



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

Dormición de semillas de especies sexuales de *Paspalum* del grupo Dilatata (Poaceae): estudios ecológicos, fisiológicos y genéticos

Nicolás Alberto Glison Lartigau

Doctorado en Ciencias Agrarias

8 de setiembre de 2023

**Dormición de semillas de especies
sexuales de *Paspalum* del grupo Dilatata
(Poaceae): estudios ecológicos,
fisiológicos y genéticos**

Nicolás Alberto Glison Lartigau

Doctorado en Ciencias Agrarias

8 de setiembre de 2023

Tesis aprobada por el tribunal integrado por el Ing. Agr. (PhD.) Carlos Acuña (presidente del tribunal), el Ing. Agr. (PhD.) Roberto Benech-Arnold, y la Lic. Cs. Biol. (Dra.) Claudia Rodríguez Fabregas (vocales), el 8 de setiembre de 2023.

Autor: Lic. Bioquim. (Mag.) Nicolás Glison.

Director: Ing. Agr. (PhD.) Pablo Rafael Speranza.

AGRADECIMIENTOS

A los integrantes del tribunal: Roberto Benech-Arnold, Claudia Rodríguez y Carlos Acuña, por haberse tomado el tiempo de leer y evaluar el trabajo. También, a mi tutor de tesis de doctorado, Pablo Speranza, quien estuvo siempre a la orden para ayudarme a avanzar, lo cual se valora mucho.

A los colegas investigadores de otros sitios, en particular, el grupo que investiga la biología de semillas de la FAUBA y el IFEVA, y al grupo de doctorandos con los cuales trabajé un buen rato por el 2015. Agradezco en especial a María Verónica Rodríguez por sus charlas e intercambios.

Quiero agradecer especialmente a quienes han aceptado ser coautores de los artículos contenidos en esta tesis: Diego Batlla, Pablo Rush, Eduardo Musacchio, David Romero, José Carlos Guerrero, Virginia Rosso y Eliana Monteverde.

A mis compañeros del Laboratorio de Fisiología Vegetal, por acompañar en las buenas y las malas. En especial, le agradezco y dedico este trabajo a Luis Viega que nos cobijó y enseñó su experiencia hasta el momento de su fallecimiento.

A los compañeros del Laboratorio de LEDP, con quienes compartimos trabajos y seminarios que nos permitieron seguir creciendo en conjunto.

A los compañeros funcionarios no docentes Yolanda Fernández y Matías Antuoni, quienes colaboraron mucho con concretar las actividades prácticas. Un recuerdo muy especial a la colaboración de Julio Sburlatti, que se jubiló y lo extrañamos.

A mi hermano Federico, a mi tía Graciela y a sus familias por su apoyo. Un agradecimiento especial a mi madre, la hinchita número uno. Además, un recuerdo a mi fallecido padre que, en los últimos meses de su vida, finalmente, se interesó en mi trabajo.

A Maura, mi esposa, y a Anaclara y Lucía, mis hijas, por estar presentes, por haberme bancado, y por el apoyo incondicional. No lo hubiera logrado sin ustedes como faro.

TABLA DE CONTENIDOS

	página
PÁGINA DE APROBACIÓN	III
AGRADECIMIENTOS	IV
TABLA DE CONTENIDOS.....	V
RESUMEN.....	VIII
SUMMARY	IX
1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
1.2. OBJETIVOS.....	4
1.2.1. <u>Objetivo general</u>	4
1.2.2. <u>Objetivos específicos</u>	4
2. <u>IMPORTANCIA DE LA DORMICIÓN DE SEMILLAS PARA LA ADOPCIÓN Y LA DOMESTICACIÓN DE CULTIVOS DE GRAMÍNEAS</u>	5
2.1. ANTECEDENTES Y MOTIVACIÓN	5
2.2. DORMICIÓN DE LAS SEMILLAS	6
2.2.1. <u>Definición, características generales y clasificación por mecanismo de dormición</u>	6
2.2.2. <u>Bases de la dormición fisiológica</u>	6
2.2.3. <u>Factores que modifican nivel de dormición fisiológica</u>	7
2.2.3.1. Efecto materno sobre la dormición primaria	7
2.2.3.2. Factores de ambiente que modifican la dormición luego de la dispersión	8
2.2.3.3. Efecto dual del ambiente sobre la germinación y la dormición.....	9
2.2.3.4. Factores ambientales que terminan la dormición	10
2.2.4. <u>Bases genéticas de la dormición fisiológica</u>	11
2.2.4.1. Dormición asociada con el balance hormonal ABA/GA.....	11
2.2.4.2. Genes propios de la dormición de semillas	13
2.2.5. <u>Características comunes de la dormición fisiológica en semillas de gramíneas</u>	15
2.3. <u>IMPORTANCIA DE LA DORMICIÓN DE SEMILLAS EN LA SELECCIÓN DE POBLACIONES NATURALES</u>	16
2.3.1. <u>Selección natural y adaptación local de la dormición de semillas</u>	16
2.3.2. <u>Factores que explican variabilidad de la dormición de semillas entre especies</u>	18

2.3.3. <u>Factores que explican variabilidad intraespecífica de la dormición</u>	19
2.4. DOMESTICACIÓN DE CULTIVOS Y DORMICIÓN DE SEMILLAS	20
2.4.1. <u>Características de las semillas asociadas a la domesticación</u>	20
2.4.2. <u>Baja dormición de semillas en cultivos domesticados: ventajas y problemas</u>	20
2.4.3. <u>Dormición de semillas en cultivos poco domesticados: caso de gramíneas forrajeras</u>	22
2.4.3.1. Dormición de semillas en raigrás y festuca	23
2.4.3.2. Dormición de semillas en gramíneas forrajeras estivales.....	24
2.5. CONSIDERAR LA DORMICIÓN DE SEMILLAS PARA UNA MÁS EFICIENTE ADOPCIÓN DE GRAMÍNEAS NATIVAS	26
3. <u>MODELADO DE LA EMERGENCIA DE PLÁNTULAS EN ESPECIES DE PASPALUM USANDO DATOS AMBIENTALES DE EXPERIMENTOS A CAMPO</u>	27
3.1. AUTORES Y FILIACIONES	27
3.2. RESUMEN EN ESPAÑOL	27
3.3. MODELLING SEEDLING EMERGENCE IN PASPALUM SPECIES USING ENVIRONMENTAL DATA FROM FIELD EXPERIMENTS	29
3.3.1. <u>Introduction</u>	29
3.3.2. <u>Materials and Methods</u>	31
3.3.3. <u>Results</u>	33
3.3.4. <u>Discussion</u>	37
3.3.5. <u>Conclusions</u>	40
3.3.6. <u>References</u>	41
4. <u>ENTENDIENDO LOS PATRONES GEOGRÁFICOS DE ESPECIES DE PASPALUM (POACEAE) ESTRECHAMENTE RELACIONADAS USANDO MODELADOS DE LA DISTRIBUCIÓN Y CARACTERÍSTICAS DE LA GERMINACIÓN DE LAS SEMILLAS</u>	44
4.1. AUTORES Y FILIACIONES	44
4.2. RESUMEN EN ESPAÑOL	44
4.3. UNDERSTANDING THE GEOGRAPHIC PATTERNS OF CLOSELY- RELATED SPECIES OF <i>PASPALUM</i> (POACEAE) USING DISTRIBUTION MODELLING AND GERMINATION TRAITS	46
4.3.1. <u>Introduction</u>	46
4.3.2. <u>Results</u>	48
4.3.3. <u>Discussion</u>	53
4.3.4. <u>Materials and Methods</u>	54

4.3.5. <u>Conclusions</u>	58
4.3.6. <u>Appendix</u>	59
4.3.7. <u>References</u>	63
5. <u>ANÁLISIS DE QTL PARA LA DORMICIÓN DE SEMILLAS EN UNA POBLACIÓN DE LÍNEAS RECOMBINANTES DE <i>PASPALUM</i> DEL GRUPO DILATATA.</u>	69
5.1. RESUMEN	69
5.2. INTRODUCCIÓN	70
5.3. MATERIALES Y MÉTODOS	74
5.3.1. <u>Genotipos parentales y obtención de población de mapeo</u>	74
5.3.2. <u>Ensayo a campo</u>	74
5.3.3. <u>Ensayos de germinación</u>	75
5.3.4. <u>Análisis del fenotipado de germinación</u>	76
5.3.5. <u>Genotipado de la población, obtención de SNP y construcción del mapa genético</u>	76
5.3.6. <u>Análisis de QTL</u>	77
5.4. RESULTADOS	78
5.4.1. <u>Análisis del fenotipado de la germinación</u>	78
5.4.2. <u>Construcción del mapa genético</u>	79
5.4.3. <u>Localización de QTL para la germinación/dormición de semillas</u>	80
5.4.4. <u>Efectos epistáticos y comparación entre genotipos de los QTL</u>	82
5.5. DISCUSIÓN.....	83
5.5.1. <u>QTL para la dormición de semillas en <i>Paspalum</i></u>	83
5.5.2. <u>Consideraciones finales</u>	86
5.6. ANEXO: FIGURAS Y TABLAS SUPLEMENTARIAS.....	87
6. <u>DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES</u>	90
6.1. DISCUSIÓN GENERAL	90
6.1.1. <u>Principales resultados</u>	90
6.1.2. <u>Discusión general</u>	92
6.2. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	95
7. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	96

RESUMEN

Paspalum dilatatum es una gramínea perenne estival cuya incorporación a las pasturas sembradas es deseada. Sin embargo, como otras especies no domesticadas, presenta una emergencia de plántulas deficiente e irregular explicada por la dormición de semillas. Esta característica es altamente variable y dependiente del genotipo. *Paspalum dilatatum* no puede ser mejorado porque es apomíctico, pero existen especies sexuales autógamas emparentadas con *P. dilatatum*, que pueden producir híbridos fértiles que pueden mejorarse por métodos convencionales. Para obtener un cultígeno atractivo, es necesario conocer la expresión y la heredabilidad de la dormición de semillas en estas especies. En este trabajo, se exploraron aspectos ecológicos, fisiológicos y genéticos de la dormición de semillas en las especies sexuales de *Paspalum* del grupo Dilatata. Primero, se modeló la emergencia de plántulas a campo de distintas especies de *Paspalum* con variables de ambiente, y los modelos se relacionaron con la dormición de semillas. Se evidenció que la dinámica de la emergencia depende de la temperatura y la humedad del suelo. Contrario a lo esperado, las altas temperaturas redujeron la cantidad de plántulas emergidas, dado a una mayor expresión de la dormición. Segundo, se cuantificó la dormición de semillas de las especies sexuales del grupo Dilatata y se evaluó si las diferencias entre especies pueden explicar sus distribuciones geográficas. *Paspalum urvillei* tiene una mayor área de distribución que se explicó por una baja dormición. Mientras que las demás especies (*P. dasypleurum*, *P. flavescens*, *P. plurinerve* y *P. vacarianum*), con distribuciones más restringidas y alopátricas, mostraron niveles de dormición mayores asociados al nivel de precipitaciones de sus respectivos sitios de origen. Tercero, se buscaron QTL para la dormición de semillas para una población de líneas endocriadas recombinantes entre *P. flavescens* y *P. plurinerve*. Se fenotipó la germinación de la población y el mapa genético se obtuvo por genotipado por secuenciación. Se encontraron cuatro QTL significativos para la dormición de semillas en estas especies. Los fenotipos se explican por el efecto aditivo de más de un locus.

Palabras clave: *Paspalum dilatatum*, tiempo hidrotérmico, nicho de regeneración, análisis de QTL

SUMMARY

Paspalum dilatatum is a perennial warm-season grass whose incorporation into sown pastures is desired. However, like other non-domesticated species, it presents poor and irregular seedling emergence explained by seed dormancy. This characteristic is highly variable and genotype-dependent. *Paspalum dilatatum* cannot be bred because it is apomictic. Still, there are self-pollinated sexual species related to *P. dilatatum*, which can produce fertile hybrids that can be bred by conventional methods. To obtain an attractive cultigen, it is necessary to know the expression and heritability of seed dormancy in these species. In this work, ecological, physiological and genetic aspects of seed dormancy in sexual species of the Dilatata group were explored. First, field seedling emergence of different *Paspalum* species was modelled using environmental variables, and the results were associated with seed dormancy. It was evidenced that the emergence dynamics depend on the temperature and soil moisture. Contrary to expectation, high temperatures reduced the number of emerged seedlings due to a greater expression of seed dormancy. Second, the seed dormancy of the sexual species of the Dilatata group was quantified, and it was evaluated whether the differences between species can explain their geographic distributions. *Paspalum urvillei* has a larger distribution area, explained by a lower seed dormancy level. While the other species (*P. dasypleurum*, *P. flavescens*, *P. plurinerve* and *P. vacarianum*), with more restricted and allopatric distributions, showed higher dormancy levels associated with the rainfall level at each origin sites. Third, QTLs for seed dormancy were searched using a population of recombinant inbred lines between *P. flavescens* and *P. plurinerve*. The germination of the population was phenotyped, and the genetic map was obtained with genotyping-by-sequencing method. Four significant QTLs were found, revealing that seed dormancy in these species is explained by the additive effect of more than one locus.

Key words: *Paspalum dilatatum*, hydrothermal time, regeneration niche, QTL analysis

1. INTRODUCCIÓN

Con el avance de la agricultura y la forestación de las últimas décadas en Uruguay, los campos naturales o mejorados y la producción de pasturas para la alimentación del ganado se ha desplazado de regiones más productivas a otras más marginales. Sumado a esto, las pasturas sembradas están basadas en especies de gramíneas y leguminosas de clima templado. Esto lleva a que la producción de forraje se vea significativamente reducida durante el verano y el otoño, lo que deja lugar para que malezas estivales como el *Cynodon dactylon* L. puedan prosperar e invadan las áreas sembradas, lo que reduce la vida media de las pasturas (Dear y Ewing, 2008, García, 1995).

Para lograr perennializar la producción de forraje de las pasturas sembradas, se necesitan especies estivales perennes que ocupen el lugar y los recursos que de otra forma son aprovechados por malezas estivales (Picasso et al., 2008). A pesar de que existe una oferta internacional de gramíneas forrajeras estivales, muy pocas especies pueden adaptarse a los estreses abióticos de la región, sobre todo al frío y las heladas durante el invierno (Giorello et al., 2020). Existe un importante número de gramíneas estivales perennes nativas en el paisaje de Campos de nuestra región. A algunas especies de *Paspalum* nativas se las ha señalado como promisorias para ser adoptadas para la producción de forraje (Pizarro, 2000). Estas especies logran coexistir con componentes de gramíneas y leguminosas templadas y su presencia permite retrasar la invasión de gramíneas estivales no deseadas (Tejera et al., 2016).

Paspalum dilatatum Poir. var. *dilatatum* es un taxón de clones pentaploides apomícticos (Rosso et al., 2022) con una excelente aptitud forrajera que, además, tolera los estreses abióticos más frecuentes del bioma Campos como las heladas, sequías e inundaciones (Campbell et al., 1999, Loreti y Oesterheld, 1996). Sus características forrajeras llevaron a que fuera introducido en Australia y Nueva Zelanda en 1880, lo que generó una revolución en la producción de forraje (Star y Brooking, 2006), para luego ser introducido en otros lugares del mundo. Actualmente, es una especie naturalizada en diferentes partes del mundo, pero sin que ninguna accesión o cultivar pentaploide sea diferente genéticamente al clon dominante (Speranza, 2009, 2005).

A pesar de su potencial, y luego de más de 100 años de haber sido señalada de interés, no se ha logrado la adopción productiva de *P. dilatatum*. La especie muestra diversas limitantes, donde la producción de semillas de alta calidad está entre las más relevantes. Al igual que otras especies de gramíneas estivales, *P. dilatatum* no retiene adecuadamente las semillas maduras en la panoja, suele presentar muchas semillas vanas (espiguillas sin cariopse o con cariopse poco desarrollado), y espiguillas con escleroto del hongo *Claviceps paspali*, que generan la típica miel de las inflorescencias y complican la cosecha de semillas (Speranza et al., 2017). Además, aunque se logre una cosecha de semillas de alta calidad física, se suma que las semillas presentan dormición, lo que reduce la calidad fisiológica. La dormición de semillas es un impedimento propio de las semillas, las cuales requieren que se cumplan ciertas señales ambientales que permiten la germinación. Esta característica lleva a que no todas las semillas que se siembran logran germinar, aun cuando las condiciones de temperatura y humedad del suelo sean propicias para la especie (Benech-Arnold et al., 2000). La dormición de semillas se expresa como una emergencia a campo errática en cantidad y tiempo, lo que puede llevar al fracaso de la instalación de una pastura o cultivo (Forcella et al., 2000).

La mayor parte de las especies usadas en la agricultura y la producción de forraje son domesticadas o semidomesticadas, es decir, tienen varias características que facilitan la adopción y el manejo de estas por el hombre (Gepts, 2010). Una de estas características es presentar una baja dormición de semillas, lo que lleva a una implantación más rápida y pareja, y menos dependiente de las condiciones de ambiente (Rodríguez et al., 2015). La baja dormición en estas especies se logró mediante la selección hecha por el hombre, en muchos casos de forma involuntaria. Parece deseable obtener cultivares o seleccionar materiales con baja dormición para las especies nativas que se desean adoptar.

El problema con *P. dilatatum* es que es apomíctico, o sea, que las semillas (la progenie) son clones de la madre. Esta característica ha dificultado el avance en el mejoramiento en esta especie. Los distintos cultivares no son tan diferentes entre sí y ninguno ha superado los problemas de la producción de semillas de calidad. Sin embargo, existen

especies sexuales muy parecidas y filogénicamente relacionadas con *P. dilatatum*: *P. dasypleurum*, *P. flavescens*, *P. vacarianum*, *P. plurinerve* y *P. urvillei* (Rosso et al., 2022). Estas especies se pueden cruzar y obtener híbridos fértiles. Dado que son alotetraploides con herencia disómica y altamente autógamas, es posible generar con facilidad poblaciones recombinantes de líneas puras y llevar adelante programas de mejoramientos similares a los que se hacen en trigo. Hay evidencias que entre las líneas endocriadas, producto de un cruzamiento entre dos de estas especies (*P. flavescens* y *P. plurinerve*), se pueden detectar líneas con segregación transgresiva. Es posible, entonces, lograr cultivares sexuales de estas especies que consigan superar las limitantes, sobre todo las asociadas a la calidad de las semillas, lo cual incluye la reducción en la dormición (Monteverde et al., 2022).

Ante esta perspectiva, el presente trabajo de doctorado pretende conocer la dormición de semillas en estas especies sexuales de *Paspalum*. Los estudios realizados abarcan aspectos ecológicos, fisiológicos y genéticos para entender cómo se expresa fenotípicamente y cómo se hereda la dormición de semillas en estas especies. En primer lugar, en el capítulo 3, se buscó entender la relación entre las variables del ambiente y la emergencia de plántulas en condiciones de campo de distintas especies de *Paspalum*. Esta parte del trabajo pretendió despejar las incógnitas sobre el efecto de los principales factores ambientales que influyen en la implantación. Se ajustaron modelos para la dinámica y para la cantidad de plántulas emergidas basados en modelos de tiempo hidrotérmico. Las respuestas obtenidas se relacionaron con la dormición de las semillas de cada especie. En el capítulo 4, se evidencia que la dormición de semillas, y las respuestas germinativas derivadas, son diferentes entre las cinco especies sexuales de *Paspalum* del grupo Dilatata. Además, demostramos que la distribución geográfica natural de estas especies es explicada, en parte, por las diferencias en la dormición. En el capítulo 5, se usó una población de líneas endocriadas a partir de un cruzamiento entre dos especies sexuales del grupo Dilatata (*P. flavescens* y *P. plurinerve*) para detectar posibles regiones sobre un mapa genético donde pueden haber loci cuantitativos que determinan el nivel de dormición de semillas en estas especies. Previo a todo esto, en el capítulo 2, se ofrece una revisión

bibliográfica actualizada sobre la dormición de semillas en gramíneas y la importancia que esta característica tiene para la implantación exitosa de las especies cultivadas, que se debe tener muy en cuenta para especies nativas que se desean adoptar.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. Objetivo general

Entender la expresión fenotípica y la heredabilidad de la dormición de semillas para especies de *Paspalum* del grupo Dilatata (Poaceae), usando en particular las especies sexuales del grupo. Se exploraron aspectos ecológicos, fisiológicos y genéticos para avanzar en el conocimiento de una característica que limita la adopción productiva de estas gramíneas estivales perennes nativas.

1.2.2. Objetivos específicos

- a) Desarrollar modelos basados en la teoría de tiempo hidrotérmico que permitan predecir la dinámica y la cantidad de emergencia de plántulas a campo de materiales de *Paspalum* nativos (cultivares y silvestres) con interés productivo en función de las variables ambientales.
- b) Identificar si existe variabilidad en la dormición y la germinación de las semillas entre las especies sexuales de *Paspalum* del grupo Dilatata, y evaluar en qué grado las diferencias que se evidencien en estas características explican la particular distribución geográfica natural que presenta cada especie y el grupo en conjunto.
- c) Identificar regiones sobre un mapa genético donde puede haber loci cuantitativos (QTL) que regulen la dormición de semillas por medio del fenotipado de la germinación y genotipado de una población de líneas puras endocriadas generadas a partir del cruzamiento inicial entre *P. flavescens* y *P. plurinerve*.

2. IMPORTANCIA DE LA DORMICIÓN DE SEMILLAS PARA LA ADOPCIÓN Y LA DOMESTICACIÓN DE CULTIVOS DE GRAMÍNEAS

2.1. ANTECEDENTES Y MOTIVACIÓN

Las gramíneas (Poaceae) son la familia de plantas más importante en número y diversidad. Sólo en la parte austral de América del Sur, se han registrado 10 subfamilias, 206 géneros y 1523 especies (Biganzoli y Zuloaga, 2015). Gran parte de la producción de granos y forraje depende de un puñado de gramíneas domesticadas o semidomesticadas, las cuales están adaptadas a los agroecosistemas y manejos humanos (Gepts, 2010).

Los agroecosistemas tradicionales enfrentan varios problemas, como una alta dependencia de agroquímicos, la contaminación de efluentes por exceso de fertilización, una huella de carbono negativa, la erosión y degradación del suelo. Se ha planteado que la solución puede estar en adoptar o domesticar especies silvestres, sobre todo nativas, ya que se asume que están adaptadas al clima y suelo de la región (Van Tassel y De Haan, 2013, Huggins et al., 2001, Tilman et al., 2001). A pesar de que se encuentran materiales atractivos, las especies silvestres presentan dificultades para la implantación deseada. Una de las principales causas es que las especies nativas tienen dormición de semillas que provoca una emergencia baja, lenta y asincrónica. Esta característica está asociada al escaso o nulo avance en la domesticación de estas especies (Fuller y Allaby, 2009, Adkins et al., 2002). La dormición es una característica que no suele ser evaluada a la hora de escoger materiales de especies novedosas, a pesar de que es clave para el éxito de su adopción productiva.

El objetivo de esta revisión es repasar el conocimiento sobre la dormición de semillas, en particular, la que presentan las gramíneas. Luego, se comenta cómo esta característica está sujeta a selección natural y es trascendente para la adaptación al hábitat de las especies silvestres. Además, se revisa cómo la selección humana llevó a que los cultivos más domesticados tengan menor dormición de semillas que sus relativos silvestres, mientras que, con frecuencia, no existen dichas diferencias en cultivos menos domesticados. Por último, se subraya la necesidad de considerar la

dormición de semillas al momento de seleccionar genotipos de especies con potencial para ser adoptadas.

2.2. DORMICIÓN DE LAS SEMILLAS

2.2.1. Definición, características generales y clasificación por mecanismo de dormición

La dormición de semillas se define como un impedimento propio de las semillas a germinar en condiciones de temperatura, humedad y oxígeno propicias para hacerlo (Benech-Arnold et al., 2000). El principal objetivo que tiene es regular en qué momento las semillas pueden germinar para que las plántulas crezcan en condiciones ambientales y momentos del año adecuados (Fenner y Thompson, 2005). Gracias a esto, la germinación responde a los cambios de estación, a las perturbaciones en el suelo y a la competencia vegetal. Además, permite la distribución en el tiempo de la germinación de una progenie.

Existe una importante diversidad en la dormición de semillas entre las plantas. Baskin y Baskin (2004) plantearon una clasificación que refleja los principales mecanismos de la dormición separadas en tres clases: fisiológica, física y morfológica, más dos clases que combinan dos de las anteriores (morfofisiológica y física + fisiológica). En la dormición morfológica, el embrión de una semilla madura queda en estadios iniciales del desarrollo. El desarrollo del embrión prosigue y culmina con las semillas dispersadas para luego iniciar la germinación (Baskin y Baskin, 2004). La dormición física se basa en que el embrión desarrollado no recibe agua para germinar porque las cubiertas son impermeables. Las semillas con esta dormición logran germinar cuando se debilita la impermeabilidad de las cubiertas (Smýkal et al., 2014). Esta dormición es frecuente en leguminosas, donde se suelen encontrar «semillas duras» (ISTA, 2015).

2.2.2. Bases de la dormición fisiológica

La dormición fisiológica es la clase de dormición más extendida entre las angiospermas y es considerado el *hub* evolutivo de la dormición (Willis et al., 2014). Los mecanismos de la dormición fisiológica son compartidos por una amplia

diversidad de especies. Se basa en la oposición entre el potencial de crecimiento del embrión y la resistencia a este crecimiento que imponen las cubiertas¹. La germinación ocurre si el potencial de crecimiento del embrión supera a las resistencias (Nonogaki, 2006). A pesar de que en diversos trabajos se estudió específicamente el efecto de las cubiertas, se ha sugerido que la dormición fisiológica es producto de la interacción entre las cubiertas y el embrión (Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006).

A diferencia de los otros mecanismos, la dormición fisiológica presenta la capacidad de incrementarse o reducirse en respuesta a los factores de ambiente, tanto durante el desarrollo de las semillas como luego de haber sido dispersadas. El nivel de dormición de una población, concepto introducido por Vegis (1964), puede estar en algún punto dentro de un continuo entre un máximo y un mínimo propio de cada especie. El nivel de dormición define la amplitud del rango de condiciones donde la población puede germinar (Benech-Arnold et al., 2000, Vleeshouwers et al., 1995). Si se nota un incremento en el rango de condiciones (por ejemplo: la temperatura) donde ocurre la germinación, se debe a que el nivel de dormición disminuyó. Si se registra lo contrario, el nivel de dormición aumentó (Batlla y Benech-Arnold, 2015, 2010). Es más probable que suceda la germinación en el campo cuando las condiciones ambientales coinciden con la ventana de condiciones donde el nivel de dormición de ese momento permite germinar (Vleeshouwers et al., 1995, Bouwmeester y Karssen, 1993, Derkx y Karssen, 1993).

2.2.3. Factores que modifican nivel de dormición fisiológica

2.2.3.1. Efecto materno sobre la dormición primaria

Aun en casos donde las semillas de la progenie son iguales genéticamente (líneas puras en autógamias o especies apomícticas), es improbable que todas tengan el mismo nivel de dormición. Esto se debe a un conjunto de factores conocidos como el efecto materno (Donohue, 2005, Roach y Wulff, 1987). Durante el desarrollo de las semillas sobre la planta madre, se impone el nivel de dormición que tendrán cuando alcanzan la madurez

¹ Cabe aclarar que el término *cubiertas* se refiere al conjunto de tejidos y estructuras que rodean al embrión. Por tanto, el término incluye a la testa, el endosperma, los tejidos del fruto o estructuras florales, según la especie.

(dormición primaria, Hilhorst, 1995). Las condiciones de ambiente durante el desarrollo, principalmente la temperatura, modulan la expresión de muchos de los genes que establecen la dormición primaria. En general, se obtienen niveles de dormición menores cuando las semillas se desarrollan en altas temperaturas (Fernández et al., 2021, Gualano y Benech-Arnold, 2009, Steadman et al., 2004, Roach y Wulff, 1987). El fotoperíodo es una señal estacional muy precisa y también incide sobre la dormición primaria (Munir et al., 2001). La posición en la espiga o panoja y el momento de inicio del desarrollo de cada semilla resultan en diferencias en el microambiente y el aprovisionamiento materno de nutrientes y hormonas entre las semillas de una progenie; por tanto, en diferencias en la dormición. (Penfield y MacGregor, 2017, Fenner y Thompson, 2005). Por ejemplo, las semillas de partes inferiores de la inflorescencia suelen tener menor dormición que las ubicadas en partes superiores (González-Rabanal et al., 1994). También, la presencia o no de una canopia vegetal sobre las semillas en desarrollo modifica la expresión de la dormición primaria (Williams et al., 2012). La variabilidad de la dormición por efecto materno le permite a la progenie germinar a diferentes tiempos, que configuran una estrategia de «cobertura de apuestas» (*bet-hedging*) y brindan así una estrategia de adaptación a fluctuaciones del ambiente. Además, el efecto materno influye sobre la dormición incluso luego de meses de haber sido dispersadas (Fernández Farnocchia et al., 2019, Auge et al., 2015, Donohue, 2009).

2.2.3.2. Factores de ambiente que modifican la dormición luego de la dispersión

Las semillas dispersadas censan los niveles de temperatura y la disponibilidad de agua en el suelo, los cuales integra en el tiempo cambios en el nivel de dormición de la población (Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006, Benech-Arnold et al., 2000, Forcella et al., 2000). El efecto de estos factores sobre la dormición tiene un sentido ecológico asociado al ciclo de vida de cada especie. Por ejemplo, las semillas de especies estivales suelen reducir su dormición en el suelo durante el invierno por las bajas temperaturas y la alta humedad. De esta forma, existe mayor chance de germinar en primavera cuando la temperatura del suelo aumenta. Por su parte, las altas temperaturas de fines de primavera aumentan el nivel de dormición de las semillas que

no hayan germinado (se impone la dormición secundaria), lo que evita la germinación en verano y otoño, que no sería conveniente para el futuro de esas plántulas (Batlla y Benech-Arnold, 2015, 2010). También, se espera un ciclo estacional de la dormición en especies invernales, pero sus semillas requieren altas temperaturas y baja humedad para reducir el nivel de dormición. Esto permite que pasen el verano como semillas, y en otoño está habilitada la germinación de gran parte de la población. Las temperaturas frías del invierno pueden imponer dormición secundaria en especies invernales, lo que evita en buena medida la germinación en primavera (Batlla y Benech-Arnold, 2015, 2010). Estas respuestas son típicas de especies anuales, pero se encuentran también en especies perennes. A menudo, se registran respuestas menos estrictas (facultativas) que pueden permitir que ocurra la germinación de una fracción de la población en estaciones contrapuestas (Baskin y Baskin, 2001).

Se puede cambiar el nivel de dormición de un lote de semillas en condiciones de laboratorio si se controla la temperatura y la humedad. La estratificación es una práctica donde las semillas se mantienen embebidas por algunas semanas a una temperatura que modifica el nivel de dormición, pero no permite la germinación. La estratificación en frío es recomendada en muchas especies para disminuir la dormición fisiológica (ISTA, 2015), pero hay casos donde se requiere estratificación cálida, o una sucesión de estratificación cálida y fría (Steadman, 2004, Baskin y Baskin, 2001). Por otra parte, mantener las semillas almacenadas en un ambiente seco permite reducir la dormición para una amplia variedad de especies. A este fenómeno se le llama posmaduración en seco (Bewley et al., 2013, Christensen et al., 1996). El nivel de dormición de una especie se puede reducir tanto por estratificación como por posmaduración en seco, pero es probable que uno de los dos métodos sea más eficiente, según la especie.

2.2.3.3. Efecto dual del ambiente sobre la germinación y la dormición

La temperatura y la disponibilidad de agua determinan la tasa de germinación; por tanto, la velocidad de la emergencia de plántulas a campo. Los modelos de tipo poblacional de tiempo térmico o hidrotérmico han sido útiles para predecir la

emergencia a campo de varios cultivos y malezas (Royo-Esnal et al., 2010, Martinson et al., 2007, Forcella et al., 2000). Pero la predicción de estos modelos es válida sólo en especies sin dormición o en las fracciones de la población que no muestran dormición. La temperatura presenta efectos aparentemente contradictorios; por ejemplo, las altas temperaturas promueven la germinación de especies estivales, pero al mismo tiempo aumentan el nivel de dormición de la fracción de la población que no germina (Batlla y Benech-Arnold, 2015, Batlla et al., 2009). Cuando nos enfrentamos a especies con dormición, es necesario optimizar un modelo dependiente de la temperatura y la humedad para la dormición y otro diferente para la germinación. Con el primero, se puede predecir la fracción total de la población que va a emerger y, con el segundo, el tiempo de emergencia de las diferentes sub-fracciones.

Se han desarrollado modelos de umbral basados en el tiempo térmico para predecir la reducción o el aumento del nivel de dormición ante distintas temperaturas de estratificación o de posmaduración en seco (Chantre et al., 2009, Meyer y Allen, 2009, Batlla y Benech-Arnold, 2004, 2003, Christensen et al., 1996). Más recientemente, se ha incorporado el efecto del contenido de humedad de las semillas que modula el efecto de la temperatura sobre los cambios de la dormición. Por ejemplo, las semillas de *Polygonum arvense* L., una especie estival anual, requieren mayor tiempo térmico de estratificación cuando tienen un menor contenido hídrico (Malavert et al., 2021). Mientras que, para el caso de *Bromus tectorum* L., una especie invernal, la posmaduración en seco no avanza y no hay reducción de la dormición si las semillas presentan mucha humedad (> 15 %) (Bair et al., 2006).

2.2.3.4. Factores ambientales que terminan la dormición

Las semillas pueden no germinar, aunque la temperatura y humedad en el suelo estén dentro del rango que la dormición permite la germinación para ese momento. La causa es que las semillas no encuentran señales ambientales específicas que eliminen los últimos bloqueos de la dormición. La presencia de luz, la exposición a nitrato y las temperaturas alternantes diarias son las principales señales que logran terminar la dormición en un amplio conjunto de especies (Duermeier et al., 2018, Qiu et al., 2006,

Benech-Arnold et al., 2000, Casal y Sánchez, 1998, Murdoch et al., 1989). Estos factores le brindan a cada semilla individual una estimación del microambiente que la rodea, de la profundidad a la cual están enterradas y del nivel de competencia de plantas adultas sobre la superficie del suelo (Deregibus et al., 1994, Ghera et al., 1992, Pons, 1989). Una semilla enterrada a una mayor profundidad de lo adecuado es probable que no germine porque la luz va a ser escasa y la alternancia de temperatura, reducida. También, puede haber semillas a una profundidad adecuada, pero no germinan porque detectan una vegetación densa sobre la superficie del suelo que reduce la luz roja, la alternancia de temperaturas y el nitrato en el suelo. La sensibilidad a los factores que terminan la dormición está asociada al nivel de dormición. Cuando la dormición es alta, se requiere un nivel de estos factores muy específico para quebrar la dormición, mientras que si la dormición es baja, la especificidad a estos factores es menor (Footitt et al., 2013, Derkx y Karssen, 1994, Benech-Arnold et al., 1990).

2.2.4. Bases genéticas de la dormición fisiológica

La dormición fisiológica es una característica cuantitativa heredable que está controlada por múltiples genes distribuidos a través de los diferentes cromosomas de una especie. Cada gen logra explicar una fracción de la variabilidad y sus expresiones están moduladas por los factores de ambiente (ver 2.2.3.). Es, por tanto, una típica característica controlada por loci cuantitativos o QTL (Foley, 2001). Diversos análisis han mostrado que, a pesar de que la dominancia y epistasis no son nulos, el principal componente genético que define a la dormición es el aditivo (Cantoro et al., 2016, Bentsink et al., 2010). Esto significa que la dormición expresada es principalmente producto de la contribución aditiva de diferentes genes que pueden tener alelos positivos o negativos para la dormición.

2.2.4.1. Dormición asociada con el balance hormonal ABA/GA.

Los genes asociados al metabolismo y a las vías de señalización de las hormonas ácido abscísico (ABA) y las giberelinas (GA) juegan un rol central en determinar el nivel de dormición. El ABA inhibe la germinación y mantiene la dormición, mientras que las GA promueven la germinación al estimular la expresión de enzimas hidrolíticas que

posibilitan la elongación celular del embrión y el debilitamiento de las cubiertas (Nonogaki et al., 2010). Otras hormonas también tienen efectos sobre la germinación, pero el balance ABA/GA es crucial para el control de la dormición y la germinación (Cembrowska-Lech y Kępczyński, 2016, Finkelstein et al., 2008, Kucera et al., 2005). Las semillas embebidas con alto nivel de dormición muestran síntesis de ABA asociada a la expresión de genes *NINE-CIS-EPOXYCAROTENOID DIOXYGENASE (NCED)*. Además, reducen la cantidad de GA activa por la expresión de genes que degradan GA, como *GIBBERELIN 2 OXYDASE (GA2ox)*. Por otra parte, si se embeben semillas con un nivel de dormición menor, la respuesta es diferente; se ve estimulada la degradación de ABA por la expresión de genes como *CYTOCHROME P450 707A (CYP707A)* en *Arabidopsis thaliana* L. o *ABA 8'-HYDROXILASE (ABA8'OH)* en cebada, y aumenta el contenido de GA por la expresión de enzimas que las sintetizan como *GIBBERELIN 3 OXYDASE (GA3ox)* (Nonogaki, 2014, Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006).

En muchas especies, la sensibilidad al ABA correlaciona mejor con el nivel de dormición que la cantidad de ABA en los embriones (Gianinetti y Vernieri, 2007, Goggin et al., 2009, Rodríguez et al., 2009). Se han reportado diversos genes de la sensibilidad al ABA con una marcada incidencia sobre la dormición, como la familia de genes *ABA INSENSITIVE (ABI-5)* en *Arabidopsis*, el gen *VIVIPAROUS-1 (VP-1)* en maíz y los genes *SEED DORMANCY 4 (SRD4)* en arroz (Graeber et al., 2012, Sugimoto et al., 2010). Mutantes de estos genes no presentan dormición aun en presencia de ABA exógena. Los genes controlados por ABA presentan en sus promotores un elemento de respuesta al ABA (ABRE). Una importante proporción de los genes expresados en semillas con alta dormición presentan elementos ABRE o codifican para factores de transcripción que se unen a ABRE (Ishibashi et al., 2017, Cadman et al., 2006). Los genes mencionados no son exclusivos de las especies donde fueron halladas, ya que se han encontrado homólogos de estos genes en otras especies (Huarte et al., 2014, Rodríguez et al., 2009).

Por el lado de la sensibilidad a las GA, hay genes como *GIBBERELIN INSENSITIVE (GAI)*, *REPRESSOR OF GAI (RGA)* y los genes que codifican para los receptores de

GA (*GID1A*), entre otros, que se han reportado como relevantes para la dormición (Graeber et al., 2012). Los genes asociados a la respuesta a giberelinas tienen un elemento en el promotor donde se unen las proteínas *DELLA* que inhiben la expresión de los primeros. Cuando el complejo receptor-hormona (*GID1A-GA*) se une a las proteínas *DELLA*, estas son degradadas y los genes asociados a respuestas a giberelinas pueden expresarse (Davière et al., 2008). La síntesis o la degradación de ABA y GA también están asociadas a la sensibilidad a estas mismas hormonas. Por ejemplo, los factores de transcripción *ABI4* y *ABI5* se unen al promotor de *GA2ox* (gen vinculado al catabolismo de GA) para inducir su expresión, lo que reprime la germinación (Cantoro et al., 2013).

2.2.4.2. Genes propios de la dormición de semillas

Se han logrado detectar genes específicos de la dormición de semillas por mapeo de QTL. *DELAY OF GERMINATION 1 (DOG1)* es un gen descubierto al explorar la variabilidad natural de *Arabidopsis* (Alonso-Blanco et al., 2003). Los mutantes *dog1* no tienen dormición, pero no presentan otros efectos pleiotrópicos (Bentsink et al., 2006). La proteína *DOG1* se acumula en semillas durante la maduración y el ambiente durante el tramo final del desarrollo determina la cantidad de proteína *DOG1*. En ecotipos de *Arabidopsis* que crecen en regiones con menores temperaturas hay una mayor expresión del gen *DOG1*, que resulta en una mayor dormición primaria (Chiang et al., 2011). Algunos autores proponen que la cantidad de proteína *DOG1* se asocia con los requerimientos de almacenamiento en seco para reducir la dormición de semillas (Nakabayashi et al., 2012). Además, la expresión de *DOG1* en semillas dispersadas cambia según la temperatura del suelo y se lo puede considerar como el gen responsable del ciclado de la dormición fisiológica (Footitt et al., 2013, 2011). La vía de señalización de *DOG1* incide sobre la sensibilidad al ABA (Finch-Savage y Footitt, 2017, Née et al., 2017). Genes homólogos a *DOG1*, llamados *DOG1-LIKE*, se han encontrado en especies de cereales (Rikiishi y Maekawa, 2014, Ashikawa et al., 2013) y su expresión también afecta la sensibilidad al ABA (Carrillo-Barral et al., 2020). Es probable que haya genes *DOG1-LIKE* en todas las especies que presentan dormición fisiológica.

Otros genes fueron señalados como específicos de la dormición de semillas. Por ejemplo, el gen *SEED DORMANCY 4 (SDR4)* encontrado en arroz. Su expresión está regulada por *VPI* y su rol es preservar reguladores de la dormición y reprimir la expresión de genes posgerminativos (Sugimoto et al., 2010). Existen homólogos de *SDR4* en otras especies (*SDR4-LIKE*), y en varias de ellas (incluido el arroz) la mayor expresión de estos genes se encuentra en las semillas durante el desarrollo en genotipos con mayor nivel de dormición (Subburaj et al., 2016). Otro de los genes señalados son homólogos de *MOTHER OF FT AND TFL1 (MFT)*, que muestra una expresión específica en las semillas e inciden en la sensibilidad al ABA (Nakamura et al., 2011). La expresión de estos genes tiene una asociación con la temperatura durante el desarrollo de las semillas y también luego de su dispersión, lo que interactúa con la expresión del gen *DOG1* (Footitt et al., 2011, Nakamura et al., 2011).

Por último, hay genes asociados con la dormición que inciden en la remodelación de la cromatina. Los factores de transcripción *HISTONE MONOUBIQUITYLATION-1 (HUB1)*, *REDUCED DORMANCY 2 (RDO2)*, entre otros (Graeber et al., 2012), están involucrados en la regulación de la dormición a través de la compactación de la cromatina (Née et al., 2017). Las semillas de mutantes *hub1* muestran menor dormición que los silvestres y se evidenció que genes de dormición como *ABI4*, *DOG1* y *NCED9* son regulados por *HUB1* (Liu et al., 2007). Varios genotipos mutantes en el nivel de acetilación, metilación y ubiquitinación de las histonas muestran fenotipos de dormición alterados (Nonogaki, 2014). Además, cambios en la activación o represión de la compactación de la cromatina en regiones donde hay genes de dormición se correlacionan con el nivel de dormición (Footitt et al., 2015). Estos mecanismos de regulación epigenética pueden explicar parte de la plasticidad de la dormición conferida por el efecto materno.

2.2.5. Características comunes de la dormición fisiológica en semillas de gramíneas

Las semillas de todas las especies de gramíneas que tienen dormición de semillas presentan dormición fisiológica (Baskin y Baskin, 2001). Esto implica que los mecanismos de dormición sean similares al de especies de otras familias con la misma

clase de dormición (ver: 2.2.3 y 2.2.4). Sin embargo, las semillas de gramíneas (o, más correcto, las unidades de dispersión) comparten una serie de características únicas de la familia. La unidad de dispersión es un fruto indehisciente, llamado cariopse, donde el pericarpo está fusionado con la testa de la semilla verdadera, excepto en algunas especies donde están separados, como en *Sporobolus* spp. (Richard et al., 2016). La coloración de este complejo pericarpo/testa suele estar asociado a la dormición de las semillas. Los genotipos con baja dormición a menudo presentan un pericarpo más claro que otro con mayor dormición (Rodríguez et al., 2015; ver también 2.4.2.). En una posición basal-lateral dentro del cariopse, se encuentra el embrión compuesto por el eje embrional, la coleoriza que cubre la radícula, el coleoptile que cubre el meristema apical y los primordios de hojas, y el escutelo, que es el cotiledón que no se desarrolla luego de germinar. Tanto el escutelo como la coleoriza poseen roles asociados a mantener la dormición (Nakamura et al., 2011, Barrero et al., 2009).

Es usual que los cariopses se dispersen acompañados de una o más capas de estructuras florales que los envuelven (lemas, paleas y glumas o glumelas), las cuales inciden sobre la respuesta germinativa (Dekker et al., 1996). Retirar o debilitar estos tejidos resulta en una mayor germinación o en la posibilidad de germinar en condiciones donde antes no podían. Una de las principales causas es que estas estructuras interfieren con el adecuado intercambio de O₂ necesario para oxidar ABA y reducir la dormición (Hoang et al., 2013, Benech-Arnold et al., 1999). Es usual que el aplicar procedimientos de escarificación² sobre las semillas de gramíneas resulten en una menor expresión de la dormición (Stanisavljević et al., 2020). Es posible que este efecto, combinado con la anatomía de las semillas de algunas especies, pudo haber llevado a conclusiones erróneas sobre los mecanismos de la dormición. Por ejemplo, la subfamilia Panicoideae presenta el cariopse completamente envuelto por una lema y una palea rígidas e indehiscientes, que son responsables de buena parte de la dormición (Glison et al., 2017, Duclos et al., 2013, Usberti y Martins, 2007). Esta morfología y la respuesta ante la escarificación fortalecieron la hipótesis de que el

² La escarificación se define como cualquier procedimiento mecánico o químico que altere o debilite a las cubiertas.

cariopse no logra embeberse y que su dormición es física (Romani y Carvalho, 2016, West y Marousky, 1989). Sin embargo, estas estructuras florales no impiden la entrada de agua y las causas de la dormición son fisiológicas-mecánicas. Además, se demostró que parte de la dormición se debe a inhibiciones del cariopse, de lo que se concluye que presentan dormición fisiológica (Ajala-Luccas et al., 2018, Glison et al., 2017, Duclos et al., 2013, Gallart et al., 2008).

2.3. IMPORTANCIA DE LA DORMICIÓN DE SEMILLAS EN LA SELECCIÓN DE POBLACIONES NATURALES

2.3.1. Selección natural y adaptación local de la dormición de semillas

La alta heredabilidad de la dormición de semillas, sumado a la modulación causada por factores ambientales y epigenéticos, la hace una característica sensible a procesos evolutivos y puede ser determinante para la adaptabilidad de una especie o población al ambiente (Donohue et al., 2010). La dormición de semillas es una característica funcional muy importante del nicho de regeneración (Jiménez-Alfaro et al., 2016, Grubb, 1977). Puede definir, en buena parte, la aptitud de una especie o población a ocupar un nicho ecológico determinado e incidir en el área de distribución geográfica (Saatkamp et al., 2019, Larson y Funk, 2016, Violle y Jiang, 2009). Además, el momento de germinación condiciona el ambiente donde las características posgerminativas deben adaptarse. Por tanto, la dormición de semillas incide en parte en la evolución de las características posgerminativas (Debieu et al., 2013, Donohue et al., 2010).

