, siendo necesaria la separación manual de las pequeñas plantas, para que puedan seguir creciendo.

Como las esporas son tan pequeñas, son muy difíciles de ver a simple vista, de modo que nos dará la impresión de que no ha caído nada. Normalmente, si al espolvorear vemos los montoncitos de esporas sobre el sustrato, es que ya hemos echado demasiadas.

Tras la siembra se rocía ligeramente el sustrato con un poco de agua en spray, si puede ser destilada mejor. Nuestro mini invernadero se tapa y se coloca en un lugar luminoso, pero sin que reciba la luz directa del sol.



3. Repicado de gametofitos y plántulas de esporofitos.

Aproximadamente un mes después de la siembra, se pueden observar los gametofitos verdes más o menos desarrollados, creciendo sobre la tierra. Dependiendo del tamaño de los mismos y de la densidad, debemos repicar a un nuevo sustrato para favorecer el adecuado crecimiento. Una de las mezclas idóneas es turba negra, fibra de coco y arena fina en proporción 3:1:1, aunque se puede modificar según la ecología de las especies.

Dado el pequeño tamaño de los gametofitos, este proceso lo podemos realizar utilizando la punta de una lanceta, aguja gruesa o pinzas de punta fina, con la que levantaremos pequeñas porciones del tapiz verde, y que dejaremos caer suavemente sobre la tierra. El riego debe hacerse con un spray fino.

En este momento, los gametofitos son especialmente sensibles a la desecación, por lo que semanalmente debemos revisar el grado de humedad, y si es necesario volver a rociar un poco de agua, sin que queden nunca encharcados. Esto además de mantener la humedad favorece la movilidad de los gametos masculinos, que literalmente nadan hasta alcanzar el gameto femenino, facilitando la fecundación, y con ello la aparición de los esperados esporofitos.

VIDEOS: [Movilidad de los gametos masculinos. 1. Saliendo del anteridio; 2. Alrededor del arqueogonio.](#)

Cuando aparecen las primeras hojas del esporofito, individualizaremos las plantas, y las iremos repicando a envases o macetas más grandes, acorde al tamaño de la planta. Cuando las frondes u hojas tocan la tapa del bote, es la hora de aclimatarlas al ambiente exterior. Se recomienda que la planta tenga al menos tres hojas verdaderas.



4. Aclimatación.

Cuando estimamos que la planta ya puede soportar las condiciones ambiente, lo cual dependerá del lugar en el que estemos realizando el cultivo, podemos exponerla gradualmente al ambiente exterior. No es recomendable sacarla directamente fuera. Podemos introducir la maceta (6-8 cm) en una bolsa de plástico o envase, transparente y cerrado.

La aclimatación debe realizarse poco a poco. Se puede empezar abriendo un poco la bolsa, realizando agujeros en la tapa del envase, o quitando parcialmente la tapa. Tras una semana aproximadamente, en la que vamos exponiendo la planta al ambiente podemos sacarla definitivamente al aire exterior. En cualquier caso, durante el primer mes debemos controlar los riegos para que la planta no sufra ningún tipo de estrés hídrico, pero sin provocar un exceso de humedad que dañaría el rizoma.

Finalmente, debemos colocar la planta en unas condiciones adecuadas para el crecimiento de la especie que pretendamos cultivar. El ambiente óptimo para nuestro helecho se puede identificar buscando información sobre el hábitat natural donde crece la planta.

- Revisar la legislación vigente relativa a la conservación de especies vegetales silvestres, y solicitar los permisos cuando sea necesario.
- Determinar el momento óptimo de recolección.
- Cortar una hoja o trozo de hoja con esporangios maduros.
- Prensar ligeramente en un pliego de papel satinado durante 3-10 días en ambiente seco.
- Recoger las esporas en un bote o vial pequeño de vidrio preferiblemente.
- Preparar un sustrato de turba negra y arena fina en proporción 3:1.
- Colocar el sustrato en un envase, preferiblemente transparente, con tapa hermética.
- Esterilizar el sustrato.
- Espolvorear una pequeña cantidad de esporas sobre el sustrato humedecido.
- Tapar y colocar en un lugar luminoso, pero sin recibir la luz directa del sol.
- Revisar al mes para observar el crecimiento y densidad de los gametofitos.
- Si la densidad es excesiva, hay que repicar algunos gametofitos a un nuevo sustrato para favorecer el correcto desarrollo.
- Revisar periódicamente la humedad y la aparición de gametofitos. En este periodo se recomiendan pequeños riegos con spray suave, que favorece la fecundación.
- Cuando se observa la aparición del esporofito, se debe individualizar la plántula en alveolo o maceta pequeña.
- Los trasplantes a macetas de mayor tamaño se realizarán en función del ritmo de crecimiento de la planta, hasta que ésta alcance la fase adulta.
- La aclimatación es un proceso lento y cuidadoso que permitirá adaptarse a la planta al nuevo entorno donde va a crecer, con una temperatura, una humedad y una iluminación diferentes a la del envase donde ha estado creciendo hasta ahora.

