

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA

Departament d'Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia

**Estudi de la dinàmica poblacional de *Digitaria sanguinalis*
i de l'efecte del fong *Ustilago syntherismae***

Montserrat Gallart González-Palacio

Director: Dr. A. M. Claret Verdú González

Codirectora: Dra. Maria Teresa Mas Serra

Memòria presentada per optar al grau de

DOCTOR PER LA UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA

Castelldefels, setembre de 2009

Agraïments

Sembla que finalment s'aproxima la fi d'aquesta etapa. Han estat uns anys en què he gaudit molt amb la meva feina i amb els meus companys però, perquè no reconèixer-ho a aquestes alçades, també ha estat un període difícil, de molt esforç i amb més d'un disgust i desengany. Amb aquestes ratlles voldria agrair a totes aquelles persones que han contribuït en aquest treball.

Als meus directors de tesi, en Claret Verdú i na Maite Mas, per oferir-me l'oportunitat de realitzar la tesi doctoral i també pel temps que han invertit en aquest treball.

A en Jordi Valero pel seu assessorament en el tractament estadístic de les dades. I a na Mònica Blanco per la seva amabilitat i ajuda en la resolució de dubtes estadístics.

A en Marçal Parera i Unai Vivar per la seva col·laboració en l'experiment d'enterrament de llavors i per la seva paciència amb la meva inexperiència. A en Roger Ros pel seu ajut en tasques de laboratori. I a l'Esme Hurtado i a la Cristina González per les seves mostres de suport.

Al Dr. Ramon Maria Masalles i al Dr. Jordi Recasens pels seus comentaris com a revisors externs i per formar part del tribunal de tesi. I també al Dr. Fernando Bastida, a la Dra. Alicia Cirujeda i al Dr. Jordi Izquierdo per la seva participació en el tribunal de la tesi.

Al Dr. Cèsar Ornat i al Dr. Xavier Sorribas per la seva disponibilitat. I a la Dra. Betina Kruk pels seus ànims i la seva voluntat de col·laborar.

Als professors i al personal del DEAB/ESAB, i especialment a en Ramon Josa, Xavier Martínez, Patrícia Jiménez, Teresa Balanyà, Carles Rubio i Manel Bonmatí pels seus ànims durant tot aquest temps.

A la Diputació de Barcelona i a l'Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentària per haver-me permès realitzar els experiments de camp en una de les parcel·les de la finca de Torre Marimon.

Als meus companys Graciela Marando, Ingrid Masaló, Laura Condes, Cristina González, Maria Julià, Eli Huguet, Jordi Pijoan, Joan Casals, Clara Almansa, Pilar Berenguer, Jordi

Llorens, Jordi Llop i Marçal Plans, per tots els bons moments que hem compartit plegats i per la seva companyonia. I en especial vull agrair a la Sònia Duarte, Òscar Huerta, Marga López i Pablo Sánchez per les seves xerrades constructives, per la seva immensa paciència, pel seu suport i per la seva amistat. A tots, els hi desitjo el millor i un gran futur!

Per últim, no puc, ni vull, oblidar el suport incondicional que he rebut sempre de la meua família, els meus pares i els meus germans. Tot el que sóc ho dec a ells, al seu esforç i al seu esperit de sacrifici. I com no, també vull donar les gràcies a en Pere. Gràcies per fer-me costat sempre durant tots aquests anys, per la teua incansable ajuda, pels teus valuosos consells, per la teua inesgotable paciència, per haver-te implicat tant i tant en el meu treball, per tot... Gràcies!

Resum

Conèixer la dinàmica poblacional d'espècies arvenses és una informació bàsica per al disseny d'estratègies de control de males herbes eficaces i sostenibles des d'un punt de vista ambiental. La forcadella (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.) és una gramínia anual d'estiu àmpliament distribuïda, molt prolífica i amb una elevada capacitat competitiva. Aquesta espècie arvense pot ser parasitada pel carbó sistèmic *Ustilago syntherismae* (Schweinitz) Peck. L'únic signe extern inequívoc de la malaltia és la producció d'inflorescències amb carbó, la majoria de les quals no produeixen cap llavor.

L'objectiu general d'aquesta tesi és l'estudi de la dinàmica poblacional de *D. sanguinalis* i l'avaluació dels efectes del fong *U. syntherismae* sobre les poblacions d'aquesta espècie. El treball experimental va consistir principalment en el seguiment, durant dos anys consecutius (2006 i 2007), d'una població de *D. sanguinalis* que va créixer en condicions naturals en un camp sense cultivar de la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental). Al 2006 i al 2007 es van diferenciar i seguir individus de tres i quatre cohorts (polsos d'emergència), respectivament, des de la seva emergència fins al final del seu cicle anual.

La densitat d'emergència de *D. sanguinalis* va ser quatre vegades superior al 2007 que al 2006 (3674 i 887 pl m⁻² respectivament). En ambdós anys, *D. sanguinalis* va ser l'espècie més abundant, tant en termes de densitat com de biomassa. Al 2006, al final del període de creixement de l'espècie no es van detectar diferències significatives entre la supervivència de les cohorts controlades (88%). En canvi, al 2007 la supervivència va ser diferent segons el moment d'emergència i va variar entre el 25% i el 88%. En els dos anys es van observar efectes significatius de la precipitació incident i de la densitat en la taxa de mortalitat de la població.

Les característiques reproductives i la fecunditat dels individus van estar fortament influenciades pel seu moment d'emergència. Els individus que van emergir primer van produir més llavors i van contribuir més a la pluja de llavors que els que van emergir més tard.

La producció de llavors de la població es va veure limitada per la incidència de la malaltia produïda pel carbó *U. syntherismae*. Al 2006, un 21.7% dels individus supervivents al final

del cicle anual presentaven inflorescències amb carbó, mentre que al 2007 aquesta xifra va augmentar fins al 61.2%. La majoria de plantes amb signes de la malaltia van ser castrades totalment pel fong, és a dir, totes les seves inflorescències apareixien transformades en espores del carbó i no van produir cap llavor (94.3% al 2006 i 98.0% al 2007). El moment d'emergència dels individus no va limitar la incidència de la malaltia, ja que en totes les cohorts d'ambdós anys es van observar individus amb inflorescències afectades pel carbó. Tampoc es va trobar una relació lineal significativa entre la densitat de població de *D. sanguinalis* i el percentatge d'individus malalts.

La malaltia no només va afectar la producció de llavors, sinó que també es van detectar efectes importants en la morfologia i la biomassa dels individus. En general, el carbó va reduir significativament la biomassa aèria (61.5%), l'alçada de la planta (23.7%) i el número de tiges basals (15.5%) i, en canvi, va incrementar el nombre de nusos (12.9%), ramificacions (52.4%) i inflorescències (16.7%), tant a nivell individual com a nivell de ramet.

D'altra banda, també es va estudiar la dormició de les llavors de *D. sanguinalis* en el moment de la dispersió. La majoria d'espiguetes (unitats de dispersió) eren dorments (>98%) al final del període de creixement de la població estudiada al 2006 i al 2007. Es va observar que aquesta dormició innata era causada principalment per les bractèoles que cobreixen la cariopsi, sobretot per la lemma de la flor fèrtil. En general, la pèrdua de la dormició de les llavors va ser molt ràpida (entre 2 i 4 mesos) i es va veure influenciada pel contingut d'aigua del sòl i la profunditat d'enterrament de les llavors.

Resumen

Conocer la dinámica poblacional de especies arvenses es una información básica para el diseño de estrategias de control de malas hierbas eficaces y sostenibles desde un punto de vista ambiental. El garranchuelo (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.) es una gramínea anual de verano extensamente distribuida, muy prolífica y con una elevada capacidad competitiva. Esta especie arvensis puede ser parasitada por el carbón sistémico *Ustilago syntherismae* (Schweinitz) Peck. El único signo externo inequívoco de la enfermedad es la producción de inflorescencias con carbón, la mayoría de las cuales no producen ninguna semilla.

El objetivo general de esta tesis es el estudio de la dinámica poblacional de *D. sanguinalis* y la evaluación de los efectos del hongo *U. syntherismae* sobre las poblaciones de esta especie. El trabajo experimental consistió principalmente en el seguimiento, durante dos años consecutivos (2006 y 2007), de una población de *D. sanguinalis* que creció en condiciones naturales en un campo sin cultivar de la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental, Barcelona). En 2006 y 2007 se diferenciaron y siguieron individuos de tres y cuatro cohortes (pulsos de emergencia), respectivamente, desde su emergencia hasta el final de su ciclo anual.

La densidad de emergencia de *D. sanguinalis* fue cuatro veces superior en 2007 que en 2006 (3674 y 887 pl m⁻² respectivamente). En ambos años, *D. sanguinalis* fue la especie más abundante, tanto en términos de densidad como de biomasa. En 2006, al final del periodo de crecimiento de la especie no se detectaron diferencias significativas entre la supervivencia de las cohortes controladas (88%). En cambio, en 2007 la supervivencia fue distinta según el momento de emergencia y varió entre el 25% y el 88%. En los dos años se observaron efectos significativos de la precipitación incidente y de la densidad en la tasa de mortalidad de la población.

Las características reproductivas y la fecundidad de los individuos estuvieron fuertemente influenciadas por su momento de emergencia. Los individuos que emergieron primero produjeron más semillas y contribuyeron más a la lluvia de semillas que los que emergieron más tarde.

La producción de semillas de la población estuvo limitada por la incidencia de la enfer-

medad producida por *U. syntherismae*. En 2006, un 21.7% de los individuos supervivientes al final del ciclo anual presentaban inflorescencias con carbón, mientras que en 2007 esta cifra aumentó hasta el 61.2%. La mayoría de plantas con signos de la enfermedad fueron castradas totalmente por el hongo, es decir, todas sus inflorescencias aparecían transformadas en esporas del carbón y no produjeron ninguna semilla (94.3% en el 2006 y 98.0% en el 2007). El momento de emergencia de los individuos no limitó la incidencia de la enfermedad, ya que en todas las cohortes de ambos años se observaron individuos con inflorescencias afectadas por el carbón. Tampoco se encontró una relación lineal significativa entre la densidad de población de *D. sanguinalis* y el porcentaje de individuos enfermos.

La enfermedad no sólo afectó la producción de semillas, sino que también se detectaron efectos importantes en la morfología y la biomasa de los individuos. En general, el carbón redujo significativamente la biomasa aérea (61.5%), la altura de la planta (23.7%) y el número de vástagos (15.5%) y, en cambio, incrementó el número de nudos (12.9%), ramificaciones (52.4%) e inflorescencias (16.7%), tanto a nivel individual como a nivel de rametes.

Por otro lado, también se estudió la latencia de las semillas de *D. sanguinalis* en el momento de la dispersión. La mayoría de espiguillas (unidades de dispersión) eran latentes (>98%) al final del periodo de crecimiento de la población estudiada en 2006 y 2007. Se observó que esta latencia innata estaba causada principalmente por las bractéolas que cubren la cariósida, sobretodo por la lema de la flor fértil. En general, la pérdida de la latencia de las semillas fue muy rápida (entre 2 y 4 meses) y se vio influenciada por el contenido de agua del suelo y la profundidad de enterramiento de las semillas.

Abstract

Knowledge of weed population dynamics is basic to the design of effective and environmentally sustainable weed management strategies. Hairy crabgrass (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.) is an annual summer grass that is widely distributed and very prolific, and has a high competitive ability. This weed can be parasitized by the systemic smut fungus *Ustilago syntherismae* (Schweinitz) Peck. The only unequivocal external sign of the disease is the presence of smutted inflorescences, most of which do not produce any seed.

The aim of this thesis is to study the population dynamics of *D. sanguinalis* and to evaluate the effects of *U. syntherismae* on populations of this species. The experimental work consisted mainly of monitoring a *D. sanguinalis* population growing under natural conditions in an uncropped field at the Torre Marimon experimental farm (Caldes de Montbui, Vallès Oriental, Barcelona) during two consecutive years (2006 and 2007). Three and four cohorts (emerging flushes) were distinguished and monitored from their emergence to the end of their annual cycle in 2006 and 2007 respectively.

The density of *D. sanguinalis* was four times higher in 2007 than in 2006 (3674 and 887 pl m⁻² respectively). In both years, *D. sanguinalis* was the most abundant species, in both density and biomass level. At the end of the growing season, no significant differences in survival were detected among cohorts in 2006 (88%). In contrast, in 2007 individual survival varied depending on the emergence time, ranging from 25 to 88%. In both years, we observed significant effects of both precipitation and density on population mortality rate.

Reproductive traits and seed production were strongly influenced by the emergence time. Individuals that emerged first produced more seeds and contributed more to the seed rain than those that emerged later.

Seed production was restricted by the incidence of *U. syntherismae* disease. In 2006, 21.7% of surviving individuals at the end of the growing period had smutted inflorescences, while in 2007 this figure increased to 61.2%. Most plants with external signs of the disease were totally castrated and did not produce any seed, *i.e.*, all their inflorescences were transformed into spores of the smut (94.3% in 2006 and 98.0% in 2007). Emergence time did not constrain the disease incidence since, in all the cohorts of both years, smutted individuals were

detected. Nor did we find a significant linear relationship between the density of *D. sanguinalis* population and the percentage of diseased individuals.

The disease not only affected the seed production, but also caused important effects on individual morphology and biomass. In general, the smut fungus significantly decreased aboveground biomass (61.5%), plant height (23.7%) and number of shoots (15.5%). In contrast, it increased the number of nodes (12.9%), ramifications (52.4%) and inflorescences (16.7%), at both individual and ramet levels.

We also studied the dormancy of *D. sanguinalis* seeds at the time of dispersal. Most spikelets (dispersal units) were dormant (>98%) at the end of the growing period of the monitored population in 2006 and 2007. We found that this innate dormancy was mainly caused by the caryopsis covering bracts, especially by the lemma of the perfect floret. In general, seed dormancy loss was very rapid (between 2 and 4 months) and was influenced by soil water content and depth of seed burial.

Índex

Índex de figures.....	xiii
-----------------------	------

Índex de taules	xvii
-----------------------	------

Capítol I Introducció general..... 1

I.1	Antecedents i motivació	2
I.2	L'espècie arvense - <i>Digitaria sanguinalis</i>	2
I.2.1	Característiques biològiques i ecològiques.....	3
I.2.2	Mètodes de control	6
I.3	El fong patògen - <i>Ustilago syntherismae</i>	7
I.4	El sistema hostatger patògen <i>Digitaria sanguinalis</i> - <i>Ustilago syntherismae</i>	7
I.5	Efecte dels carbons en poblacions d'espècies silvestres	8
I.5.1	Efectes en l'aptitud biològica.....	9
I.5.2	Efectes en l'estructura genètica	11
I.6	Objectius i estructura de la tesi.....	12

Capítol II Demografia d'una població de *Digitaria sanguinalis* en interacció amb el fong *Ustilago syntherismae*: Efecte del moment d'emergència en la supervivència, la reproducció i la biomassa..... 15

II.1	Introducció	15
II.2	Material i mètodes	17
II.2.1	Localització	17
II.2.2	Emergència i supervivència	17
II.2.3	Incidència de la malaltia al final del cicle	18
II.2.4	Característiques reproductives i biomassa	19
II.2.5	Tractament de dades.....	19
II.2.5.1	Emergència i supervivència	19
II.2.5.2	Efecte del moment d'emergència en l'estat d'infecció dels individus	21
II.2.5.3	Efecte del moment d'emergència en la reproducció i la biomassa	21

II.2.5.4	Variació entre anys en la reproducció i la biomassa.....	21
II.3	Resultats	22
II.3.1	Emergència i supervivència	22
II.3.2	Incidència de la malaltia	25
II.3.3	Reproducció i biomassa.....	25
II.3.3.1	Efecte del moment d'emergència	27
II.3.3.2	Variació entre anys	31
II.4	Discussió.....	33
Capítol III Efectes del fong <i>Ustilago synthetismae</i> i de la competència en la morfologia, fecunditat i biomassa de <i>Digitaria sanguinalis</i>.....		39
III.1	Introducció	39
III.2	Material i mètodes	40
III.2.1	Experiment I: Estudi d'una població de <i>D. sanguinalis</i> al final del cicle anual ..	40
III.2.1.1	Anàlisi de dades	42
III.2.2	Experiment II: Estudi d'una població de <i>D. sanguinalis</i> monoespecífica.....	43
III.2.2.1	Anàlisi de dades	44
III.3	Resultats	44
III.3.1	Experiment I: Estudi d'una població de <i>D. sanguinalis</i> al final del cicle anual ..	44
III.3.1.1	Efectes del patogen en la morfologia, biomassa i fecunditat.....	45
III.3.1.2	Efectes de la densitat en la incidència de la malaltia	48
III.3.1.3	Efectes de la competència intra- i interespecífica.....	48
III.3.2	Experiment II: Estudi d'una població de <i>D. sanguinalis</i> monoespecífica.....	52
III.4	Discussió.....	54
Capítol IV Dormició de les llavors de <i>Digitaria sanguinalis</i>.....		61
IV.1	Introducció	61
IV.2	Material i mètodes	63
IV.2.1	Material vegetal.....	63
IV.2.2	Assajos de germinació	63
IV.2.3	Tractaments per trencar la dormició	64
IV.2.3.1	Eliminació de substàncies inhibidores solubles en aigua.....	65
IV.2.3.2	Escarificació química	65
IV.2.3.3	Talls en la lemma i la pàlea	65
IV.2.3.4	Escarificació física amb sorra	65

IV.2.3.5	Eliminació o abrasió de les cobertes	66
IV.2.3.6	Anàlisi de dades	66
IV.2.4	Duració de la dormició de les llavors	67
IV.2.4.1	Emmagatzematge en sec	67
IV.2.4.2	Enterrament en el sòl a diferents profunditats	67
IV.2.4.3	Enterrament en testos a diferents profunditats i règims hídrics	70
IV.3	Resultats	72
IV.3.1	Tractaments per trencar la dormició	72
IV.3.1.1	Eliminació de substàncies inhibidores solubles en aigua.....	72
IV.3.1.2	Escarificació química	73
IV.3.1.3	Talls en la lemma i la pàlea	73
IV.3.1.4	Escarificació física amb sorra	75
IV.3.1.5	Eliminació o abrasió de les cobertes de les cariopsis.....	75
IV.3.2	Duració de la dormició de llavors.....	77
IV.3.2.1	Emmagatzematge en sec	77
IV.3.2.2	Enterrament en el sòl a diferents profunditats	78
IV.3.2.3	Enterrament en testos a diferents profunditats i règims hídrics	82
IV.4	Discussió.....	84
IV.4.1	Tractaments per trencar la dormició	84
IV.4.2	Duració de la dormició.....	86
Capítol V Discussió general i conclusions		91
Apèndix Fitxer de seqüència R per modelitzar i comparar l'evolució temporal de la germinació de llavors mitjançant una funció de Weibull de tres paràmetres.....		97
Introducció.....		97
Fitxer de seqüència R.....		98
Estimació dels paràmetres de la funció Weibull.....		98
Comparació dels paràmetres ajustats entre els lots de llavors avaluats.....		99
Arxiu de dades d'entrada		101
Sortida del fitxer de seqüència R		102
Ús del fitxer de seqüència R.....		102
Exemple		102
Bibliografia		107

Índex de figures

- Figura I-1. Representació esquemàtica del cicle anual de *D. sanguinalis*.....13
- Figura II-1. Relació al·lomètrica entre la longitud de raquis (cm) i el nombre de cariopsis per raquis establerta al 2006 i al 2007.20
- Figura II-2. Paràmetres demogràfics de tres cohorts (A06, B06 i C06) de *D. sanguinalis* controlades a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006. Els gràfics mostren: (a) la proporció de supervivència acumulada (\pm EE, error estàndard) per cohort, (b) la taxa de mortalitat per interval (\pm EE, error estàndard) per cohort, i (c) la variació de la densitat de la població i la precipitació acumulada a intervals de 7 dies. Les línies discontinües indiquen el moment d'emergència de les successives cohorts.24
- Figura II-3. Paràmetres demogràfics de quatre cohorts (A07, B07, C07 i D07) de *D. sanguinalis* controlades a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2007. Els gràfics mostren: (a) la proporció de supervivència acumulada (\pm EE, error estàndard) per cohort, (b) la taxa de mortalitat per interval (\pm EE, error estàndard) per cohort, i (c) la variació de la densitat de la població i la precipitació acumulada a intervals de 7 dies. Les línies discontinües indiquen el moment d'emergència de les successives cohorts.26
- Figura III-1. Proporció d'individus i de ramets de *D. sanguinalis* amb carbó en relació a la densitat, dels quadrats mostrejats a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i al 2007. En els gràfics s'indica la significació (P) i el coeficient de determinació (R^2) per a cadascuna de les relacions avaluades.49
- Figura III-2. Efectes de la densitat de *D. sanguinalis* (densitat, D - pl m⁻²) i de la biomassa d'altres espècies (biomassa altres, B - g ps m⁻²) en cinc característiques morfològiques i en la biomassa aèria individual, de les plantes de *D. sanguinalis* recol·lectades a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i 2007. S'han estudiat els efectes per a dos estats d'infecció dels individus: plantes sense carbó (SC) i plantes amb totes les inflorescències transformades en espores del carbó (CC). Per a cada paràmetre (y), any i estat, b_0 , b_1 i b_2 són els coeficients de regressió del model $\ln(y+1) = b_0 + b_1 \cdot \ln(D+1) + b_2 \cdot \ln(B+1)$ (^{ns} indica que el coeficient de regressió estimat no és significativament diferent de 0, $P < 0.05$). Per a cada any, $P(b_1)$ i $P(b_2)$ mostren la significació del test d'hipòtesi per contrastar la igualtat dels coeficients b_1 i b_2 de CC i SC, respectivament. Les marques dels eixos mostren els valors transformats utilitzats en el model (logaritme neperià +1), i entre parèntesis els valors de y, D i B sense transformar. Els

paràmetres estudiats són: nombre de tiges (tija principal més fillols) (Figura III-2.A), nusos (Figura III-2.B), ramificacions (Figura III-2.C) i inflorescències (Figura III-2.D), per planta, alçada de la tija principal des del coll de l'arrel fins a la fulla bandera (cm) (Figura III-2.E), i biomassa aèria per planta (g ps pl⁻¹) (Figura III-2.E).....51

Figura III-3. Característiques morfològiques i biomassa aèria per planta, segons la densitat i l'estat d'infecció, dels individus d'una població de *D. sanguinalis* monoespecífica que va créixer a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2007. Els estats d'infecció diferenciats són: plantes sense carbó (SC), plantes amb les inflorescències completament transformades en espores del carbó (CC), plantes amb inflorescències amb carbó, però que havien produït alguna llavor aparentment viable (PC). Els paràmetres avaluats són: nombre de tiges (tija principal més fillols), nusos, ramificacions i inflorescències, per planta, alçada de la tija principal des del coll de l'arrel fins a la fulla bandera (cm), i biomassa aèria per planta (g ps). Les barres verticals representen la mitjana \pm EE (error estàndard) de la mitjana.55

Figura III-4. Proporció d'individus i de fillols de *D. sanguinalis* amb carbó en relació a la densitat, d'una població monoespecífica que va créixer a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2007.....56

Figura IV-1. Dibuix esquemàtic dels diferents materials de llavors assajats: (A) unitat de dispersió intacta (espigueta), (B) cariopsi coberta per la lemma i la pàlea de la flor fèrtil, (C) cariopsi sense la lemma, és a dir parcialment coberta per la pàlea, i (D) cariopsi nua, és a dir sense cobertes (gs: gluma superior, gi: gluma inferior, le: lemma de la flor estèril, l: lemma de la flor fèrtil, p: pàlea de la flor fèrtil, e: embrió, l: localització del/s tall/s en el tractament en què es van realitzar talls en les glumel·les).....64

Figura IV-2. Evolució de la temperatura mitjana diària del sòl a 5 i a 10 cm de profunditat, i precipitació diària, durant el període en què llavors de *D. sanguinalis* van estar enterrades en testos, en el sòl d'un camp de la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental). Les fletxes indiquen el moment en què es van enterrar les llavors i els successius desenterraments.....69

Figura IV-3. Evolució de la temperatura mitjana diària del sòl a 0, 5 i 10 cm de profunditat, durant el període en què llavors de *D. sanguinalis* van estar enterrades en testos situats a les instal·lacions de l'Escola Superior d'Agricultura de Barcelona (Castelldefels, Baix Llobregat). Les fletxes indiquen el moment en què es van enterrar les llavors i els successius desenterraments.....71

Figura IV-4. Evolució de la temperatura horària del sòl dels testos disposats a cobert per evitar l'ingrés d'aigua de pluja (règim sec), o col·locats al descobert i exposats a l'aigua de pluja (règim humit), en les instal·lacions de l'Escola Superior d'Agricultura de Barcelona. En els successius gràfics es mostra la temperatura a: (a) 0 cm (mesures obtingudes del 26 de març a l'1 d'abril), (b) 5 cm (mesures del 2 al 8 d'abril), i (c) 10 cm de profunditat (mesures del 9 al 15 d'abril).71

Figura IV-5. Evolució de la germinació acumulada dels diferents tractaments quirúrgics realitzats a les cariopsis de <i>D. sanguinalis</i> recobertes per la lemma i la pàlea de la flor fèrtil. S'ha representat la funció de Weibull estimada i els valors observats (obs.) per a cada tractament.....	74
Figura IV-6. Evolució de la germinació acumulada dels diferents tractaments d'eliminació de les cobertes de les espiguetes de <i>D. sanguinalis</i> humitejades inicialment amb aigua destil·lada o amb una solució de KNO ₃ al 0.2%. S'ha representat la funció de Weibull estimada i els valors observats (obs.) per a cada tractament.....	76
Figura IV-7. Percentatge de germinació acumulada segons el temps d'emmagatzematge en sec, de dos lots d'espiguetes de <i>D. sanguinalis</i> recol·lectats a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i al 2007. Cada barra representa la mitjana + EE (error estàndard) de la mitjana. Per a cada lot, diferents lletres indiquen diferències significatives (Tukey HSD, P<0.05) segons les anàlisis realitzades amb les dades transformades (arcsinus).....	79
Figura IV-8. Evolució de la germinació acumulada segons el temps d'emmagatzematge en sec (mesos, m), de dos lots d'espiguetes de <i>D. sanguinalis</i> recol·lectats a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i 2007. S'ha representat la funció de Weibull estimada i els valors observats (obs.) per a cada assaig.	80
Figura IV-9. Percentatge de germinació acumulada segons el temps (mesos) i la profunditat d'enterrament, d'espiguetes de <i>D. sanguinalis</i> enterrades en un camp de la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental). Cada barra representa la mitjana + EE (error estàndard) de la mitjana.	81
Figura IV-10. Percentatge de germinació acumulada segons el temps (mesos), la profunditat i el règim hídric d'enterrament, d'espiguetes de <i>D. sanguinalis</i> enterrades en testos situats en les instal·lacions de l'Escola Superior d'Agricultura de Barcelona (Castelldefels, Baix Llobregat). Cada barra representa la mitjana + EE (error estàndard) de la mitjana.	83
Figura A-1. Fitxer de seqüència (<i>script</i>) R per ajustar dades de germinació a una funció de Weibull de tres paràmetres. Els números de línia apareixen només per facilitar la descripció del fitxer de seqüència en el text. No s'han d'incloure en el fitxer de seqüència R real.	101
Figura A-2. Arxiu de sortida <i>results.txt</i> que mostra els paràmetres estimats i la desviància de la funció de Weibull per a les dades avaluades com a exemple; id=1 i id=2 corresponen als resultats de germinació de les espiguetes de <i>D. sanguinalis</i> emmagatzemades en sec durant 7 i 8 mesos després de la seva recol·lectades, respectivament. La descripció de les columnes es mostra a la Taula A-3. ...	105
Figura A-3. Sortida per pantalla de la consola R per a les dades avaluades com a exemple; [[1]] i [[2]] corresponen als resultats de germinació de les espiguetes de <i>D. sanguinalis</i> emmagatzemades a temperatura ambient durant 7 i 8 mesos després de la seva recol·lecció, respectivament. La descripció de la sortida per pantalla es mostra a la Taula A-2.....	106

Índex de taules

Taula II-1. Moment d'emergència (dia Julià), nombre de plàntules controlades, densitat de plàntules a l'inici del seguiment i proporció de plantes de <i>D. sanguinalis</i> supervivents al final del període de seguiment, per cohort, observades a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i al 2007.	23
Taula II-2. Proporció de plantes de <i>D. sanguinalis</i> per cohort i estat d'infecció, i nombre de plantes totals (ind) per cohort, recol·lectades a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i al 2007. Els estats d'infecció diferenciats són: plantes sense carbó (SC), plantes amb les inflorescències completament transformades en espores del carbó (CC), plantes amb inflorescències amb carbó, però que havien produït alguna llavor aparentment viable (PC) i plantes sense florir (SF).....	27
Taula II-3. Producció de llavors i tiges per planta, i nombre d'inflorescències per tija, dels individus de <i>D. sanguinalis</i> aparentment sans (<i>i.e.</i> , sense inflorescències amb carbó) recol·lectats a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i al 2007.	29
Taula II-4. Producció de llavors, nombre de raquis i longitud mitjana de raquis, per inflorescència, dels individus de <i>D. sanguinalis</i> aparentment sans (<i>i.e.</i> , sense inflorescències amb carbó) recol·lectats a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i al 2007. .	29
Taula II-5. Biomassa aèria vegetativa (g ps) i reproductiva (g ps) per planta i cohort, i esforç reproductiu (quocient entre la biomassa reproductiva i la vegetativa) per cohort, dels individus de <i>D. sanguinalis</i> aparentment sans (<i>i.e.</i> , sense inflorescències amb carbó) recol·lectats a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i al 2007.	30
Taula II-6. Característiques reproductives i nombre de tiges per planta i cohort, dels individus de <i>D. sanguinalis</i> amb inflorescències amb carbó, però que també havien produït alguna llavor aparentment viable, recol·lectats a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i 2007.....	30
Taula II-7. Biomassa vegetativa (g ps) i reproductiva (g ps) per planta i cohort, i esforç reproductiu (quocient entre la biomassa vegetativa i la reproductiva) per cohort, dels individus de <i>D. sanguinalis</i> amb inflorescències amb carbó, però que també havien produït alguna llavor aparentment viable, recol·lectats a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i al 2007.	31

Taula II-8. Nombre d'inflorescències i llavors per planta, biomassa reproductiva i vegetativa per planta, i esforç reproductiu (quocient entre la biomassa reproductiva i la biomassa vegetativa), dels individus de *D. sanguinalis* aparentment sans (*i.e.*, sense inflorescències amb carbó) recol·lectats a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i al 2007.32

Taula II-9. Significació de les fonts de variació de les anàlisis de covariància (ANCOVA) realitzades per a les característiques reproductives, nombre d'inflorescències i llavors per planta, i pels paràmetres de biomassa per planta, dels individus de *D. sanguinalis* aparentment sans (*i.e.*, sense inflorescències amb carbó) recol·lectats a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i 2007. El model utilitzat considera l'any (A) com a factor principal, i la densitat de *D. sanguinalis* (D) i la biomassa d'altres espècies (B) en el moment de la recol·lecció com a covariables.32

Taula III-1. Característiques morfològiques, nombre de llavors i biomassa aèria, per individu i estat d'infecció, i per ramet (tiges basals) i estat d'infecció, de les plantes de *D. sanguinalis* recol·lectades a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i 2007. Els estats d'infecció diferenciats són: plantes sense carbó (SC), plantes amb les inflorescències completament transformades en espores del carbó (CC), plantes amb inflorescències amb carbó, però que també havien produït alguna llavor aparentment viable (PC), i plantes sense florir (SF). Els paràmetres estudiats són: nombre de tiges (tija principal més fillols), nusos, ramificacions, inflorescències i cariòpsis, per planta o per ramet, alçada des del coll de l'arrel fins la fulla bandera de la tija principal o del ramet (cm), i biomassa aèria per planta o per ramet (g ps).....46

Taula III-2. Significació de les fonts de variació de les anàlisis de la variància (ANOVA) realitzades per a cinc característiques morfològiques i per a la biomassa aèria per planta, dels individus de *D. sanguinalis* recol·lectats a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i 2007. El model utilitzat considera l'estat d'infecció (E) i l'any (A) com a factors fixes principals, així com la seva interacció (ExA). Al final de la taula es mostren les mitjanes poblacionals estimades per mínims quadrats (LSMeans) considerant els factors principals. Els paràmetres estudiats són: nombre de tiges (tija principal més fillols), nusos, ramificacions i inflorescències, per planta, alçada de la tija principal des del coll de l'arrel fins a la fulla bandera (cm) i biomassa aèria per planta (g ps).47

Taula III-3. Significació de les fonts de variació de les anàlisis de la variància (ANOVA) realitzades per a cinc característiques morfològiques i per a la biomassa aèria per planta, dels individus de *D. sanguinalis* d'una població monoespecífica que va créixer a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2007. El model utilitzat considera la densitat (D), l'estat d'infecció (E) i la seva interacció (DxE) com a factors fixes i el bloc com a factor aleatori. Al final de la taula, es mostren les mitjanes poblacionals estimades per mínims quadrats (LSMeans) considerant els factors principals. Els paràmetres estudiats són: nombre de tiges (tija principal més

fillols), nusos, ramificacions i inflorescències per planta, alçada des del coll de l'arrel fins a la fulla bandera de la tija principal (cm), i biomassa aèria per planta (g ps)	53
Taula IV-1. Efecte del remull en aigua i de l'escarificació química en el percentatge de germinació acumulada d'espiguetes i de cariopsis de <i>D. sanguinalis</i>	73
Taula IV-2. Efecte dels talls en les glumel·les en el percentatge de germinació acumulada i en l'evolució de la germinació (avaluada utilitzant la funció de Weibull de tres paràmetres) de cariopsis de <i>D. sanguinalis</i> recobertes per la lemma i la pàlea de la flor fèrtil. Els paràmetres de la funció de Weibull ajustats són: π (taxa de germinació màxima), α (paràmetre de forma), i θ (paràmetre d'escala).....	74
Taula IV-3. Efecte de diversos tractaments d'escarificació física en el percentatge de germinació acumulada d'espiguetes de <i>D. sanguinalis</i> humitejades inicialment amb aigua destil·lada o amb una solució de KNO ₃ al 0.2%.....	76
Taula IV-4. Efecte de l'eliminació de les cobertes que cobreixen les espiguetes i del KNO ₃ en l'evolució de la germinació acumulada (avaluada mitjançant la funció de Weibull de tres paràmetres). Els paràmetres de la funció de Weibull ajustats són: π (taxa de germinació màxima), α (paràmetre de forma), i θ (paràmetre d'escala).....	77
Taula IV-5. Resultats de l'anàlisi de la variància (ANOVA - graus de llibertat (g.l), valors de F i significació) per avaluar els efectes de l'any de recol·lecció del lot (lot) i del temps d'emmagatzematge en sec (temps) en el percentatge de germinació acumulada d'espiguetes de <i>D. sanguinalis</i>	79
Taula IV-6. Estimació dels paràmetres de la funció de Weibull segons el temps d'emmagatzematge en sec (t, mesos), de dos lots d'espiguetes de <i>D. sanguinalis</i> recol·lectats a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i 2007. Els paràmetres de la funció de Weibull ajustats són: π (taxa de germinació màxima), α (paràmetre de forma), i θ (paràmetre d'escala).....	80
Taula IV-7. Resultats de l'anàlisi de la variància (ANOVA - graus de llibertat (g.l), valors de F i significació) per avaluar els efectes del temps (I) i de la profunditat d'enterrament (P) en el percentatge de germinació acumulada d'espiguetes de <i>D. sanguinalis</i> enterrades en testos, en el sòl d'un camp de la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental).....	81
Taula IV-8. Resultats de l'anàlisi de la variància (ANOVA - graus de llibertat (g.l), valors de F i la seva significació) per avaluar, pel règim sec i pel règim humit, els efectes del temps (I) i de la profunditat d'enterrament (P) en el percentatge de germinació acumulada d'espiguetes de <i>D. sanguinalis</i> enterrades en testos disposats en les instal·lacions de l'Escola Superior d'Agricultura de Barcelona (Castelldefels, Baix Llobregat). En el règim sec els testos estaven col·locats a cobert per evitar l'ingrés de l'aigua de pluja, en el règim humit els testos es trobaven al descobert exposats a	

l'aigua de la pluja.....	83
Taula A-1. Fitxer genèric d'entrada que alimenta el fitxer de seqüència R.	103
Taula A-2. Descripció de la sortida per pantalla del fitxer de seqüència R.	103
Taula A-3. Descripció de les columnes de l'arxiu de text de sortida del fitxer de seqüència R.	104
Taula A-4. Arxiu d'entrada <i>data.txt</i> que conté les dades de germinació de les espiguetes de <i>D. sanguinalis</i> emmagatzemades a temperatura ambient durant 7 mesos (id=1) i 8 mesos (id=2) després de la seva recol·lecció. En aquest cas, per a cada lot es va treballar amb 250 llavors (5 plaques de Petri amb 50 llavors). La descripció de les columnes es mostra a la Taula A-1.....	105

Capítol I

Introducció general

Un dels principals reptes que afronta l'agricultura moderna és el desenvolupament i la difusió d'estratègies de maneig i control de males herbes que siguin eficaces i minimitzin les pèrdues de rendiment dels cultius, però alhora que també siguin respectuoses amb el medi ambient. El coneixement de la biologia i l'ecologia de les espècies de males herbes és una informació bàsica que pot contribuir de manera rellevant al disseny d'aquestes estratègies (Wyse, 1992; Bhowmik, 1997; Mortensen *et al.*, 2000; Liebman *et al.*, 2001; Radosevich *et al.*, 2007; Fernández-Quintanilla *et al.*, 2008). En aquest sentit, els estudis demogràfics poden ser útils per identificar aquells processos crítics en la regulació del creixement d'una població i per dissenyar pràctiques agronòmiques que incideixin sobre els processos identificats (Ghersa *et al.*, 2000). Van Acker (2009) exposa diversos exemples que mostren la utilitat pràctica dels estudis centrats en la biologia i l'ecologia d'espècies arvenses per a la millora del seu maneig.

D'altra banda, aquests tipus d'estudis també són d'interès per a la identificació i avaluació de possibles patògens que puguin ser utilitzats com a bioagents per disminuir les densitats de les poblacions d'espècies arvenses en camps de cultiu. Diversos treballs han estudiat la història, desenvolupament i aspectes tècnics de l'ús de patògens de plantes per al control biològic de les males herbes (McFadyen, 1998; Müller-Schärer *et al.*, 2000; Charudattan, 2001; Brimner i Boland, 2003; El-Sayed, 2005). Entre les diverses classes de patògens, els fongs són els que han rebut una major atenció (Butt *et al.*, 2001).

La fitopatologia ha estat una disciplina àmpliament desenvolupada en espècies de plantes cultivades, però pocs autors han estudiat com els patògens poden afectar a la grandària i l'estructura genètica de les poblacions silvestres, com ara les d'espècies arvenses (Dinoor i Eshed, 1984; Burdon, 1987). Malgrat aquesta realitat àmpliament reconeguda, també s'ha avançat molt en la investigació de malalties de plantes en comunitats naturals des de les primeres contribucions dels anys 70-80 (Gilbert, 2002) i, actualment, els esforços continuen des de diversos punts de vista (Burdon *et al.*, 2006).

Tot i l'esmentat interès agronòmic dels estudis centrats en espècies arvenses, en general la

recerca sobre interaccions entre poblacions d'espècies silvestres, així com les investigacions centrades en el coneixement de la seva demografia i dinàmica, tenen també un interès ecològic *per se*, ja que poden ajudar a descriure, explicar i entendre (o fins i tot preveure) els canvis de les poblacions en l'espai i el temps, i els mecanismes involucrats en la coexistència i la coevolució de poblacions (espècies) (Silvertown i Charlesworth, 2001; Begon *et al.*, 2006).

I.1 Antecedents i motivació

Al setembre de 2004 es va detectar la presència d'un carbó (causat per *Ustilago syntherismae* (Schweinitz) Peck) en plantes de *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop. al marge d'una parcel·la conreada de la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental, Barcelona, 41°36'N 2°10'E) (Mas *et al.*, 2006), que en aquella data era propietat de la Diputació de Barcelona i que en l'actualitat pertany a l'Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries. La malaltia també es va observar al 2005 a la mateixa parcel·la on s'havia detectat inicialment. Aquesta espècie de fong només havia estat citada un sol cop a Espanya, l'any 1880 (Almaraz, 2002; Hernández-Crespo, 2006). En aquell cas corresponia a material d'herbari recol·lectat a Màlaga al 1875. Tot i aquesta singularitat, la distribució geogràfica d'aquesta espècie és força àmplia i ha estat detectada i citada en els cinc continents del món (Mordue, 1995; Farr *et al.*, 2009). L'esmentada troballa, juntament amb l'extensa distribució i importància de l'espècie arvensa *D. sanguinalis*, van ser la motivació principal de la present tesi doctoral, que se centra en l'estudi de la dinàmica poblacional de *D. sanguinalis* i en l'efecte del fong patògen *U. syntherismae* sobre les poblacions d'aquesta espècie arvensa.

I.2 L'espècie arvensa - *Digitaria sanguinalis*

La forcadella, panissalla, pota de gall o xereix (*Digitaria sanguinalis*) és una gramínia anual d'estiu C4 àmpliament distribuïda i que creix tant en zones cultivades com en àrees no cultivades. En relació a la seva importància agronòmica, Holm *et al.* (1977) la van descriure com una de les pitjors males herbes del món, tenint en compte el nombre de països en què es considerava mala herba, la seva abundància i les pèrdues econòmiques que causava. A nivell europeu, en una enquesta realitzada a destacats malherbòlegs, va ser considerada com una de les principals males herbes en els cultius de blat de moro, melca, vinya, horticòles i fruiters (Schroeder *et al.*, 1993). A Espanya, i també a Catalunya, nombrosos treballs han posat de manifest la seva importància i abundància en diversos cultius de regadiu, com els

de blat de moro, vinya, cotó, hortícoles i fruiters (Guillerm i Maillet, 1982; Marqués *et al.*, 1983; Carretero, 1989; Saavedra *et al.*, 1990; Sans *et al.*, 1991; Fraga *et al.*, 1993; Carretero, 2004; Vigo *et al.*, 2006; Gago *et al.*, 2007). Pel que fa a la seva importància en àrees no cultivades, la forcadella afecta a la qualitat de les gespes sembrades en zones recreatives i també es pot trobar com a espècie ruderal en les vores de camins i carreteres (Mitich, 1988; Beehag, 2000; Bolòs *et al.*, 2005).

D'altra banda, fa milers d'anys diverses espècies del gènere *Digitaria* eren sembrades com a cultius a diferents parts del món (Mitich, 1988). De fet, sembla ser que a la regió del Caixmir *D. sanguinalis* és encara un cultiu minoritari (Dahlgren *et al.*, 1985). L'any 1849 l'oficina de patents d'Estats Units va introduir en aquell país *D. sanguinalis* com a cultiu farratger, tot i que no va generar gaire interès. A finals del segle XIX i principis del XX, els immigrants de Polònia i de centre Europa van reintroduir el cultiu d'aquesta planta als Estats Units. En poc temps però, va ser abandonat i substituït per espècies més productives, com ara el blat i el blat de moro (Mitich, 1988). A Estats Units actualment *D. sanguinalis* és considerada una mala herba important (Kim *et al.*, 2002).

I.2.1 Característiques biològiques i ecològiques

La forcadella és una gramínia anual d'estiu que es reproduïx per llavors. No obstant, en algunes zones pot exhibir un creixement perenne com a conseqüència de la capacitat dels nusos inferiors per formar arrels i formar tofes en sòls humits. En zones amb clima estacional però, les primeres gelades són les responsables de la mort de la planta (Peters i Dunn, 1971; Holm *et al.*, 1977).

La unitat de dispersió de *D. sanguinalis* correspon a l'espigueta, és a dir, a la cariopsi coberta per les glumel·les, una glumel·la d'una flor estèril i les glumes. La seva inflorescència està formada per 3-15 raïms unilaterals disposats en forma més o menys digitada. Les espiguetes normalment es troben col·locades per parelles sobre l'eix del raïm, la inferior amb un pedicel molt curt i l'altra amb un pedicel amb una llargada aproximadament de la mateixa longitud que l'espigueta (Bolòs *et al.*, 2005).

