

Jugant amb la genètica

Obtenció de noves varietats de gerani

Paula Roig Segovia
2n Batxillerat A
Col·legi Maristes Valldemia
Tutora: Cecília Bertran
Lavado
Any 2009

ÍNDEX

1.- INTRODUCCIÓ	4
2.- EL GERANI	6
2.1. Introducció	6
2.2. Orígen	6
2.3. Condicions de cultiu	7
2.4. Tipus de gerani	9
3.- HIBRIDACIÓ	11
3.1. Tria dels parentals masculins i femenins.....	13
3.2. Preparació dels parentals	17
3.3. Pol·linització	20
3.4. Recollida de les llavors	24
3.5. Germinació: escarificació mecànica i rescat d'embrions in vitro (al laboratori)	26
3.6. Germinació de la llavor en el medi de cultiu	37
3.7. Traspàs de la plàntula del medi de cultiu a tack, aclimatació a l'hivernacle	38
3.8. Traspàs de la planta del tack a test i aclimatació al camp d'assaig	42
3.9. Primera selecció dels seedlings i clonació d'aquests	44
3.9.1. Criteris de selecció.....	45
3.9.2. Valoracions dels seedlings	47
3.9.3. Clonació	59
3.10. Assaig clonal i segona selecció	61

3.11. Assajos agronòmics i tercera selecció	62
3.12. Cultiu a diferents localitats	63
3.13. Precomercialització	63
3.14. Arribada al mercat de les noves varietats	64
4.- CONCLUSIONS.....	66
5.- BIBLIOGRAFIA.....	68
6.- ANNEXOS.....	67
Annex 1.....	69
Annex 2.....	71
Annex 3.....	72
Annex 4.....	73
Annex 5.....	77
Annex 6.....	81
Annex 7.....	84
Annex 8.....	87
Annex 9.....	89

Gràcies de tot cor a:

La Cecília Beltran, la meva tutora de treball de recerca, pel seu ajut, temps i la seva aposta amb il·lusió.

L'Ignasi Calvo i en Mourad Mnejja, pel seu coneixement profund del gerani, la seva dedicació i els seus consells.

L'Eshter Gavaldà i la Maite Mañosa, pel seu esforç , treball i la seva implicació en el projecte.

Als meus pares, pel seu ajut. Al meu pare, per tots els viatges i distàncies recorregudes i per encomanar-me l'entusiasme per el món del gerani. A la meva mare, per la seva companyia i suport en tot moment.

A la meva tieta Anna, per guiar-me i pel cap de setmana d'inspiració andorrana.

Sense vosaltres aquest treball no hauria estat possible i és per això que us vull agrair la vostra dedicació i entrega.

1 Introducció

Tota la vida he estat envoltada d'unes petites plantes de color roig, la majoria, que guarneixen les nostres terrasses i jardins: els geranis, molt estimades especialment pels meus avis paterns. Fins que vaig començar a fer aquest treball, per a mi només havien estat això, geranis, el mitjà de vida de la meva família paterna i per tant part del meu. De cop, sense saber com, se'm va ocórrer, perquè no crear el meu propi gerani, o almenys intentar-ho, seria la meva oportunitat d'endinsar-me de debò en un món pel qual sense adonar-me, he estat envoltada des de ben petita. D'aquesta manera s'acomplien les dues condicions que jo tenia clares a l'hora de triar el tema pel meu treball: per una banda que fos de l'àmbit de ciències, àmbit amb el que m'hi trobo identificada i per altra banda, era un tema que em motivava i agradava, ja que li havia de dedicar moltes hores.

Sabia que no seria un treball fàcil, tot i tenir a l'abast contactes i accés a instal·lacions, ja que requereix molt de treball de camp i molta presència física als camps d'assaig i laboratoris. De cap manera volia que el meu treball fos un discurs teòric sobre el gerani, sinó una vivència propera de com crear-ne un de nou, per la qual cosa, no busqueu una redacció massa tècnica, sinó una manera d'explicar els fets i les pràctiques portades a terme, intentant aclarir sempre els termes que poden ser més desconeguts.

Una limitació molt important, alhora motivació per a mi, ha estat el fet de treballar amb éssers vius, que han necessitat un seguiment constant de l'evolució del treball, amb terminis concrets per a la realització de les pràctiques programades, la qual cosa ha demanat la meva presència setmanal a les diverses instal·lacions.

Gairebé tothom sap què és un gerani, el que la majoria desconeix (i jo també, abans de fer aquest treball) és que darrera d'aquest hi ha una gran feina.

Empreses i institucions treballen per aconseguir noves varietats de geranis o per millorar varietats ja existents al mercat. En aquest treball de recerca

s'investiga sobre aquest procés d'obtenció i a petita escala s'ha realitzat el mateix, la creació d'un de nou. Per entendre el procés, faré un paral·lelisme amb animals. Per tal de tenir un nou ésser, sigui gerani o cadell, necessitarem uns pares, s'ha de dur a terme el creuament de gàmetes masculins i femenins, s'ha de cuidar l'embrió obtingut en un medi idoni i posteriorment se l'ha d'introduir poc a poc en el món real, on per si sol haurà de sobreviure amb tot allò que li haurem ensenyat. Un cop estigui en aquest món haurà de desenvolupar al màxim les seves característiques i aptituds per tal de poder sobreviure .

La meva ignorància inicial em va portar a pensar que podria crear una nova varietat de gerani que seria apta per arribar al mercat i la seva introducció al mateix, però no ha estat possible ja que aquest procés té una durada aproximada de cinc anys. És per això que el treball es desenvolupa a nivell pràctic en la creació de la nova planta (nou mesos) , i a nivell teòric de tot el procés, ja que aquest es continuarà realitzant encara que hagi finalitzat el present treball. Per tal de facilitar la lectura i ressaltar la importància del treball de camp, aquest es troba emmarcat sobre un fons de color taronja clar i aclarirà així la part conceptual que l'antecedeix.

Es podrà observar que la bibliografia emprada ha estat escassa, això és degut a que és un procés que només porten a terme poques empreses a Espanya. Per tant la poca que hi ha , ha estat usada bàsicament com a recolzament del treball, sense extreure cites textuais de manuals. Tampoc es registren les reunions de treball amb els experts , perquè han estat contínues i informals, tot i que han servit per aclarir dubtes que han anat sorgint. També cal saber que gairebé totes les imatges del treball són pròpies, excepte aquelles en què s'indica la font de manera explícita.

En aquest treball, per tant, podem entendre i viure com es crea un *Pelargonium* de nova varietat, és a dir un nou gerani.

2 El gerani

2.1 Introducció

Els geranis poden presentar una gran varietat de formes, però generalment són petits arbustos amb fulles lobulades¹ i de diferents mides que posseeixen unes flors arrodonides i de colors molt variats

Anomenem popularment gerani a una planta a la qual no li correspon aquest nom sinó el de pelargonium. El gènere *Geranium* és originari d'Europa i d'Amèrica septentrional i habita a zones de clima fred. En canvi, el gènere *Pelargonium* és original de Cap de Bona Esperança (Sud-àfrica) i habita en zones de clima sec i temperatures suaus. Tot i que presenten diferències entre sí, tots dos gèneres pertanyen a la mateixa família: les geraniàcies.

El fet de que actualment denominem tant als uns com als altres geranis és una mala herència del passat que ha arribat fins als nostres dies, dit això, no té cap importància anomenar-los d'una manera o altra. En aquest treball quan parlem de geranis ens referim als *Pelargoniums*.

2.2 Origen

La paraula gerani prové del grec *geranos*, que significa "grulla", ja que la forma de les llavors d'aquesta planta és molt similar al cap d'aquest animal. Com hem dit abans, el gerani es original de Sud-àfrica i fou importat a Europa l'any 1709 per un conjunt d'exploradors. Aquesta planta va despertar tant d'interès que durant els anys posteriors a la seva introducció a Europa molts botànics van viatjar al continent Africà per tal d'iniciar la recerca de noves varietats.

¹ Una fulla lobulada és aquella que presenta una forma arrodonida.

2.3 Condicions de cultiu

Podem distingir dos tipus de cultiu de geranis: el cultiu de producció i el cultiu particular. En cadascun d'aquests tipus trobem condicions de cultiu diferents:

► Cultiu de producció

Habitualment aquest cultiu és tècnic i el fan les empreses productores de plantes ornamentals en general. Es realitza normalment als hivernacles, que són unes estructures fetes de ferro i plàstic o vidre on es mantenen les condicions òptimes de cultiu (es regula el reg, la temperatura, la humitat i la lluminositat).

Els paràmetres més importants que s'han de tenir en compte a l'hora de cultivar geranis dins d'un hivernacle, són els següents:

- **Substrat:** el gerani requereix una terra porosa per tal d'evitar l'acumulació d'aigua al test i l'aparició d'humitat que pot ocasionar certes malalties. Normalment el substrat és una mescla a base de turba² rossa, turba negra i perlita. El pH d'aquest substrat ha de ser neutre és a dir, ha d'oscil·lar entre 6 i 7. La mescla s'introdueix en uns recipients de plàstic anomenats testos.
- **Reg:** als hivernacles sol haver-hi un sistema de regadiu gota a gota, on cada planta disposa del seu degotador, mitjançant el qual rep l'aigua i els nutrients (dissolts) necessaris pel seu creixement. La freqüència de reg varia depenent de l'estació de l'any ja que les necessitats hídriques de la planta són diferents (degut als canvis de temperatura i d'humitat). Si es tracta de la tardor o l'hivern normalment les plantes són regades dos cops per setmana i a la primavera o a l'estiu un cop al dia.

² La turba és un combustible fòssil que està format per residus vegetals acumulats a zones pantanoses. La perlita és una matèria granulada i lleugera de color blanc que es mescla amb la sorra o la turba per fer que no sigui tan compacta.

- **Temperatura i humitat** : les condicions òptimes de temperatura estan entre els 12° C i 24° C i una humitat relativa³ del 75 %, aquestes s'aconsegueixen a través d'un sistema de calefaccions i ventilacions controlades pel productor.
- **Lluminositat:** els hivernacles es disposen en zones molt il·luminades per tal que les plantes rebin la llum necessària per fer la fotosíntesi, tot i així, hi ha sistemes de control de la lluminositat per evitar que rebin més llum de la que necessiten. La quantitat idònia de llum que ha de rebre un gerani està entre 30.000 i 40.000 lux⁴.
- **Poda:** en el cultiu de producció normalment no es realitza cap tipus de poda sinó que s'utilitzen reguladors de creixement químics aplicats en dues ocasions: a les tres i a les sis setmanes després de la sembra del gerani.

► Cultiu particular

Aquest cultiu no és tan estricte com l'anterior sinó que és més senzill i artesanal. Es realitza habitualment en balcons, terrasses i jardins. Les condicions a les que estan sotmesos els geranis també són diferents i no es pot fer un control estricte de les variables que hi influeixen, per això es recomana cultivar els geranis a l'exterior tenint en compte aquest seguit de paràmetres

- **Substrat:** la terra que demana un gerani a l'exterior ha de ser porosa per tal que li proporcioni un bon drenatge⁵ i oxigenació de les arrels. Normalment s'usa una mescla formada per terra bàsica de jardí, terra de bosc, fens o turba (podem trobar aquesta mescla ja preparada als centres de jardineria especialitzats).
- **Reg:** el reg varia depenent de l'època de l'any i la quantitat de terra en la que està plantada el gerani. Si es tracta d'un test el reg serà

³ La humitat és la quantitat de vapor d'aigua present a l'aire. Si parlem d'humitat relativa és la massa de vapor d'aire que hi ha respecte la massa total que podria arribar a tenir abans de condensar-se.

⁴ Un lux és la unitat del Sistema Internacional per mesurar el nivell d'il·luminació per m².

⁵ El drenatge és el procediment pel qual una planta elimina l'excés d'aigua o d'humitat a la terra.

més freqüent i si per contra es tracta d'una plantació en un jardí el reg serà més espaiat en el temps. Sempre s'ha de mantenir el substrat en un grau d'humitat moderat i s'ha d'evitar regar les fulles per tal d'evitar possibles malalties. També s'ha de subministrar adobs (líquids o sòlids) una vegada al mes aproximadament.

- **Temperatura i humitat:** un gerani pot suportar temperatures que oscil·lin entre 0° C i 35 ° C, igualment la humitat relativa ha de rondar el 75%.
- **Lluminositat:** encara que el gerani pot estar disposat durant tot el dia a ple sol, s'aconsella que disposi d'una estona d'ombra per tal que la planta reposi. Això si, en cap cas pot estar només a l'ombra ja que no obtindrem floració.
- **Poda:** s'ha de mantenir sempre net de flors i fulles velles, per un bon manteniment s'han de realitzar dues podes: una suau a finals d'estiu i una altra més profunda abans de primavera (per tal que pugui brotar i florir correctament).

2.4 Tipus de gerani

Hi ha una gran quantitat d'espècies de geranis, aproximadament unes 300, tot i així les més conegudes són quatre:

▶ **Gerani zonal (*pelargonium zonale*):**

És el gerani més conegut, és compacte i les seves branques són erectes i abundants i tenen una altura d'uns 50 cm. Les fulles són amples i rodones, tenen una textura similar a la del vellut i tot i que estan repartides per tota la planta, en trobem més a la base. Aquestes poden ser de dos colors: verd clar o verd fosc, és el que coneixem com a línia verda o línia negra. En ambdós casos les fulles poden tenir dibuixada una franja més fosca que denominem **zona**, aquesta pot tenir diverses intensitats.

Podem distingir dos tipus de geranis depenent del nombre de pètals que tenen les seves flors, si en tenen menys de 5 ó 6 parlem de flor simple i si en tenen més parlem de doble. En alguns casos en què no es vegi clara la diferència podem parlar de semidoble. Alguns pètals tenen **ull** , que és un cercle de color a la part central de la flor, on s'uneixen tots els pètals. Aquest ull al seu torn pot tenir al seu interior un altre color diferent anomenat **centre**.

Els colors de les seves flors poden ser d'una gama molt variada: vermell, blanc, rosa, salmó, taronja, violeta...

