

Planàries.

Ecologia i recerca



Treball de recerca
Sara Jiménez Antúnez
Tutors: Josep Marí Torres i
Eudald Pascual Carreras
Novembre de 2017

ÍNDEX

	<u>Pàg.</u>
Pròleg i objectius	03
1. Introducció i antecedents	05
1.1. Introducció a les planàries	05
1.1.1. Característiques.....	06
1.1.2. Gens estudiats i planàries	07
1.1.3. Dependència del creixement i/o decreixement.....	08
1.2. Planàries a Catalunya	08
1.2.1. Planàries utilitzades	12
1.2.2. Antecedents de planàries a l'escola	13
1.2.3. Variables ambientals (antecedents)	15
2. Materials i mètodes	15
2.1. Laboratori escola.....	16
2.1.1. Instal·lacions per a les planàries a l'escola	16
2.1.2. Instruments i metodologia	17
2.2. Laboratori UB	19
2.2.1. Preparació In situ	19
2.3. Obtenció d'individus	20
2.4. Macrofotografia de diferents espècies	20
3. Resultats i discussió	21
3.1. Estudi de les planàries en el seu hàbitat	21
3.1.1. Parc de Montjuïc	21
3.1.2. Santa Fe del Montseny	25
3.1.3. Comparativa amb les instal·lacions de l'Escola.....	28
3.2. Adaptació de les planàries a l'escola	29
3.3. Treball de laboratori	31
3.3.1. Variables de regeneració: temperatura	31
3.3.2. <i>In Situ</i> . Estudi de les diferents sondes	31
3.3.3. Tipus de creixement segons la temperatura	35
3.3.4. Anàlisi de diferents proporcions de la planària.....	38
4. Conclusions	42
5. Bibliografia	43
6. Annex fotocronològic	45

Pròleg i objectius

Les planàries són uns animals que cada cop tenen més popularitat gràcies a la seva capacitat regeneradora excepcional. Molts laboratoris les estudien perquè tenen una gran quantitat de neoblasts repartits per tot el cos que fan que aquests platihelminths siguin regenerables a partir de gairebé totes les parts.

La proposta d'aquest treball va sorgir per donar continuïtat al treball del curs passat *Introducció a l'estudi de les planàries: manteniment, descripció i recerca* de Quim Abril. Els meus dos tutors, en Josep Marí, professor de biologia a l'Escola Mestral, i l'Eudald Pascual, doctorant al Departament de Genètica de la Facultat de Biologia de la Universitat de Barcelona (UB) i especialista en planàries, van voler continuar amb aquest estudi, perquè interessava comprovar alguns aspectes de caire ecològic observats el curs passat i també afegir noves tècniques de laboratori, algunes d'elles amb l'objectiu que serveixin com a guió de pràctiques per alumnes de biologia de 4t d'ESO i 1r de Batxillerat.

En aquest treball de recerca pretenem aconseguir veure a partir de planàries de diferents espècies d'aigües dolces de Catalunya com és el seu comportament en diferents condicions ambientals (la temperatura, el pH, la quantitat d'oxigen, la conductivitat i el corrent de l'aigua), la diferència de mides, capacitats de regeneracions i supervivència en medis distints. També, amb planàries d'una mateixa espècie, ens fixarem en com es comporta el metabolisme en les diferents temperatures, i com a conseqüència, quan triguen en regenerar-se.

Un dels reptes més grans d'aquest treball de recerca ha estat fer les hibridacions *in situ* en un organisme sencer de diferents gens, que consisteix en el marcatge d'algunes cèl·lules de manera específica. Malgrat han estat un gran inconvenient les proves fallides, gràcies als coneixements, rapidesa i experiència de l'Eudald hem pogut treure conclusions i tenir bons resultats.

Per tant, resumint, els objectius són:

(A) Part de laboratori:

- Realització d'hibridacions *in situ* en planàries amb diferents marcadors
- Analitzar el creixement i/o decreixement de les planàries segons la temperatura.
- Analitzar diferents proporcions de les planàries amb marcadors moleculars

(B) Part d'ecologia:

- Comprovar si es repeteixen les observacions en els mateixos indrets de Catalunya estudiats el curs passat, pel que fa a les espècies i distribució de planàries i també a valors de paràmetres ambientals principals (pH, temperatura, conductivitat).
- Determinar si es repeteixen les observacions per ajudar a validar o descartar les hipòtesis del Quim Abril del curs passat, consistents, per una banda, en que les planàries de les basses del Parc de Montjuïc realitzen migracions verticals diàries, a través d'estructures vegetals de les plantes aquàtiques, en resposta a la llum. I per una altra, que les planàries es concentren més als indrets de les basses on hi ha moviment d'aigua.
- Comprovar si persisteix alguna població de planàries al basal del Pati de les tortugues.

1 Introducció i antecedents

A l'escola mai s'havia fet cap treball específic en relació a les planàries fins l'any passat, quan el Quim Abril es va decidir per fer el treball *Introducció a les planàries: Manteniment, descripció i recerca*, dirigit per Josep Marí i Eudald Pascual. El treball actual, també va sorgir d'una idea de l'Eudald Pascual i del Josep Marí. Tots dos van estar d'acord en continuar aquest any l'estudi i la línia de recerca que s'havia iniciat l'any anterior i poc a poc anar desenvolupant més aquest àmbit de recerca a l'Escola.

En l'anterior Treball de Recerca (Quim Abril, 2016) es van assolir els següents objectius:

- El Quim va aprendre a localitzar i a identificar planàries a la natura, en concret va trobar i va poder identificar 4 de les 7 espècies de planàries d'aigua dolça presents a la península Ibèrica.
- De la comparativa realitzada de paràmetres ambientals entre els diversos indrets de Catalunya i el bassal, van veure que no n'hi havia cap que coincidís plenament, però van descobrir un indret més humanitzat que sí que coincideixen les característiques de l'aigua, les basses dels jardins de Mossèn Cinto Verdaguer de Montjuïc, en les que hi habita una gran població de planàries de l'espècie *Schmidtea polychroa*.
- Es va aconseguir arribar a tenir una població estable de planàries de l'espècie *Schmidtea polychroa* al bassal del Pati de les tortugues, malgrat que no la van poder mantenir per un problema que va sorgir al bassal durant l'últim mes.
- Finalment, va estudiar la capacitat regenerativa de les planàries davant la variació de diferents factors ambientals al laboratori de l'Escola i va poder seguir i descriure satisfactòriament la regeneració amb diferents marcadors moleculars i tincions immunohistoquímiques al laboratori del Departament de Genètica de la Facultat de Biologia de la Universitat de Barcelona

Així doncs, gràcies als anteriors objectius assolits, ens hem pogut plantejar els nous d'aquest any i continuarem amb l'estudi prèviament iniciat obrint noves tècniques i plantejant nous experiments, tenint en compte els objectius que hem esmentat al pròleg, com el d'aportar més dades per intentar validar les hipòtesis que es van plantejar en el treball del Quim Abril.

1.1 Introducció a les planàries

La primera persona en estudiar la capacitat regeneradora de les planàries va ser John Dalyell, al 1814, qui va descriure-les com immortals sota la fulla d'una ganiveta¹, seguit de T.H. Morgan, qui es va dedicar a estudiar els problemes de les regeneracions i, que el va portar a publicar un estudi al 1898 anomenat: *Experimental studies of the regeneration of Planaria maculata*.²

Tot i havent estat conegudes des de fa 2 segles per la seva gran capacitat regenerativa, les planàries han emergit recentment a ser un animal model per a estudiar la regeneració i les cèl·lules mare.³

¹ <http://publicacions.iec.cat/repository/pdf/00000173/00000002.pdf>

² <http://thenode.biologists.com/forgotten-classics-t-h-morgan-planarian-regeneration/research/>

³ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3014342/>

Avui en dia, l'estudi d'aquestes és molt important, ja que està molt relacionat amb la possible cura de moltes malalties.

La medicina regenerativa és una branca de la medicina que s'ha desenvolupat molt en els últims anys gràcies als nous coneixements de les cèl·lules mare y la capacitat d'aquestes en convertir-se en cèl·lules diferenciades. Aquesta medicina tracta de substituir cèl·lules malparades per cèl·lules sanes segons les conductes de l'organisme.

El tractament amb cèl·lules mare ha donat lloc a un nou tipus de tractament: teràpia cel·lular regenerativa.⁴ L'oportunitat d'obtenir tractaments RNAi 5 eficients combinat amb noves tecnologies, fan que els platihelminths siguin una eina excepcional per al descobriment de gens i puguin revelar funcions no identificades de gens coneguts (Figura 1) i desconeguts implicats en la regeneració humana, el desenvolupament i les malalties.⁶

Table 1. Planarian genes related to human disease

Genomic region in <i>S. mediterranea</i>	Protein homologue related to human disease
v31.001379:47968..64091	g[28395045]ref[NP_078925.3] Bardet-Biedl syndrome 1
v31.000220:86311..86494	Bromodomain adjacent to zinc finger domain protein 1B (Williams-Beuren syndrome chromosome region 9 protein; Williams syndrome transcription factor; hWALP2)
v31.000545:52712..53003	Shwachman-Bodian-Diamond syndrome protein
v31.000507:70017..70139	Meckelin (Meckel syndrome type 3 protein homologue; Transmembrane protein 67)
v31.013121:13617..13682	Neural Wiskott-Aldrich syndrome protein (N-WASP)
v31.005885:14010..15569	Folliculin (Birt-Hogg-Dube syndrome protein; BHD skin lesion fibrofolliculoma protein)
v31.005162:18616..18792	Werner syndrome helicase
v31.000681:135349..135484	Non-imprinted in Prader-Willi/Angelman syndrome region protein 2 homologue
v31.055418:228..377	Anosmin-1 precursor (Kallmann syndrome protein homologue)
v31.006713:16756..17292	g[12667790]ref[NP_075356.1] Down syndrome critical region gene 1-like 2
v31.015203:13445..13467	Sjoegren syndrome nuclear autoantigen 1 homologue
v31.004490:9815..10453	Inositol polyphosphate 5-phosphatase OCRL-1 (Lowe oculocerebrorenal syndrome protein)
v31.009851:9552..9944	Fragile X mental retardation syndrome-related protein 1 (hFXR1p)
v31.007987:16693..17886	Alstrom syndrome protein, putative
v31.001291:49513..50505	g[94383167]ref[XP_992416.1] PREDICTED: Wolf-Hirschhorn syndrome candidate 1-like 1 isoform 10
v31.000842:97603..97731	g[29789014]ref[NP_034177.1] g[29789014]ref[NP_034177.1] DiGeorge syndrome critical region gene 6
v31.023451:6607..9888	Dysbindin (Dystrobrevin-binding protein 1; Hermansky-Pudlak syndrome 7 protein homologue; Hps7-like protein)
v31.000649:93991..96267	g[28849903]ref[NP_789817.1] Usher syndrome 1G homologue
v31.007716:6307..6672	g[82885666]ref[XP_930720.1] PREDICTED: similar to Unc-112-related protein 1 (Kindlin-1; Kindlerin; Kindlin syndrome protein) isoform 9
v31.001595:115581..117152	Bloom syndrome protein (RecQ protein-like 3; DNA helicase, RecQ-like type 2)
v31.000242:176063..176271	DNA excision repair protein ERCC-6 (ATP-dependent helicase ERCC6; Cockayne syndrome protein C5B)
v31.000644:72418..72533	Masparidin (Spastic paraplegia 21 autosomal recessive Mast syndrome protein homologue)
v31.001256:57266..57779	Cat eye syndrome critical region protein 5 homologue precursor
v31.000089:50070..50263	AMME syndrome candidate gene 1 protein homologue
v31.001829:29299..31869	g[45827744]ref[NP_079350.3] Fraser syndrome 1 isoform 1
v31.000655:128469..129764	g[25914754]ref[NP_740754.1] McKusick-Kaufman syndrome protein
v31.001941:98295..98622	Vacuolar protein sorting-associated protein 13B (Cohen syndrome protein 1)
v31.003493:42636..42856	Nibrin (Nijmegen breakage syndrome protein 1 homologue)
v31.011614:5530..6895	Oral-facial-digital syndrome 1 protein (Protein 71-7A)

Data was obtained from the *S. mediterranea* Genome Database (<http://smegdb.neuro.utah.edu/index.html>) (Robb et al., 2008). A search of the database reveals that many planarian genes are homologous to genes associated with human disease. Alternative protein names are listed in parentheses.

Figura 1: Gens de planàries relacionats amb malalties humanes¹

1.1.1 Característiques

Les planàries són uns cucs plans que pertanyen al fílum dels platihelminths, tot i que la majoria d'espècies són de vida lliure, també n'hi ha algunes que són paràsites. Quan es parla de planàries es considera per defecte que són organismes aquàtics, però també n'hi ha de terrestres i recentment algunes espècies de

⁴ http://www.bvs.sld.cu/revistas/hih/vol25_1_09/hih02109.htm

⁵ La **ribointerferència** o RNAi és un sistema que utilitzen les cèl·lules dels organismes vius per controlar els gens que es troben actius en un moment o un tipus cel·lular, i el seu grau d'activació

⁶ <http://dmm.biologists.org/content/4/1/12>

planàries terrestres han entrat en la categoria d'espècies invasores (Riutort, *et al.*, 2017). Nosaltres ens continuarem referint exclusivament a les espècies aquàtiques d'aigua dolça, que són també les utilitzades en la recerca biomèdica.

Tal com hem dit abans, són cucs plans, és a dir, estan aplanats dorsoventralment, no presenten esquelet, fet que fa que siguin uns éssers tous. Tampoc presenten ni sistema respiratori ni circulatori, per tant, fan la respiració mitjançant l'intercanvi de gasos amb el medi directament a través de l'epidermis. Tot i no presentar sistemes prou complexos (respiratori i circulatori) presenten una clara cefalització (senzilla) que consta d'un cervell a la part anterior i de dos ulls fotoreceptors (amb algunes excepcions). També presenten un sistema digestiu molt ramificat que fa que l'aliment es reparteixi per tot el cos. A l'intestí es troba connectada la faringe evaginable, que gràcies a aquesta, pot ingerir aliment. Aquesta es troba situada ventralment en l'organisme, on surt per la boca.

Com tots els éssers vius, les planàries tenen cèl·lules diferents per tot el cos, des de les cèl·lules mare pluripotents, fins a tots els tipus cel·lulars diferenciades. Però el que fa realment especials aquests individus es que tenen un alt percentatge de cèl·lules mare pluripotents (neoblasts), que representen el 20-30%, distribuïdes per tot l'organisme a excepció de la part anterior als ulls ni tampoc a la faringe. Per tant, si talléssim una planària per alguna d'aquestes dues zones no seria capaç de regenerar un nou individu, ja que les planàries són capaces de regenerar-se gràcies als neoblasts. En el treball de recerca anterior realitzat a l'escola abans esmentat (Quim Abril, 2016) es fa una descripció més extensa de la regeneració en el món animal i de les característiques de les cèl·lules mare.

És gràcies a aquesta gran capacitat regenerativa, juntament amb el fet de presentar un gran nombre de cèl·lules mare en els organismes adults, que ha convertit a les planàries en un organisme model ideal.

Per tant, veiem que aquests organismes tenen una reproducció asexual, ja que després d'una amputació apareix un individu nou. Aquest fet, també es pot donar de manera natural, de manera que quan una planària adquireix una mida gran es pot fissionar deixant anar una cua i com a conseqüència obtenir un nou individu (aquesta amputació pot ser natural o provocada).

A part d'aquesta capacitat reproductiva, algunes espècies de planària també presenten reproducció sexual, és a dir, que tenen aparells reproductors. Els organismes que presenten els dos sexes (hermafrodites) poden tenir una reproducció creuada i fertilitzar-se. Com a conseqüència, les planàries generen unes càpsules poliembriòniques anomenades *cocoons*; així doncs de cada un d'aquests cocoons sortirà més d'un individu juvenil que anirà creixent fins a convertir-se en adult (Saló, 2006).

1.1.2 Gens estudiats i planàries

Totes les cèl·lules, tot i tenir el mateix contingut genòmic, és a dir, el mateix nombre de gens per cèl·lula, acaben tenint diferents funcions i això es deu a que aquestes acaben activant uns gens concrets, és a dir, que totes les cèl·lules amb una funció clara tenen diferents tipus de gens expressats o funcionals. Per tal d'estudiar els gens funcionals de cada població cel·lular s'han posat a punt diferents tècniques moleculars, com per exemple la tinció immunohistoquímica, descrita en l'anterior treball de recerca (Quim Abril, 2016) o bé la hibridació *in situ*. Aquesta segona tècnica (descrita amb més detall més endavant) ens permet detectar aquell ARN missatger que es troba en una cèl·lula. Cal recordar, que l'ARNm és la molècula

intermèdia entre l'ADN i la proteïna i que per tant la seva presència, o absència en una cèl·lula, ens ajudarà a definir la seva funció o tipus cel·lular.

Aquesta tècnica es troba molt estesa avui en dia i s'aplica en diferents organismes model com la *Hydra*, els embrions de *Drosophila melanogaster* (mosca de la fruita) o embrions de *Xenopus* (granota). En planàries també s'ha posat a punt i ha permès la descripció de diversos gens relacionats amb diferents poblacions, com ara: *Smed-coe* (neuronal), *Smed-ovo* (ulls), *Smed-piwi* (neoblasts), del *Smed-pk1* (digestiu) i d'altres.

1.1.3 Dependència de creixement i/o decreixement

Com ja es va estudiar i descriure a l'anterior treball de recerca (Quim Abril, 2016), les planàries tenen una gran capacitat de regeneració. Però no només aquesta increïble capacitat els fa ser uns organismes model tan interessants. Un altre fet rellevant és que poden créixer i decreixer segons la disponibilitat d'aliment en el medi, és a dir, si disposen d'aliment aquests organismes creixeran, i llavors es fissionaran per la part posterior deixant anar una cua. Com a conseqüència, el tronc restant regenerarà la cua, i la cua escindida regenerarà el cap i les altres estructures donant un nou organisme. És a dir, que arribades a certa mida, les planàries podran reproduir-se asexualment.

En canvi, si no disposen d'aliment en el medi, les planàries s'aniran fent més petites fins que al cap de diversos mesos de dejuni s'acabaran morint.

Aquesta gran plasticitat ve donada, altra vegada, per la gran quantitat de cèl·lules mare que disposen i la seva gran capacitat d'adaptar-se a situacions adverses. Així doncs quan l'animal ha de créixer les cèl·lules mare començaran a proliferar i a donar més cèl·lules filles. En canvi, quan l'animal decreixi a causa del dejuni, només produiran les cèl·lules que hagin de ser restituïdes a causa de l'envelliment de l'organisme.

1.2 Planàries a Catalunya

Tradicionalment s'han descrit unes deu espècies diferents de planàries d'aigües dolces al llarg del territori català. Originalment s'han separat en dos grans grups, *DugesIIDae* i *PlanariIIDae*. Actualment les espècies de planària *Dugesia tigrina*, *Dugesia polychroa*, i *Dugesia mediterranea*, han canviat de gènere i han passat anomenar-se *Girardia tigrina*, *Schmidtea polychroa* i *Schmidtea mediterranea*, respectivament. Aquestes planàries estan distribuïdes per Catalunya en zones mitjanes i baixes dels rius on l'aigua és més quieta i té una temperatura més alta. Per altra banda, en les zones altes dels rius, on les aigües són més fredes, hi trobem les espècies *Polycelis felina* i *Crenobia alpina* (Figura 2).

Per a una identificació ràpida es continuen utilitzant els dibuixos d'una publicació interna⁷ del grup de recerca del Dr. Jaume Baguñà (Figura 3).

Així com també els dibuixos i sobretot les claus de classificació de l'article *Les planàries d'aigües dolces a Catalunya i les illes balears. I. Clau sistemàtica i distribució geogràfica* del mateix autor (Baguñà et al., 1980), en la que s'hi inclouen algunes espècies més (Figura 4).

⁷ Informació proporcionada per Eudald Pascual.

Aquests dibuixos i aquestes taules han estat molt útils alhora d'identificar les diferents espècies, tan al laboratori (vegeu annex fotocronològic del dia 3/3/2017) com en les sortides de camp (vegeu annex fotocronològic del dia 7/7/2017 i del dia 26/07/2017).

