

TESIS DE DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

**ECOLOGÍA REPRODUCTIVA DE FABACEAE NATIVAS
FORRAJERAS EN DIFERENTES ESCENARIOS
POST-FUEGO DE LAS SIERRAS CHICAS DE CÓRDOBA
(ARGENTINA)**

por

Ing. Agr. Lucas Manuel Carbone

Director: **Dr. Ramiro Aguilar**

Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (CONICET-UNC)



**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES
UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA**

Córdoba, Argentina

2017



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución – No Comercial - Compartir igual.

<http://www.creativecommons.org.ar/licencias.html>



Este documento se encuentra disponible en el Repositorio Digital de la Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

<https://rdu.unc.edu.ar/>

COMISIÓN ASESORA

Dr. **Ramiro Aguilar**. Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV, CONICET-UNC), Córdoba.

Dra. **Natacha Chacoff**. Instituto de Ecología Regional (IER, CONICET- UNT), Tucumán.

Dr. **Guillermo E. Defossé**. Centro de Investigación y Extensión Forestal Andino Patagónico (CIEFAP, CONICET-UNPA), Esquel.

DEFENSA ORAL Y PÚBLICA

Lugar y Fecha:

Calificación:

TRIBUNAL

Firma: **Aclaración:**

Firma: **Aclaración:**

Firma: **Aclaración:**

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis ha sido posible gracias al apoyo y a la ayuda desinteresada de muchas personas e instituciones que aportaron su tiempo, recursos, espacio físico, conocimientos y principalmente su confianza.

A mi familia, especialmente mis padres, mi hermano y mi nona, por apoyarme constantemente a la distancia, por apostar a mi carrera a los cuatro vientos y por ser mi referencia para la vida.

A mi familia del corazón, Mati y Bruni, por ser mi sustento en el día a día de esta tesis y por compartir los momentos más sencillos y felices de esta vida.

A mi gran amiga y hermana de la vida, Ana, por recorrer juntos tantos caminos.

A Juanjo y Nuria, Sara y Jose, y tantos otros amigos que me ha dado la vida.

Un especial agradecimiento a mi director, Ramiro, una persona a quien admiro, que ha apostado lo mejor de sí para mi formación académica, que me ha dado la libertad de pensar sin barreras y me ha transmitido ese apasionado modo de vivir la ciencia.

A mi co-directora, Elsa, quien ha formado mi perfil taxonómico y apostó todo desde estudiante al inicio de este trayecto en investigación, además de inculcarme su gran pasión por la docencia y sus valiosos valores como persona.

A los miembros de la Comisión Asesora y del Tribunal Evaluador, Dra. Natacha Chacoff, Dra. Melisa Giorgis y Dr. Guillermo Defossé, quienes ayudaron a mejorar considerablemente la calidad de esta tesis con sus oportunos y detallados comentarios.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnica (CONICET) por otorgarme una beca para la realización de este doctorado. A la Facultad de Ciencias Agropecuarias (UNC), a la Secretaría de Ciencia y Técnica (UNC) y al Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (CONICET-UNC) por brindarme su infraestructura y financiación para realizar esta tesis.

A mis compañeros del Laboratorio de Interacciones Ecológicas y Conservación (IMBIV): Julia C., Lore, Nati, Anita, Julia A., Ana Laura, Fer, Evange, Cele, Juli B., Magui, Gio, Gabriel, Gonzalo, por hacer que mi lugar de trabajo sea mi segundo hogar y compartir cotidianamente sus valiosos saberes mezclados con la simpleza de un mate.

A mis compañeros de Botánica Taxonómica y del Herbario ACOR (FCA-UNC), Marta, Stella, Gustavo, Rita, Virginia, Jimena, Guillermo, Melina, Roberto, Paula, Claudia, por disfrutar juntos del encanto de aprender, trabajar y enseñar el mundo de las plantas.

A mis amigos, compañeros y ayudantes de campo, Julia T., Lucho, Matías Wajner, Matias Castillo Moine, Cesar y Paula por compartir juntos largas e inolvidables horas de trabajo bajo el sol serrano.

A Ana Calviño, por su constante y desinteresado asesoramiento en los desafiantes caminos estadísticos.

A Julia Tavella, por su valioso asesoramiento y guía con los análisis de diversidad.

A Juan Pablo Argañaraz, Melisa Giorgis, Julio Vallejos y al Plan Provincial de Manejo del Fuego, por su inestimable ayuda sobre la historia de incendios de las Sierras Chicas que permitieron iniciar este trabajo a partir de detallados registros y mapas de los incendios.

A los propietarios de los campos que permitieron realizar los muestreos: Maxi Indarte, Kevin Begg, Bartolomé Ayende, Don León, Diego Buteler, y en especial a la Familia Malanca, quienes esperan ansiosamente mi visita al campo para compartir su particular vivencia de la naturaleza.

A Elinor Tulián, maestra de la escuela rural Gregoria Matorras en La Estancita, y a sus pequeños alumnos, por predisponer su institución, su paisaje y entusiasmo a nuestras rutinarias visitas.

A Arturo Terán y a Claudio Sosa, por su generosa ayuda en la identificación de los brúquidos y de las abejas, respectivamente.

A todos lo que de alguna u otra manera han contribuido en la realización de esta tesis doctoral.

