

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA

ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERS AGRÒNOMS DE LLEIDA

MICROPROPAGACIO DE *Cynara scolymus* CV. "BLANCA DE TUDELA":

Condicionants del procés i aproximació a la  
caracterització anatòmico-fisiològica en les diferents  
fases de cultiu.

Tesi presentada per Núria Cañameras i Riba per optar al grau de Doctor Enginyer Agrònom. Dirigida pel Dr. Angel Mingo Castel.

Lleida, Juliol del 1990

#### 4.4. Assaigs d'arrelament

##### 4.4.1. Assaig d'arrelament I: Efecte de la composició del medi

###### 4.4.1.1. Percentatge d'arrelament

Els percentatges d'arrelament diaris i globals, que s'obtenen respectivament pels dos primers medis assajats (A4: medi proposat amb  $8 \text{ mg l}^{-1}$  d'IBA; A10: medi Moncousin i Gaspar, 1983, amb  $1 \text{ mg l}^{-1}$  de NAA), mostren un comportament ben diferenciat entre ells. Un petit percentatge de microesqueixos cultivats en el medi A10 mostra abans (dia 6) la formació de primordis radiculars, que els desenvolupats en el tractament A4, encara que no de forma significativa. Tanmateix, als 15 dies després d'iniciar-se l'assaig, un percentatge important de microbrots, més d'un 40% en el medi A4 mostren formació d'arrels. A la fi de l'experiència, en aquest darrer tractament han arrelat prop d'un 60% de microesqueixos, mentre que en el formulat per l'equip de Moncousin ho han fet un 20% menys (Taula 40).

En l'assaig d'arrelament més complet programat a continuació, amb dotze tractaments, tres dels quals contenen NAA ( $1 \text{ mg l}^{-1}$ ) i la resta formulats amb IBA ( $8 \text{ mg l}^{-1}$ ) s'observa també una rizogènesi clarament distinta entre els dos tipus bàsics dels medis estudiats. Al igual que en l'assaig previ, alguns microbrots cultivats en els tres medis amb NAA (A9, A10, A11, medis equip Moncousin) exterioritzen uns dies abans la presència d'arrels, en front dels cultivats amb IBA. Tanmateix en la majoria de tractaments amb IBA s'observa que l'arrelament pròpiament dit, tot i iniciant-se amb més retard (novè dia) ho fan més homogèniament, és a dir, un elevat percentatge dels microbrots arrelen a la vegada. Als 15 dies des del inici de l'assaig, en tots els

tractaments formulats amb IBA han arrelat més del 50% dels microesqueixos, mentre que els que contenen NAA el percentatge mitjà és del 15%. A la fi de l'assaig els tractaments amb IBA impliquen un percentatge d'arrelament mig en torn al 70%, i els que porten NAA sols del 35% (Taula 41, Gràfics 7 i 8).

D'entre els tractaments amb IBA, aquells que denoten un major percentatge d'arrelament superior al 84%, són els formulats amb la solució de Murashige i Skoog (1962) amb macroelements a la meitat i sense presència de vitamina D<sub>2</sub>, A5 (88%) i A6 (84%). D'entre aquests dos medis cal remarcar que el A5 (1.1% agar) destaca, a partir del dia dotzè, de la resta de tractaments, en assolir ja en l'esmentada data un percentatge d'arrelament superior al 70%. A la fi de l'assaig (21 dies) pràcticament tots els tractaments amb IBA mostren un percentatge d'arrelament significativament superior als de NAA, llevat dels tractaments A1 i A4, que tot i essent superiors no ho són significativament.

Tots els medis que contenen IBA donen a partir ja del dia dotzè percentatges d'arrelament significativament superiors als obtinguts en qualsevol dels tres medis de l'equip de Moncousin, els quals a la fi de l'assaig encara estan per sota del 40% d'arrelament.

#### 4.4.1.2. Tipus i nombre d'arrels

Una marcada diferència, qualitativa i quantitativa en el tipus d'arrels formades, s'estableix entre els microbrots cultivats en medis amb NAA, que presenten un menor nombre d'arrels, però una mica més allargades i més primes, que els establerts en medis amb IBA, que mostren un nombre d'arrels significativament superior, però menys desenvolupa-

des. Les arrels obtingudes en els medis amb NAA són generalment ramificades, mentre que les procedents d'IBA ho són molt ocasionalment.

Cal remarcar que quan els microesqueixos arrelats són separats del medi per al seu control o bé per a passar a ser aclimatitzats, els procedents dels medis de l'equip de Moncousin amb molta facilitat patien trencament del seu sistema radicular, ja que quan s'estiraven els microesqueixos, tot i fer-ho amb molta cura, en ser les arrels llargues i fines no podien separar-se del medi amb facilitat. Pràcticament, no hi hagué cap problema d'aquesta índole a l'hora d'extreure dels tubs els microesqueixos arrelats amb els medis que contenien IBA.

En l'assaig previ, el nombre d'arrels obtingut en el medi proposat amb IBA (A4) és quasi significativament superior al llarg de tot l'assaig a l'assolit pel tractament que contempla el medi de Moncousin i Ducreux (1983) (A10) (Taula 42).

Estudiant la formació d'arrels entre els tractaments al llarg del assaig, a partir del dia tercer i fins el sisè dia, el medi A9 (Moncousin, 1981) presenta un nombre d'arrels significativament superior a la resta de tractaments. A partir del novè dia, els microesqueixos ubicats en els medis A5, A6 i A8 presenten una quantitat d'arrels propera a 3 i significativament més elevada que els medis amb NAA (Taula 43, Gràfic 9).

A la fi de l'assaig (21 dies), el nombre d'arrels per a molts microesqueixos cultivats amb medis amb IBA és superior a 10, mentre que els arrelats en medis amb NAA no sobrepassen les dues arrels, valor significativament inferior a la resta de tractaments. Els tractaments amb vitamina

D<sub>2</sub> en general manifesten una menor formació d'arrels alhora que un arrelament percentualment inferior.

L'anàlisi de la varianza estudiant els diferents tractaments al llarg del temps ens indica que el nombre d'arrels incrementa significativament amb el temps i sobretot a partir del dia divuitè.

#### 4.4.1.3. Llargada dels microesqueixos

L'anàlisi estadística ens confirma que partim d'una llargada de microesqueixos inicial (data 0) homogènia per a tots els tractaments, compresa entre 4.55 i 5.00 cm. Al llarg de l'assaig s'observa que fins el dia nové no s'exhibeixen diferències significatives entre tractaments. A partir d'aquesta data i fins a la fi de l'assaig, els microbrots en medi A9 (Moncousin, 1981), presenten sempre una llargada significativament superior a la resta. Els microbrots repicats en aquest medi arriben a incrementar en un 88.63% la seva llargada de fulles inicial. A més del medi A9, tan sols, 3 medis més aconseguen augmentar la seva llargària inicial en més d'un 50% (A10, A8 i A6) (Taula 44, Gràfic 10).

Si analitzem el creixement dels microesqueixos al llarg del temps per a cada medi, veiem que els tractaments amb una concentració d'agar del 1.1% (A1, A3, A5, A7) són els que manifesten menor increment de la seva longitud al no presentar diferències significatives entre les longituds inicial i final dels microbrots. La presència de vitamina D<sub>2</sub> no sembla afectar sensiblement a la llargària, mentre que en disminuir la concentració de macronutrients, els brots s'allarguen més. Es destaca el comportament del medi A9, en el qual conflueixen nivell baix d'agar i meitat de ma-

croelements. El fet de presentar un comportament significativament superior als altres, possiblement cal atribuir-ho a la presència de tetraborat sòdic.

Aquests resultats i els percentatges d'arrelament abans esmentats impliquen que més creixement en longitud del microesqueix no comporta un major arrelament. Aquest fet fou confirmat estadísticament.

#### 4.4.1.4. Pes i contingut hídric

L'ànalisi estadística realitzat denota diferències significatives entre els tractaments, quant als pesos frescos i secs totals obtinguts i els corresponents a les diferents fraccions, llevat del pes sec de la fracció cal.lus que no en presenta (Taula 45).

El medi A2 (MS complet + agar 0.8%) comporta el tractament amb més pes fresc total aconseguit (2.074 mg), significativament diferent de la resta de tractaments, llevat del medi A6 ( $\frac{1}{2}$  MS + agar 0.8%).

Els microesqueixos que presenten alhora majors pesos frescos d'arrel i de cal.lus són els arrelats en el medi A6. Tanmateix l'esmentat material i respecte el pes fresc d'arrels, és sols estadísticament superior als tractaments amb NAA (A9, A10 i A11) i al medi A2; quant al pes fresc del cal.lus, aquest és significativament superior a tota la resta, excepció feta del medi A5.

Respecte el pes fresc total s'observen poques diferències, la majoria de medis formulats amb 1.1% d'agar (A1, A3 i A5) manifesten pesos significativament inferiors als obtinguts amb el medi formulat amb 0.8% d'agar (A2);

aquest major pes sec com es pot veure ve condicionat bàsicament per ser el tractament que dóna en valors absoluts major fracció de fulles.

Les diferències més destacables de les gravimetries aconseguides en les fraccions d'arrels seques es donen entre els tractaments formulats amb els medis de l'equip de Moncousin (A9, A10 i A11) i la majoria de medis formulats amb les solucions macromineral MS a la meitat (A6, A7 i A8).

La quantificació del pes sec de les fulles ens indica que solament el material subcultivat en el medi A2 manifesta un pes més elevat que els medis A5 i A8.

L'ànalisi estadística del contingut hídric indica que el contingut d'aigua de les fulles i de les arrels no presenta diferències significatives entre tractaments. El medi A10 és l'únic que presenta un contingut hídric de la fracció cal.lus (82.46%) inferior a la resta de tractaments (Taula 46).

