

# Informe final publicable de proyecto

## Bases para la adaptación agronómica del Tinopiro (Intermediate wheatgrass, *Thinopyrum intermedium*) en regiones templadas.

Código de proyecto ANII: FMV\_3\_2018\_1\_148145

01/11/2022

**LOCATELLI FAGÚNDEZ, Andrés** (Responsable Técnico - Científico)

**ARBELETCHÉ, Pedro** (Investigador)

**GUTIERREZ, Lucia** (Investigador)

**MAZZILLI VANZINI, Sebastián Ramón** (Investigador)

**PICASSO RISSO, Valentín Daniel** (Investigador)

**SIRI PRIETO, Guillermo** (Investigador)

**SPERANZA GASTALDI, Pablo Rafael** (Investigador)

**VEROCAI BRITOS, Maximiliano Leonardo** (Investigador)

**VIDAL ANDRÉ, Rafael** (Investigador)

---

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA. CENTRO UNIVERSITARIO REGIÓN LITORAL NORTE (Institución Proponente) \\  
UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA. CENTRO UNIVERSITARIO REGIÓN LITORAL NORTE (Institución Proponente) \\  
UNIVERSITY OF WISCONSIN - MADISON \\  
WRIGHTSON PAS S.A. \\  
THE LAND INSTITUTE \\  
UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA. FACULTAD DE AGRONOMÍA \\  
FACULTAD DE AGRONOMÍA. FUNDACIÓN DR. EDUARDO ACEVEDO

## Resumen del proyecto

Los cultivos anuales predominan ampliamente la tierra arable del planeta siendo la principal fuente de recursos para la alimentación humana. Sin embargo, su uso en la agricultura está asociado a erosión de suelo y contaminación de aguas. Tinopiro (*Thinopyrum intermedium*) es actualmente la especie con mayores posibilidades de consolidarse como un cultivo doble propósito de grano perenne para consumo humano en el mundo. Sin embargo, el mejoramiento genético se ha realizado en regiones frías de norte América. El objetivo general de este proyecto fue evaluar agrónomicamente familias de Tinopiro, conocer las posibilidades de mejoramiento genético dado el germoplasma estudiado y seleccionar germoplasma con adaptación agronómica básica a las condiciones templadas como las de Uruguay. Como objetivo específico, además nos propusimos conocer aquellos factores socio-económicos y percepciones de actores relevantes que favorecerían la adopción del cultivo. Treinta familias fueron evaluadas a campo por características de interés agronómico en la Estación experimental Mario A. Cassinoni, Paysandú, durante dos años consecutivos. La varianza genética asociada a estos caracteres fue importante tanto entre como dentro de las familias. Por su parte, la heredabilidad en sentido estricto fue de media a alta para la mayoría de los caracteres evaluados, indicando que la selección fenotípica convencional por estos caracteres sería factible otorgando importantes ganancias genéticas por cada ciclo de selección. La correlación genética entre varios componentes de rendimiento en grano y producción de forraje fue alta, indicando la posibilidad de seleccionar por rendimiento en grano y al mismo tiempo mejorar la producción de forraje bajo nuestras condiciones. A partir de la evaluación de planta individual (1000 plantas) durante dos años, utilizando un índice de selección estandarizado por precocidad y espigas por planta, se lograron seleccionar las mejores 6 plantas, cuya progenie se ha multiplicado y compone el núcleo de semilla con adaptación básica al que nos propusimos llegar con este proyecto. Tanto productores, técnicos como investigadores coinciden en que las mayores ventajas de un cultivo como Tinopiro radican en su condición de cultivo doble propósito, aumentando la diversificación el sistema productivo, permitiendo obtener ingresos adicionales. Por otro lado, el bajo costo de implantación, productividad de forraje y grano y capacidad de producción en suelos restrictivos son los factores principales destacados por estos actores, que favorecerían la adopción de Tinopiro en Uruguay. Los resultados de este proyecto son auspiciosos, aunque mucho queda por hacer para consolidar un cultivo con características agro-ambientales únicas como Tinopiro en nuestros sistemas de producción.

**Ciencias Agrícolas / Agricultura, Silvicultura y Pesca / Agricultura / Mejoramiento genético**

**Palabras clave: Granos perennes / sustentabilidad agrícola / mejoramiento genético en Kernza /**

## Introducción

La erosión del suelo ha contribuido a la pérdida de 430 millones de hectáreas de tierras cultivadas en el mundo, aproximadamente el 30% del total del área cultivable en el planeta (1). Los cultivos anuales, que dominan ampliamente la producción de granos a nivel mundial, ocupan más de dos terceras partes de la tierra cultivable del planeta y han explicado en parte, el deterioro del recurso suelo (2). A nivel nacional, se ha reportado que la inclusión de cero laboreo y un lapso de pasturas perennes fueron fundamentales para disminuir la escorrentía superficial y por lo tanto la erosión (3). La inclusión de especies perennes mantiene o mejora la calidad del suelo, al mantener los niveles de carbono orgánico y por ende la utilización del Nitrógeno por las plantas (4). El sistema agrícola basado en cultivos anuales, también posee alta incidencia en la dinámica del nitrógeno y el fósforo (5). Bajo este sistema productivo una importante fracción de lo incorporado de estos nutrientes se pierde (6). Entre 1950 y 2000 la agricultura y la producción agrícola para alimentación ganadera han aumentado los excedentes de la aplicación de N en 4 veces y de P en 5.5 veces (7). La agricultura actual posee un rol clave sobre la carga de N en los sistemas acuáticos (8). La magnitud de las pérdidas de nitratos se estiman sean hasta 50 veces más importantes bajo cultivos anuales que perennes (9). El P presenta menos tipos de fugas de los sistemas agrícolas (10), aunque este nutriente es uno de los directamente asociados al proceso de eutrofización de aguas (11).

Uruguay no es ajeno a esta problemática mundial, en aproximadamente 1.23 M ha de superficie dedicada a la agricultura, la totalidad se compone de cultivos anuales y sólo un 7% está en rotación con pasturas plurianuales (12). Bajo el mejor manejo en términos de sustentabilidad edáfica sin rotación con pasturas (agricultura continua sin laboreo), los suelos agrícolas de Uruguay se erosionan en promedio 1.7 veces más que el campo natural, compuesto mayoritariamente por especies perennes (13). Esta pérdida de suelo y agroquímicos hacia cursos de agua se ha hecho más evidente en las dos

últimas décadas debido al aumento del área agrícola y por ende, al uso de insumos químicos. En 2014 se importaron 165% más plaguicidas que en 2004 y en 2013, 186% más fertilizantes que en 2004 (14). Actualmente, la mayoría de los recursos acuáticos de Uruguay se consideran eutróficos, lo que indica un franco deterioro de este vital recurso (15). En efecto, de 149 especies de peces del río Uruguay y río Negro, en 143 fueron encontrados restos de pesticidas y su presencia fue asociada a la intensidad en el uso de los biocidas en cuestión y a las áreas agrícolas (16).