PUBLICACIONES DERIVADAS DE ESTA TESIS

- ✓ Carbone L.M. & Aguilar, R. 2016. Contrasting effects of fire frequency on plant traits of three dominant perennial herbs from Chaco Serrano. *Austral Ecology* 41(7), 778-790.
- ✓ Carbone L.M., Fuentes E. & Aguilar R. 2015. Interacción entre polinizadores y Fabaceae nativas forrajeras en escenarios post-fuego del Chaco Serrano. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*: 50 (Supl.): 103.
- ✓ Carbone L.M., Aguilar R. & Fuentes E. 2013. Caracteres funcionales y herbivoría en Fabaceae nativas Forrajeras en relación al fuego. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*: 48 (Supl.): 34-35.
- ✓ Carbone L.M. & Martinat J.E. 2012. Efecto de la depredación pre-dispersiva de semillas por Bruchidae (Coleoptera) en la germinación de *Rhynchosia edulis* Griseb. (Fabaceae). V Jornadas Integradas de Investigación y Extensión. Facultad Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba. ISSN: 978-987-1925-01-8.

ÍNDICE

Resumen	13
Summary	15
Introducción General	17
Estrategias de regeneración post-fuego.....	20
Fuego en las Sierras del centro de Argentina.....	22
Objetivo general.....	25
Objetivos específicos.....	25
Materiales y Métodos Generales	27
Área de estudio.....	27
Selección de sitios de muestreo.....	28
Especies vegetales estudiadas.....	33
Descripción botánica.....	33
Caracterización de la comunidad de plantas en los sitios de estudio.....	38
Análisis estadísticos.....	40
Capítulo I: Efectos de la frecuencia de fuego sobre caracteres foliares	41
Introducción.....	41
Materiales y métodos.....	46
Propiedades edáficas.....	46
Muestreo y mediciones.....	46
Análisis de datos.....	47
Resultados.....	49
Propiedades del suelo.....	49
Variabilidad intraespecífica de caracteres foliares.....	50
Variabilidad intraespecífica de nutrientes foliares y biomasa.....	50
Relación entre calidad de suelo y caracteres foliares.....	53
Respuesta interespecífica del AFE y nutrientes foliares.....	54
Discusión.....	55
Capítulo II: Efectos de la frecuencia de fuego sobre la reproducción: importancia de polinizadores y disponibilidad de recursos	61
Introducción.....	61
Materiales y métodos.....	65
Especies estudiadas.....	65
Interacción planta-polinizador.....	66

Reproducción.....	67
Análisis de datos.....	67
Resultados.....	69
Interacción planta-polinizador.....	69
Reproducción.....	74
Relación entre polinizadores y reproducción.....	77
Relación entre recursos abióticos y reproducción.....	79
Discusión.....	80
Capítulo III: Efectos de la frecuencia de fuego sobre el éxito reproductivo de <i>Rhynchosia edulis</i>: importancia de caracteres vegetativos e interacciones bióticas.....	89
Introducción.....	89
Materiales y métodos.....	94
Análisis de datos.....	95
Resultados.....	97
Niveles de polinización, herbivoría y depredación de semillas.....	97
Análisis de rutas.....	100
Discusión.....	102
Capítulo IV: Efecto de la frecuencia de fuego sobre la progenie: análisis desde una perspectiva ecológica y evolutiva.....	107
Introducción.....	107
Materiales y métodos.....	111
Especies estudiadas y diseño experimental.....	111
Análisis de datos.....	115
Resultados.....	116
Vigor de progenies.....	116
Masa de semillas y germinación.....	116
Tasa de crecimiento relativa.....	117
Biomasa.....	119
Vigor multiplicativo.....	120
Heredabilidad de caracteres foliares.....	121
Discusión.....	123
Efecto del fuego sobre el vigor de la progenie.....	123
Heredabilidad de caracteres foliares en escenarios post-fuego	125
Discusión y Conclusiones Generales.....	129

Conclusiones principales.....	140
Apéndices.....	143
Apéndice I. Régimen de precipitaciones.....	143
Apéndice II. Caracterización de la comunidad de plantas en diferentes escenarios de frecuencia de fuego del Chaco Serrano.....	144
Apéndice III. Composición florística de los escenarios con diferente frecuencia de fuego del Chaco Serrano	150
Apéndice IV. Proporción de flores cleistógamas y frutos cleistógamos producidos por individuos de <i>Cologania broussonetii</i> en sitios del Chaco Serrano con diferente frecuencia de fuego.....	156
Apéndice V. Esfuerzo de muestreo destinado para registrar visitantes florales y frecuencia de visitas.....	157
Apéndice VI. Visitantes florales más frecuentes.....	158
Apéndice VII. Insectos folívoros de las Fabaceae estudiadas.....	159
Apéndice VIII. Depredación pre-dispersiva de semillas de <i>Rhynchosia edulis</i> por el brúquido <i>Acanthoscelides</i> sp.	160
Bibliografía.....	161

RESUMEN

El fuego es un disturbio presente en la mayoría de los ecosistemas terrestres, el cual modela la distribución, estructura y dinámica de los biomas del mundo. El impacto del fuego sobre las plantas depende del régimen de fuego natural de una región. Las actividades antrópicas pueden alterar los regímenes de fuego afectando procesos ecológicos y la dinámica demográfica de poblaciones vegetales. Las Sierras Chicas conforman la región del centro de Argentina más afectada por incendios forestales y actualmente los regímenes de fuego en esta región poseen una elevada frecuencia producto de actividades antrópicas, presentando el mayor número de incendios y área quemada (~25 %) en los últimos 15 años. En estos ambientes, varias especies de Fabaceae son el componente principal del rebrote post-fuego y además representan recursos forrajeros espontáneos en sitios incendiados. Entre ellas se encuentran *Cologania broussonetii*, *Desmodium uncinatum* y *Rhynchosia edulis*, las que no solo abundan en sitios con fuegos recurrentes, sino que también son unas de las Fabaceae herbáceas más abundantes del Chaco Serrano.