En conjunt s'observa que els distints factors que s'analitzen en aquest assaig d'arrelament no afecten sensiblement el pes fresc, pes sec i contingut hídric total i per fraccions.

Taula - 40 Incidència de la composició del medi de cultiu en l'arrelament (A4: MS, 10 mg l<sup>-1</sup> vitamina D<sub>2</sub>, 0.8% agar; A10: Moncousin i Gaspar, 1983)

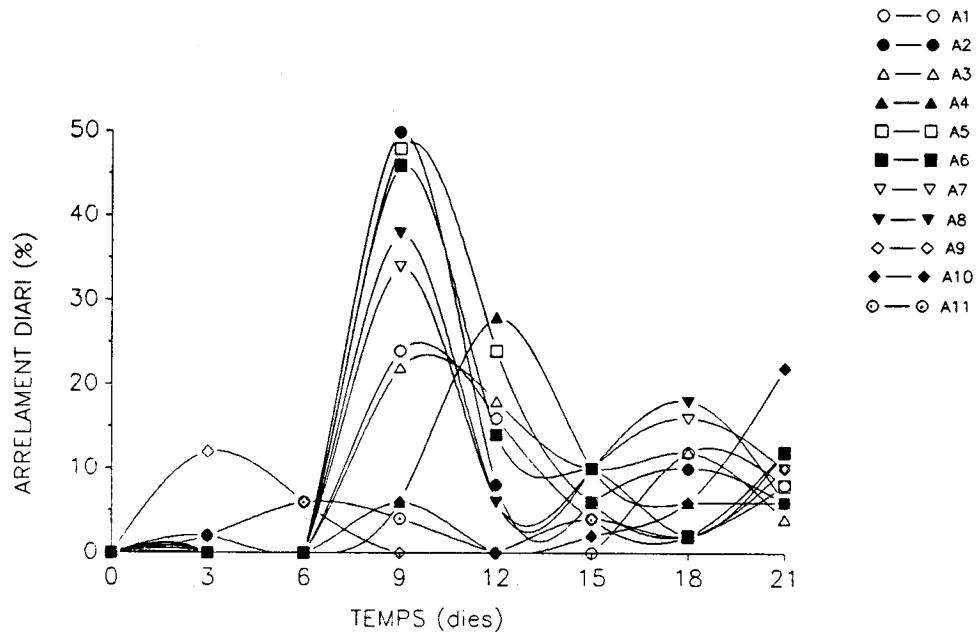
Medi	Dies inici arrelament						
	3	6	9	12	15	18	21
A4	0.00	0.00	5.21	29.31	43.80	50.2	55.7
	a	a	a	b	b	b	b
A10	0.00	1.83	8.10	8.10	9.40	17.5	38.10
	a	a	a	a	a	a	a

Taula - 41 Incidència del medi de cultiu en l'arrelament (% acumulat) (MS + 8 mg l<sup>-1</sup> IBA: A1, A2, A3, A4; MS + 8 mg l<sup>-1</sup> IBA: A5, A6, A7, A8; Vitamina D<sub>2</sub> 10 mg l<sup>-1</sup>: A3, A4, A7, A8; Agar 1.1%: A1, A3, A5, A7; Agar 0.8%: A2, A4, A6, A8; Moncousin, 1981: A9; Moncousin i Gaspar, 1983: A10; Moncousin i Ducreux, 1984: A11).

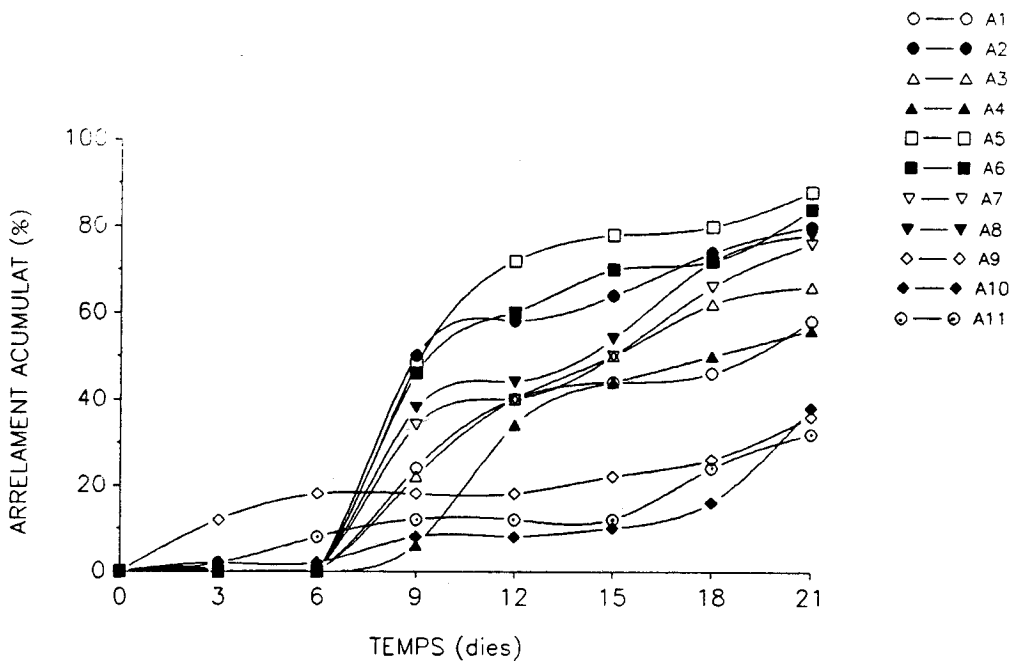
Medi	Dies inici arrelament						
	3	6	9	12	15	18	21
A1	0	0	24	40	44	46	58
	a	a	ab	bc	bc	bc	ab
A2	0	0	50	58	64	74	80
	a	a	b	cd	cd	de	bc
A3	0	0	22	40	50	62	66
	a	a	ab	bc	c	cde	bc
A4	0	0	6	34	44	50	56
	a	a	a	bc	bc	bcd	ab
A5	0	0	48	72	78	80	88
	a	a	b	d	d	de	c
A6	0	0	46	60	70	72	84
	a	a	b	cd	cd	cde	c
A7	0	0	34	40	50	66	76
	a	a	b	bc	c	cde	bc
A8	0	0	38	44	54	72	78
	a	a	b	c	cd	cde	bc
A9	12	18	18	18	22	26	36
	b	b	ab	ab	ab	ab	a
A10	2	2	8	8	10	16	38
	ab	a	a	a	a	a	a
A11	2	8	12	12	12	24	32
	ab	ab	ab	a	a	ab	a



Gràfic 7 - Efecte de la composició del medi de cultiu en l'arrelament (% diari) (simbologia en la taula 41).



Gràfic 8 - Efecte de la composició del medi de cultiu en l'arrelament (% acumulat) (simbologia en la taula 41).



Taula - 42 Incidència del medi de cultiu en el nombre d'arrels obtingudes (A4: MS, 10 mg l<sup>-1</sup> vitamina D<sub>2</sub>, 0.8% agar; A10: Moncousin i Gaspar, 1983).

Medi	Dies desde l'inici de la fase d'arrelament						
	3	6	9	12	15	18	21
A4	0.00 a	0.00 a	0.15 a	1.68 b	2.81 b	3.84 b	6.01 b
A10	0.00 a	0.03 a	0.18 a	0.25 a	0.31 a	0.55 a	1.37 a

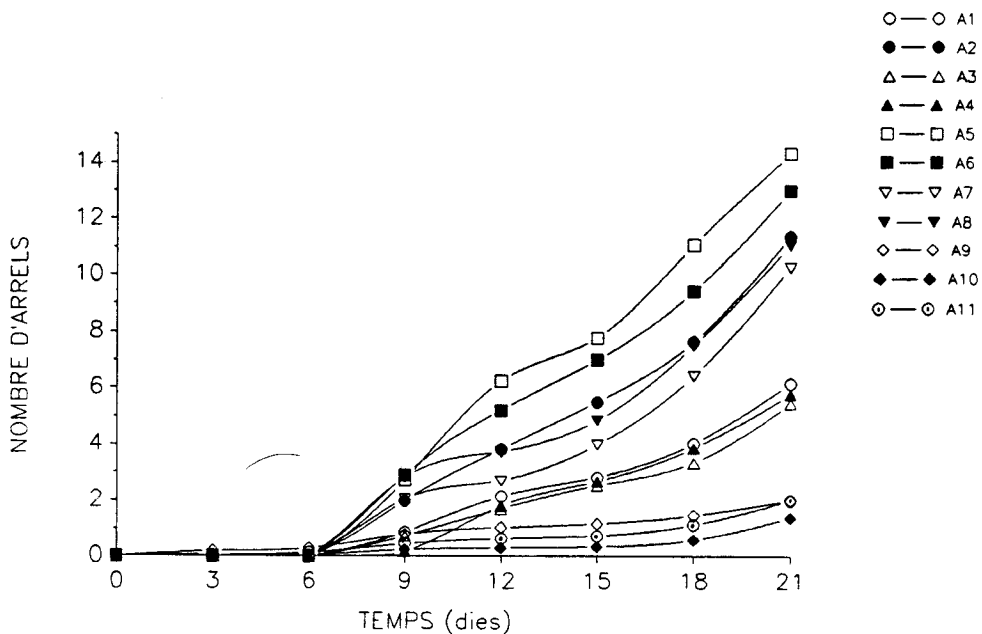
Taula - 43 Incidència del medi de cultiu en el nombre d'arrels obtingudes (MS + 8 mg l<sup>-1</sup> IBA: A1, A2, A3, A4; MS + macro + 8 mg l<sup>-1</sup> IBA: A5, A6, A7, A8; Vitamina D<sub>2</sub> 10 mg l<sup>-1</sup>: A3, A4, A7, A8; Agar 1.1%: A1, A3, A5, A7; Agar: 0.8%: A2, A4, A6, A8; Moncousin, 1981: A9; Moncousin i Gaspar, 1983: A10; Moncousin i Ducreux, 1984: A11).