Las temperaturas y el régimen de precipitaciones, tanto anuales como estacionales, son los factores de ambiente más importantes que actúan como filtros ambientales para la selección natural de la dormición (Fenner y Thompson, 2005). En lo global, se encuentra una alta proporción de especies que no presentan dormición de semillas en las selvas tropicales y en zonas árticas. Mientras tanto, en los restantes biomas, la proporción de especies con dormición es mayor, sobre todo donde las temperaturas y las precipitaciones son variables durante el año (Zhang et al., 2022, Rubio de Casas et al., 2017, Sales et al., 2013, Baskin y Baskin, 2001). En escalas geográficas más

pequeñas, la latitud o la elevación generan gradientes climáticos donde se encuentran patrones en la variabilidad de la dormición. Por ejemplo, en regiones templadas, las especies o poblaciones con mayor dormición suelen estar en latitudes mayores, lo que coincide con la tendencia global (Ellison, 2001, Probert et al., 1985). Pero existen casos donde las poblaciones con mayor dormición se encuentran en latitudes menores porque allí se encuentran climas más restrictivos (Burghardt et al., 2015, Wagmann et al., 2012). En muchos casos donde la elevación genera el gradiente climático, las especies o poblaciones de zonas más altas suelen mostrar mayor dormición que las de zonas bajas (Picciau et al., 2018, Arana et al., 2016, Fernández-Pascual et al., 2013). Pero, en otros casos, la relación dormición-elevación es inversa (Vidigal et al., 2016, Vera, 1997). Estas discrepancias pretenden mostrar que no hay que asumir un patrón preestablecido de la distribución de la dormición dado un gradiente climático, al cual vale la pena integrar información sobre la ecología de las especies en estudio y sus ciclos de vida.

Los filtros ambientales que dirigen la selección natural y las adaptaciones locales son diferentes según el clima dominante, y en cada hábitat pueden estar actuando sobre características particulares de la dormición (Seglias et al., 2018). Hay regiones donde se puede observar una convergencia en las características de la dormición entre especies muy diferentes. Por ejemplo, moverse de norte a sur en Europa occidental implica cambios importantes en el clima anual. Hacia el norte, domina un clima templado con inviernos muy fríos y las poblaciones adaptadas suelen presentar altos requerimientos de estratificación en frío para reducir la dormición (Chamorro et al., 2018, Carta et al., 2016). Mientras que, hacia el sur, nos encontramos con un clima mediterráneo con veranos muy secos, calurosos y con incendios frecuentes. Las poblaciones en esta región muestran una eficiente respuesta a la posmaduración en seco y al humo como las principales señales para reducir y/o terminar la dormición (Picciau et al., 2018, Çatav et al., 2014, Wagmann et al., 2012).

2.3.2. Factores que explican variabilidad de la dormición de semillas entre especies

La variabilidad de la dormición de semillas entre especies, al igual que otras características, depende de la filogenia. En estudios donde se consideró una amplia diversidad de especies, la posición filogenética fue un predictor significativo de los patrones de germinación y los mecanismos de dormición (Barak et al., 2018, Seglias et al., 2018, Dayrell et al., 2016, Willis et al., 2014). Las similitudes de la dormición y los patrones de germinación entre especies cercanas pueden ser independientes de la distribución geográfica y los filtros ambientales dominantes. Por ejemplo, la subfamilia Panicoideae presenta especies a lo largo del mundo y muestra adaptaciones a diferentes climas. Sin embargo, la mayor parte de estas especies presentan requerimientos similares para reducir la dormición de las semillas y promover la germinación (Adkins et al., 2002; ver 2.4.3.2.).

Otros factores relevantes que diferencian la dormición entre las especies son la estacionalidad y la longevidad del ciclo de vida adulta. En climas templados y subtropicales coexisten especies estivales e invernales y suelen pasar la estación contraria a la que se da su crecimiento vegetativo como semillas. El efecto de la temperatura sobre el nivel de dormición de las semillas es contrastante entre especies invernales y estivales (ver 2.2.3.2.). El largo de la vida de las especies también puede tener cierta relación con la dormición de semillas. En teoría, la longevidad de especies polícarpicas debe presentar una relación negativa con la dormición, dado que son estrategias alternativas para distribuir el riesgo de fallos en la regeneración (Rees, 1994). Esta relación se comprobó para un grupo de especies de la familia Asteraceae: las anuales mostraron mayor dormición que las perennes (De Waal et al., 2016). Sin embargo, la perennialidad no es la única característica que muestra un fuerte *trading-off* con la dormición, y hay otras como el peso de las semillas y la capacidad de dispersión que también interactúan (Chen et al., 2020).

El grado de adaptación local de la dormición de semillas parece correlacionarse positivamente con comportamientos endémicos, pero negativamente con la capacidad de colonizar rangos geográficos más amplios. Las especies pueden ubicarse dentro de

un continuo de comportamientos del hábitat que van desde generalistas (especies que ocupan varios nichos y un amplio rango geográfico) a especialistas (específicas de un nicho, con un rango geográfico muy restringido). Las especies generalistas suelen mostrar un amplio nicho de germinación, que se asocia a menudo con un nivel de dormición bajo. Esto significa que son menos sensibles a cambios en las condiciones de germinación (Finch et al., 2019, Luna et al., 2012, Brändle et al., 2003). Por su parte, las especies especialistas requieren condiciones más rigurosas para reducir la dormición y germinar (Bandara et al., 2019, Fernández-Pascual et al., 2012). Una especie que no logra germinar en altas temperaturas ni en presencia de luz está confinada a lugares sombreados y frescos. La dormición dicta que la chance de ampliar su hábitat hacia lugares abiertos es baja (Marques et al., 2014).

2.3.3. Factores que explican variabilidad intraespecífica de la dormición

La variación en la dormición de semillas dentro de una especie puede ser más grande que la que existe entre especies dentro de un género (Veasey et al., 2004, Ellison, 2001). Esta variación responde a que diferentes poblaciones presentan adaptaciones locales de la dormición que dependen de dos grandes factores: i) la variabilidad genética entre poblaciones, que se refleja en la generación de ecotipos y ii) la plasticidad de la dormición, dirigida por el efecto materno (ver 2.2.3.1.), que puede permitir la expresión de una variación fenotípica mayor a la genética, lo que facilita la adaptación local (Seglias et al., 2018, Cochrane et al., 2015). ¿Cuál de estos factores tiene mayor peso? Esto depende de la especie. En algunos estudios, la variación en la dormición entre poblaciones se correlacionó con la distancia genética entre estas y se concluyó que el ambiente seleccionó poblaciones (Wagmann et al., 2012). En otros estudios, no se encontró tal correlación (Carta et al., 2016, Fernández-Pascual et al., 2013) o no existe variabilidad genética (por ejemplo, en especies apomícticas), pero hay variabilidad de la dormición por la plasticidad fenotípica (Sales et al., 2013). Sin embargo, en un buen número de estudios no se puede distinguir con claridad si domina lo genético o la plasticidad, y es razonable pensar que actúan ambos para lograr las adaptaciones locales (Cochrane et al., 2015). Esta variabilidad intraespecífica muestra

la inconveniencia de definir un fenotipo único de dormición para una especie e invita a que los estudios se realicen basados en poblaciones.

2.4. DOMESTICACIÓN DE CULTIVOS Y DORMICIÓN DE SEMILLAS

2.4.1. Características de las semillas asociadas a la domesticación

La domesticación es el resultado de un proceso de selección artificial que lleva a cambios en características que les permiten a las plantas adaptarse a ser cultivadas por el humano (Gepts, 2010). Por tanto, los cultivos son genotipos o poblaciones de una especie que presentan diferencias morfológicas, fisiológicas y genéticas con poblaciones silvestres de vida libre de la misma especie (o de especies cercanas) (Fuller y Allaby, 2009). Las diferencias entre los cultivos y sus relativos silvestres son similares a través de los distintos cultivos, y a este conjunto de características se le llama el «síndrome de domesticación» (Gross y Olsen, 2010, Gepts, 2004).

Varias características relevantes de este síndrome se pueden encontrar en las semillas. Una de las más importantes es la retención de las semillas sobre la planta madre. Los genotipos que presentan esta retención facilitan la cosecha de las semillas por los humanos, que se usarán para la próxima siembra (Fuller y Allaby, 2009). Otra característica es el mayor tamaño de semillas que presentan los cultivos en comparación con sus relativos silvestres. Es esperable que el ambiente de cultivo seleccione a favor de un mayor tamaño, dado que las semillas más grandes tienden a dar plántulas más vigorosas, que tendrán más éxito en la emergencia del suelo y en la competencia con nuevas malezas durante la instalación (Finch-Savage y Bassel, 2016).

2.4.2. Baja dormición de semillas en cultivos domesticados: ventajas y problemas

La baja dormición de semillas es otra característica del síndrome de domesticación (Gepts, 2010), lo que causa que la germinación y emergencia en condiciones de campo pueda suceder en casi cualquier momento del año y permite que la totalidad de las semillas sembradas germinen rápido con gran sincronía (Rodríguez et al., 2015). A pesar de la mencionada ventaja, la selección del hombre en contra de la dormición de semillas fue probablemente inconsciente. En etapas iniciales del proceso de

domesticación, las semillas cosechadas eran de genotipos que lograban emerger e instalarse más rápido. Por tanto, se cosechaba la progenie de la fracción de la población con menor dormición (Fuller y Allaby, 2009). La ausencia de una selección consciente puede explicarse porque la dormición de semillas se puede estimar sólo cuando se ensaya la germinación y no está ligada a características morfológicas de las semillas (Castillo-Lorenzo et al., 2019, Dürr et al., 2015, Hartman et al., 2013, Veasey et al., 2004). La reducción de la dormición es un fenotipo convergente de los diversos procesos de domesticación, que se logró por la selección en paralelo de un conjunto reducido de genes homólogos funcionalmente conservados entre los cultivos (Wang et al., 2018).

A pesar de lo anterior, la selección de coloraciones menos intensas de las cubiertas en cereales, buscada para mejorar la palatabilidad y reducir la toxicidad, pudo indirectamente haber seleccionado en contra de la dormición. Es frecuente encontrar que los pericarpos de los cereales cultivados son más claros que los de sus relativos silvestres (Rodríguez et al., 2015, Gu et al., 2011, Kottarachchi et al., 2006). Un color más oscuro se debe a una mayor acumulación de compuestos fenólicos, lo que logra pericarpos rojizos, amarronados o negros, según la especie. A estos pigmentos se les atribuyen acciones inhibitorias sobre la germinación, pero las causas pueden ser otras (Rodríguez et al., 2015). Por ejemplo, en arroz, la asociación entre el color rojizo del pericarpo y una mayor dormición se debe a un gen pleiotrópico que regula la síntesis de ABA y la de los flavonoides (Gu et al., 2011).

Aunque una baja dormición de semillas es deseable para una implantación del cultivo rápida y sincrónica, este fenotipo puede generar problemas importantes como que las semillas puedan germinar sobre la planta madre. Este problema se conoce como brotado precosecha y es importante en cultivos de cereales en lugares del mundo donde hay chance de precipitaciones durante los últimos tramos del desarrollo de las semillas. El brotado precosecha implica, en muchos casos, la removilización de reservas que reducen la calidad de los granos para la industria. Además, se reduce la capacidad de conservación en seco de las semillas (Rodríguez et al., 2015, Mares y Mrva, 2014). Estudios genéticos y moleculares con cultivares resistentes y tolerantes al brotado

precosecha comprobaron que este problema está intrínsecamente asociado al nivel de dormición primaria y a la regulación del metabolismo y la sensibilidad del ABA y las giberelinas (Cantoro et al., 2016, Castro et al., 2010, Kulwal et al., 2010, Gubler et al., 2005, Li et al., 2004). La temperatura durante el llenado de grano tiene un efecto importante para cambiar la dormición primaria de las semillas producidas, por lo que puede afectar la resistencia al brotado precosecha de un genotipo (Gualano y Benech-Arnold, 2009).

2.4.3. Dormición de semillas en cultivos poco domesticados: caso de gramíneas forrajeras

Las gramíneas utilizadas para forraje o biomasa presentan menor grado de avance en la domesticación que los cereales y se las clasifica como semidomesticadas. Muchos cultivares forrajeros presentan claras diferencias con las especies o poblaciones silvestres en la producción y calidad nutricional del forraje, o resistencia a estreses bióticos y abióticos de las plantas adultas. Pero, en general, no existen diferencias sustantivas en características de regeneración asociadas al síndrome de domesticación, como la retención de las semillas en la espiga o panoja, o la dormición de semillas (Capstaff y Miller, 2018, Pereira et al., 2018, Fuller y Allaby, 2009, Humphreys et al., 2006, Wilkins y Humphreys, 2003).

Se han planteado algunas posibles causas de por qué los cultivos de gramíneas forrajeras no fueron completamente domesticados: a) el inicio del proceso de domesticación de cultivos forrajeros es mucho más reciente. Los antecedentes de seleccionar y recolectar semillas para resiembra se remontan al siglo XIII, y sólo al inicio del siglo XX hay antecedentes de producción de variedades mejoradas (Wilkins y Humphreys, 2003). b) El mejoramiento genético se ha basado en características vegetativas y fenológicas asociadas a la producción de forraje, pero muy poco en características de semillas. En muchos casos, la selección es de forma indirecta a través de la respuesta de los animales que se alimentan de las plantas (Wilkins y Humphreys, 2003). c) Muchas de las gramíneas forrajeras presentan mayores desafíos para el mejoramiento que los cereales. Entre las especies forrajeras, hay casos de alógamias

autoincompatibles con alta chance de cruzamiento con poblaciones silvestres, alopoliploides con herencia polisómica, o apomixis (Hu et al., 2018, Sandhu et al., 2015, Wilkins y Humphreys, 2003, Martínez-Reyna y Vogel, 2002). A pesar de que para algunas especies como *Panicum virgatum* L. o *Urochloa* spp. se han desarrollado marcadores moleculares para asistir a la selección, la producción actual de estas especies sigue basándose en selecciones de la variabilidad natural (Pereira et al., 2018, Casler et al., 2011, Miles et al., 2004).

2.4.3.1. Dormición de semillas en raigrás y festuca

En ambientes templados, la producción de pasturas en el mundo está dominada por las festucas (*Festuca* spp.) y raigrases (*Lolium* spp.). La selección de cultivares de estas especies rara vez se ha basado en características de las semillas, excepto para lograr una mayor retención de semillas (Wilkins y Humphreys, 2003). Los cultivares de raigrás y festuca suelen presentar emergencia y establecimientos aceptables, dado que presentan una dormición relativamente baja que se reduce significativamente a los pocos meses de almacenamiento en seco o de dispersadas en el campo (Stanisavljević et al., 2020, 2011, Ichihara et al., 2009, Chauhan et al., 2006, Steadman, 2004, Rodríguez et al., 1998). Cuando alcanzan su menor dormición, estas especies muestran un amplio rango de temperaturas (entre 10 y 25 °C) donde la germinación es alta (> 70 %) (Ahmed y Escobar-Gutiérrez, 2022, Butler et al., 2017, Zhang et al., 2013). Sin embargo, esta baja dormición no se obtuvo por selección fenotípica y mejoramiento. Existe evidencia de una alta respuesta germinativa a un amplio rango de temperaturas para varias accesiones naturales de raigrás perenne (*Lolium perenne* L.) (Ghaleb et al., 2022), y en varias accesiones de *Festuca hallii* (Vasey) Piper. (Qiu et al., 2010), comportamiento germinativo similar al que se puede observar en los cultivares.

Aunque la variabilidad genética dentro de *Lolium* y *Festuca* es importante (Matzrafi et al., 2021) y existen diferencias en la dormición primaria o en la respuesta germinativa a la temperatura (Ahmed y Escobar-Gutiérrez, 2022, Wiesner y Grabe, 1972), no parece ser necesario mejorar la dormición de las semillas en los cultivares de estas especies. Sin embargo, hay aspectos que vale la pena atender. Se reportó que

la dormición primaria fue mayor cuando las semillas se desarrollaron en temperaturas frescas ($< 20\text{ }^{\circ}\text{C}$), lo que puede traer consigo problemas en el establecimiento de la pastura en algunos años (Fernández et al., 2021, Steadman et al., 2004). Por otro lado, algunas poblaciones con comportamiento de maleza o ferales pueden mostrar mayor dormición, muchas veces asociado una mayor resistencia a herbicidas (Maity et al., 2021, Owen et al., 2015, Gundel et al., 2008). Si no se tienen las precauciones al momento de producir semillas, estas poblaciones ferales pueden cruzarse con los cultivares y generar materiales con mayor dormición.

2.4.3.2. Dormición de semillas en gramíneas forrajeras estivales

La dormición de semillas de los cultivares de gramíneas estivales usadas para la producción de forraje y biomasa es en general alta y, al igual que ocurre con otras características de domesticación, no presentan diferencias con respecto a la dormición de sus relativos silvestres (Adkins et al., 2002). Esto conlleva un alto riesgo al fracaso del establecimiento, que es una de las causas principales para explicar la baja adopción de las gramíneas estivales por parte de los productores (McCormick et al., 2009). Los productores han debido adaptar el manejo de las semillas y la siembra para obtener implantaciones satisfactorias (Fairey et al., 1997).

Las características de la dormición de las especies usadas son las que definen buena parte del manejo inicial. Por un lado, la dormición primaria se reduce con largos períodos de almacenamiento en seco (Usberti, 2007, Hopkinson y English, 2005, Maeda et al., 1997). Es usual encontrar la sugerencia de sembrar semillas con hasta un año de almacenamiento para asegurar una mayor implantación (Moore et al., 2013, Keyser et al., 2012, Cook, 2007). Para reducir el tiempo de almacenamiento, se han probado varios métodos para disminuir la dormición antes de la siembra, como tratamientos de *priming* (Halmer, 2004, Schrauf et al., 1995, Hardegree y Emmerich, 1994), el agregado de fitohormonas o agentes bióticos (de Agostini et al., 2022, Beckman et al., 1993) o tratamientos de escarificación (Costa et al., 2011, Usberti y Martins, 2007, Haynes et al., 1997). Sin embargo, los resultados no son consistentes

en algunos casos, y, en otros, el uso de las tecnologías recomendadas parece inaplicable a escala comercial.

Por otra parte, la ventana de condiciones ambientales para obtener una alta emergencia suele ser estrecha. La germinación de estas especies ocurre en mayor proporción con temperaturas altas (entre 25 y 35 °C) y buena disponibilidad hídrica (Egan et al., 2017, Cornaglia et al., 2005, Springer, 2005, Loch et al., 2004, Hsu et al., 1985). Esto hace que las fechas de siembras óptimas sean diferentes entre sitios, que dependen del momento del año donde se esperan precipitaciones en primavera o verano (Masters et al., 2004, Hsu y Nelson, 1986). Además, para obtener la mayor emergencia, no debe haber malezas en el campo y se recomienda sembrar las semillas cerca de la superficie del suelo, a no más de dos centímetros de profundidad (Berti y Johnson, 2013, Lodge y Harden, 2009). Estas recomendaciones se justifican por el alto requerimiento de factores que terminan la dormición como la luz, la alternancia de temperaturas y la presencia de nitrato (Sarath et al., 2006, Benech-Arnold et al., 1990, Flenniken y Fulbright, 1987, Ellis et al., 1986, Johnston y Miller, 1964).

La variabilidad intraespecífica en la dormición puede ser muy importante en especies alógamas con alta variabilidad genética (Seepaul et al., 2011). Se han logrado materiales de gramíneas estivales con mucho menor dormición de semillas por medio de selección fenotípica recurrente de la fracción que germina temprano (Anderson et al., 2009, Burson et al., 2009) o con la que germina en potenciales hídricos bajos (Springer, 2005). Los cultivares seleccionados por estos métodos resultaron en materiales con mayor establecimiento a campo (Springer et al., 2012, Anderson et al., 2011). En otras especies donde domina la apomixis, la variabilidad en la dormición puede ser menor, aunque es posible encontrar materiales apomícticos naturales con dormición mucho menores a la media (Glison et al., 2015). Las especies con apomixis suelen formar parte de un complejo de especies donde hay materiales con reproducción sexual, que pueden ser usados para incorporar variabilidad en los cultivares apomícticos (Miles, 2007, Miles et al., 2006) o para obtener cultivares sexuales con mayor chance de avance en procesos de mejoramiento genético (Monteverde et al., 2022).

2.5. CONSIDERAR LA DORMICIÓN DE SEMILLAS PARA UNA MÁS EFICIENTE ADOPCIÓN DE GRAMÍNEAS NATIVAS

Independientemente de cuál sea el objetivo, ya sea para perennializar los sistemas de producción, incrementar la sustentabilidad y tender a sistemas más agroecológicos, o realizar tareas de restauración de ambientes degradados, las especies a ser adoptadas deben poder ser reproducidas por el hombre y adaptarse al sistema modificado que se propone. Excepto para algunos cultivos, la forma más eficiente de propagar es el basado en la siembra de semillas en el suelo. Como se comentó más arriba, es evidente que los genotipos que presentan menor dormición son los que van a tener mayor éxito a la hora de la implantación. También, se deben buscar materiales que logren producir semilla de buena calidad. En trabajos donde se enlistan las características deseables de los materiales a ser adoptados se incluye que se considere la calidad de las semillas y su germinabilidad (Hanson y Ellis, 2020, DeHaan et al., 2016, Dear y Ewing, 2008). La estimación del nivel de dormición debe incorporarse en las instancias de evaluación de un material candidato a ser adoptado.

Es usual tender a mostrar las características resaltables de algunos materiales como representativas de una especie. Sin embargo, se debe tomar en cuenta la variabilidad natural que muestra una especie, dado que puede darse que distintas poblaciones presenten diferencias importantes. Si se conoce el sistema de reproducción dominante de la especie, es posible entender la estructura y distribución de la variabilidad genética natural (Acuña et al., 2019, Speranza, 2005). Por tanto, con este conocimiento se puede lograr una colecta de germoplasma eficiente para los objetivos planteados. En muchos casos, es esperable encontrar un patrón geográfico de la variabilidad genética, lo cual es probable que se traduzca en un patrón en la dormición de semillas, dado el alto potencial de adaptación que muestra esta característica (Glison et al., 2023, Cochrane et al., 2015, Wagmann et al., 2012).

3. MODELADO DE LA EMERGENCIA DE PLÁNTULAS EN ESPECIES DE PASPALUM USANDO DATOS AMBIENTALES DE EXPERIMENTOS A CAMPO

3.1. AUTORES Y FILIACIONES

Los autores del trabajo fueron: Nicolás Glison, Diego Batlla, Pablo González Barrios, Luis Viega, Sylvia Saldanha, Eduardo Musacchio, Pablo Rush y Pablo Speranza. Nicolás Glison, Luis Viega, Pablo Speranza son del Departamento de Biología Vegetal, Pablo González es del Departamento de Biometría, Estadística y Computación, y Sylvia Saldanha es de la Estación Experimental de Salto, todos ellos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de la República. Diego Batlla es de la Cátedra de Cerealicultura, y Eduardo Musacchio y Pablo Rush son de la Cátedra de Genética de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires (Argentina).

3.2 RESUMEN EN ESPAÑOL

En regiones templadas-cálidas, la adopción de gramíneas forrajeras estivales ha estado limitada por una emergencia de plántulas lenta e impredecible debido a la dormición de semillas. El desarrollo de modelos dirigidos por la temperatura y el potencial hídrico del suelo puede proveer herramientas para escoger las condiciones de siembra más adecuadas. Usualmente, los modelos son desarrollados con base en datos de la germinación obtenidos en condiciones controladas, pero pueden ser construidos con datos de emergencia de plántulas a campo y de estaciones meteorológicas. La cantidad de plántulas emergidas de cuatro especies de *Paspalum* (*P. dilatatum* var Chirú, *P. notatum* cv. INIA Sepé, *P. flavescens* y *P. urvillei*)³ fue anotada en cinco experimentos que se realizaron en tres locaciones del bioma Campos (Buenos Aires, Montevideo y Salto) durante dos años, con fechas de siembra de otoño y primavera y parcelas regadas y sin riego. Se usaron modelos de tiempo térmico y tiempo hidrotérmico para la velocidad de la emergencia de plántulas. Las predicciones de estos modelos fueron

³ Las denominaciones de las especies fueron modificadas según Rosso et al. (2022) con respecto al documento publicado y se incorporó la denominación del cultivar de *P. notatum* según Giorello et al. (2020).

mejores para parcelas regadas y siembras de otoño. Para modelar la proporción máxima de emergencia (MEP), se ajustó un modelo lineal mixto. Las mayores MEP dentro de los tratamientos sin riego se obtuvieron para las siembras de primavera temprana y las menores MEP en las siembras de primavera tardía. Además, se creó un índice ponderado de tiempo térmico (AWTT) para modelar la MEP. Este índice incluye un coeficiente que pondera la suma de los grados-días de cada día, el cual cambia según el rango hidrotérmico (HTR) donde se ubica cada día. Los rangos hidrotérmicos se definieron por umbrales de temperatura y potencial hídrico del suelo. Los umbrales y los valores de los coeficientes para cada HTR se optimizaron para cada especie hasta que la regresión lineal entre MEP y AWTT alcance el mejor ajuste. Los días con temperaturas promedio altas (> 18 o 20 °C, según la especie) acumularon la mitad de los grados-días cuando la disponibilidad de agua era alta, y no acumularon grados-días cuando la disponibilidad de agua fue media. Se discute sobre las diferencias encontradas entre las especies de *Paspalum*, las recomendaciones de la fecha de siembra y la utilidad del índice AWTT.

Modelling seedling emergence in *Paspalum* species using environmental data from field experiments

Nicolás Glison¹  | Diego Batlla² | Pablo González Barrios³ | Luis Viega¹ |
Sylvia Saldanha⁴ | Eduardo Mario Musacchio⁵ | Pablo Rush⁵ | Pablo Rafael Speranza¹ 

¹Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

²IFEVA/ Cátedra de Cerealicultura, CONICET/Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

³Departamento de Biometría, Estadística y Computación, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

⁴Estación Experimental de Facultad de Agronomía de Salto, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Salto, Uruguay

⁵Cátedra de Genética, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

Correspondence

Nicolás Glison, Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
Email: nigli@fagro.edu.uy

Funding Information

Agencia Nacional de Investigación e Innovación, Grant/Award Number: 5989

Abstract

In warm-temperate regions, the adoption of warm-season forage grasses has been hindered by low and unpredictable seedling emergence because of seed dormancy. Developing models driven by temperature (T) and soil water potential (Ψ) may provide tools for choosing adequate sowing conditions. Models are usually developed with controlled chamber germination data, but they can be built using field emergence and weather station data. Seedling emergence data of four *Paspalum* populations (two dallisgrass subspecies, bahiagrass and vaseygrass) were gathered from five experiments in three Campos locations (Buenos Aires, Montevideo and Salto) during two years, with fall and spring sowing dates and irrigated and non-irrigated plots. Thermal and hydrothermal time models were used for emergence timing. The predictions were better for irrigated plots and fall sowings. For maximum emergence proportion (MEP), a mixed linear model was adjusted. Within a non-irrigated treatment, the higher MEP was for early-spring sowings, but the lowest for late-spring ones. Additionally, a thermal time index (TTI) was modified to model MEP. A coefficient which weighs degree-days accumulation according to the hydrothermal range (HTR) of each day was set. The HTRs were defined by T and Ψ thresholds. Thresholds and coefficient values were optimized by genotype until linear regressions between MEP and modified TTI achieved higher fit. Days with high temperature ($>18^{\circ}\text{C}$ or 20°C according to genotype) accumulated half or none of degree-days when high- or mid-soil water content was available, respectively. Differences among *Paspalum* genotypes, sowing date recommendations and modified TTI usefulness were discussed.

KEYWORDS

degree-days, perennial forage grass, seed dormancy, soil water potential, warm-season grass

1 | INTRODUCTION

Perennial warm-season grasses are widely used for summer forage and biomass production (Farley et al., 2013; Mitchell et al., 2016). Several warm-season grasses like bahiagrass and dallisgrass (*Paspalum notatum* Flügge and *P. dilatatum* Poir.) are well adapted to subtropical and temperate regions that are not favorable for

more widely used tropical forage species (Campbell et al., 1999; Pizarro, 2000). *Paspalum* cultivars, like many other warm-season grasses, are in initial stages of the domestication process. Among other wild traits, they show a high level of seed dormancy (Adkins et al., 2002). In seeds with similar anatomy the leafy glumes have no effect on dormancy or germination (Duclos et al., 2013); however, the hard lemma and palea of the fertile floret may be strongly

implicated. Although water intake is restricted by these structures, they allow sufficient imbibition of the caryopsis to trigger germination (Duclos et al., 2013; Gallart et al., 2008; Glison et al., 2017; West & Marousky, 1989). Scarification procedures or a dry storage period can also be applied to obtain seed lots with lower seed dormancy level (Glison et al., 2015, 2017; Maeda et al., 1997; West & Marousky, 1989). Environmental conditions like alternating temperatures, chilling, nitrate or light may also break dormancy and increase germination (Glison et al., 2015; Johnston & Miller, 1964; Schrauf et al., 1995). Taking several factors into account, in previous work with these species we have shown that, in general, all seeds with a fully developed viable caryopsis can germinate if adequate conditions are met (Glison et al., 2015, 2017).

Seed dormancy is related to low and unpredictable seedling emergence, which is highly dependent on weather conditions. Seed dormancy may be one of the limitations for the adoption of warm-season grasses, particularly in warm-temperate regions (McCormick et al., 2009). Establishing the most suitable sowing date in locations with climatic variability implies understanding the most favorable environmental conditions for seedling emergence timing and proportion, and the date range when those conditions are most likely met. Estimating the effect of sowing date on seedling emergence with linear models has been a useful approach for a broad range of warm-season forage species and sites (Hsu & Nelson, 1986; Keyser et al., 2016; Lodge & Harden, 2009). This approach is empirical. Such models are developed based on field emergence data and their objective is to establish a relationship between seedling emergence and the selected sowing dates (Velten, 2009). However, this kind of model is not adequate to understand seedling emergence response to environmental variables. Their predictive power may be accurate for the sowing date and location range explored, but may fail to predict responses for environmental conditions outside that range.

The timing of seedling emergence in the field is essential for adequate crop establishment and it depends mainly on temperature and water potential (Forcella et al., 2000). Thermal time and hydro-thermal time (TT and HTT) models were developed from germination data in controlled environments to predict germination rates of non-dormant seeds at the population level for fully hydrated and limited water content situations respectively (Bradford, 2002; García-Huidobro et al., 1982; Gummerson, 1986). Simplified approaches based on HTT models were developed to predict field emergence timing for annual weeds using data from field experiments and weather stations (Leguizamón et al., 2009; Martinson et al., 2007; Royo-Esnal et al., 2010). One of these is the wet-thermal time (WT) index (Hardegree et al., 2018; Roundy et al., 2007), where air or soil temperature above a given temperature threshold is accumulated over days when soil water potential is higher than a given threshold. Logistic functions have been used to fit the increase in emergence relative to the observed maximum as a function of wet-thermal time accumulation.

Knowing the effect of environmental variables on the final number of seedlings that may emerge in the field after a given period is

another desired goal. Usually, maximum germination or emergence proportion is reached when enough TT or HTT after sowing elapses in either controlled-chamber germination or field emergence experiments (Grundy et al., 2000; King & Oliver, 1994). However, the TT and HTT models referred above are not able to predict this maximum proportion of germinated seeds when the species shows seed dormancy. The maximum germination proportion mainly depends on seed dormancy level (Batlla & Benech-Arnold, 2010), and pre-emergence seedling death rate must also be accounted for in field emergence data (Finch-Savage et al., 1998). These processes are strongly dependent on temperature and water potential. Threshold models were developed to explain the effect of time and temperature for both moist (stratification) or dry (after-ripening) seeds on dormancy release and induction rates, and they have been incorporated to TT or HTT models to improve their prediction power for germination timing and proportion for seeds with dormancy (Batlla & Benech-Arnold, 2004; Batlla et al., 2009; Battaglia, 1997; Chantre et al., 2009; Meyer & Allen, 2009). However, such mechanistic models are often complex to build and use (Grundy, 2003), and they may not sufficiently describe the response to fluctuations in several factors that are likely to take place simultaneously in the field.

More empirical approaches may be developed to fit a relationship between environmental conditions and the maximum emergence proportion with reduced complexity, at the expense of explanatory power. This kind of model may be predictive for the environmental range where it was built; a broader range may retrieve a more robust model (Passioura, 1996). Thermal time indexes (TTI), derived from the TT model (also named as heat units or growing-degree-days), were used to empirically model plant responses such as growth, flowering time or leaf appearance, which show a linear increase with increasing sub-optimal temperature (Ritchie & NeSmith, 2015). Setting an upper or high-temperature threshold and a different TTI formula for temperatures higher than the threshold has been the typical approach to fit the linear model for a temperature range broader than the sub-optimal range (Gilmore & Rogers, 1958; Roltsch et al., 1999). Furthermore, in some instances, the incidence of some factors other than temperature cannot be overlooked in TTI optimizations. Cao and Moss (1997) developed a model to predict winter wheat flowering time, where the daily degree-days accumulation was weighted according to the achieved vernalization and photoperiod requirements.

In this work, we generated field emergence data in three locations, with and without supplementary irrigation in different sowing dates and two years to understand field emergence response for four *Paspalum* species and biotypes that exhibit different levels of dormancy (Glison et al., 2015). Based on these data we empirically generated TT and WT logistic models to predict emergence timing. To model the maximum emergence proportion, we adjusted linear effect models using sowing season as a categorical factor. Additionally, we empirically adjusted a modified TTI with a weighting coefficient that assumes different values beyond specific temperature and water potential thresholds to model seedling emergence proportion.

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 | Plant material and field experiments

Seeds of four *Paspalum* populations were used for the experiments: *P. notatum* (var. *latifolium* cv. 'INIA Sepé'), *P. dilatatum* Chirú (cv. 'INIA Estanzuela Chirú'), *P. dilatatum* subsp. *flavescens* Roseng., Arrill. & Izag. (yellow-anthered dallisgrass) and *P. urvillei* Steud. (vaseygrass). Each material represents a single genotype since the first two are apomictic and the last two are naturally homozygous inbred lines. Seeds were produced in 2012 and 2013 at INIA La Estanzuela, Colonia, Uruguay (34°38'S, 57°69'W). After harvesting, seeds were stored under dry and cold conditions until the sowing dates (months on average). These conditions help to avoid seed ageing and retain seed dormancy, as reported for seeds of several other warm-season grasses (Hopkinson & English, 2005). Seeds were mechanically polished to remove leafy glumes, but the lemma and palea of fertile floret remained unaltered. To adjust the number of seeds to be used in each plot, before each sowing date, each seed lot was tested for viability using first a germination test followed by a tetrazolium test of all ungerminated seeds. The germination tests were performed in a controlled chamber under alternating temperatures 20°C/30°C (12/12 hr, dark/light), with 0.2% KNO₃.

Five experiments were carried out during 2013 and 2014 in three locations in Uruguay and Argentina (Table 1). A split-split-plot design with three blocks (replications) was used in each experiment, where the main plot was the irrigation treatment (irrigated and non-irrigated), the split-plot was the sowing season (up to four sowing dates categorized into sowing seasons) and the split-split plot was the genotype. In each experimental unit, approximately 162 viable seeds were sown at 2 cm of depth in three 1.2 m rows 0.3 m apart (45 viable seeds/m). The appropriate number of full spikelets (with developed caryopses) were separated by hand from samples of each seed lot to reach the number of viable seeds required. In irrigated plots, the soil surface was kept permanently moist by manual (Montevideo) or automatic (Buenos Aires and Salto) irrigation systems until 40 days after sowing. Cumulative seedling emergence was recorded at time intervals between twice a week and once every 2 weeks in the different locations. A seedling was considered emerged when the first leaf was visible. The proportion of emerged seedlings on a viable seed basis (seedlings emerged/162 viable seeds) and the per cent relative emergence (100 × seedlings emerged/maximum accumulated emergence) were calculated for each count. Maximum accumulated emergence was recorded for each genotypes, sowing season and irrigation treatment after 60 days of evaluation or when no more seedlings emerged after two consecutive counts and maximum emergence proportion (maximum accumulated emergence/162 viable seeds) was estimated.

Daily maximum and minimum air temperature and precipitation data were obtained at each site from the weather stations closest to the experiment. Daily mean air temperature (T_m) was calculated with daily maximum and minimum air temperature. Daily soil water

potential at 2 cm of depth (Ψ) was estimated based on location, soil composition, daily precipitation and temperature data using the STM^2 model (Spokas & Forcella, 2009). Average mean temperature (AMT) and cumulative precipitation for each sowing event and genotype were calculated for the period between sowing date and maximum emergence proportion.

2.2 | Modelling of emergence timing

2.2.1 | Modelling assumptions

Daily mean air temperature (T_m) and soil water potential at 2 cm of depth (Ψ) were used to estimate cumulative thermal time (TT, Equation 1) and wet-thermal time (WT, Equation 2) for each count. Accumulated TT and WT were estimated as follows:

$$TT_i = \sum_{j=1}^i (T_{m_j} - T_b) \quad (1)$$

$$WT_i = \sum_{j=1}^i (TT_j \times HT_j) \quad (2)$$

where i are the days after sowing, and T_b is the base temperature threshold; if $T_m < T_b$, then $TT = 0$. In Equation (2), HT is the hydrotime component that prevents thermal sum when Ψ is lower than a base threshold ($\Psi > \Psi_b$, $HT = 1$; otherwise, $HT = 0$). The functional relationship between each index and the percentage of relative emergence (RE) was characterized using a two-parameter Weibull function,

$$RE_i = 100 \times \left(1 - e^{-\left(\frac{TT_i \Psi_i}{b} \right)^c} \right) \quad (3)$$

where b is the thermal sum required to achieve, approximately one half of the maximum emergence, and c is a shape curvature index; high values reflect higher emergence synchronicity.

2.2.2 | Modelling procedures and model validations

Data of the location with the most complete emergence records (Montevideo) were used to fit T_b , Ψ_b and Weibull parameters for each genotype and irrigation treatment. The relative emergence increase for each genotype was fitted to Equation (3) with different TT and WT scales by T_b and Ψ_b iteration until a high model accuracy was achieved. Non-linear fitting procedures were carried out with GraphPad Prism® (GraphPad Software, <http://www.graphpad.com>), version 5.01 for Windows. After selecting TT and WT scales, Weibull b - and c -parameters for each replicate were estimated with the *nlslst* function in the nlme package in R (R Core Team, 2016). Adjusted means for each Weibull parameter by genotype and irrigation treatment were estimated after adjusting a linear split-plot effect model, where the main plot effect was the

TABLE 1 Description of the sites (location and soil composition), years and dates of each sowing event, which were grouped in sowing seasons according to experimental design. For each sowing event, environmental summary data (average mean temperature and cumulative precipitation) and the number of days required to maximum emergence proportion (Days until MEP) are shown.

Site (location)	Soil composition	Year	Sowing date	Sowing season	Sowing event code	Environmental summary data [†]			Days until MEP (counts) [‡]	
						AMT (°C d ⁻¹)	Cum. PP (mm)		Irrigated	Non-irrigated
Buenos Aires, Argentina (34°350 S, 56°290 W)	35% clay, 55% silt, 10% sand, 3.8% O.M. [§]	2013	Oct 21th	Early spring	B13-ES	19.7	304		25 (7)	31 (9)
			Nov 28th	Late spring	B13-LS	26.2	155		28 (6)	44 (8)
Montevideo, Uruguay (34°511 S, 56°120 W)	30% clay, 50% silt, 20% sand, 2.2% O.M.	2013	Apr 26th	Late fall	M13-EF	13.6	95		42 (8)	52 (11)
			Oct 14th	Early spring	M13-ES	18.4	169		42 (6)	51 (7)
			Nov 12th	Late spring	M13-LS	22.9	214		28 (5)	65 (7)
			Mar 13th	Early fall	M14-EF	18.2	129		35 (7)	42 (8)
		2014	Apr 10th	Late fall	M14-LF	15.3	136		35 (7)	40 (8)
			Sep 17th	Early spring	M14-ES	17.1	139		34 (9)	34 (9)
			Oct 15th	Late spring	M14-LS	19.7	220		27 (7)	37 (10)
			Apr 1st	Early fall	S13-EF	17.0	208		35 (4)	49 (6)
Salto, Uruguay (31°232 S, 57°574 W)	30% clay, 50% silt, 20% sand, 2.0% O.M.	2013	Apr 26th	Late fall	S13-LF	14.8	514		46 (1)	46 (1)
			Oct 16th	Early spring	S13-ES	21.1	504		37 (4)	44 (5)
		2014	Mar 23th	Early fall	S14-EF	19.1	252		38 (2)	38 (2)
			May 14th	Late fall	S14-LF	12.9	94		42 (2)	42 (2)
			Sep 19th	Early spring	S14-ES	18.0	178		39 (2)	39 (2)
			Oct 21th	Late spring	S14-LS	22.1	212		37 (2)	37 (2)

[†]Average mean temperature (AMT) and cumulative precipitation (Cum. PP) were estimated from sowing date to the moment where maximum emergence proportion was annotated in non-irrigated plots.

[‡]Number of seedling emergence counts since sowing date to the moment where maximum emergence proportion was annotated are shown in brackets.

O.M. = organic matter percentage.

sowing season and the split-plot effect was the genotype. Model fitting was performed with *sp.plot* function in the *agricolae* package (R software). Least significant difference analysis ($\alpha = 0.05$) was performed to compare Weibull parameters among genotypes.

Model validations were performed for sowing events that showed more than two emergence counts. The root mean square error (RMSE) and the determination coefficient (R^2) between predicted and observed relative emergence values were estimated for each sowing event with the *Metrics* package (R software) and Graphpad Prism® software respectively.

2.3 | Modelling of maximum emergence proportion

2.3.1 | Effect of sowing season and *Paspalum* genotype on maximum emergence proportion

Deviance analysis for maximum emergence proportion (MEP) was carried out with a generalized mixed linear effect model from the experiments that had data from, at least, one fall and one spring sowing season (Table 1). The analysis was performed with the *glmer* function from the *lme4* package in R software, assuming a binomial distribution (logit as link function), where p was seedling emergence events and n was 162 viable seeds in each plot. Year, site, block, block-by-irrigation treatment interaction and block-by-irrigation-by-sowing season interaction were assumed as random effects, and irrigation treatment, sowing season, genotype and their interactions as fixed effects. Adjusted means for all fixed effects were calculated, and multiple comparisons among fixed factor levels were done with Tukey's test ($\alpha = 0.05$).

2.3.2 | Generation of a thermal time index to model MEP

The thermal time formula with T_b optimized for emergence timing models (Equation 1) may be used as a base to be adjusted to MEP response. We assumed that the degree-days accumulated to reach MEP was enough to fulfil the TT requirements for the emergence of the seed population fraction that was allowed to germinate in each sowing event. The relationships between the accumulated TT and MEP were studied for each genotype in irrigated plots to ensure situations with high water availability. Linear and quadratic regressions between MEP and accumulated TT were explored using all or a subset of the sowing events with Graphpad Prism® software.

Maximum germination proportion in several species shows a bell-shaped response to increasing temperatures (Grundt et al., 2000; Seepaul et al., 2011). Thus, high temperatures may result in a lower germination proportion than predicted with a linear model driven by TT accumulation with a single formula as Equation (1), and the same result is to be expected for low water potentials. These deviations from the linear model may be corrected by weighting the

TT accumulation in days with higher temperatures, lower water potential, or both. Thus, we tested the use of a coefficient to weight the degree-days contribution of such days. This coefficient can assume different values, one for each hydrothermal range (HTR), and these ranges were defined using temperature and water potential thresholds. Such daily weighted thermal time index (WTTI) may be expressed as follows:

$$WTTI_i = w_{(HTR)_i} \times (Tm_i - T_b) \quad (4)$$

where $w_{(HTR)_i}$ is the weighting coefficient of the day i , which can get a value between 0 and 1 according to the fitted value for the hydrothermal range (HTR) that corresponds to the day i .

A normalization with days until MEP was also necessary for WTTI optimization. The normalized WTTI can be described as follows:

$$AWTT_j = \frac{\sum_i WTTI_i}{n_j} = \frac{\sum_i [w_{(HTR)_i} \times (Tm_i - T_b)]}{n_j} \quad (5)$$

where AWTT is the Average Weighted Thermal Time for j sowing event, with degree-days by day ($^{\circ}\text{Cd d}^{-1}$) as units, i is days after sowing, n_j is days until MEP, Tm is the mean air temperature, T_b is base temperature threshold which take the same value adjusted for emergence timing models and $w_{(HTR)}$ is the weighting coefficient, which depends on the hydrothermal range (HTR).

Temperature and water potential thresholds and $w_{(HTR)}$ values were optimized by iteration with Solver tool of MS Excel® until Pearson's correlation coefficient between AWTT and MEP was maximized by genotype and irrigation treatment. The data from all sowing events was used for model optimization, in order to build the most robust model. However, model validation was not possible because no seedling emergence independent data on these *Paspalum* genotypes was available. Each iterated parameter required a definition of boundaries. Regression analyses for MEP with AWTT were carried out with Graphpad Prism® software, and the determination coefficient (R^2) was used as a fitting diagnostic. An F -test ($\alpha = 0.05$) was carried out for each regression to test slope significance.

3 | RESULTS

3.1 | Environmental conditions during emergence evaluation periods

Montevideo showed a lower mean temperature (Tm) than Salto and Buenos Aires, but there was not a clear difference in Tm between years (Table 1; Figure S1). Lower precipitation was recorded in 2013 in comparison to 2014, which resulted in lower soil water potential (Ψ) in several days of 2013 and almost none in 2014 (Table 1; Figure S1). For each sowing event and irrigation treatment, no substantial differences was observed among *Paspalum* genotypes in the time interval to reach MEP (Figure S2); thus, the

number of days until MEP was considered the same for all genotypes (Table 1).

3.2 | Modelling emergence timing

Data from irrigated plots from Montevideo 2014 were used to fit the Weibull function for each *Paspalum* genotype with TT as a predictor. A high fit for the Weibull function was obtained for all genotypes (R^2 between .91 and .96) when $T_b = 8^\circ\text{C}$; thus the TT scale with $T_b = 8^\circ\text{C}$ was selected for modelling all genotypes. Differences in the Weibull b -parameter ($p < .001$) were found among genotypes under irrigated conditions. *P. dilatatum* Chirú showed the lowest b -parameter value compared to the other genotypes (Table 2).

For non-irrigated plots, data from Montevideo in 2013 and 2014 were used to fit the Weibull function with WT, excluding M14-LS because no emergence was registered in some replicates. R^2 values higher than .80 were achieved for all *Paspalum* genotypes with $T_b = 8^\circ\text{C}$ and Ψ_b higher than -1.2 MPa. A reasonable fit was retrieved for all genotypes (R^2 between .80 and .86) with $\Psi_b = -1.0$ MPa; thus, this WT scale (with $T_b = 8^\circ\text{C}$ and $\Psi_b = -1.0$ MPa) was used to model all genotypes. No differences among genotypes were detected for Weibull b -parameters ($p = .28$). There were no differences among genotypes in Weibull c -parameter for both irrigation treatments (Table 2).

Models for irrigated plots successfully predicted the observed relative emergence for all *Paspalum* genotypes in several sowing events (RMSE < 17%). Some genotypes got high RMSE values in B13-LS, M13-LF and M14-LS (Table 3). However, all models failed to predict observed relative emergence for M13-ES and S13-ES sowing events, where the models underestimated the time to emergence (Table 3; Figure 1j). On the other hand, models for non-irrigated plots showed poor predictive ability (RMSE > 17%) more often than for irrigated plots. However, WT models were better than TT models to predict non-irrigated observed data (Figure 1b,e,h,k). The models for non-irrigated plots showed low

RMSE (<17%) for most fall sowings, but the prediction ability was often inadequate for the spring dates; high RMSE was estimated for all the genotypes in M13-ES, M14-ES and M14-LS sowing events (Table 4).

3.3 | The effect of sowing season and genotype on emergence proportion

All *Paspalum* genotypes showed higher maximum emergence proportion (MEP) in early-spring dates, except for *P. urvillei* in non-irrigated plots (Table 5). Across genotypes, the lowest MEP was estimated for late fall in irrigated plots and late spring in non-irrigated plots. *P. dilatatum* Chirú showed higher MEPs, and the lower MEPs were observed for *P. urvillei* in spring and by *P. notatum* in fall sowings, regardless of irrigation treatment. Differences in MEP between irrigation treatments were found in spring sowings for all *Paspalum* genotypes, but only within some genotypes in fall sowings.