La agricultura por depender fuertemente de las condiciones climáticas, es considerada una de las actividades más vulnerables y de mayor riesgo frente al impacto del cambio climático (17). Con estaciones de crecimiento más cortas y sistemas radiculares menos desarrollados, los cultivos anuales proveen menos protección contra la erosión edáfica, poseen una menor eficiencia en el uso de agua y nutrientes, almacenan menores cantidades de carbono en el suelo y hacen al sistema de producción menos resiliente frente a estreses bióticos y abióticos que las comunidades perennes de plantas (18; 19; 20).

Aunque muchas especies han mostrado potencial para su domesticación como cultivo de grano perenne, Tinopiro (*Kernza-Intermediate wheatgrass-Thinopyrum intermedium*), por diversas razones ha resaltado entre ellas (21). Tinopiro es una gramínea perenne invernal miembro de las tritíceas cuyo origen geográfico se compone de una amplia región, abarcando casi en su totalidad a Eurasia (22; 23). En todas las regiones de EEUU y parte de Canadá, Tinopiro ha sido usado predominantemente como forraje para el engorde de ganado, dado su elevada producción de materia seca anual y calidad (24). Facilidad de trilla, peso y tamaño de semilla, resistencia a la sequía y a las heladas, altura de planta y madurez temprana son aspectos de relevancia agronómica identificados en la especie (21; 25; 26). El grano presenta altos niveles nutritivos en comparación al trigo actual aunque se remarca la necesidad de aumentar su contenido de gluten para mejorar su calidad de panificación (27; 28). Sin embargo, el rendimiento en grano aun presentan serias limitantes para su consolidación como cultivo netamente doble propósito. Hasta el momento, el mejor germoplasma disponible cosechado mecánicamente obtuvo un rendimiento aproximado de 950 Kg/ha-1 de semilla desnuda en Minnesota y un peso de mil granos de 15mg (29). De todas formas, mediante selección masal recurrente por rendimiento y sus componentes, la especie ha mostrado alta respuesta a la selección. Luego de dos generaciones de selección, el peso de semillas aumentó 23% y el rendimiento 77% (25). Por tanto, debido a sus aptitudes tanto forrajeras como graníferas, Tinopiro es considerado como un cultivo perenne con alto potencial doble propósito lo que implica la capacidad de este cultivo para proporcionar una doble fuente de ingresos y mayor flexibilidad en empresas agrícolas ganaderas (20; 30).

Muchos reportes remarcan un importante incremento en los servicios ecosistémicos por el hecho de incorporar a los sistemas agrícolas cultivos perennes (31; 32; 33; 34) y para el caso específico de Tinopiro se ha generado información muy relevante al respecto. Esta especie ha mantenido altas tasas de evapotranspiración, absorción neta de carbono y una muy alta eficiencia en el uso de agua en comparación a cultivos anuales (35). Por otro lado, en el segundo año de vida de la planta, se detectó una evidente mayor eficiencia en el uso del agua y nitratos (86% superior) en comparación al trigo anual (36). Debido a estas características, Tinopiro tiene el potencial de ser utilizado en regiones del mundo sin acceso a irrigación y con mínimos requerimientos de fertilización, por tanto es definido como un cultivo muy versátil, capaz de tolerar moderados niveles de sequía, salinidad, anegamiento y alcalinidad (37).

Contar con cultivos verdaderamente doble propósito (grano/forraje) es fundamental para el Uruguay, debido a su imposibilidad como país de incidir de alguna forma en el precio de los commodities (carne, granos, leche, lana). Dichos cultivos ofrecen la posibilidad de eventualmente priorizar entre la producción de forraje o granos según su precio internacional. Por otro lado, actualmente no existe en el agro uruguayo ninguna especie con verdaderos atributos doble propósito y menos aún con ciclo de vida perenne. Los intentos más importantes por lograr cultivos doble propósito han sido con especies como trigo y cebada (especies anuales), pero debido a diversos factores no han progresado de la manera esperada. La expansión de empresas netamente agrícolas que ha sufrido el país en los últimos tiempos, cuyo interés mayoritario es la producción de grano, ha conspirado en contra al desarrollo de la utilización de estos sistemas. En este sentido, Tinopiro no es, ni será en el corto plazo, un cultivo netamente granífero ni tampoco por supuesto anual, por lo que sus intereses productivos estarían mejor balanceados y sus manejos estarían lejos de presentar altas inversiones en cortos períodos de tiempo. Por otro lado, su conocida tolerancia a factores adversos como alcalinidad, salinidad, sequía y anegamiento, generan en esta especie importantes expectativas en el corto plazo para su posible incorporación en zonas restrictivas del agro uruguayo.

Los avances en mejoramiento genético para Tinopiro han tenido lugar en regiones muy diferentes a las de Uruguay (EEUU y Canadá). Sin embargo, tanto el medio oeste de EEUU y el cono sur de América contribuyen sustancialmente a la producción mundial de granos y ambas regiones han pasado del ecosistema de praderas nativas a sistemas de cultivos anuales. Este cambio en el uso de la tierra contribuyó a la reducción de la calidad del suelo y el agua, aumentó el uso de combustibles fósiles y la vulnerabilidad de los cultivos frente a eventos climáticos severos (38). En las regiones de baja latitud de América del Sur (Uruguay), los principales cultivos de invierno son el trigo, la cebada y la colza, cuyos cultivares

utilizados son en su mayoría primaverales. Los inviernos son predominantemente suaves y las temperaturas aumentan rápidamente durante la primavera, por lo que la antesis tardía conduce al llenado del grano bajo temperaturas desfavorablemente altas, disminuyendo el rendimiento (39). La expansión geográfica del kernza a estas regiones podría verse seriamente amenazada como cultivo de doble propósito debido a sus requerimientos de vernalización, aunque se ha detectado variabilidad fenotípica para estos requerimientos (40). Por tanto, este proyecto caracterizará fenotípicamente y genotípicamente por primera vez a nivel local germoplasma de Tinopiro e intentará, conocer las magnitudes de los componentes de la varianza genética y heredabilidad en sentido estricto y detectar germoplasma con adaptación agronómica básica para las condiciones climáticas de Uruguay. Esta adaptación básica implicará al final del proyecto, no sólo conocer los niveles de producción y calidad de forraje de esta nueva especie bajo condiciones templadas sino también contar con un material genético con capacidad de florecer (producir grano) a nivel local. Durante el transcurso del proyecto como forma de conocer las percepciones y posibles limitantes o amenazas para la adopción de este cultivo, se realizaron entrevistas con información tanto cualitativas como cuantitativas a actores sociales relevantes (productores familiares y empresariales, técnicos de empresas, cooperativas, representantes de organizaciones de productores locales y actores de la cadena de comercialización y exportación).