Medi	Dies desde l'inici de la fase d'arrelament							
	0	3	6	9	12	15	18	21
A1	0.00 a a	0.00 a a	0.00 a a	0.86 ab ab	2.12 bc abc	2.82 bc ab	4.02 c ab	6.16 d b
A2	0.00 a a	0.00 a a	0.0 a a	1.98 b bc	3.80 bc cd	5.50 cd bcd	7.64 d cd	11.40 e c
A3	0.00 a a	0.00 a a	0.00 a a	0.72 ab ab	1.68 bc abc	2.52 cd ab	3.34 d ab	5.44 e b
A4	0.00 a a	0.00 a a	0.00 a a	0.16 a a	1.78 b abc	2.67 bc ab	3.86 c ab	5.77 d b
A5	0.00 a a	0.00 a a	0.00 a a	2.72 b c	6.24 c e	7.79 c d	11.09 d d	14.35 e c
A6	0.00 a a	0.00 a a	0.00 a a	2.90 b c	5.20 bc de	7.00 cd cd	9.44 d cd	13.04 e c
A7	0.00 a a	0.00 a a	0.00 a a	2.04 ab bc	2.68 b cd	3.98 b b	6.42 c bc	10.29 d bc
A8	0.00 a a	0.00 a a	0.00 a a	2.82 b c	3.72 b ab	4.84 b bc	7.50 c cd	11.08 d c
A9	0.00 a a	0.18 ab b	0.28 ab c	0.78 abc ab	1.02 abc ab	1.16 abc a	1.46 bc a	2.00 c a
A10	0.00 a a	0.02 a a	0.04 a ab	0.23 a a	0.29 a a	0.33 a a	0.58 a a	1.38 b a
A11	0.00 a a	0.04 a a	0.12 a b	0.44 a ab	0.62 a ab	0.72 a a	1.12 a a	2.00 b a

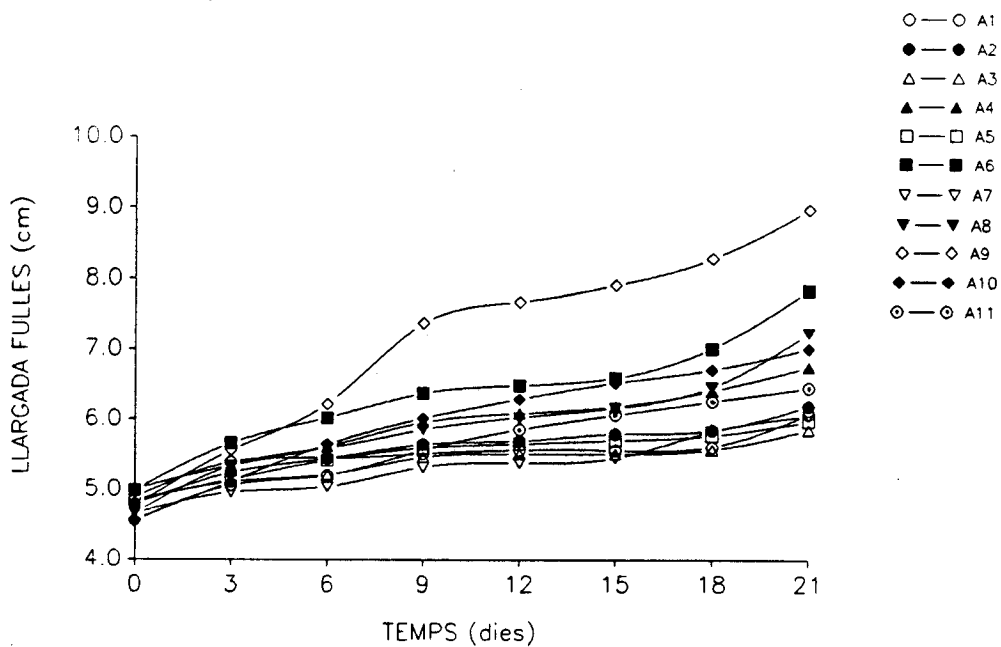
Taula - 44 Incidència de la composició del medi en l'evolució de la longitud dels microbrots (cm)  
 (MS + 8 mg l<sup>-1</sup> IBA: A1, A2, A3, A4; MS + 8 mg l<sup>-1</sup>: A5, A6, A7, A8; Vitamina D<sub>2</sub> 10 mg l<sup>-1</sup>: A3, A4, A7, A8; Agar 1.1%: A1, A3, A5, A7; Agar 0.8%: A2, A4, A6, A8; Moncousin, 1981: A9; Moncousin i Gaspar, 1983: A10; Moncousin i Ducreux, 1984: A11).

Medi	Dies desde l'inici de la fase d'arrelament								Increment (%)
	0	3	6	9	12	15	18	21	
A1	4.88 a	5.38 a	5.44 a	5.50 a	5.55 a	5.55 a	5.60 a	6.06 a	24.18
A2	4.78 a	5.23 ab	5.43 ab	5.63 ab	5.68 ab	5.78 ab	5.83 ab	6.18 b	29.29
A3	4.82 a	5.10 a	5.20 a	5.45 a	5.50 a	5.50 a	5.56 a	5.84 a	21.16
A4	5.00 a	5.33 ab	5.60 ab	5.94 ab	6.07 ab	6.17 ab	6.40 ab	6.74 b	34.80
A5	4.85 a	5.13 a	5.41 a	5.58 a	5.64 a	5.69 a	5.76	5.96	22.89
A6	4.98 a	5.65 ab	6.01 ab	6.36 ab	6.47 ab	6.58 ab	7.00 ab	7.82 b	57.70
A7	4.65 a	4.95 a	5.03 a	5.31 a	5.37 a	5.44 a	5.82 a	6.04 a	29.89
A8	4.65 a	5.33 ab	5.58 abc	5.84 abc	6.01 abc	6.15 abc	6.45 bc	7.22 c	55.27
A9	4.75 a	5.55 ab	6.21 b	7.35 c	7.65 cd	7.90 cd	8.27 cd	8.96 d	88.63
A10	4.55 a	5.10 ab	5.63 abc	6.00 abc	6.28 abc	6.51 bc	6.70 bc	7.00 c	53.85
A11	4.55 a	5.05 ab	5.19 ab	5.55 ab	5.84 ab	6.05 b	6.25	6.44 b	41.54

Gràfic - 9 Incidència del medi de cultiu en el nombre d'arrels (simbologia en la taula 43).



Gràfic - 10 Incidència del medi de cultiu en l'evolució de la longitud dels microbrots (cm) en la fase d'arrelament (simbologia en la taula 44).



Taula - 45 Efecte de la composició del medi d'arrelament en el pes (mg) de les fraccions dels microbrots ( $MS + 8 \text{ mg l}^{-1}$  IBA: A1, A2, A3, A4;  $MS \text{ } \mu\text{macro} + 8 \text{ mg l}^{-1}$ : A5, A6, A7, A8; Vitamina D<sub>2</sub>  $10 \text{ mg l}^{-1}$ : A3, A4, A7, A8; Agar 1.1%: A1, A3, A5, A7; Agar 0.8%: A2, A4, A6, A8; Moncousin, 1981: A9; Moncousin i Gaspar, 1983: A10; Moncousin i Ducreux, 1984: A11; pft: fresc total; pfa: fresc arrels; pfc: fresc cal.lus; pff: fresc fulles; pst: sec total; psc: sec cal.lus; psf: sec fulles).

Medi	pft	pfa	pfc	pff	pst	psa	psc	psf
A1	1.154 a	145 abc	42 ab	967 a	83 a	10 abc	2.6 a	70 ab
A2	2.074 b	273 bc	103 cd	1.697 b	138 b	15 abc	2.6 a	120 b
A3	824 a	89 ab	11 a	725 a	79 a	6 ab	0.6 a	71 ab
A4	1.440 a	155 abc	59 ab	1.227 ab	89 ab	10 abc	1.3 a	78 ab
A5	1.024 a	139 abc	82 bcd	802 a	61 a	8 abc	1.1 a	51 a
A6	1.633 ab	327 c	112 d	1.195 ab	93 ab	19 bc	3.9 a	70 ab
A7	1.159 a	252 bc	36 ab	866 a	94 ab	21 c	3.3 a	70 ab
A8	1.253 a	256 bc	64 bc	933 a	83 a	19 bc	3.3 a	61 a
A9	1.336 a	101 ab	8 a	1.227 ab	97 ab	2 a	0.3 a	94 ab
A10	1.285 a	39 a	10 a	1.237 ab	108 ab	4 a	1.3 a	100 ab
A11	1.033 a	61 ab	8 a	965 a	88 ab	3 a	0.4 a	84 ab

Taula - 46 Efectes de la composició del medi de cultiu en el contingut hídric (%) de les fraccions dels microbrots ( $MS + 8 \text{ mg l}^{-1}$  IBA: A1, A2, A3, A4;  $MS \text{ } \mu\text{macro} + 8 \text{ mg l}^{-1}$ : A5, A6, A7, A8; Vitamina D<sub>2</sub>  $10 \text{ mg l}^{-1}$ : A3, A4, A7, A8; Agar 1.1%: A1, A3, A, A7; Agar 0.8%: A2, A4, A6, A8; Moncousin, 1981: A9; Moncousin i Gaspar, 1983: A10; Moncousin i Ducreux, 1984: A11; cht: total; chf: fulles; chc: cal.lus; cha: arrels).