3.4 | Relationships between MEP and accumulated thermal-time

Differences in the number of days until MEP across sowing events were found (Table 1), so, normalization for the TT accumulated with days until MEP was done, and average daily thermal time was generated for each sowing event. As MEP is a variable with a binary distribution, probit transformation was used to avoid the prediction of negative proportions. All *Paspalum* genotypes showed similar MEP responses to increasing average daily thermal time in irrigated plots, where MEP linearly increased until it starts to decline and become more variable in sowing events with higher TT accumulation (Figure 2). Quadratic regressions performed poorly ($R^2 < .46$) when all irrigated plot data were used. Significant linear regressions with higher fitting results were obtained for each genotype when only data from colder sowing events (AMT < 19.5°C , Table 1) were considered (Figure 2).

Irrigation treatment [†]	Genotypes	Weibull parameters	
		b -parameter	c -parameter
Irrigated ($T_b = 8^\circ\text{C}$)	<i>P. dilatatum</i> Chirú	$153.3 \pm 31.6c^{\ddagger}$	$3.75 \pm 1.49a$
	<i>P. dilatatum flavescent</i>	$175.7 \pm 19.3b$	$4.25 \pm 2.67a$
	<i>P. notatum</i>	$189.0 \pm 13.9ab$	$3.90 \pm 1.87a$
	<i>P. urvillei</i>	$203.4 \pm 31.2a$	$4.29 \pm 1.17a$
Non-irrigated ($T_b = 8^\circ\text{C}$; $\Psi_b = -1.0$ MPa)	<i>P. dilatatum</i> Chirú	$231.7 \pm 57.2a$	$4.70 \pm 2.83a$
	<i>P. dilatatum flavescent</i>	$230.1 \pm 44.7a$	$4.01 \pm 1.25a$
	<i>P. notatum</i>	$250.4 \pm 42.7a$	$5.17 \pm 1.73a$
	<i>P. urvillei</i>	$249.7 \pm 59.2a$	$4.48 \pm 2.49a$

[†]Temperature and water potential base thresholds used to calculate TT and WT are shown.

[‡]Different letters within each combination of irrigation treatment and Weibull parameter mean significant differences among genotypes, according to Least Significant Difference test ($\alpha < 0.05$).

TABLE 2 Adjusted means and standard deviation of Weibull b - and c -parameters estimated by *Paspalum* genotypes for Montevideo 2014 irrigated plots and Montevideo 2013 and 2014 non-irrigated plots.

TABLE 3 Root mean square error (RMSE, percentage as unit) and determination coefficient (R^2) between predicted and observed relative emergence from irrigated plots for each sowing event and *Paspalum* genotypes obtained with a TT index with $T_b = 8^\circ\text{C}$.

Sowing event code ¹	<i>P. dilatatum</i> Chirú		<i>P. dilatatum</i> flavescens		<i>P. notatum</i>		<i>P. urvillei</i>	
	RMSE (%)	R^2	RMSE (%)	R^2	RMSE (%)	R^2	RMSE (%)	R^2
B13-ES	11.2	.93	9.5	.95	8.5	.96	10.3	.94
B13-LS	18.9²	.76²	10.6	.92	20.3	.74	21.4	.73
M13-LF	23.9	.62	18.9	.72	21.8	.61	7.9	.96
M13-ES	36.6	.23	31.2	.43	22.8	.73	26.5	.60
M13-LS	6.7	.98	9.1	.96	16.2	.86	15.1	.89
M14-EF	7.0	.97	8.0	.96	7.4	.97	11.5	.92
M14-LF	5.7	.98	7.9	.96	7.0	.97	11.0	.93
M14-ES	20.5	.74	12.0	.89	11.1	.91	13.5	.89
M14-LS	16.2	.85	9.7	.95	7.8	.96	8.9	.95
S13-EF	10.6	.91	15.6	.80	9.8	.94	4.9	.99
S13-ES	34.2	.28	32.2	.43	20.1	.74	27.5	.56

¹Sowing events in italics were used for model development.

²High RMSE values (> 17%) and low R^2 (< .80) were shown in bold.

TABLE 4 Root mean square error (RMSE, percentage as unit) and determination coefficient (R^2) between predicted and observed relative emergence from non-irrigated plots for each sowing event and *Paspalum* genotypes obtained with a WT index with $T_b = 8^\circ\text{C}$ and $\Psi_b = -1.0$ MPa.

Sowing event code ¹	<i>P. dilatatum</i> Chirú		<i>P. dilatatum</i> flavescens		<i>P. notatum</i>		<i>P. urvillei</i>	
	RMSE (%)	R^2	RMSE (%)	R^2	RMSE (%)	R^2	RMSE (%)	R^2
B13-ES	27.7²	.62²	15.4	.88	16.9	.85	15.3	.89
B13-LS	18.0	.83	18.6	.83	14.2	.90	22.9	.74
M13-LF	8.1	.96	10.8	.93	11.1	.91	14.7	.88
M13-ES	26.6	.35	20.9	.70	17.8	.71	24.9	.65
M13-LS	18.6	.70	22.9	.49	16.1	.82	34.4	.15
M14-EF	11.4	.91	9.1	.94	7.6	.97	19.3	.71
M14-LF	9.7	.95	9.4	.95	5.6	.98	9.7	.93
M14-ES	33.0	.39	24.3	.64	24.3	.63	17.0	.83
M14-LS ³	23.7	.70	27.6	.58	22.1	.70	50.4	<0
S13-EF	58.8	.34	12.3	.90	11.8	.92	17.1	.84
S13-ES	8.5	.96	13.9	.89	13.8	.88	25.1	.67

¹Sowing events in italics were used for model development.

²High RMSE values (> 17%) and low R^2 (< .80) were shown in bold.

³This Montevideo 2014 sowing event was excluded from the model dataset because no emergence was registered in some replicates.

3.5 | AWTT index optimizations

Optimization proceeded first for irrigated plot data, assuming no soil water deficit. The base temperature value for AWTT (Equation 5) was the same as adjusted for emergence timing models ($T_b = 8^\circ\text{C}$). Lower (T_{low}) and higher (T_{high}) temperature thresholds were defined, thus, three HTR were built; low-T ($T_m < T_{low}$), mid-T ($T_{low} < T_m < T_{high}$) and high-T ($T_m > T_{high}$). Some w_{HTR} were fixed throughout all optimization procedures; $w_{(mid-T)(high-w)} = 1.0$, which is the HTR where the linear regression between MEP and average daily thermal time was met (Figure 2), and $w_{HTR} = 0$ for whole low-T range regardless of Ψ , where

no emergence is likely. Boundaries for iteration were set to 8 and 14°C for T_{low} , 18°C and 24°C for T_{high} , and 0 and 1 for w_{HTR} . Linear regression with optimized AWTT was obtained for each *Paspalum* genotype ($p < .001$, Figure 3). A lower T_{low} was adjusted for *P. dilatatum* Chirú and *P. urvillei* and also a lower T_{high} for *P. dilatatum* Chirú, while $w_{(high-T)(high-w)}$ was adjusted between 0.25 and 0.38 for all genotypes (Table 6A).

Water potential thresholds were included to optimize AWTT for non-irrigated data. Optimized AWTT with a single water potential threshold reached a significant linear regression for some *Paspalum* genotypes ($p < .001$); however, no R^2 higher than .32 was retrieved. Two soil water potential thresholds were defined to improve the

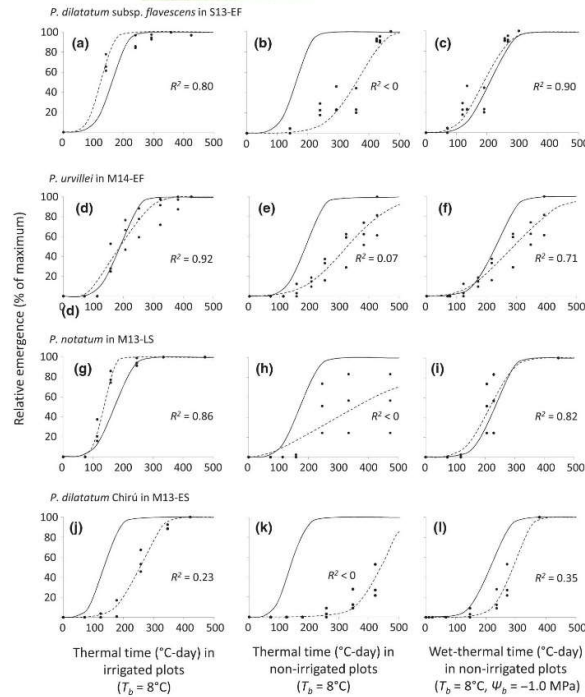


FIGURE 1 Examples of relative emergence predicted by models (solid lines) and the best-adjusted Weibull curves (dashed lines) for observed data (black points) in both irrigation treatments. (a, d, g, j) Models built for irrigated plots compared to observed data in irrigated plots using thermal time accumulation. (b, e, h and k) Models built for irrigated plots compared to observed data in non-irrigated plots using thermal time accumulation. (c, f, i and l) Models built for non-irrigated plots compared to observed data in non-irrigated plots using wet-thermal time accumulation. For each plot, the determination coefficient (R^2) between predicted and observed data is shown.

TABLE 5 Adjusted means for maximum emergence proportion for each level of irrigation treatment, sowing season and *Paspalum* genotypes (fixed effect factors) after deviance analysis.

		Sowing seasons											
Irrigation treatment	Genotypes	Early fall			Late fall			Early spring			Late spring		
Irrigated	<i>P. dilatatum</i> Chirú	0.52	b	B [†]	0.45	a	B	0.77	a	A	0.80	a	A
	<i>P. dilatatum</i> <i>flavescens</i>	0.61	a	B	0.21	b	C	0.71	b	A	0.68	b	AB
	<i>P. notatum</i>	0.26	d	B	0.14	c	C	0.51	c	A	0.55	c	A
	<i>P. urvillei</i>	0.39	c	A	0.20	c	B	0.43	d	A	0.35	d	A
Non-irrigated	<i>P. dilatatum</i> Chirú	0.45	a	B*	0.44	a	B	0.55	a	A*	0.23	a	C*
	<i>P. dilatatum</i> <i>flavescens</i>	0.35	b	B*	0.26	b	C	0.49	b	A*	0.17	a	D*
	<i>P. notatum</i>	0.27	c	B	0.21	c	BC*	0.38	c	A*	0.18	a	C*
	<i>P. urvillei</i>	0.32	b	A*	0.20	c	B	0.23	d	B*	0.02	c	C*

Note: Standard deviation and number of groups (in brackets) estimated for each random effect factor in logit scale: Site = 0.15 (2), Year = 0.14 (2), Block = 4.7×10^{-8} (3), Block $\times$ Irrigation treatment = 0.043 (6), Block $\times$ Irrigation treatment $\times$ Sowing season = 0.086 (24).

[†]Lower-case letters indicate differences among genotypes within each irrigation and sowing season combinations. Upper-case letters indicate differences among sowing season within irrigation and genotype combinations (Tukey's test $\alpha = 0.05$). Asterisks in non-irrigated rows indicate differences between irrigation treatments within sowing season and genotype combinations (* $p < .001$).

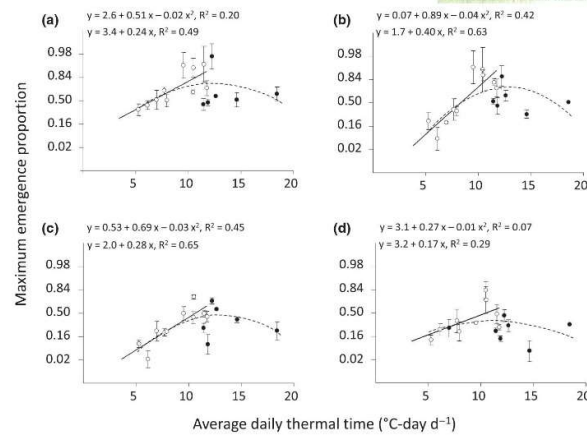


FIGURE 2 Relationship between maximum emergence proportion (MEP) in probit scale and average daily thermal sum for each *Paspalum* genotypes in irrigated plots: (a) *P. dilatatum* Chirú, (b) *P. dilatatum* subsp. *flavescens*, (c) *P. notatum* and (d) *P. urvillei*. The average daily thermal time was obtained by dividing the accumulated thermal time (with $T_b = 8^\circ\text{C}$) required to reach MEP with days until MEP. Symbols are mean MEP for each sowing event and vertical lines represent the standard deviation. Quadratic regressions (dashed lines) were obtained with all sowing events (white + black symbols) and linear regressions (solid lines) were obtained with sowing events marked with white symbols. Adjusted quadratic and linear equations for each genotype and the determination coefficient (R^2) for each regression are shown.

fitting; low (Ψ_{low}) and high (Ψ_{high}), which combined with the two temperature thresholds resulted in nine HTR (Figure S3). Boundaries for temperature thresholds and iterated w_{HTR} were maintained, and for water potential thresholds were set to -0.1 and -1.0 MPa for Ψ_{high} and -1.0 and -5.0 MPa for Ψ_{low} . Higher R^2 values than in previous optimizations for non-irrigated plots were obtained with nine HTR (Table 6B; Figure 4). *P. notatum* adjusted higher T_{low} and *P. dilatatum* subsp. *flavescens* higher T_{high} than other genotypes. Differences among *Paspalum* genotypes were found for Ψ_{low} (between -1.2 and -3.8 MPa) but not for Ψ_{high} . All genotypes registered $w_{\text{high-Tmid-}\Psi} = 0$ and $w_{\text{HTR}} < 1.0$ for the other iterated coefficient, except for *mid-Tmid-Ψ* range (Table 6B).

4 | DISCUSSION

4.1 | Performance of the models for emergence timing

Good predictive ability for emergence timing was achieved with thermal time models for a broad range of sowing events in irrigated plots, but a wet-thermal time model was required to fit the models for fluctuating soil water scenarios (Royo-Esnal et al., 2010). Despite this, the WT models showed low accuracy in some of their predictions, similar to emergence models built for several weed species (Leguizamón et al., 2005; Martinson et al., 2007; Roman et al., 2000;

Wang et al., 2006). The adjusted timing models for the assayed *Paspalum* genotypes suggest that high temperatures are associated with higher seedling emergence rates when water content is not low enough. Similar emergence timing models for other species needed an upper-temperature threshold to achieve a better fit (Royo-Esnal et al., 2015).

A low prediction ability of emergence timing models may be attributable to the expression of processes other than germination and seedling-growth rates. For example, seed dormancy of *Paspalum* species could change during the period of evaluation due to the effect of specific alternating temperature regimes (Roundy & Biedenbender, 1996; Schrauf et al., 1995), which may shift the WT-model base thresholds (Qiu et al., 2006). The effect of alternating temperatures was added to a TT-timing model to predict field emergence in johnsongrass (*Sorghum halepense* L. Pers.; Benech-Arnold et al., 1990). Without accounting for the effect of alternating temperature, this model underestimates emergence timing (Battla & Benech-Arnold, 2015), similar to what we observed in our validation results in some spring sowing dates, particularly the early ones. This response, together with higher emergence proportions, suggests that alternating temperatures of early spring could have a dormancy breaking effect for *Paspalum* species, as was demonstrated in previous work (Schrauf et al., 1995). On the other hand, changes in soil water content per se may also affect seed dormancy levels (Battla & Benech-Arnold, 2006), which can explain several high-RMSE results for WT model validations (Table 4). The combined effects of water fluctuation and alternating temperature may explain

TABLE 6 Adjusted values by *Paspalum* genotypes for temperature (T_{low} , T_{high}) and water potential (Ψ_{low} , Ψ_{high}) thresholds, and weighting coefficient ($w_{(HTR)}$) of iterated hydrothermal ranges. The determination coefficient (R^2) for each lineal regression is also shown as the fitting diagnostic.

(A) Adjusted values for irrigated plot				
	<i>Paspalum</i> genotypes			
	<i>P. dilatatum</i> Chirú	<i>P. dilatatum</i> flavescens	<i>P. notatum</i>	<i>P. urvillei</i>
Thresholds				
T_{low} (°C)	8.1	11.1	11.1	9.3
T_{high} (°C)	19.8	21.3	21.5	21.3
$w_{(HTR)}$ by hydrothermal range [†]				
High-T high- Ψ	0.34	0.35	0.38	0.25
Fitting diagnostic (R^2)	.45	.68	.54	.39
(B) Adjusted values for non-irrigated plot with two water potential thresholds				
	<i>Paspalum</i> genotypes			
	<i>P. dilatatum</i> Chirú	<i>P. dilatatum</i> flavescens	<i>P. notatum</i>	<i>P. urvillei</i>
Thresholds:				
T_{low} (°C)	8.0	8.1	11.1	8.2
T_{high} (°C)	18.3	20.4	18.5	18.5
Ψ_{high} (MPa)	-0.1	-0.1	-0.1	-0.1
Ψ_{low} (MPa)	-3.7	-2.3	-1.2	-2.3
$w_{(HTR)}$ by hydrothermal range [†]				
High-T high- Ψ	0.55	0.51	0.52	0.3
Mid-T mid- Ψ	1.0	0.73	0.92	1.0
High-T mid- Ψ	0	0	0	0
Mid-T low- Ψ	0.62	0.37	1.0	0.84
High-T low- Ψ	0.66	0.75	0.73	0.94
Fitting diagnostic (R^2)	.38	.45	.52	.28

[†]Weighting coefficient values for low-T range for any soil water potential was zero and for mid-T|high- Ψ range was one. Both were defined as fixed throughout all optimizations.

the worse prediction ability of WT models for spring dates in comparison to fall dates.

4.2 | Maximum emergence proportion: Sowing season effects

High emergence proportions were recorded in spring in irrigated plots; however, in non-irrigated plots, the lowest proportion was observed for late-spring dates. Low emergence proportions were reported for several warm-season grasses in late-spring dates without irrigation (Evers & Parsons, 2003; Hsu & Nelson, 1986; Keyser et al., 2016). The water content is critical for the emergence of this kind of grasses due to their particular seedling morphology which needs adequate water availability near the soil surface (Masters et al., 2004). Furthermore, a significant amount of seedling emergence was registered for fall season sowing events, even in the late-fall ones, although *Paspalum* species are warm-season grasses. *Paspalum dilatatum* shows a high leaf frost resistance among

warm-season grasses (Rowley, 1976), which allows it to maintain leaves alive during winter in warm-temperate climates. For this reason, fall sowing dates (the earlier, the better) may be appropriate for *P. dilatatum*.

4.3 | Maximum emergence proportion: AWTT optimization and weighting coefficient values

Linear regressions were attained after optimizing AWTT showing moderate to low fitting, but with higher fitting than obtained with quadratic and linear regressions between maximum emergence proportion and the thermal time accumulated without weighting (Figures 2 and 3). Slight differences in seed depth may retrieve significant variation in seedling emergence (Berti & Johnson, 2013). This fact may explain differences found among replicates. Despite the moderate fitting, the AWTT optimization retrieved some parameterized information (temperature and soil water potential thresholds and weighting coefficient values for

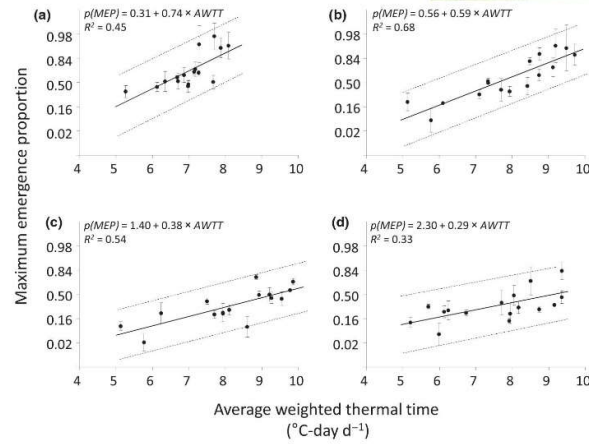
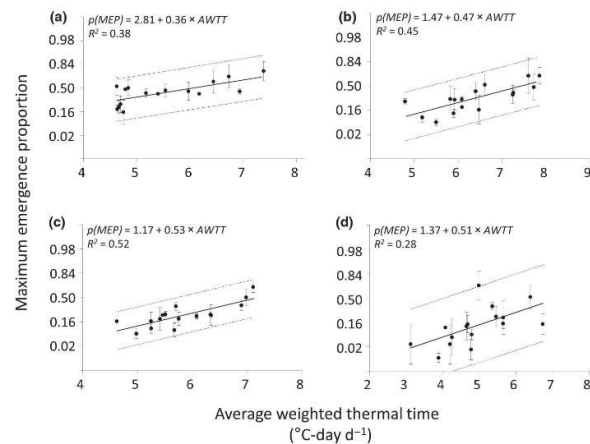


FIGURE 3 Linear regressions between maximum emergence proportion (MEP) with an optimized average weighted thermal time (AWTT) index for irrigated plots for each *Paspalum* genotypes: (a) *P. dilatatum* Chirú, (b) *P. dilatatum* subsp. *flavescens*, (c) *P. notatum* and (d) *P. urvillei*. Each point represents the mean MEP for a sowing event and vertical lines are the standard deviation. Linear regression (solid lines) and the 95% prediction interval (dashed lines) are shown. Linear regression equations and their adjustment (R^2) are also shown inside each plot where $p(\text{MEP})$ means probit transformed MEP. Adjusted values by genotypes for iterated $w_{(\text{HTR})}$ and thresholds are shown in Table 6A.

FIGURE 4 Linear regressions between maximum emergence proportion (MEP) with an optimized average weighted thermal time (AWTT) index for non-irrigated plots for each *Paspalum* genotypes: (a) *P. dilatatum* Chirú, (b) *P. dilatatum* subsp. *flavescens*, (c) *P. notatum* and (d) *P. urvillei*. Each point represents the mean MEP for each sowing event and vertical lines are the standard deviation. Linear regression (solid lines) and the 95% prediction interval (dashed lines) are shown. Linear regression equations and their adjustment (R^2) are also shown inside each plot where $p(\text{MEP})$ means probit transformed MEP. Adjusted values for iterated $w_{(\text{HTR})}$ and thresholds are shown in Table 6B.



each hydrothermal range) about the response of seedling emergence in each species to high temperatures, low water potential or both.

The adjusted thresholds and coefficient values can be taken as hypotheses about the effect of environmental variables on processes

involved in setting the proportion of emerged seedlings, mostly the expression of seed dormancy and pre-emergence seed death (Batlla & Benech-Arnold, 2010; Forcella et al., 2000; Grundy, 2003). Seed dormancy induction was observed in other warm-season grasses with temperatures higher than 20°C without water deficit (Duclos

et al., 2014; Masin et al., 2006). An increase in seedling death is expected when restrictions in water availability occur at high temperatures (Evers & Parsons, 2003). The weighting coefficients for days with high temperature and soil water potential (*high-T/high-Ψ* range) was lower than 1.0 and for days with high temperatures and mild soil water deficit (*high-T/mid-Ψ* range) adjusted equal to zero. These results suggest that seed dormancy induction may be higher than seed dormancy release in temperatures higher to 20°C for the assayed *Paspalum* genotypes even without soil water deficit, but seedling death rate must be considered when soil water deficit is present in addition to seed dormancy induction effect.

Defining two soil water potential thresholds was necessary to increase model accuracy for non-irrigated plots. Contrary to expectations, high coefficient values (between 0.66 and 0.94) were adjusted for the *high-T/low-Ψ* range. Days within such hydrothermal range occurred only in a few sowing events (B13-ES, B13-LS and M13-LS). However, in those cases, there were enough precipitations to allow seedling emergence after such days (see Figure S1). Higher germination proportions may follow hydration-drying-rehydration sequences than under constant seed hydration (Batlla & Benech-Arnold, 2006; Shen et al., 2001). The AWTT index is not able to distinguish the environmental fluctuation sequence. Also, a low fraction of days that fell into the *high-T/low-Ψ* range was obtained (less than 7% of total days evaluated, Figure S3). Thus, the weighting coefficient value for this hydrothermal range may be an artifact. Germination assays with hydration-drying-rehydration sequences lack for *Paspalum* species, in order to know the response to this possible environmental scenario during crop establishment.

4.4 | Differences among assayed *Paspalum* genotypes

Differences in seed physiological traits (germination, dormancy) and their environmental response among closely related species or cultivars that may affect seedling emergence behaviour are usual (Royo-Esnal et al., 2010; Seepaul et al., 2011). *Paspalum dilatatum* Chirú showed the lowest emergence timing and the highest maximum emergence proportions among *Paspalum* genotypes for both irrigation treatments. This seedling emergence behaviour is congruent with our previous results showing that the seed dormancy of the Chirú biotype is lower than that of other genotypes of *P. dilatatum* (Glison et al., 2015, 2017).

Moreover, a decrease in germination proportion through simulated reduced water potential has been reported for *P. dilatatum* and *P. notatum* (Cornaglia et al., 2005; Mullahey et al., 1996). The same trend has been observed in other warm-season grasses (Springer, 2005). Based on this, no difference in seedling emergence among genotypes under soil water deficit is expected; however, for *P. notatum*, the WT model showed better predictive power than other *Paspalum* genotypes. Also, high weighting coefficient values for both *mid-T/mid-Ψ* and *mid-T/low-Ψ* hydrothermal ranges were

fitted. Both results suggest a lower sensitivity to water deficit for this genotype of *P. notatum*, which must be tested in controlled germination and seedling emergence assays.

Low predictive power of emergence timing models and lower maximum emergence proportions were obtained for *P. urvillei* in non-irrigated plots. These results may be interpreted as a high sensitivity to water deficit which may be attributed to high seed dormancy. However, *P. urvillei* showed low seed dormancy in fully-hydrated germination assays (Harris, 1961; Souza-Chies & Cavalli-Molina, 1995). *Paspalum urvillei* has smaller seeds than the other *Paspalum* species (Burson, 1992). Among our seed lots, seed weight for *P. urvillei* was 35% and 23% that of *P. dilatatum* Chirú and *P. notatum*. Small seeds tend to produce seedlings with a lower ability to overcome soil impedance, which increases with soil water deficit (Finch-Savage & Bassel, 2016). Thus, a higher seedling death rate may have contributed to explaining the response of *P. urvillei* in soil water deficit situations.

4.5 | Practical sowing implications

As a general trend, late-spring dates often showed high temperatures, which induced earlier emergence timing, but also a reduced emergence proportion even with full water availability, probably reflecting seed dormancy induction. These results have important implications for the selection of the appropriate sowing date for these species. On the other hand, our results suggest that the selection of genotypes with low seed dormancy such as Chirú or applying a dormancy-release treatment, as a dry storage period or a scarification treatment (Glison et al., 2015, 2017), may also be effective to achieve higher stand establishment. Our emergence results suggest that sowing *Paspalum* species very early in the fall combined with cold-season species may be possible to establish mixed pastures in warm-temperate regions.

5 | CONCLUSIONS

The emergence timing models we developed were adequate to describe observed data, mainly for situations without water deficit. However, improvements are required to describe early-spring sowings more accurately. Furthermore, we introduced a modified thermal time index (AWTT), which can be empirically adjusted for seedling emergence proportion or for other traits driven by thermal time accumulation. This index was built only on data gathered from weather stations and field emergence records and it could be useful when not enough a priori information on dormancy, germination and seedling emergence is available for a species. The adjusted AWTT parameters (thresholds and coefficient values) may also be useful to make hypotheses about environmental effects on processes underlying emergence proportion such as seed dormancy expression and pre-emergence seedling death.

ACKNOWLEDGMENTS

We want to thank Ing. Agr. Carlos Rossi and Ing. Agr. Silvana González from INIA La Estanzuela (Uruguay) who provided the seeds for all the assays, and to Ing. Agr. Elizabeth Correa who helped to collect the weather station data from Montevideo and Salto. Also, this work would not have been possible without the collaboration of Lic. Nicolás Mastandrea, Yolanda Fernández, Matías Antuoni and Ing. Agr. Diego Michelini in emergence counting and plot irrigation. This work was founded by the Fondo María Viñas 2011, project code 5989, from Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII), Uruguay.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

AUTHOR CONTRIBUTION

Nicolás Alberto Glison: Conceptualization (lead); Data curation (equal); Formal analysis (lead); Investigation (equal); Methodology (equal); Resources (lead); Software (lead); Validation (equal); Visualization (lead); Writing-original draft (lead). **Diego Batlla:** Conceptualization (supporting); Methodology (supporting); Supervision (supporting); Validation (equal); Visualization (supporting); Writing-review & editing (supporting). **Pablo Martín González Barrios:** Formal analysis (supporting); Methodology (equal); Software (supporting); Validation (equal); Visualization (supporting); Writing-review & editing (supporting). **Luis Viegas:** Conceptualization (supporting); Supervision (supporting); Validation (supporting); Visualization (supporting); Writing-review & editing (supporting). **Sylvia Saldanha:** Data curation (equal); Investigation (equal); Resources (supporting). **Eduardo Mario Musacchio:** Data curation (equal); Investigation (equal); Resources (supporting). **Pablo Speranza:** Conceptualization (supporting); Funding acquisition (lead); Project administration (lead); Resources (supporting); Supervision (lead); Validation (supporting); Visualization (supporting); Writing-review & editing (lead).

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

ORCID

Nicolás Glison  <https://orcid.org/0000-0001-6559-8304>

Pablo Rafael Speranza  <https://orcid.org/0000-0003-3457-0151>

REFERENCES

- Adkins, S. W., Bellairs, S. M., & Loch, D. S. (2002). Seed dormancy mechanisms in warm season grass species. *Euphytica*, 126, 13–20. <https://doi.org/10.1023/A:1019623706427>
- Batlla, D., & Benech-Arnold, R. L. (2004). A predictive model for dormancy loss in *Polygonum aviculare* L. seeds based on changes in population hydrotimic parameters. *Seed Science Research*, 14, 277–286. <https://doi.org/10.1079/ssr2004177>
- Batlla, D., & Benech-Arnold, R. L. (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. <https://doi.org/10.1079/SSR2005234>
- Batlla, D., & Benech-Arnold, R. L. (2010). Predicting changes in dormancy level in natural seed soil banks. *Plant Molecular Biology*, 73, 3–13. <https://doi.org/10.1007/s11103-010-9601-z>
- Batlla, D., & Benech-Arnold, R. L. (2015). A framework for the interpretation of temperature effects on dormancy and germination in seed populations showing dormancy. *Seed Science Research*, 25, 147–158. <https://doi.org/10.1017/S0960258514000452>
- Batlla, D., Grundy, A., Dent, K. C., Clay, H. A., & Finch-Savage, W. E. (2009). A quantitative analysis of temperature-dependent dormancy changes in *Polygonum aviculare* seeds. *Weed Research*, 49, 428–438. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2009.00706.x>
- Battaglia, M. (1997). Seed germination model for *Eucalyptus delegatensis* provenances germinating under conditions of variable temperature and water potential. *Australian Journal of Plant Physiology*, 24, 69–79. <https://doi.org/10.1071/PP96040>
- Benech-Arnold, R. L., Ghera, C. M., Sanchez, R. A., & Insausti, P. (1990). A mathematical model to predict *Sorghum halepense* (L.) Pers. seedling emergence in relation to soil temperature. *Weed Research*, 30, 91–99. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.1990.tb01691.x>
- Berti, M. T., & Johnson, B. L. (2013). Switchgrass establishment as affected by seeding depth and soil type. *Industrial Crops and Products*, 41, 289–293. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.04.023>
- Bradford, K. J. (2002). Applications of hydrothermal time to quantifying and modeling seed germination and dormancy. *Weed Science*, 50, 248–260. [https://doi.org/10.1614/0043-1745\(2002\)050\[0248:AOH TTQ\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0043-1745(2002)050[0248:AOH TTQ]2.0.CO;2)
- Burson, B. L. (1992). Cytology and reproductive behavior of hybrids between *Paspalum urvillei* and two hexaploid *P. dilatatum* biotypes. *Genome*, 35, 1002–1006. <https://doi.org/10.1139/g92-153>
- Campbell, B. D., Mitchell, N. D., & Field, T. R. O. (1999). Climate profiles of temperate C3 and subtropical C4 species in New Zealand pastures. *New Zealand Journal of Agriculture Research*, 42, 223–233. <https://doi.org/10.1080/00288233.1999.9513373>
- Cao, W., & Moss, D. N. (1997). Modelling phasic development in wheat: A conceptual integration of physiological components. *Journal of Agriculture Science*, 129, 163–172. <https://doi.org/10.1017/S0021859697004668>
- Chantre, G. R., Batlla, D., Sabbatini, M. R., & Orioli, G. (2009). Germination parameterization and development of an after-ripening thermal-time model for primary dormancy release of *Lithospermum arvense* seeds. *Annals of Botany*, 103, 1291–1301. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp070>
- Cornaglia, P. S., Schrauf, G. E., Nardi, M., & Deregiibus, V. A. (2005). Emergence of dallisgrass as affected by soil water availability. *Rangeland Ecology & Management*, 58, 35–40. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2009.01935.x>
- Duclos, D. V., Altobello, C. O., & Taylor, A. G. (2014). Investigating seed dormancy in switchgrass (*Panicum virgatum* L.): Elucidating the effect of temperature regimes and plant hormones on embryo dormancy. *Industrial Crops and Products*, 58, 148–159. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.04.011>
- Duclos, D. V., Ray, D. T., Johnson, D. J., & Taylor, A. G. (2013). Investigating seed dormancy in switchgrass (*Panicum virgatum* L.): Understanding the physiology and mechanisms of coat-imposed seed dormancy. *Industrial Crops and Products*, 45, 377–387. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.01.005>
- Evers, G. W., & Parsons, M. J. (2003). Soil type and moisture level influence on Alamo switchgrass emergence and seedling growth. *Crop Science*, 43, 288–294. <https://doi.org/10.2135/cropsci2003.0288>

- Farley, G., Bellairs, S., & Adkins, S. (2013). Germination of selected Australian native grass species, with potential for minesite rehabilitation. *Australian Journal of Botany*, 61, 283–290. <https://doi.org/10.1071/BT12258>
- Finch-Savage, W. E., & Bassel, G. W. (2016). Seed vigour and crop establishment: Extending performance beyond adaptation. *Journal of Experimental Botany*, 67, 567–591. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv490>
- Finch-Savage, W. E., Steckel, J. R. A., & Phelps, K. (1998). Germination and post-germination growth to carrot seedling emergence: Predictive threshold models and sources of variation between sowing occasions. *New Phytologist*, 139, 505–516. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1998.00208.x>
- Forcella, F., Benesh-Arnold, R. L., Sánchez, R., & Ghera, C. M. (2000). Modeling seedling emergence. *Field Crop Research*, 67, 123–139. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(00\)00088-5](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(00)00088-5)
- Gallart, M., Verdú, A. M. C., & Mas, M. T. (2008). Dormancy breaking in *Digitaria sanguinalis* seeds: The role of the caryopsis covering structures. *Seed Science & Technology*, 36, 259–270. <https://doi.org/10.15258/sst.2008.36.2.01>
- García-Huidobro, J., Monteith, J. L., & Squire, G. R. (1982). Time, temperature and germination of pearl millet (*Pennisetum typhoides* S. & H.). I. Constant temperature. *Journal of Experimental Botany*, 33, 288–296. <https://doi.org/10.1093/jxb/33.2.288>
- Gilmore, E. C., & Rogers, J. S. (1958). Heat units as a method of measuring maturity in corn. *Agronomy Journal*, 50, 611–615. <https://doi.org/10.2134/agronj1958.00021962005000100014x>
- Glison, N., Viegas, L., Cornaglia, P., Gutiérrez, L., & Speranza, P. (2015). Variability in germination behaviour of *Paspalum dilatatum* Poir. seeds is genotype dependent. *Grass and Forage Science*, 70, 144–153. <https://doi.org/10.1111/gfs.12119>
- Glison, N., Viegas, L., & Speranza, P. (2017). Differential incidence of the lemma on seed germination among different *Paspalum dilatatum* genotypes. *Journal of Seed Science*, 39, 133–141. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v39n2169225>
- Grundy, A. C. (2003). Predicting weed emergence: A review of approaches and future challenges. *Weed Research*, 43, 1–11. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3180.2003.00317.x>
- Grundy, A. C., Phelps, K., Reader, R. J., & Burston, S. (2000). Modelling the germination of *Stellaria media* using the concept of hydrothermal time. *New Phytologist*, 148, 433–444. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2000.00778.x>
- Gummerson, R. J. (1986). The effect of constant temperatures and osmotic potentials on the germination of sugar beet. *Journal of Experimental Botany*, 37, 729–741. <https://doi.org/10.1093/jxb/37.6.729>
- Hardegree, S. P., Roundy, B. A., Walters, C. T., Reeves, P. A., Richards, C. M., Moffet, C. A., Sheley, R. L., & Flerchinger, G. N. (2018). Hydrothermal germination models: Assessment of the wet-thermal approximation of potential field response. *Crop Science*, 58, 2042–2049. <https://doi.org/10.2135/cropsci2017.11.0666>
- Harris, G. (1961). The periodicity of germination in some grass species. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 4, 253–260. <https://doi.org/10.1080/00288233.1961.10420371>
- Hopkinson, J. M., & English, B. H. (2005). Influence of storage conditions on survival and sowing value of seed of tropical pasture grasses. 1. Longevity. *Tropical Grasslands*, 39, 129–139. https://www.tropicalgrasslands.info/public/journals/4/Historic/Tropical%20Grasslands%20Journal%20archive/Abstracts/Vol_39_2005/Abs_39_03_2005_pp129_139.html
- Hsu, F. H., & Nelson, C. J. (1986). Planting date effects on seedling development of perennial warm-season forage grasses. I. Field emergence. *Agronomy Journal*, 78, 33–38. <https://doi.org/10.2134/agronj1986.00021962007800010008x>
- Johnston, M., & Miller, J. (1964). Investigations into techniques for the germination of *Paspalum dilatatum*. *Proceedings of International Seed Testing Association*, 29, 145–148.
- Keyser, P. D., Ashworth, A. J., Allen, F. L., & Bates, G. E. (2016). Dormant-season planting and seed-dormancy impacts on switchgrass establishment and yield. *Crop Science*, 56, 474–483. <https://doi.org/10.2135/cropsci2015.03.0144>
- King, C., & Oliver, L. (1994). A model for predicting large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*) emergence as influenced by temperature and water potential. *Weed Science*, 42, 561–567. <https://www.jstor.org/stable/4045455>
- Leguizamón, E. S., Fernández-Quintanilla, C., Barroso, J., & González-Andujar, J. L. (2005). Using thermal and hydrothermal time to model seedling emergence of *Avena sterilis* ssp. *ludoviciana* in Spain. *Weed Research*, 45, 149–156. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2004.00444.x>
- Leguizamón, E. S., Rodríguez, N., Rainero, H., Pérez, M., Pérez, L., Zorza, E., & Fernández-Quintanilla, C. (2009). Modelling the emergence pattern of six summer annual weed grasses under no tillage systems in Argentina. *Weed Research*, 49, 98–106. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2008.00669.x>
- Lodge, G. M., & Harden, S. (2009). Effects of depth and time of sowing and over-wintering on tropical perennial grass seedling emergence in northern New South Wales. *Crop and Pasture Science*, 60, 954–962. <https://doi.org/10.1071/CP09088>
- Maeda, J., Pereira, M., & Medina, P. (1997). Seed dormancy and storage of *Paspalum notatum* Flugge. *Revista Brasileira de Sementes*, 19, 164–170. <http://agris.fao.org/agris-search/search/display.do?f=1998/BR/BR98004.xml:BR1998001111>
- Martinson, K., Durgan, B., Forcella, F., Wiersma, J., Spokas, K., & Archer, D. (2007). An emergence model for wild oat (*Avena fatua*). *Weed Science*, 55, 584–591. <https://doi.org/10.1614/WS-07-059.1>
- Masín, R., Zuin, M. C., Otto, S., & Zanin, G. (2006). Seed longevity and dormancy of four summer annual grass weeds in turf. *Weed Research*, 46, 362–370. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2006.00520.x>
- Masters, R. A., Mislevy, P., Moser, L. E., & Rivas-Pantoja, F. (2004). Stand establishment (ch. 5). In L. E. Moser, B. L. Burson, & L. E. Sollenberger (Eds.), *Warm-season (C4) grasses* (pp. 145–177). Wisconsin.
- McCormick, L. H., Boschma, S. P., Lodge, G. M., & Scott, J. F. (2009). Producer-identified constraints to widespread adoption of sown tropical grass pastures on the north-west slopes of New South Wales. *Tropical Grasslands*, 43, 263–266. http://www.tropicalgrasslands.info/public/journals/4/Historic/Tropical%20Grasslands%20Journal%20archive/PDFs/2009%20issue%20pdfs/Vol_43_04_2009_p263_266%20McCormick%20et%20al.pdf
- Meyer, S. E., & Allen, P. S. (2009). Predicting seed dormancy loss and germination timing for *Bromus tectorum* in a semi-arid environment using hydrothermal time models. *Seed Science Research*, 19, 225–239. <https://doi.org/10.1017/S0960258509990122>
- Mitchell, R. B., Schmer, M. R., Anderson, W. F., Jin, V., Balkcom, K. S., Kiniry, J., Coffin, A., & White, P. (2016). Dedicated energy crops and crop residues for bioenergy feedstocks in the central and eastern USA. *Bioenergy Research*, 9, 384–398. <https://doi.org/10.1007/s12155-016-9734-2>
- Mullahey, J. J., West, S. H., & Cornell, J. A. (1996). Effects of simulated drought by polyethylene glycol on bahiagrass germination. *Seed Science and Technology*, 24, 219–224. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=CH9700038>
- Passioura, J. B. (1996). Simulation models: Science, snake oil, education, or engineering? *Agronomy Journal*, 88, 690–694. <https://doi.org/10.2134/agronj1996.00021962008800050002x>
- Pizarro, E. (2000). Potencial forrajero del género *Paspalum* (Forage potential of the *Paspalum* genus). *Pasturas Tropicales*, 22, 38–46. http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos_CIAT/Vol_22_01_08.pdf
- Qiu, J., Bai, Y., Coulman, B., & Romo, J. T. (2006). Using thermal time models to predict seedling emergence of orchardgrass (*Dactylis glomerata*

- L.) under alternating temperature regimes. *Seed Science Research*, 16, 261–271. <https://doi.org/10.1017/SSR2006258>
- R Core Team. (2016). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>
- Ritchie, J. T., & NeSmith, D. S. (2015). Temperature and crop development. In R. L. Hanks & J. T. Ritchie (Eds.), *Modeling plant and soil systems* (pp. 5–29). American Society of Agronomy. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr31.c2>
- Roltsch, W. J., Zalom, F. G., Strawn, A. J., Strand, J. F., & Pitcairn, M. J. (1999). Evaluation of several degree-day estimation methods in California climates. *International Journal of Biometeorology*, 42, 169–176. <https://doi.org/10.1007/s004840050101>
- Roman, E. S., Murphy, S. D., & Swanton, C. J. (2000). Simulation of *Chenopodium album* seedling emergence. *Weed Science*, 48, 217–224. [https://doi.org/10.1614/0043-1745\(2000\)048\[0217:SOCASE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0043-1745(2000)048[0217:SOCASE]2.0.CO;2)
- Roundy, B., & Biedenbender, S. (1996). Germination of warm-season grasses under constant and dynamic temperatures. *Journal of Range Management*, 49, 425–431. <https://doi.org/10.2307/4002924>
- Roundy, B. A., Hardegree, S. P., Chambers, J. C., & Whittaker, A. (2007). Prediction of cheatgrass field germination potential using wet thermal accumulation. *Rangeland Ecology & Management*, 60, 613–623. <https://doi.org/10.2111/05-206R3.1>
- Rowley, J. (1976). Development of freezing tolerance in leaves of C4 grasses. *Functional Plant Biology*, 3, 597–603. <https://doi.org/10.1071/PP9760597>
- Royo-Esnal, A., García, A., Torra, J., Forcella, F., & Recasens, J. (2015). Describing *Polygonum aviculare* emergence in different tillage systems. *Weed Research*, 4, 387–395. <https://doi.org/10.1111/wre.12154>
- Royo-Esnal, A., Torra, J., Conesa, J. A., Forcella, F., & Recasens, J. (2010). Modeling the emergence of three arable bedstraw (*Galium*) species. *Weed Science*, 58, 10–15. <https://doi.org/10.1614/WS-09-063.1>
- Schrauf, G. E., Cornaglia, P. S., Deregibus, V. A., & Rissola, M. G. (1995). Improvement in germination behaviour of *Paspalum dilatatum* Poir. seeds under different pre-conditioning treatments. *New Zealand Journal of Agriculture Research*, 38, 501–509. <https://doi.org/10.1080/00288233.1995.9513152>
- Seepaul, R., Macoon, B., Reddy, K. R., & Baldwin, B. (2011). Switchgrass (*Panicum virgatum* L.) intraspecific variation and thermotolerance classification using *in vitro* seed germination assay. *American Journal of Plant Science*, 2, 134–147. <https://doi.org/10.4236/ajps.2011.22015>
- Shen, Z., Parrish, D., Wolf, D., & Welbaum, G. (2001). Stratification in switchgrass seeds is reversed and hastened by drying. *Crop Science*, 41, 1546–1551. <https://doi.org/10.2135/cropsci2001.4151546x>
- Souza-Chies, T., & Cavalli-Molina, S. (1995). Variability in seed production and germination in *Paspalum-Dilatata* group (Gramineae). *Revista Brasileira de Biologia*, 55, 127–139.
- Spokas, K., & Forcella, F. (2009). Software tools for weed seed germination modeling. *Weed Science*, 57, 216–227. <https://doi.org/10.1614/WS-08-142.1>
- Springer, T. L. (2005). Germination and early seedling growth of chaffy-seeded grasses at negative water potentials. *Crop Science*, 45, 2075–2080. <https://doi.org/10.2135/cropsci2005.0061>
- Velten, K. (2009). *Mathematical modeling and simulation. Introduction for scientists and engineers*. Wiley-VCH. Verlag GmbH & Co. KGaA, pp. 348.
- Wang, R., Bai, Y., & Tanino, K. (2006). Seedling emergence of winterfat (*Krascheninnikovia lanata* (Pursh) A.D.J. Meeuse & Smit) in the field and its prediction using the hydrothermal time model. *Journal of Arid Environments*, 64, 37–53. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2005.04.017>
- West, S., & Marousky, F. (1989). Mechanism of dormancy in Pensacola Bahiagrass. *Crop Science*, 29, 787–791. <https://doi.org/10.2135/cropsci1989.0011183X002900030050x>

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section.

How to cite this article: Glison N, Batlla D, González Barrios P, et al. Modelling seedling emergence in *Paspalum* species using environmental data from field experiments. *Grass Forage Sci*. 2020;00:1–15. <https://doi.org/10.1111/gfs.12515>

4. ENTENDIENDO LOS PATRONES GEOGRÁFICOS DE ESPECIES DE PASPALUM (POACEAE) ESTRECHAMENTE RELACIONADAS USANDO MODELADOS DE LA DISTRIBUCIÓN Y CARACTERÍSTICAS DE LA GERMINACIÓN DE LAS SEMILLAS

4.1. AUTORES Y FILIACIONES

Los autores del trabajo fueron: Nicolás Glison, David Romero, Virginia Rosso, José Carlos Guerrero y Pablo Speranza. Nicolás Glison y Pablo Speranza son del Departamento de Biología Vegetal de la Facultad de Agronomía de la Universidad de la República. José Carlos Guerrero es del Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales de la Facultad de Ciencias de la Universidad de la República. David Romero es del Departamento de Biología Animal de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Málaga (España). Virginia Rosso es de la Cátedra de Botánica Sistemática de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires (Argentina).