El gerani zonal és el que s'ha estudiat i utilitzat en aquest treball de recerca



Fig 1. Gerani zonal. Font: www.gruproig.com

► Gerani d'heura (*pelargonium peltatum*)

És un gerani de penjar i normalment el veiem decorant balcons i finestrals. Té unes fulles carneses i brillants que són molt similars a les de l'heura, d'aquí el seu nom. En aquest cas, les fulles només poden ser de la línia verda i poden tenir o no zona

Com en el cas anterior, ara també podem distingir entre simples, dobles, semidobles depenent del nombre de pètals per flor. Els colors d'aquestes poden ser molt variats: lila, rosa, vermell, violeta, blanc...



Fig 2. Gerani d'heura ,Font: www.infojardin.net

► Gerani de pensament (*pelargonium grandiflorum*)

És un gerani que té una forma similar a la d'un arbust ja que tenen un port robust i llenyós. Les seves fulles són de color verd clar, destaquen per tenir les voreres dentades, per ser grosses i rissades i per mantenir-se normalment semitancades. Les flors són molt més grans que en el cas anterior i els pètals poden ser dobles o semidobles i acostumen a estar decorats amb taques de colors a la part central. Els colors són molt vistosos: blanc, malva, fúcsia, salmó, negre...



Fig 3. Gerani de pensament. Font: www.rettarhol.com

► Gerani d'olor

Aquest grup està format per diverses espècies de geranis que són conegudes per l'aroma que desprenen les seves fulles: rosa, llimona, menta, poma... Aquesta olor és característica de cada espècie i es pot percebre durant tot l'any. No acostumen a ser vigorosos i les seves flors ni són gaire grans ni massa llampants. Cal dir que actualment aquests geranis aromàtics tot i que s'utilitzen com a planta ornamental en alguns casos també s'utilitzen en el món de la indústria perfumista.

Alguns exemples de geranis d'olor són: *pelargonium crispum* i *pelargonium tomentosum* (llimona), *pelargonium graveolens* (rosa), *pelargonium odorantissim* (poma).



Fig 3. *Pelargonium crispum*. Font: www.infojardín.net

3 Hibridació

Cada any empreses privades juntament amb institucions públiques realitzen projectes amb l'objectiu d'obtenir noves varietats de geranis.

Es busquen varietats que siguin físicament atractives i originals que puguin ser acceptades al mercat i altres varietats que genèticament millorin les ja existents. Per això, cal la col·laboració d'un equip especialitzat en millora genètica vegetal i agents comercials d'empreses que obtenen i produeixen geranis.

Aquestes noves varietats s'obtenen mitjançant la hibridació. Hibridar consisteix en fusionar dues cèl·lules genèticament diferents per donar lloc a una tercera de característiques mixtes. La primera hibridació o creuament realitzat amb geranis va ser realitzat al segle XVIII . Gràcies a aquest procés s'han anat obtenint totes les varietats de geranis que avui en dia coneixem i cultivem.

La hibridació de geranis té una durada aproximada de cinc anys. Durant la primavera del primer any es realitzen els creuaments; aproximadament es fan unes 20.000 pol·linitzacions, de les quals s'obtenen 10.000 llavors (hi ha un 50 % d'èxit més o menys).

A la primavera del segon any es sembren aquestes llavors i donaran lloc a 5.000 plantes genèticament diferents entre elles. Aquest mateix any, durant la temporada estiu – tardor es farà una selecció directa sobre aquests seedlings⁶ i el nombre de geranis escollits rondarà entre els 100 i 150. Aquestes plantes seleccionades es multipliquen per esqueix i s'obtenen quatre clons de cada un. Els clons seran valorats a finals de la tardor i es seleccionaran de 30 a 50.

Durant el tercer any amb aquests clons triats es realitza un assaig agronòmic a l'hivern i a un altre a l'estiu. Ambdós tenen lloc a dues localitats diferents. D'aquests assajos es solen escollir de 10 a 15 plantes que es cultiven durant el quart any a diferents instal·lacions de productors, on se'ls subministra una cura bàsica.

⁶ El seedling és el gerani que sorgeix de la germinació de la llavor recollida. Prové de la paraula *seed* , que en anglès significa llavor.

Els millors d'aquests cultius formaran el grup de precomercials i finalment en el cinquè i últim any es comercialitzen les varietats provinents d'aquesta anterior campanya. Acostumen a arribar al mercat de 0 a 5 varietats.

Aquest procés avarca els següents passos, que posteriorment seran desenvolupats .

- 1) Tria dels parentals masculins i femenins.
- 2) Preparació dels parentals.
- 3) Pol·linització.
- 4) Recollida de les llavors
- 5) Germinació: escarificació mecànica i rescat d'embrions in vitro (al laboratori).
- 6) Germinació de la llavor en el medi de cultiu.
- 7) Traspàs de la plàntula del medi de cultiu a tack, aclimatació a l'hivernacle.
- 8) Traspàs de la planta del tack a test i aclimatació al camp d'assaig.
- 9) Primera selecció dels seedlings i clonació d'aquests
- 10) Assaig clonal i segona selecció
- 11) Assajos agronòmics i tercera selecció
- 12) Cultiu a diferents localitats
- 13) Precomercialització
- 14) Arribada al mercat de les noves varietats.

3.1 Tria dels parentals masculins i femenins

El primer pas del procés d'hibridació consisteix en escollir les plantes que faran de parentals i que per tant posteriorment donaran la descendència. Com que el gerani és planta hermafrodita , un sol exemplar es capaç de produir gàmetes masculins i femenins alhora. És a dir que una mateixa planta actua com a parental masculí i parental femení .

A l'hora de triar els parentals cal buscar aquells que hagin donat una bona descendència en experiments anteriors, que tinguin unes bones

característiques físiques i genètiques i que per tant ens assegurin uns bons resultats.

17/04/2008

La part pràctica del meu treball va començar amb una reunió amb en Mourad Mnejja que és un membre del departament de millora genètica vegetal de l'IRTA (Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries de Cabrils) i L'Ignasi Calvo, que és un enginyer agrònom que treballa a Grup Roig. Els vaig explicar què era el treball de recerca i les idees que tenia per a realitzar el meu i ràpidament em van oferir el seu ajut. Aquest primer dia de reunió va tenir lloc a l'IRTA , allà em van mostrar les instal·lacions mentre m'explicaven en què consisteix la seva feina. Em va semblar molt interessant i vaig decidir continuar endavant amb la meva idea: l'estudi de l'obtenció de noves varietats de geranis i la meva pròpia creació d'una varietat, a ser possible, que millori les existents.

21/04/2008

El 21 d'abril de 2008 vaig tornar a l'IRTA i juntament amb en Mourad vàrem seleccionar 5 parentals existents al mercat⁷. Aquestes les vam triar ja que en processos anteriors havien donat una bona descendència, d'aquesta manera m'assegurava uns bons resultats per a la part pràctica del meu treball.

Un cop triats els cinc parentals vaig realitzar un petit anàlisi dels següents paràmetres, per tal de poder comparar les seves característiques amb els descendents que obtindrem al final del procés:

- a) El port : és la grandària i forma del gerani , pot ser compacte (es caracteritza per ser de curta alçada i ser atapeït, té molta vegetació i tant els brots⁸ com els peduncles⁹ són curts i propers a la tija), mitjà (té una altura mitjana i acostuma a tenir menys vegetació, els seus peduncles i brots són més llargs) o alt (és d'elevada altura, té la

⁷ Els parentals són produïts i comercialitzats per Grup Roig i formen part de la seva línia comercial Costa Brava. Veure les fotografies de les fulles i les flors de cada parental a l'annex 1.

⁸ El brot és la branqueta tendra i en creixement d'una planta.

⁹ El peduncle és el suport que uneix la flor del gerani amb la tija d'aquest.

vegetació repartida i no atapeïda i els seus peduncles i brots bastant llargs i llunyans a la tija).

- b) El tipus de creixement: segons la tendència de creixement que té el gerani, aquest pot ser erecte (si creix cap amunt i amb una tendència vertical) o penjant (si creix cap avall i amb una tendència més horitzontal).
- c) El tipus de flor: la flor del gerani es pot classificar segons el nombre de pètals que té, pot ser simple (si té 5 pètals o menys) , doble (si en té més de 5).
- d) El color de la flor , que depèn de cada exemplar. Hi ha una gama de colors ja fixada que ens indicarà el color de cada gerani.
- e) El color de la fulla, que pot ser verda (si es tracta d'un verd claret) o fosca (si es tracta d'un verd fosc, tirant a negre).
- f) La zona de la fulla: la zona és una línia de color fosc que pot tenir o no la fulla d'un gerani. Hi ha diferents graus de zones segons la seva intensitat.

A continuació hi ha l'anàlisi dels parents utilitzats i també una fotografia de la planta en general:

1. Costa Brava Bright Orange.

- a) Port compacte.
- b) Creixement erecte.
- c) Flor doble.
- d) Taronja brillant.
- e) Fulla verda.
- f) Amb zona.



Fig 4. Costa Brava Bright Orange

2. Costa Brava Strawberry with eye.

- a) Port compacte.
- b) Creixement erecte.
- c) Flor doble.



Fig 5. Costa Brava Strawberry with eye

- d) Rosa amb centre vermell.
- e) Fulla verda.
- f) Sense zona.

3. Dark Costa Brava Lavender with eye.

- a) Port compacte.
- b) Creixement erecte.
- c) Flor doble.
- d) Malva fosc amb centre lila.
- e) Fulla fosca.
- f) Sense zona.



Fig 6. Dark Costa Brava Lavender with eye.

4. Costa Brava Red.

- a) Port mitjà.
- b) Creixement erecte.
- c) Flor doble.
- d) Vermell.
- e) Fulla verda.
- f) Amb zona.



Fig 7. Costa Brava Red

5. Costa Brava Purple with eye.

- a) Port mitjà.
- b) Creixement erecte.
- c) Flor doble.
- d) Rosa amb centre púrpura.
- e) Fulla verda.
- f) Sense zona.



Fig 8. Costa Brava Purple with eye

Un cop s'han triat els cinc parentals, s'han d'aclimatar en un hivernacle, en aquest cas disposem d'una petita zona dels hivernacles de l'IRTA a Cabrils. Quan ja estan aclimatats, cal que els prepararem per a la posterior pol·linització.

3.2 Preparació dels parentals

Abans de començar a parlar sobre la preparació dels parentals és necessari conèixer les parts més importants de les flors i també saber diferenciar les masculines o gineceu (m) de les femenines o androceu (f). En el dibuix que hi ha a continuació les podem observar ben diferenciades.

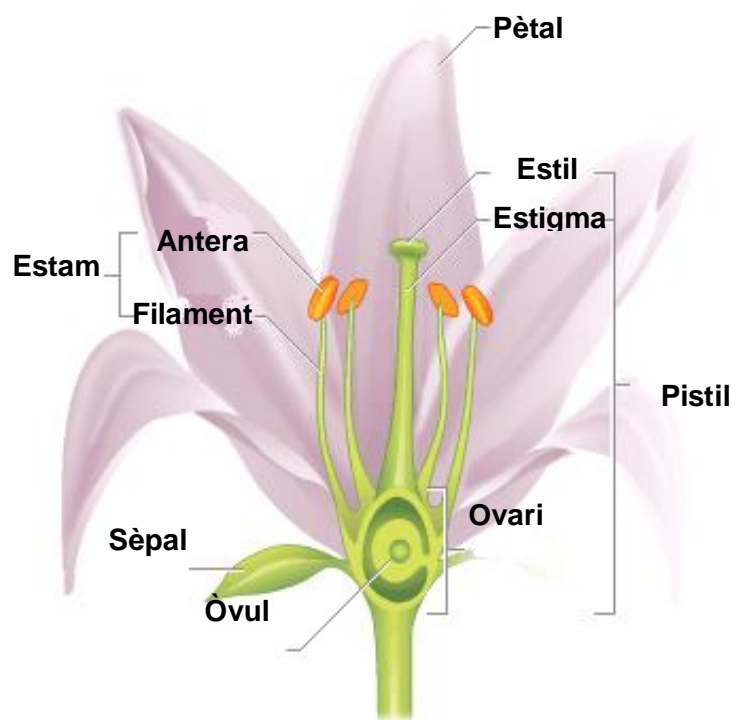


Fig 9. Parts principals d'una flor. Font : www.google.es
(traduït)

- **Sèpal:** Petites fulles que neixen del tàlem i que se situen sota els pètals.
- **Pètal:** Cadascuna de les parts que formen la corol·la de la flor. Els seus colors cridaners serveixen per a atraure als insectes.
- **Ovari:** Al seu interior conté un o més òvuls, els quals un cop siguin fecundats donaran lloc a les llavors.
- **Estam:** Tots i cadascun dels òrgans masculins de la planta.(m)
- **Filament:** Part inferior de l'estam que sosté l'antera.(m)
- **Antera:** Part de la flor on es formen els grans de pol·len, es troba a la part superior de l'estam.(m)

- **Pistil:** Estructura similar a una fulla que envolta els òrgans reproductors femenins.(f)
- **Estil:** Prolongació de l'ovari que sosté l'estigma (f)
- **Estigma:** extrem superior de la flor que forma part de l'òrgan femení i que s'encarrega de rebre el pol·len.(f)

22/04/2008, 29/04/2008, 6/05/2008, 13/05/2008

Dos dies després de la tria, vaig realitzar la preparació dels parentals. Aquesta l'he realitzada quatre vegades en quatre dies diferents per poder fer moltes pol·linitzacions i així obtenir un elevat nombre de llavors.

Material:

► Unes petites alicates de jardineria : ens serviran per a tallar tots els pètals i els sèpals , deixant només els pistils (és a dir : estigmes, estils i ovaris) dels geranis

Procés:

Primer de tot cal localitzar tots els capolls de cada parental. En trobarem de dos tipus: els oberts i els tancats. Els primers cal que els traiem sencers i amb la mà, ja que al estar oberts no ens serveixen; els segons els hem d'envoltar per la part central amb les alicates fent una mica de pressió i tot seguit hem d'estirar amb un cop sec.

D'aquesta manera aconseguirem que l'estigma deixi d'estar envoltat pels pètals i així poc a poc s'anirà obrint, quan estigui obert del tot serà accessible i per tant es podrà fer la pol·linització sense cap problema.