De manera similar al que succeeix en d'altres espècies arvenses, en el moment de la dispersió la majoria de les seves llavors presenten un estat de dormició i, segons Peters i Dunn (1971), no germinen fins almenys la següent primavera. Toole i Toole (1941) van observar que la dormició innata de les espiguetes de *D. sanguinalis* es perdia després de diversos mesos d'emmagatzematge en sec a temperatura ambient. Aquests autors van trobar que lots de

llavors acabats de recol·lectar i col·locats a germinar en condicions adequades (alternança de temperatura 20°C/30°C i temperatura constant de 30°C) necessitaven 24 setmanes per arribar a un percentatge de germinació acumulada superior al 95%. En canvi, lots de llavors recol·lectats i conservats en ambient sec durant 8 mesos només necessitaven 4 setmanes. Altres mètodes que trenquen totalment la dormició innata de les llavors de *D. sanguinalis* són: l'emmagatzematge en sec a altes temperatures (50-60°C) durant 3 dies (Taylorson i Brown, 1977), l'estratificació humida a baixes temperatures (2-4°C) durant 2 mesos (Delouche, 1956), i l'eliminació de les cobertes de la llavor (Gianfagna i Pridham, 1951).

Molts pocs treballs han estudiat els mecanismes involucrats en la dormició de llavors de *D. sanguinalis* acabades de recol·lectar. Gianfagna i Pridham (1951) van trobar que la dormició no era atribuïble ni (i) a la immaduresa de l'embrió, ja que llavors recol·lectades 7 dies després que els estigmes es tornessin marrons germinaven quan s'aplicava un tractament d'escarificació, ni tampoc (ii) a la impermeabilitat de les cobertes a l'aigua, atès que van comprovar la imbibició de llavors dorments. En canvi, van suggerir que podia estar relacionada amb la impermeabilitat a l'oxigen i/o la presència de substàncies inhibidores en les cobertes de l'embrió. Per una banda, van observar que l'escarificació física de les cobertes estimulava la germinació i, per l'altra, que extractes de llavors dorments la inhibien. Delouche (1956) va trobar resultats similars. En primer lloc, va observar que l'eliminació o trencament de les cobertes de les llavors dorments de *D. sanguinalis* permetia la seva germinació completa i, a més, que extractes de llavors dorments inhibien tant la germinació de llavors dorments com la de llavors no dorments. Tenint en compte aquestes dades, sembla ser que *D. sanguinalis* podria presentar una dormició o latència fisiològica no profunda (segons la classificació de Baskin i Baskin, 2001; 2004).

En condicions de camp, l'emergència de *D. sanguinalis* presenta un típic cicle estacional, de manera que les llavors germinen a finals de la primavera i a principis d'estiu i, en canvi, mostren una baixa capacitat de germinació a finals de la tardor i a l'hivern. La majoria de llavors germinen durant el primer any de ser produïdes, tot i que poden tenir una viabilitat en el sòl de fins a 3 anys (Masin *et al.*, 2006).

Amb referència a les condicions d'emergència, s'ha vist que les llavors no dorments no emergeixen si la temperatura del sòl és inferior a 15°C o el potencial hídric és menor a -50/-60 kPa (King i Oliver, 1994). Myers *et al.* (2004) van calcular que es necessitaven 280 graus dia (GD), 600 GD i 1200 GD per a l'emergència del 10%, 50% i 100% de plàntules de *D. sanguinalis*, respectivament. En proves de laboratori, Steinmaus *et al.* (2000) van estimar la temperatura base per a la germinació de les llavors al voltant dels 15°C, Masin *et al.*

(2005) van determinar que era de 8.4°C i Ros (2008) va trobar que estava entre els 9°C i els 11.5°C. Els diferents valors de temperatura base estimats deriven probablement dels diferents mètodes utilitzats per calcular el paràmetre, i de les possibles diferències genètiques entre les llavors utilitzades en cadascun dels treballs. Relacionat també amb les condicions de germinació, valors de pH del sòl superiors a 7.3 redueixen la germinació de l'espècie (Pierce *et al.*, 1999). D'altra banda, l'emergència de plàntules és superior en les llavors situades en els dos primers centímetres del sòl, mentre que a profunditats superiors als 6 cm no arriben a emergir, probablement a causa d'una dormició de les llavors induïda per la profunditat (Benvenuti *et al.*, 2001).

La capacitat competitiva de la forcadella ha estat avaluada en alguns cultius de regadiu. Aquests estudis s'han orientat fonamentalment a quantificar les pèrdues de rendiment del cultiu associades a la presència d'aquesta espècie, i a intentar determinar els períodes crítics de competència. En general, en tots ells es mostra l'elevada capacitat competitiva d'aquesta gramínia enfront les plantes cultivades. Per exemple, la presència de *D. sanguinalis* va reduir la producció d'un cultiu de sindrieres (*Citrullus lanatus*) fins a un 82% (Monks i Schultheis, 1998); una densitat de 8 plantes m⁻² de *D. sanguinalis* va suposar una disminució del rendiment d'un cultiu de mongeteres (*Phaseolus vulgaris*) del 50% (Aguyoh i Masiunas, 2003); i una densitat de només 2 plantes m⁻² va provocar una reducció del 25% d'un cultiu de soja transgènica resistent al glifosat (*Glycine max*) (Oreja i González-Andújar, 2007).

En la literatura només s'han trobat dos treballs que hagin estudiat la dinàmica poblacional de *D. sanguinalis*. L'estudi de Mohler i Callaway (1992; 1995) va avaluar l'emergència, mortalitat i reproducció de *D. sanguinalis*, juntament amb tres espècies arvenses més, en un cultiu de blat de moro i en un camp sense cultivar del nord-est dels Estats Units. En aquest treball es va observar una taxa de supervivència de les cohorts de *D. sanguinalis* controlades relativament alta (entre 50% i 84%) i una variable, però en general elevada, fecunditat individual (de 150 a 19000 llavors pl⁻¹). També van trobar que la major part de llavors eren produïdes pels individus de la cohort que havia emergit primer. D'altra banda, Oreja i de la Fuente (2005) van estudiar l'efecte del moment d'aplicació d'herbicida en la dinàmica de *D. sanguinalis* en un cultiu de soja transgènica resistent a glifosat de la Pampa Ondulada d'Argentina. Fruit d'aquest estudi van concloure que les aplicacions més eficients eren les que controlaven la primera cohort respecte aquelles aplicades més tard i destinades a afectar les cohorts més tardanes. En el tractament control (sense aplicació d'herbicida) van constatar l'elevada capacitat reproductiva de les poblacions d'aquesta espècie arvense.

I.2.2 Mètodes de control

Actualment, pel control d'aquesta mala herba s'utilitzen tant mètodes culturals com químics. Tanmateix, els avantatges d'utilitzar uns o altres no estan suficientment definits (Walker *et al.*, 1998).

Pel que fa als mètodes culturals, sembla ser que el treball del sòl pot disminuir l'abundància de *D. sanguinalis*. Tuesca *et al.* (2001), Zanin *et al.* (1997) i Mohler i Callaway (1992) van trobar una major emergència de plàntules de *D. sanguinalis* en camps en sembra directa que en sòls on s'havia realitzat algun tipus de treball. Moonen i Bàrberi (2004), Verdú i Mas (2003), Bàrberi i Lo Cascio (2001), i Menalled *et al.* (2001) també van trobar un major nombre de llavors viables d'aquesta espècie en el banc de llavors del sòl de camps en règim de sembra directa. Contràriament, de la Fuente *et al.* (1999) va observar que *D. sanguinalis* es veia afavorida pel treball convencional del sòl.

En relació a l'aplicació d'herbicides pel control de *D. sanguinalis*, s'utilitzen tant herbicides de preemergència com de postemergència. En la literatura existeixen nombrosos estudis que avaluen les mínimes quantitats a aplicar i les possibles combinacions de determinats herbicides per a un bon control d'aquesta mala herba (p. ex. Johnson, 1997; Walker *et al.*, 1998; Reicher *et al.*, 1999; Hart *et al.*, 2004). La major part d'aquests treballs s'han centrat en el control de la forcadella en zones sembrades amb cespitoses. Cal destacar però, que actualment ja s'han detectat algunes poblacions de *D. sanguinalis* resistents a herbicides a Austràlia, Àustria, Estats Units, França, Hongria, Itàlia, Polònia i República Txeca (Schroeder *et al.*, 1993; Heap, 2009). Wiederholt i Stoltenberg (1996) van estudiar poblacions de *D. sanguinalis* sensibles i resistents a herbicides inhibidors de l'acetil-CoA carboxilasa, i van observar que l'èxit reproductiu d'ambdós genotips era similar en condicions de camp amb absència de competència, i en condicions controlades a l'hivernacle en competència amb plantes de blat de moro.

En els darrers anys, també s'han començat a estudiar possibles estratègies de control biològic per al maneig de *D. sanguinalis*. Per una banda, s'han trobat alguns treballs que avaluen diferents espècies de fongs com a components potencials de bioherbicides (Chandramohan i Charudattan, 2001; Tilley i Walker, 2002). No obstant, en aquests estudis el rang d'organismes hostatgers afectats pels diferents paràsits avaluats era molt gran, de manera que, a més de *D. sanguinalis*, eren susceptibles a aquests fongs altres espècies de males herbes (tant monocotiledònies com dicotiledònies) i inclús d'algunes plantes cultivades.

En la literatura també s'han trobat dades sobre els efectes allelopàtics de la capsaïcina

(component actiu d'espècies del gènere *Capsicum*), dels glucosinolats (component produït per diverses espècies d'algunes famílies com les *Brassicaceae* i *Limnanthaceae*), i de les flavones i altres substàncies aromàtiques (produïdes per l'espècie arvensis *Ageratum conyzoides*), en la inhibició de la germinació i el creixement de *D. sanguinalis* (Kato-Noguchi, 2001; Kato-Noguchi i Tanaka, 2003; Kong *et al.*, 2004; Norsworthy *et al.*, 2007).

I.3 El fong patogen - *Ustilago syntherismae*

Ustilago syntherismae és una espècie de carbó sistèmic (O. Ustilaginals) que a Europa només ha estat citat com a paràsit d'espècies dels gèneres *Digitaria* i *Panicum* (Vánky, 1994; Farr *et al.*, 2009). Tot i això, en altres indrets del món, també ha estat observat com a patogen d'altres espècies de gramínies. Concretament, ha estat citat en individus de *Acroceras macrum*, *Andropogon* sp., *Cenchrus* spp., *Leptoloma cognatum*, *Hyparrhenia bracteata*, *Elysiene indica* i *Setaria viridis* (Farr *et al.*, 2009). Vánky (1994; 2002) detalla la taxonomia i nomenclatura d'aquest Basidiomicet. Les teliòspores del fong tenen una longevitat d'almenys 7 anys (Fischer, 1936) i sembla que presenten dormició el mateix any de ser produïdes (Kolk, 1943; Gaskin, 1958).

Johnson i Baudoin (1997) mostren evidències d'una elevada especialització patogènica d'aquesta espècie de carbó, almenys entre biotips que afecten a *D. sanguinalis* i *D. ciliaris*, respecte aquells que parasiten *D. ischaemum*. En canvi, els resultats de Martin (1943) no van apuntar en la mateixa direcció per a biotips obtinguts d'individus de *Cenchrus pauciflorus* i *Panicum capillare*. Aquest autor va diferenciar nombrosos biotips de *Sorosporium syntherismae* (sinònim d'*U. syntherismae* segons Vánky, 1994) en una mateixa espècie de planta i, a més, va argumentar que nous biotips podien ser el resultat de mutacions i hibridacions del fong. De fet, aquest treball va constatar la possibilitat d'hibridació de *Sorosporium syntherismae* amb un altre carbó *Sphacelotheca panici-miliacei* (sinònim de *Sporisorium destruens*, nom actual de l'espècie segons Vánky, 1994).

I.4 El sistema hostatger patogen *Digitaria sanguinalis* - *Ustilago syntherismae*

La informació recollida en la literatura sobre la interacció entre el fong patogen *U. syntherismae* i l'espècie arvensis *D. sanguinalis* és molt limitada. Només s'ha localitzat un treball recent que estudiï la interacció d'*U. syntherismae* amb algunes espècies del gènere *Digitaria*

(Johnson i Baudoin, 1997). Els resultats d'aquest treball no es refereixen específicament a *D. sanguinalis* i no són concloents però apunten, com ja ho havia fet prèviament l'estudi de Halsted (1899), que el fong no es dispersa a l'interior de la llavor (com succeeix en d'altres espècies de carbons com *Ustilago tritici* o *Ustilago nuda*; Smith *et al.*, 1988) sinó que presumiblement les espores passen l'hivern en el sòl i infecten a les plàntules (p. ex. de manera similar a *Ustilago hordei* o *Ustilago maydis*; Smith *et al.*, 1988).

A part d'aquest treball, pocs estudis han recollit alguna informació sobre aquesta interacció i, a més, només presenten dades a nivell qualitatiu (Norton, 1896; Halsted, 1899; Fischer i Holton, 1957; Gaskin, 1958). En general, les plantes infectades es descriuen com a individus de mida més reduïda que les plantes sanes, amb entrenusos i fulles més curtes, però més frondoses. També s'ha observat que *U. syntherismae* sembla que retarda l'inici del període de senescència dels individus de *D. sanguinalis*.

Normalment el patogen causa la castració completa de *D. sanguinalis*, tot i que en una petita proporció també hi ha plantes amb inflorescències amb carbó que són capaces de produir alguna llavor (Norton, 1896; Johnson i Baudoin, 1997). Norton (1896) va suggerir específicament que aquestes plantes amb part de les inflorescències transformades en espores són infectades més tard que les plantes totalment castrades (és a dir, que les plantes amb totes les inflorescències transformades amb carbó i que no produeixen cap llavor). Per altra banda, Gaskin (1958) va afirmar que les plantes malaltes apareixen abans que les plantes sanes en una mateixa localitat. En canvi, Johnson i Baudoin (1997) esmenten que les inflorescències amb carbó acostumen a ser visibles diverses setmanes després que les inflorescències de les plantes sense carbó. Segons aquesta informació es podria formular la hipòtesi que els individus que emergeixen a l'inici del període favorable per a l'espècie no són infectats pel fong (o almenys no mostren signes externs d'infecció).

I.5 Efecte dels carbons en poblacions d'espècies silvestres

La interacció entre *U. syntherismae* i *D. sanguinalis* és només una de les múltiples interaccions de parasitisme que es donen a la natura entre espècies de carbons del gènere *Ustilago* i espècies de plantes. En general, la taxonomia de l'Ordre dels Ustilaginals ha estat molt estudiada sobretot pel Dr. Kálmán Vánky (1994; 1999; 2002), micòleg de l'*Herbarium Ustilaginales Vánky* (HUV), que ha descrit moltes espècies i les ha associat als seus hostatgers.

La simptomatologia característica dels carbons és la producció de gales plenes de teliòspores en la part aèria de la planta, i sobretot en les inflorescències. Les cèl·lules dels teixits

afectats són destruïts i reemplaçats per les espores negres del carbó, o bé primer són estimulades per a què es divideixin i creixin fins al grau en què produeixen l'inflament o gala de dimensions variables, i aleshores són destruïdes i reemplaçades per les teliòspores del fong. També hi ha altres indicis externs d'aquest tipus malaltia, però no són comuns per a totes les espècies (Agrios, 1997).

La majoria de treballs sobre espècies de carbons s'han centrat en conèixer els detalls dels efectes, els cicles de vida i els mètodes de control de la malaltia en plantes cultivades (p. ex. blat de moro, ordi, blat, etc.). En canvi, els esforços en l'estudi d'aquelles espècies que infecten a poblacions de plantes silvestres han estat molt menors. El Dr. Jeremy J. Burdon (1987; 1993) ha estat pioner en l'estudi a nivell poblacional dels efectes de les interaccions hostatger-patogen en plantes silvestres, entre les quals també s'inclouen els efectes dels Ustilaginals. De fet, actualment juntament amb els seus col·legues de la *Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation* (CSIRO Plant Industry, Austràlia) continua treballant i són un grup capdavanter i d'obligada referència en aquesta matèria (Barrett *et al.*, 2008; Burdon i Thrall, 2008).

La interacció carbó - espècie silvestre que probablement s'ha estudiat, i que continua estudiant-se actualment, amb més profunditat des de diverses aproximacions complementàries (molecular, citològica, anatòmica, individual, poblacional i de comunitats) és la interacció entre el fong *Microbotryum violaceum* (*Ustilago violacea*) i diferents espècies de la família de les *Caryophyllaceae* (Alexander i Antonovics, 1988; Thrall i Jarosz, 1994a; Bucheli *et al.*, 2000; Carlsson-Granér i Thrall, 2006; Giles *et al.*, 2006; Lutz *et al.*, 2008; Sloan *et al.*, 2008). En aquest cas es tracta d'un carbó que es transmet a través dels pol·linitzadors dels individus hostatgers.

I.5.1 Efectes en l'aptitud biològica

Els fongs patògens poden modificar l'aptitud biològica dels seus hostatgers mitjançant l'afectació de la seva (i) supervivència, (ii) reproducció, (iii) capacitat competitiva, (iv) creixement, i/o (v) susceptibilitat a ser atacat per herbívors o per altres patògens. L'efecte de la infecció en la supervivència i reproducció té una influència directa en l'aptitud biològica de la planta, mentre que l'alteració de la capacitat competitiva, el creixement i la susceptibilitat a altres depredadors, l'afecten de manera indirecta (Burdon, 1987; Jarosz i Davelos, 1995). Aquests efectes també s'utilitzen per valorar l'agressivitat o virulència dels patògens (Sacristán i García-Arenal, 2008).

Burdon (1993) classifica els patògens com a mortals, afeblidors o castradors, segons els símptomes de la malaltia i els seus principals efectes en l'hostatger. Els carbons que afecten a les inflorescències s'inclouen en el grup dels castradors, ja que redueixen directament la fecunditat dels individus infectats.

En la literatura s'han trobat diversos treballs que mostren que la direcció i magnitud dels efectes dels carbons en l'aptitud biològica dels seus hostatgers són molt diversos i varien en funció de la interacció concreta que s'estudia. D'aquesta manera, García-Guzmán i Burdon (1997) van observar que plantes de *Cynodon dactylon* infectades per *Ustilago cynodontis* no produïen ni un sola llavor i tenien una supervivència i creixement menor que individus de *C. dactylon* no infectats. En canvi, el paràsit no afectava ni a la germinació ni a l'emergència de les plàntules. En un altre estudi, García-Guzmán *et al.* (1996) van obtenir que l'emergència de plàntules i la biomassa de les plantes de *Bromus catharticus* infectades per *Ustilago bullata* eren menors que en el cas de les plantes sanes. D'altra banda, van trobar que amb elevats nivells de nutrients al sòl, la capacitat competitiva dels individus sans i dels infectats era la mateixa. En canvi, amb nivells baixos de nutrients, la capacitat competitiva de les plantes sanes era major que la de les plantes malaltes. Prèviament, Falloon (1976) havia observat que el fong reduïa la supervivència, la biomassa aèria i subterrània, i també la capacitat de filloleig de les plantes malaltes.

En el cas de la interacció *Ustilago violacea* - *Silene alba*, Alexander i Antonovics (1988) no van trobar diferències significatives entre el creixement i la supervivència dels individus sans i els infectats. Thrall i Jarosz (1994b) van posar de manifest la importància de la influència dels factors ambientals. Les plantes malaltes tenien una major mortalitat que les plantes no infectades en hiverns més suaus, però aquesta diferència no es detectava en hiverns severs quan ambdues subpoblacions tenien una alta mortalitat. En general, el fet que no es detectin diferències en la mortalitat dels individus sans i malalts no implica necessàriament que la interacció sigui neutra o benigna en aquest component de l'aptitud biològica, ja que en aquests tipus d'interaccions s'acostuma a observar una major mortalitat de ramets tot i que no es detectin efectes a nivell individual (Wennström, 1999).

En el treball de Govinthasamy i Cavers (1995) es va estudiar els efectes d'*Ustilago destruens* en la producció, dormició i viabilitat de les llavors de *Panicum dichotomiflorum*. Les llavors produïdes per plantes malaltes tenien una menor viabilitat, però germinaven més ràpidament que les llavors d'individus sans.

D'altra banda, Nus i Hodges (1990) va trobar que el carbó *Ustilago striiformis* que parasita a

la gramínia *Poa pratensis* 'Merion' no tenia cap efecte en la biomassa dels rizomes dels individus hostatgers i, en canvi, incrementava la biomassa aèria de les seves tiges. Aquesta estimulació del creixement de la part aèria no la van observar en situació d'estrès hídric.

Wennström (1999) relaciona els efectes d'espècies de carbons i rovells sistèmics amb el tipus de creixement de les espècies vegetals hostatgeres. Espècies amb un gran creixement lateral (com per exemple *Cyndon dactylon*) tendeixen a afavorir patògens agressius i de creixement ràpid, ja que la mort d'uns quants ramets no suposa la mort del patogen. En canvi, en plantes amb un creixement lateral dèbil, una agressivitat del patogen excessiva pot matar als hostatgers individuals i, per tant, a l'individu patogen. Amb aquesta idea s'apunta que, els patrons de creixement dels hostatgers poden ser un factor de selecció per a diferents tipus de caràcters del patogen, i que l'agressivitat desenvolupada per un patró de creixement pot no ser una estratègia viable per un altre hostatger que tingui un patró de creixement diferent.

I.5.2 Efectes en l'estructura genètica

D'acord amb la hipòtesi evolucionista de la *Reina Roja*, si la virulència del patogen està genèticament determinada i és específica per a determinats genotips d'hostatger, aleshores els genotips de patogen capaços d'infectar els genotips d'hostatger més comuns tindran un avantatge selectiu. Contràriament, genotips d'hostatger poc freqüents tindran un avantatge selectiu, ja que tindran poques probabilitats d'arribar a ser infectats per patògens específics dels genotips d'hostatger més comuns. A mesura que els genotips d'hostatger menys usuals arriben a ser més comuns, patògens capaços d'infectar-los seran afavorits i podran augmentar la seva freqüència. En aquest sistema, la selecció és depenent de la freqüència amb una certa demora temporal, ja que la població de paràsits no respon ràpidament als canvis genètics de la població hostatgera (Clay i Kover, 1996). Diversos estudis empírics han documentat l'existència de variabilitat genètica en les poblacions silvestres hostatger-patogen, segons la resistència a ser infectades i la capacitat d'infectar, respectivament (Carius *et al.*, 2001). Les plantes amb un cicle de vida curt poden tenir cicles de generació similars als dels seus patògens i, en aquests casos, les respostes evolutives en la dinàmica de la interacció hostatger-patogen seran importants (Gilbert, 2002).

En el context del control biològic, Charudattan (2005) i Hufbauer i Roderick (2005) van posar de manifest la importància de l'estudi de la variabilitat genètica poblacional i l'evolució de les interaccions entre els organismes agents i els organismes controlats. Per exemple, a Austràlia la introducció d'un rovell, *Puccinia chondrillina*, pel control biològic

d'una planta invasora, *Chondrilla juncea*, va provocar un canvi important en la població hostatgera. Del domini de biotips susceptibles es va passar al domini de biotips resistents com a conseqüència de la disminució de la capacitat competitiva del biotip susceptible en presència del rovell (Burdon *et al.*, 1981).

En el cas concret dels efectes de la interacció carbó-hostatger en l'estructura genètica de poblacions silvestres, la interacció *Microbotryum violaceum* amb espècies perennes del gènere *Caryophyllaceae* ha estat objecte de nombrosos estudis. Aquests treballs han posat en evidència la variabilitat genètica de les poblacions d'hostatgers i de paràsits (Alexander *et al.*, 1996; Carlsson-Granér i Thrall, 2002; Van Putten *et al.*, 2005).

Per altra banda, Morrison (1996), en un estudi de la interacció del carbó *Cintractia junci* en poblacions de *Juncus dichotomus*, va posar de manifest una possible interacció genotip hostatger-ambient. En aquest sentit, comparant una zona amb el sòl permanentment humit i una altra amb el sòl sec durant l'època de creixement de l'hostatger, va observar que la variabilitat genètica de la població de *J. dichotomus* només havia tingut efecte en la infecció del patogen en la zona amb sòl humit. Aquest treball suggereix que podria haver-hi una jerarquització dels efectes que influeixen en les interaccions hostatger-patogen. Si el medi físic és molt heterogeni, els efectes en la capacitat d'infecció del patogen deguts al component genètic podrien quedar reduïts.

I.6 Objectius i estructura de la tesi

L'objectiu general d'aquesta tesi doctoral és l'estudi de la dinàmica poblacional de l'espècie arvense *D. sanguinalis* i l'avaluació de l'efecte del fong patogen *U. syntherismae* sobre les poblacions d'aquesta espècie. L'interès de la temàtica és doble. Per una banda, en un context agronòmic, la informació sobre la dinàmica de les poblacions d'aquesta espècie anual pot ajudar a millorar-ne el seu maneig i, a més, l'estudi de la seva dinàmica en presència del fong *U. syntherismae* pot aportar informació de base útil per valorar la possibilitat d'utilitzar el fong com a bioagent per controlar la mala herba. Per altra banda, en una vessant més ecològica, l'estudi del patosistema *D. sanguinalis* - *U. syntherismae* és interessant atesos els pocs estudis que han avaluat els efectes d'espècies de carbons paràsits de plantes anuals silvestres.

El cicle anual de *D. sanguinalis* es pot descriure seguint l'esquema idealitzat mostrat en la Figura I-1. Es tracta d'un esquema basat en el proposat per Sagar i Mortimer (1976) que també ha estat utilitzat per diversos autors (Fernández-Quintanilla *et al.*, 1986; Cousens i

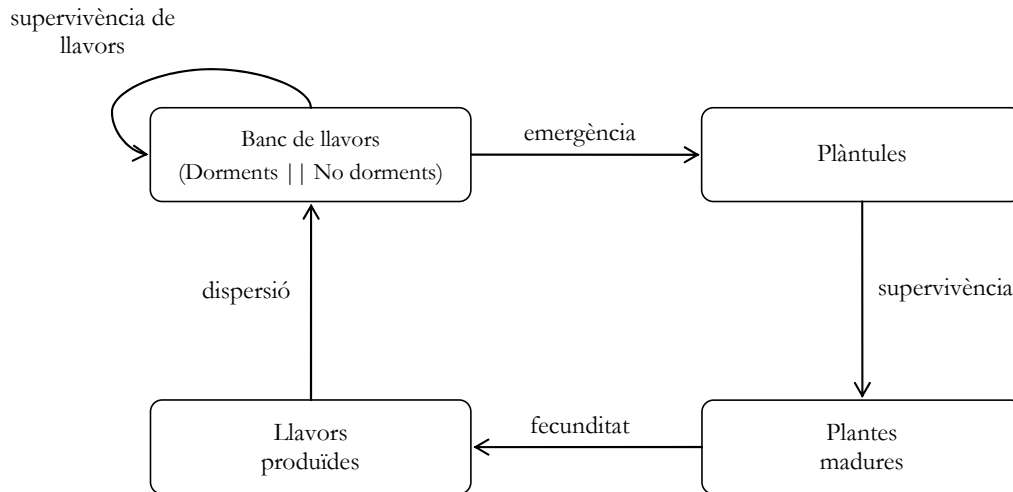


Figura I-1. Representació esquemàtica del cicle anual de *D. sanguinalis*.

Mortimer, 1995; Begon *et al.*, 1996; González-Andújar *et al.*, 2005; Radosevich *et al.*, 2007; Torra *et al.*, 2008). D'aquesta manera, el cicle de vida de *D. sanguinalis* es pot dividir en quatre fases: (i) plàntules, (ii) plantes madures, (iii) llavors produïdes, i (iv) llavors del banc de llavors del sòl, i cinc interfases o fluxos entre fases: (i) emergència, (ii) supervivència, (iii) fecunditat, (iv) dispersió, i (v) supervivència de llavors del banc de llavors del sòl.

La present tesi doctoral s'ha estructurat en aquest capítol introductori, més tres capítols que presenten, descriuen, i discuteixen els resultats dels experiments realitzats per assolir l'objectiu general d'aquesta tesi, un capítol de discussió general i conclusions i, per últim, un apèndix. Els tres capítols que recullen la part experimental realitzada constitueixen el cos central d'aquesta dissertació i se centren en l'estudi d'alguna o algunes de les fases o interfases en les que es pot dividir el cicle de vida anual de *D. sanguinalis* (Figura I-1).

El Capítol II se centra en l'estudi de l'emergència, la supervivència i la fecunditat de *D. sanguinalis*. Aquest capítol recull els resultats obtinguts durant dos anys consecutius de l'estudi de cohorts d'una població de *D. sanguinalis* en interacció amb el fong *U. syntherismae*. La població controlada va créixer en condicions naturals, en un camp on el carbó havia estat prèviament detectat.

El Capítol III es focalitza en l'estudi de la fase de plantes madures. Concretament, s'ha estudiat detalladament la morfologia, la biomassa i la fecunditat d'un gran nombre d'individus de *D. sanguinalis* madurs, i s'ha avaluat quantitativament els efectes d'*U. syntherismae* en aquestes característiques. Aquest capítol inclou els resultats obtinguts de la comparació dels

individus sans i malalts al final del cicle anual de la població de *D. sanguinalis* estudiada en el Capítol II. També es presenten les dades d'una població de *D. sanguinalis* monoespecífica en la que es van manipular les densitats. A més, s'explora el possible efecte del fong en la capacitat competitiva dels individus i s'avalua la possible relació entre la densitat de *D. sanguinalis* i la incidència de la malaltia produïda per *U. syntherismae*.

El Capítol IV es fixa en les fases de llavors produïdes i llavors del banc de llavors del sòl. Específicament, s'han avaluat diversos mètodes per trencar la dormició de les llavors produïdes i s'han relacionat els resultats obtinguts amb les possibles causes d'aquesta dormició. Per altra banda, també s'ha estudiat la pèrdua de la dormició innata de les llavors al llarg del temps, enterrades en testos a diferents profunditats simulant condicions naturals, i en condicions d'emmagatzematge en sec a temperatura ambient.

Cadascun dels tres capítols esmentats anteriorment està organitzat amb l'estructura característica d'un article científic. En primer lloc, s'introdueix el context i la temàtica tractada en el capítol, que en certs aspectes complementa i amplia la informació recopilada en aquest capítol introductori, i es presenten els objectius específics del treball recollit en aquell capítol. A continuació, s'inclouen els corresponents apartats de material i mètodes, resultats i discussió. Tenint en compte aquesta estructura, cadascun d'aquests capítols es pot entendre com una unitat independent. Per tal d'assegurar que els diferents capítols són autocontinguts, ha estat ineludible el solapament d'alguns aspectes, tant introductoris com de material i mètodes, entre els diferents capítols que constitueixen el present document.

El Capítol V discuteix, recapitula i resumeix les principals conclusions dels estudis presentats en els Capítols II, III i IV. Finalment, com a Apèndix, s'ha inclòs el detall de l'anàlisi estadística realitzada per modelitzar i comparar l'evolució de la germinació en funció del temps de diferents tractaments, i que s'ha utilitzat per avaluar part dels resultats presentats en el Capítol IV.

Capítol II

Demografia d'una població de *Digitaria sanguinalis* en interacció amb el fong *Ustilago synthetismae* : Efecte del moment d'emergència en la supervivència, la reproducció i la biomassa

II.1 Introducció

La importància i la utilitat dels estudis de dinàmica de poblacions per al disseny d'estratègies de control de males herbes efectives i respectuosos amb el medi ambient estan àmpliament reconegudes (Navas, 1991; Cousens i Mortimer, 1995; Liebman *et al.*, 2001). Diversos treballs han estudiat la dinàmica de poblacions de males herbes, i s'han fet molts esforços per tal de modelitzar-la (Holst *et al.*, 2007). Tot i això, encara són necessaris més estudis sobre la biologia i l'ecologia d'espècies arvenses per avançar i millorar en el camp del maneig de les males herbes (Radosevich *et al.*, 2007; Fernández-Quintanilla *et al.*, 2008).

La forcadella (*Digitaria sanguinalis*) és una mala herba comuna anual que creix tant en comunitats de cultius, com de marges de camps, cespitoses i ruderals. Es tracta d'una espècie que es reproduïx per llavors i, per tant, la producció de llavors juntament amb la dinàmica del banc de llavors del sòl tenen un paper clau en la seva dinàmica poblacional (Norris, 2007). Masin *et al.* (2006) van mostrar que en condicions de cultiu permanent de cespitoses, *D. sanguinalis* presentava un banc de llavors persistent a curt termini, és a dir, les llavors persistien en el sòl almenys 1 any, però menys de 5 anys. També van trobar que la ràpida pèrdua de llavors viables en el sòl era probablement causada per l'elevada germinació en el camp, principalment durant els dos primers anys després de l'enterrament de les llavors. Aquests resultats però, van ser obtinguts amb llavors colgades a una profunditat de 4 - 4.5 cm i en aquesta espècie s'ha vist que profunditats superiors als 6 cm podrien induir a una dormició imposada per la profunditat (Benvenuti *et al.*, 2001). Ghera i Martínez-Ghera (2000) i Norsworthy (2008) també van indicar que les llavors de *D. sanguinalis* tenien una baixa lon-

gevitat en el banc de llavors del sòl en sistemes agrícoles sense treball del sòl. Per tant, evitar la producció de llavors d'aquesta espècie sembla ser la pràctica més efectiva pel seu control. *D. sanguinalis* és, però, una espècie molt prolífica (Holm *et al.*, 1977), i també esdevé difícil de controlar quan creix per sobre dels 8 - 10 cm d'alçada o quan forma arrels adventícies (Monks i Schultheis, 1998). A més, té una gran capacitat competitiva que provoca una reducció important del rendiment dels cultius on apareix (Monks i Schultheis, 1998; Aguyoh i Masiunas, 2003; Oreja i González-Andújar, 2007). D'altra banda, ja s'han detectat algunes poblacions d'aquesta espècie resistents a herbicides arreu del món (Schroeder *et al.*, 1993; Heap, 2009).

A la literatura només s'han trobat dos treballs previs que hagin estudiat la demografia de *D. sanguinalis*. Mohler i Callaway (1992; 1995) van avaluar la dinàmica poblacional d'aquesta espècie en un cultiu de blat de moro i en un camp sense cultivar al nord-est d'Estats Units, mentre que Oreja i de la Fuente (2005) la van documentar en un cultiu de soja transgènica resistent al glifosat a la regió de la Pampa Ondulada d'Argentina. En aquest capítol es presenten els resultats d'un estudi sobre la demografia de *D. sanguinalis* realitzat en un camp sense cultivar de la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui) localitzada a la plana del Vallès, zona on *D. sanguinalis* és una espècie arvense abundant en els cultius de regadiu i també en els marges de camps. En l'àrea d'estudi s'ha observat que les primeres emergències tenen lloc a finals del mes de març o principis d'abril (depèn de l'any) i que els individus poden sobreviure fins a l'arribada del període de gelades (octubre/novembre). El període de floració s'allarga des de juny fins al final de l'estació de creixement de la planta.

D. sanguinalis pot ser parasitada pel carbó *Ustilago syntherismae* i la majoria dels individus amb inflorescències afectades pel carbó no poden produir cap llavor (Vánky, 1994; Johnson i Baudoin, 1997). Presumiblement, la malaltia produïda per aquest patogen biotrófic és monocíclica, les teliòspores passen l'hivern en el sòl i la infecció té lloc en els primers estadis de la planta (Halsted, 1899; Johnson i Baudoin, 1997). Tanmateix, l'únic signe extern inequívoc de la infecció és la presència d'inflorescències transformades en espores del carbó.

L'estudi i l'obtenció de dades sobre com *U. syntherismae* afecta a l'aptitud biològica de les poblacions de *D. sanguinalis*, així com l'avaluació de la incidència de la malaltia segons el moment d'emergència dels individus hostatgers, són aspectes interessants per conèixer la dinàmica poblacional de l'espècie arvense en interacció amb el carbó. A més, aquesta informació pot ser un punt de partida interessant per estudiar el patosistema i per poder considerar la possibilitat d'utilitzar el fong com agent de biocontrol de les poblacions de *D. sanguinalis*.

La finalitat general del treball recollit en aquest capítol va ser l'obtenció d'informació sobre la dinàmica poblacional de *D. sanguinalis*. Concretament, els objectius específics de l'estudi van ser l'avaluació de l'efecte del moment d'emergència dels individus de *D. sanguinalis* en la (i) supervivència, (ii) reproducció, i (iii) biomassa. A més, tenint en compte que es va detectar la presència del carbó *U. syntherismae* en les inflorescències d'alguns individus de la població, el treball també va tenir com a objectius (iv) la valoració de l'efecte del moment d'emergència en la probabilitat d'un individu a ser infectat pel fong, i (v) l'estimació de l'efecte del carbó en la pluja de llavors de la població.

II.2 Material i mètodes

II.2.1 Localització

Aquest estudi es va dur a terme a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental, 41°36'44"N 2°10'17"E/UTM 31N 4607078N 431060E) durant els anys 2006 i 2007. Concretament, l'experiment es va realitzar en un camp on prèviament s'havia detectat una població de *D. sanguinalis* amb alguns individus infectats pel carbó *U. syntherismae* (Mas *et al.*, 2006). El sòl de la parcel·la és de textura franca arenosa (70.1% sorra, 16.2% llim i 13.7% argila) i està classificat com a Calcixerollic Xerochrept. Josa *et al.* (1984) recullen més detalls sobre les característiques edàfiques de la zona.

Durant l'experiment (campanya d'estiu 2006 i 2007) no hi va haver cap cultiu sembrat al camp, i tampoc es van realitzar tractaments de fertilització o d'aplicació d'herbicides. Tot i això, durant aquells anys el camp havia estat cultivat amb ordi durant la campanya d'hivern. En anys anteriors, el camp s'havia conreat amb cultius de regadiu d'estiu irrigats per aspersió (1999: blat de moro, 2000: sense cultivar, 2001: gira-sol, 2002-2005: blat de moro).

El clima de la zona és mediterrani temperat. La precipitació mitjana anual és d'uns 600 mm i la temperatura mitjana anual és de 14.5°C, que varia des de 6.5°C al gener fins a 23.5°C al juliol (ICC, 1996). Durant la realització de l'experiment, les dades de precipitació es van obtenir d'una estació meteorològica situada a uns 200 metres de la parcel·la (estació meteorològica X9 de la Xarxa d'Estacions Meteorològiques Automàtiques gestionades pel Servei Meteorològic de Catalunya).

II.2.2 Emergència i supervivència

Per realitzar el seguiment de l'emergència i la supervivència dels individus de *D. sanguinalis*

es van instal·lar un total de 10 quadrats permanents al 2006 i de 12 quadrats permanents al 2007. Els quadrats tenien unes dimensions de 50 x 50 cm² i estaven distribuïts de forma regular al llarg de dos (2006) o tres (2007) transectes separats 2 m.

En els dos anys de seguiment de la població, l'experiment es va iniciar després del pas d'una grada de discos realitzat posteriorment a la collita del cereal (18 de juliol de 2006 i 20 de maig de 2007).

Després de la detecció de la primera emergència de *D. sanguinalis*, els quadrats marcats eren controlats almenys un cop per setmana. En cada control, es comptaven els individus morts o desapareguts, els individus supervivents, i les noves emergències de plàntules que es marcaven amb escuradents numerats. Per un bon seguiment de la població, la senyalització de les plàntules anava acompanyada amb l'elaboració d'un croquis amb la localització de cadascun dels individus.

Es van identificar tres cohorts l'any 2006 (amb un total de 2217 plàntules) i quatre cohorts l'any 2007 (amb un total de 11023 plàntules). Cadascuna de les cohorts corresponia a un pols d'emergència, és a dir, a plàntules que havien emergit aproximadament al mateix moment. Durant el temps de seguiment de la població no es van eliminar els individus de les altres espècies que havien emergit dins dels quadrats, amb la finalitat de fer un seguiment de la població de *D. sanguinalis* en condicions naturals. El període de seguiment es va allargar fins aproximadament al final del cicle de vida anual de *D. sanguinalis*, és a dir, l'inici del període de gelades a la zona (26 d'Octubre de 2006 i 31 d'Octubre de 2007).

II.2.3 Incidència de la malaltia al final del cicle

Al final del període de seguiment, els individus supervivents en els quadrats es van recollir, comptar i classificar segons el moment en què havien emergit (cohort). A més, com que en els dos anys d'estudi de la població es van detectar diversos individus de *D. sanguinalis* amb inflorescències afectades pel carbó *U. syntherismae*, així com individus que no havien florit, els individus recollits també es van classificar en quatre estats d'infecció segons el següent criteri: (i) plantes florides i que no presentaven cap signe extern de la malaltia, és a dir plantes sense carbó (SC), (ii) plantes amb les inflorescències completament transformades en espores del carbó i que no havien produït cap llavor, és a dir plantes amb les inflorescències completament carbonades (CC), (iii) plantes amb alguna inflorescència transformada en espores del carbó, però que també presentaven alguna o algunes llavors aparentment sanes, és a dir plantes amb inflorescències parcialment carbonades

(PC), i (iv) plantes que no havien arribat a florir i per tant no presentaven cap signe extern de la malaltia, és a dir plantes sense florir (SF). En la parcel·la d'estudi, *D. sanguinalis* va ser l'única espècie que va presentar signes externs de la malaltia produïda per *U. syntherismae*.

II.2.4 Característiques reproductives i biomassa

Es van avaluar les principals característiques reproductives dels individus SC i PC, ja que aquests van ser els únics que van poder completar el seu cicle de vida i, per tant, van contribuir a la següent generació. També es va determinar la biomassa d'aquests individus per estimar l'assignació de recursos a la reproducció a partir del càlcul de l'esforç reproductiu (quocient entre la biomassa reproductiva i la biomassa vegetativa; Karlsson i Méndez, 2005).

El mateix dia de ser recol·lectades, les plantes eren congelades amb l'objectiu de ser processades detalladament al laboratori. Abans d'aquest processament, les plantes es deixaven descongelar a temperatura ambient. Concretament, per a cada tija (ramificació a la base) de cada individu SC es va determinar: el nombre d'inflorescències, el nombre de raquis per inflorescència i la longitud dels raquis de cada inflorescència. El nombre de llavors per raquis es va estimar utilitzant una relació allomètrica entre la longitud del raquis i el nombre de cariopsis. Aquesta relació es va establir per a cada any a partir d'una submostra de 50 plantes SC en què es van mesurar les longituds dels raquis de les inflorescències i els respectius nombres de cariopsis (Figura II-1). En el cas de les plantes PC, els paràmetres reproductius avaluats van correspondre al nombre d'inflorescències sense carbó i al nombre d'inflorescències amb carbó. La fecunditat individual de les plantes PC només es va determinar al 2007, mitjançant el recompte directe del nombre de llavors aparentment sanes per inflorescència.

A més, un cop processats els individus, es va determinar el pes sec de la biomassa aèria vegetativa i reproductiva per quadrat, cohort i estat d'infecció (SC o PC). En el cas de les plantes PC, cal destacar que la biomassa vegetativa no només incloïa la biomassa de la planta, sinó també la biomassa de les teliòspores i de les hifes del fong. Tenint en compte la naturalesa de la malaltia, no va ser possible diferenciar-les.

II.2.5 Tractament de dades

II.2.5.1 Emergència i supervivència

Es va realitzar una anàlisi de supervivència mitjançant el procediment SAS/LIFETEST

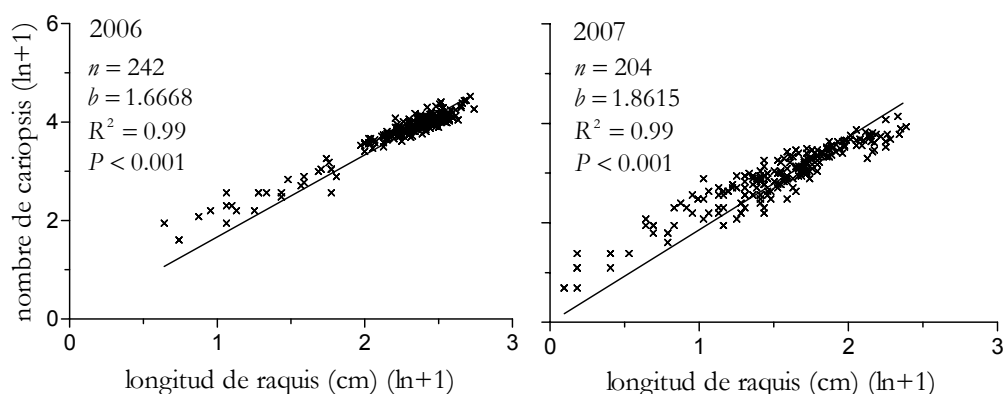


Figura II-1. Relació al·lomètrica entre la longitud de raquis (cm) i el nombre de cariospiss per raquis establerta al 2006 i al 2007.