4.2. RESUMEN EN ESPAÑOL

Las especies sexuales del complejo Dilatata (*Paspalum dasypleurum*, *P. flavescens*, *P. plurinerve*, *P. vacarianum* y *P. urvillei*) están estrechamente relacionadas filogenéticamente y muestran distribuciones alopátricas, excepto *P. urvillei*. Estas especies muestran similitudes en su microhábitat y diferencias en características de la germinación de sus semillas. En este trabajo, integramos modelos de distribución de especies (SDM) y experimentos de germinación de semillas para determinar si las divergencias en la germinación explican el patrón biogeográfico que presentan. Se optimizaron SDM en América del Sur con datos de presencia y ausencia y variables ambientales. Además, se muestrearon poblaciones de cada especie de áreas altamente favorables en los SDM y sus semillas se germinaron en diferentes temperaturas y condiciones de terminación de la dormición. Se comprobaron las diferencias entre especies en la dormición de las semillas y en la amplitud del nicho de germinación y se evaluaron regresiones lineales entre índices de la dormición de semillas y variables climáticas de las locaciones donde las poblaciones provenían. Los SDM clasificaron de forma correcta las ausencias y presencias observadas para cada especie. Los

factores espaciales y las actividades humanas fueron los principales factores que explican estas distribuciones. Tanto los SDM como los análisis de germinación confirmaron que el nicho de *P. urvillei* es más amplio que el de las otras especies. Estas últimas mostraron distribuciones restringidas, nichos de germinación más estrechos y una alta correlación entre los índices de dormición de semillas y el régimen de precipitaciones en sus sitios de origen. Ambas aproximaciones metodológicas proporcionaron evidencias para cada especie sobre si tienen comportamientos generalistas o especialistas del hábitat. Las divergencias en la dormición de semillas entre las especies especialistas (*P. dasypleurum*, *P. flavescens*, *P. plurinerve* y *P. vacarianum*) pueden explicar las distribuciones alopátricas que muestran.

Article

Understanding the Geographic Patterns of Closely-Related Species of *Paspalum* (Poaceae) Using Distribution Modelling and Seed Germination Traits

Nicolás Glison ^{1,*}, David Romero ^{2,3}, Virginia Rosso ⁴, José Carlos Guerrero ² and Pablo Rafael Speranza ¹

¹ Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Avenida Eugenio Garzón 780, Montevideo 12900, Uruguay

² Laboratorio de Desarrollo Sustentable y Gestión Ambiental del Territorio, Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Igua 4225, Montevideo 11400, Uruguay

³ Grupo Biogeografía, Diversidad & Conservación, Departamento Biología Animal, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Campus de Teatinos s/n, 29071 Málaga, Spain

⁴ Cátedra de Botánica Sistemática, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Avenida San Martín 4453, Buenos Aires C1417DSE, Argentina

* Correspondence: nigli@agro.edu.uy

Abstract: The sexual species of the Dilatata complex (*Paspalum dasyleurum*, *P. flavescens*, *P. plurinerve*, *P. vacarianum*, and *P. urvillei*) are closely related phylogenetically and show allopatric distributions, except *P. urvillei*. These species show microhabitat similarities and differences in germination traits. We integrated species distribution models (SDMs) and seed germination assays to determine whether germination divergences explain their biogeographic pattern. We trained SDMs in South America using species' presence-absence data and environmental variables. Additionally, populations sampled from highly favourable areas in the SDMs of these species were grown together, and their seeds germinated at different temperatures and dormancy-breaking conditions. Differences among species in seed dormancy and germination niche breadth were tested, and linear regressions between seed dormancy and climatic variables were explored. SDMs correctly classified both the observed presences and absences. Spatial factors and anthropogenic activities were the main factors explaining these distributions. Both SDMs and germination analyses confirmed that the niche of *P. urvillei* was broader than the other species which showed restricted distributions, narrower germination niches, and high correlations between seed dormancy and precipitation regimes. Both approaches provided evidence about the generalist-specialist status of each species. Divergences in seed dormancy between the specialist species could explain these allopatric distributions.

Keywords: favourability function; local adaptation; native grasses; regeneration traits; seed dormancy; specialist species; South America



Citation: Glison, N.; Romero, D.; Rosso, V.; Guerrero, J.C.; Speranza, P.R. Understanding the Geographic Patterns of Closely-Related Species of *Paspalum* (Poaceae) Using Distribution Modelling and Seed Germination Traits. *Plants* **2023**, *12*, 1342. <https://doi.org/10.3390/plants12061342>

Academic Editor: Georgios Koubouris

Received: 12 January 2023

Revised: 9 February 2023

Accepted: 21 February 2023

Published: 16 March 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

The grasslands of midlatitude lowland regions of South America show an unusually high biodiversity. In particular, the grassland in the southeastern part of South America is one of the largest and most diverse in the world [1]. In these regions, recently diverged species, populations, and entities forming species complexes have been described in several taxa. This high intraspecific variability has been attributed to repeated past range fluctuations and fragmentation into multiple climatic refugia [2–6]. However, biodiversity in such regions may be threatened due to land-use changes, mainly due to the intensification of agriculture and forestry in the few last decades [1,7] and the absence of adequate conservation policies [8].

The genus *Paspalum* (Poaceae) is a highly diverse taxon in the South American grasslands [9]. Within *Paspalum*, the Dilatata species complex is an allopolyploid group of warm-season grasses composed of several apomictic taxa, such as the pentaploid *Paspalum*

dilatatum Poir., which has been extensively studied as a forage crop [10,11]. This group also contains five sexual species: *P. dasyleurum* Kunze ex. Desv., *P. flavescens* (Roseng., Arrill. and Izag.) Speranza and G. H. Rua, *P. plurinerve* Quarin, Valls and V. C. Rosso, *P. vacarianum* Valls and V. C. Rosso, and *P. urvillei* Steud. [12]. The apomictic species of the Dilatata group encompass rather indefinite groupings of interspecific hybrids [13]. However, despite their close phylogenetic relationship, the five sexual species included in this group can be considered very well delimited and recently diverged independent evolutionary units [14,15]. These sexual species are highly autogamous [16] and, although hybrids can be obtained artificially, mostly no gene flow has been observed in nature among them [17].

The geographical location of the sexual Dilatata species has been recently reported, however, its distribution has not been biogeographically analysed. Four of the five species (*P. dasyleurum*, *P. flavescens*, *P. plurinerve*, and *P. vacarianum*) show a restricted and mutually exclusive geographical distribution, however, *P. urvillei* shows a wider continuous distribution co-occurring in its native range with the last three species mentioned above [12,18]. The reported distributions suggest that *P. urvillei* has a generalist habitat behaviour, which translates into its ability to occupy diverse environments and larger areas at the ecological scale. In contrast, the other four species are closely associated with more specific regions and are probably more specialist [19]. Despite this, all the sexual Dilatata species occupy similar microhabitats with high light and soil water availability and are frequently found on roadsides and disturbed ranges [12,16,20].

The distribution of a plant species is determined by historical and environmental factors and its interaction with other species. Species distribution models (SDMs) have been extensively used as an approach to understanding the potential distribution of a species and to test biogeographical, ecological, and evolutionary hypotheses [21–26]. SDMs help identify drivers that determine the favourable regions for a species and the habitat characteristics that define their ecological niche breadth [24,27,28]. A broadly used SDM method consists of correlative models that use logistic regressions to link species' presence-absence data with environmental and geographic data. [29,30]. Among these SDM methods, the favourability function is suitable for SDM comparisons between species with different prevalences in the same study area through fuzzy logic tools [31–34].

Crucial ecological processes that determine geographic distribution at the scale of environments or habitats, such as progeny dispersion, physiological responses to environmental stresses and biotic interactions, are not easy to incorporate explicitly into the SDMs [35,36]. However, integrating relevant plant functional traits as a species performance currency could be informative for understanding the mechanistic basis of the adaptation associated with the described distributions [37,38]. Functional traits are measurable individual-level features that interact with environmental and ecological factors [39]. Ecological hypotheses have been tested mainly with functional vegetative traits, frequently overlooking regeneration traits [40]. In spite of this, vegetative and regeneration traits may show contrasting relationships with environmental factors [41,42].

The regeneration niche concept states that plant species occur in habitats where seed germination and seedling establishment are possible [43–45]. Seed germination under a range of conditions, mainly different temperatures, has been used to test the regeneration niche hypothesis [46–50]. Seed germination responses are controlled by seed dormancy, a quantitative and adaptable mechanism that inhibits germination until specific environmental requirements are met. It can be estimated by evaluating germination in various temperatures and dormancy-breaking factors [51,52]. The ability to germinate in a wider temperature range often reflects reduced dormancy and a broader germination niche, which may be associated with a generalist habitat behaviour [53–55]. Seed dormancy mechanisms and germination responses to temperature are often highly conserved phylogenetically [56–58]. However, divergence in these traits among similar species is usual even across fine-scale environmental variations, giving adaptive germination responses driven by both genetic selection and phenotypic plasticity influenced by maternal effects [59–61].

The sexual species of the Dilatata complex share several functional vegetative traits with the very widespread and better studied *P. dilatatum*. They are perennial warm-season C4 grasses with very high leaf frost tolerance [62–65] and minor differences in growth habits [12,66]. Except for *P. dasypleurum*, no major differences in development or vegetative persistence have been reported for these species in their reciprocal locations when transplanted. Despite this, divergences can be relevant among regeneration traits. *Paspalum flavescens* has been shown to exhibit a stronger seed dormancy than *P. plurinerve*, which occurs further north [67,68]. However, information on germination for the rest of the sexual Dilatata species is scarce [69]. In general, seed germination in the species of the Dilatata complex occurs in relatively high temperatures. Germination can be improved by seed dormancy-breaking factors such as cold stratification, nitrate addition and alternating temperatures [67,70,71]. Each of these germination responses can be linked to ecological and habitat preferences. For example, the germination proportion achieved after cold stratification reflects the extent of the cold requirement during winter to germinate in spring [72]. Also, the response to nitrate is a seed gap-detection mechanism and can be related to the preference for disturbed places [51,73].

In this work, we integrated species' distribution modelling with the study of a regeneration trait to understand the geographical range occupied by the sexual Dilatata species, and to explain the current biogeographical pattern of this group. First, we applied favourability models based on presence-absence data and a wide range of predictive variables (spatial, topographic, climatic, land use, and anthropogenic activities) to determine the favourable area of each species and identify key drivers determining their distributions. To determine whether environmental favourability is related to germination traits, we sampled genotypes (inbred lines) of the five species from locations with a high likelihood of being located in the respective favourable areas. We grew them in a common garden experiment and produced seeds to study germination under a range of alternating temperatures, nitrate addition, and stratification treatments for two years. Seed dormancy and germination niche breadth were estimated based on the germination results. We evaluated the differences in seed dormancy among the species and performed regressions between germination and environmental variables for each population. The ecological and biogeographical insights brought by each approach were discussed.

2. Results

2.1. Explanatory Variables and Favourable Areas for Sexual Dilatata Species

The favourability results were congruent with the territories occupied by the observed presences for each species (Figure 1). The spatial variable (Ysp) was relevant across the models of the five species, and it was the most important predictor for the distribution of *P. flavescens* and *P. plurinerve* (Table 1). Meanwhile, the urban cover was the most relevant predictor for *P. dasypleurum* and *P. urvillei*, and the minimum temperatures in the coldest month (Bio6) for *P. vacarianum*. For all the species analysed, at least one relevant model variable was related to human activities (Table 1). All the explanatory variables of each model do not show multicollinearity (variance inflation factor < 2). All the sites where the genotypes used for the germination experiments were sampled appeared in hexagons classified as of maximum favourability ($F \geq 0.8$), except for the northernmost point for *P. urvillei* (red triangles in Figure 1). The area under the receiving operating characteristic curve (AUC) was higher than 0.9 for all the models, which is interpreted as outstanding discrimination ability (see Table A2). Moreover, the values obtained for the classification parameters (sensitivity, specificity, correct classification rate and true skill statistic) were always greater than 0.9 in all models except for *P. urvillei* (Table A2).

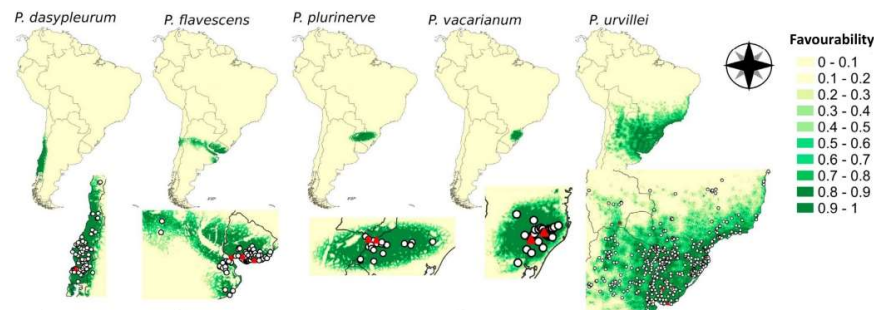


Figure 1. Favourability models for each of the five sexual species of the Dilatata group based on predictor variables from different factors: spatial configuration, topography, climatic, hydrology, global land cover, and human activities (see Table A1). The zoom of each favourability model (bottom maps) shows the species occurrences (white circles) and the occurrence of genotypes used for germination assays (red triangles).

Table 1. Explanatory variables, and factors they belong to, for each of the five sexual species of the Dilatata group in the SDMs obtained. Wald parameter values (according to Wald’s test) for predictor variables included in each favourability model indicate the relative importance of each variable. Bold numbers highlight the four most significant predictor variables of each SDM. Signs in brackets show the positive or negative relationship between favourability and the variable. Abbreviations and sources of each predictor variable are noted in Table A1.

Factors	Variables	<i>P. dasylepium</i>	<i>P. flavescens</i>	<i>P. plurinerve</i>	<i>P. vacarianum</i>	<i>P. urvillei</i>
Spatial	Ysp	12.53 (+)	107.32 (+)	19.65 (+)	11.40 (+)	81.09 (+)
Topography	Slope	18.80 (+)				6.14 (+)
	Bio3 (isothermality)					18.20 (−)
	Bio6 (Tmin coldest month)				18.98 (−)	
Climatic	Bio9 (Tmean driest quarter)	9.17 (+)				8.75 (−)
	Bio14 (Precip. driest month)					10.80 (+)
	Bio19 (Precip. coldest quarter)					7.97 (−)
	ClimMoist	17.88 (+)				
Hydrology	DistBigRiv		10.15 (+)			13.77 (−)
	Urban	38.59 (+)			10.19 (+)	82.30 (+)
Global land cover	Crops					36.83 (−)
	Bare					8.39 (−)
	Shrub					8.61 (−)
	WaterSeas		7.36 (−)			
	DistRoad	10.75 (−)	7.39 (−)	5.76 (−)	8.39 (−)	
Human activities	PopDen		7.90 (+)			
	DistUrban					59.26 (−)
	SumRoad					76.07 (+)

2.2. Germination Treatments

The harvested seeds were used to perform two experiments to analyse the germination behaviour of these species. Sufficient seeds were collected for all genotypes. Particularly, the number of seeds harvested for *P. urvillei* genotypes was two- to sixfold than that of the other species in all harvest times. Experiment one was set to assess germination after stratification treatments. Experiment two, on the other hand, was designed to assess germination in a range of alternating temperatures with and without the addition of nitrate to determine the thermal amplitude of germination in the presence or not of a dormancy-breaking substance. The final germination proportion (FGP) showed significant differences among treatment levels and species in both germination experiments (Table 2). However, the uncertainty of germination (UG) and germination timing variables (mean germination section for experiment one and mean germination time for experiment two)

showed inconsistent differences among species through treatments or no differences at all (see Table A4). Cold stratification resulted in a higher FGP than nonstratified seeds ($p < 0.05$), except for *P. dasyleprium*, which reached germination proportions lower than 10% in all treatment levels in experiment one. Warm stratification showed lower FGP than cold stratification for *P. flavescentis*, *P. plurinerve*, and *P. vacarianum*, though not for *P. urvillei* (Table 2a). For experiment two, germination without nitrate was almost nil in colder temperatures (10/20 °C) and very low at 15/25 °C, except for *P. urvillei* and *P. plurinerve*, which achieved 75% and 21%, respectively. The addition of nitrate allowed a higher FGP in almost all temperatures and species (Table 2b). Germination with nitrate was close to 100% at high temperatures (20/30 and 25/35 °C) for all the species (except *P. dasyleprium*) and at 15/25 °C for *P. urvillei* and *P. plurinerve* (Table 2b). Combining high temperatures with nitrate also retrieved higher germination synchronicity (lower UG, Table A4).

Table 2. Adjusted means for final germination proportion (FGP) for each level of treatment and species within each germination experiment. (a) Experiment one (stratification treatments), (b) Experiment two (alternating temperatures and nitrate addition).

(a) Treatment	<i>P. dasyleprium</i>			<i>P. flavescentis</i>			<i>P. plurinerve</i>			<i>P. vacarianum</i>			<i>P. urvillei</i>		
without stratification	0.04	a	B	0.04	c	B	0.54	c	AB	0.38	b	AB	0.86	b	A
cold stratification	0.08	a	C	0.49	a	BC	0.96	a	AB	0.86	a	AB	0.97	a	A
warm stratification	0.04	a	B	0.13	b	B	0.83	b	AB	0.50	b	AB	0.96	a	A
(b) Treatment	<i>P. dasyleprium</i>			<i>P. flavescentis</i>			<i>P. plurinerve</i>			<i>P. vacarianum</i>			<i>P. urvillei</i>		
10/20 °C water	0	a	A	0	b	A	0	b	A	0	b	A	0.04	b	A
15/25 °C water	0	a	B	0.03	b	B	0.21	a	AB	0.05	b	B	0.75	a	A
20/30 °C water	0.11	a	B	0.31	a	B	0.48	a	AB	0.89	a	A	0.83	a	A
25/35 °C water	0.19	a	B	0.37	a	B	0.39	a	B	0.91	a	A	0.78	a	AB
10/20 °C nitrate	0	b	B	0.01	b	B	0.10	b	B	0.02	c	B	0.81	b	A
15/25 °C nitrate	0.12	ab	B	0.10	b	B	0.98	a	A	0.41	b	B	0.98	a	A
20/30 °C nitrate	0.39	ab	B	0.96	a	A	0.99	a	A	0.98	a	A	0.99	a	A
25/35 °C nitrate	0.54	a	B	0.98	a	A	0.99	a	A	0.98	a	A	0.99	a	A

(a) Lowercase letters indicate differences among stratification treatments within each species. Uppercase letters indicate differences among species within each stratification treatment ($p < 0.05$). (b) Lowercase letters indicate differences among temperature regimes within each species and nitrate addition combination. Uppercase letters indicate differences among species within each temperature regime and nitrate addition combination. Bold numbers indicate differences between distilled water and nitrate addition within each temperature regime and species combinations ($p < 0.05$).

The ranking from higher to lower FGP in almost all treatment levels for both experiments was *P. urvillei*, *P. plurinerve*, *P. vacarianum*, *P. flavescentis*, and *P. dasyleprium*. This ranking was observed for germination ability (GA) and germination evenness (GE), two indexes used to estimate both seed dormancy level and germination niche breadth (Figure 2). The variance of GA and GE was higher among species than among genotypes within species or among harvest times (Table A5). The distribution of the variability in the extent, timing, and synchronicity of germination among genotypes and harvest times is depicted in the results of the PCA (Figure A2a). The first principal component (PC1) explained 32.2% of germination variability, and the five species showed a clear gradient along it. PC1 was positively correlated with FGP for seeds with warm stratification and without stratification (Figure A2b), which are restricting conditions for germination in the studied species. Also, PC1 is negatively correlated with UG at 20/30 and 25/35 °C with nitrate (Figure A2b), conditions that tend to increase synchronicity (lower UG). Therefore, the PC1 summarized several germination attributes, and its score is inversely related to seed dormancy.

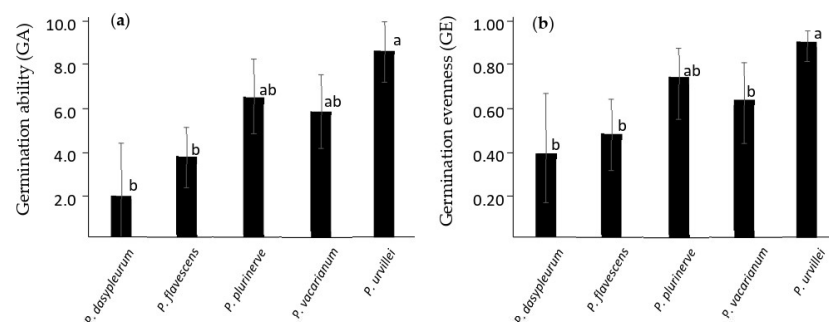


Figure 2. (a) Mean germination ability (GA) and (b) mean germination evenness (GE) for each species. These variables were generated to estimate both seed dormancy and germination niche breadth. GE data were logit transformed before analysis. Vertical lines indicate a 95% confidence interval. Different letters mean significant differences among species within each germination variable.

2.3. Relationships between Germination and Environmental Variables

Despite minor intraspecific differences, all genotypes of *P. urvillei* at all harvest times attained higher FGP, lower UG, and lower germination timing than the other species under most conditions assayed, which is reflected in higher PC1 scores (Figure A2). These results suggest a low seed dormancy for all *P. urvillei* genotypes, meaning that germination in this species is less environmentally constrained regardless of the large distances and differences in climatic features among their occurrence sites (Figure 1). This idea was further supported when the PLSR including *P. urvillei* genotypes explained a low proportion of the variability of both response (<62%) and predictor (<82%) variables for all the germination variables (Table 3a). Also, linear regressions between germination and environmental variables (those which achieved a VIP > 1 in PLSR) were significant ($p < 0.05$), however, they showed low adjustment ($R^2 < 0.5$) when all species were considered (Table A6).

On the other hand, PLSR without *P. urvillei* explained a higher proportion of the variability of response (>94%) and predictor (>87%) variables (Table 3b). The set of environmental variables with VIP > 1 was almost the same for the three germination variables, all of which were climatic variables. Precipitation in the driest or warmest periods (Bio14, Bio17, and Bio18, see Table A1) showed an orthogonal relationship with the mean temperature in the colder quarter (Bio11) and annual potential evapotranspiration (ETP-An) (Figure A3). The correlation between the values of Bio14 and Bio17 was high ($r = 0.999$), and both were correlated with Bio18 ($r = 0.90$).

Significant linear regressions were obtained for all germination variables using the climatic variables with VIP > 1 after PLSR without *P. urvillei* genotypes (Table A6). All regressions achieved the highest adjustments when precipitations in the drier quarter (Bio17) were used as the predictor variable (Figure 3), and similar results were obtained using precipitation in the drier month (Bio14) or the warmest quarter (Bio18) (Table A6). Regressions using temperature-based variables, such as Bio11 or ETP-An, yielded significant, but lower, adjustments ($R^2 < 0.7$) (Table A6). Despite the high adjustment in regressions achieved by Bio17, this variable was not different between the locations where samples of *P. vacarianum* and *P. plurinerve* were collected, however, differences in the temperature in the coldest quarter (Bio11) were found (Figure 3). These two species did not show significant differences in GA or GE (Figure 2), though they showed consistent differences in germination at 15/25 °C even with nitrate, where *P. vacarianum* showed lower FGP than *P. plurinerve* (Table 2b).

Table 3. Optimization results of partial least square regressions (PLSR) were performed for each response (germination) variable. (a) Optimization including *P. urvillei* genotypes. (b) Optimization without *P. urvillei* genotypes. Root mean squared error on prediction (RMSEP) for the selected number of components and percentage of predictor (environmental variables) and response (germination variables) explained by PLSRs are shown. The predictor variables with importance in projection higher than one (VIP > 1) were listed for each PLSR optimization. Abbreviations and sources of each predictor variable are noted in Table A1.

(a) Including <i>P. urvillei</i>					
Response Variable	N° of Components	RMSEP	% Predictor Variance Explained	% Response Variance Explained	Variables with Importance in Projection (VIP > 1)
PC1 scores from PCA	2	2.505	79.4	61.7	Bio1, Bio2, Bio5, Bio11, ETP_An, ClimMoistu, GDD0, OriNS
GA (germination ability)	2	1.405	79.8	61.7	Bio1, Bio2, Bio11, ETP_An, GDD0, OriNS
GE (germination evenness)	2	0.123	81.9	55.7	Bio1, Bio2, Bio11, ETP_An, GDD0
(b) Without <i>P. urvillei</i>					
Response Variable	N° of Components	RMSEP	% Predictor Variance Explained	% Response Variance Explained	Variables with Importance in Projection (VIP > 1)
PC1 scores from PCA	2	0.560	94.4	94.9	Bio2, Bio11, Bio14, Bio17, Bio18, ETP_An
GA (germination ability)	2	0.349	87.5	95.6	Bio11, Bio14, Bio17, Bio18, ETP_An
GE (germination evenness)	2	0.028	94.5	95.4	Bio2, Bio11, Bio14, Bio17, Bio18, ETP_An

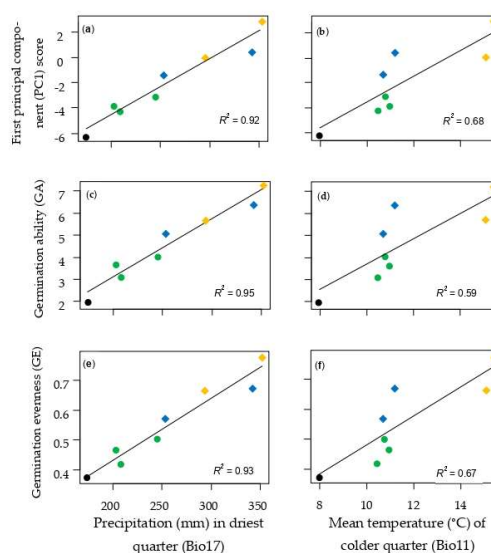


Figure 3. Linear regressions with precipitation in the driest quarter (a,c,e) and with the mean temperature of the colder quarter (b,d,f) for three germination variables: First principal component (PC1) score from PCA (a,b), germination ability (GA) (c,d), and germination evenness (GE) (e,f). Colours identify the species: black = *P. dasylepium*, green = *P. flavescens*, blue = *P. vacarianum*, and orange = *P. plurinerve*. Genotypes of *P. urvillei* were not included. Southernmost distributed species are represented with circles and northernmost species with diamonds. Mean values for each genotype of the four species were used. The determination coefficient (R^2) for each regression is reported.

3. Discussion

3.1. Explanatory Variables of Distribution Models and Congruence with Germination Responses

The distribution models of each species yielded a high favourability area which is highly coincident with the observed distribution range of each species. Some species had topographic or climatic variables as significant predictors for their models (slope for *P. dasyleurum*, mean temperature of colder months (Bio6) for *P. vacarianum*), which are representative factors of the environment in their respective sites. However, spatial and human activity variables were the most relevant distribution model predictors for all of the species. The relevance of spatial variables in the distribution of plant species is not related to germination traits, though it is often associated with low seed dispersal, which is another important regeneration trait [21,74]. The studied species exhibit autochorous dispersal mechanisms, similar to other grasses such as *Panicum maximum* L. [75]. Seeds fall near the mother plants by gravity, which does not enhance dispersal. Species with lower dispersal tend to show seed dormancy, which can be seen as a tradeoff between spatial and temporal dispersion [76].

On the other hand, the importance of human activities on distribution suggests that ruderal environments may be particularly suitable for these species. The preference of these species for disturbed environments, including those caused by anthropogenic factors, has been previously noted [12,16,77]. Soil disturbance may improve the germination of some species by increasing the levels of dormancy-breaking factors such as light, alternating temperatures or nitrate [51]. It has been shown that disturbances such as flooding and grazing lead to increased seedling emergence of *P. dilatatum* [20]. Coincidentally, in the germination experiments, we obtained a positive response to nitrate addition for all the Dilatata species evaluated, and almost 100% of the seeds germinated with high synchronicity (except for *P. dasyleurum*) when nitrate addition and high alternating temperatures were combined. Nitrate in the soil is considered an environmental cue for the absence of vegetation or soil disturbance. The nitrate levels in the soil are greater in vegetation gaps than under undisturbed vegetation due to the nitrate uptake of established plants [73]. Also, soil disturbances induce an increase in nitrification [78]. The increase in seed germination with nitrate may be related to a preference for disturbed soils [51,79]. Thus, this opportunistic germination response to nitrate is congruent with the importance of human activities highlighted as one of the main explanatory predictors of the distribution of these species.

3.2. Habitat Generalist and Specialist Behaviours and Germination Niche Breadth

Collection data and favourability models clearly differentiate between the broader geographical area covered by *P. urvillei* and the rather restricted and allopatric areas shown by the other four sexual Dilatata species. The large geographical area with high favourability modelled for *P. urvillei* encompasses diverse environments, suggesting a habitat generalist behaviour [19]. Also, SDM evaluation parameters were lower for *P. urvillei* than for the other species (see Table A2), which is characteristic of generalist behaviour [27,28]. For such species, some functional traits are expected to show a broader niche breadth to occupy several sites along an environmental gradient [80]. The wider germination niche showed by *P. urvillei* (i.e.: high germination proportion in almost all conditions assayed and higher PC1 scores, GA and GE) may indeed be the functional trait that explains its generalist behaviour [54]. In addition, the seed production of *P. urvillei* was higher than that of the other sexual Dilatata species. Its large seed production, combined with a broader germination niche, may explain why *P. urvillei* has been widely reported outside its native range as a weed for summer crops and roadsides in subtropical regions [81–83].

The favourability values of the other sexual Dilatata species (*P. dasyleurum*, *P. flavescens*, *P. plurinerve*, and *P. vacarianum*) were high in more restricted areas associated with a given environment, which suggests a more habitat specialist-like behaviour. In such cases, functional traits often show a smaller niche breadth and more prominent local adaptation features [84]. The four specialist species showed a narrower germination niche than *P. urvillei*. Moreover, although the intraspecific variability should be further regarded, a

cline in germination responses was apparent through these species. The southernmost species (*P. dasyleurum* and *P. flavescens*) showed a higher seed dormancy than the northernmost species (*P. plurinerve* and *P. vacarianum*), which means higher cold stratification and nitrate requirements to release seed dormancy, and more restrictions to germinate in lower temperatures. A positive association between seed dormancy and latitude is often reported for transitional regions such as wet subtropical and temperate climates [85]. However, this relationship cannot be generalized [86]. In higher latitudes, the odds of adverse events such as frost or soil–water deficit are higher, even in spring, which is a good moment for warm-season grasses to germinate and establish. For these species, a higher seed dormancy allows a longer spreading in the germination time of the seed population, distributing the seedling death risk in a highly fluctuating environment [87].

3.3. Correlation between Germination Traits and Environmental Gradient

Precipitation during the driest or warmest part of the year (represented by Bio14, Bio17, and Bio18 variables) showed a high positive correlation with seed dormancy and germination niche breadth indexes (PC1 scores, GA, and GE, see Figure 3 and Table A6) when all genotypes of the specialist sexual Dilatata species were considered. This relationship suggests that precipitation, when seedling emergence and growth occurs (late spring and summer), may be a strong environmental filter driving local adaptation of seed dormancy and germination traits for these species. Due to the seedling morphology of panicoid grasses, adequate soil water availability near the soil surface is particularly important during seedling emergence [88,89]. A decreasing precipitation gradient often implies increasing seed dormancy across populations or species [46,90], however, there are some situations where the inverse seed dormancy–precipitation association was reported [91,92].

The distribution models for the two northernmost specialist species (*P. vacarianum* and *P. plurinerve*) yielded very close areas, even showing an overlapping area where both species got high favourability. Still, the central zone of each distribution area was different (Figure 1). *Paspalum vacarianum* occurs in the Brazilian Planalto (1000 m.a.s.l.), a region with a similar precipitation regime but with colder winters than in the distribution area of *P. plurinerve*. Although the seed dormancy and germination niche breadth indexes analysed were similar between these species, the germination in mildly cold temperatures (15/25 °C) was strongly inhibited for *P. vacarianum*, though not for *P. plurinerve* (Table 2). Species from higher altitudes and lower annual minimum temperatures tend to require higher minimum temperatures to germinate [48]. The inhibition of the germination of *P. vacarianum* in colder temperatures may suggest a local adaptation of seed germination to the climate of the Brazilian Planalto that differentiates it from *P. plurinerve*.

4. Materials and Methods

4.1. Distribution Data

This study includes the five sexual species of the Dilatata group: *Paspalum dasyleurum*, *P. flavescens*, *P. plurinerve*, *P. vacarianum*, and *P. urvillei*. Their occurrences were obtained from the literature and the examination of herbarium specimens deposited in BAA, BLA, CEN, CORD, CONC, CNPO, CTES, ICN, LIL, LP, MNES, MVFA, MVM, and SI (acronyms for Thiers [93]). The coordinates were taken from the labels; when there were none, they were georeferenced to the location specified in the label using Google Earth. In addition, for *P. dasyleurum* and *P. urvillei*, the Global Biodiversity Information Facility (GBIF, accessed in July 2020) was consulted, considering only the native area of each species [94–97]. Additionally, for these two species, all the herbarium specimens of BAA and CORD were seen and analysed and herbarium specimens from the other institutions were visualized in order to confirm species and location. For *P. flavescens*, *P. plurinerve*, and *P. vacarianum*, all specimens available in all herbaria were used [12]. Most of them were georeferenced using their field labels.

4.2. Species Distribution, Environmental Variables, and Favourability Function

The analyses were carried out considering South America as the study area. The area was divided into 181,221 hexagons (6 km of apothem) (see Figure A1). We chose hexagons since they look more appropriate in connectivity studies, giving a better correspondence between the measured and Euclidian distances than rectangular grids [98]. From the distribution data, we obtained the presence and absence of each hexagon. Hexagons with at least one record were marked as a presence for the species, and the others with no record were marked as absences. We considered a total of 50 explanatory variables related to different environmental factors (spatial, topography, climatic, hydrology, global land cover, and human activities, see the list and sources in Table A1). The average value of each explanatory variable was obtained for each hexagon of the study grid. All these tasks were done using tools from QGIS v3.14 [99]. The spatial factor (Ysp) was built using a polynomial trend-surface analysis that includes quadratic, cubic, and interaction effects of latitude (La) and longitude (Lo) (Lo, Lo2, Lo3, La, La2, La3, LaLo, La2Lo, and LaLo2). This spatial descriptor detects geographic trends that are not evident with other environmental variables [21,100–104].

Based on the presence-absence data and environmental dataset, we optimized SDMs for each species according to the favourability function as the modelling algorithm [31]. Favourability values (F) can be obtained as follows;

$$F = \frac{\left[\frac{P}{(1-P)} \right]}{\left[\frac{n_1}{n_0} + \left(\frac{P}{(1-P)} \right) \right]} \quad (1)$$

where F is the environmental favourability, P is the probability of occurrence obtained from the multivariate logistic regression, n_1 and n_0 are the numbers of presences, and absences, respectively.

To obtain F , we used the ‘fuzzySim’ package [105] implemented in R [106]. The *multGLM* function was used, which allows the analytical procedures to be carried out sequentially in several steps. To minimize the effect of multicollinearity among the variables, two filters were applied to perform a preliminary variable selection from the initial set of 50 explanatory variables to use uncorrelated variables without problems of false discoveries. First, we controlled for a type I error using the false discovery rate (FDR) according to Benjamini and Hochberg [107] with the *FDR* function. Second, we calculated Pearson correlations among the variables using a threshold value of 0.8 with the *corSelect* function for the variables that passed the FDR filter. Using the variables that overcame both filters, models were constructed with the *step* function which performs a backward and forward step-by-step variable selection according to the Akaike information criterion (AIC) [108]. Finally, we used the *multTrim* function to remove nonsignificant variables. A Wald test was carried out using the ‘survey’ package [109] to determine the relative importance of each variable in all the models. In addition, we checked that all the explanatory variables selected for each model had a variance inflation factor lower than ten ($VIF < 10$), which is the threshold to indicate the absence of multicollinearity following Montgomery and Peck [110]. Finally, we used the ‘modEvA’ package [111] to evaluate the performance of the final models. To assess the prediction accuracy of the models, we calculated the following classification parameters: sensitivity, specificity, correct classification rate (CCR), and the true skill statistic (TSS) [112,113]. On the other hand, we estimated the AUC as the discrimination parameter [114].

4.3. Seed Production and Harvest

Based on the selfing breeding system of these species, the seed of each plant was considered a single inbred line. Eleven lines (genotypes) from the five sexual species of the *Dilatata* group were used to produce seeds (one genotype of *P. dasypleurum*, three of *P. flavescens*, and *P. urvillei*, and two of *P. plurinerve* and *P. vacarianum*, see Figure 1 and

Table A3). Eight plants of each genotype were installed 1 m apart from one another in a common garden experiment in Montevideo, Uruguay (34°51' S, 56°12' W). Seeds (spikelets with caryopses) of the eight plants of each genotype were bulk harvested by hand threshing for two weeks at each harvest time: in December 2017 and 2018 (summer), and March 2018 and 2019 (fall). The harvested seeds were kept in paper envelopes and stored in a dry place at room temperature for one week. Then, they were put in airtight bags with silica gel at 6 °C to retain primary seed dormancy until used in germination experiments [115,116]. We evaluated the germination of seeds with primary dormancy to reduce environmental postharvest effects on germination phenotypes and to compare genotypes and harvest times in a more reliable way.

4.4. Germination Experiments

For each harvest time, two completely randomized germination experiments were carried out. In each experiment, three replicates of thirty to fifty seeds for each genotype and treatment were placed in Petri dishes on filter paper moistened with 5 mL of distilled water or a nitrate solution (0.2% *w/v* KNO₃). The Petri dishes were wrapped in film to avoid loss of humidity. A seed was considered germinated when a 1 mm or further radicle growth was visible. Nongerminated seeds were tested with the tetrazolium test following Maeda et al. [117] to determine the number of viable seeds in each Petri dish after the germination assay had elapsed.

Experiment one was set to assess germination after stratification treatments in order to quantify differences among genotypes in thermal requirements to break seed dormancy. Three treatments were conducted. (1) Seeds with cold stratification (7 d in 9 °C average), (2) with warm stratification (7 d in 20 °C) and nonstratified seeds. The Petri dishes with seeds moistened with distilled water were placed in a refrigerator for cold stratification, and in a controlled temperature chamber for warm stratification. The dishes were wrapped with dark nylon to avoid light during the stratification period. After stratification, the dishes were subjected to two consecutive incubation periods: (1) in germination chambers at constant 30 °C for four days, and (2) in germination chambers with alternating temperatures (20/30 °C, 12 h dark/ 12 h light) for seven additional days. The dishes with nonstratified seeds were subjected to the same germination conditions. Germination counts were done on the 2nd, 3rd and 4th days during the incubation period in steady temperature, and on the 2nd, 4th and 7th days during the period in alternating temperatures.

Experiment two was set to assess germination in a range of alternating temperatures with and without nitrate to determine the thermal amplitude of germination in the presence or not of a dormancy-breaking substance. Four alternating temperature regimes (10/20, 15/25, 20/30 and 25/35 °C, 12 h dark/12 h light) and two germination solutions (distilled water and 0.2% nitrate solution) were factorised. Four germination chambers were used simultaneously, each with one alternating temperature regime. The time to finalize the germination assay was different for each alternating temperature regime to allow similar thermal time accumulation (28 d for 10/20 °C, 21 d for 15/25 °C, 17 d for 20/30 °C and 14 d for 25/35 °C). The germination counts were done at intervals of two to three days until germination assay time elapsed.

4.5. Germination Variables

For each replicate, the final germination proportion (FGP), germination timing variables, and the uncertainty of germination (UG) of both experiments were estimated. The FGP was calculated as the number of germinated seeds divided by the number of viable seeds (germinated + positive in the tetrazolium test). The mean germination time (MGT) was estimated for experiment two as;

$$MGT = \frac{\sum_i^k g_i \times t_i}{\sum_i^k g_i} \quad (2)$$

where g_i is the number of germinated seeds in count i and t_i is the time in days to count i since the beginning of the experiment. For experiment one, we defined a germination section as the time interval between counts, and we estimated the mean germination section (MGS) using a modified Timson Index (Tmod) [118];

$$\text{MGS} = k - \text{Tmod} = k - \left[\frac{\sum_{i=1}^k g_i \times (k - h)}{\sum_{i=1}^k g_i} \right] \quad (3)$$

where g_i is the number of germinated seeds in count i , k is the total number of germination counts ($k = 6$), and $h = i - 1$. The MGS brings an idea of mean germination time when the incubation of germination includes condition changes. The UG measured the spreading of germination which was used to infer the synchronicity of germination. It was estimated following Marques et al. [54] as;

$$\text{UG} = - \left[\sum_{i=1}^k f_i \times \log_2(f_i) \right], f_i = \frac{g_i}{\sum_{i=1}^k g_i} \quad (4)$$

where g_i is the number of germinated seeds in count i , k is the total number of germination counts.

Using the mean FGP obtained at each treatment level of both experiments, we estimated variables that can account for the overall germination performance of each genotype and harvest time. The germination ability (GA) was calculated as the summation of all FGP obtained through the treatment levels of both experiments (maximum GA = 11). The germination evenness (GE) across treatments was calculated using a modified Levin's index, following Finch et al. [53], as;

$$\text{GE} = \frac{1}{R \times \sum_{j=1}^R (p_j)^2} \quad (5)$$

where R is the total number of treatment levels (j) of both experiments ($R = 3$ and $R = 8$ for experiments one and two, respectively. Total $R = 11$) and p_j is the proportion of germinated seeds of level j in a base of all germinated seeds ($p_j = \text{FGP}_j / \text{GA}$). Both GA and GE can be used as germination niche breadth and seed dormancy estimators.

4.6. Germination Data Analysis

Variance analysis for the germination variables was conducted using mixed-effect models to find significant differences among species and treatments. The analysis was performed with the *lmer* function from the 'lme4' package [119]. Harvest time and genotype-by-species interaction were assumed as random effects. Species and germination treatments were the fixed effects. The FGP and GE data were logit transformed before the analysis to meet normal distribution. For GA and GE, the treatment effect was omitted from the models. Adjusted means for all fixed effects were calculated, and pairwise comparisons among factor levels were made with Tukey's test ($\alpha = 0.05$).

A principal component analysis (PCA) was carried out to study germination data dispersion using the FGP, MGT (or MGS), and UG obtained in each treatment level of both experiments as quantitative variables for each genotype and harvest time. Species and genotypes were considered categorical supplementary variables. The germination variables have different scales, so the data were normalized. The PCA was performed with the *PCA* function of the 'FactoMineR' package [120].

To assess the relative importance of within and among species variance, the variance partitioning was estimated for the germination variables by mixed effect models with harvest time, species, and genotype-by-species as random effects. The significance of random effects was assessed by the likelihood ratio test.

4.7. Regressions between Germination and Environmental Variables

Partial least square regressions (PLSR) were conducted to find relationships between germination and environment variables. We used the mean values of germination variables of each genotype (responses) and the mean values of each climatic and topographic variable inside the hexagon where each genotype is located (predictors). The PLSR was carried out with the *pls* function of the ‘pls’ package [121]. The leave-one-out cross-validation process was used to retain an adequate number of components for each PLSR. For each germination variable, two PLSR were conducted. All variables were used as predictors in the first one, and the variables with importance in projection higher than one ($VIP > 1$) in the first PLSR were used in the second. The VIP of each variable was estimated with VIP function of ‘plsVarSel’ package [122]. Then, linear regressions were tested for each germination variable using the environmental variables with $VIP > 1$ after the last PLSR as the predictor.

5. Conclusions

We analysed and compared distribution models and regeneration traits in one phylogenetically well-understood group of closely-related species from a region where biogeographical studies are scarce. Each methodological approach brought different and complementary insights. While the SDMs yielded the favourable area of each species, highlighting the main drivers of the distributions, the differences among species in germination traits provided a likely physiological explanation for the geographical pattern of each species and the whole group. The divergence in seed dormancy observed among *P. flavescens*, *P. plurinerve*, and *P. vacarianum* may be a key factor in explaining why these more closely-related species retain restricted and allopatric distributions. This divergence gives each of these species a competitive advantage in the regeneration niche in their location over the other specialist sexual Dilatata species.

Author Contributions: Conceptualization, N.G. and P.R.S.; methodology, N.G., D.R. and J.C.G.; software, N.G., D.R. and J.C.G.; validation, N.G., D.R., V.R., J.C.G. and P.R.S.; formal analysis, N.G. and J.C.G.; investigation, N.G., D.R., V.R. and J.C.G.; resources, N.G., D.R., V.R. and J.C.G.; data curation, N.G., D.R., V.R. and J.C.G.; writing—original draft preparation, N.G.; writing—review and editing, N.G., D.R., V.R., J.C.G. and P.R.S.; visualization, N.G., D.R. and J.C.G.; supervision, J.C.G. and P.R.S.; project administration, N.G. and P.R.S.; funding acquisition, P.R.S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by Comisión Sectorial de Investigación Científica, Uruguay (CSIC-Grupos I+D 2014, project code: 8725).

Data Availability Statement: The data presented in this study are openly available in Zenodo. DOI: 10.5281/zenodo.7472847.

Acknowledgments: We thank the curators and staff of BAA, BLA, CEN, CNPO, CTES, ICN, LE, LIL, LP, MNES, MVFA, MVM, P, and SI for making their plant collections and/or HD photographs available. We appreciate the help of Yolanda Fernández, Matías Antuoni, Sofía Acosta Nabune and Guillermo Rodríguez in common garden experiment installation, seed harvest and germination assays. We thank the Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas (PEDECIBA) and the Sistema Nacional de Investigadores (SNI) of the Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII), Uruguay.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Appendix A

Table A1. List of environmental and geographical variables, and factors belong to, used for SDM modelling.