El incremento en la frecuencia de fuego puede causar importantes cambios en el suelo, lo que a su vez puede afectar caracteres vegetativos y reproductivos, incidiendo sobre las tasas de crecimiento y la reproducción, respectivamente. El fuego también puede modificar la capacidad de asimilar recursos abióticos de las plantas, limitando la producción de frutos y semillas. Además, la reproducción sexual de las plantas es determinada por interacciones bióticas mutualistas y antagonistas. Los cambios en los regímenes de fuego pueden afectar la interacción planta-polinizador, de manera directa provocando mortalidad de polinizadores o bien disminuyendo su abundancia por una menor calidad de recursos florales y menos sitios de nidificación. El fuego también puede incidir negativamente sobre antagonistas como herbívoros y depredadores de semillas, alterando los patrones de daño sobre los órganos fotosintetizantes y la cantidad y las características de la progenie. De esta manera, una disminución de los antagonismos compensaría la disminución del mutualismo de la polinización en escenarios de alta frecuencia de fuego. Por otro lado, la frecuencia de fuego puede afectar a las características de la progenie a través de modificar los patrones de apareamiento y ejercer presión de selección sobre ciertos rasgos.

El objetivo de la tesis es evaluar la respuesta ecológica de *C. broussonetii*, *D. uncinatum* y *R. edulis* en diferentes escenarios de frecuencia de fuego del Chaco Serrano.

Específicamente se plantea analizar los efectos de la frecuencia de fuego sobre: (i) las propiedades edáficas y la variabilidad intraespecífica de caracteres funcionales vegetativos, (ii) la interacción con polinizadores y el éxito reproductivo, (iii) las interacciones antagonistas y mutualistas que determinan la reproducción sexual y (iv) el vigor de progenies y la evolución de caracteres foliares. Se encontró que ciertos caracteres funcionales foliares fueron modelados a nivel intraespecífico por cambios edáficos inducidos por la frecuencia de fuego, pero con respuestas contrastantes entre caracteres morfométricos y nutricionales. El éxito reproductivo disminuyó en escenarios de alta frecuencia de fuego, reducción que fue más abrupta en la especie más dependiente de polinizadores. La polinización y la depredación de semillas no fueron afectadas por la frecuencia de fuego, pero la herbivoría mostró un fuerte incremento en sitios más quemados. Sin embargo, estas interacciones no influyeron significativamente en la reproducción sexual. Las variaciones en el éxito reproductivo fueron explicadas por una limitación de recursos abióticos inducida por la frecuencia de fuego. El vigor de la progenie no fue afectada por la frecuencia de fuego. La variación de caracteres foliares inducidos por el fuego en plantas madre es el resultado de plasticidad fenotípica y no por un proceso de adaptación a la frecuencia de fuego. Esta tesis contribuye al conocimiento de la ecología del fuego de especies nativas forrajeras en escenarios del Chaco Serrano con diferente frecuencia de fuego.

SUMMARY

Fire is a disturbance present in most terrestrial ecosystems, shaping the distribution, structure and dynamics of biomes worldwide. The impact of fire on plants depends on the natural fire regime of a region. Anthropogenic activities such as land-use changes, human population growth and the consequent global warming, can modify fire regimes affecting ecological processes and plant population demographic dynamics. Sierras Chicas from central Argentina is the region most affected by wildland fires, presenting the highest fire number and burning area (~25 %) in the last years as a result of human activities. In these environments, several native Fabaceae are an important component of post-fire resprouting and also serve as foraging resources for cattle. Among these species are *Cologania broussonetii*, *Desmodium uncinatum* and *Rhynchosia edulis*, which are highly frequent in frequently burnt sites but also the most abundant herbaceous Fabaceae from Chaco Serrano forest.

Increases in fire frequency can alter soil properties, thereby affecting plant functional traits related to plant regeneration. In particular, some leaf and reproductive traits can respond to fire effects at the intraspecific level, affecting plant growth rates and reproduction, respectively. Fire can also limit plant ability to assimilate abiotic resources, affecting fruit and seed set. In addition, sexual reproduction of plants is influenced by antagonistic and mutualistic interactions. Fire can directly affect pollinators by increasing their mortality, or indirectly through changes in the quality and quantity of floral and nesting resources. Besides, fire decrease herbivores and seed predators, affecting the level of leaf damage and the quantity and quality of progeny. Thus, decreased antagonistic interactions may compensate lower pollination levels in high fire frequency scenarios. On the other hand, the quality of progeny can be affected through changes in mating patterns imposed by fire. The aim of this thesis is to assess the reproductive ecology of three native Fabaceae species in different fire frequency scenarios from Chaco Serrano. Specifically, to analyse how fire frequency affects: (i) soil properties and intraspecific variability of vegetative functional traits, (ii) plant-pollinators interaction and reproductive success, (iii) the net effects of mutualistic and antagonistic interactions on plant reproductive output and (iv) progeny vigour and evolution of leaf functional traits.