Debido al incipiente mejoramiento genético de la especie, a su sistema reproductivo (alógama/autoincompatible) y a la alta variabilidad fenotípica observada en el germoplasma evaluado en Madison y Paysandú durante el año 2017 y 2018, sería esperable la existencia de una elevada varianza genética, insumo obligado para obtener avances en la selección dentro del germoplasma de cualquier especie. Por otro lado, dados los cambios que la cosecha de forraje puede ejercer sobre la producción de grano y forraje en especies manejadas como cultivos de doble propósito, así como la incidencia de los diferentes ambientes de producción en la varianza fenotípica de los caracteres de interés, esperamos que las estimaciones de  $h^2$  para algunos caracteres agronómicos medidos en este experimento sean algo diferentes a los ya reportados en el hemisferio norte, lo que nos ayudaría a seleccionar mejor nuestros criterios de elección bajo nuestras latitudes. La estimación de  $h^2$  en una región de baja latitud con inviernos suaves (condiciones de Uruguay) donde Tinopiro tiene un gran potencial de manejo intensivo como cultivo doble propósito (tres cosechas de forraje y una de grano al año), como se hizo en este experimento, podría expandir este cultivo geográficamente a estas zonas a medio plazo, mediante el mejoramiento genético. En este sentido, el conocimiento de las correlaciones entre los caracteres de interés es útil para que los fitomejoradores determinen si la selección por un carácter tendrá un efecto sobre otro. Además, debido a la complejidad genética de algunos rasgos, podría ser muy importante conocer la correlación entre ellos y algún carácter menos complejo para seleccionar sobre este último. Debido a las posibilidades de doble propósito que ofrece el Kernza, y a que todavía se considera una especie en domesticación, el rango de rasgos a tener en cuenta como criterio de selección podría ser muy amplio, lo que acentúa la importancia de conocer las relaciones entre las variables agronómicas, en particular, entre las variables relacionados con el rendimiento del grano y los relacionados con el rendimiento del forraje. El hecho de evaluar y seleccionar germoplasma en un ambiente restrictivo en estímulos de vernalización (horas de frío predominantemente), como son las condiciones de Uruguay sumado a la variabilidad observada para esta característica en la especie, se espera obtener en un ciclo de selección avances en la capacidad de producción de grano de Tinopiro para nuestras condiciones de producción.

Debido al desconocimiento general de la especie, su inserción a nivel comercial presentará dificultades evidentes. Por tanto, conocer aquellas percepciones de actores calificados involucrados directamente en la producción agrícola-ganadera será fundamental para la adopción del cultivo. En este sentido, las entrevistas a realizar a actores relevantes de la producción agropecuaria a nivel nacional nos darán herramientas muy valiosas y no guiarán con el objetivo de levantar las limitantes, así como realzar las fortalezas claves para la adopción de Tinopiro en los sistemas de producción locales.

### **Metodología/diseño del estudio**

Para cumplir con el objetivo central de este proyecto se contará con dos poblaciones, una de ellas sembradas en el año 2018 en Paysandú (Uruguay) y la otra población se compone de plantas que luego de comprobar su capacidad para florecer en ensayos sembrados en el año 2017 en Paysandú (EEMAC) y Colonia (La Estanzuela) fueron trasplantadas a campo todas juntas a la EEMAC. De esas dos poblaciones se cosechará la semilla de las mejores plantas que hayan florecido nuevamente bajo las condiciones de Paysandú hacia el final del 2018. De esta forma, la progenie de cada planta cosechada compondrá una familia de medios hermanos para el año 2019. El uso de partida de germoplasma con bajos/nulos requerimientos de vernalización permitirá evaluar familias que tendrán incipiente adaptación a la producción de grano bajo las condiciones de Uruguay. Considerar este aspecto es fundamental, ya que las condiciones térmicas del clima en Uruguay no ofrecen suficiente frío en invierno a materiales con elevados requerimientos de frío para florecer. Las actividades para cumplir con el objetivo central de este proyecto comenzaron en abril del 2019 en Paysandú (EEMAC)

con la siembra de un ensayo de campo con las mejores 30 familias de medios hermanos pre-seleccionadas en 2018 en las dos poblaciones mediante un índice estandarizado de selección por precocidad y número de espigas por planta. Debido a que se contó con poca semilla, la siembra no pudo ser con sembradoras convencionales o experimentales, por tanto, con una adecuada identificación, se sembró cada semilla en pequeños cone tainers (pequeñas macetitas) los que estuvieron en invernáculo, para luego, en el estado de 3-4 hojas, ser trasplantadas al campo. La distancia del trasplante a campo fue de 60cm, tanto para la distancia entre plantas de una misma fila como para la distancia entre filas. Esta distancia permitió un desarrollo individual adecuado para cada planta y por ende una fácil identificación y medición. Cada familia en parcelas estuvo repetida tres veces en el ensayo y cada parcela se compuso de 12 plantas. Por tanto, el diseño experimental utilizado fue un diseño en bloques completamente aleatorizado con tres repeticiones.

En esas familias se evaluó por planta: floración (% de plantas florecidas), producción de forraje al verano, número de espigas, número de espiguillas por espiga, número de espiguillas, rendimiento en grano, índice de cosecha, rendimiento en grano por espiga, rendimiento en grano por espiguilla, tiempo a floración, tiempo a cosecha de grano, duración del llenado de grano, rebrote forrajero otoñal, tasa de rebrote forrajero otoñal y altura de planta. La medición de dichas variables sobre todas estas familias se realizó durante dos años (2019-2020) ya que al ser una especie perenne es fundamental conocer su comportamiento agronómico al cabo del mayor tiempo posible.