Factor	Variable	Variable Description	Factor	Variable	Variable Description
Spatial	Ysp	Spatial logit (linear polynomial combination of Latitude (°S) and Longitude (°W) from the spatial logistic regression) ⁽¹⁾		Bio10	Mean annual temperatures in the warmest quarter ⁽³⁾
	Alt	Average altitude (m) ⁽²⁾		Bio11	Mean annual temperatures of the coldest quarter (°C) ⁽³⁾
	Slope	Calculated from altitude (°)		Bio12	Annual precipitation (mm) ⁽³⁾
Topography	Ori-NS	Orientation; degrees of exposure North-South (calculated from slope)		Bio13	Precipitation of the wettest month (mm) ⁽³⁾
	Ori-EW	Orientation; degrees of exposure East-West (calculated from slope)		Bio14	Precipitation in the driest month (mm) ⁽³⁾
	Rough	Roughness (m) (calculated from altitude)		Bio15	Seasonal precipitation (mm) ⁽³⁾
	TRI	Terrain Ruggedness Index (calculated from altitude)		Bio16	Precipitation in the wettest quarter (mm) ⁽³⁾
	TPI	Topographic Position Index (calculated from altitude)	Climatic	Bio17	Precipitation in dry quarter ⁽³⁾
Climatic	Bio1	Average annual temperature (°C) ⁽³⁾		Bio18	Precipitation in the warmest quarter ⁽³⁾
	Bio2	Mean diurnal range temperatures (°C) ⁽³⁾		Bio19	Precipitation in coldest quarter ⁽³⁾
	Bio3	Isothermality (Bio2/Bio17 × 100) (°C) ⁽³⁾		ETP-Seas	Monthly variability in potential evapotranspiration ⁽⁴⁾
	Bio4	Seasonal temperatures (°C) ⁽³⁾		ETP-An	Annual potential evapotranspiration ⁽⁴⁾
	Bio5	Maximum temperatures in the warmest month (°C) ⁽³⁾		ClimMoist	Climatic Moisture Index ⁽⁴⁾
	Bio6	Minimum temperatures in the coldest month (°C) ⁽³⁾	Hydrology	GDD0	Sum of mean monthly temperature for months with mean temperature greater than 0 °C multiplied by number of days ⁽⁴⁾
	Bio7	Annual temperature range (Bio5-Bio6) ⁽³⁾		GDD5	Sum of mean monthly temperature for months with mean temperature greater than 5 °C multiplied by number of days ⁽⁴⁾
	Bio8	Mean annual temperatures of the wettest quarter ⁽³⁾		SumRiver	Summation of Rivers (km) ⁽⁵⁾
	Bio9	Mean annual temperatures in the dry quarter ⁽³⁾		SumBigRiv	Summation of Big Rivers (km) ⁽⁶⁾
	DistRiver	Minimum distance to Rivers (km) ⁽⁵⁾		Snow	Snow (%) ⁽⁷⁾
Hydrology	DistBigRiv	Minimum distance to Big Rivers (km) ⁽⁶⁾	Global Land Cover	Bare	Bare (%) ⁽⁷⁾
Global Land Cover	Crops	Crops (%) ⁽⁷⁾		WaterPerm	Water permanent (%) ⁽⁷⁾
	Grass	Grass (%) ⁽⁷⁾		WaterSeas	Water seasonality (%) ⁽⁷⁾
	Moss	Moss (%) ⁽⁷⁾		PopDen	Population density ⁽⁸⁾
	Shrub	Shrub (%) ⁽⁷⁾	Human activities	DistRoad	Distance to roads (km) ⁽⁸⁾
	Tree	Tree (%) ⁽⁷⁾		DistUrban	Distance to the main urban centers (km) ⁽⁸⁾
	Urban	Urban (%) ⁽⁷⁾		SumRoads	Length of roads (m) ⁽⁸⁾

(1) Spatial variables, latitude and longitude, were generated from the QGIS program according to the vector geometry tools: (a) with “centroids of polygons”, the centroid of each cell was calculated, and (b) with “Export/Add columns of geometry”, the values of length and latitude expressed in the 1984 World Geodetic System (WGS84) were allocated to each centroid, www.qgis.org (accessed on 15 April 2020). (2) Global multi-resolution terrain elevation data 2010 (GMTED2010) [123]. (3) Data from: Climatologies at high resolution for the earth's land surface areas [124]. (4) Environmental Raster for Ecological Modelling, <https://envirem.github.io/#varTable> (accessed on 20 April 2020). (5) HydroShed. Hydrological data and maps based on SRTM Elevation Derivatives at multiple Scales [125]. (6) Natural Earth Data [126]. (7) Land Cover 100m: Collection 3: epoch 2015: Globe (Version V3.0.1) [127]. (8) Gridded Population of the World (GPW), v11. Socioeconomic Data and Applications Center (SEDAC) [128].

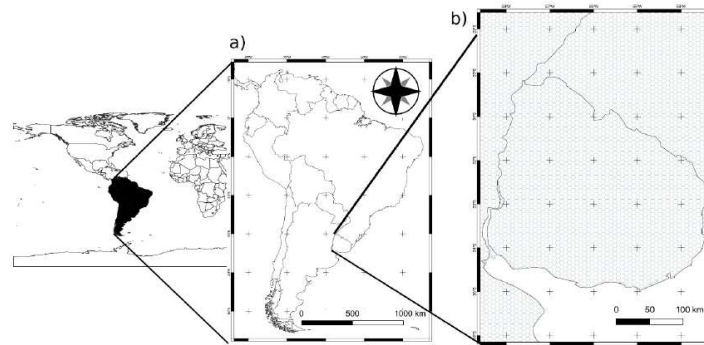


Figure A1. Global study area context. (a) South America in the global context. (b) An amplified map showing the resolution of the grid composed of hexagons of approximately 6 km of apothem.

Table A2. Assessments of favourability models for the five species of *Paspalum*, according to discrimination and classification parameters. Abbreviations: AUC, area under the ROC (receiving operating characteristic) curve; CCR, correct classification rate; TSS, true skill statistic.

Evaluation Parameters	Favourability Models				
	<i>P. dasylepaurum</i>	<i>P. flavescens</i>	<i>P. plurinerve</i>	<i>P. vacarianum</i>	<i>P. urvillei</i>
Discrimination					
AUC ¹	0.997	0.998	0.998	0.999	0.954
Classification					
Sensitivity	0.975	0.977	1	1	0.93
Specificity	0.983	0.975	0.985	0.992	0.851
CCR	0.983	0.975	0.985	0.992	0.851
TSS	0.957	0.952	0.985	0.992	0.779

¹: AUC > 0.9 is considered an outstanding discrimination capacity, according to Hosmer and Lemeshow [129].

Table A3. Accessions, origin site description and location for each genotype used for germination assays.

Species	Genotype	Accession	Origin Site Description	Latitude	Longitude
<i>P. dasylepaurum</i>	D331	331 (Fagro)	Close to Valdivia, Los Rios, Chile	39°49'15" S	73°12'14" W
<i>P. flavescens</i>	F15	7218 (Fagro)	Close to Solis (Route 10 km 0.200), Maldonado, Uruguay	34°47'34" S	55°23'3" W
<i>P. flavescens</i>	F68	7434 (Fagro)	Close to Riachuelo (Route 1 to the coast), Colonia, Uruguay	34°26'17" S	57°42'25" W
<i>P. plurinerve</i>	F79	7470 (Fagro)	Close to Villa Rodriguez (Route 11 km 65.500), San José, Uruguay	34°23'28" S	56°32'56" W
<i>P. plurinerve</i>	P1	7207 (Fagro)	Close to Gob. Valentin Virasoro, Corrientes, Argentina	28°2'29" S	56°1'33" W
<i>P. plurinerve</i>	P340	340 (Fagro)	Close to Garruchos, Santo Tomé, Corrientes, Argentina	28°10'32" S	55°38'29" W
<i>P. vacarianum</i>	V5	PI 404372 (USDA)	Close to Agricultural Experiment Station, Vacaria, Rio Grande do Sul, Brazil	28°30'60" S	50°54'29" W
<i>P. vacarianum</i>	V7	PI 508689 (USDA)	Along road to Lages, 27 km NW of Sao Joaquim, Santa Catarina, Brazil	28°3'51" S	50°4'19" W
<i>P. urvillei</i>	U21	PI 509017 (USDA)	32 km N of Villa Montes, Tarija, Bolivia	21°14'52" S	63°27'33" W
<i>P. urvillei</i>	U290	8617 (Fagro)	Close to El Lago (Route 5 km 279), Tacuarembó, Uruguay	32°20'35" S	56°15'22" W
<i>P. urvillei</i>	U15	7199 (Fagro)	Close to Solis (Route 10 km 0.200), Maldonado, Uruguay	34°47'34" S	55°23'3" W

Table A4. Adjusted means for mean germination time (MGT), mean germination section (MGS) and uncertainty of germination (UG) for each level of treatment and species within each experiment. (a) Experiment one, stratification treatments: seed without stratification (CTRL), cold stratification (CS), and warm stratification (WS). (b) Experiment two, alternating temperatures and nitrate addition. Results from 10/20 °C from Experiment two were omitted because several species showed nil germination.

(a) Variable	Treatment	<i>P. dasylepaurum</i>			<i>P. flavescens</i>			<i>P. plurinerve</i>			<i>P. vacarianum</i>			<i>P. urvillei</i>		
MGS	CTRL	4.1	a	A	4.0	a	A	4.0	a	A	4.1	a	A	3.7	a	A
	CS	1.3	b	A	0.8	b	A	0.9	b	A	1.6	b	A	0.6	b	A
	WS	1.8	b	A	0.8	b	A	1.3	b	A	1.3	b	A	0.4	b	A
UG	CTRL	0.14	a	A	0.43	b	A	0.85	a	A	1.06	b	A	0.77	ab	A
	CS	0.70	a	A	1.33	a	A	1.19	a	A	1.93	a	A	1.00	a	A
	WS	0.39	a	A	0.73	b	A	1.22	a	A	1.39	b	A	0.57	b	A

Table A4. Cont.

(b) Variable	Treatment	<i>P. dasyleprium</i>			<i>P. flavesces</i>			<i>P. plurinerve</i>			<i>P. vacarianum</i>			<i>P. urvillei</i>		
MGT	15/25 °C water	11.8	a	AB	11.1	a	B	16.0	a	A	12.2	a	AB	9.3	a	B
	20/30 °C water	12.2	a	A	6.3	b	B	7.0	b	AB	7.9	ab	AB	7.2	a	AB
	25/35 °C water	8.2	a	A	6.8	b	A	7.2	b	A	7.5	b	A	7.0	a	A
	15/25 °C nitrate	8.1	a	AB	12.8	a	A	10.9	a	AB	14.0	a	A	6.8	a	B
	20/30 °C nitrate	11.6	a	A	6.6	b	AB	5.2	b	B	6.7	b	AB	5.0	a	B
UG	25/35 °C nitrate	10.4	a	A	5.9	b	A	5.1	b	A	5.9	b	A	5.0	a	A
	15/25 °C water	0.82	a	AB	0.30	b	B	1.56	a	A	0.71	b	B	1.76	a	A
	20/30 °C water	1.20	a	A	1.30	a	A	1.74	a	A	1.59	a	A	1.80	a	A
	25/35 °C water	1.07	a	A	1.48	a	A	1.86	a	A	1.70	a	A	1.72	a	A
	15/25 °C nitrate	0.26	b	B	0.84	a	B	1.96	a	A	1.29	a	AB	1.12	a	B
	20/30 °C nitrate	1.52	a	A	1.27	a	A	0.74	b	AB	1.11	a	AB	0.55	b	B
	25/35 °C nitrate	1.60	a	A	1.11	a	AB	0.77	b	AB	1.07	a	AB	0.65	ab	B

(a) Lowercase letters indicate differences among stratification treatments within each species. Uppercase letters indicate differences among species within each stratification treatment ($p < 0.05$). (b) Lowercase letters indicate differences among temperature regimes within each species and nitrate addition combination. Uppercase letters indicate differences among species within each temperature regime and nitrate addition combination. Bold numbers indicate differences between distilled water and nitrate addition within each temperature regime and species combinations ($p < 0.05$).

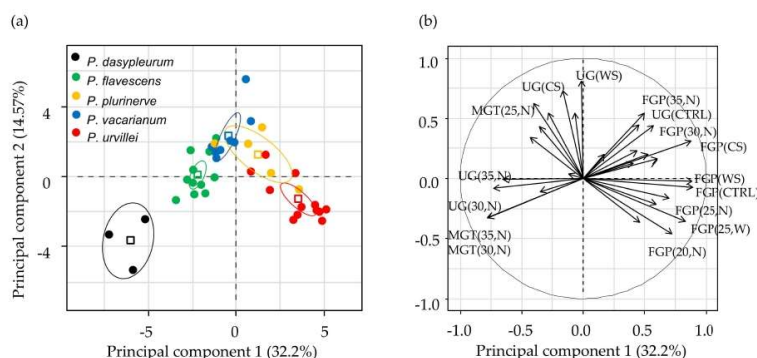


Figure A2. Principal component analysis using germination results (FGP, MGT or MGS and UG) of each treatment level of both germination experiments. (a) Each point is a genotype-by-harvest time score. Different colours identified species (see label). Also, the species mean score (squares) and the 95% confidence ellipses are shown. (b) Germination variables biplot, where the germination variables with $\cos^2 > 0.4$ are shown. Labels for germination variables are constructed with the name of the variable (FGP = final germination proportion, MGT = mean germination time, and UG = uncertainty of germination) followed by the treatment level in brackets. For experiment one, CTRL = seeds without stratification, CS = with cold stratification, WS = with warm stratification. For experiment two, the alternating temperature regime is represented with the higher temperature of the cycle (20, 25, 30 and 35), and N or W identifies germination with nitrate solution or distilled water, respectively.

Table A5. Variance partitioning within and among species and among harvest times for first principal component (PC1) scores from PCA (see Figure A2), germination ability (GA), and germination evenness (GE). *Paspalum dasyleprium* was excluded from the analysis because of the absence of a genotype replica for this species.

Germination Variable	Variance Partitioning (% Total Variance Sum)			
	Genotype/Species	Species	Harvest Time	Residual
PC1 scores from PCA	16.4	76.1	0.2	7.3
Germination ability (GA)	16.1	74.5	1.0	8.4
Germination evenness (GE)	16.9	71.5	2.8	8.8

Asterisks denote that a factor is significant within each variable (p value = *** < 0.001 ; * < 0.05).

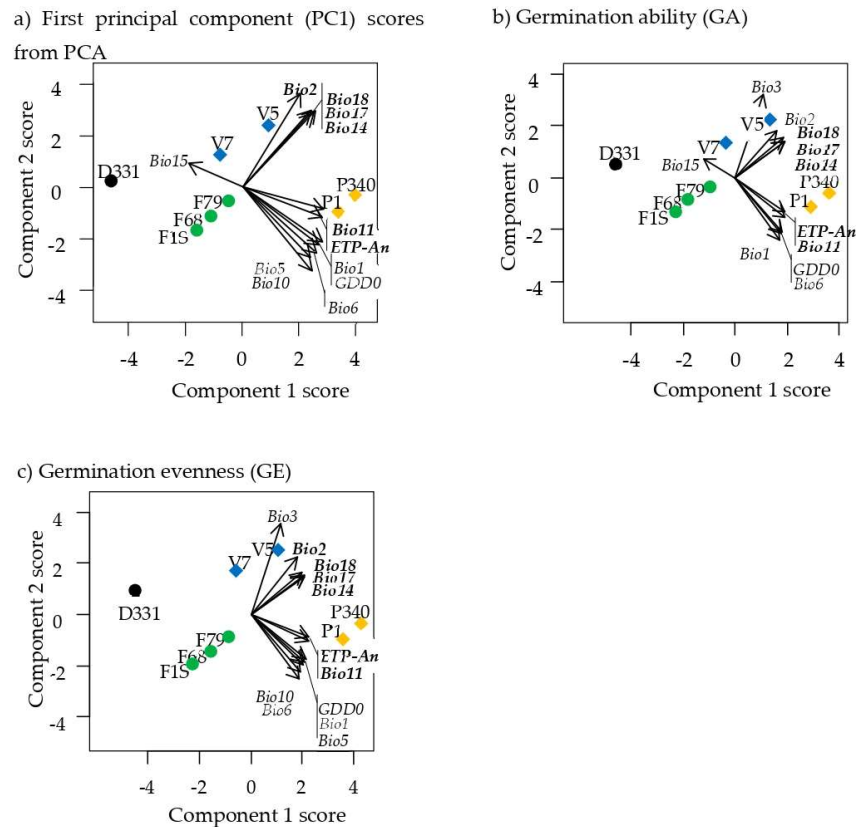


Figure A3. Biplots of PLSR for three germination variables showing the association between genotypes (normal font) and climatic variables graphically (in italics). Genotypes of *P. urvillei* were not included in this PLSR optimization: (a) First principal component (PC1) scores from PCA, (b) germination ability (GA), and (c) germination evenness (GE). Colors identify the species: black = *P. dasyleprium* (D331), green = *P. flavescens* (F1S, F68, F79), blue = *P. vacarianum* (V5, V7), and orange = *P. plurinerve* (P1, P340). Southernmost distributed species are represented with circles and northernmost species with diamonds. Predictor (climatic) variables in a bold letter had importance in projections higher than one (VIP > 1). The references of climatic variables are in Table A1.

Table A6. Linear regression adjustment (R^2) between each germination variable (PC1, GA and GE) as response and environmental variables with importance in projection higher than one ($VIP > 1$) after optimizing PLSR as predictors. Results when *P. urvillei* genotypes are included (left) and when *P. urvillei* genotypes are not included (right) are shown. High adjustments ($R^2 \geq 0.80$) were highlighted with bold letters.

Germination Variable (y)	With <i>P. urvillei</i> Genotypes		Without <i>P. urvillei</i> Genotypes	
	Environmental Variable (x)	R^2	Environmental Variable (x)	R^2
First principal component (PC1) scores	Bio1 *	0.38	Bio2 *	0.55
	Bio2 ^{ns}	0.26	Bio11 **	0.69
	Bio5 *	0.34	Bio14 ***	0.87
	Bio11 *	0.37	Bio17 ***	0.88
	ETP_An **	0.50	Bio18 **	0.83
	ClimMoistu *	0.31	ETP_An **	0.68
	GDD0 *	0.40		
	OnNS *	0.32		
Germination ability (GA)	Bio1 *	0.38	Bio11 *	0.59
	Bio2 ^{ns}	0.26	Bio14 ***	0.94
	Bio11 *	0.36	Bio17 ***	0.95
	ETP_An *	0.49	Bio18 **	0.80
	GDD0 *	0.39	ETP_An *	0.58
	OnNS *	0.34		
Germination evenness (GE)	Bio1 *	0.34	Bio2 **	0.59
	Bio2 ^{ns}	0.25	Bio11 ***	0.67
	Bio11 *	0.33	Bio14 ***	0.93
	ETP_An *	0.46	Bio17 ***	0.93
	GDD0 *	0.35	Bio18 **	0.74
			ETP_An **	0.67

Asterisks near variable names denote regression significance (p value = *** < 0.001; ** < 0.01; * < 0.05), “ns” means that the linear regression was not significant.

References

- Oyarzabal, M.; Andrade, B.; Pillar, V.D.; Paruelo, J. Temperate Subhumid Grasslands of Southern South America. In *Encyclopedia of the World's Biomes*; Goldstein, M.L., DellaSala, D.A., Eds.; Section 6; Elsevier Inc.: Amsterdam, The Netherlands, 2020; Volume 3, pp. 577–593. ISBN 9780128160978.
- Speranza, P.R.; Seijo, J.G.; Grela, I.A.; Solis Neffa, V.G. Chloroplast DNA Variation in the *Turnera sidoides* L. Complex (Turneraceae): Biogeographical Implications. *J. Biogeogr.* **2007**, *34*, 427–436. [\[CrossRef\]](#)
- Turchetto, C.; Fagundes, N.J.R.; Segatto, A.L.A.; Kuhlmeier, C.; Solis Neffa, V.G.; Speranza, P.R.; Bonatto, S.L.; Freitas, L.B. Diversification in the South American Pampas: The Genetic and Morphological Variation of the Widespread *Petunia axillaris* Complex (Solanaceae). *Mol. Ecol.* **2014**, *23*, 374–389. [\[CrossRef\]](#)
- Turchetto-Zolet, A.C.; Salgueiro, F.; Turchetto, C.; Cruz, F.; Veto, N.M.; Barros, M.J.F.; Segatto, A.L.A.; Freitas, L.B.; Margis, R. Phylogeography and Ecological Niche Modelling in *Eugenia uniflora* (Myrtaceae) Suggest Distinct Vegetational Responses to Climate Change between the Southern and the Northern Atlantic Forest. *Bot. J. Linn. Soc.* **2016**, *182*, 670–688. [\[CrossRef\]](#)
- Vaio, M.; Gardner, A.; Speranza, P.R.; Emshwiller, E.; Guerra, M. Phylogenetic and Cytogenetic Relationships among Species of *Oxalis* Section *Articulatae* (Oxalidaceae). *Plant Syst. Evol.* **2016**, *302*, 1253–1265. [\[CrossRef\]](#)
- Moreno, E.M.S.; De Freitas, L.B.; Speranza, P.R.; Solis Neffa, V.G. Impact of Pleistocene Geoclimatic Events on the Genetic Structure in Mid-Latitude South American Plants: Insights from the Phylogeography of *Turnera sidoides* Complex (Passifloraceae, Turnerioideae). *Bot. J. Linn. Soc.* **2018**, *188*, 377–390. [\[CrossRef\]](#)
- Baeza, S.; Paruelo, J.M. Spatial and Temporal Variation of Human Appropriation of Net Primary Production in the Rio de La Plata Grasslands. *ISPRS J. Photogramm. Remote Sens.* **2018**, *145*, 238–249. [\[CrossRef\]](#)
- Overbeck, G.E.; Müller, S.C.; Fidelis, A.; Pfadenhauer, J.; Pillar, V.D.; Blanco, C.C.; Boldrini, I.I.; Both, R.; Forneck, E.D. Brazil's Neglected Biome: The South Brazilian Campos. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.* **2007**, *9*, 101–116. [\[CrossRef\]](#)
- Zuloaga, F.O.; Morrone, O. *Revisión de las Especies de Paspalum Para América del Sur Austral (Argentina, Bolivia, Sur Del Brasil, Chile, Paraguay, y Uruguay)*; Missouri Botanical Garden: Saint Louis, MO, USA, 2005; Volume 102, p. 297.
- Percival, N.S.; Couchman, J.N. Evaluation of *Paspalum* (*Paspalum dilatatum* Poir.) Selections. I. Variation among Populations. *New Zeal. J. Agric. Res.* **1979**, *7*, 59–64.
- Venuto, B.C.; Burson, B.L.; Hussey, M.A.; Redfearn, D.D.; Wyatt, W.E.; Brown, L.P. Forage Yield, Nutritive Value, and Grazing Tolerance of Dallisgrass Biotypes. *Crop. Sci.* **2003**, *43*, 295–301. [\[CrossRef\]](#)
- Rosso, V.C.; Valls, J.F.M.; Quarín, C.L.; Speranza, P.R.; Rua, G.H. New Entities of *Paspalum* and a Synopsis of the Group *Dilatata*. *Syst. Bot.* **2022**, *47*, 125–139. [\[CrossRef\]](#)
- Speranza, P.R. The Challenges of the Exploration of Genetic Resources in Apomictic Plants: Lessons from *Paspalum dilatatum*. *Agrociencia* **2005**, *9*, 73–76.

14. Vaio, M.; Mazzella, C.; Guerra, M.; Speranza, P.R. Effects of the Diploidisation Process upon the 5S and 35S rDNA Sequences in the Allopolyploid Species of the Dilatata Group of *Paspalum* (Poaceae, Paniceae). *Aust. J. Bot.* **2019**, *67*, 521–530. [\[CrossRef\]](#)
15. Speranza, P.R.; Malosetti, M. Nuclear and Cytoplasmic Microsatellite Markers for the Species of the Dilatata Group of *Paspalum* (Poaceae). *Plant Genet. Resour.* **2007**, *5*, 14–26. [\[CrossRef\]](#)
16. Sandro, P.; Gutiérrez, L.; Speranza, P.R. Distribution of Genetic and Phenotypic Diversity in the Autogamous Perennial *Paspalum dilatatum* subsp. *flavescens* Roseng., Arrill. & Izag. (Poaceae). *Genet. Resour. Crop. Evol.* **2019**, *66*, 1205–1216. [\[CrossRef\]](#)
17. Speranza, P.R. Evolutionary Patterns in the Dilatata Group (*Paspalum*, Poaceae). *Plant Syst. Evol.* **2009**, *282*, 43–56. [\[CrossRef\]](#)
18. Sawasato, J.T.; Dall'Agnol, M.; da Conceição, D.P.; Tafernaberrri, V.J.; Klafke, G.B. Genetic Diversity among Accesses of *Paspalum urvillei* Steudel Estimated by Microsatellites and RAPD Markers. *Rev. Bras. Zootec.* **2008**, *37*, 1366–1374. [\[CrossRef\]](#)
19. Futuyma, D.; Moreno, G. The Evolution of Ecological Specialization. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **1988**, *19*, 207–233. [\[CrossRef\]](#)
20. Cornaglia, P.S.; Schrauf, G.E.; Deregibus, V.A. Flooding and Grazing Promote Germination and Seedling Establishment in the Perennial Grass *Paspalum dilatatum*. *Austral Ecol.* **2009**, *34*, 343–350. [\[CrossRef\]](#)
21. Legendre, P. Spatial Autocorrelation: Trouble or New Paradigm? *Ecology* **1993**, *74*, 1659–1673. [\[CrossRef\]](#)
22. Guisan, A.; Zimmermann, N.E. Predictive Habitat Distribution Models in Ecology. *Ecol. Modell.* **2000**, *135*, 147–186. [\[CrossRef\]](#)
23. Real, R.; Barbosa, A.M.; Porras, D.; Kin, M.S.; Márquez, A.L.; Guerrero, J.C.; Palomo, L.J.; Justo, E.R.; Vargas, J.M. Relative Importance of Environment, Human Activity and Spatial Situation in Determining the Distribution of Terrestrial Mammal Diversity in Argentina. *J. Biogeogr.* **2003**, *30*, 939–947. [\[CrossRef\]](#)
24. Soberon, J.; Peterson, A.T. Interpretation of Models of Fundamental Ecological Niches and Species' Distributional Areas. *Biodivers. Inform.* **2005**, *2*, 1–10. [\[CrossRef\]](#)
25. Nakazato, T.; Warren, D.L.; Moyle, L.C. Ecological and Geographic Modes of Species Divergence in Wild Tomatoes. *Am. J. Bot.* **2010**, *97*, 680–693. [\[CrossRef\]](#)
26. Fyllas, N.M.; Koufaki, T.; Sazeides, C.I.; Spyroglou, G.; Theodorou, K. Potential Impacts of Climate Change on the Habitat Suitability of the Dominant Tree Species in Greece. *Plants* **2022**, *11*, 1616. [\[CrossRef\]](#)
27. Hernandez, P.A.; Graham, C.H.; Master, L.L.; Albert, D.L. The Effect of Sample Size and Species Characteristics on Performance of Different Species Distribution Modeling Methods. *Ecography* **2006**, *29*, 773–785. [\[CrossRef\]](#)
28. Evangelista, P.H.; Kumar, S.; Stohlgren, T.J.; Jarnevich, C.S.; Crall, A.W.; Norman, J.B.; Barnett, D.T. Modelling Invasion for a Habitat Generalist and a Specialist Plant Species. *Divers. Distrib.* **2008**, *14*, 808–817. [\[CrossRef\]](#)
29. Guisan, A.; Thuiller, W. Predicting Species Distribution: Offering More than Simple Habitat Models. *Ecol. Lett.* **2005**, *8*, 993–1009. [\[CrossRef\]](#)
30. Sillero, N.; Arenas-Castro, S.; Enriquez-Urzelai, U.; Vale, C.G.; Sousa-Guedes, D.; Martínez-Freiria, F.; Real, R.; Barbosa, A.M. Want to Model a Species Niche? A Step-by-Step Guideline on Correlative Ecological Niche Modelling. *Ecol. Modell.* **2021**, *456*, 109671. [\[CrossRef\]](#)
31. Real, R.; Barbosa, A.M.; Vargas, J.M. Obtaining Environmental Favourability Functions from Logistic Regression. *Environ. Ecol. Stat.* **2006**, *13*, 237–245. [\[CrossRef\]](#)
32. Acevedo, P.; Real, R. Favourability: Concept, Distinctive Characteristics and Potential Usefulness. *Naturwissenschaften* **2012**, *99*, 515–522. [\[CrossRef\]](#)
33. Romo, H.; García-Barros, E.; Márquez, A.L.; Moreno, J.C.; Real, R. Effects of Climate Change on the Distribution of Ecologically Interacting Species: Butterflies and Their Main Food Plants in Spain. *Ecography* **2014**, *37*, 1063–1072. [\[CrossRef\]](#)
34. Romero, D.; Sosa, B.; Brazeiro, A.; Achkar, M.; Guerrero, J.C. Factors Involved in the Biogeography of the Honey Locust Tree (*Gleditsia triacanthos*) Invasion at Regional Scale: An Integrative Approach. *Plant Ecol.* **2021**, *222*, 705–722. [\[CrossRef\]](#)
35. Kearney, M.; Simpson, S.J.; Raubenheimer, D.; Helmuth, B. Modelling the Ecological Niche from Functional Traits. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **2010**, *365*, 3469–3483. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
36. Pearson, R.G.; Dawson, T.P. Predicting the Impacts of Climate Change on the Distribution of Species: Are Bioclimate Envelope Models Useful? *Glob. Ecol. Biogeogr.* **2003**, *12*, 361–371. [\[CrossRef\]](#)
37. Kearney, M.; Porter, W. Mechanistic Niche Modelling: Combining Physiological and Spatial Data to Predict Species' Ranges. *Ecol. Lett.* **2009**, *12*, 334–350. [\[CrossRef\]](#)
38. Violle, C.; Jiang, L. Towards a Trait-Based Quantification of Species Niche. *J. Plant Ecol.* **2009**, *2*, 87–93. [\[CrossRef\]](#)
39. Violle, C.; Navas, M.-L.; Vile, D.; Kazakou, E.; Fortunel, C.; Hummel, I.; Garnier, E. Let the Concept of Trait Be Functional! *Oikos* **2007**, *116*, 882–892. [\[CrossRef\]](#)
40. Larson, J.E.; Funk, J.L. Regeneration: An Overlooked Aspect of Trait-Based Plant Community Assembly Models. *J. Ecol.* **2016**, *104*, 1284–1298. [\[CrossRef\]](#)
41. Hoyle, G.L.; Steadman, K.J.; Good, R.B.; McIntosh, E.J.; Galea, L.M.E.; Nicotra, A.B. Seed Germination Strategies: An Evolutionary Trajectory Independent of Vegetative Functional Traits. *Front. Plant Sci.* **2015**, *6*, 731. [\[CrossRef\]](#)
42. Saatkamp, A.; Cochrane, A.; Commander, L.; Guja, L.K.; Jimenez-Alfaro, B.; Larson, J.; Nicotra, A.; Poschlod, P.; Silveira, F.A.O.; Cross, A.T.; et al. A Research Agenda for Seed-trait Functional Ecology. *New Phytol.* **2019**, *221*, 1764–1775. [\[CrossRef\]](#)
43. Grubb, P.J. The Maintenance of Species-Richness in Plant Communities: The Importance of the Regeneration Niche. *Biol. Rev.* **1977**, *52*, 107–145. [\[CrossRef\]](#)

44. Guerra-Coss, F.A.; Badano, E.I.; Cedillo-Rodríguez, I.E.; Ramírez-Albores, J.E.; Flores, J.; Barragán-Torres, F.; Flores-Cano, J.A. Modelling and Validation of the Spatial Distribution of Suitable Habitats for the Recruitment of Invasive Plants on Climate Change Scenarios: An Approach from the Regeneration Niche. *Sci. Total Environ.* **2021**, *777*, 146007. [\[CrossRef\]](#)
45. Bykova, O.; Chuine, I.; Morin, X.; Higgins, S.I. Temperature Dependence of the Reproduction Niche and Its Relevance for Plant Species Distributions. *J. Biogeogr.* **2012**, *39*, 2191–2200. [\[CrossRef\]](#)
46. Wagmann, K.; Hautekèete, N.-C.; Piquot, Y.; Meunier, C.; Schmitt, S.E.; Van Dijk, H. Seed Dormancy Distribution: Explanatory Ecological Factors. *Ann. Bot.* **2012**, *110*, 1205–1219. [\[CrossRef\]](#)
47. Sales, N.M.; Pérez-García, F.; Silveira, F.A.O. Consistent Variation in Seed Germination across an Environmental Gradient in a Neotropical Savanna. *South African J. Bot.* **2013**, *87*, 129–133. [\[CrossRef\]](#)
48. Rosbakh, S.; Poschlod, P. Initial Temperature of Seed Germination as Related to Species Occurrence along a Temperature Gradient. *Funct. Ecol.* **2015**, *29*, 5–14. [\[CrossRef\]](#)
49. Ranieri, B.D.; Pezzini, F.F.; Garcia, Q.S.; Chautems, A.; França, M.G.C. Testing the Regeneration Niche Hypothesis with Gesneriaceae (Tribe Sinningiae) in Brazil: Implications for the Conservation of Rare Species. *Austral Ecol.* **2012**, *37*, 125–133. [\[CrossRef\]](#)
50. Jiménez-Alfaro, B.; Silveira, F.A.O.; Fidelis, A.; Poschlod, P.; Commander, L.E. Seed Germination Traits Can Contribute Better to Plant Community Ecology. *J. Veg. Sci.* **2016**, *27*, 637–645. [\[CrossRef\]](#)
51. Benech-Arnold, R.L.; Sánchez, R.A.; Forcella, F.; Kruk, B.C.; Ghersa, C.M. Environmental Control of Dormancy in Weed Seed Banks in Soil. *F. Crop. Res.* **2000**, *67*, 105–122. [\[CrossRef\]](#)
52. Baskin, C.C.; Thompson, K.; Baskin, J.M. Mistakes in Germination Ecology and How to Avoid Them. *Seed Sci. Res.* **2006**, *16*, 165–168. [\[CrossRef\]](#)
53. Finch, J.; Walck, J.L.; Hidayati, S.N.; Kramer, A.T.; Lason, V.; Havens, K. Germination Niche Breadth Varies Inconsistently among Three *Asclepias* Congeners along a Latitudinal Gradient. *Plant Biol.* **2019**, *21*, 425–438. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
54. Marques, A.R.; Atman, A.P.F.; Silveira, F.A.O.; de Lemos-Filho, J.P. Are Seed Germination and Ecological Breadth Associated? Testing the Regeneration Niche Hypothesis with Bromeliads in a Heterogeneous Neotropical Montane Vegetation. *Plant Ecol.* **2014**, *215*, 517–529. [\[CrossRef\]](#)
55. Fernández-Pascual, E.; Pérez-Arcoiza, A.; Prieto, J.A.; Díaz, T.E. Environmental Filtering Drives the Shape and Breadth of the Seed Germination Niche in Coastal Plant Communities. *Ann. Bot.* **2017**, *119*, 1169–1177. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
56. Willis, C.G.; Baskin, C.C.; Baskin, J.M.; Auld, J.R.; Venable, D.L.; Cavender-Bares, J.; Donohue, K.; Rubio de Casas, R. The Evolution of Seed Dormancy: Environmental Cues, Evolutionary Hubs, and Diversification of the Seed Plants. *New Phytol.* **2014**, *203*, 300–309. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
57. Dayrell, R.L.C.; Garcia, Q.S.; Negreiros, D.; Baskin, C.C.; Baskin, J.M.; Silveira, F.A.O. Phylogeny Strongly Drives Seed Dormancy and Quality in a Climatically Buffered Hotspot for Plant Endemism. *Ann. Bot.* **2016**, *119*, 267–277. [\[CrossRef\]](#)
58. Arène, F.; Affre, L.; Doxa, A.; Saatkamp, A. Temperature but Not Moisture Response of Germination Shows Phylogenetic Constraints While Both Interact with Seed Mass and Lifespan. *Seed Sci. Res.* **2017**, *27*, 110–120. [\[CrossRef\]](#)
59. Donohue, K.; Rubio de Casas, R.; Burghardt, L.; Kovach, K.; Willis, C.G. Germination, Postgermination Adaptation, and Species Ecological Ranges. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **2010**, *41*, 293–319. [\[CrossRef\]](#)
60. Arana, M.V.; Gonzalez-Polo, M.; Martinez-Meier, A.; Gallo, L.A.; Benech-Arnold, R.L.; Sánchez, R.A.; Batlla, D. Seed Dormancy Responses to Temperature Relate to Nothofagus Species Distribution and Determine Temporal Patterns of Germination across Altitudes in Patagonia. *New Phytol.* **2016**, *209*, 507–520. [\[CrossRef\]](#)
61. Fernández-Pascual, E.; Jiménez-Alfaro, B.; Caujapé-Castells, J.; Jaén-Molina, R.; Díaz, T.E. A Local Dormancy Cline Is Related to the Seed Maturation Environment, Population Genetic Composition and Climate. *Ann. Bot.* **2013**, *112*, 937–945. [\[CrossRef\]](#)
62. Campbell, B.D.; Mitchell, N.D.; Field, T.R.O. Climate Profiles of Temperate C3 and Subtropical C4 Species in New Zealand Pastures. *New Zeal. J. Agric. Res.* **1999**, *42*, 223–233. [\[CrossRef\]](#)
63. Mollard, F.P.O.; Striker, G.G.; Ploschuk, E.L.; Insausti, P. Subtle Topographical Differences along a Floodplain Promote Different Plant Strategies among *Paspalum dilatatum* Subspecies and Populations. *Austral Ecol.* **2010**, *35*, 189–196. [\[CrossRef\]](#)
64. Cruz, P.; Lezana, L.; Durante, M.; Jaurena, M.; Figari, M.; Bittencourt, L.; Theau, J.-P.; Massa, E.; Viegas, J.; Ferreira de Quadros, F.L. A Functional Classification of 63 Common Poaceae in the “Campos” Grasslands of South America. *Ecol. Austral* **2019**, *29*, 239–248. [\[CrossRef\]](#)
65. Ferreira, J.L.; Gwinner, R.; Ferreira, L.M.; Ferronato, J.; Leite, L.G.; Ferreira, K.G.G.; Silva, J.C.R.L.; dos Santos, L.P.; Silva, A.W.T. Understanding the Extent of Phenotypic Variability in Accessions of *Paspalum urvillei* Steud. From the USDA NPGS. *Iheringia. Ser. Bot.* **2020**, *75*, e2020006. [\[CrossRef\]](#)
66. Rua, G.H.; Gróttola, M.C. Growth Form Models within the Genus *Paspalum* L. (Poaceae, Paniceae). *Flora* **1997**, *192*, 65–80. [\[CrossRef\]](#)
67. Glison, N.; Viegas, L.; Cornaglia, P.; Gutiérrez, L.; Speranza, P.R. Variability in Germination Behaviour of *Paspalum dilatatum* Poir. Seeds Is Genotype Dependent. *Grass Forage Sci.* **2015**, *70*, 144–153. [\[CrossRef\]](#)
68. Glison, N.; Viegas, L.; Speranza, P.R. Differential Incidence of the Lemma on Seed Germination among Different *Paspalum dilatatum* Genotypes. *J. Seed Sci.* **2017**, *39*, 133–141. [\[CrossRef\]](#)
69. Souza-Chies, T.; Cavalli-Molina, S. Variability in Seed Production and Germination in *Paspalum*-Dilatata Group (Gramineae). *Rev. Bras. Biol.* **1995**, *55*, 127–139.

70. Johnston, M.; Miller, J. Investigations into Techniques for the Germination of *Paspalum dilatatum*. *Proc. Int. Seed Test. Assoc.* **1964**, *29*, 145–148.
71. Schrauf, G.E.; Cornaglia, P.S.; Deregibus, V.A.; Rissola, M.G. Improvement in Germination Behaviour of *Paspalum dilatatum* Poir. Seeds under Different Pre-conditioning Treatments. *New Zeal. J. Agric. Res.* **1995**, *38*, 501–509. [\[CrossRef\]](#)
72. Batlla, D.; Benech-Arnold, R.L. Predicting Changes in Dormancy Level in Natural Seed Soil Banks. *Plant Mol. Biol.* **2010**, *73*, 3–13. [\[CrossRef\]](#)
73. Pons, T.L. Breaking of Seed Dormancy by Nitrate as a Gap Detection Mechanism. *Ann. Bot.* **1989**, *63*, 139–143. [\[CrossRef\]](#)
74. Dirnböck, T.; Dullinger, S. Habitat Distribution Models, Spatial Autocorrelation, Functional Traits and Dispersal Capacity of Alpine Plant Species. *J. Veg. Sci.* **2004**, *15*, 77–84. [\[CrossRef\]](#)
75. Ernst, W.H.O.; Veenendaal, E.M.; Kebakile, M.M. Possibilities for Dispersal in Annual and Perennial Grasses in a Savanna in Botswana. *Vegetatio* **1992**, *102*, 1–11. [\[CrossRef\]](#)
76. Chen, S.; Poschlod, P.; Antonelli, A.; Liu, U.; Dickie, J.B. Trade-off between Seed Dispersal in Space and Time. *Ecol. Lett.* **2020**, *23*, 1635–1642. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
77. Valls, J.F.M.; Boldrini, L.; Longhi-Wagner, H.M.; Miotto, S.T.S. O Patrimônio Florístico Dos Campos: Potencialidades de Uso e a Conservação de Seus Recursos Genéticos. In *Campos Sulinos—Conservação e uso sustentável da biodiversidade*; Pillar, V.P., Müller, S.C., Castilhos, Z.M.S., Jacques, A.V.A., Eds.; MMA: Brasília, Brazil, 2009; pp. 141–156.
78. Fenner, M.; Thompson, K. *The Ecology of Seeds*; CABI: Cambridge, UK, 2005; p. 432. ISBN 9780851994321.
79. Duermeyer, L.; Khodapanahi, E.; Yan, D.; Krapp, A.; Rothstein, S.J.; Nambara, E. Regulation of Seed Dormancy and Germination by Nitrate. *Seed Sci. Res.* **2018**, *28*, 150–157. [\[CrossRef\]](#)
80. Steyn, C.; Greve, M.; Robertson, M.P.; Kalwij, J.M.; le Roux, P.C. Alien Plant Species That Invade High Elevations Are Generalists: Support for the Directional Ecological Filtering Hypothesis. *J. Veg. Sci.* **2017**, *28*, 337–346. [\[CrossRef\]](#)
81. Randall, R.P. *A Global Compendium of Weeds*, 2nd ed.; Department of Agriculture and Food Western Australia: Perth, Australia, 2012; p. 905. ISBN 9780646578781.
82. Jeffries, M.D.; Gannon, T.W.; Yelverton, F.H. Herbicide Inputs and Mowing Affect Vaseygrass (*Paspalum urvillei*) Control. *Weed Technol.* **2017**, *31*, 120–129. [\[CrossRef\]](#)
83. Brändle, M.; Stadler, J.; Klotz, S.; Brandl, R. Distributional Range Size of Weedy Plant Species Is Correlated to Germination Patterns. *Ecology* **2003**, *84*, 136–144. [\[CrossRef\]](#)
84. Denelle, P.; Violle, C.; Munoz, F. DivGrass Consortium Generalist Plants Are More Competitive and More Functionally Similar to Each Other than Specialist Plants: Insights from Network Analyses. *J. Biogeogr.* **2020**, *47*, 1922–1933. [\[CrossRef\]](#)
85. Debieu, M.; Tang, C.; Stich, B.; Sikosek, T.; Effgen, S.; Josephs, E.; Schmitt, J.; Nordborg, M.; Koornneef, M.; de Meaux, J. Co-Variation between Seed Dormancy, Growth Rate and Flowering Time Changes with Latitude in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e61075. [\[CrossRef\]](#)
86. Cochrane, A.; Yates, C.J.; Hoyle, G.L.; Nicotra, A.B. Will Among-Population Variation in Seed Traits Improve the Chance of Species Persistence under Climate Change? *Glob. Ecol. Biogeogr.* **2015**, *24*, 12–24. [\[CrossRef\]](#)
87. Simons, A.M.; Johnston, M.O. Environmental and Genetic Sources of Diversification in the Timing of Seed Germination: Implications for the Evolution of Bet Hedging. *Evolution* **2006**, *60*, 2280–2292. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
88. Masters, R.A.; Mislevy, P.; Moser, L.E.; Rivas-Pantoja, F. Stand Establishment. In *Warm-season (C4) grasses*; Moser, L.E., Burson, B.L., Sollenberger, L.E., Eds.; American Society of Agronomy: Madison, WI, USA, 2004; pp. 145–177.
89. Glison, N.; Batlla, D.; González Barrios, P.; Viegas, L.; Saldanha, S.; Musacchio, E.M.; Rush, P.; Speranza, P.R. Modelling Seedling Emergence in *Paspalum* Species Using Environmental Data from Field Experiments. *Grass Forage Sci.* **2021**, *76*, 363–377. [\[CrossRef\]](#)
90. Jurado, E.; Flores, J. Is Seed Dormancy under Environmental Control or Bound to Plant Traits? *J. Veg. Sci.* **2005**, *16*, 559–564. [\[CrossRef\]](#)
91. Ludewig, K.; Zelle, B.; Eckstein, R.L.; Mosner, E.; Otte, A.; Donath, T.W. Differential Effects of Reduced Water Potential on the Germination of Floodplain Grassland Species Indicative of Wet and Dry Habitats. *Seed Sci. Res.* **2014**, *24*, 49–61. [\[CrossRef\]](#)
92. Fang, X.W.; Zhang, J.J.; Xu, D.H.; Pang, J.; Gao, T.P.; Zhang, C.H.; Li, F.M.; Turner, N.C. Seed Germination of *Caragana* Species from Different Regions Is Strongly Driven by Environmental Cues and Not Phylogenetic Signals. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 1–11. [\[CrossRef\]](#)
93. Thiers, B. Index Herbariorum: A Global Directory of Public Herbaria and Associated Staff. Available online: <http://sweetgum.nybg.org/ih/> (accessed on 2 March 2020).
94. Acevedo de Vargas, R. Contribución al Conocimiento del Género *Paspalum* en Chile. *Boletín Del Mus. Nac. Hist. Nat.* **1944**, *21*, 121–134.
95. Nicora, E.G. Gramineae. In *Flora Patagónica*; Correa, M.N., Ed.; Colección Científica del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria: Buenos Aires, Argentina, 1978; Volume 3.
96. Burson, B.L. Cytogenetics of *Paspalum urvillei* × *P. intermedium* and *P. dilatatum* × *P. paniculatum* Hybrids. *Crop. Sci.* **1979**, *19*, 534–538. [\[CrossRef\]](#)
97. Burson, B.L. Cytology and Reproductive Behavior of Hybrids between *Paspalum urvillei* and Two Hexaploid *P. dilatatum* Biotypes. *Genome* **1992**, *35*, 1002–1006. [\[CrossRef\]](#)
98. Birch, C.P.D.; Oom, S.P.; Beecham, J.A. Rectangular and Hexagonal Grids Used for Observation, Experiment and Simulation in Ecology. *Ecol. Modell.* **2007**, *206*, 347–359. [\[CrossRef\]](#)

99. QGIS Development Team. QGIS Geographic Information System. Available online: <https://qgis.org/es/site/> (accessed on 10 March 2020).
100. Legendre, P.; Legendre, L.F.J. *Numerical Ecology*, 2nd ed.; Elsevier Science: Amsterdam, The Netherlands, 1998; p. 853.
101. Barbosa, A.M.; Real, R.; Vargas, J.M. Use of Coarse-Resolution Models of Species' Distributions to Guide Local Conservation Inferences. *Conserv. Biol.* **2010**, *24*, 1378–1387. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
102. Coelho, L.; Romero, D.; Queirolo, D.; Guerrero, J.C. Understanding Factors Affecting the Distribution of the Maned Wolf (*Chrysocyon brachyurus*) in South America: Spatial Dynamics and Environmental Drivers. *Mamm. Biol.* **2018**, *92*, 54–61. [\[CrossRef\]](#)
103. Romero, D.; Olivero, J.; Real, R.; Guerrero, J.C. Applying Fuzzy Logic to Assess the Biogeographical Risk of Dengue in South America. *Parasit. Vectors* **2019**, *12*, 428. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
104. Chamorro, D.; Real, R.; Muñoz, A.-R. Fuzzy Sets Allow Gaging the Extent and Rate of Species Range Shift Due to Climate Change. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 16272. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
105. Barbosa, A.M. FuzzySim: Applying Fuzzy Logic to Binary Similarity Indices in Ecology. *Methods Ecol. Evol.* **2015**, *6*, 853–858. [\[CrossRef\]](#)
106. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available online: <https://www.r-project.org/> (accessed on 2 June 2020).
107. Benjamini, Y.; Hochberg, Y. Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *J. R. Stat. Soc. Ser. B* **1995**, *57*, 289–300. [\[CrossRef\]](#)
108. Burnham, K.P.; Anderson, D.R. *Model Selection and Multimodel Inference. A Practical Information-Theoretic Approach*, 2nd ed.; Springer: New York, NY, USA, 2002; p. 488. ISBN 978-0-387-95364-9.
109. Lumley, T. Analysis of Complex Survey Samples. *J. Stat. Softw.* **2004**, *9*, 1–19. [\[CrossRef\]](#)
110. Montgomery, D.C.; Peck, E.A. *Introduction to Linear Regression Analysis*, 2nd ed.; Wiley-Interscience: New York, NY, USA, 1992; p. 544. ISBN 978-0471533870.
111. Barbosa, M.A.; Real, R.; Muñoz, A.-R.; Brown, J.A. New Measures for Assessing Model Equilibrium and Prediction Mismatch in Species Distribution Models. *Divers. Distrib.* **2013**, *19*, 1333–1338. [\[CrossRef\]](#)
112. Allouche, O.; Tsoar, A.; Kadmon, R. Assessing the Accuracy of Species Distribution Models: Prevalence, Kappa and the True Skill Statistic (TSS). *J. Appl. Ecol.* **2006**, *43*, 1223–1232. [\[CrossRef\]](#)
113. Liu, C.; White, M.; Newell, G. Measuring and Comparing the Accuracy of Species Distribution Models with Presence-Absence Data. *Ecography* **2011**, *34*, 232–243. [\[CrossRef\]](#)
114. Fielding, A.H.; Bell, J.F. A Review of Methods for the Assessment of Prediction Errors in Conservation Presence/Absence Models. *Environ. Conserv.* **1997**, *24*, 38–49. [\[CrossRef\]](#)
115. Hopkinson, J.M.; English, B.H. Influence of Storage Conditions on Survival and Sowing Value of Seed of Tropical Pasture Grasses. 1. Longevity. *Trop. Grasslands* **2005**, *39*, 129–139.
116. Hilhorst, H.W.M. A Critical Update on Seed Dormancy. I. Primary Dormancy. *Seed Sci. Res.* **1995**, *5*, 61–73. [\[CrossRef\]](#)
117. Maeda, J.; Pereira, M.; Medina, P. Seed Dormancy and Storage of *Paspalum notatum* Flugge. *Rev. Bras. Sementes* **1997**, *19*, 164–170.
118. Goodchild, N.A.; Walker, M.G. A Method of Measuring Seed Germination in Physiological Studies. *Ann. Bot.* **1971**, *35*, 615–621. [\[CrossRef\]](#)
119. Bates, D.; Mächler, M.; Bolker, B.; Walker, S. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *J. Stat. Softw.* **2015**, *67*, 1–48. [\[CrossRef\]](#)
120. Lê, S.; Josse, J.; Husson, F. FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. *J. Stat. Softw.* **2008**, *25*, 1–18. [\[CrossRef\]](#)
121. Mevik, B.-H.; Wehrens, R.; Liland, K.H. Pls: Partial Least Squares and Principal Component Regression. R package version 2.7-3. Available online: <https://CRAN.R-project.org/package=pls> (accessed on 20 June 2020).
122. Mehmood, T.; Liland, K.H.; Snipen, L.; Sæbo, S. A Review of Variable Selection Methods in Partial Least Squares Regression. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **2012**, *118*, 62–69. [\[CrossRef\]](#)
123. Danielson, J.J.; Gesch, D.B. Global Multi-Resolution Terrain Elevation Data 2010 (GMTED2010): U.S. Geological Survey Open-File Report 2011-1073. Available online: https://www.usgs.gov/core-science-systems/eros/coastal-changes-and-impacts/gmted2010/qt-science_support_page_related_con=0#qt-science_support_page_related_con (accessed on 10 March 2020).
124. Karger, D.N.; Conrad, O.; Böhrner, J.; Kawohl, T.; Kreft, H.; Soria-Auza, R.W.; Zimmermann, N.E.; Linder, H.P.; Kessler, M. Data from: Climatologies at High Resolution for the Earth's Land Surface Areas. Available online: <https://datadryad.org/stash/dataset/doi:10.5061/dryad.kd1d4> (accessed on 10 March 2020). [\[CrossRef\]](#)
125. United States Geological Survey HydroShed. Hydrological Data and Maps Based on Shuttle Elevation Derivatives at Multiple Scales. Available online: <https://www.hydrosheds.org/page/hydrorivers> (accessed on 20 April 2020).
126. Natural Earth Data. North American Cartographic Information Society. Available online: <https://www.naturalearthdata.com/downloads/> (accessed on 1 April 2020).
127. Buchhorn, M.; Smets, B.; Bertels, L.; Lesiv, M.; Tsendbazar, N.-E.; Masiliunas, D.; Linlin, L.; Herold, M.; Fritz, S. Data Set of: Copernicus Global Land Service: Land Cover 100m: Collection 3: Epoch 2015: Globe (Version V3.0.1). Available online: <https://zenodo.org/record/3939038#ZAG22XZByUk> (accessed on 15 April 2020).