Fire frequency caused a strong decrease in certain fundamental soil quality parameters, which in turn drastically modified intraspecific leaf functional traits, with contrasting

effects in morphometric vs nutritional traits within the same plant species. Plant reproductive success decreased in high fire frequency regimes, which was more abrupt in the pollinator-dependent species. While pollination and seed predation were not affected by fire frequency, insect herbivory showed a strong increase in frequently burned sites. However, these biotic interactions had no significant influence on sexual reproduction. Variations in reproductive success were explained by indirect effect of fire frequency via specific leaf area, suggesting an abiotic resource limitation of the sexual reproduction induced by fire frequency. Progeny performance was not modelled by fire frequency. The observed variation in leaf traits induced by fire frequency is the result of phenotypic plasticity of adult individuals and not the product of evolutionary changes in leaf traits. In conclusion, this study contributes to the knowledge of the reproductive ecology of native foraging species in environment of Chaco Serrano with different fire frequency.

INTRODUCCIÓN GENERAL

El desarrollo de actividades humanas recientes ha provocado importantes cambios ambientales a nivel global, sugiriendo que la tierra está transitando por una nueva época geológica dominada por el hombre y por su impacto sobre los ecosistemas, denominada Antropoceno (Crutzen, 2006; Lewis & Maslin, 2015). Uno de los determinantes de este periodo ha sido el aumento en la emisión de gases de efecto invernadero, a tasas que no han tenido precedentes a lo largo de todo el Pleistoceno y el Holoceno, las dos últimas épocas geológicas. El manejo del fuego por el hombre, la agriculturización y el uso de combustibles fósiles son los principales procesos que indujeron cambios a escala global (Glikson, 2013; Lewis & Maslin, 2015). En esta nueva época, la población humana interactúa con los sistemas naturales en un escenario donde la mayor parte de los procesos ecosistémicos son influenciados en gran medida por el uso de la tierra (Ellis & Ramankutty, 2008).

El régimen de fuego, es decir las características de los incendios forestales y su patrón de variación en el tiempo y espacio (frecuencia, intensidad, estacionalidad, y patrones de combustión del combustible), es principalmente influenciado por el clima, debido a que este determina la productividad del sistema y la frecuencia de igniciones naturales (rayos) en una estación del año caracterizada por condiciones meteorológicas de temperatura, humedad atmosférica y velocidad del viento. Si las condiciones climáticas cambian, es probable que se afecten ciertos factores del régimen de incendios de una región. Esta es la actual situación de importantes ecosistemas, como las selvas tropicales y bosque australes patagónicos, donde el calentamiento global genera un aumento en la frecuencia de incendios debido a la ocurrencia de periodos con sequías extremas (Nepstad *et al.*, 2001; Paritsis *et al.*, 2015; Pausas, 2015a). A su vez, el hombre puede afectar el régimen de fuego en sinergia con las condiciones climáticas. En este sentido, las actividades antrópicas pueden disminuir o incrementar sensiblemente la frecuencia con la que ocurren los incendios. En particular, la mayor frecuencia de incendios está asociada a cambios en la frecuencia de igniciones debido principalmente por la expansión de la interfase urbano-forestal (Whelan, 1995; Stein *et al.*, 2013). Si se considera que los organismos que actualmente viven en un área tienen la capacidad de tolerar un

determinado régimen de fuego, se podría esperar que la modificación de ese régimen tenga efectos deletéreos sobre la biota (Whelan, 1995). Diferentes actividades humanas están modificando el régimen de incendios en todo el planeta (Moritz *et al.*, 2012), en algunas zonas estas modificaciones están dentro de los rangos de sostenibilidad, es decir las comunidades son resilientes a esos cambios, pero en otras regiones las consecuencias ecológicas y económicas son significativas (Pausas, 2012). Para finales de este siglo se proyecta que la magnitud y dirección de estos cambios en la frecuencia de fuego sigan incrementándose sustancialmente en todo el globo (Moritz *et al.*, 2012). Tal proyección destaca la importancia de los estudios regionales que evalúen el impacto de estos cambios abruptos en los regímenes de incendios sobre la flora y fauna nativa.

Las mediciones de las condiciones físicas post-fuego, especialmente las propiedades edáficas como también el régimen de temperaturas y viento, son raramente estimados o publicados en la mayoría de los estudios sobre la ecología del fuego, a pesar que estos factores pueden ser más significativos para la biota que el evento de fuego por sí mismo (Whelan, 1995; Certini, 2005; Wang *et al.*, 2012), es decir, pueden mediar efectos indirectos del fuego. La dinámica de nutrientes post-fuego, conjuntamente con las nuevas condiciones ambientales, afectan la productividad primaria, y por ende, procesos ecológicos y fisiológicos de las poblaciones vegetales (Knicker, 2007). Los caracteres funcionales son atributos (morfológicos, fisiológicos o fenológicos, entre otros) de los organismos, en este caso plantas, que representan estrategias ecológicas y determinan cómo estas responden a factores ambientales o afectan a otros niveles tróficos o a propiedades de los ecosistemas (Pérez-Harguindeguy *et al.*, 2013). Además, se considera que un carácter funcional influye sensiblemente en el desempeño de los organismos (Violle *et al.*, 2007). Ciertos caracteres funcionales que son afectados por factores ambientales como la disponibilidad de luz, agua y nutrientes, se consideran caracteres de respuesta y pueden indicar el grado en que las plantas son afectadas por disturbios naturales o antrópicos. A su vez, algunos caracteres de las plantas pueden también tener efectos sobre procesos ecosistémicos como productividad, respiración y descomposición (Fortunel & Garnier, 2009). El área foliar específica (AFE) es un claro ejemplo de un rasgo funcional con doble rol, debido a que responde sensiblemente a los cambios en los factores ambientales y a su vez influye sobre importantes procesos ecosistémicos (Díaz *et al.*, 2001; Cornelissen *et al.*, 2003; Pérez-Harguindeguy *et al.*, 2013). El efecto del fuego sobre caracteres funcionales en plantas ha sido generalmente evaluado a nivel interespecífico,