El fet de treure els pètals també ajuda a que els insectes no se sentin atrets per les plantes, i d'aquesta manera evitarem que les pol·linitzin. També cal que traiem tots els estams perquè no hi hagi autopol·linitzacions. Així ens assegurem que les llavors obtingudes després de la pol·linització siguin només fruit del projecte, no de la natura.



Fig 10. Moment en que s'envolta el capoll amb les alicates per tal de retirar els pètals i els sèpals.



Fig 11. Estigma, posterior al tall amb les tenalles.

En el moment en què s'han preparat tots els estigmes dels parentals, hem d'esperar un parell de dies perquè estigui obert i receptiu, aleshores serà el moment idoni per a realitzar la primera pol·linització.

3.3 Pol·linització

En el segon pas del procés es duu a terme pol·linització. Entenem per pol·linitzar el fet de fer la transferència de pol·len de la part masculina d'una flor a la part femenina d'una altra o de la mateixa. Les plantes poden ser pol·linitzades pels insectes, pel vent, per l'aigua o per l'acció humana.

Hi ha dos tipus de pol·linitzacions segons de quin planta prové el pol·len, en el cas que el pol·len fecundi la mateixa planta que l'ha produït parlem d'**autopol·linització**, també pot donar-se el cas contrari, en què el pol·len pol·linitza una planta diferent a la que l'ha produït.

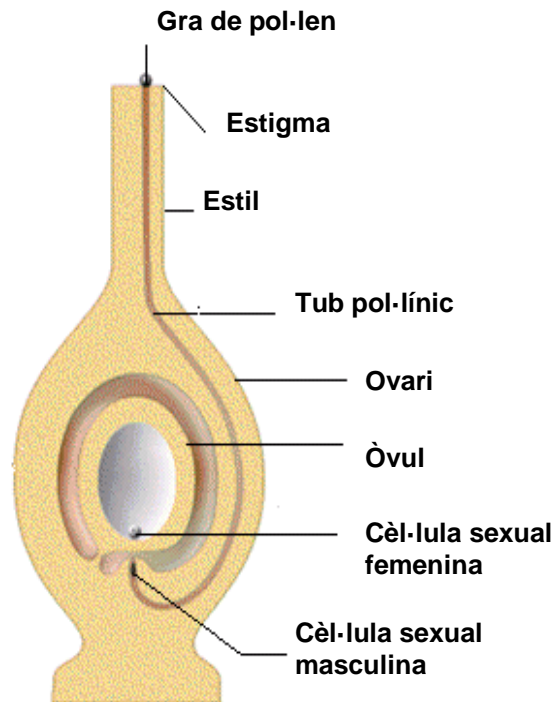


Fig 12. Procés de pol·linització i fecundació. Font: www.edu365.cat.

Tant el pol·len, que conté els gàmetes masculins, com els òvuls, que són els femenins, han estat obtinguts per meiosi. Això significa que els nuclis d'aquestes cèl·lules contenen la meitat d'informació genètica que la resta de cèl·lules d'aquesta planta (autosòmiques) i que el seu ADN no és idèntic al del progenitor. Aquest fet es dona gràcies a que a la meiosi s'ha produït la recombinació genètica dels seus cromosomes homòlegs, això assegura una variabilitat en la descendència que portarà a una millor adaptació al medi.

L'única funció dels gàmetes és la seva unió o **fecundació**, que es produeix just després de que el pol·len es dipositi dins l'estigma i penetri dins l'ovari a través del tub pol·línic. En el moment que la cèl·lula sexual masculina s'uneix amb la cèl·lula sexual femenina l'òvul queda fecundat i donarà lloc a les llavors que seran embolcallades i protegides per l'ovari. A cada

pol·linització es poden fecundar fins a 5 òvuls, que són els que presenta cada flor, tot i així, cada flor pol·linitzada dona una mitjana de 0 a 2 llavors. Això és degut a que molts òvuls fecundats no es fecunden o simplement avorten quan estan en la fase embrionària.

Passades 4 o 5 setmanes les llavors estaran madures, llavors caldrà recollir-les i fer-les germinar per obtenir una noves plantes de característiques diferents entre elles i als parentals.

24/04/08, 1/05/08, 8/5/08, 15/05/08

Les pol·linitzacions també les vaig fer en quatre dies diferents. El procés de pol·linització dels parentals es divideix en dues parts : primer la preparació del pol·len i després la pol·linització en sí.

1. Preparació del pol·len:

Material:

Per aconseguir el pol·len:

- ▶ Unes pinces de ferro.
- ▶ Alcohol de 96^o.
- ▶ Dues plaques de petri.

Procés:

Primer de tot hem d'esterilitzar les pinces amb l'alcohol, per tal d'evitar infeccions. Tot seguit hem d'apropar les pinces desinfectades a les anteres dels parentals masculins i hem d'arrossegar suaument els grans de pol·len fins a la placa de petri.

S'ha de repetir aquest procés a un nombre elevat d'anteres, així ens assegurarem tenir el pol·len necessari per a pol·linitzar. Això si, cada cop que canviem de parental, cal que tornem a desinfectar les pinces amb alcohol i cal que utilitzem una nova placa de petri .Per evitar barrejar el pol·len de diferents varietats cal que etiquetem la placa de petri amb el nom del parental corresponent.

A l'assaig realitzat només he recollit pol·len de dos parentals: Costa Brava Bright Orange i Costa Brava Purple with eye.



Fig 13. Moment en que amb ajuda de les pinces aconseguim el pol·len de les anteres.

2. Pol·linització¹⁰:

Material:

Per a pol·linitzar:

- ▶ Les 2 plaques de petri amb el pol·len recollit anteriorment.
- ▶ Un pinzell finet.
- ▶ Alcohol de 96°.

Procés:

Abans de fer res hem d'esterilitzar el pinzell amb alcohol. Tot seguit hem d'agafar el pol·len de la placa de petri amb el pinzell i aquest l'hem d'apropar amb molta cura fins als estigmes, ja oberts i receptius, dels parentals femenins. Observarem que els estigmes queden d'un color ataronjat, aquest fet ens indicarà que ja estan pol·linitzats.

Hem de repetir aquest procés a tots els estigmes oberts del parental femení. Cada cop que canviem de placa de petri, és a dir, de pol·len, cal que tornem a esterilitzar el pinzell. A més cal que comptem quantes pol·linitzacions fem cada dia a cada parental, per tal de poder calcular el

¹⁰ Veure imatges de les pol·linitzacions a l'annex 2

tant per cent de quallat¹¹ per a cada creuament un cop obtinguem les llavors.



Fig 14. Moment de la pol·linització amb el pinzell. S'observa clarament l'estigma receptiu.

En el següent quadre observem els cinc creuaments realitzats a l'assaig, també hi ha el nombre de pol·linitzacions realitzades cada dia i el total.

Mare	Pare	Pol·linitzacions				
		24-abr	1-maig	8-maig	15-maig	Total
C.B. Bright Orange	C.B. Bright Orange	40	36	30	24	130
C.B. Red	C.B. Bright Orange	69	71	69	66	275
C.B. Purple with eye	C.B. Purple with eye	45	44	57	40	186
C.B. Strawberry with eye	C.B. Purple with eye	51	51	45	31	178
Dark .C.B. Lavender with eye	C.B. Purple with eye	48	40	52	34	174
Total		253	242	253	195	943

¹¹ Quallat: relació entre el nombre de pol·linitzacions i el nombre de llavors recollides. Veure explicació a la pàgina 23.

3.4 Recollida de les llavors madures

Les plantes poden tenir llavors o no tenir-ne. En el cas que en tinguin, poden ser de dos tipus segons com es troba el seu fruit: plantes **gimnospermes** (tenen la llavor sense protegir o bé coberta per escames)o plantes **angiospermes** (la llavor es troba embolcallada per una coberta).

Els geranis tenen llavor i estan inclosos dins del grup de les plantes angiospermes.



Fig 15. Creixement de les llavors.

Durant tot el mes de maig i juny observem que les llavors han anat creixent en forma de bec de color verd. En tot moment estan protegides per una mena de plomall que també els serveix per poder-se transportar amb un cop de vent.

Amb el temps han anat madurant, és per això que quan són d'un color marronós cal recollir-les abans que caiguin pel seu propi pes i no puguin ser comptabilitzades.

Com que hem pol·linitzat en diferents setmanes, cada dia observem les plantes en diversos estadis de creixements, és a dir, pot ser que una mateixa planta tingui capolls tancats, estigmes receptius i llavors madures alhora. A causa d'això la recollida de llavors és esglaonada i els dies en que es pol·linitza també es recullen llavors madures.

A la fotografia hi ha tres llavors madures recollides, que

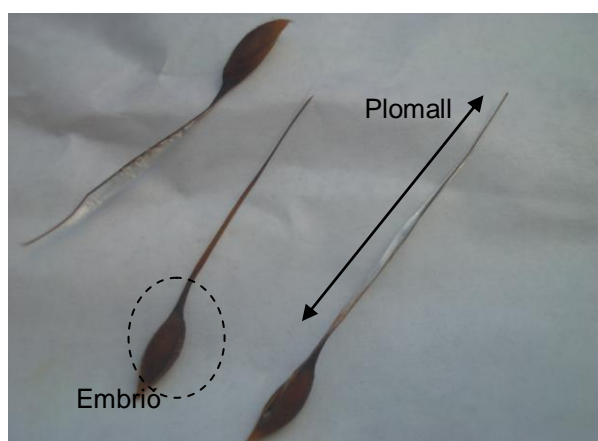


Fig 16. Llavors madures

mesuren aproximadament uns 5 centímetres de llargada. Podem observar dues parts : per una banda l'embrió embolcallat i per l'altra ,el plomall de la cua.

Quan ja hem recollit totes les llavors, cal comptar-les una a una, així coneixerem el nombre total de llavors per cada creuament. Hi ha una relació entre el nombre de pol·linitzacions realitzades i el nombre de llavors recollides , aquesta s'anomena **quallat** i normalment s'expressa en tant per cent. El quallat és sinònim d'èxit de fecundació i es calcula així:

$$\text{Quallat (\%)} = \frac{\text{Nombre de llavors}}{\text{Nombre de pol·linitzacions}} \cdot 100$$

Data no concreta¹²(entre els mesos de maig i juny)

Material:

- ▶ 5 Bossetes de paper: per guardar-hi les llavors madures recollides. Aquestes estan enganxades a un pal, que està clavat dins del test de cada parental, mitjançant unes pinces de roba.
- ▶ Bolígraf: per escriure el nom de cada parental a les bossetes.

Procés¹³:

Quan es recullen les llavors es dipositen dins de la bosseta de paper que hi ha lligada (amb unes pinces de roba) en un pal que està clavat al test de cada parental. A cada bosseta hi ha escrit el nom dels dos parentals d'aquell creuament, d'aquesta forma evitarem confusions a l'hora de comptabilitzar les llavors.

¹² La data de la recollida de les llavors no és concreta ja que s'han recollit quan han estat madures, per tant, aquesta recollida ha estat esglaonada en el temps. S'ha aprofitat per recollir les llavors els dies de la pol·linització, tot i que en Mourad , un treballador de l'IRTA, cada dia ha passat a recollir les llavors madures per tal d'evitar perdre-les i no poder-les comptabilitzar.

¹³ Veure les imatges de tot el procés de recollida de llavors a l'annex 3

Un cop s'ha fet el recompte de llavors collides cal fer el càlcul del quallat per saber l'èxit de les pol·linitzacions.

El següent quadre ens mostra el nombre total de pol·linitzacions, el nombre de llavors recollides i també el % de quallat de cada creuament realitzat.

Mare	Pare	Polinitzacions	Llavors	% Cuallat
C.B. Bright Orange	C.B. Bright Orange	130	42	32,31
C.B. Red	C.B. Bright Orange	275	194	70,55
C.B. Purple with eye	C.B. Purple with eye	186	58	31,18
C.B. Strawberry with eye	C.B. Purple with eye	178	185	103,93*
Dark .C.B. Lavender with eye	C.B. Purple with eye	174	68	39,08
Total		943	547	58,01

Com podem observar, el quallat varia molt depenent de cada creuament, fins i tot hi ha un cas * (C.B. Strawberry with eye X C.B. Purple with eye) que supera el 100%, això podem atribuir-ho a la intervenció d'algun insecte o d'una autopol·linització.

Un cop veiem que deixen de créixer llavors, cal que recollim les bossetes de paper plenes de llavors i les guardem dins de capsas de plàstic hermètiques amb silicagel (producte que absorbeix la humitat per tal que les llavors no germinin abans d'hora) en el seu interior, a una temperatura d'uns 7°C (nevera) per al seu posterior cultiu *in vitro*.

3.5 Germinació: esscarificació mecànica i rescat d'embrions *in vitro* (al laboratori)

El següent pas després de recollir les llavors és deixar que creixin i que es desenvolupin, es a dir, fer-les germinar. Per tal d'aconseguir una elevada taxa de germinació de les llavors hi ha tres processos que cada vegada mes es duen a terme, són els següents:

- **Millora de les condicions ambientals:** aquesta tècnica consisteix en buscar les condicions ambientals òptimes, tant de temperatura com d'humitat. D'aquesta manera la capacitat de germinació de les llavors augmenta i es situa una mica per damunt del 50 %, percentatge que correspon a temperatura i humitat ambient.
- **Escarificació química:** aquesta tècnica consisteix en sotmetre les llavors a l'acció de diferents productes com l' Ethephon , l'àcid nítric o l'àcid sulfúric per tal d'erosionar la seva coberta i fer que l'embrió es trobi més proper del sòl. Només l' Ethephon aconseguix millorar la taxa de germinació però tot i així els valors assolits no són els millors.
- **Escarificació mecànica:** aquesta tècnica consisteix en tallar la llavor per la part corresponent als cotiledons, d'aquesta manera s'aconsegueix que l'embrió germini fàcilment ja que es troba proper al sòl. Aquesta tècnica és la més efectiva ja que s'aconsegueix pràcticament un 100% de taxa de germinació.