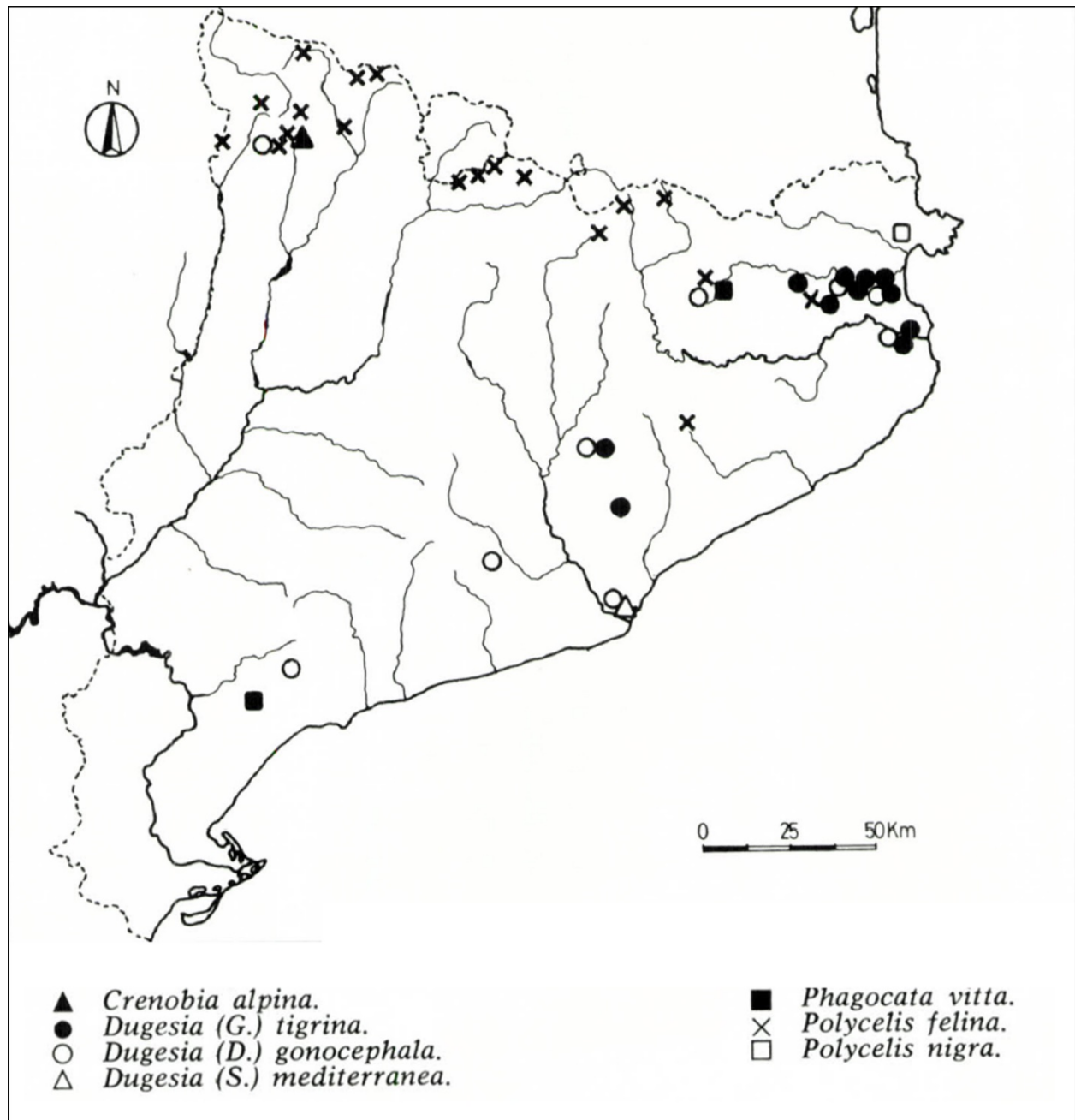


Figura 2: Mapa de distribució de les diferents planàries d'aigües dolces a Catalunya (Extret de Baguñà et al., 1980)

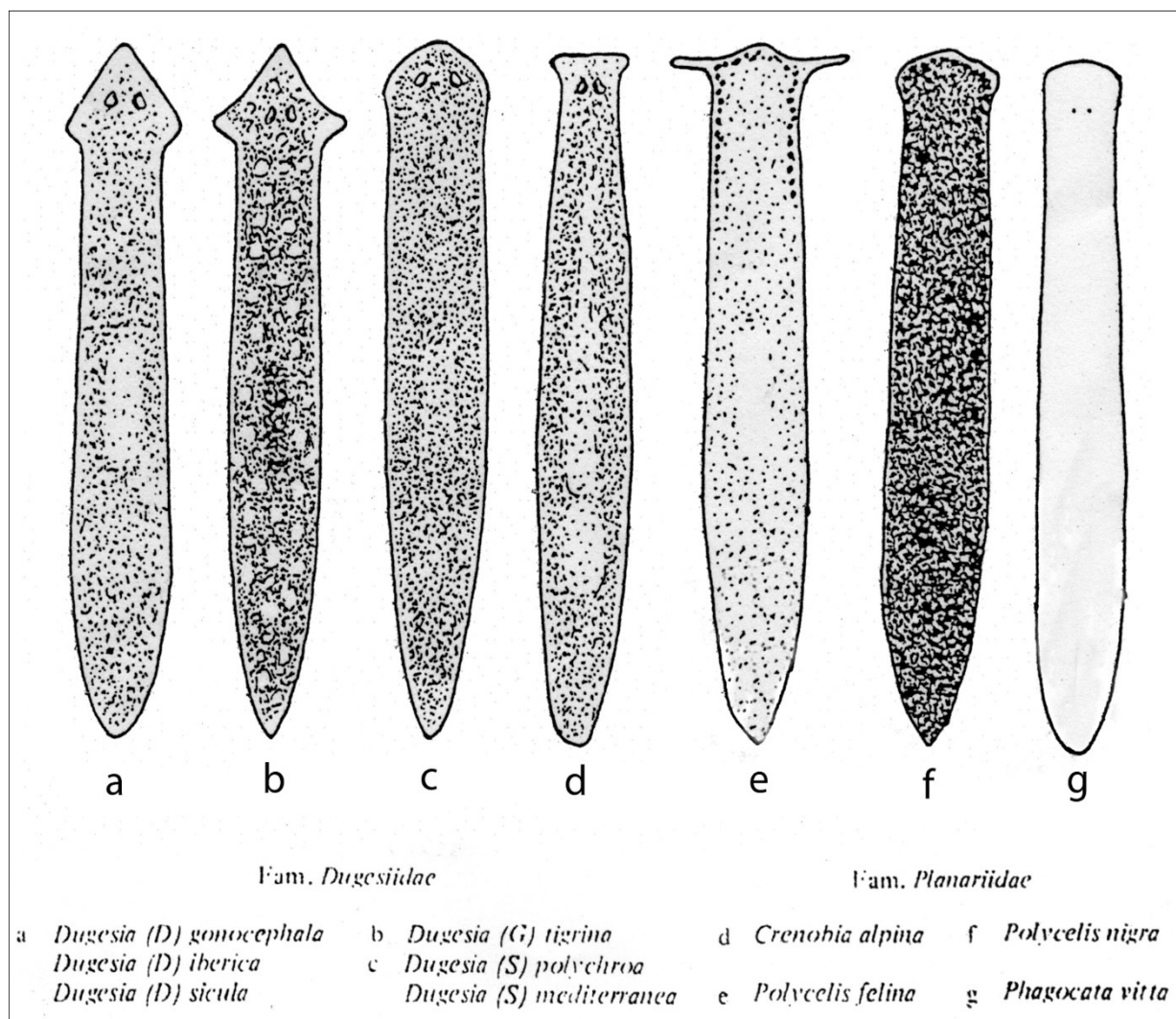


Figura 3. Representació gràfica (vista dorsal) de les principals espècies de planàries d'aigua dolça presents a la Península Ibèrica. Les espècies no estan representades a la mateixa escala. (Extret d'una publicació interna del grup del Dr. Jaume Bagunyà).

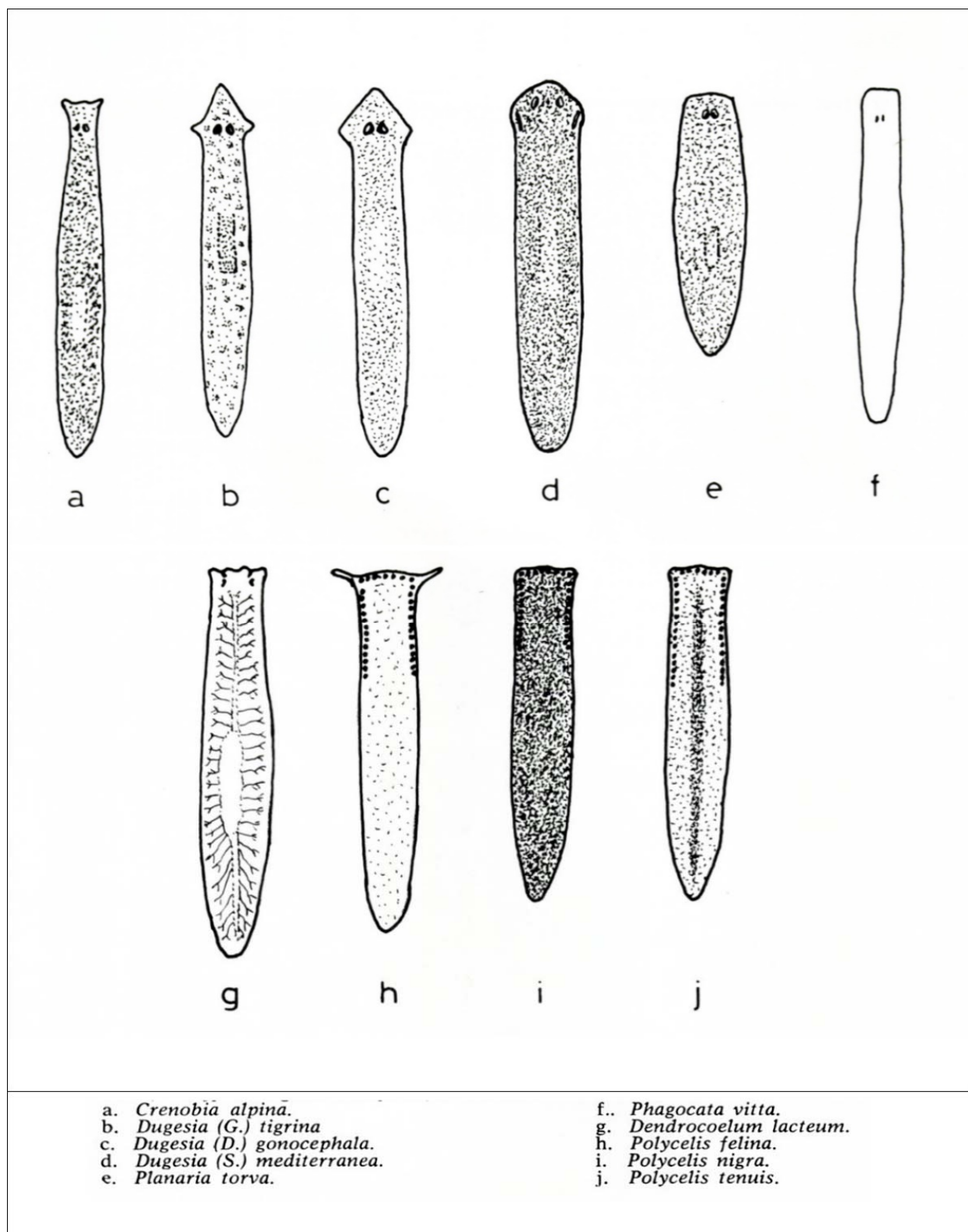


Figura 4. Representació gràfica (vista dorsal) de les espècies de planàries d'aigües dolces presents a Espanya. Les espècies estan representades a diferent escala. (Extret de Baguñà *et al.*, 1980).

1.2.1 Planàries utilitzades

En aquest treball de recerca hem utilitzat 5 espècies de planàries diferents: *Schmidtea polychroa*, *Schmidtea mediterranea* asexuala, *Schmidtea mediterranea* sexuala, *Girardia tigrina* i *Polycelis felina*.

A continuació passem a fer una breu descripció de cada una d'aquestes espècies.

- *G. tigrina*: *Dugesia* (*D.*) *tigrina* (Girard).

Els organismes d'aquesta espècie presenten un cap clarament triangular amb un angle dirigit anteriorment i els dos laterals estesos en tentacles laterals mòbils. El seu color dorsal és marronós clapejat de taques grises; en canvi la superfície ventral és pàl·lida. A més a més, preseta una reproducció asexuala.

Dugesia (*G.*) *tigrina* (Girard) (espècie originària d'Amèrica i introduïda a Europa als anys de la dècada de 1920. A Catalunya es troba sovint en poblacions de milers d'individus, des dels 1500 m fins a la vora del mar, ja que és força resistent a temperatures baixes (5-10°C) i a les altes (més de 25°)



Figura 5. Fotografia de *G. tigrina*⁸

- *S. mediterranea*: *Dugesia* (*S.*) *mediterranea*.

Aquests organismes tenen un cap triangular-arrodonit sense tentacles. Presenten un dors de color marronós (fosc-negrós), de tipus uniforme, en canvi, la superfície ventral és més pàl·lida. Sovint (en especial als mesos de març-abril) són de gran llargada (20-30 mm)

Dugesia (*S.*) *mediterranea* (Benazzi et al.)

Raça amb reproducció exclusivament asexuala. Es trobada originalment al pantà de la Foixarda al parc de Montjuïc (Barcelona) i recentment al sud-oest de l'illa de Mallorca. Viu en aigües quietes i presenta una capacitat de fissió molt gran. Tolerà temperatures força altes (25-35°C)

La seva distribució actual són diferents localitats de les illes de Còrsega, Sardenya i Sicília.

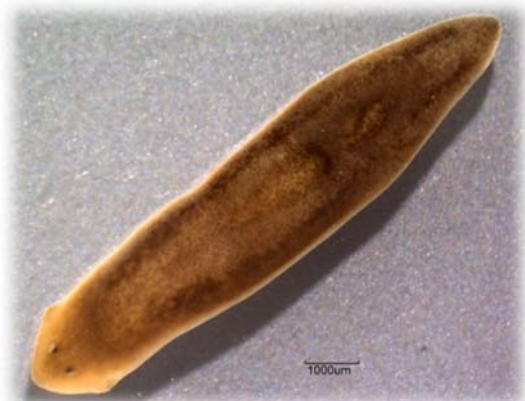


Figura 6. Fotografia de *S. mediterranea*⁹

⁸ <http://www.uniprot.org/taxonomy/6162>

⁹ <https://alchetron.com/Schmidtea-mediterranea-4420052-W>

– *S. polychroa*:

Organismes amb cap triangular-arrodonit sense tentacles, amb el dors de color marronós fosc-negrós, de tipus uniforme. Superfície ventral més pàl·lida. Sovint (en especials als mesos de març-abril) són de gran llargada (20-30 mm)

Dugesia (S.) polychroa (O. Schmidt)

Espècie no descrita a Catalunya ni a les Illes. Es distingeix de *Dugesia (S.) mediterranea* i *Dugesia (S.) lugubris* pel cariotip i l'aparell copulador. Distribuïda per tota Europa. Hàbitat molt semblant al de les altres dues espècies).



Figura 7. Fotografia de *S. polychroa*¹⁰

– *P. Felina*

Els animals presenten tentacles antero-laterals de llargada variable, amb color marró-clar-marró-fosc; i la superfície ventral més pàl·lida. Presenta nombrosos ulls petitíssims al voltant del cap i dels marges del terç anterior del cos

Polycelis felina és pròpia del curs intermedi dels rius en alçàries de 1500 a 2400 m. Es troba menys freqüentment en llacs i cursos subterranis d'aigua.



Figura 8. Fotografia de *P. felina*¹¹

1.2.2 Antecedents de planàries a l'escola

Malgrat, com ja hem dit abans, el primer treball específic de planàries data del curs passat (Quim Abril, 2016), consultant els documents fotocronològics de treballs de recerca del projecte del Pati de les tortugues d'anys anteriors, es pot comprovar que s'havien utilitzat planàries per fotografia biològica (Sònia Marías, 2015) i que s'havien introduït al bassal alguns exemplars de *Girardia tigrina* i de *Schmidtea polychroa*, procedents d'una sortida al riu Tordera fa dos anys (Laia Ginestà, 2015). Malauradament nosaltres ja no hem pogut anar a buscar planàries a aquest indret perquè el rierol d'aquesta part del riu Tordera ha canviat el curs i la llera s'ha assecat.

¹⁰ <https://www.glerl.noaa.gov/seagrant/GLWL/Benthos/Benthos.html>

¹¹ https://ca.wikipedia.org/wiki/Polycelis_felina#/media/File:Polycelis_felina.jp

En aquesta sortida es va poder comprovar la necessitat de mantenir els falcons¹² on anaven les planàries a dins d'un termo per al transport refrigerat fins al seu destí final, ja que les que no s'hi van mantenir, malgrat portaven menys temps als pots, van arribar mortes (Figura 9). Aquesta observació va ser accidental, perquè la raó de no posar el segon falcon a l'interior del termo va ser senzillament que no hi cabia, ja que el termo utilitzat era massa petit i també massa estret¹³.

Des d'aleshores s'han utilitzat termos més grans perquè hi càpiguen més quantitat de recipients falcon, tant en les sortides realitzades el curs passat (Quim Abril, 2016), com en les que hem realitzat nosaltres aquest curs amb la intenció de recollir mostres (vegeu annex fotocronològic del dia 7/7/2017 i del dia 26/07/2017). Una part de les planàries portades d'aquests indrets a l'escola s'han posat al bassal del Pati de les tortugues.

De manera, doncs, que els antecedents de planàries a l'escola es remunten com a molt a dos anys. Al llarg d'aquest temps s'ha intentat mantenir una població estable de planàries al bassal del Pati de les tortugues i també a l'aquaterrari del laboratori però, com veurem més endavant, hi ha diversos factors que ho dificulten.



Figura 9. Primera introducció de planàries procedents d'indrets naturals al bassal del Pati de les tortugues. A l'esquerra, termo i dos recipients falcon, el de tap lila amb planàries vives perquè havia viatjat a dins del termo refrigerat, mentre que en el de tap vermell havien mort totes. Al mig i a la dreta la Laia Ginestà i la Sònia Marías alliberant les planàries procedents del falcon de tap lila al bassal. Imatge procedent del document fotocronològic de fa dos anys (Laia Ginestà, 2015).

¹² recipients de plàstic amb tapa de rosca, molt adequats per el transport de mostres d'aigua i de petits invertebrats.

¹³ informació aportada pels meus tutors.

1.2.3 Variables ambientals (antecedents)

En el treball del curs passat es van mesurar diversos paràmetres ambientals en les sortides de camp on s'havien trobat planàries, concretament els valors de pH, conductivitat, temperatura i corrent d'aigua (Taula 1). I aquests valors es van comparar amb els del bassal del Pati de les tortugues. Nosaltres hem fet aquestes mateixes mesures dels indrets que hem anat i hi hem afegit un altre paràmetre, la concentració d'oxigen dissolt (vegeu apartat 2). En qualsevol cas, aquestes dades del curs passat són un punt de partida que ens permetrà comparar-les amb les nostres (vegeu apartat 3.1).

Taula 1. Dades obtingudes amb els valors mitjans dels diferents indrets on hem trobat planàries (Extret de Quim Abril, 2016).

Valors mitjans	pH	Conductivitat (mS/cm)	Temperatura (°C)	Corrent (v.a.)
Bassal del Pati de les tortugues	8,4	1,82	19,5	1,5
Riu Tordera	7,5	0,60	20,7	4,2
Santa Fe del Montseny-1	8,1	0,09	17,3	3,3
Santa Fe del Montseny-2	8,0	0,05	14,2	5
Mossèn Cinto Verdaguer	7,3	1,38	24,6	1,5
Vivers dels Tres Pins	7,8	2,18	24,5	1,5

2 Material i mètodes

Aquest treball s'ha realitzat en diferents ambients i tant el material com la metodologia dependran del lloc i activitat realitzada, per exemple, no és el mateix el material que es necessita en una sortida de camp que el que cal tenir al laboratori, i tampoc és el mateix el del laboratori de l'escola que el que utilitzarem per la prova d'hibridació *in situ* al laboratori de la Facultat de Biologia.