128. Gridded Population of the World (GPW), V11. Socioeconomic Data and Applications Center (SEDAC). A Data Center in NASA's Earth Observing System Data and Information System (EOSDIS). Available online: <https://sedac.ciesin.columbia.edu/data/set/gpw-v4-data-quality-indicators-rev11/data-download#close> (accessed on 25 March 2020).
129. Hosmer, D.W.; Lemeshow, S. *Applied Logistic Regression*, 2nd ed.; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, 2000; p. 392. ISBN 9780471722144.

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

5. ANÁLISIS DE QTL PARA LA DORMICIÓN DE SEMILLAS EN UNA POBLACIÓN DE LÍNEAS RECOMBINANTES DE *PASPALUM* DEL GRUPO DILATATA

Nicolás Glison, Eliana Monteverde, Pablo R. Speranza

Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Uruguay

5.1. RESUMEN

Una de las limitantes para la adopción productiva de gramíneas estivales perennes, como *Paspalum dilatatum*, es la emergencia poco uniforme y lenta explicada en parte por la dormición de semillas. *Paspalum dilatatum* es apomíctica ($2n = 5x = 50$), pero en el grupo Dilatata existen especies sexuales autógamas ($2n = 4x = 40$) altamente emparentadas que pueden formar híbridos fértiles en diferentes combinaciones y mejorarse por métodos convencionales. En este trabajo, se realizó un análisis de QTL para la dormición con una población de 147 líneas recombinantes F6 obtenidas a partir de un cruzamiento entre dos especies sexuales contrastantes para esta característica (*P. flavescens* y *P. plurinerve*). Las semillas de plantas F6:7 de cada línea y los parentales se cosecharon en dos momentos en un ensayo de campo con tres bloques completos aleatorizados. Se anotó la germinación parcial (GP) luego de 14 días a 15-25 °C y la final tras siete días adicionales a 20-30 °C (GF). Se observó variabilidad y segregación transgresiva para las dos variables. La población fue genotipada por genotipado por secuenciación y se construyó un mapa genético con 1068 marcadores SNP en 24 grupos de ligamiento. Se detectó un QTL de alto efecto para GP (LOD = 14) y otro para GF (LOD = 7) en diferentes grupos de ligamiento. Hubo otros QTL significativos con menor efecto para ambas variables. Se construyó una variable aditiva que contenga GP y GF, con la cual se comprobó que no hay efectos epistáticos entre los QTL. La identificación de estos QTL muestra que en esta población existe más de un locus con efecto importante sobre la dormición, que la característica es altamente heredable y que la combinación de diferentes fuentes de germoplasma tetraploide tiene un alto potencial para establecer programas de mejoramiento convencional en *P. dilatatum*.

5.2. INTRODUCCIÓN

Entre las principales limitantes para una adopción más amplia de gramíneas estivales perennes, se encuentra la alta percepción de riesgo de los productores de obtener una cobertura del suelo deficiente durante el establecimiento (McCormick et al., 2009). Las semillas de los cultivares de estas especies presentan dormición de semillas, que es la causa de una emergencia de plántulas baja, lenta y muy dependiente de los factores ambientales (Glison et al., 2021, Benech-Arnold et al., 2000, Hsu y Nelson, 1986). La dormición de semillas es una característica cuantitativa, heredable y de carácter poblacional, fuertemente modulada por factores ambientales (Mitchell et al., 2017, Bentsink y Koornneef, 2011, Foley, 2001), que puede ser importante para la adaptación local y la distribución geográfica de las poblaciones silvestres (Glison et al., 2023, Jiménez-Alfaro et al., 2016). Los cultivares de las gramíneas perennes estivales presentan poca o nula diferenciación en la dormición con respecto a sus relativos silvestres por presentar escasos avances en la domesticación (Gepts, 2004, Adkins et al., 2002). Resulta necesario entender la herencia de esta característica en estas especies para lograr obtener cultivares con mejor implantación. Sin embargo, a pesar de ser considerada como un problema a superar (Kimura et al., 2015), la dormición de semillas no parece estar entre las prioridades en los programas de mejoramiento de gramíneas estivales perennes (Pereira et al., 2018).

La expresión de la dormición está regulada genéticamente por varios loci cuantitativos (QTL), y cada uno suele explicar un efecto fenotípico relativamente pequeño. Mediante métodos de mapeo de QTL, se han detectado y localizado genes relacionados con la dormición de semillas en distintas especies modelo como *Arabidopsis* y cultivos como cebada, trigo, sorgo y arroz (Cantoro et al., 2016, Castro et al., 2010, Kulwal et al., 2010, Li et al., 2004, Alonso-Blanco et al., 2003). Los QTL de dormición detectados se encuentran distribuidos en diferentes ubicaciones dentro del genoma y muchos segregan de forma independiente. Se ha logrado asociar marcadores moleculares con alelos que aumentan o disminuyen la dormición, lo que posibilita el mejoramiento asistido por marcadores en cereales para aumentar la tolerancia al brotado precosecha (Rodríguez et al., 2015, Kulwal et al., 2010). En gramíneas

perennes estivales, se deben hallar alelos que reduzcan la dormición para mejorar la implantación, pero también es necesario entender los mecanismos de la herencia de esta característica.

Para realizar un mapeo de QTL, se requiere una población experimental segregante con parentales diferentes para alguna característica o un conjunto diverso de genotipos para realizar mapeos asociativos, marcadores moleculares informativos distribuidos por todo el genoma, un mapa de ligamiento genético y un procedimiento de genotipado masivo (Alonso-Blanco et al., 2006). Dado el interés de domesticar especies de gramíneas estivales perennes, se ha acumulado información de marcadores moleculares y se lograron mapas genéticos para *Panicum virgatum* L. y *Setaria* spp., lo que ha posibilitado el análisis de QTL para diversas características (Hu et al., 2018, Dong et al., 2015, Serba et al., 2015, Qie et al., 2014). Sin embargo, son escasos los análisis de QTL donde la dormición de semillas, o variables relativas a la germinación, fueron las características estudiadas. Por otra parte, algunas especies como *P. virgatum* presentan limitantes para generar una población de mapeo de líneas endocriadas recombinantes, las cuales son una ventaja por sobre otros tipos de poblaciones de mapeo, ya que se obtienen genotipos inmortalizados que se pueden conservar en el tiempo. *Panicum virgatum* tiene reproducción alogámica con autoincompatibilidad y genomas poliploides altamente heterocigotas con herencia polisómica (Sandhu et al., 2015, Martínez-Reyna y Vogel, 2002). Los análisis de QTL en *P. virgatum* están limitados en su inferencia porque han usado poblaciones de mapeo de hermanos completos o poblaciones pseudo-F2 (Poudel et al., 2019, Lowry et al., 2015). En cambio, las líneas endocriadas recombinantes pueden ser una herramienta muy útil para entender mejor los procesos que explican la dormición de semillas y la forma en cómo se hereda.

Paspalum dilatatum Poir. es una gramínea estival perenne, nativa de la región de Campos (SE de América del Sur), y considerada desde inicios del siglo XX como una de las especies más adecuadas para ocupar un lugar en las pasturas perennes sembradas de climas templado-cálidos (Star y Brooking, 2006). Presenta una alta producción de forraje de calidad en verano y otoño, y está adaptada a ambientes templados, ya que

su follaje persiste luego de heladas y tolera otros estreses frecuentes como déficit hídricos e inundaciones (Tejera et al., 2016, Venuto et al., 2003, Campbell et al., 1999, Loreti y Oesterheld, 1996, Pearson y Shah, 1981). Sin embargo, la adopción productiva de *P. dilatatum* ha sido muy limitada por la baja producción de semillas y dificultades de implantación. Las semillas de *P. dilatatum* presentan dormición de semillas, que requieren una temperatura alternante alta (20/30 °C) y presencia de luz o nitrato para germinar. La dormición se expresa en mayor medida si las temperaturas son inferiores, si el agua disponible no es suficiente o si no están presentes los factores que quiebran la dormición, como la alternancia de temperaturas, el nitrato y la luz (Glison et al., 2015, Cornaglia et al., 2005, Schrauf et al., 1995, Johnston y Miller, 1964). La variedad más difundida, *P. dilatatum* var. *dilatatum* (Rosso et al., 2022), presenta reproducción apomíctica (Bashaw y Forbes, 1958). Esto ha limitado el avance en el mejoramiento por métodos tradicionales. Aunque hubo intentos de incrementar la variabilidad con métodos de hibridación, mutagénesis y transgénesis (Giordano et al., 2014, Vaio et al., 2007, Burson y Tischler, 1993, Burton y Jackson, 1962), ninguno de los nueve cultivares liberados de *P. dilatatum* (Acuña et al., 2019) ha logrado superar las principales limitantes para su adopción.

La variedad *P. dilatatum* var. *dilatatum* forma parte de un conjunto de especies alopoliploides de *Paspalum* estrechamente emparentadas, que coexisten en la misma región, conocido como el grupo Dilatata (Vaio et al., 2019). Entre estas, hay cinco especies sexuales tetraploides, las cuales muestran diferencias genéticas y morfológicas evidentes (Rosso et al., 2022). Las características forrajeras de las especies sexuales de *Paspalum* del grupo Dilatata son similares o de menor calidad que las de *P. dilatatum* var. *dilatatum* (Venuto et al., 2003), pero presentan ventajas en las semillas, como una menor incidencia de *Claviceps* y una mayor producción de semillas viables (Speranza et al., 2017, Schrauf et al., 2003). Las especies sexuales referidas son mayormente autógamas y no existe flujo génico entre estas; por tanto, cada una puede ser considerada como un acervo genético diferente (Speranza, 2009). Sin embargo, hay evidencia citogenética y genética de un origen común (Vaio et al., 2019, Speranza y Malosetti, 2007) y se pueden obtener híbridos fértiles con herencia

disómica luego de un cruzamiento interespecífico (Monteverde et al., 2022, Caponio y Quarin, 1990). Las características genéticas de las especies sexuales de *Paspalum* del grupo Dilatata, que son autógamos, se pueden aprovechar para mejoramientos de materiales tetraploides (Monteverde et al., 2022) y brindan facilidades para alcanzar líneas endocriadas recombinantes. Además, las tecnologías de genotipado por secuencia (GBS) hacen posible la incorporación rápida de herramientas moleculares en especies silvestres, sin requerir información previa sobre la organización genómica (Kim et al., 2016, Zhang et al., 2016, Elshire et al., 2011). Ambos hechos pueden posicionar a las especies sexuales de *Paspalum* del grupo Dilatata como modelos genéticos para gramíneas estivales perennes.

Dos de estas especies, *P. flavescens* (Roseng., Arrill. e Izag.) Speranza y G. H. Rua (antes: *P. dilatatum* subsp. *flavescens*) y *P. plurinerve* Quarin, Valls y V. C. Rosso (antes: *P. dilatatum* biotipo «Virasoro») (Rosso et al., 2022) son candidatas para el objetivo de obtener un cultígeno de *Paspalum* para la producción de forraje, dado que son las que muestran características similares a la variedad apomíctica más difundida. Estas dos especies pueden generar híbridos recombinantes vigorosos, con herencia disómica y con alto potencial de segregación transgresiva (Monteverde et al., 2022). Además, presentan diferencias notorias en la dormición de semillas, la cual es mayor en *P. flavescens* con respecto a *P. plurinerve* (Glison et al., 2023, 2017, 2015). En este trabajo, se hizo el fenotipado de la dormición de semillas para una población de líneas endocriadas recombinantes obtenida a partir de una cruce entre líneas homocigotas de *P. flavescens* y *P. plurinerve*. Con esta información, se realizó un análisis para detectar y localizar QTL en un mapa genético, construido con la misma población, para conocer las regiones donde puede haber genes relevantes que determinen el nivel de dormición de semillas en especies de gramíneas estivales perennes.

5.3. MATERIALES Y MÉTODOS

5.3.1. Genotipos parentales y obtención de población de mapeo

La población de líneas endocriadas recombinantes (RIL) se generó a partir de un cruzamiento entre una línea de *P. flavescens* recolectada en Maldonado, Uruguay (34°

47° 34' S, 55° 23' 3" O) y una de *P. plurinerve* recolectada en Corrientes (Argentina) (28° 2' 29" S, 56° 1' 33" O), descrito por Speranza y Malosetti (2007). Se usaron semillas de una planta F1 validada para producir una población F2 (~ 430 plantas) y cada generación posterior se obtuvo por el método de descendencia de una sola semilla (Sleper y Poehlman, 2006) hasta lograr las RIL (generación F6). Las plantas de diferentes generaciones y líneas crecieron en macetas individuales dentro de invernáculo hasta lograr 176 RIL. Durante los inviernos, las plantas crecieron dentro de una cámara con control de la temperatura ($> 20^{\circ}\text{C}$) y del fotoperíodo (con lámparas de halógeno y sodio de alta presión para alcanzar 15 horas de luz diarias) para acelerar el ciclo de crecimiento y floración, y cosechar semillas a contraestación.

5.3.2. Ensayo a campo

Se realizó un ensayo a campo con un diseño de bloques completos aleatorizados con tres repeticiones. El ensayo se instaló en setiembre de 2019 en el predio de Facultad de Agronomía (Montevideo, Uruguay) (34° 50' 13" S, 56° 13' 23" O, composición del suelo: 30 % arcilla, 50 % limo, 20 % arena, 2,2 % materia orgánica). Cada bloque consistió en 180 parcelas de 1 m lineal, arregladas en 10 surcos separados entre sí por 0,9 m con 18 parcelas cada uno (~ 146 m² por bloque). Cada parcela se conformó con tres plantas F6:7 de una RIL o de un parental, separadas entre sí por 30 cm. Hubo dos parcelas para cada parental dentro de cada bloque. Todas las plantas del ensayo crecieron dentro del invernáculo y fueron trasplantadas al campo. La superficie de toda el área ocupada por el experimento fue cubierta con un cobertor de suelos negro que permite el intercambio gaseoso y de agua, pero ayuda a minimizar la emergencia de malezas en un sitio donde pueden emerger naturalmente *P. dilatatum* y *P. flavescens*.

Las semillas fueron cosechadas en dos momentos: enero (verano) y abril (otoño) de 2020. Se cosecharon las tres plantas de cada parcela de forma masal por trilla manual. La floración fue asincrónica a través de todo el experimento y completar la cosecha de todo el ensayo tomó alrededor de dos semanas en cada momento de cosecha. Las semillas cosechadas de cada parcela fueron guardadas en sobres de papel y almacenadas por una semana en un lugar seco a temperatura de cuarto. Luego, se colocaron dentro de bolsas selladas herméticamente con gel de sílice hasta que las

semillas se usen en los experimentos de germinación. De esta forma, se logra que retengan la dormición primaria (Hopkinson y English, 2005).

5.3.3. Ensayos de germinación

Para cada momento de cosecha, se llevó a cabo un experimento de germinación. Se muestrearon tres réplicas de entre treinta a cincuenta semillas por parcela y cada réplica se colocó en una placa de Petri sobre dos hojas de papel de filtro humedecidas con 5 mL de agua destilada. Los germinadores se sometieron a dos períodos de germinación consecutivos con temperaturas diferentes controladas con cámaras de germinación. El primer período consistió en catorce días con alternancia de temperaturas de 15/25 °C (12 h oscuridad/12 h luz), condiciones que son restrictivas para la germinación de estas especies (Glison et al., 2023, Schrauf et al., 1995). Luego, los germinadores pasaron a 20/30 °C por siete días adicionales, que son temperaturas óptimas para la germinación. Las placas de Petri fueron envueltas en *nylon film* para evitar la pérdida de humedad, y se añadió más agua destilada cuando fue requerido.

Se contó el número de semillas germinadas luego de finalizado cada período de germinación. La proporción de germinación parcial (GP) se estimó como el número de semillas germinadas luego de los catorce días en 15/25 °C dividido el número de semillas viables, y la proporción de germinación final (GF) como el número de semillas germinadas totales luego de los dos períodos dividido las viables. La viabilidad de las semillas que no germinaron al finalizar los 21 días del ensayo se estimó al evaluar la apariencia del embrión luego de un corte transversal de las semillas. El número de semillas viables se estimó como la suma del total de semillas germinadas más las positivas al test de viabilidad.

5.3.4. Análisis del fenotipado de germinación

Para estimar el efecto de los genotipos y de los momentos de cosecha, se hicieron análisis de varianza para GP y GF con modelos mixtos con los datos de las dos cosechas. Los análisis se realizaron con la función *lmer* del paquete «lme4» en el software *R* (Bates et al., 2015). Las variables GP y GF presentan distribución binomial, por lo que fueron transformadas previo a los análisis por Logit ($\text{Logit}(y) = \text{Log}_{10}[y / (1$

- y)). El genotipo, el momento de cosecha y la interacción genotipo $\times$ cosecha fueron efectos fijos, mientras que las réplicas (bloques) y el efecto del arreglo espacial (surcos y parcelas) fueron los efectos aleatorios. La significancia de cada efecto fijo se obtuvo con el test del cociente de verosimilitud (LRT, por sus siglas en inglés). Se analizó si hubo diferencias entre los parentales, entre las RIL y entre momentos de cosecha por medio de contrastes ortogonales con correcciones de Bonferroni para comparaciones múltiples ($\alpha = 0,05$) con funciones del paquete «emmeans» (Lenth, 2020).

Para estimar los componentes de la varianza y la heredabilidad de cada variable de germinación, se generaron modelos con todos los efectos aleatorios, lo que incluye el genotipo, el momento de cosecha y la interacción genotipo $\times$ cosecha. La significancia de cada efecto aleatorio se obtuvo con el test LRT. Se estimó la heredabilidad en sentido amplio según Holland et al. (2010) como $H^2 = V_G / [V_G + (V_{G \times C} / c) + (V_R / rc)]$, donde V_G es la varianza por genotipo, $V_{G \times C}$ es la varianza de la interacción G $\times$ C, y V_R , la varianza residual que incluye la de los bloques, surcos, parcelas y los residuales, mientras que c es el número de cosechas ($c = 2$) y r es el número de réplicas ($r = 3$).

5.3.5. Genotipado de la población, obtención de SNP y construcción del mapa genético

Se cortó y liofilizó un trozo de 5 cm de la parte media de la hoja expandida más joven del tallo principal de cada planta del ensayo a campo. Las muestras fueron enviadas al DNA Sequencing Facility, del Centro Biológico de la Universidad de Wiconsin (Madison), para la extracción de ADN, el testeo de enzimas de restricción, la construcción de la biblioteca y la secuenciación del ADN. Se escogió la enzima ApeKI, dado su rendimiento de alta calidad y su uso común en secuenciación *de novo*.

Los resultados de la secuenciación del ADN fueron analizados con el procedimiento UNEAK implementado en TASSEL 3.0 (Glaubitz et al., 2014), que no necesita de una secuencia de referencia. Se eligieron los valores por defecto de los parámetros del procedimiento UNEAK. La tasa de asignación de alelo se definió como la proporción de muestras que fueron cubiertas por al menos un fragmento. Los SNP asignados

fueron filtrados al 80 % de completitud, < 5 % de frecuencia de alelos minoritarios o raros y < 3 % de heterocigosis.

Se compararon por pares los genotipos y se eliminó uno de los individuos de cada par cuando más del 97 % de los marcadores SNP fueron idénticos. La segregación de marcadores fue evaluada por la bondad de ajuste a la tasa de segregación mendeliana esperada con un test de chi-cuadrado y la corrección por Bonferroni para testeo múltiple ($\alpha = 0,05$). La construcción del mapa de ligamiento fue realizada con el paquete «ASMap» de R (Taylor y Butler, 2017), con un p -valor fijado de 10^{-11} para el umbral de agrupamiento de marcadores con una fracción de recombinación máxima de 0,35. Las frecuencias de recombinación fueron convertidas a distancia de mapa (en cm) con la función *Kosambi*. El mapa de ligamiento final fue dibujado con la función *plot.map* del paquete «R/qtl» de R (Broman et al., 2003).

5.3.6. Análisis de QTL

Se realizó un análisis de QTL con el mapa de ligamiento obtenido mediante el mapeo por intervalos del paquete «R/qtl». Para realizar el mapeo de intervalos, se usó la función *Haley-Knott* y funciones no paramétricas. Se calculó el umbral de significancia para el logaritmo de probabilidades (LOD) con un test de 1000 permutaciones ($\alpha = 0,05$).

Se generó una variable aditiva que contenga a GP y GF, que pondera a la germinación en las condiciones de 15/25 °C (GP) sobre la que ocurrió en el segundo período de germinación con condiciones óptimas (20/30 °C). El índice de germinabilidad se estimó con la formulación de Goodchild y Walker (1971) de la tasa de germinación de Timson (1965):

$$\text{Índice de germinabilidad} = \sum_i^t G_i \times (t - j),$$

donde G_i es la proporción de germinadas para el período de germinación i , t es el número total de períodos de germinación ($t = 2$) y $j = i - 1$. En síntesis, con esta ecuación se pondera la germinación obtenida en 15/25 °C, dado que el índice de germinabilidad = $2 \times GP + (GF - GP)$, con un máximo valor posible igual a dos.

Se usó el índice de germinabilidad para estudiar posibles efectos epistáticos entre los QTL encontrados para las variables de germinación GP y GF. Se ajustó un modelo de regresión para múltiples QTL y la significancia de cada término se estimó por un ANAVA secuencial con la suma de cuadrados de tipo III. También, se compararon todas las posibles combinaciones entre los genotipos de los QTL encontrados por medio de una prueba *t* por pares con la corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples.

5.4. RESULTADOS

5.4.1. Análisis del fenotipado de la germinación

La población de RIL presentó una variación continua para todas las variables. Se registró una distribución sesgada hacia valores bajos para la germinación parcial (GP), mientras que, para la germinación final (GF), el sesgo fue hacia valores altos (figura 1a y b). La correlación entre GP y GF no fue tan alta ($r = 0,72$), dado que entre los genotipos que mostraron bajo GP, hubo un subconjunto que alcanzó un alto GF durante el segundo período de germinación, pero otros genotipos no alcanzaron el 60 % de germinación (figura 1c). Hubo diferencias significativas entre los parentales para GP y GF: *P. flavescens* mostró valores menores que *P. plurinerve* ($P < 0,001$). Algunas RIL mostraron mayor GP que *P. plurinerve* ($P < 0,0001$), pero no hubo líneas recombinantes que presentaran menor GF que *P. flavescens*. No hubo efecto del momento de cosecha para GF, pero sí para la GP ($P < 0,05$), aunque la diferencia fue muy baja (GP promedio de verano = 0,080, GP promedio de otoño = 0,074). El efecto del genotipo tiene resultó la mayor fracción de la variabilidad total y resultó ser el efecto más importante. Esto se refleja en las altas heredabilidades que mostraron las dos variables de germinación (tabla 1). La interacción genotipo $\times$ cosecha fue significativa, tanto como factor fijo o aleatorio (tabla 1), pero su efecto fue muy

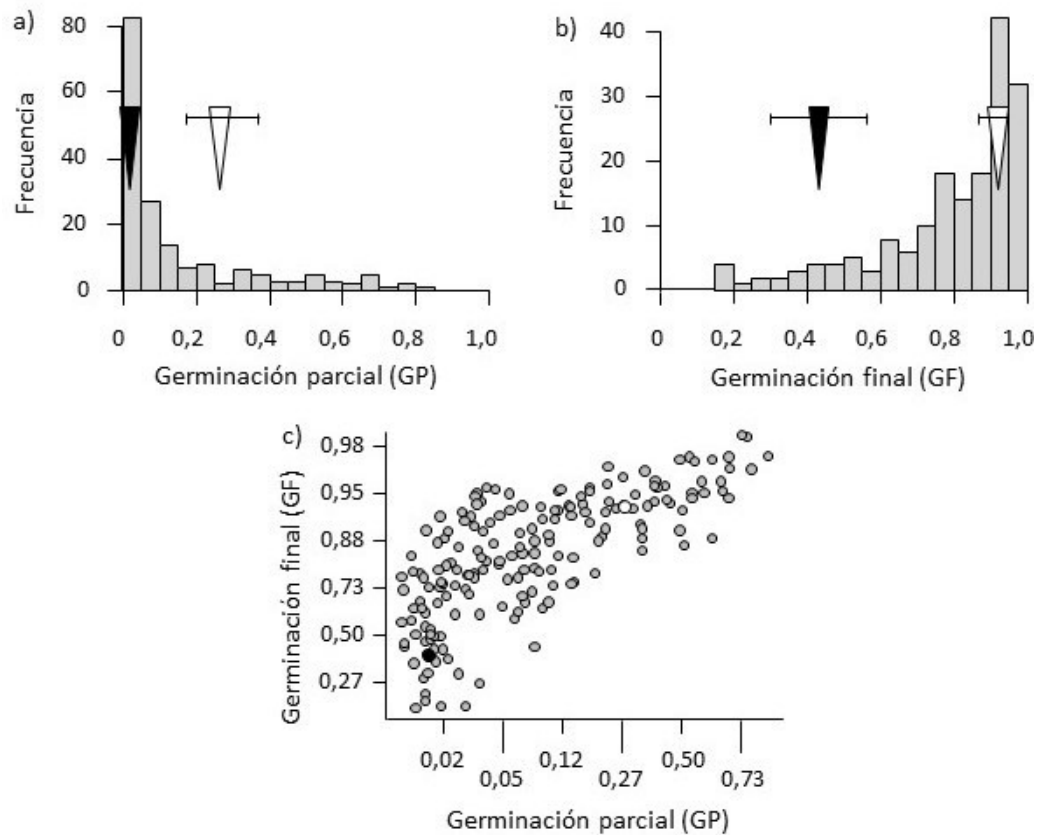


Figura 1: histogramas con la frecuencia de la población RIL para: a) la germinación parcial (GP) y b) la germinación final (GF). Las cuñas indican el valor promedio de los parentales: cuña negra = *P. flavescentis*, cuña blanca = *P. plurinerve*. Las líneas horizontales marcan el intervalo de confianza al 95 %. c) Gráfica con las medias ajustadas para GP y GF en escala Logit de las 176 RIL (círculos grises), de *P. flavescentis* (círculo negro) y de *P. plurinerve* (círculo blanco). Se incluyen los resultados de las dos cosechas.

pequeño. Sólo cinco RIL mostraron diferencias significativas para la variable GP entre cosechas, mientras que otras siete fueron diferentes entre cosechas para la variable GF ($P < 0,01$). Por esta razón, se muestran los resultados con ambas cosechas combinadas (figura 1).

5.4.2. Construcción del mapa genético

Se construyó un mapa genético para la población de líneas recombinantes derivada de la hibridación entre *P. flavescentis* y *P. plurinerve*. Entre las 176 RIL usadas en el

Tabla 1. Varianza estimada para cada factor del modelo, la partición de la varianza total y la heredabilidad en sentido amplio (H^2) para la germinación parcial (GP) y la germinación final (GF), ambos en escala Logit. GxC = interacción genotipo x cosecha

Variable de germinación		Genotipo	Cosecha	GxC	Bloque	Surco	Parcela	Residual	H^2
Logit (GP)	Varianza (% total)	2,488*** (62,5 %)	0,002 (0,1 %)	0,159*** (4,0 %)	0,084* (2,1 %)	0,160*** (4,0 %)	0,017*** (0,4 %)	1,072 (26,9 %)	0,878
Logit (GF)	Varianza (% total)	1,447*** (40,6 %)	0 (0 %)	0,284*** (8,0 %)	0,039 (1,1 %)	0,208*** (5,8 %)	0,013* (0,4 %)	1,569 (44,1 %)	0,740
Número de grupos		178	2	356	3	30	18		

Los asteriscos muestran nivel de significancia: *** < 0,001, ** < 0,01, * < 0,05

ensayo, se verificó que hubo 29 que mostraron los mismos alelos en un muy alto número de marcadores SNP. Estos genotipos idénticos fueron descartados, por lo que la construcción del mapa genético y el análisis de QTL se realizó con las 147 RIL restantes. Se lograron obtener 1068 SNP validados, los cuales en total abarcan 3413 cm, y se agruparon en 24 grupos de ligamiento (GL1-GL24, figura 2). Hubo grupos de ligamiento muy grandes, como GL17 (526 cm, 194 SNP), GL9 (370 cm, 84 SNP) y GL13 (299 cm, 114 SNP), mientras que otros no superaron los 40 cm y 15 SNP (GL8, GL10, GL21, GL22 y GL24).

5.4.3. Localización de QTL para la germinación/dormición de semillas

Se detectaron dos QTL ($LOD > 4,1$) para la germinación en 15/25 °C (GP, figura 2) en ambas cosechas (figura supl. 1a y c). El QTL en el GL1 (*qGP-1*) explica el 28,6 % de la variabilidad fenotípica observada y un efecto aditivo positivo cuando los dos alelos de *P. plurinerve* están presentes (tabla 2). El QTL en el GL20 (*qGP-20*) resultó con menor poder explicativo sobre GP, pero el efecto aditivo positivo se logra en genotipos que tienen alelos de *P. flavesceus* en este locus (tabla 2). Otros dos QTL fueron detectados, los mismos en ambas cosechas, para la germinación final (GF, figura 2, figura supl. 1b y d). El QTL del GL13 (*qGF-13*) mostró un buen poder explicativo del fenotipo (16,6 %) y otro en el GL24 (*qGF-24*) presentó menor efecto sobre el carácter (tabla 2). Ambos QTL para GF presentan un efecto aditivo positivo

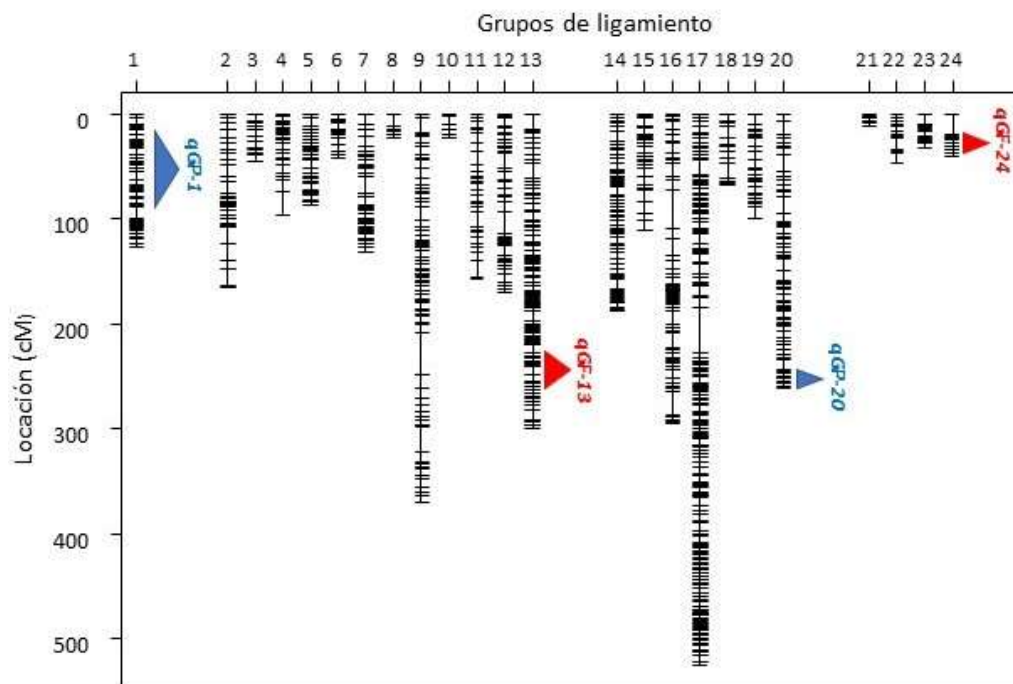


Figura 2: mapa genético con los 24 grupos de ligamiento y los 1068 marcadores SNP. A la izquierda del grupo de ligamiento que corresponde, se señala en azul la localización de los QTL para la germinación parcial (*qGP-1* y *qGP-20*); en rojo, los QTL para la germinación final (*qGF-13* y *qGF-24*). El ancho de los triángulos refleja el tramo aproximado donde el QTL resultó significativo.

Tabla 2: descripción de los QTL detectados para la germinación parcial (GP) y la germinación final (GF). Se destaca la localización en el mapa, el marcador SNP asociado, el efecto aditivo y la variabilidad fenotípica explicada por el QTL (VFE).

Fenotipo	QTL	Grupo ligamiento	Posición (cM)	Marcador SNP	LOD (pico)	Efecto aditivo ¹	VFE
GP	<i>qGP-1</i>	1	49	TP63417	14,3	+ 0,120 (BB)	28,6 %
	<i>qGP-20</i>	20	259	TP36059	5,16	- 0,065 (AA)	5,5 %
GF	<i>qGF-13</i>	13	234	TP82262	6,76	+ 0,066 (BB)	16,6 %
	<i>qGF-24</i>	24	14	TP46971	4,24	+ 0,038 (BB)	6,9 %

1. El efecto aditivo se reporta en valores de proporción de germinación y en referencia a lo obtenido para *P. flavescentis*. Entre paréntesis, se muestra el genotipo para cada locus que incrementa la germinabilidad. AA = alelos de *P. flavescentis*; BB = alelos de *P. plurinerve*

cuando los dos alelos que corresponden a *P. plurinerve* están presentes (tabla 2). Los cuatro QTL aparecen tanto en la cosecha de verano como en la de otoño, lo que remarca el escaso efecto de la interacción genotipo $\times$ ambiente (figura supl. 1).

5.4.4. Efectos epistáticos y comparación entre genotipos de los QTL

Para el índice de germinabilidad, la distribución de las líneas recombinantes resultó similar a la una distribución normal. Hubo diferencias entre los parentales donde las medias ajustadas del índice fueron 0,46 y 1,23 para *P. flavescens* y *P. plurinerve*, respectivamente, la partición de la varianza resultó similar a lo obtenido para las otras variables y la heredabilidad fue de 0,94 (figura supl. 2, tabla supl. 1). Los QTL detectados para el índice de germinabilidad coinciden en localización, en el sentido del efecto aditivo, y resultaron similares en el porcentaje de la varianza fenotípica explicada con los QTL altamente significativos detectados para GP y GF (*qGP-1* y *qGF-13*) (figura supl. 3, tablas supl. 2).

Tabla 3: resultados del modelo de regresión para múltiples QTL para el índice de germinabilidad como variable y los QTL de mayor significancia (*qGP-1* y *qGF-13*) como regresoras. VFE: variabilidad fenotípica explicada

	df	SC tipo III	LOD	VFE	F	Chi-cuadrado	P-valor
<i>qGP-1</i>	6	3,29	9,71	21,4 %	8,17	0	$1,43 \times 10^{-7}$ ***
<i>qGF-13</i>	6	2,08	6,48	13,5 %	5,17	0	$7,88 \times 10^{-5}$ ***
<i>qGP-1</i> $\times$ <i>qGF-13</i>	4	0,018	0,06	0,12 %	0,07	0,99	0,99

Los asteriscos muestran nivel de significancia: *** < 0,001; ** < 0,01; * < 0,05

Dado lo anterior, el índice de germinabilidad resultó una variable útil para estimar efectos epistáticos y comparaciones entre los genotipos posibles con los dos QTL mencionados. Ambos QTL resultaron significativos y cada uno explica una apreciable fracción de la variación fenotípica, mientras que no se registró interacción significativa entre los QTL (tabla 3). Los genotipos con alelos de *P. plurinerve* en *qGP-1* o en *qGF-13* mostraron mayor IGA con respecto a los genotipos que en estos QTL tienen alelos de *P. flavescens*. Cuando los alelos de *P. plurinerve* están presentes en ambos QTL,

estos genotipos mostraron mayor índice de germinabilidad que aquellos que presentaron alelos de *P. flavescens* en alguno de los dos QTL (tabla 4).

Tabla 4: p-valores de las pruebas t para cada una de las comparaciones entre genotipos posibles para los QTL *qGP-1/qGF-13*. El análisis se hizo con el índice de germinabilidad. Los A corresponden a alelos de *P. flavescens* y los B a alelos de *P. plurinerve*.

	AA/AA	AA/BB	BB/AA
AA/BB	0,077	-	-
BB/AA	0,001	1	-
BB/BB	$1,3 \times 10^{-12}$	$8,0 \times 10^{-5}$	$2,5 \times 10^{-5}$

N.º de genotipos: AA/AA = 38, AA/BB = 19, BB/AA = 30, BB/BB = 29

5.5. DISCUSIÓN

5.5.1. QTL para la dormición de semillas en *Paspalum*

El método de fenotipado en nuestro trabajo incluyó la evaluación de la germinación en dos temperaturas consecutivas, primero 15/25 °C y luego 20/30 °C, diferente a lo usual en especies de cereales donde se usa una sola temperatura (Cantoro et al., 2016, Castro et al., 2010, Takeuchi et al., 2003). La elección estuvo basada en resultados previos de germinación de las dos especies parentales en las dos temperaturas usadas (Glison et al., 2023). Además, se puede detectar mayor número de QTL para la dormición al ampliar la cantidad de condiciones de germinación (Basnet et al., 2015, Kazmi et al., 2012, Zhang et al., 2005). Se esperaba una muy baja germinación de gran parte de la población luego de dos semanas a 15/25 °C, y pasarlas a una condición de 20/30 °C posibilitó que se expresara la variabilidad existente entre las que no germinaron en 15/25 °C. Hay que tener en cuenta que, al haber hecho el fenotipado en dos temperaturas consecutivas, el período de 15/25 °C pudo haber servido como una leve estratificación. En este trabajo, la germinación final de *P. flavescens* y *P. plurinerve* fue mayor que en ensayos anteriores donde se usó sólo 20/30 °C (Glison et al., 2023). En definitiva, y gracias a lo hecho, la población de líneas recombinantes se pudo separar en tres grupos: i) líneas con muy baja dormición que lograron germinar a 15/25 °C, ii) líneas con un nivel medio de dormición que no germinaron a 15/25 °C,

pero sí luego a 20/30 °C, y, por último, iii) líneas con alta dormición en las que sólo germinó una fracción de las semillas a 20/30 °C.

Se encontraron cuatro QTL para la población de líneas endocriadas recombinantes de *Paspalum*: dos QTL asociados a la germinación a 15/25 °C (*qGP-1* y *qGP20*) y otros dos a la germinación final (*qGF-13* y *qGF-24*). El hecho de que no hubiera coincidencias en localización entre los primeros y los segundos puede sugerir que las bases genéticas de la dormición a 15/25 °C son diferentes a las de 20/30 °C. Existen evidencias que pueden operar mecanismos de dormición y controles genéticos diferentes a distintas temperaturas (Li et al., 2013). También, los QTL de la germinación final pueden haber detectado loci que responden a la potencial estratificación de las semillas durante el período a 15/25 °C (Leon et al., 2006, Penfield et al., 2005). En todo caso, y sin duda, los cuatro QTL corresponden a la dormición de semillas, que se puede entender como el conjunto de los distintos controles sobre la germinación.

El número de QTL asociados a dormición de semillas detectados es menor en comparación con lo obtenido para otras especies modelo como *Arabidopsis*, sorgo, cebada y trigo (Cantoro et al., 2016, Kumar et al., 2015, Castro et al., 2010, Alonso-Blanco et al., 2003). Pero son razonables si se consideran poblaciones de mapeo de gramíneas estivales perennes, como los tres QTL detectados para la germinabilidad de una población de líneas endocriadas recombinantes generada a partir del cruzamiento interespecífico entre *Setaria italica* (L.) P. Beauv. con *S. viridis* (L.) P. Beauv. (Qie et al., 2014). Una posible explicación del bajo número de QTL detectados es que los loci *qGP-1* y *qGF-13* tienen efectos muy importantes sobre la dormición de semillas. Estos loci pueden estar solapando a otros de menor efecto. Hace falta más información para confirmar si hay más QTL asociados a dormición, entre otras cosas: probar condiciones de germinación diferentes, aumentar el número de líneas endocriadas recombinantes de la población o generar otras poblaciones a partir de nuevos cruzamientos interespecíficos.

Los cuatro QTL descubiertos se localizaron en grupos de ligamiento diferentes. Por tanto, es muy probable que tengan segregación independiente. De todas formas, esto

debe ser confirmado con nuevos análisis con un mapa genético más robusto basado en un mapa de referencia. Es usual que, en poblaciones de mapeo de otras especies, los QTL para la dormición de semillas se localicen en diferentes cromosomas (Kumar et al., 2015, Alonso-Blanco et al., 2003). Por otra parte, no encontramos efectos epistáticos significativos entre los QTL con mayor efecto fenotípico, y el mayor componente genético fue el aditivo. A pesar de que han sido reportados efectos de dominancia y epistasia asociados a la dormición de semillas, el componente aditivo suele ser el más importante (Cantoro et al., 2016, Bentsink et al., 2010). Además, no se registró un efecto importante del momento de cosecha sobre la dormición, lo que explica la alta heredabilidad de los fenotipos evaluados. El componente genético heredable suele ser más importante que el ambiental para definir el nivel de dormición (Wagmann et al., 2012, Goggin et al., 2010, Meyer y Allen, 1999). Evidencias anteriores sobre la dormición de semillas en especies de *Paspalum* del grupo Dilatata han mostrado que el efecto materno suele ser leve en estas especies (Glison et al., 2023, 2015).

Se logró registrar segregación transgresiva en la población, donde algunas líneas recombinantes mostraron menor dormición de semillas que el parental con menor dormición (*P. plurinerve*). Típicamente, la segregación transgresiva sucede de la recombinación de parentales donde hay alelos favorables dentro del parental que es el de menor desempeño en la característica en estudio, o viceversa (Rieseberg et al., 2003). En un trabajo previo, con progenies F3 derivadas del híbrido F1 que dio inicio a la población de mapeo del presente trabajo, se estimó que la probabilidad de encontrar segregación transgresiva en familias F_{∞} es mayor a 0,7 para características como biomasa, número de tallos fértiles y largo de lámina (Monteverde et al., 2022). Nuestros resultados confirman lo anterior para el caso de la dormición de semillas. Por tanto, deben existir loci donde los alelos de *P. flavescens* incrementan la germinabilidad más que los alelos de *P. plurinerve*. En nuestro trabajo, se logró detectar que el locus *qGP-20* cumple con lo anterior, pero no debe ser el único. Los resultados indican que es posible alcanzar cultígenos de *P. dilatatum* con baja

dormición por medio de programas de largo plazo de mejoramiento de autógamias con las especies sexuales del grupo Dilatata.

5.5.2. Consideraciones finales

Los resultados de nuestro trabajo demuestran que la dormición de semillas en las especies de *Paspalum* del grupo Dilatata es determinado por al menos cuatro QTL. El siguiente paso será identificar los genes que explican los efectos de estos loci. A pesar de no tener tanta información genética de especies de *Paspalum*, los genes que comandan la dormición de semillas son lo suficientemente conservados, tal que es posible usar las secuencias consenso de especies modelo para poder detectar los genes y su expresión en especies silvestres (Huarte et al., 2014). Los resultados son suficientes para afirmar que es posible obtener con facilidad cultivares sexuales autógamos de *Paspalum* del grupo Dilatata con baja dormición de semillas. Los cultivares con menor dormición pueden presentar mejores características de emergencia e implantación (Glison et al., 2021). En *Panicum virgatum* y *Paspalum notatum* se lograron cultivares con baja dormición y mejor implantación en tan sólo cuatro generaciones de selección fenotípica (Anderson et al., 2009, Burson et al., 2009). La variabilidad de la dormición de semillas en la población de líneas endocriadas recombinantes fue alta, lo cual demuestra el potencial de una hibridación interespecífica. Esta variabilidad se obtuvo sin explorar la amplia variabilidad dentro de cada especie parental (Sandro et al., 2019) o la variabilidad entre las cinco especies sexuales de *Paspalum* del grupo Dilatata, que también es muy importante (Glison et al., 2023). Todo esto, en suma, brinda una perspectiva promisoriosa para poder superar una de las principales limitantes que presentan estas especies para ser usadas en cultivos.