A més d'aplicar una d'aquestes tres tècniques per apropar el fruit al sòl i garantir el creixement de la nova plàntula, també es realitza el **rescat d'embrions *in vitro***. Amb aquesta tècnica es pretén ajudar de manera física a germinar les llavors recollides. Es poden realitzar dos tipus de cultiu d'embrions:

- **Cultiu d'embrions immadurs:** en aquest cas els embrions s'obtenen de llavors immadures. Sobretot s'utilitza aquest tipus de cultiu per a evitar la mort prematura de l'embrió, és a dir, l'avortament embrionari. Depenent de l'estat de desenvolupament de l'embrió en el moment de ser aïllat la germinació té més o menys èxit. Aquest cultiu és molt delicat ja que s'ha de realitzar una acurada dissecció i

l'embrió necessita un medi nutritiu complex per a germinar correctament.

- **Cultiu d'embrions madurs:** en aquest cas els embrions s'obtenen de llavors madures. Aquest tipus de cultiu consisteix en eliminar totalment la coberta dels embrions per augmentar encara més la taxa de germinació, d'aquesta manera es posa l'embrió directament en un medi nutritiu simple, format per agar¹⁴, sucre i minerals. Aquesta tècnica no és gaire complicada ja que en aquest cas l'embrió ha assolit el màxim grau de desenvolupament, però sí que s'ha de fer una feina molt acurada per obtenir uns bons resultats.

Les dues tècniques utilitzades en l'assaig són l'escarificació mecànica junt amb el cultiu d'embrions madurs, degut a que ens garanteixen una bona taxa de germinació.

El cultiu *in vitro* d'embrions madurs consisteix en l'aïllament i el creixement d'aquests en condicions estèrils per tal d'aconseguir una planta viable. Normalment el creixement i el desenvolupament *in vitro* d'una planta està determinat per els següents factors: els nutrients com l'aigua, els macro i micro elements i els sucres; la constitució genètica de la planta i alguns factors físics com la llum, el pH, la temperatura i la concentració d'O₂ i de CO₂

25/6/08 , 26/6/08

El treball al laboratori¹⁵ els vaig fer en dos dies diferents: l'escarificació mecànica es farà el primer dia i el rescat d'embrions es farà just el dia següent. Ambdós processos van tenir lloc al laboratori de Grup Roig, a Premià de Dalt. La responsable d'aquest, l'Esther Gavaldà va estar

¹⁴ L'agar és un producte d'origen vegetal (obtingut a partir d'algues) que s'utilitza per a solidificar medis nutritius.

¹⁵ Veure imatges de tot el treball al laboratori (escarificació mecànica i rescat d'embrions) a l'annex 4.

present els dos dies i em va ensenyar i explicar en què es basava la seva feina i com havia de fer jo l'escarificació mecànica i el rescat d'embrions.

Podem dividir aquest laboratori en tres zones ben diferenciades: la zona de treball¹⁶, la sala amb les càmeres de flux laminar i les càmeres de cultiu . El laboratori té les instal·lacions idònies per a realitzar aquest experiment de cultiu in vitro amés està format per un equip humà que es dedica completament a la investigació dels geranis. També consta de maquinària i per fer l'escarificació mecànica i el rescat d'embrions utilitzarem els següents aparells:

► **Autoclau**¹⁷: aparell en el qual s'esterilitzen els medis nutritius i els instruments de vidre mitjançant la pressió a vapor.

► **Càmera de flux laminar**¹⁸: aparell que consta d'una taula i d'un sistema de filtració de l'aire, que assegura que l'aire que circula sobre la taula sigui completament estèril. Encara que les operacions es duguin a terme sobre vidre estèril si aquestes es realitzen a una càmera de flux laminar es reduiran les possibilitats d'infecció.

► **Càmera de cultiu**¹⁹: sala que posseeix un sistema de temperatura controlada, amb calefacció i refrigeració i també il·luminació fluorescent. A més consta de prestatges per posar-hi els cultius.

► **Microscopi**²⁰: aparell que s'utilitza per observar objectes de dimensions petites (en aquest cas els les llavors i els embrions) d'una manera augmentada gràcies a un sistema de lents.

► **Sterilbio**²¹: aparell que incinera les puntes dels bisturís i de les pinces en pocs segons a una temperatura de 900⁰ C per tal d'evitar la contaminació de bacteris.

¹⁶ Veure la fotografia de la zona de treball a l'annex 4.

¹⁷ Veure la fotografia de l'autoclau a l'annex 4.

¹⁸ Veure la fotografia de la càmera de flux laminar a l'annex 4.

¹⁹ Veure la fotografia de la càmera de cultiu a l'annex 4.

²⁰ Veure la fotografia del microscopi a l'annex 4.

²¹ Veure la fotografia de l'esterilbio a l'annex 4.

► **Agitador magnètic:** aparell que consta d'una planxa calefactada sobre la qual es pot escalfar un vas i alhora agitar la mescla que conté, gràcies a una vareta magnètica que gira al seu interior.

► Subministrament de gas, aigua i electricitat.

DIA 1- Escarificació mecànica

Material:

El material de laboratori necessari per a dur a terme l'escarificació mecànica és el següent:

- Bata i peücs
- 80 tubs d'assaig petits i els taps respectius.
- 2 gradetes petites.
- Cinta d'autoclau: cinta adherent que serveix per enganxar als instruments que es posen a desinfectar a l'autoclau. Aquesta cinta ens indicarà que la desinfecció s'ha realitzat correctament: si se li dibuixen línies negres significa que l'instrument està desinfectat i si per contra es queda tal i com estava vol dir que l'instrument no s'ha desinfectat correctament.
- Vasos de precipitats.
- Malles: tela petita amb un seguit de petits forats que permeten només al pas de substàncies líquides.
- Fil d'alumini plastificat.
- Paper d'alumini.
- Llapis.
- Paper de filtre petit.
- Erlenmeyer de 500 ml i 100 ml.
- Joc de 4 Pinces de ferro.
- Joc de 4 bisturís: instrument que format per una fulla petita i afilada d'ús quirúrgic.

També són necessaris els següents productes:

- Aigua destil·lada: aigua produïda per destil·lació, que no conté ni compostos inorgànics ni compostos orgànics.

- ▶ Lleixiu.
- ▶ Alcohol de 100⁰
- ▶ Tween 20: És un producte que químicament s'anomena polisorbolat 20, és una substància que redueix la tensió superficial d'un líquid i en el laboratori s'empra com a detergent.
- ▶ Per preparar les **vitamines B5** cal: àcid nicòtic, piridoxina i tiamina.
- ▶ Per preparar el medi de cultiu cal: macros, micros, FeEDTA, vitamines B5, myo-inositol, glucosa i phitagel.

Procés:

Es tracta d'un procés llarg i detallat, on cada pas s'ha de fer amb molta cura. No hem d'oblidar que la feina al laboratori s'ha de fer en un clima de tranquil·litat i paciència per tal de no cometre cap errada que ens pugui passar factura al final del treball. A més es treballa amb productes químics i estris que poden ser perillosos si no els utilitzem amb responsabilitat.

Els passos que vaig seguir són els següents:

- El primer que hem de fer un cop siguem dins del laboratori és posar-nos una bata per treballar i uns peücs sobre les sabates. D'aquesta manera no portarem al laboratori cap infecció.

- Hem d'omplir els 80 tubs d'assaig petits amb aigua destil·lada fins la meitat i els hem de tapar amb el seu tap. Tot seguit cal posar-los a les gradetes i aquestes s'han d'embolicar amb paper d'alumini. Per assegurar-nos que es desinfectaran correctament a l'autoclau cal que hi enganxem un tros de cinta d'autoclau. Un cop les gradetes estan cobertes s'han de desinfectar durant 40 minuts a l'autoclau això permetrà que tots els microorganismes desapareixin.

- Mentre esperem que els tubs d'assaig s'esterilitzin hem de preparar el medi de cultiu per a l'endemà, per poder fer això haurem de preparar abans les vitamines B5 en un erlenmeyer de 500 ml i necessitarem:

ÀCID NICÒTIC	0,05 grams
PIRIDOXINA	0,05 grams
TIAMINA	0,5 grams

Quan ja tenim les vitamines B5 preparades podem preparar el medi de cultiu en un erlenmeyer de 1000ml , són necessaris:

MACROS	100 ml
MICROS	10 ml
FeEDTA	10 ml
VITAMINAS B5	10 ml
MYO-INOSITOL	0,1 grams
GLUCOSA	16 grams
pHITAGEL	2,5 grams

Per poder germinar in vitro els embrions, són necessaris 3 litres de medi, per tant farem aquest mateix procés tres vegades.

Quan ja tinguem els tres erlenmeyers amb el medi de cultiu, els tapem amb un tros de paper d'alumini i escrivim amb un retolador permanent el seu contingut per tal d'evitar confusions. Tot seguit els posem dins del frigorífic perquè es mantinguin fins l'endemà.

- Com que havia recollit un elevat nombre de llavors en vaig triar un nombre més reduït de cada creuament per continuar el procés i poder-lo fer ben fet. La tria de les llavors va ser a l'atzar i a ull nu. Finalment de cada creuament tenia 50, excepte en el cas de l'Orange X Orange que només n'hi havia 42. Quan ja les tenim agrupades per varietats s'han de desinfectar. Per desinfectar-les es col·loquen en malles ben tancades amb un filferro i etiquetades (a cada etiqueta hi ha escrit amb llapis el creuament). Tot seguit es faran tres desinfeccions :

- I. Les malles s'han de posar en un vas de precipitats i cobrir-les amb alcohol al 70 %, s'ha d'agitar el vas amb la mà enèrgicament. Tot seguit hem de retirar l'excés d'alcohol amb aigua.
- II. La segona desinfecció és la més important i es fa amb una mescla de lleixiu al 20% i una gota de Tween 20 cada 100 ml ,s'ha de deixar reposar uns 20 minuts. Per fer-ho correctament s'ha de tancar el vas amb paper d'alumini i a partir d'aquest moment ja no treballarem a la zona de treball sinó dins la càmera de flux laminar.
- III. L'última desinfecció consisteix en fer 3 rentats amb aigua destil·lada i esterilitzada, cada rentat ha de durar uns 10 minuts aproximadament.

- Quan passin els 40 minuts a l'autoclau hem d'agafar les gradetes dels tubs d'assaig petits i portar-les dins la sala de les càmeres de flux laminar. Allà ja podem treure el paper d'alumini que les envolta i les posem sobre la taula.

- Ja dins la sala de les càmeres de flux laminar hem d'adequar la lupa del microscopi (4 augments) i preparar sobre la taula el joc de pinces, bisturís i paper de filtre petit. La cadira també s'ha de posar a la nostra alçada, així evitarem problemes d'esquena i incomoditat a



l'hora de treballar.

Fig 17. Taula de la càmera de flux laminar amb tots els estris.

- Ajustem un paper de filtre petit a les pinces del microscopi i allà hi dipositem la llavor . Primer de tot hem de retirar el primer embolcall que cobreix la llavor, anomenat càrpel. Amb les pinces desinfectades

aguantem suaument la llavor i amb un bisturí, també desinfectat, fem un tall horitzontal i amb ajuda de les pinces traiem la llavor de dins del càrpel.



Fig 18. Les tres llavors sobre el paper de filtre.

▪ Tot seguit, quan ja tenim la llavor que conté l'embrió hem de fer un tall a l'extrem dels cotiledons²² sense afectar la radícula²³. Quan ja està fet el tall hem d'agafar la llavor amb les pinces desinfectades i la posem en remull, aproximadament dipositarem 3 ó 4 llavors a cada tub d'assaig petit i el taparem. Les gradetes han d'estar 24 hores a la càmera in vitro per tal que l'aigua destil·lada penetri a l'interior de la llavor, serà més fàcil l'extracció de la membrana que embolcalla l'embrió i així no el ferirem.

Hem de repetir aquest procés tantes vegades com llavors tenim, exactament 242 vegades. Els tubs d'assaig de cada creuament s'han de posar a diferents gradetes i aquestes han d'estar etiquetades.

NOTA: Cada cop que fem 3 ó 4 llavors cal que desinfectem al Sterilbio el joc de pinça i bisturí. Com que tenim 3 jocs sobre la taula, mentre que el que acabem de desinfectar es refreda podem utilitzar un altre joc. També cada cop que canviem de joc de pinces i bisturí hem de canviar el paper de filtre del microscopi.

²² Els geranis són plantes dicotiledònies, això significa que tenen 2 cotiledons. Els cotiledons seran les dues primeres futures fulles de la plàntula.

²³ La radícula és la part de l'embrió que donarà lloc a la primera arrel de la plàntula.

DIA 2- Rescat d'embrions

Material:

El material de laboratori necessari per a dur a terme el rescat d'embrions és el següent:

- ▶ Bata i peücs
- ▶ 190 tubs d'assaig grans els taps respectius.
- ▶ 9 gradetes grans
- ▶ Paper d'alumini.
- ▶ Vasos de precipitats.
- ▶ Paper de filtre.
- ▶ Joc de 4 Pinceres de ferro.
- ▶ Joc de 4 bisturís.
- ▶ Llapis.
- ▶ Cinta de plàstic aïllant.

Són necessaris els següents productes:

- ▶ Tween 20.
- ▶ Agar: producte d'origen vegetal (obtingut a partir d'algues) que s'utilitza per a solidificar medis nutritius.