La heredabilidad en sentido estricto ( $h^2$ ) en base a la media de cada variable se estimó para cada año por separado y para ambos años según (41):

$$h^2 = \sigma^2_f / (\sigma^2_f + \sigma^2_e/r + \sigma^2_w/rn)$$

$$h^2 = \sigma^2_f / (\sigma^2_f + \sigma^2_{fy}/y + \sigma^2_{fe}/r + \sigma^2_{ry}/y + \sigma^2_w/rny)$$

donde  $\sigma^2_f$  es la varianza entre familia,  $\sigma^2_{fr}$  es la varianza familia x rep,  $\sigma^2_{fy}$  es la varianza familia x año,  $\sigma^2_{fyr}$  es la varianza familia x año x rep y  $\sigma^2_w$  es la varianza dentro de familia de medios hermanos (varianza residual). El número de réplicas, años y plantas individuales por parcela se muestran con r, y y n, respectivamente.

El coeficiente de variación genotípica (GCV) y el coeficiente de variación intrafamiliar (WFCV) se estimaron siguiendo a (42; 43) como:

$$GCV = (\sigma_{af}/\mu)100$$

$$WFCV = (\sigma_{aw}/\mu)100$$

donde  $\sigma_{af}$  es la desviación estándar del efecto genotípico (raíz cuadrada de la varianza entre familias,  $\sigma^2_f$ ),  $\sigma_w$  es la desviación estándar de la varianza dentro de la familia, y  $\mu$  es la media fenotípica.

La ganancia genética por ciclo ( $\Delta G$ ) de selección de plantas individuales se predijo utilizando la ecuación utilizada por Nguyen y Sleper (1983):

$$\Delta G = ckh^2 \sigma_{ap}$$

donde c es el coeficiente de control parental (es decir,  $c=0,5$  asumiendo que sólo las madres pueden ser controladas en un esquema de medios hermanos), k es el diferencial de selección estandarizado relacionado con la intensidad de la selección (es decir,  $k=1,4$  asumiendo una selección del 20% de los mejores individuos),  $h^2$  es la heredabilidad en sentido estricto, y  $\sigma_{ap}$  es la desviación estándar fenotípica.

Las correlaciones genéticas (r) entre las variables se estimaron a partir de los componentes de varianza y covarianza del análisis de familias de medios hermanos:

$$r_g = SG_{xy}/(SG_x.SG_y)$$

donde  $SG_{xy}$ ,  $SG_x$  y  $SG_y$  son la estimación de la covarianza genética y las desviaciones genéticas de las variables x e y, respectivamente.

Por otro lado, al final del 2020, sobre una porción de individuos de cada familia seleccionada al azar dentro de plantas florecidas previamente, se extrajo ADN a 432 genotipos y se envió a la universidad de Minnesota, donde se realizó el genotipado por secuenciación de la población de entrenamiento, la cual se utilizará para construir el modelo de predicción genómica que estimará los valores de cría de cada genotipo (se deberán comparar varios y seleccionar el de mayor ajuste). A la siguiente generación (abril del 2021) se sembrará en familias de medios hermanos de dicha progenie. La siembra al igual que la anterior será primero en cone tainers para luego trasplantar dichas plantas al campo. Parte de esa nueva población (el mismo número que la población de entrenamiento: 432 genotipos) se genotiparán y formarán la población de "testeo" o de "selección" en la que se realizará la selección temprana de los mejores individuos en base a sus valores de cría estimados de sus padres. Además, sobre esta misma población se seleccionarán fenotípicamente (tardíamente) los mejores individuos sin tomar en cuenta la información genotípica, para de esta forma comparar la respuesta a la selección lograda por selección genómica vs la respuesta a la selección lograda de forma clásica. Esta selección tardía implicará que durante el tercer año del proyecto (2021) se tomen el mismo tipo de datos agronómicos tomados durante los dos años previos a la generación anterior para que a fines de este tercer año (luego de la cosecha) se seleccionen fenotípicamente a los mejores individuos.

Con respecto a conocer las percepciones del cultivo y amenazas y fortalezas para su adopción en nuestros sistemas de producción, se realizarán entre 25 a 30 entrevistas a tres grupos de actores relevantes del sistema productivo, como ser: productores agrícolas ganaderos o lecheros del litoral norte, técnicos e investigadores. Para todas la entrevistas se dispondrá de una guía con información cuali y cuantitativa.

## Resultados, análisis y discusión

Se encontraron diferencias significativas entre las familias de medio hermanos para el porcentaje de floración, espiguillas por espiga, rendimiento por planta y por espiguilla, sugiriendo la presencia de control génico aditivo sobre la expresión de estas variables. El efecto del año fue significativo para la mayoría de las variables evaluadas, las únicas excepciones fueron: el porcentaje de floración, producción de forraje al verano y espiguillas por planta. En cambio, los efectos año x familia sólo fueron significativos para espiguillas por espiga, lo que podría indicar un progreso lento de la selección para esta variable agronómica. Tanto para GCV como para WFCV, el porcentaje de floración tuvo los valores más altos en ambos años, mientras que las variables fenológicas medidas (tiempo a floración, llenado de grano y tiempo a cosecha) tuvieron los valores más bajos. Los valores del coeficiente de variación intrafamiliar (WFCV) fueron muy elevados para la mayoría de las variables medidas y significativamente superiores a los mostrados por el coeficiente de variación genética (GCV) para ambos años. Esto podría explicarse por el hecho de que Tinopiro es una especie auto-incompatible y de polinización abierta, por lo que la variación genética intrafamiliar suele ser mayor que la variación interfamiliar en este tipo de especies (44). El porcentaje de floración, así como varios componentes de rendimiento del grano, presentaron elevados coeficientes de variación genética medidos como GCV y WFCV. Los caracteres relacionados con el rendimiento del forraje mostraron coeficientes de variación genética de moderados a altos. La producción de forraje al verano para la media de los dos años superó el 10% y el 50% del GCV y el WFCV, respectivamente, lo que supera con creces los valores de estos índices mostrados para especies como festuca alta (*Schedonorus arundinaceus* (Schreb.) Dumort., nom. cons.) (42). Por otro lado, para la altura de planta y el tiempo a floración, ambos coeficientes tuvieron valores bajos, en concordancia con los mostrados en cultivos como *Festuca alta*, *Bromus inermis* y *Dactylis glomerata* (42; 43; 46).