2.1 Laboratori Escola

2.1.1 Instal·lacions per a les planàries a l'escola

Per a poder treballar amb aquests animals es necessita disposar d'instal·lacions específiques, relativament petites per poder agafar fàcilment els exemplars, que permeti alimentar a voluntat a les planàries i tenir un sistema de circulació d'aigua per a la seva oxigenació. Aquestes instal·lacions per a les planàries són molt senzilles i econòmiques i hem utilitzat les mateixes ja construïdes el curs passat, que utilitza el mateix sistema de compressor i filtre que fan servir al Departament de Genètica. Aquest muntatge és descrit en el treball anterior (Quim Abril, 2016) i consta, essencialment, d'una peixera, que pot ser de diferents mides, una esponja que fa de filtre i un compressor que posa en marxa tot el circuit creant un corrent que absorbeix aigua a través del filtre esmentat i la deixa caure des d'una certa altura. D'aquesta manera s'obté el doble objectiu, el de neteja i el d'oxigenació de l'aigua (Figura 10).

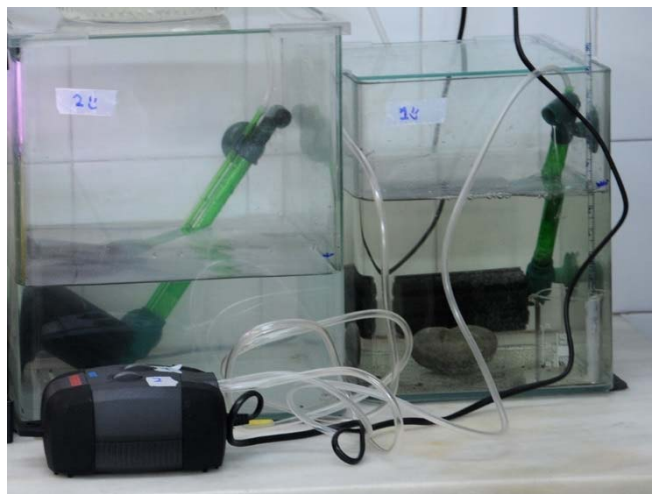


Figura 10. Sistema de filtració i oxigenació d'aigua utilitzat a l'Escola per a mantenir planàries.

El propòsit d'aquestes instal·lacions és mantenir viva i en bones condicions una colònia de planàries per a poder realitzar els experiments que es portin a terme a l'Escola. La temperatura s'ha deixat que sigui la temperatura ambient del laboratori (uns 23°C). Per a que les planàries es puguin amagar de la llum hem posat unes pedres en els recipients (després vam poder comprovar que sota les pedres era el millor lloc per trobar-les ràpidament).

Una de les meves primeres tasques va consistir en netejar i desinfectar els dos aquaris (vegeu annex fotocronològic del dia 17/2/2017) perquè no s'havien utilitzat durant més de dos mesos. Però no vam pensar que no es podia utilitzar sabó (i això que ho havia llegit!) de manera que vam haver d'esbandir amb abundant aigua una bona estona per a fer desaparèixer les restes de sabó i després ho vam desinfectar amb una barreja al 50% d'etanol i ho vam tornar a esbandir per eliminar també qualsevol resta d'etanol. Uns dies més tard vam realitzar el muntatge dels dos aquaris fent servir esponja i tubs flexibles nous. L'aigua que es troba dins els aquaris és una mescla al 50% d'aigua de l'aixeta i aigua destil·lada. Va costar una mica

ajustar la pressió del compressor i la inclinació del tub rígid per on brollava l'aigua, però al final es va aconseguir satisfactòriament (vegeu annex fotocronològic del dia 3/3/2017).



Figura 11. Aquaterrari del laboratori transformat en aquari per les planàries, que representa un model de les condicions del bassal del Pati de les tortugues.

Una altra instal·lació que hem utilitzat per a les planàries ha estat l'aquaterrari, que ve a representar una versió en petit del bassal del Pati de les tortugues. Aquest aquaterrari va ser adaptat per a tenir-hi planàries el curs passat (Quim Abril, 2016), ja que abans hi havia una salamandra que es va alliberar al Pati de les tortugues. Es pensava que la salamandra ja no es trobaria més, però ha estat observada en més d'una ocasió, també aquest curs (vegeu annex fotocronològic del dia 17/3/2017) i té molt bon aspecte (senyal que troba suficient aliment al pati). L'aigua

de l'aquaterrari procedeix de l'aigua del bassal (vegeu annex fotocronològic del dia 3/3/2017), així com algunes plantes i peixos (Figura 11).

A part de les instal·lacions abans esmentades, construïdes o adaptades per a mantenir planàries, la més important, sens dubte, és el bassal del Pati de les tortugues. Aquí no hi fem cap modificació. Els avantatges del pati de les tortugues és que allà les planàries tenen molt d'espai i molts microhàbitats on instal·lar-se. Per exemple, el curs passat es va trobar la màxima densitat a la zona de la cascada (Quim Abril, 2016). Aquest any inicialment n'hem trobat, però poques (vegeu annex fotocronològic del dia 3/3/2017).

2.1.2 Instruments i metodologia

Per a poder fer les mesures de camp hem utilitzat dos aparells portàtils, un conductímetre **HI9814 de Hanna Instruments** (ja utilitzat el curs passat) que, a part de la conductivitat, també mesura la temperatura i el pH de l'aigua, i un oxímetre **MW600 de Milwaukee** que mesura l'oxigen dissolt (Figura 12)

Periòdicament es porten a terme tasques de calibratge d'aquests instruments amb buffers patró seguint les instruccions dels manuals respectius, i es té molt present la necessitat de mantenir tapats els extrems de les sondes amb el seu caputxó i la solució específica de manteniment, mentre no s'utilitzen.

Aquest any hem utilitzat una càmera amb termoregulació per estudiar la resposta de les planàries a temperatures baixes. Inicialment aquesta càmera estava pensada perquè funcionés com incubadora per a la incubació dels ous de les tortugues, però degut a un problema de condensació d'aigua al seu interior es va descartar com incubadora (vegeu el treball de recerca de l'Arnau Ruiz) i vam decidir utilitzar-lo per a les planàries, ja que precisament per a elles aquest aspecte no era un problema i ja havíem comprovat que funcionava molt bé com a càmera refrigeradora.



Figura 12. Conductímetre (esquerra) i oxímetre (dreta) per a les mesures de camp.

En aquest tractament vam decidir mantenir les planàries a 10°C. Per fer-ho, vam haver d'ajustar el termòstat electrònic de la càmera a 12,5°C., ja que si el posàvem a 10°C, l'interior estava en realitat a 7°C perquè teníem el registre interior amb un enregistrator electrònic (datalogger) EasyLog_USB que havíem programat perquè enregistrés la temperatura i la humitat cada hora (vegeu apartat 3.3).

Una altres instruments utilitzats al laboratori de biologia de l'Escola han estat lúpes binoculars i microscopis trioculars, amb càmeres Moticam connectades al tercer ocular; l'explicació de les seves característiques i funcionament ha estat àmpliament explicat en treballs anteriors (Ariadna Simón, 2009; Júlia Alguacil, 2013).

La fotografia també ha estat present al llarg de tot el treball i no només com a reportatge que es presenta en l'annex fotocronològic, sinó que, tant al laboratori com a les sortides que hem fet durant aquest estiu hem pogut fer fotografies dels individus en el seu hàbitat, sobretot la meua companya Ariadna, que ha fet el seu treball de recerca sobre macrofotografia. Gràcies a l'Ariadna hem pogut veure petits detalls d'alguns dels individus que són realment fascinants i que presentarem en els resultats de l'apartat 3.1.



Figura 13. Càmera termoreguladora ExoTerra que hem utilitzat com a càmera freda.

Sempre que s'ha necessitat s'ha pogut fet ús del material de laboratori necessari (falcons, gradetes, plaques de Petri, pipetes Pasteur, pinzells, termos, bisturís ...), seguint la metodologia explicada en el treball del curs passat del Quim Abril. Alguns detalls dels tractaments realitzats aquest any es completaran en el mateix apartat de resultats (vegeu apartat 3).

2.2 Laboratori UB

Aquest any hi hagut la sort de realitzar una petita estada al Departament de Genètica, Microbiologia i Estadística de la Facultat de Biologia (Universitat de Barcelona). L'alumne que va realitzar l'anterior Treball de Recerca relacionat amb planàries també va poder-hi passar unes setmanes. En el seu cas es va descriure la regeneració i es va realitzar una tècnica molecular per detectar proteïnes.

A la Facultat es va procedir a realització d'una pràctica durant dues setmanes. La primera part de l'estada es va realitzar al mes de Juliol (del 11 al 14) i la segona al mes de setembre (del 4 al 7). L'objectiu principal d'anar a la Facultat era la realització de la tècnica molecular hibridació *In situ* (*In Situ*).

La primera setmana d'estada al laboratori, va consistir en familiaritzar-me amb tractament de les planàries: com cuidar-les, agafar-les, triar-les, tallar-les, observar la seva regeneració i sobretot descriure-la. Així doncs, vam seleccionar uns quants individus per així amputar-los i observar la regeneració durant els següents dies. Aquesta practica ja la va realitzar l'anterior alumne de Treball de Recerca quan va ser a la Facultat. Per això, ens vam centrar més en la realització de la tècnica molecular abans esmentada i que ell no va dur a terme.

2.2.1 Preparació *In situ*

Per a començar amb el protocol de la *In situ*, vam haver de tenir a punt tots els materials i solucions. Per tal de que sigui més fàcil seguir el protocol que vam seguir a la Facultat, afegim una taula amb el material i solucions utilitzades correctament.

- | | |
|---|-----------------------------------|
| – Planàries | – Anticòs per detectar les sondes |
| – Solució salina fosfatada (PBS) | – HCl |
| – Acetilcisteïna (NAC) | – NaCl |
| – Solució de fixació (FA – Formaldehid) | – MgCl ₂ |
| – Agent redox DTT | – Tween |
| – Detergent NP-40 | – Pipetes de 1000, 200 i 50 |
| – Detergent SDS | – Plaques de petri |
| – Metanol | – Microtubs |
| – Sonda Piwi | – Microscopi |
| – Sonda Cintillo | – Lupa |
| – Sonda GPAS | – Llanceta |
| – Sonda Fz4 | – Estufa/forn |
| – MABT | – Balança |
| – HS | – Agitador |
| – WBR | |

2.3 Obtenció d'individus

Alguns dels exemplars utilitzats per les experiències al laboratori de biologia de l'Escola i tots els utilitzats en les realitzades en el laboratori de genètica de la Facultat de Biologia procedeixen del *Planarium*, l'estabulari de planàries de la Universitat de Barcelona. Aquestes planàries són originàries de diversos indrets de rius de Catalunya (sobretot del riu Tordera, ja esmentat) i de les basses dels Vivers dels Tres Pins de Montjuïc (Quim Abril, 2016), però la majoria de les utilitzades a l'Escola procedeixen de les sortides realitzades a les basses dels jardins del Parc de Mossèn Cinto Verdaguer (vegeu annex fotocronològic del dia 7/7/2017 i del dia 1/8/2017) i de la sortida a Santa Fe del Montseny (vegeu annex fotocronològic del dia 26/7/2017).

Hem aconseguit un gran nombre d'individus de tots els llocs, sobretot de les espècies *G. tigrina* i *S. polychroa*. I també alguns exemplars de *Polycelis felina* (vegeu apartat 3.1)

Per poder recol·lectar els animals sense malmetre cap d'ells, utilitzem pinzells amb raspall fi i suau, els posem en falcons (aproximadament uns 20 individus/falcon). I, com ja hem explicat anteriorment (vegeu apartat 1.2.2), per poder garantir la supervivència fins a l'escola, introduïm els falcons amb les planàries a dins de termos amb aigua del mateix indret, agafada just abans de marxar.

2.4 Macrofotografia de diferents espècies

Se sol considerar la macrofotografia, o la fotografia macro, com aquella tècnica fotogràfica que ens permet captar imatges de la mateixa mida que la pel·lícula (càmeres analògiques) o del sensor fotogràfic (càmeres digitals), és a dir, amb una relació de reproducció 1:1.

Gràcies a la macrofotografia, podem veure amb detall subjectes molt petits o parts d'aquests amb gran resolució i nitidesa.

Aquest tipus de fotografia té un ús molt accentuat dins la recerca biològica ja que fa possible l'estudi i la documentació de les diferents espècies.¹⁴

En aquest treball, hem utilitzat càmeres rèflex amb objectius macro per fotografiar i poder observar les planàries amb més ampliació fent visibles detalls de parts del cos que no es poden apreciar a simple vista. De fet, aquest ha estat un dels objectius del treball de recerca de fotografia macro de la meua companya Ariadna Górriz (vegeu annex fotocronològic del dia 26/07/2017 i foto de portada).

¹⁴ <https://ca.wikipedia.org/wiki/Macrofotografia>

3 Resultats i discussió

A continuació passarem a esmentar i discutir els resultats obtinguts dels tres aspectes pràctics realitzats, un primer, de treball de camp de caire més ecològic, consistent en l'observació de planàries i mesura de paràmetres ambientals en dos indrets, un de més humanitzat (basses dels jardins del Parc de Montjuïc) i un de més natural (rierols de Santa Fe del Montseny); un segon estudi, realitzat al laboratori de biologia de l'Escola, per estudiar l'aclimatació de les planàries a les diferents instal·lacions de l'Escola; i un tercer, realitzat íntegrament al laboratori de genètica de la Facultat de Biologia de la UB, utilitzant una tècnica molecular moderna.

3.1 Estudi de les planàries en el seu hàbitat

A les sortides hem pogut observar quines espècies hi havia a cada zona i hem pres mesures de les diferents variables amb els equips portàtils, el conductímetre i l'oxímetre. Amb el conductímetre, que en realitat és un multímetre, hi mesurem la conductivitat (mS), la temperatura (°C) i el pH. I amb l'oxímetre l'oxigen dissolt (mg/L). Cal dir que vam disposar tard de l'oxímetre i no el vam poder utilitzar en la primera sortida.

3.1.1 Parc de Montjuïc

Al parc de Montjuïc hi ha els jardins de Mossèn Cinto Verdaguer (Figura 14) en els que hi ha molts estancs d'aigua dolça plens de nenúfars (vegeu annex fotocronològic del dia 7/7/2017).

El curs passat es va descobrir que hi havia moltes planàries en les fulles d'aquests nenúfars, sobretot de l'espècie *S. Polychroa*. En la sortida del curs passat es va observar que hi havia més planàries a última hora de la tarda que al mig dia, i més en les zones on donava l'ombra que a ple sol. A més a més, es va observar que hi havia alguns exemplars al llarg del pecíol de les fulles i es va fer la hipòtesis d'una migració vertical de les planàries, que de dia baixaven cap al fons i que al vespre i a la nit tornaven a pujar pels esmentats pecíols.



Figura 14. Situació del parc de Montjuïc, Mossèn Cinto Verdaguer en vista satèl·lit de Google Earth.

Per això nosaltres arribàrem bastant d'hora, a les 9 del matí (en teoria la zona d'accés al parc s'obre a les 10 del matí). Ho vam trobar obert i ens vam adonar que el sol ja estava bastant alt a aquesta hora aquesta època de l'any. Malgrat tot era bastant d'hora i teníem l'esperança de trobar molts exemplars de planàries. Veníem equipats amb instruments de mesura, observació i recol·lecció de planàries (conductímetre, tubs falcon, pinzells, termo...) i una càmera rèflex amb objectiu macro.

En la taula 2 es presenten les dades de pH, temperatura, conductivitat, corrent de l'aigua de les basses i l'abundància relativa de planàries dels jardins de Mossèn Cinto Verdaguer del Parc de Montjuïc. Algunes d'aquestes basses són les mateixes que es van estudiar el curs passat, però aquest any ho hem ampliat. En

total es van agafar mostres en 9 indrets corresponents a 7 basses diferents, que assenyalen en un mapa a màxima ampliació de Google Eart a la figura 15.

Taula 2. Dades obtingudes de les basses dels jardins de Mossèn Cinto Verdaguer del Parc de Montjuïc.

Basses parc de Montjuïc	pH	Temperatura (°C)	Conductivitat (mS)	Corrent (v.a.)	Planàries (abundància)
Bassa 1	7,50	25,5	1,20	0	+
Bassa 2A	7,32	25,2	1,18	0	-
Bassa 2B (canvi de lloc)	7,43	24,7	1,15	3	+
Bassa 3	7,24	24,8	1,15	1	+++
Bassa 4	7,23	23,6	1,14	2	+++
Bassa 5A	7,27	23,4	1,12	0	-
Bassa 5B (canvi de lloc)	7,28	23,5	1,13	3	+
Bassa 6	7,37	23,3	1,16	0	++
Bassa 7	7,25	23,0	1,02	0	+++



Figura 15. Vista satèl·lit a màxima ampliació de Google Earth amb les basses dels jardins de Mossèn Cinto Verdaguer de Montjuïc on vàrem recollir les dades presentades a la taula 2.

Vam acabar trobant planàries en totes les basses analitzades, si bé no a qualsevol indret ni amb la mateixa quantitat. Dels dos factors proposats el curs passat pel Quim Abril, la llum i el corrent d'aigua, hem pogut comprovar que el més important és el de la llum, perquè si bé és cert que, com va observar el Quim Abril, nosaltres també hem vist que les planàries es troben majoritàriament en els indrets més propers on cau el rajolí d'aigua que comunica les basses, també hem trobat un cas, a la bassa 7, en el que la màxima concentració de planàries no és a la zona propera a on cau el rajolí d'aigua, sinó precisament al lloc més allunyat, on no hi ha moviment d'aigua. Però aquest indret de la bassa, en canvi, a aquesta hora estava situat a l'ombra que li proporcionava un arbre que hi ha a la part SE d'aquesta bassa (vegeu figura 15). Això, si hi afegim el fet que en una visita posterior, però una mica més d'hora al matí (vegeu annex fotocronològic del dia 1/08/2017), es va observar més abundància de planàries a les mateixes basses, juntament amb algunes observacions de planàries als pecíols de les fulles dels nenúfars, reforça la hipòtesi que les planàries d'aquests indrets porten a terme una migració vertical en els indrets més il·luminats, essent ascendent quan es fa fosc i en sentit descendent quan hi ha llum. Per altre banda, les que estan en indrets on la llum del sol no incideix directament, es poden mantenir a dalt (al revers de les fulles dels nenúfars) tot el dia.

Cal dir que, a diferència del curs passat, en el que *Schmidtea polychroa* era l'espècie clarament predominant en les observacions del Quim Abril en les basses d'aquest parc, en el nostre cas ha estat una mica més abundant *Girardia tigrina*, malgrat n'hem trobat de totes. A la figura 16 es mostra en una placa de petri aquesta abundància relativa, amb organismes de les dues espècies, la més fosca i de cap arrodonit (vegeu figura 3 i apartat 1.2.1) és *Schmidtea polychroa*, i la més clara i amb el cap triangular *Girardia tigrina* (Figura 16, a dalt). D'aquesta última espècie trobarem un exemplar de color vermellós força curiós i en la macrofotografia es pot apreciar, a l'esquerra, una puça d'aigua (Figura 16, a baix). La quantitat que hi havia d'aquests petits crustacis (que formen part del zooplàncton) en alguns indrets d'alguna de les basses era immens, donant un color vermellós a l'aigua. Aquest fenomen l'hem trobat en les dues visites que hem fet al parc (vegeu annex fotocronològic del dia 7/07/2017 i del dia 1/08/2017), i no ha estat citat del curs passat.

Desconeixem les causes d'aquestes diferències entre les observacions del curs passat i aquest, i tampoc sembla que siguin degudes a un canvi en les condicions de l'aigua, perquè els paràmetres fisicoquímics mesurats són molt coincidents entre les mesures del curs passat (vegeu taula 1 i taula 2).



Figura 16. Mostra de les dues espècies de planàries que trobàrem a les basses de Montjuïc (a dalt) i detall d'un curiós exemplar de color vermellós que ens vam trobar (a baix). En aquesta mateixa imatge es pot apreciar (a l'esquerra) un exemplar de puça d'aigua.