ignorando el rol de la variabilidad intraespecífica en la dinámica de las poblaciones vegetales. Al respecto, trabajos recientes destacan la importancia de considerar la variabilidad intraespecífica de caracteres funcionales como mecanismo de respuesta de las poblaciones a cambios ambientales y sus efectos sobre el ecosistema (Albert *et al.*, 2010), incluyendo al fuego como estructurador de esta variabilidad (Dantas *et al.*, 2013 a y b).

Las plantas pueden responder de diferente manera a los efectos del fuego: ser susceptibles con una consecuente retracción poblacional o presentar alguna estrategia de regeneración post-fuego. Entre estas últimas, las especies de plantas denominadas *rebrotadoras* son aquellas cuyos individuos poseen la capacidad de rebrotar tras ser quemadas totalmente a través de alguna estructura vegetativa (rizomas, lignotubérculos, bulbos, yemas protegidas en tallos o raíces, etc.); mientras que las especies *reclutadoras* persisten tras el paso del fuego mediante la supervivencia de propágulos (semillas o frutos) con posterior reclutamiento de nuevos individuos (Pausas *et al.*, 2004). Las condiciones ambientales post-fuego pueden tener diferentes efectos sobre la reproducción de las plantas que regeneran exitosamente. En general, la producción de frutos y semillas de muchas especies de plantas depende del establecimiento de interacciones con otros organismos que pueden afectar positiva o negativamente su desempeño en ambientes quemados (Carpenter & Recher, 1979; Bond & van Wilgen, 1996). El fuego puede afectar la dirección e intensidad de las interacciones, suprimiendo o intensificándolas, y en función de esto la dinámica reproductiva de las plantas puede ser afectada (García *et al.*, 2016).

El fuego puede afectar a la fauna que interactúa con las plantas mediante la exposición directa a las altas temperaturas o a través de cambios en las condiciones post-fuego, como las alteraciones en la provisión de alimento, en los sitios de protección y nidificación proporcionados por la vegetación (Whelan, 1995). Entre las interacciones bióticas que más afectan al desempeño de las plantas se encuentran antagonismos como la herbivoría y la depredación de semillas, y mutualismos como la polinización. Su importancia radica en que estas interacciones afectan los órganos fotosintetizantes, las características de la progenie y la fecundidad de las plantas, respectivamente. El fuego puede modificar la interacción planta-polinizador, a través de la mortalidad de polinizadores o bien disminuyendo su abundancia a través de una menor calidad de recursos florales para su alimentación y menor disponibilidad de lugares para refugio y nidificación (Potts *et al.*, 2003; 2005). A su vez, el fuego puede incidir negativamente en la fauna de herbívoros y depredadores de semillas, alterando los patrones de daño foliares y

la cantidad y calidad de las semillas producidas (Swengel, 2001). Sin embargo, la dirección y magnitud de la respuesta puede depender del grado de exposición a las llamas y de la movilidad de estos insectos (Swengel, 2001). De esta manera, una disminución de estos antagonismos podría compensar la menor polinización en escenarios de alta frecuencia de fuego. Estos posibles efectos compensatorios solo pueden ser detectados al evaluar el efecto del régimen de fuego sobre interacciones mutualistas y antagonistas de una misma especie vegetal en simultáneo. No obstante, aún son muy escasos los trabajos que abordan un enfoque de múltiples interacciones bióticas entre plantas e insectos enmarcados en el área de la ecología del fuego (Cardel & Koptur, 2010; Tavella, 2016).

Mientras la cantidad de progenie producida en un evento reproductivo determina el máximo potencial de reclutamiento poblacional, las características de esa progenie determinan el desempeño de las nuevas generaciones. Ambos atributos reproductivos pueden ser afectados por la frecuencia de incendios, debido a que los cambios en la abundancia, composición y/o comportamiento de forrajeo de los animales polinizadores pueden alterar la cantidad y calidad del polen depositado sobre los estigmas (Ne'eman *et al.*, 2000; Potts *et al.*, 2001; 2003). Como consecuencia, los patrones de apareamiento y el flujo de genes vía polen pueden modificarse, incidiendo en la tasa de cruzamientos autógamos, en la capacidad reproductiva de las plantas y en el vigor de las progenies (Villaron Franceschinelli & Bawa, 2005). Por lo tanto, resulta de interés aplicado estudiar como los cambios antrópicos en el régimen de disturbios pueden afectar la dinámica de plantas autóctonas deseables desde el punto de vista agronómico, que a su vez resulten indicadores de su adecuación a las nuevas condiciones ambientales. El manejo agronómico sustentable de poblaciones forrajeras nativas debe basarse en estudios que indaguen la respuesta ecológica de las especies de importancia en los agroecosistemas.