Medi	cht	chf	chc	cha
A1	92.07 ab	92.06 a	93.57 b	88.65 a
A2	91.51 ab	91.27 a	97.79 b	94.08 a
A3	89.87 a	89.52 a	94.27 b	91.11 a
A4	93.87 b	93.76 a	95.76 b	94.10 a
A5	94.03 b	93.49 a	97.45 b	93.21 a
A6	93.97 b	93.30 a	96.83 b	95.10 a
A7	91.61 ab	91.53 a	93.09 b	91.76 a
A8	93.39 ab	93.45 a	95.62 b	93.18 a
A9	91.87 ab	91.57 a	94.29 b	98.04 a
A10	90.89 ab	91.54 a	82.46 a	87.41 a
A11	91.04 ab	90.95 a	94.36 b	93.43 a

#### 4.4.2. Assaig d'arrelament II: Efecte de l'estat físic del medi

##### 4.4.2.1. Percentatge d'arrelament

Dels tres tractaments assajats, aquells que no exhibeixen significativament percentatges superiors d'arrelament són els formulats amb agar (Ar1 i Ar3) i entre ells no s'observen diferències significatives. En conseqüència el fet d'haver passat previament per medi d'allargament (Ar1) no suposa un millor arrelament. No obstant, creiem oportú considerar molt adient la fase d'allargament, perquè encara que els microbrots que passen per l'esmentada etapa no arrelen significativament més, aquesta permet obtenir un major nombre de microesqueixos allargats i per tant possibles de ser emprats amb èxit en la fase d'arrelament (Taula 47, Gràfic 11). L'arrelament en medi líquid, amb una fase prèvia d'allargament, disminueix significativament el percentatge d'arrelament.

L'anàlisi de la varianza ens indica que podem considerar que els tres tractaments assajats tenen la mateixa data d'exteriorització de l'arrelament, que es situa en torn el quart dia.

##### 4.4.2.2. Nombre d'arrels

S'observa un nombre d'arrels significativament diferent entre els microesqueixos arrelats en medi sòlid (Ar1) i els que ho han fet en medi líquid, però ambdós procedents d'una fase d'allargament prèvia. El fet d'arrelar en medi líquid implica una formació del nombre d'arrels menor (3.57). Els microbrots arrelats en medi sòlid, però que procedien directament de la fase de multiplicació, presenten un

nombre d'arrels intermig (4.55) i no significativament diferent dels altres dos tractaments (Taula 47, Gràfic 12).

En els tres casos les arrels formades eren similars: poc allargades i resistents.

#### 4.4.2.3 Longitud dels microesqueixos

L'anàlisi de la varianza ens corrobora que partiem d'un material vegetal homogeni en longitud, en torn als 5 cm. No es manifesten diferències significatives entre la llargada final dels microesqueixos dels tres tractaments (Taula 48).

#### 4.4.2.4. Vitrificació

En aquest assaig es creié oportú avaluar el percentatge de vitrificació, en relació a que gran part del material utilitzat en l'assaig, tractaments Ar1 i Ar2, procedia d'un allargament previ en medi líquid, i que a més a més el Ar2 comporta un arrelament, també, en medi líquid. L'anàlisi estadística senyala que els microbrots cultivats en l'esmentat medi líquid presenten un percentatge de vitrificació molt superior als altres dos tractaments. Aquesta anàlisi ens condueix a pensar que el fet de sotmetre durant deu dies els microesqueixos en un medi líquid (sense hormones), i després traslladar-los a un medi d'arrelament sòlid, no implica que aquests presentin més tard un major percentatge de vitrificació. Tanmateix si aquests microesqueixos allargats són transferits a un medi d'arrelament líquid, la vitrificació esdevé aleshores molt important (Taula 48).

#### 4.4.2.5. Pesos frescos i secs de les diferents fraccions

Els resultats obtinguts evidencien que majoritàriament els tres tractaments estudiats no presenten diferències entre ells en les gravimetries realitzades.. L'ànalisi de la variança palesa que el tractament Ar2 (medi d'arrelament líquid) presenta més formació de la fracció cal.lus que els altres dos. El tractament Ar3 (medi d'arrelament sòlid + microesqueixos no allargats) és el que significativament mostra menys quantitat de cal.lus (1.2 mg) (Taula 49).

No s'observen diferències significatives entre els pesos frescos i secs de la fracció arrel dels tres tractaments. No obstant, s'aprecia que aquells tractaments que havien donat un major nombre d'arrels formades (Ar1 i Ar3), són els que impliquen ara un major pes.

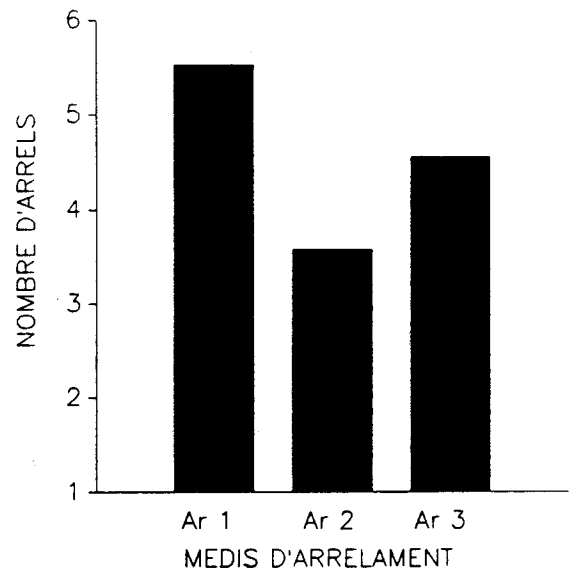
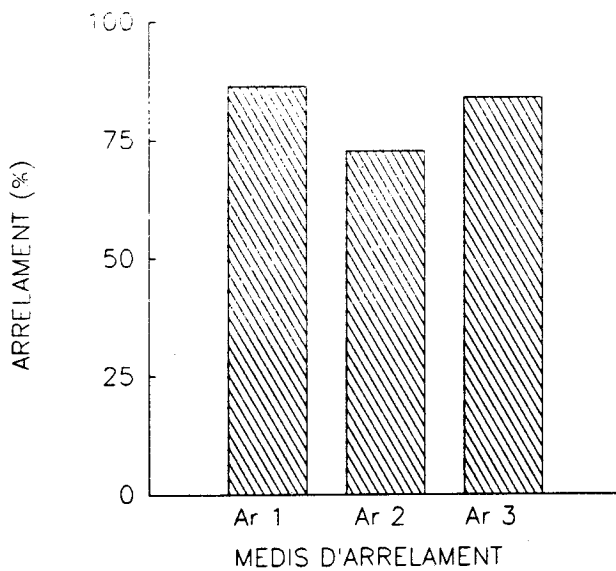
No és d'estranyar que els valors obtinguts en aquest assaig respecte pesos i nombre d'arrels formades siguin més baixos que els de l'assaig d'arrelament anterior, ja que cal recordar, que en el present assaig els controls eren realitzats a les 48 hores després d'entreveure's la iniciació radicular, mentre que en l'assaig anterior tots els control es van fer als 21 dies d'iniciar-se la fase d'arrelament.



Taula - 47 Efecte de l'estat físic del medi de cultiu i d'una fase d'allargament prèvia en el nombre d'arrels, data i percentatge total d'arrelament (medis sòlids: Ar1, Ar3; medi líquid: Ar2; fase allargament prèvia: Ar1 i Ar2).

Medi	Arrelament (%)	Nombre d'arrels	Data d'arrelament (dies)
Ar 1	86.38 b	5.52 b	3.51 a
Ar 2	72.77 a	3.57 a	3.95 a
Ar 3	84.00 b	4.55 ab	3.99 a

Gràfics - 11 i 12 Incidència de l'estat físic del medi de cultiu i d'una fase d'allargament prèvia en l'arrelament (simbologia taula 47).



Taula - 48 Efectes de l'estat físic del medi d'arrelament i d'una fase d'allargament prèvia en la longitud dels microbrots i en la vitrificació (medis sòlids: Ar1, Ar3; medi líquid: Ar2; fase allargament prèvia: Ar1 i Ar2).

Medi	Longitud inicial (cm)	Longitud final (cm)	Vitrificació (%)
Ar 1	5.20 a	5.99 a	5.96 a
Ar 2	5.11 a	5.86 a	40.00 b
Ar 3	4.94 a	5.66 a	8.00 a

Taula - 49 Efectes de l'estat físic del medi d'arrelament i d'una fase d'allargament prèvia en el pes (mg) de les diferents fraccions (medis sòlids: Ar1, Ar3; medi líquid: Ar2; fase allargament prèvia: Ar1 i Ar2)

parametre	Medis		
	Ar 1	Ar2	Ar3
pes fresc total	990.2 a	1209.6 a	953.2 a
pes fresc fulla	812.2 a	948.4 a	785.7 a
pes fresc cal.lus	95.4 a	178.2 b	82.3 a
pes fresc arrel	82.6 a	83.0 a	85.2 a
pes sec total	69.7 a	86.5 a	62.6 a
pes sec fulles	50.6 a	54.6 a	50.9 a
pes sec cal.lus	8.6 b	23.2 c	1.4 a
pes sec arrel	10.5 a	8.7 a	10.3 a

#### 4.4.3. Assaig d'arrelament III: Estudi de l'activitat peroxidàsica

L'estudi de l'activitat peroxidàsica, expressada per la relació entre els pesos de peroxidasa i proteïna, en les fulles fresques dels microbrots, com indicador bioquímic de la rizogènesi en els dos medis assajats, ens reafirma clarament la diferència ja observada en el primer assaig d'arrelament, entre els tractaments formulats amb IBA o els formulats amb NAA (medis equips Moncousin). L'esmentada activitat varia durant les dues fases rizogèniques, suposades com d'inducció i d'iniciació radicular. En els dos tractaments comparats en aquest assaig, l'activitat peroxidàsica augmenta, en ambdós casos, al llarg del temps, fins assolir un valor màxim, per davallar seguidament. L'activitat peroxidàsica corresponent als dos tractament evoluciona diferentment, tant amb la intensitat, com en la duració de les dues fases. El tractament formulat amb IBA exhibeix la seva activitat peroxidàsica màxima (17.56 µg peroxidasa/mg proteïna) al tercer dia, i el tractament amb NAA arriba al seu màxim d'activitat (11.45 µg peroxidasa/mg proteïna) al setè dia (Taula 50, Gràfic 13). La duració de la fase d'inducció rizogènica s'estableix en tres dies per els microesqueixos amb medi d'arrelament amb IBA i en set dies en l'altre cas.