(SAS Institute Inc., 1999). Per a cada cohort es va estimar la taula de vida i, per a cada any, les corbes de supervivència de cadascuna de les cohorts es van comparar amb el test de Wilcoxon i de log-rank (Pyke i Thompson, 1986). Concretament, primer es va avaluar l'heterogeneïtat entre les corbes de supervivència, i quan el test va ser significatiu ($P < 0.05$), es va calcular l'estadístic Z a partir de la matriu de covariància dels estadístics de Wilcoxon i log-rank que genera automàticament el procediment SAS/LIFETEST. Aquestes anàlisis es van realitzar seguint les especificacions detallades a Fox (1993). A més, es va estimar una possible relació de la taxa de mortalitat per interval de control dels quadrats, tant amb la precipitació acumulada durant els intervals, com amb la densitat de *D. sanguinalis* a l'inici dels intervals. Aquesta anàlisi es va realitzar amb el mateix procediment SAS/LIFETEST. Per a l'any 2007, també es va estudiar específicament la possible correlació entre la densitat d'emergència dels individus de la cohort que va emergir primer (cohort A07) i la seva taxa de mortalitat en el període comprès entre la seva emergència i l'emergència de la segona cohort (B07). En aquest cas, l'anàlisi es va fer mitjançant el procediment SAS/GLM utilitzant les dades transformades (logaritme neperià +1 per a la densitat d'emergència i arcsinus per a la taxa de mortalitat; Gomez i Gomez, 1984) i els quadrats permanents com a unitats experimentals. Després de l'anàlisi es van inspeccionar els residuals.

Per altra banda, per a cada any es va estudiar l'efecte del moment d'emergència (cohort) en les proporcions d'individus supervivents al final del període de seguiment, amb una anàlisi de la variància (ANOVA) que considerava la cohort com a única font de variació (amb tres nivells al 2006 i quatre nivells al 2007), seguida d'una separació de mitjanes amb el test

Tukey-Kramer ($P < 0.05$). Per aquestes anàlisis també es va utilitzar el procediment SAS/GLM (SAS Institute Inc., 1999). Els quadrats controlats van ser considerats com a unitats experimentals i, abans de les anàlisis, les dades es van transformar utilitzant la funció arcsinus (Gomez i Gomez, 1984). Posteriorment es van inspeccionar els residuals.

II.2.5.2 Efecte del moment d'emergència en l'estat d'infecció dels individus

Per a cada any, es va avaluar si el moment d'emergència (cohort) era una font de variació significativa en les proporcions de plantes en els quatre estats d'infecció diferenciats (SC, CC, PC i SF) mitjançant una ANOVA d'un factor (amb tres nivells al 2006 i quatre nivells al 2007) que considerava els quadrats permanents com a unitats experimentals. Les separacions de mitjanes es van efectuar amb el test de Tukey-Kramer ($P < 0.05$). Les anàlisis es van realitzar amb el procediment SAS/GLM, amb les dades transformades amb la funció arcsinus (Gomez i Gomez, 1984). Posteriorment, es van efectuar les corresponents anàlisis dels residuals.

II.2.5.3 Efecte del moment d'emergència en la reproducció i la biomassa

Per a cadascun dels anys, es va estudiar l'efecte del moment d'emergència (cohort) en diverses característiques reproductives, i en el nombre de tiges i la biomassa de les plantes SC amb una ANOVA que consideraven la cohort com a font de variació, seguida d'una separació de mitjanes amb el test Tukey-Kramer ($P < 0.05$). Concretament les variables analitzades van ser: producció de llavors per planta, nombre de tiges per planta, nombre d'inflorescències per tija, producció de llavors per tija, nombre de raquis per inflorescència, longitud mitjana dels raquis per inflorescència, biomassa vegetativa per individu, biomassa reproductiva per individu i esforç reproductiu (quotient entre la biomassa reproductiva i la biomassa vegetativa). Les cohorts C07 i D07 es van excloure d'algunes anàlisis estadístiques donada la reduïda mida de la mostra d'aquestes cohorts en comparació amb la resta. Les anàlisis es van realitzar amb el procediment SAS/GLM amb les dades transformades (arcsinus pel paràmetre d'assignació reproductiva i logaritme neperià +1 per a la resta de paràmetres; Gomez i Gomez, 1984). A més, es va realitzar l'anàlisi dels residuals.

Cal esmentar que en el cas de les plantes PC, no es van poder fer tractaments estadístics similars als comentats anteriorment, atès el petit nombre de plantes en aquest estat d'infecció recol·lectat en el total dels quadrats mostrejats.

II.2.5.4 Variació entre anys en la reproducció i la biomassa

Es va realitzar una anàlisi de covariància (ANCOVA) per als següents paràmetres reproduc-

tius i de biomassa: nombre d'inflorescències i llavors per individu, biomassa vegetativa i reproductiva per individu, i esforç reproductiu. Per a cada paràmetre, es va realitzar una ANCOVA que considerava l'any com a factor (amb dos nivells, 2006 i 2007) i incloïa la densitat de *D. sanguinalis* i la biomassa d'altres espècies en el moment de la recol·lecció com a covariables, així com la interacció entre el factor i cada covariable. Per comparar els dos anys, es van considerar les dues covariables per tal de reduir l'error del model, tenint en compte els diferents valors d'aquestes dues covariables en els dos anys i els seus possibles diferents efectes segons l'any. Quan per a algun dels paràmetres estudiats l'ANCOVA no va detectar un efecte significatiu de cap de les dues covariables, aleshores l'efecte de l'any es van estudiar mitjançant una ANOVA que considerava l'any com a única font de variació, seguida d'una separació de mitjanes amb el test de Tukey-Kramer ($P < 0.05$). Totes les anàlisis es van fer mitjançant el procediment SAS/GLM i utilitzant les dades transformades (arcsinus per a l'esforç reproductiu i logaritme neperià +1 per a la resta de paràmetres; Gomez i Gomez, 1984). També en aquest cas, es van realitzar les corresponents anàlisis dels residuals.

II.3 Resultats

II.3.1 Emergència i supervivència

L'emergència de plàntules de *D. sanguinalis* en els quadrats de seguiment va ser quatre vegades superior al 2007 ($3674.3 \pm 138.5 \text{ pl m}^{-2}$) que al 2006 ($886.8 \pm 107.0 \text{ pl m}^{-2}$). La primera emergència es va observar el 14 d'agost al 2006 i el 28 de maig al 2007. La manca de precipitació va ser el factor que va limitar l'emergència de plàntules de l'espècie des del marcatge dels quadrats. Al 2006, les tres cohorts van emergir molt seguides, només amb uns pocs dies de diferència. En canvi, al 2007 la primera cohort (A07) va emergir dos mesos abans que la resta de cohorts (B07, C07 i D07), les quals van emergir solament amb una setmana de diferència entre elles (Taula II-1). El patró d'emergència va reflectir els episodis de pluja amb precipitacions majors a 4 mm després del marcatge dels quadrats.

L'efecte del moment d'emergència (cohort) en la supervivència va ser diferent segons l'any. En general, al 2006 totes les cohorts van presentar una taxa de supervivència global elevada ($>85\%$) (Taula II-1), i les taxes de mortalitat per interval més grans es van observar en els primers estadis de creixement de les plantes (Figura II-2). No es va detectar que la cohort fos una font de variació significativa en la proporció d'individus supervivents als quadrats al

Taula II-1. Moment d'emergència (dia Julià), nombre de plàntules controlades, densitat de plàntules a l'inici del seguiment i proporció de plantes de *D. sanguinalis* supervivents al final del període de seguiment, per cohort, observades a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i al 2007.

Any	Cohort	Moment d'emergència	Plàntules controlades	Densitat de plàntules	Individus supervivents (%)
2006	A06	226	1095	438.0 ± 76.5	92.3A ± 1.7
	B06	229	853	341.2 ± 40.0	86.6A ± 2.7
	C06	234	269	107.6 ± 12.9	86.7A ± 3.5
2007	A07	148-157	133	44.3 ± 10.1	21.1c ± 6.0
	B07	222	8174	2724.7 ± 148.3	88.1a ± 2.9
	C07	228	2374	791.3 ± 61.5	59.2b ± 4.0
	D07	234	342	114.0 ± 17.5	29.0c ± 6.0

Pels valors de densitat de plàntules i percentatge d'individus supervivents es mostra la mitjana ± EE (error estàndard) de la mitjana dels quadrats controlats.

Per a cada any, valors de les mitjanes de les proporcions d'individus supervivents amb diferents lletres indiquen diferències significatives (Tukey-Kramer, $P < 0.05$), segons les anàlisis realitzades amb les dades transformades (arcsinus).

final del període de seguiment ($P = 0.65$). Tot i això, els tests de Wilcoxon i log-rank van indicar diferències significatives entre les corbes de supervivència de les cohorts. La corba de supervivència de la cohort A06 va ser significativament diferent de la de les cohorts B06 i C06 ($P < 0.001$ en ambdós tests), ja que la cohort A06 va tenir una taxa de mortalitat per interval, tant en els primers estadis, com en la resta del període de creixement, més petita que la de les cohorts B06 i C06 (Figura II-2). Pel que fa al 2007, es van detectar diferències significatives entre les corbes de supervivència de totes les cohorts ($P < 0.001$ en els tests de Wilcoxon i log-rank) (Figura II-3). La proporció d'individus morts en el conjunt del període de seguiment va ser significativament més gran a les cohorts A07 i D07 que a la cohort C07, mentre que aquesta última va tenir una mortalitat més elevada que la que es va observar a la cohort B07 (Taula II-1).

En els dos anys, la taxa de mortalitat de l'interval de temps entre els controls dels quadrats va estar fortament associada tant a la precipitació acumulada en els intervals com a la densitat a l'inici dels intervals (en tots els casos khi-quadrat amb una $P < 0.001$ pels tests de Wilcoxon i log-rank). No obstant, en la majoria de casos va ser difícil diferenciar entre la influència de la sequera i la de la densitat de les plantes supervivents ja que, en les condicions en les que es va realitzar aquest estudi, la densitat probablement va estar fortament relacionada

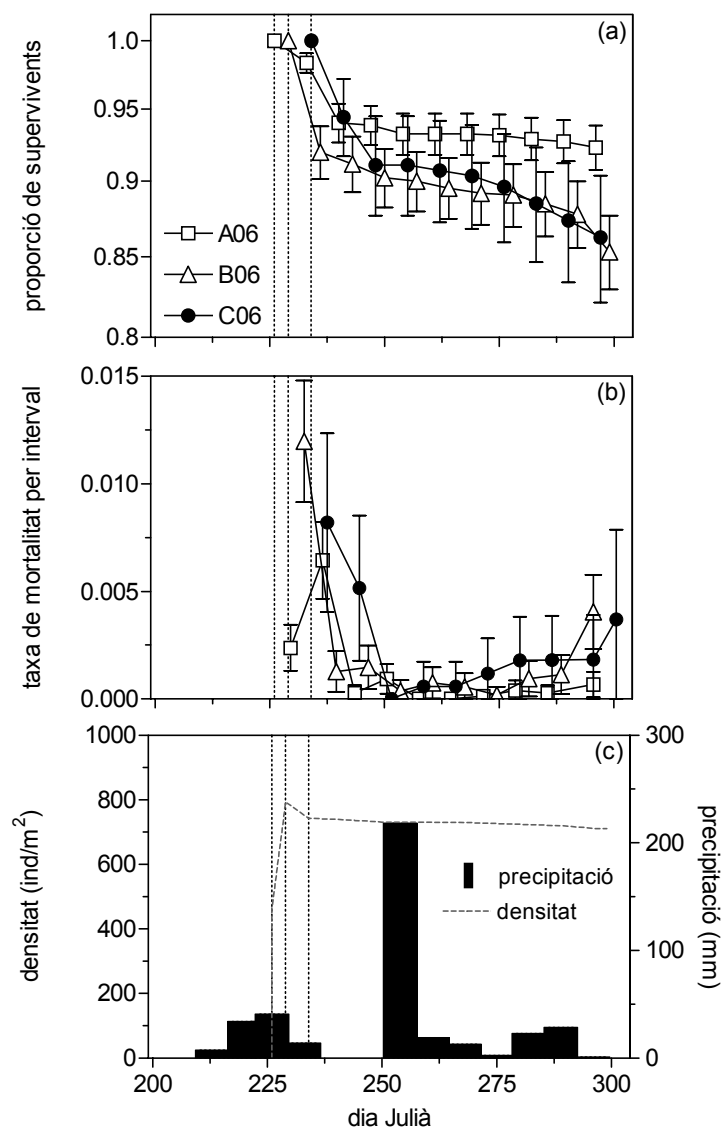


Figura II-2. Paràmetres demogràfics de tres cohorts (A06, B06 i C06) de *D. sanguinalis* controlades a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006. Els gràfics mostren: (a) la proporció de supervivència acumulada (\pm EE, error estàndard) per cohort, (b) la taxa de mortalitat per interval (\pm EE, error estàndard) per cohort, i (c) la variació de la densitat de la població i la precipitació acumulada a intervals de 7 dies. Les línies discontinües indiquen el moment d'emergència de les successives cohorts.

amb la disponibilitat d'aigua. Tanmateix, la mortalitat de la cohort A07 segurament va ser causada principalment pel llarg període de sequera després de la seva emergència, considerant que la precipitació acumulada en els primers 20 dies de vida de la cohort va ser només de 2 mm (Figura II-3). A més, no es va observar una correlació significativa, des d'un punt de vista estadístic, entre la densitat d'emergència de la cohort A07 i la seva taxa de mortalitat des de la seva emergència fins a l'emergència de la cohort B07 ($P=0.32$). Per altra banda, tant al 2006 com al 2007, la comparació visual de la taxa de mortalitat específica per interval de les cohorts que van emergir amb pocs dies de diferència va mostrar que, aparentment, les cohorts emergides més tard van ser més sensibles a la falta de precipitació i a la densitat de població que les que van emergir primer (Figures II-2 i II-3).

II.3.2 Incidència de la malaltia

La densitat de *D. sanguinalis* al final del seu cicle de vida va ser gairebé quatre vegades superior al 2007 ($2918.3 \pm 161.4 \text{ pl m}^{-2}$) que al 2006 ($783.2 \pm 90.1 \text{ pl m}^{-2}$). La incidència de la malaltia també va ser significativament diferent entre anys. Mentre que al 2006 un 20.4% dels individus collits tenien totes les inflorescències transformades completament en espores del carbó i no havien produït cap llavor (plantes CC), al 2007 la proporció d'individus en aquest estat d'infecció va incrementar fins al 60.0%. No obstant, en ambdós anys es va observar que aproximadament un 1% dels individus collits presentaven inflorescències amb carbó, però havien estat capaços de produir alguna llavor aparentment sana (plantes PC). Per altra banda, també es va observar una gran diferència en el percentatge d'individus sense florir (SF) entre anys (0.7% al 2006, 17.7% al 2007). El percentatge de plantes SF de l'any 2007 va ser més elevat en les cohorts que van emergir més tard (Taula II-2).

A l'any 2006 no es van detectar diferències significatives en la incidència de la malaltia segons el moment d'emergència, però, en canvi, sí que va ser una font de variació a l'any 2007 ($P<0.001$ en tots els estats d'infecció diferenciats). El percentatge d'individus CC més elevat es va observar a la segona cohort, i el més petit a la primera. En el cas dels individus PC, la major proporció d'individus en aquest estat d'infecció es va trobar a la segona cohort, i no es van detectar diferències significatives entre la resta de cohorts (Taula II-2).

II.3.3 Reproducció i biomassa

Com ja s'ha esmentat anteriorment, la densitat de *D. sanguinalis* en el moment de la collita va ser gairebé quatre vegades superior a l'any 2007 que a l'any 2006. Tot i això, la densitat dels individus que van florir i van produir llavors de manera normal (plantes SC) va ser

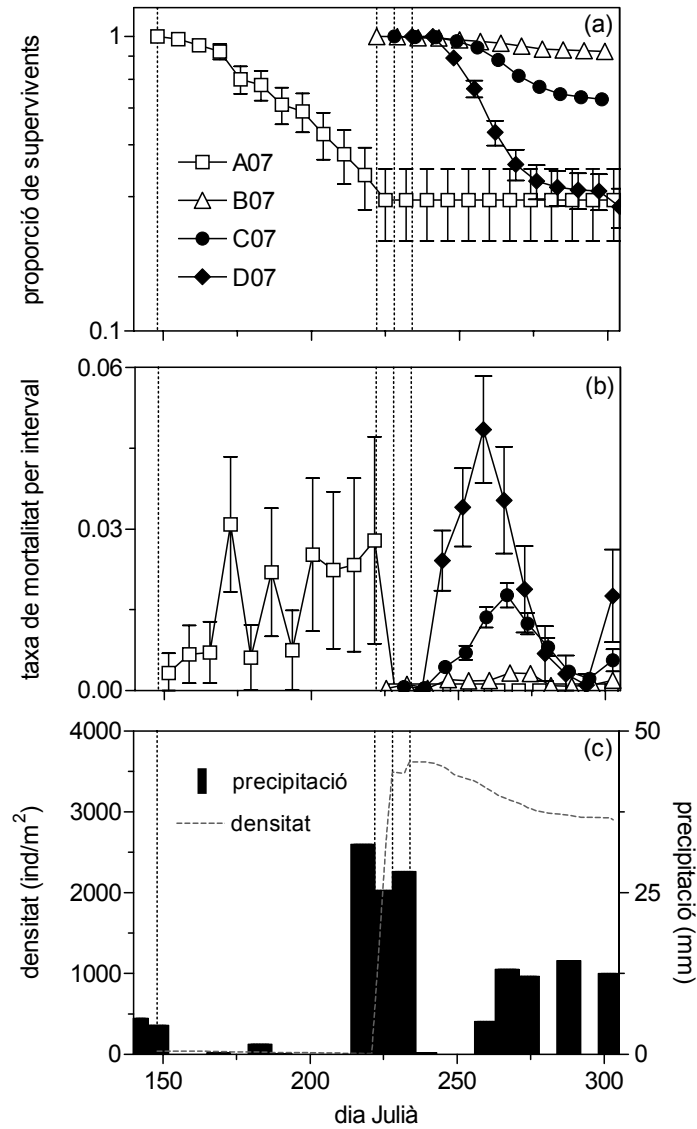


Figura II-3. Paràmetres demogràfics de quatre cohorts (A07, B07, C07 i D07) de *D. sanguinalis* controlades a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2007. Els gràfics mostren: (a) la proporció de supervivència acumulada (\pm EE, error estàndard) per cohort, (b) la taxa de mortalitat per interval (\pm EE, error estàndard) per cohort, i (c) la variació de la densitat de la població i la precipitació acumulada a intervals de 7 dies. Les línies discontinües indiquen el moment d'emergència de les successives cohorts.

Taula II-2. Proporció de plantes de *D. sanguinalis* per cohort i estat d'infecció, i nombre de plantes totals (ind) per cohort, recol·lectades a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i al 2007. Els estats d'infecció diferenciats són: plantes sense carbó (SC), plantes amb les inflorescències completament transformades en espores del carbó (CC), plantes amb inflorescències amb carbó, però que havien produït alguna llavor aparentment viable (PC) i plantes sense florir (SF).

Any	Cohort	SC	CC	PC	SF	n	ind
2006	A 06	80.5a ± 2.5	17.6a ± 2.2	1.4a ± 0.6	0.5a ± 0.3	10	1003
	B 06	73.4a ± 2.4	25.0a ± 2.5	1.1a ± 0.4	0.4a ± 0.3	10	726
	C 06	77.7a ± 3.3	18.5a ± 2.3	2.4a ± 1.5	1.5a ± 0.9	10	229
2007	A 07	97.5A ± 1.6	2.5C ± 1.6	0.0B ± 0.0	0.0C ± 0.0	8	37
	B 07	21.2B ± 1.9	64.1A ± 2.8	1.4A ± 0.2	13.3BC ± 2.6	12	7208
	C 07	15.2B ± 2.5	48.7B ± 3.9	0.4B ± 0.2	35.7AB ± 4.1	12	1424
	D 07	17.2B ± 5.9	36.3B ± 5.6	0.0B ± 0.0	46.5A ± 8.7	12	86

Per a cada any, cohort i estat d'infecció, es mostra la mitjana ± EE (error estàndard) de la mitjana.

La mida de la mostra (n) correspon al nombre de quadrats controlats.

Per a cada any i estat d'infecció, valors de les mitjanes amb diferents lletres indiquen diferències significatives (Tukey-Kramer, $P < 0.05$), segons les anàlisis realitzades amb les dades transformades (arcsinus).

similar en ambdós anys (608.4 i 616.4 pl m⁻²), donades les esmentades diferències entre anys en la proporció d'individus amb inflorescències amb carbó i també en la de plantes sense florir. Per altra banda, la biomassa de *D. sanguinalis* va representar un 74.4% del total de la biomassa aèria vegetal recol·lectada en els quadrats al 2006, i un 61.1% al 2007. La biomassa aèria mitjana de les altres espècies collides en els quadrats va ser de 69.5 g ps m⁻² al 2006, i de 501.1 g ps m⁻² al 2007.

Altres dades d'interès obtingudes durant el seguiment de la població van ser les relatives a l'inici del període reproductiu dels individus. L'any 2006 es va observar la primera planta florida el dia 7 de setembre (dia Julià 250, 24 dies després de l'emergència de la cohort A06). A l'any 2007, el primer individu de la cohort A07 florit es va detectar el dia 23 de juliol (dia Julià 204, 56 dies després de l'emergència), tot i que cal destacar que la floració d'aquesta cohort va ser molt esglaonada, i després de gairebé 4 mesos i d'haver passat condicions importants de sequera, aproximadament el 15% dels individus supervivents de la cohort encara restaven sense florir. La floració de la resta de cohorts es va observar a partir del dia 13 de setembre (dia julià 256, 34 dies després de l'emergència de la cohort B07).

II.3.3.1 Efecte del moment d'emergència

Les diferents característiques reproductives avaluades en els individus SC van estar clara-

ment influenciades pel moment d'emergència (cohorts) (Taulas II-3 i II-4). En general, els resultats d'ambdós anys van mostrar que les plantes que van emergir primer tenien una producció de llavors mitjana superior a la d'aquelles que van emergir més tard. La fecunditat mitjana de la cohort A06 va triplicar aproximadament la de la cohort C06, i la fecunditat de la cohort A07 va ser gairebé 750 vegades més gran que la de la cohort D07. Al 2006, la major fecunditat dels individus de la cohort A06 respecte els de la cohort B06, i dels de la cohort B06 en relació als de la cohort C06, va ser el resultat: (i) d'un major nombre de tiges produïdes per planta, i (ii) d'un major nombre de cariopsis produïdes per inflorescència, doncs les inflorescències estaven formades per un major nombre de raquis, i a més aquests raquis eren també més llargs. En canvi, no es van observar diferències significatives entre cohorts pel que fa al nombre d'inflorescències produïdes per tija (Taulas II-3 i 4). A l'any 2007, la major part dels individus de les cohorts B07, C07 i D07 van estar formats per una única tija, de manera que l'increment de fecunditat mitjana observada a la cohort B07 respecte a les cohorts emergides posteriorment (C07 i D07) va ser conseqüència: (i) d'un major nombre d'inflorescències per tija, i (ii) d'un major nombre de fruits produïts per inflorescència, ja que, com en el cas de l'any 2006, les inflorescències tenien més raquis i aquests eren més llargs (Taulas II-3 i II-4).

Tant al 2006 com al 2007, també es va detectar la influència del moment d'emergència en el pes sec de la biomassa aèria vegetativa i reproductiva dels individus SC (Taula II-5). Al 2006, la biomassa mitjana reproductiva i vegetativa de la cohort A06 van ser el doble que les de les cohorts B06 i C06, però no es van detectar diferències significatives en l'esforç reproductiu. Al 2007, les plantes de la cohort A07 van pesar per terme mig gairebé 200 vegades més que les de les altres cohorts, però en canvi, la biomassa mitjana de la resta de cohorts no va ser significativament diferent entre elles. Aquell any, es van observar diferències significatives entre l'esforç reproductiu de les cohorts B07 i D07, mentre que no es van detectar aquestes diferències entre cadascuna d'aquestes dues cohorts i la resta (A07 i C07) (Taula II-5).

En el cas de les plantes PC, les diferències entre cohorts van ser similars a les que es van observar en els individus SC. No obstant, com ja ha estat prèviament esmentat, no es va realitzar cap anàlisi estadística per avaluar les possibles dissemblances entre elles, tenint en compte la reduïda mida de la mostra i el diferent nombre d'individus entre cohorts (Taulas II-6 i II-7). Cal destacar però, que en general els valors dels paràmetres avaluats en les plantes en aquest estat d'infecció van ser més variables (presenten majors errors estàndards) que els de les plantes SC (Taulas II-6 i II-7). Aquests resultats van derivar del fet que en aquest

Taula II-3. Producció de llavors i tiges per planta, i nombre d'inflorescències per tija, dels individus de *D. sanguinalis* aparentment sans (*i.e.*, sense inflorescències amb carbó) recol·lectats a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i al 2007.

Any	Cohort	Producció de llavors (pl ⁻¹)		Tiges (pl ⁻¹)		Inflorescències (tija ⁻¹)	
		Mitjana ± EE	n	Mitjana ± EE	n	Mitjana ± EE	n
2006	A06	319.7A ± 11.8	811	2.67A ± 0.06	811	1.25A ± 0.01	2150
	B06	168.4B ± 8.2	531	2.02B ± 0.06	531	1.23A ± 0.02	1066
	C06	116.6C ± 13.3	179	1.66C ± 0.10	179	1.26A ± 0.03	297
2007	A07	6846.1- ± 685.2	35	8.91- ± 0.77	35	3.52a ± 0.16	312
	B07	36.3a ± 1.3	1592	1.016b ± 0.003	1592	1.25b ± 0.01	1622
	C07	11.6b ± 1.5	210	1.005b ± 0.002	210	1.06c ± 0.03	211
	D07	9.2- ± 5.3	13	1.08- ± 0.08	13	1.07- ± 0.07	14

Per a cada any, cohort i paràmetre, es mostra la mitjana ± EE (error estàndard) de la mitjana i la mida de la mostra (n).

Per a cada any i paràmetre, valors de les mitjanes amb diferents lletres indiquen diferències significatives (Tukey-Kramer, P<0.05), segons les anàlisis realitzades amb les dades transformades (logaritme neperià +1); -: indica que no es van incloure en les anàlisis estadístiques donada la reduïda mida de la mostra en comparació amb la resta de cohorts.

Taula II-4. Producció de llavors, nombre de raquis i longitud mitjana de raquis, per inflorescència, dels individus de *D. sanguinalis* aparentment sans (*i.e.*, sense inflorescències amb carbó) recol·lectats a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i al 2007.

Any	Cohort	Producció de llavors (inflorescència ⁻¹)		Raquis (inflorescència ⁻¹)		Longitud dels raquis (cm)	
		Mitjana ± EE	n	Mitjana ± EE	n	Mitjana ± EE	n
2006	A06	96.8A ± 1.3	2679	3.88A ± 0.02	2679	5.43A ± 0.04	2679
	B06	68.3B ± 1.5	1308	3.46B ± 0.03	1308	4.59B ± 0.06	1308
	C06	55.6C ± 2.6	375	3.14C ± 0.05	375	4.09C ± 0.11	375
2007	A07	220.2a ± 4.6	1088	5.28a ± 0.09	1088	5.92a ± 0.07	1088
	B07	28.6b ± 0.8	2020	2.41b ± 0.05	2020	2.37b ± 0.04	2014
	C07	10.9c ± 1.2	223	1.84c ± 0.05	223	1.33c ± 0.07	221
	D07	8.0- ± 3.1	15	1.40- ± 0.13	15	1.23- ± 0.34	15

Per a cada any, cohort i paràmetre, es mostra la mitjana ± EE (error estàndard) de la mitjana i la mida de la mostra (n).

Per a cada any i paràmetre, valors de les mitjanes amb diferents lletres indiquen diferències significatives (Tukey-Kramer, P<0.05), segons les anàlisis realitzades amb les dades transformades (logaritme neperià +1); -: indica que no es van incloure en les anàlisis estadístiques donada la reduïda mida de la mostra en comparació amb la resta de cohorts.

Taula II-5. Biomassa aèria vegetativa (g ps) i reproductiva (g ps) per planta i cohort, i esforç reproductiu (quocient entre la biomassa reproductiva i la vegetativa) per cohort, dels individus de *D. sanguinalis* aparentment sans (*i.e.*, sense inflorescències amb carbó) recol·lectats a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i al 2007.

Any	Cohort	Biomassa vegetativa (g ps pl ⁻¹)	Biomassa reproductiva (g ps pl ⁻¹)	Esforç reproductiu (%)	n
2006	A06	0.26A ± 0.03	0.18A ± 0.02	66.3A ± 2.2	10
	B06	0.13B ± 0.02	0.08B ± 0.01	64.0A ± 4.1	10
	C06	0.09B ± 0.01	0.05B ± 0.01	58.7A ± 2.3	10
2007	A07	6.88a ± 0.86	1.70a ± 0.20	25.0ab ± 1.3	8
	B07	0.04b ± 0.01	0.010b ± 0.001	27.9a ± 1.5	12
	C07	0.02b ± 0.002	0.004b ± 0.001	22.4ab ± 3.5	12
	D07	0.01b ± 0.002	0.002b ± 0.000	17.0b ± 3.3	7

Per cada any, cohort i paràmetre, es mostra la mitjana ± EE (error estàndard) de la mitjana; n correspon a la mida de la mostra, en aquest cas el nombre de quadrats controlats.

Per a cada any i paràmetre, valors de les mitjanes de les cohorts amb diferents lletres indiquen diferències significatives (Tukey-Kramer, P<0.05), segons l'anàlisi de les dades transformades (logaritme neperià +1 per la biomassa vegetativa i reproductiva, i arcsinus per l'assignació reproductiva).

Taula II-6. Característiques reproductives i nombre de tiges per planta i cohort, dels individus de *D. sanguinalis* amb inflorescències amb carbó, però que també havien produït alguna llavor aparentment viable, recol·lectats a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i 2007.

Any	Cohort	Tiges (pl ⁻¹)	Inflorescències sanes (pl ⁻¹)	Inflorescències amb carbó (pl ⁻¹)	n
2006	A06	3.3 ± 0.5	2.4 ± 0.7	5.0 ± 1.9	12
	B06	2.1 ± 0.6	1.1 ± 0.5	2.7 ± 0.9	7
	C06	2.0 ± 0.6	1.0 ± 0.3	1.8 ± 0.4	5
2007	B07	1.01 ± 0.01	0.8 ± 0.1	1.4 ± 0.1	101
	C07	1.00 ± 0.00	0.7 ± 0.2	1.0 ± 0.1	6

Per a cada any, cohort i paràmetre, es mostra la mitjana ± EE (error estàndard) de la mitjana; n correspon a la mida de la mostra, en aquest cas el nombre de plantes recol·lectades en aquest estat d'infecció. A les cohorts A07 i D07 no es va observar cap individu parcialment infectat.

Taula II-7. Biomassa vegetativa (g ps) i reproductiva (g ps) per planta i cohort, i esforç reproductiu (quocient entre la biomassa vegetativa i la reproductiva) per cohort, dels individus de *D. sanguinalis* amb inflorescències amb carbó, però que també havien produït alguna llavor aparentment viable, recol·lectats a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i al 2007.

Any	Cohort	Biomassa vegetativa (g ps pl ⁻¹)	Biomassa reproductiva (g ps pl ⁻¹)	Esforç reproductiu (%)	n
2006	A06	0.56 ± 0.12	0.11 ± 0.02	29.1 ± 9.4	6
	B06	0.20 ± 0.10	0.04 ± 0.02	24.1 ± 5.3	6
	C06	0.06 ± 0.02	0.02 ± 0.01	31.2 ± 4.9	3
2007	B07	0.04 ± 0.01	0.009 ± 0.002	22.3 ± 2.3	12
	C07	0.02 ± 0.01	0.004 ± 0.002	23.8 ± 13.1	3

Per a cada any, cohort i paràmetre, es mostra la mitjana ± EE (error estàndard) de la mitjana; n correspon a la mida de la mostra dels paràmetres, en aquest cas al nombre de quadrats controlats on es van recol·lectar individus en aquest estat d'infecció. A les cohorts A07 i D07 no es va observar cap individu parcialment infectat.

estat d'infecció es van incloure individus amb diferents nivells d'afectació del fong, és a dir, es van incloure des de plantes que tenien totes les inflorescències aparentment sanes (sense carbó) i només una amb algun o alguns raïms transformats en espores del fong, fins a plantes que tenien una inflorescència amb carbó que havia produït una o molt poques llavors aparentment sanes i la resta completament transformades en espores del fong. Al 2007, la fecunditat mitjana de les plantes PC de la cohort B07 va ser de 17.2 ± 3.5 llavors pl⁻¹ i la dels individus de la cohort C07 va ser de 3.0 ± 1.7 llavors pl⁻¹. No es van observar individus en aquest estat d'infecció ni a la cohort A07 ni a la D07 (Taula II-2).

La pluja de llavors per unitat d'àrea estimada de la població de *D. sanguinalis* va ser de 147804 llavors m⁻² al 2006 i de 99982 llavors m⁻² al 2007. Al 2007, els individus de la cohort A07 (que representaven un 1.9% del conjunt d'individus de la població supervivents al final del cicle anual) van produir el 80% del total de les llavors produïdes per la població. En canvi, la cohort B07 va produir aproximadament el 19%, i les cohorts C07 i D07 menys de l'1%. Al 2006, les cohorts A06, B06 i C06 van contribuir a la pluja de llavors de la població en un 70%, 24% i 6%, respectivament.

II.3.3.2 Variació entre anys

Per a cada any, les mitjanes del nombre d'inflorescències i llavors per individu SC, així com la seva biomassa vegetativa i reproductiva, i l'esforç reproductiu es mostren a la Taula II-8. Els resultats de les ANCOVA (Taula II-9) van denotar que l'any va ser una font de variació

Taula II-8. Nombre d'inflorescències i llavors per planta, biomassa reproductiva i vegetativa per planta, i esforç reproductiu (quocient entre la biomassa reproductiva i la biomassa vegetativa), dels individus de *D. sanguinalis* aparentment sans (*i.e.*, sense inflorescències amb carbó) recol·lectats a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i al 2007.

Paràmetres	2006		2007	
	Mitjana \pm EE	n	Mitjana \pm EE	n
Inflorescències (pl ⁻¹)	2.87 \pm 0.06	1521	1.83 \pm 0.11	1850
Llavors (pl ⁻¹)	242.9 \pm 7.4	1521	162.1 \pm 25.1	1850
Biomassa vegetativa (g ps pl ⁻¹)	0.19 \pm 0.02	10	0.16 \pm 0.05	12
Biomassa reproductiva (g ps pl ⁻¹)	0.12 \pm 0.01	10	0.04 \pm 0.01	12
Esforç reproductiu (%)	65.2 \pm 2.4	10	26.6 \pm 1.4	12

Per a cada paràmetre i any, es mostra la mitjana \pm EE (error estàndard) de la mitjana i la mida de la mostra (n, nombre de plantes pel nombre d'inflorescències i llavors, i nombre de quadres mostrejats per les biomasses i l'esforç reproductiu).

Taula II-9. Significació de les fonts de variació de les anàlisis de covariància (ANCOVA) realitzades per a les característiques reproductives, nombre d'inflorescències i llavors per planta, i pels paràmetres de biomassa per planta, dels individus de *D. sanguinalis* aparentment sans (*i.e.*, sense inflorescències amb carbó) recol·lectats a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i 2007. El model utilitzat considera l'any (A) com a factor principal, i la densitat de *D. sanguinalis* (D) i la biomassa d'altres espècies (B) en el moment de la recol·lecció com a covariables.

Paràmetre	Factor	Covariables		Interaccions	
	Any (A)	Densitat (D)	Biomassa d'altres (B)	AxD	AxB
Inflorescències (pl ⁻¹)	0.013	<0.0001	<0.0001	0.038	<0.0001
Llavors (pl ⁻¹)	0.008	<0.0001	0.009	0.116	<0.0001
Biomassa vegetativa (g ps pl ⁻¹)	0.022	0.001	0.172	0.020	0.419
Biomassa reproductiva (g ps pl ⁻¹)	0.202	<0.0001	0.008	0.131	0.017
Esforç reproductiu (%)	0.113	0.864	0.659	0.214	0.253

Els resultats estan basats en les dades transformades (arcsinus per a l'esforç reproductiu i logaritme neperià +1 per a la resta).

significativa (ja que el factor any va ser significatiu i/o la interacció del factor any amb una o les dues covariables va ser significativa, $P < 0.05$) per a tots els paràmetres, excepte per a l'esforç reproductiu. També es va detectar que tant la densitat de *D. sanguinalis*, com la biomassa d'altres espècies, van ser covariables significatives en el nombre de cariopsis i d'inflorescències produïdes per planta, i també en la biomassa reproductiva per individu. Per contra, en el cas de la biomassa vegetativa no es va observar que la biomassa d'altres espècies fos una covariable significativa. D'altra banda, cap de les dues covariables van ser fonts de variació significatives en l'esforç reproductiu. En aquest cas, l'ANOVA seguida de la separació de mitjanes va mostrar que l'esforç reproductiu de l'any 2006 (65.2%) va ser significativament superior al de l'any 2007 (26.6%).

II.4 Discussió

L'efecte del moment d'emergència de *D. sanguinalis* en la supervivència va ser diferent segons l'any. Al 2006, el moment d'emergència no va tenir un efecte important en la mortalitat de la població, en canvi al 2007 els individus de la primera i l'última cohort van experimentar una mortalitat més elevada que la resta (Taula II-2). Malgrat aquestes diferències, quan es van comparar les cohorts que van emergir amb pocs dies de diferència d'ambdós anys, es va observar que en general els individus que havien emergit primer mostraven una taxa de mortalitat per interval menor que els de les cohorts que havien emergit més tard (Figures II-2 i II-3). La importància del moment d'emergència en la supervivència individual ja ha estat prèviament documentada per a *D. sanguinalis* (Mohler i Callaway, 1992; Oreja i de la Fuente, 2005), així com en moltes altres espècies de males herbes (p. ex. Fernández-Quintanilla *et al.*, 1986; Lindquist *et al.*, 1995; Sans i Masalles, 1997). En general, aquests estudis han mostrat que en condicions de cultiu les cohorts que emergeixen primer tenen una taxa de supervivència més elevada que aquelles que emergeixen més tard. No obstant, els efectes de les condicions ambientals, juntament amb les pràctiques de cultiu i de treball del sòl, i la densitat, tenen un paper clau en els patrons de supervivència (Liebman *et al.*, 2001). En el nostre cas, s'han detectat importants efectes de la precipitació incident i de la densitat (i per tant de la competència intraspecífica) en la taxa de mortalitat per interval. També hi podrien haver influenciat altres factors com la presència del carbó (*U. syntherismae*). Tot i això, la metodologia del nostre experiment i les característiques de la malaltia no van permetre avaluar si el carbó havia tingut alguna influència en la mortalitat de la població de *D. sanguinalis* al llarg del seu cicle de creixement. Per discutir aquesta qüestió, és necessari realitzar estudis en condicions controlades on el fong sigui inoculat artificialment en plantes de *D. sanguinalis*. En el

treball realitzat per Johnson i Baudoin (1997), en què es van provar diferents mètodes d'inoculació per infectar *Digitaria ciliaris* amb *U. syntherismae*, es va observar una reducció de la supervivència de l'espècie arvensis en alguns tractaments, però no en d'altres. Els autors van argumentar que la reducció de la supervivència observada podria haver estat conseqüència de la infecció del carbó, però per altra banda també expliquen que podria ser el resultat, en part, de la presència de microorganismes contaminants en l'inòcul utilitzat. Altres treballs que han estudiat altres interaccions planta-carbó han observat diferents efectes dels patògens en la supervivència dels seus hostatgers. Per exemple, individus de *Bromus catharticus* infectats per *Ustilago bullata* no van mostrar una mortalitat més elevada que els individus sans (García-Guzmán *et al.*, 1996). En canvi, individus de *Cynodon dactylon* infectats per *Ustilago cynodontis* van tenir una supervivència més baixa que les plantes no infectades, però només en situació d'alta densitat (García-Guzmán i Burdon, 1997). En la interacció *Silene alba* - *Ustilago violacea* es va evidenciar la influència dels factors ambientals en l'efecte de la infecció en la supervivència dels individus (Thrall i Jarosz, 1994b).

El moment d'emergència va tenir un efecte decisiu en la producció de llavors de la població. En ambdós anys, els individus que van emergir primer, i que van florir normalment sense presentar cap signe extern de la malaltia produïda per *U. syntherismae* (plantes SC), van produir una major quantitat de llavors, i van contribuir més a la pluja de llavors de la població, que els individus SC que van emergir més tard (Taula II-3 i II-4). Aquests resultats suggereixen una possible pressió de selecció a favor dels individus que emergeixen primer. En aquest sentit, en la revisió de Geber i Griffen (2003) s'evidencia que l'emergència primerenca és un tret hereditari sotmès a una forta pressió de selecció ja que minimitza les interaccions competitives.

Les diferències entre cohorts comentades anteriorment poden explicar-se, parcialment, considerant la possible competència asimètrica entre els individus de les diferents cohorts, tenint en compte que els individus que van emergir primer tenien una major biomassa que aquells que van emergir més tard (Taula II-5). A més, aquestes diferències podrien estar associades a un període de creixement més llarg dels individus que van emergir primer. Mohler i Callaway (1995), Aguyoh i Masiunas (2003), i Oreja i de la Fuente (2005) també van documentar un efecte important del moment d'emergència en la producció de llavors de *D. sanguinalis* en diferents condicions de cultiu. Com en el nostre estudi, la producció de llavors i la contribució a la pluja de llavors va ser major en les cohorts que van emergir primer. No obstant, en general en aquests treballs es van observar valors de fecunditats individuals més elevats que en el nostre estudi, però en canvi, valors de pluja de llavors molt inferiors. Aquestes diferències podrien ser causades, almenys parci-

aliment, per les diferents condicions de creixement. El nostre treball es va dur a terme en un camp no cultivat, però la població de *D. sanguinalis* va créixer en una situació d'alta densitat. En les anomenades comunitats de males herbes, com en d'altres comunitats de plantes, el moment d'emergència sovint determina si una planta competeix amb les seves veïnes, és consumida per herbívors o és infectada per patògens, i si floreix, es reproduïx i madura adequadament al final de l'estació de creixement (Fenner i Kitajima, 1999; Forcella *et al.*, 2000).

D'altra banda, la diferent contribució de cada cohort en el banc de llavors del sòl podria influenciar de manera important la dinàmica del banc de llavors de *D. sanguinalis*, així com el seu control, atès que llavors produïdes per individus de diferents cohorts podrien tenir diferents nivells de dormició i diferents respostes a condicions ambientals (Baskin i Baskin, 2001). A més a més, en una població de *D. sanguinalis* en interacció amb *U. syntherismae*, les llavors produïdes pels individus PC podrien també tenir característiques diferents que les produïdes pels individus SC. Per exemple Govinthasamy i Cavers (1995) van observar que les llavors d'individus de *Panicum dichotomiflorum* infectats pel carbó *Ustilago destruens* tenien una menor viabilitat i una dormició més dèbil que aquelles produïdes pels individus no infectats. Tot i que en el nostre cas aquestes llavors produïdes per les plantes PS representen una proporció molt petita de la pluja de llavors de la població (<0.001% segons les dades de l'any 2007), aquestes podrien ser rellevants en el manteniment de la interacció al llarg del temps generacional.

Els nostres resultats també van mostrar que el moment d'emergència va tenir una influència significativa en la biomassa reproductiva i vegetativa de les plantes SC. En canvi, en el cas de l'esforç reproductiu no es va detectar que fos una font de variació significativa al 2006, i a l'any 2007 només es van trobar diferències significatives entre les cohorts B07 i D07 (Taula II-5). Per aquest últim paràmetre, quan es van comparar els dos anys avaluats, no es va observar un efecte significatiu ni de la densitat de *D. sanguinalis* ni de la biomassa d'altres espècies (Taula II-9). En conjunt, aquests resultats podrien indicar que en el cas de *D. sanguinalis* l'assignació de recursos a la reproducció té un important component genètic (al 2006 no es van observar diferències intraannuals, i al 2007 només es van detectar diferències entre les cohorts B07 i D07, Taula II-5), tot i que els factors ambientals també sembla que hi poden influenciar (diferències interannuals, Taula II-8).