Estrategias de regeneración post-fuego

La co-ocurrencia de especies con diferentes estrategias de regeneración post-fuego, rebrotadoras y reclutadoras, ha generado gran interés en el área de la ecología del fuego, debido a que predice la respuesta de las comunidades vegetales a los disturbios en un mundo cambiante (Pausas *et al.*, 2016). La presencia de yemas localizadas en diferentes órganos (raíces, tallos) que proporciona una eficiente oportunidad de rebrotar rápidamente después del fuego, es un rasgo con un gran valor adaptativo al fuego, pero que podría haber

sido modelado por otras presiones de selección (Pausas, 2012). En otras palabras, podría tratarse de una exaptación, es decir, un rasgo con respuesta favorable al fuego pero quizás modelado por sequía, viento o herbivoría (Keeley *et al.*, 2011). En contraste, se ha hipotetizado que las especies reclutadoras obligadas (especies que solo se regeneran por semillas después del fuego) poseen una estrategia más especializada que ha evolucionado en respuesta a ciertos regímenes de fuego (Pausas *et al.*, 2012). La caracterización de la comunidad de plantas con respecto a la proporción de especies rebrotadoras y reclutadoras ha sido muy frecuente para definir el régimen de fuego de una región. Se ha postulado que los regímenes de fuego de alta frecuencia y baja intensidad podrían favorecer a especies rebrotadoras, mientras que regímenes con largos intervalos entre fuegos, y por lo tanto altas intensidades, favorecerían a especies reclutadoras (Keeley & Zedler, 1978). En el Chaco Serrano, los estudios que evaluaron la respuesta de la vegetación post-fuego determinaron que la principal estrategia de persistencia de especies leñosas dominantes es a través del rebrote basal, siendo despreciable la regeneración a través de reproducción sexual y reclutamiento de nuevos individuos (Gurvich *et al.*, 2005; Torres *et al.*, 2014). Sin embargo, otros procesos vitales también determinan la regeneración de las plantas sujetas a disturbios en un sentido más amplio. Entre ellos, la reproducción sexual es un proceso en el ciclo de vida de las plantas irremplazable, debido a que determina la viabilidad de las poblaciones en el largo plazo (Wilcock & Neiland, 2002; Neuschulz *et al.*, 2016), el máximo potencial de reclutamiento poblacional y las características de la descendencia, incluyendo la habilidad de la nueva progenie para regenerarse en ambientes afectados por disturbios antrópicos (Gómez-González *et al.*, 2011; Neuschulz *et al.*, 2016). Si bien se ha considerado a las especies rebrotadoras como uniformemente resistentes a la alteración de los regímenes de fuego, la dinámica de estas poblaciones y su mantenimiento a largo plazo depende de cómo se afecte su reproducción sexual (Nield *et al.*, 2016). Al respecto, el impacto de cambios en el régimen de fuego sobre atributos reproductivos de las plantas ha sido escasamente abordado en la literatura mundial (Bourg *et al.*, 2015; Nield *et al.*, 2016) y aún no se ha indagado en ambientes serranos del centro de Argentina cual es el grado de afectación de la reproducción sexual y cuáles son los mecanismos determinantes.

Además de los rasgos principales relacionados con la persistencia post-fuego (habilidad para rebrotar o persistir como propágulos), una variedad de otros caracteres reproductivos pueden ser modelados por un particular régimen de fuego. Entre ellos, el sistema de apareamiento, la cantidad y frecuencia de producción de semillas, rasgos de

atracción a polinizadores y las interacciones bióticas que afectan la reproducción de las plantas han sido pobremente estudiadas (Carpenter & Recher, 1979; Hiers *et al.*, 2000; Brown *et al.*, 2016 a y b). Se ha encontrado que la reproducción después de un incendio puede ser sustancialmente disminuida en algunas especies rebrotadoras debido a una menor floración y fallas en la fructificación (Abbott, 1985), pero otras especies con la misma estrategia de regeneración pueden florecer masivamente e incrementar su producción de semillas (Bourg *et al.*, 2015). En general, estos patrones de respuesta han sido asociados a cambios en el servicio de polinización en los ambientes post-fuego en relación a la oferta floral (Ne'eman & Dafni, 1999; Vulliamy *et al.*, 2006). La mayoría de los estudios que analizan el efecto del fuego sobre los polinizadores han sido desarrollados en ecosistemas mediterráneos propensos al fuego, los cuales han reportado que la abundancia de abejas sociales puede ser incrementada por el fuego (Ne'eman & Dafni, 1999; Potts *et al.*, 2006; Vulliamy *et al.*, 2006), aunque un análisis global indicó que estas tendencias no fueron significativas (Winfree *et al.*, 2009). Sin embargo, otros grupos funcionales de polinizadores, como abejas solitarias, avispas o aves nectarívoras, sí mostraron cambios en la frecuencia con la que visitan a las flores en relación al fuego (Ne'eman & Dafni, 1999; Geerts *et al.*, 2012; Brown *et al.*, 2016 a). Ante el actual escenario de incremento en la frecuencia de fuego en muchas regiones del mundo debido al cambio climático y disturbios antrópicos (Bradstock, 2010; Roca *et al.*, 2014), los estudios ecológicos sobre especies vegetales nativas de interés agronómico cobran importancia debido a la necesidad de conocer y predecir la respuesta poblacional a los efectos de fuegos y su interacción con insectos mutualistas y antagonistas. Si bien se ha resaltado que la polinización es uno de los procesos implicados en la regeneración de las plantas más amenazados por los disturbios humanos (Neuschulz *et al.*, 2016), aún no se ha evaluado la respuesta de los polinizadores y sus efectos en la dinámica reproductiva de plantas del Chaco Serrano en el contexto de la ecología del fuego.