Glosario

Anteridio- Órgano reproductor 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.

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

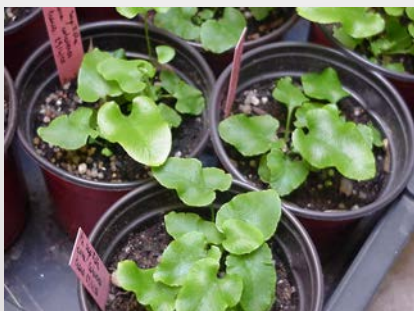
Indusio- Órgano de origen epidérmico de morfología variable, con una o varias capas de células, que protege a los esporangios de los helechos.

Pinna- En las hojas divididas, cada uno de los folíolos o divisiones primarias, pueden ser simples o complejas. Cada una de las divisiones que parten del raquis.

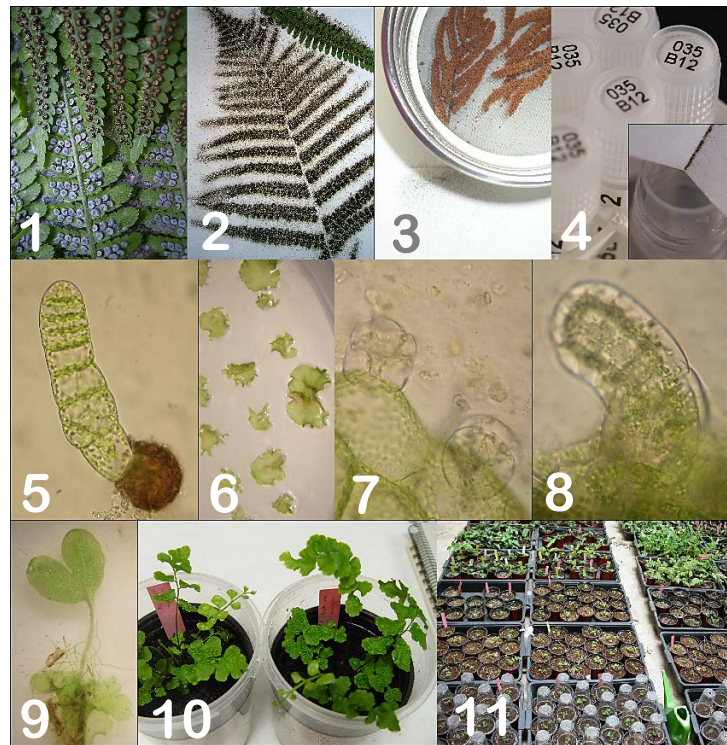
Prótalo- Gametófito masculino y/o femenino de los pteridófitos.

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.



Esporofito joven de *Phyllitis sagittata* Guinea & Heywood.



Detalles sobre la propagación y cultivo de helechos, desde la recolección de esporas hasta la obtención de esporofitos (Ibars & Estrelles 2012). 1. Envés de la fronde con los soros; 2. Esporas liberadas sobre una hoja de papel; 3. Tamizado de esporangios maduros para separación de esporas limpias; 4. Disposición de esporas en viales para su conservación; 5. Espora germinada con desarrollo de gametófito incipiente; 6. Gametófitos adultos; 7. Anteridios maduros liberando los gametos masculinos; 8. Arquegonio; 9. Primera hoja del esporofito creciendo del gametófito tras la fecundación; 10. Esporofitos en pleno desarrollo; 11. Vista del invernadero de cultivo de helechos con plantas en diversas fases de desarrollo.

Agradecimientos

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

Referencias bibliográficas

Bacchetta G, Bueno-Sanchez A, Fenu G, Jimenez-Alfaro B, Mattana E, Piotto B, Virevaire M (Eds.). 2008. Conservación *ex situ* de plantas silvestres. Principado de Asturias-La Caixa. 378 pp.

ENSCONET. 2009. Ensconet Seed Collecting Manual for Wild Species. (URL: http://www.kew.org/sites/default/files/ENSCONET_Collecting_protocol_English.pdf).

Ibars AM, Gómez-Serrano MA, Mayoral O & Estrelles E. 2011. Prioridades para la conservación en el ámbito de los helechos en Castilla-La Mancha. In: E. Hernández Bermejo & J.M. Herranz Sanz (Eds.). Protección de la diversidad vegetal y de los recursos fitogenéticos en Castilla-La Mancha. Instituto de Estudios Albacetenses "Don Juan Manuel". Albacete, pp. 193-215.

Ibars AM & Estrelles E. 2012. Recent developments in *ex situ* and *in situ* conservation of ferns. *Fern Gazette* 19(3): 67-86.

UNIVERSITAT DE VALÈNCIA
Jardí Botànic

GENERALITAT
VALENCIANA

A efectos bibliográficos, se sugiere citar este documento como:

Ibars AM & Estrelles E. 2015. Protocolo de propagación de helechos. *Botanic asPPECTS* 1.1: 1 - 5.