En relació als resultats obtinguts pel que fa a l'esforç reproductiu segons la cohort, cal esmentar que Peters i Dunn (1971) van documentar un control fotoperiòdic de dia curt de l'inici del període de floració de *D. sanguinalis* i, per tant, *a priori* s'esperava trobar que els individus que havien emergit abans tindrien un menor esforç reproductiu que aquells que havien emergit més tard com

a conseqüència d'un període prereproductiu més prolongat, de manera similar al que Shitaka i Hirose (1993) van observar per *Xanthium canadense*. Cal especificar però, que el mètode que vam utilitzar per avaluar la biomassa reproductiva va ser inexacte ja en el moment de la recol·lecció de les plantes alguns individus de *D. sanguinalis* ja havien començat a dispersar les espiguetes (unitats de dispersió). La recol·lecció gradual de les espiguetes segons la cohort va ser impracticable tenint en compte l'elevada densitat de *D. sanguinalis* en els dos anys d'estudi.

Per altra banda, també es va observar una elevada plasticitat fenotípica de *D. sanguinalis* en l'emergència, i en els diferents paràmetres reproductius i de biomassa avaluats (Taulas II-1, II-3, II-4 i II-5). En les espècies arvenses, aquesta plasticitat suposa una avantatge per persistir, competir i dispersar-se de manera eficient en ambients heterogenis, com poden ser els hàbitats ruderals o de cultiu, ja que li confereix la capacitat de germinar, créixer i reproduir-se en un gran ventall de condicions ambientals (Sans i Masalles, 1994; Caton *et al.*, 1997; Swanton *et al.*, 2000; Li i Yang, 2008). A més, aquesta capacitat té implicacions per al maneig d'aquestes espècies. Com s'ha observat en el cas de *D. sanguinalis*, uns pocs individus que escapessin de les pràctiques de control podrien produir i mantenir una pluja de llavors constant (Radosevich *et al.*, 2007). Per exemple, els individus de la cohort A07 van produir per terme mig gairebé 750 vegades més de llavors que els individus de la cohort D07.

Els nostres resultats també indiquen que, en ambdós anys, el carbó va tenir un efecte dràstic en la producció de llavors de la població de *D. sanguinalis*, ja que menys del 6% dels individus de *D. sanguinalis* supervivents en el moment de la recol·lecció i amb inflorescències afectades pel carbó van poder produir alguna llavor. En referència a la taxa reproductiva bàsica de la població (Silvertown i Charlesworth, 2001; Begon *et al.*, 2006), cada plàntula va produir per terme mig 166.7 llavors al 2006, mentre que aquest valor es va reduir fins a 27.2 llavors al 2007. Utilitzant les mateixes dades, però suposant que cada individu amb inflorescències amb carbó hagués produït un nombre de llavors igual a la mitjana de les llavors produïdes per les plantes sense carbó (SC), aleshores cada individu emergit hagués produït per terme mig 213.1 llavors al 2006 i 106 llavors al 2007, i la pluja de llavors de la població hagués incrementat un 27.9% al 2006 i gairebé quadruplicat al 2007. Aquests valors poden considerar-se una primera estimació de l'efecte del carbó en la fecunditat, la pluja de llavors i la taxa reproductiva bàsica de la població.

En la descripció del patosistema *D. sanguinalis* - *U. syntherismae* realitzada per Gaskin (1958) es diu literalment que en una mateixa localitat les plantes malaltes apareixen primer que les plantes sanes. En canvi, Johnson i Baudoin (1997) esmenten que les inflorescències amb carbó esdevenen

visibles a finals d'estiu i a la tardor, unes quantes setmanes després que les plantes sanes hagin començat a florir. Els nostres resultats no estan en consonància en cap d'aquestes dues observacions, ja que nosaltres no vam observar ni que les plantes que van emergir primer tinguessin una major probabilitat de presentar inflorescències afectades pel carbó (Taula II-2), ni tampoc que les inflorescències de les plantes CC i PC comencessin a emergir abans que les de les plantes SC o viceversa. Boguena *et al.* (2007) va trobar que les teliòspores d'*Ustilago bullata*, espècie de carbó que infecta a *Bromus tectorum*, germinen entre els 2.5°C i els 25°C, i van exposar que les lleugeres diferències en el rang de temperatura en què el fong i la planta hostatgera poden germinar podrien explicar les diferències en la incidència de la malaltia segons el moment d'emergència de l'hostatger. Els nostres resultats indiquen que el rang de factors ambientals en què les teliòspores d'*U. syntherismae* germinen podria coincidir o excedir l'amplitud de germinació de les llavors de *D. sanguinalis*, ja que en totes les cohorts es van detectar individus amb inflorescències amb carbó.

Per altra banda, i a diferència del que comenta Norton (1896), nosaltres hem observat que els individus que emergeixen més tard tenen les mateixes o més baixes probabilitats de poder produir llavors tot i tenir inflorescències amb carbó (PC) que els individus que emergeixen abans (Taula II-2). Cal esmentar, que les plantes PC són de gran importància des d'un punt de vista evolutiu, ja que alliberen tant llavors aparentment sanes com teliòspores aparentment viables, i podria ser molt interessant explorar la seva importància relativa tant en l'aptitud biològica de l'hostatger com en la del patogen en les següents generacions. Burdon i Thrall (2008) discuteixen que, a través de la interfície entre els sistemes de producció agrícola i les comunitats naturals de plantes, la dinàmica ecològica i evolutiva de les interaccions de tipus planta-patogen pot tenir un interès particular, tenint en compte que la naturalesa temporal i espacial de les interaccions entre plantes hostatgeres i els seus fongs patògens és sempre canviant. La interacció entre *D. sanguinalis* i *U. syntherismae* podria ser un cas d'estudi.

En conclusió, els nostres resultats van indicar que el moment d'emergència té un important efecte en la producció de llavors de la població de *D. sanguinalis*, inclús entre cohorts emergides amb pocs dies de diferència. Tant al 2006 com al 2007, els individus que van emergir primer van contribuir significativament més al banc de llavors del sòl que els individus que van emergir més tard. Per altra banda, els resultats també van evidenciar que el carbó *U. syntherismae* pot constrènyer significativament el creixement de la població de *D. sanguinalis*, mitjançant la reducció de la fecunditat individual i la pluja de llavors de la població. A més, els nostres resultats suggereixen que el moment d'emergència de l'hostatger no és un factor que limita la incidència de la malaltia.

Capítol III

Efectes del fong *Ustilago syntherismae* i de la competència en la morfologia, fecunditat i biomassa de *Digitaria sanguinalis*

III.1 Introducció

Els fongs patògens de plantes poden influenciar directament l'aptitud biològica de l'hostatger modificant la seva supervivència i/o reproducció o, indirectament, alterant el seu creixement, capacitat competitiva i/o susceptibilitat als herbívors o a altres paràsits (Burdon, 1987; Jarosz i Davelos, 1995). Els carbons del gènere *Ustilago* són importants patògens de plantes distribuïts arreu del món, que infecten tant espècies monocotiledònies com dicotiledònies. Algunes espècies del gènere *Ustilago* han estat extensament estudiades com a conseqüència del seu important impacte en plantes amb un especial interès econòmic (p.ex. *Ustilago maydis*, *U. tritici*, *U. avenae*, *U. nuda*) (Agrios, 1997). En menor grau també s'han realitzat estudis sobre *Ustilago* paràsits d'espècies silvestres. Aquests treballs s'han centrat fonamentalment en patògens d'espècies perennes, tal i com reflecteixen les revisions de Wennström (1994; 1999), tot i que també s'han examinat algunes interaccions entre espècies de carbons i plantes silvestres anuals (p. ex. Mack i Pyke, 1984; Govinthasamy i Cavers, 1995; Meyer *et al.*, 2001; Boguena *et al.*, 2007).

U. syntherismae és un carbó que causa infeccions sistèmiques a diverses espècies del gènere *Digitaria*, entre elles la forcadella (*D. sanguinalis*) (Gaskin, 1958; Farr *et al.*, 2009). Com succeeix en d'altres infeccions de carbons sistèmics en cespitoses, l'únic signe morfològic inequívoc de la malaltia a nivell macroscòpic és la presència d'inflorescències transformades en masses pulverulentes d'espores. Els sorus substitueixen les espiguetes i les inflorescències amb carbó acostumen a romandre tancades per les fulles superiors (Gaskin, 1958; Vánky, 1994).

L'estudi de la interacció *D. sanguinalis* - *U. syntherismae* pot ser especialment interessant en el context del control biològic, tenint en compte el dràstic efecte, citat a la literatura, d'*U. syntherismae*

sobre la reproducció d'aquesta espècie i l'alt grau d'especialització hostatger-patogen (Johnson i Baudoin, 1997). Molts pocs treballs proporcionen informació sobre el patosistema i, a més, aquests només presenten descripcions a nivell qualitatiu (Norton, 1896; Halsted, 1899; Fischer i Holton, 1957; Gaskin, 1958). Per programar una estratègia de biocontrol és necessari conèixer i quantificar alguns aspectes de la interacció entre la mala herba i el seu patogen, com per exemple, la naturalesa del procés d'infecció, l'efecte de la densitat de l'hostatger i la relativa habilitat competitiva de les plantes sanes i infectades (Smith i Holt, 1997). Sobre la interacció entre *D. sanguinalis* i *U. syntherismae*, és conegut que les plantes malaltes són més petites que les sanes i presenten entrenusos i fulles més curtes, però en canvi són més frondoses. *U. syntherismae* també sembla que retarda l'inici del període de senescència dels individus de *D. sanguinalis* (Halsted, 1899; Gaskin, 1958). En condicions de camp, la malaltia només es pot distingir en estadis avançats del cicle de vida de l'hostatger. El primer símptoma visible és una lleugera separació entre la beina de la fulla bandera i la tija (Mas *et al.*, 2006).

Els objectius d'aquest estudi van ser: (i) quantificar els efectes d'*U. syntherismae* i de la competència (intra- i interespecífica) en la morfologia, la biomassa i la fecunditat de *D. sanguinalis*, i (ii) estudiar la influència de la densitat de *D. sanguinalis* en la incidència de la malaltia. Per assolir aquests objectius es van dur a terme dos experiments diferents. L'Experiment I va consistir en mostrejar al final del cicle de vida, i durant dos anys consecutius, una població de *D. sanguinalis* que havia crescut en condicions naturals. En l'Experiment II, en canvi, es va estudiar una població monoespècífica de *D. sanguinalis* en la que es van manipular les densitats de l'espècie arvense.

III.2 Material i mètodes

III.2.1 Experiment I: Estudi d'una població de *D. sanguinalis* al final del cicle anual

Aquest estudi es va dur a terme en un camp de la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental, 41°36'44"N 2°10'17"E/UTM 31N 4607078N 431060E).

A finals d'octubre de 2006 i 2007, gairebé al final del cicle anual de *D. sanguinalis*, es va realitzar un mostreig de la població de *D. sanguinalis* que havia emergit en el camp de manera natural després de la collita del cereal (18 de juliol de 2006 i 20 de maig de 2007) cultivat durant la campanya d'hivern. En anys anteriors, en aquest camp s'hi havia detectat la presència d'una població de

D. sanguinalis amb alguns individus infectats pel carbó *U. syntherismae* (Mas *et al.*, 2006).

Concretament, en ambdós anys es va realitzar un mostreig regular de la població de *D. sanguinalis* al llarg de dos (2006) o tres (2007) transectes separats 2 m. La unitat mostral utilitzada va ser un quadrat de 50 x 50 cm². A l'any 2006 es van mostrejar un total de 10 quadrats i, a l'any 2007, 12 quadrats. Aquests quadrats mostrejats corresponen als quadrats que es van controlar durant l'estudi de la dinàmica de la població presentat en el Capítol II.

A cada quadrat mostreat es van comptar, classificar i recol·lectar els individus de *D. sanguinalis* tenint en compte si presentaven signes externs de la infecció produïda per *U. syntherismae*. Es van diferenciar fins a quatre estats d'infecció: (i) plantes florides i que no manifestaven cap signe extern de la malaltia, és a dir plantes sense carbó (SC), (ii) plantes amb totes les inflorescències transformades en espores del carbó i que no havien produït cap llavor, és a dir plantes amb les inflorescències completament carbonades (CC), (iii) plantes amb alguna inflorescència transformada en espores del carbó, però que també presentaven alguna o algunes llavors aparentment sanes, és a dir plantes amb inflorescències parcialment carbonades (PC), i (iv) plantes que no havien arribat a florir i per tant no presentaven cap signe extern de la infecció, és a dir plantes sense florir (SF). Per a cada quadrat també es va recol·lectar la biomassa aèria de les altres espècies presents.

El mateix dia de ser recol·lectades, les plantes de *D. sanguinalis* van ser congelades amb l'objectiu de poder ser processades detalladament al laboratori. Abans de ser processades, les plantes es deixaven descongelar a temperatura ambient. Per a cadascun dels individus, es van mesurar els següents caràcters morfològics: nombre de tiges (ramificacions a la base), nombre de nusos, ramificacions, i inflorescències per tija, i alçada de cada tija des del coll de l'arrel fins a la fulla bandera. A més a més, en el cas de les plantes SC es va estimar el nombre de fruits (cariopsis) produïts per individu. Aquesta estimació es va fer a partir d'una relació al·lomètrica entre la longitud dels raquis de les inflorescències (cm) i el nombre de llavors (cariopsis), establerta cada any a partir d'una submostra de 50 plantes SC del total de plantes recol·lectades (2006: $\ln(y+1) = 1.6668 \cdot \ln(x+1)$, $R^2=0.99$, $P<0.001$; 2007: $\ln(y+1) = 1.8615 \cdot \ln(x+1)$, $R^2=0.99$, $P<0.001$; on x és la longitud del raquis en cm i y el nombre de llavors). Per a les plantes PC, el nombre de llavors només es va avaluar al 2007, comptant directament les llavors aparentment sanes produïdes.

Un cop processades les plantes, es va determinar el pes sec de la biomassa aèria per quadrat i estat d'infecció (SC, CC, PC i SF). També es va determinar el pes sec de la biomassa aèria de les altres espècies collides en els quadrats.

A més, en el mostreig de l'any 2006, es van obtenir dades del nombre de ramets (tiges basals) i la proporció de ramets en cada estat d'infecció de 16 quadrats més, també d'una mida de 50 x 50 cm². Aquests quadrats estaven distribuïts regularment seguint els transectes definits en el mostreig de la població de *D. sanguinalis* descrit en aquest apartat.

III.2.1.1 Anàlisi de dades

Efectes del patogen en la morfologia i la biomassa

Els valors dels paràmetres morfològics i de biomassa de les plantes SC i CC es van sotmetre a una ANOVA seguida d'una separació de mitjanes amb el test de Tukey-Kramer ($P < 0.05$), considerant com a factors fixos principals l'estat d'infecció (amb dos nivells, SC i CC) i l'any (amb dos nivells, 2006 i 2007), així com la interacció entre ambdós factors. Concretament els paràmetres analitzats van ser: nombre de tiges, nusos, ramificacions i inflorescències, per individu, alçada de la tija principal i biomassa aèria per individu. Les anàlisis es van realitzar amb el procediment SAS/GLM (SAS Institute Inc., 1999) utilitzant les dades transformades (logaritme neperià +1; Gomez i Gomez, 1984). A més a més, es van inspeccionar els residuals.

Efectes de la densitat en la incidència de la malaltia

Per a cada any, es va avaluar la possible relació lineal entre (i) la densitat d'individus i el nivell d'incidència de la malaltia mesurat a nivell d'individu (percentatge d'individus amb carbó, SC i CC) (dades de 10 quadrats al 2006 i de 12 quadrats al 2007), i (ii) la densitat de ramets (tiges basals) i el nivell d'incidència de la malaltia mesurat a nivell de ramet (percentatge de ramets amb carbó, SC i CC) (dades de 26 quadrats al 2006 i de 12 quadrats al 2007). Aquestes anàlisis es van fer amb el procediment SAS/GLM (SAS Institute Inc., 1999), utilitzant els quadrats mostrejats com a unitats experimentals i les dades transformades (arcsinus per les proporcions d'infecció i logaritme neperià +1 per les densitats; Gomez i Gomez, 1984). A més a més, es va realitzar les corresponents anàlisis dels residuals.

Efectes de la competència intra- i interespecífica

Per valorar (i) si es detectaven efectes de la competència intra- i interespecífica en els paràmetres morfològics i la biomassa individual de les plantes SC i CC, i (ii) si aquests efectes eren diferents entre les plantes SC i CC, es va realitzar una anàlisi de la covariància (ANCOVA) per a cada paràmetre avaluat i any. En les ANCOVA es va considerar l'estat d'infecció com a factor principal (amb dos nivells, SC i CC), i la densitat de *D. sanguinalis* i la biomassa d'altres espècies com a co-

variables, així com la interacció entre el factor i cada covariable. Es va realitzar una ANCOVA per a cada paràmetre, enlloc d'una regressió lineal múltiple amb dues variables independents (densitat i biomassa d'altres espècies) per a cada estat d'infecció i paràmetre, perquè l'objectiu de l'anàlisi no només era estimar la relació entre el paràmetre i les dues covariables, sinó que també es volia avaluar si es detectava que aquestes relacions eren significativament diferents en funció de l'estat d'infecció de l'individu.

Les anàlisis es van realitzar utilitzant el procediment SAS/GLM al que s'hi va incorporar la rutina ESTIMATE per estimar, per a cada nivell del factor principal (SC i CC), els coeficients de regressió que relacionen cada paràmetre amb la densitat de *D. sanguinalis* i amb la biomassa de les altres espècies (Milliken i Johnson, 2002). Previ a les anàlisis, les dades es van transformar (logaritme neperià +1; Gomez i Gomez, 1984). Posteriorment, també es van realitzar les corresponents anàlisis dels residuals.

III.2.2 Experiment II: Estudi d'una població de *D. sanguinalis* mono-específica

Aquest experiment es va dur a terme l'any 2007 en la mateixa parcel·la que l'Experiment I.

Es va treballar amb 4 densitats de *D. sanguinalis* diferents: 100, 200, 400 i 800 individus m⁻². Aquestes densitats es van seleccionar tenint en compte les altes densitats de l'espècie observades en la parcel·la al 2006. El disseny experimental que es va utilitzar va ser de blocs a l'atzar amb tres repeticions per densitat. La unitat experimental de cada repetició corresponia a un quadrat de 50 x 50 cm².

A principis d'agost de 2007, es van marcar els quadrats en una zona de la parcel·la completament lliure de plantes i, a mitjans d'agost, es va detectar un pols d'emergència de plàntules de *D. sanguinalis*. Transcorreguda una setmana des de l'emergència, es va realitzar una aclarida de plàntules de *D. sanguinalis* per aconseguir les densitats desitjades i es van eliminar les plàntules de les altres espècies. Les densitats es van mantenir al llarg de tot el període de creixement de l'espècie, ja que durant el transcurs de l'experiment no es va observar la mort de cap dels individus i, a més, periòdicament s'eliminaven els individus d'altres espècies i de *D. sanguinalis* que emergien en els quadrats.

A finals d'octubre de 2007, és a dir, gairebé al final del cicle de vida anual de la planta, els individus de cada repetició es van recol·lectar i classificar segons l'estat d'infecció. Es van utilitzar els

mateixos estats d'infecció i criteris definits en l'Experiment I: plantes sense carbó (SC), plantes completament carbonades (CC), plantes parcialment carbonades (PC), i plantes sense florir (SF) (Apartat III.2.1).

Un cop recol·lectades, es van obtenir dades sobre la morfologia, la fecunditat i la biomassa aèria per individu i estat d'infecció, de manera similar a l'Experiment I (Apartat III.2.1).

III.2.2.1 Anàlisi de dades

Per als paràmetres morfològics i la biomassa aèria per individu, es van avaluar els efectes de la densitat i del fong mitjançant una ANOVA seguida d'una separació de mitjanes amb el test de Tukey-Kramer ($P < 0.05$), considerant la densitat (amb 4 nivells corresponents a les 4 densitats estudiades), l'estat d'infecció (amb 2 nivells, SC i CC) i la interacció entre aquests dos factors com a factors fixes, i el bloc com a factor aleatori. Concretament els paràmetres analitzats van ser: nombre de tiges, nusos, ramificacions i inflorescències, per individu, alçada de la tija principal, i biomassa aèria per individu. Aquestes anàlisis es van dur a terme amb el procediment SAS/MIXED (SAS Institute Inc., 1999). Prèviament, les dades es van transformar (logaritme neperià +1; Gomez i Gomez, 1984). El factor estat d'infecció només va considerar dos nivells (SC i CC), donat el baix nombre de plantes PC collides en els quadrats. Després de les anàlisis, es van inspeccionar els residuals.

De manera similar a l'Experiment I, també es va avaluar la possible relació lineal entre la densitat d'individus i el percentatge d'individus amb carbó (CC i PC), i entre la densitat de ramets i el percentatge de ramets amb carbó (CC i PC) (Apartat III.2.1.1).

III.3 Resultats

III.3.1 Experiment I: Estudi d'una població de *D. sanguinalis* al final del cycle anual

Al 2006, es van recol·lectar 1958 individus de *D. sanguinalis* dels quals un 21.6% presentaven signes externs de la malaltia produïda per *U. syntherismae*. Del total de plantes malaltes, un 94.3% presentaven totes les inflorescències transformades en espores del carbó i per tant havien estat totalment castrades pel fong (plantes CC), i només un 5.7% havien estat capaces de produir alguna llavor aparentment sana (plantes PC). Per altra banda, un 77.7% dels individus recol·lectats no manifestaven cap signe de la malaltia i havien florit normalment (plantes SC), mentre que un

0.7% no havien arribat a florir (plantes SF). Al 2007 es van recol·lectar un total de 8755 individus. En aquest cas, un 21.1% del total de plantes recol·lectades eren SC, un 60.0% CC, un 1.2% PC i un 17.7% SF.

III.3.1.1 Efectes del patogen en la morfologia, biomassa i fecunditat

Les mitjanes dels valors de les diferents característiques morfològiques mesurades, així com de la biomassa aèria total i el nombre de llavors produïdes per individu, segons l'estat d'infecció (SC, CC, PC i SF), es mostren a la Taula III-1. També es recullen els valors de les mitjanes a nivell de ramet (tija basal) tenint en compte que les plantes CC van produir per terme mig menys tiges basals que les plantes SC. Per obtenir els valors d'aquesta taula s'han tractat les dades obtingudes en els mostrejors de l'any 2006 i 2007 conjuntament. En general, d'entre els paràmetres avaluats, l'efecte d'*U. syntherismae* més important es va detectar en la fecunditat individual. Les plantes CC no van produir cap llavor, i les plantes PC van produir per terme mig un 91.3% menys de llavors aparentment sanes que els individus SC (Taula III-1).

L'estat d'infecció i l'any van ser fonts de variació significatives per a tots els paràmetres estudiats (Taula III-2). Per una banda, els resultats van mostrar que els individus CC van produir per terme mig un 15.5% menys de tiges basals i van ser un 23.7% més baixes que les plantes SC però, en canvi, tenien un 12.9% més de nusos, un 52.4% més de ramificacions i un 16.7% més d'inflorescències. Pel que fa a la biomassa aèria, les plantes SC pesaven 2.6 vegades més que les plantes CC. Aquestes diferències no responien al fet que les plantes SC estaven formades per terme mig per un major nombre de tiges basals (ramets), ja que les diferències de biomassa es van mantenir també a nivell de ramet ($0.14 \text{ g ps ramet}^{-1}$ SC i $0.06 \text{ g ps ramet}^{-1}$ CC). D'altra banda, per a tots els paràmetres avaluats, els valors observats al 2006 van ser significativament superiors als del 2007 (Taula III-2). Per exemple, la mitjana del pes sec i del nombre de tiges basals de les plantes collides l'any 2006 va ser el doble que el de les plantes recol·lectades l'any 2007.

Per a les característiques morfològiques nombre de tiges i ramificacions per planta, i alçada de la tija principal, també es va detectar un efecte interacció significatiu entre l'estat d'infecció i l'any ($P < 0.001$) (Taula III-2). En aquests paràmetres, els efectes d'*U. syntherismae* en els individus de *D. sanguinalis* van ser majors al 2006 en comparació al 2007, és a dir, les diferències entre les plantes SC i CC van ser superiors al 2006 que al 2007. En canvi, la interacció no va ser significativa amb un nivell de confiança del 95%, ni en la biomassa aèria ni en el nombre de nusos i inflorescències per individu (Taula III-2).

Taula III-1. Característiques morfològiques, nombre de llavors i biomassa aèria, per individu i estat d'infecció, i per ramet (tiges basals) i estat d'infecció, de les plantes de *D. sanguinalis* recol·lectades a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i 2007. Els estats d'infecció diferenciats són: plantes sense carbó (SC), plantes amb les inflorescències completament transformades en espores del carbó (CC), plantes amb inflorescències amb carbó, però que també havien produït alguna llavor aparentment viable (PC), i plantes sense florir (SF). Els paràmetres estudiats són: nombre de tiges (tija principal més fillols), nusos, ramificacions, inflorescències i cariopsis, per planta o per ramet, alçada des del coll de l'arrel fins la fulla bandera de la tija principal o del ramet (cm), i biomassa aèria per planta o per ramet (g ps).

		SC		CC		PC		SF	
		Mitjana \pm EE	n	Mitjana \pm EE	n	Mitjana \pm EE	n	Mitjana \pm EE	n
Plantes individuals	tiges	1.69 \pm 0.03	3371	1.08 \pm 0.01	5649	1.31 \pm 0.08	131	1.01 \pm 0.002	1562
	nusos	8.86 \pm 0.27	3371	7.72 \pm 0.06	5649	8.40 \pm 0.66	131	4.84 \pm 0.03	1562
	ramificacions	0.83 \pm 0.06	3371	0.85 \pm 0.02	5649	1.40 \pm 0.22	131	0.07 \pm 0.01	1562
	inflorescències	2.29 \pm 0.07	3371	1.93 \pm 0.02	5649	2.72 \pm 0.27	131	0.00 \pm 0.00	1562
	alçada (cm)	13.95 \pm 0.15	3371	8.18 \pm 0.06	5649	12.30 \pm 0.57	131	3.95 \pm 0.06	1562
	cariopsis	198.6 \pm 14.2	3371	0.00 \pm 0.00	5649	17.3 \pm 3.5	107	0.00 \pm 0.00	1562
	biomassa aèria (g ps)	0.25 \pm 0.04	22	0.10 \pm 0.02	22	0.19 \pm 0.06	20	0.01 \pm 0.001	16
Ramets (tiges)	nusos	5.26 \pm 0.05	5672	7.12 \pm 0.04	6122	6.40 \pm 0.23	172	4.81 \pm 0.03	1572
	ramificacions	0.49 \pm 0.02	5672	0.78 \pm 0.02	6122	1.06 \pm 0.10	172	0.07 \pm 0.01	1572
	inflorescències	1.36 \pm 0.01	5672	1.78 \pm 0.02	6122	2.07 \pm 0.10	172	0.00 \pm 0.00	1572
	alçada (cm)	15.68 \pm 0.13	5672	8.37 \pm 0.06	6122	12.56 \pm 0.51	172	3.94 \pm 0.06	1572
	cariopsis	118.0 \pm 3.2	5672	0.00 \pm 0.00	6122	17.2 \pm 3.4	108	0.00 \pm 0.00	1572
	biomassa aèria (g ps)	0.14 \pm 0.02	22	0.06 \pm 0.01	22	0.09 \pm 0.02	20	0.01 \pm 0.001	16

Per a cada paràmetre i estat d'infecció, es mostra la mitjana \pm EE (error estàndard) de la mitjana i la mida de la mostra (n, el nombre de quadrats mostrejats per a la biomassa aèria i el nombre d'individus o de ramets per a la resta de paràmetres).

Taula III-2. Significació de les fonts de variació de les anàlisis de la variància (ANOVA) realitzades per a cinc característiques morfològiques i per a la biomassa aèria per planta, dels individus de *D. sanguinalis* recol·lectats a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i 2007. El model utilitzat considera l'estat d'infecció (E) i l'any (A) com a factors fixos principals, així com la seva interacció (ExA). Al final de la taula es mostren les mitjanes poblacionals estimades per mínims quadrats (LSMeans) considerant els factors principals. Els paràmetres estudiats són: nombre de tiges (tija principal més fillols), nusos, ramificacions i inflorescències, per planta, alçada de la tija principal des del coll de l'arrel fins a la fulla bandera (cm) i biomassa aèria per planta (g ps).

	tiges	nusos	ramificacions	inflorescències	alçada (cm)	biomassa aèria (g ps pl ⁻¹)
Fonts de variació:						
Estat (E)	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0048	<0.0001	<0.0001
Any (A)	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0003
ExA	<0.0001	0.1011	<0.0001	0.2297	<0.0001	0.7131
LSMeans:						
Estat						
SC	1.74a	8.96b	0.82b	2.34b	14.40a	0.26a
CC	1.47b	10.12a	1.25a	2.73a	10.99b	0.10b
Any						
2006	2.12A	11.49A	1.18A	3.27A	16.64A	0.24A
2007	1.09B	7.60B	0.88B	1.81B	8.75B	0.11B

LSMeans amb lletres diferents indiquen diferències significatives ($P < 0.05$) segons l'anàlisi amb les dades transformades (logaritme neperià +1).

III.3.1.2 Efectes de la densitat en la incidència de la malaltia

Quan es van avaluar els resultats dels dos anys per separat, no es va trobar una relació lineal significativa ($P > 0.05$) entre la densitat de l'hostatger (avaluada tant a nivell de genets com a nivell de ramets) i el percentatge d'infecció (suma d'individus CC i PC, avaluat també a nivell de genets i de ramets) (Figura III-1).

Tenint en compte les dades dels dos anys conjuntament, cal notar que al 2007, quan la densitat mitjana de *D. sanguinalis* va ser gairebé quatre vegades superior a la del 2006, la incidència de la malaltia també va ser molt major (la proporció mitjana d'individus amb carbó en els quadrats mostrejats va ser del 21.9% al 2006 i del 62.0% al 2007) (Figura III-1).

III.3.1.3 Efectes de la competència intra- i interespecífica

La densitat de *D. sanguinalis* als quadrats mostrejats va oscil·lar entre 340 i 1356 plantes m^{-2} al 2006, i entre 1676 i 3812 plantes m^{-2} al 2007. La biomassa d'altres espècies va variar entre 13.4 i 151.7 g ps m^{-2} al 2006, i de 0.6 a 3030.8 g ps m^{-2} al 2007.

L'anàlisi de dades va mostrar efectes diferents de la competència intraspecífica (valorada a partir de la densitat de *D. sanguinalis*) i de la competència interespecífica (valorada a partir de la biomassa d'altres espècies) en tots els paràmetres avaluats en funció de l'any.

Al 2006, es va observar un efecte significatiu, tant de la densitat de *D. sanguinalis* (D) com de la biomassa d'altres espècies (B), per a tots els paràmetres morfològics estudiats, ja que en tots els casos els coeficients de regressió estimats en les anàlisis estadístiques i que relacionaven els paràmetres avaluats amb la densitat de *D. sanguinalis* (coeficients b_1) i amb la biomassa d'altres espècies (coeficients b_2) van ser significativament diferents a 0 (Figura III-2). En general, es va trobar que a l'incrementar el valor de la densitat de *D. sanguinalis* o de la biomassa d'altres espècies disminuïen els valors de les característiques morfològiques (Figura III-2). D'altra banda, en tots aquests paràmetres excepte en el cas de l'alçada de la planta, no es van observar diferències significatives en els efectes de la densitat i de la biomassa d'altres espècies segons l'estat d'infecció de l'individu (E), és a dir, en l'ANCOVA les interaccions entre el factor i les dues covariables (ExD i ExB) no van ser fonts de variació significatives ($P > 0.05$) (en la Figura III-2 la significació de les interaccions ExD i ExB es mostren com a $P(b_1)$ i $P(b_2)$, respectivament). En canvi, en el cas de l'alçada de la planta es va detectar un efecte de la densitat significativament major en les plantes CC que en les SC ($P = 0.02$), és a dir, a l'incrementar la densitat la reducció de l'alçada era significativament més gran en les plantes CC que en les SC (Figura III-2.E). Pel que fa a la biomassa aèria per

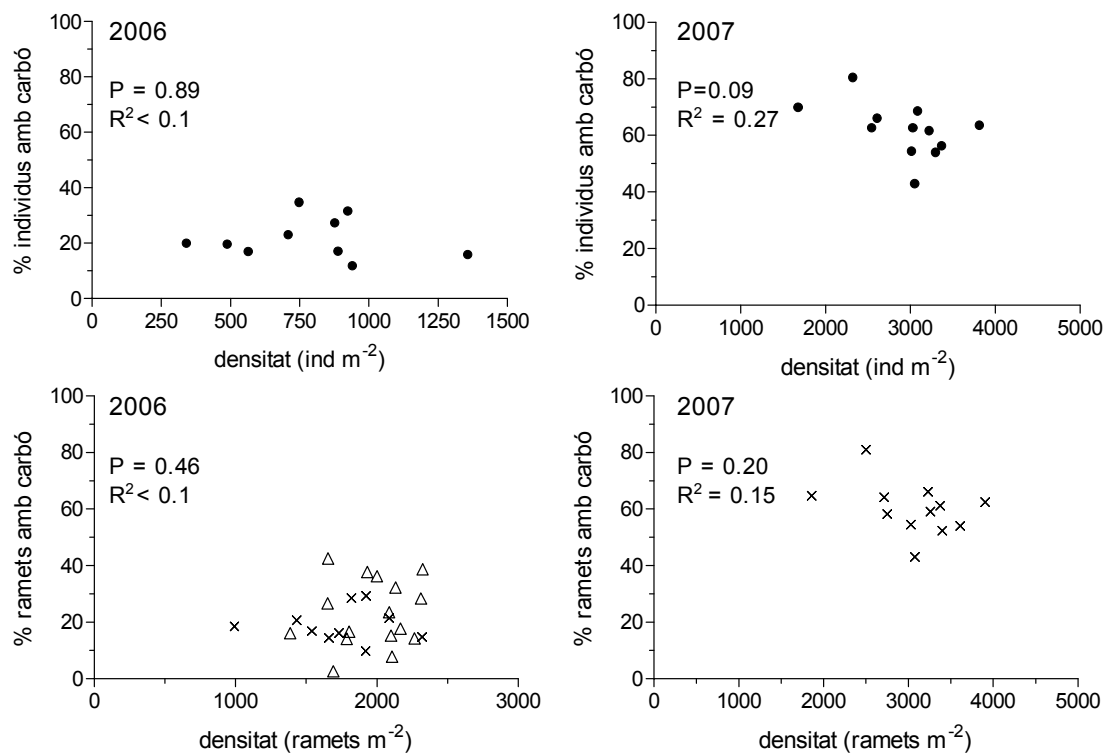


Figura III-1. Proporció d'individus i de ramets de *D. sanguinalis* amb carbó en relació a la densitat, dels quadrats mostrejats a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i al 2007. En els gràfics s'indica la significació (P) i el coeficient de determinació (R²) per a cadascuna de les relacions avaluades.

individu, els efectes de la competència intraspecífica no van ser significativament diferents entre els individus SC i els CC. En canvi, es va observar un efecte significatiu de la biomassa de les altres espècies en la biomassa aèria dels individus SC, mentre que no es va trobar aquest efecte en les plantes CC (en aquest cas el coeficient b_2 no va ser significativament diferent a 0 amb un nivell de confiança del 95%, Figura III-2.F).

Al 2007, es va observar un efecte de la competència intra- i interespecífica de diferent magnitud que al 2006 (Figura III-2). En general, es van trobar efectes de la densitat de *D. sanguinalis* més elevats en els individus SC que en els CC. Per exemple, en els individus CC no es va detectar un efecte significatiu de la densitat de *D. sanguinalis* en el nombre de tiges, nusos, ramificacions i inflorescències per individu, en canvi, sí que es va observar en el cas de les plantes SC. D'altra banda, també es va trobar que a l'incrementar el valor de la biomassa d'altres espècies incrementava

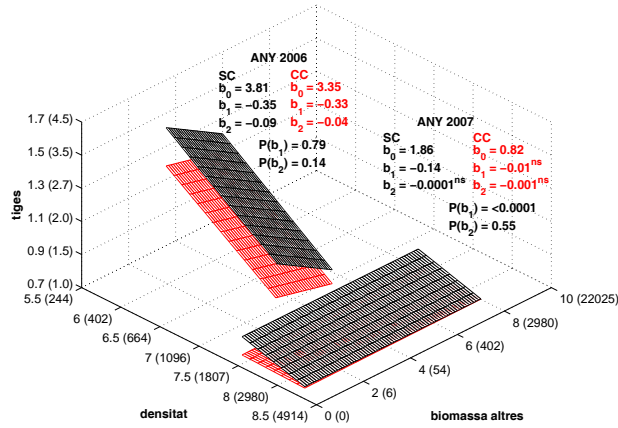


Figura III-2.A. Efectes de la densitat de *D. sanguinalis* i de la biomassa d'altres espècies en el número de tiges per individu.

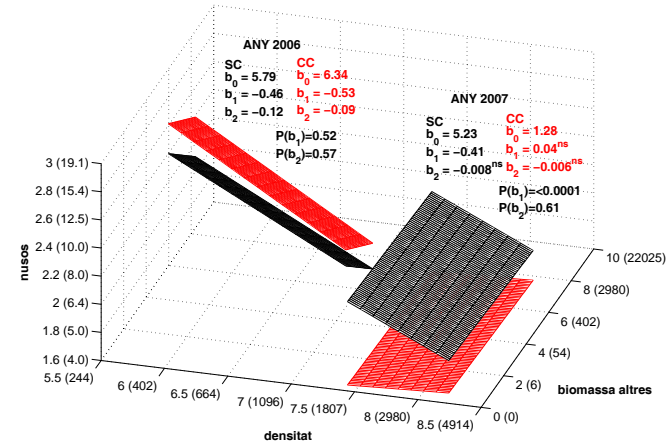


Figura III-2.B. Efectes de la densitat de *D. sanguinalis* i de la biomassa d'altres espècies en el número de nusos per individu.

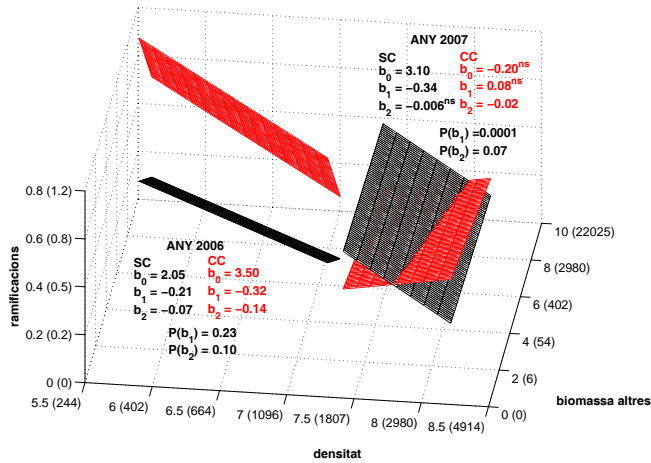


Figura III-2.C. Efectes de la densitat de *D. sanguinalis* i de la biomassa d'altres espècies en el número de ramificacions per individu.

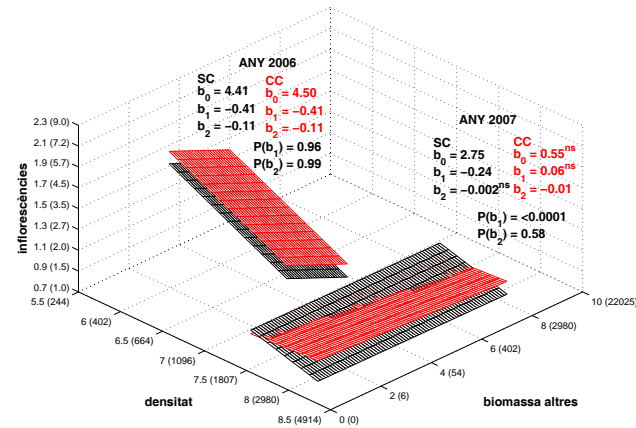


Figura III-2.D. Efectes de la densitat de *D. sanguinalis* i de la biomassa d'altres espècies en el número d'inflorescències per individu.

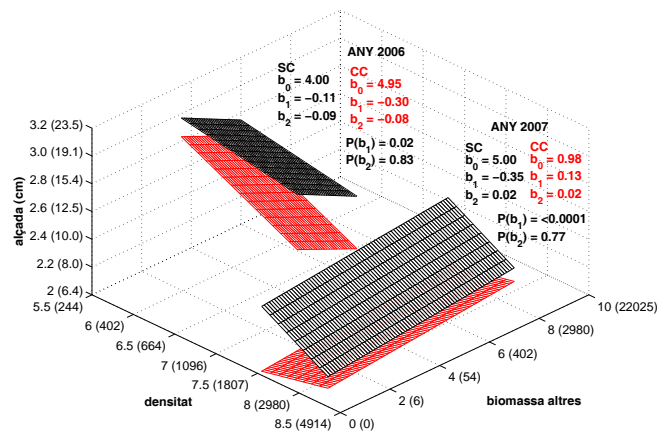


Figura III-2.E. Efectes de la densitat de *D. sanguinalis* i de la biomassa d'altres espècies en l'alçada dels individus.

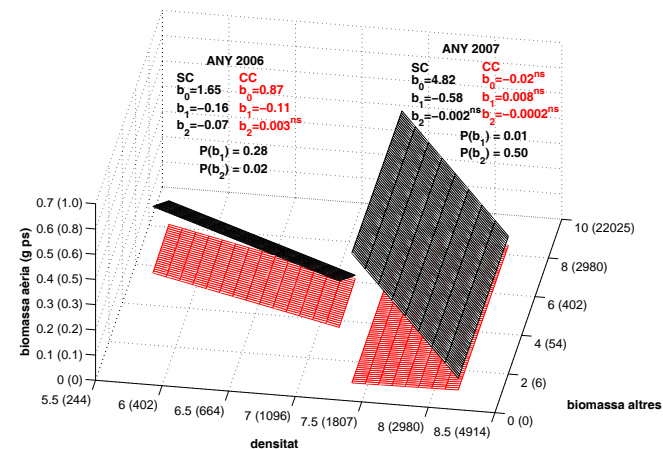


Figura III-2.F. Efectes de la densitat de *D. sanguinalis* i de la biomassa d'altres espècies en l'alçada dels individus.

Figura III-2. Efectes de la densitat de *D. sanguinalis* (densitat, D - pl m⁻²) i de la biomassa d'altres espècies (biomassa altres, B - g ps m⁻²) en cinc característiques morfològiques i en la biomassa aèria individual, de les plantes de *D. sanguinalis* recol·lectades a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i 2007. S'han estudiat els efectes per a dos estats d'infecció dels individus: plantes sense carbó (SC) i plantes amb totes les inflorescències transformades en espores del carbó (CC). Per a cada paràmetre (y), any i estat, b_0 , b_1 i b_2 són els coeficients de regressió del model $\ln(y+1) = b_0 + b_1 \cdot \ln(D+1) + b_2 \cdot \ln(B+1)$ (^{ns} indica que el coeficient de regressió estimat no és significativament diferent de 0, $P < 0.05$). Per a cada any, $P(b_1)$ i $P(b_2)$ mostren la significació del test d'hipòtesi per contrastar la igualtat dels coeficients b_1 i b_2 de CC i SC, respectivament. Les marques dels eixos mostren els valors transformats utilitzats en el model (logaritme neperià +1), i entre parèntesis els valors de y, D i B sense transformar. Els paràmetres estudiats són: nombre de tiges (tija principal més fillols) (Figura III-2.A), nusos (Figura III-2.B), ramificacions (Figura III-2.C) i inflorescències (Figura III-2.D), per planta, alçada de la tija principal des del coll de l'arrel fins a la fulla bandera (cm) (Figura III-2.E), i biomassa aèria per planta (g ps pl⁻¹) (Figura III-2.E).

significativament l'alçada mitjana de les plantes SC i CC. També es va veure que a l'augmentar la densitat de la població incrementava l'alçada de les plantes CC, i en canvi disminuïa la de les SC (Figura III-2.E). Quant a la biomassa aèria total per individu CC, no es va trobar un efecte significatiu ni de la densitat de *D. sanguinalis* ni de la biomassa d'altres espècies, però cal esmentar el reduït valor de la biomassa aèria d'aquests individus en totes les densitats ($< 0.07 \text{ g ps pl}^{-1}$). En el cas de les plantes SC, es va observar un efecte significatiu de la densitat de *D. sanguinalis*, i en canvi, no es va trobar una influència significativa, amb un nivell de confiança del 95%, de la biomassa d'altres espècies (Figura III-2.F).