El rango de estimaciones de heredabilidad en sentido estricto ( $h^2$ ) y de ganancia genética esperada en los caracteres medidos fue muy amplio. El porcentaje de floración, rendimiento por espiga, rendimiento por espiguilla y tiempo a floración tuvieron un  $h^2$  moderadamente alto (más de 0,60), mientras que espigas por planta, duración del llenado de grano, tiempo a cosecha, rebrote forrajero otoñal, tasa de rebrote forrajero otoñal y altura de planta tuvieron valores de  $h^2$  moderados (de 0,30 a 0,60), el resto de las variables medidas tuvieron valores de  $h^2$  bajos (menos de 0,30).

Uno de nuestros resultados esperados se confirmó: los valores  $h^2$  de varios componentes de rendimiento en grano evaluados por primera vez en una región de baja latitud como la de Uruguay fueron diferentes de los registrados en regiones de alta latitud. En este estudio, los caracteres como Rendimiento por espiga y espigas por planta mostraron valores de  $h^2$  algo superiores a los pocos reportados en la literatura para Tinopiro, en cambio, los valores de  $h^2$  para rendimiento por planta y espiguillas por espiga estuvieron por debajo (47; 48; 49). En términos generales, y aunque las variaciones entre años fueron evidentes, las estimaciones de  $h^2$  fueron de moderadas a altas para la mayoría de los componentes de rendimiento en grano, por lo que se podrían obtener respuestas sustanciales a la selección en estos caracteres bajo condiciones similares a las del experimento.

Si bien existe una considerable variabilidad en los reportes de  $h^2$  para el rendimiento de forraje de otras especies, en Tinopiro la información generada es extremadamente escasa. En este estudio, la producción de forraje al verano mostró valores de  $h^2$  algo inferiores a los reportados para otros cultivos forrajeros (50; 51). Sin embargo, la  $h^2$  de la producción de forraje del rebrote otoñal fue de moderado a alta (0,54), similar al obtenido en *Bromus inermis* (43). Nuestras estimaciones de  $h^2$  podrían indicar que la selección fenotípica por la producción de forraje tanto al verano como del rebrote otoñal puede ser exitosa en Tinopiro para lograr ganancias genéticas en estos caracteres.

La mayoría de las variables fenológicas evaluadas (con alguna variación entre años) también tuvieron valores de  $h^2$  entre moderados y altos, en acuerdo con los valores mostrados para tiempo a floración para cultivos como *Lolium perenne* L. (0,14 - 0,45), *Bromus inermis* (0,65 - 0,81) y *Dactylis glomerata* (0,70 - 0,77) (52; 43; 46). En consecuencia, parece que la selección fenotípica para estos rasgos puede tener éxito y, por tanto, obtener altas ganancias genéticas.

Como esperábamos, se detectaron correlaciones genéticas positivas y significativas entre las variables de producción de forraje medidas y varios componentes del rendimiento de grano como espigas por planta, espiguillas por planta (primer año) y espigas por planta espiguillas por espiga, espiguillas por planta y rendimiento por planta (segundo año). Nuestros resultados mostraron la posibilidad de seleccionar por un mayor rendimiento de grano por planta y, al mismo tiempo, mejorar el rendimiento de forraje. No obstante, esta afirmación debe tomarse con cautela, ya que nuestro experimento se realizó con plantas espaciadas, y se ha demostrado que la producción de forraje de *Kernza* en condiciones de siembra comercial tiene un control genético mayormente diferente (53), lo que podría modificar la relación entre el rendimiento de

grano y el rendimiento de forraje en estas condiciones de producción. Las correlaciones genéticas entre rendimiento en grano por plantas y sus componentes (espigas por planta, espiguillas por espiga, espiguillas por planta, rendimiento por espiga y rendimiento por espiguilla) fueron positivas y altamente significativas en ambos años. Teniendo en cuenta esto último, la menor  $h^2$  estimada para rendimiento por planta que para sus componentes de rendimiento en grano y además que para Tinopiro esa variable ha mostrado una baja estabilidad y capacidad predictiva a través de los años (54), parecería prudente seleccionar por uno de los componentes de rendimiento de grano en lugar de seleccionar directamente por rendimiento por planta. El número de espigas por planta es uno de los principales componentes del rendimiento de grano en experimentos de plantas espaciadas de Tinopiro (48), por lo que debido a su alta correlación con el el rendimiento por planta y mayor  $h^2$  encontrado en este estudio, podría ser el principal candidato a ser seleccionado para mejorar el rendimiento de grano. Sin embargo, en condiciones de siembra comercial, un aumento o sobreproducción de macollos fértiles (espigas) se identifica como una debilidad importante en el mantenimiento de los rendimientos de grano a lo largo de los años en Tinopiro, ya que estaría aumentando la competencia entre las unidades reproductivas lo que probablemente explique la disminución del rendimiento de grano (55). Por lo tanto, rendimiento en grano por espiga, dada su alta correlación con el rendimiento por planta así como con otros componentes del rendimiento de grano y su  $h^2$  moderadamente alta, podría ser el principal carácter a seleccionar para mejorar el rendimiento de grano en Tinopiro. Sin embargo, en zonas geográficas donde los requerimientos de vernalización pueden no cumplirse en su totalidad (como las de este estudio), las plantas que son capaces de tener más macollos reproductivos pueden ser plantas con menores requerimientos de vernalización, ya que bajo las mismas condiciones climáticas, más macollos fueron estimulados para producir una espiga. Por lo tanto, el mejoramiento de Kernza para el rendimiento de grano en estas áreas y con germoplasma con fuerte variabilidad genética en términos de requerimientos de vernalización no debería excluir al carácter espigas por planta como una variable a ser seleccionada. Teniendo en cuenta todo lo expuesto anteriormente, quizás podamos tener dos opciones en este asunto: 1) utilizar el carácter espigas por planta como un criterio de selección fuerte sólo en los primeros ciclos de selección, 2) utilizar siempre el carácter espigas por planta como un carácter a seleccionar, pero con un bajo peso en relación a otras variables.

