

GERMINACIÓ DE LLAVORS DE *Digitaria sanguinalis*: PAPER DE LES COBERTES I REQUERIMENTS TÈRMICS



ESCOLA SUPERIOR D'AGRICULTURA DE BARCELONA (ESAB)
UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA (UPC)



Escola Superior d'Agricultura
de Barcelona

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA

Treball Final de Carrera
Enginyeria Tècnica Agrícola, especialitat en Explotacions Agropecuàries
Castelldefels, juliol 2008

ROGER ROS FREIXEDES

Tutors: M.T. Mas

A.M.C. Verdú

GERMINACIÓ DE LLAVORS DE *Digitaria sanguinalis*:

PAPER DE LES COBERTES

I

REQUERIMENTS TÈRMICS



ESCOLA SUPERIOR D'AGRICULTURA DE BARCELONA (ESAB)

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA (UPC)



**Escola Superior d'Agricultura
de Barcelona**

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA

Treball Final de Carrera
Enginyeria Tècnica Agrícola, especialitat en Explotacions Agropecuàries
Castelldefels, juliol 2008

Autor:

Tutors:

Roger Ros Freixedes

M.T. Mas Serra

A.M.C. Verdú González

GERMINACIÓ DE LLAVORS DE *Digitaria sanguinalis*: **PAPER DE LES COBERTES I REQUERIMENTS TÈRMICS**

Autor: Roger Ros Freixedes

Tutors: Maria Teresa Mas Serra

Antoni Maria Claret Verdú González

Resum

S'han estudiat els principals factors que condicionen la germinació de les llavors de la mala herba *Digitaria sanguinalis* (forcadella): el paper de les cobertes de la llavor en l'estat de latència i els requeriments tèrmics i lumínics per a la germinació.

- 1) Les llavors d'aquesta espècie recentment dispersades són latents. L'extracció de glumes i glumel·les millora la capacitat de germinació. El percentatge de germinació és gairebé del 100% si, a més, es danya el pericarp. L'aplicació d'un extracte etílic de glumes i glumel·les causa un retard en la germinació. Això suggereix la possibilitat que hi hagi substàncies inhibidores de la germinació presents en les glumes i glumel·les de les espiguetes de *D. sanguinalis*. Tractaments d'escarificació amb substàncies químiques com el NaOCl i l'H₂O₂ augmenten la capacitat de germinació i trenquen l'estat de latència de les cariòpsides. Els resultats suggereixen que hi ha un paper tant de les glumes i glumel·les (presència de substàncies inhibidores) com del pericarp (impermeabilitat al pas d'algunes substàncies). Cal contrastar totes dues hipòtesis en posteriors estudis.
- 2) Les llavors de *D. sanguinalis* germinen entre 10 i 42 °C. La llum estimula la germinació d'aquesta espècie. El màxim percentatge de germinació s'assoleix en temperatures alternants de 20/30 °C, tant en condicions de llum com de foscor. En condicions de temperatura constants, el màxim percentatge de germinació s'aconsegueix a 30 °C, però la taxa de germinació és màxima als 28 °C. Les temperatures òptima i base es troben entre 28 i 30 °C i entre 9 i 11,5 °C, respectivament. Les diferències amb els resultats presentats per altres autors poden ser degudes al mètode utilitzat o a diferències genètiques entre diferents poblacions.

Paraules clau: forcadella, latència, espigueta, glumes, glumel·les, lemma, pàlea, pericarp, etanol, hipoclorit sòdic, peròxid d'hidrogen, temperatura, llum.

GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE *Digitaria sanguinalis*: **PAPEL DE LAS CUBIERTAS Y REQUERIMIENTOS TÉRMICOS**

Autor: Roger Ros Freixedes

Tutores: Maria Teresa Mas Serra

Antoni Maria Claret Verdú González

Resumen

Se han estudiado los principales factores que condicionan la germinación de las semillas de la mala hierba *Digitaria sanguinalis* (garrachuelo): el papel de las cubiertas de la semilla en el estado de latencia i los requerimientos térmicos y lumínicos para la germinación.

- 1) Las semillas de esta especie recientemente dispersadas son latentes. La extracción de glumas i glumelas mejora la capacidad de germinación. El porcentaje de germinación es casi del 100% si, además, se daña el pericarpio. La aplicación de un extracto etílico de glumas y glumelas causa un retraso en la germinación. Eso sugiere la posibilidad que haya sustancias inhibidoras de la germinación presentes en las glumas y glumelas de las espiguillas de *D. sanguinalis*. Tratamientos de escarificación con sustancias químicas como el NaOCl i el H₂O₂ aumentan la capacidad de germinación y rompen el estado de latencia de las carióspsides. Los resultados sugieren que hay un papel tanto de las glumas y glumelas (presencia de sustancias inhibidoras) como del pericarpio (impermeabilidad al paso de algunas sustancias). Es necesario contrastar las dos hipótesis en posteriores estudios.
- 2) Las semillas de *D. sanguinalis* germinan entre 10 y 42 °C. La luz estimula la germinación de esta especie. El máximo porcentaje de germinación se consigue en temperaturas alternas de 20/30 °C, tanto en condiciones de luz como de oscuridad. En condiciones de temperatura constantes, el máximo porcentaje de germinación se consigue a 30 °C, pero la tasa de germinación es máxima a los 28 °C. Las temperaturas óptima i base se encuentran entre 28 y 30 °C y entre 9 y 11,5 °C, respectivamente. Las diferencias con los resultados presentados por otros autores pueden ser debidas al método empleado o a diferencias genéticas entre diferentes poblaciones.

Palabras clave: garrachuelo, latencia, espiguilla, glumas, glumelas, lemma, pálea, pericarpio, etanol, hipoclorito sódico, peróxido de hidrógeno, temperatura, luz.

GERMINATION OF *Digitaria sanguinalis* SEEDS: **SEED COATS ROLE AND THERMAL REQUIREMENTS**

Author: Roger Ros Freixedes

Tutors: Maria Teresa Mas Serra

Antoni Maria Claret Verdú González

Abstract

We have studied the main factors conditioning the germination of the seeds of the weed called *Digitaria sanguinalis* (large crabgrass or hairy finger-grass): the seed coats role in the dormancy status and the temperature and light requirements.

- 1) This weed seeds are dormant when recently dispersed. Removal of glumes, lemma and palea improved the germination capability. The germination percentage is nearly about 100% if pericarp is damaged. The application of an ethylic extract of glumes, lemmas and paleas causes a delay on germination. This suggests the possibility that germination inhibitory substances are present on glumes, lemma and palea of the *D. sanguinalis* spikelet. Scarification treatments with chemical substances like NaOCl and H₂O₂ raise the germination capability and break the dormancy status of the caryopsides. The results suggest that there is a role of both the glumes, lemma and palea (presence of inhibitory substances) and the pericarp (impermeability to some substances). It is needed to contrast both hypotheses in later studies.
- 2) *D. sanguinalis* seeds germinate between 10 and 42 °C. Light stimulates this species germination. The maximum germination percentage is reached under alternant temperatures of 20/30 °C, both in light conditions and in darkness. Under constant temperatures conditions, the maximum germination percentage is reached at 30 °C, but maximum germination rate is reached at 28 °C. The optimum and base temperatures range from 28 to 30 °C and from 9 to 11.5 °C, respectively. Differences with the results presented by other authors may be ascribed to the used method or to genetic differences between different populations.

Keywords: large crabgrass, hairy finger-grass, dormancy, spikelet, glumes, lemma, palea, pericarp, ethanol, sodium hypochlorite, hydrogen peroxide, temperature, light.

SUMARI

Agraïments	1
1. Introducció	3
1.1. <i>Digitaria sanguinalis</i> (L.) Scop.	3
1.1.1. Taxonomia	3
1.1.2. Morfologia	3
1.1.3. Distribució i importància de <i>Digitaria sanguinalis</i> com a mala herba	5
1.1.4. El maneig i control de <i>Digitaria sanguinalis</i>	6
1.2. Factors que afecten la germinació de les llavors	7
1.2.1. Latència	7
1.2.1.1. Latència primària	7
1.2.1.2. Latència secundària	8
1.2.1.3. Latència condicional	8
1.2.2. Temperatura	9
1.2.3. Llum	9
1.3. Paper de les cobertes en l'estat de latència	10
1.3.1. Impermeabilitat a l'aigua	10
1.3.2. Impermeabilitat a gasos	10
1.3.3. Restricció mecànica de l'embrió	11
1.3.4. Substàncies inhibidores	11
1.3.5. Trencament de l'estat de latència	11
1.3.5.1. Etanol	12
1.3.5.2. Peròxid d'hidrogen	12
1.3.5.3. Hidròxid sòdic	12
1.4. Requeriments tèrmics per a la germinació	12
1.4.1. Integral tèrmica: un model de predicció	13
1.4.2. Models hidrotermals	14
1.5. Germinació de llavors de <i>Digitaria sanguinalis</i> : antecedents	14
1.5.1. Latència de les llavors de <i>Digitaria sanguinalis</i>	14
1.5.2. Requeriments tèrmics i lumínics en la germinació de <i>D. sanguinalis</i>	15
2. Objectius	17
2.1. Paper de les cobertes en l'estat de latència	17
2.2. Requeriments tèrmics de germinació	17
3. Materials i mètodes	19
3.1. Recol·lecció de llavors	19

3.2. Preparació de les mostres	19
3.3. Comprovació de l'estat de latència	19
3.4. Paper de les cobertes en l'estat de latència	20
3.4.1. Observació al microscopi	20
3.4.2. Efecte d'inhibidors presents a les cobertes: extracció amb etanol	21
3.4.3. Trencament de la latència amb hipoclorit sòdic i peròxid d'hidrogen	21
3.5. Requeriments tèrmics de germinació	22
3.5.1. Ajust de les funcions Weibull de distribució	23
3.5.2. Determinació de la temperatura òptima	23
3.5.3. Determinació de la temperatura base	23
3.5.3.1. Mètode I) Taxa de germinació	23
3.5.3.2. Mètode II) Percentatge de germinació	24
3.5.3.3. Mètode III) Índex de taxa de germinació A (GRI_A)	24
3.5.3.4. Mètode IV) Índex de taxa de germinació B (GRI_B)	24
4. Resultats i discussió	25
4.1. Comprovació de l'estat de latència	25
4.2. Paper de les cobertes en l'estat de latència	25
4.2.1. Observació al microscopi	25
4.2.2. Efecte d'inhibidors presents a les cobertes: extracció amb etanol	25
4.2.3. Trencament de la latència amb hipoclorit sòdic i peròxid d'hidrogen	26
4.3. Requeriments tèrmics de germinació	28
4.3.1. Efecte de la temperatura i de la llum	28
4.3.2. Determinació de la temperatura òptima	36
4.3.3. Determinació de la temperatura base	36
4.4. Resum dels resultats	38
4.4.1. Paper de les cobertes en l'estat de latència	38
4.4.2. Requeriments tèrmics de germinació	39
5. Conclusions	41
Bibliografia	43

AGRAÏMENTS

Seré breu.

En primer lloc voldria agrair a la Maite i en Claret tota l'ajuda, la confiança i les oportunitats que m'han donat durant aquests dos darrers anys i que culminen amb la presentació d'aquest Treball de Final de Carrera.

Aquest TFC s'ha realitzat en el marc del Programa de Formació d'Estudiants en Departaments i Instituts de la UPC (PROFEDI), de l'Institut de Ciències de l'Educació (ICE) de la Universitat Politècnica de Catalunya.

També dono les gràcies a la Montse Gallart, que també m'ha ajudat molt.

Vull fer extensiu el meu agraïment a tota l'Escola Superior d'Agricultura de Barcelona, on m'he format durant aquests tres anys com a enginyer tècnic agrícola. Considero sincerament que el pas per l'ESAB m'ha enriquit molt com a persona i m'ha permès conèixer a un conjunt de persones a qui aprecio i, entre elles, la Nora, amb qui em queden moltes coses per compartir. Gràcies també a ella pel seu suport.

Un darrer agraïment a família i amics, que sempre hi són i que sempre posen el seu gra de sorra quan fa falta.

1. INTRODUCCIÓ

1.1. *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.

La forcadella (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.), també coneguda com a pota de gall, panissalla, xereix o panissola borda, és una mala herba anual d'estiu pertanyent a la família de les gramínies i de distribució cosmopolita. La forcadella pot aparèixer tant en marges de camins i carreteres com en camps de cultiu o camps de gespa.

1.1.1. Taxonomia

<u>Família:</u>	Poaceae (Gramineae)
<u>Subfamília:</u>	Panicoideae
<u>Tribu:</u>	Paniceae
<u>Gènere:</u>	<i>Digitaria</i> Haller
<u>Espècie:</u>	<i>D. sanguinalis</i> (L.) Scop.

Altres nomenclatures sinònimes que s'han utilitzat per a la forcadella són (Behrendt i Hanf, 1979):

Digitaria fimbriata Link.
Digitaria marginata Link.
Digitaria velutina (Forks.) P. Beauv.
Dactylon sanguinale Vill.
Panicum adscendens H.B.K.
Panicum sanguinale L.
Syntherisma sanguinalis Dulac.

L'elevat nombre de noms vulgars que té *D. sanguinalis* en diferents idiomes i a diferents zones geogràfiques ens pot donar una primera idea de la seva importància. En català se l'anomena forcadella, panissalla, pota de gall, xereix, panissola borda, peu de poll, gram vermell... Alguns dels noms que rep en castellà són: *garrachuelo*, *pata de gallina*, *pasto cuaresma*, *pasto colchón*, *pata de gallo*, *fresadilla*, *frente de toro*, *guarda rocío*, *azulita*, *gramilla*... En anglès: *large crabgrass*, *hairy finger-grass*, *hairy crabgrass*, *crab grass*... En francès: *digitaire sanguine*, *manne terrestre*, *panis manne*, *millet sanguine*, *manne rouge*...

1.1.2. Morfologia

Forma vital:
Teròfit cespitós (Bolòs i Vigo, 2001).

Cicle vital:
Anual d'estiu. Germinació a partir de l'abril i floració a partir del juny i fins l'octubre. Pot ser perenne en algunes condicions, en sòls humits, gràcies a la seva capacitat per fer arrels als nusos inferiors i formar mates (Holm *et al.*, 1977).

Constitució:
Petites mates esteses, de tiges geniculades. Pot ramificar-se. Arrels als nusos inferiors. En alguns medis pot arribar a formar mates molt grans, amb un nombre molt elevat de fillols i de llavors produïdes (Holm *et al.*, 1977).

Alçada:
Entre 10 i 30 cm, podent arribar als 70 cm.

Tija:

Ascendent, sovint radicant. Llisa, glabra, però lleugerament pilosa als nusos.

Fulla:

Limbe: Linear-lanceolat. Entre 3 i 10 cm de llarg (fins a 20) i entre 3 i 10 mm d'ample (fins a 14). 10-15 vegades més llarg que ample. Verd, a vegades amb coloracions roig-violàcies. Amb pèls separats, sedosos i brillants, sovint a ambdues cares. Nerví central blanc-vermellós i nervis blanquinosos a les vores. Enrotllat en les fulles més joves (Marquès *et al.*, 1983).

Lígula: 1-2 mm, membranosa truncada, lleument dentada.

Estípules: No en tenen.

Beina: Àmplia, pelosa (sobretot a les fulles inferiors).

Arrels:

Finament dividides. El sistema radicular pot mesurar fins a 4,5 metres de diàmetre i arribar a 2 metres de profunditat (Holm *et al.*, 1977).

Pot fer arrels als nusos inferiors.

Inflorescència:

Formada per entre 4 i 6 (fins a 15) raïms unilaterals, cadascun ben individualitzat, sovint amb coloracions violàcies, reunits al capdamunt de la tija formant una inflorescència subdigitada. Els raïms poden tenir una longitud de 4 a 18 cm i una amplada de 2 mm.

Espigueta: Formades per 2 flors (la inferior estèril i reduïda a una glumel·la membranosa –lemma inferior– tan llarga com l'espigueta; veure figura 1). Entre 2,3 i 3,5 mm de longitud i 0,9 mm d'ample (3 vegades més llarga que ample). Comprimides pel dors, plano-convexes. Disposades sobre l'eix del raïm en grups de 2 (binades), de les quals una és subsèssil i l'altra pedicel·lada (Häfliger i Scholz, 1980). Raquis triquetre, més o menys alat (Bolòs i Vigo, 2001).

Glumes membranoses. Gluma superior molt més curta que l'espigueta (1,5 mm), de forma triangular, peluda, amb 3 nervis. Gluma inferior diminuta.

Flor: Hermafrodita. Glumel·les coriàcies o cartilaginoses, i llises. Glumel·la inferior mútica, tan llarga com l'espigueta, amb 3 nervis (Häfliger i Scholz, 1980). 3 estams i estigmes terminals.

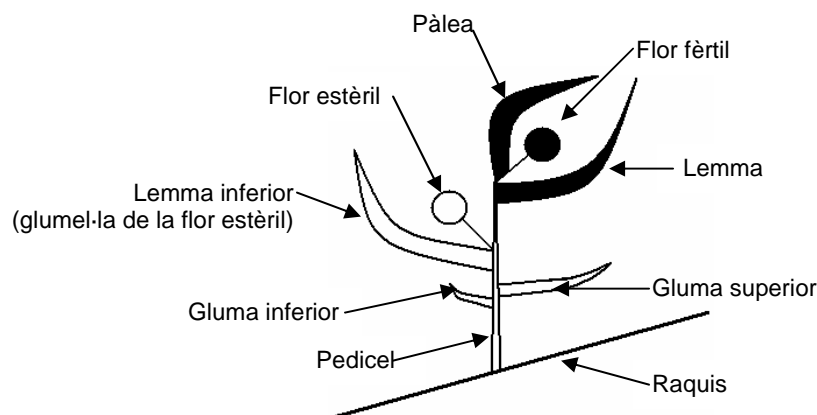


Figura 1. Representació esquemàtica de l'espigueta de *Digitaria sanguinalis*.

● bràctea coriàcia, ○ bràctea membranosa.

Fruit:

Cariòpside glabre, el·líptica, deprimida pel dors i convexa pel revers. De 2 a 3,5 mm de llargada i 1 mm d'amplada. Escudet embrional la meitat de llarg que la cariòpside.

Coberta per les glumel·les de la flor fèrtil, la glumel·la de la flor estèril i les dues glumes. A la figura 2 es poden veure la cariòpside i les glumes i glumel·les que formen part de l'espigueta i que s'han descrit aquí.

Holm *et al.* (1977) indica que les llavors tenen un curt període de latència i que no germinen fins a la primavera següent.

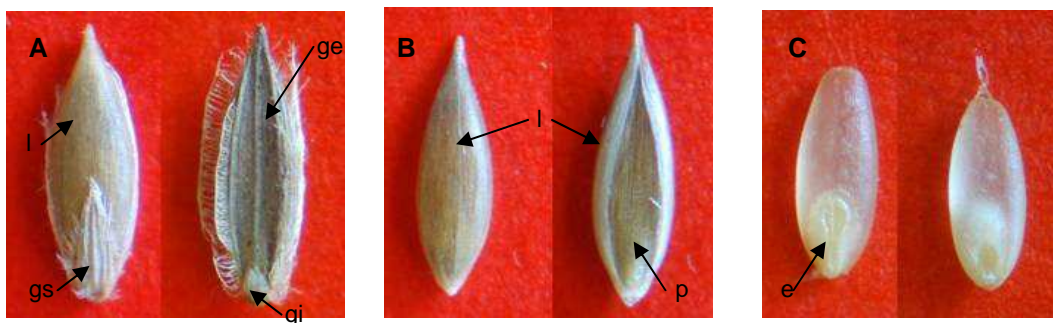


Figura 2. Fruit de *Digitaria sanguinalis*. A) Espigueta: gs, gluma superior; gi, gluma inferior; ge, glumel·la de la flor estèril; l, lemma. B) Cariòpside + glumel·les: p, pàlea; l, lemma. C) Cariòpside nua: e, embrió. **Font:** fotografies realitzades per M. Gallart.

1.1.3. Distribució i importància de *Digitaria sanguinalis* com a mala herba

Segons Holm *et al.* (1991), al voltant de 8.000 espècies vegetals es comporten com a males herbes en l'agricultura, de les quals només 250 són realment rellevants mundialment. La forcadella apareix citada com a una de les 18 males herbes més importants a nivell mundial (Cousens i Mortimer, 1995).

L'origen més probable de *Digitaria sanguinalis* es troba a Europa, però s'ha introduït en altres països, com als Estats Units d'Amèrica el 1849 (Cousens i Mortimer, 1995), i actualment la seva distribució és cosmopolita o subcosmopolita. *D. sanguinalis* es troba als cinc continents (figura 3), habitant les regions càlides i temperades i, en menor mesura, els tròpics (Häfliger i Scholz, 1980).