3.1.2 Santa Fe del Montseny

A la sortida de Santa Fe del Montseny ens vam adonar que hi ha molta variació climatològica, depenent de l'orientació i de l'alçada. Ens trobem una muntanya que te dos climes totalment diferenciats, un de mediterrani, més aviat sec, calorós i molt lluminós, on hi trobem boscos d'alzines sureres i roures (zones E i SE) i un de molt diferent, de clima continental, orientat a nord i de més altitud, que és on es troba Santa Fe del Montseny, amb un clima humit, fresc i molt fosc (a l'interior del bosc), amb predomini de faig, avets i falgueres.

Vam sortir de l'escola a les 9 del matí amb tot el material necessari per recollir, observar, classificar i fotografiar planàries (termos, pipetes, falcons, pinzells, transportins, càmeres reflex amb objectius macro, lupes, guies de camp...) i instruments per mesurar els paràmetres fisicoquímics de l'aigua, l'oxímetre (primer cop que el fèiem servir) i el conductímetre, ja comentat abans.

L'oxímetre, que mesura l'oxigen dissolt a l'aigua, necessita que hi hagi un moviment d'aigua al voltant de la punta de la sonda on es situa el sensor. De manera que, o bé es manté la sonda quieta quan hi ha moviment d'aigua, o bé s'ha de moure la pròpia sonda perquè es renovi l'aigua del seu voltant. Això per nosaltres representa un inconvenient important perquè ens limita les mesures d'oxigen precises dels indrets on l'aigua està sense moviment, ja que el mateix fet de moure la sonda pot introduir oxigen per la turbulència ocasionada, sobretot en casos de poca profunditat, que són precisament els que tractem.



Figura 17. Una de les 4 estacions de la riera de Santa Fe del Montseny.

Ens posàrem en contacte amb els tècnics de Milwaukee, però ens van confirmar que s'ha de mantenir aquesta renovació de l'aigua al voltant de la sonda. Nosaltres, per mesurar l'oxigen dissolt en aigües sense moviment hem mogut la sonda amunt i avall (aproximadament un pam) mentre fèiem les lectures, mentre que en aigües en moviment, com la cascada o brollador del bassal del Pati de les tortugues o un rierol (Figura 17), teníem l'extrem de la sonda quiet.

Vam agafar mesures de diferents estacions de dues zones, la zona 1, en un rierol de la riera de Santa Fe situat abans del pantà, on vàrem analitzar 4 estacions, i la zona 2, just després del pantà, on en vam analitzar 2 (Figura 18). Els resultats (Taula, 3) mostren que hi ha una diferència de temperatura d'uns 3 graus entre la zona 1 (aigua més freda, 13°C) i la zona 2 (16°C). Una diferència semblant és la que es va trobar el curs passat entre les dues zones (Quim Abril, 2016), però amb valors de temperatura una mica més alts (14 i 17°C, respectivament).

Aquí vam trobar una espècie de planària diferent a les que havíem trobat al parc de Montjuïc i també a les que teníem al laboratori procedents de la Facultat de Biologia (vegeu apartat 1.2.1). Vaig poder-la identificar gràcies a les guies de camp que portàvem i sobretot a les claus d'identificació i dibuixos del Dr. Baguñà que també portàvem (vegeu figures 3 i 4). Es tracta de l'espècie *Polycelis felina*, una espècie amb dues característiques morfològiques que hi fa referència el seu nom científic, tant el terme "polycelis" del nom genèric, que vol dir "molt ulls", com el nom específic de "felina", amb aspecte que recorda el cap d'alguns felins (vegeu foto i ampliació a la figura 19). També vam trobar exemplars de *Girardia tigrina*, però

amb una abundància diferent (i oposada) de cada espècie en les dues zones. A la zona 1 vàrem trobar gairebé tot *Polycelis felina* i a la zona 2 gairebé tots els individus eren de l'espècie *Girardia tigrina*. Això concorda amb la bibliografia (Baguñà *et al.*, 1980), en la que es comenta que la primera és més exclusiva de d'aigües més fredes i la segona és més cosmopolita. Per altra banda, coincideix bastant amb les troballes del curs passat en els mateixos indrets, si bé el curs passat a la zona 1 no es va trobar *Girardia tigrina* ni *Polycelis felina* a la zona 2.

Taula 3. Dades obtingudes de les sis estacions de la riera de Santa Fe del Montseny.



Figura 18. Ubicació a sobre mapa de Google Maps de les estacions on es van analitzar els paràmetres de l'aigua. Cal destacar la ubicació de les dues zones, una abans del pantà i l'altra just després.

Estacions Santa Fe del Montseny	pH	Temperatura (°C)	Conductivitat (mS)	Corrent (v.a.)	Oxigen (mg/L)
1A	6,90	13,9	0,07	1	6,1
1B	7,11	13,7	0,07	2,5	6,3
1C	7,15	13,5	0,07	3	6,5
1D	6,82	13,4	0,07	1	6,5
2A	7,55	16,3	0,08	1,5	6,8
2B	7,00	16,0	0,08	1	6,7



Figura 19. Mostra de les espècies de planàries que trobàrem a Santa Fe del Montseny, gairebé totes de l'espècie *Polycelis felina* (a dalt). En la imatge inferior es mostra una ampliació d'una fotografia macro d'aquesta espècie, realitzada per la meua companya Ariadna Górriz.

3.1.3 Comparativa amb les instal·lacions de l'Escola

Hem pogut veure que segons en quins indrets de Catalunya ens situem, trobem diferents espècies de planàries i també hem vist importants diferències pel que fa als paràmetres ambientals entre els diferents indrets. A l'escola hem utilitzat (vegeu apartat 2.1.1) 3 instal·lacions diferents, un aquari dedicat (Figura 10), un aquaterrari (Figura 11) i el bassal del pati de les tortugues. A més a més, aquest any hem pogut recrear unes condicions d'ambients més freds amb la càmera termoreguladora Exoterra, que permet mantenir una temperatura per sota de la temperatura ambient i de forma molt constant. A continuació (Taula 4) es presenten conjuntament els valors obtinguts a les instal·lacions de l'Escola (agafades el 7/07/2017) amb les dels altres indrets analitzats. Hi farem referència en el proper apartat, juntament amb les dades d'oxigen dissolt que aquí no apareixen.

Taula 4. Dades obtingudes de les instal·lacions de l'Escola, de les 9 de Montjuïc i de les sis de la riera de Santa Fe del Montseny.

Situació	pH	Conductivitat (mS)	Temperatura (°C)	Corrent (v.a.)
Aigua aixeta (Escola)	7,68	1,14	26,1	0
Aquaterrari	8,21	4,16	25,9	1
Aquari planàries	8,09	1,43	24,9	2
Bassal del Pati de les tortugues	8,11	2,46	23,5	1
Bassa 1 (Montjuïc)	7,15	1,20	25,5	0
Bassa 2A (Montjuïc)	7,32	1,18	25,2	0
Bassa 2 B	7,43	1,15	24,7	3
Bassa 3 (Montjuïc)	7,24	1,15	24,8	1,5
Bassa 4 (Montjuïc)	7,23	1,14	23,6	2
Bassa 5 (Montjuïc)	7,27	1,12	23,4	0
Bassa 5 (canvi de lloc)	7,28	1,13	23,5	3
Bassa 6 (Montjuïc)	7,37	1,16	23,3	0
Bassa 7 (Montjuïc)	7,25	1,02	23,0	0
Estació 1A	6,90	0,07	13,9	1
Estació 1B	7,11	0,07	13,7	2,5
Estació 1C	7,15	0,07	13,5	3
Estació 1D	6,82	0,07	13,4	1
Estació 2A	7,55	0,08	16,3	1,5
Estació 2B	7,00	0,08	16,0	1

3.2 Adaptació de les planàries a les instal·lacions de l'escola

Com ja hem comentat anteriorment, s'ha descrit que les planàries poden variar de mida segons la seva disposició d'aliment. El que no se sap es si la dependència de creixement i/o decreixement també va lligada amb el canvi de temperatura. Per tal de respondre aquesta pregunta es va dissenyar un experiment on posàvem un determinat nombre d'individus en diferents temperatures.

Per realitzar l'experiment vam utilitzar 4 espècies diferents de planàries: *S.polychroa*, *G.tigrina*, *S.mediterranea* asexualada i *S.mediterranea* sexualada, procedents del Planàrium de la Facultat de Biologia.

Un cop triades les espècies, es va procedir a definir les diferents temperatures amb les quals volíem estudiar els comportament de les planàries: 10°C (càmera freda Exoterra) que ens permetria estudiar com es trobaven els organismes a baixes temperatures, i la temperatura ambient del laboratori (uns 23°C) que també era la dels aquaris i la de l'aquaterrari, donat que no els teníem termostats.

A continuació (Tula 5) es presenta una taula amb el nombre d'exemplars de cada espècie introduït a cada instal·lació (vegeu annex fotocronològic del dia 29/06/2017).

Taula 5. Condicions de partida (nombre d'individus inicial) de l'experiment de temperatura.

Espècie	Aquari	Aquaterrari	Càmera freda
<i>S.Polychroa</i>	4 talls + 1 cocoon	4 talls	3 talls
<i>G.Tigrina</i>	20 individus	15 individus	20 individus
<i>S.Mediterranea asexualada</i>	25 individus	18 individus	25 individus
<i>S.Mediterranea sexualada</i>	4 individus	4 individus	4 individus

Com tots els éssers vius, per tal de poder sobreviure, les planàries han de nodrir-se, i com a conseqüència havíem de procurar alimentar els animals que teníem en les diferent instal·lacions. Per a les planàries que estaven a l'aquari i a la càmera freda vam utilitzar el mateix mètode i aliment que al treball de recerca del Quim Abril. Vam comprar dos filets de fetge de vaca i el vam tallar a trossos petits, d'aproximadament 2 cm de llarg, i els vam guardar al congelador perquè no es fessin malbé. A l'aquaterrari i al basal no vam haver de procurar cap tipus d'aliment perquè gràcies a la gran biodiversitat hi ha suficient quantitat d'aliment per a les planàries.

Per tant, les úniques planàries que podíem comparar i estudiar la seva variació de mida eren les de l'aquari i les de la càmera freda, ja que les altres era molt difícil de trobar-les i no teníem cap eix amb mida de referència. Cada setmana alimentàvem a les planàries com a mínim 1 cop i com a màxim dos cops, sempre per igual. A la càmera freda teníem 4 plaques de petri, una per cada espècie de planària.

Cada cop que trèiem aquestes plaques de petri per donar de menjar a les planàries, fèiem recompte dels individus. Al cap d'una setmana (vegeu annex fotocronològic del dia 7/07/2017) vam fer recompte de les planàries de la càmera freda i de l'aquari (Taula 6). De l'aquaterrari també en férem però només per assegurar-nos que sobreviuen, perquè el recompte no és gaire fiable (s'amaguen per tot arreu i tampoc podem controlar el què mengen i cada quan) i no els presentem aquí.

A l'analitzar les dades vam veure que gairebé no s'havien produït canvis, però si que ens vam adonar que els individus de l'espècie *G.tigrina* s'havien dividit com a mínim dos cops a l'aquari. Aquest fet es interessant perquè quan es produeix el procés de fissió és senyal que els animals es troben en bones condicions, ja que s'han alimentat i han estat capaces de dividir-se. Per altra banda, vam observar que a la càmera freda s'havien perdut 4 individus de la mateixa espècie passant de 20 individus a 16. També vam veure que l'espècie *S.mediterranea* asexualada havia perdut 1 individu tant en l'aquari com en la nevera, havien passat de ser 25 individus en ambdós llocs a 24. Les espècies *S. mediterranea sexualada* i *S. polychroa* havien mantingut el nombre d'individus tant en la nevera com a l'aquaterrari.

Taula 6. Nombre d'individus al cap d'una setmana de l'inici de l'experiment de temperatura.

Espècie	Aquari	Aquaterrari	Càmera freda
<i>S.polychroa</i>	4 talls + 1 cocoon	-	3 talls
<i>G.tigrina</i>	22 individus	-	16 individus
<i>S.mediterranea asexualada</i>	24 individus	-	24 individus
<i>S.mediterranea sexualada</i>	4 individus	-	4 individus

Seguint amb l'experiment, a la següent setmana (la segona des de l'inici) vam tornar alimentar-les i a canviar l'aigua. Per sorpresa nostra, vam trobar que el número d'individus que estaven a la nevera havia baixat dràsticament. Els individus de l'espècie *S.polychroa* que havien de regenerar trigaven molt, i totes les planàries de les altres espècies estaven pràcticament quietes. Vam pensar que el seu metabolisme rendia molt poc a causa de les baixes temperatures. Les úniques que semblaven més actives en aquest ambient eren les de l'espècie *G.Tigrina*. En canvi, les planàries de l'aquari es trobaven en bon estat i inclús vam trobar alguns cocoons i individus juvenils.

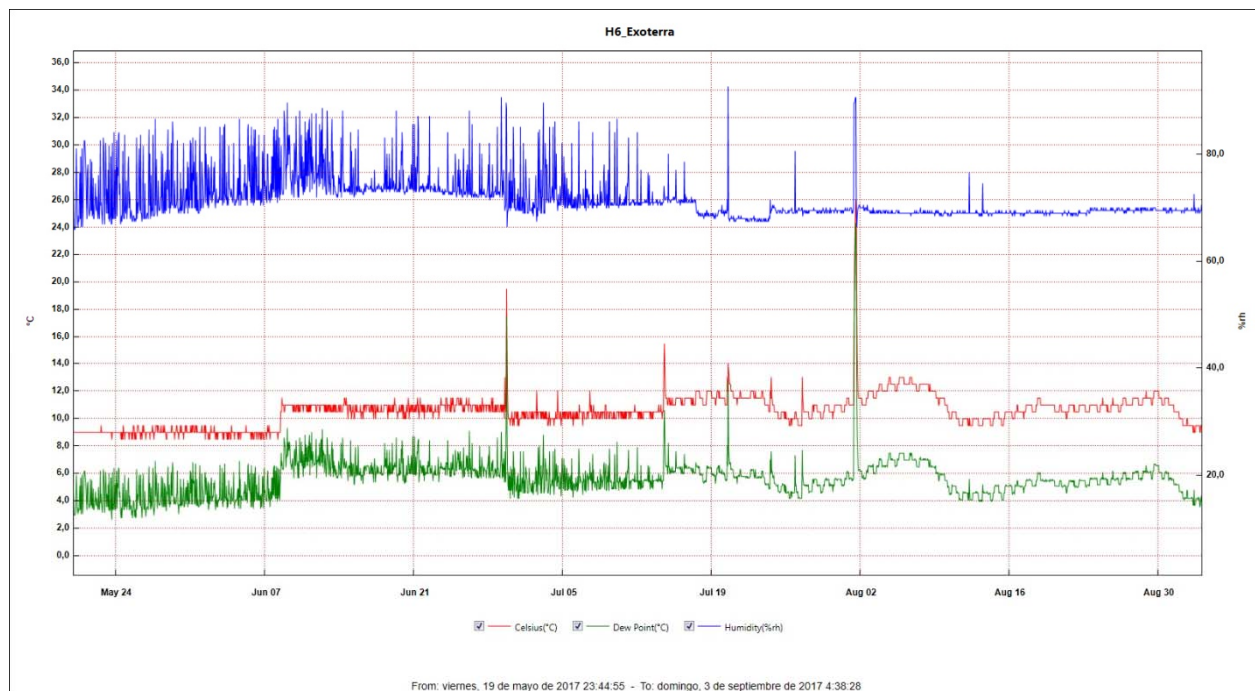


Figura 20. Registre horari de la temperatura, humitat relativa i punt de rosada de l'interior de la càmera freda de maig a setembre, amb el datalogger EasyLog_USB. La temperatura (en vermell) estava ajustada a 10°C.

Ja que es van realitzar dues sortides, durant la realització d'aquest experiment, es van adquirir nous organismes i es va pensar que podíem incrementar el número de d'individus en aquest experiment. Així doncs els nous individus es van repartir entre la càmera freda, l'aquaterrari i l'aquari. De la sortida de Montjuïc vam portar nous individus de les espècies *S.polychroa* i *G.tigrina*, els quals vam repartir equitativament (vegeu annex fotocronològic del dia 7/07/2017). I pel que fa a la sortida a Santa Fe del Montseny vam trobar l'espècie *P. felina*, de la qual vam trobar molts exemplars i així la vam incloure al nostre experiment (vegeu annex fotocronològic del dia 26/07/2017).

Continuant amb l'experiment, a la següent setmana d'haver introduït ens vam adonar que els individus de les 4 espècies de planàries estudiades, que es trobaven a la nevera, eren gairebé totes mortes i només havien sobreviscut alguns individus que portaven menys temps, junt amb bastants exemplars de *P. felina*. Fet que ens suggeriria que existeix una temperatura mínima per aquestes espècies propera als 10°C de la qual no poden baixar i moren a excepció de l'espècie *P. Felina* que, per tant, té el seu límit de supervivència inferior als 10°C. Aquests resultats estan d'acord amb el que hem explicat a l'apartat 3.2.1 sobre aquesta espècie.

Pel que fa al bassal del Pati de les tortugues, hem vist que alguns paràmetres (Taula 4) són una mica diferents dels trobats el curs passat (taula 1), per exemple el pH és una mica menys bàsic (4%), la conductivitat bastant més alta (42%) i la temperatura més alta (21%). L'explicació d'aquests canvis creiem que té a veure amb la periodicitat en què s'ha de reomplir el bassal per una excessiva absorció per part d'arrels d'enfiladisses que hi penetren per la part del final del rierol. Aquest és un problema que s'haurà d'estudiar en un futur proper. Un excés de renovació amb aigua de l'aixeta contribueix a rebaixar una mica el pH de l'aigua, a augmentar la conductivitat, ja que l'aigua que desapareix per evapotranspiració és gairebé destil·lada i, depenent de quan es prenguin les mesures, també influeix fortament en la temperatura de l'aigua del bassal.

3.3 Treball de laboratori

Gràcies a l'Eudald Pascual i a la facultat de Biologia de la Universitat de Barcelona (UB), vaig poder fer dos projectes dins de les instal·lacions del departament de genètica. Un era l'estudi de la regeneració de diferents individus tallats 3 cops horitzontalment a diferents temperatures, i l'altre fer una hibridació *In situ* amb diferents marcadors per veure les cèl·lules predeterminades a aquests marcadors.

3.3.1 Variables de regeneració: temperatura

En aquest projecte teníem la intenció de conèixer més a fons la regeneració de les planàries per poder utilitzar aquests coneixements en altres estudis. (Vegeu Annex fotocronològic)

3.3.2 Hibridació *In situ*. Estudi de les diferents sondes

Un dels principals propòsits d'aquest treball era realitzar treball de laboratori, és a dir, treballar de manera mitjanament autònoma i natural en un laboratori. En concret es va plantejar la realització de la tècnica d'hibridació *in situ*. En concret aquesta tècnica ens permet detectar on es localitzen gens actius, és a dir, veure quins tipus de cèl·lules expressen alguns gens i a on localitzen. La tècnica es basa en la hibridació

d'una cadena complementaria al gen que estàs estudiant. Aquesta cadena complementaria té un marcatge especial que serà reconeguda per un anticòs concret . Aquest anticòs, que ha reconegut la cadena complementaria marcada, té un enzim especial que pot reaccionar amb un substrat, el producte de la reacció es un precipitat blau que queda al costat. Així doncs, quan nosaltres veiem en els nostres animals un marcatge blau voldrà dir que allà s'hi troba el nostre gen actiu.¹⁵

Aquesta tècnica va ser exposada i estudiada al treball de recerca del Quim Abril: *Introducció a l'estudi de les planàries*.