III.3.2 Experiment II: Estudi d'una població de *D. sanguinalis* mono-específica

Un 40.3% del total dels individus recol·lectats van mostrar signes externs de la malaltia produïda per *U. syntherismae*. De manera similar a l'Experiment I, l'efecte més rellevant del fong en primera instància va ser la castració del 86.1% del total de plantes que van manifestar externament la malaltia. Per altra banda, totes les plantes recol·lectades havien produït alguna inflorescència, ja fos aparentment sana (plantes SC), completament transformada en espores del carbó (plantes CC), o amb carbó però també amb alguna llavor aparentment sana (plantes PC). En cap de les unitats experimentals es van observar individus que no haguessin arribat al període reproductiu.

A les densitats 100, 200, 400 i 800 plantes m^{-2} , cada individu SC van produir per terme mig 987.0 ± 97.1 , 452.0 ± 29.3 , 346.5 ± 15.4 , 249.2 ± 9.8 cariopsis, respectivament. En canvi, a aquestes densitats les plantes PC van produir 80.8 ± 21.8 , 44.0 ± 17.9 , 40.2 ± 8.0 , 23.7 ± 4.4 cariopsis aparentment sanes per individu, respectivament. Les plantes CC no van arribar a produir cap llavor.

Els resultats de les ANOVA van mostrar que la densitat i l'estat d'infecció (considerats com a factors fixes en el model), així com el bloc (considerat com a factor aleatori), van ser fonts de variació significatives per a tots els paràmetres morfològics avaluats. En els paràmetres nombre de nusos i ramificacions per planta també es va trobar un efecte significatiu de la interacció entre els factors densitat i estat d'infecció ($P < 0.05$) (Taula III-3).

En general, es va observar que en situació de major densitat els valors dels paràmetres disminuïen significativament. Cal destacar però, que per les característiques morfològiques nombre de tiges i nusos, i alçada de la tija principal, així com també per la biomassa aèria per individu, no es van trobar diferències significatives entre les densitats 200 i 400 individus m^{-2} (Taula III-3). Per altra banda, també es va detectar un clar efecte del carbó en la morfologia dels individus. Les plantes

Taula III-3. Significació de les fonts de variació de les anàlisis de la variància (ANOVA) realitzades per a cinc característiques morfològiques i per a la biomassa aèria per planta, dels individus de *D. sanguinalis* d'una població monoespecífica que va créixer a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2007. El model utilitzat considera la densitat (D), l'estat d'infecció (E) i la seva interacció (DxE) com a factors fixes i el bloc com a factor aleatori. Al final de la taula, es mostren les mitjanes poblacionals estimades per mínims quadrats (LSMeans) considerant els factors principals. Els paràmetres estudiats són: nombre de tiges (tija principal més fillols), nusos, ramificacions i inflorescències per planta, alçada des del coll de l'arrel fins a la fulla bandera de la tija principal (cm), i biomassa aèria per planta (g ps).

Paràmetres	tiges	nusos	ramificacions	inflorescències	alçada (cm)	biomassa aèria (g ps pl ⁻¹)
Fonts de variació:						
Estat (E)	0.0278	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.8168
Densitat (D)	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
ExD	0.1134	0.0238	0.0411	0.0798	0.8356	0.9884
Bloc	<0.0001	<0.0001	0.0007	<0.0001	<0.0001	0.0091
LSMeans:						
Estat						
SC	4.53b	25.20b	3.27b	6.42b	13.98a	0.49a
CC	4.92a	47.31a	7.23a	12.16a	10.38b	0.51a
Densitats (i/m ²)						
100	7.24A	63.55A	10.95A	17.11A	14.20A	0.94A
200	4.43B	32.85B	4.77B	8.40B	12.53AB	0.47B
400	4.04B	27.89B	3.12C	6.77C	11.28BC	0.36BC
800	3.20C	20.71C	2.17D	4.89D	10.72C	0.23C

LSMeans amb lletres diferents indiquen diferències significatives ($P < 0.05$) segons les anàlisis amb les dades transformades (logaritme neperià +1).

CC van produir per terme mig un 8.6% més de tiges, un 87.7% més de nusos, un 121.1% més de ramificacions i un 89.4% més d'inflorescències per individu que les plantes SC. També es va observar una reducció del 25.7% de l'alçada mitjana de la tija principal en les plantes CC en comparació amb les plantes SC. Tot i que com s'ha comentat les plantes CC van produir un major nombre de tiges, a nivell de ramet les plantes CC van presentar un 58.0% més de nusos, un 99.1% més de ramificacions i un 69.2% més d'inflorescències que els individus SC.

En relació a la biomassa aèria per individu, la densitat i el bloc van ser fonts de variació significatives ($P < 0.05$). Es va observar que a una densitat de 100 plantes m^{-2} els individus pesaven el doble que a una densitat de 200 plantes m^{-2} , i quatre vegades més que a una densitat de 800 individus m^{-2} . Per altra banda, no es va detectar un efecte significatiu ni de l'estat d'infecció ni de la interacció densitat i estat d'infecció (Taula III-3).

En la Figura III-3 s'han representat les mitjanes de les característiques morfològiques i de la biomassa aèria de les plantes SC i CC. Tot i que no van intervenir en l'anàlisi estadística, també s'han inclòs els resultats obtinguts en els individus PC. En general, aquestes plantes van produir per terme mig més nusos, ramificacions i inflorescències que les plantes SC, de manera similar al que va succeir amb les plantes CC però, en canvi, no es va detectar una reducció de l'alçada de la tija principal com en el cas de les plantes CC. També destaca que l'error estàndard de la mitjana dels paràmetres avaluats en aquest tipus de plantes va ser més elevat que el de les plantes SC i CC.

D'altra banda, els resultats no van mostrar una relació lineal significativa, ni entre la densitat d'individus de *D. sanguinalis* i la proporció d'individus amb carbó ($P = 0.22$), ni entre la densitat de ramets i la proporció de ramets amb carbó ($P = 0.84$) (Figura III-4).

III.4 Discussió

U. syntherismae va tenir un efecte dràstic en la fecunditat dels individus de *D. sanguinalis*. Com era d'esperar dels estudis trobats en la literatura, la majoria de plantes que van mostrar signes externs de la malaltia no van produir cap llavor. Només un petit percentatge de les plantes amb carbó van produir algunes llavors aparentment sanes (2.3% en l'Experiment I i un 13.9% en l'Experiment II).

En l'Experiment I, també es va observar un efecte substancial del fong en la biomassa aèria, que va ser molt petita en les plantes CC (0.10 g pl^{-1} per les CC i 0.26 g pl^{-1} per les SC). De fet, la biomassa mitjana aèria de les plantes CC va ser significativament menor que la biomassa mitjana

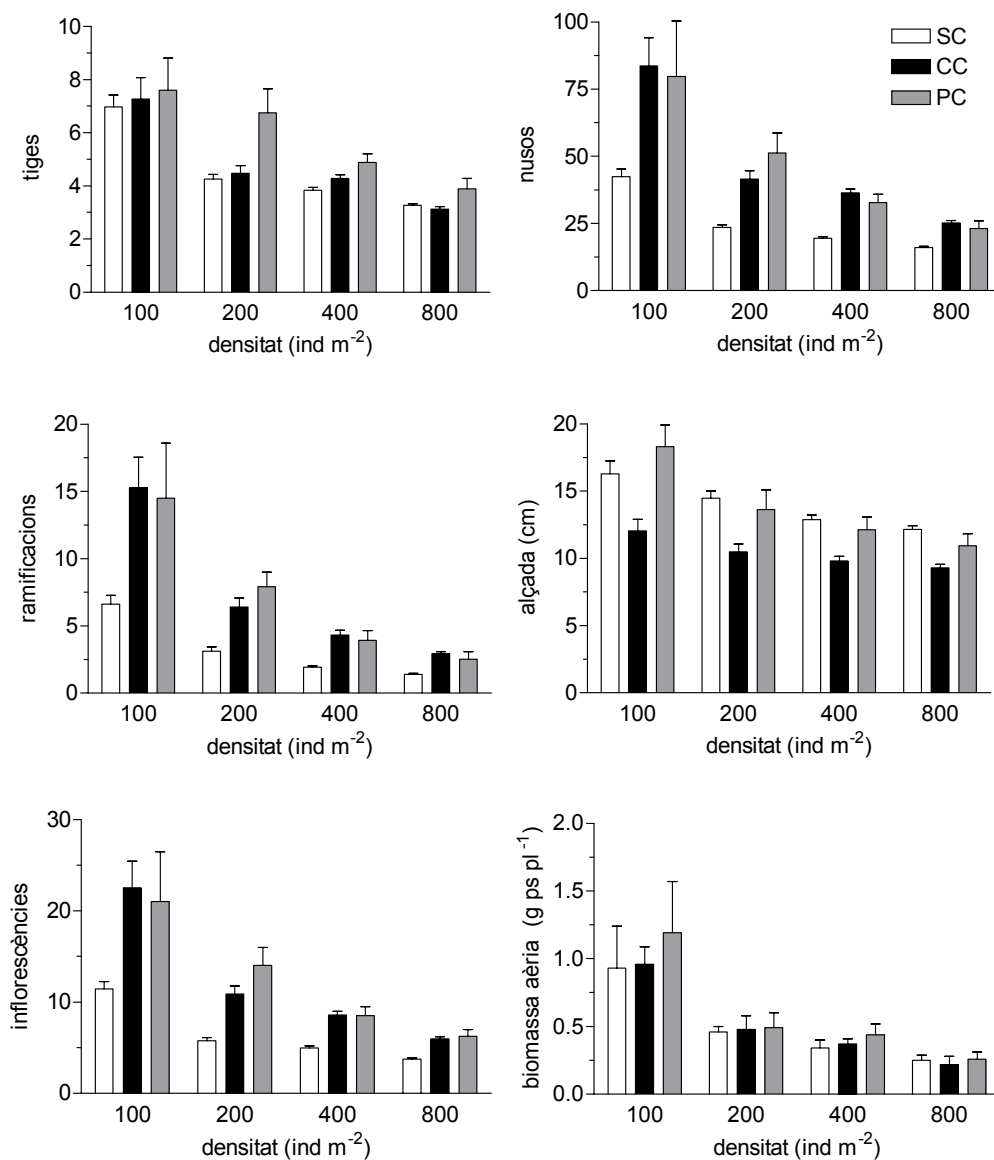


Figura III-3. Característiques morfològiques i biomassa aèria per planta, segons la densitat i l'estat d'infecció, dels individus d'una població de *D. sanguinalis* monoespecífica que va créixer a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2007. Els estats d'infecció diferenciats són: plantes sense carbó (SC), plantes amb les inflorescències completament transformades en espores del carbó (CC), plantes amb inflorescències amb carbó, però que havien produït alguna llavor aparentment viable (PC). Els paràmetres avaluats són: nombre de tiges (tija principal més fillols), nusos, ramificacions i inflorescències, per planta, alçada de la tija principal des del coll de l'arrel fins a la fulla bandera (cm), i biomassa aèria per planta (g ps). Les barres verticals representen la mitjana \pm EE (error estàndard) de la mitjana.

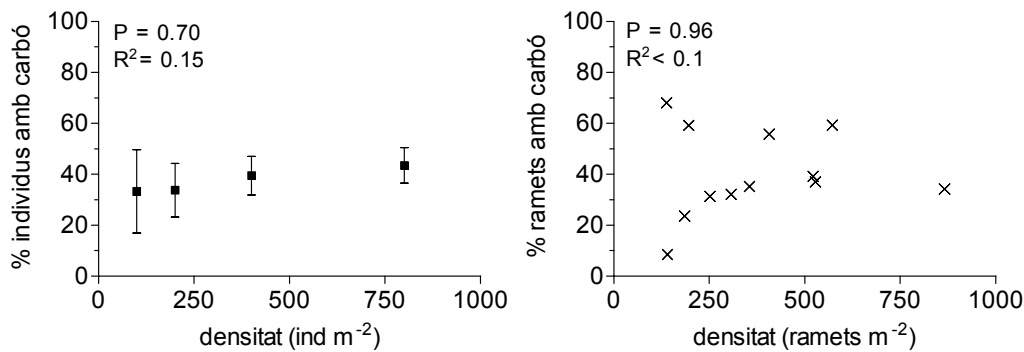


Figura III-4. Proporció d'individus i de fillols de *D. sanguinalis* amb carbó en relació a la densitat, d'una població monoespècífica que va créixer a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2007.

vegetativa dels individus SC (0.17 g pl^{-1}). Cal remarcar que el paràmetre biomassa aèria de les plantes CC incloïa, a més de la biomassa de la planta, la biomassa de les hifes i de les teliòspores del fong. En l'Experiment II, en canvi, no es va detectar un efecte significatiu del fong en la biomassa aèria individual (Taula III-3). Múltiples factors podrien haver causat aquestes divergències entre resultats. Per exemple, en l'Experiment I, i a diferència de l'Experiment II, *D. sanguinalis* va créixer en presència d'altres espècies i amb una densitat molt més elevada. A més a més, en l'Experiment II tots els individus havien emergit aproximadament en el mateix moment, mentre que en el cas de l'Experiment I els resultats s'obtingueren a partir d'individus de diferents cohorts (edats) (Capítol I). Cal remarcar, que les diferències entre les plantes que van créixer en l'Experiment I i en el II són evidents si es comparen les característiques mitjanes dels individus en les dues situacions (Taulas III-2 i III-3). Per exemple, la biomassa mitjana aèria de les plantes SC de l'Experiment II va ser el doble que la dels individus de l'Experiment I ($0.49 \text{ g ps pl}^{-1}$ respecte $0.26 \text{ g ps pl}^{-1}$). La diferència encara van ser més gran en el cas de les plantes CC. Concretament, la biomassa mitjana aèria dels individus CC de l'Experiment II va ser gairebé cinc vegades més gran que la dels individus de l'Experiment I ($0.51 \text{ g ps pl}^{-1}$ respecte $0.11 \text{ g ps pl}^{-1}$).

Els patrons d'assignació de recursos en la biomassa mitjana per individu van variar entre les plantes CC i les plantes SC i, per tant, van mostrar que *U. syntherismae* va induir canvis morfològics substancials en els individus de *D. sanguinalis*. En general, els resultats van denotar que el fong havia reduït l'alçada mitjana de la tija principal, però en canvi havia incrementat

el nombre de nusos, ramificacions i inflorescències produïdes per individu (Taules III-1, III-2 i II-3). Aquests resultats van ser consistents amb les descripcions qualitatives trobades en la literatura, que descriuen les plantes de *D. sanguinalis* infectades per *U. syntherismae* com a més baixes, però més frondoses i amb més ramificacions que les plantes sanes (Halsted, 1899; Fischer i Holton, 1957; Gaskin, 1958). Per altra banda, els nostres resultats no van mostrar un clar efecte del fong en la producció de tiges basals (ramificacions a la base). Mentre que en l'Experiment I es va observar que les plantes SC tenien més tiges que les plantes CC (Taula III-2), en l'Experiment II es va trobar el contrari (Taula III-3). Com en el cas de la biomassa, aquestes diferències podrien ser el resultat de molts factors com les diferents situacions de creixement d'ambdós experiments.

Estudis realitzats amb altres carbons paràsits d'espècies arvenses monocotiledònies també han detectat efectes significatius del patògen en la morfologia i la biomassa dels seus hostatgers, tot i que la direcció i magnitud dels efectes provocats varien en funció de la interacció (Jarosz i Davelos, 1995). Per exemple, de manera similar als resultats de l'Experiment I, García-Guzmán *et al.* (1997) van observar que *Ustilago cynodontis* reduïa significativament la biomassa total de *Cynodon dactylon*. Fallon (1976) i García-Guzmán i Burdon (1997) també van mostrar que els individus de *Bromus catharticus* infectats per *U. bullata* eren més lleugers i més baixos que els individus sans, i produïen menys fillols, però a diferència del nostre estudi van trobar que les plantes malaltes tenien menys nusos. És conegut que els canvis morfològics observats en les plantes malaltes podrien estar relacionats amb un desequilibri hormonal induït pel fong (Robert-Seilaniantz *et al.*, 2007). Malgrat que aquests canvis poden estar associats amb una resposta de defensa de l'hostatger a la infecció, ahora poden suposar un augment de la producció de teliòspores del fong. Per exemple, en el nostre cas, el major nombre d'inflorescències de les plantes CC (respecte les plantes SC) va ser una característica de les plantes malaltes que va augmentar les oportunitats del fong a produir i alliberar teliòspores. No obstant, en aquest treball no hem obtingut dades relatives a la producció de teliòspores o d'altres components de l'aptitud biològica del fong, que per altra banda són molt difícils d'estimar (Sacristán i García-Arenal, 2008).

En l'Experiment I, a més de les diferències significatives detectades entre anys en tots els paràmetres morfològics considerats, també es va observar un efecte d'interacció significatiu entre l'estat d'infecció de la planta i l'any, en el nombre de tiges i ramificacions per individu, i en l'alçada de la planta (Taula III-2). Aquests resultats suggereixen un possible canvi en l'agressivitat del fong entre els dos anys. Diversos factors podrien estar relacionats amb aquests resultats. Dos d'ells podrien ser l'increment de la densitat de l'hostatger i/o

l'increment de la incidència de la malaltia en l'any 2007 comparat amb el 2006. En diversos tipus d'interaccions planta-patogen aquest dos factors estan alhora relacionats, de manera que la densitat de l'hostatger és un dels principals factors que influeix en la incidència de la malaltia. Per una banda, un increment de la densitat augmenta el nombre d'individus susceptibles a la infecció i, per l'altra, també disminueix la distància entre els individus hostatgers i, per tant, la distància que l'inòcul ha de recórrer per infectar (Burdon i Chilvers, 1982; Burdon, 1987). No obstant, sembla ser que aquest no és el cas de la interacció entre *D. sanguinalis* i *U. syntherismae*. Presumiblement la malaltia és monocíclica i les teliòspores de les inflorescències amb carbó passen l'hivern en el sòl i poden infectar algunes de les plàntules que emergeixen durant el següent any o posteriorment. Per tant, s'esperaria que la incidència de la malaltia en un any determinat no estigués relacionada amb la densitat de l'hostatger d'aquell mateix any, sinó que vingués influenciada per altres factors com la distribució de les teliòspores en el sòl (que a la vegada estaria fortament influenciada pel règim i el tipus de treball del sòl si es tractés d'un camp de cultiu) i les condicions ambientals en el període de germinació de l'hostatger i del fong. Aquesta hipòtesi concorda amb el fet que en les nostres condicions de treball no s'ha trobat una relació lineal significativa entre la densitat de *D. sanguinalis* i la proporció d'individus o de ramets amb carbó (Figures III-1 i III-4). Segons la classificació de Wennström *et al.* (2003) sobre malalties de plantes en funció de la seva dispersió, la malaltia produïda per *U. syntherismae* en els individus de *D. sanguinalis* s'inclouria dins de les anomenades malalties reproductives (per diferenciar-les de les malalties de transmissió sexual i d'altres malalties infeccioses), ja que el fong esporula en les inflorescències però no les infecta, és a dir, la floració d'un individu no augmenta les seves probabilitats d'ésser infectat pel fong.

Per altra banda, l'elevada proporció de plantes SF al 2007 respecte al 2006 podria ser atribuïble a les altes densitats de *D. sanguinalis* observades al 2007, és a dir, a uns alts nivells de competència en la població i, per tant, a una menor disponibilitat de recursos. Al 2007, la menor densitat de *D. sanguinalis* observada en un quadrat va ser de 1676 ind m². *A priori*, aquest resultat també s'hagués pogut relacionar amb unes condicions ambientals desfavorables per a la floració. No obstant, en l'Experiment II, que també es va realitzar l'any 2007 al mateix camp que l'Experiment I, no es va detectar cap planta que no hagués arribat a produir cap inflorescència (ja fos sana o amb carbó). En aquest experiment es va treballar amb densitats de *D. sanguinalis* més baixes que en el seguiment de l'Experiment I realitzat l'any 2007 i, a més a més, es tractava d'una població monoespecífica on s'havien eliminat les plàntules de les altres espècies emergides.

Els efectes de la competència intra- i interespecífica detectats en els paràmetres morfològics i en la biomassa aèria per individu segons l'estat d'infecció queden evidenciats en les Figures III-2 i III-3. En el seguiment de l'any 2007 de l'Experiment I, cal destacar la diferència dels efectes de la densitat de *D. sanguinalis* i de la biomassa d'altres espècies detectada entre les plantes SC i les CC. En el cas de l'Experiment II, també es va observar un efecte interacció entre la densitat i l'estat d'infecció en els paràmetres nombre de nusos i ramificacions per planta. Aquestes diferències entre individus SC i CC en funció de la densitat podrien estar relacionades amb un efecte del fong en la capacitat competitiva dels individus, és a dir, a una diferent resposta enfront la densitat i la limitació de recursos segons l'estat d'infecció de la planta. A més, en l'Experiment I es va observar una biomassa mitjana aèria menor en les plantes CC que en les SC. En la literatura, variacions en el rendiment de les plantes malaltes i les plantes sanes no han pogut ser clarament associades amb una reducció de la capacitat competitiva causada pel patogen. Per exemple, García-Guzmán *et al.* (1996) no van trobar diferències significatives en la capacitat competitiva d'individus de *Bromus catharticus* infectats per *Ustilago bullata* i els individus sans, tot i que van observar una gran reducció de rendiment causada pel patogen.

Per altra banda, a l'any 2007 es va detectar un etiolament significatiu dels individus CC i SC que van créixer en situació d'alta competència respecte als que ho van fer en una situació amb una menor competència. Concretament, en les plantes CC es va observar un increment de l'alçada mitjana dels individus a l'incrementar tant la densitat de *D. sanguinalis* com la biomassa d'altres espècies. En canvi, en el cas dels individus SC només es va observar aquest efecte a l'augmentar la biomassa d'altres espècies. L'etiolament és un efecte ben documentat, conseqüència de l'ombreig i associat a canvis de qualitat de llum, és a dir, a modificacions en la relació vermell/vermell llunyà (Ballaré i Casal, 2000). El fet que aquest fenomen només fos detectat l'any 2007 i relacionat amb la biomassa d'altres espècies en el cas de les plantes SC, podria explicar-se per la diferent estratificació d'alçades entre individus SC, individus CC i individus d'altres espècies durant l'any 2007. Cal concretar que durant l'any 2007 van emergir molts pocs individus d'altres espècies en els quadrats, però es va observar en el camp que aquests constituïen un estrat d'ombreig important per a les plantes de *D. sanguinalis*. D'altra banda, i degut a l'elevada densitat poblacional i a les diferències d'alçada entre les plantes SC i CC (Figura III-2), podria ser que les plantes de *D. sanguinalis* es fessin ombra entre elles. Aquest ombreig entre individus podria haver influenciat en la qualitat i la quantitat de la llum. Per contra, al 2006 no es va observar una clara estratificació entre els individus de *D. sanguinalis* i els de les altres espècies, i potser la

menor densitat de la població respecte al 2007 va permetre que la major alçada de les plantes SC no afectés a les plantes CC.

En general, es va observar que a l'incrementar la densitat de *D. sanguinalis* o la biomassa de les altres espècies els valors de les mitjanes dels paràmetres morfològics i de biomassa disminuïen. Aquests efectes de la competència intra- i interespecífica estan ben descrits per a moltes espècies de plantes i poblacions (Harper, 1977; Silvertown i Charlesworth, 2001). No obstant, cal considerar la influència recíproca entre la competència i els paràmetres de forma. La morfologia de les plantes és parcialment el resultat de la competència entre individus, però alhora també influeix en aquesta competència (Weiner *et al.*, 1990).

En conclusió, *U. syntherismae* va tenir un important efecte negatiu en la fecunditat de *D. sanguinalis*, tenint en compte que la majoria de les plantes amb inflorescències afectades pel carbó no van produir cap llavor. Els resultats també van mostrar que el fong va produir canvis substancials en la morfologia, tant a nivell individual com a nivell de ramet. Els individus i els ramets de plantes completament castrades pel fong van produir per terme mig un major nombre de nusos, ramificacions i inflorescències, però en canvi, tenien una menor alçada que els dels individus que havien florit normalment. Per altra banda, en les nostres condicions de treball no s'ha observat una relació lineal significativa entre la densitat de l'hostatger i la incidència de la malaltia, ni en una població que va créixer en condicions naturals, ni en una altra monoespecífica en la que es van manipular les densitats dels individus.

Capítol IV

Dormició de les llavors de *Digitaria sanguinalis*

IV.1 Introducció

Una llavor pot ser considerada dormant quan no té la capacitat de germinar en un període de temps específic en qualsevol combinació de factors ambientals que d'una altra manera serien favorables per a la seva germinació (Baskin i Baskin, 2004). Finch-Savage i Leubner-Metzger (2006) consideren aquest estat fisiològic com un bloqueig a l'acabament de la germinació de llavors viables intactes en condicions favorables. La dormició de les llavors en el moment de la dispersió és una característica comuna en moltes espècies de gramínies (Simpson, 1990; Bewley i Black, 1994), i està fortament relacionada amb la seva persistència en els bancs de llavors del sòl (Fenner, 1995). El mecanisme de la dormició permet que es produeixi una germinació esglaonada en el temps, de manera que incrementa la probabilitat de persistència de les poblacions de plantes en ambients sempre canviant (Baskin i Baskin, 2001; Foley, 2001). Es tracta d'un estat fisiològic regulat per un fenomen complex (Forcella, 1998), i que probablement és el principal component que afecta a l'emergència de plàntules de males herbes (Forcella *et al.*, 2000). Entendre els mecanismes de dormició de les llavors és un requisit per plantejar estratègies de control de males herbes eficaces (Grundy, 2003), i conèixer el cicle anual de dormició de les llavors enterrades en el sòl pot permetre preveure el seu moment d'emergència (Benech-Arnold *et al.*, 2000; Batlla i Benech-Arnold, 2004).

D. sanguinalis és una espècie anual que es reproduïx mitjançant llavors. La unitat de dispersió correspon a l'espigueta formada per dues flors, una flor fèrtil i una flor estèril reduïda a una única glumel·la. Concretament, la cariopsi es troba coberta per diverses bràctees que enumerades de dins cap a fora són: la pàlea i la lemma de la flor fèrtil, la lemma de la flor estèril i les dues glumel·les. En el moment de la dispersió, la majoria de llavors d'aquesta espècie es troben en un estat de dormició i la seva germinació segueix un cicle estacional de dormició/no dormició, de manera que les llavors germinen al final de la primavera i al

principi de l'estiu i, en canvi, presenten una baixa capacitat de germinació al final de la tardor i durant l'hivern (Peters i Dunn, 1971; Masin *et al.*, 2006). La major part de les emergències tenen lloc el primer any després de la producció de les llavors (Masin *et al.*, 2006), i la seva capacitat d'emergència és superior en les llavors enterrades en els dos primers centímetres del sòl. Per contra, l'emergència sembla que no es produeix si les llavors es troben enterrades a una profunditat superior als 6 cm, ja que probablement un increment de la profunditat induïx a una dormició imposada per la profunditat (Benvenuti *et al.*, 2001).

Molts pocs treballs han estudiat els mecanismes involucrats en la dormició de les llavors de *D. sanguinalis* (Gianfagna i Pridham, 1951; Delouche, 1956). Aquests estudis suggereixen que la dormició innata de les llavors d'aquesta espècie no és produïda ni per la immaduresa de l'embrió ni per la impermeabilitat de les cobertes a l'aigua i, en canvi, podria estar associada amb la presència de substàncies inhibidores en les cobertes que cobreixen l'embrió i/o amb la permeabilitat de les cobertes a l'intercanvi gasós.

En termes ecològics, la dormició de les llavors de *D. sanguinalis*, com en altres moltes espècies, es pot interpretar com un mecanisme per prevenir la germinació de les llavors en condicions desfavorables per al creixement i l'establiment de l'espècie (Fenner i Kitajima, 1999). Per exemple, en les nostres contrades, el període de floració i de dispersió pot prolongar-se durant cinc mesos (des de juny fins octubre, Bolòs *et al.*, 2005). Per aquesta raó, la dormició podria prevenir la germinació de les llavors almenys en dos escenaris desfavorables des d'un punt de vista d'expectatives de vida: (i) llavors disseminades al final del període de dispersió podrien experimentar condicions adverses (en particular relacionades amb la temperatura), (ii) llavors produïdes per les cohorts més primerenques i que germinessin després de ser disseminades serien menys competitives enfront les plantes prèviament establertes.

La finalitat general dels estudis que es presenten en aquest capítol va ser l'obtenció d'informació sobre la dormició de les llavors de *D. sanguinalis* quan es dispersen. Concretament, els objectius específics d'aquest treball van ser: (i) provar diversos mètodes per trencar la dormició de les llavors de *D. sanguinalis* i relacionar els resultats obtinguts amb el paper que tenen les cobertes de la llavor en la dormició, i (ii) estudiar la pèrdua de dormició de les llavors després de la dispersió en funció del temps, la profunditat i el contingut d'aigua del sòl.

IV.2 Material i mètodes

IV.2.1 Material vegetal

Per realitzar els diversos experiments descrits a continuació es van utilitzar dos lots d'espiguetes, un recol·lectat l'any 2006 i l'altre recollit l'any 2007, en un camp de la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental, 41°36'N 2°10'E). Concretament, les espiguetes es van obtenir de la població estudiada en els Capítols II i III, una setmana després d'haver realitzat el mostreig de la població.

En ambdós anys, les espiguetes es van recol·lectar a principis del mes de novembre sacsejant lleugerament les inflorescències madures. El pes de 1000 espiguetes del lot recol·lectat l'any 2006 va ser de 0.690 g, i el del lot de l'any 2007 va ser de 0.673 g. Les espiguetes van ser emmagatzemades en sec a temperatura ambient fins a l'inici dels diferents experiments.

IV.2.2 Assajos de germinació

Segons l'objectiu de l'experiment, els assajos de germinació es van realitzar amb diversos tipus de material de "llavors" (Figura IV-1). Concretament, es van realitzar assajos amb: (i) unitats de dispersió intactes, és a dir espiguetes, (ii) cariopsis cobertes per la lemma i la pàlea de la flor fèrtil, (iii) cariopsis sense la lemma de la flor fèrtil, és a dir, cariopsis parcialment cobertes per la pàlea, (iv) cariopsis nues, és a dir, espiguetes desproveïdes de les bràctees a mà utilitzant unes pinces fines, i (v) cariopsis llimades, és a dir, espiguetes desproveïdes de les bràctees per fricció utilitzant paper de vidre amb una mida de gra de 150 (Norma ANSI). En aquest capítol el terme "llavor" s'utilitza per fer referència genèricament a qualsevol tipus de material de llavor.

Per a cada assaig de germinació es van utilitzar 5 rèpliques de 50 llavors distribuïdes en plaques de Petri de 9 cm de diàmetre amb paper de filtre, i col·locades a germinar en un règim tèrmic i lumínic de 20°C (12h fosc)/ 30°C (12h llum). Si no s'indica explícitament el contrari, a l'inici dels assajos es posaven 3 ml d'aigua destil·lada a cada placa, i durant el període d'incubació s'afegia aigua quan era necessari per evitar l'assecament del paper de filtre de les plaques. Previ a la seva col·locació a les plaques, les llavors eren rentades durant 10 minuts amb una solució d'hipoclorit sòdic al 5% per esterilitzar-ne la seva superfície (ISTA, 1985). Les llavors es consideraven germinades quan s'observava l'emergència de la radícula sota una lupa binocular (x20). Diàriament i durant 15 dies es realitzaven recomptes per tal de determinar el nombre de llavors germinades en cadascuna de les plaques. En els

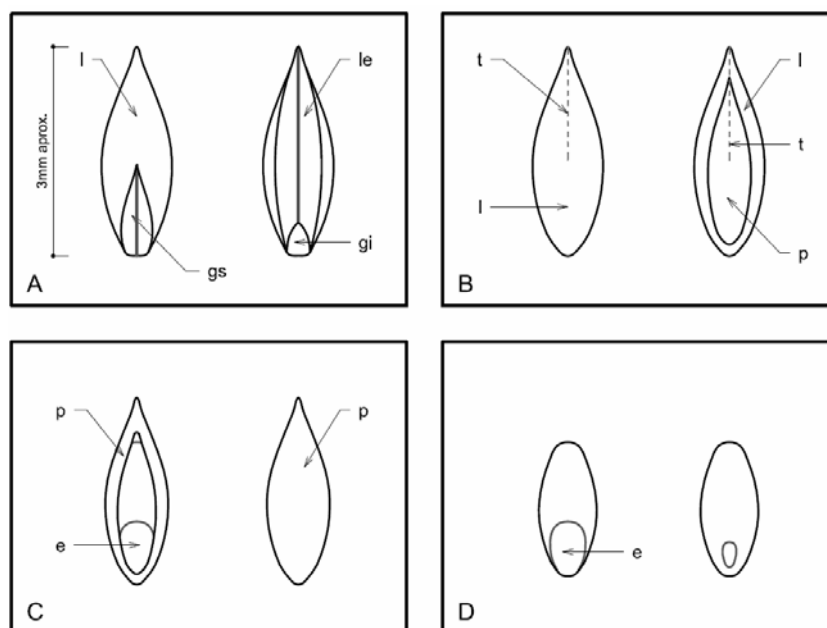


Figura IV-1. Dibuix esquemàtic dels diferents materials de llavors assajats: (A) unitat de dispersió intacta (espigueta), (B) cariopsi coberta per la lemma i la pàlea de la flor fèrtil, (C) cariopsi sense la lemma, és a dir parcialment coberta per la pàlea, i (D) cariopsi nua, és a dir sense cobertes (gs: gluma superior, gi: gluma inferior, le: lemma de la flor estèril, l: lemma de la flor fèrtil, p: pàlea de la flor fèrtil, e: embrió, l: localització del/s tall/s en el tractament en què es van realitzar talls en les glumel·les).

diferents recomptes, les llavors germinades es retiraven de les plaques. Al final del període d'incubació, es realitzava el test del tetrazoli per avaluar la viabilitat de les llavors que restaven sense germinar. Cal especificar que aquest test es feia, independentment del material de llavor utilitzat en l'assaig de germinació, amb les cariopsis nues seccionades amb un tall transversal realitzat a mà amb un bisturí i localitzat lleugerament per sobre de l'embrió (AOSA, 2000). En experiments preliminars s'havia constatat que el test del tetrazoli podia donar falsos negatius en cas que s'utilitzés un altre tipus de material de llavor (per exemple, espiguetes o cariopsis nues sense seccionar). El test del tetrazoli es realitzava remullant les llavors en una solució de clorur de 2,3,5-trifenil-2H-tetrazoli al 1% durant 12h a una temperatura aproximada de 30°C. Després s'examinava si l'embrió s'havia tenyit amb una lupa binocular (x20).

IV.2.3 Tractaments per trencar la dormició

Els experiments que es descriuen a continuació es van realitzar amb el lot de llavors de l'any 2006, dos mesos després de la seva recol·lecció.

Concretament, es van provar diversos mètodes per trencar la dormició de les llavors de *D. sanguinalis* i, per tant, superar la possible inhibició de la germinació causada per les cobertes de la llavor. Els mètodes provats van ser: (i) eliminació de possibles substàncies inhibidores de la germinació, (ii) esscarificació química, (iii) realització d'un tall en la lemma i/o la pàlea, (iv) esscarificació física amb sorra, i (v) eliminació o abrasió de les cobertes.

IV.2.3.1 Eliminació de substàncies inhibidores solubles en aigua

Per avaluar la presència de substàncies inhibidores de la germinació en les cobertes de les llavors, es va estudiar l'efecte de tres extractes fets a partir d'espiguetes en la germinació d'espiguetes i de cariopsis nues. Concretament, els tres extractes utilitzats es van obtenir posant en remull 2.5 g d'espiguetes en 50 ml d'aigua destil·lada durant 4 dies a: (i) temperatura ambient (uns 20°C), (ii) temperatura ambient (uns 20°C) i amb agitació constant, i (iii) 30°C i amb agitació constant (Xu *et al.*, 2005). La conductivitat elèctrica dels extractes als 4 dies va ser de 361 $\mu\text{S cm}^{-1}$, 537 $\mu\text{S cm}^{-1}$ i 464 $\mu\text{S cm}^{-1}$, respectivament. A l'inici del període d'incubació, es posava a les plaques de Petri l'extracte enlloc de l'aigua destil·lada.

També es va determinar la germinació de les espiguetes que havien estat en remull durant 4 dies a temperatura ambient per obtenir els extractes.

IV.2.3.2 Escarificació química

Per estudiar l'efecte de l'escarificació química en estovar o debilitar les cobertes de les llavors, es va determinar la germinació d'espiguetes submergides en una solució de: (i) KOH 5.4 M durant 15 min a temperatura ambient, i (ii) H_2SO_4 7.5 M durant 5 min a temperatura ambient (Ellis *et al.*, 1985; Xu *et al.*, 2005).

IV.2.3.3 Talls en la lemma i la pàlea

En aquest experiment es va avaluar la germinació de les cariopsis cobertes per la lemma i la pàlea de la flor fèrtil en les que s'hi havia realitzat un tall: (i) a la lemma, (ii) a la pàlea, o (iii) en ambdues glumel·les. Els talls es va fer a l'extrem oposat on es localitza l'embrió amb un bisturí (Figura IV-1.B).

IV.2.3.4 Escarificació física amb sorra

En aquest experiment es van utilitzar tres tractaments diferents d'escarificació física de les cobertes de les llavors i que van consistir en sacsejar amb un agitador de rotació espiguetes barrejades amb: (i) sorra humida durant 5 hores, (ii) sorra humida durant 10 hores, i (iii) sorra seca durant 5 hores.

IV.2.3.5 Eliminació o abrasió de les cobertes

En aquest cas, es va determinar la germinació de: (i) espiguetes, (ii) cariopsis cobertes per la lemma i la pàlea de la flor fèrtil, (iii) cariopsis parcialment cobertes per la pàlea de la flor fèrtil, (iv) cariopsis nues, i (v) cariopsis llimades. A més a més, també es va estudiar l'efecte del nitrat potàssic en la germinació de les cariopsis nues i les cariopsis llimades. En aquest darrer cas, a l'inici de l'experiment les llavors es van humitejar amb 3 ml d'una solució de KNO_3 al 0.2%, en comptes d'aigua destil·lada.

IV.2.3.6 Anàlisi de dades

Els percentatges de germinació acumulada als 15 dies dels diferents tractaments es van analitzar mitjançant una anàlisi de la variància (ANOVA) seguida d'una separació de mitjanes amb el test de Tukey HSD ($P < 0.05$), utilitzant el procediment SAS/GLM (SAS Institute Inc., 1999). Les anàlisis es van realitzar amb les dades de proporció de llavors germinades acumulada transformades amb la funció arcsinus (Gomez i Gomez, 1984). A més a més, es va realitzar l'estudi dels residuals.

L'evolució de la germinació de cadascun dels assajos de germinació (250 llavors) va ser modelitzada utilitzant la funció de Weibull de tres paràmetres:

$$F_{wd} = \pi \left(1 - \exp \left(- \left(t / \theta \right)^\alpha \right) \right)$$

En aquesta equació, F_{wd} correspon a la germinació acumulada en l'instant de temps t , π és la proporció màxima de germinació, θ és el paràmetre d'escala (inversament proporcional a la velocitat de germinació) i α correspon al paràmetre de forma (Brown i Mayer, 1988b). Un dels principals avantatges d'utilitzar aquesta funció és que els seus paràmetres són biològicament interpretables.

L'ajust a la funció de Weibull es va realitzar utilitzant el mètode de màxima versemblança (i no el de mínims quadrats) considerant que (i) el moment de germinació va ser avaluat per intervals, és a dir, el moment exacte de la germinació va ser indeterminat, i (ii) les dades de germinació acumulada d'una mateixa placa de Petri (repetició) en els diferents moments d'observació (recomptes) no poden considerar-se dades independents. L'estimació dels paràmetres, el valor de desviància (indicador de la bondat de l'ajust), així com la comparació múltiple dels paràmetres entre tractaments, es va realitzar mitjançant el paquet estadístic R (R Development Core Team, 2009). En l'Apèndix es detalla el procés de càlcul que es va utilitzar per modelitzar i comparar les dades de germinació en funció del temps dels diferents tractaments.

IV.2.4 Duració de la dormició de les llavors

A continuació es descriuen tres experiments que es van dur a terme per avaluar la duració de la dormició de les llavors de *D. sanguinalis* després de la seva dispersió. Concretament, es va estudiar la pèrdua de dormició d'espiguetes: (i) emmagatzemades en sec a temperatura ambient al laboratori, (ii) enterrades en el sòl, tenint en compte el possible efecte de la profunditat en què les llavors es trobaven enterrades, i (iii) enterrades en testos considerant el possible efecte de la profunditat d'enterrament i el contingut d'aigua del sòl.

IV.2.4.1 Emmagatzematge en sec

Aquest experiment es va efectuar amb els dos lots d'espiguetes recol·lectats (2006 i 2007). En particular, es va avaluar la germinació de les espiguetes el mateix dia de la seva recol·lecció, i després de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, i 8 mesos d'emmagatzematge al laboratori en sec a temperatura ambient.

Anàlisi de dades

Els percentatges de germinació acumulada als 15 dies dels diferents assajos es van sotmetre a una ANOVA seguida d'una separació de mitjanes amb el test de Tukey HSD ($P < 0.05$), considerant com a factors fixes principals el lot (amb dos nivells, lot 2006 i lot 2007) i el temps d'emmagatzematge (amb nou nivells corresponents als successius assajos que es van realitzar des de la recol·lecció fins al vuitè mes), així com la interacció entre ambdós factors. A més, per a cada lot es va estudiar l'efecte del temps d'emmagatzematge en sec amb una ANOVA d'un únic factor seguida d'una separació de mitjanes amb el test de Tukey HSD ($P < 0.05$).

En ambdós casos, les anàlisis es van realitzar utilitzant el procediment SAS/GLM (SAS Institute Inc., 1999), amb les dades de proporció de llavors germinades acumulada transformades utilitzant la funció arcsinus (Gomez i Gomez, 1984). Posteriorment es van fer les corresponents anàlisis dels residuals.

Per a cada lot també es va estudiar i comparar l'evolució de la germinació de les llavors segons el temps d'emmagatzematge en sec. En aquest cas, es va utilitzar l'anàlisi de dades explicada en l'apartat IV.2.3.6 i detallada a l'Apèndix.

IV.2.4.2 Enterrament en el sòl a diferents profunditats

Aquest experiment es va realitzar amb el lot de llavors recol·lectat l'any 2007. Dos mesos després de la seva recol·lecció, les espiguetes es van enterrar a 0, 5 i 10 cm de profunditat

en el mateix camp on havien estat recol·lectades (Torre Marimon, Caldes de Montbui). Després i durant 6 mesos, es van realitzar desenterraments mensuals de les llavors per avaluar la seva capacitat de germinació.

Les llavors es van enterrar agrupades en petites bosses de niló permeables a l'aigua i a l'aire, però amb una mida de porus prou petita per assegurar que les llavors disposades inicialment no podien sortir de les bosses, ni tampoc podien ingressar-ne de noves. Cada bosseta contenia unes 250 llavors (determinades per pes) barrejades amb terra del mateix camp on les llavors havien estat recol·lectades.

Per facilitar el procés de desenterrament, les 3 bossetes per profunditat es van col·locar en testos (de 20 cm de diàmetre i 25 cm de profunditat) que es van enterrar en el sòl del camp. D'aquesta manera, mensualment es desenterrava aleatòriament un test que contenia tres bossetes (rèpliques) per profunditat. Amb la finalitat de simular condicions naturals d'enterrament en el sòl, els testos es van col·locar completament enterrats en el camp de manera que la part superior del test quedés alineada a la superfície del sòl. A més, els testos estaven foradats en tot el seu perímetre per tal que l'aigua que ingressés en el seu interior pogués drenar fàcilment.

El mateix dia de ser desenterrades, les llavors de les bossetes se separaven curosament de la terra, i es netejaven i es col·locaven a germinar. Abans de la col·locació a les plaques, es comprovava que aparentment la unitat de dispersió estigués intacta, valorant la turgència i l'estat de la llavor mitjançant una lupa binocular (x20).

En els 3 primers desenterraments les llavors de cada bosseta es van distribuir en grups de 50 en 5 plaques de Petri (5 repeticions per bosseta, 15 repeticions per profunditat). No obstant, a partir del quart mes i a causa de la gran quantitat de llavors germinades a l'interior de les bossetes, el contingut de les tres bossetes es va agrupar i es va disposar en 5 plaques de Petri (5 repeticions per profunditat).