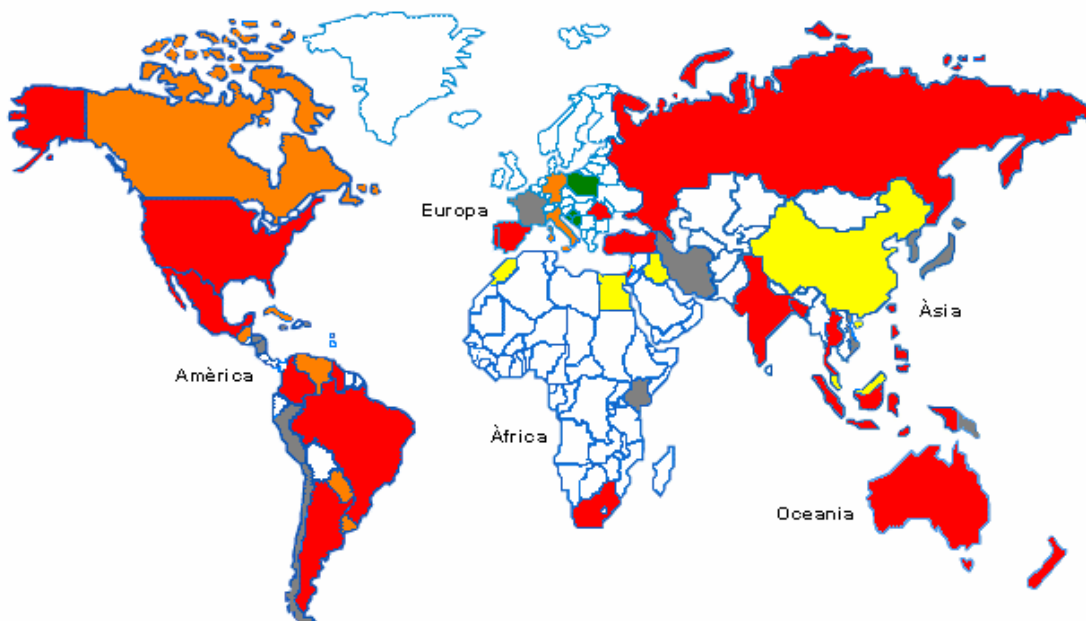


Figura 3. Distribució de *Digitaria sanguinalis*. En vermell, països en és una mala herba seriosa; en taronja, principal; en groc, comuna; en gris, si el grau d'importància és desconegut; i en verd si no es comporta com a mala herba en aquest país. **Font:** elaboració pròpia amb dades de Holm *et al.*, 1991.

Antigament es cultivava *D. sanguinalis* com a planta alimentària a la nostre regió (Behrendt i Hanf, 1979), i actualment encara s'utilitzen algunes espècies del gènere *Digitaria* com a cultius de cereals i farratges en països càlids (Häfliger i Scholz, 1980). Segons Holzner i Numata (1982), en alguns cultius, la presència de plantes del gènere *Digitaria* pot resultar beneficiosa gràcies al seu sistema radicular intens, que pot protegir el sòl contra l'erosió; sobretot en cultius on la competència que provoca sigui baixa (emergència tardana, baix creixement).

No obstant això, la seva elevada competència pel nitrogen i per l'espai (alta capacitat de fillolada) fan que sigui una mala herba important que cal controlar (Häfliger i Brun-Hool, 1972), sobretot durant les primeres setmanes d'establiment del cultiu.

A Espanya i a Catalunya podem trobar forcadella disseminada per gairebé tot el territori, excepte als estrats més muntanyencs (Villarias, 2000; Marquès *et al.*, 1983).

A Espanya, *D. sanguinalis* és una mala herba important en els cultius de blat de moro, remolatxa sucrera (Holzner i Numata, 1982) i cotó (Holm *et al.*, 1977). Arreu del món, a més, és una mala herba important en el cultiu de la canya de sucre, sorgo, cacahuet, cafè, arròs, soja, gira-sol, cítrics, patates, etc. (Holm *et al.*, 1977). En general es pot trobar *D. sanguinalis* en hortes i camps de regadiu, cultius en rotació, vinyes, camps de fruiters, jardins i marges de camins i carreteres. En gespes, a més, *D. sanguinalis* és important perquè trenca la homogeneïtat de color i alçada de la gespa (Masin *et al.*, 2006).

Creix en sòls arenosos i llimosos, rics en nitrogen i humits (Häfliger i Scholz, 1980). D'acord amb Holm *et al.* (1977), el sòl ha de poder arribar a unes temperatures alternants de 20 i 30 °C o bé a temperatures constants de 35 °C per tal que la planta pugui germinar en condicions òptimes.

1.1.4. El maneig i control de *Digitaria sanguinalis*

El control de *Digitaria sanguinalis* es realitza sobretot mitjançant pràctiques culturals, com el treball del sòl, o amb mètodes químics, com la utilització d'herbicides de preemergència i postemergència. S'han donat casos de resistència de *D. sanguinalis* a herbicides als Estats Units (Holm *et al.*, 1977; Wiederholt i Stoltenberg, 1995; Rubin, 1997). Això motiva una tècnica més racional de maneig d'aquesta mala herba.

Per aconseguir aquest millor maneig de les males herbes com *D. sanguinalis* és important conèixer el moment i la durada del període d'emergència de *D. sanguinalis* al camp (Myers *et al.*, 2004). Conèixer els factors ambientals i la seva influència sobre el moment de germinació de *D. sanguinalis*, o d'altres males herbes, ajudarà a comprendre el seu cicle de creixement i la seva dinàmica poblacional (Faccini i Puricelli, 2006) i servirà en la presa de decisions referents a les pràctiques culturals i mètodes de control de les males herbes (King i Oliver, 1994).

Per tant, aquests coneixements poden permetre la predicció dels períodes de germinació de *D. sanguinalis* i això facilitaria l'elaboració d'estratègies de control més efectives (Fidanza *et al.*, 1996), tant per la tècnica a aplicar com pel moment d'aplicar-la. Resulta interessant, doncs, des de la perspectiva d'una agricultura més racional i amb una gestió i un ús més efectius dels recursos.

El desenvolupament de models que s'ajusten i descriuen les pautes de germinació i emergència de les males herbes segons les condicions ambientals són un exemple molt clar de l'aplicació pràctica d'aquests coneixements.

Desenvolupar models acurats que descriguin les dinàmiques d'emergència de les males herbes és molt útil per al maneig d'aquestes (Masin *et al.*, 2005a) i permeten determinar les dates d'emergència de les males herbes.

El models de poblacions de males herbes tenen un poder qualitativament predictiu i ajuden a conèixer les tendències de la manera en què les poblacions podrien canviar i com poden arribar a diferents tipus de dinàmica segons variacions dels diferents factors. L'estimació dels factors que influeixen sobre la germinació pot incorporar-se a aquests models predictius per millorar la presa de decisions en el maneig de males herbes (Faccini i Puricelli, 2006).

1.2. Factors que afecten la germinació de les llavors

Podem classificar els factors que afecten la germinació de les llavors en dues categories (Mayer i Poljakoff-Mayber, 1989):

- Interns: viabilitat, longevitat, latència.
- Externs: aigua, composició de gasos de l'atmosfera, temperatura, llum.

Per tal que una llavor germini ha de ser viable. Una llavor viable és aquella que té la capacitat de germinar (Mayer i Poljakoff-Mayber, 1989). Depenent de l'espècie, les llavors poden mantenir-se viables durant diferents períodes de temps, que poden ser de mesos o de dècades, i fins i tot segles. La longevitat de les llavors d'una espècie està determinada genèticament, però l'ambient i les condicions de conservació de les llavors també hi tenen un efecte important.

A més a més, les condicions ambientals han de ser favorables pel que fa a disponibilitat d'aigua, presència de gasos de l'atmosfera, com l'oxigen, temperatura i llum per tal que hi hagi germinació (Bewley i Black, 1994):

- Aigua: el primer procés que ocorre durant la germinació és la imbibició, que consisteix en l'absorció d'aigua per part de la llavor. L'aigua absorbida serveix per rehidratar els teixits de la llavor, principalment les proteïnes. Les altes pressions que es generen en la llavor durant la imbibició poden ajudar al trencament de les cobertes i facilitar l'emergència de l'embrió (Mayer i Poljakoff-Mayber, 1989).
- Gasos: en general la taxa de germinació augmenta conjuntament amb la concentració d'O₂ i amb la disminució de CO₂. Altres gasos com l'hidrogen o el nitrogen també tenen efecte.
- Temperatura: veure apartats 1.2.2 i 1.4.
- Llum: veure apartat 1.2.3.

Es donen, però, situacions de latència en què malgrat que les condicions ambientals són favorables a la germinació de les llavors, aquestes no es desenvolupen (Bewley i Black, 1994). La latència té importància en la dinàmica de poblacions de les males herbes i altres plantes, ja que permet la distribució de la germinació al llarg del temps. Parlarem més de la latència a continuació, als apartats 1.2.1 i 1.3.

Cada espècie i varietat té uns requeriments de condicions ambientals i pateix unes dinàmiques dels estats de latència determinades. Això fa que calgui un esforç en la investigació dels factors que condicionaran la germinació de cada espècie d'interès.

1.2.1. Latència

La latència és un estat fisiològic de la llavor viable en què no pot germinar malgrat que les condicions ambientals siguin favorables. Això indicaria que alguna propietat de la llavor o de la unitat de dispersió n'està impedit la germinació. Quan això passa parlem de latència i de llavors latents (Baskin i Baskin, 1998). Les llavors latents són viables encara que no germinin i si es sotmeten a determinats tractaments o a unes condicions externes específiques se'n pot produir la germinació (Mayer i Poljakoff-Mayber, 1989).

Els mecanismes de latència de les llavors permeten que existeixi una germinació distribuïda en el temps i aconseguir d'aquesta manera que cada any germini una fracció de la població. Això suposa una major probabilitat de supervivència de les plàntules.

La latència impedeix que les llavors germinin quan les condicions ambientals no són favorables. La latència pot interactuar amb el medi, de manera que si hi ha canvis en les condicions ambientals, algunes espècies poden passar de ser no-latents a latents o de latents a no-latents. D'aquesta manera ens apareixen cicles de germinació, normalment anuals (Baskin i Baskin, 1998). És el cas de moltes llavors de plantes d'interès agrícola, com les males herbes en ambients on les condicions són adverses per al creixement i la reproducció de la planta durant una època de l'any (Forcella *et al.*, 2000).

Hi ha diferents tipus de latència: primària, secundària i condicional.

1.2.1.1. Latència primària

La latència primària és la que experimenten les llavors que no poden germinar immediatament després de dispersar-se de la planta mare.

Una classificació típica de les causes de la latència consisteix en dividir aquells factors que poden derivar en un estat de latència segons si estan relacionats amb les característiques i propietats de l'embrió (latència endògena) o de la seva estructura i cobertes: pericarp, testa, perisperma, endosperma... (latència exògena). Les principals causes de latència es troben resumides a la taula 1.

Taula 1. Tipus de latència i causes principals. **Font:** adaptat de Baskin i Baskin (1998).

Tipus de latència	Causa
Endògena (latència de l'embrió)	
Fisiològica	-Incapacitat per mobilitzar reserves de l'embrió i la llavor. -Deficiència de substàncies promotores del creixement. -Presència de substàncies inhibidores. -Bloqueig de la síntesi d'àcids nucleics i proteïnes.
Morfològica	-Embrió subdesenvolupat i/o indiferenciat, immadur.
Morfofisiològica	-Mecanismes fisiològics inhibidors de la germinació + embrió subdesenvolupat i/o indiferenciat.
Exògena (latència causada per les cobertes)	
Física	-Impermeabilitat a l'aigua i restricció en la seva absorció durant la imbibició. -Impermeabilitat a gasos i restricció en l'intercanvi gasós. -Incapacitat per mobilitzar reserves de nutrients externes a la llavor.
Química	-Presència de substàncies inhibidores en les cobertes.
Mecànica	-Restricció mecànica del creixement de l'embrió.

En la majoria d'espècies hi ha poc coneixement sobre els mecanismes que regulen la latència de les llavors. Pot haver-hi més d'un mecanisme a la vegada responsable de la latència. En parlarem més a l'apartat 1.3.

Les llavors amb latència primària poden germinar de manera normal després d'un període de post-maduració. Cal entendre post-maduració com tots els canvis que tenen lloc en les llavors durant la seva conservació i que possibiliten o milloren la germinació d'aquestes (Mayer i Poljakoff-Mayber, 1989), trencant l'estat de latència. Aquest període pot ser més llarg o més curt i requerirà condicions diferents segons l'espècie.

El tipus de canvis que es donaran en la llavor poden ser de diferents naturalesa:

- Canvis anatòmics i morfològics de l'embrió (casos d'embrions immadurs).
- Canvis en la composició dels materials de reserva.
- Canvis en la permeabilitat de les cobertes de la llavor.
- Aparició de substàncies promotores de la germinació.
- Desaparició de substàncies inhibidores de la germinació.

1.2.1.2. Latència secundària

La latència secundària és aquella que experimenten les llavors que són no-latents però que perden la seva capacitat per germinar, per diversos motius.

Aquest tipus de latència es pot interpretar com a una resposta a canvis en les condicions ambientals. Es produeixen canvis en les llavors que poden ser canvis en la permeabilitat de les cobertes de la llavor, alteracions en l'equilibri de les formes del fitocrom, canvis en les relacions entre substàncies inhibidores i estimulants... (Mayer i Poljakoff-Mayber, 1989).

1.2.1.3. Latència condicional

Alguns autors diferencien entre les latències primària i secundària i la latència condicional (Baskin i Baskin, 1998). La latència condicional seria aquell estat fisiològic en què les llavors només germinen en un rang molt estret de condicions favorables. La latència condicional es donaria durant el pas de llavors latents a no-latents (el rang de condicions amb possible germinació s'eixampla) i viceversa (s'estreiteix).

Les llavors poden passar per diferents etapes de latència abans no germinin. Les llavors poden seguir uns cicles, com els que podem veure a la figura 4. Les llavors amb latència primària, un cop han perdut aquesta latència, poden patir un o diversos cicles de latència secundària o germinar. El mateix passa amb les llavors que són no-latents en el moment de la dispersió.

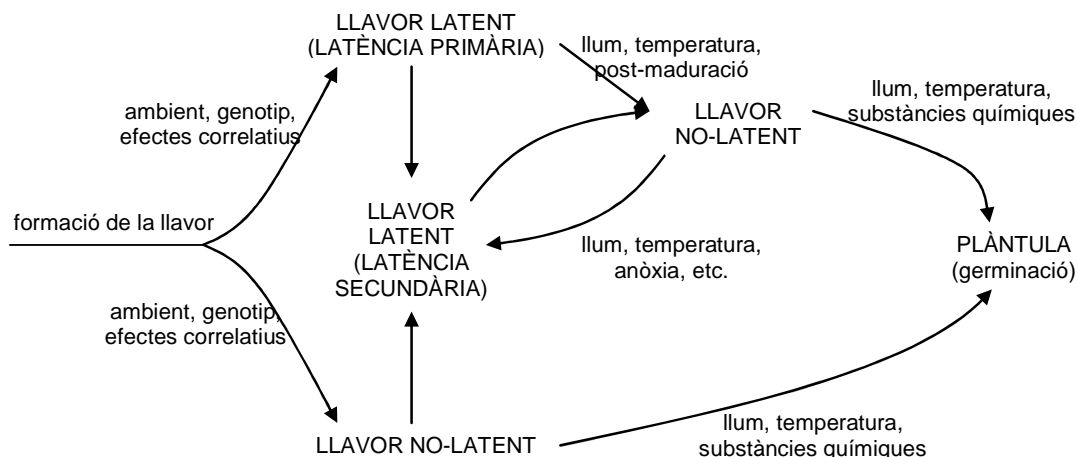


Figura 4. Relació entre els cicles de latència i l'ambient. **Font:** Bewley i Black, 1994.

Aquesta dinàmica dependrà de l'espècie, ja que la latència està condicionada genèticament (Mayer i Poljakoff-Mayber, 1989). Conèixer la dinàmica i els mecanismes de la latència de les llavors de les males herbes que interessa controlar és important per poder predir el moment de germinació.

Normalment l'emergència de plàntules en el camp es dona quan el nivell de latència és mínim. Això vol dir que per a la construcció de models dinàmics de predicció d'emergència de plàntules cal comprendre i modelitzar tant els factors que afecten la latència de les llavors com els factors que afecten la germinació de les llavors un cop han perdut aquesta latència (Forcella *et al.*, 2000).

1.2.2. Temperatura

Les llavors tenen diferents rangs de temperatura en què poden germinar. A temperatures massa baixes o massa elevades les llavors no germinen. La temperatura influeix tant en el percentatge final de germinació com en la taxa de germinació (Mayer i Poljakoff-Mayber, 1989). Això es deu a que la temperatura causa variacions en les diferents etapes de desenvolupament de la llavor i el resultat global de germinació és diferent.

Aquests rangs de temperatura estan determinats per la procedència de les llavors, per diferències genètiques entre espècies i varietats, per l'edat de la llavor i també pels nivells de substàncies estimulants i inhibidores del desenvolupament de les llavors.

En els rangs en què s'observa germinació s'hi poden distingir tres temperatures importants: la temperatura base (T_b), la temperatura òptima (T_o) i la temperatura màxima (T_m), que són imprescindibles per a l'elaboració de models tèrmics predictius de la germinació. Les veurem més detalladament a l'apartat 1.4.

A temperatures massa baixes pot haver-hi germinació però donar-se el cas que la plàntula no sigui capaç d'acabar de créixer i desenvolupar-se. També pot donar-se que no hi hagi germinació degut a canvis en les membranes (les membranes podrien actuar com a sensors de la temperatura), desnaturalització de proteïnes o altres causes.

Encara hi ha un nivell més de complexitat en els requeriments de temperatura: hi ha llavors que requereixen una alternança periòdica de temperatures per poder germinar. Sovint es tracta d'una alternança diària entre la temperatura diürna i la nocturna. La durada de l'exposició a cada temperatura i l'amplitud d'aquests cicles també tenen efectes en la germinació.

1.2.3. Llum

S'ha observat que hi ha llavors que només germinen en condicions de foscor (fotoblàstiques negatives), llavors que només germinen si hi ha llum (fotoblàstiques positives) i llavors que poden germinar en ambdós casos (Mayer i Poljakoff-Mayber, 1989). L'alternança entre llum i foscor (exemple: el fotoperíode) també té efectes en la germinació de les llavors. El

tipus de llum i la zona espectral on es troba també influeix, sobretot degut a l'acció de les molècules de fitocrom i les seves reaccions a la llum roja (660 nm) i roja llunyana (730 nm).

La sensibilitat de les llavors a la llum pot variar segons el moment (després de la dispersió o recol·lecció, durant la conservació, al cap d'un any...), el fotoperíode al que ha estat sotmesa la planta mare, la presència de substàncies promotores o inhibidores del creixement, i pot augmentar amb el temps d'imbibició o altes humitats relatives durant la conservació i amb la temperatura... En alguns casos, la llum promou la germinació a temperatures elevades però no a temperatures baixes.

Tot plegat fa que l'efecte de la llum en la germinació sigui molt complex i que encara quedi molt per investigar.

1.3. Paper de les cobertes en l'estat de latència

Ja hem vist que les llavors han de satisfer un requisit per poder germinar. El primer és que les llavors siguin no-latents. Com hem comentat, la latència de les llavors pot ser deguda a un embrió immadur o a diverses propietats de les cobertes (Gutterman *et al.*, 1996): glumes i glumel·les, pericarp, testa, perisperma i endosperma (de més externa a més interna).

Una causa molt comuna de latència és la presència de cobertes dures que poden ser impermeables a l'aigua o a gasos, poden constreñir mecànicament l'embrió o contenir substàncies inhibidores de la germinació. Pot haver-hi més d'una causa a la vegada, i poden estar relacionades. Això dificulta el seu estudi.

A continuació detallarem els principals efectes que tenen les cobertes en la latència de les llavors i com es pot trencar aquesta latència.

1.3.1. Impermeabilitat a l'aigua

El procés de la imbibició és el primer que es dona durant la germinació. Es rehidraten els teixits de la llavor i pot ajudar a trencar les cobertes per facilitar l'emergència de l'embrió, gràcies a les altes pressions. El procés de la imbibició es veu influït per quatre factors (Mayer i Poljakoff-Mayber, 1989):

- Composició de la llavor, sobretot segons el contingut lipídic.
- Disponibilitat d'aigua en forma líquida o gasosa.
- Permeabilitat de les cobertes de la llavor.
- Temperatura (efecte complex).

La imbibició de les llavors és imprescindible perquè puguin germinar. Si les cobertes de la llavor són impermeables a l'aigua, no hi ha imbibició i les llavors no germinen. Aquest fenomen és molt comú en llavors de la família de les lleguminoses (Bewley i Black, 1994).

En la natura, aquestes llavors esdevenen permeables a l'aigua quan les cobertes es trenquen o fraccionen degut a friccions i abrasions mecàniques, atacs de microorganismes, el pas a través del tracte digestiu d'algun animal o l'exposició a temperatures alternants (l'expansió i contracció de la coberta la fan malbé).