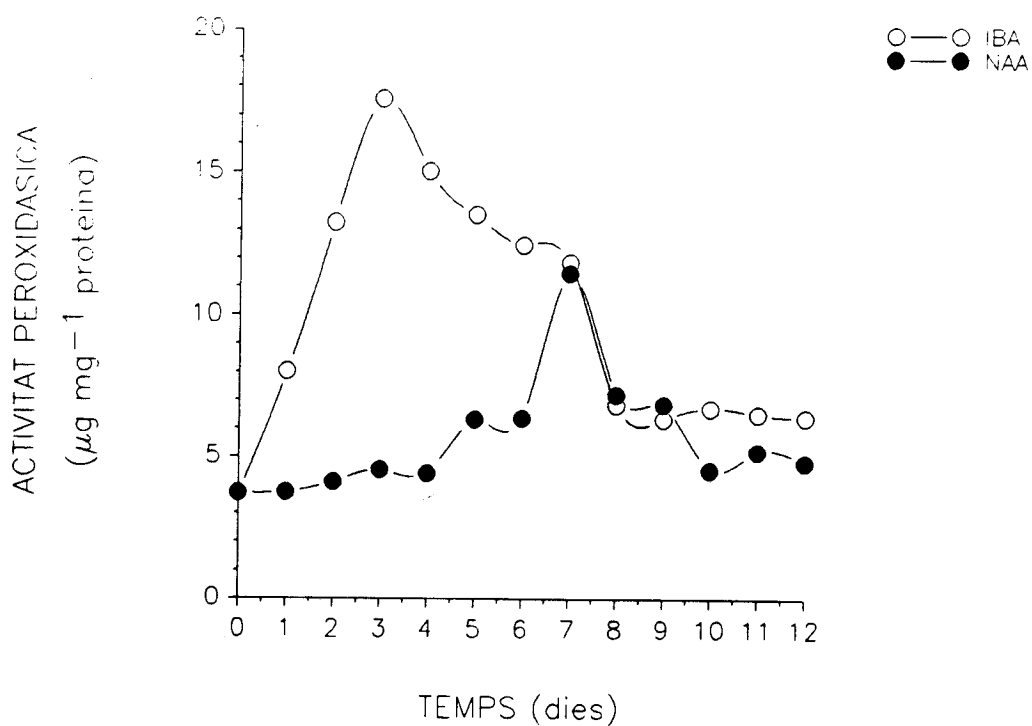
En aquest assaig on es quantificava diàriament l'aparició d'arrels, no s'observà el fet que alguns microbrots en medi amb NAA iniciessin abans l'arrelament, com havia passat en el primer assaig d'arrelament. L'inici d'aparició d'arrels en els dos tractaments es manifesta el mateix dia (vuitè). Cal destacar que en el moment que comencen a exhibir-se microbrots arrelats, els dos tractaments ja han presentat la seva activitat peroxidàsica màxima. En el tractament amb IBA es comencen a visualitzar les arrels als cinc dies després d'assolir-se aquest valor màxim d'activi-

tat peroxidàsica, mentre que en el tractament amb NAA les arrels es visualitzen a les 24 hores, en el mateix percentatge de microbrots. No obstant, el tractament amb IBA torna a implicar un arrelament més homogeni dels microesqueixos que el de NAA, ja que el catorzè dia en el primer han arrelat un 83.4% i en el segon solament un 13.32%. La formulació amb IBA implica un arrelament final molt més exitós, 90.08%, en front del medi amb NAA (39.96%) (Taula 51, Gràfic 14).

Taula - 50 Evolució de l'activitat peroxidàsica ( $\mu\text{g}$  peroxidasa  $\text{mg}^{-1}$  proteïna) en la fase d'arrelament

Dies	Medís	
	IBA ( $8 \text{ mg l}^{-1}$ )	NAA ( $1 \text{ mg l}^{-1}$ )
0	3.70	3.70
1	8.01	3.73
2	13.24	4.08
3	17.56	4.51
4	15.03	4.39
5	13.51	6.31
6	12.45	6.34
7	11.85	11.45
8	6.82	7.19
9	6.32	6.84
10	6.71	4.51
11	6.50	5.18
12	6.40	4.80

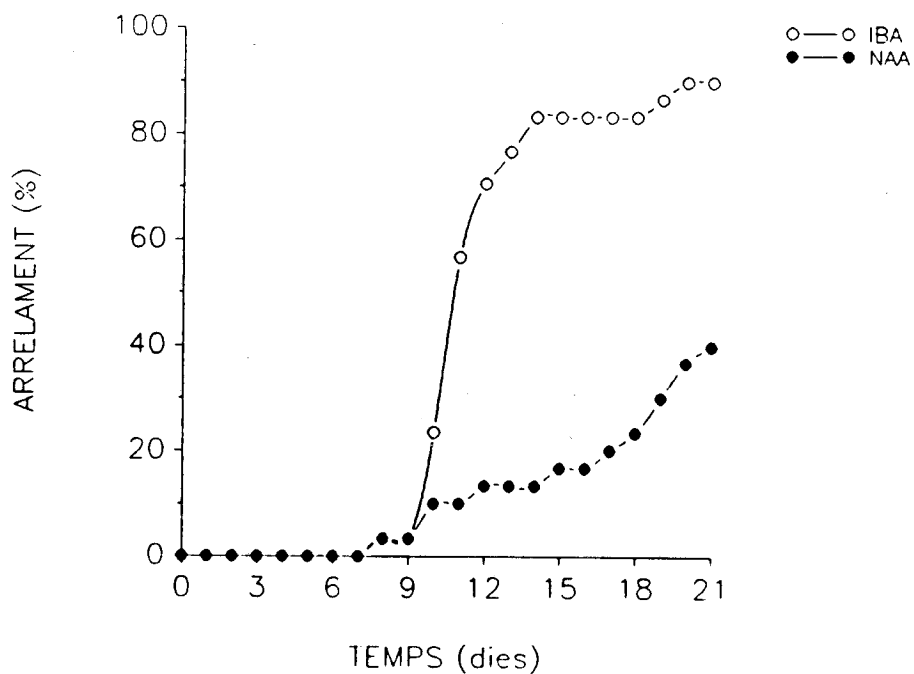
Gràfic - 13 Activitat peroxidàsica en la fase d'arrelament.



Taula - 51 Evolució del percentatge diari i acumulat d'arrelament, durant l'estudi de l'activitat peroxidàsica

Dies	Medis			
	IBA ( $8 \text{ mg l}^{-1}$ )		NAA ( $1 \text{ mg l}^{-1}$ )	
	diari	acumulat	diari	acumulat
7	0.00	0.00	0.00	0.00
8	3.33	3.33	3.33	3.33
9	0.00	3.33	0.00	3.33
10	20.11	23.44	6.66	9.99
11	33.33	56.77	0.00	9.99
12	13.33	70.10	3.33	13.32
13	6.66	76.76	0.00	13.32
14	6.66	83.42	0.00	13.32
15	0.00	83.42	3.33	16.65
16	0.00	83.42	0.00	16.65
17	0.00	83.42	3.33	19.98
18	0.00	83.42	3.33	23.31
19	3.33	86.75	6.66	29.97
20	3.33	90.08	6.66	36.63
21	0.00	90.08	3.33	39.96

Gràfic 14 - Evolució del percentatge d'arrelament acumulat durant l'estudi de l'activitat peroxidàsica



## 4.5. Assaigs d'aclimatització

### 4.5.1. Assaig d'aclimatització I

#### 4.5.1.1. Percentatge d'aclimatització

L'anàlisi de les taules de contingència realitzada mostra que durant els primers dotze dies de la fase d'aclimatització els 11 tractaments estudiats presenten la mateixa taxa de supervivència al no observar-se diferències significatives. A partir del dia setze i fins a la fi de l'assaig (30 dies) s'estableixen diferències entre el material procedent dels onze orígens d'arrelament diferents, i per tant cal suposar que aquells tractaments que presenten percentatges d'aclimatització més distants poden considerar-se estadísticament diferents, en el nostre assaig aquesta diferència màxima es dona entre el tractament A3 (71.9% d'aclimatització mitjana final) i el A6 (10.3% d'aclimatització mitjana final). Els microesqueixos procedents de medis d'arrelament amb NAA (medis equip Moncousin) mostren al llarg de tota l'aclimatització un comportament similar presentant a la fi de l'esmentada fase percentatges de supervivència entorn al 40%. Tanmateix el material provinent dels formulats amb IBA manifesten una evolució diferent. Els microesqueixos arrelats, en els medis A2, A5, A6 i A8, que són els que havien manifestat major aptitud rizogènica, són els que ara al final de l'assaig presenten els percentatges de supervivència més baixos. En general s'observa que a partir del dia 25 pràcticament no es produeixen més baixes, sigui quina sigui la procedència del material (Taula 52, Gràfics 15 i 16). (Taula 52, Gràfic 17).

La presència d'arrels abans d'iniciar-se la fase d'aclimatització pot considerarse molt positiva, perquè per a la majoria de tractaments els percentatges més ele-

vats d'aclimatització corresponen els microesqueixos arrelats.