Procés:

El procés del rescat d'embrions es duu a terme dins la càmera de flux laminar, i consta d'aquests passos:

- Adequar la lupa del microscopi i preparar els jocs de pinceres i bisturís a la taula. També és molt important que estiguem còmodes a la cadira ja que estarem moltes hores treballant.
- Agafar les gradetes de la càmera de cultiu i anar obrint

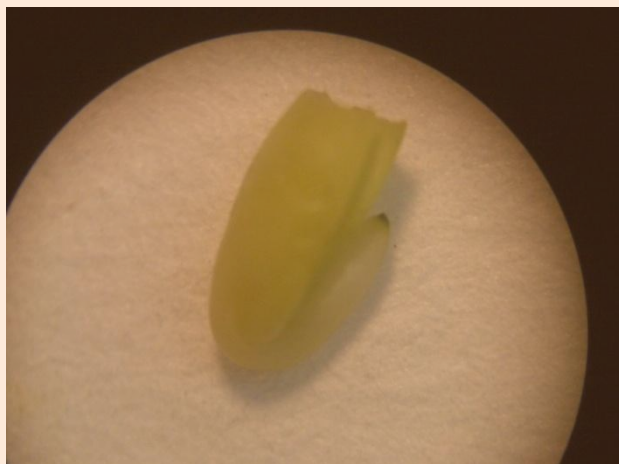


Fig 19. Embrió ja extret de l'embolcall.
Imatge augmentada del microscopi
(4 augments)

cada tub d'assaig i extraient les llavors una a una, tot dipositant-les al porta objectes del microscopi. Em d'extreure la membrana que embolcalla l'embrió, per això hem de subjectar la llavor amb les pinces i amb un bisturí fer un tall longitudinal per treure'l amb molta cura.

- S'ha de sembrar aquest embrió en els tubs d'assaig grans, on anteriorment hem dipositat el medi de cultiu preparat el dia anterior. L'hem de disposar de tal manera que la ratícula (futures fulles de la plàntula) quedi dins del medi i les llavors cap avall (ja que seran les futures arrels).

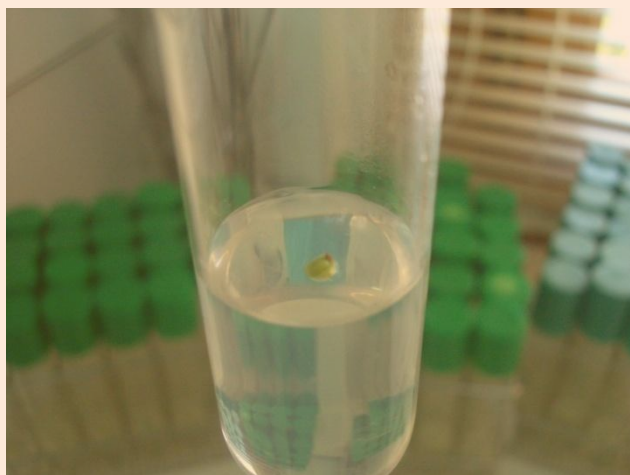


Fig 20. Embrió sembrat al medi de cultiu dins del tub d'assaig

- Hem de segellar cada tub d'assaig amb la cinta de plàstic aïllant, per evitar l'entrada de bacteris dins del tub. Els tubs els posem a les gradetes i les emboliquem amb paper d'alumini, que protegirà de la llum a les futures plàntules durant els seus primers dies de creixement. També s'ha d'etiquetar cada gradeta amb el nom del creuament per evitar confusions.

- Finalment cal guardar les gradetes a la càmera de cultiu in vitro durant uns 5 dies, a 28 graus C.

El dibuix ens mostra de manera esquemàtica els passos fets els dos dies de treball al laboratori.

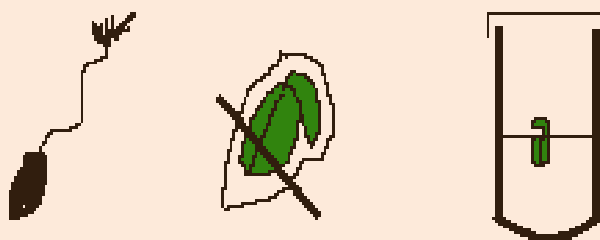


Fig 21. Dibuix-resum de la germinació in vitro.

Mentre feia el rescat d'embrions vaig observar que a cada creuament hi havia algunes llavors que tenien formes diferents de l'habitual, és a dir, que havien patit alguna mutació que les feia diferents (mutades); algunes que al seu interior no tenien embrió (buides); d'altres que estaven trencades per alguna raó desconeguda i finalment algunes llavors que vaig ferir mentre feia els talls. El quadre que hi ha a continuació ens mostra aquestes incidències que vaig trobar durant el rescat d'embrions al laboratori.

Mare	Pare	Llavors	Mutades	%Mutades	Buides	%Buides	Ferides	%Ferides	Trencades	%Trencades	Total tubs
C.B. Bright Orange	C.B. Bright Orange	37	0	0	1	2,70	0,00	0,00	7	18,92	29
C.B. Red	C.B. Bright Orange	50	2	4	4	8,00	0,00	0,00	9	18,00	35
C.B. Purple w. eye	C.B. Purple w. eye	50	0	0	4	8,00	2,00	1,08	12	24,00	32
C.B. Strawberry w. eye	C.B. Purple w. eye	50	1	2	1	2,00	0,00	0,00	0	0,00	48
D.C.B. Lavender w. eye	C.B. Purple w. eye	50	2	4	0	0,00	1,00	0,57	3	6,00	44
	TOTAL	237	5	2,11	10	4,22	3,00	0,32	31	13,08	188

3.6 Germinació de la llavor en el medi de cultiu

Les llavors en el medi de cultiu van estar 9 dies a la càmera, durant aquest temps van començar a créixer i al final ja estaven preparades per ser trasplantades a tack i exposades a les condicions de l'hivernacle. Perquè aquest canvi de condicions no fos tan brusc, el dia 1 de Juliol de 2008 vaig anar a la càmera per treure el paper d'alumini dels tubs d'assaig i també vaig retirar els segells de cada tub. D'aquesta manera la plàntula, que és com s'anomena a la llavor germinada, poc a poc es va acostumar a la llum.

3.7 Traspàs de la plàntula del medi de cultiu a tack, aclimatació a l'hivernacle

El traspàs de la plàntula del tub d'assaig a tack²⁴ va tenir lloc el 4 de Juny de 2008 i el vaig fer en dos passos, primer l'extracció de la plàntula del tub i la seva neteja i després la sembra i l'aclimatació.

4/06/2008

Extracció i neteja

Material:

El material necessari per realitzar aquests passos va ser:

- ▶ Bata i peücs
- ▶ Guants de làtex
- ▶ Etiquetes grogues de plàstic
- ▶ Retolador permanent
- ▶ 5 caixes de plàstic
- ▶ Paper absorbent
- ▶ Pincas de ferro
- ▶ Aigua destil·lada
- ▶ Flascó rentador amb aigua destil·lada

Procés²⁵:

Igual que en l'escarificació mecànica i el rescat d'embrions hem de tornar a remarcar que la feina al laboratori ha de ser molt acurada i pacient. El seguit de passos que es van fer són els següents:

- Es treuen les gradetes amb els tubs de la càmera de cultiu i passem a la zona de treball. Un cop allà classifiquem les

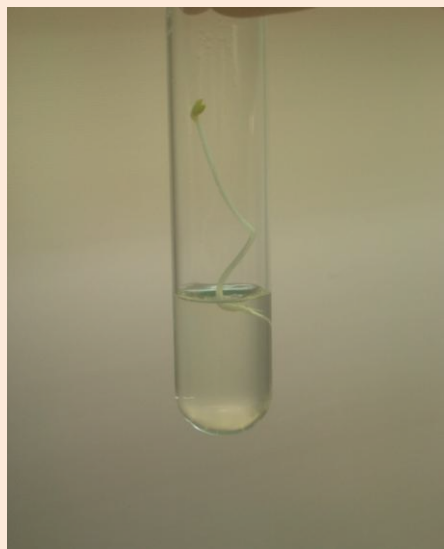


Fig 22. Plàntula acabada de treure de les càmeres de cultiu in vitro.

²⁴ Un tack o *paperpot* és un suport per arrelar les plàntules o esqueixos format per una mescla de turba i perlita, embolcallada per un paper degradable.

²⁵ Veure les imatges del traspàs de la plàntula del medi de cultiu al tack a l'annex 5.

gradetes per varietats.

- Escrivim a les 5 etiquetes grogues el nom des cinc creuaments amb retolador permanent i disposem cada una dins de les cinc capses de plàstic que contenen al seu interior paper absorbent.

- Omplim la pica amb aigua destil·lada.

- Amb les pinces de ferro traiem una a una les plàntules de cada tub d'assaig d'un mateix creuament. Dipositem les plàntules dins la pica, d'aquesta manera aconseguirem treure les restes d'agar que puguin tenir incrustat i també les hidratarem.



Fig 23. Plàntules surant a l'aigua destil·lada de la pica.

- Deixem que reposin dins l'aigua uns minuts i passat aquest temps passem a recollir-les una a una amb la mà. D'una manera ordenada les anem dipositant a la caixa del creuament corresponent i les cobrim amb paper absorbent.

- Amb el flascó rentador omplim la caixa d'aigua destil·lada fins que totes les plàntules embolcallades estiguin cobertes. Aquestes caixes les posem a la nevera fins que passem a l'hivernacle per sembrar-les.



Fig 24. Plàntules després d'estar a l'aigua.



Fig 25. Plàntules dins la capsa de plàstic.

NOTA: Aquests passos els vaig fer cinc vegades, una per cada creuament. Cada vegada que canviava de creuament també havia de canviar l'aigua de la pica , així m'assegurava dues coses: primer que l'aigua es renovés i segon que no quedés cap plàntula surant i la confongués de creuament.

Sembra

La sembra es va realitzar dins l'hivernacle, per accedir-hi havia de vestir una bata diferent a la utilitzada al laboratori ja que passava d'un ambient totalment estèril a un ambient exposat a bacteris i malalties. També vaig haver de posar-me uns peücs a les sabates.

Material:

El material necessari per a fer la sembra va ser el següent:

- ▶ Bata diferent a la utilitzada al laboratori
- ▶ Guants de làtex
- ▶ 5 safates amb tacks de 35 mil·límetres de diàmetre.
- ▶ Pinces de ferro
- ▶ 5 mini hivernacles

Procés:

Els passos que hi ha a continuació són els que vaig seguir a l'hora de fer la sembra de les plàntules al tack.

- Preparem cinc safates de 40 cm x 50 cm cadascuna, amb 52 tacks de 35 mm i els col·loquem deixant un espai entre tack i tack per a evitar que les plàntules es molestin quan creixin.



Fig 26. Moment de la sembra ajudat de les pinces.

- Triem una caixa de plàstic i desmoltallem les plàntules que hi ha al seu interior, també agafem l'etiqueta groga i la clavem dins del primer tack de la safata.
- Amb les mans agafem les plàntules una a una i ajudant-nos amb les pinces i amb molta cura enterrem les arrels dins del tack.
- Un cop hem sembrat totes les plàntules d'aquell creuament podem retirar tots els tacks que sobren de la safata.

El quadre que hi ha a continuació mostra el nombre de llavors que vaig sembrar en els tubs d'assaig, les plàntules que vaig posar a germinar als tacks també el càlcul de l'èxit del cultiu in vitro

Creuament	Nombre de llavors sembrades	Nombre de plàntules al tack	% D'èxit del cultiu in vitro
C.B. Bright Orange X C.B. Bright Orange	29	18	62,07
C.B. Red X C.B. Bright Orange	35	26	74,29
C.B. Purple with eye X C.B. Purple With eye	32	25	78,13
C.B. Strawberry with eye X C.B. Purple with eye	48	46	95,83
Dark .C.B. Lavender with eye X C. B. Purple with eye	44	43	97,73
TOTAL	188	158	84,04

Com podem observar, el nombre de plàntules sembrades és inferior al que teníem en cultiu in vitro, això es degut a que algunes llavors no van créixer correctament. Podem atribuir el fet que les llavors no germinessin a algun mal estat de les llavors, ja sigui biològic o alguna ferida que els vaig fer en el moment de fer el rescat d'embrions. Tot i així, podem estar satisfets de l'èxit del cultiu.

NOTA: S'ha de repetir aquest procés amb les 5 varietats i un cop haguem fet tota la sembra, hem d'aclimatar les safates a l'hivernacle.

Com que les plàntules passen d'estar en un medi in vitro on les condicions eren molt òptimes i controlades, no podem posar les plàntules directament a l'hivernacle ja que el canvi seria molt fort .És per això que utilitzarem 5 mini hivernacles. Aquests són desmuntables i consten de 3



Fig 27. Els 5 mini hivernacles amb les safates de tacks a l'interior.

parts: la base, la coberta i la porta. Els mini hivernacles tenen unes dimensions de 40 cm d'ample x 38 cm d'alt x 50 cm de fondària. Posem la safata dels tacks dins la base i la cobrim amb la coberta. Posteriorment hi posem la porta i la deixem un parell de dits oberta perquè hi entri oxigen.

Les plàntules estaran en aquestes condicions unes 2 ó 3 setmanes aproximadament. Passat aquest temps ja podrem sembrar els tacks ,on les plàntules ja hauran arrelat, dins d'un test més gran on es podran desenvolupar millor.

Sempre hem de mantenir els tacks humits, per tant el reg de les plàntules durant aquest dies es realitzarà només quan veiem que els tacks estan secs. A l'hora de regar destaparem els mini hivernacles i amb una mànega els subministrarem aigua, evitant que els arribi d'una manera molt brusca i directa.

3.8 Traspàs del tack a test i aclimatació al camp d'assaig

El traspàs del tack al test va tenir lloc el dia 22 de Juliol de 2008. Aquest el vaig fer quan s'observava que les plàntules havien arrelat i havien agafat una altura d'uns 3 dits aproximadament.

22/07/2008

Vaig observar que algunes plàntules no havien crescut correctament, que algunes no tenien les fulles ben desenvolupades o bé no havien arrelat.

Aquestes no van ser traspassades a un test més gran ja que no tenien opció de millorar el seu estat.

El següent quadre ens mostra el nombre de plàntules sembrades en els tacks, el nombre de tacks que van ser traspassats a test i el càlcul de l'èxit de la germinació en el tack.

Creuament	Nombre de plàntules al tack	Nombre de tests	% D'èxit de germinació al tack
C.B. Bright Orange X C.B. Bright Orange	18	12	66,67
C.B. Red X C.B. Bright Orange	26	24	92,31
C.B. Purple with eye X C.B. Purple with eye	25	24	96
C.B. Strawberry with eye X C.B. Purple with eye	46	40	86,96
Dark .C.B. Lavender with eye X C.B. Purple with eye	43	37	86,05
TOTAL	158	137	86,71

Material:

El material utilitzat per fer el traspàs de tack a test va ser el següent:

- ▶ 137 testos de 13 cm de diàmetre
- ▶ Mescla a base de turba rossa, turba negra i perlita.
- ▶ Mánega i aigua



Fig 28. Tack després de les 2 setmanes al mini hivernacle.