1.3.2. Impermeabilitat a gasos

De la mateixa manera que amb l'aigua, les cobertes de les llavors poden ser impermeables al pas de gasos. Les llavors poden ser permeables a l'aigua però ser impermeables a gasos. Els principals gasos són l'oxigen i el diòxid de carboni (que intervenen en la respiració i el metabolisme embrionari) però també destaquen el nitrogen i l'hidrogen. Tant ens podem trobar amb llavors que no permeten l'entrada d'O₂ com amb llavors que no permeten la sortida de CO₂.

S'han fet molts estudis per investigar com les cobertes restringeixen l'abastament d'O₂ a l'embrió i com això determina l'estat de latència. S'ha observat que si es punxen les llavors latents la germinació augmenta (major penetració d'oxigen), i que en atmosferes enriquides amb O₂ la germinació també augmenta. Les glumes i glumel·les poden consumir oxigen. Per exemple, en ordi, s'ha comprovat que les glumel·les absorbeixen O₂ de manera diferent en les llavors latents i en les no-latents (Mayer i Poljakoff-Mayber, 1989). En algunes llavors,

components fenòlics de les cobertes fixen O₂ per oxidació i, per tant, aquest oxigen no està disponible per a l'embrió (Baskin i Baskin, 1998). De totes maneres, sembla improbable que això privi l'embrió d'oxigen per respirar. Una hipòtesi és que baixos nivells d'oxigen no causen la latència perquè impedeixin la respiració, sinó perquè l'oxigen oxida algunes substàncies inhibidores del creixement (Bewley i Black, 1994) i, si no n'hi ha prou, aquests inhibidors segueixen actuant. De manera semblant, el nivell d'oxigen podria estar relacionat amb la producció d'etilè de l'embrió, que s'ha comprovat que trenca la latència en algunes espècies.

1.3.3. Restricció mecànica de l'embrió

En algunes espècies les cobertes són tan dures que ofereixen una resistència considerable a l'emergència de l'embrió. L'embrió no té suficient potència de creixement per trencar-les i no es produeix germinació (Baskin i Baskin, 1998). En les llavors (en realitat són aquenís) d'enciam és l'endosperma, que envolta completament l'embrió, la capa que n'impedeix l'emergència (Bewley i Black, 1994). Experimentalment s'ha comprovat que si el potencial osmòtic és superior a la potència de creixement dels embrions (embrions extirpats) no hi ha germinació, i en el cas contrari sí (Baskin i Baskin, 1998).

En aquestes llavors no hi haurà germinació si els teixits que restringeixen el creixement de l'embrió no es debiliten. La producció d'enzims que permeten el debilitament i estovament d'aquests teixits a la zona de la radícula és un aspecte diferencial entre llavors latents i no-latents d'algunes espècies (Bewley i Black, 1994). Condicions adequades (per exemple, de llum) permeten un augment de la potència de creixement de l'embrió.

1.3.4. Substàncies inhibidores

La presència de substàncies inhibidores de la germinació és una altra causa de latència. Aquests inhibidors es poden trobar a l'embrió i a les cobertes. Les cobertes també poden impedir la lixiviació dels inhibidors o retardar l'entrada d'oxigen, que oxidaria (inactivaria) els inhibidors o n'impediria la producció (Baskin i Baskin, 1998).

Hi ha moltes substàncies que poden inhibir la germinació de manera reversible, per exemple, interferint en certes vies metabòliques, com les que afecten a la respiració. Un inhibidor molt comú que s'ha trobat en les cobertes de moltes llavors és una fitohormona: l'àcid abscísic (ABA).

1.3.5. Trencament de l'estat de latència

El trencament de la latència, fruit de la interacció entre les llavors i el medi, confereixen un patró d'emergència de les plàntules característic de cada espècie (Ferrari i Leguizamón, 2006). El trencament de la latència pot ser degut a diferents factors i, sovint, a més d'un a la vegada:

- Post-maduració: si les llavors s'assequen i es conserven en unes condicions adequades, al cap d'un període de temps aquestes llavors poden germinar.
- Requeriments tèrmics i alternança de temperatures: per exemple, l'exposició durant un període de temps a temperatures baixes, com passaria durant l'hivern en la natura. Les membranes cel·lulars podrien actuar com a sensors de les temperatures.
- Requeriments lumínics: de llum o de foscor, i sovint amb interacció amb la temperatura. Els requeriments lumínics sovint estan relacionats amb la presència de cobertes de la llavor (Mayer i Poljakoff-Mayber, 1989).
- Debilitament de les cobertes: gràcies a atacs microbians, a abrasió amb les partícules del sòl, etc.
- Substàncies químiques: s'utilitzen molt en investigació, però no totes les que s'utilitzen es troben en el medi natural de la llavor.
- Fitohormones: hi ha altes concentracions d'ABA en les llavors latents. Altres fitohormones promouen el desenvolupament, com les gibberel·lines o l'etilè.

En el camp de la investigació, es coneixen diferents mètodes per trencar la latència de les llavors i poder experimentar amb les diferents hipòtesis, com ara: l'eliminació total o parcial

de les cobertes, el sacseig i fricció amb algun abrasiu, la dissolució de ceres de les cobertes amb alcohol (aconseguint una major permeabilitat a l'aigua), tractaments amb àcids i altres compostos, etc.

Aquests mètodes poden produir diversos efectes sobre les membranes i la llavor: permeabilitat a aigua i gasos, canvis en la sensibilitat a la temperatura i la llum, destrucció o eliminació de substàncies inhibidores, etc.

Hi ha algunes substàncies que s'utilitzen freqüentment per provocar un trencament de la latència de les llavors, com l'etanol, l'hipoclorit sòdic i el peròxid d'hidrogen.

1.3.5.1. Etanol

L'etanol promou la germinació de les llavors i trenca la latència. També s'ha comprovat que l'etanol pot prevenir la inducció de latència secundària en condicions d'anòxia. El mecanisme que fa que l'etanol estimuli la germinació no es coneix amb certesa. Hi ha dues hipòtesis principals sobre com l'etanol trenca la latència de les llavors (Simpson, 1990; Miyoshi i Sato, 1997):

- Modificant les propietats de les membranes (efecte anestèsic i dissolució dels components lipídics). En moltes llavors amb germinació promoguda per temperatures alternants, les membranes actuen com a sensors tèrmics i, per tant, són punts on es controla o modifica la latència de la llavor (Mayer i Poljakoff-Mayber, 1989).
- Actuant com a substrat en el metabolisme respiratori de l'embrió i promovent l'absorció d'oxigen, el cicle de Krebs i la glicòlisi.

Simpson (1990) també parla d'un possible efecte dessecant. A més, com s'ha comentat, l'etanol pot dissoldre les ceres i altres substàncies de caràcter lipídic de les cobertes per facilitar la permeabilitat a l'aigua i a gasos. Ogawa i Iwabuchi (2001) van comprovar que la germinació de llavors de *Zinnia elegans* era promoguda per l'eliminació de les substàncies solubles en etanol. L'extracte etílic obtingut (etanol amb les substàncies solubles de les cobertes de les llavors) tenia un efecte inhibitori de la germinació en llavors sense pericarp. Això suggereix que l'etanol dissol algunes substàncies inhibidores de les cobertes de les llavors d'aquesta espècie.

1.3.5.2. Peròxid d'hidrogen

El peròxid d'hidrogen és un poderós agent oxidant (Simpson, 1990). És una molècula tòxica ja que oxida components cel·lulars com els lípids de la membrana i els enzims. Tot i així, les pròpies cèl·lules en generen en moments d'estrès i en teixits que requereixen H_2O_2 com a substrat per a la biosíntesi. S'ha comprovat que aplicacions d' H_2O_2 exogen milloren la germinació de moltes espècies (Ogawa i Iwabuchi, 2001; Matus-Cádiz i Hucl, 2005).

L' H_2O_2 genera O_2 per a la respiració mitocondrial (Ogawa i Iwabuchi, 2001). De totes maneres, sembla que aquesta no és la causa que afavoreix la germinació. Sembla més plausible que l' H_2O_2 ajudi a oxidar compostos fenòlics del pericarp que actuen com a inhibidors de la germinació. Ogawa i Iwabuchi (2001) proposen que a les llavors que han de germinar s'hi produeix H_2O_2 de forma natural que ajuda a oxidar els inhibidors mitjançant l'activació de la ruta de la pentosa fosfat.

1.3.5.3. Hipoclorit sòdic

L'hipoclorit sòdic trenca la latència més efectivament que el peròxid d'hidrogen (Simpson, 1990). Els tractaments amb hipoclorit sòdic són un cas d'escarificació química, és a dir, el NaOCl actua debilitant les parets cel·lulars de les cobertes i l'endosperma gràcies al seu contingut en clor i facilita l'emergència de l'embrió (Mayer i Poljakoff-Mayber, 1989).

1.4. Requeriments tèrmics per a la germinació

Dels factors ambientals, la temperatura és un dels que té més importància, juntament amb la presència d'aigua. Les llavors tenen uns requeriments de temperatura que s'han de satisfer per tal que hi hagi germinació. No s'han de confondre els requeriments tèrmics de la germinació amb els requeriments per al trencament de la latència.

Cada espècie té un rang de temperatures en les quals hi pot haver germinació. La temperatura en aquest rang determinarà tant el percentatge final de llavors germinades com la

taxa de desenvolupament entre un estadi i un altre (Trudgill *et al.*, 2005). Cal entendre la taxa de desenvolupament entre estadis com la inversa del temps que trigarà un organisme a passar d'un estadi a un altre, expressada en dies⁻¹ o en hores⁻¹.

A mesura que la temperatura augmenta, hi ha canvis en la conformació proteica de la llavor. Petits canvis en el conjunt de processos que es succeeixen durant la germinació afecten el percentatge final i la taxa de germinació (Bewley i Black, 1994; Allen, 2003). Temperatures massa elevades causen canvis en la llavor que són deleteris.

Els requeriments tèrmics determinen en quines èpoques de l'any germinarà una espècie, mitjançant l'entrada en cicles de latència secundària i també el compliment de les condicions de temperatura adequades de les llavors no-latents. D'aquesta manera, plantes amb diferents requeriments tèrmics germinaran en diferents moments i això permet una distribució de la germinació de les espècies.

1.4.1. Integral tèrmica: un model de predicció

A mesura que augmenta la temperatura, el temps entre estadis disminuirà (augmenta la taxa de desenvolupament). Si quantifiquem com es relacionen la temperatura i la taxa de desenvolupament, podem parlar de temps fisiològic o de temps tèrmic, i es poden desenvolupar models d'integrals tèrmiques. Aquests models parteixen de la base que a partir d'una temperatura mínima (temperatura base, T_b) s'acumulen unitats de calor (graus-dia, GD; Fidanza *et al.*, 2006) i que una determinada quantitat de graus-dia (la constant tèrmica o temps tèrmic, TT) és necessària per completar el desenvolupament entre estadis

Aquests models s'utilitzen per estudiar i predir el desenvolupament i el creixement de plantes però també d'insectes i nematodes d'interès agrícola. Aquests models es poden adaptar per poder treballar sobre la germinació de llavors de cultius i males herbes, predir el moment d'aparició de les inflorescències, productivitats potencials, determinació de les dates més favorables per a diferents tasques, etc. Així es facilita el control (Trudgill *et al.*, 2005) de les males herbes.

Els models de temps tèrmic són molt útils perquè com que la temperatura ambiental no és constant i la temperatura del sòl és molt variable, el temps entre estadis varia segons les fluctuacions de la temperatura. La creació de models basats en l'acumulació de graus-dia elimina la dependència del factor temps (Van Straalen, 1983).

En el rang de temperatures en què s'observa germinació, es defineixen tres temperatures cardinals:

- El llindar inferior, és a dir, la temperatura mínima necessària perquè hi hagi germinació de les llavors s'anomena temperatura base (T_b ; Alvarado i Bradford, 2002). Per sota d'aquesta temperatura no s'acumulen graus-dia i s'atura el desenvolupament fisiològic de l'organisme (Trudgill *et al.*, 2005).
- Per sobre de T_b , les taxes de desenvolupament augmenten fins a un valor màxim que es correspon a la temperatura òptima (T_o). La T_o es defineix com aquella a la que s'obté el màxim percentatge de germinació en un període de temps més curt. Pot ser un interval de temperatures (Purcell, 2003).
- Si la temperatura segueix augmentant per sobre de la T_o , els índexs de desenvolupament disminuiran de nou fins a cessar a la temperatura màxima de desenvolupament (T_m). Per sobre de la T_m les llavors poden entrar en un estat de latència secundària (Mayer i Poljakoff-Mayber, 1989).

Entre T_b i T_o , molt sovint les taxes de desenvolupament i les temperatures es relacionen linealment (Trudgill *et al.*, 2005). Entre T_o i T_m també hi pot haver una relació lineal. Els models d'integrals tèrmiques treballen en el rang comprès entre T_b i T_o , i és un requisit fonamental que existeixi una relació lineal entre la temperatura i la taxa de desenvolupament.

Hi ha dos constants que cal determinar per poder treballar amb els models de temps tèrmic: la temperatura base T_b i la constant tèrmica.

Els graus-dia es calculen segons:

$$TT = \sum_{i=0}^n (T_M - T_b) \quad (1)$$

on: $i=0$ és l'inici de l'imbibició, n és el número de dies per completar un estadi (germinació en aquest cas), TT és el temps tèrmic en GD, T_M és la temperatura mitjana diària, i T_b és la temperatura base.

Com que hi ha una relació lineal entre la temperatura i la taxa de desenvolupament (molt sovint s'utilitza la inversa del temps per assolir una germinació del 50%), es pot calcular la temperatura base T_b com la intersecció amb l'eix de les abscisses de la recta que relaciona aquests dos paràmetres (Trudgill *et al.*, 2005). De totes maneres, la T_b pot ser difícil de calcular, ja que els experiments poden finalitzar abans que s'observi la germinació. Per això és molt important la precisió en la determinació dels punts inicials i finals del procés (Trudgill *et al.*, 2005).

Els models de temps tèrmic tenen algunes limitacions: no funcionen si el procés no és continu, no és independent d'altres factors (ex: llavors latents) i hi ha factors limitants (Trudgill *et al.*, 2005). Alguns autors afirmen que la T_b pot variar durant el trencament de la latència (Steadman i Pritchard, 2003); és a dir, en les llavors latents que només germinen en un rang de temperatures molt petit, la T_b varia a mesura que desapareix la latència i el rang de temperatures en què es produeix germinació s'eixampla.

Amb aquests models s'ha observat que les espècies d'ambients fred presenten menors T_b però TT superiors. En canvi, espècies d'ambients més càlids tenen T_b més altes i inferiors TT. Les integrals tèrmiques, doncs, ens donen informació sobre l'adaptació a la temperatura i ajuden a caracteritzar el desenvolupament i les estratègies ecològiques de les espècies estudiades (Trudgill *et al.*, 2005).

Pot ser necessari ajustar els models desenvolupats a diferents zones geogràfiques, ja que hi pot haver diferències en el genotip de les diferents poblacions, segons el grau d'adaptació a l'entorn que hagin desenvolupat (Myers *et al.*, 2004). Per tant, és normal que hi hagi diferències en els requeriments de diferents poblacions d'una mateixa espècie.

1.4.2. Models hidrotèrmics

Molts autors destaquen el paper primordial de la temperatura i el potencial hídric del sòl en la germinació i l'emergència de les males herbes (ex: Trudgill *et al.*, 2005; King i Oliver, 1994). Com ja s'ha dit, sense aigua no hi ha imbibició i les llavors no poden germinar. Si la humitat del sòl no és suficient i actua com a factor limitant, els models de temps tèrmic no serveixen. Per això s'han desenvolupat models per predir la germinació de llavors a partir dels dos factors.

Es tracta dels models de temps hidrotermal. El concepte de temps hidrotermal defineix la interacció del potencial hídric per sobre d'un llinar (potencial hídric base, Ψ_b), la temperatura per sobre d'un altre llinar (temperatura base, T_b), i el temps (Masin *et al.*, 2005a). El seu fonament és equivalent al dels models de temps tèrmic. A mesura que augmenta la disponibilitat d'aigua en el sòl (dependrà del potencial hídric i la textura del sòl), augmenta també la taxa i percentatge de germinació (King i Oliver, 1994).

Aquests models són més difícils d'elaborar, ja que la mesura del potencial hídric del sòl és més difícil que la mesura de la temperatura del sòl (Forcella *et al.*, 2000).

1.5. Germinació de llavors de *Digitaria sanguinalis*: antecedents

El primer pas per poder elaborar models predictius de la germinació de males herbes és conèixer els factors que controlen l'emergència de les plàntules (Masin *et al.*, 2005a). Per aquest motiu interessa conèixer els mecanismes reguladors de la latència de les llavors, especialment el paper del microclima en el trencament de la latència primària i la inducció de cicles de latència secundària, i els requeriments de condicions ambientals que tenen.

En el cas de *Digitaria sanguinalis*, varis autors han parlat sobre la seva dinàmica de latència i els seus requeriments tèrmics. A continuació oferim una visió general dels aspectes més rellevants del coneixement d'aquests factors en *D. sanguinalis*.

1.5.1. Latència de les llavors de *Digitaria sanguinalis*

Les llavors recentment dispersades requereixen un període d'incubació de 28 a 56 dies abans que comenci la germinació, i 196 dies fins que sigui completa (Toole i Toole, 1941); i en canvi, llavors amb un any d'edat completen la germinació en 14 dies.

En general, les llavors d'espècies anuals d'estiu es dispersen amb diferents graus de latència al final de l'estiu i surten de la latència gràcies a les baixes temperatures hivernals (Forcella *et al.*, 2000). Les llavors de *Digitaria sanguinalis* també pateixen aquest fenomen i germinen durant la primavera (Holm *et al.*, 1977). Les llavors de *D. sanguinalis* mostren un percentatge de germinació alt durant el final de la primavera i inici de l'estiu, i percentatges de germinació més baixos al final de la tardor i a l'hivern en l'estudi de Masin *et al.* (2006). Segons aquests autors, la majoria de llavors germina durant el primer any, tot i que les llavors de *D. sanguinalis* tenen fins a 3 anys de viabilitat.

Tractaments de refrigeració de les llavors i tractaments amb àcids avancen la germinació de les llavors (Toole i Toole, 1941). Aquests mateixos autors apunten que les llavors de *D. sanguinalis* poden presentar latència imposada per les cobertes i també a causa de l'embrió.

Gianfagna i Pridham (1951) també estudien la latència de *D. sanguinalis* i comproven que les cobertes no són impermeables a l'aigua, que punxant la llavor o amb tractaments d'escarificació de les cobertes augmenta el percentatge de germinació i suggereixen la presència de substàncies inhibidores a les cobertes. Conclouen que la causa no és un embrió immadur.

Gallart *et al.* (2007) mostren que l'estratificació a 4 °C durant 3 mesos augmenta la capacitat de germinació. Enterrar les llavors durant mig any o emmagatzemar-les en sec durant 4 mesos també són tractaments efectius per trencar la latència de les llavors de *D. sanguinalis*.

1.5.2. Requeriments tèrmics i lumínics en la germinació de *D. sanguinalis*

Anteriorment, Toole i Toole (1941) van observar que la germinació de les llavors de *Digitaria sanguinalis* evoluciona de forma diferent amb l'alternança de diferents temperatures, i que la capacitat de germinació és superior a 20/30 °C i amb llum. En canvi, les llavors no germinen gaire bé ni a 15/25 °C ni a 20/40 °C. La llum té un efecte beneficiós en la germinació de les llavors de *D. sanguinalis*. Les llavors de *D. sanguinalis* són fotoblàstiques positives (Felippe i Polo, 1983).

A 10 °C no hi ha emergència de *D. sanguinalis*, però sí entre 15 i 35 °C. La taxa d'emergència augmenta amb la temperatura fins a 30 °C (taxa d'emergència màxima) i disminueix entre 30 i 35 °C, tot i que el màxim percentatge d'emergència és a 25 °C (King i Oliver, 1994). Aquests valors són comuns a altres espècies de zones càlides (Hsu *et al.*, 1985).

Steinmaus *et al.* (2000) ha calculat la temperatura base de *Digitaria sanguinalis* utilitzant diferents mètodes i fórmules per al seu càlcul. La mitjana aritmètica de les temperatures base obtingudes és de 15,13 °C. Aquest valor difereix de l'obtingut per Masin *et al.* (2005a), que calcula una T_b de $8,4 \pm 1,07$ °C i una temperatura òptima de 26 °C.

També trobem exemples de temperatures base calculades per a altres espècies del gènere *Digitaria*: Fidanza *et al.* (2006) determinen una temperatura base per a *D. ischaemum* de 12 °C.

Myers *et al.* (2004) calcula els graus-dia necessaris per l'emergència del 10% de les plàntules de *D. sanguinalis* en 280 GD, 600 GD per assolir el 50% d'emergència i 1.200 GD per passar del 10% de germinació al 90%.

King i Oliver (1994) proposen una equació que permet predir quan començarà l'emergència de *D. sanguinalis* i la germinació acumulada a temperatura i potencial hídric constants (germinació satisfactòria entre -30 i -100 kPa). Les llavors de *D. sanguinalis* tenen un Ψ_b de -830 kPa, d'acord amb Masin *et al.* (2005b). Els models de temps tèrmic poden ser vàlids per explicar la germinació de *D. sanguinalis* (Forcella *et al.*, 2000).