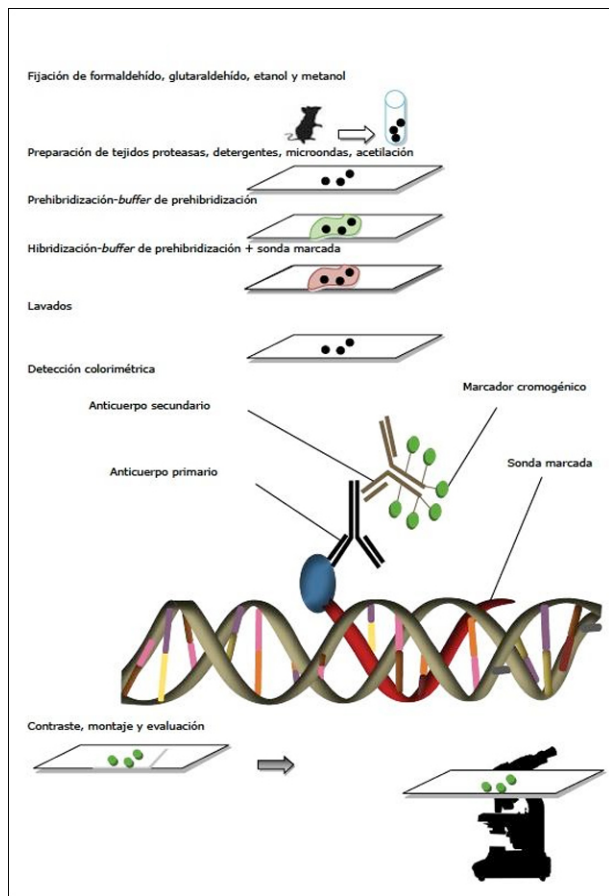


Figura 21. Figura on es representa la tècnica de la hibridació *In situ*.

A continuació es detalla el protocol que es va seguir al laboratori de la Facultat per tal de realitzar la Hibridacions in situ.

1. Agafem individus intactes i els posem a una solució amb NAC i PBS. Aquesta solució els matarà i els hi traurà el moc. Aquest procediment s'ha de realitzar en agitació durant 5 minuts, per tal que la solució penetri bé dins dels teixit de l'animal.
2. Mentre la solució anterior està agitant-se, preparem la següent dissolució que ens permetrà fixar les planàries. Un cop han passat els 5 minuts, traiem la màxima quantitat de solució de PBS i NAC i la substituïm per la nova dissolució de FA. I ho tornem a deixar agitant durant uns 10 minuts.
3. Mentre la solució de FA es troba agitant-se, preparem la solució de reducció que permeabilitzarà les planàries.

La solució de reducció esta composta pels següents elements dissolts en PBS:

¹⁵ <http://www.scielo.org.co/img/revistas/rmv/n25/n25a06f01.jpg>

Taula 7. Compostos de la solució de reducció.

DISSOLVENTS	Concentració de la solució mare o stock	Concentració final
DTT	1M	50mM (milimolar)
NP-40	1%	20%
SDS	0,5%	20%

Càlculs:

$$50mM \times \frac{1M}{1000mM} \times \frac{1mol}{1M} \times \frac{1l}{1mol} = 0,05 ml$$

DTT.....

$$1ml d'ó \times \frac{1ml NP-40}{100 ml d'ó} \times \frac{100ml NP-40}{20ml NP-40} = 0,05ml$$

NP-40.....

$$1ml d'ó \times \frac{0'5ml SDS}{100ml d'ó} \times \frac{100ml SDS}{20ml SDS} = 0,025ml$$

SDS.....

Un cop han passat els minuts amb el fixador, se'n retira la màxima quantitat i s'hi afegeix la solució que permibilitzarà els individus. S'estaran 5 minuts a un bany de 37 °C, fet que optimitza el procés.

- Un cop han passat els 5 minuts amb la solució permeabilitzadora, haurem de deshidratar els individus per així tenir-los en metanol, fet que ens permetrà encara més substancial amb la permeabilització; a més a més, per altra banda, ens ajuda a conservar el teixit per si no volem continuar l'experiment en aquell moment. La deshidratació es fa amb dos passos: posem els animals en una solució al 50% de metanol i PBST a temperatura ambient durant 5-10 minuts, i després un segon canvi on ja hi posem el metanol a -20°C.
- Al cap d'una hora en metanol a -20°C, i si volem continuar amb l'experiment, hem de torna a rehidratar el teixit, per tant, retirarem el metanol i afegirem la solució de metanol i PBST al 50% durant 5-10 minuts. Un cop tinguem els animals rehidratats hem de procedir a fer un tractament de blanquejament, anomenat Bleaching. Aquest pas es molt important per la visualització final de l'experiment. Així doncs, un cop tinguem preparada la solució de Bleaching, els hi tindrem durant 2 hores sota una llum blanca.
- Un cop han passat el temps de "bleaching", es retirà la solució i es fan un seguit de rentats de per treure les restes de la solució. Tot seguit es preparant els animals per la hibridació amb la cadena complementaria (sonda). Així doncs, es posaran a 56°C durant 2 hores amb la solució Prehybe, per evitarà les unions inespecífiques de la cadena complementaria.

7. Perquè les cadenes complementaries (sondes) s'uneixin correctament a la cadena que s'han d'unir les deixem tota la nit a 56°C, aquesta temperatura s'ha estudiat que es la idònia per perquè la sonda es desplegui s'hi uneixi.

Les sondes utilitzades (que anteriorment ja s'han sintetitzat per altres membres del laboratori) sempre s'han preparat a la mateixa concentració 1ng/μl. I les emprades en el nostre experiment han estat les següents:

Taula 8. Diferents sondes utilitzades i aplicades a les mostres fixades.

SONDES	TENIM	VOLEM
Piwi	617 ng/μl	0,64 μl
PC2	250 ng/μl	1,6 μl
Fz4	1/1000 μl	0,4 μl
Cintillo	recuperada	400 μl
GPA's	380 ng/μl	3,1 μl

8. L'endemà, s'han de realitzar un seguit de rentats (2 de 30 minuts cada un) que serveixen per trencar les unions no específiques que s'hagin pogut produir durant la nit. Aquestes solucions contenen diferents concentracions de sals que ho faciliten. Van de més alta concentració (trenquen les unions més no específiques) a més baixa concentració (trenquen les unions menys no específiques)
9. Per preparar el teixit per l'anticòs que detectarà la sonda, es realitzen dos rentats de 10 minuts amb MABT.
10. Es retira la màxima quantitat de la solució de MABT i s'aplica la solució de bloqueig que ens evitarà unions inespecífiques de l'anticòs amb altres elements (veure treball del Quim)

Taula 9. Compostos de la solució de bloqueig.

COMPOSTOS	VOLEM	TENIM	NECESSITEM
HS	5%	100%	150μl
WBR	0,5%	10%	150μl

11. Posteriorment, es preparem la solució que conté l'anticòs i ho deixarem durant tota la nit perquè l'anticòs s'hi uneixi. Aquest anticòs conté un enzim que reaccionarà amb un substrat convertint-lo en blau.

$$1,5\text{ml VF} \quad \text{relació } =1:4000 \quad \frac{1,5}{4000} = 0,000375\text{ml} = 0,375\mu\text{l d'anticòs}$$

12. Després de deixar durant tota la nit, netegem la solució 6 cops durant 2 hores amb MABT. (Cada rentat 20 minuts). Aquesta solució ens permetrà treure totes les rentes d'anticòs i unions no específiques.
13. Un cop retirada tota la solució de MABT, la substituïm per la solució AP Buffer, que prepararà el teixit perquè l'enzim, enganxat a l'anticòs pugui treballar. Solució final 6ml.

Taula 10. Compostos per a preparar la solució AP Buffer.

COMPOSTOS	TENIM	VOLEM	NECESSITEM
HCl	100mM a 1M	0,1M	10µl
NaCl	100mM a 4M	0,1M	2500µl
MgCl ₂	50mM a 1M	0,05M	2500µl
Tween	10%	0'1%	990µl

14. Un cop passada aquesta estona d'adaptació, afegirem el substrat amb el qual l'enzim a de treballar. Aquest reacciona amb la llum, per això taparem amb una capsa els animals. Un cop comenci la reacció anirem mirant com es va donant la reacció ("veure si puja la sonda"). Depenent de la sonda trigaranà més o menys a reaccionar.
15. Un cop vam creure que els marcatge es veia clar, es va canviar la solució i s'hi va afegir PBST per tal de que l'enzim deixi de funcionar. Tant a molt poca concentració de substrat com a molta concentració de substrat, l'enzim no treballa correctament, hi ha un punt de treball òptim. Per tant, per aturar aquesta reacció, haurem de pujar la concentració de substrat per tal que l'enzim deixi de treballar.

3.3.3 Anàlisi i descripció de les hibridacions *In situ*

En aquest apartat es passarà a la descripció i anàlisi de les imatges obtingudes un cop es va realitzar la hibridació *in situ*. Comentarem la situació del l'expressió dels gens, en quin tipus cel·lular es poden trobar i la seva funció del gen que té en les planaries. Cal recordar que el marcatge blau que veurem en cada gen, es la disposició d'aquest i que per tant en cada un serà diferent. També cal remarcar que el procés de reacció de l'enzim amb el substrat és molt específic, però a vegades podem trobar regions colorejades on realment no hi ha expressió del gen, aquestes s'anomenen *background*, i en alguns casos nosaltres n'hem tingut.

Sonda contra el gen *Smed-piwi*:

El gen *Smed-piwi* s'ha descrit a les planàries com un gen relacionat amb la identitat de cèl·lula mare, així doncs marcarà aquest tipus de cèl·lules. Com anteriorment em descrit, les cèl·lules mare de les planàries es troben distribuïdes al llarg de tot el cos, excepte davant dels ulls i a la faringe. Així doncs, tal i com veiem a la figura 22, les cèl·lules mare es reparteixen per tot l'organisme excepte aquestes dues regions, a més un altre fet destacable es que s'aprecia que unes estructures ramificades al llarg de l'animal. Es tracta del sistema digestiu que es veu en negatiu (blanc) ja que les cèl·lules mare tampoc es disposen a dins d'aquest. S'ha de dir que aquesta sonda es va revelar especialment bé i no vam tenir problemes de *background*.

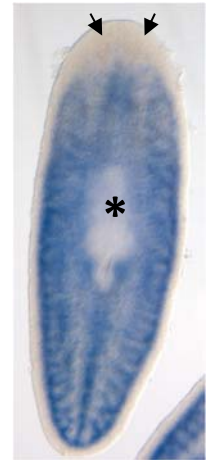


Figura 22. Fotografia on es veu la disposició dels neoblasts en una planària. Les fletxes assenyalen els ulls.

Sonda contra el gen *Smed-prohormone convertase 2 (Smed-pc2)*:

Com es veu en la figura Z, el gen *Smed-pc2* es troba expressat en el sistema nerviós de les planàries, en concret en les neurones. En la part més anterior es veuen els ganglis cefàlics, dels quals surten els dos cordons nerviosos que recorren tot el cos per la part ventral i es troben altra vegada a la part posterior dels organismes. El marge de l'animal també es troba marcat, però en aquest cas vam tenir *background*.



Figura 23. Fotografia del sistema nerviós d'una planària on queden marcades les cèl·lules amb funcions nervioses. Els asteriscs marquen el cervell i la fletxa un dels cordons nerviosos.

Sonda contra el gen *Smed-Frizzled 4 (Smed-Fz4)*:

El gen *Smed-Fz4* és un receptor d'una via de senyalització molt important a la planària. Es troba expressat difusament a la part posterior d'aquests animals tal i com es veu a la figura 24. En aquest cas ens va costar molt que l'enzim donés la senyal blava esperada, per això es no es veu tan bé.

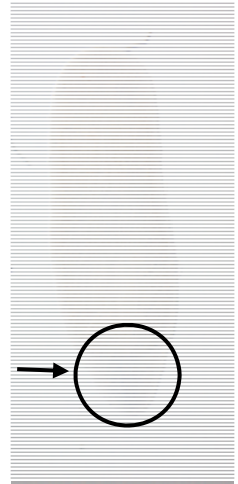


Figura 24. Fotografia del receptor *Smed-Fz4* que es troba difós a la part inferior de la planària.

Sonda contra el gen *Smed-cintillo*

El gen *Smed-cintillo* es troba relacionat amb tipus neuronal molt específic, en concret amb les neurones que reben senyals químiques de l'exterior. A més la seva disposició al marge del cap, i propera al cervell (veure l'expressió de *Smed-pc2*) ajudaria a entendre-ho. A més, si ens fixem en la figura 25 es poden arribar a contar el número de cèl·lules en cada costat de l'animal. En aquest cas vam aconseguir que es tanyessin bé les cèl·lules positives pel marcatge, però alhora vem tenir un background difús al llarg de tot l'animal.



Figura 25. Fotografia on es marquen les cèl·lules receptores de senyals químiques de l'exterior.

Sonda contra el gen *Smed-Gpas*

És tracta d'un gen que s'expressa específicament a les branques del cervell i a la part posterior de la faringe, tal i com es veu a la figura 26. Aquest gen no té una funció concreta ni amb el sistema nerviós ni amb la faringe, però ajuda a estudiar com es troben aquestes dues estructures de la planària. En aquest cas, vam aconseguir que la tinció fos clara per totes dues estructures i no tenir quasi tinció inespecífica.¹⁶



Figura 26. Fotografia de les parts expressades pel gen *Smed-Gpas*: branques del cervell i la part posterior de la faringe.

¹⁶ Fotografies fetes al Departament de Genètica de la Facultat de Biologia de la Universitat de Barcelona.

3.3.4 Anàlisi de diferents proporcions de la planària

S'ha descrit, i en aquest treball també ho hem pogut comprovar, que les planàries varien la seva mida segons la disponibilitat d'aliment, però una altra pregunta que ens vam fer era si part de les seves estructures internes també variaven. És per això que gràcies als marcadors abans introduïts de diferents poblacions neuronals vam poder estudiar com canviaven segons la mida d'un organisme. Així doncs vam realitzar dos tipus de mesures: en la primera vam mesurar l'àrea del cap que venia definida pel marcador *Smed-cintillo*. Però en biologia, no s'estudien els valors absoluts sinó que es posen en relació amb el context de l'animal. Així doncs, vam dividir l'àrea del cap entre l'àrea de l'animal, obtenint així una ratio. En el fons, la informació que ens dona aquest valor es el percentatge d'àrea que representa l'àrea del cap. La segona mesura que vam realitzar va ser la longitud del cervell. En aquest cas vam utilitzar el marcador *Smed-gpas* que marca el cervell. Així doncs, tal i com havíem fet les mesures anteriors, la longitud del cervell la vam dividir per la longitud total de l'animal per així tenir un valor representatiu.

Marcador *Smed-cintillo*:



Figura 27. Àrea del cap agafada d'una planària marcada amb *Smed-cintillo*.

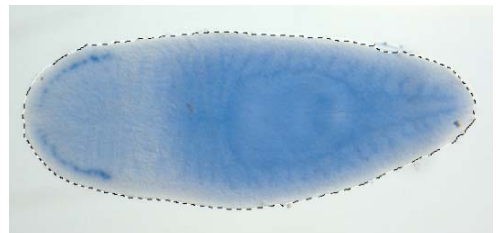


Figura 28. Àrea del total d'una planària marcada amb *Smed-cintillo*.

Marcador *Smed-gpas*:



Figura 29. Llargada del cap agafada d'una planària marcada amb *Smed-gpas*



Figura 30. Llargada total agafada d'una planària marcada amb *Smed-gpas*

En la gràfica següent (Figura 27), en l'eix de les X veiem l'àrea total de l'animal i per tant els punt de més a l'esquerra són animals més petits i els punt de més a la dreta són animals més grans. En l'eix de les Y veiem representat l'àrea del cap i per tant els punts més baixos són animals amb un cap més petit i els punts més elevats seran animals amb el cap més gran. Com s'observa en el gràfic tot i haver-hi una gran diferencia entre l'animal més petit i l'animal més gran no veiem quasi cap diferència pel que fa a la mida del cap, i si observem la resta de d'animals tampoc veiem que hi hagi una gran desviació. Per tant podem suggerir que la mida del cap varia proporcionalment amb el canvi de mida de l'animal, i no succeeix que els animals més grans tenen un cap més gran en proporció, ni que els animals més petits tenen un cap més petit en proporció.

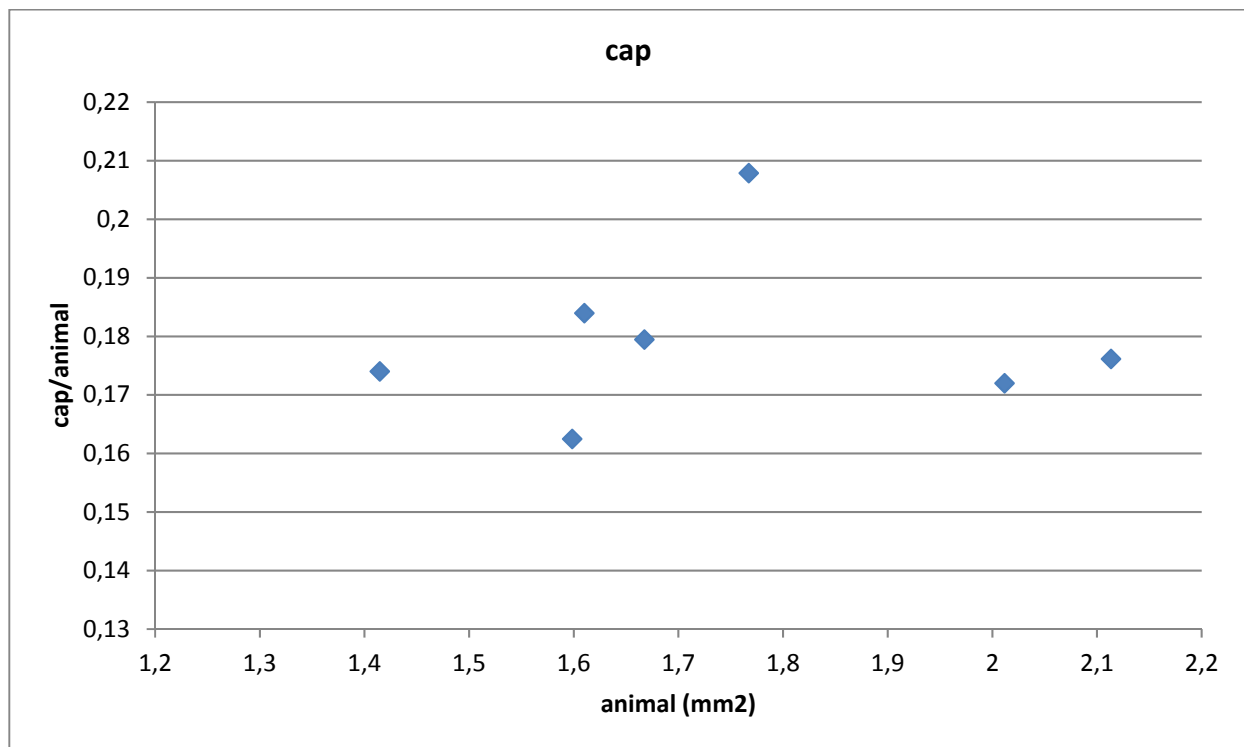


Figura 27. Proporció entre l'àrea del cap i l'àrea total d'una planària.

En la següent gràfic (Figura,28) de dispersió tornem a observar diferents punts. En aquest cas, en l'eix de les X podem observar la longitud total de l'animal i per tant els punts que es troben més a l'esquerra seran d'animals més petits i els que es troben a la dreta d'animals més grans. Pel que fa a l'eix de les Y veiem representat la longitud del cervell i per tant els punts més baixos seran d'animals amb el cervell més petit i els punts més elevats, d'animals amb el cervell més gran. El que observem en la gràfica, és que els animals més petits tenen el cervell més petit, i que els animals més grans tenen el cervell més gran. És a dir que a mesura que l'animal va creixent el seu cervell també ho fa, però no de manera tan proporcionada ja que al final els animals més grans desenvoluparan un cervell més gros.