Procés²⁶:

Un cop les plàntules estiguin en un test ja passen a anomenar-se plantes. Aquestes plantes seran aclimatades en el camp d'assaig de Grup Roig, a Premià de Dalt, que és un hivernacle on hi ha totes les

²⁶ Veure les imatges del traspàs del tack a test a l'annex 6.

plantes en fase d'experimentació de l'empresa. Allà vaig disposar d'una zona per als meus nous geranis.

Els passos que vaig seguir per plantar el tack dins del test són els que hi ha a continuació:

- Destapar els mini hivernacles i portar les safates de tacks al camp d'assaig.
- Preparar 137 testos de plàstic de 13 cm de diàmetre amb una mescla de turba rossa, turba negra i perlita i portar-los també al camp d'assaig.
- A l'hivernacle , col·locar els testos per files, aproximadament a cada fila hi caben 6 testos un al costat de l'altre. Per cada creuament cal fer tantes files com siguin necessàries. Cal que entre creuament i creuament deixem una franja de distància per evitar possibles confusions entre les plantes de diferents creuaments.
- Regar els testos per sobre amb la mànega per tal que agafin humitat i la plàntula es trobi en un medi hidratat.
- Clavar l'etiqueta groga en el primer test de la primera filera de cada creuament (aquest detall que sembla insignificant va ser molt important, ja que a aquestes altures del treball no em podia permetre una confusió de varietats , això hagués alterat tots els resultats).
- Agafar els tacks un a un i sembrar-los en el test on anteriorment haurem fet un forat amb els dits per facilitar-hi la introducció.



Fig 29. Sembrar el tack dins del test.

El reg de les plantes, ha de ser gradual, és a dir, a mesura que passi el temps hem d'incrementar-lo ; sempre intentant mantenir el test humit. Hem de pensar que les plantes són com els humans, igual que a un nadó li donem primer un biberó, hem de començar regant les plantes amb poca quantitat d'aigua, sinó

s'ofegarien. Després d'un mes ja els podem subministrar els nutrients i l'aigua amb els degotadors individuals.

3.9 Primera selecció dels seedlings i clonació d'aquests

Els geranis van estar aclimatats al camp d'assaig durant uns tres mesos aproximadament. Passat aquest temps les plantes ja havien crescut i havien adquirit una forma determinada, també començaven a florir i a definir les seves fulles.

Llavors , al mes d'octubre, era el moment de valorar els geranis obtinguts a partir dels creuaments fets al mes d'abril del mateix any, anomenats seedlings. Les valoracions es van fer esglaonades en el temps, ja que la precocitat del creixement de cada gerani era diferent i a la mateixa època no es trobaven en el mateix estat.

Primer de tot vaig adjudicar una etiqueta adhesiva al test de cada seedling amb codi ,que constava d'una lletra (A- Strawberry x Purple, B- Purple x Purple, C- Lavender x Purple, D- Red x Orange, E- Orange x Orange) depenent del creuament i d'un nombre (1,2,3,4...). Amb aquest codi tenia tots els geranis classificats per creuaments i em seria més fàcil anotar les seves característiques.

3.9.1 Criteris de selecció

En aquesta primera selecció²⁷ es tenen en compte uns paràmetres qualitius, molts d'ells iguals als que es van valorar dels parentals al principi del treball, com:

- El color de la flor
- La presència d' ull i centre i el color d'aquests
- Els nombre de pètals : simple (5 pètals o menys) o doble (més de 5 pètals)
- El color de la fulla : clar o fosc
- La zona i la seva intensitat (1: zona poc marcada, 2: zona normal, 3: zona molt marcada).

²⁷ Veure les imatges d'alguns seedlings obtinguts a l'annex 7.

Com podem observar, els criteris de la primera selecció, no són quantatius, sinó que són només físics, visuals i bastant subjectius. Per exemple, no es tenen en compte paràmetres com la precocitat, el diàmetre de l'ombrel·la, la longitud del peduncle, l'alçada de la planta, la duració de la flor, la producció d'esqueix o la taxa d'arrelament.

22/10/2008, 10/11/2008, 26/11/2008

El primer dia de la valoració va ser el 22 d'octubre de 2008 i la vaig realitzar juntament amb l' Ignasi Calvo, enginyer agrònom i la Maite Mañosa, responsable del camp d'assaig. Amb ells vam anar analitzant cada seedling un a un i vaig prendre notes de les característiques esmentades anteriorment, a més també vaig anotar observacions de cada gerani obtingut, detalls que el feien especial o detalls que feien que el descartéssim per a passar a la següent selecció.

A mesura que els anàvem valorant vam marcar amb un filferro aquells seedlings que ens cridaven l'atenció i que veiem que podien passar aquesta primera selecció.

Per tal de valorar els seedlings que no havia pogut valorar el primer dia, vaig tornar a fer-ho els dies 10 i 26²⁸ de novembre de 2008, analitzant els mateixos paràmetres i seguint marcant aquells que eren bonics.

El dia 26 de novembre vaig realitzar l'última tria. Tots els geranis que estaven marcats amb el filferro van ser separats de la resta i col·locats en una zona a part de l'hivernacle. Dels 19 (A6, A8, A11, A18, A33, B2, B7, B8, B12, C4, C10, C14, C17, C23, C26, C30, C35, D20, E4) vam fer una revisada i vam descartar aquells que ja no ens agradaven o aquells que eren molt similars a un altre

Cal dir que gairebé sempre, la primera generació de geranis no sol ser gaire perfecte sinó que no acaba d'expressar totes les característiques que posem, és per això que només que veiem que el color és atractiu o que té algun factor que pot agradar als clients se'l selecciona per a la

²⁸ Em vaig trobar que a dia 26 encara hi havia geranis sense florir, aquests directament ja van ser descartats per floració tardana.

següent fase. D'aquesta manera , amb la segona generació, ja veurem si és un gerani que podrà arribar al mercat o no. Hem de tenir en compte que més val seleccionar de més que de menys, ja que sempre estem a temps de descartar.



Fig 30. Els 19 geranis seleccionats



Fig 31. Els 7 geranis que serán clonats.

3.9.2 Valoració dels seedlings

Els quadres que hi ha a continuació ens mostren els apunts que vaig prendre mentre valorava els seedlings²⁹. Cada quadre és un creuament. Hi ha tres colors de lletra emprats, cadascun correspon a un dia diferent (22/10/2008 , 10/11/2008 , 26/11/2008).

Els que estan marcats amb una franja de color taronja són els 7 seedlings que vaig seleccionar per a la clonació i la segona tria, aquests són: A11, B7, C17, C30, C35, D20, E4. Cadascun d'aquests està explicat amb més detall posteriorment, juntament amb una fotografia³⁰ del seu aspecte general.

²⁹ He observat algunes deformacions en fulles i flors dels seedlings, aquestes es poden observar a l'annex 7. En els requadres de les pàgines següents estan assenyalades (*)

³⁰ A les fotografies, les plantes poden semblar de mala qualitat i sense una forma definida, però s'ha de tenir en compte que en el moment que les vaig realitzar ja s'havia sobrepassat el seu punt òptim de selecció. Dit d'una altra manera, el seu moment fenotípic ja s'havia superat.

CODI	FLOR		FULLA			OBSERVACIONS				
	COLOR	ULL/ CENTRE	PÈTALS		COLOR		ZONA			
			SIMPLE	DOBLE	CLAR		FOSC	SI	NO	
A1	rosa	púrpura/blanc		x	x		x			
A2	rosa	púrpura/blanc	x			x		x		
A3	rosa	púrpura/blanc		x		x		x		
A4	rosa fort	púrpura/blanc	x			x		x		
A5	rosa fort	púrpura/blanc		x		x		x		
A6	rosa fort	púrpura/blanc		x		x		x	Flor tupida, no s'obre bé i no mira. Umbel·la carregada	
A7	rosa fort	púrpura/blanc		x		x		x		
A8	púrpura	vermell/blanc		x		x		x	Mida de la flor molt petita, els pètals no obren bé	
A9						x		x		
A10						x		x	Deformació fulles*	
A11	rosa fort	vermell/blanc		x		x		x		
A12						x		x		
A13						x		x	Petita deformació fulles*	
A14	púrpura	vermell/blanc		x		x		x		
A15	púrpura	vermell/blanc		x		x		x	Els pètals no obren bé * F1	
A16						x		x	Deformació fulles	
A17	rosa fort	vermell/blanc		x		x			1	
A18	rosa fort	púrpura/blanc		x		x			2	Pètals curvats, flor poc oberta que no mira.
A19	rosa fort	vermell/blanc	x			x			1	
A20	rosa fort	púrpura/blanc		x		x			1	

A21	púrpura	vermell/blanc		x	x	x	
A22	rosa fort	vermell/blanc		x	x	x	
A23					x	x	Deformació fulles
A24					x	x	
A25					x	x	*
A26					x	x	
A27					x	x	
A28					x		1
A29					x	x	
A30	rosa	vermell/blanc		x	x	x	
A31	malva	púrpura/blanc	x		x	x	Molt tupida ,creix molt vertical * F4
A32					x	x	*
A33	rosa fort	púrpura/blanc		x	x	x	Flor molt tupida, no s'obre bé. No és maca
A34					x	x	
A35	rosa	púrpura/blanc	x		x	x	
A36	púrpura	vermell/blanc		x	x	x	
A37	púrpura	vermell/blanc		x	x	x	
A38	rosa	púrpura/blanc		x	x	x	
A39	púrpura	vermell/blanc		x	x	x	

CODI	FLOR		FULLA				OBSERVACIONS		
	COLOR	ULL/ CENTRE	PÈTALS		COLOR			ZONA	
			SIMPLE	DOBLE	CLAR	FOSC		SI	NO
B1					X			X	
B2	púrpura	vermell/blanc		X	X			X	Pètals peits, poc nombre de flors per umbel·la.
B3	púrpura	vermell/blanc		X	X			X	
B4	púrpura	vermell/blanc		X	X			X	
B5					X			X	
B6	púrpura	vermell/blanc		X	X			X	
B7	púrpura	vermell/blanc	X		X			X	Flor simple, però tot i així és oberta i no deixa espais entre flor i flor
B8	rosa fort	vermell/blanc		X	X			X	Flor molt gran, poques flors per umbel·la i la flor no mira
B9	púrpura	vermell/blanc		X	X			X	
B10					X			X	
B11					X			X	
B12	violeta	no / blanc		X	X			X	Umbel·la tupida. Pètals mal distribuïts a la flor. Sota-pètals blanc que és lleig
B13	púrpura	vermell/blanc		X	X			X	
B14	púrpura	vermell/blanc		X	X			X	
B15					X			X	
B16	púrpura	vermell/blanc		X	X			X	
B17	púrpura	vermell/blanc		X	X			X	*
B18	rosa fort	púrpura/blanc	X		X			X	
B19					X			X	
B20	rosa fort	vermell/blanc	X		X			X	
B21	púrpura	vermell/blanc		X	X			X	No obre bé la flor, molt tupida
B22	rosa fort	púrpura/blanc	X		X			X	
B23					X			X	

CODI	FLOR		FULLA				OBSERVACIONS	
	COLOR	PÈTALS		COLOR		ZONA		
		ULL/ CENTRE	SIMPLE	DOBLE	CLAR	FOSC	SI	NO
C1	rosa fort	vermell/blanc		x	x		x	
C2							x	
C3	púrpura	vermell/blanc		x		x		
C4	malva clar	púrpura/blanc	x		x		x	flor senzilla que té tendència a fer que els pètals caiguin
C5	rosa fort	púrpura		x		x	x	
C6							x	
C7	malva clar	púrpura		x	x		x	*
C8	rosa	vermell/blanc	x			x	1	
C9	malva	púrpura		x	x		x	
C10	púrpura	vermell/blanc		x	x		1	Pètals arrugats i la flor tancada (en forma de copa)
C11							x	
C12	malva	púrpura	x			x	x	
C13							x	*
C14	burdeus	no / blanc		x	x		x	pètal plegat i arrugat. La flor no mira i tot i que el color és maco i vistós no té ull.
C15	rosa fort	púrpura/blanc		x		x	x	
C16	malva	púrpura		x	x		1	
C17	rosa	púrpura/blanc		x		x	x	pètals semisimples(7). Té un ull molt atractiu ja que és gros (sembla espurna)
C18							x	
C19	malva	púrpura/blanc		x	x		x	
C20	malva	no / blanc	x			x	x	
C21	rosa fort	púrpura/blanc		x	x		x	
C22	rosa fort	púrpura/blanc		x	x		x	
C23	malva	púrpura		x		x	x	Pètals pregats, no mira
C24	malva	púrpura/blanc		x		x	x	
C25	malva	púrpura/blanc		x	x		x	
C26	rosa	púrpura/blanc		x	x		1	Mala disposició de les flors dintre de la umbel·la
C27	malva	púrpura/blanc	x		x		x	
C28						x	x	Planta molt petita
C29						x	x	Planta molt petita

C30	púrpura	vermell/blanc	x		x	x	Obre molt bé la flor, mira, i tot i que és simple no deixa espais entre els pètals
C31					x	x	
C32	malva	púrpura	x		x	1	
C33				x		x	*
C34				x		x	*
C35	rosa	blanc		x	x	x	Planta que ha brotat molt, port molt maco i color molt elegant, les flors miren
C36	púrpura	vermell	x		x	x	
C37	malva	vermell/blanc	x		x	x	

CODI	FLOR			FULLA		OBSERVACIONS		
	COLOR		PÈTALS		COLOR		ZONA	
	ULL/CENTRE		SIMPLE	DOBLE	CLAR	FOSC	SI NO	
D1					x		1	molt afectats per la falta de sol al principi, posteriorment
D2					x		1	canvi de lloc
D3					x		2	planta i fulla deformada *
D4					x		1	
D5					x		1	planta deformada *
D6					x		x	
D7					x		1	fulles deformades *
D8	vermell	no	x		x		1	umbrela molt grossa
D9					x		3	
D10					x		3	fulla i planta deformada *
D11					x		1	
D12					x		1	
D13					x		x	planta i fulla deformada *
D14					x		2	
D15	salmó fort	no	x		x		1	
D16					x		x	
D17	vermell	no		x	x		1	
D18	vermell	no		x	x		1	
D19					x		1	
D20	vermell	no		x	x		1	Vermell molt cridaner i una umbrel·la molt maca

CODI	FLOR		FULLA				OBSERVACIONS	
	COLOR	PÈTALS		COLOR		ZONA		molt afectats per la falta de sol al principi, posteriorment
		ULL/CENTRE	SIMPLE	DOBLE	CLAR	FOSC	SI	
E1					x		1	canvi de lloc
E2					x		x	planta i fulla deformada *
E3					x		x	
E4	salmó-taronja	no	x		x		x	Color molt bonic, és simple i té moltes flors per umbel·la aixà fa que tingui un bon efecte visual.
E5					x		1	fulla deformada *
E6					x		1	
E7					x		x	fulla deformada *
E8	vermell	no		x	x		x	molt erecte per falta de sol F comparació
E9	vermell	no		x	x		x	flor molt tupida
E10	salmó fort	no		x	x		1	flor molt erecte
E11	vermell	no		x	x		1	

A 11-

Els seus parents són Costa Brava Strawberry with eye X Costa Brava Purple with eye. La seva flor és de color rosa fort , amb l'ull vermell i el centre blanc. Els seus pètals són dobles i les fulles són clares i sense zona.