2. OBJECTIUS

En aquest estudi es volen investigar els mecanismes que regulen la latència de les llavors de *Digitaria sanguinalis* i els requeriments tèrmics per a la germinació d'aquesta espècie. Aquests coneixements poden ser útils en la caracterització de la germinació de la forcadella i el desenvolupament de models que permetin predir el període d'emergència de les plàntules d'aquesta espècie en els camps de cultiu. Aquests models poden ajudar a arribar a un maneig més racional d'aquesta mala herba, més efectiu i sostenible.

2.1. Paper de les cobertes en l'estat de latència

Es vol conèixer el paper de les cobertes de les cariòpsides de *Digitaria sanguinalis* (glumes, glumel·les i pericarp) en el control de la latència. Per això es volen estudiar els següents aspectes:

- Percentatge de germinació amb diferents situacions de les cobertes.
- Presència de substàncies inhibidores a les cobertes.
- Trencament de la latència de les llavors mitjançant tractaments amb etanol, H₂O₂ i d'escarificació química amb NaOCl.

2.2. Requeriments tèrmics de germinació

Es vol comprovar el rang de temperatures en què *Digitaria sanguinalis* pot germinar, i l'efecte de la llum.

També es vol calcular la temperatura òptima i la temperatura base de la germinació de *D. sanguinalis*, útils per al desenvolupament posterior de models d'integrals tèrmiques.

3. MATERIALS I MÈTODES

3.1. Recol·lecció de llavors

Es van recollir llavors de *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop. a la finca Torre Marimon, situada al terme municipal de Caldes de Montbui (Barcelona), el 9 de novembre de l'any 2006. Les llavors es van recollir sacsejant lleugerament les inflorescències madures. Aquestes llavors es van deixar assecar i es van conservar a temperatura i humitat ambientals fins a l'inici dels experiments.

Es van recollir noves llavors els dies 30 d'octubre i 14 de novembre de l'any 2007. Una part es va conservar en condicions idèntiques a les llavors de l'any 2006, a temperatura i humitat ambientals. Una altra part es van guardar en una cambra frigorífica a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ per mantenir el seu estat de latència primària (Guterman *et al.*, 1996). A $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ es suposa que l'estat fisiològic de latència de les llavors es manté, tot i que en algunes espècies no és així (Baskin *et al.*, 2006), pel que es van realitzar testos control.

3.2. Preparació de les mostres

Encara que haguem parlat de llavors, les unitats de propagació recollides a camp les hauríem d'anomenar pròpiament espiguetes. Aquestes espiguetes presenten les glumes, la glumel·la de la flor estèril i les glumel·les de la flor fèrtil (veure apartat 1.1.2 i figura 2).

En els experiments es va treballar amb les espiguetes tal com les recollim al camp (ES), però també es van preparar lots d'espiguetes a les que es van retirar algunes peces. Les peces de les espiguetes es van retirar amb molt de compte de no danyar cap teixit i sense mullar prèviament les llavors:

- A mà, es van retirar les glumes i la glumel·la de la flor estèril, i es van obtenir cariòpsides cobertes amb les glumel·les de la flor fèrtil (CG).
- A mà i amb molta cura, es van retirar les glumes, les glumel·les de la flor estèril i les glumel·les de la flor fèrtil. Es van obtenir cariòpsides nues separades de les bràctees a mà (CA).
- Unes altres llavors es van fregar amb paper de vidre. Amb la fricció es separen les cobertes i les cariòpsides. Es van obtenir cariòpsides nues separades de les bràctees per fricció (CF).

Les diferents fraccions separades (glumes, glumel·les de la flor estèril, glumel·les de la flor fèrtil, CA, CF, CG i ES) es van conservar en recipients tancats per evitar la pèrdua d'aigua.

3.3. Comprovació de l'estat de latència

Es va efectuar un test control per comprovar que les llavors recollides el 2007 presentaven un estat de latència. Es van utilitzar tres tipus d'espiguetes:

- Espiguetes del 9 de novembre de 2006 i preparades el 6 de novembre de 2007.
- Espiguetes recollides el 30 d'octubre de 2007 i preparades el 6 de novembre de 2007 (una setmana després de la recol·lecció).
- Espiguetes recollides el 30 d'octubre de 2007 i congelades des del 6 de novembre de 2007 fins el 23 de gener de 2008. Aquestes espiguetes es van preparar el 5 de febrer de 2008.

Les llavors es van fer germinar en plaques de Petri de 90 mm de diàmetre, a les que prèviament s'hi havia col·locat un paper de filtre. Es van preparar 200 espiguetes de cada tipus repartides en 4 plaques amb 50 llavors cadascuna. El paper de filtre es va humitejar inicialment

amb 3 ml d'aigua destil·lada per a la imbibició de les llavors. Durant l'assaig es va afegir aigua destil·lada per evitar que s'assequés el paper de filtre.

L'assaig es va portar a terme en una cambra de germinació programada a una alternança de 30 °C i llum durant 12 h i a 20 °C i fosc durant les altres 12 h. Les plaques es van revisar periòdicament i se'n van retirar les llavors que havien germinat. Es va considerar que una llavor havia germinat a partir del moment en què se'n podia distingir la radícula i/o el coleòptil, com es pot veure en la figura 5.

Les plaques es van mantenir a la cambra de germinació durant 30 dies. En finalitzar el període, es va realitzar un test de viabilitat amb clorur de tetrazolium amb les llavors que no havien germinat (Ellis *et al.*, 1985). Per poder realitzar el test de tetrazolium, es van retirar les glumes i glumel·les de les espiguetes.

Els percentatges de germinació final s'han comparat mitjançant una anàlisi de la variància i una separació de mitjanes amb el test de Tukey HSD ($P \leq 0,05$). S'ha utilitzat el procediment GLM del paquet estadístic SAS (SAS Institute, 1999). Per poder-ho fer, els percentatges de germinació s'han transformat prèviament mitjançant la fórmula:

$$\%G' = \arcsin \left(\sqrt{\frac{G_{total} + \frac{3}{8}}{p + \frac{3}{4}}} \right) \quad (2)$$

on: G_{total} és el número de llavors germinades al final del període, i p , el número total de llavors incubades de la placa.

3.4. Paper de les cobertes en l'estat de latència

Es van dissenyar els següents experiments amb l'objectiu d'analitzar el paper de les cobertes de l'espigueta en la latència de les llavors de *Digitaria sanguinalis* recentment recollides. En tots aquests experiments es van utilitzar espiguetes recollides el 14 de novembre de 2007 (llavors latents). Els experiments es van iniciar el 5 de desembre de 2007 i van durar 30 dies. Algunes proves complementàries es van dur a terme entre els mesos de novembre de 2007 i febrer de 2008.

3.4.1. Observació al microscopi

La hipòtesi que les cobertes (glumes, glumel·les de la flor estèril, glumel·les de la flor fèrtil i pericarp) poguessin actuar com a barreres físiques al pas de substàncies a l'embrió de les llavors es va contrastar en primera instància.

Es van agafar espiguetes de 2006 i de 2007 i se'ls van retirar les diferents cobertes. Aquestes cobertes i el pericarp es van observar al microscopi a 40x i 100x.

La inspecció hauria de permetre identificar danys en les cobertes de les espiguetes no-latents (recollides el 2006) en cas que n'hi hagués. Aquests danys implicarien la permeabilitat de les cobertes i per tant, podrien facilitar el pas de substàncies. Seguint aquesta hipòtesi, les cobertes de les espiguetes recollides el 2007 s'haurien de veure en un millor estat que les de les espiguetes recollides el 2006.

També es van fregar cariòpsides amb paper de vidre per observar els danys que aquest procés genera en el pericarp.



Figura 5. Espigueta de *Digitaria sanguinalis* germinada on es pot veure la radícula. Font: fotografia realitzada per M. Gallart.

3.4.2. Efecte d'inhibidors presents a les cobertes: extracció amb etanol

Per observar si la latència de les espiguetes de *Digitaria sanguinalis* es deu a l'efecte de substàncies inhibidores presents a les cobertes (glumes, glumel·les i pericarp) es va dissenyar el següent experiment amb etanol.

Es van agafar els recipients on s'havien guardat les diferents fraccions de cobertes obtingudes anteriorment en la preparació de les mostres (veure apartat 3.2): glumes, glumel·les de la flor estèril i glumel·les de la flor fèrtil. Les glumes juntament amb les glumel·les de la flor estèril es van posar en remull amb 12,5 ml d'una solució d'etanol al 5% i es van agitar durant 24 hores, a temperatura ambient. Les glumel·les de la flor fèrtil es van posar en remull i es van agitar de la mateixa manera. Es van posar 100 cariòspides (CA) en remull i agitant-se amb 12,5 ml d'una solució d'etanol a l'1% durant el mateix període de temps. Es va obtenir així un extracte etílic de cada fracció.

Un cop finalitzat el tractament, es va mesurar la conductivitat elèctrica de l'extracte etílic de cada fracció. Es van filtrar i recollir els extractes etílics en un recipient. Els extractes etílics de glumes i glumel·les (tant de la flor estèril com de la flor fèrtil) es van barrejar. Es va menysprear l'extracte etílic de les cariòspides, que estava més diluït.

L'extracte etílic de glumes i glumel·les (25 ml en total) es va diluir amb 15 ml d'aigua destil·lada. Aquesta dilució es va fer servir per fer germinar les cariòspides separades de les bràctees per fricció (de l'any 2007, CF07), humitejant el paper de filtre amb 3 ml d'extracte etílic enlloc d'aigua. Com a control es van posar a germinar CF07 amb 3 ml d'aigua destil·lada. Per garantir que els efectes observats es deuen a substàncies extretes de les cobertes i no al propi etanol, es van diluir 25 ml d'etanol amb 15 ml d'aigua destil·lada (aproximadament etanol 3%) i també es va utilitzar per fer germinar cariòspides separades de les bràctees per fricció, afegint 3 ml d'etanol 3% a cada placa.

El mateix procediment es va seguir amb cariòspides separades de les bràctees per fricció de l'any 2006 (CF06), que són llavors no-latents.

Les 100 cariòspides (CA) que van estar en remull amb etanol 1% durant 24 hores es van recollir i es van posar a germinar amb 3 ml d'aigua destil·lada.

Taula 2. Tractaments provats en aquest experiment i tipus i número d'unitats per tractament.

Situació de les cobertes	Any de recol·lecció	Tractament	Núm. plaques	Unitats /placa	Total unitats
CF	07	Aigua destil·lada en placa	5	50	250
CF	07	etanol 3% en placa	5	50	250
CF	07	extracte etílic en placa	5	50	250
CF	06	aigua destil·lada en placa	5	50	250
CF	06	etanol 3% en placa	5	50	250
CF	06	extracte etílic en placa	5	50	250
CA	07	remullades amb etanol 1% + aigua destil·lada en placa	5	20	100

Les llavors es van fer germinar en una cambra de germinació a 12/12 h (20/30 °C + fosc/llum) durant 30 dies. Es van revisar periòdicament i es van retirar les llavors germinades (se'n pot distingir la radícula, veure figura 5). La humitat del paper de filtre es va mantenir afegint aigua destil·lada quan era necessari.

Com que la germinació és completa abans dels 30 dies en tots els tractaments (excepte l'últim), per poder observar diferències entre els tractaments no és suficient amb els percentatges de germinació, pel que s'han ajustat unes funcions Weibull descriptives de la germinació acumulada de la manera que s'explicarà a l'apartat 3.5.1.

El percentatge de germinació de les cariòspides posades en remull amb etanol 1% s'analitzarà conjuntament amb els resultats obtinguts en el següent experiment amb hipoclorit sòdic i peròxid d'hidrogen.

3.4.3. Trencament de la latència amb hipoclorit sòdic i peròxid d'hidrogen

Es volia comprovar si substàncies com l'hipoclorit sòdic (NaOCl) i el peròxid d'hidrogen (aigua oxigenada, H₂O₂) poden trencar la latència de les llavors de *Digitaria sanguinalis*.

Es van posar en remull amb 10 ml d'hipoclorit sòdic diluït al 3% cariòpsides pelades a mà (CA), cariòpsides separades de les bràctees per fricció (CF), cariòpsides amb glumel·les (CG) i espiguetes amb totes les cobertes (ES). Es van mantenir així durant 3 hores a temperatura ambient, sense agitar-les. Després es van filtrar i es van posar a germinar en plaques de Petri amb 3 ml d'aigua destil·lada.

També es van posar en remull amb 10 ml d'aigua oxigenada diluïda a l'1,5% cariòpsides pelades a mà (CA), cariòpsides separades de les bràctees per fricció del 2007 (CF), cariòpsides amb glumel·les (CG) i espiguetes amb totes les cobertes (ES). Es van mantenir així durant 24 hores a temperatura ambient, agitant-les. Després es van filtrar i es van posar a germinar en plaques de Petri amb 3 ml d'aigua destil·lada.

Taula 3. Tractaments provats en aquest experiment i tipus i número d'unitats per tractament.

Situació de les cobertes	Any de recol·lecció	Tractament	Núm. plaques	Unitats /placa	Total unitats
CA	07	remullades amb NaOCl 3%	5	20	100
CF	07	remullades amb NaOCl 3%	5	50	250
CG	07	remullades amb NaOCl 3%	5	20	100
ES	07	remullades amb NaOCl 3%	5	50	250
CA	07	remullades amb H ₂ O ₂ 1,5%	5	20	100
CF	07	remullades amb H ₂ O ₂ 1,5%	5	50	250
CG	07	remullades amb H ₂ O ₂ 1,5%	5	20	100
ES	07	remullades amb H ₂ O ₂ 1,5%	5	50	250

Les llavors es van fer germinar en una cambra de germinació a 12/12 h (20/30 °C + fosc/llum). Es van revisar periòdicament i es van retirar les llavors germinades (es pot distingir la radícula, veure figura 5). La humitat del paper de filtre es va mantenir afegint aigua destil·lada quan era necessari.

L'anàlisi estadístic de les dades s'ha fet a través del procediment GLM del paquet estadístic SAS (SAS Institute, 1999) per a l'anàlisi de la variància i la separació de mitjanes amb el test de Tukey HSD ($P \leq 0,05$). Els percentatges de transformació final s'han transformat prèviament mitjançant la fórmula (2).

3.5. Requeriments tèrmics de germinació

Es van utilitzar llavors de *Digitaria sanguinalis* recollides el 9 de novembre de l'any 2006. Aquestes llavors són no-latents. Els experiments es van dur a terme entre els mesos de novembre de 2007 i maig de 2008. Les llavors es van netejar amb una dissolució de NaOCl al 5%, agitant durant 10 minuts, abans d'iniciar els tractaments.

Les llavors es van fer germinar en plaques de Petri de la manera que s'ha descrit a l'apartat 3.3. El paper de filtre es va humitejar inicialment amb 3 ml d'aigua destil·lada. Durant l'experiment es va afegir aigua destil·lada per evitar que s'assequés el paper de filtre. Per evitar que les plaques a temperatures més elevades no s'asseguessin massa ràpid, es van segellar les plaques amb parafilm.

Es van utilitzar cambres de germinació amb fluorescents. Les cambres es van programar per mantenir una temperatura constant i un règim lumínic de 12/12 h (llum/fosc). Les llavors es van sotmetre a diferents temperatures constants. Les temperatures provades van ser 4, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 35, 38, 40, 42 i 45 °C. Es va fer un test control en una cambra programada a 12 hores a 30 °C i llum i 12 hores a 20 °C i fosc.

Per cada temperatura, inclòs el tractament control, també es van preparar plaques sotmeses a 24 hores de fosc. Aquestes plaques es van embolicar amb paper de plata per mantenir-les en condicions de fosc i es van deixar a la mateixa cambra de germinació. Per cada temperatura i condició lumínica es van preparar 200 llavors, repartides en 4 plaques. Posteriorment, alguns tractaments es van repetir entre els mesos de març i maig. Les temperatures repetides van ser: 12, 16, 18, 24, 28, 30, 32, 38, 40 i 45 °C.

Les plaques es van revisar 1 cop al dia inicialment a temperatura ambient, i menys sovint quan s'observava un descens del ritme de germinació de les llavors. Es menysprea l'efecte de la temperatura ambient durant l'observació de les plaques. Les plaques sotmeses a

24 h de fosc es van observar en una cambra fosca, utilitzant una bombeta de llum verda de 25 W de potència. Els percentatges de germinació finals poden augmentar degut a la llum verda (Baskin i Baskin, 1979; Baskin *et al.*, 2006), encara que hi estiguin exposades poca estona.

Les llavors es van considerar germinades i es van retirar de la placa quan se'n podia distingir la radícula o el coleòptil (veure figura 5). En les temperatures més extremes, les llavors germinades es van mantenir en una placa apart per comprovar que el desenvolupament posterior fos correcte.

Les plaques es van mantenir 20 dies a les cambres de germinació. Si durant els primers 15 dies no es va observar cap llavor germinada, les plaques es van retirar en aquest termini. Les llavors no germinades es van sotmetre a un test de viabilitat amb clorur de tetrazolium (Ellis *et al.*, 1985).

Els percentatges de germinació s'han transformat utilitzant la fórmula (2) descrita a l'apartat 3.3 i s'han comparat mitjançant una anàlisi de la variància i una separació de mitjanes amb el test de Tukey HSD ($P \leq 0,05$), utilitzant el procediment GLM del paquet estadístic SAS (SAS Institute, 1999).

3.5.1. Ajust de les funcions Weibull de distribució

La germinació acumulada s'ajusta a una equació logística: comença a poc a poc, s'accelera ràpidament i declina cap a un màxim (Hsu *et al.*, 1984). Amb les dades disponibles s'ha ajustat una funció Weibull de 3 paràmetres per descriure i comparar les germinacions acumulades a diferents temperatures.

Els 3 paràmetres (π , α i θ) de les funcions Weibull s'han estimat utilitzant el mètode de màxima versemblança utilitzant l'eina Solver del programa Microsoft® EXCEL (Versió 2000) tal i com descriuen Mas i Verdú (2002).

L'equació de la funció Weibull és la següent:

$$F_{Wd} = \pi \cdot \left(1 - e^{\left(\frac{-t}{\theta} \right)^\alpha} \right) \quad (3)$$

on: F_{Wd} és la germinació acumulada en el moment t , i π , α i θ són els tres paràmetres estimats.

Aquests paràmetres ajuden a caracteritzar l'evolució de la germinació acumulada a cada temperatura i són interpretables biològicament. El paràmetre π és el percentatge final de germinació; α , és un paràmetre relacionat amb la forma de la corba; i θ , el temps que es triga a assolir el 63,21% de la germinació final des de l'inici de la imbibició.

Els paràmetres π , α i θ de cada funció s'han comparat un a un per parelles realitzant un test khi quadrat d'una cua, amb un grau de llibertat (χ^2_1) i un nivell de probabilitat de 0,05.

3.5.2. Determinació de la temperatura òptima

La temperatura òptima serà aquella a la que obtenim un major percentatge de germinació final i una major taxa de germinació. Per trobar-la es comparen els percentatges finals de germinació i els paràmetres de les funcions Weibull ajustades.

3.5.3. Determinació de la temperatura base

Per al càlcul de la temperatura base, s'han utilitzat quatre mètodes dels que utilitza Steimaus *et al.* (2000) en el seu estudi.

3.5.3.1. Mètode I) Taxa de germinació

S'han calculat les taxes de germinació per al 10%, el 30%, el 50%, el 70% i el 90% de la germinació total a cada temperatura (T_{10} , T_{30} , T_{50} , T_{70} i T_{90}) com la inversa del temps per

assolir cada percentatge de germinació. Per estimar el moment en què s'assoleixen aquests percentatges de germinació, s'han utilitzat les funcions Weibull ajustades.

Hi ha una relació lineal entre les temperatures subòptimes i les taxes de germinació (Garcia-Huidobro *et al.*, 1982). S'ha fet la regressió de les taxes de germinació contra les temperatures subòptimes utilitzant el procediment de regressió del paquet estadístic SAS (SAS Institute, 1999). El punt en què la recta talla l'eix d'abscisses és la temperatura base estimada amb aquest mètode.

3.5.3.2. Mètode II) Percentatge de germinació

S'ha calculat el percentatge de germinació per dia a cada temperatura segons la fórmula

$$\%G = \frac{100}{n} \sum_{i=0}^n \frac{G_i}{t_i \cdot G_n} \quad (4)$$

on: $i=0$ és l'inici de la imbibició, n és l'últim dia (o fracció de dia) que s'observa germinació durant el període, i G_i és el nombre de llavors totals que han germinat fins el moment t_i .

S'ha realitzat una regressió de la mateixa manera que en el cas anterior. El punt en què la recta talla l'eix d'abscisses és la temperatura base estimada amb aquest mètode.

3.5.3.3. Mètode III) Índex de taxa de germinació A (GRI_A)

S'ha calculat l'índex de taxa de germinació A (GRI_A) a partir de la fórmula

$$GRI_A = \frac{100 \cdot G_{total}}{p} \sum_{i=0}^n \frac{g_i}{t_i} \quad (5)$$

on: g_i és el número de llavors que han germinat entre els moments t_{i-1} i t_i , i tots els altres termes són tal com s'han definit en les fórmules (2) i (4).