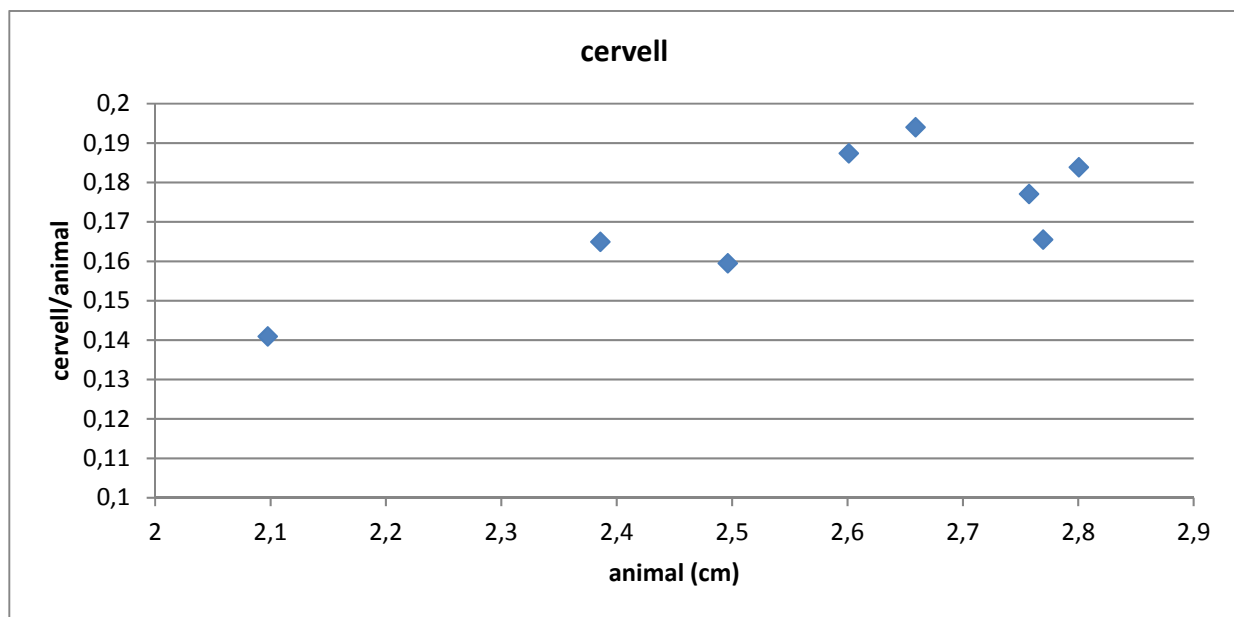


Figura 28. Proporció entre la llargada del cervell i la llargada total d'una planària.

A l'estudiar aquestes dues relacions hem pogut arribar a la conclusió que els animals quan decreixen i creixen canvien de manera proporcionada la mida del seu cap, però no la del seu cervell, essent aquest una mica més gros quan els animals són grossos i més petit quan els animals són més petits.

4 Conclusions

Aquest any hem trobat les mateixes espècies de planàries i en els mateixos indrets que les trobades el curs anterior en el treball del Quim Abril, però en proporcions d'abundància diferents. També hem trobat força concordança en els paràmetres ambientals mesurats (pH, temperatura i conductivitat).

En l'estudi de les 7 basses del Parc de Montjuïc, hem observat que, a diferència del curs passat en què pràcticament només es trobaren exemplars de l'espècie *Schmidtea polychroa*, i molt pocs de *Girardia tigrina*, aquest any l'abundància de les dues espècies ha estat molt semblant. Les observacions de més abundància de planàries a primeres hores del matí en relació al mig dia, juntament amb algunes observacions de planàries als pecíols de les fulles dels nenúfars, reforça la hipòtesi que les planàries d'aquests indrets porten a terme una migració vertical en els indrets més il·luminats, essent ascendent quan es fa fosc i en sentit descendent quan hi ha llum. Dels dos factors proposats el curs passat pel Quim Abril, la llum i el corrent d'aigua, hem pogut comprovar que el més important és el de la llum, perquè si bé és cert que, com va observar el Quim Abril, nosaltres també hem vist que les planàries es troben majoritàriament en els indrets més propers on cau el rajolí d'aigua que comunica les basses, també hem trobat un cas, en el que la màxima concentració de planàries és al lloc més allunyat, on no hi ha moviment d'aigua. Però aquest indret de la bassa, en canvi, a aquesta hora estava situat a l'ombra que li proporcionava un arbre.

Pel que fa a la persistència de planàries al bassal del Pati de les tortugues, malgrat una renovació freqüent amb aigua de l'aixeta que provoca un canvi en les condicions de l'aigua, continua existint una població apreciable de planàries de l'espècie *Schmidtea polychroa*, sobretot a la zona del rierol.

Del treball de laboratori podem concloure que les planàries tenen una capacitat més alta o més baixa segons la temperatura com a conseqüència del metabolisme (a menys temperatura el metabolisme és més lent i a més temperatura el metabolisme és més ràpid), ja que vam poder comprovar diferents individus tallats a diferents temperatures, on els que estaven a temperatures més baixes es regeneraven més lentament.

De l'anàlisi de com varien les proporcions (àrea del cap/àrea total i llargada del cervell/llargada de l'animal) aquestes dues relacions hem pogut arribar a la conclusió que els animals quan decreixen i creixen canvien de manera proporcionada la mida del seu cap, però no la del seu cervell, essent aquest una mica més gros quan els animals són grossos i més petit quan els animals són més petits.

5 Bibliografia

ABRIL, QUIM (2016). Introducció a l'estudi de les planàries. Manteniment, descripció i recerca. Treball de recerca de batxillerat de l'Escola Mestral. [En línia]. Disponible a Internet: < <https://www.escolamestral.cat/treballs-de-recerca/201617/resums/QUIM%20ABRIL%20CARENYS.pdf> >

ALGUACIL, JÚLIA (2013). Macrofotografia i micromons. Treball de recerca de batxillerat de l'Escola Mestral. (Premi Recerca Jove CIRIT 2014). [En línia]. Disponible a Internet: < https://issuu.com/escolamestral/docs/macrofotografia_i_micromons_ar_tot >

BAGUÑÀ, J., SALÓ, E., ROMERO, R. (1980) *Les planàries d'aigües dolces a Catalunya i les Illes Balears I. Clau sistemàtica i distribució geogràfica*. Butll. Inst. Cat. Hist. Nat., 45 (Sec. Zool., 3): 15-30.

BRIERS, D. (2012) *Junctions Between Cells Simplified*. <http://www.dbriers.com/tutorials/2012/12/junctions-between-cells-simplified/>

CEBRIÀ, F., ADELL, T., FRANCESC, J., SALÓ, E. (2011). *La regeneració i l'homeòstasi en les planàries, un model clàssic de biologia del desenvolupament*. En Organismes model en biologia (Montserrat Corominas i Marc Valls, ed.). *Treballs de la SCB*. Vol. 62 93-106.

CUSÓ, ÒSCAR (2007). El *bassal del Pati* de les tortugues. Treball de recerca de batxillerat. Escola Mestral. 64 pp. (Premi Baldiri-Reixac 2008). [En línia]. Disponible a Internet: <https://issuu.com/escolamestral/docs/bassal_ocusco?backgroundColor=>

FRYE, C. (2014). *Cloning breakthrough: Stem cells created from adults*. CCNN Writer. Daily Clubhouse News.

GALLIOT, B. I GHILA, L. (2010). *Cell plasticity in homeostasis and regeneration*. Molecular Reproduction and Development. Vol.77. Pàg.837-855

HANDBERG-THORSAGER, M., FERNANDEZ, E., SALO, E. (2008) "Stem cells and regeneration in planarians" [Frontiers in Bioscience 13, 6374-6394].

MARÍAS, SÒNIA (2015). La tècnica fotogràfica time-lapse i la seva aplicació biològica a l'Escola. Treball de recerca de batxillerat. Escola Mestral. 70 pp. [En línia]. Disponible a Internet: < <http://www.escolamestral.cat/treballs-de-recerca/2015-16/resums/SONIA%20MAR%C3%8DAS.pdf> >

MARSÀ, ALBERT (2010). Increment de la biodiversitat al Pati de les tortugues. Treball de recerca. Escola Mestral. [En línia]. Disponible a internet : < https://issuu.com/escolamestral/docs/amarsa_vfinal_96?backgroundColor=>.

PASCUAL, E., HERRERIAS, L., VENDRELL, A., MARÍ, J., MARTÍNEZ, A. I SOLER, J. (2011). *Aportacions a les variacions de pes durant el procés d'hibernació en Testudo hermanni hermanni* (Gmelin 1789). Butlletí de la Societat Catalana d'Herpetologia n°19.

PASCUAL, EUDALD (2013). *Caracterització funcional del gen Man1 en Schmidtea mediterranea*. TFG Biologia. Departament de Genètica, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona.

REDDIEN, P I WENEMOSER, D. (2010). *Planàrian regeneration involves distinct stem cell responses to wounds and tissue*.NCBI. Dev Biol. 2010 Aug 15;344(2):979-91.

RIUTORT, M, ÁLVAREZ-PRESAS, M., MATEOS, E. (2017). *Planarias exóticas en España. De curiosos gusanos introducidos en los jardines a invasoras de ecosistemas y cultivos*. Perspectiva local. Investigación y Ciencia Mayo 2017).

SALÓ, E. (2006). *The power of regeneration and the stem-cell kingdom: freshwater planàrians (Platyhelminthes)*. BioEssays: news and reviews in molecular, cellular and developmental biology. *Bioessays* 28 : 546 – 559.

SIMÓN, ARIADNA (2009) *Micromons*. Treball de recerca. Escola Mestral. [En línia].Disponible a Internet: <http://www.escolamestral.net/mestral/secciones.php?menu=94&sec=100&subsec=116>

ANNEX FOTOCRONOLÒGIC del

Projecte del *Pati de les tortugues* (curs 2017-2018)



Ariadna Gorriz Muñoz
Sara Jiménez Antúnez
Arnau Ruiz Farrando
Novembre de 2017
Escola Mestral

Pròleg

Des de ja fa uns quants anys, concretament des de l'any 2003, que és quan el *Pati de les tortugues* passa a ser instal·lació col·laboradora del DMAH (Departament de Medi Ambient i Habitatge de la Generalitat de Catalunya), que ara s'inclou en el Departament d'Agricultura, Ramaderia, Pesca, Alimentació i Medi Natural (DAAM) de la Direcció General de Medi Natural i Biodiversitat, per a la tinença i cria de tortuga mediterrània (*Testudo hermanni*) a l'Escola, es porta a terme un registre de les activitats que s'hi desenvolupen, any rere any, pels alumnes que hi fan treballs de recerca relacionats, independentment del tema del seu treball de recerca concret.

Això, malgrat representa un esforç extra, facilita als alumnes la realització de pràctiques diverses i permet l'existència d'un "fil conductor" de les diferents accions i activitats realitzades al llarg dels anys i sobretot la seva ràpida consulta, per tal d'aprendre dels estudis previs i no repetir aquells ja finalitzats. D'aquesta manera, el *projecte* pot anar enriquint-se i evolucionar, amb la participació de tots els alumnes que en formen part.

Per tal de portar a terme aquest registre es fa servir una metodologia molt senzilla, però eficaç, consistent en dues eines, una basada en l'antiga llibreta de camp (transformada actualment en un arxiu compartit al *Dropbox*) on cada alumne hi anota les diferents activitats que va realitzant i les idees que se li van acudint, relacionades amb el seu treball de recerca) i una de més moderna, la fotografia digital. Aquesta última esdevé, més enllà del seu valor gràfic, una eina molt útil per el registre de tasques i esdeveniments de caire cronològic, perquè queda tot enregistrat en les *metadades* que acompanyen a tot arxiu electrònic (data i hora, a part de totes les dades dels paràmetres fotogràfics de la captura realitzada).

Tant les fotografies com els comentaris del document fotocronològic les fem sempre entre tots, però la principal responsabilitat de l'edició digital (agrupació fotos de tres en tres...) i muntatge final de les fotografies tradicionalment recau en l'alumne que fa el seu treball de recerca de fotografia. Això és el que ha passat en 9 dels últims 10 anys, en què ha coincidit que un dels tres treballs relacionats amb el projecte era de fotografia (el curs passat no n'hi havia cap, però en l'anterior eren dos). Aquest any tornem a la norma. D'aquesta manera es manté viva aquesta eina de consulta i de registre d'accions que resulta tan útil a qualsevol alumne interessat en entrar a formar part del projecte del Pati de les tortugues o del projecte Treballant la fotografia de l'Escola.

Josep Marí

1. Actualització del banc de dades del projecte *Pati de les tortugues*

1.1 Dades de pes i biomètriques de les tortugues

Es continua el seguiment del registre periòdic de pes de les tortugues adultes (tant del període actiu com durant la hibernació) i juvenils que estan en estudi. Aquestes dades es van incorporant, en format Excel, a la base de dades iniciada el 4 de novembre de 2005. També es guarda un registre de les dades de pes i biomètriques de les tortugues nascudes a l'escola (i també dels ous). Aquests arxius es van actualitzant periòdicament, per a possibles estudis posteriors a més llarg termini i també per a fer consultes per als actuals (treball de recerca d'Arnau Ruíz).

1.2 Registres de dades ambientals

S'enregistren els valors de temperatura de diversos indrets (a nivell de superfície i a nivell d'on s'enterren les tortugues per a hibernar i a nivell dels ous de les incubadores). Aquestes dades són enregistrades periòdicament de forma intermitent (des de desembre de 2004) amb enregistadors *DataLogger Escort* i guardats en una carpeta (*MyLogger Data*) i *Lascar_USB* que es va actualitzant amb els treballs de recerca dels últims anys, per tal de poder ser utilitzades en qualsevol moment en treballs actuals (Arnau Ruíz) o futurs. Els fitxers de dades es guarden en el format original (editables amb el programa *EscortConsole* o *EasyLog*) i també en format full de càlcul (*Excel*).

1.3 Lliurament al CRARC d'exemplars nascuts a l'escola

Fa uns anys s'havien fet alliberaments (al massís del Garraf i a la serra del Montsant) de tortugues nascudes a l'escola, perquè eren tortugues que havien format part d'estudis relativament llargs (procés d'ossificació de la closca, hibernació/no hibernació, creixement...), les hem tingut alguns anys a l'escola i ja havien assolit les mides mínimes per ésser alliberades. Des de fa quatre anys els estudis en juvenils només són necessaris el primer any de vida i, per altra banda, ens neixen molts exemplars cada any i no els podem mantenir a l'escola, de manera que les portem al CRARC, en la visita anual que es fa a l'estiu (juliol o agost), perquè es quedin ja allí fins el moment d'ésser alliberades.

1.4 Introducció de planàries al bassal del Pati de les tortugues

Aquest any és el segon consecutiu que es dedica un treball monogràfic a les planàries i un dels objectius és el de comprovar alguns aspectes de caire ecològic encetats amb el treball anterior. Per això es faran tant estudis de camp, recollint exemplars de diversos indrets de Catalunya i analitzant diversos paràmetres de l'aigua (conductivitat, temperatura i pH), com de laboratori (una part al Departament de Genètica de la Facultat de Biologia, gràcies a la col·laboració d'un exalumne, Eudald Pascual, que serà co-tutor del treball (treball de recerca de Sara Jiménez).

1.5 Document fotocronològic

Es continua portant a terme un registre fotogràfic de les principals tasques i accions realitzades pels alumnes durant el període que dura el seu treball de recerca, ordenades cronològicament, en el mateix format d'anys anteriors (agrupaments generalment de 3 fotografies). Les explicacions del document es fan entre tots, però la responsabilitat de la part fotogràfica i el muntatge final recau, sobretot, en la persona que realitza el treball de recerca de fotografia (treball d'Ariadna Gorriz).

01/02/2017 Avui l'Ariadna Górriz, la Sara Jiménez i l'Arnau Ruiz, comencem oficialment el treball de recerca amb el nostre tutor, Josep Marí. L'Ariadna fa el seu treball de fotografia macro, la Sara farà recerca sobre les planàries amb un tema que és continuació d'un del curs passat, també codirigit per Eudald Pascual, i l'Arnau sobre la tortuga mediterrània, concretament sobre un nou sistema d'incubadores i continuar l'estudi de les malformacions. Obrim un grup de WhatsApp entre els cinc i també un grup compartit al Dropbox, que deixem instal·lat a l'ordinador del laboratori de biologia.



15/02/2017 El Marí demana a l'Ariadna que faci un minireportatge dels preparatius del muntatge d'una caseta per parvulari. La faran els propis pares sota la direcció del Joan serrat (arquitecte i professor de dibuix) i de la exalumna Aida Artiz, arquitecte i mare de parvulari. També acompanyarà al Roger Ferraz i al Xavi Taulé (alumnes de 2n de Batxillerat) que buscaran el lloc ideal per fer un *time-lapse* del procés de muntatge el dia de la construcció. Decideixen que s'haurà de fer des del terrat, perquè les lames de les finestres del primer pis dificulten la visió del conjunt.



17/02/2017 L'Arnau posa en marxa una de les dues incubadores noves (aquesta de la marca ExoTerra) que provarà amb el seu treball, juntament amb les Jaeger que hi havia a l'escola (més informació en el TR de l'Arnau Ruiz).



La Sara es posa a rentar l'aquari per les planàries i es dona compta massa tard que no es pot utilitzar sabó (no va bé per les planàries). Ho esbandeix molt bé i després, amb l'ajuda de l'Arnau, ho repassa tot amb un paper impregnat d'alcohol. Un cop ben net l'Ariadna es fixa com incideixen els raigs de llum i el seu efecte en travessar el vidre i hi veu una foto matemàtica. En fa moltes, variant la posició del recipient de vidre en relació als raigs incidents.



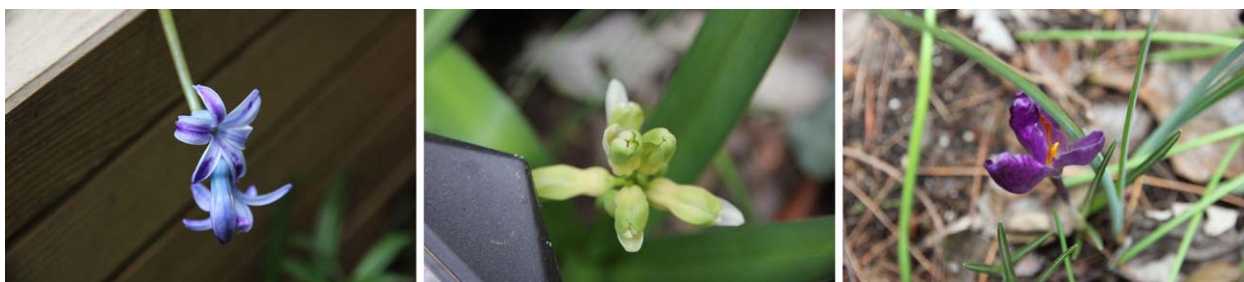
03/03/2017 Avui fem un intensiu a l'escola, cadascú amb el seu tema. La Sara acaba de fer el muntatge de les instal·lacions per les planàries, posant filtres i tubs flexibles nous als aquaris dedicats i estudiant les claus de pas i la inclinació del tub perquè brolli aigua. També agafa aigua del bassal per posar a l'aquaterrari.



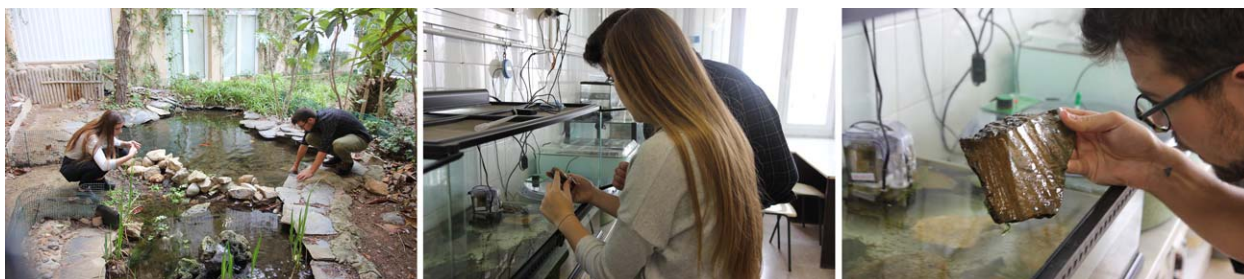
Per una de les primeres proves de les incubadores es necessitava disposar del substrat (vermiculita) ben sec. Per això es van posar 6 caixes de Ferrero Rocher, amb una determinada quantitat de vermiculita a l'estufa de cultiu per tal de dessecar-la (a 80 °C fins pes constant). El que no ens esperàvem és que el plàstic de les caixes es deformés a aquesta temperatura. La vermiculita dessecada la vam poder utilitzar, però amb caixes de Ferrero Rocher noves.



L'Ariadna va practicar amb els objectius macro amb alguns detalls del Pati de les tortugues, sobretot amb algunes flors (dels bulbs que havíem plantat a l'hivern) que es començaven a obrir.



Aquesta mateixa tarda va venir l'Eudald per ensenyar a la Sara com buscar les planàries (al bassal i a l'aquaterrari) i per comprovar el muntatge de l'aquari del laboratori per les planàries.