A partir de los dos años de evaluación de las 30 familias de medios hermanos en el experimento a campo en Paysandú, se seleccionaron las mejores 30 plantas según un índice estandarizado el cual tomó en cuenta precocidad y espigas por planta. Con estas nuevas 30 familias se estableció un nuevo experimento a campo el cual aún se sigue evaluando. Tomando cuenta a las variables evaluadas el primer año del ensayo de familias de medios hermanos (2019) y comparándolos con las mismas variables medidas el primer año de evaluación del ensayo de familias de medios hermanos de sembrado en el 2021 (segunda generación), se obtuvo una muy baja respuesta para espigas por planta aunque muy alta para precocidad (reducción del ciclo a floración). Sobre características de interés como rendimiento por planta, rendimiento por espigas e índice de cosecha, las consecuencias de este ciclo de selección fueron muy buenas ya que provocaron aumentos muy importantes en todos estos componentes, aunque por otro lado, se observó una fuerte reducción en la producción de materia seca del forraje. Desde la primer generación a la segunda el rendimiento por planta, rendimiento por espiga e índice de cosecha pasaron de 2.2 a 4.2 g, de 138 a 274 mg y de 2.1 a 7.6, respectivamente. Mientras que la producción de materia seca pasó de 99 a 47 g/planta.

La segunda generación experimentó un fuerte proceso de sequía ya que desde agosto a diciembre del 2021, las precipitaciones mensuales promedio fueron de 52 mm, mientras que durante el mismo período del 2019 (primera generación), los promedios mensuales fueron de 127 mm. Este evento de sequía muy probablemente pudo estar explicando el menor número de tallos fértiles y la reducción notoria en el rendimiento de forraje, afectando a la vez componentes de rendimiento en grano. De todos modos, el gran impacto en la reducción del tiempo a floración pudo haber ocasionado un mejor posicionamiento fenológico del cultivo a la oferta ambiental y por ende, explicar en gran medida el aumento en el rendimiento por planta observado con un solo ciclo de selección.

A partir de las muestras de ADN que se realizaron a 864 plantas de la primer generación (432) y de la segunda generación (432), por GBS se obtuvieron marcadores (SNPs) de 817 plantas. Las lecturas se alinearon con el genoma de referencia versión 2.1: [https://phytozome.next.jgi.doe.gov/info/Tintermedium\\_v2\\_1/](https://phytozome.next.jgi.doe.gov/info/Tintermedium_v2_1/). La alineación se hizo con los parámetros por defecto en bwa. Los SNPs fueron identificados usando samtools y bcftools con la mayoría de los parámetros por defecto, excepto por un cambio (-q 10) para mejorar el mapeo de las lecturas. Luego de un filtrado por mínima frecuencia alélica mayor a 3%, 18838 SNPs fueron los informativos. La construcción de estos marcadores nos posibilitarán dilucidar las ventajas

de la utilización de selección genómica en comparación a la selección masal recurrente en nuestras condiciones de producción. Por otro lado, también nos posibilitarán realizar estudios de mapeo asociativo sobre los caracteres agronómicos de interés evaluados en estas poblaciones.

La progenie (familias) de las mejores 6 plantas de las 30 seleccionadas para conformar la segunda generación, también

se sembraron en un experimento aparte para multiplicación y hoy componen la semilla núcleo con adaptación básica que nos propusimos obtener como producto final de este proyecto. La semilla de estas 6 plantas fue sembrada en otoño del 2021 en Paysandú y en el verano del 2021-2022 se cosecharon 230 g de semilla, la cual se sembró nuevamente en otro ensayo a campo en el otoño 2022 con el objetivo de multiplicar esta población.

Con el objetivo de conocer la opinión de actores relevantes de nuestros sistemas de producción agropecuarios acerca de las percepciones y posibilidades de adopción de Tinopiro en Uruguay, se realizaron 30 entrevistas a productores, técnicos e investigadores cuya área de influencia es el litoral del país. Los productores resaltan que Tinopiro es una alternativa interesante, básicamente porque es una manera de diversificar el sistema (producción de grano y forraje) además de no tener que implantarse todos los años permitiendo una mayor flexibilidad en el manejo. Técnicos e investigadores también resaltan la mayor diversificación que ofrecería un cultivo como Tinopiro, además de los aportes de la perennidad en términos de conservación de suelos y sustentabilidad en los sistemas donde este cultivo pueda ser utilizado. Entre los factores que podrían limitar su adopción la facilidad de manejo y el costo de implantación así como de mantenimiento fueron los más destacados para los tres tipos de actores (productores, técnicos e investigadores). En este sentido, los técnicos e investigadores también señalaron que el potencial productivo tanto de grano como de forraje, su posibilidad de adaptación agronómica a suelos restrictivos, así como el resultado económico global de Tinopiro son piezas claves a atender para el éxito del cultivo en la región.

### **Conclusiones y recomendaciones**

Se detectaron altas magnitudes de variación genética para la mayoría de los caracteres agronómicos evaluados, lo que pone de manifiesto el alto potencial del germoplasma estudiado para la mejora genética. Teniendo en cuenta los altos niveles estimados de WFCV en comparación con el GCV para todos los caracteres evaluados, un método de selección que incluya la selección intra-familiar puede ser adecuado. El porcentaje de floración, rendimiento en grano por espiga, rendimiento por espiguilla, tiempo a floración, número de espigas por planta, duración del llenado de grano, tiempo a cosecha (ciclo total), producción de forraje del rebrote otoñal, tasa de producción de forraje del rebrote otoñal y altura de planta tuvieron valores  $h^2$  de altos a moderados, lo que sugiere que la selección fenotípica podría ser exitosa para lograr progreso genético en estos caracteres. El rendimiento en grano por espiga parece ser la variable central a seleccionar para mejorar el rendimiento del grano, aunque en regiones geográficas donde los estímulos de vernalización son limitados como las condiciones de Uruguay, el número de espigas por planta podría ser otra variable importante a considerar. En condiciones de campo y bajo un manejo doble propósito de Tinopiro, se detectaron correlaciones significativas entre la mayoría de los componentes de rendimiento en grano y de producción de forraje, lo que demuestra la posibilidad de mejorar simultáneamente ambos tipos de caracteres de interés agronómico. Es necesario seguir investigando bajo sistemas de siembra comercial de pradera para aclarar los caracteres clave a seleccionar en Tinopiro bajo las condiciones de Uruguay.

Se desarrolló el primer genotipado masivo para Tinopiro con germoplasma de interés y bajo evaluación local, lo que nos posibilitará dilucidar las ventajas reales de la selección genómica frente a la selección masal clásica para este tramo histórico incipiente del mejoramiento de la especie en Uruguay.