S'ha realitzat una regressió de la mateixa manera que en el mètode I. El punt en què la recta talla l'eix d'abscisses és la temperatura base estimada amb aquest mètode.

3.5.3.4. Mètode IV) Índex de taxa de germinació B (GRI_B)

S'ha calculat l'índex de taxa de germinació B (GRI_B) a partir de la fórmula

$$GRI_B = \sum_{i=0}^n \frac{g_i}{t_i} \quad (6)$$

on: tots els termes són tal com s'ha definit en les fórmules (4) i (5).

S'ha realitzat una regressió de la mateixa manera que en el mètode I. El punt en què la recta talla l'eix d'abscisses és la temperatura base estimada amb aquest mètode.

4. RESULTATS I DISCUSSIÓ

4.1. Comprovació de l'estat de latència

Les espiguetes recollides l'any 2006 van germinar en un 100%. Les espiguetes recollides l'any 2007 només van germinar en un $6,0 \pm 2,6\%$ una setmana després de la seva recol·lecció. Les espiguetes que es van congelar fins a finals de gener van mantenir un percentatge de germinació molt baix ($8,3 \pm 2,2\%$). Aquest resultat no és significativament diferent de l'anterior.

Les llavors recollides l'any 2006 (1 any abans de posar-les a germinar) són no-latents, mentre que les llavors recollides l'any 2007 presenten un estat de latència. Congelar les llavors no va tenir efecte sobre l'estat de latència de les llavors ni el percentatge de germinació.

4.2. Paper de les cobertes en l'estat de latència

4.2.1. Observació al microscopi

Comparant l'estat de les glumes i glumel·les d'espiguetes del 2006 (no-latents) i del 2007 (latents), no es van observar danys o fissures en les glumes, glumel·les i pericarp ni en les espiguetes de l'any 2006 ni del 2007. Com que les cariòpsides es van conservar en un laboratori a temperatura ambient, és lògic que no patissin danys a les cobertes. En la natura sí que se'n podrien donar, a causa de la fricció amb les partícules del sòl (Bewley i Black, 1994).

En canvi, quan es va comparar l'estat de les cariòpsides separades de les bràctees a mà i les separades per fricció, es van observar danys i fissures en el pericarp en la zona més propera a l'embrió causades pel procés d'abrasió patit en aquestes últimes (figura 6). Les cariòpsides separades de les bràctees per fricció podrien ser més permeables a aigua i gasos.

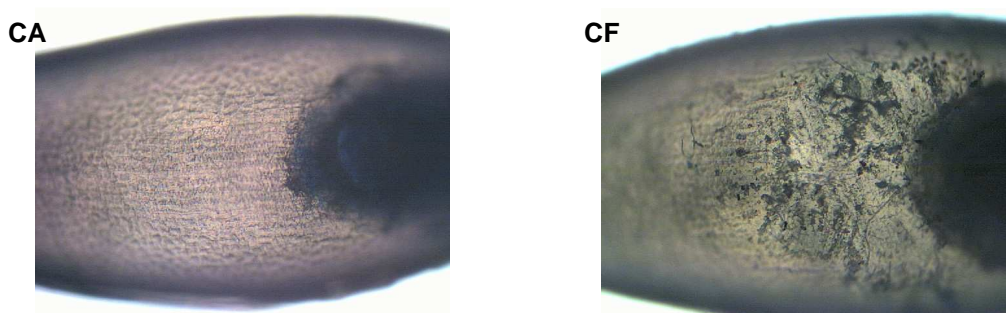


Figura 6. Comparació entre l'estat del pericarp en diferents processos de separació de les cariòpsides i les bràctees. El pericarp de la cariòpside separada de les bràctees a mà (CA) es veu en bon estat, mentre que el de la cariòpside separada de les bràctees per fricció (CF) apareix clarament danyat. Observació feta a 100x.

4.2.2. Efecte d'inhibidors presents a les cobertes: extracció amb etanol

Les cariòpsides separades de les bràctees per fricció de l'any 2006 van germinar totes al cap de 24 hores en els tres tractaments (aigua, etanol 3% i extracte etílic). Es va observar, però, que al cap de 24 hores la longitud de la radícula de les cariòpsides germinades amb aigua i etanol al 3% era superior a la de la radícula de les cariòpsides fetes germinar amb extracte etílic. Durant uns dies es va observar el desenvolupament de les plàntules. Les

plàntules amb extracte etílic es desenvolupaven més lentament que les plàntules amb aigua i etanol. No es disposa de més dades per analitzar millor els resultats.

Les cariòpsides separades de les bràctees per fricció de l'any 2007 van germinar en gairebé un 100%, però van trigar uns dies més a assolir aquest percentatge. De la mateixa manera que en el cas anterior, també es va observar un desenvolupament més lent d'aquelles cariòpsides germinades amb extracte etílic.

S'han ajustat les funcions Weibull de 3 paràmetres de la germinació acumulada d'aquestes cariòpsides (taula 4). No hi ha un efecte en el percentatge final de germinació (paràmetre π), però sí en el temps que es triga a assolir el 63,21% de la germinació final (paràmetre θ).

Taula 4. Paràmetres de les funcions Weibull estimades pel tractament control (aigua), amb etanol i amb extracte etílic en cariòpsides separades de les bràctees per fricció de l'any 2007.

Tractament	Paràmetres		
	π	α	θ
Control: aigua	0,980 a*	0,788 b	0,685 b
Etanol	1,000 a	1,200 a	1,000 b
Extracte etílic	1,000 a	1,077 ab	1,712 a

* Valors d'una mateixa columna amb diferents lletres presenten diferències estadísticament significatives a un nivell de significació de 0,05 per a aquest paràmetre.

Aquests resultats suggereixen que l'extracte etílic causa un retard en la germinació de les cariòpsides. Aquest efecte es podria deure a les substàncies inhibidores de les cobertes extretes amb l'etanol i no a un efecte del propi etanol, ja que la germinació de cariòpsides amb etanol va ser molt similar a la germinació amb aigua. Aquestes substàncies inhibidores es trobarien en les glumes i glumel·les, ja que l'extracte etílic obtingut a partir de cariòpsides no es va utilitzar en aquest experiment (per tant, no hi pot haver substàncies del pericarp).

L'extracte etílic, però, no impedeix que hi hagi germinació de les llavors, sinó que només en causa un retard. L'extracció es va realitzar amb etanol 5% que posteriorment es va diluir al 3%. Amb concentracions més altes d'etanol potser es podrien obtenir resultats més evidents. Fan falta més dades per poder treure conclusions més clares.

La presència de substàncies (siguin inhibidores o no) en els extractes etílics queda confirmada amb la mesura de les conductivitats elèctriques dels extractes etílics de les diferents fraccions. La CE de l'extracte de glumes + glumel·la de la flor estèril era 257 μ S/cm; la de l'extracte de glumel·les de la flor fèrtil, de 73,4 μ S/cm; i la de l'extracte de les cariòpsides (substàncies del pericarp), de 12,4 μ S/cm. Les mesures es van fer a temperatura ambient. L'extracte de glumes + glumel·la de la flor fèrtil tenia una major CE i el de cariòpsides en tenia la menor. Això pot ser degut a que les llavors no es van netejar, i a les cobertes més externes hi podien haver partícules estranyes (ex: pols), que fessin augmentar la CE. A mesura que mesurem la CE dels extractes de les cobertes més internes, aquest efecte disminueix. En les cariòpsides, a més, la concentració de l'etanol era cinc vegades menor (de l'1%).

4.2.3. Trencament de la latència amb hipoclorit sòdic i peròxid d'hidrogen

Els percentatges finals de germinació obtinguts amb els diferents tractaments per a cadascuna de les situacions de les cobertes de la cariòpside van ser els següents:

Taula 5. Efecte dels diferents tractaments sobre cariòpsides amb diferents situacions de les cobertes, comparació de percentatges de germinació entre diferents situacions de les cobertes (% \pm ES).

	Control: aigua	Etanol 1%	NaOCl 3%	H ₂ O ₂ 1,5%
ES	4,7 \pm 1,8% ^c ^{b*}	—	23,2 \pm 3,8% ^a	6,7 \pm 1,2% ^b
CG	—	—	26,0 \pm 2,5% ^a	33,6 \pm 4,8% ^a
CA	49,0 \pm 2,9% ^b	42,7 \pm 5,2% ^a	87,0 \pm 1,1% ^a	84,6 \pm 5,2% ^a
CF	98,0 \pm 0,0% ^a	—	18,8 \pm 2,9% ^b	48,4 \pm 3,7% ^b

* Valors d'una mateixa columna amb diferents subíndexs i valors d'una mateixa fila amb diferents superíndexs presenten diferències estadísticament significatives a un nivell de significació de 0,05.

No disposem de dades del percentatge de germinació de cariòpsides + glumel·les de la flor fèrtil. Aquestes dades es podrien inferir a partir del següent test control, en què es va voler

comparar si congelar les llavors produïa algun efecte en els percentatges de germinació de les espiguetes i les cariòpsides:

Taula 6. Efecte de congelar les llavors en el percentatge de germinació final (%±ES).

	No congelades	Congelades
ES	4,7±1,8% b*	8,1±2,2% b
CG	–	7,1±2,3% b
CA	49,0±2,9% a	40,7±3,7% a

* Valors amb diferents lletres indiquen diferències estadísticament significatives a un nivell de significació de 0,05.

Congelar les llavors no va fer variar significativament el percentatge de germinació de les llavors. Hauríem de pensar que les cariòpsides + glumel·les de la flor fèrtil tenen un percentatge de germinació semblant al de les espiguetes.

El percentatge de germinació de les espiguetes amb aigua va ser del 4,7±1,8%. Les llavors són latents. Aquest percentatge va augmentar fins a gairebé el 50% quan a les cariòpsides se'ls van separar les glumes i glumel·les, i va ser gairebé complet (98,0±0,0%) si les cariòpsides es van separar de les bràctees per fricció (taula 5). Això vol dir que la causa de la latència no és un embrió immadur, com ja van dir Gianfagna i Pridham (1951), sinó alguna propietat de les cobertes. Sembla un cas de latència fisiològica no-profunda (d'acord amb la classificació utilitzada per Baskin i Baskin (1998) dels tipus de latència), característica de les llavors de les gramínies.

La mateixa tendència es va observar amb les llavors tractades amb NaOCl i H₂O₂: els percentatges de germinació van augmentar (no significativament en el tractament de NaOCl) en espiguetes a les que se'ls havia retirat les glumes i glumel·la de la flor estèril i van arribar a percentatges molt elevats de germinació si, a més, se'ls havia retirat les glumel·les de la flor fèrtil (87,0±1,1% i 84,6±5,2% respectivament). Sembla que l'efecte dels tractaments estigui relacionat amb alguna propietat del pericarp, ja que la seva eficàcia augmenta a mesura que retirem les glumes i glumel·les que cobreixen la cariòpside.

En les cariòpsides separades de les bràctees per fricció, el percentatge de germinació de les llavors tractades va disminuir significativament respecte les cariòpsides separades de les bràctees a mà. És possible que això es degués a l'estat del pericarp de les cariòpsides separades de les bràctees a mà i de les separades per fricció.

En les cariòpsides separades de les bràctees a mà, el pericarp es troba en bones condicions i impermeabilitza en un cert grau la llavor, de manera que la meitat arriben a germinar però l'altra meitat no. Si apliquem NaOCl o H₂O₂, hi ha un procés d'escarificació que danya aquest pericarp i permet un millor intercanvi de substàncies i, per tant, major percentatge de germinació. Els resultats obtinguts s'assemblen als de Gianfagna i Pridham (1951).

En les cariòpsides separades per fricció, el pericarp es troba danyat. Així, l'aigua pot entrar més fàcilment i permetre una germinació gairebé completa. Una possible explicació per al descens del percentatge de germinació en el cas dels tractaments amb NaOCl i H₂O₂ és que el NaOCl i l'H₂O₂ no troben cap barrera al pericarp i penetren fàcilment cap a l'interior de la llavor, provocant danys en els seus teixits interns, en l'endosperma i/o en l'embrió.

Aquesta teoria és coherent amb els resultats obtinguts amb el test de tetrazolium. Un 45% de les cariòpsides separades de les bràctees a mà i germinades amb aigua no van aparèixer amb l'embrió tenyit. Normalment qualificaríem aquestes llavors de "no viables", però és molt improbable que hi hagués un percentatge tant elevat de llavors no viables, de manera que la interpretació més plausible és que el pericarp en bon estat impedisís l'entrada del tetrazolium i la tinció de l'embrió. Tallant aquestes cariòpsides sense danyar l'embrió, al cap d'un temps sí que apareixien tenyides.

En les cariòpsides germinades amb NaOCl, H₂O₂ o separades de les bràctees per fricció (control), en canvi, els percentatges de llavors "no viables" va ser molt menor. Les cariòpsides separades de les bràctees per fricció i tractades amb NaOCl i H₂O₂ no es van poder sotmetre a aquest test perquè apareixien en molt mal estat, estovades i inconsistents, amb tots els teixits danyats.

En les espiguetes, el tractament amb H₂O₂ no va fer augmentar significativament el percentatge de germinació, però va ser lleugerament superior al control amb aigua. El tractament amb NaOCl sí que va tenir un efecte més important (23,2±3,8% de germinació enfront del 4,7±1,8% del control). En les cariòpsides + glumel·les i cariòpsides separades de les bràctees a mà van augmentar els percentatges de germinació progressivament, tot i que no en

tots els casos hi ha diferències estadísticament significatives. Per a les cariòpsides separades de les bràctees per fricció, el NaOCl va causar un percentatge menor de germinació (major dany en els teixits).

En general es comprova que el NaOCl té una major eficiència que l'H₂O₂ en el trencament de l'estat de latència, com afirma Simpson (1990). Sembla que el NaOCl és un tractament més agressiu que l'H₂O₂. Això també podria ser degut a la major concentració del NaOCl que de l'H₂O₂ en aquest experiment.

El tractament amb etanol no va causar variacions significatives en el percentatge de germinació respecte el tractament control. Això suggereix que no hi ha presència de substàncies inhibidores al pericarp, tot i que també podria ser degut a la baixa concentració de l'etanol (etanol 1%).

Sembla, doncs, que hi ha un efecte de les cobertes i un efecte dels tractaments amb substàncies químiques provades que variarà segons la situació de les cobertes de la llavor.

4.3. Requeriments tèrmics de germinació

4.3.1. Efecte de la temperatura i de la llum

No es va observar germinació de *Digitaria sanguinalis* a temperatures inferiors a 10 °C en un període de 15 dies. A 45 °C tampoc es va observar germinació i les llavors semblava que estiguessin mortes en totes dues repeticions. Això podria ser degut a la temperatura elevada o a un possible excés d'aigua.

Hi va haver germinació, doncs, en les temperatures compreses entre 10 i 42 °C. En condicions de foscor, però, la germinació va començar més tard, entre els 12 i 14 °C, tot i que sense arribar a percentatges significativament diferents al 0%.

Taula 7. Percentatges de germinació a cada temperatura segons el règim lumínic (%±ES).

Temperatura	12/12 h llum/foscor	24 h foscor
Control: 20/30 °C	100,0±0,0% a*	100,0±0,0% a
10 °C	13,8±4,8% e	0,0±0,0% e
12 °C	20,8±6,6% e	1,7±0,8% e
14 °C	60,7±3,5% d	7,5±2,9% e
16 °C	84,4±1,7% cd	52,4±8,7% d
18 °C	85,6±2,6% bc	73,3±3,0% bcd
20 °C	91,8±1,4% abc	80,3±3,3% b
22 °C	95,5±0,5% abc	79,5±4,0% bc
24 °C	98,5±0,3% a	87,0±1,6% b
26 °C	98,0±1,2% abc	86,3±3,9% ab
28 °C	98,5±0,8% a	89,1±3,1% ab
30 °C	99,0±0,5% a	80,7±5,0% b
32 °C	97,2±1,2% ab	90,4±1,8% ab
35 °C	98,9±0,6% ab	91,6±4,4% ab
38 °C	94,6±0,8% abc	75,6±4,4% bc
40 °C	93,2±4,0% abc	49,3±5,4% cd
42 °C	27,4±3,2% e	9,3±4,0% e

* Valors d'una mateixa columna amb diferents lletres presenten diferències estadísticament significatives a un nivell de significació de 0,05.

La germinació va ser completa a les condicions control (20 °C/30 °C) tant en condicions d'alternança llum/foscor com en foscor durant les 24 h.

Per a les demés temperatures provades els percentatges de germinació van augmentar gradualment fins que es van estabilitzar força a partir de 24 °C. Aquest augment va ser més ràpid entre 10 °C i 16 °C i lent fins a 24 °C. Ellis *et al.* (1986) van observar una tendència de replà semblant en els percentatges de germinació a mesura que ens apropem a la temperatura òptima per a *Cicer arietinum*. A partir de 35-38 °C es va començar a observar una lleugera disminució del percentatge de germinació que va acabar de forma brusca entre 40 i 42 °C. La

disminució del percentatge de germinació va ser més brusca en condicions de foscor a partir de 35 °C. L'evolució del percentatge de germinació segons la temperatura es troba representada a la figura 7. Aquestes dades coincideixen amb la informació que ens donen Toole i Toole (1941) i King i Oliver (1994) al respecte.

Es va observar un major percentatge de germinació en aquelles llavors sotmeses a un règim lumínic de llum/foscor (12/12 h) que en les llavors sotmeses a 24 h de foscor. Hi ha diferències significatives entre tots dos tractaments. Sembla que hi hagi major variabilitat entre els percentatges de germinació de les plaques en els tractaments de foscor, que es podria atribuir a l'efecte de l'exposició a la llum verda durant diferents períodes de temps mentre es feia el recompte de les llavors germinades o a la llum rebuda mentre es preparaven les plaques. Això reforçaria encara més la hipòtesi que la llum estimula la germinació de les llavors de *D. sanguinalis*, com afirmen Toole i Toole (1941) i Felipe i Polo (1983). Altres espècies també s'ha observat que germinen en major proporció si hi ha llum que en foscor, com, per exemple, espècies adaptades a ambients sense treball del sòl (Faccini i Puricelli, 2006).

Estadísticament hi ha un efecte significatiu de la interacció entre llum i temperatura. No obstant, observant la figura 7 sembla que aquest resultat es deu a la proximitat dels resultats a temperatures extremes (ambients restrictius amb tendència al 0% de germinació) i a la variabilitat en els percentatges de germinació, sobretot en els tractament de foscor.

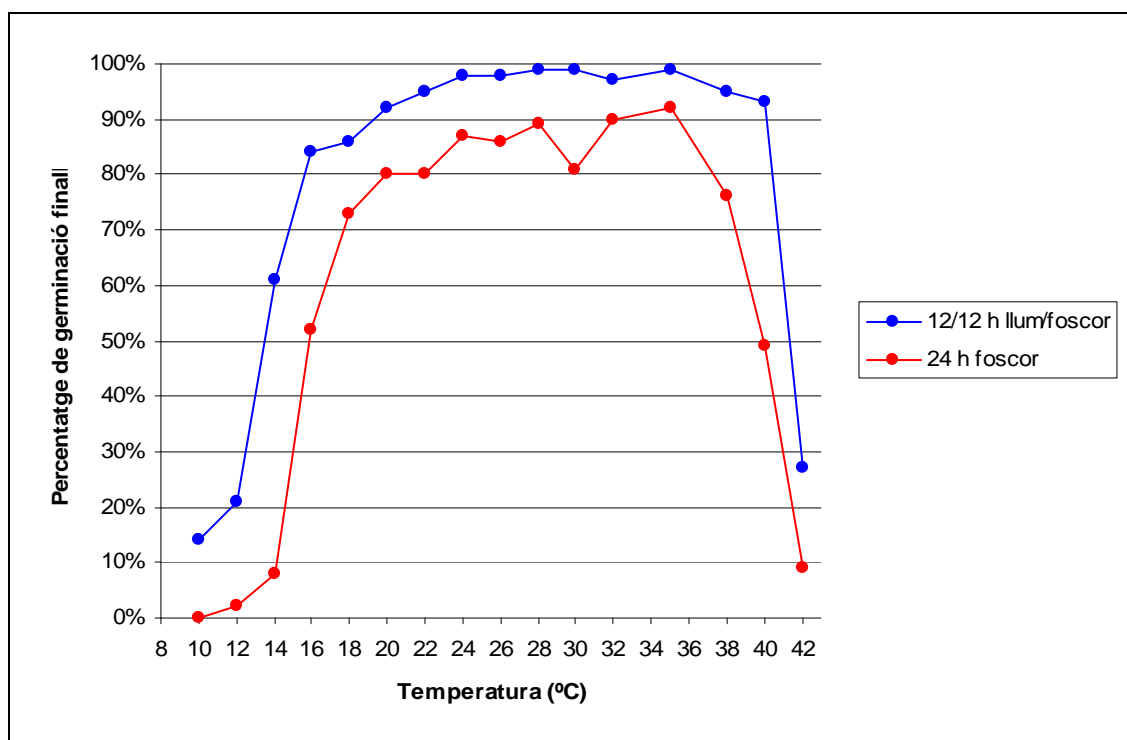


Figura 7. Evolució dels percentatges de germinació final a cada temperatura segons el règim lumínic.