5.6. ANEXO: FIGURAS Y TABLAS SUPLEMENTARIAS

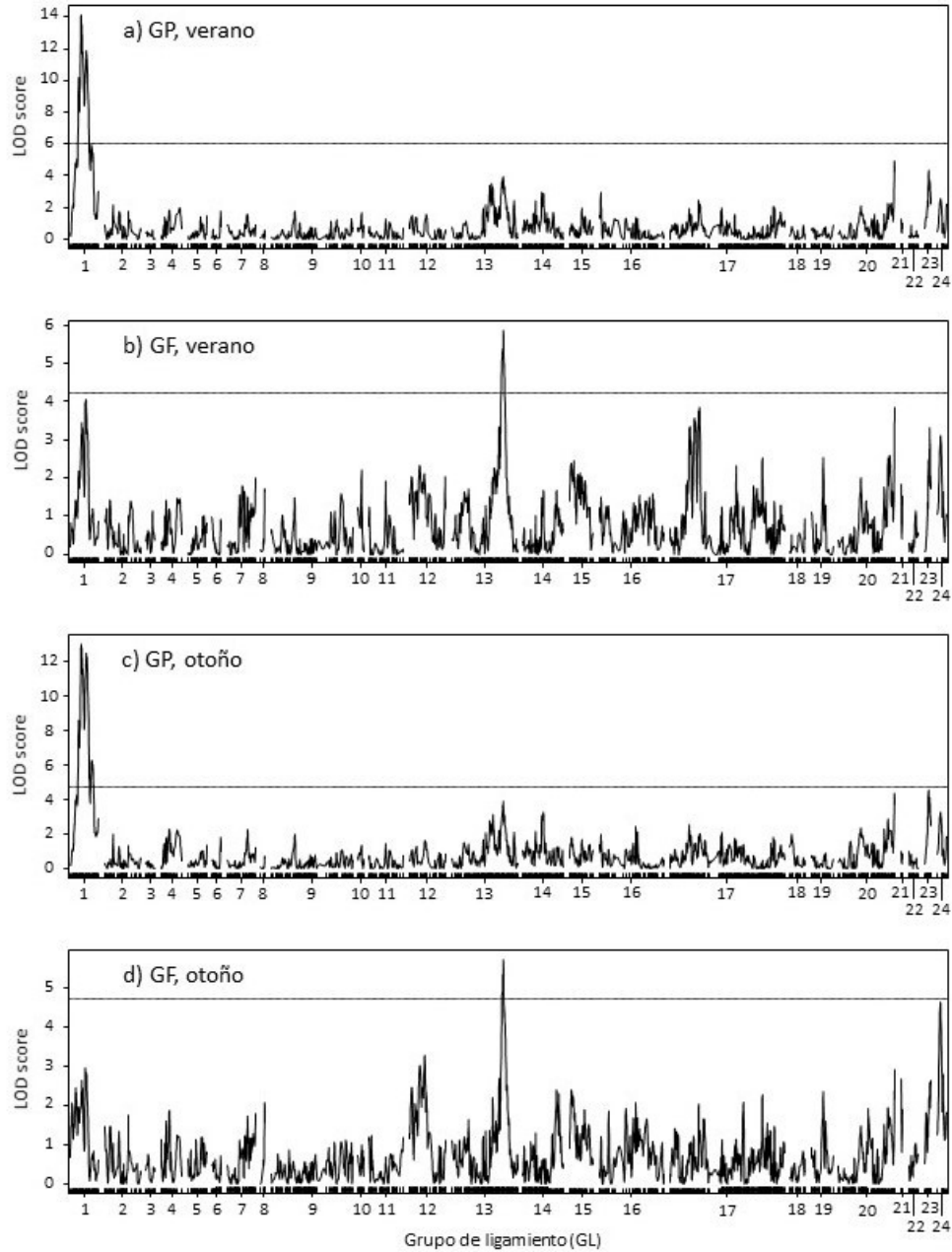


Figura suplementaria 1. Valores de LOD para la variable GP (germinación parcial) de la cosecha de verano (a) y de otoño (c), y para la variable GF (germinación final) de la cosecha de verano (b) y de otoño (d), con respecto al mapa genético generado para la población de líneas recombinantes de *Paspalum* del grupo Dilatata. En el eje x de cada gráfica, se marcan los 24 grupos de ligamiento y los 1068 marcadores SNP.

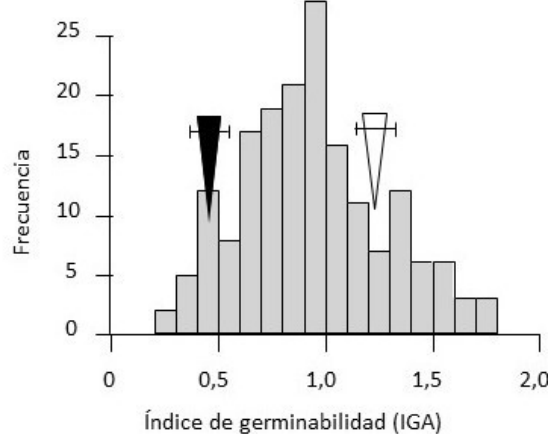


Figura suplementaria 2. Histogramas con la frecuencia de la población de líneas recombinantes de *Paspalum* para el índice de germinabilidad (IGA). Las cuñas en cada gráfica indican el valor promedio de los parentales: cuña negra = *P. flavescens*, cuña blanca = *P. plurinerve*. Las líneas horizontales marcan el intervalo de confianza al 95 %.

Tabla suplementaria 1. Varianza estimada para cada factor del modelo, la partición de la varianza total y la heredabilidad en sentido amplio (H^2) para el índice de germinabilidad (IGA). GxC = interacción genotipo x cosecha.

Variable de germinación		Genotipo	Cosecha	GxC	Bloque	Surco	Parcela	Residual	H^2
IGA	Varianza	0,1073***	0	0,0087***	0	0,0066***	0,0006**	0,0519	0,936
	(% total)	(61,3 %)	(0 %)	(5,0 %)	(0 %)	(3,8 %)	(0,3 %)	(29,6 %)	
N.º de grupos		178	2	356	3	30	18		
Significancia: *** < 0,001, ** < 0,01, * < 0,05									

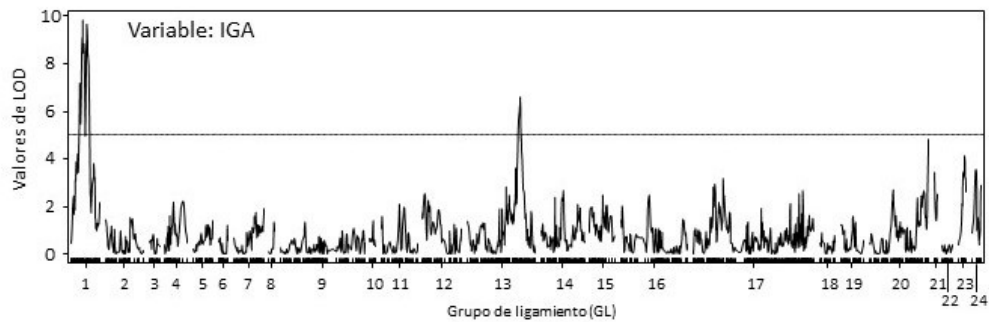


Figura suplementaria 3. Valores de LOD con respecto al mapa genético generado para la población de líneas recombinantes de *Paspalum* del grupo Dilatata para el índice de germinabilidad (IGA). En el eje x de cada gráfica, se marcaron los 24 grupos de ligamiento y los 1068 marcadores SNP.

Tabla suplementaria 2: descripción de los QTL detectados para el índice de germinabilidad (IGA) y con cuál de los QTL descubiertos para las variables GP y GF colocaliza cada uno. Se muestra la localización en el mapa, el marcador SNP asociado, el efecto aditivo y la variabilidad fenotípica explicada por el QTL (VFE).

QTL	Co-localiza con	Grupo ligamiento	Posición (cM)	Marcador SNP	LOD (pico)	Efecto aditivo ¹	VFE (multi)
<i>qIGA-1</i>	<i>qGP-1</i>	1	49	TP63417	8,54	+ 0,140 (BB)	21,3 %
<i>qIGA-13</i>	<i>qGF-13</i>	13	234	TP82262	6,34	+ 0,059 (BB)	13,6 %

1. El efecto aditivo se reporta en valores de proporción de germinación y en referencia a lo obtenido para *P. flavescens*. Entre paréntesis, se muestra el genotipo para cada locus que incrementa la germinabilidad. AA = alelos de *P. flavescens*; BB = alelos de *P. plurinerve*

6. DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES

6.1. PRINCIPALES RESULTADOS Y DISCUSIÓN GENERAL

La dormición de semillas no ha sido una característica que, históricamente, se haya evaluado para seleccionar cultivares. Las especies más usadas para cultivos agrícolas y para pasturas no presentan dificultades para su implantación en casi ningún lugar del mundo. Esta ausencia de dificultades se debe a que presentan una dormición de semillas muy baja que se explica por la domesticación. Sin embargo, los desafíos que presenta la agricultura, como perennializar los sistemas productivos, contar con estrategias de regeneración de zonas degradadas o promover sistemas más agroecológicos, incluyen a menudo la propuesta de incorporar nuevas especies silvestres no domesticadas, muchas de estas nativas y con altos niveles de dormición de semillas. Los trabajos incluidos en esta tesis recorren diversas preguntas alrededor de la expresión fenotípica y la heredabilidad de la dormición de semillas para un conjunto de especies de gramíneas estivales perennes nativas estrechamente relacionadas que resultan de indudable interés para ser mejoradas y adoptadas para la producción de forraje. Cabe destacar que, durante la realización de estos trabajos, el conocimiento sobre el grupo *Dilatata* continuó su acumulación. De este modo, no todas las especies sexuales eran reconocidas como tal al inicio de los trabajos, sino que eran considerados biotipos sexuales de *P. dilatatum*.

6.1.1. Principales resultados

La emergencia de plántulas de los diferentes materiales de *Paspalum* evaluados en el capítulo 3 mostraron una fuerte influencia de la temperatura y el potencial hídrico del suelo. El momento de siembra que llevó a una mayor emergencia de plántulas, tanto con o sin riego, es la primavera temprana. A diferencia de lo esperado, las siembras en primaveras tardías con las temperaturas más altas resultaron en una menor emergencia que en primaveras tempranas, aún bajo un régimen de riego. El modelo optimizado para la proporción de emergencia resultó en que las altas temperaturas (> 20 °C) tienden a reducir la emergencia con respecto a temperaturas más frescas. Esto coincide con los resultados obtenidos en el capítulo 4, donde la estratificación cálida no reduce

la expresión de la dormición mientras que la estratificación fría si lo hace. Por otra parte, registramos diferencias claras en la emergencia de plántulas a campo entre los diferentes materiales (capítulo 3). En particular, se destacan las diferencias que mostraron los dos materiales referenciados como *P. dilatatum* (variedad Chirú y *P. flavescens*, según Rosso et al., 2022), donde *P. dilatatum* var. Chirú mostró mayor y más rápida emergencia que *P. flavescens* en la mayor parte de los escenarios ambientales.

Se registraron diferencias significativas en la dormición de semillas entre las especies sexuales de *Paspalum* del grupo Dilatata (capítulo 4). *Paspalum urvillei* fue la especie que mostró menor dormición de semillas, que le permitió una alta proporción de germinación en un amplio rango de condiciones, donde se destacó su habilidad de germinar en temperaturas muy bajas. Sin embargo, *P. urvillei* mostró muy bajas proporciones de emergencia, sobre todo en situaciones donde no se suministró riego en los ensayos de emergencia (capítulo 3). El factor más relevante que explicó la variabilidad de la dormición de semillas dentro del grupo de líneas sexuales evaluadas fue la especie, aunque fue relevante la varianza entre líneas dentro de especies (capítulo 4). Mientras tanto, el efecto del momento de cosecha no fue significativo sobre la variabilidad de la dormición. Por otra parte, el nivel de dormición de semillas de cada especie, y la amplitud del nicho de germinación que lo anterior permite, fue asociado a comportamientos de hábitat de cada especie. La evaluación de esta característica funcional brindó evidencias que pueden explicar, en parte, la extensión y ubicación de las áreas con alta favorabilidad obtenida en los modelos de distribución de las especies. La baja dormición de semillas de *P. urvillei* le permite mostrar un amplio nicho de germinación, que explica su extendida distribución geográfica asociada a un comportamiento generalista del hábitat. Mientras tanto, las otras especies (*P. dasypleurum*, *P. flavescens*, *P. plurinerve* y *P. vacarianum*) mostraron mayores niveles de dormición de semillas, que expresan nichos de germinación más estrechos, asociados a comportamientos más especialistas del hábitat con áreas de distribución más restringidas y alopátricas. Las especies *P. flavescens*, *P. plurinerve* y *P. vacarianum*, que antes se las identificaban como biotipos sexuales de *P. dilatatum*,

mostraron un patrón de variabilidad de la dormición de semillas que se correlaciona con el nivel de precipitaciones en las épocas más secas y cálidas del año.

La respuesta germinativa entre las especies *P. flavescens* y *P. plurinerve* fue siempre diferente, tanto en los resultados del capítulo 4 como los del capítulo 5. La población de líneas recombinantes endocriadas, obtenidas tras un cruzamiento de estas dos especies, resultó ser diversa genéticamente y mostró una amplia variabilidad fenotípica en la dormición de semillas. Algunas de las líneas evidenciaron fenotipos extremos que demuestran segregación transgresiva (capítulo 5). La varianza genética de las variables de germinación fue significativa, mientras que la varianza ambiental fue muy baja, dando una heredabilidad en sentido amplio de la dormición de semillas muy alta. El análisis de QTL detectó cuatro loci con efecto significativo sobre las variables germinativas. No se registró evidencia de que estos QTL muestren interacción.

6.1.2. Discusión general

El nivel de dormición de semillas que expresa cada genotipo de *Paspalum* tiene una importante influencia en la velocidad y cantidad de plántulas emergidas a campo. En trabajos anteriores, se reportó que *P. dilatatum* var. Chirú muestra una dormición de semillas mucho más baja que apomícticos pentaploides y que *P. flavescens* (Glison et al., 2017, 2015), por lo que los resultados de emergencia obtenidos en el capítulo 3 concuerdan con lo esperado. Sin embargo, *P. urvillei* mostro al mismo tiempo bajo nivel de dormición y baja emergencia de plántulas, lo que discrepa con lo anterior. Una explicación plausible es que las características posgerminativas de *P. urvillei*, como la tasa de crecimiento inicial o la mortalidad de plántulas, sean los «cuellos de botella» para la implantación de esta especie (Donohue et al., 2010). Por otro lado, los resultados de la emergencia de plántulas obtenidos en diferentes momentos del año permiten sugerir que las siembras en fechas tempranas de primavera son las mejores para obtener una mayor implantación. A pesar de ser una especie estival, las siembras de primavera tardía pueden verse afectadas por una mayor expresión de la dormición por las altas temperaturas, y no sólo por una mayor chance de que ocurra un déficit de agua (Cornaglia, 2003). La respuesta aparentemente dual a la temperatura, donde las semillas precisan altas temperaturas para germinar pero las altas temperaturas también

aumentan la expresión de la dormición, es algo esperable y fue reportado para otras especies estivales (Batlla y Benech-Arnold, 2010, Duclos et al., 2014).

La variabilidad en la dormición de semillas dentro el grupo *Dilatata* se refleja de gran manera en las diferencias registradas entre las especies sexuales. Los materiales naturales apomícticos no muestran gran variabilidad en esta característica, excepto la variedad Chirú (Glison et al., 2015). Las diferencias en la dormición de semillas entre las especies sexuales tienen un sentido ecológico y evolutivo, donde las respuestas germinativas mostradas determinan la extensión y ubicación del área de sus distribuciones geográficas. En el caso de las especies más especialistas, con distribuciones restringidas y alopátricas, el nivel de dormición que presenta cada una puede determinar que cada especie sea la más adaptada para el nicho de regeneración que ocurre en su localidad, pero no sean capaces de competir de buena forma en las localidades donde dominan las otras especies (Grubb, 1977, Jiménez-Alfaro et al., 2016). La ausencia de un efecto significativo del momento de cosecha refleja una baja influencia del efecto materno sobre la dormición de semillas. Se han reportado resultados similares en trabajos anteriores con otros genotipos dentro del grupo *Dilatata* (Glison et al., 2017, 2015). La plasticidad de la dormición se puede considerar una característica que pueden presentar las especies en mayor o menor grado que brinda mayor adaptabilidad y está definido genéticamente (Mitchell et al., 2017, Chiang et al., 2011). Es probable que las especies del grupo *Dilatata* no tengan mecanismos genéticos que provoquen mayor expresión de la plasticidad en la dormición de semillas, y que el fenotipo de germinación que evidenciamos esté fuertemente determinado por el genotipo. Además de la variabilidad entre especies, debemos sumar la variabilidad intraespecífica entre poblaciones de la misma especie. Los resultados obtenidos logran demostrar que existe, pero no permiten estimar su magnitud.

Los estudios sobre las especies sexuales del grupo *Dilatata* estuvieron, con frecuencia, vinculados a la posibilidad de incrementar la variabilidad genética de los materiales apomícticos. En la actualidad, se las puede considerar puntos de partida para obtener cultígenos por medio de métodos tradicionales de mejoramiento (Monteverde et al.,

2022). Dado que los problemas de implantación que limitan la adopción de cultivos de *Paspalum* se explican en buena medida por el nivel de dormición de las semillas, y que las especies sexuales del grupo constituyen un panel diverso de genotipos que expresan fenotipos de dormición diferentes, resultaba interesante conocer el mecanismo de herencia de esta característica. La dormición de semillas resultó una característica con alta heredabilidad, lo que se explica en parte por la baja plasticidad del fenotipo evidenciada en estas especies. Al igual que en análisis similares con otras especies (Cantoro et al., 2016, Bentsink et al., 2010), la dormición de las semillas es controlada por varios QTL y no se encontró evidencias de interacciones epistáticas. Esto sugiere que esta característica está controlada por mecanismos genéticos y moleculares aditivos independientes (Bentsink et al., 2010), lo que se traduce en que la expresión de la dormición depende de la sumatoria de alelos favorables o desfavorables en cada QTL detectado. El hecho que haya habido líneas con fenotipos transgresivos se puede explicar que en algún QTL el alelo que expresa menor dormición se encuentre en el padre de mayor dormición. Esto sugiere que la variabilidad potencial de la dormición de semillas que se puede obtener mediante cruzamientos interespecíficos es muchísimo mayor a la existente en la naturaleza, que, de todas formas, es inmenso.

Cabe aclarar que el fenotipado de la dormición realizado en el capítulo 5 es parcial, dado que sólo se analizó la respuesta germinativa de semillas recién cosechadas ante dos condiciones de temperatura. El nivel de dormición de semillas también se puede evidenciar en la respuesta a condiciones que reduzcan la dormición primaria, como el almacenamiento en seco o la estratificación en frío, o a condiciones que impongan la dormición secundaria. En *Arabidopsis*, Cadman et al. (2006) registraron diferencias en el transcriptoma según el estado o nivel de dormición de las semillas (dormición primaria, dormición primaria removida o dormición secundaria). Lo anterior es perfectamente trasladable a las especies de *Paspalum* analizadas en nuestro trabajo, lo cual sugiere que cada uno de estos estados posibles puede estar controlado por un conjunto de genes diferente a los detectados en nuestros análisis que estén ubicados en otros loci.

6.2. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

La dormición de semillas es muy variable entre las especies sexuales de *Paspalum* del grupo Dilatata, dado a que es una característica adaptativa sujeta a selección natural que explica en buena medida la persistencia de las poblaciones en las distribuciones geográficas reportadas. Su alta heredabilidad y la posibilidad de segregación transgresiva apuntan a que es posible obtener cultígenos a partir de estas especies con métodos de mejoramiento tradicional. Estos cultígenos, además de presentar características atractivas para la producción de forraje, deberán mostrar baja dormición que facilite su implantación y, por tanto, su adopción productiva. Para ello, es necesario incorporar métodos de evaluación de la dormición dentro del programa de mejoramiento. En la actualidad, se están desarrollando proyectos donde se evaluará la producción de pasturas que incluyen materiales sexuales de *Paspalum*, entre los que hay algunas líneas que mostraron baja dormición.

Se detectaron los primeros QTL asociados a la dormición de semillas en especies de *Paspalum*. A partir de este resultado, tenemos la chance, en futuros trabajos, de descubrir qué genes hay en esas regiones, si son genes homólogos a los hallados en otras especies que tienen efectos sobre la dormición, y cuáles son sus patrones de transcripción. Además, los diferentes alelos dentro de estas regiones están asociados a marcadores moleculares específicos, lo cual puede facilitar el mejoramiento y la selección del cultígeno.

En definitiva, el presente trabajo, en su conjunto, revela la importancia del estudio de la dormición de semillas con distintos abordajes para colaborar con el objetivo de obtener materiales de la variabilidad natural con mayor chance de ser propagados y reproducidos por semilla. Es deseable que los futuros esfuerzos de evaluación de especies nuevas, nativas o exóticas, incluyan la caracterización de la dormición de semillas, para no escoger materiales que pueden ser muy atractivos por características productivas (producción de granos, producción de forraje, longitud de ciclo), pero que cuya adopción fracase porque su implantación no sea la adecuada por no estar adaptada a los agroecosistemas.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Acuña CA, Martínez EJ, Zilli AL, Brugnoli EA, Espinoza F, Marcón F, Urbani MH, Quarín CL. 2019. Reproductive systems in *Paspalum*: Relevance for germplasm collection and conservation, breeding techniques, and adoption of released cultivars. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1-17. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01377>
- Adkins SW, Bellairs SM, Loch DS. 2002. Seed dormancy mechanisms in warm season grass species. *Euphytica*, 126(1), 13-20. <https://doi.org/10.1023/A:1019623706427>
- Ahmed LQ, Escobar-Gutiérrez AJ. 2022. Unexpected intraspecific variability of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) in response to constant temperature during germination and initial heterotrophic growth. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1-15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.856099>
- Ajala-Luccas D, Ribeiro-Oliveira JP, Duarte Silveira LE, da Silva EAA. 2018. An integrative insight on dormancy alleviation in diaspores of *Urochloa humidicola* (Rendle) Morrone & Zuloaga, a tropical grass with great economic and ecological impact. *Plant Biology*, 20(2), 252-262. <https://doi.org/10.1111/plb.12655>
- Alonso-Blanco C, Bentsink L, Hanhart CJ, Blankestijn-de Vries H, Koornneef M. 2003. Analysis of natural allelic variation at seed dormancy loci of *Arabidopsis thaliana* [En línea]. *Genetics*, 164(2), 711-729. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1462601/> (último acceso: 24 de mayo de 2023)
- Alonso-Blanco C, Koornneef M, van Ooijen JW. 2006. QTL analysis. En: Salinas J., Sanchez-Serrano J. J. (Eds.), *Arabidopsis Protocols*, 2nd Edition. New Jersey: Humana Press (Methods in Molecular Biology, Vol. 323), pp. 79-99. <https://doi.org/10.1385/1-59745-003-0:3>
- Anderson WF, Gates RN, Hanna WW. 2011. Registration of ‘TifQuik’ Bahiagrass. *Journal of Plant Registrations*, 5(2), 147-150. <https://doi.org/10.3198/jpr2010.07.0427crc>

- Anderson WF, Gates RN, Hanna WW, Blount AR, Mislevy P, Evers GW. 2009. Recurrent restricted phenotypic selection for improving stand establishment of bahiagrass. *Crop Science*, 49(4), 1322-1327. <https://doi.org/10.2135/cropsci2008.09.0556>
- Arana MV, González-Polo M, Martínez-Meier A, Gallo LA, Benech-Arnold RL, Sánchez RA, Batlla D. 2016. Seed dormancy responses to temperature relate to *Nothofagus* species distribution and determine temporal patterns of germination across altitudes in Patagonia. *New Phytologist*, 209(2), 507-520. <https://doi.org/10.1111/nph.13606>
- Ashikawa I, Abe F, Nakamura S. 2013. DOG1-like genes in cereals: Investigation of their function by means of ectopic expression in *Arabidopsis*. *Plant Science*, 208, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2013.03.011>
- Auge GA, Blair LK, Burghardt LT, Coughlan J, Edwards B, Leverett LD, Donohue K. 2015. Secondary dormancy dynamics depends on primary dormancy status in *Arabidopsis thaliana*. *Seed Science Research*, 25(2), 230-246. <https://doi.org/10.1017/S0960258514000440>
- Bair NB, Meyer SE, Allen PS. 2006. A hydrothermal after-ripening time model for seed dormancy loss in *Bromus tectorum* L. *Seed Science Research*, 16(1), 17-28. <https://doi.org/10.1079/SSR2005237>
- Bandara RG, Finch J, Walck JL, Hidayati SN, Havens K. 2019. Germination niche breadth and potential response to climate change differ among three North American perennials. *Folia Geobotanica*, 54(1-2), 5-17. <https://doi.org/10.1007/s12224-019-09347-2>
- Barak RS, Lichtenberger TM, Wellman-Houde A, Kramer AT, Larkin DJ. 2018. Cracking the case: Seed traits and phylogeny predict time to germination in prairie restoration species. *Ecology and Evolution*, 8(11), 5551-5562. <https://doi.org/10.1002/ece3.4083>
- Barrero JM, Talbot MJ, White RG, Jacobsen JV, Gubler F. 2009. Anatomical and transcriptomic studies of the coleorhiza reveal the importance of this tissue in regulating dormancy in Barley. *Plant Physiology*, 150(2), 1006-1021. <https://doi.org/10.1104/pp.109.137901>

- Bashaw E, Forbes I. 1958. Chromosome numbers and microsporogenesis in dallisgrass *Paspalum dilatatum* Poir. *Agronomy Journal*, 50(8), 441-445.
<https://www.crops.org/publications/aj/abstracts/50/8/AJ0500080441>
- Baskin CC, Baskin JM. 2001. *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. Amsterdam: Elsevier, p. 666.
http://books.google.com.uy/books?id=uGJL_Ys6wlQC
- Baskin JM, Baskin CC. 2004. A classification system for seed dormancy [En línea]. *Seed Science Research*, 14(1), 1-16. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/231831426_A_classification_system_of_seed_dormancy (último acceso: 24 de mayo de 2023)
- Basnet RK, Duwal A, Tiwari DN, Xiao D, Monakhos S, Bucher J, Visser RGF, Groot SPC, Bonnema G, Maliepaard C. 2015. Quantitative trait locus analysis of seed germination and seedling vigor in *Brassica rapa* reveals QTL hotspots and epistatic interactions. *Frontiers in Plant Science*, 6, 1032.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01032>
- Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S. 2015. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1), 1-48.
<https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>
- Batlla D, Benech-Arnold RL. 2003. A quantitative analysis of dormancy loss dynamics in *Polygonum aviculare* L. seeds: Development of a thermal time model based on changes in seed population thermal parameters. *Seed Science Research*, 13(1), 55-68.
<https://doi.org/10.1079/SSR2002124>
- Batlla D, 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(3), 277-286. <https://doi.org/10.1079/ssr2004177>
- Batlla D, Benech-Arnold RL. 2010. Predicting changes in dormancy level in natural seed soil banks. *Plant Molecular Biology*, 73(1-2), 3-13. <https://doi.org/10.1007/s11103-010-9601-z>

- Batlla D, Benech-Arnold RL. 2015. A framework for the interpretation of temperature effects on dormancy and germination in seed populations showing dormancy. *Seed Science Research*, 25(2), 147-158. <https://doi.org/10.1017/S0960258514000452>
- Batlla D, Grundy A, Dent KC, Clay HA, Finch-Savage WE. 2009. A quantitative analysis of temperature-dependent dormancy changes in *Polygonum aviculare* seeds. *Weed Research*, 49(4), 428-438. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2009.00706.x>
- Beckman JJ, Moser LE, Kubik K, Waller SS. 1993. Big bluestem and switchgrass establishment as influenced by seed priming [En línea]. *Agronomy Journal*, 85(2), 199-202. Disponible en: <http://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1063&context=agronomy&acpub> (último acceso: 24 de mayo de 2023)
- Benech-Arnold RL, Ghera C, Sánchez RA, Insausti P. 1990. Temperature effects on dormancy release and germination rate in *Sorghum halepense* (L.) Pers. seeds: a quantitative analysis. *Weed Research*, 30(2), 81-89. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.1990.tb01690.x>
- Benech-Arnold RL, Giallorenzi MC, Frank J, Rodríguez MV. 1999. Termination of hull-imposed dormancy in developing barley grains is correlated with changes in embryonic ABA levels and sensitivity. *Seed Science Research*, 9(1), 39-47. <https://doi.org/10.1017/S0960258599000045>
- Benech-Arnold RL, Sánchez RA, Forcella F, Kruk BC, Ghera CM. 2000. Environmental control of dormancy in weed seed banks in soil. *Field Crops Research*, 67(2), 105-122. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(00\)00087-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(00)00087-3)
- Bentsink L, Koornneef M. 2011. Identification and characterization of quantitative trait loci that control seed dormancy in *Arabidopsis*. En Kermode AR (Ed.), *Seed Dormancy: Methods and Protocols*. New Jersey: Humana Press (Methods in Molecular Biology, Vol. 773), pp. 165-184. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-231-1_11

- Bentsink L, Hanson J, Hanhart CJ, Blankestijn-de Vries H, Coltrane C, Keizer P, El-Lithy M, Alonso-Blanco C, de Andrés MT, Reymond M, van Eeuwijk F, Smeekens S, Koornneef M. 2010. Natural variation for seed dormancy in *Arabidopsis* is regulated by additive genetic and molecular pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(9), 4264-4269.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1000410107>
- Bentsink L, Jowett J, Hanhart CJ, Koornneef M. 2006. Cloning of DOG1, a quantitative trait locus controlling seed dormancy in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(45), 17042-17047.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0607877103>
- Berti MT, Johnson BL. 2013. Switchgrass establishment as affected by seeding depth and soil type. *Industrial Crops and Products*, 41(1), 289-293.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.04.023>
- Bewley JD, Bradford KJ, Hilhorst HWM, Nonogaki H. 2013. *Seeds. Physiology of development, germination and dormancy*, 3rd edition. New York: Springer. pp. 339.
<https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4693-4>
- Biganzoli F, Zuloaga F. 2015. Análisis de diversidad de la familia Poaceae en la región austral de América del Sur. *Rodriguésia*, 66(2), 337-351.
<https://doi.org/10.1590/2175-7860201566205>
- Bouwmeester H, Karssen C. 1993. Seasonal periodicity in germination of seeds of *Chenopodium album* L. *Annals of Botany*, 72, 463-473.
<https://doi.org/10.1006/anbo.1993.1133>
- Brändle M, Stadler J, Klotz S, Brandl R. 2003. Distributional range size of weedy plant species is correlated to germination patterns. *Ecology*, 84(1), 136-144.
[https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2003\)084\[0136:DRSOWP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2003)084[0136:DRSOWP]2.0.CO;2)
- Broman KW, Wu H, Sen S, Churchill GA. 2003. R/qtl: QTL mapping in experimental crosses. *Bioinformatics*, 19(7), 889-890.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg112>

- Burghardt LT, Metcalf CJE, Wilczek AM, Schmitt J, Donohue K. 2015. Modeling the influence of genetic and environmental variation on the expression of plant life cycles across landscapes. *American Naturalist*, 185(2), 212-227.
<https://doi.org/10.1086/679439>
- Burson BL, Tischler C. 1993. Regeneration and somaclonal variation in apomictic *Paspalum dilatatum* Poir. *Euphytica*, 67(1-2), 71-78.
<https://doi.org/10.1007/BF00022727>
- Burson BL, Tischler CR, Ocumpaugh WR. 2009. Breeding for reduced post-harvest seed dormancy in switchgrass: registration of TEM-LoDorm switchgrass germplasm. *Journal of Plant Registrations*, 3(1), 99-103.
<https://doi.org/10.3198/jpr2008.07.0433crg>
- Burton GW, Jackson JE. 1962. Radiation breeding of apomictic prostrate dallisgrass, *Paspalum dilatatum* var. *pauciciliatum*. *Crop Science*, 2, 495-497.
- Butler TJ, Celen AE, Webb SL, Krstic DB, Interrante SM. 2017. Germination in cool-season forage grasses under a range of temperatures. *Crop Science*, 57(3), 1725-1731. <https://doi.org/10.2135/cropsci2015.10.0647>
- Cadman CSC, Toorop PE, Hilhorst HWM, Finch-Savage WE. 2006. Gene expression profiles of Arabidopsis Cvi seeds during dormancy cycling indicate a common underlying dormancy control mechanism. *The Plant Journal*, 46(5), 805-822.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02738.x>
- Campbell BD, Mitchell ND, Field TRO. 1999. Climate profiles of temperate C3 and subtropical C4 species in New Zealand pastures. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 42(3), 223-233.
<https://doi.org/10.1080/00288233.1999.9513373>
- Cantoro R, Crocco CD, Benech-Arnold RL, Rodríguez MV. 2013. In vitro binding of *Sorghum bicolor* transcription factors ABI4 and ABI5 to a conserved region of a GA 2-OXIDASE promoter: possible role of this interaction in the expression of seed

- dormancy. *Journal of Experimental Botany*, 64(18), 5721-5735.
<https://doi.org/10.1093/jxb/ert347>
- Cantoro R, Fernández LG, Cervigni GDL, Rodríguez MV, Gieco JO, Paniego N, Heinz RA, Benech-Arnold RL. 2016. Seed dormancy QTL identification across a *Sorghum bicolor* segregating population. *Euphytica*, 211(1), 41-56.
<https://doi.org/10.1007/s10681-016-1717-z>
- Caponio I, Quarin C. 1990. Intra- and interspecific hybridization between dallisgrass and vaseygrass. *Crop Science*, 30(2), 362-364.
<https://doi.org/10.2135/cropsci1990.0011183X003000020023x>
- Capstaff NM, Miller AJ. 2018. Improving the yield and nutritional quality of forage crops. *Frontiers in Plant Science*, 9, 535. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00535>
- Carrillo-Barral N, Rodríguez-Gacio, MC, Matilla AJ. 2020. Delay of germination-1 (DOG1): A key to understanding seed dormancy. *Plants*, 9, 480.
<https://doi.org/10.3390/plants9040480>
- Carta A, Probert R, Puglia G, Peruzzi L, Bedini G. 2016. Local climate explains degree of seed dormancy in *Hypericum elodes* L. (Hypericaceae). *Plant Biology*, 18, 76-82.
<https://doi.org/10.1111/plb.12310>
- Casal J, Sánchez R. 1998. Phytochromes and seed germination. *Seed Science Research*, 8(3), 317-329.
<http://journals.cambridge.org/production/action/cjoGetFulltext?fulltextid=2207204>
- Casler MD, Tobias CM, Kaeppler SM, Buell CR, Wang Z-Y, Cao P, Schmutz J, Ronald P. 2011. The Switchgrass Genome: Tools and Strategies. *The Plant Genome Journal*, 4(3), 273-282. <https://doi.org/10.3835/plantgenome2011.10.0026>
- Castillo-Lorenzo E, Finch-Savage WE, Seal CE, Pritchard HW. 2019. Adaptive significance of functional germination traits in crop wild relatives of *Brassica*. *Agricultural and Forest Meteorology*, 264, 343-350.
<https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2018.10.014>

- Castro AJ, Benitez A, Hayes PM, Viega L, Wright L. 2010. Coincident quantitative trait loci effects for dormancy, water sensitivity and malting quality traits in the BCD47xBaronesse barley mapping population. *Crop and Pasture Science*, 61(9), 691-699. <https://doi.org/10.1071/CP10085>
- Çatav ŞS, Küçükakyüz K, Akbaş K, Tavşanoğlu Ç. 2014. Smoke-enhanced seed germination in Mediterranean Lamiaceae. *Seed Science Research*, 24(3), 257-264. <https://doi.org/10.1017/S0960258514000142>
- Cembrowska-Lech D, Kępczyński J. 2016. Gibberellin-like effects of KAR1 on dormancy release of *Avena fatua* caryopses include participation of non-enzymatic antioxidants and cell cycle activation in embryos. *Planta*, 243(2), 531-548. <https://doi.org/10.1007/s00425-015-2422-1>
- Chamorro D, Luna B, Moreno JM. 2018. Local climate controls among-population variation in germination patterns in two *Erica* species across western Iberia. *Seed Science Research*, 28(2), 112-122. <https://doi.org/10.1017/S0960258518000041>
- Chantre GR, Batlla D, Sabbatini MR, Orioli G. 2009. Germination parameterization and development of an after-ripening thermal-time model for primary dormancy release of *Lithospermum arvense* seeds. *Annals of Botany*, 103(8), 1291-1301. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp070>
- Chauhan, B. S., Gill, G., Preston, C. (2006). Influence of environmental factors on seed germination and seedling emergence of rigid ryegrass (*Lolium rigidum*). *Weed Science*, 54(6), 1004-1012. <https://doi.org/10.1614/WS-06-087R.1>
- Chen S, Poschlod P, Antonelli A, Liu U, Dickie JB. 2020. Trade-off between seed dispersal in space and time. *Ecology Letters*, 23(11), 1635-1642. <https://doi.org/10.1111/ele.13595>
- Chiang GCK, Bartsch M, Barua D, Nakabashayi K, Debieu M, Kronholm I, Koornneef M, Soppe WJ, Donohue K, De Meaux J. 2011. DOG1 expression is predicted by the seed-maturation environment and contributes to geographical variation in

- germination in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Ecology*, 20(16), 3336-3349.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05181.x>
- Christensen M, Meyer SE, Allen PS. 1996. A hydrothermal time model of seed after-ripening in *Bromus tectorum* L. *Seed Science Research*, 6(4), 155-164.
<https://doi.org/10.1017/s0960258500003214>
- Cochrane A, Yates CJ, Hoyle GL, Nicotra AB. 2015. Will among-population variation in seed traits improve the chance of species persistence under climate change? *Global Ecology and Biogeography*, 24(1), 12-24. <https://doi.org/10.1111/geb.12234>
- Cook S. 2007. Pasture establishment on old cropping country in southern Queensland. *Tropical Grasslands*, 41(3), 191-199.
- Cornaglia PS, Schrauf GE, Nardi M, Deregibus VA. 2005. Emergence of dallisgrass as affected by soil water availability. *Rangeland Ecology and Management*, 58(1), 35-40. [http://srmjournals.org/doi/abs/10.2111/1551-5028\(2005\)58%3C35:EODAAB%3E2.0.CO;2](http://srmjournals.org/doi/abs/10.2111/1551-5028(2005)58%3C35:EODAAB%3E2.0.CO;2)
- Cornaglia PS. 2003. El pasto miel: características adaptativas. Consideraciones para lograr una implantación exitosa. *Revista Argentina de Producción Animal*, 23(3-4), 143-146.
- Costa CJ, de Araújo RB, Bôas HD da CV. 2011. Tratamentos para a superação de dormência em sementes de *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick. *Pesquisa Agropecuaria Tropical*, 41(4), 519-524. <https://doi.org/10.5216/pat.v41i4.15100>
- Davière JM, de Lucas M, Prat S. 2008. Transcriptional factor interaction: a central step in DELLA function. *Current Opinion in Genetics and Development*, 18(4), 295-303.
<https://doi.org/10.1016/j.gde.2008.05.004>
- Dayrell RLC, Garcia QS, Negreiros D, Baskin CC, Baskin JM, Silveira FAO. 2016. Phylogeny strongly drives seed dormancy and quality in a climatically buffered hotspot for plant endemism. *Annals of Botany*, 119(2), 267-277.
<https://doi.org/10.1093/aob/mcw163>

- De Agostini RT, Abrantes FL, Machado-Neto NB, Custódio CC. 2022. Ethanol and hormones in physiological conditioning on germination and seed dormancy of *Urochloa humidicola* cv. Llanero. *Journal of Seed Science*, 44, e202244022. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v44261411>
- De Waal C, Anderson B, Ellis AG. 2016. Dispersal, dormancy and life-history tradeoffs at the individual, population and species levels in southern African Asteraceae. *New Phytologist*, 210(1), 356-365. <https://doi.org/10.1111/nph.13744>
- Dear BS, Ewing MA. 2008. The search for new pasture plants to achieve more sustainable production systems in southern Australia. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48(4), 387. <https://doi.org/10.1071/EA07105>
- Debieu M, Tang C, Stich B, Sikosek T, Effgen S, Josephs E, Schmitt J, Nordborg M, Koornneef M, de Meaux J. 2013. Co-variation between seed dormancy, growth rate and flowering time changes with latitude in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS ONE*, 8(5), e61075. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061075>
- DeHaan LR, Van Tassel DL, Anderson JA, Asselin SR, Barnes R, Baute, GJ, Cattani DJ, Culman SW, Dorn KM, Hulke BS, Kantar M, Larson S, Marks MD, Miller AJ, Poland J, Ravetta DA, Rude E, Ryan MR, Wyse D, Zhang X. 2016. A pipeline strategy for grain crop domestication. *Crop Science*, 56(3), 917-930. <https://doi.org/10.2135/cropsci2015.06.0356>
- Dekker J, Dekker B, Hilhorst H, Karssen C. 1996. Weedy adaptation in *Setaria* spp. IV. Changes in the germinative capacity of *S. faberii* (Poaceae) embryos with development from anthesis to after abscission. *American Journal of Botany*, 83(8), 979-991. <https://doi.org/10.2307/2445986>
- Deregibus VA, Casal JJ, Jacobo EJ, Gibson D, Kauffman M, Rodríguez AM. 1994. Evidence that heavy grazing may promote the germination of *Lolium multiflorum* seeds via phytochrome-mediated perception of high red/far-red ratios. *Functional Ecology*, 8(4), 536. <https://doi.org/10.2307/2390079>

- Derkx M, Karssen C. 1993. Changing sensitivity to light and nitrate but not to gibberellins regulates seasonal dormancy patterns in *Sisymbrium officinale* seeds. *Plant, Cell and Environment*, 16(5), 469-479. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1993.tb00894.x>
- Derkx M, Karssen C. 1994. Are seasonal dormancy patterns in *Arabidopsis thaliana* regulated by changes in seed sensitivity to light, nitrate and gibberellin? *Annals of Botany*, 73(2), 129-136. <https://doi.org/10.1006/anbo.1994.1015>
- Dong H, Thames S, Liu L, Smith MW, Yan L, Wu Y. 2015. QTL mapping for reproductive maturity in lowland switchgrass populations. *Bioenergy Research*, 8(4), 1925-1937. <https://doi.org/10.1007/s12155-015-9651-9>
- Donohue K, Rubio de Casas R, Burghardt L, Kovach K, Willis CG. 2010. Germination, postgermination adaptation, and species ecological ranges. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 41(1), 293-319. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-102209-144715>
- Donohue K. 2005. Seeds and seasons: Interpreting germination timing in the field. *Seed Science Research*, 15(3), 175-187. <https://doi.org/10.1079/ssr2005208>
- Donohue K. 2009. Completing the cycle: Maternal effects as the missing link in plant life histories. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1520), 1059-1074. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0291>
- Duclos DV, Altobello CO, Taylor AG. 2014. Investigating seed dormancy in switchgrass (*Panicum virgatum* L.): Elucidating the effect of temperature regimes and plant hormones on embryo dormancy. *Industrial Crops and Products*, 58, 148-159. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.04.011>
- Duclos DV, Ray DT, Johnson DJ, Taylor AG. 2013. Investigating seed dormancy in switchgrass (*Panicum virgatum* L.): Understanding the physiology and mechanisms of coat-imposed seed dormancy. *Industrial Crops and Products*, 45, 377-387. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.01.005>

- Duermeyer L, Khodapanahi E, Yan D, Krapp A, Rothstein SJ, Nambara E. 2018. Regulation of seed dormancy and germination by nitrate. *Seed Science Research*, 28(3), 150-157. <https://doi.org/10.1017/S096025851800020X>
- Dürr C, Dickie JB, Yang XY, Pritchard HW. 2015. Ranges of critical temperature and water potential values for the germination of species worldwide: Contribution to a seed trait database. *Agricultural and Forest Meteorology*, 200, 222-232. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2014.09.024>
- Egan MK, Boschma SP, Harden S, Harris CA, Edwards C. 2017. Temperatures for seedling emergence of tropical perennial grasses. *Crop and Pasture Science*, 68(5), 493. <https://doi.org/10.1071/CP17139>
- Ellis RH, Hong TD, Roberts EH. 1986. Quantal response of seed germination in *Brachiaria humidicola*, *Echinochloa turnerana*, *Eragrostis tef* and *Panicum maximum* to photon dose for the low energy reaction and the high irradiance reaction. *Journal of Experimental Botany*, 37(6), 742-753. <https://doi.org/10.1093/jxb/37.6.742>
- Ellison AM. 2001. Interspecific and intraspecific variation in seed size and germination requirements of *Sarracenia* (Sarraceniaceae). *American Journal of Botany*, 88(3), 429-437. <https://doi.org/10.2307/2657107>
- Elshire RJ, Glaubitz JC, Sun Q, Poland JA, Kawamoto K, Buckler ES, Mitchell SE. 2011. A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS ONE*, 6(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019379>
- Fairey DT, Loch DS, Hampton JG, Ferguson JE. 1997. Forage Seed Production: Tropical and Subtropical Species, Volume 2. New York: CABI Publishing, p. 479.
- Fenner M, Thompson K. 2005. *The Ecology of Seeds*. Cambridge: CABI Publishing, pp 432. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511614101>
- Fernández Farnocchia RB, Benech-Arnold RL, Batlla D. 2019. Regulation of seed dormancy by the maternal environment is instrumental for maximizing plant fitness in *Polygonum aviculare*. *Journal of Experimental Botany*, 70(18), 4793-4806. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz269>

- Fernández R, Chantre GR, Renzi JP. 2021. Seed dormancy of *Lolium perenne* L. related to the maternal environment during seed filling. *Seed Science Research*, 31(3), 217-223. <https://doi.org/10.1017/S0960258521000155>
- Fernández-Pascual E, Jiménez-Alfaro B, Caujapé-Castells J, Jaén-Molina R, Díaz TE. 2013. A local dormancy cline is related to the seed maturation environment, population genetic composition and climate. *Annals of Botany*, 112(5), 937-945. <https://doi.org/10.1093/aob/mct154>
- Fernández-Pascual E, Jiménez-Alfaro B, García-Torrico AI, Pérez-García F, Díaz TE. 2012. Germination ecology of the perennial *Centaurea somedanum*, a specialist species of mountain springs. *Seed Science Research*, 22(3), 199-205. <https://doi.org/10.1017/S0960258512000062>
- Finch J, Walck JL, Hidayati SN, Kramer AT, Lason V, Havens K. 2019. Germination niche breadth varies inconsistently among three *Asclepias* congeners along a latitudinal gradient. *Plant Biology*, 21(3), 425-438. <https://doi.org/10.1111/plb.12843>
- Finch-Savage WE, Bassel GW. 2016. Seed vigour and crop establishment: Extending performance beyond adaptation. *Journal of Experimental Botany*, 67(3), 567-591. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv490>
- Finch-Savage WE, Footitt S. 2017. Seed dormancy cycling and the regulation of dormancy mechanisms to time germination in variable field environments. *Journal of Experimental Botany*, 68(4), 843-856. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw477>
- Finch-Savage WE, Leubner-Metzger G. 2006. Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist*, 171(3), 501-523. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01787.x>
- Finkelstein R, Reeves W, Ariizumi T, Steber C. 2008. Molecular aspects of seed dormancy. *Annual Review of Plant Biology*, 59(1), 387-415. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092740>

- Flenniken KS, Fulbright TE. 1987. Effects of temperature, light, and scarification on germination of brownseed *Paspalum* seeds. *Journal of Range Management*, 40(2), 175. <https://doi.org/10.2307/3899215>
- Foley ME. 2001. Seed dormancy: An update on terminology, physiological genetics, and quantitative trait loci regulating germinability. *Weed Science*, 49(3), 305-317. [https://doi.org/10.1614/0043-1745\(2001\)049\[0305:SDAUOT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0043-1745(2001)049[0305:SDAUOT]2.0.CO;2)
- Footitt S, Douterelo-Soler I, Clay H, Finch-Savage WE. 2011. Dormancy cycling in *Arabidopsis* seeds is controlled by seasonally distinct hormone-signaling pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(50), 20236-20241. <https://doi.org/10.1073/pnas.1116325108>
- Footitt S, Huang Z, Clay HA, Mead A, Finch-Savage WE. 2013. Temperature, light and nitrate sensing coordinate *Arabidopsis* seed dormancy cycling, resulting in winter and summer annual phenotypes. *Plant Journal*, 74(6), 1003-1015. <https://doi.org/10.1111/tpj.12186>
- Footitt S, Müller K, Kermode AR, Finch-Savage WE. 2015. Seed dormancy cycling in *Arabidopsis*: Chromatin remodelling and regulation of DOG1 in response to seasonal environmental signals. *Plant Journal*, 81(3), 413-425. <https://doi.org/10.1111/tpj.12735>
- Forcella F, Benech-Arnold RL, Sánchez RA, Ghersa CM. 2000. Modeling seedling emergence. *Field Crops Research*, 67(2), 123-139. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(00\)00088-5](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(00)00088-5)
- Fuller DQ, Allaby R. 2009. Seed dispersal and crop domestication: Shattering, germination and seasonality in evolution under cultivation. En Østergaard L. (Ed.), *Annual Plant Reviews Volume 38: Fruit Development and Seed Dispersal (Chapter 7)*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc., pp. 238-295. <https://doi.org/10.1002/9781444314557.ch7>

- Gallart M, Verdú AMC, Mas MT. 2008. Dormancy breaking in *Digitaria sanguinalis* seeds: The role of the caryopsis covering structures. *Seed Science and Technology*, 36(2), 259-270. <https://doi.org/10.15258/sst.2008.36.2.01>
- García JA. 1995. Gramilla y praderas. Serie Técnica INIA, Uruguay, n.º 67, p. 14.
- Gepts P. 2004. Crop domestication as a long-term selection experiment. En: Janick J. (Ed.), *Plant Breeding Reviews*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc. (Volume 24, Issue 2), pp. 1-44. <https://doi.org/10.1002/9780470650288.ch1>
- Ghaleb W, Barre P, Teulat B, Ahmed LQ, Escobar-Gutiérrez AJ. 2022. Divergent selection for seed ability to germinate at extreme temperatures in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Frontiers in Plant Science*, 12, 794488. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.794488>
- Ghersa C, Benech-Arnold RL, Martínez-Ghersa MA. 1992. The role of fluctuating temperatures in germination and establishment of *Sorghum halepense*. Regulation of germination at increasing depths. *Functional Ecology*, 6(4), 460-468. <https://doi.org/10.2307/2389284>
- Gianinetti A, Vernieri P. 2007. On the role of abscisic acid in seed dormancy of red rice. *Journal of Experimental Botany*, 58(12), 3449-3462. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm198>
- Giordano A, Liu Z, Panter SN, Dimech AM, Shang Y, Wijesinghe H, Fulgueras K, Ran Y, Mouradov A, Rochfort S, Patron NJ, Spangenberg GC. 2014. Reduced lignin content and altered lignin composition in the warm season forage grass *Paspalum dilatatum* by down-regulation of a Cinnamoyl CoA Reductase gene. *Transgenic Research*, 23(3), 503-517. <https://doi.org/10.1007/s11248-014-9784-1>
- Giorello D, do Canto J, Reyno R, Lattanzi F. 2020. Gramíneas perennes estivales ¿Cómo integrarlas a nuestro sistema? *Revista INIA*, 63, 19-23.
- Glaubit JC, Casstevens TM, Lu F, Harriman J, Elshire RJ, Sun Q, Buckler ES. 2014. TASSEL-GBS: A high capacity genotyping by sequencing analysis pipeline. *PLoS ONE*, 9(2), e90346. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090346>

- Glison N, Batlla D, González Barrios P, Viega L, Saldanha S, Musacchio EM, Rush P, Speranza PR. 2021. Modelling seedling emergence in *Paspalum* species using environmental data from field experiments. *Grass and Forage Science*, 76(3), 363-377. <https://doi.org/10.1111/gfs.12515>
- Glison N, Romero D, Rosso V, Guerrero JC, Speranza PR. 2023. Understanding the geographic patterns of closely-related species of *Paspalum* (Poaceae) using distribution modelling and seed germination traits. *Plants*, 12(6), 1342. <https://doi.org/10.3390/plants12061342>
- Glison N, Viega L, Speranza PR. 2017. Differential incidence of the lemma on seed germination among different *Paspalum dilatatum* genotypes. *Journal of Seed Science*, 39(2), 133-141. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v39n2169225>
- Glison N, Viega L, Cornaglia P, Gutiérrez L, Speranza PR. 2015. Variability in germination behaviour of *Paspalum dilatatum* Poir. seeds is genotype dependent. *Grass and Forage Science*, 70(1), 144-153. <https://doi.org/10.1111/gfs.12119>
- Goggin DE, Emery RJN, Powles SB, Steadman KJ. 2010. Initial characterisation of low and high seed dormancy populations of *Lolium rigidum* produced by repeated selection. *Journal of Plant Physiology*, 167(15), 1282-1288. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.04.004>
- Goggin DE, Steadman KJ, Emery RJN, Farrow SC, Benech-Arnold RL, Powles SB. 2009. ABA inhibits germination but not dormancy release in mature imbibed seeds of *Lolium rigidum* Gaud. *Journal of Experimental Botany*, 60(12), 3387-3396. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp175>
- González-Rabanal F, Casal M, Trabaud L. 1994. Effects of high temperatures, ash and seed position in the inflorescence on the germination of three Spanish grasses. *Journal of Vegetation Science*, 5(3), 289-294. <https://doi.org/10.2307/3235851>
- Goodchild NA, Walker MG. 1971. A method of measuring seed germination in physiological studies [En línea]. *Annals of Botany*, 35(141), 615-621. Disponible en: <https://www.jstor.org/stable/42908843> (último acceso: 24 de mayo de 2023).