Productores, técnicos e investigadores destacan las fortalezas agro-ambientales que una especie como Tinopiro ofrecería a los sistemas agropecuarios en estas regiones. Sin embargo, también estos actores resaltan factores clave a desarrollar información local para efectivizar la adopción como ser: manejo agronómico, costos del cultivo, performance productiva, adaptación a diferentes zonas y precio de colocación del grano.

## Referencias bibliográficas

- 1-Lal, R., Soil erosion and land degradation: the global risks. In *Advances in Soil Science*, Vol. 11. Springer- Verlag, New York, 1990, pp. 129±172.
- 2-Cox et al.2006. Prospects for developing perennial grain crops. *Biosci.* 56:649–659.
- 3-Ernst O, Siri-Prieto G. Impact of perennial pasture and tillage systems on carbon input and soil quality indicators. 2009. *Soil and Tillage Research.* 105:260-268.
- 4-García-Lamothe, A., 1994. Manejo del nitrógeno para aumentar la productividad de trigo (Nitrogen management to increase wheat productivity). Serie Técnica No. 54. INIA-Uruguay, p.27.
- 5-Liu J, et al. (2010) A high-resolution assessment on global nitrogen flows in cropland. *Proc Natl Acad Sci USA* 107:8035–8040.
- 6-Ladha et al., 2005. Efficiency of fertilizer nitrogen in cereal production: retrospects and prospects. *Adv. Agron.* 27, 85–156.
- 7-Bouwman, L. et al. 2011: Exploring global changes in nitrogen and phosphorus cycles in agriculture induced by livestock production over the 1900–2050 period. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, doi:10.1073/pnas.1012878108.
- 8-Kroening SE. 1996. Nitrogen and phosphorus in streams in part of the upper Mississippi river basin, Minnesota and Wisconsin, 1984-93. P.37-44. In WHC Maxwell et al. (ed.)*Proc. Rivertech96*, 1st Int. Conf. on New/Emerging concepts for rivers, Chicago, IL.22-26 Sept. 1996. *Int. Water Resour. Assoc.*, Urbana, IL.
- 9-Randall GW, Mulla D. 2001. Nitrate nitrogen in surface waters as influenced by climatic conditions and agricultural practices. *Journal of Environmental Quality* 30: 337–344.
- 10-Childers DL, et al. 2011. Sustainability Challenges of Phosphorus and Food: Solutions from Closing the Human Phosphorus Cycle. *BioScience.* 61(2):117-124.
- 11-Søndergaard, M. et al. Role of sediment and internal loading of phosphorus in shallow lakes *Hydrobiologia* 506-509,135-145 (2003).
- 12 - D I E A , M G A P . 2 0 1 6 . E n c u e s t a a g r í c o l a p r i m a v e r a 2 0 1 6 . [www.mgap.gub.uy/sites/default/files/publicacion\\_primavera2016.pdf](http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/publicacion_primavera2016.pdf)
- 13-Clerici C, García Préchac F (2001). Aplicaciones del modelo USLE/RUSLE para estimar pérdidas de suelo por erosión en Uruguay y la región sur de la cuenca del río de la plata. *Agrociencia.* 1:92-103. [http://www.opp.gub.uy/images/ReporteUruguay2015\\_OPP\\_web.pdf](http://www.opp.gub.uy/images/ReporteUruguay2015_OPP_web.pdf)
- 15- Kruk C., Suárez C., Ríos M., Zaldúa N., Martinod D. (2013). Análisis Calidad de Agua en Uruguay Obtenido el 5 de junio de 2016, <http://vidasilvestre.org.uy/wpcontent/uploads/2013/09/informeaguafinalcm1.pdf>
- 16- Ernst F, Alonso B, Colazzo C, Pareja L, Cesio V, Pereira A et al. 2018. Occurrence of pesticide residues in fish from south American rainfed agroecosystems. *Science of the Total Environment.* (631–632) 169–179.
- 17-Reilly, J.1995, 'Climate change and global agriculture: Recent findings and issues', *Amer. J. Agric. Econ.* 77, 727–733.
- 18-Glover J.2005. The necessity and possibility of perennial grain crops. *Renewable Agriculture and Food Systems* 20: 1–4.
- 19-Gomiero, T.(2016). Soil degradation, land scarcity and food security: Reviewing a complex challenge. *Sustainability,* 8,281.
- 20-Jungers, J. M., et al., (2019). Reduced nitrate leaching in a perennial grain crop compared to maize in the Upper Midwest, USA. *Agriculture, Ecosystems and Environment,* 272,63–73.
- 21- Wagoner, P., Schauer, A., 1990. Intermediate wheatgrass as a perennial grain crop. In: Janick, J., Simon, J.E. (Eds.), *Advances in New Crops.* Timber Press, Portland, OR, pp. 143e145.
- 22- Tzvelev, N.N. (1976). Poaceae, URSS. In: A. A. Fedorov (Ed.), *Triticeae Dum.* Nauka Publ. House, Leningrad, USSR. (pp. 105—206).
- 23- Mahelka, V., Kopecky, D. & Pastova, L. (2011). On the genome constitution and evolution of intermediate wheatgrass (*Thinopyrum intermedium*: Poaceae, Triticeae). *BMC Evolutionary Biology,* 11.
- 24- Moore, K.J., K.P. Vogel, T.J. Klopfenstein, R.A. Masters, and B.E. Anderson. 1995. Evaluation of four intermediate wheatgrass populations under grazing. *Agron. J.* 87:744.
- 25- Wagoner, P., Schauer, A., 1990. Intermediate wheatgrass as a perennial grain crop. In: Janick, J., Simon, J.E. (Eds.), *Advances in New Crops.* Timber Press, Portland, OR, pp. 143e145.
- 26- DeHaan, L.R., S. Wang, S. Larson, T. Kantarski, X. Zhang, and D. Cattani. 2014. Current efforts to develop perennial wheat and domesticate *Thinopyrum intermedium* as a perennial grain. In: C. Batello et al., editors, *Perennial crops for food*