#### 4.5.1.2. Pesos secs totals i per fraccions

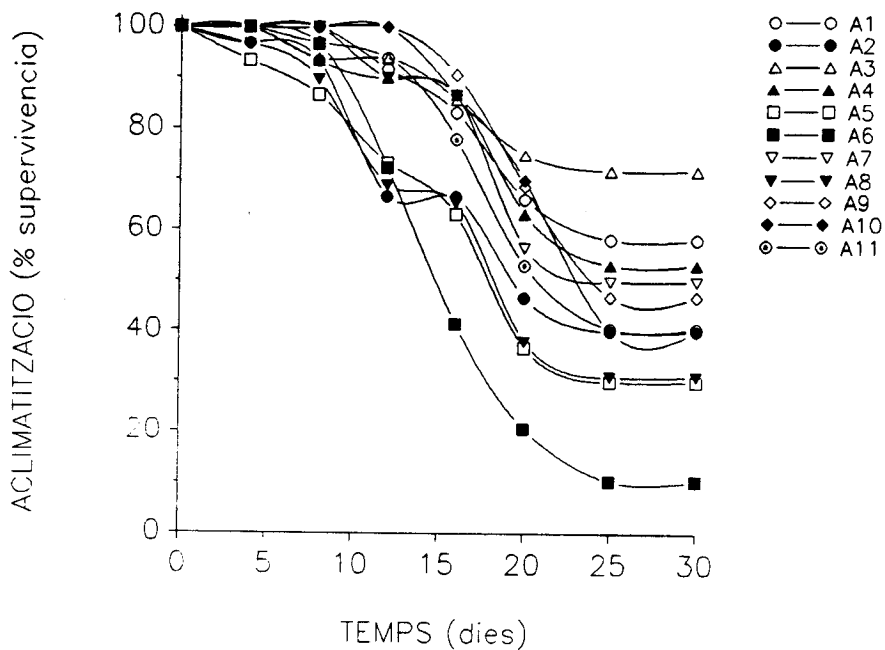
L'avaluació estadística dels resultats obtinguts indica que no hi ha intseracció entre la procedència del material (medis d'arrelament) i el fet que les plantetes exhibissin o no sistema radicular abans de la seva entrada a la fase d'aclimatització respecte a les següents gravimetries: pes sec total (sig. F = 0.729), pes sec fulles (sig. F = 0.489) i pes sec arrels (sig. F = 0.977). L'anàlisi de la variança realitzat senyala que les esmentades gravimetries són significativament iguals per a tots els tractaments, i a més no s'observa cap efecte en relació a la presència prèvia d'arrels (Taula 53). Tanmateix en valors absoluts, es veu que els microesqueixos procedents dels tractaments amb IBA presenten un major pes sec radicular que els procedents de medis amb NAA (A9, A10 i A11), llevat del medi A6 que exhibeix un pes inferior (19.27 mg). Cal destacar que aquest darrer origen d'arrelament és aquell que ha donat el percentatge més baix d'èxit en l'aclimatització, i també el que ha manifestat menor pes sec de brots. El tractament que mostra un major pes sec de brots (103.01 mg) és el A3, aquell que ha donat major percentatge de supervivència en la fase d'aclimatització. En general i per a quasi tots els tractaments la presència d'arrels previa a l'inici de l'arrelament implica majors valors.



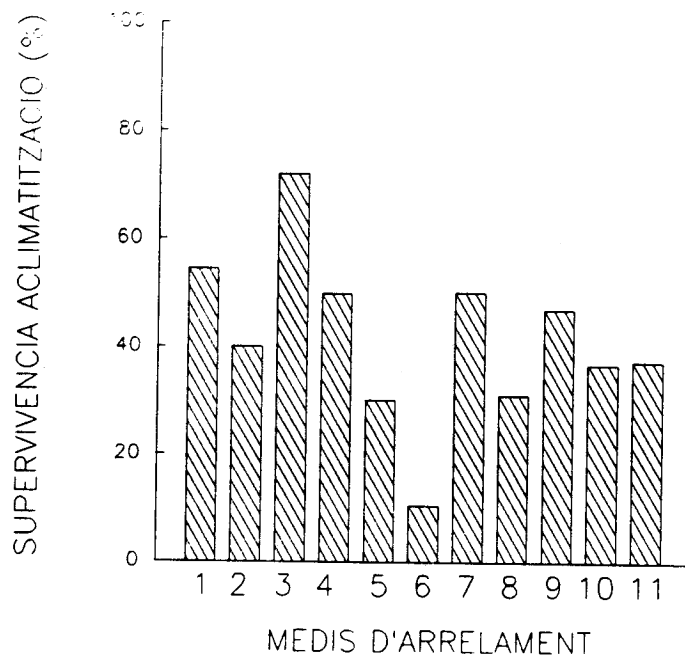
Taula - 52 Incidència del tractament d'arrelament i de la presència d'arrels inicials en l'evolució de la supervivència (%) en la fase d'aclimatització. (m: mitjana; 0: no arrels; 1: arrels; ns: no significació; \*: significació 5%).

Tractament		Dies							
Arrelament 4		8	12	16 (aparent)	20	25	30	30 (real)	
A1	m	100.0	100.0	91.7	83.3	66.7	58.3	58.3	54.4
	0	100.0	100.0	85.7	71.4	57.1	28.6	28.6	28.6
	1	100.0	100.0	94.1	88.2	70.6	70.6	70.6	70.6
A2	m	96.7	93.3	66.7	66.7	46.7	40.0	40.0	40.0
	0	100.0	85.7	57.1	57.1	42.9	42.9	42.9	42.9
	1	95.7	95.7	69.6	69.6	47.8	39.1	39.1	39.1
A3	m	100.0	93.8	93.8	87.5	75.0	71.9	71.9	71.9
	0	100.0	80.0	80.0	80.0	70.0	60.0	60.0	50.0
	1	100.0	100.0	100.0	100.0	90.0	77.3	77.3	77.3
A4	m	100.0	93.3	90.0	86.7	63.3	53.3	53.3	49.7
	0	100.0	100.0	83.3	77.8	50.0	33.3	33.3	33.3
	1	100.0	100.0	100.0	100.0	83.3	83.3	83.3	83.3
A5	m	93.3	86.7	73.3	63.3	36.7	30.0	30.0	30.0
	0	100.0	100.0	80.0	80.0	60.0	40.0	40.0	40.0
	1	92.0	84.0	72.0	60.0	32.0	28.0	28.0	28.0
A6	m	100.0	96.6	72.4	41.4	20.7	10.3	10.3	10.3
	0	100.0	100.0	100.0	71.4	28.6	0.0	0.0	0.0
	1	100.0	95.5	63.6	31.8	18.2	13.6	13.6	13.6
A7	m	100.0	100.0	90.0	86.7	56.7	50.0	50.0	50.0
	0	100.0	100.0	90.9	90.9	36.4	27.3	27.3	27.3
	1	100.0	100.0	89.5	84.2	68.4	63.2	63.2	63.2
A8	m	96.6	89.7	69.0	65.5	37.9	31.0	31.0	31.0
	0	100.0	100.0	83.3	83.3	16.7	16.7	16.7	16.7
	1	95.7	87.0	65.2	60.9	43.5	34.8	34.8	34.8
A9	m	100.0	100.0	100.0	90.6	68.8	46.9	46.9	46.9
	0	100.0	100.0	100.0	95.8	75.0	45.8	45.8	45.8
	1	100.0	100.0	100.0	75.0	50.0	50.0	50.0	50.0
A10	m	100.0	100.0	100.0	86.7	70.0	40.0	40.0	36.7
	0	100.0	100.0	100.0	88.0	76.0	40.0	40.0	36.0
	1	100.0	100.0	100.0	80.0	40.0	40.0	40.0	40.0
A11	m	100.0	96.9	93.8	78.1	53.1	40.6	40.6	37.2
	0	100.0	95.2	90.5	71.4	52.4	33.3	33.3	28.6
	1	100.0	100.0	100.0	90.9	54.5	54.5	54.5	54.5

Gràfic 15 - Incidència del medi d'arrelament en l'evolució de la supervivència aparent en la fase d'aclimatització (simbologia en la taula 52).



Gràfic 16 - Incidència del medi d'arrelament en la supervivència real en la fase d'aclimatització (simbologia en la taula 52).



Taula - 53 Incidència del tractament d'arrelament i de la presència d'arrels inicials en el pes total i per fraccions (mg) del material aclimatat. (m: mitjana; 0: no arrels; 1: arrels).