Només s'han ajustat a la funció Weibull de 3 paràmetres les dades de les plaques amb condicions de llum/foscor, ja que hi ha molta variabilitat entre els percentatges de germinació de les plaques en foscor i s'ha cregut innecessari.

A la taula 8 hi trobem els paràmetres de les funcions Weibull ajustades per cada temperatura. Les figures 8-24 faciliten la interpretació dels paràmetres de la funció Weibull mostrats a la taula 8. El bon ajust de les funcions Weibull per a les dades de les plaques amb condicions de llum/foscor es pot comprovar a les figures 8-24, on es representen els percentatges de germinació observats en cada moment i els predits per la funció Weibull ajustada. També s'hi inclouen els percentatges de germinació observats en condicions de foscor, i s'hi pot apreciar la major variabilitat en els percentatges de germinació observats en condicions de foscor. A més a més de la variació del percentatge de germinació acumulada a mesura que augmenta la temperatura i el temps que passa abans no comenci la germinació a temperatures més baixes.

Taula 8. Paràmetres de les funcions Weibull estimades per cada temperatura.

Temperatura	Paràmetres		
	π	α	θ
Control 20/30 °C	1,000 a*	1,474 hi	3,537 gh
10 °C	0,136 k	18,860 a	16,837 a
12 °C	0,217 j	5,896 b	15,464 b
14 °C	0,607 h	4,453 c	10,293 c
16 °C	0,844 g	3,539 d	5,836 e
18 °C	0,854 g	2,581 e	5,233 f
20 °C	0,918 f	3,440 d	2,402 k
22 °C	0,955 cd	1,924 f	3,308 hi
24 °C	0,990 ab	2,407 e	3,649 gh
26 °C	0,980 ab	1,790 fg	3,378 gh
28 °C	0,985 ab	1,653 gh	2,497 k
30 °C	0,990 ab	1,510 h	3,379 gh
32 °C	0,973 bc	0,973 k	2,842 ik
35 °C	0,990 ab	1,249 j	3,392 gh
38 °C	0,944 de	1,210 j	3,842 g
40 °C	0,920 ef	1,173 jk	5,308 f
42 °C	0,293 i	1,285 ij	8,243 d

* Valors d'una mateixa columna amb diferents lletres presenten diferències estadísticament significatives a un nivell de significació de 0,05 per a aquest paràmetre.

Control: 20/30 °C

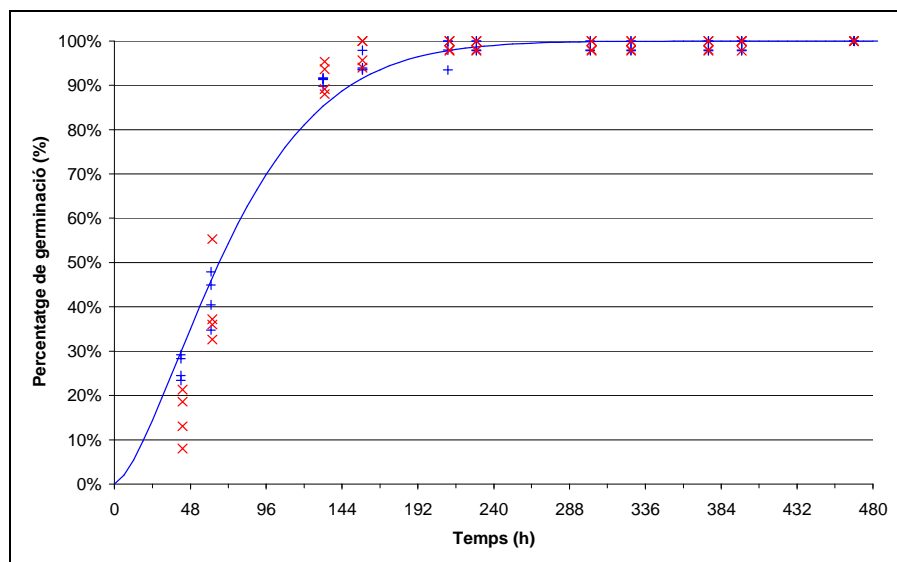


Figura 8. Germinació a temperatura control: 20/30 °C.

10 °C

- + 12/12 h llum/foscor
- Prediccions Weibull (llum/foscor)
- x 24 h foscor

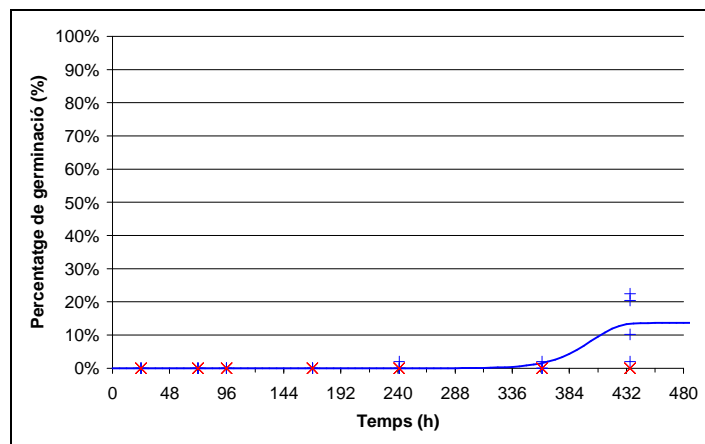


Figura 9. Germinació a 10 °C.

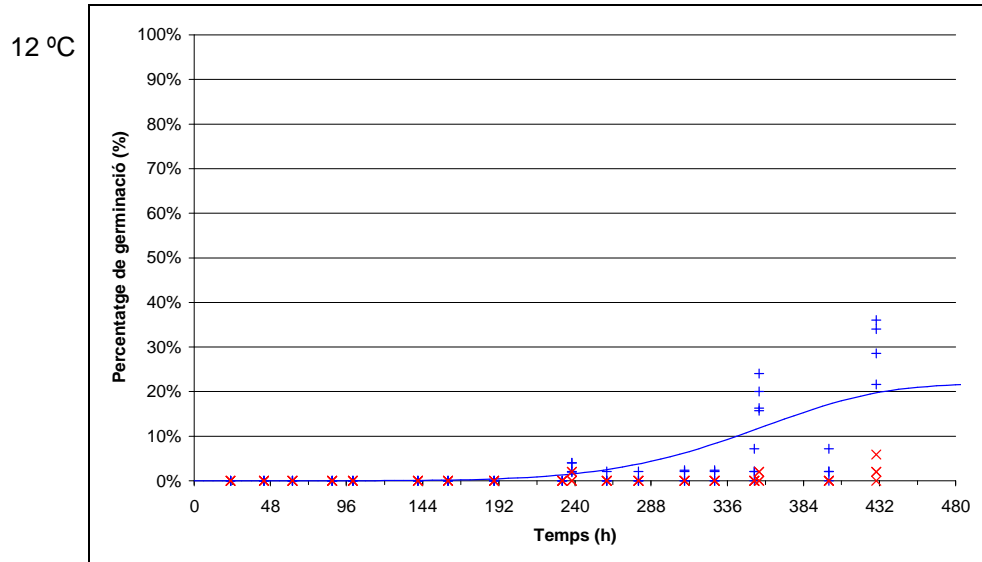


Figura 10. Germinació a 12 °C.

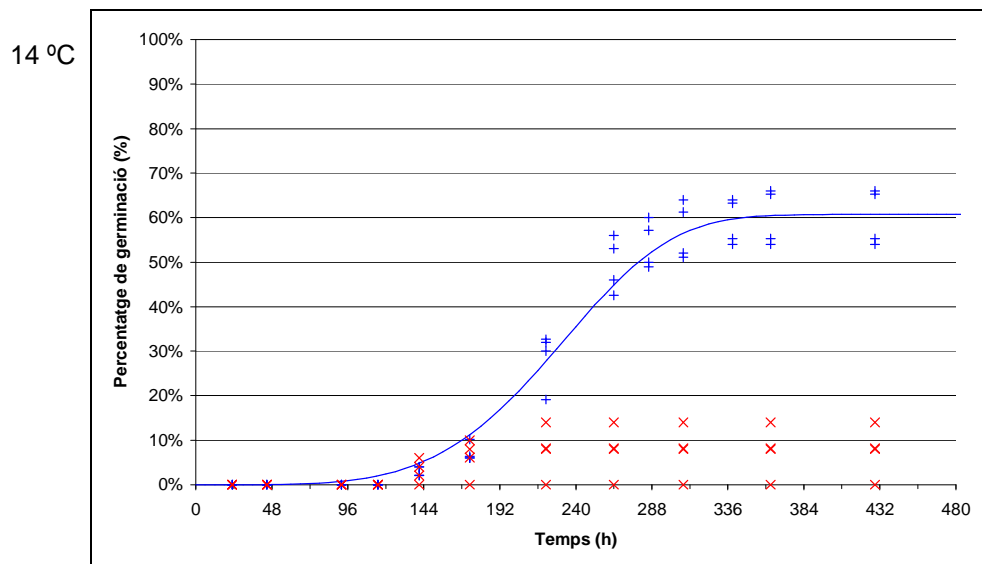


Figura 11. Germinació a 14 °C.

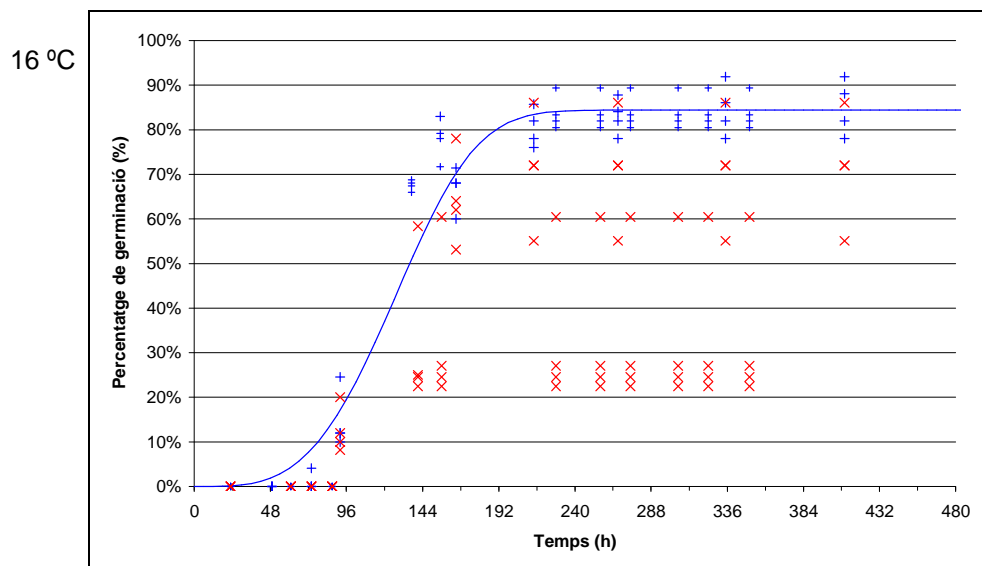


Figura 12. Germinació a 16 °C.

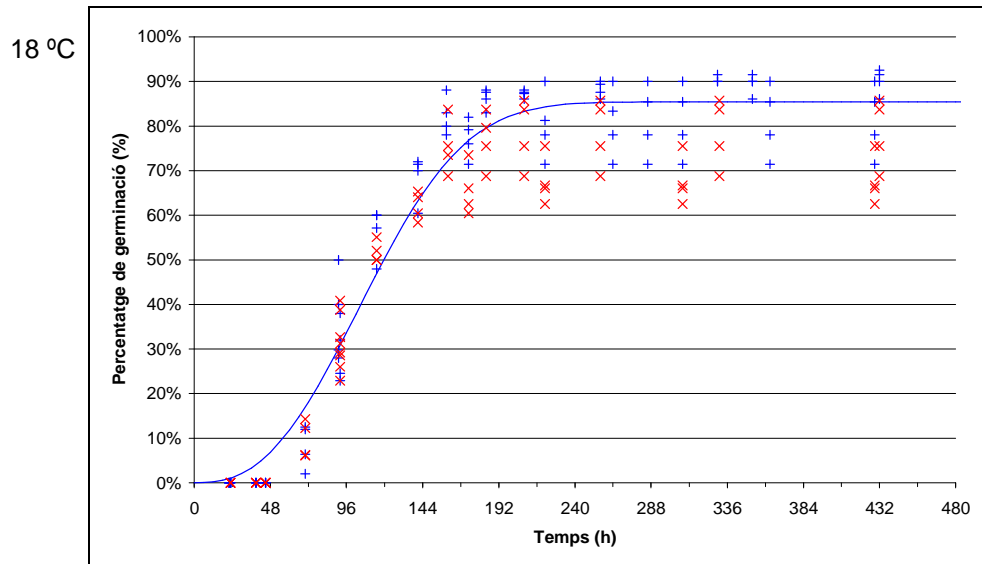


Figura 13. Germinació a 18 °C.

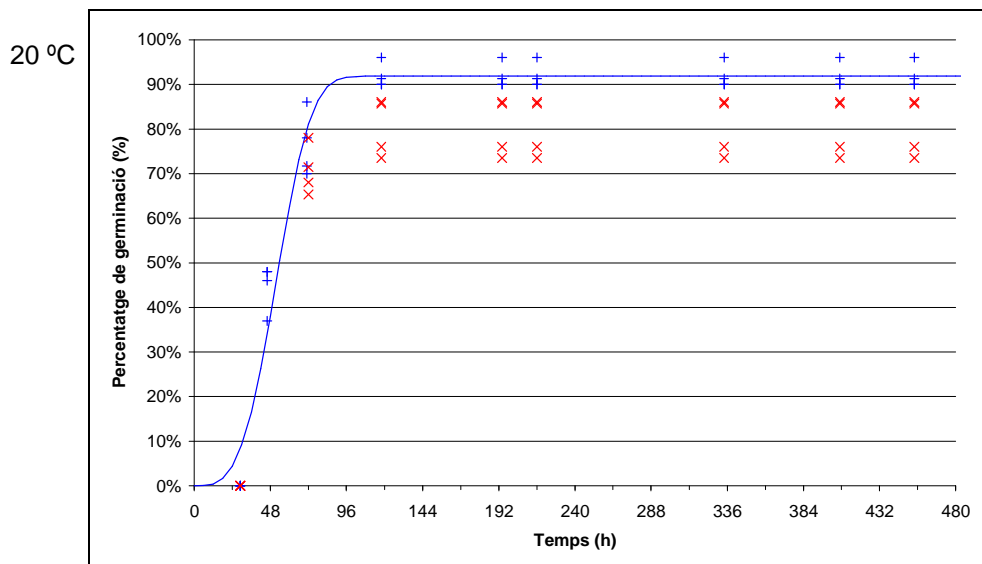


Figura 14. Germinació a 20 °C.

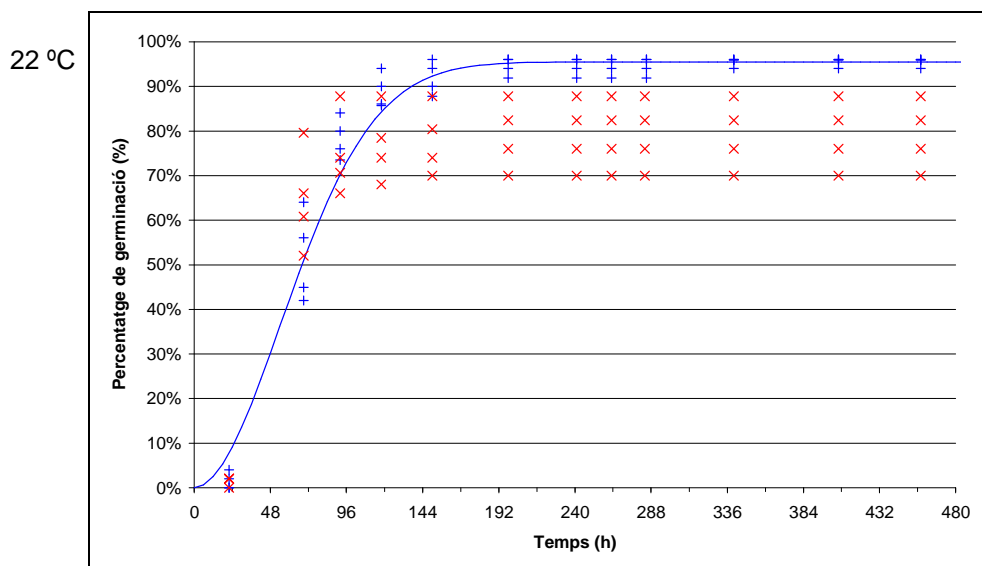


Figura 15. Germinació a 22 °C.

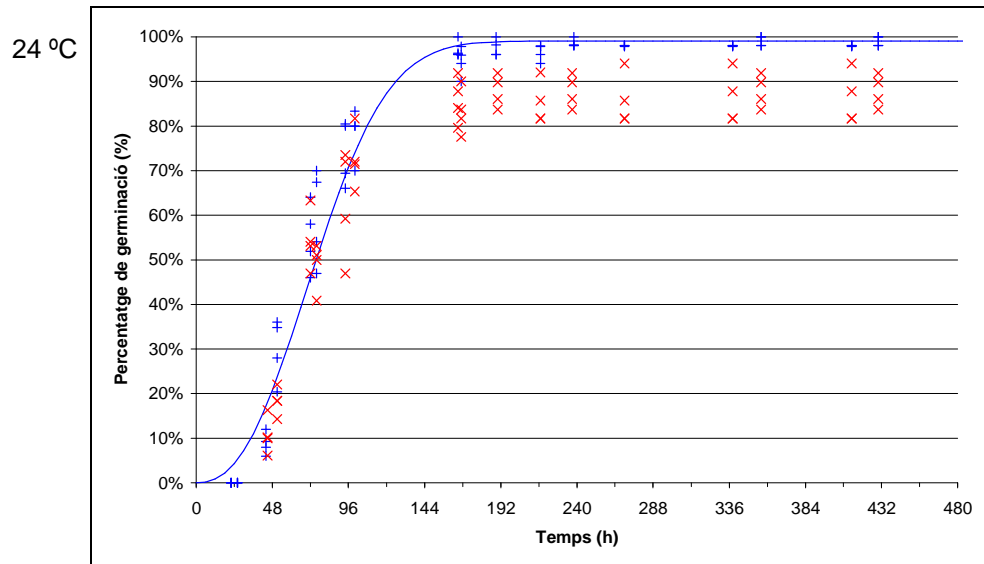


Figura 16. Germinació a 24 °C.

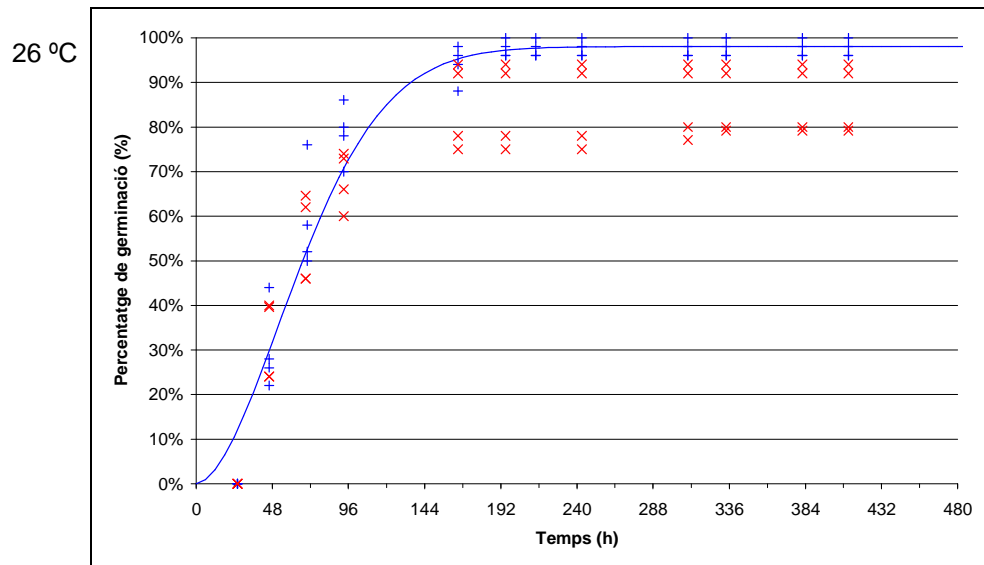


Figura 17. Germinació a 26 °C.