- security: Proc. of the FAO expert workshop. p. 72–89.
- 27- Becker, R., Wagoner, P., Hanners, G. D., & Saunders, R. M. (1991). Compositional, Nutritional and Functional-Evaluation of Intermediate Wheatgrass (*Thinopyrum- Intermedium*). *Journal of Food Processing and Preservation*, 15(1), 63–77.
- 28- Rahardjo CP. 2017. Chemical Characterization, Functionality, and Baking Quality of Intermediate Wheatgrass (*Thinopyrum intermedium*). A thesis submitted to the faculty
- 29- Zhang X, Sallam A, Gao L, Kantarski T, Poland J, DeHaan LR, Wyse DL, and Anderson JA. (2016) Establishment and Optimization of Genomic Selection to Accelerate the Domestication and Improvement of Intermediate Wheatgrass. *Crop Science Society of America*. 9 (1) 1-18. of university of minnesota in partial fulfillment of the requirements for the degree of master of science. 124p.
- 30- Bell L.W. F. Byrne M.A. Ewing and L.J. Wade. 2008. A preliminary whole-farm economic analysis of perennial wheat in an Australian dryland farming system. *Agric. Syst.* 96:166–174.
- 31- Tilman, D., Hill, J. & Lehman, C. (2006) Carbon-negative biofuels from low-input highdiversity grassland biomass. *Science* 314, 1598–1600.
- 32- Glover, J.D., Cox, C.M., Reganold, J.P., 2007. Future farming: a return to roots? *Sci. Am.* 297, 66–73.
- 33- Chimento, C., Amaducci, S., 2015. Characterization of fine root system and potential contribution to soil organic carbon of six perennial bioenergy crops. *Biomass Bioenergy* 83, 116–122.
- 34- Amaducci, S., Facciotto, G., Bergante, S., Perego, A., Serra, P., Ferrarini, A., Chimento, C., 2016. Biomass production and energy balance of herbaceous and woody crops on marginal soils in the Po valley. *Glob. Chang. Biol. Bioenergy* 9, 31–45.
- 35- de Oliveira, G.; Brunzell, N.A.; Sutherlin, C.E.; Crews, T.E.; DeHaan, L.R. Energy, water and carbon exchange over a perennial *Kernza* wheatgrass crop. *Agric. For. Meteorol.* 2018, 249, 120–137.
- 36- Culman, S.W., S.S. Snapp, M. Ollenburger, B. Basso, and L.R. DeHaan. 2013. Soil and water quality rapidly responds to the perennial grain *Kernza* wheatgrass. *Agron. J.* 105:735–744.
- 37- Moore KJ. Compendium of common forages. In *Forages: An Introduction to Grassland Agriculture*, 6th ed.; Barnes RF, Nelson CJ, Collins M, Moore KJ., Eds.; Iowa State University Press: Ames, IA, USA, 2003.
- 38- Modernel, P., Rossing, W. A., Corbeels, M., Dogliotti, S., Picasso, V., & Tittonell, P. (2016). Land use change and ecosystem service provision in Pampas and Campos grasslands of southern South America. *Environmental Research Letters*, 11(11), 113002. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/11/11/113002>
- 39- Locatelli, A., Bhatta, M., Gutiérrez, L., Mastandrea, N., Viega, L., & Castro, A. J. (2022a). Genetic control of barley phenology in South American environments. *Euphytica*, 218(5), 1-16. <https://doi.org/10.1007/s10681-022-02993-2>
- 40- Locatelli, A., Gutiérrez, L., & Picasso Risso, V. D. (2022b). Vernalization requirements of *Kernza*™ intermediate wheatgrass (*Thinopyrum intermedium*). *Crop Science*, 62, 524-535. <https://doi.org/10.1002/csc2.20667>
- 41- Nguyen HT, Sleper DA (1983) Theory and application of half-sib mating in forage grass breeding. *Theor Appl Genet* 64:187–196.
- 42- Majidi MM, Mirlohi AF, Amini F (2009) Genetic variation, heritability and correlations of agro-morphological traits in tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.). *Euphytica* 167:323–331
- 43- Araghi B, Barati M, Majidi MM, Mirlohi A (2014) Application of half-sib mating for genetic analysis of forage yield and related traits in *Bromus inermis*. *Euphytica* 196:25–34.
- 44- Saha, M. C. (2014). Tall Fescue. In H. Cai, T. Yamada, & C. Kole (Ed.), *Genetics, genomics and breeding of forage crops* (pp. 58–89). CRC Press.
- 45- Evans, L. T. (1964). Reproduction. In C. Barnard (Ed.), *Grasses and grasslands* (pp. 126–153). Macmillan.
- 46- Majidi MM, Hoseini B, Abtahi M, Mirlohi A, Araghi B (2015) Genetic analysis of seed related traits in orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) under normal and drought stress conditions. *Euphytica* 203:409–420.
- 47- DeHaan, L., Christians, M., Crain, J., & Poland, J. (2018). Development and evolution of an intermediate wheatgrass domestication program. *Sustainability*, 10, 1499.
- 48- Altendorf KR, DeHaan LR, Heineck GC, Zhang X, Anderson JA. 2020. Floret site utilization and reproductive tiller number are primary components of grain yield in intermediate wheatgrass spaced plants. *Crop Sci.*
- 49- Crain, J., Haghigattalab, A., DeHaan, L., & Poland, J. (2021b). Development of whole-genome prediction models to increase the rate of genetic gain in intermediate wheatgrass (*Thinopyrum intermedium*) breeding. *The Plant Genome*, e20089
- 50- De-Araujo MRA, Coulman BE (2002) Genetic variation, heritability and progeny testing in meadow brome grass. *Plant Breeding* 121:417–427.
- 51- Amini, F., Majidi, M. M., & Mirlohi, A. (2013). Genetic and genotype × environment interaction analysis for agronomical and some morphological traits in half-sib families of tall fescue. *Crop Science*, 53(2), 411-421.
- 52- Elgersma, A. 1990. Heritability estimates of spaced-plant trait in three perennial rye grass (*Lolium perenne* L.).

Euphytica 51: 163:171.

53- Mortenson, J. S., Waldron, B. L., Larson, S. R., Jensen, K. B., DeHaan, L. R., Peel, Michael D., . . . Creech, J. Earl (2019). Quantitative trait loci (QTL) for forage traits in intermediate wheatgrass when grown as spaced-plants versus monoculture and polyculture swards. *Agronomy*, 9, 580–588.

54- Cattani, D. (2017). Selection of a perennial grain for seed productivity across years: Intermediate wheatgrass as a test species. *Canadian Journal of Plant Science*, 97(3).

55- Hunter, M.C.; Sheaffer, C.C.; Culman, S.W.; Jungers, J.M. Effects of defoliation and row spacing on intermediate wheatgrass I: Grain production. *Agron. J.* 2020, 112, 1748–1763.

## **Licenciamiento**

Reconocimiento 4.0 Internacional. (CC BY)