Les seves característiques són bastant similars a les dels seus parents. El color rosa no és nou, però aquest ull vermell amb el centre blanc, similar a una espurna dibuixada el fa bonic



Fig 32. Seedling A11



Fig 33. Flor del s

B 7-

Els seus parents són Costa Brava Purple with eye X Costa Brava Purple with eye. La seva flor és de color púrpura , amb l'ull vermell i el centre blanc . els seus pètals són simples i les fulles clares i sense zona. Les seves característiques també són molt similars a les dels seus parents. Es tracta d'una planta amb flor de pocs pètals però tot i així, té els pètals molt ben disposats i no deixen espai entre ells. És una flor senzilla i maca alhora i això la fa especial.



Fig 34. Seedling B7



Fig 35. Flor del seedling B7

C 17-

Els parents d'aquest gerani són: Dark Costa Brava Lavender with eye X Costa Brava Purple with eye. Posseeix una flor de color rosa clar amb l'ull púrpura i el centre blanc. Els seus pètals són semi-simples³¹ i les fulles són fosques i sense zona. Les seves característiques, com és d'esperar, també són similars a les dels seus parents És original que

tingui els pètals semi-simples. A més és molt atractiu ja que té l'ull púrpura molt gran , aquest tret fa que sigui diferent als altres geranis i per això està seleccionat.



Fig 36. Seedling C17



Fig 37. Flor del seedling C17

³¹ Uns pètals semisimples són aquells que no considerem ni del tot simples ni del tot dobles. Acostumen a tenir al voltant de 7 pètals per flor.

C 30 -

Els seus parentals són: Dark Costa Brava Lavender with eye X Costa Brava Purple with eye. El color de les flors d'aquest gerani és púrpura i tenen l'ull vermell amb el centre blanc. Té els pètals simples i les seves fulles són fosques i sense zona. Té unes característiques també molt

similars a les dels seus parentals. Tot i que és simple, els pètals estan molt ben col·locats i disposats a la flor, aquesta s'obre molt bé i mira.³²



Fig 38. Seedling C30



Fig 39. Flor del seedling C30

C 35 -

Els seus parentals són: Dark Costa Brava Lavender with eye X Costa Brava Purple with eye. El color de les seves flors és rosa clar, té l'ull blanc i en canvi no té centre. Es tracta d'un gerani amb els pètals dobles i les seves fulles són fosques i sense zona. Es una planta que té un port molt maco gràcies a que ha brotat molt. També està molt florida i les seves flors estan obertes i miren. Presenta un color molt elegant.

³² Col·loquialment diem que una flor mira quan els seus pètals es troben molt ben col·locats i ordenats dins de la flor. La sensació que fa a l'observador és que aquesta planta el mira ja que es troba oberta totalment



Fig 40. Seedling C35



Fig 41. Flor del seedling C35

D 20 -

Els seus parents són : Costa Brava Red X Costa Brava Bright Orange. Té les flors de color vermell intens i no posseeix ni ull ni centre. Els seus pètals són dobles i les fulles són de color verd fosc i presenta una zona poc intensa. El seu color és molt cridaner i atractiu, això el fa especial i a

més té unes ombrel·les molt florides i molt boniques. També és un valor afegit el fet que les seves fulles siguin de la línia negra i amb zona.



Fig 42. Seedling C35

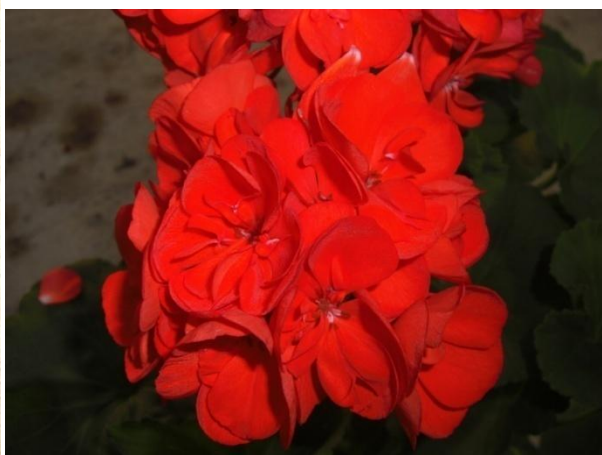


Fig 43. Flor del seedling D20

E 4 -

Els parents d'aquest gerani són: Costa Brava Bright Orange X Costa Brava Bright Orange. És de color taronja salmonat i tampoc presenta ni ull ni centre. Els seus pètals són simples i les fulles són clares i no tenen zona. Les seves característiques són semblants a les dels parents. El color de les flors és molt bonic i tot i que té els pètals simples estan ben disposats en la flor. Té una gran quantitat de flors per ombrel·la i això fa que tingui un bon aspecte visual.



Fig 44. Seedling E4



Fig 45. Flor del seedling E4

3.9.3 Clonació³³

Clonar un gerani és el fet de treure-li esqueixos i fer-los germinar. En aquest procés es realitza una reproducció asexual en la que només tenen lloc processos mitòtics . Un **esqueix** és un fragment de tija que sembrat ens donarà una rèplica exacta a la planta mare.

³³ Veure les fotografies del procés a l'annex 8.

27/11/2008

Material:

El material necessari per a tallar els esqueixos dels 7 seedlings triats i la seva posterior sembra és el següent:

- ▶ Guants de làtex
- ▶ Ganivets afilats
- ▶ Alcohol
- ▶ Etiquetes de plàstic
- ▶ Retolador permanent
- ▶ Bosses de plàstic
- ▶ Safates de plàstic amb tacks
- ▶ Tests de 13 cm i de 17 cm

Procés³⁴:

Per a tallar un esqueix hem d'agafar un ganivet afilat i desinfectat prèviament amb alcohol.

S'ha d'agafar una ramificació de cada seedling, localitzar la fulla que està més amunt i a partir d'aquesta comptar fins a tres nusos per sota seu. Hem de tallar un centímetre per sota del tercer nus. Repetirem



Fig 46. Esqueix estret d'una planta mare.

aquest procés tants cops com la planta ens ho permeti, tot i que en el procés real normalment es fan només 4 clons.

Cada cop que canviem de seedling és molt important que desinfectem el ganivet amb alcohol per tal d'evitar el traspàs de malalties d'una planta a una altra en el cas que n'hi hagi.

³⁴ Veure les fotografies del tall d'esqueixos ,la plantació d'aquests a un tack i el seu traspàs a un test a l'annex 8

Els esqueixos tallats els dipositem dins d'una bossa de plàstic on prèviament hi haurem introduït una etiqueta amb el codi de la planta mare.

Un cop haguem tret tots els esqueixos de cada planta hem de sembrar-los en els tacks. La sembra és fàcil, amb el dit es fa un forat a cada tack de la safata i s'hi introdueix l'esqueix.



Fig 47. Esqueix sembrat al tack

Les dues safates de tacks van ser aclimatades a l'hivernacle, on van estar fins que van arrelar. Llavors van ser trasplantades a tests de 13 cm de diàmetre per tal de tenir més espai per desenvolupar-se correctament.

Paral·lelament, les plantes mare van ser escapçades i netejades, és a dir, es van treure totes les flors i fulles passades i van ser trasplantades a un tests de 17 cm de diàmetre per tal de poder créixer en millors condicions d'espai. Aquest test també estava etiquetat amb el codi de la planta mare corresponent.

3.10 Assaig clonal i segona selecció

En l'assaig clonal es fa un seguiment dels esqueixos que ja estan sembrats en tests³⁵ i en creixement. D'aquest seguiment es fa una segona tria. Aquesta consisteix en fer una anàlisi general de cada 4 clons de cada seedling. La tria és relativament més fàcil que la primera ja que és més fàcil valorar les característiques en un conjunt de quatre geranis que en un de sol.

³⁵ Veure les imatges de seguiment d'alguns dels seedlings clonats en l'annex 9

Per fer la segona selecció es segueixen tenint en compte els paràmetres qualitatius i en la tria intervé l'opinió dels comercials de l'empresa productora i distribuïdora de geranis, ja que coneixen les tendències i demandes del mercat. Normalment passen aquesta selecció de 30 a 50 varietats.



Fig 48. Clons aclimatats a l'hivernacle

3.11 Assajos agronòmics i tercera selecció

Es realitzen dos assajos agronòmics amb les varietats seleccionades de l'assaig clonal. Cada assaig es fa en dues èpoques de l'any diferents : un a l'estiu i un a l'hivern. Aquests es fan paral·lelament en hivernacles de dues zones geogràfiques, d'aquesta manera es poden analitzar els comportaments de les plantes en diferents condicions ambientals, climàtiques i de conreu .

En aquests assajos es tenen en compte els paràmetres qualitatius i també els quantitius, com:

- **Precocitat** : nombre mig de dies entre la data de sembra i la data d'inici de floració.
- **Duració de la flor:** nombre mig de dies entre l'inici de la floració i el seu pansiment.
- **Longitud del peduncle:** valor mig de la longitud del peduncle de les cinc primeres umbel·la, mesurat en cm.
- **Diàmetre de l'umbel·la:** valor mig del diàmetre de les umbel·les, mesurat en cm.
- **Nombre de flors per umbel·la:** nombre mig de flors comptades en tres umbel·les.

- **Alçada de la planta:** valor mig de l'alçada de les plantes d'una mateixa varietat, va des de la base fins a la part vegetativa més alta i es mesura en cm.
- **Producció per esqueix:** producció d'esqueix per planta acumulada al llarg de nou mesos.
- **Taxa d'arrelament:** percentatge acumulat d'esqueixos poc o mal arrelats.

Un cop s'han analitzat aquests paràmetres es trien aquelles varietats que són bones tant en aspecte quantitatiu com en aspecte qualitatiu. Més tard es realitzen comparacions de cada varietat amb la varietat més similar ja existent al mercat. Si es creu que les obtingudes superen les que ja es comercialitzen es seleccionen. Dels assajos agronòmics solen quedar de 10 a 15 plantes.

3.12 Cultiu a diferents localitats

Una vegada es veu que les plantes seleccionades als assajos agronòmics són susceptibles per a ser incorporades al mercat, se'n fa una introducció progressiva.

El primer pas és el cultiu de les varietats obtingudes a diferents localitats i per diferents productors. S'envien mostres a agricultors i d'aquesta manera es troben a diverses instal·lacions, i se sotmeten a diferents condicions ambientals i cures variades . Així es comprova que realment el seu comportament és bo. Aquestes varietats que estan en fase d'experimentació no es comercialitzen.

Les plantes que finalment superin aquesta fase formaran el grup de **precomercials**.

3.13 Precomercialització

Les varietats precomercials no formen part del catàleg oficial, però si s'inclouen al llistat de preus, això significa que qualsevol client ja les pot encarregar.

Finalment, del grup de precomercials només passen a ser comercials, i per tant a formar part del mercat, aquelles que superen tots els requisits i que tant l'empresa productora com els clients han considerat bones per a sortir a la venda. Normalment de les plantes provinents d'aquesta campanya precomercial solen arribar al mercat des de 0 fins a 5.

3.14 Arribada al mercat de les noves varietats

És molt difícil caracteritzar quin seria el gerani ideal ja que depèn de la demanda del mercat i de les modes de cada moment i país. Tot i així, si que en l'actualitat trobem uns cànons de consum i per tant podem dir que un bon gerani avui hauria de presentar unes característiques de la part vegetativa i unes altres de la part floral.

Quant a la part vegetativa ha de tenir:

- Un bon port, ni massa compacte ni tampoc massa vigorós i de forma arrodonida.
- Una bona ramificació, que els peduncles no estiguin ni massa lluny de la part vegetativa ni tampoc molt a prop.
- Fulles amb zona intensa per tal que contrasti amb el color verd de la fulla.

Quant a la part floral, requereix:

- Precocitat en l'entrada de la floració.
- Color de les flors intens i lluminós.
- Una umbel·la gran i una bona repartició de les flors, de forma que es vegi la flor ben oberta.
- Una bona repartició de les umbel·les per tota la planta, de manera que cobreixin uniformement tota la part vegetativa.
- Bona repartició de la floració en el temps, així aconseguir que al mateix temps la planta presenti flors obertes i flors a punt de florir. Aquesta floració ha de ser continuada i abundant.

Altres característiques d'interès a l'hora de seleccionar una planta per introduir al mercat són:

- Una bona aptitud en el moment en que l'esqueix fa les arrels.

- Resistència o tolerància a estressos biòtics (insectes, fongs, virus...) i abiòtics (calor, fred, reg...)

Un cop seleccionades la o les plantes que s'han d'introduir al mercat, per tal que aquestes puguin formar part del catàleg de l'empresa productora i per tant tenir-ne el ple dret i exclusivitat, s'ha de formalitzar el seu registre com a varietats protegides (patent).