Durant el període en què les llavors van estar enterrades, la temperatura horària del sòl a 5 i a 10 cm de profunditat es va enregistrar mitjançant un enregistrator de dades (*datalogger* Escort Junior EJ-2E-C-16-L). Les dades de precipitació es van obtenir d'una estació meteorològica situada a uns 200 metres de la parcel·la (estació meteorològica X9 de la Xarxa d'Estacions Meteorològiques Automàtiques gestionades pel Servei Meteorològic de Catalunya). L'evolució de les diferents mesures es mostren a la Figura IV-2.

A més a més, es va avaluar el percentatge de germinació *in situ* de les llavors (a l'interior de les bossetes) després de 10 mesos d'haver estat enterrades. Concretament, es van desenter-

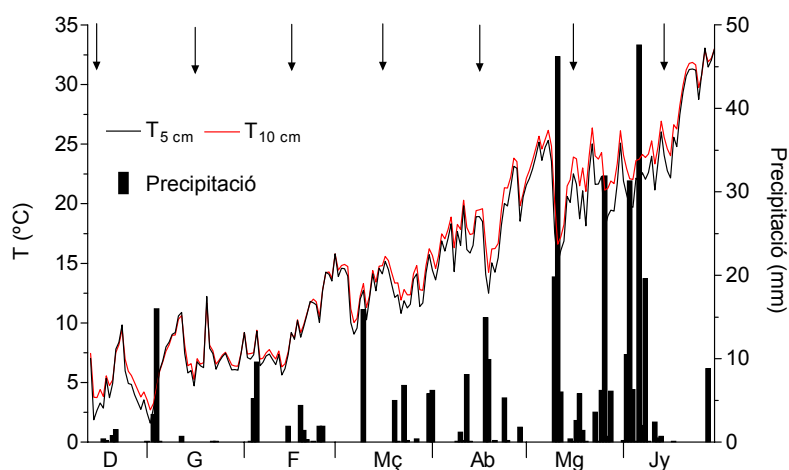


Figura IV-2. Evolució de la temperatura mitjana diària del sòl a 5 i a 10 cm de profunditat, i precipitació diària, durant el període en què llavors de *D. sanguinalis* van estar enterrades en testos, en el sòl d'un camp de la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental). Les fletxes indiquen el moment en què es van enterrar les llavors i els successius desenterraments.

rar dos testos (6 bossetes per profunditat) i per a cada bosseta es va comptar el nombre de llavors germinades i el nombre de llavors sense germinar. La viabilitat d'aquestes últimes es va avaluar mitjançant el test del tetrazoli.

Anàlisi de dades

Els percentatges de germinació acumulada als 15 dies dels diferents assajos es van sotmetre a una ANOVA seguida d'una separació de mitjanes amb el test de Tukey-Kramer ($P < 0.05$), considerant com a factors fixos principals el temps d'enterrament de les llavors (amb sis nivells corresponents als successius desenterraments) i la profunditat d'enterrament (amb tres nivells, 0,5 i 10 cm), així com la interacció entre ambdós factors. Es va suposar un model completament aleatori.

D'altra banda, també es van estudiar per separat els efectes dels factors temps i profunditat en el percentatge de germinació acumulada amb una ANOVA d'un factor seguida d'una separació de mitjanes amb el test de Tukey-Kramer ($P < 0.05$).

En tots els casos, les anàlisis es van realitzar amb el procediment SAS/GLM (SAS Institute Inc., 1999), amb les dades de proporció de germinació de llavors acumulada transformades amb la funció arcsinus (Gomez i Gomez, 1984). A més a més, es van realitzar els corresponents anàlisis dels residuals.

IV.2.4.3 Enterrament en testos a diferents profunditats i règims hídrics

Aquest experiment també es va realitzar amb el lot de llavors de l'any 2007. Dos mesos després de la seva recol·lecció, les espiguetes es van enterrar a 0, 5 i 10 cm de profunditat en testos. La meitat dels testos es van disposar a cobert per evitar l'ingrés d'aigua de pluja, i per tant, mantenir les llavors enterrades en sec (règim sec), i l'altra meitat al descobert, i per tant, en una situació en què les llavors quedaven exposades a l'aigua de la pluja (règim humit). Els testos es van col·locar a temperatura ambient a les instal·lacions de l'Escola Superior d'Agricultura de Barcelona (Castelldefels, Baix Llobregat). De manera similar al que s'ha comentat en l'experiment anterior, durant 6 mesos es van realitzar desenterraments mensuals per avaluar la capacitat de germinació de les espiguetes enterrades en les tres profunditats (0, 5 i 10 cm) i en els dos règims hídrics definits (règim sec i règim humit).

Les llavors, contingudes en bossetes similars a les utilitzades en l'experiment anterior, es van enterrar en testos (de 10 cm de diàmetre i 12 cm de profunditat) que es van omplir amb terra del mateix camp on s'havien recol·lectat les llavors (Torre Marimon, Caldes de Montbui). Per evitar l'efecte vora, al voltant d'aquests testos s'hi va col·locar un cordó de testos de les mateixes característiques. Per a cada règim, es va treballar amb un disseny de blocs a l'atzar amb tres repeticions de manera que mensualment es desenterraven aleatòriament 3 bossetes per cada profunditat (1 per profunditat i bloc).

Un cop desenterrades, les llavors de cadascuna de les bossetes es distribuïen en 5 plaques de Petri. No obstant, de manera similar al que s'ha comentat en l'anterior experiment, a partir del quart desenterrament el contingut de les tres bossetes de cada profunditat es va haver d'agrupar i distribuir en 5 plaques de Petri, ja que una gran quantitat de llavors havien germinat a l'interior de les bossetes durant el període d'enterrament.

Durant l'experiment, es va enregistrar la temperatura horària del sòl a 0, 5 i 10 cm de profunditat en els testos col·locats en règim humit mitjançant un enregistrator de dades (*data logger* Campbell CR-10). Les dades de precipitació es van obtenir a partir d'un pluviòmetre col·locat en la parcel·la de treball. L'evolució de les diferents dades es presenten en la Figura IV-3. Per altra banda, també es va enregistrar la temperatura horària del règim sec i del règim humit utilitzant un altre enregistrator de dades (*data logger* Escort Junior EJ-2E-C-16-L). En aquest cas, periòdicament s'enregistrava alhora la temperatura horària del règim humit i del règim sec a una de les tres profunditats. La Figura IV-4 recull l'evolució diària de la temperatura a les tres profunditats en els dos règims obtinguda durant els mesos de març i abril.

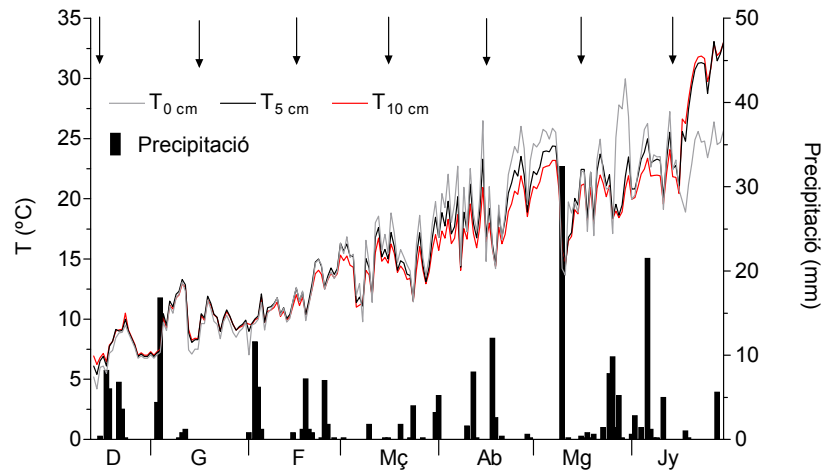


Figura IV-3. Evolució de la temperatura mitjana diària del sòl a 0, 5 i 10 cm de profunditat, durant el període en què llavors de *D. sanguinalis* van estar enterrades en testos situats a les instal·lacions de l'Escola Superior d'Agricultura de Barcelona (Castelldefels, Baix Llobregat). Les fletxes indiquen el moment en què es van enterrar les llavors i els successius desenterraments.

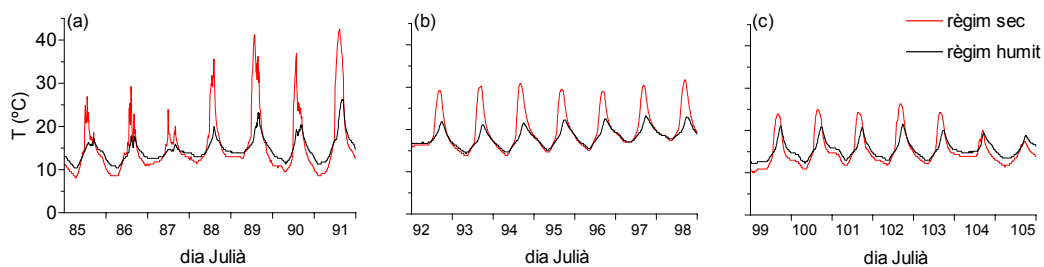


Figura IV-4. Evolució de la temperatura horària del sòl dels testos disposats a cobert per evitar l'ingrés d'aigua de pluja (règim sec), o col·locats al descobert i exposats a l'aigua de pluja (règim humit), en les instal·lacions de l'Escola Superior d'Agricultura de Barcelona. En els successius gràfics es mostra la temperatura a: (a) 0 cm (mesures obtingudes del 26 de març a l'1 d'abril), (b) 5 cm (mesures del 2 al 8 d'abril), i (c) 10 cm de profunditat (mesures del 9 al 15 d'abril).

Anàlisi de dades

Per a cada règim, els percentatges de germinació acumulada dels diferents assajos es van sotmetre a una ANOVA seguida d'una separació de mitjanes amb el test de Tukey-Kramer ($P < 0.05$), considerant com a factors fixos principals el temps en què les llavors havien estat enterrades en els testos (amb sis nivells corresponents als dels successius desenterraments) i la profunditat d'enterrament (amb tres nivells, 0,5 i 10 cm), així com la interacció entre

ambdós factors. Es va considerar un model completament aleatori, tenint en compte que a partir del quart mes el contingut de les tres bossetes per profunditat col·locades en règim humit es va haver de barrejar donada l'esmentada germinació de llavors en l'interior de les bossetes i, per tant, les dades no estaven diferenciades segons el bloc. Prèviament, utilitzant les dades dels tres primers mesos en el cas del règim humit, i de totes les dades en el cas del règim sec, es va estudiar si el bloc havia estat una font de variació significativa ($P < 0.05$) en els percentatges de germinació acumulada observats, utilitzant un model de blocs a l'atzar amb dos factors fixes (el temps i la profunditat d'enterrament de les llavors) i un factor aleatori (el bloc).

D'altra banda, també es va estudiar per separat l'efecte dels factors temps i profunditat d'enterrament en el percentatge de germinació mitjançant una ANOVA d'un factor seguida d'una separació de mitjanes amb el test de Tukey-Kramer ($P < 0.05$).

Les anàlisis estadístiques es van efectuar amb el procediment SAS/GLM (SAS Institute Inc., 1999) i utilitzant les dades de proporció de llavors germinades acumulada transformades amb la funció arcsinus (Gomez i Gomez, 1984). A més a més, es van realitzar els estudis dels residuals.

IV.3 Resultats

IV.3.1 Tractaments per trencar la dormició

El 96% de les espiguetes intactes (tractament de control) es trobaven en un estat de dormició després de dos mesos de la seva recollida (Taula IV-1). Com es veurà en l'apartat IV.3.2.1, el nivell de dormició d'aquestes llavors no va ser significativament diferent al de les llavors acabades de recollir.

A continuació es descriuen els resultats obtinguts en els diferents tractaments que es van provar per trencar la dormició de les llavors.

IV.3.1.1 Eliminació de substàncies inhibidores solubles en aigua

Remullar les espiguetes intactes durant quatre dies va incrementar el seu percentatge de germinació en un 20%. No es van detectar diferències significatives entre les mitjanes dels percentatges de germinació acumulada de les espiguetes que havien estat en remull en agitació continua i les que no havien estat agitades (Taula IV-1).

Per altra banda, afegir els extractes obtinguts a partir del remull de les espiguetes a l'inici del

Taula IV-1. Efecte del remull en aigua i de l'escarificació química en el percentatge de germinació acumulada d'espiguetes i de cariopsis de *D. sanguinalis*.

Tractaments	Germinació (%)	
	Espiguetes intactes	Cariopsis † (llimades ¹ / nues ²)
Remull ‡	Extracte 1	12.57b ± 2.89
	Extracte 2	12.28b ± 1.98
	Extracte 3	14.52b ± 1.96
	Imbibides per obtenir extracte 1	24.10a ± 6.51
	Imbibides per obtenir extracte 2	24.52a ± 1.42
Escarificació química	KOH	5.19b ± 1.01
	H ₂ SO ₄	11.65b ± 1.90
Control	H ₂ O	3.66b ± 1.20
		98.42a ¹ ± 0.64
		97.20a ¹ ± 0.90
		99.20a ¹ ± 0.80
		93.79b ² ± 1.94
		94.16b ² ± 1.98
		-
		-
		98.02a ¹ ± 0.42
		80.07c ² ± 2.54

Per a cada assaig, es mostra la mitjana ± EE (error estàndard) de la mitjana del percentatge de germinació acumulada.

Per a cada columna, valors de les mitjanes amb diferents lletres indiquen diferències significatives (Tukey HSD, P<0.05) segons les anàlisis realitzades amb les dades transformades (arcsinus).

‡ A l'inici del període d'incubació, es van posar 3 ml de l'extracte elaborat a partir del remull d'espiguetes durant 4 dies en aigua destil·lada: a temperatura ambient (extracte 1), a temperatura ambient i agitant-se (extracte 2), o a 30°C i agitant-se (extracte 3). També es mostren els resultats dels assajos de germinació realitzats amb les espiguetes imbibides per obtenir els extractes 1 i 2.

† Percentatge de germinació de cariopsis llimades, és a dir, d'espiguetes desproveïdes de les bràctees utilitzant paper de vidre ⁽¹⁾, o percentatge de germinació de cariopsis nues, és a dir, d'espiguetes desproveïdes de les bràctees a mà amb l'ajuda d'unes pinces ⁽²⁾; -: Sense assajar.

període d'incubació no va modificar significativament el percentatge mitjà de germinació acumulada ni de les espiguetes, ni de les cariopsis llimades (Taula IV-1).

IV.3.1.2 Escarificació química

L'escarificació química de les espiguetes amb H₂SO₄ o KOH no va afectar significativament al percentatge mitjà de germinació acumulada de les espiguetes (Taula IV-1).

IV.3.1.3 Talls en la lemma i la pàlea

La realització de talls en la lemma, en la pàlea o en ambdues glumel·les de la flor fèrtil no va influenciar notablement en el percentatge de germinació de les espiguetes sense glumes i sense la lemma de la flor estèril (tractament de control en aquest experiment). L'anàlisi i comparació de les funcions de Weibull ajustades tampoc no va mostrar diferències significatives en l'evolució de la germinació dels diferents tractaments (Taula IV-2 i Figura IV-5).

Taula IV-2. Efecte dels talls en les glumel·les en el percentatge de germinació acumulada i en l'evolució de la germinació (avaluada utilitzant la funció de Weibull de tres paràmetres) de cariòpsis de *D. sanguinalis* recobertes per la lemma i la pàlea de la flor fèrtil. Els paràmetres de la funció de Weibull ajustats són: π (taxa de germinació màxima), α (paràmetre de forma), i θ (paràmetre d'escala).

Tractament	Germinació (%)	Ajust Weibull			Desviància
		π	α	θ	
Tall a la pàlea	17.03a \pm 1.40	0.2236a	1.0622a	252.9460a	23.53
Tall a la lemma	15.42a \pm 1.90	0.1806a	1.3505a	266.9736a	16.60
Tall en ambdues	21.18a \pm 2.86	0.2147a	1.3603a	123.8687a	29.00
Sense tall (control)	19.29a \pm 3.47	0.2008a	1.2153a	159.4324a	48.30

Per a cada assaig, es mostra la mitjana \pm EE (error estàndard) de la mitjana del percentatge de germinació acumulada.

Pels percentatges de germinació acumulada, valors de les mitjanes amb diferents lletres indiquen diferències significatives (Tukey HSD, $P < 0.05$) segons les anàlisis realitzades amb les dades transformades (arcsinus).

Valors de π , α o θ amb diferents lletres són significativament diferents (test khi-quadrat d'una cua, $P = 0.05/6$ ajustat per a comparacions múltiples utilitzant Bonferroni).

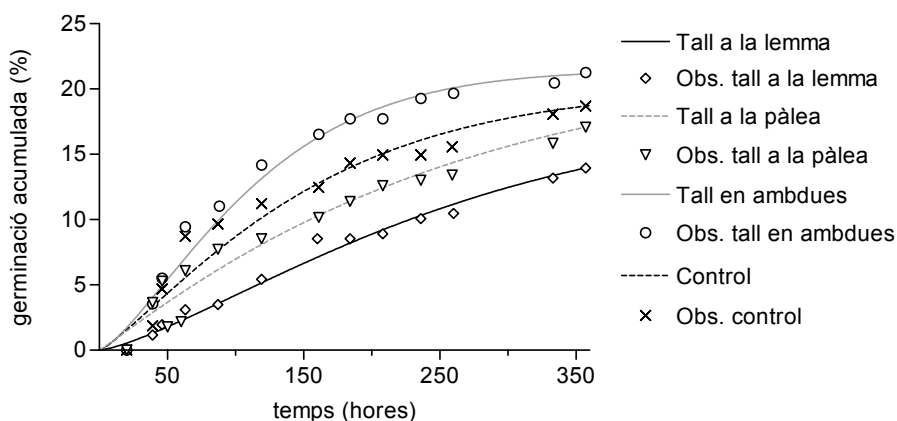


Figura IV-5. Evolució de la germinació acumulada dels diferents tractaments quirúrgics realitzats a les cariòpsis de *D. sanguinalis* recobertes per la lemma i la pàlea de la flor fèrtil. S'ha representat la funció de Weibull estimada i els valors observats (obs.) per a cada tractament.

IV.3.1.4 Escarificació física amb sorra

L'escarificació física de les cobertes utilitzant sorra humida va incrementar el percentatge mitjà de germinació acumulada de les espiguetes gairebé en un 30%. No es van detectar diferències significatives entre el tractament d'escarificació amb sorra humida realitzat durant 5 hores i el que va durar 10 hores. D'altra banda, no es va observar una estimulació de la germinació de les espiguetes com a conseqüència del seu sacseig continu en contacte amb sorra seca durant 5 hores (Taula IV-3).

IV.3.1.5 Eliminació o abrasió de les cobertes de les cariopsis

L'eliminació parcial o completa de les estructures que cobreixen la cariopsi va reduir significativament la dormició de les llavors. El percentatge mitjà de la germinació acumulada de les cariopsis cobertes per la lemma i la pàlea de la flor fèrtil (espiguetes en les que s'havia eliminat les glumes i la lemma de la flor estèril) va ser del 19.3%. Quan la lemma de la flor fèrtil també es va eliminar, el percentatge de germinació final va incrementar fins a un 81.5%, valor que no va ser significativament diferent al que es va observar en les cariopsis nues (espiguetes desproveïdes a mà utilitzant unes pinces de totes bràctees) (Taula IV-3). Per altra banda, es van detectar diferències significatives entre el percentatge mitjà de germinació acumulada de les cariopsis nues i el de les cariopsis llimades (desproveïdes de totes les bràctees utilitzant paper de vidre) (Taula IV-3). Cal destacar que en només 24 hores la germinació acumulada de les cariopsis llimades va assolir el 90%, i el de les cariopsis nues va ser del 50% (Figura IV-6).

En el cas de les llavors humitejades inicialment amb KNO_3 , no es van trobar diferències significatives entre la germinació de les cariopsis nues i la de les llimades. En ambdós casos es va obtenir un percentatge mitjà de germinació del 99%. En comparació amb els controls d'aigua, les diferències entre els percentatges de germinació de les espiguetes i el de les cariopsis cobertes amb la lemma i la pàlea de la flor fèrtil es van mantenir (Taula IV-3).

El nitrat potàssic va estimular la germinació de les espiguetes amb diferents nivells d'eliminació de les cobertes. En comparació amb el control d'aigua, el percentatge mitjà de germinació acumulada de les cariopsis nues, les cariopsis recobertes per la pàlea i la lemma de la flor fèrtil, i les espiguetes va incrementar un 19.5%, 13.4% i 8.7%, respectivament (Taula IV-3).

Els tres paràmetres de la funció de Weibull estimats i la desviància pels diferents tractaments d'eliminació de les cobertes es troben resumits en la Taula IV-4.

Taula IV-3. Efecte de diversos tractaments d'escarificació física en el percentatge de germinació acumulada d'espiguetes de *D. sanguinalis* humitejades inicialment amb aigua destil·lada o amb una solució de KNO₃ al 0.2%.

Tractament	Germinació (%)		
	H ₂ O	KNO ₃	
Sacsejar espiguetes amb sorra	Sorra humida, 5 hores	30.87c ± 3.11	-
	Sorra humida, 10 hores	34.37c ± 1.83	-
	Sorra seca, 5 hores	11.41de ± 1.90	-
Eliminació de les cobertes	Cariopsis llimades	98.02a ± 0.42	98.99a ± 0.69
	Cariopsis pelades a mà	80.07b ± 2.54	99.62a ± 0.38
	Cariopsis cobertes per la pàlea	81.51b ± 3.91	-
	Cariopsis cobertes per la lemma i la pàlea	19.29d ± 3.47	32.74b ± 2.57
	Espiguetes intactes	3.66e ± 1.20	12.40c ± 1.94

Per a cada assaig, es mostra la mitjana ± EE (error estàndard) de la mitjana del percentatge de germinació acumulada.

Per a cada columna, valors de les mitjanes amb diferents lletres indiquen diferències significatives (Tukey HSD, P<0.05) segons les anàlisis realitzades amb les dades transformades (arcsinus).

-Sense assajar.

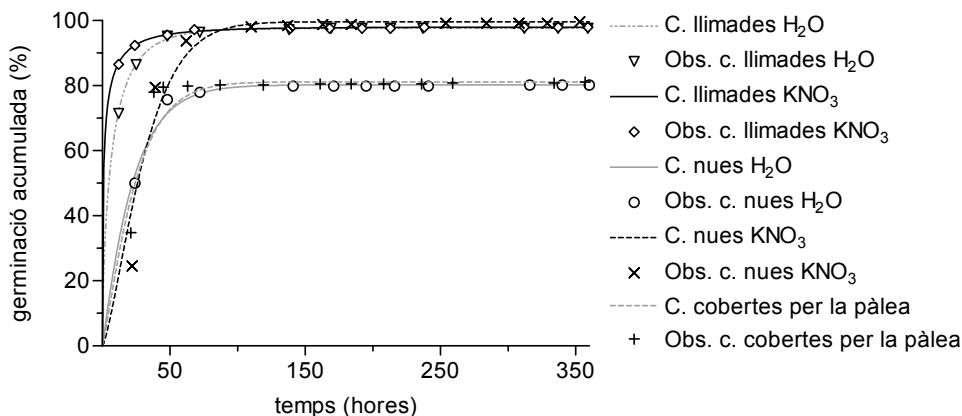


Figura IV-6. Evolució de la germinació acumulada dels diferents tractaments d'eliminació de les cobertes de les espiguetes de *D. sanguinalis* humitejades inicialment amb aigua destil·lada o amb una solució de KNO₃ al 0.2%. S'ha representat la funció de Weibull estimada i els valors observats (obs.) per a cada tractament.

Taula IV-4. Efecte de l'eliminació de les cobertes que cobreixen les espiguetes i del KNO₃ en l'evolució de la germinació acumulada (avaluada mitjançant la funció de Weibull de tres paràmetres). Els paràmetres de la funció de Weibull ajustats són: π (taxa de germinació màxima), α (paràmetre de forma), i θ (paràmetre d'escala).

Tractaments	Inicialment humitejades	Ajust Weibull			Desviància
		π	α	θ	
Cariopsis llimades	H ₂ O	0.9761a	0.6746bc	7.8457c	3.00
Cariopsis llimades	0.2% KNO ₃	0.9802a	0.3893c	1.6176c	6.71
Cariopsis nues	H ₂ O	0.8022b	1.0611ab	22.7089b	27.60
Cariopsis nues	0.2% KNO ₃	0.9961a	1.3630a	33.9109a	128.90
Cariopsis cobertes per la pàlea	H ₂ O	0.8115b	1.1838a	25.1456ab	177.60

Valors de π , α o θ amb diferents lletres són significativament diferents (test khi-quadrat d'una cua amb un grau de llibertat, P=0.05/10 ajustat per a comparacions múltiples utilitzant Bonferroni).

La comparació dels paràmetres de la funció de Weibull estimats va mostrar que l'increment del grau d'eliminació de les cobertes de les espiguetes va produir: (i) un retard en l'assoliment de l'asímtota de la corba (α disminueix), (ii) una disminució del període comprès entre la imbibició i l'assoliment del 63.21% de la germinació (θ disminueix), i (iii) un augment de la velocitat de germinació (θ disminueix) (Taula IV-4 i Figura IV-6). Les diferències entre els percentatges de germinació màxims (π) estimats amb la funció de Weibull van ser les mateixes que les que es van obtenir amb la separació de mitjanes dels percentatges de germinació acumulada (Taula IV-3). Per altra banda, també es va detectar un increment de la velocitat de germinació de les cariopsis nues inicialment humitejades amb KNO₃ (Taula IV-4).

Com ja s'ha esmentat anteriorment, l'elevada germinació de les cariopsis llimades no es va veure afectada per haver-les humitejat amb l'extracte de les espiguetes (>95% en tots els casos, Taula IV-3). En canvi, remullar les espiguetes en aigua durant quatre dies a temperatura ambient, i després desproveir-les de les bràctees a mà utilitzant unes pinces va incrementar el percentatge mitjà de germinació en un 13% en comparació amb la germinació de les cariopsis nues, però que no s'havien obtingut d'espiguetes remullades (Taula IV-3).

IV.3.2 Duració de la dormició de llavors

IV.3.2.1 Emmagatzematge en sec

Els resultats de l'ANOVA que considerava el lot (any), el temps d'emmagatzematge en sec,

i la interacció entre ambdós factors, mostren un efecte significatiu en el percentatge de germinació acumulada, del temps d'emmagatzematge i de la interacció entre els factors lot i temps. (Taula IV-5). Quan cada lot es va avaluar per separat, es va observar una pèrdua de la dormició de les llavors a l'incrementar el temps d'emmagatzematge en sec similar (Figura IV-7). Més del 98% de les espiguetes acabades de recol·lectar es trobaven en un estat de dormició. La germinació de les espiguetes no va augmentar significativament durant els dos primers mesos d'emmagatzematge en sec. En canvi, als 3 mesos més d'un 60% de les llavors van germinar, i als 4 mesos ambdós lots van presentar un percentatge mitjà de germinació acumulada superior al 90%, mentre que als 8 mesos menys del 2% de les espiguetes restaven dorments (Figura IV-7).

Els paràmetres de les funcions de Weibull estimats, així com la seva representació, es troben resumits a la Taula IV-6 i a la Figura IV-8, respectivament. Per a cada any, la comparació dels paràmetres de la funció de Weibull estimats va denotar que un increment en el temps d'emmagatzematge en sec va produir: (i) un augment en la germinació final (π augmenta), (ii) un retard en l'assoliment de l'asíntota de la corba, és a dir de la germinació total observada (α disminueix), (iii) un increment en la velocitat de germinació (θ disminueix), i (iv) una disminució en el temps d'incubació en què s'assoleix el 63.21% de la germinació final (θ disminueix).

IV.3.2.2 Enterrament en el sòl a diferents profunditats

Com mostren els resultats de l'apartat IV.3.2.1, la majoria de les llavors inicialment enterrades eren dorments, i la seva capacitat de germinació no era significativament major que la de les llavors acabades de recol·lectar (Figura IV-7, lot 2007, llavors emmagatzemades en sec durant 2 mesos).

Els resultats de l'ANOVA mostren un efecte significatiu dels temps i de la profunditat d'enterrament, i de la interacció entre ambdós factors (Taula IV-7). En general, es va observar una pèrdua més ràpida de la dormició de les llavors enterrades a 5 i a 10 cm que de les situades a 0 cm (Figura IV-9). No obstant, en el primer desenterrament la germinació de les llavors colgades a 10 cm va ser significativament superior a la de les llavors enterrades a 5 cm (74.4% i 46.7%, respectivament). En canvi, en el segon desenterrament en ambdues profunditats restaven dorments menys del 3% de les llavors. Pel que fa a les llavors situades a la superfície del sòl, després d'estar un mes enterrades el percentatge mitjà de germinació acumulada va ser del 65.8%, i després de dos mesos, i a diferència de les llavors que van estar enterrades a 5 i a 10 cm, més del 10% de les llavors encara eren dorments. No es va

Taula IV-5. Resultats de l'anàlisi de la variància (ANOVA - graus de llibertat (g.ll), valors de F i significació) per avaluar els efectes de l'any de recol·lecció del lot (lot) i del temps d'emmagatzematge en sec (temps) en el percentatge de germinació acumulada d'espiguetes de *D. sanguinalis*.

Fonts de variació	g.ll	F	Significació
Lot (L)	1	3.70	0.0582
Temps (T)	8	289.93	<0.0001
L x T	8	3.29	0.0028
Error	72		

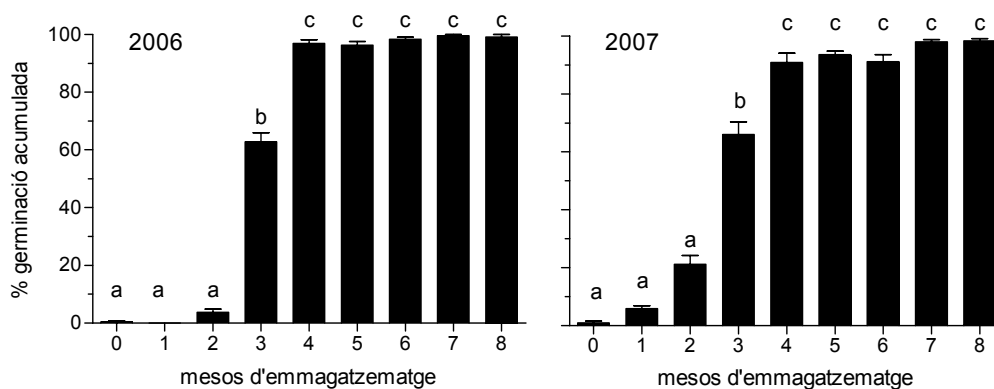


Figura IV-7. Percentatge de germinació acumulada segons el temps d'emmagatzematge en sec, de dos lots d'espiguetes de *D. sanguinalis* recol·lectats a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i al 2007. Cada barra representa la mitjana + EE (error estàndard) de la mitjana. Per a cada lot, diferents lletres indiquen diferències significatives (Tukey HSD, $P < 0.05$) segons les anàlisis realitzades amb les dades transformades (arcsinus).

Taula IV-6. Estimació dels paràmetres de la funció de Weibull segons el temps d'emmagatzematge en sec (t, mesos), de dos lots d'espiguetes de *D. sanguinalis* recol·lectats a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i 2007. Els paràmetres de la funció de Weibull ajustats són: π (taxa de germinació màxima), α (paràmetre de forma), i θ (paràmetre d'escala).

t	2006				2007			
	π	α	θ	Desviància	π	α	θ	Desviància
1	-	-	-	-	0.06a	1.99a	9.54a	17.96
2	0.04a	2.65a	7.48a	26.80	0.22b	2.01a	7.23a	2.61
3	0.63b	3.45a	3.71b	92.14	0.66c	1.80a	4.22b	37.45
4	0.97c	2.78a	3.50b	32.09	0.91d	1.98a	3.90b	53.96
5	0.95c	2.15b	4.11b	28.41	0.94de	1.78a	3.50b	71.83
6	0.98c	1.99c	3.98c	54.88	0.92de	1.50ab	3.66b	56.54
7	1.00c	1.59d	2.38c	8.09	0.98ef	1.56ab	3.44b	24.11
8	0.99c	1.89cd	2.72c	120.99	0.99f	1.32b	2.13c	34.62

Valors de π , α o θ amb diferent lletra són significativament diferents (test khi-quadrat d'una cua amb un grau de llibertat, $P_{2006}=0.05/21$ i $P_{2007}=0.05/28$, ajustat per a comparacions múltiples utilitzant Bonferroni).

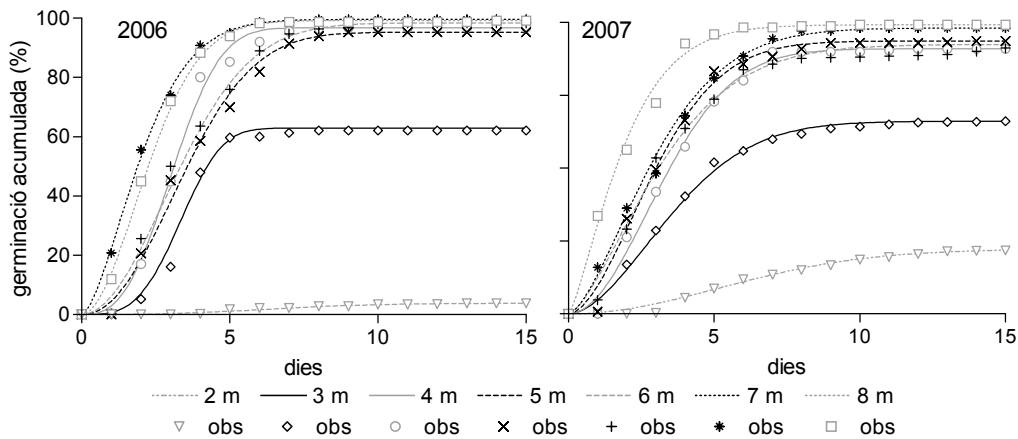


Figura IV-8. Evolució de la germinació acumulada segons el temps d'emmagatzematge en sec (mesos, m), de dos lots d'espiguetes de *D. sanguinalis* recol·lectats a la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental) al 2006 i 2007. S'ha representat la funció de Weibull estimada i els valors observats (obs.) per a cada assaig.

Taula IV-7. Resultats de l'anàlisi de la variància (ANOVA - graus de llibertat (g.ll), valors de F i significació) per avaluar els efectes del temps (T) i de la profunditat d'enterrament (P) en el percentatge de germinació acumulada d'espiguetes de *D. sanguinalis* enterrades en testos, en el sòl d'un camp de la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental).

Fonts de variació	g.ll	F	Significació
Temps (T)	5	318.02	<0.0001
Profunditat (P)	2	35.54	<0.0001
TxP	10	9.07	<0.0001
Error	163		

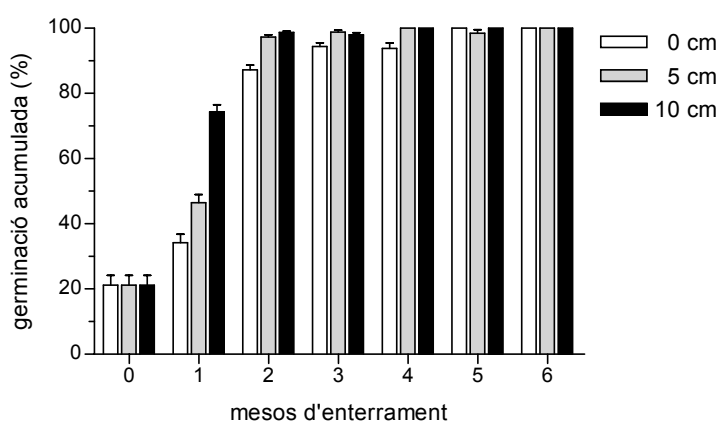


Figura IV-9. Percentatge de germinació acumulada segons el temps (mesos) i la profunditat d'enterrament, d'espiguetes de *D. sanguinalis* enterrades en un camp de la finca experimental de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Vallès Oriental). Cada barra representa la mitjana + EE (error estàndard) de la mitjana.

observar una germinació acumulada superior al 95% fins al cinquè mes. En el cinquè i sisè mes no es van trobar diferències significatives entre profunditats. En tots els casos gairebé la totalitat de les llavors no eren dorments (Figura IV-9).

En relació a les dades meteorològiques obtingudes durant el transcurs d'aquest experiment, en general s'observa que les temperatures mitjanes als 10 cm van ser lleugerament superiors a les dels 5 cm, i les diferències més notables es van observar a partir del mes de març (Figura IV-2).

La germinació *in situ* (en el interior de les bossetes) de les llavors enterrades durant 10 mesos va ser superior al 98%. Cal destacar que algunes de les llavors situades a 0 cm inclús van arribar a emergir, ja que el coleòptil va poder travessar la bosseta que les contenia.

IV.3.2.3 Enterrament en testos a diferents profunditats i règims hídrics

Com s'ha comentat en l'apartat IV.3.2.2, la majoria de llavors enterrades eren dorments i la seva capacitat de germinació no era significativament diferent de la de les llavors acabades de recol·lectar.

En general, es van detectar clares diferències en el patró de pèrdua de dormició de les llavors enterrades segons el règim hídric (Figura IV-10). Per a cada règim, l'ANOVA va denotar que la profunditat i el temps d'enterrament, així com la interacció entre ambdós factors, eren fonts de variació significatives per als valors de germinació acumulada observats (Taula IV-8). L'ANOVA que es va fer prèviament per a cada règim considerant un model de blocs a l'atzar va mostrar que el bloc no va ser una font de variació significativa en cap dels casos ($P=0.32$ règim sec i $P=0.42$ règim humit).

Després de 2 mesos, la majoria de llavors enterrades en els testos on hi havia ingressat aigua de pluja (règim humit) no eren dorments en cap de les profunditats (>99%) i, a diferència del que havia succeït en les llavors enterrades al camp, no es van observar diferències significatives entre profunditats en els mesos posteriors. No obstant, al primer desenterrament el percentatge mitjà de germinació acumulada de les llavors enterrades a 5 cm i 10 cm (74.5% i 76.6%, respectivament) va ser significativament superior al de les enterrades a 0 cm (61.4%) (Figura IV-10).

La pèrdua de dormició en el règim sec va ser més lenta i progressiva en relació a la del règim humit, i durant els quatre primers mesos es van trobar diferències significatives entre profunditats. La capacitat de germinació de les llavors enterrades a 10 cm va ser significativament superior a la de les enterrades a 5 cm, i aquestes van germinar amb un major percentatge que les llavors situades a 0 cm (Figura IV-10).

Sense tenir en compte les diferències entre profunditats, els resultats de les llavors sotmeses al règim humit van mostrar una tendència similar a la detectada amb les llavors emmagatzemades en sec. Cal recordar que les llavors enterrades havien estat prèviament emmagatzemades en sec durant 2 mesos i, per tant, es van comparar les llavors que portaven enterrades 1 mes amb les llavors emmagatzemades en sec durant 3 mesos (Figures IV-7 i IV-10). En canvi, en règim sec la pèrdua de dormició va ser més lenta (Figures IV-7 i IV-10). Per altra banda, en el règim sec el percentatge mitjà de germinació de les llavors després d'estar un mes enterrades va ser significativament inferior al de les llavors que inicialment es van enterrar (9% i 20%, respectivament). En règim humit no es va observar aquesta tendència.

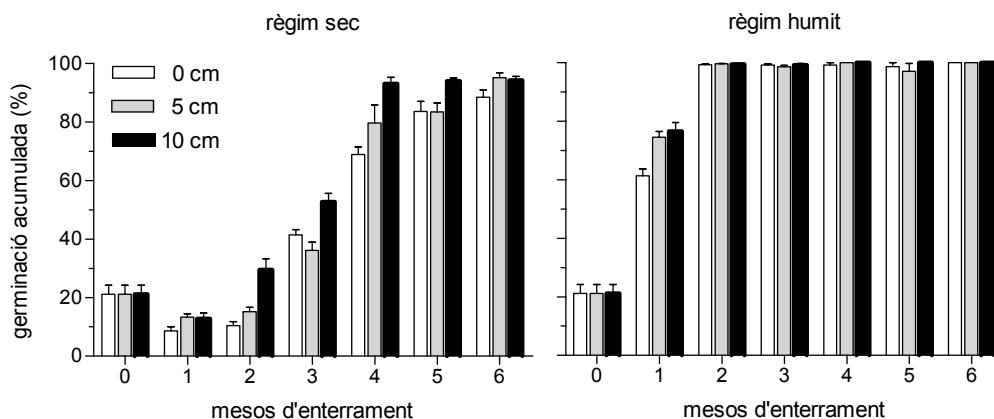


Figura IV-10. Percentatge de germinació acumulada segons el temps (mesos), la profunditat i el règim hídric d'enterrament, d'espiguetes de *D. sanguinalis* enterrades en testos situats en les instal·lacions de l'Escola Superior d'Agricultura de Barcelona (Castelldefels, Baix Llobregat). Cada barra representa la mitjana + EE (error estàndard) de la mitjana.

Taula IV-8. Resultats de l'anàlisi de la variància (ANOVA - graus de llibertat (g.ll), valors de F i la seva significació) per avaluar, pel règim sec i pel règim humit, els efectes del temps (T) i de la profunditat d'enterrament (P) en el percentatge de germinació acumulada d'espiguetes de *D. sanguinalis* enterrades en testos disposats en les instal·lacions de l'Escola Superior d'Agricultura de Barcelona (Castelldefels, Baix Llobregat). En el règim sec els testos estaven col·locats a cobert per evitar l'ingrés de l'aigua de pluja, en el règim humit els testos es trobaven al descobert exposats a l'aigua de la pluja.

Fonts de variació	Règims					
	Sec			Humit		
	g.ll	F	Significació	g.ll	F	Significació
Temps (T)	5	415.26	<0.0001	5	230.38	<0.0001
Profunditat (P)	2	36.26	<0.0001	2	4.01	0.0201
TxP	10	4.50	<0.0001	10	3.58	0.0003
Error	163			163		

Cal destacar que entre el règim sec i humit a més d'haver-hi una evident diferència en el contingut d'aigua del sòl, també es va observar una clara diferència en l'alternança de temperatures diàries. Aquestes diferències van ser més importants en la superfície del sòl (0 cm) que als 5 cm i als 10 cm de profunditat (Figura IV-4). La Figura IV-3 també mostra diferències notables en les temperatures mitjanes diàries del sòl dels testos segons la profunditat, sobretot a partir del mes de març.

IV.4 Discussió

IV.4.1 Tractaments per trencar la dormició

Els resultats van constatar que la dormició de les llavors de la forcadella és causada per les estructures que cobreixen la cariopsi i també pel pericarp (Taula IV-3). La lemma de la flor fèrtil sembla ser la bractèola de l'espigueta que té un paper més important en aquesta dormició. El percentatge mitjà de germinació acumulada de les espiguetes intactes va del 3.7%. L'eliminació de les glumel·les i de la lemma de la flor estèril va incrementar aquest percentatge en un 15.6%, i quan a més d'aquestes bràctees també es va eliminar la lemma de la flor fèrtil, la germinació va ser del 81.5% (Taula IV-3). Diversos estudis també han comprovat la influència de les estructures que cobreixen l'embrió en la dormició de les llavors d'altres Poàcies, però la majoria d'ells no han avaluat el paper de cadascuna de les bràctees de les espiguetes (Simpson, 1990). En el compendi d'Ellis *et al.* (1985), l'eliminació de les estructures que cobreixen les llavors de *D. sanguinalis* és documentat com un mètode eficaç per trencar la seva dormició. En els experiments que vam realitzar, les estructures que cobreixen la cariopsi van ser curosament eliminades i, per tant, el pericarp no es va danyar intencionadament. No obstant, durant el procés d'eliminació podria haver-se afectat, i el seu paper en la dormició de *D. sanguinalis* podria ser més important que l'estimat. Per exemple, Probert *et al.* (1985) van observar que l'eliminació completa de la lemma i la pàlea en cariopsis de *Dactylis glomerata* dorments incrementava la seva germinació en menor grau que quan només s'eliminava una petita part de la lemma sobre l'embrió. En aquest cas, els autors van argumentar que l'estimulació de la germinació podria haver estat causada directament per un possible efecte al pericarp durant l'extracció. Simpson (1990) recull que la majoria d'increments de germinació relacionats amb tractaments d'eliminació o alteració de les cobertes de les llavors de Poàcies són atribuïbles a un increment de la permeabilitat de l'oxigen i, per tant, a una major disponibilitat d'oxigen per l'embrió.