Fa uns dies ens havia arribat la segona incubadora nova (model Reptibator de la marca Zoomed), que és molt semblant a la Jaeger, però molt més alta. Introduïm dues caixes d'incubació amb vermiculita amb dues proporcions diferents d'aigua (1:4 i 1:5; aigua:vermiculita) en cada un dels tres models d'incubadores i a una mateixa temperatura (més informació en el TR de l'Arnau). Revisem les piles dels dataloggers i substituïm les que estan gastades.



L'Ariadna segueix practicant amb el macro i està veient que enfocar bé costa molt més amb la rèflex de format complet. Avui ha descobert la flor d'hivern, una planta que floreix a l'hivern i que ha pogut comprovar (consultant els documents fotocronològics d'anys anteriors) que fa molts anys que es fotografia a l'Escola.



17/03/2017 Avui, a l'acabar les classes de la tarda, uns alumnes de biologia de 2n de Batxillerat han vist la serp d'aigua al bassal del Pati de les tortugues i han baixat per tal d'intentar atrapar-

la (perquè s'ha fet una mica gran i perillen els amfibis petits). No ho han aconseguit, però han trobat la salamandra (a sota de les caixes on hibernen les tortugues juvenils). Feia molt temps que no s'havia vist i té molt bon aspecte, senyal que amb el que troba pel pati s'alimenta bé. El Guillem Bosch la deixa a prop del brollador de la petita cascada del bassal.



L'Ariadna, a part del reportatge de fotos de les activitats, continua practicant amb la modalitat que més li agrada de fotografia, la macrofotografia. I ha trobat un detall en una fulla d'ametller que li ha cridat l'atenció. Segons el Marí es tracta d'un fong paràsit que deforma les fulles (d'aquí el nom específic del nom científic: *Taphrina deformans*) i que es molt freqüent en els arbres del gènere *Prunus*. L'Arnau i la Sara han anat a prop de l'hortet del pati de secundària per agafar plantes amb arrel per trasplantar al terrari exterior, perquè hi hem posat una tortuga juvenil que ja estava desperta i no hibernava; la resta estan hibernant, però creiem que aviat despertaran perquè les temperatures mitjanes ja s'acosten als 15°C, moment en què hem llegit que solen despertar de la hibernació.



24/03/2017 Pesem les tortugues que encara estan hibernant. Observem que estan totes dormides (les temperatures aquests dies han baixat de cop) i, amb l'ajuda del Pol, netegem els filtres de les bombes hidràuliques. Ara l'aigua brolla amb més força.



28/03/2017 Trobem que les tortugues juvenils ja estan totes despertes, les posem amb aigua perquè beguin i s'hidratin bé i les traslladem al terrari exterior, que ja teníem preparat de la setmana passada. Les pesem després de beure (hem oblidat fer-ho abans de posar-les amb

aigua, per tant les dades de pes finals de la hibernació s'hauran de considerar les últimes agafades abans d'aquesta data).

30/03/2017 Acaba la prova de dessecació del substrat de les caixes d'incubació de les incubadores i observem que la humitat relativa de l'interior de les incubadores és molt baixa. Afegim una mica d'aigua (uns 50 cm³) al fons de les incubadores Jaeger i Reptibator i tornem a col·locar les caixes amb el substrat i els enregistradors (més informació en el TR de l'Arnau).

31/03/2017 Ens adonem que l'enregistrador H7 de la incubadora reptibator es va quedar fora, ens el vam deixar ahir quan els vam treure per posar aigua a sota l'espuma. Ho anotem a les observacions del full de pesades (per tenir-ho en compte a l'hora d'interpretar les dades) i el tornem a introduir a dins de la caixa d'incubació de l'interior de la incubadora.

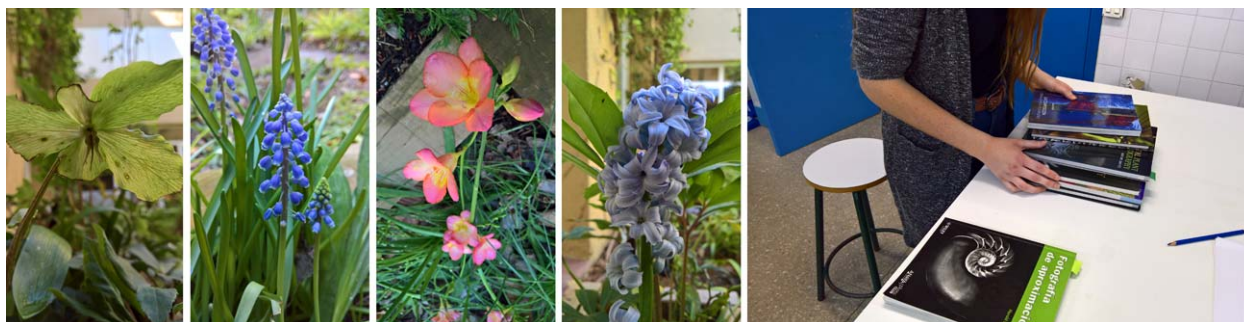
12/04/2017 Avui dediquem tot el matí als nostres treballs i a deixar preparat tot el necessari per les vacances de setmana santa. L'Arnau afegeix una mesura d'aigua (un pot preparat per fer la proporció 1:4, aigua:vermiculita, d'uns 220 cm³) al substrat de cada incubadora (ara ja molt sec) per veure com influeix en el registre d'humitat relativa, sense afegir aigua al fons de les incubadores, com s'havia fet anteriorment. La Sara alimenta (amb fetge) les planàries; els hi deixa tot el matí.



Els arbres caducifolis del pati ja tenen les fulles desenvolupades (excepte l'àlber, que les té incipients). Trasplantem algunes plantes de l'hortet (plantatge i dent de lleó) al terrari exterior i també els donem un suplement (també a les grans) perquè tinguin suficient menjar durant les vacances.



Encara queda alguna flor d'hivern (*Helleborus*), però el que més es veu són les flors de les bulboses que havíem plantat a l'hivern. L'Ariadna s'encarrega de fotografiar-les i el Marí li deixa un bon grapat de llibres de macrofotografia perquè se'ls emporti a casa.



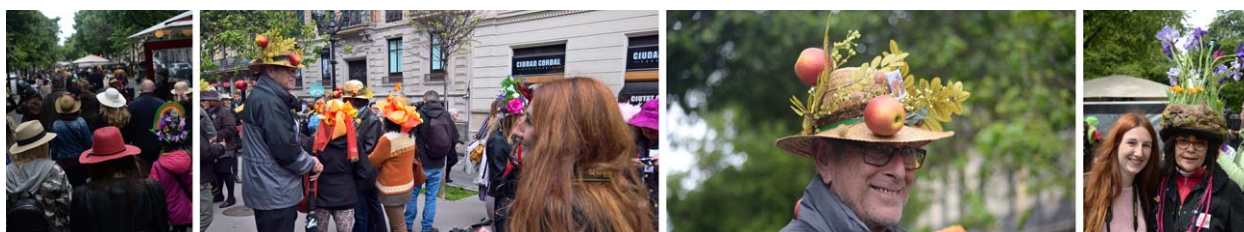
25/04/2017 Avui, després del període de vacances, amb l'ajuda dels demés companys de Biologia, dediquem una estona a facilitar la hidratació de les tortugues juvenils.



26/04/2017 Es descarreguen les dades dels dataloggers Escort i EasyLog de les proves realitzades amb els tres tipus d'incubadores i s'inicia la última prova amb dues incubadores del model escollit (Reptibator). S'han posat les sondes dels dos dataloggers Escort (T4 i T3) de doble sonda tèrmica, de manera que la sonda esquerra de cada enregistrator es situaria a dins de les caixes d'incubació de la incubadora de l'esquerra (incubadora 1, amb tractament a 32,2°C) i la sonda dreta de cada enregistrator, a les de la incubadora de la dreta (incubadora 2, amb tractament de 31,5°C). A més a més, a l'interior de cada incubadora hi ha dos termohigròmetres, un de la marca Escort (situat a sobre de l'esponja del fons de la incubadora i un de la marca EasyLog situat a l'interior d'una caixa d'incubació, a nivell d'on es situaran els ous). S'han omplert amb aigua les ranures de la base de cada incubadora (uns 300 cm³) i s'ha humitejat l'esponja i s'ha espremut. Després s'han posat dues caixes d'incubació (Ferrero-Rocher) amb vermiculita (proporció 1:4), deixant-les destapades. Hem comprovat que perquè a nivell dels ous hi hagi la temperatura desitjada (32,2°C i 31,5°C) els selectors de les incubadores s'han d'ajustar a 36°C i a 34,5°C, respectivament (més informació en el TR de l'Arnau).



30/04/2017 Avui a la Rambla de Barcelona hi ha una desfilada de barrets i el Marí va dir a l'Ariadna que era una bona ocasió per fer pràctica de fotografiar a la gent sense que sigui un problema (ja que no es pot anar pel carrer fent fotos a la gent...). Hi havia barrets de tot tipus i alguns de molt originals.



04/05/2017 Avui hem de fer una explicació de les tortugues de l'escola als nens de 4t de Primària, com ja és habitual que siguin els alumnes que fan el treball de recerca relacionat amb el Pati de les tortugues els encarregats de fer-ho. El Marí no hi és (és de colònies a les Planes de Son) però ens ha deixat algunes instruccions. Ho fem a l'hora que teníem classe amb ell, de manera que també ens hi poden ajudar els companys de biologia. En primer lloc els hi ensenyem, des

de dins del pati, les tortugues grans, on hibernen les grans i les petites del pati i altres detalls mentre ells ho miren des de dalt i ens fan bastantes preguntes.



Després anem al laboratori i els hi ensenyem les tortugues petites nascudes l'estiu passat i que fa poc temps han despertat de la hibernació. Els nens han mostrat molt d'interès i nosaltres ens ho hem passat molt bé. A més, les mestres ens han dit que ho havíem explicat tot molt bé.



12/05/2017 La Sara comença a fer persecucions fotogràfiques de petits organismes, sobretot d'aranyes. També ha fet un llarg reportatge de com menjaven pastanaga les tortugues grans.



18/05/2017 El Marí li demana a la Sara que faci un reportatge de les flors dels clavells d'aire perquè és la primera vegada que fan flor al pati. També li diu que busqui informació d'aquestes plantes epífites.



20/05/2017 Aviat les tortugues faran les primeres postes, de manera que preparem les incubadores amb el substrat definitiu, descarreguem les lectures dels dataloggers i fem una revisió de la càrrega de les piles (més informació en el TR de l'Arnau).



06/06/2017 Observem a la tortuga mitjana fent niu. És la segona posta de la temporada i la segona de la tortuga mitjana (de la tortuga gran encara no n'hem trobat cap). L'Ariadna ha de fer una activitat amb llums amb els nens de P4, la classe dels astronautes. La idea és que cada nen es pugui encerclar el cap amb un llum i si pot ser dibuixar una estrella davant el seu cap. Per això va demanar als companys de classe si es podien quedar una estona a última hora per fer unes proves de temps d'exposició. De fet, ja hi teníem certa experiència perquè gairebé tots els que érem aquí ho havíem practicat a les colònies de 3r d'ESO a les Planes de Son, com activitat de fotografia nocturna. Aviat ens vam adonar que dibuixar estrelles resultaria massa complicat pels nens i vam fer proves amb cercles de llum al voltant de la cara.



09/06/2017 Avui és l'examen de VISUM de 3r d'ESO, que l'ajudem a posar, vigilar i corregir els alumnes de biologia de 1r de Batxillerat.



14/06/2017 Avui ens ha arribat el material viu per atacar el pugó mitjançant lluita biològica, "sebrant" larves de marieta de dos punts (*Adalia bipunctata*). Fem una inspecció per totes les zones amb vegetació de l'escola per detectar els llocs on hi ha més pugó. L'Ariadna ha agafat una càmera amb macro per captar els detalls, tant del pugó com d'altres petits organismes, entre els quals una petita aranya saltadora molt curiosa.



Observem que hi ha diverses espècies de plantes amb pugó, però les més atacades són els brots tendres de la robínia i de la ginesta. Posem caixetes amb larves de marieta a diversos indrets de l'escola. En total hem alliberat unes 200 larves de marieta.



Al tornar al laboratori observem que la tortuga gran està fent niu; és la tercera posta de la temporada, però la primera d'aquesta tortuga, almenys la primera que hem trobat. Alguns alumnes de Biologia participen en la recollida i tramitació dels ous fins a la incubadora.



15/06/2017 Activitat de llums amb els nens de P4. En primer lloc els portem al passadís de la biblioteca on hi ha alguns pòsters d'aquests tipus de fotografies fets a les Planes de Son perquè vegin que s'ha d'estar a les fosques. Després anem a l'aula D (que es pot enfosquir) i els anem cridant en petits grupets, amb l'ajuda de les mestres. L'Ariadna és l'encarregada de fer les fotos i la Sara prepara els nens i els hi dóna els llums.



En poc més d'una hora tots els nens han fet un dibuix lumínic i, fins hi tot, han aconseguit dibuixar amb llum les lletres de la paraula "Astronautes" per la portada del projecte de classe.



26/06/2017 És el primer dia de la Sara al departament de Genètica a la facultat de Biologia de la Universitat de Barcelona. L'Eudald té dos projectes per portar a terme: Amputació de diferents parts del cos (cap, tronc i cua) de diferents planàries i veure la seva regeneració i, fer una hibridació *In situ* amb diferents marcadors per diferenciar i marcar unes cèl·lules específiques.



29/06/2017 L'Ariadna dedica una bona estona a fer fotografia macro al Pati de les tortugues i la Sara comença avui un experiment amb planàries de 4 espècies diferents i compta els individus de cada espècie que posa a l'aquari de planàries, a l'aquaterrari i a la càmera Exoterra (més informació en el TR de la Sara).



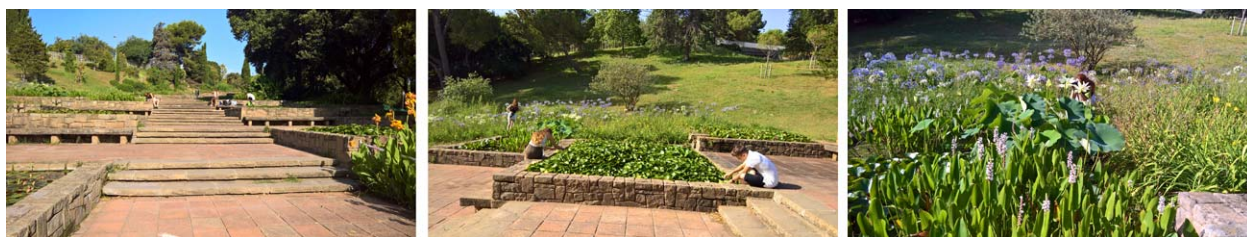
30/06/2017 El Marí demana a l'Ariadna que reproduïxi uns projectes de macrofotografia que surten a una revista de fotografia.



07/07/2017 Sortida als jardins de Mossèn Cinto Verdaguer de Montjuïc perquè el curs passat es va descobrir que hi havia moltes planàries en les fulles dels nenúfars dels nombrosos estancs. En la sortida del curs passat es va observar que hi havia més planàries a última hora de la tarda

que al mig dia, i més en les zones on donava l'ombra que a ple sol. A més a més, es va observar que hi havia alguns exemplars al llarg del pecíol de les fulles i es va fer la hipòtesis d'una migració vertical de les planàries, que de dia baixaven cap al fons i que al vespre i a la nit tornaven a pujar pels esmentats pecíols. Per això nosaltres arribem bastant d'hora, a les 9 del matí (en teoria la zona d'accés s'obre a les 10 del matí). Ho hem trobat obert i ens adonem que el sol ja està bastant alt a aquesta hora aquesta època de l'any. Malgrat tot és bastant d'hora i tenim l'esperança de trobar molts exemplars de planàries. Venim equipats amb instruments de mesura, observació i recol·lecció de planàries (conductímetre, tubs falcon, pinzells, termo...) i una càmera rèflex amb objectiu macro. La Sara i l'Arnau ens dediquem a les planàries i l'Ariadna a la fotografia.

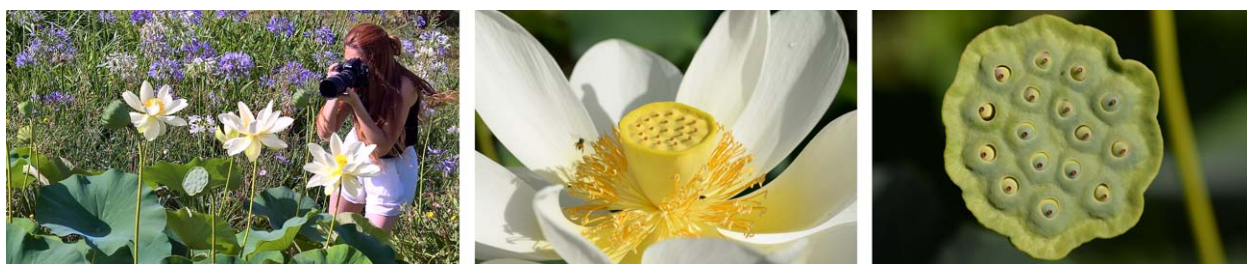
En primer lloc fem unes primeres observacions i observem que als estancs de la part esquerra (en sentit oest, escales amunt) n'hi ha moltes menys que als de la part dreta.



També hem comprovat que n'hi ha més quantitat on l'aigua té una mica de moviment. Una altra observació que hem pogut fer es que hi ha algunes planàries al pecíol de les fulles (potser és certa la hipòtesi del Quim), però això només ho hem vist en les basses que tenien sol i ombra (per arbres propers), els de la part dreta pujant les escales (sentit O-NO, més o menys). El Marí li ha demanat a la Sara que anoti molt bé (li ajuda l'Arnau) quines basses es prenen les mesures amb el conductímetre i també que es fixi on es troben més planàries (més informació en el TR de la Sara).



L'Ariadna està descobrint un indret fantàstic per fer fotografia macro i ho està aprofitant. També fem algunes fotografies amb un smartphone, però la majoria es fan amb la Nikon D610 i objectiu macro sigma de 105 mm (va bé que sigui macro llarg perquè permet disparar a més distància sense que s'espantin tant els animals). La flor de lotó (nenúfar gegant) de color blanc és impressionant i el fruit (encara verd) molt curiós.



El Marí li ha demanat a l'Ariadna que aprofiti aquest indret també per practicar la composició fotogràfica, jugant amb el desenfocament.



Hi ha diversos tipus de libèl·lules però es mouen molt. També hem vist que hi ha una gran proliferació de dàfnies (zooplàncton), que hem intentat fotografiar.



La Sara i l'Arnau han pres mesures de temperatura, pH i conductivitat dels indrets on hem agafat mostres, en 7 basses concretament; en dues d'elles s'han pres les mesures en dos indrets: a prop de la zona on queia un rajolí d'aigua (procedent de la bassa d'un nivell superior) i a l'extrem més allunyat d'aquest punt, on no hi ha moviment d'aigua. Després posem els falcons amb les planàries i també els falcons amb dàfnies als termos i anem cap a l'Escola.



Un cop arribem a l'escola separem les planàries en diferents plaques de petri, una per cada falcon que conté planàries. Ens adonem que hi ha dos individus de color vermellós (un més que l'altre) i l'Ariadna els fa diferents fotografies per, més tard, fixar-nos en els petits detalls. Trobem que hi ha molts exemplars de *Smidchtea polychroa* i també bastants de *Girardia tigrina*. (més informació en el TR de la Sara). La Sara fa el recompte de les planàries posades a l'aquari i a la càmera Exoterra la setmana passada.



11/07/2017 l'Eudald instrueix a la Sara i l'ajuda a familiaritzar-se amb el material del laboratori i les instal·lacions.



A part, continuen avançant en els 2 projectes: fan fotografies de les planàries tallades horitzontalment amb determinats dies de regeneració i, comencen a preparar els animals per la hibridació amb les diferents cadenes complementàries (sondes) amb la solució Prehybe a 56°C durant 2 hores per evitar unions inespecífiques.



19/07/17 Visita anual al CRARC. Abans de marxar fem una fotografia de les tortugues que lliurarem en visió dorsoventral i també ventrodorsal, per mostrar que totes presenten la coloració fosca típica de l'espècie.



Hem arribat al CRARC i el Marí ens ha presentat al Joaquim Soler (Director tècnic del CRARC), que ens ha dit on havíem de deixar les capses amb les nostres tortugues fins que ens avisessin per la pràctica del curs. Com no havíem estat mai al CRARC cap de nosaltres tres, ens ha dit que féssim una visita per les instal·lacions, però abans hem anat a esmorzar, a l'entrada, perquè la zona de pícnic era ocupada per una escola.