Des del primer moment que es factura la varietat obtinguda, es disposa d'un any per a començar a realitzar aquest procés. Si això no es realitza, l'empresa que l'ha obtingut no té cap dret per cobrar per unitat venuda. Aquesta quantitat que cobra el productor per planta que ven un cop l'ha protegida s'anomena **royalty**. Cada royalty normalment oscil·la entre 0,026 i 0,035 € / planta.

La sol·licitud per a protegir una planta es duu a terme en un organisme oficial de la Unió Europea anomenada Oficina Comunitària per la protecció de Plantes i des que es comença tot el procés per al registre es triga uns dos anys aproximadament a rebre el veredict.

4 Conclusions

Si em pregunto a mi mateixa si he complert els objectius que em vaig plantejar abans de començar el treball, em costa trobar resposta. Caldrà per tant desglossar-la . Quant a tema de treball i metodologia, totalment. Quant a aprenentatge personal, molt satisfactòriament, únicament podria haver-hi un matís propi de l'acotament del tema, davant del desconeixent de la durada real del mateix (5 anys), i el temps cronològic del que jo disposava per fer-lo .

He fet una cosa que mai hagués imaginat: he creat les meves pròpies varietats de gerani, tot i que m'he trobat amb el gran inconvenient del temps. Tot i així, vull aclarir que la part pràctica del treball que ha quedat per fer la continuo realitzant, per dues raons: per poder adjuntar-la en un futur al treball i per orgull propi, ja que m'agrada acabar el que començo.

He après moltes coses tant a nivell teòric, com a nivell pràctic i personal.

A **nivell teòric** he après en què es basa la hibridació i el creuament de geranis i tots els passos de què consta aquest procés de creació de noves varietats que millorin les existents al mercat . Per altra banda la base de l'elaboració d'un treball d'investigació.

A **nivell pràctic** he après tota la part de treball de camp que s'ha de seguir per a dur a terme aquest procés. M'he adonat que la feina en un laboratori no està feta per a mi, ja que demana molta paciència i una feina molt acurada, un error et pot passar factura i espatllar tot el projecte que estàs realitzant. Al tenir el major pes aquesta part en el treball, ha fet que assolís més fàcilment els objectius a nivell teòric , per haver tocat i manipulat amb les meves pròpies mans les diverses parts del procés. Per altra banda la posada en marxa d'un projecte propi, que demana molta pràctica i diverses tècniques de recollida d'informació.

A **nivell personal** he pogut aprofundir en un món pel qual he estat envoltada tota la vida i realment no coneixia . A més, em sento orgullosa d'haver fet tota la feina de camp , la qual ha requerit molt seguiment i molta constància, però que ha valgut la pena en vista dels resultats.

En aquest nivell, encara que soni a utòpic, ha estat en el que més he crescut per diverses raons: he après a escoltar els consells dels altres i sobretot d'aquells experts en el tema; he après que cal donar forma, color i un bon aspecte visual al treball per tal d'organitzar tota la informació que conté; també que s'ha de revisar una i altra vegada tota la feina feta per tal de trobar els errors i per tal de perfeccionar-la; m'he adonat també, que cal una certa planificació i ordre alhora de realitzar un treball, i en aquest cas, al ser molt pràctic, encara més.

Si he de destacar dos dels valors adquirits i que per tant em quedaran per sempre parlaria de la constància i la paciència. El primer ja que he tingut moltes feines i obligacions setmanals que no he pogut oblidar pel fet d'estar treballant amb éssers vius , i el segon perquè m'he adonat que les coses a vegades no surten com ens esperem i hi ha imprevistos que cal solucionar amb serenitat.

Finalment vull fer constar una qüestió que ha requerit més esforç per la meua part, ha estat fer una síntesi dels meus objectius inicials per tal de redactar la introducció i després fer la valoració dels resultats obtinguts i veure els obstacles que han sorgit, en el moment de redactar les conclusions.

En conjunt, ha estat una experiència molt positiva en tots els àmbits, on l'esforç, la constància, la força de voluntat i la responsabilitat han estat presents contínuament.

5 Bibliografia

Llibres consultats:

- ▶ CASELLES, Maria. *Geranios*. Barcelona: Bruguera, 1983
- ▶ WEAVER, Pat. *Pelargoniums*. Barcelona: Naurant, 1988
- ▶ GIRALT, J. *Yo cuido mis geranios*. Lleida: (edita el mateix autor) , 1993
- ▶ RIEDMILLER, Andreas. *Geranios y pelargonios*. León: Everest, 1988
- ▶ PIERIK, R.L.M. *Cultivo in vitro de las plantas superiores*. Madrid: Mundi-Prensa, 1988

Pàgines Web consultades:

- ▶ www.infojardin.com
- ▶ www.edu365.cat/aulanet/ciencia/
- ▶ www.grec.net
- ▶ www.google.es
- ▶ www.wikipedia.org

Altres fonts :

- ▶ Apunts de biologia de 2n de batxillerat.
- ▶ Llibretó de Treball de recerca de Col·legi Maristes Valldemia.

6 Annexos

ANNEX 1- Parentals

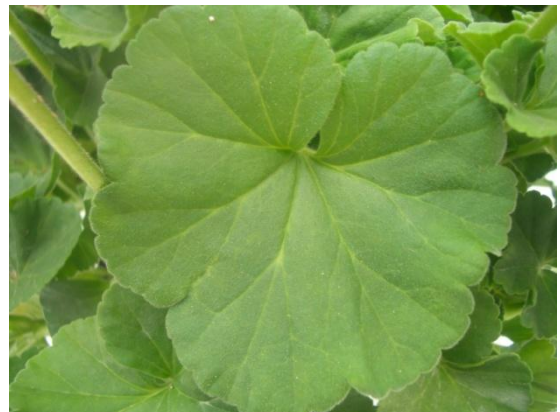
COSTA BRAVA BRIGHT ORANGE



COSTA BRAVA RED



COSTA BRAVA PURPLE WITH EYE



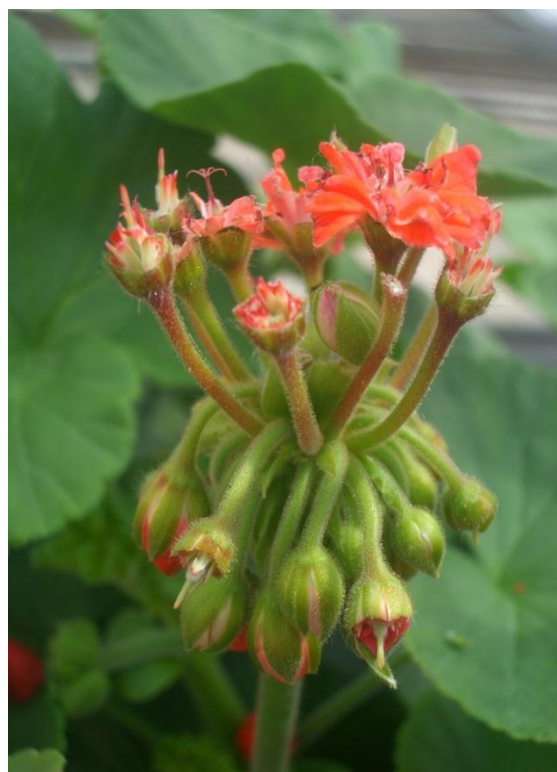
DARK COSTA BRAVA LAVENDER WITH EYE



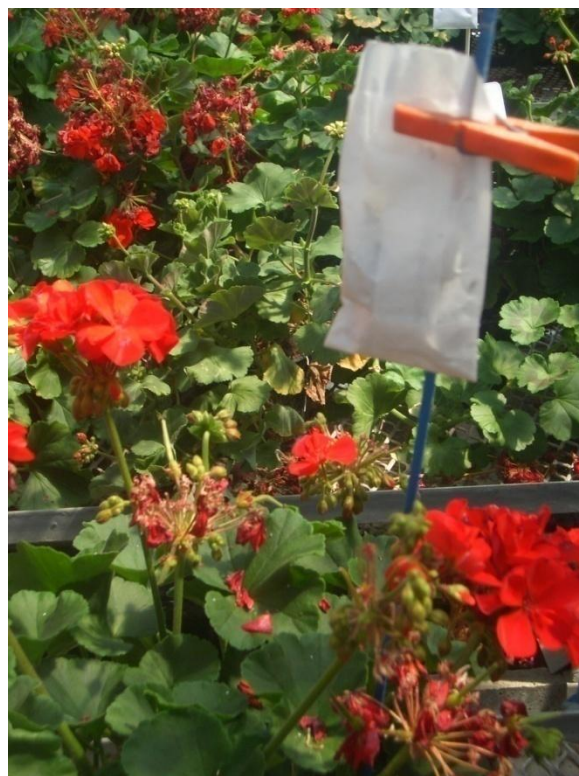
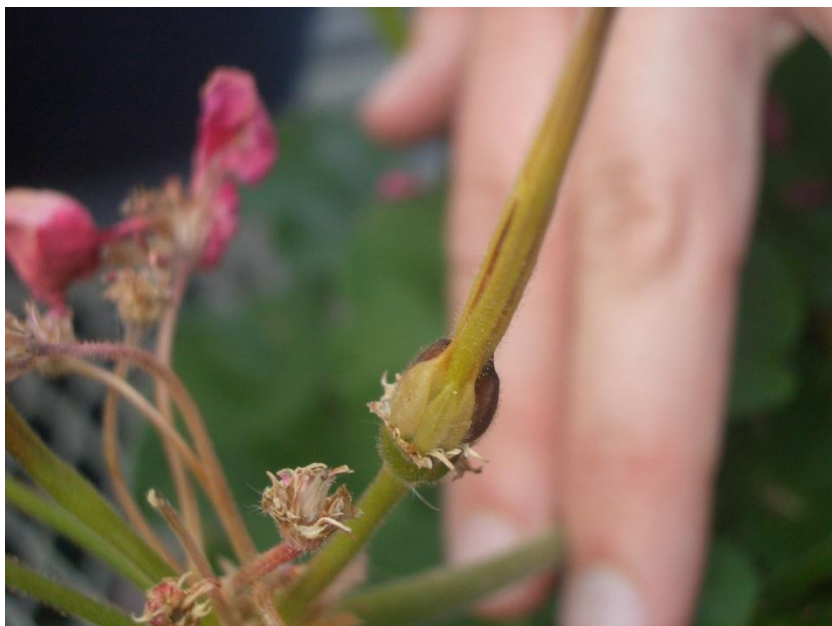
COSTA BRAVA STRAWBERRY WITH EYE



ANNEX 2- Pol·linitzacions



ANNEX 3-Recollida de les llavors



ANNEX 4- Treball al laboratori





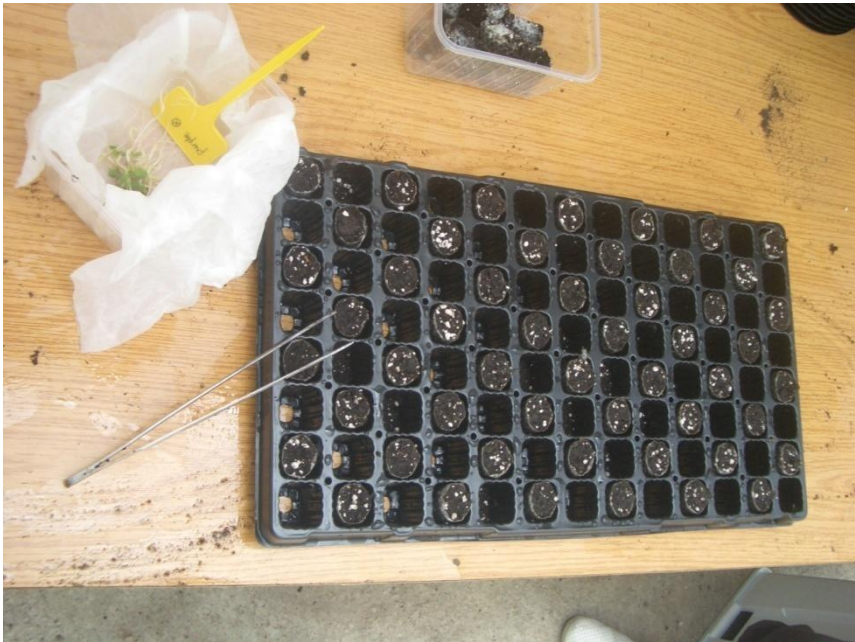




ANNEX 5- Germinació in vitro i traspàs de la plàntula





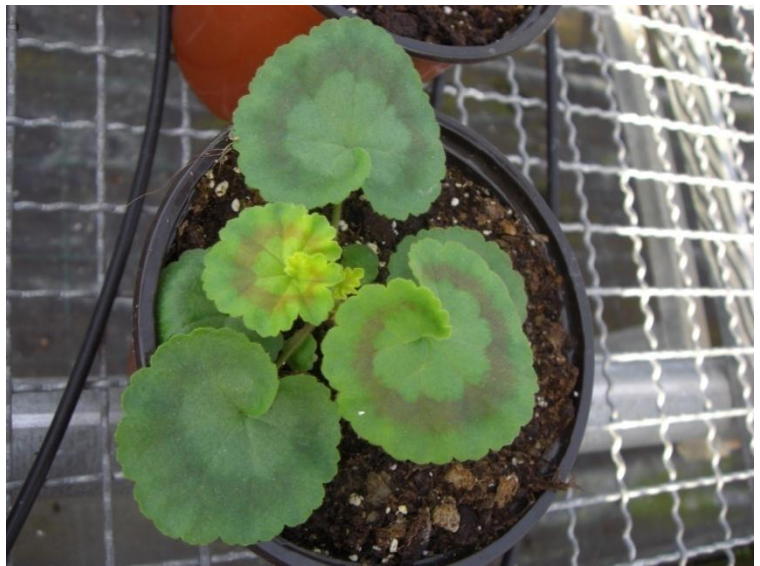




ANNEX 6
Aclimatació







ANNEX 7
Seedlings







ANNEX 8
Clonació





ANNEX 9
Assaig clonal