- Graeber K, Nakabayashi K, Miatton E, Leubner-Metzger G, Soppe WJJ. 2012. Molecular mechanisms of seed dormancy. *Plant, Cell and Environment*, 35(10), 1769-1786.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2012.02542.x>
- Gross BL, Olsen KM. 2010. Genetic perspectives on crop domestication. *Trends in Plant Science*, 15(9), 529-537. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.05.008>
- Grubb PJ. 1977. The maintenance of species-richness in plant communities: The importance of the regeneration niche. *Biological Reviews*, 52(1), 107-145.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1977.tb01347.x>
- Gu XY, Foley ME, Horvath DP, Anderson JV, Feng J, Zhang L, Mowry CR, Ye H, Suttle JC, Kadowaki K, Chen Z. 2011. Association between seed dormancy and pericarp color is controlled by a pleiotropic gene that regulates abscisic acid and flavonoid synthesis in weedy red rice. *Genetics*, 189(4), 1515-1524.
<https://doi.org/10.1534/genetics.111.131169>
- Gualano NA, Benech-Arnold RL. 2009. Predicting pre-harvest sprouting susceptibility in barley: Looking for “sensitivity windows” to temperature throughout grain filling in various commercial cultivars. *Field Crops Research*, 114(1), 35-44.
<https://doi.org/10.1016/j.fcr.2009.06.016>
- Gubler F, Millar AA, Jacobsen JV. 2005. Dormancy release, ABA and pre-harvest sprouting. *Current Opinion in Plant Biology*, 8(2), 183-187.
<https://doi.org/10.1016/j.pbi.2005.01.011>
- Gundel PE, Martínez-Ghersa MA, Ghersa C. 2008. Dormancy, germination and ageing of *Lolium multiflorum* seeds following contrasting herbicide selection regimes. *European Journal of Agronomy*, 28(4), 606-613.
<https://doi.org/10.1016/j.eja.2008.01.004>
- Halmer P. 2004. Methods to improve seed performance in the field. En: Benech-Arnold RL, Sánchez RA (Eds.). *Handbook of Seed Physiology: Applications to Agriculture*. Binghamton, NY: Food Product Press, pp. 125-166.

- Hanson J, Ellis RH. 2020. Progress and challenges in *ex situ* conservation of forage germplasm: Grasses, herbaceous legumes and fodder trees. *Plants*, 9(4).
<https://doi.org/10.3390/plants9040446>
- Hardegree S, Emmerich W. 1994. Seed germination response to polyethylene glycol solution depth [En línea]. *Seed Science and Technology*, 22(1), 1-7. Disponible en: <https://pubag.nal.usda.gov/catalog/6952> (último acceso: 24 de mayo de 2023).
- Hartman Y, Hooftman DAP, Schranz ME, van Tienderen PH. 2013. QTL analysis reveals the genetic architecture of domestication traits in Crisphead lettuce. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 60(4), 1487-1500. <https://doi.org/10.1007/s10722-012-9937-0>
- Haynes J, Pill W, Evans T. 1997. Seed treatments improve the germination and seedling emergence of switchgrass (*Panicum virgatum* L.). *HortScience*, 32(7), 1222-1226. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.32.7.1222>
- Hilhorst HWM. 1995. A critical update on seed dormancy. I. Primary dormancy. *Seed Science Research*, 5(2), 61-73. <https://doi.org/10.1017/S0960258500002634>
- Hoang HH, Bailly C, Corbineau F, Leymarie J. 2013. Induction of secondary dormancy by hypoxia in barley grains and its hormonal regulation. *Journal of Experimental Botany*, 64(7), 2017-2025. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert062>
- Holland JB, Nyquist WE, Cervantes-Martínez CT. 2010. Estimating and interpreting heritability for plant breeding: An update. En: Janick J. (Ed.). *Plant Breeding Reviews* (Volume 22). Oxford, UK: John Wiley & Sons, Inc., pp. 9-112. <https://doi.org/10.1002/9780470650202.ch2>
- Hopkinson JM, English BH. 2005. Influence of storage conditions on survival and sowing value of seed of tropical pasture grasses. 1. Longevity [En línea]. *Tropical Grasslands*, 39(3), 129-139. Disponible en: [https://www.tropicalgrasslands.info/public/journals/4/Historic/Tropical Grasslands Journal archive/Abstracts/Vol_39_2005/Abs_39_03_2005_pp129_139.html](https://www.tropicalgrasslands.info/public/journals/4/Historic/Tropical%20Grasslands%20Journal%20archive/Abstracts/Vol_39_2005/Abs_39_03_2005_pp129_139.html) (último acceso: 24 de mayo de 2023).

- Hsu F, Nelson CJ, Matches A. 1985. Temperature effects on germination of perennial warm-season forage grasses. *Crop Science*, 25(2), 215-220.
<https://doi.org/10.2135/cropsci1985.0011183X002500020005x>
- Hsu FH, Nelson CJ. 1986a. Planting date effects on seedling development of perennial warm-season forage grasses. I. Field emergence. *Agronomy Journal*, 78(1), 33-38.
<https://doi.org/10.2134/agronj1986.00021962007800010008x>
- Hsu FH, Nelson CJ. 1986b. Planting date effects on seedling development of perennial warm-season forage grasses. II. Seedling growth. *Agronomy Journal*, 78(1), 38-42.
<https://doi.org/10.2134/agronj1986.00021962007800010009x>
- Hu H, Mauro-Herrera M, Doust AN. 2018. Domestication and improvement in the model C4 grass, *Setaria*. *Frontiers in Plant Science*, 9, 719.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00719>
- Huarte HR, Luna V, Pagano EA, Zavala JA, Benech-Arnold RL. 2014. Fluctuating temperatures terminate dormancy in *Cynara cardunculus* seeds by turning off ABA synthesis and reducing ABA signalling, but not stimulating GA synthesis or signalling. *Seed Science Research*, 24(2), 79-89.
<https://doi.org/10.1017/S0960258514000051>
- Huggins DR, Randall GW, Russelle MP. 2001. Subsurface drain losses of water and nitrate following conversion of perennials to row crops. *Agronomy Journal*, 93(3), 477-486.
<https://doi.org/10.2134/agronj2001.933477x>
- Humphreys MW, Yadav RS, Cairns AJ, Turner LB, Humphreys J, Skot L. 2006. A changing climate for grassland research. *New Phytologist*, 169(1), 9-26.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01549.x>
- Ichihara M, Yamashita M, Sawada H, Kida Y, Asai M. 2009. Influence of after-ripening environments on the germination characteristics and seed fate of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*). *Weed Biology and Management*, 9(3), 217-224.
<https://doi.org/10.1111/j.1445-6664.2009.00342.x>

- Ishibashi Y, Aoki N, Kasa S, Sakamoto M, Kai K, Tomokiyo R, Watabe G, Yuasa T, Iwaya-Inoue M. 2017. The interrelationship between abscisic acid and reactive oxygen species plays a key role in barley seed dormancy and germination. *Frontiers in Plant Science*, 8, 275. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00275>
- ISTA (International Seed Testing Association). 2015. International rules for seed testing, Volume 2015, Full Issue i-19-8, pp. 276. <https://doi.org/10.15258/istarules.2015.F>
- Jiménez-Alfaro B, Silveira FAO, Fidelis A, Poschlod P, Commander LE. 2016. Seed germination traits can contribute better to plant community ecology. *Journal of Vegetation Science*, 27(3), 637-645. <https://doi.org/10.1111/jvs.12375>
- Johnston M, Miller J. 1964. Investigations into techniques for the germination of *Paspalum dilatatum*. *Proceedings of the International Seed Testing Association*, 29(1), 145-148.
- Kazmi RH, Khan N, Willems LAJ, Van Heusden AW, Ligterink W, Hilhorst HWM. 2012. Complex genetics controls natural variation among seed quality phenotypes in a recombinant inbred population of an interspecific cross between *Solanum lycopersicum*×*Solanum pimpinellifolium*. *Plant, Cell and Environment*, 35(5), 929-951. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2011.02463.x>
- Kegode GO, Pearce RB. 1998. Influence of environment during maternal plant growth on dormancy of shattercane (*Sorghum bicolor*) and giant foxtail (*Setaria faberi*) seed. *Weed Science*, 46(3), 322-329. <https://doi.org/10.1017/s0043174500089505>
- Keyser P, Harper C, Bates G, Waller J, Doxon E. 2012. Establishing Native Warm-Season Grasses for Livestock Forage in the Mid-South [En línea]. Knoxville TN: University of Tennessee Extension, SP731-B. Disponible en: <http://nativegrasses.utk.edu/publications/SP731-B.pdf> (último acceso: 25 de mayo de 2023).
- Kim C, Guo H, Kong W, Chandnani R, Shuang L-S, Paterson AH. 2016. Application of genotyping by sequencing technology to a variety of crop breeding programs. *Plant Science*, 242, 14-22. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.04.016>

- Kimura E, Fransen SC, Collins HP, Guy SO, Johnston WJ. 2015. Breaking seed dormancy of switchgrass (*Panicum virgatum* L.): A review. *Biomass and Bioenergy*, 80, 94-101. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2015.04.036>
- Kottarachchi NS, Uchino N, Kato K, Miura H. 2006. Increased grain dormancy in white-grained wheat by introgression of preharvest sprouting tolerance QTLs. *Euphytica*, 152(3), 421-428. <https://doi.org/10.1007/s10681-006-9231-3>
- Kucera B, Cohn MA, Leubner-Metzger G. 2005. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Science Research*, 15(4), 281-307. <https://doi.org/10.1079/SSR2005218>
- Kulwal P, Mir R, Kumar S, Gupta P. 2010. QTL analysis and molecular breeding for seed dormancy and pre-harvest sprouting tolerance in bread wheat. *Journal of Plant Biology*, 37(1), 59-74.
- Kumar S, Knox RE, Clarke FR, Pozniak CJ, DePauw RM, Cuthbert RD, Fox S. (2015). Maximizing the identification of QTL for pre-harvest sprouting resistance using seed dormancy measures in a white-grained hexaploid wheat population. *Euphytica*, 205(1), 287-309. <https://doi.org/10.1007/s10681-015-1460-x>
- Larson JE, Funk JL. 2016. Regeneration: an overlooked aspect of trait-based plant community assembly models. *Journal of Ecology*, 104(5), 1284-1298. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12613>
- Lenth R. 2020. *emmeans*: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. R Package Version 1.5.3. <https://cran.r-project.org/package=emmeans>
- Leon RG, Bassham DC, Owen MDK. 2006. Inheritance of deep seed dormancy and stratification-mediated dormancy alleviation in *Amaranthus tuberculatus*. *Seed Science Research*, 16(03), 193-202. <https://doi.org/10.1079/SSR2006250>
- Li C, Ni P, Francki M, Hunter A, Zhang Y, Schibeci D, Li H, Tarr A, Wang J, Cakir M, Yu J, Bellgard M, Lance R, Appels R. 2004. Genes controlling seed dormancy and pre-harvest sprouting in a rice-wheat-barley comparison. *Functional and Integrative Genomics*, 4(2), 84-93. <https://doi.org/10.1007/s10142-004-0104-3>

- Li L, Liu X, Xie K, Wang Y, Liu F, Lin Q, Wang W, Yang C, Lu B, Liu S, Chen L, Jiang L, Wan J. 2013. qLTG-9, a stable quantitative trait locus for low-temperature germination in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 126(9), 2313-2322. <https://doi.org/10.1007/s00122-013-2137-2>
- Liu Y, Koornneef M, Soppe WJJ. 2007. The absence of histone H2B monoubiquitination in the *Arabidopsis hub1 (rdo4)* mutant reveals a role for chromatin remodeling in seed dormancy. *Plant Cell*, 19(2), 433-444. <https://doi.org/10.1105/tpc.106.049221>
- Loch DS, Adkins SW, Heslehurst MR, Paterson MF, Bellairs SM. 2004. Seed formation, development and germination (Cap. 4). En Moser LE, Burson BL, Sollenberger LE (Eds.). *Warm-Season (C4) Grasses*. Madison, WI: American Society of Agronomy (Agronomy Monograph no. 45), pp. 95-143.
- Lodge GM, Harden S. 2009. Effects of depth and time of sowing and over-wintering on tropical perennial grass seedling emergence in northern New South Wales. *Crop and Pasture Science*, 60(10), 954-962. <https://doi.org/10.1071/CP09088>
- Loreti J, Oosterheld M. 1996. Intraspecific variation in the resistance to flooding and drought in populations of *Paspalum dilatatum* from different topographic positions. *Oecologia*, 108(2), 279-284. <https://doi.org/10.1007/BF00334652>
- Lowry DB, Taylor SH, Bonnette J, Aspinwall MJ, Asmus AL, Keitt TH, Tobias CM, Juenger TE. 2015. QTLs for biomass and developmental traits in switchgrass (*Panicum virgatum*). *BioEnergy Research*, 8(4), 1856-1867. <https://doi.org/10.1007/s12155-015-9629-7>
- Luna B, Pérez B, Torres I, Moreno JM. 2012. Effects of incubation temperature on seed germination of mediterranean plants with different geographical distribution ranges. *Folia Geobotanica*, 47(1), 17-27. <https://doi.org/10.1007/s12224-011-9110-0>
- Maeda J, Pereira M, Medina P. 1997. Seed dormancy and storage of *Paspalum notatum* Flugge. *Revista Brasileira de Sementes*, 19(2), 164-170.

- Maity A, Singh V, Jessup R, Bagavathiannan M. 2021. Seed traits correlate with herbicide resistance in Italian ryegrass (*Lolium perenne* ssp. *multiflorum*). Pest Management Science, 77(6), 2756-2765. <https://doi.org/10.1002/ps.6304>
- Malavert C, Batlla D, Benech-Arnold RL. 2021. The role of seed water content for the perception of temperature signals that drive dormancy changes in *Polygonum aviculare* buried seeds. Functional Plant Biology, 48(1), 28. <https://doi.org/10.1071/FP20011>
- Mares DJ, Mrva K. 2014. Wheat grain preharvest sprouting and late maturity alpha-amylase. Planta, 240(6), 1167-1178. <https://doi.org/10.1007/s00425-014-2172-5>
- Marques AR, Atman APF, Silveira FAO, de Lemos-Filho JP. 2014. Are seed germination and ecological breadth associated? Testing the regeneration niche hypothesis with bromeliads in a heterogeneous neotropical montane vegetation. Plant Ecology, 215(5), 517-529. <https://doi.org/10.1007/s11258-014-0320-4>
- Martínez-Reyna JM, Vogel KP. 2002. Incompatibility systems in switchgrass. Crop Science, 42(6), 1800-1805. <https://doi.org/10.2135/cropsci2002.1800>
- Martinson K, Durgan B, Forcella F, Wiersma J, Spokas K, Archer D. 2007. An emergence model for wild oat (*Avena fatua*). Weed Science, 55(6), 584-591. <https://doi.org/10.1614/WS-07-059.1>
- Masters RA, Mislevy P, Moser LE, Rivas-Pantoja F. 2004. Stand establishment (Cap. 5). En: Moser LE, Burson BL, Sollenberger LE (Eds.). Warm-Season (C4) Grasses. Madison, WI: American Society of Agronomy (Agronomy Monograph no. 45), pp. 145-177.
- Matzrafi M, Preston C, Brunharo CA. 2021. Review: Evolutionary drivers of agricultural adaptation in *Lolium* spp. Pest Management Science, 77(5), 2209-2218. <https://doi.org/10.1002/ps.6219>
- McCormick LH, Boschma SP, Lodge GM, Scott JF. 2009. Producer-identified constraints to widespread adoption of sown tropical grass pastures on the north-west slopes of New South Wales [En línea]. Tropical Grasslands, 43, 263-266. Disponible en:

- https://www.tropicalgrasslands.info/public/journals/4/Historic/Tropical%20Grasslands%20Journal%20archive/PDFs/2009%20issue%20pdfs/Vol_43_04_2009_p263_266%20McCormick%20et%20al.pdf (último acceso: 25 de mayo de 2023)
- Meyer SE, Allen PS. 1999. Ecological genetics of seed germination regulation in *Bromus tectorum* L. I. Phenotypic variance among and within populations. *Oecologia*, 120(1), 27-34. <https://doi.org/10.1007/s004420050829>
- Meyer SE, Allen PS. 2009. Predicting seed dormancy loss and germination timing for *Bromus tectorum* in a semi-arid environment using hydrothermal time models. *Seed Science Research*, 19(04), 225-239. <https://doi.org/10.1017/S0960258509990122>
- Miles JW, Cardona C, Sotelo G. 2006. Recurrent selection in a synthetic brachiariagrass population improves resistance to three spittlebug species. *Crop Science*, 46(3), 1088-1093. <https://doi.org/10.2135/cropsci2005.06-0101>
- Miles JW, do Valle CB, Rao IM, Euclides VPB. (2004). Brachiaria grasses (Cap. 22). En Moser LE, Burson BL, Sollenberger LE (Eds.). *Warm-Season (C4) Grasses*. Madison, WI: American Society of Agronomy (Agronomy Monograph no. 45), pp. 745-783.
- Miles JW. 2007. Apomixis for cultivar development in tropical forage grasses. *Crop Science*, 47(S3), S-238-S-249. <https://doi.org/10.2135/cropsci2007.04.0016IPBS>
- Mitchell J, Johnston IG, Bassel GW. 2017. Variability in seeds: Biological, ecological, and agricultural implications. *Journal of Experimental Botany*, 68(4), 809-817. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw397>
- Monteverde E, Olveyra M, Speranza PR. 2022. Could the Dilatata group of *Paspalum* be bred as sexual species? A preliminary assessment. *Grass and Forage Science*, 77(1), 100-106. <https://doi.org/10.1111/gfs.12558>
- Moore G, Yates R, Barrett-Lennard P, Nichols P, Wintle B, Titterton J, Loo C. 2013. Establishment guide for sub-tropical grasses. Key steps to success [En línea]. South Perth, Western Australia: Department of Agriculture and Food (Issue August, Bulletin 4840), pp. 54. Disponible en:

http://agric.firstsoftwaresolutions.com/attachments/52206/bulletin4840_sub-tropical_grasses.pdf (último acceso: 25 de mayo de 2023).

- Munir J, Dorn LA, Donohue K, Schmitt J. 2001. The effect of maternal photoperiod on seasonal dormancy in *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae). *American Journal of Botany*, 88(7), 1240-1249. <https://doi.org/10.2307/3558335>
- Murdoch A, Roberts E, Goedert C. 1989. A model for germination responses to alternating temperatures. *Annals of Botany*, 63(1), 97-111. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a087733>
- Nakabayashi K, Bartsch M, Xiang Y, Miatton E, Pellengahr S, Yano R, Seo M, Soppe WJJ. 2012. The time required for dormancy release in *Arabidopsis* is determined by DELAY OF GERMINATION1 protein levels in freshly harvested seeds. *The Plant Cell*, 24(7), 2826-2838. <https://doi.org/10.1105/tpc.112.100214>
- Nakamura S, Abe F, Kawahigashi H, Nakazono K, Tagiri A, Matsumoto T, Utsugi S, Ogawa T, Handa H, Ishida H, Mori M, Kawaura K, Ogihara Y, Miura H. 2011. A wheat homolog of MOTHER OF FT AND TFL1 acts in the regulation of germination. *The Plant Cell*, 23(9), 3215-3229. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.088492>
- Née G, Xiang Y, Soppe WJJ. 2017. The release of dormancy, a wake-up call for seeds to germinate. *Current Opinion in Plant Biology*, 35, 8-14. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2016.09.002>
- Nonogaki H, Bassel GW, Bewley JD. 2010. Germination - Still a mystery. *Plant Science*, 179, 574-581. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.02.010>
- Nonogaki H. 2006. Seed germination - The biochemical and molecular mechanisms. *Breeding Science*, 56(2), 93-105. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.56.93>
- Nonogaki H. 2014. Seed dormancy and germination-emerging mechanisms and new hypotheses. *Frontiers in Plant Science*, 5, 233. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00233>

- Owen MJ, Goggin DE, Powles SB. 2015. Intensive cropping systems select for greater seed dormancy and increased herbicide resistance levels in *Lolium rigidum* (annual ryegrass). *Pest Management Science*, 71(7), 966-971. <https://doi.org/10.1002/ps.3874>
- Pearson C, Shah S. 1981. Effects of temperature on seed production, seed quality and growth of *Paspalum dilatatum*. *Journal of Applied Ecology*, 18(3), 897-905. <https://doi.org/10.2307/2402380>
- Penfield S, MacGregor DR. 2017. Effects of environmental variation during seed production on seed dormancy and germination. *Journal of Experimental Botany*, 68(4), 819-825. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw436>
- Penfield S, Josse EM, Kannangara R, Gilday AD, Halliday KJ, Graham IA. 2005. Cold and light control seed germination through the bHLH transcription factor SPATULA. *Current Biology*, 15(22), 1998-2006. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2005.11.010>
- Pereira JF, Azevedo ALS, Pessoa-Filho M, Romanel EA da C, Pereira AV, Vigna BBZ, Sobrinho F de S, Benites FRG, Léo FJ da S, de Brito GG, Meireles KGX, Cavallari MM, Simeão RM, Machado JC. 2018. Research priorities for next-generation breeding of tropical forages in Brazil. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 18(3), 314-319. <https://doi.org/10.1590/1984-70332018v18n3n46>
- Picasso VD, Brummer EC, Liebman M, Dixon PM, Wilsey BJ. 2008. Crop species diversity affects productivity and weed suppression in perennial polycultures under two management strategies. *Crop Science*, 48(1), 331-342. <https://doi.org/10.2135/cropsci2007.04.0225>
- Picciau R, Pritchard HW, Mattana E, Bacchetta G. 2018. Thermal thresholds for seed germination in Mediterranean species are higher in mountain compared with lowland areas. *Seed Science Research*, 29(1), 44-54. <https://doi.org/doi:10.1017/S0960258518000399>
- Pizarro E. 2000. Potencial forrajero del género *Paspalum* [En línea]. *Pasturas Tropicales*, 22(1), 38-46. Disponible en: http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos_Ciat/Vol_22_01_08.pdf (último acceso: 25 de mayo de 2023).

- Pons TL. 1989. Breaking of seed dormancy by nitrate as a gap detection mechanism. *Annals of Botany*, 63(1), 139-143.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a087716>
- Poudel HP, Sanciangco MD, Kaeppler SM, Buell CR, Casler MD. 2019. Quantitative trait loci for freezing tolerance in a lowland x upland switchgrass population. *Frontiers in Plant Science*, 10, 372. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00372>
- Probert RJ, Smith RD, 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 [En línea]. *New Phytologist*, 100(3), 447-455. Disponible en: http://www.jstor.org/stable/2432843?seq=1#page_scan_tab_contents (último acceso: 25 de mayo de 2023).
- Qie L, Jia G, Zhang W, Schnable J, Shang Z, Li W, Liu B, Li M, Chai Y, Zhi H, Diao X. 2014. Mapping of quantitative trait locus (QTLs) that contribute to germination and early seedling drought tolerance in the interspecific cross *Setaria italica* x *Setaria viridis*. *PLoS ONE*, 9(7), 3-10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101868>
- Qiu J, Bai Y, Coulman B, Romo JT. 2006. Using thermal time models to predict seedling emergence of orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) under alternating temperature regimes. *Seed Science Research*, 16(4), 261-271.
<https://doi.org/10.1017/SSR2006258>
- Qiu J, Bai Y, Fu Y-B, Wilmshurst JF. 2010. Spatial variation in temperature thresholds during seed germination of remnant *Festuca hallii* populations across the Canadian prairie. *Environmental and Experimental Botany*, 67(3), 479-486.
<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.09.002>
- Rees M. 1994. Delayed germination of seeds: A look at the effects of adult longevity, the timing of reproduction, and population age/stage structure. *American Naturalist*, 144(1), 43-64. <https://doi.org/10.1086/285660>
- Richard GA, Cerino MC, Pensiero JF, Zabala JM. 2016. Seed dormancy and germination in different populations of the Argentinian endemic halophyte grass, *Sporobolus*

- phleoides* (Poaceae: Chloridoideae). Australian Journal of Botany, 64(6), 492-500.
<https://doi.org/10.1071/BT15285>
- Rieseberg LH, Widmer A, Arntz AM, Burke JM, Carr DE, Abbott RJ, Meagher TR. 2003. The genetic architecture necessary for transgressive segregation is common in both natural and domesticated populations. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 358(1434), 1141-1147.
<https://doi.org/10.1098/rstb.2003.1283>
- Rikiishi K, Maekawa M. 2014. Seed maturation regulators are related to the control of seed dormancy in wheat (*Triticum aestivum* L.). PLoS ONE, 9(9), e107618.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107618>
- Roach D, Wulff R. 1987. Maternal effects in plants [En línea]. Annual Review of Ecology and Systematics, 18, 209-235. Disponible en:
<http://www.jstor.org/stable/10.2307/2097131> (último acceso: 25 de mayo de 2023).
- Rodríguez AM, Jacobo EJ, Deregibus VA. 1998. Germination behaviour of Italian ryegrass in flooding pampa rangelands. Seed Science Research, 8(4), 521-528.
<https://doi.org/10.1017/s0960258500004499>
- Rodríguez MV, Barrero JM, Corbineau F, Gubler F, Benech-Arnold RL. 2015. Dormancy in cereals (not too much, not so little): About the mechanisms behind this trait. Seed Science Research, 25(2), 99-119. <https://doi.org/10.1017/S0960258515000021>
- Rodríguez MV, Mendiondo GM, Maskin L, Gudesblat GE, Iusem ND, Benech-Arnold RL. 2009. Expression of ABA signalling genes and ABI5 protein levels in imbibed *Sorghum bicolor* caryopses with contrasting dormancy and at different developmental stages. Annals of Botany, 104(5), 975-985.
<https://doi.org/10.1093/aob/mcp184>
- Romani F, de Carvalho RIN. 2016. Break dormancy, germination and vigor of *Brachiaria brizantha* cv. BRS Piatã. Revista Eletrônica Científica da UERGS, 2(3), 235-239.
<https://doi.org/10.21674/2448-0479.23.235-239>

- Rosso VC, Valls JFM, Quarin CL, Speranza PR, Rua GH. 2022. New entities of *Paspalum* and a synopsis of the group Dilatata. Systematic Botany, 47(1), 125-139.
- Royo-Esnal A, Torra J, Conesa JA, Forcella F, Recasens J. 2010. Modeling the emergence of three arable bedstraw (*Galium*) species. Weed Science, 58(01), 10-15.
<https://doi.org/10.1614/WS-09-063.1>
- Rubio de Casas R, Willis CG, Pearse WD, Baskin CC, Baskin JM, Cavender-Bares J. 2017. Global biogeography of seed dormancy is determined by seasonality and seed size: a case study in the legumes. New Phytologist, 214(4), 1527-1536.
<https://doi.org/10.1111/nph.14498>
- Saatkamp A, Cochrane A, Commander L, Guja LK, Jimenez-Alfaro B, Larson J, Nicotra A, Poschlod P, Silveira FAO, Cross AT, Dalziel EL, Dickie J, Erickson TE, Fidelis A, Fuchs A, Golos PJ, Hope M, Lewandowski W, Merritt DJ, Miller BP, Miller RG, Offord CA, Ooi, MKJ, Satyanti A, Semmerville KD, Tangney R, Tomlinson S, Turner S, Walck JL. 2019. A research agenda for seed-trait functional ecology. New Phytologist, 221(4), 1764-1775. <https://doi.org/10.1111/nph.15502>
- Sales NM, Pérez-García F, Silveira FAO. 2013. Consistent variation in seed germination across an environmental gradient in a Neotropical savanna. South African Journal of Botany, 87, 129-133. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.04.001>
- Sandhu JS, Kumar D, Yadav VK, Singh T, Sah RP, Radhakrishna A. 2015. Recent trends in breeding of tropical grass and forage species. En: International Grassland Congress (23rd, 2015, Nueva Delhi, India). Proceedings of 23rd International Grassland Congress. Roy MM, Malaviya DR, Yadav VK, Singh T, Sah RP, Vijay D, Radhakrishna A (Eds.). Range Management Society of India, pp. 337-348.
- Sandro P, Gutiérrez L, Speranza P. 2019. Distribution of genetic and phenotypic diversity in the autogamous perennial *Paspalum dilatatum* subsp. *flavescens* Roseng. Arrill. & Izag. (Poaceae). Genetic Resources and Crop Evolution, 66(6), 1205-1216.
<https://doi.org/10.1007/s10722-019-00791-9>

- Sarath G, Bethke PC, Jones R, Baird LM, Hou G, Mitchell RB. 2006. Nitric oxide accelerates seed germination in warm-season grasses. *Planta*, 223(6), 1154-1164. <https://doi.org/10.1007/s00425-005-0162-3>
- Schrauf GE, Blanco MA, Cornaglia PS, Deregibus VA, Madia M, Pacheco MG, Padilla J, García AM, Quarín C. 2003. Ergot resistance in plants of *Paspalum dilatatum* incorporated by hybridisation with *Paspalum urvillei*. *Tropical Grasslands*, 37(3), 182-186.
- Schrauf GE, Cornaglia PS, Deregibus VA, Rissola MG. 1995. Improvement in germination behaviour of *Paspalum dilatatum* Poir. seeds under different pre conditioning treatments. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 38(4), 501-509. <https://doi.org/10.1080/00288233.1995.9513152>
- Seepaul R, Macoon B, Reddy KR, Baldwin B. 2011. Switchgrass (*Panicum virgatum* L.) intraspecific variation and thermotolerance classification using *in vitro* seed germination assay. *American Journal of Plant Sciences*, 2(2), 134-147. <https://doi.org/10.4236/ajps.2011.22015>
- Seglias AE, Williams E, Bilge A, Kramer AT. 2018. Phylogeny and source climate impact seed dormancy and germination of restoration-relevant forb species. *PLoS ONE*, 13(2), e0191931. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191931>
- Serba DD, Daverdin G, Bouton JH, Devos KM, Brummer EC, Saha MC. 2015. Quantitative trait loci (QTL) underlying biomass yield and plant height in switchgrass. *BioEnergy Research*, 8(1), 307-324. <https://doi.org/10.1007/s12155-014-9523-8>
- Sleper DA, Poehlman JM. 2006. *Breeding crop field*, 5th edition. Oxford: Wiley-Blackwell, pp. 424.
- Smýkal P, Vernoud V, Blair MW, Soukup A, Thompson RD. 2014. The role of the testa during development and in establishment of dormancy of the legume seed. *Frontiers in Plant Science*, 5, 351. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00351>

- Speranza PR, Malosetti M. 2007. Nuclear and cytoplasmic microsatellite markers for the species of the Dilatata group of *Paspalum* (Poaceae). *Plant Genetic Resources*, 5(1), 14-26. <https://doi.org/10.1017/S1479262107192145>
- Speranza PR, Viega L, Gutiérrez L, Astigarraga L, Picasso V, Saldanha S, Glison N, González Barrios P, Sandro P, Tejera M, Quintans I. 2017. Utilización y domesticación de gramíneas forrajeras del género *Paspalum* en Uruguay [En línea]. *Revista INIA Uruguay, Serie FPTA-INIA*, Nro. 61, pp. 68. Disponible en: <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/8260/1/Fpta-61-2017.pdf> (último acceso: 25 de mayo de 2023).
- Speranza PR. 2005. The challenges of the exploration of genetic resources in apomictic plants: lessons from *Paspalum dilatatum* [En línea]. *Agrociencia (Uruguay)*, 9(1-2), 73-76. Disponible en: <http://fagro2.fagro.edu.uy/agrociencia/index.php/directorio/article/view/280/210> (último acceso: 25 de mayo de 2023).
- Speranza PR. 2009. Evolutionary patterns in the Dilatata group (*Paspalum*, Poaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 282(1), 43-56. <https://doi.org/10.1007/s00606-009-0205-5>
- Springer TL, Wynia RL, Rea GL. 2012. Field emergence and plant density of sand bluestem lines selected for increased seed germination. *Crop Science*, 52(6), 2826-2829. <https://doi.org/10.2135/cropsci2012.02.0108>
- Springer TL. 2005. Germination and early seedling growth of chaffy-seeded grasses at negative water potentials. *Crop Science*, 45(5), 2075-2080. <https://doi.org/10.2135/cropsci2005.0061>
- Stanisavljević R, Djokić D, Milenković J, Dukanović L, Stevović V, Simić A, Dodig D. 2011. Germinação de sementes e o vigor de plantas jovens de azevem italiano, dactilis e timóteo após a colheita e o armazenamento. *Ciência e Agrotecnologia*, 35(6), 1141-1148. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600014>

- Stanisavljević R, Poštić D, Štrbanović R, Tabaković M, Jovanović S, Milenković J, Đokić D, Terzić D. 2020. Effect of seed storage on seed germination and seedling quality of *Festulolium* in comparison with related forage grasses. *Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales*, 8(2), 125-132. [https://doi.org/10.17138/TGFT\(8\)125-132](https://doi.org/10.17138/TGFT(8)125-132)
- Star P, Brooking T. 2006. Fescue to the rescue: Chewings fescue, paspalum, and the application of non-british experience to pastoral practice in New Zealand, 1880-1920. *Agricultural History*, 80(3), 312-335. <https://doi.org/10.1525/ah.2006.80.3.312>
- Steadman KJ, Ellery AJ, Chapman R, Moore A, Turner NC. 2004. Maturation temperature and rainfall influence seed dormancy characteristics of annual ryegrass (*Lolium rigidum*). *Australian Journal of Agricultural Research*, 55(10), 1047-1057. <https://doi.org/10.1071/AR04083>
- Steadman KJ. 2004. Dormancy release during hydrated storage in *Lolium rigidum* seeds is dependent on temperature, light quality, and hydration status. *Journal of Experimental Botany*, 55(398), 929-937. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh099>
- Subburaj S, Cao S, Xia X, He Z. 2016. Phylogenetic analysis, lineage-specific expansion and functional divergence of *seed dormancy 4*-like genes in plants. *PLoS ONE*, 11(6), 1-24. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153717>
- Sugimoto K, Takeuchi Y, Ebana K, Miyao A, Hirochika H, Hara N, Ishiyama K, Kobayashi M, Ban Y, Hattori T, Yano M. 2010. Molecular cloning of *Sdr4*, a regulator involved in seed dormancy and domestication of rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(13), 5792-5797. <https://doi.org/10.1073/pnas.0911965107>
- Takeuchi Y, Lin SY, Sasaki T, Yano M. 2003. Fine linkage mapping enables dissection of closely linked quantitative trait loci for seed dormancy and heading in rice. *Theoretical and Applied Genetics*, 107(7), 1174-1180. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1364-3>
- Taylor J, Butler D. 2017. R package ASMap: Efficient genetic linkage map construction and diagnosis. *Journal of Statistical Software*, 79(6), 1-29. <https://doi.org/10.18637/jss.v079.i06>

- Tejera M, Speranza PR, Astigarraga L, Picasso V. 2016. Forage biomass, soil cover, stability and competition in perennial grass-legume pastures with different *Paspalum* species. *Grass and Forage Science*, 71(4), 575-583. <https://doi.org/10.1111/gfs.12208>
- Tilman D, Fargione J, Wolff B, D'Antonio C, Dobson A, Howarth R, Schindler D, Schlesinger WH, Simberloff D, Swackhamer D. 2001. Forecasting agriculturally driven global environmental change. *Science*, 292(5515), 281-284. <https://doi.org/10.1126/science.1057544>
- Timson J. 1965. New method of recording germination data. *Nature*, 207(4993), 216-217. <https://doi.org/10.1038/207216a0>
- Usberti R, Martins L. 2007. Sulphuric acid scarification effects on *Brachiaria brizantha*, *B. humidicola* and *Panicum maximum* seed dormancy release. *Revista Brasileira de Sementes*, 29(2), 143-147. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222007000200020>
- Usberti R. 2007. Performance of tropical forage grass (*Brachiaria brizantha*) dormant seeds under controlled storage. *Seed Science and Technology*, 35(2), 402-413. <https://doi.org/10.15258/sst.2007.35.2.15>
- Vaio M, Mazzella C, Guerra M, Speranza PR. 2019. Effects of the diploidisation process upon the 5S and 35S rDNA sequences in the allopolyploid species of the Dilatata group of *Paspalum* (Poaceae, Paniceae). *Australian Journal of Botany*, 67(7), 521-530. <https://doi.org/10.1071/BT18236>
- Vaio M, Mazzella C, Porro V, Speranza PR, López-Carro B, Estramil E, Folle GA. 2007. Nuclear DNA content in allopolyploid species and synthetic hybrids in the grass genus *Paspalum*. *Plant Systematics and Evolution*, 265(1-2), 109-121. <https://doi.org/10.1007/s00606-006-0506-x>
- Van Tassel D, DeHaan L. 2013. Wild plants to the rescue. *American Scientist*, 101(3), 218-225. <https://doi.org/10.1511/2013.102.218>
- Veasey EA, Karasawa MG, Santos PP, Rosa MS, Mamani E, Oliveira GCX. 2004. Variation in the loss of seed dormancy during after-ripening of wild and cultivated rice species. *Annals of Botany*, 94(6), 875-882. <https://doi.org/10.1093/aob/mch215>

- Vegis A. 1964. Dormancy in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 15(1), 185-224. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.15.060164.001153>
- Venuto BC, Burson BL, Hussey MA, Redfearn DD, Wyatt WE, Brown LP. 2003. Forage yield, nutritive value, and grazing tolerance of dallisgrass biotypes. *Crop Science*, 43(1), 295-301. <https://doi.org/10.2135/cropsci2003.2950>
- Vera ML. 1997. Effects of altitude and seed size on germination and seedling survival of heathland plants in north Spain. *Plant Ecology*, 133(1), 101-106. <https://doi.org/10.1023/A:1009729201384>
- Vidigal DS, Marques ACSS, Willems LAJ, Buijs G, Méndez-Vigo B, Hilhorst HWM, Bentsink L, Picó FX, Alonso-Blanco C. 2016. Altitudinal and climatic associations of seed dormancy and flowering traits evidence adaptation of annual life cycle timing in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell and Environment*, 39(8), 1737-1748. <https://doi.org/10.1111/pce.12734>
- Violle C, Jiang L. 2009. Towards a trait-based quantification of species niche. *Journal of Plant Ecology*, 2(2), 87-93. <https://doi.org/10.1093/jpe/rtp007>
- Vleeshouwers L, Bouwmeester H, Karssen C. 1995. Redefining seed dormancy: An attempt to integrate physiology and ecology. *Journal of Ecology*, 83(6), 1031-1037. <https://doi.org/10.2307/2261184>
- Wagmann K, Hautekèete N-C, Piquot Y, Meunier C, Schmitt SE, Van Dijk H. 2012. Seed dormancy distribution: Explanatory ecological factors. *Annals of Botany*, 110(6), 1205-1219. <https://doi.org/10.1093/aob/mcs194>
- Wang M, Li W, Fang C, Xu F, Liu Y, Wang Z, Yang R, Zhang M, Liu S, Lu S, Lin T, Tang J, Wang Y, Wang H, Lin H, Zhu B, Chen M, Kong F, Liu B, Zeng D, Jackson SA, Chu C, Tian Z. (2018). Parallel selection on a dormancy gene during domestication of crops from multiple families. *Nature Genetics*, 50(10), 1435-1441. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0229-2>

- West S, Marousky F. 1989. Mechanism of dormancy in Pensacola bahiagrass. *Crop Science*, 29(3), 787-791.
<https://doi.org/10.2135/cropsci1989.0011183X002900030050x>
- Wiesner LE, Grabe DF. 1972. Effect of temperature preconditioning and cultivar on ryegrass (*Lolium* sp.) seed dormancy. *Crop Science*, 12(6), 760-764.
<https://doi.org/10.2135/cropsci1972.0011183x001200060013x>
- Wilkins PW, Humphreys MO. 2003. Progress in breeding perennial forage grasses for temperate agriculture. *Journal of Agricultural Science*, 140(2), 129-150.
<https://doi.org/10.1017/S0021859603003058>
- Williams MM, Schutte BJ, So YF. 2012. Maternal corn environment influences wild-proso millet (*Panicum miliaceum*) seed characteristics. *Weed Science*, 60(1), 69-74.
<https://doi.org/10.1614/WS-D-11-00098.1>
- Willis CG, Baskin CC, Baskin JM, Auld JR, Venable DL, Cavender-Bares J, Donohue K, Rubio de Casas R. 2014. The evolution of seed dormancy: Environmental cues, evolutionary hubs, and diversification of the seed plants. *New Phytologist*, 203(1), 300-309. <https://doi.org/10.1111/nph.12782>
- Zhang H, McGill CR, Irving LJ, Kemp PD, Zhou D. 2013. A modified thermal time model to predict germination rate of ryegrass and tall fescue at constant temperatures. *Crop Science*, 53(1), 240-249. <https://doi.org/10.2135/cropsci2012.02.0085>
- Zhang X, Sallam A, Gao L, Kantarski T, Poland J, DeHaan LR, Wyse DL, Anderson JA. 2016. Establishment and optimization of genomic selection to accelerate the domestication and improvement of intermediate wheatgrass. *The Plant Genome*, 9, plantgenome2015.07.0059. <https://doi.org/10.3835/plantgenome2015.07.0059>
- Zhang Y, Liu Y, Sun L, Baskin CC, Baskin JM, Cao M, Yang J. 2022. Seed dormancy in space and time: Global distribution, paleoclimatic and present climatic drivers, and evolutionary adaptations. *New Phytologist*, 2022. <https://doi.org/10.1111/nph.18099>
- Zhang ZH, Qu XS, Wan S, Chen LH, Zhu YG. 2005. Comparison of QTL controlling seedling vigour under different temperature conditions using recombinant inbred

lines in rice (*Oryza sativa*). *Annals of Botany*, 95(3), 423-429.
<https://doi.org/10.1093/aob/mci039>