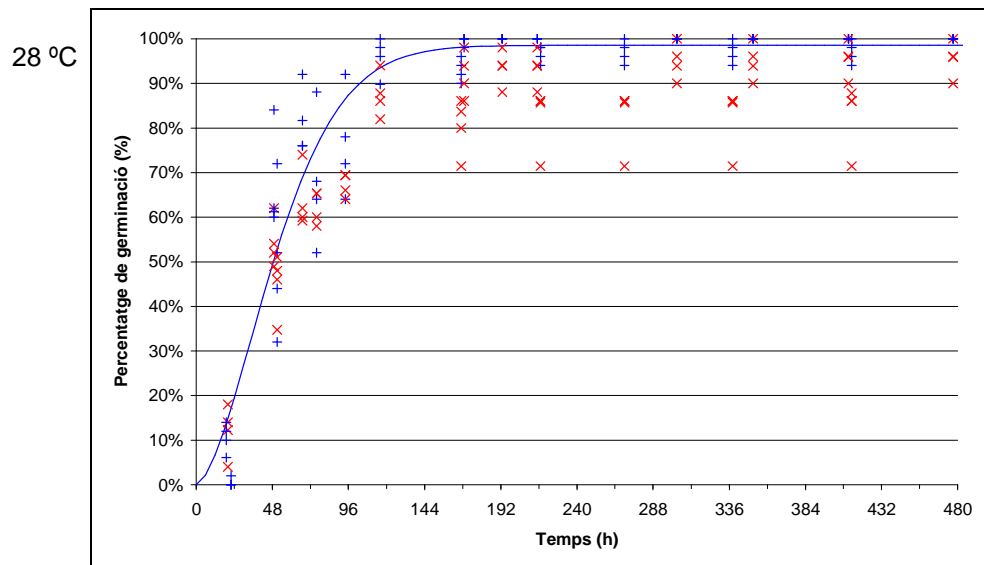


Figura 18. Germinació a 28 °C.

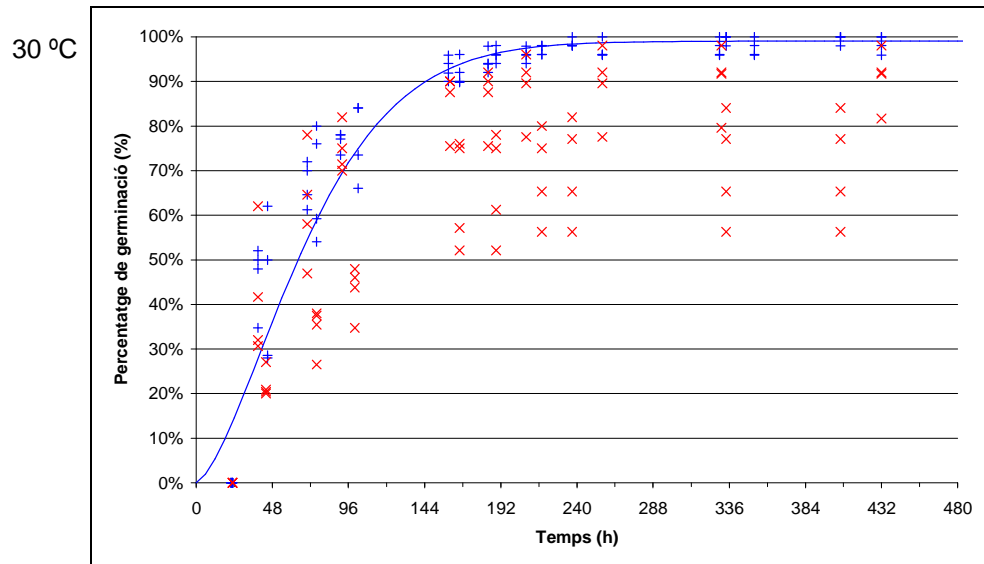


Figura 19. Germinació a 30 °C.

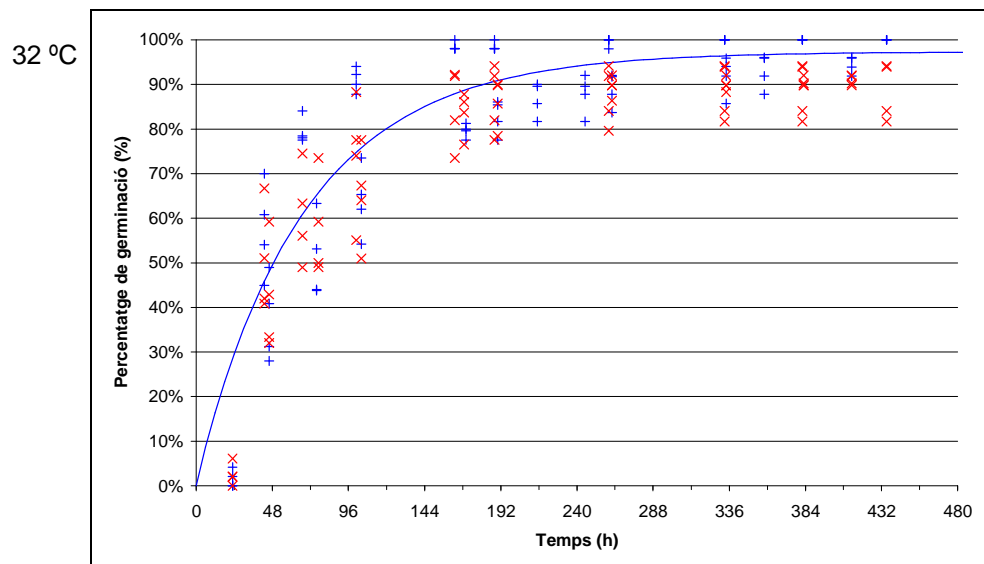


Figura 20. Germinació a 32 °C.

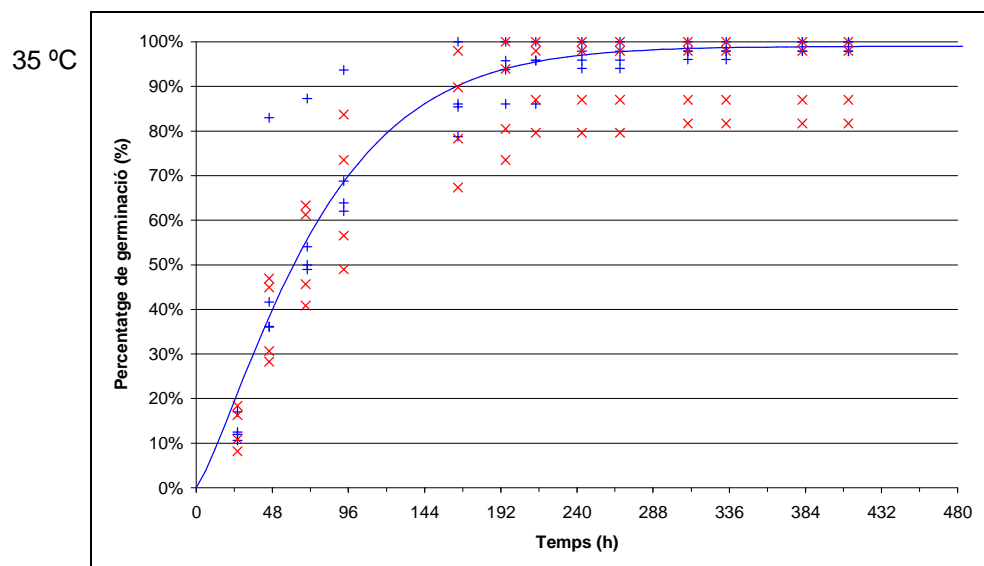


Figura 21. Germinació a 35 °C.

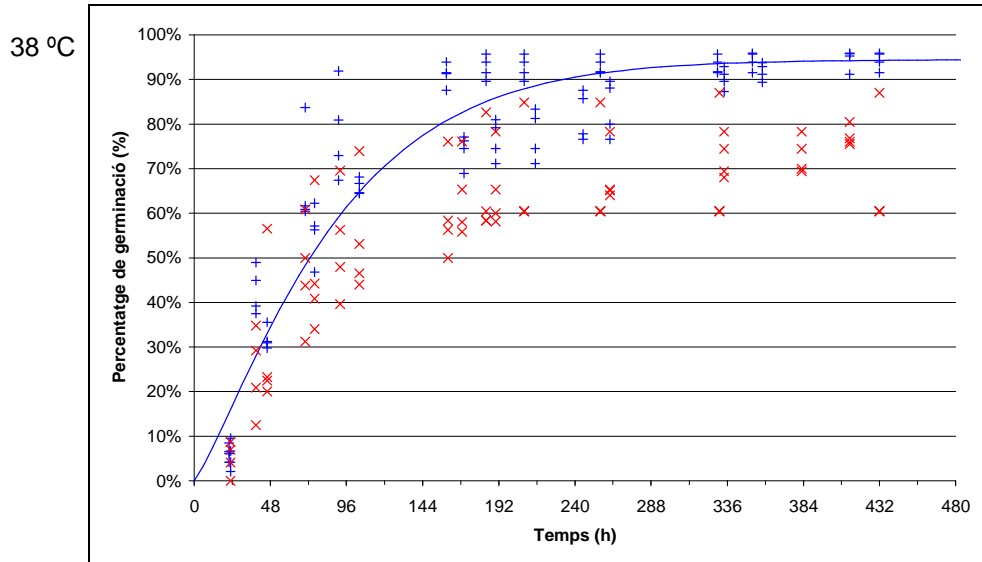


Figura 22. Germinació a 38 °C.

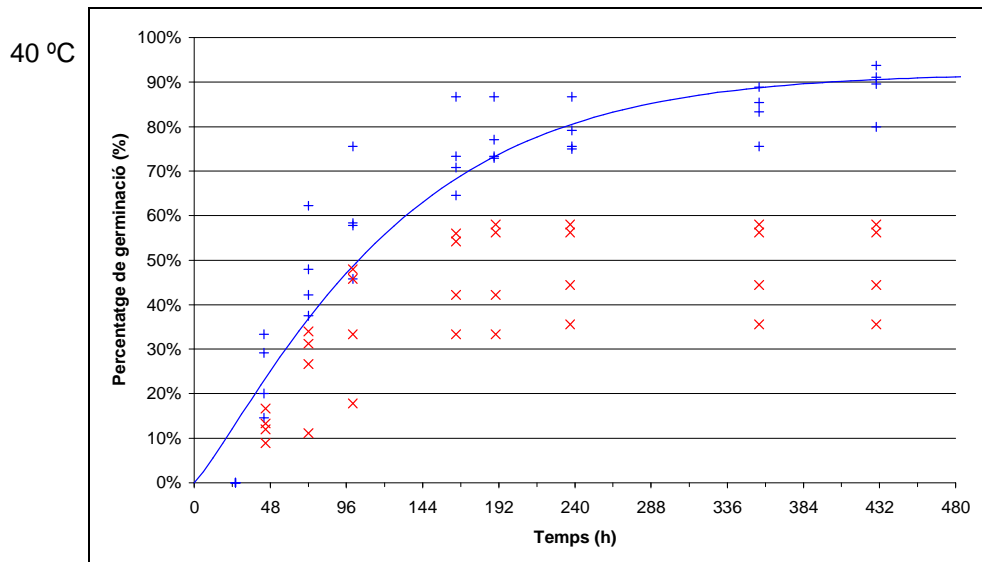


Figura 23. Germinació a 40 °C.

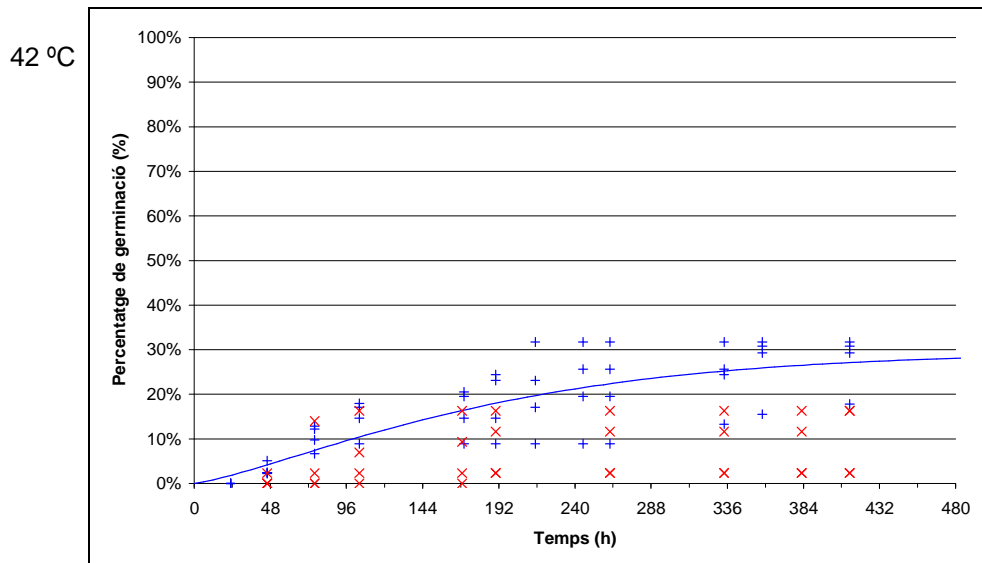


Figura 24. Germinació a 42 °C.

4.3.2. Temperatura òptima

S'ha pres com a temperatura òptima de germinació aquella temperatura a la que s'observa un major percentatge de germinació en el mínim temps possible (major taxa de germinació).

El màxim percentatge de germinació es va observar a una temperatura de 30 °C. Aquest resultat però, no és significativament superior a cap temperatura compresa entre els 20 i els 40 °C. Intuïtivament, sembla que la temperatura òptima es troba entre 24 i 35 °C, que és el rang on es va observar una germinació gairebé completa.

Si comparem els paràmetres de les funcions Weibull estimades (π , α i θ), confirmem que efectivament no hi ha diferències significatives en el paràmetre π entre aquestes temperatures. En canvi, el paràmetre θ (temps necessari fins arribar al 63,21% de la germinació final) de la funció Weibull estimada per a la germinació a 28 i 32 °C és significativament inferior a la de la resta de temperatures. Per tant, a 28 i 32 °C la germinació va ser més ràpida que en la resta de temperatures provades.

Aquests resultats indiquen que la temperatura òptima es troba entre 28 i 30 °C. Una temperatura òptima de 28-30 °C no difereix excessivament de les observades per altres autors. Masin *et al.* (2005a) utilitzen una temperatura òptima de 26 °C. King i Oliver (1994) van observar que la màxima emergència es produeix a 25 °C i que la taxa d'emergència augmenta amb la temperatura fins a 30 °C i disminueix entre 30 i 35 °C; suggerint que la temperatura òptima es troba al voltant dels 25-30 °C. King i Oliver (1994) assenyalen que sovint la temperatura òptima és superior per a la taxa de germinació que per al percentatge de germinació, com és el nostre cas.

Per al nostre estudi, s'ha considerat una temperatura òptima de 28 °C. A aquesta temperatura es va observar un percentatge molt alt de germinació amb la taxa de germinació més elevada.

4.3.3. Temperatura base

S'ha utilitzat 28 °C com a temperatura òptima. Per tant, treballarem en el rang de temperatures subòptimes de 10 a 28 °C. En el mètode II s'ha calculat la temperatura base utilitzant totes les dades però també utilitzant només les dades d'entre 10 i 18 °C per aconseguir un millor coeficient de determinació de la recta de regressió. Per prendre aquesta decisió ens hem basat en la figura 7, on es veu que el creixement del percentatge de germinació és molt més ràpid a temperatures inferiors a 18 °C que a temperatures superiors a aquesta. Tots dos resultats per aquest mètode i els resultats pels altres mètodes es troben resumits a la taula 9 i a les figures 25-27, juntament amb els resultats obtinguts per Steinmaus *et al.* (2000) utilitzant els mateixos mètodes.

Taula 9. Estimacions de la temperatura base (T_b) mitjançant la regressió de diversos índexs contra les temperatures subòptimes. Comparació amb els resultats obtinguts per Steinmaus *et al.* (2000).

Mètode	Paràmetres		R^2	T_b (°C)	Steinmaus <i>et al.</i> (2000)
	a^*	b			
I)					
T_{10}	-0,82488	0,07594	0,8912	10,862	-
T_{30}	-0,33228	0,03617	0,8742	9,187	-
T_{50}	-0,18650	0,02380	0,8109	7,836	13,65±0,82
T_{70}	-0,10502	0,01659	0,7174	6,330	-
T_{90}	-0,04081	0,01063	0,5620	3,839	-
II) %G					
10-28 °C	-6,86616	0,70748	0,6630	9,705	14,00±0,95
10-18 °C	-7,81286	0,75537	0,8748	10,343	-
III) GRI_A	-63,35083	5,51213	0,8980	11,493	15,74±0,58
IV) $GRIB$	-0,58771	0,05421	0,8894	10,841	16,05±0,95

* On a i b són la intercepció de la recta amb l'eix d'ordenades i la pendent de la recta, respectivament.

En el mètode I (figura 25), el càlcul de la temperatura base a partir de la taxa de germinació per arribar a diferents percentatges de germinació hauria de donar-nos resultats semblants per cada percentatge de germinació provat (Ellis *et al.*, 1986). Això no és així, i

observem que la temperatura base disminueix molt a mesura que utilitzem un major percentatge de germinació per al seu càlcul. Finch-Savage *et al.* (1998) també es troba en una situació semblant. En casos com aquests està acceptada la utilització d'una sola temperatura base (Finch-Savage *et al.*, 1998). El coeficient de determinació també disminueix, la qual cosa ens indica que a majors percentatges de germinació (més temps des de la imbibició de les llavors), hi ha més variabilitat en el percentatge de germinació assolit, pel que hauríem de prendre com a vàlides només les temperatures base calculades amb T_{10} , T_{30} i T_{50} , amb què s'han obtingut majors coeficients de determinació. La temperatura base més coherent amb les obtingudes utilitzant altres mètodes és l'obtinguda amb T_{10} , amb un major coeficient de determinació. D'acord amb Steinmaus *et al.* (2000), el millor mètode per calcular la temperatura base és utilitzant la taxa de germinació per a la meitat de germinació (T_{50}), tant des del punt de vista estadístic com biològic. Finch-Savage *et al.* (1998) també consideren que la millor estimació de la temperatura base s'obté utilitzant les dades de T_{50} . En el nostre cas sembla que això no és ben bé així, però no es pot descartar aquesta temperatura base.

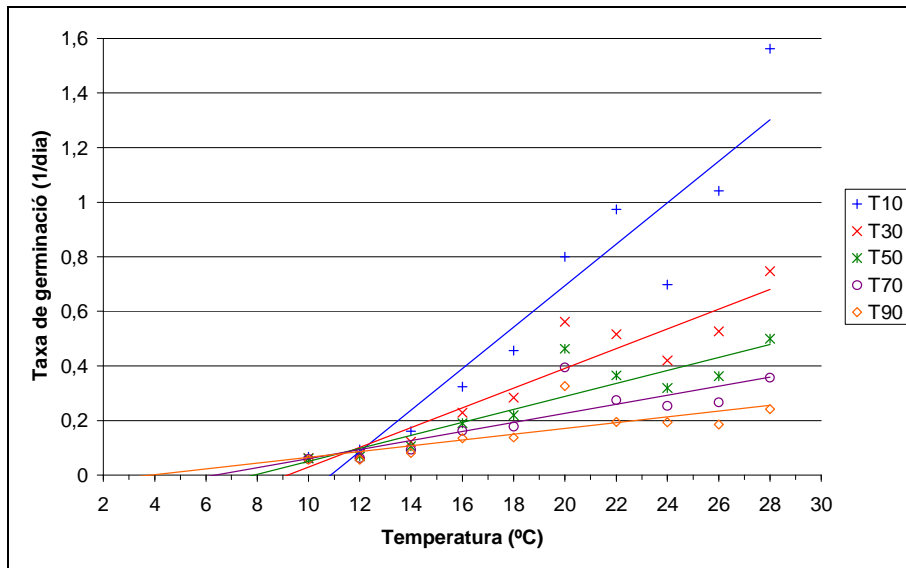


Figura 25. Rectes de regressió per al càlcul de la T_b mitjançant el mètode I.

En el mètode II (figura 26), obtenim millors coeficients de determinació si exclouem les dades de les temperatures subòptimes entre 20 i 28 °C, i la temperatura base s'apropa més a la calculada utilitzant els altres mètodes. Tots dos resultats semblen vàlids.

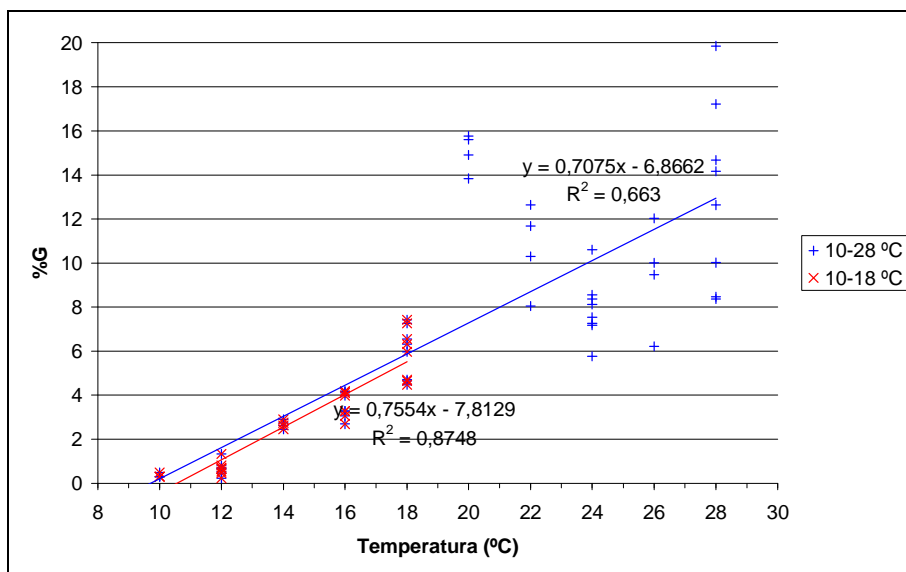


Figura 26. Rectes de regressió per al càlcul de la T_b mitjançant el mètode II.