Fuego en las Sierras del centro de Argentina

El fuego es un disturbio común que ha estado presente siempre en el gran Chaco (Bucher, 1982; Kunst, 2011). Antes de la colonización europea, el paisaje Chaqueño del centro de Argentina estaba constituido por un mosaico de bosques alternando con pastizales, mantenidos por fuegos periódicos provocados por los indígenas, hábiles en el

uso del fuego para la guerra, caza y agricultura (Bucher & Schofield, 1981). Los antecedentes con respecto a la dinámica del régimen de incendios con posterioridad a la ocupación europea son controvertidos. Mientras algunos autores remarcan una disminución de la frecuencia de fuego como consecuencia de la reducción del combustible por efecto de la introducción del ganado doméstico (Morello & Saravia Toledo, 1959; Bucher & Schofield, 1981), otros se inclinan por un aumento en la recurrencia de fuego debido al manejo por los ganaderos para incentivar el rebrote de forraje de calidad (Renison *et al.*, 2002; Kunst, 2011).

Actualmente, el Chaco es la región fitogeográfica de Argentina con mayor superficie afectada por incendios forestales (Programa Nacional de Estadística Forestal, 2011). Existen varios factores que predisponen el incremento en la actividad del fuego en esta región, modificando su régimen. Entre ellos, factores climáticos como el aumento en las precipitaciones de las últimas décadas, ha provocado un aumento en la producción de biomasa combustible que favorece el desarrollo de los incendios. Si bien Córdoba es una de las provincias con mayor ocurrencia de tormentas con descargar eléctricas del país (María Gabriela Nicora, com. pers.; ver para el NO de la patagonia: Marcuzzi *et al.*, 2016), el aumento de la frecuencia de igniciones en relación a la actividad humana es una de las principales causas de la vasta superficie afectada cada año y del actual incremento en la recurrencia de incendios (Programa Nacional de Estadística Forestal, 2011). Además, la introducción de gramíneas exóticas subtropicales C₄ de los géneros *Panicum*, *Cenchrus* y *Eragrostis*, puede traer aparejado profundos cambios en el régimen de fuego a través del gran potencial de producción de materia seca, características de tolerancia al fuego, alta inflamabilidad y desplazamiento de la vegetación nativa (Kunst, 2011; Jaureguiberry, 2012).

Las Sierras Chicas de Córdoba en particular, se encuentran representadas por ambientes muy degradados y expuestos a un gran número de presiones antrópicas que van reduciendo cada vez más su biodiversidad (Cabido *et al.*, 2010). En las últimas décadas, el régimen de fuego se ha modificado por las actividades humanas, con intensidades suaves a severas, y mayor ocurrencia al final de la estación seca (Miglietta, 1994). La mayor frecuencia de incendios afecta a matorrales y pastizales serranos (Argañaraz, 2016) donde la cría de ganado es la principal actividad económica de la región. Se ha demostrado que las fisonomías de matorrales en las Sierras Chicas, propensas a incendiarse recurrentemente por características de inflamabilidad del combustible, son las

comunidades más ricas y con mayor diversidad vegetal (Giorgis, 2011; Giorgis, comunicación personal). Además, debido a que es una región montañosa, sus ambientes son sumamente heterogéneos en términos de características topográficas, edáficas y de vegetación. En relación a esto, la pendiente del terreno es uno de los factores que más predispone la ocurrencia de incendios (Argañáraz, 2016). El tiempo transcurrido después del último incendio si bien condiciona las propiedades del suelo, no tiene mucha influencia sobre la recuperación de la cobertura arbórea (Giorgis *et al.*, 2013), por lo que otros factores del régimen de disturbios como la frecuencia de fuego y la intensidad de herbivoría, podrían estar afectando la dinámica de la vegetación en este sistema montañoso (Giorgis, 2011).