Medi arrelament	pes sec total	pes sec brots	pes sec arrels
A1 m	106.97	74.42	32.55
0	85.78	54.40	31.38
1	114.68	81.70	32.98
A2 m	133.65	96.50	37.15
0	75.73	55.83	19.90
1	149.45	107.59	41.85
A3 m	137.37	103.01	34.36
0	127.50	98.48	29.02
1	145.64	106.96	38.68
A4 m	120.97	83.71	33.99
0	111.40	89.43	31.97
1	125.59	84.09	35.31
A5 m	118.25	77.37	43.71
0	130.35	95.75	34.60
1	114.22	72.11	46.75
A6 m	73.40	54.13	19.27
0	68.04	50.18	17.86
1	77.66	57.27	20.39
A7 m	110.92	74.70	36.22
0	87.77	66.13	21.63
1	116.71	76.84	39.87
A8 m	125.75	75.91	46.87
0	119.60	84.80	34.80
1	126.63	74.64	48.38
A9 m	89.43	71.96	17.47
0	77.95	63.83	14.12
1	106.65	84.15	22.50
A10 m	125.00	100.25	24.75
0	114.41	93.46	20.95
1	177.95	134.20	43.75
A11 m	122.05	93.59	28.45
0	88.07	67.30	20.77
1	161.68	124.27	37.42

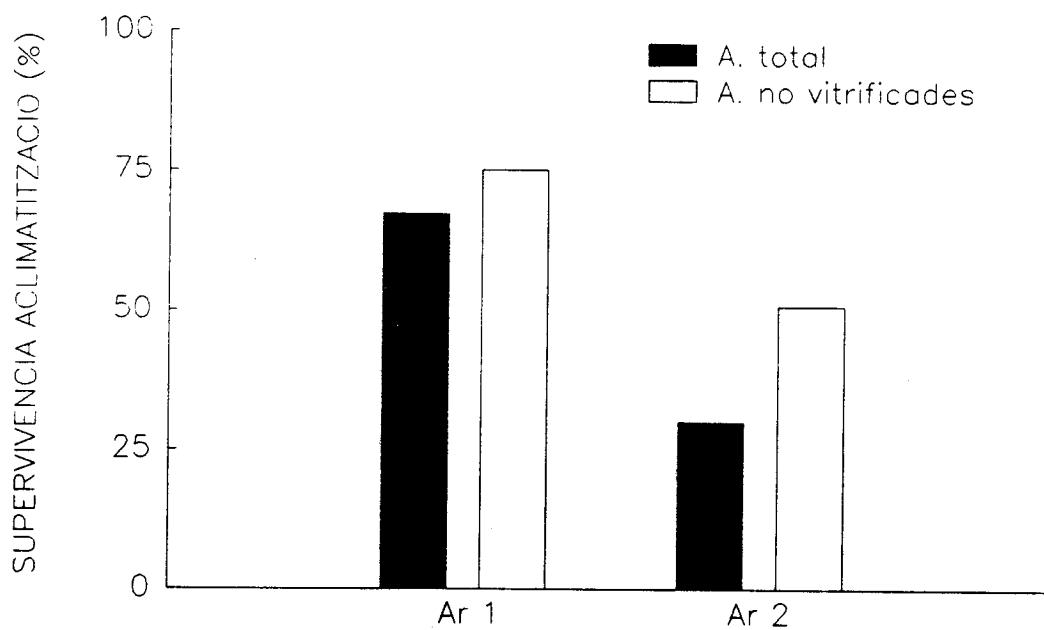
#### 4.5.2. Assaig Aclimatització II

L'anàlisi de la varianza ens demostra que existeix una gran diferència en el comportament dels microesqueixos, segons l'origen del medi d'arrelament (medi sòlid o medi líquid). En aquest assaig es va intentar aclimatitzar no solament les plantetes d'aspecte normal, sinó les que manifestaven una tendència de vitrificació. En relació al fenomen de la vitrificació els resultats són contundents: cap planteta vitrificada procedent d'un o d'altre origen aconseguiren ser aclimatades exitosament. La supervivència dels microesqueixos arrelats en el medi agaritzat (Ar1) és significativament superior a l'obtinguda amb el medi líquid (Ar2). D'aquests resultats es desprèn la no conveniència de posar a aclimatar material d'aspecte vitrificat (Taula 54, Gràfic 17).

Taula - 54 Efecte de la composició física del medi d'arrelament en l'aclimatització (%) (Ar1: medi sòlid; Ar2: medi líquid).

Medi d'arrelament	Aclimatització total	Aclimatització plantetes vitrificades	Aclimatització plantetes no vitrificades
Ar1	67.2 b	0.0 a	75.2 b
Ar2	30.0 a	0.0 a	50.8 a

Gràfic 17 - Efecte de la composició física del medi d'arrelament en l'aclimatització (símbologia en la taula 54).



## 4.6. Estudis anatòmics i de composició foliar en les diferents fases de micropropagació i en l'aclimatització

### 4.6.1. Pigments fotosintètics

El règim d'irradiància aplicat durant la fase de multiplicació influencia sensiblement el contingut pigmentari; en incrementar la densitat de flux fotònic s'observa un augment progressiu i significatiu en el contingut en clorofil.la a. El nivell de clorofil.la b del tractament de menor irradiància és significativament major a la que s'observa a règims lumínics superiors. Entre aquests darrers no s'aprecien diferències. En el contingut de clorofil.la total no s'observen diferències estadístiques, tot i que els valors absoluts superiors s'escauen a la menor irradiància. Els carotenoids augmenten amb la irradiància, essent significativa només la dotació a la menor irradiància. El quocient clorofil.la a/clorofil.la b, en valors absoluts, augmenta amb la llum, denotant-se només diferències significatives entre el règim inferior i els altres dos, tal com succeïa en la clorofil.la b. La relació clorofil.la total/-carotenoids mostra un comportament invers al detectat pels carotenoids, és a dir, disminució amb el règim d'irradiància, essent només significatiu el nivell d'il.luminació menor. Aquest comportament es previsible atès que no s'observaren diferències significatives en les clorofil.les totals. La relació clorofil.les totals/Nitrogen orgànic és mínima en els altres dos règims d'irradiància que són homogenis entre si (Taula 55, Gràfics 18 i 19).

En les fases posteriors: allargament, arrelament, aclimatització i post-aclimatització, el nivell de clorofil.la a és sensiblement inferior a l'observat en la fase de multiplicació, sobretot a mitja ( $60 \mu\text{EPARM}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) i alta irradiància ( $90 \mu\text{EPARM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ). Entre les diferents fases

multiplicació l'única diferència destacable és el decrement quasi significatiu que es produeix en la fase d'aclimatització.

Els continguts en clorofil.la b en les fases post-multiplicació mostren un màxim en la fase d'arrelament i un mínim en l'aclimatització. Els nivells de clorofil.la b en aquestes fases són sempre inferiors als obtinguts a la fase de multiplicació a baixa irradiància, però molt semblants als detectats en aquesta mateixa fase a alta irradiància.

En el contingut de clorofil.la total s'observa clarament que les fases post-multiplicació presenten valors inferiors als de la fase de multiplicació i homogenis entre si. Cal fer notar, no obstant, que els valors mínims es corresponen a la fase d'aclimatització on ja s'hi han detectat el mínims de clorofil.la a i de clorofil.la b.

El nivell de carotenoids en les fases d'allargament, aclimatització i post-aclimatització són similars amb l'observat en la fase de multiplicació a baixa irradiància, mentre que s'observa un increment notori en la fase d'arrelament que iguala a l'observat en la multiplicació a mig i alt PPFD. Cal fer notar que com en els continguts de clorofil.la, els valors baixos de carotenoids corresponen a la fase d'aclimatització.

La relació clorofil.la a/clorofil.la b en les fases post-multiplicació és homogènia entre si, amb el mínim absolut associat a la fase d'arrelament, on s'hi detectava el valor màxim per clorofil.la b. En comparació amb els valors d'aquesta relació amb la fase de multiplicació s'observa que les fases post-multiplicació resten en posició intermitja i significativament diferent dels dos grups establerts

en aquella fase.

Pel que fa al quocient clorofil.les totals/carotenoids només s'observen diferències estadístiques entre la multiplicació a baixa llum, valor màxim, i la resta. El mínim absolut en aquesta relació s'associa a la fase d'arrelament.

En el quocient clorofil.les totals/nitrogen orgànic no s'observen diferències estadístiques entre les fases post-multiplicació, tot i que els valors absoluts mínims s'asocien a la fase d'aclimatització. En qualsevol cas aquesta relació en aquestes fases és significativament inferior a l'observada en la multiplicació.

#### 4.6.2. Pes específic foliar (PEF)

El pes sec foliar en la fase de multiplicació varia segons el règim d'irradiància aplicat; a baixa irradiància obtenim fulles de pes inferior, observant-se diferències significatives entre aquest nivell lumínic i els altres dos. En l'àrea foliar s'observa el mateix comportament, no arribant a ser en aquest cas, no obstant, les diferències clarament significatives.

El PEF per aquesta fase mostra, com és d'esperar atenent als resultats esmentats, un comportament similar: el valor més baix i significativament diferent de la resta s'obté en el nivell lumínic inferior (Taula 56, Gràfic 20).

En la resta de fases (fases post-multiplicació) els valors absoluts corresponents als tres paràmetres abans senyalats incrementen progresivament. Per al pes sec i l'àrea foliar els resultats avaluats mostren uns increments



que són sensiblement significatius entre quasi totes les fases. Cal fer notar, no obstant, que no es presenten diferències significatives entre els valors assolits en la fase de multiplicació a majors irradiàncies i la fase d'allargament, i entre les fases d'arrelament i l'aclimatització, per al pes sec, i entre les fases de multiplicació a majors irradiàncies i les fases d'allargament i arrelament, per l'àrea foliar (Taula 56, Gràfic 20).

El PEF sembla no canviar d'una fase a la següent, llevat de si la multiplicació es realitza a baix nivell lumínic, en no exhibir-se diferències significatives entre fases. Tanmateix, en valors absoluts s'observa generalment que aquest incrementa progressivament, llevat de la fase d'aclimatització on es nota una davallada del mateix.

#### 4.5.3. Contingut en nitrogen

En la fase de multiplicació en incrementar el règim d'irradiància s'observa un augment progressiu i estadísticament significatiu en contingut de nitrogen orgànic (Taula 56).

En les fases post-multiplicació s'observen variacions notables en el contingut de nitrogen. El valor mínim es troba en la fase d'allargament i és estadísticament distint a l'arrelament i a l'aclimatització. Les plantes post-aclimatades presenten un contingut en nitrogen intermig als altres dos grups. En establir la comparació entre aquestes i la de multiplicació s'observa que el contingut en nitrogen és sempre superior al detectat a multiplicar en baixa llum. Els nivells en la fase d'arrelament i aclimatització són semblants a la fase de multiplicació en règim d'irradiància superior.