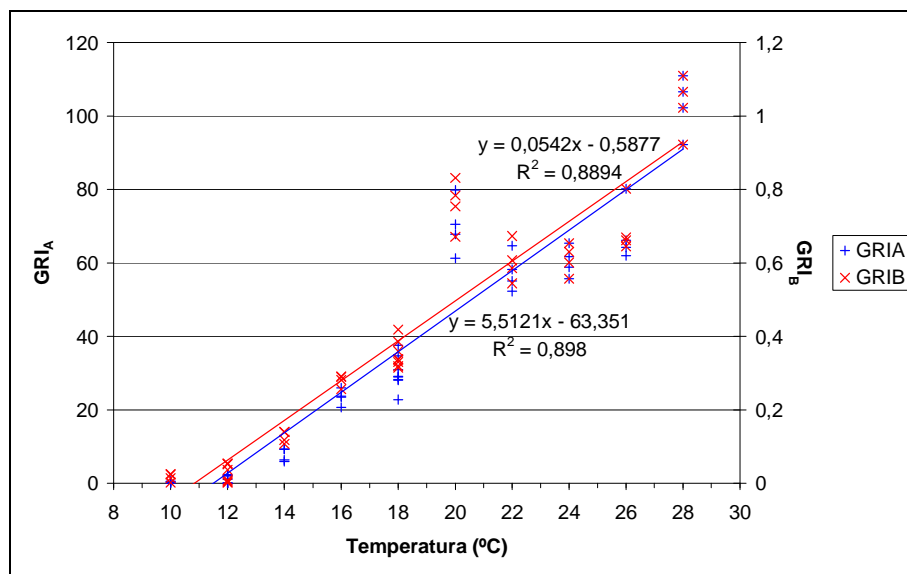


Figura 27. Rectes de regressió per al càlcul de la T_b mitjançant els mètodes III i IV.

Les temperatures base calculades amb els diferents mètodes oscil·len entre els 9 i els 11,5 °C. Tampoc es pot descartar la temperatura base estimada a partir de T_{50} , de 7,8 °C, ja és el resultat que s'ha obtingut amb el mètode més àmpliament acceptat per al càlcul de la temperatura base. Aquests resultats són inferiors a les temperatures base calculades per Steinmaus *et al.* (2000) utilitzant els mateixos procediments, però superiors a la temperatura base utilitzada per Masin *et al.* (2005a), que és de $8,4 \pm 1,07$ °C. Aquestes diferències poden ser degudes a diferents criteris de treball (ex: a l'hora de considerar quan una llavor ha germinat i quan no) o a diferències genètiques entre les poblacions. Hi ha majors diferències entre genotips de males herbes que entre genotips de cultius (Forcella *et al.*, 2000); per tant, diferents poblacions tindran diferents temperatures base i diferents requeriments tèrmics. En una mateixa població també hi ha variabilitat de temperatures base, distribuïdes de forma normal o log-normal entre els individus (Hardegree, 2006).

És una temperatura base semblant a la trobada per a *Digitaria ischaemum* per Fidanza *et al.* (2006), que és de 12 °C.

4.4. Resum dels resultats

4.4.1. Paper de les cobertes en l'estat de latència

No es van observar danys físics ni fissures a les glumes, glumel·les o pericarp de les espiguetes de llavors no-latents de *Digitaria sanguinalis* quan les vam observar al microscopi. No es van observar diferències amb les llavors latents que ens indiquessin el seu paper en la latència.

Es va comprovar, però, que l'extracció de glumes i glumel·les (de les flors estèril i fèrtil) millorava el percentatge de germinació fins a gairebé el 50%. Un procés d'abradió (en aquest cas, fricció de les cariòpsides amb paper de vidre) danyava el pericarp i les cariòpsides germinaven en un percentatge molt alt ($98,0 \pm 0,0\%$).

L'aplicació d'un extracte etílic de glumes i glumel·les no va impedir la germinació però en va provocar un retard. Això suggereix la possibilitat que hi hagi substàncies inhibidores de la germinació presents en les glumes i glumel·les de les espiguetes de *D. sanguinalis*. No obstant, un tractament de les cariòpsides amb etanol 1% no va millorar la germinació. Això podria ser degut a que aquest etanol està molt diluït. Fan falta més dades per poder aclarir aquest punt.

Tractaments d'escarificació amb substàncies químiques com el NaOCl i l' H_2O_2 van augmentar el percentatge de germinació i van trencar l'estat de latència de les cariòpsides. En general, el tractament amb NaOCl sembla més efectiu que amb H_2O_2 . Sembla que hi hagi un paper del pericarp en la latència, ja que aquests tractaments van resultar més efectius a

mesura que retirem glumes i glumel·les i arribem al pericarp. En cariòpsides amb el pericarp danyat (procés d'abradió), aquests compostos poden penetrar fàcilment la cariòpside i provocar danys en els teixits interns.

Els resultats suggereixen que un embrió immadur no és la causa de la latència i que hi ha un paper tant de les glumes i glumel·les com del pericarp. Sembla plausible la presència de substàncies inhibidores a les glumes i glumel·les combinada amb una impermeabilitat del pericarp al pas d'algunes substàncies. Totes dues hipòtesis es poden tenir en compte però cal contrastar-les en posteriors estudis.

4.4.2. Requeriments tèrmics de germinació

Digitaria sanguinalis va germinar entre 10-12 i 42 °C en condicions de llum. La llum va estimular la germinació de *D. sanguinalis* i en va fer augmentar el percentatge de germinació. El percentatge de germinació va augmentar fins a 24 °C, va presentar una tendència de replà entre 24 i 35 °C i va disminuir a partir de 35 °C.

El màxim percentatge de germinació es va assolir en temperatures alternants de 20/30 °C. En aquestes condicions, la germinació va ser completa tant en 12/12 h llum/fosc com en 24 h fosc.

En condicions de temperatura constants, el màxim percentatge de germinació es va aconseguir a 30 °C, però la taxa de germinació va ser màxima als 28 °C. La temperatura òptima es troba entre aquestes dues temperatures, 28 i 30 °C. Aquests resultats són força coherents amb les dades publicades per Masin *et al.* (2005a) i amb les observacions de King i Oliver (1994).

La temperatura base estimada es troba entre 9 i 11,5 °C. Tampoc es pot descartar una temperatura base de 7,8 °C. Hi ha molta variabilitat en els percentatges de germinació, la qual cosa fa disminuir els coeficients de determinació de les regressions. Aquests resultats són inferiors als obtinguts per Steinmaus *et al.* (2000) i superiors als de Masin *et al.* (2005a). Les diferències poden ser degudes al mètode utilitzat o a diferències genètiques entre diferents poblacions de *D. sanguinalis* a diferents zones geogràfiques.

No s'ha calculat la constant tèrmica (nombre de graus-dia necessaris per a la germinació). Aquesta dada és imprescindible si es vol elaborar un model d'integral tèrmica que permeti predir el moment d'emergència de *D. sanguinalis*. La determinació d'aquest paràmetre, potser conjuntament amb una determinació més precisa de la temperatura base i la incorporació d'altres variables com el potencial hídric, podrien ajudar al maneig més racional i sostenible d'aquesta mala herba.

5. CONCLUSIONS

D'aquest estudi se'n desprenen les següents conclusions:

- La causa de la latència de les llavors de *Digitaria sanguinalis* no és un embrió immadur, sinó que són les cobertes (glumes, glumel·les i/o pericarp) les que provoquen que aquestes llavors no germinin un cop es dispersen de la planta mare.
- En referència a les llavors d'espiguetes recentment dispersades de la planta mare:
 - 1) L'extracció de les glumes i les glumel·les (de les flors estèril i fèril) provoca que la capacitat germinativa de les llavors de *Digitaria sanguinalis* s'incrementi fins a gairebé el 50%.
 - 2) Un procés d'abrasió que danyi el pericarp de les cariòpsides possibilita que les llavors germinin fins a un percentatge proper al 100%.
 - 3) L'aplicació d'un extracte etílic de glumes i glumel·les d'aquestes espiguetes provoca un retard de la germinació. Això suggereix la possibilitat que hi hagi substàncies inhibidores de la germinació presents en les glumes i glumel·les. Fan falta més dades per poder aclarir aquest punt.
 - 4) Tractaments d'escarificació amb substàncies químiques com el NaOCl i l'H₂O₂ augmenten el percentatge de germinació i trenquen l'estat de latència de les cariòpsides.
 - 5) Sembla plausible la presència de substàncies inhibidores a les glumes i glumel·les combinada amb una impermeabilitat del pericarp al pas d'algunes substàncies. Totes dues hipòtesis cal contrastar-les en posteriors estudis.
- En referència a les espiguetes on les llavors presenten plena capacitat germinativa:
 - 1) Les llavors de *Digitaria sanguinalis* poden germinar entre 10 i 42 °C.
 - 2) La llum estimula la germinació d'aquesta espècie i fa augmentar el percentatge de germinació.
 - 3) La temperatura òptima de germinació es troba entre 28 i 30 °C.
 - 4) La temperatura base estimada es troba entre 9 i 11,5 °C, encara que no es pot descartar una temperatura base de 7,8 °C, que és el valor obtingut utilitzant el mètode per al càlcul de la temperatura base més àmpliament acceptat.

BIBLIOGRAFIA

- Allen, P.** 2003. When and how many? Hydrothermal models and the prediction of seed germination. *New Phytologist*, **158** (1): 1-3.
- Alvarado, V. i K.J. Bradford.** 2002. A hydrothermal time model explains the cardinal temperatures for seed germination. *Plant, Cell and Environment*, **25** (8): 1061-1069.
- Baskin, C.C. i J.M. Baskin.** 1998. Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. Academic Press, San Diego.
- Baskin, J.M. i C.C. Baskin.** 1979. Promotion of germination of *Stellaria media* seeds by light from a green safe lamp. *New Phytologist*, **82** (2): 381-383.
- Baskin, C.C.; K. Thompson i J.M. Baskin.** 2006. Mistakes in germination ecology and how to avoid them. *Seed Science Research*, **16** (3): 165-168.
- Behrend, S. i M. Hanf.** 1979. Malezas gramíneas en los cultivos agrícolas. BASF Aktiengesellschaft, Ludwigshafen.
- Bewley, J.D. i M. Black.** 1994. Seeds physiology of development and germination. 2a edició. Plenum Press, Nova York.
- Bierhuizen, J.F. i W.A. Wagenvoort.** 1974. Some aspects of seed germination in vegetables: 1. The determination and application of heat sum and minimum temperature for germination. *Scientia Horticulturae*, **2** (3): 213-219.
- Bolòs, O. de, i J. Vigo.** 2001. Flora dels Països Catalans, vol. IV. Ed. Barcino, Barcelona.
- Bolòs, O. de; J. Vigo, R.M. Masalles i J.M. Ninot.** 2005. Flora manual dels Països Catalans. 3a edició. Ed. Pòrtic, Barcelona.
- Bradford, K.J.** 2002. Applications of hydrothermal time to quantifying and modeling seed germination and dormancy. *Weed Science*, **50** (2): 248-260.
- Carberry, P.S. i L.C. Campbell.** 1989. Temperature parameters useful for modeling the germination and emergence of pearl millet. *Crop Science*, **29** (1): 220-223.
- Cousens, R. i M. Mortimer.** 1995. Dynamics of weed populations. Cambridge University Press, Cambridge.
- Ellis, R.H.; S. Covell, E.H. Roberts i R.J. Summerfield.** 1986. The influence of temperature on seed germination rate in grain legumes. II. Intraspecific variation in chickpea (*Cicer arietinum* L.) at constant temperatures. *Journal of Experimental Botany*, **37** (183): 1503-1515.
- Ellis, R.H.; T.D. Hong i E.H. Roberts.** 1985. Handbook of seed technology for genebanks, vol. I. Principles and methodology. *International Board for Plant Genetic Resources*.
- Faccini, D. i E. Puricelli.** 2006. Efecto de la temperatura y de la luz sobre la germinación de *Nicotiana longiflora* Cavanilles y *Oenothera indecora* Camb. *Agriscientia*, **23** (1): 15-21.

- Felippe, G.M. i M. Polo.** 1983. Germinação de ervas invasoras: efeito de luz e escarificação. *Revista Brasileira de Botânica*, **6** (1): 55-60.
- Ferrari, G. i E.S. Leguizamón.** 2006. Requerimientos germinativos y modelización de la emergencia de plántulas de *Portulaca oleracea* L. (verdolaga). *Revista de investigaciones de la facultad de ciencias agrarias*, **9**. Disponible a (2008): <http://www.fcagr.unr.edu.ar>
- Fidanza, M.A.; P.H. Dernoeden i M. Zhang.** 1996. Degree-days for predicting smooth crabgrass emergence in cool-season turfgrasses. *Crop Science*, **36** (4): 990-996.
- Finch-Savage, W.E.; J.R.A. Steckel i K. Phelps.** 1998. Germination and post-germination growth to carrot seedling emergence: predictive threshold models and sources of variation between sowing occasions. *New Phytologist*, **139** (3): 505-516.
- Forcella, F.; R.L. Benech Arnold, R. Sanchez i C.M. Ghera.** 2000. Modeling seedling emergence. *Field Crops Research*, **67** (2): 123-139.
- Gallart, M.; A.M.C. Verdú i M.T. Mas.** 2007. Tratamientos eficaces para romper la latencia de las semillas de *Digitaria sanguinalis*. En: *La malherbología en los nuevos sistemas de producción agraria*, XI Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Albacete, 7-9 de noviembre de 2007.
- Garcia-Huidobro, J.; J.L. Monteith i G.R. Squire.** 1982. Time, temperature and germination of pearl millet (*Pennisetum typhoides* S. & H.). I. Constant temperature. *Journal of Experimental Botany*, **33** (133): 288-296.
- Gianfagna, A.J. i A.M.S. Pridham.** 1951. Some aspects of dormancy and germination of crabgrass seed, *Digitaria sanguinalis* Scop. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, **58** (1): 291-297.
- Gutterman, Y.; F. Corbineau i D. Côme.** 1996. Dormancy of *Hordeum spontaneum* caryopses from a population on the Negev Desert Highlands. *Journal of Arid Environments*, **33** (3): 337-345.
- Häfliger, E. i J. Brun-Hool.** 1972. Tablas CIBA-GEIGY de malas hierbas: presentación sinóptica de la flora de malas hierbas de los cultivos agrícolas. CIBA-GEIGY, Basle.
- Häfliger, E. i H. Scholz.** 1980. Grass weeds 1. CIBA-GEIGY, Basle.
- Hardegree, S.P.** 2006. Predicting germination response to temperature. I. Cardinal-temperature models and subpopulation-specific regression. *Annals of Botany*, **97** (6): 1115-1125.
- Holm, L.G.; J.V. Pancho, J.P. Herberger i D.L. Plucknett.** 1991. A geographical atlas of world weeds. Krieger Publishing Company, Florida.
- Holm, L.G.; D.L. Plucknett, J.V. Pancho i J.P. Herberger.** 1977. The world's worst weeds: distribution and biology. East-West Center, Honolulu.
- Holzner, W. i M. Numata.** 1982. Biology and ecology of weeds. Dr. W. Junk Publishers, The Hague.
- Hsu, F.H.; C.J. Nelson i W.S. Chow.** 1984. A mathematical model to utilize the logistic function in germination and seedling growth. *Journal of Experimental Botany*, **35** (160): 1629-1640.
- Hsu, F.H.; C.J. Nelson i A.G. Matches.** 1985. Temperature effects on germination of perennial warm-season forage grasses. *Crop Science*, **25** (2): 215-220.
- King, C.A. i L.R. Oliver.** 1994. A model for predicting large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*) emergence as influenced by temperature and water potential. *Weed Science*, **42** (4): 561-567.

- Larsen, S.U. i B.M. Bibby.** 2005. Differences in thermal time requirements for germination of three turfgrass species. *Crop Science*, **45** (5): 2030-2037.
- Marquès, X.; E. Puig, J.M. Puiggrós, J. Saus; M. T. Sebastià; A. Taberner i J.P. Vila-hors.** 1983. Manual de les males herbes dels conreus de Catalunya. Obra Agrícola de la Caixa de Pensions, Barcelona.
- Mas, M.T. i A.M.C. Verdú.** 2002. Effects of thermal shocks on the germination of *Amaranthus retroflexus*. Use of the EXCEL Solver tool to model cumulative germination. *Seed Science and Technology*, **30** (2): 299-310.
- Masin, R.; M.C. Zuin, D.W. Archer i G. Zanin.** 2005a. WeedTurf: a predictive model to aid control of annual summer weeds in turf. *Weed Science*, **53** (2): 193-201.
- Masin, R.; M.C. Zuin, S. Otto i G. Zanin.** 2006. Seed longevity and dormancy of four summer annual grass weeds in turf. *Weed Research*, **46** (5): 362-370.
- Masin, R.; M.C. Zuin i G. Zanin.** 2005b. Phenological observations on shrubs to predict weed emergence in turf. *International Journal of Biometeorology*, **50** (1): 23-32.
- Matus-Cádiz, M.A. i P. Hucl.** 2005. Rapid and effective germination methods for overcoming seed dormancy in annual canarygrass. *Crop Science*, **45** (5): 1696-1703.
- Mayer, A.M. i A. Poljakoff-Mayber.** 1989. The germination of seeds. 4a edició. Pergamon Press, Oxford.
- Miyoshi, K. i T. Sato.** 1997. The effects of ethanol on the germination of seeds of japonica and indica rice (*Oryza sativa* L.) under anaerobic and aerobic conditions. *Annals of Botany*, **79** (4): 391-395.
- Moot, D.J.; W.R. Scott, A.M. Roy i A.C. Nicholls.** 2000. Base temperature and thermal time requirements for germination and emergence of temperate pasture species. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, **43** (1): 15-25.
- Myers, M.W.; W.S. Curran, M.J. VanGessel, D.D. Calvin, D.A. Mortensen, B.A. Majek, H.D. Karsten i G.W. Roth.** 2004. Predicting weed emergence for eight annual species in the northeastern United States. *Weed Science*, **52** (6): 913-919.
- Ogawa, K. i M. Iwabuchi.** 2001. A mechanism for promoting the germination of *Zinnia elegans* seeds by hydrogen peroxide. *Plant and Cell Physiology*, **42** (3): 286-291.
- Purcell, L.C.** 2003. Comparison of thermal units derived from daily and hourly temperatures. *Crop Science*, **43** (5): 1874-1879.
- Romo, J.T. i L.E. Eddleman.** 1995. Use of degree-days in multiple-temperature experiments. *Journal of Range Management*, **48** (5): 410-416.
- Rubin, B.** 1997. Herbicide use and transgenic crops resistant to herbicides. En: *Report of FAO expert consultation on weed ecology and management*, Plant Production and Protection Division, FAO, Roma, 22-24 de setembre de 1997.
- SAS Institute Inc.** 1999. SAS OnlineDoc®, Version 8, Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Simpson, G.M.** 1990. Seed dormancy in grasses. Cambridge University Press, Cambridge.
- Steadman, K.J. i H.W. Pritchard.** 2003. Germination of *Aesculus hippocastanum* seeds following cold-induced dormancy loss can be described in relation to a temperature-dependent reduction in base temperature (T_b) and thermal time. *New Phytologist*, **161** (2): 415-425.

- Steinmaus, S.J.; T.S. Prather i J.S. Holt.** 2000. Estimation of base temperatures for nine weed species. *Journal of Experimental Botany*, **51** (343): 275-286.
- Toole, E.H. i V.K. Toole.** 1941. Progress of germination of seed of *Digitaria* as influenced by germination temperature and other factors. *Journal of Agricultural Research*, **63** (2): 65-90.
- Trudgill, D.L.; A. Honek, D. Li i N.M. Van Straalen.** 2005. Thermal time – concepts and utility. *Annals of Applied Biology*, **146** (1): 1-14.
- Trudgill, D.L.; G.R. Squire i K. Thompson.** 2000. A thermal time basis for comparing the germination requirements of some British herbaceous plants. *New Phytologist*, **145** (1): 107-114.
- Van Straalen, N.M.** 1983. Physiological time and time-invariance. *Journal of theoretical biology*, **104** (3): 349-357.
- Vega, A.S. i Z. Rúgolo de Agrasar.** 2001. Morphological interpretation of the spikelet in *Digitaria atra* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae) and emended generic description. *American Journal of Botany*, **88** (9): 1670-1674.
- Villarías, L.** 2000. Atlas de malas hierbas. 3a edició. Ed. Mundi-Prensa, Madrid.
- Wiederholt, R.J. i D.E. Stoltenberg.** 1995. Cross-resistance of a large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*) accession to aryloxyphenoxypropionate and cyclohexanedione herbicides. *Weed Technology*, **9** (3): 518-524.