Hem vist les tortugues de Florida (molts exemplars junts) i les grans instal·lacions dedicades a les tortugues mediterrànies (les protagonistes del CRARC, sens dubte).



Hem estat una bona estona observant i fotografiant libèl·lules i també les tortugues de rierol. Les petites tenen un nedar molt curiós, fent un xip-xap força sorollós que hem trobat molt divertit.



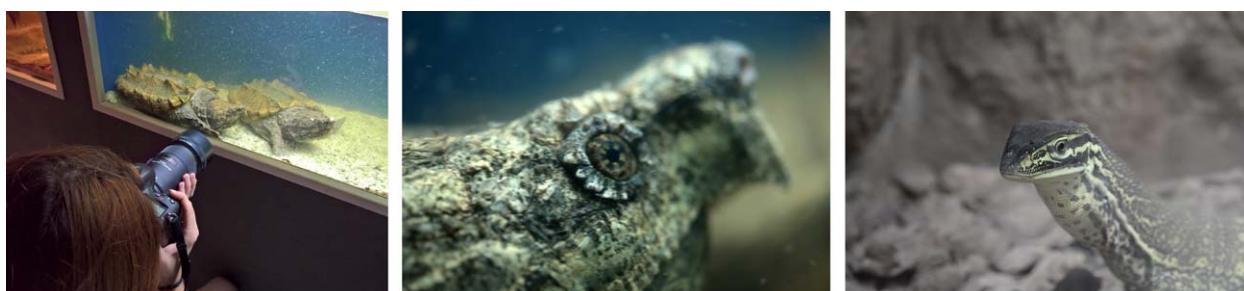
Ens criden i passem al laboratori amb les nostres tortugues. L'Albert ens ensenya per pantalla uns protozous paràsits (no de les nostres tortugues) i fa una explicació d'altres elements que es poden observar en una mostra d'excrements. Després parlem una estona dels nostres treballs i el Marí li entrega dos treballs del curs passat i els comenta una mica, quedant per parlar-ne més tard perquè el Marí li diu a l'Albert que creu que hi ha material per començar a preparar dues publicacions més, una sobre hibernació de tortugues juvenils (treball de Ferran Jiménez) i una altra sobre malformacions (treball de Pau Vilaseca). L'Albert aprofita per explicar que les malformacions són molt freqüents en els rèptils i ens ensenya una tortuga mediterrània de dos caps nascuda al CRARC.



A continuació passem a una altra sala per fer una ecografia de les tortugues. Ens diu que a la mitjana no se li veu res, però que la gran sembla que té fol·licles involucionant, és a dir, que els està reabsorbint. Li comentem que només hem trobat una posta d'aquesta tortuga i que normalment en fa dues o tres i també li hem dit que aquest estiu a l'escola hem tingut (i tenim) obres a la cuina, que està al costat del Pati de les tortugues i que els operaris han treballat bastants dies amb el martell pneumàtic. És molt possible que s'hagin estressat i com a conseqüència hagin fet menys postes. Finalment, l'Albert injecta la dosi necessària d'antiparasitari a les nostres tortugues.



Com ens havíem quedat a mitges de la visita, després del laboratori l'hem continuat per l'exterior i també per l'interior del recinte.



Hem vist alguna cosa curiosa, com una serp albina que passava per sobre d'una tortuga o una petita tapa que fa ombra a una instal·lació de tortugues mediterrànies i hi estaven totes a sota.



Per últim anem a un indret que representa un tros de selva tropical amb molta vegetació i humitat elevada en la que, en teoria, hi ha dos camaleons, però hi hem estat una bona estona buscant i no n'hem trobat cap. Després hem anat a buscar les nostres coses i les tortugues grans i hem vist que l'Albert estava fent una necròpsia d'una tortuga als integrants del curs de rèptils. Abans de marxar hem recollit el justificant d'haver lliurat les tortugues.



25/07/2017 Neixen A1 i A2. Ja feia un parell de dies que estaven els ous una mica esquerdats, però segurament no han volgut sortir fins que han reabsorbit tot el vitel. La A1 presenta absència de placa nugal.



26/07/2017 Fem una sortida al massís del Montseny amb l'objectiu de realitzar fotografia biològica d'aproximació i macrofotografia en un indret natural i també per observar i fotografiar planàries en el seu hàbitat. El Montseny no està gaire lluny i té ambients molt diversos, per això és un dels llocs escollits pel nostre tutor. Fem la primera parada a Sant Marçal i el Marí ens ofereix una càmera a cadascú perquè anem fotografiant allò que ens cridi més l'atenció, però l'Arnau diu que prefereix tenir les dues mans lliures.



La Sara utilitza una rèflex amb objectiu zoom curt i l'Ariadna una rèflex de format complet amb un objectiu macro de 105mm i també fa servir, de tant en tant, una compacta i un smartphone. Per comparar la profunditat de camp de les diferents càmeres fotografia una mateixa superfície plena de líquens amb càmera rèflex i objectiu macro i amb un smartphone (més informació en el TR de l'Ariadna).



Però el que realment li interessa més és fotografiar amb l'objectiu macro, que és relativament llarg de focal i pot situar-se a certa distància dels insectes abans d'espantar-los. A més a més, com és un indret tan assolellat es pot disparar a velocitat d'obturació altes.



Deixem el descampat de San Marçal i ens endinsem en la fageda de Santa Fe, aquí tot és molt més fosc. Arribem al rierol i la Sara i l'Arnau troben les primeres planàries i prenen mesures de diversos paràmetres de l'aigua del rierol (Més informació en el TR de la Sara), mentre que l'Ariadna i el Marí fan proves d'il·luminació amb una llanterna LED molt potent, intentant fotografiar ous de tritó i "casetes" de tricòpter, entre altres motius.



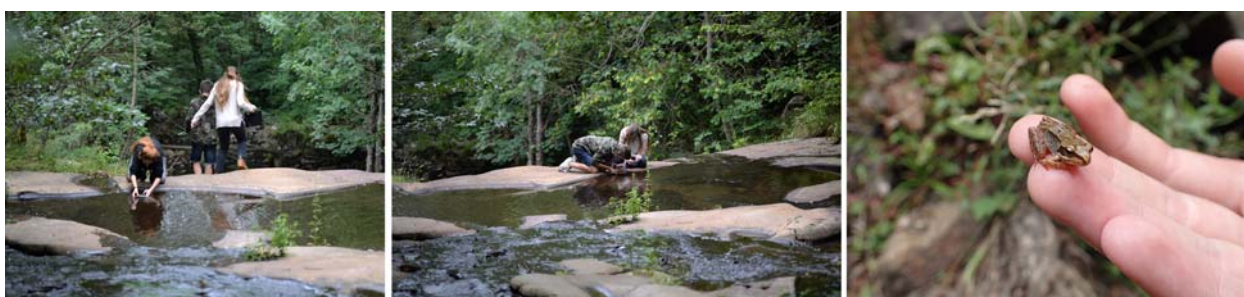
El Marí demana a la Sara que intenti identificar la única espècie de planària que hem trobat en aquest rierol d'aigua freda, fent servir guies de camp i un article de planàries de la Península Ibèrica, que hem agafat del laboratori de l'escola aquest matí abans de sortir. La Sara la identifica com *Polycelis felina*. En un dibuix es veu com aquesta espècie té múltiples ulls molt petits en la meitat anterior del seu cos, aleshores el Marí li posa un repte fotogràfic a l'Ariadna. Consisteix en aconseguir fer una fotografia tan ben enfocada d'aquest animal, que a l'ampliar la imatge es puguin distingir els ulls, i si pot ser en més d'un exemplar. Tot això a pols, és a dir, sense utilitzar trípode (més informació en el TR de l'Ariadna).



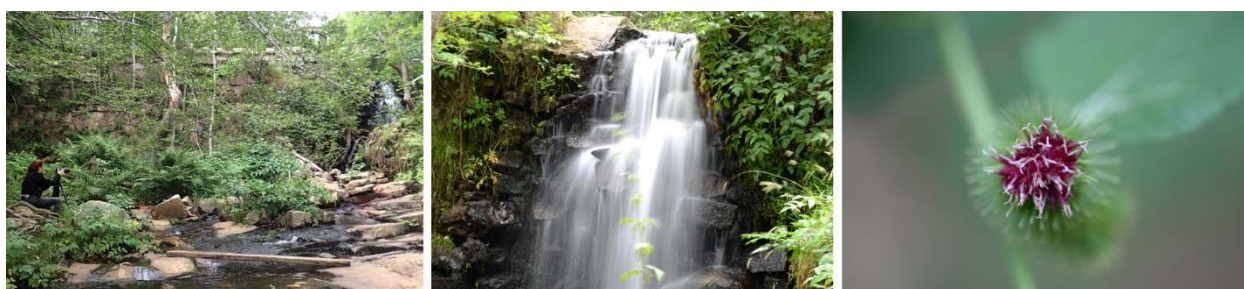
Avui també hem provat una càmera submarina (una Olympus TG-4) i l'hem utilitzat en dos indrets, en el rierol abans esmentat, on hem pogut fotografiar ous de tritó i larves de tritó del Montseny o de salamandra.



I també a la sortida del pantà de Santa Fe, on l'aigua no és tan freda i té altres característiques. Aquí hi hem trobat molts cap grossos de granota roja. Aquesta càmera es pot controlar a través del mòbil amb l'aplicació *Olympus Camera Remote*, però perquè funcioni es necessita tenir bona cobertura WiFi i en aquest indret no en teníem. L'Arnau i la Sara també han trobat planàries, però d'una espècie diferent a la d'abans (més informació en el TR de la Sara), i una granota roja molt petita.



L'Ariadna, que ha portat el trípod, dedica una bona estona a fer fotos de la petita cascada variant la velocitat d'obturació i després, pel camí de tornada cap al cotxe continuem fent algunes fotos amb poca profunditat de camp (fruits amb ganxos, agalles en fulles de faig...).



Arribem al cotxe i al voltant del pàrquing hi ha plantatge de fulla ampla. Aquesta planta és una de les preferides de les tortugues i n'agafarem de petites per trasplantar al Pati de les tortugues de l'escola. El Marí diu que ja les agafarà ell i que mentrestant nosaltres anem a veure els joves exemplars de sequoies que hi ha al costat i que comprovem que tenen una escorça esponjosa.

Són uns arbres enormes i molt rectes. Realment l'escorça és molt esponjosa, li pots donar un cop i no et fas mal.



Quan pujàvem aquest matí ens ha sobtat molt que hi havia uns arbres que tenien mitja soca com pintada, de color vermellós, molt llampant. El Marí ens ha explicat que es tractava d'alzina surera i que això que es veia era el tronc sense la capa de suro. Cap dels tres ho havíem vist mai i ho hem trobat molt curiós. Aleshores hem quedat que en baixar ens aturàriem per veure-ho de prop i fer-hi unes fotos. Precisament, l'Ariadna ha fet fotos amb els tres tipus de càmeres, com en el cas dels líquens, però aquí, al tractar-se d'una superfície més corbada, el tema de la profunditat de camp és més crític (més informació en el TR de l'Ariadna).



Arribem a l'escola a tres quarts de 8 del vespre, la Sara revisa que estiguin bé les planàries que hem portat (a dins dels termos), pren mesures de la seva llargada sobre paper mil·limetrat i després les distribueix en els diferents indrets (càmera ExoTerra, aquari de les planàries, aquaterrari) (Més informació en el TR de la Sara). Després baixem les bosses amb el plantatge al Pati de les tortugues, però no les trasplantem perquè ja és molt tard (hi posem una mica d'aigua a l'interior de les bosses perquè les plantes no s'assequin). Marxem a les 9 del vespre.



27/07/2017 Al matí plantem el plantatge de fulla ample procedent del Montseny al voltant de la zona de vegetació semiprotegida. Per la tarda el Marí va a comprar planter a Planter i verdures Barrau de Cabrera de Mar per posar a la zona de vegetació semiprotegida. Ens informa que un altre ou s'està esquerdant (l'ou nº1).



28/07/2017 Neix la tortuga A3 (presenta una duplicació de placa vertebral). Plantem al Pati de les tortugues la major part dels exemplars de planter procedent de Cabrera de Mar.



Ens reservem una part per anar posant al terrari del laboratori. L'Ariadna fa moltes fotografies d'un briòfit molt curiós (*Marchantia polymorpha*) pel seu tipus de reproducció (més informació en el TR de l'Ariadna); després també el posem en uns indrets molt humits del costat del brollador i de la cascada per veure si agafa bé. També fa moltes fotos de la dent d'ou de les tortugues petites, però es belluguen molt.



30/07/2017 Es preparen les incubadores (es deixen una mica obertes) perquè el dia 1 d'agost està previst que hi hagi un tall de llum durant tot el matí. També es deixa un full explicatiu amb les anotacions que cal fer dels propers naixements, així com el codi de marcatge, ja que és molt important saber de quina de les dues incubadores és cada tortuga que neix (més informació en el TR de l'Arnau).



01/08/2017 Avui és el dia que es fa el tall de llum durant tot el matí. A primera hora el Marí ha dit que passaria pels jardins de Mossèn Cinto Verdaguer per fer una comprovació de si hi ha més planàries que una mica més tard (quan hi anàrem nosaltres, vegeu AF del dia 07/07/2017). Ha trobat planàries als mateixos indrets, però amb més quantitat i també ha pogut comprovar que n'hi havia alguna tija avall. Ha trobat moltes dàfnies i n'ha portat en un flascó petit i en dos falcons.



Avui l'Ariadna porta a terme un projecte tècnic amb un munt de càmeres, objectius macro i 2 smartphones sobre paper mil·limetrat de color verd (més informació en el TR de l'Ariadna).



I un altre projecte de biologia relacionat amb la partenogènesi amb les dàfnies a l'interior dels recipients originals i un smartphone, en aquest cas el Lumia 950. Un cop fetes les fotos vam posar una petita part de les dàfnies a l'aquaterrari del laboratori i la resta al bassal del Pati de les tortugues.



La Sara fa recompte de les planàries dels diferents tractaments i després administrem la segona dosi d'antiparasitari a les tortugues grans, seguint les instruccions del CRARC i amb l'ajuda del nostre tutor. També repassem el calendari del mes d'agost per veure qui de nosaltres pujarem pel control de naixements els dies que ens obrin l'escola el Carlos (15 d'agost), el Pol (19 d'agost) i el Raül (22 d'agost).



07/08/2017 Amb el termòmetre làser per infrarojos, mesurem la temperatura del laboratori i, de passada, comprovem que la temperatura a la que estan els ous coincideix amb la desitjada i enregistrada de forma continuada pels enregistradors electrònics.



14/08/2017 Avui puja l'Arnau amb el Carlos. Acaba de néixer la tortuga A5 de l'ou nº 13. Presenta una duplicació de les plaques vertebrals. També es veu que comencen a esquarterar-se els ous nº 6 i nº 8. La humitat relativa de les dues incubadores és correcta, està al voltant del 80%.



19/08/2017 Avui la Sara havia de pujar a l'Escola perquè era un dia que pujava el Pol a regar, però no ha pogut. De manera que el Pol s'ha comunicat directament amb el Marí per informar dels naixements. El Pol ha trobat que havien nascut les tortugues corresponents als ous nº 6 i nº 8, les ha pesat i les ha marcat a la placa marginal esquerra nº 6 i nº 7, respectivament, seguint les instruccions del Marí per telèfon, i ho ha anotat tot al full de dades que hi havia a la taula, al costat de la balança. També estava una mica esquerdat l'ou nº 10. Abans de marxar el Pol ha tornat al laboratori i ha vist que l'ou número 10 estava bastant esquerdat, però que la tortuga encara no havia acabat de sortir, continuava a dins de l'ou.



23/08/2017 Avui la Sara i l'Ariadna pugem a l'Escola perquè ens obre el Raül. Trobem que la tortuga de l'ou nº 10 ha nascut (està a dins de la incubadora), però està morta. Sembla que no tingui ulls, però quan li comuniquem al Marí (i li enviem imatges) ens diu que la tortuga té els ulls enfonsats perquè està deshidratada i que possiblement sigui per això que ha mort, perquè el Pol se la va trobar que estava a mig sortir de l'ou el dia 19 d'agost (vegeu més amunt). Aquesta tortuga no presenta cap anomalia visible.



07/09/2017 La Sara fa la tercera sessió al laboratori de genètica de la Facultat de Biologia. Amb animals ja preparats i fixats per l'Eudald, tornen a fer una hibridació *In situ* a causa de la disfunció d'una de les sondes experimentades al més de juny, a la primera sessió al laboratori. Aquest cop, tampoc s'han marcat totes les sondes, ja que hi ha una que no es veu gaire on estan les cèl·lules marcades, i una altra que no ha funcionat.



21/09/2017 Avui fem la dissecció dels 3 ous que no han eclosionat. Són els ous números 5, 7 i 9. Corresponen a la segona posta trobada (primera i única de la tortuga gran) i estaven incubats a 32,2°C. Dels ous 5 i 9 no s'ha vist que estiguessin embrionats, mentre que de l'ou número 7 s'ha trobat un embrió amb estat bastant avançat i amb una duplicació (petita) vertebral (més informació en el TR de l'Arnau).



06/10/2017 Amb la calor que fa aquest mes d'octubre torna a haver-hi mosquits per l'escola i una activitat que hem fet avui és la de buidar el recipient dels dos antimosquits M3 que tenim a l'escola. Un al Pati de les tortugues, que vam buidar a primers de setembre (i els donem als peixos del bassal) i l'altre que hem tingut de prova al laboratori de biologia durant tot l'estiu. En el del laboratori, com era d'esperar, n'hem trobat molt pocs.



Després hem baixat els del recipient del pati al bassal i hem fet una revisió de tots els indrets de l'escola susceptibles de trobar-hi algun focus de mosquits (Pati de les tortugues, hortet, pati de parvular, de primària i ESO i pati de batxillerat). Però tot estava correcta (carretilla i regadores de l'hortet cap avall...). Únicament hem trobat un possible focus, els pneumàtics que hi ha en un racó del pati de batxillerat, però actualment tampoc hi hem trobat larves.



03/11/2017 Avui ens quedem a l'escola fins tard per acabar els últims detalls del treball, ja que el proper dimarts és l'entrega definitiva. La Sara acaba de fer les mesures de les planàries amb el Photoshop i en sortir al Pati veu una lluna plena molt bonica, que li recorda les fotos nocturnes que vam fer a les Planes de Son a 3r d'ESO i li demana al Marí que li deixi una càmera amb teleobjectiu per fotografiar-la. L'Arnau i la Sara, ens la trobem allà plantada amb el trípode i la càmera i també ens hi acostem.



Demà dimarts és l'entrega definitiva de les tres còpies dels nostres treballs de recerca i com a últim mini-reportatge fotogràfic d'aquest annex fotocronològic, i com ja és habitual, hi posem les portades dels nostres treballs.



Agraïments i mencions especials

Voldria donar les gràcies al Dr. Josep Marí Torres per ajudar-me i proposar-me el tema, per estar al meu costat permanentment durant aquest treball, per dedicar el seu temps als meus companys i a mi, per corregir fins les tantes de la nit, i subministrar qualsevol eina necessària per poder portar a terme aquest treball.

A l'Eudald Pascual, biòleg i doctorant en el Departament de Genètica de la Facultat de Biologia de la Universitat de Barcelona, per haver compartit tutoria d'aquest treball amb el Josep Marí i haver-me explicat i fer-me entendre tots els procediments necessaris, per haver estat tant de temps corregint i afegint coses i per donar-me l'oportunitat de continuar amb aquesta línia de recerca.

Al Dr. Emili Saló, cap del Departament de Genètica de la Facultat de Biologia de la Universitat de Barcelona, per haver-me permès utilitzar les seves instal·lacions i proporcionar-me tot el material i tecnologies.

A l'empresa Almirall S.A. (Laboratori I+D de Sant Feliu de Llobregat) que, amb la seva subvenció, l'Escola ha pogut adquirir una part dels equips de mesura utilitzats en aquest treball.

I, finalment, volia agrair als meus companys Ariadna Górriz i Arnau Ruíz tot l'ajut i ànim que m'han donat durant tot aquest procés i per estar amb mi en tot moment.