#### 4.6.4 Caracterització estomàtica

La freqüència estomàtica i el nombre de cel.lules epidèrmiques es van intentar avaluar a partir de la projecció dels negatius de les fotogràfies realitzades en el microscopi, però no es pogueren determinar adequadament degut al gran nombre de tricomes presents en totes les fases estudiades (Figura 1).

L'àrea estomàtica (cèl.lules amb el porus tancat) tendeix a mantenir-se estable al llarg de les diferents fases estudiades, al no distingir-se diferències significatives, ni en la caracterització dels estomes de la part abaxial, ni en els de la cara adaxial. No obstant, tot i que podem considerar la grandària de l'estoma estadísticament homogènia, s'observa per a la fase de multiplicació que l'àrea dels estomes de l'anvers incrementa en augmentar la densitat de flux fotònic (Taula 57, Gràfic 21).

La longitud dels porus (cèl.lules tancades) presenta valors estadísticament iguals entre les diferents fases per als estomes del revers; no obstant, per a la fase de multiplicació s'observa que aquests incrementen quan ho fa la irradiància. En la caracterització estomàtica de l'anvers s'observen diferències significatives entre les fases de multiplicació a diferents règims lumínics. En aquest cas el valor més baix també es dona al més baix règim d'irradiància, i que és significativament diferent als altres dos. La resta de fases no presenten diferències significatives entre elles, així com tampoc ho són amb la fase de multiplicació a baixa irradiància. En els estomes del revers en les tres darreres fases, i possiblement degut a la preparació autotròfica, l'àrea, en valors absoluts, és força inferior a la de les fases de multiplicació i allargament, no venint aquesta diferència condicionada per la longitud estomàtica del

porus, que com ja s'ha comentat és estadísticament igual (Taula 57, Gràfic 22). Aquest fet sembla indicar que els estomes de la fase de multiplicació són de tipus arrodonit, mentre que en les tres últimes fases tenen formes més elíptiques. El fenomen s'observa, però en menor claretat, en els estomes de l'anvers. En totes les fases, no obstant, s'observaren estomes de formes elíptiques i de formes arrodonides. Aparentment els estomes dominants eren més de tipus elíptic.

En general els valors més baixos corresponents tant a l'àrea com a longitud del porus del estoma es manifesten en la fase d'arrelament.

Les fotografies obtingudes per microscopia d'escombrat en la fase de multiplicació sota una irradiància de  $90 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$  ens mostren, i sobre tot en la part abaxial, estomes amb una formació de porus deficient (Figura 2). En la fase d'aclimatització els estomes del revers són aparentment més desenvolupats que els de l'anvers (Figura 3).

#### 4.6.5. Grandària dels teixits foliars

En la fase de multiplicació s'observa que en augmentar la irradiància incrementa el gruix foliar. El valor corresponent al gruix a la màxima densitat de flux fotònic resulta un 20% i un 40% superior, respectivament, que a densitat intermitja i baixa (Taula 58, Gràfic 23). En aquesta mateixa fase també es nota que el gruix de l'epidermis, així com el dels parènquimes en palissada i lacunar, més elevat es donen quan les fulles s'han desenvolupat sota el major règim lumínic (Figura 4).

Els percentatges de parènquima en palissada i la-

cunar no varien sensiblement segons règim d'irradiància, no obstant, quan menor és el percentatge de parènquima en palissada i més baix és el nivell lumínic aplicat més alt és el percentatge de parènquima esponjós (Taula 59).

Comparant les fases post-multiplicació, s'observa que en les fases de allargament i arrelament el percentual epidèrmic és menor que en les fases posteriors, tanmateix el gruix epidèrmic és sensiblement menor en la fase d'arrelament que en la resta. Cal senyalar que el percentatge d'epidermis, així com el gruix, més elevat es donen per a la fase de multiplicació a major irradiància, encara que aquest percentual no és sensiblement diferent a la resta, llevat de les fases d'allargament i arrelament, tot i que el gruix si que ho és (Figura 5). Els percentuals corresponents al parènquima en palissada no mostren diferències entre fases, al igual que el parènquima esponjós, tot i que en aquest cas es nota i també a partir de la fase d'arrelament un increment. En la fase d'allargament ambdós parènquimes assoleixen, en valors absoluts, el màxim gruix.

#### 4.6.6. Espais intercel.lulars

El percentual d'espais intercel.lulars i vasos en la fase de multiplicació és bastant homogeni per als tres nivells d'irradiància assajats, tant per al parènquima en palissada com per a l'esponjós. La resta de fases post-multiplicació presenten en el parènquima en palissada major percentatge d'espais intercel.lulars que la fase precedent, llevat de la fase d'aclimatització, la qual assoleix en valors absoluts, el percentatge més baix d'entre totes les fases, en general per aquest parènquima el percentual d'espais intercel.lulars està entorn el 10%. El percentatge d'espais intercel.lulars en el parènquima lacunar no pre-

senta diferències notables entre fases i està entorn al 25% (Taula 60).

#### 4.6.7. Volum relatiu del parènquima en palissada i lacunar respecte el volum total de la fulla (% Relatiu p. palissada o p. lacunar/total fulla)

Per el parènquima en palissada no s'observen diferències en la fase de multiplicació sota els tres règims d'irradiància, no obstant, el valor absolut més baix l'assoleix el material multiplicat a baixa irradiància. Entre el conjunt de les fases tampoc hi ha diferències (Taula 60).

Per al parènquima lacunar, tot i no haver diferències entre fases s'observa que el percentatge més baix correspon al material post-aclimatat, i el més alt a la fase de multiplicació realitzada a baixa irradiància.

#### 4.6.8. Area mitjana de la secció transversal cel.lular

La superfície mitjana d'una cèl.lula del parènquima en palissada en la fase de multiplicació incrementa en augmentar el règim d'irradiància rebut. L'àrea cel.lular en la resta de fases és molt homogènia i similar a la que esdevé durant la fase de multiplicació a major intensitat de flux fotònic. Destaca la grandària d'aquestes cèl.lules en la fase d'aclimatització (Taula 61, Gràfic 24).

La superfície mitjana de les cèl.lules del parènquima lacunar presenta un comportament molt similar al ja comentat per el parènquima en palissada, especialment per a la fase de multiplicació. En conseqüència a major règim d'irradiància incrementa l'àrea cel.lular. És impor-

tant destacar que el material post-aclimatat presenta una superfície foliar una mica més reduïda que la resta de fases *in vitro* a alta irradiància i que la fase d'acclimatització.

#### 4.6.9. Grandària del mesòfil (Àrea i Volum del mesòfil/Àrea foliar)

Per al conjunt dels teixits del mesòfil no s'observen diferències respecte l'Àrea mesòfil/Àrea foliar ( $A_{mes}/A$ ) ni entre les fases estudiades, ni entre les fases de multiplicació a diferents nivells lumínics (Taula 62, Gràfic 25).

Aquesta relació durant la fase de multiplicació i en el parènquima en palissada augmenta en incrementar el règim d'irradiància aplicat. En la resta de les fases presenta valors més alts que els obtinguts per a la multiplicació, llevat de la fase d'acclimatització.

En el parènquima lacunar no varia clarament en funció de la irradiància rebuda durant la fase de multiplicació. El menor quocient correspon al material en fase d'acclimatització.

El nivell lumínic aplicat durant la fase de multiplicació influeix sensiblement en la relació volum del mesòfil/àrea foliar; en augmentar la irradiància la relació incrementa. Les fases d'allargament i acclimatització denoten valors similars als obtinguts en la multiplicació al màxim nivell d'irradiància. El material en fase d'arrelament i el post-acclimatatat presenten valors inferiors a la resta de fases, llevat de la de multiplicació a baixa densitat de flux fotònic (Taula 62, Gràfic 26).

En el parènquima en palissada s'observen quasi les mateixes tendències que les comentades anteriorment per a tot el mesòfil, és a dir, l'esmentada relació varia en la fase de multiplicació segons la irradiància aplicada, en augmentar la irradiància la relació esdevé superior. En aquest cas no s'observen comportaments tan diferents entre la resta de fases.

La pauta del quocient Volum mesòfil/Àrea foliar en el parènquima lacunar es gaire bé similar a la total i a la del parènquima en palissada. La relació més baixa corresponent a aquest teixit es dona en el material post-aclimatat.

#### 4.6.10. Index de circularitat i quocient eix menor/eix major de la cèl.lula

L'índex de circularitat en el parènquima en palissada i per a la fase de multiplicació mostra que a baixa irradiància les cèl.lules són més arrodonides que a alta irradiància. En la post-aclimatització les cèl.lules d'aquest parènquima són de tipus paral.lelepípeda (Taula 63, Gràfic 27). Per el parènquima lacunar es manté, per a totes les fases i condicions lumíniques, molt similar.

El quocient eix menor/eix major suggereix en ambdós parènquimes la pauta observada ja en l'índex de circularitat.

#### 4.6.11. Nombre de seccions cloroplàstiques

El nombre de seccions cloroplàstiques/unitat de longitud del tall varia en la fase de multiplicació, segons

el règim d'irradiància aplicat, en el parènquima en palissada, mentre que es manté constant en el parènquima lacunar. S'observa un increment en augmentar el nivell lumínic de 20 a 60  $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ , mantenint-se estable a 90  $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$  (Taula 64, Gràfic 28). No obstant, el nombre de seccions cloroplàstiques/mm de paret cel.lular (densitat cloroplàstica) es manté constant en ambdós parènquimes.

Per a la resta de fases el nombre de seccions cloroplàstiques/mm de tall i la densitat cloroplàstica es mantenen constants, tanmateix el material al final de la fase d'aclimatització presenta valors inferiors.

El parènquima lacunar sempre presenta major densitat cloroplàstica que el parènquima en palissada.