El baix percentatge de germinació obtingut en l'escarificació química (Taula IV-3) podria explicar-se per un temps d'exposició al tractament d'escarificació insuficient, o bé per una concentració d'àcid massa baixa per afectar significativament les diverses cobertes de la llavor.

El nitrat potàssic va promoure la germinació de *D. sanguinalis* (Taula IV-3 i IV-4, i Figura IV-6). Concretament, es va observar que el KNO_3 va disminuir tant la dormició causada per les estructures que cobreixen la cariòpsi, com la relacionada amb el pericarp. L'efecte estimulador del nitrat potàssic ha estat detectat en altres espècies de males herbes (Vincent i Roberts, 1977). Aquest compost s'ha relacionat amb un efecte osmòtic que estimula l'absorció d'aigua de l'embrió i amb un efecte nutricional en la síntesi de proteïnes (McIntyre *et al.*, 1996; McIntyre, 1997), i també ha estat vinculat amb un increment de l'absorció d' O_2 (Adkins *et al.*, 1984; Hilton i Thomas, 1986).

Els resultats obtinguts en aquest treball sobre la possible presència de substàncies inhibidores per a la germinació en les estructures que cobreixen la cariòpsi no són concloents. Per una banda, remullar les espiguetes de *D. sanguinalis* va promoure la seva germinació (Taula IV-1), com ja havia estat prèviament observat per Delouche (1956). Aquest efecte suggereix que possibles substàncies inhibidores podrien haver estat eliminades durant el tractament. Resultats similars han estat trobats en *Zoysia japonica* (Xu *et al.*, 2005). A més a més, Gianfagna and Pridham (1951) van mostrar que extractes aquosos de llavors dorments i no dorments de *D. sanguinalis* reduïen la germinació de llavors dorments en un 60% i en un 20%, respectivament. En canvi, en el nostre cas els extractes aquosos van estimular la germinació d'espiguetes intactes i no van tenir un efecte inhibidor en la germinació de les cariòpsis llimades (Taula IV-1). Aquesta absència d'efecte podria estar relacionada amb el fet que el mètode utilitzat només eliminés una baixa concentració de substàncies inhibidores, o bé simplement podria ser que les estructures realment no continguessin cap substància inhibidora soluble en aigua. Aquesta última hipòtesi podria explicar parcialment perquè no es van detectar diferències significatives entre els percentatges de germinació de les cariòpsis nues i el de les cariòpsis recobertes per la pàlea de la flor fèrtil (Taula IV-3). Tot i que, per altra banda, potser no es va trobar un efecte inhibidor causat per la presència de la pàlea, no perquè aquesta bractèola no contingués realment substàncies inhibidores a la germinació, sinó perquè potser l'eliminació de les cobertes situades sobre l'embrió (gluma superior i lemma de la flor fèrtil, Figura IV-1) podria haver interferit en els moviments d'aquestes substàncies inhibidores cap a l'embrió (Rost, 1975).

L'efecte d'estimulació de la germinació detectat en les espiguetes remullades també podria

estar relacionat amb unes condicions anàerobiques eventuais durant el tractament de remullat (Simpson, 1990; Baskin i Baskin, 2001), o amb canvis en les propietats estructurals de les cobertes durant el tractament que potser van poder modificar la seva permeabilitat i/o disminuir les constriccions mecàniques.

Per altra banda, el talls en les glumel·les que cobreixen les llavors no van incrementar el percentatge de germinació de les cariopsis cobertes per la lemma i la pàlea de la flor fèrtil (Taula IV-2 i Figura IV-5), potser perquè els talls es van realitzar en la part oposada a la localització de l'embrió. En canvi, l'escarificació amb sorra humida va incrementar significativament la germinació de les espiguetes (d'un 3.7% a un 30%) (Taula IV-3), i les cariopsis desproveïdes de les bràctees amb paper de vidre van tenir una germinació acumulada superior al 95% en només 48 hores (Figura IV-6). Aquests resultats suggereixen que la fricció entre les llavors dorments i les partícules del sòl poden ajudar a trencar la dormició de les llavors del sòl en condicions de camp. En el context de l'hàbitat d'aquesta espècie, caracteritzat per una alteració freqüent del sòl, sembla raonable considerar que una fracció de la població de llavors dispersada sobre el sòl podria patir fricció. Si la temperatura i la humitat fossin apropiades, les llavors podrien germinar. Per exemple, aquest tipus de situacions es podrien donar quan en zones d'horta es realitza el treball del sòl abans de sembrar o plantar. L'emergència de plàntules d'aquelles llavors que haguessin perdut la seva dormició (juntament amb aquelles no dorments del banc del sòl) podrien tenir un avantatge quant a expectatives de vida, ja que les plàntules que s'estableixen ràpidament en buits tenen un avantatge sobre d'altres plantes que emergeixen més tard quan hi ha una elevada competència pels recursos (Tilman, 1982).

IV.4.2 Duració de la dormició

Els resultats obtinguts van mostrar una ràpida pèrdua de la dormició de les llavors de *D. sanguinalis*, tant quan van estar emmagatzemades en sec a temperatura ambient (Figura IV-7), com quan es van enterrar simulant condicions de camp (Figures IV-9 i IV-10).

La pèrdua de la dormició de les llavors durant el període d'emmagatzematge en sec podria estar relacionat amb algun tipus de canvi en l'estructura de les cobertes durant el període d'emmagatzematge. De fet, durant aquest experiment, es va observar qualitativament que en el moment de la dispersió les cobertes es trobaven fortament adherides al pericarp i, al incrementar el temps d'emmagatzematge, es va apreciar una notable pèrdua d'aquesta adhesió, probablement causada pel propi assecat de les cobertes de les llavors. La ràpida pèrdua de dormició observada durant el període d'emmagatzematge en sec contrasta amb la reco-

llida per Toole i Toole (1941). En aquest treball, no es va obtenir un percentatge de germinació acumulada als 15 dies d'incubació superior al 95% amb el mateix règim tèrmic, fins que el període d'emmagatzematge es va prolongar als 12 mesos. Als quatre mesos d'emmagatzematge només van observar una germinació del 54%. És possible que les diferents temperatures d'emmagatzematge en sec (que no es van enregistrar en cap dels dos casos) poguessin haver estat responsables dels diferents canvis en el nivell de dormició de les llavors. En aquest sentit, temperatures d'emmagatzematge més baixes podrien haver estimulat una pèrdua de la dormició més ràpida (Delouche, 1956). També podrien haver-se fet patents possibles diferències interpoblacionals.

Per altra banda, la interacció entre el factor lot (any) i el factor temps d'emmagatzematge en sec detectat en l'ANOVA (Taula IV-5) podria denotar algunes diferències en el grau i la pèrdua de dormició de les espiguetes en funció de les condicions ambientals i/o nivell de recursos en les que van madurar (Simpson, 1990; Baskin i Baskin, 1998; Gutterman, 2000; Fenner i Thompson, 2005). Per exemple, la temperatura mitjana i la pluviometria del mes d'octubre de 2006 van ser 17.6°C i 55.6 mm respectivament, mentre que la de l'octubre de 2007 van ser de 15.8°C i 104.1 mm. En el cas de les males herbes, la variabilitat interannual en el nivell de dormició de les llavors, juntament amb la variabilitat intraannual, pot suposar unes majors expectatives de persistència de la població, i es pot interpretar com una adaptació de les poblacions a ambients impredecibles (Beckstead *et al.*, 1996; Andersson i Milberg, 1998).

Els experiments realitzats amb llavors enterrades en camp en els 10 primers centímetres del sòl també van mostrar una pèrdua de la dormició de les llavors de *D. sanguinalis* molt ràpida. Llavors enterrades durant dos mesos (en aquest cas llavors que s'havien recol·lectat feia quatre mesos) van mostrar una capacitat de germinació molt elevada (>95%). A més, quan les condicions ambientals al camp van ser favorables, es va observar un elevat percentatge de germinació *in situ* en l'interior de les bossetes que contien les llavors enterrades. En conjunt, aquests resultats podrien indicar que *D. sanguinalis* presenta un banc de llavors poc persistent i, de fet, en les nostres condicions sembla que la majoria de llavors podrien germinar com a molt tard durant la campanya posterior en què són produïdes. No obstant, caldria estudiar en més detall aquesta qüestió i avaluar quin és el comportament i el paper que poden tenir les llavors de *D. sanguinalis* enterrades a profunditats superiors als 10 cm.

D'altra banda, Masin *et al.* (2006) també van observar que la majoria de llavors de *D. sanguinalis* enterrades a 4 - 4.5 cm podien germinar durant el primer any d'estar enterrades. No obstant, aquests autors van trobar que aquestes llavors podien mantenir-se viables durant

tres anys i, per exemple, van obtenir que aproximadament un 55% de llavors enterrades durant 15 mesos encara restaven viables i sense germinar en el sòl. Norsworthy (2000; 2008) també indica que les llavors de *D. sanguinalis* tenen una baixa longevitat en el banc de llavors del sòl. D'aquesta manera, sembla ser que la producció i l'ingrés anual de llavors de *D. sanguinalis* en el banc de llavors del sòl és un factor decisiu per a la dinàmica del banc de llavors d'aquesta espècie, i per a la seva persistència en un indret determinat. En les nostres condicions, evitar la producció de llavors durant almenys dos anys consecutius podria ser un mètode eficaç per controlar la mala herba.

Els nostres resultats també van mostrar que la profunditat en què les llavors de *D. sanguinalis* van ser enterrades en el sòl va ser un factor rellevant en la velocitat de pèrdua del seu estat de dormició. Aquestes diferències poden explicar-se tenint en compte les diferents condicions ambientals que van poder experimentar les llavors en les diferents profunditats del sòl (per exemple hi va haver diferències de temperatura, Figures IV-2 i IV-3). Benvenuti *et al.* (2001) van trobar que a profunditats superiors als 6 cm no hi havia emergència de *D. sanguinalis*. En aquest cas, la manca d'emergència va ser causada principalment per l'absència de germinació de les llavors (entraven en estadi de dormició induïda per la profunditat). En canvi, el percentatge de llavors germinades, però que no arribaven a emergir (germinacions suïcides o germinacions fatals) era molt inferior. A diferència, en el nostre treball no es va observar una dormició de la llavors induïda per la profunditat i, en contra, es va trobar un gran percentatge de llavors germinades *in situ* a 0, 5 i 10 cm. No obstant, cal tenir en compte que el material vegetal de partida dels dos experiments i les condicions ambientals van ser molt diferents. Mentre que en el nostre cas es van enterrar llavors que feia dos mesos que s'havien recol·lectat, en el treball de Benvenuti *et al.* (2001) es van utilitzar llavors no dorments que després van ser enterrades a diferents profunditats en condicions controlades de temperatura i fotoperíode.

Els nostres resultats també van posar de manifest una clara influència del règim hídric al que es van sotmetre les llavors en la pèrdua del seu estat de dormició (Figura IV-10). En principi, les diferents temperatures enregistrades en els dos règims no expliquen satisfactòriament les diferències observades entre ambdós (Figura IV-3), ja que es va detectar una major fluctuació de les temperatures diàries en el règim sec que a l'humit. Per tant, si només hagués influït aquest factor s'esperaria haver observat una pèrdua de dormició més ràpida o almenys igual en el cas del règim sec que en el de règim humit, tenint en compte que l'alternança de temperatures és un mètode eficaç per trencar la dormició de llavors de *D. sanguinalis* (Toole i Toole, 1941). La influència del contingut hídric del sòl en la pèrdua

de dormició de les llavors ha estat recollit en alguns treballs. Per exemple, Kruk i Benech-Arnold (1998) van observar una disminució significativa del nivell de la dormició innata de les llavors de *Polygonum aviculare* quan eren emmagatzemades en humit a 4°C durant 4 mesos. En canvi, quan les llavors s'emmagatzemaven en sec a 4°C durant el mateix període, el seu nivell de dormició era similar al que havien observat abans del tractament. Batlla i Benech-Arnold (2006) van estudiar el patró de pèrdua de dormició de les llavors de *P. aviculare* enterrades en testos amb diferents règims hídrics del sòl. En general, van observar que les llavors sotmeses a un règim d'humitat del sòl fluctuant mostraven una pèrdua de l'estat de dormició més ràpida que aquelles sotmeses a un règim del sòl (permanentment) humit. La majoria de llavors enterrades en testos en un sòl sec van romandre dorments durant tot l'experiment (110 dies).

Les diferències trobades entre el règim humit i el règim sec estan en consonància amb els resultats obtinguts en els Experiments IV.3.1.1 i IV.3.1.4. Per una banda, podria ser que el contacte directe de les espiguetes amb l'aigua del sòl hagués eliminat les possibles substàncies inhibidores de la germinació presents en les cobertes (Experiment IV.3.1.1), i/o la presència de l'aigua en el sòl hagués degradat d'alguna manera les cobertes que cobreixen l'embrió (Experiment IV.3.1.4). Per altra banda, també podria ser una qüestió més mecànica, de manera que el procés continu d'hidratació i deshidratació de l'embrió experimentat en el règim humit, en comparació amb l'experimentat en el règim sec, hagués modificat o alterat les cobertes.

Tenint en compte la pèrdua significativa de dormició observada en llavors recol·lectades 3 mesos abans (ja fossin emmagatzemades en sec o enterrades en sòl), és raonable plantejar la hipòtesi que algunes de les espiguetes produïdes per individus emergits al camp a l'inici del període favorable de l'espècie podrien germinar durant la mateixa campanya en la que són produïdes. A més a més, en condicions de camp, la pèrdua de dormició podria ser encara més ràpida considerant un efecte d'escarificació mecànica (i per tant d'estimulació de la germinació) de les partícules del sòl quan friccionen amb les cobertes de les espiguetes dorments de *D. sanguinalis* (Taula IV-3). No obstant, és necessari un estudi detallat per avaluar aquesta hipòtesi, doncs podria ser que el grau de dormició de les espiguetes produïdes per una població de *D. sanguinalis* variï en funció del moment d'emergència de la planta mare. Per exemple, les plantes emergides a l'inici de l'estació podrien produir espiguetes amb un grau de latència diferent i amb una diferent resposta a les condicions ambientals després de la dispersió que les produïdes per les plantes emergides més tard (Baskin i Baskin, 2001). Com ja s'ha esmentat anteriorment, diferents condicions ambientals durant

la maduració de les espiguetes podria influir en el seu grau de dormició (Simpson, 1990). En aquest sentit, Mulugeta i Stoltenberg (1998) per *Chenopodium album* i Torra i Recasens (2008) per *Papaver rhoeas* van trobar que la dormició de les llavors produïdes pels individus de les cohorts que van emergir primer era major que la de les produïdes pels individus de les cohorts més tardanes. D'altra banda, s'ha observat una ràpida germinació de les espiguetes de *D. sanguinalis* que han perdut la dormició. En condicions de camp, aquesta característica pot suposar un avantatge competitiu enfront d'altres espècies de germinació més lenta o que emergeixin més tard.

En conclusió, les cobertes de l'embrió tenen un paper clau en la dormició de *D. sanguinalis*. L'abrasió mecànica de les cobertes que, per exemple, pot tenir lloc com a conseqüència del treball del sòl, produeix una pèrdua significativa de la dormició de les llavors. En condicions similars a les de camp, s'ha observat una pèrdua de l'estat de dormició de les llavors en menys de quatre mesos. Els nostres resultats indiquen que el contingut hídric del sòl sembla que pot ser un factor rellevant en el patró de pèrdua de dormició de les llavors del banc de llavors del sòl.

Capítol V

Discussió general i conclusions

En aquesta tesi s'han estudiat diversos aspectes sobre la dinàmica d'una població de *D. sanguinalis* en interacció, de manera natural, amb el carbó *U. syntherismae*. En el Capítol II s'han descrit i avaluat els processos d'emergència, supervivència i reproducció de la població, mitjançant un estudi de cohorts realitzat durant dos anys consecutius. En el Capítol III s'han analitzat quins havien estat els efectes del fong patògen *U. syntherismae* en la morfologia, la fecunditat, la biomassa i la capacitat competitiva dels individus de *D. sanguinalis* al final del seu cicle de vida anual, i s'ha avaluat si la densitat dels individus hostatgers estava relacionada amb el grau d'incidència de la malaltia. Per últim, el Capítol IV s'ha centrat en l'estudi de la dormició de les llavors d'aquesta població en el moment de la dispersió, i la durada, les causes i la importància d'aquest estat fisiològic.

Els Capítols II i III han posat de manifest que el fong patògen *U. syntherismae* va disminuir significativament el creixement de la població de *D. sanguinalis*, donat que la majoria d'individus malalts no van produir cap llavor. Cal destacar però, que en ambdós anys de seguiment, al final del cicle anual de la població es va observar un petit percentatge d'individus (<1.5%) que presentaven signes externs de la malaltia, però que alhora també havien estat capaços de produir algunes espiguetes aparentment sanes. Aquests individus poden tenir un especial interès des del punt de vista evolutiu de la població, ja que alliberen tant llavors com teliòspores aparentment viables. El grau d'infecció d'aquestes plantes va ser molt variable i es van observar des de plantes amb gairebé totes les inflorescències transformades en espores del carbó però que havien produït alguna o algunes espiguetes aparentment sanes, fins a plantes amb diverses inflorescències sanes i una inflorescència amb carbó. Norton (1896) va suggerir que aquestes plantes, que no han estat totalment castrades pel fong, són infectades més tard que les plantes que presenten totes les inflorescències transformades en espores del carbó (és a dir, que han estat totalment castrades pel fong). En canvi, en el nostre treball s'ha trobat que la proporció d'individus amb aquestes característiques no va ser superior en les cohorts que van emergir més tard que en les que van fer-ho primer. D'altra banda, el moment d'emergència de *D. sanguinalis* no va limitar la

incidència de la malaltia, ja que en totes les cohorts controlades es van detectar plantes amb inflorescències amb carbó.

El Capítol II ha mostrat que en els dos anys d'estudi la població de *D. sanguinalis* va presentar una taxa de supervivència (>85%) i una producció de llavors per unitat de superfície (>95000 llavors m⁻²) elevada, tot i la castració d'un important nombre d'individus produïda pel fong *U. syntherismae* i la relativa baixa fecunditat de les plantes sense carbó (per terme mig unes 120 cariopsis pl⁻¹). La població d'estudi va créixer en condicions naturals en una situació d'alta densitat (densitat mitjana d'emergència >800 plàntules m⁻²; densitat mitjana d'individus madurs i reproductors >600 plantes m⁻²) en un camp sense cultivar. *D. sanguinalis* va ser l'espècie més abundant, tant en termes de densitat com de biomassa. També s'ha observat una influència important del moment d'emergència en la biomassa i la fecunditat dels individus que van florir i produir espiguetes. Les plantes que van emergir primer van produir significativament més llavors i van contribuir més a la pluja de llavors de la població que les plantes que van fer-ho més tard. Tot i les diferències en les condicions ambientals, pràctiques de maneig, densitat de població, etc., Mohler i Callaway (1995), Aguyoh i Masiunas (2003) i Oreja i de la Fuente (2005) van observar una influència similar del moment d'emergència en individus de *D. sanguinalis*. Mohler i Callaway (1995) van treballar en un cultiu de blat de moro i en un camp sense cultivar al nord-est dels Estats Units, Aguyoh i Masiunas (2003) en un cultiu de mongetera al nord-centre dels Estats Units, i Oreja i de la Fuente (2005) en un cultiu de soja transgènica resistent al glifosat a la Pampa Ondulada d'Argentina.

Un cop descrita i avaluada la dinàmica de la població de *D. sanguinalis*, en el Capítol III s'ha constatat que el fong patògen no només va afectar la fecunditat dels individus sinó que també va alterar la biomassa i els patrons d'assignació de recursos en aquesta biomassa. Els individus malalts van pesar menys i van tenir una menor alçada, però van produir significativament un major nombre de nusos, ramificacions i inflorescències que els individus aparentment sans (o sense carbó). Les diferències van ser encara més importants a nivell de ramet (tija basal), ja que els individus malalts van produir un número menor de tiges basals per terme mig que les plantes sanes. En general, aquests resultats concorden amb els treballs previs que recullen alguna informació sobre la interacció i que descriuen qualitativament les plantes de *D. sanguinalis* infectades per *U. syntherismae* com a plantes més baixes, però més frondoses i amb un major nombre de ramificacions que les plantes sanes (Norton, 1896; Halsted, 1899; Fischer i Holton, 1957; Gaskin, 1958). Els efectes de la malaltia en la morfologia i la biomassa també van ser evidents en un experiment realitzat amb

una població monoespecífica de *D. sanguinalis* en la que es van manipular les densitats. En aquest cas, es van observar uns efectes del fong en la morfologia, tant a nivell d'individu com de fillol, similars als comentats anteriorment. Però, en canvi, les plantes malaltes van estar formades per un major nombre de tiges basals i no es van detectar diferències significatives entre la biomassa aèria mitjana de les plantes sanes i la de les malaltes. Les diferents densitats i la presència/absència d'altres espècies arvenses podrien explicar, entre d'altres molts factors, aquestes divergències entre resultats.

El Capítol III també ha posat de manifest els efectes de la competència intra- i interespecífica en la biomassa, reproducció i morfologia dels individus de la població, i una possible influència del fong en la seva capacitat competitiva en situació d'alta densitat. Es va observar un major impacte de la competència intra- i interespecífica en els individus aparentment sans (o sense carbó) en relació als individus amb carbó. Altrament, la densitat de l'hostatger no va ser un factor que limités la incidència de la malaltia, atès que no es va trobar una relació significativa ni entre la densitat d'individus hostatgers i el percentatge d'individus malalts, ni entre la densitat de ramets hostatgers i el percentatge de ramets malalts.

Tenint en compte que un dels processos demogràfics claus en la dinàmica poblacional de *D. sanguinalis* és la producció de llavors, en el Capítol IV s'ha estudiat la dormició de les llavors d'aquesta espècie en el moment de la dispersió. Les llavors acabades de recol·lectar van mostrar un alt grau de dormició (>98%) i es va constatar que aquesta dormició era causada per les cobertes de l'embrió, ja que llavors dorments desproveïdes mecànicament d'aquestes cobertes presentaven un percentatge de germinació gairebé del 100%. La bractèola que va mostrar tenir un paper clau en aquesta dormició innata va ser la lemma de la flor fèrtil, tot i que també es va detectar una influència significativa del pericarp. A més, es va observar una ràpida pèrdua de l'estat de dormició tant en llavors emmagatzemades en sec en condicions de laboratori, com en llavors enterrades en testos en el sòl simulant condicions naturals. En aquest últim cas, la profunditat d'enterrament i la presència d'aigua en el sòl van influenciar el patró de pèrdua de la dormició de les llavors. Llavors enterrades a 5 i a 10 cm van mostrar una pèrdua d'aquest estat més ràpida que aquelles localitzades a la superfície del sòl. La majoria de les llavors enterrades en testos i mantingudes en sec van perdre la dormició després de 4 mesos. En canvi, només van ser necessaris 2 mesos en llavors enterrades en testos on s'hi havia permès l'ingrés de l'aigua de pluja. En referència a la persistència de les llavors de *D. sanguinalis* en el banc del sòl, es va veure que, després de 10 mesos d'estar enterrades en el sòl (a 0, 5 i 10 cm de profunditat), menys d'un 2% de les espiguetes restaven viables i no germinades en el sòl. A diferència, Masin *et al.* (2006) en un

experiment en què es van enterrar llavors de *D. sanguinalis* a 4 - 4.5 cm de profunditat en un cultiu permanent de cespitoses van observar que bona part de les llavors havien perdut el seu estat de dormició durant el primer any d'haver estat enterrades, però després de 15 mesos encara restaven viables i sense germinar en el sòl un 55% de les llavors.

Els nostres resultats apunten que en la població estudiada la majoria de llavors enterrades en els primers 10 cm del sòl podrien germinar com a molt tard en la següent campanya després de la seva producció, i les llavors de les primeres cohorts fins i tot podrien arribar a germinar i a emergir durant el mateix any en què són produïdes. A més a més, cal considerar una possible disminució del grau de dormició de les llavors enterrades en el sòl com a conseqüència de la fricció entre les cobertes de les llavors i les partícules del sòl. Per tant, en les nostres condicions, sembla ser que minimitzar la reproducció de *D. sanguinalis* durant dos anys consecutius podria ser un mètode eficaç per controlar les poblacions d'aquesta espècie arvensa.

D'altra banda, com s'ha mostrat en els Capítols II, III i IV, les poblacions de *D. sanguinalis* poden presentar elevades densitats d'emergència i taxes de supervivència i de producció de llavors, així com una ràpida velocitat de germinació, una gran plasticitat fenotípica i un curt període prereproductiu. Aquests atributs biològics, característics de moltes altres espècies arvenses, li confereixen una elevada capacitat de persistència en hàbitats periòdicament pertorbats com poden ser els agrícoles.

En conclusió, els resultats dels diferents treballs presentats en aquesta tesi doctoral es poden resumir en els següents punts:

1. Durant dos anys consecutius de seguiment, la població de *D. sanguinalis* va presentar una elevada densitat d'emergència (>800 plàntules m^{-2}), taxa de supervivència ($>85\%$) i producció de llavors per unitat de superfície (>95000 llavors m^{-2}).
2. El moment d'emergència va tenir un important efecte en la fecunditat i la biomassa dels individus, inclús entre cohorts emergides amb pocs dies de diferència. Els individus que van emergir primer van pesar més, van produir més llavors i van contribuir més a la pluja de llavors de la població que aquells que ho van fer més tard. En cohorts que havien emergit amb pocs dies de diferència, també es va observar que els individus que havien emergit primer presentaven una taxa de supervivència per interval major a la dels individus emergits més tard.
3. *U. syntherismae* va constrènyer significativament el creixement de la població mitjançant la reducció de la fertilitat individual, ja que la gran majoria d'individus amb

inflorescències amb carbó no van ser capaços de produir cap llavor.

4. El fong *U. syntherismae* va produir canvis significatius en la morfologia de les plantes madures, tant a nivell individual com a nivell de ramet. En general, les plantes malaltes van produir un major nombre de nusos, ramificacions i inflorescències però, en canvi, van ser més baixes.
5. El moment d'emergència de l'hostatger i la seva densitat (mesurada tant a nivell d'individu com a nivell de ramet) no van ser factors que van limitar la incidència de la malaltia produïda pel fong *U. syntherismae*.
6. Es van constatar importants efectes de la competència intra- i interespecífica en la morfologia, biomassa i fertilitat dels individus madurs. Els resultats també van suggerir un possible efecte d'*Ustilago syntherismae* en la capacitat competitiva dels individus malalts.
7. En el moment de la dispersió la majoria de les espiguetes eren dorments (>98%). La lemma de la flor fèrtil va ser la coberta que va tenir una major influència en aquest estat.
8. L'escarificació física d'espiguetes dorments va incrementar significativament la seva capacitat de germinació. La fricció de les espiguetes amb les partícules del sòl es presenta com un possible mecanisme de trencament de la dormició de les espiguetes acabades de dispersar en condicions naturals.
9. Es va observar una pèrdua de la dormició innata de les llavors de *D. sanguinalis* en el temps molt ràpida. La majoria de llavors enterrades en el sòl durant 2 mesos, simulant condicions naturals, no eren dorments. El contingut hídric i la profunditat d'enterrament en el sòl van influir en el patró de pèrdua de dormició.
10. La majoria de llavors enterrades simulant condicions de camp a 0, 5 i 10 cm de profunditat van germinar *in situ* en un període de temps inferior als 10 mesos. Menys d'un 2% de les espiguetes enterrades restaven viables i sense germinar.

Al llarg d'aquest document s'han esmentat algunes limitacions, noves qüestions i hipòtesis que han sorgit a partir d'aquest treball i que obren, sota el nostre punt de vista, interessants aspectes a considerar per a la futura investigació sobre la dinàmica de l'espècie arvensis *D. sanguinalis* i la seva interacció amb el fong patògen *U. syntherismae*. Entre aquests punts destaquem els que es recullen a continuació.

En primer lloc, s'ha observat una ràpida pèrdua de la dormició de les llavors després de la

seva dispersió. En base aquesta informació, seria interessant estudiar el possible efecte del moment d'emergència dels individus en el grau de dormició de les seves llavors i en el temps necessari per perdre aquest estat de dormició innata. En aquest context, també s'hauria de valorar les possibles diferències interpoblacionals en el grau de dormició de les llavors i l'efecte de les condicions de creixement de la planta mare en l'estat de dormició de les llavors que produeix.

En segon lloc, els resultats obtinguts van mostrar que la incidència de la malaltia produïda per *U. syntherismae* no es va veure limitada pel moment d'emergència de l'hostatger, per tant caldria esperar que el rang de condicions en les que poden germinar les llavors de *D. sanguinalis* coincidís o fos similar al de les teliòspores d' *U. syntherismae*. No obstant, és necessari contrastar aquesta hipòtesi. Un bon punt de partida seria, per exemple, determinar la temperatura òptima i el rang de temperatures en les que poden germinar les espiguetes de *D. sanguinalis* i les teliòspores del fong, i avaluar-ne el seu grau de solapament.

En tercer lloc, però no per això menys interessant, en aquest estudi s'han observat plantes amb inflorescències amb carbó, però que alhora també havien produït llavors aparentment viables. Com a treball futur immediat, caldria avaluar la viabilitat i dormició d'aquestes llavors, així com les característiques i la susceptibilitat a la malaltia de les plantes que germinen a partir d'aquestes llavors.

D'altra banda, els estudis realitzats s'han basat en la classificació dels individus segons si presentaven signes externs de la malaltia produïda per *U. syntherismae*, és a dir la presència d'inflorescències amb carbó, però no s'ha estudiat cap aspecte sobre l'estructura genètica de la població. Per exemple, no s'ha estudiat si les plantes designades com a sanes (o aparentment sanes) i que havien florit normalment corresponien a biotips resistents a la infecció, o es tractava d'individus infectats i que no havien arribat a manifestar externament la malaltia, o bé potser corresponien a biotips sensibles però algun factor va limitar la seva infecció.

Per últim, en el marc del possible ús d'*U. syntherismae* com a bioagent per controlar les poblacions de *D. sanguinalis*, caldria descartar la susceptibilitat d'espècies de gramínies cultivades al fong.

Apèndix

Fitxer de seqüència R per modelitzar i comparar l'evolució temporal de la germinació de llavors mitjançant una funció de Weibull de tres paràmetres

Introducció

Existeixen diversos mètodes per descriure i comparar les dades de germinació de llavors (Scott *et al.*, 1984; Brown i Mayer, 1988a; Brown i Mayer, 1988b). Probablement, el més freqüentment emprat és l'anàlisi de la variància seguida de la corresponent separació de mitjanes utilitzant les dades de germinació acumulada en un determinat moment. No obstant, aquest procediment no permet avaluar i comparar l'evolució temporal de la germinació de les llavors.

Brown i Mayer (1988b) van examinar i comparar diverses funcions utilitzades per descriure la germinació acumulada en funció del temps, i van concloure que la funció de Weibull oferia la caracterització més apropiada. A més de proporcionar un bon ajust, els paràmetres de la funció són biològicament interpretables, i mostren la germinació màxima, la velocitat de germinació, el retard de l'inici de la germinació i la forma de la distribució acumulada (Bridges *et al.*, 1989).

No obstant, les característiques inherents de les dades de germinació acumulada fan difícil el seu ajust a una corba de Weibull. En primer lloc, la metodologia comunament utilitzada per prendre mesures en els estudis de germinació de llavors no obté dades independents, ja que el valor de la germinació acumulada en un moment determinat depèn directament del valor de germinació acumulada previ observat en la mateixa rèplica (és a dir, en la mateixa placa de Petri) i no pot ser mai menor a aquest valor previ. En segon lloc, el moment de la germinació és censat per intervals, donat que el moment exacte de la germinació de les llavors és indeterminat i, per consegüent, les dades de cada interval segueixen una distribució binomial. D'aquesta manera, les freqüències de germinació acumulada segueixen una distri-

bució de la família exponencial i, per aquest motiu, podria ser adequat utilitzar un model lineal generalitzat. Tot i així, com que les dades no són independents, són necessàries estimacions dels paràmetres de la funció de Weibull utilitzant el mètode de la màxima versemblança, enlloc del de mínims quadrats.

Com a primer pas per facilitar el procediment d'estimació, Mas i Verdú (2002) van desenvolupar un full de càlcul que és capaç de realitzar les estimacions de la funció de Weibull utilitzant el mètode de màxima versemblança mitjançant l'eina d'optimització *Solver* de Microsoft Office Excel. Tot i que aquest full de càlcul ha demostrat ser molt útil, només permet ajustar les dades d'un sol lot de llavors o tractament per execució, i requereix de la seva modificació manual segons el nombre de recomptes o censos realitzats en cada lot que es vol avaluar, i aquest és un procés costós i propens a introduir errors no intencionats.

Aquest apèndix presenta un fitxer de seqüència (*script*) desenvolupat pel paquet estadístic R (R Development Core Team, 2009) que permet de forma automatitzada (i) ajustar dades de germinació a una funció de Weibull de tres paràmetres, utilitzant el mètode de màxima versemblança per un nombre il·limitat de lots o tractaments, i (ii) comparar estadísticament els paràmetres estimats de cadascun dels lots o tractament avaluats. A més, s'exemplifica el seu ús amb un exemple utilitzant un subconjunt de les dades analitzades en el Capítol IV. L'R és un programari de codi obert i està disponible gratuïtament per un ampli rang de plataformes UNIX, així com Windows i Mac OS (R Development Core Team, 2009).

Fitxer de seqüència R

El fitxer de seqüència R (Figura A-1) consisteix en una funció anomenada *fitweibull* que calcula l'estimació, utilitzant el mètode de màxima versemblança, dels paràmetres d'una funció de Weibull de tres paràmetres per unes dades de germinació acumulada determinades. En concret, permet l'ajust d'un nombre il·limitat de lots de llavors o de tractaments al mateix temps, i també és capaç de comparar els paràmetres estimats per als lots avaluats.

Estimació dels paràmetres de la funció Weibull

La distribució de Weibull de tres paràmetres utilitzada es defineix de la següent manera (Bridges *et al.*, 1989):

$$F_{wd} = \pi \left(1 - \exp \left(- \left(t / \theta \right)^\alpha \right) \right)$$

on F_{wd} representa la germinació acumulada en l'instant de temps t , π és el percentatge

màxim de germinació, θ és el paràmetre d'escala (inversament proporcional a la velocitat de germinació) i α correspon al paràmetre de forma.

Per a cada lot, es calcula l'estimació de màxima versemblança que s'obté maximitzant la funció de log-versemblança, és a dir minimitzant el negatiu de la funció de log-versemblança del model de Weibull (línies 17 – 21, Figura A-1).

No obstant, la minimització no lineal requereix d'uns valors inicials dels paràmetres a estimar. En aquest cas, els valors inicials de α i θ que s'utilitzen deriven de la transformació lineal de la funció de Weibull, considerant que π és igual a 1 (és a dir, suposant que la germinació acumulada màxima al final del període d'incubació de les llavors hagués assolit el 100%). El valor inicial de π correspon a la germinació acumulada màxima observada en el lot avaluat (línies 22-25, Figura A-1). El fitxer de seqüència també calcula els intervals de confiança del 95% per als tres paràmetres estimats (línies 29-30, Figura A-1).

Cal esmentar que l'estimació de màxima versemblança té el desavantatge que no proporciona un bon indicador de la bondat de l'ajust, anàleg al coeficient de determinació de la regressió lineal. En aquest cas, la desviància de la Weibull (D_{Wd}) es calcula com un indicador per avaluar la bondat de l'ajust (línies 33-34, Figura A-1) de la següent manera:

$$D_{Wd} = 2(l_{obs} - l_w)$$

on l_w és la log-versemblança del model de Weibull i l_{obs} és la log-versemblança sota el màxim assolit (que correspon als valors observats).

La funció *fitweibull* també exporta els valors dels paràmetres estimats a un arxiu de text delimitat per tabuladors (*fileout*) (línies 62 i 66-85, Figura A-1) per facilitar el maneig dels resultats utilitzant altres programes.

Comparació dels paràmetres ajustats entre els lots de llavors avaluats

Els tres paràmetres del model (π , α i θ) es comparen tots junts, parella per parella i un a un, per a cada parella de lots de llavors o tractaments avaluats (línies 38-57, Figura A-1). Concretament, es compara la distribució khi-quadrat d'una sola cua amb tres, dos o un grau de llibertat respectivament, en un determinat nivell de probabilitat amb la següent relació:

$$\xi_1 - \xi_2 / (\text{var } \xi_1 + \text{var } \xi_2)$$

on ξ_1 i ξ_2 són els valors dels tres paràmetres o de la matriu que resulta de la comparació dels paràmetres, i $\text{var}\xi_1$ i $\text{var}\xi_2$ són les variàncies o la matriu de variàncies obtinguda de la inversa de la matriu Hessiana (línia 27, Figura A-1).

```

1: fitweibull <- function(filein, fileout) {
2:   data <- read.table(filein, header = TRUE)
3:   est <- list()
4:   var <- list()
5:   ci <- list()
6:   dev <- list()

7:   for (i in 1:max(data$id)) {
8:     subdata <- data[data$id == i, ]

9:     ## f is the number of germinated seeds (sum of columns [3, n-1])
10:    f <- rowSums (subdata [ ,3:(length(subdata [1,])-1)])
11:    n <- cumsum(f)
12:    ni <- length(subdata$id)
13:    nt <- subdata$nt[1]
14:    t <- subdata$t
15:    f <- c(f, nt - n[ni])

16:    ## [[estimate]] Estimation of p,a,c
17:    lmv <- function(par) {
18:      pp <- SSweibull(t, par[1], par[1], -par[2] * log(par[3]), par[2])
19:      lmv <- -sum(f*log(c(pp, 1) - c(0, pp) + 1 - sign(f)))
20:      lmv
21:    }

22:    c0 <- coef(lm(log(-log(1 - (n+.5) / (n[ni] + 1))) ~ log(t), data =
23:      subdata))
24:    par0 <- c(n[ni]/nt, c0[2], exp(-c0[1]/c0[2]))
25:    sol <- nlm(lmv, par0, iterlim=1000, hessian = TRUE)

26:    est <- c(est, list(sol$estimate))
27:    var <- c(var, list(solve(sol$hessian)))

28:    ## [[ci]] 95% confidence interval
29:    lcl <- sol$estimate - 1.96 * sqrt(diag(solve(sol$hessian)))
30:    ucl <- sol$estimate + 1.96 * sqrt(diag(solve(sol$hessian)))
31:    ci <- c(ci, list(c(lcl, ucl)))

32:    ## [[dev]] Weibull deviance
33:    lobs <- sum(f*(log((f/nt)+1-sign(f))))
34:    dwei <- 2*(lobs+sol$minimum)
35:    dev <- c(dev, list(dwei))
36:  }

37:  ## [[comp]] p-values of the comparison between Weibull parameters
38:  tmp <- array(data=NA, c(max(data$id), max(data$id)))
39:  sig <- list(tmp, tmp, tmp, tmp, tmp, tmp)

40:  for (i in 1:(max(data$id)-1)) {
41:    for(j in (i+1):max(data$id)) {
42:      est3 <- est[[i]] - est[[j]]
43:      q3 <- t(est3) %*% (solve(var[[i]] + var[[j]]) %*% est3)
44:      sig[[1]][i, j] <- pchisq(q3, 3, lower.tail=FALSE) ##pac comparison

45:      q1 <- est3^2 / diag (var[[i]] + var[[j]])
46:      sig1 <- pchisq(q1, 1, lower.tail=FALSE)

47:      for (k in 1:3) {
48:        est2 <- est3[-k];
49:        vari <- var[[i]][-k, -k]
50:        varj <- var[[j]][-k, -k]
51:        q2 <- t(est2) %*% (solve(vari + varj) %*% est2)
52:        sig[[k+1]][i, j] <- pchisq(q2, 2, lower.tail=FALSE) ## ac, pc
53:                                                ## and pa comparison
54:        sig[[k+4]][i, j] <- sig1[k] ## p, a, c comparison
55:      }
56:    }
57:  }

58:  ## print the results to the R console
59:  output <- list(estimate=est, ci=ci, dev=dev, comp_pac=sig[[1]],
60:    comp_ac=sig[[2]], comp_pc=sig[[3]], comp_pa=sig[[4]],
61:    comp_p=sig[[5]],comp_a=sig[[6]], comp_c=sig[[7]])
62:  printfile(output, fileout)
63:  print(output)
64: }

```

```

65: ## export the results to the fileout
66: printfile <- function(res, filename) {
67:   output <- array(0, c(length(res[[1]]), 11))
68:   for (i in 1:length(res[[1]])) {
69:     output[i, 1] <- i           ## id
70:     output[i, 2] <- res[[1]][[i]][1] ## p
71:     output[i, 3] <- res[[2]][[i]][1] ## p-lcl
72:     output[i, 4] <- res[[2]][[i]][4] ## p-ucl
73:     output[i, 5] <- res[[1]][[i]][2] ## a
74:     output[i, 6] <- res[[2]][[i]][2] ## a-lcl
75:     output[i, 7] <- res[[2]][[i]][5] ## a-ucl
76:     output[i, 8] <- res[[1]][[i]][3] ## c
77:     output[i, 9] <- res[[2]][[i]][3] ## c-lcl
78:     output[i, 10] <- res[[2]][[i]][6] ## c-ucl
79:     output[i, 11] <- res[[3]][[i]] ## weibull deviance
80:   }

81:   write.table(output, filename, quote = FALSE, sep = "\t", row.names =
82:     FALSE, col.names = c("id", "p estimate", "p-lcl", "p-ucl",
83:     "a estimate", "a-lcl", "a-ucl", "c estimate", "c-lcl",
84:     "c-ucl", "weibull deviance"))
85: }

```

Figura A-1. Fitxer de seqüència (*script*) R per ajustar dades de germinació a una funció de Weibull de tres paràmetres. Els números de línia apareixen només per facilitar la descripció del fitxer de seqüència en el text. No s’han d’incloure en el fitxer de seqüència R real.

Cal tenir en consideració que, si el resultat de la comparació dels tres paràmetres tots junts en una parella determinada de lots de llavors no és significativament diferent, no té sentit avaluar les diferències dels paràmetres parella a parella o un a un per al mateix lot de llavors. Per fer comparacions múltiples de lots de llavors es pot utilitzar el nivell de probabilitat que correspon al valor crític del test T de Bonferroni (Milton, 1992).

El fitxer de seqüència mostra els valors de probabilitat de les diverses comparacions en la consola de R. Cada tipus de comparació (paràmetres π , α i θ tots junts, π i α , π i θ i α i θ per parelles, i π , α i θ un a un) es presenta en forma de matriu on les columnes i les files corresponen als números d’identificació de cada lot de llavor en l’arxiu de dades d’entrada. En la matriu, NA (n/a - no aplicable) es mostra quan els resultats ja han estat avaluats.

Arxiu de dades d’entrada

L’arxiu de dades d’entrada que alimenta el fitxer de seqüència R és un arxiu tabulat (com per exemple, un fitxer de text delimitat amb tabuladors) on cada fila correspon al nombre de llavors germinades per rèplica en cada cens o moment de control (t) realitzat per a cada lot o tractament. El nombre de rèpliques no està limitat i pot ser modificat en funció dels requeriments. No obstant, si el nombre de rèpliques és diferent entre cada lot avaluat, s’ha d’afegir “0” en les posicions de la taula on no hi hagi dades, ja que l’ajust es fa amb el total de llavors germinades en un moment de temps determinat.

La Taula A-1 mostra un arxiu d'entrada genèric. El nom i l'ordre de les variables en les columnes s'ha de mantenir, llevat que el fitxer de seqüència es modifiqui (línies 10-15).

Sortida del fitxer de seqüència R

El fitxer de seqüència R facilita dues sortides diferents, una a la pantalla (consola R) i una altra al fitxer de sortida de text.

La Taula A-2 mostra el significat dels valors que apareixen en la sortida de la pantalla. Cal a dir, que la sortida de la pantalla pot ser fàcilment copiada i enganxada en un processador de text. Al final de la sortida, poden aparèixer missatges d'avertència que indiquen que s'ha solucionat algun problema durant el procediment d'iteració realitzat durant l'ajust de la funció. La Taula A-3 descriu els valors que recull el fitxer de sortida de text.

Ús del fitxer de seqüència R

A continuació es recullen les ordres de R necessàries per executar el fitxer de seqüència per aquells menys familiaritzats amb l'ús d'aquest paquet estadístic.

1. Executar el paquet estadístic R
2. Seleccionar el directori de treball

```
setwd(dir)
```

3. Llegir el fitxer de seqüència R de l'arxiu de dades d'entrada

```
source(file)
```

4. Cridar la funció *fitweibull*

```
fitweibull(filein, fileout)
```

La funció *fitweibull* té dos arguments: (1) *filein*, que correspon al nom del fitxer amb les dades d'entrada (“*.txt”), i (2) *fileout*, que és el nom del fitxer de sortida (“*.txt”) que recull els valors dels paràmetres estimats per a cada lot.

Exemple

Per exemplificar la utilització del fitxer de seqüència, a continuació es mostra l'anàlisi d'un subconjunt de dades de germinació tractades en el Capítol IV. Concretament, s'han avaluat dades que corresponen als resultats de germinació diària d'espiguetes de *D. sanguinalis*

Taula A-1. Fitxer genèric d'entrada que alimenta el fitxer de seqüència R.

id	t	r1	r2	...	rn	nt
1	t1(1)	n11(1)	n12(1)	n1...(1)	n1n(1)	nt1
1	t1(2)	n11(2)	n12(2)	n1...(2)	n1n(2)	nt1
...	t1(.)	n11(.)	n12(.)	n1...(.)	n1n(.)	nt1
1	t1(n)	n11(n)	n12(n)	n1...(n)	n1n(n)	nt1
2	t2(1)	n21(1)	n22(1)	n2...(1)	n2n(1)	nt2
2	t2(2)	n21(2)	n22(2)	n2...(2)	n2n(2)	nt2
...	t2(.)	n21(.)	n22(.)	n2...(.)	n2n(.)	nt2
2	t2(n)	n21(n)	n22(n)	n2...(n)	n2n(n)	nt2
...
...
....
n	tn(1)	nn1(1)	nn2(1)	nn...(1)	nnn(1)	ntn
...	tn(.)	nn1(.)	nn2(.)	nn...(.)	nnn(.)	ntn
n	tn(n)	nn1(n)	nn2(n)	nn...(n)	nnn(n)	ntn

Descripció de les columnes: (i) *id* és un número identificador per a cada lot de llavors o tractament que es vol avaluar. La numeració ha de començar amb “1”, i els següents números han de ser consecutius; (ii) *t* és el moment (temps) en què s’han realitzat les observacions o comptatges de la germinació de llavors. Les unitats de temps han de ser les mateixes per a tots els lots que es volen comparar (dies, hores, etc.). El nombre d’observacions pot ser diferent en cada lot; (iii) $r_1, r_2, r_3, \dots, r_n$ són el nombre de llavors germinades en cada rèplica que s’han observat en l’instant *t*. Si el nombre de rèpliques és diferent entre els lots avaluats, s’ha d’afegir “0” quan no hi hagi dades. S’han d’afegir tantes columnes com rèpliques es tinguin. No obstant, les dades de la primera i l’última rèplica han de situar-se sempre en la tercera i en la penúltima columna, respectivament; (iv) *nt* és el nombre total de llavors col·locades a germinar inicialment en cada lot o tractament. El valor de la columna *nt* ha de ser el mateix per a cada lot (és a dir per a cada número d’identificació, *id*).

Taula A-2. Descripció de la sortida per pantalla del fitxer de seqüència R.

Sortida de pantalla	Descripció
\$estimate	estimació dels paràmetres π, α i θ
\$ci	intervalls de confiança del 95% dels tres paràmetres estimats. Apareixen en aquest ordre: límits de confiança inferiors de π, α i θ , i límits de confiança superiors de π, α i θ
\$dev	desviància de la Weibull
\$comp_pac	matriu de comparació de π, α i θ junts entre els lots identificats
\$comp_ac	matriu de comparació de α i θ junts entre els lots identificats
\$comp_pc	matriu de comparació de π i θ junts entre els lots identificats
\$comp_p	matriu de comparació de π entre els lots identificats
\$comp_a	matriu de comparació de α entre els lots identificats
\$comp_c	matriu de comparació de θ entre els lots identificats

Taula A-3. Descripció de les columnes de l'arxiu de text de sortida del fitxer de seqüència R.

Columna de l'arxiu	Descripció
id	número de lot identificat
p estimate	valor de π estimat
p-lcl	límit de confiança inferior del 95% de π
p-ucl	límit de confiança superior del 95% de π
a estimate	valor de α estimat
a-lcl	límit de confiança inferior del 95% de α
a-ucl	límit de confiança superior del 95% de α
c estimate	valor de θ estimat
c-lcl	límit de confiança inferior del 95% de θ
c-ucl	límit de confiança superior del 95% de θ
Weibull deviance	desviància de la Weibull

recol·lectades l'any 2007 i emmagatzemades en sec durant 7 mesos (identificat en aquest cas com a Lot 1) i 8 mesos (Lot 2). Com ha estat comentat en l'apartat de Material i Mètodes del Capítol IV, per a cada lot es va treballar amb 5 rèpliques de 50 llavors.

Suposarem que: (i) el fitxer de seqüència R està emmagatzemat en el disc local (C:\), (ii) el fitxer de seqüència R és un fitxer de text anomenat *fitweibull.R*, (iii) el fitxer d'entrada (*filein*) és un fitxer de text delimitat per tabuladors anomenat *data.txt* que segueix l'estructura mostrada en la Taula A-4, i (iv) el fitxer de sortida (*fileout*) vol ser guardat amb el nom de *results.txt*.

Els passos a seguir per executar el fitxer de seqüència R estan resumits a continuació:

1. Executar el paquet estadístic R
2. Escriure en la consola de R les següents instruccions:

```
setwd("C:/")
source("fitweibull.R")
fitweibull("data.txt", "results.txt")
```

Les Figures A-2 i A-3 mostren l'arxiu de text delimitat per tabuladors generat per la funció *fitweibull* i la sortida per pantalla (consola R), respectivament. Com s'observa en les figures, els tres paràmetres de Weibull estimats (π , a i θ) pel Lot 1 (espiguetes de *D. sanguinalis* emmagatzemades durant 7 mesos) són 0.98, 1.56 i 3.44, mentre que pel Lot 2 (espiguetes de *D. sanguinalis* emmagatzemades 8 mesos) són 0.99, 1.32 i 2.13, respectivament.

Taula A-4. Arxiu d'entrada *data.txt* que conté les dades de germinació de les espiguetes de *D. sanguinalis* emmagatzemades a temperatura ambient durant 7 mesos (id=1) i 8 mesos (id=2) després de la seva recol·lecció. En aquest cas, per a cada lot es va treballar amb 250 llavors (5 plaques de Petri amb 50 llavors). La descripció de les columnes es mostra a la Taula A-1.

id	t	r1	r2	r3	r4	r5	nt
1	1	7	7	8	5	13	250
1	2	6	9	14	7	15	250
1	3	6	4	6	8	6	250
1	4	11	11	8	10	10	250
1	5	9	8	6	9	0	250
1	6	6	4	3	4	2	250
1	7	2	5	3	5	0	250
1	8	1	0	1	2	3	250
1	9	0	0	0	0	0	250
1	10	0	0	1	1	0	250
1	11	0	0	0	0	0	250
1	12	0	0	0	0	0	250
1	13	0	0	0	0	0	250
1	14	0	0	0	0	0	250
1	15	0	0	0	0	0	250
2	1	14	15	22	18	15	250
2	2	12	14	8	12	11	250
2	3	9	6	7	9	9	250
2	4	11	10	9	8	13	250
2	5	0	3	2	2	1	250
2	6	2	1	1	1	1	250
2	7	0	0	0	0	0	250
2	8	1	0	0	0	0	250
2	9	0	0	0	0	0	250
2	10	0	0	1	0	0	250
2	11	0	0	0	0	0	250
2	12	0	0	0	0	0	250
2	13	0	0	0	0	0	250
2	14	0	0	0	0	0	250
2	15	0	0	0	0	0	250

id	p	estimate	p-lcl	p-ucl	a	estimate	a-lcl	a-ucl	c	estimate	c-lcl	c-ucl	wei-
													bull
													deviance
1	0.	98405116398276	0.968591100206008	0.99951122775951	1.55507067114573								
	1.	38345861414758	1.72668272814387	3.44455614726387	3.14844458466503								
	3.	74066770986271	24.110199874764										
2	0.	992001732263154	0.981095414696329	1.00290804982998	1.31532584047561								
	1.	15745707051219	1.47319461043902	2.13295640348078	1.91091887543436								
	2.	35499393152721	34.6194650743047										

Figura A-2. Arxiu de sortida *results.txt* que mostra els paràmetres estimats i la desviància de la funció de Weibull per a les dades avaluades com a exemple; id=1 i id=2 corresponen als resultats de germinació de les espiguetes de *D. sanguinalis* emmagatzemades en sec durant 7 i 8 mesos després de la seva recol·lectades, respectivament. La descripció de les columnes es mostra a la Taula A-3.

```

$estimate
$estimate[[1]]
[1] 0.9840512 1.5550707 3.4445561
$estimate[[2]]
[1] 0.9920017 1.3153258 2.1329564

$ci
$ci[[1]]
[1] 0.9685911 1.3834586 3.1484446 0.9995112 1.7266827 3.7406677
$ci[[2]]
[1] 0.9810954 1.1574571 1.9109189 1.0029080 1.4731946 2.3549939

$dev
$dev[[1]]
[1] 24.1102
$dev[[2]]
[1] 34.61947

$comp_pac
      [,1]      [,2]
[1,]    NA 1.218256e-10
[2,]    NA              NA

$comp_ac
      [,1]      [,2]
[1,]    NA 3.022736e-11
[2,]    NA              NA

$comp_pc
      [,1]      [,2]
[1,]    NA 2.364479e-11
[2,]    NA              NA

$comp_pa
      [,1]      [,2]
[1,]    NA 0.0941885
[2,]    NA              NA

$comp_p
      [,1]      [,2]
[1,]    NA 0.4101455
[2,]    NA              NA

$comp_a
      [,1]      [,2]
[1,]    NA 0.04388635
[2,]    NA              NA

$comp_c
      [,1]      [,2]
[1,]    NA 3.762267e-12
[2,]    NA              NA

```

Figura A-3. Sortida per pantalla de la consola R per a les dades avaluades com a exemple; [[1]] i [[2]] corresponen als resultats de germinació de les espiguetes de *D. sanguinalis* emmagatzemades a temperatura ambient durant 7 i 8 mesos després de la seva recol·lecció, respectivament. La descripció de la sortida per pantalla es mostra a la Taula A-2.

Bibliografia

- Adkins SW; Simpson GM i Naylor JM (1984) The physiological basis of seed dormancy in *Avena fatua* .III. Action of nitrogenous compounds. *Physiologia Plantarum* 60, 227-233.
- Agrios GN (1997) *Plant pathology*. 4a ed. Academic Press, San Diego.
- Aguyoh JN i Masiunas JB (2003) Interference of large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*) with snap beans. *Weed Science* 51, 171-176.
- Alexander HM i Antonovics J (1988) Disease spread and population dynamics of anther-smut infection of *Silene alba* caused by the fungus *Ustilago violacea*. *Journal of Ecology* 76, 91-104.
- Alexander HM; Thrall PH; Antonovics J; Jarosz AM i Oudemans PV (1996) Population dynamics and genetics of plant disease: A case study of anther-smut disease. *Ecology* 77, 990-996.
- Almaraz T (2002) Bases corológicas de flora micológica Ibérica. A: Pando, F (ed.) *Cuadernos de trabajo de flora micológica ibérica*, Vol. 17. Publicaciones CSIC, Madrid.
- Andersson L i Milberg P (1998) Variation in seed dormancy among mother plants, populations and years of seed collection. *Seed Science Research* 8, 29-38.
- AOSA [Association of Official Seed Analyst] (2000) *Tetrazolium testing handbook*. Contribution no. 29. Revised 2000. Online update 2007. [Consulta: 15-03-2009]. Disponible a: <<http://www.aosa-seed.com/TZwebsite/TZupdateindex.html>>.
- Ballaré CL i Casal JJ (2000) Light signals perceived by crop and weed plants. *Field Crops Research* 67, 149-160.
- Bàrberi P i Lo Cascio B (2001) Long-term tillage and crop rotation effects on weed seedbank size and composition. *Weed Research* 41, 325-340.
- Barrett LG; Thrall PH; Burdon JJ i Linde CC (2008) Life history determines genetic structure and evolutionary potential of host-parasite interactions. *Trends in Ecology & Evolution* 23, 678-685.
- Baskin CC i Baskin JM (1998) Ecology of seed dormancy and germination in grasses. A: Cheplick, GP (ed.) *Population biology of grasses*. Cambridge University Press, Cambridge.

- Baskin CC i Baskin JM (2001) *Seeds: Ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination*. Academic Press, San Diego.
- Baskin JM i Baskin CC (2004) A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research* 14, 1-16.
- Batlla D i Benech-Arnold RL (2004) A predictive model for dormancy loss in *Polygonum aviculare* L. seeds based on changes in population hydrotime parameters. *Seed Science Research* 14, 277-286.
- Batlla D i Benech-Arnold RL (2006) The role of fluctuations in soil water content on the regulation of dormancy changes in buried seeds of *Polygonum aviculare* L. *Seed Science Research* 16, 47-59.
- Beckstead J; Meyer SE i Allen PS (1996) *Bromus tectorum* seed germination: between-population and between-year variation. *Canadian Journal of Botany - Revue Canadienne de Botanique* 74, 875-882.
- Beechag GW (2000) Weed management in lawns and sports turf. A: Sindel, BM (ed.) *Australian weed management systems*. R.G i F.J. Richardson, Austràlia.
- Begon M; Harper JL i Townsend CR (2006) *Ecology: From individuals to ecosystems*. 4a ed. Blackwell Publishing, Oxford.
- Begon M; Mortimer M i Thompson DJ (1996) *Population ecology: A unified study of animals and plants*. 3a ed. Blackwell Science, Oxford.
- Benech-Arnold RL; Sánchez RA; Forcella F; Kruk BC i Ghersa CM (2000) Environmental control of dormancy in weed seed banks in soil. *Field Crops Research* 67, 105-122.
- Benvenuti S; Macchia M i Miele S (2001) Quantitative analysis of emergence of seedlings from buried weed seeds with increasing soil depth. *Weed Science* 49, 528-535.
- Bewley JD i Black M (1994) *Seeds: Physiology of development and germination*. Plenum Publishing Corporation, New York.
- Bhowmik PC (1997) Weed biology: Importance to weed management. *Weed Science* 45, 349-356.
- Boguena T; Meyer SE i Nelson DL (2007) Low temperature during infection limits *Ustilago bullata* (Ustilaginaceae, Ustilaginales) disease incidence on *Bromus tectorum* (Poaceae, Cyperales). *Biocontrol Science and Technology* 17, 33-52.
- Bolòs O de; Vigo J; Masalles RM i Ninot JM (2005) *Flora manual dels Països Catalans*. 3a ed. Pòrtic, Barcelona.

- Bridges DC; Wu HI; Sharpe PJH i Chandler JM (1989) Modeling distributions of crop and weed seed germination time. *Weed Science* 37, 724-729.
- Brimner TA i Boland GJ (2003) A review of the non-target effects of fungi used to biologically control plant diseases. *Agriculture Ecosystems & Environment* 100, 3-16.
- Brown RF i Mayer DG (1988a) Representing cumulative germination .1. A critical analysis of single-value germination indexes. *Annals of Botany* 61, 117-125.
- Brown RF i Mayer DG (1988b) Representing cumulative germination .2. The use of the Weibull function and other empirically derived curves. *Annals of Botany* 61, 127-138.
- Bucheli E; Gautschi B i Shykoff JA (2000) Host-specific differentiation in the anther smut fungus *Microbotryum violaceum* as revealed by microsatellites. *Journal of Evolutionary Biology* 13, 188-198.
- Burdon JJ; Groves RH i Cullen JM (1981) The impact of biological control on the distribution and abundance of *Chondrilla juncea* in south-eastern Australia. *Journal of Applied Ecology* 18, 957-966.
- Burdon JJ i Chilvers GA (1982) Host density as a factor in plant disease ecology. *Annual Review of Phytopathology* 20, 143-166.
- Burdon JJ (1987) *Diseases and plant population biology*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Burdon JJ (1993) The structure of pathogen populations in natural plant communities. *Annual Review of Phytopathology* 31, 305-323.
- Burdon JJ; Thrall PH i Ericson L (2006) The current and future dynamics of disease in plant communities. *Annual Review of Phytopathology* 44, 19-39.
- Burdon JJ i Thrall PH (2008) Pathogen evolution across the agro-ecological interface: Implications for disease management. *Evolutionary Applications* 1, 57-65.
- Butt TM; Jackson CW i Magan N (2001) *Fungi as biocontrol agents: Progress, problems and potential*. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Carius HJ; Little TJ i Ebert D (2001) Genetic variation in a host-parasite association: Potential for coevolution and frequency-dependent selection. *Evolution* 55, 1136-1145.
- Carlsson-Granér U i Thrall PH (2006) The impact of host longevity on disease transmission: Host-pathogen dynamics and the evolution of resistance. *Evolutionary Ecology Research* 8, 659-675.
- Carlsson-Granér U i Thrall PH (2002) The spatial distribution of plant populations, disease dynamics and evolution of resistance. *Oikos* 97, 97-110.

- Carretero JL (1989) The cropland weeds of the Valencian community (Spain). A: *Proceedings of the 4th European Weed Research Society (EWRS) Symposium on weed problems in Mediterranean climates. Vol. 2. Problems of weed control, horticultural crops and rice*, 99-112.
- Carretero JL (2004) *Flora arvense española. Las malas hierbas de los cultivos españoles*. Phytoma-España, Valencia.
- Caton BP; Foin TC i Hill JE (1997) Phenotypic plasticity of *Ammannia* spp. in competition with rice. *Weed Research* 37, 33-38.
- Chandramohan S i Charudattan R (2001) Control of seven grasses with a mixture of three fungal pathogens with restricted host ranges. *Biological Control* 22, 246-255.
- Charudattan R (2001) Biological control of weeds by means of plant pathogens: Significance for integrated weed management in modern agro-ecology. *Biocontrol* 46, 229-260.
- Charudattan R (2005) Ecological, practical, and political inputs into selection of weed targets: What makes a good biological control target?. *Biological Control* 35, 183-196.
- Clay K i Kover PX (1996) The Red Queen Hypothesis and plant/pathogen interactions. *Annual Review of Phytopathology* 34, 29-50.
- Cousens R i Mortimer M (1995) *Dynamics of weed populations*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Dahlgren RM; Clifford HT i Yeo PF (1985) *The families of the monocotyledons: Structure, evolution and taxonomy*. Springer-Verlag, Berlin.
- de la Fuente EB; Suárez SA; Ghersa CM i León RJ (1999) Soybean weed communities: Relationships with cultural history and crop yield. *Agronomy Journal* 91, 234-241.
- Delouche JC (1956) Dormancy in seeds of *Agropyron smithii*, *Digitaria sanguinalis* and *Poa pratensis*. *Iowa State College Journal of Science* 30, 348-349.
- Dinoor A i Eshed N (1984) The role and importance of pathogens in natural plant communities. *Annual Review of Phytopathology* 22, 443-466.
- Ellis RH; Hong TD i Roberts EH (1985) *Handbook of seed technology for genebanks. Vol. II. Compendium of specific germination information and test recommendations*. International Board for Plant Genetic Resources, Roma.
- El-Sayed W (2005) Biological control of weeds with pathogens: Current status and future trends. *Journal of Plant Diseases and Protection* 112, 209-221.
- Falloon RE (1976) Effect of infection by *Ustilago bullata* on vegetative growth of *Bromus catharticus*. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 19, 249-254.

- Farr, DF; Rossman, AY; Palm, ME i McCray, EB. [en línea]: *Fungal databases, systematic botany & mycology laboratory, ARS, USDA*. [Consulta: 01/03/2009]. Disponible a: <<http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/index.cfm>>
- Fenner M i Kitajima K (1999) Seed and seedling ecology. A: Pugnaire, FI i Valladares, F (ed.) *Handbook of functional plant ecology*. Marcel Dekker, New York.
- Fenner M (1995) Ecology of seed banks. A: Kigel, J i Galili, G (ed.) *Seed development and germination*. Marcel Dekker Inc ed., New York.
- Fenner M i Thompson K (2005) *The ecology of seeds*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Fernández-Quintanilla C; Navarrete L; Andújar JLG; Fernández A i Sánchez MJ (1986) Seedling recruitment and age-specific survivorship and reproduction in populations of *Avena sterilis* L. ssp. *ludoviciana* (Durieu) Nyman. *Journal of Applied Ecology* 23, 945-955.
- Fernández-Quintanilla C; Quadranti M; Kudsk P i Bärberi P (2008) Which future for weed science? *Weed Research* 48, 297-301.
- Finch-Savage WE i Leubner-Metzger G (2006) Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist* 171, 501-523.
- Fischer GW (1936) The longevity of smut spores in herbarium specimens. *Phytopathology* 26, 1118-1127.
- Fischer GW i Holton CS (1957) *Biology and control of the smut fungi*. Ronald Press, New York.
- Foley ME (2001) Seed dormancy: An update on terminology, physiological genetics, and quantitative trait loci regulating germinability. *Weed Science* 49, 305-317.
- Forcella F (1998) Application of weed seed bank ecology to weed management. A: *Report of the expert consultation on weed ecology and management*. Plant Production and Protection Division, FAO, Roma.
- Forcella F; Arnold RLB; Sanchez R i Ghera CM (2000) Modeling seedling emergence. *Field Crops Research* 67, 123-139.
- Fox GA (1993) Failure-time analysis: Emergence, flowering, survivorship, and other waiting times. A: Scheiner, SM i Gurevitch, J (ed.) *Design and analysis of ecological experiments*. Chapman and Hall, New York.
- Fraga MI; Sahuquillo E i Baleato JC (1993) Evolución de la flora arvense en cultivos de maíz de Galicia a lo largo del desarrollo del cultivo. A: *Actas del Congreso de 1993 de la Sociedad Española de Malherbología (SEMh)*. *La transferencia de tecnología en malherbología*, 54-56.

- Gago P; Cabaleiro C i García J (2007) Preliminary study of the effect of soil management systems on the adventitious flora of a vineyard in northwestern Spain. *Crop Protection* 26, 584-591.
- García-Guzmán G; Burdon JJ i Nicholls AO (1996) Effects of the systemic flower infecting-smut *Ustilago bullata* on the growth and competitive ability of the grass *Bromus catharticus*. *Journal of Ecology* 84, 657-665.
- García-Guzmán G i Burdon JJ (1997) Impact of the flower smut *Ustilago cynodontis* (Ustilaginaceae) on the performance of the clonal grass *Cynodon dactylon* (Gramineae). *American Journal of Botany* 84, 1565-1571.
- Gaskin TA (1958) Studies on crabgrass smut, *Ustilago syntherismae*. *Plant Disease Reporter* 42, 735-736.
- Geber MA i Griffen LR (2003) Inheritance and natural selection on functional traits. *International journal of plant sciences* 164, S21-S42.
- Ghersa CM; Benech-Arnold RL; Satorre EH i Martínez-Ghersa MA (2000) Advances in weed management strategies. *Field Crops Research* 67, 95-104.
- Ghersa CM i Martínez-Ghersa MA (2000) Ecological correlates of weed seed size and persistence in the soil under different tilling systems: Implications for weed management. *Field Crops Research* 67, 141-148.
- Gianfagna AJ i Pridham AMS (1951) Some aspects of dormancy and germination of crabgrass seed, *Digitaria sanguinalis* Scop. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 58, 291-297.
- Gilbert GS (2002) Evolutionary ecology of plant diseases in natural ecosystems. *Annual Review of Phytopathology* 40, 13-43.
- Giles BE; Pettersson TM; Carlsson-Graner U i Ingvarsson PK (2006) Natural selection on floral traits of female *Silene dioica* by a sexually transmitted disease. *New Phytologist* 169, 729-739.
- Gomez KA i Gomez AA (1984) *Statistical procedures for agricultural research*. 2a ed. Wiley-Interscience Publication, New York.
- González-Andújar JL; Jiménez-Hidalgo M; García-Torres L i Saavedra M (2005) Demography and population dynamic of the arable weed *Phalaris brachystachys* L. (short-spiked canary grass) in winter wheat. *Crop Protection* 24, 581-584.

- Govinthasamy T i Cavers PB (1995) The effects of smut (*Ustilago destruens*) on seed production, dormancy, and viability in fall panicum (*Panicum dichotomiflorum*). *Canadian Journal of Botany - Revue Canadienne de Botanique* 73, 1628-1634.
- Grundy AC (2003) Predicting weed emergence: A review of approaches and future challenges. *Weed Research* 43, 1-11.
- Guillerm JL i Maillet J (1982) Western mediterranean countries of Europe. A: Holzner, W i Numata, M (ed.) *Biology and ecology of weeds (Geobotany, 2)*. Dr W. Junk Publishers, The Hague, Boston.
- Gutterman Y (2000) Maternal effects on seeds during development. A: Fenner, M (ed.) *Seeds: The ecology of regeneration in plant communities*. 2a ed. CABI Publishing, Wallingford (UK).
- Halsted BD (1899) Mycological notes. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 26, 12-20.
- Harper JL (1977) *Population biology of plants*. Academic Press, New York.
- Hart SE; Lycan DW i Murphy JA (2004) Use of quinclorac for large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*) control in newly summer-seeded creeping bentgrass (*Agrostis stolonifera*). *Weed Technology* 18, 375-379.
- Heap, I. [en línea]: *The international survey of herbicide resistant weeds*. [Consulta: 01/03/2009]. Disponible a: <<http://www.weedscience.org>>.
- Hernández-Crespo, J.C. [en línea]: *SIMIL, Sistema de información micológica ibérica*. [Consulta: 03/01/2009]. Disponible a: <<http://www.rjb.csic.es/fmi/sim.php>>.
- Hilton JR i Thomas JA (1986) Regulation of pregerminative rates of respiration in seeds of various weed species by potassium nitrate. *Journal of Experimental Botany* 37, 1516-1524.
- Holm LG; Plucknett DL; Pancho JV i Herberger JP (1977) *The world's worst weeds: Distribution and biology*. University of Hawaii Press, Honolulu.
- Holst N; Rasmussen IA i Bastiaans L (2007) Field weed population dynamics: A review of model approaches and applications. *Weed Research* 47, 1-14.
- Hufbauer RA i Roderick GK (2005) Microevolution in biological control: Mechanisms, patterns, and processes. *Biological Control* 35, 227-239.
- ICC [Institut Cartogràfic de Catalunya] (1996) *Atlas climàtic de Catalunya. Termoplúviometria*. Generalitat de Catalunya. Departament de Política Territorial i Obres Públiques.
- ISTA [International Seed Testing Association] (1985) International rules for seed testing. Rules 1985. *Seed Science and Technology* 13, 299-515.

- Jarosz AM i Davelos AL (1995) Effects of disease in wild plant populations and the evolution of pathogen aggressiveness. *New Phytologist* 129, 371-387.
- Johnson BJ (1997) Sequential applications of preemergence and postemergence herbicides for large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*) control in tall fescue (*Festuca arundinacea*) turf. *Weed Technology* 11, 693-697.
- Johnson DA i Baudoin ABAM (1997) Mode of infection and factors affecting disease incidence of loose smut of crabgrass. *Biological Control* 10, 92-97.
- Josa R; Hereter A i Bech J (1984) Els sòls de la finca “Torre Marimon”: Exemple d'un estudi de sòls al Vallès Occidental. *Arxius de l'Escola Superior d'Agricultura de Barcelona* 6, 19-35.
- Karlsson PS Méndez M (2005) The resource economy of plant reproduction. A: Reekie EG, Bazzaz, F (ed.) *Reproductive allocation in plants*. Elsevier Academic Press, San Diego.
- Kato-Noguchi H (2001) Assessment of the allelopathic potential of *Ageratum conyzoides*. *Biologia Plantarum* 44, 309-311.
- Kato-Noguchi H i Tanaka Y (2003) Effects of capsaicin on plant growth. *Biologia Plantarum* 47, 157-159.
- Kim TJ; Neal JC; Ditomaso JM i Rossi FS (2002) A survey of weed scientists' perceptions on the significance of crabgrasses (*Digitaria* spp.) in the United States. *Weed Technology* 16, 239-242.
- King CA i Oliver LR (1994) A model for predicting large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*) emergence as influenced by temperature and water potential. *Weed Science* 42, 561-567.
- Kolk LA (1943) Germination of grass smuts. *American Journal of Botany* 30, 317-330.
- Kong CH; Liang WJ; Hu F; Xu XH; Wang P; Jiang Y i Xing BS (2004) Allelochemicals and their transformations in the *Ageratum conyzoides* intercropped citrus orchard soils. *Plant and Soil* 264, 149-157.
- Kruk BC i Benech-Arnold RL (1998) Functional and quantitative analysis of seed thermal responses in prostrate knotweed (*Polygonum aviculare*) and common purslane (*Portulaca oleracea*). *Weed Science* 46, 83-90.
- Li H i Yang Y (2008) Phenotypic plasticity of life history characteristics: Quantitative analysis of delayed reproduction of green foxtail (*Setaria viridis*) in the Songnen Plain of China. *Journal of Integrative Plant Biology* 50, 641-647.
- Liebman M; Mohler CL i Staver CP (2001) *Ecological management of agricultural weeds*. Cambridge University Press, Cambridge.

- Lindquist JL; Maxwell BD; Buhler DD i Gunsolus JL (1995) Velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) recruitment, survival, seed production, and interference in soybean (*Glycine max*). *Weed Science* 43, 226-232.
- Lutz M; Platek M; Kemler M; Chlebicki A i Oberwinkler F (2008) Anther smuts of Caryophyllaceae: Molecular analyses reveal further new species. *Mycological Research* 112, 1280-1296.
- Mack RN i Pyke DA (1984) The demography of *Bromus tectorum*: The role of microclimate, grazing and disease. *Journal of Ecology* 72, 731-748.
- Marqués X; Puig E; Puiggrós JM; Saus J; Sebastià MT; Taberner A i Vila-Hors JP (1983) *Manual de les males herbes dels conreus de Catalunya*. Obra Agrícola de la Caixa de Pensions i Institució Catalana d'Estudis Agraris, Barcelona.
- Martin WJ (1943) A study of the genetics of *Sorosporium syntherismae* and *Sphacelotheca panici-miliacei*. *Phytopathology* 33, 569-585.
- Mas MT i Verdú AMC (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, 299-310.
- Mas MT; Verdú AMC i Girbal J (2006) New report of loose smut (*Ustilago syntherismae*) on *Digitaria sanguinalis* in Spain. *Plant Pathology* 55, 298-298.
- Masin R; Zuin MC; Archer DW; Forcella F i Zanin G (2005) WeedTurf: A predictive model to aid control of annual summer weeds in turf. *Weed Science* 53, 193-201.
- Masin R; Zuin MC; Otto S i Zanin G (2006) Seed longevity and dormancy of four summer annual grass weeds in turf. *Weed Research* 46, 362-370.
- McFadyen REC (1998) Biological control of weeds. *Annual Review of Entomology* 43, 369-393.
- McIntyre GI; Cessna AJ i Hsiao AI (1996) Seed dormancy in *Avena fatua*: Interacting effects of nitrate, water and seed coat injury. *Physiologia Plantarum* 97, 291-302.
- McIntyre GI (1997) The role of nitrate in the osmotic and nutritional control of plant development. *Australian Journal of Plant Physiology* 24, 103-118.
- Menalled FD; Gross KL i Hammond M (2001) Weed aboveground and seedbank community responses to agricultural management systems. *Ecological Applications* 11, 1586-1601.
- Meyer SE; Nelson DL i Clement S (2001) Evidence for resistance polymorphism in the *Bromus tectorum* - *Ustilago bullata* pathosystem: Implications for biocontrol. *Canadian Journal of Plant Pathology - Revue Canadienne de Phytopathologie* 23, 19-27.

- Milliken GA i Johnson DE (2002) *Analysis of messy data: Analysis of covariance*. Chapman & Hall/CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Milton JS (1992) *Statistical methods in the biological and health sciences*. 2a ed. McGraw-Hill, New York.
- Mitich LW (1988) Intriguing world of weeds: Crabgrass. *Weed Technology* 2, 114-115.
- Mohler CL i Callaway MB (1992) Effects of tillage and mulch on the emergence and survival of weeds in sweet corn. *Journal of Applied Ecology* 29, 21-34.
- Mohler CL i Callaway MB (1995) Effects of tillage and mulch on weed seed production and seed banks in sweet corn. *Journal of Applied Ecology* 32, 627-639.
- Monks DW i Schultheis JR (1998) Critical weed-free period for large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*) in transplanted watermelon (*Citrullus lanatus*). *Weed Science* 46, 530-532.
- Moonen AC i Bàrberi P (2004) Size and composition of the weed seedbank after 7 years of different cover-crop-maize management systems. *Weed Research* 44, 163-177.
- Mordue JEM (1995) *Ustilago syntherismae*. IMI Descriptions of fungi and bacteria. Sheet 1249. CABI International.
- Morrison JA (1996) Infection of *Juncus dichotomus* by the smut fungus *Cintractia junci*: An experimental field test of the effects of neighbouring plants, environment, and host plant genotype. *Journal of Ecology* 84, 691-702.
- Mortensen DA; Bastiaans L i Sattin M (2000) The role of ecology in the development of weed management systems: An outlook. *Weed Research* 40, 49-62.
- Müller-Schärer H; Scheepens PC i Greaves MP (2000) Biological control of weeds in European crops: Recent achievements and future work. *Weed Research* 40, 83-98.
- Mulugeta D i Stoltenberg DE (1998) Influence of cohorts on *Chenopodium album* demography. *Weed Science* 46, 65-70.
- Myers MW; Curran WS; VanGessel MJ; Calvin DD; Mortensen DA; Majek BA; Karsten HD i Roth GW (2004) Predicting weed emergence for eight annual species in the northeastern United States. *Weed Science* 52, 913-919.
- Navas ML (1991) Using plant population biology in weed research: A strategy to improve weed management. *Weed Research* 31, 171-179.
- Norris RF (2007) Weed fecundity: Current status and future needs. *Crop Protection* 26, 182-188.

- Norsworthy JK; Malik MS; Jha P i Riley MB (2007) Suppression of *Digitaria sanguinalis* and *Amaranthus palmeri* using autumn-sown glucosinolate-producing cover crops in organically grown bell pepper. *Weed Research* 47, 425-432.
- Norsworthy JK (2008) Effect of tillage intensity and herbicide programs on changes in weed species density and composition in the southeastern coastal plains of the United States. *Crop Protection* 27, 151-160.
- Norton JBS (1896) A study of the Kansas *Ustilagineae*, especially with regard to their germination. *Transactions of the Academy of Science of St. Louis* 7, 229-241.
- Nus JL i Hodges CF (1990) Tiller and rhizome growth of water-stressed *Poa pratensis* 'Merion' infected by *Ustilago striiformis* or *Urocystis agropyri*. *Plant Disease* 74, 886-888.
- Oreja FH i de la Fuente EB (2005) Dinámica poblacional del pasto cuaresma (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.) en cultivos de soja de la Pampa Ondulada. A: *Actas del XVII Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas*.
- Oreja FH i González-Andújar JL (2007) Modelling competition between large crabgrass and glyphosate-resistant soybean in the Rolling Pampas of Argentina. *Communications in Biometry and Crop Science* 2, 62-67.
- Peters RA i Dunn S (1971) *Life history studies as related to weed control in the northeast: 6 - Large and small crabgrass. Bulletin 415*. Northeast Regional Publication, Storrs Agricultural Experiment Station, Connecticut.
- Pierce GL; Warren SL; Mikkelsen RL i Linker HM (1999) Effects of soil calcium and pH on seed germination and subsequent growth of large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*). *Weed Technology* 13, 421-424.
- Probert RJ; Smith RD i Birch P (1985) Germination responses to light and alternating temperatures in European populations of *Dactylis glomerata* L. III. The role of the outer covering structures. *New Phytologist* 100, 447-455.
- Pyke DA i Thompson JN (1986) Statistical analysis of survival and removal rate experiments. *Ecology* 67, 240-245.
- R Development Core Team. [en línea]: R: *A language and environment for statistical computing*. [Consulta: 05-04-2009]. Disponible a: <<http://www.R-project.org>>.
- Radosevich SR; Holt JS i Ghersa CM (2007) *Ecology of weeds and invasive plants: Relationship to agriculture and natural resource management*. 3a. ed. Wiley Interscience, New Jersey.

- Reicher ZJ; Weisenberger DV i Throssell CS (1999) Turf safety and effectiveness of dithiopyr and quinclorac for large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*) control in spring-seeded turf. *Weed Technology* 13, 253-256.
- Robert-Seilaniantz A; Navarro L; Bari R i Jones JD (2007) Pathological hormone imbalances. *Current Opinion in Plant Biology* 10, 372-379.
- Ros R (2008) Germinació de llavors de *Digitaria sanguinalis*: Paper de les cobertes i requeriments tèrmics. Treball de Fi de Carrera. Escola Superior d'Agricultura de Barcelona (UPC). Disponible a: <<http://upcommons.upc.edu/pfc/handle/2099.1/5188>>
- Rost TL (1975) Morphology of germination in *Setaria lutescens* (Gramineae): The effects of covering structures and chemical inhibitors on dormant and non-dormant florets. *Annals of Botany* 39, 21-30.
- Saavedra M; García-Torres L; Hernández-Bermejo E i Hidalgo B (1990) Influence of environmental factors on the weed flora in crops in the Guadalquivir Valley. *Weed Research* 30, 363-374.
- Sacristán S i García-Arenal F (2008) The evolution of virulence and pathogenicity in plant pathogen populations. *Molecular Plant Pathology* 9, 369-384.
- Sagar GR i Mortimer AM (1976) An approach to the study of the population dynamics of plants with special reference to weeds. *Annals of Applied Biology* 1, 1-47.
- Sans FX; Pino J i Masalles RM (1991) Los cultivos herbáceos de las comarcas pirenaicas leridanas: Analisis de la flora arvense. A: *Actas del Congreso de 1991 de la Sociedad Española de Malherbología (SEMh). Control de malezas en agricultura sostenible*, 156-159.
- Sans FX i Masalles RM (1994) Life-history variation in the annual arable weed *Diploaxis erucoides* (Cruciferae). *Canadian Journal of Botany - Revue Canadienne de Botanique* 72, 10-19.
- Sans FX i Masalles RM (1997) Demography of the arable weed *Diploaxis erucoides* in central Catalonia, Spain. *Canadian Journal of Botany - Revue Canadienne de Botanique* 75, 86-95.
- SAS Institute Inc. (1999) *SAS OnlineDoc®*, version 8. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.
- Schroeder D; Muellerschaerer H i Stinson CSA (1993) A European weed survey in 10 major crop systems to identify targets for biological control. *Weed Research* 33, 449-458.
- Scott SJ; Jones RA i Williams WA (1984) Review of data analysis methods for seed germination. *Crop Science* 24, 1192-1199.
- Shitaka Y i Hirose T (1993) Timing of seed germination and the reproductive effort in *Xanthium canadense*. *Oecologia* 95, 334-339.

- Silvertown J i Charlesworth D (2001) *Introduction to plant population biology*. 4a ed. Blackwell Publishing, Oxford.
- Simpson GM (1990) *Seed dormancy in grasses*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Sloan DB; Giraud T i Hood ME (2008) Maximized virulence in a sterilizing pathogen: The anther-smut fungus and its co-evolved hosts. *Journal of Evolutionary Biology* 21, 1544-1554.
- Smith IM; Dunez J; Lelliott RA; Phillips DH i Archer SA (1988) *European handbook of plant diseases*. Blackwell Publishing, Oxford.
- Smith MC i Holt J (1997) Analytical models of weed biocontrol with sterilizing fungi: The consequences of differences in weed and pathogen life-histories. *Plant Pathology* 46, 306-319.
- Steinmaus SJ; Prather TS i Holt JS (2000) Estimation of base temperatures for nine weed species. *Journal of Experimental Botany* 51, 275-286.
- Swanton CJ; Huang JZ; Shrestha A; Tollenaar M; Deen W i Rahimian H (2000) Effects of temperature and photoperiod on the phenological development of barnyardgrass. *Agronomy Journal* 92, 1125-1134.
- Taylorson RB i Brown MM (1977) Accelerated after-ripening for overcoming seed dormancy. *Weed Science* 25, 473-475.
- Thrall PH i Jarosz AM (1994a) Host-pathogen dynamics in experimental populations of *Silene alba* and *Ustilago violacea*. I. Ecological and genetic determinants of disease spread. *Journal of Ecology* 82, 549-559.
- Thrall PH i Jarosz AM (1994b) Host-pathogen dynamics in experimental populations of *Silene alba* and *Ustilago violacea* .II. Experimental tests of theoretical models. *Journal of Ecology* 82, 561-570.
- Tilley AM i Walker HL (2002) Evaluation of *Curvularia intermedia* (*Cochliobolus intermedius*) as a potential microbial herbicide for large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*). *Biological Control* 25, 12-21.
- Tilman D (1982) *Resource competition and community structure*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Toole EH i Toole VK (1941) Progress of germination of seed of *Digitaria* as influenced by germination temperature and other factors. *Journal of Agricultural Research* 63, 65-90.

- Torra J; González-Andújar JL i Recasens J (2008) Modelling the population dynamics of *Papaver rhoeas* under various weed management systems in a Mediterranean climate. *Weed Research* 48, 136-146.
- Torra J i Recasens J (2008) Demography of corn poppy (*Papaver rhoeas*) in relation to emergence time and crop competition. *Weed Science* 56, 826-833.
- Tuesca D; Puricelli E i Papa JC (2001) A long-term study of weed flora shifts in different tillage systems. *Weed Research* 41, 369-382.
- Van Acker RC (2009) Weed biology serves practical weed management. *Weed Research* 49, 1-5.
- Van Putten WF; Biere A i Van Damme JMM (2005) Host-related genetic differentiation in the anther smut fungus *Microbotryum violaceum* in sympatric, parapatric and allopatric populations of two host species *Silene latifolia* and *S. dioica*. *Journal of Evolutionary Biology* 18, 203-212.
- Vánky K (1994) *European smut fungi*. Gustav Fisher Verlag, Stuttgart, Alemania.
- Vánky K (1999) Taxonomical studies on Ustilaginales. XIX. *Mycotaxon* 73, 135-161.
- Vánky K (2002) *Illustrated genera of smut fungi*. 2a ed. APS Press, St. Paul, Minnesota.
- Verdú AMC i Mas MT (2003) Efecto del laboreo del suelo en la distribución espacial de las semillas de *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop. seeds. A: *Actas del Congreso de 2003 de la Sociedad Española de Malherbología (SEMh)*. *Malherbología: Investigación y práctica*, 194-198.
- Vigo J; Carreras J i Ferré A [eds.] (2006) *Manual dels hàbitats de Catalunya. Vol. VIII. 8: Terres agrícoles i àrees antròpiques*. Departament de Medi Ambient i Habitatge. Generalitat de Catalunya, Barcelona.
- Vincent EM i Roberts EH (1977) Interaction of light, nitrate and alternating temperature in promoting germination of dormant seeds of common weed species. *Seed Science and Technology* 5, 659-670.
- Walker RH; Wehtje G i Richburg JS,III (1998) Interference and control of large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*) and southern sandbur (*Cenchrus echinatus*) in forage bermudagrass (*Cynodon dactylon*). *Weed Technology* 12, 707-711.
- Weiner J; Berntson GM i Thomas SC (1990) Competition and growth form in a woodland annual. *Journal of Ecology* 78, 459-469.
- Wennström A (1994) Systemic-diseases on hosts with different growth patterns. *Oikos* 69, 535-538.

- Wennström A (1999) The effect of systemic rusts and smuts on clonal plants in natural systems. *Plant Ecology* 141, 93-97.
- Wennström A; Ericson L i García-Guzmán G (2003) The concept of sexually transmitted diseases in plants: Definition and applicability. *Oikos* 100, 397-402.
- Wiederholt RJ i Stoltenberg DE (1996) Similar fitness between large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*) accessions resistant or susceptible to acetyl-coenzyme A carboxylase inhibitors. *Weed Technology* 10, 42-49.
- Wyse DL (1992) Future of weed science research. *Weed Technology* 6, 162-165.
- Xu Q; Bughrara SS; Nelson CJ i Coutts JH (2005) Mechanisms of seed dormancy in zoysia (*Zoysia japonica* Steud.). *Seed Science and Technology* 33, 543-550.
- Zanin G; Otto S; Riello L i Borin M (1997) Ecological interpretation of weed flora dynamics under different tillage systems. *Agriculture Ecosystems & Environment* 66, 177-188.