Las Fabaceae constituyen valiosos recursos forrajeros en los sistemas de producción ganaderos de la región Chaqueña argentina. Si bien las especies leñosas aportan cierta calidad nutricional en la dieta del ganado, particularmente durante la estación seca, resultan importantes los recursos forrajeros herbáceos por la excelente calidad de la biomasa que producen. Evaluaciones florísticas post-incendio en las Sierras Chicas han revelado que las Fabáceas herbáceas representan una alta riqueza y abundancia relativa en estos ambientes quemados y además, poseen una rápida regeneración por rebrote (Fuentes *et al.*, 2011; Carbone, obs. pers.). Entre las Fabáceas con una elevada frecuencia relativa en ambientes post-fuego, están *Cologania broussonetii* (Balb.) DC., *Desmodium uncinatum* (Jacq.) DC. y *Rhynchosia edulis* Griseb. Estas hierbas nativas, constituyen importantes recursos forrajeros para los sistemas de producción ganaderos del país, principalmente a partir del pastoreo de poblaciones naturales (Fernandez *et al.*, 1988; Fortunato, 1983; Vanni, 2001; Lovey *et al.*, 2010). A nivel comunitario, son un componente principal de la riqueza y cobertura relativa de Fabaceae herbáceas del Chaco Serrano (Giorgis *et al.*, 2011) y en el post-fuego temprano (Carbone, obs. pers.). De hecho, *C. broussonetii* es una especie característica de sitios quemados, que junto a *Festuca hieronymi* (Poaceae) caracterizan paisajes de pastizales expuestos a la acción de los vientos, incendios y pastoreo (Giorgis *et al.*, 2013). Estas Fabaceae poseen como principal estrategia de regeneración post-fuego el rebrote basal a partir de yemas ubicadas en órganos subterráneos. No obstante, sus semillas poseen dormición física impuesta por su cubierta dura (Martinat & Fuentes, 2016), por lo que podrían ser capaces de persistir en el banco de semillas del suelo luego del fuego y aportar a la resiliencia de estas poblaciones nativas a largo plazo.

Este trabajo propone indagar diferentes aspectos ecológicos a lo largo del ciclo de vida de plantas nativas en el marco del actual incremento en la frecuencia de incendios forestales en las Sierras Chicas de Córdoba. En particular, evaluar cómo los diferentes regímenes de frecuencia de fuego a los que las poblaciones están sujetas, afectan las características de la regeneración en base al estudio de caracteres funcionales, de las interacciones mutualistas y antagonistas que repercuten en la reproducción sexual y del desempeño de la progenie. Estudios que indaguen sobre la regeneración y la dinámica reproductiva en estrecha relación con interacciones ecológicas en escenarios post-fuego del Chaco Serrano, son aún inexistentes y resultan importantes pues aportan conocimiento vacante tanto a nivel local como global. En síntesis, en este trabajo se propone comprender cómo la frecuencia del fuego modela diferentes procesos ecológicos a lo largo del ciclo de vida de tres hierbas perennes y en base a esto, aportar los fundamentos ecológicos para la conservación y el manejo sustentable de recursos nativos en sitios donde el fuego es el disturbio antrópico de principal impacto.

El objetivo general de la tesis es evaluar la respuesta ecológica vegetativa y reproductiva de *Cologania broussonetii*, *Desmodium uncinatum* y *Rhynchosia edulis*, Fabaceae nativas forrajeras de las Sierras Chicas de Córdoba, en diferentes escenarios de frecuencia de fuego.

Se plantean los siguientes objetivos específicos para cada capítulo:

Capítulo I

➤ Analizar los efectos de la frecuencia de fuego sobre propiedades del suelo y sobre la variabilidad intraespecífica de rasgos funcionales vegetativos de *Cologania broussonetii*, *Desmodium uncinatum* y *Rhynchosia edulis*, especies herbáceas abundantes en ambientes del Chaco Serrano afectados por incendios frecuentes.

Capítulo II

➤ Evaluar el efecto de la frecuencia de fuego sobre la reproducción sexual de *Desmodium uncinatum* y *Rhynchosia edulis*, y su relación con los polinizadores y la disponibilidad de recursos abióticos en diferentes escenarios post-fuego.

Capítulo III

➤ Analizar los efectos de la frecuencia de fuego sobre el éxito reproductivo de *Rhynchosia edulis* mediado por caracteres funcionales vegetativos e interacciones bióticas como la polinización, herbivoría y depredación de semillas.

Capítulo IV

➤ Evaluar los efectos de la frecuencia de fuego sobre características de la progenie de *Desmodium uncinatum* y *Rhynchosia edulis*, desde un enfoque ecológico, analizando caracteres funcionales relacionados con el vigor bajo diferentes tipos de polinización, y desde una perspectiva evolutiva, indagando sobre la heredabilidad de caracteres foliares.

En cada uno de los capítulos se plantean las hipótesis y predicciones que se desprenden del marco teórico específico.

MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES

Área de estudio

El área de estudio comprende las laderas orientales de las Sierras Chicas, localizadas en la provincia de Córdoba, Argentina. Al igual que las demás formaciones montañosas pertenecientes a las Sierras Pampeanas, las Sierras Chicas se caracterizan por presentar orientación norte-sur y elevación baja, desde los 500 a los 1947 m s.n.m. El clima es de tipo mesotermal, semi-húmedo con tendencia a semi-seco de montaña, con temperaturas mínimas y máximas promedios entre los 10 y 25 °C (Capitanelli, 1979). Las precipitaciones varían entre 500 y 1200 mm anuales (Cabrera, 1971), con un promedio anual de 881 mm en el periodo 1990-2012 para los sitios estudiados (Familia Malanca, comunicación personal). Las lluvias se concentran en la estación cálida, entre los meses de Octubre a Marzo, delimitando un claro periodo de déficit hídrico durante otoño e invierno, pudiendo extenderse hasta el inicio de primavera. El régimen de lluvias para la zona de estudio durante este periodo es detallado en el Apéndice I. En general, los suelos se caracterizan por presentar un horizonte superficial oscuro, con moderado tenor de materia orgánica, a pesar de que estas características pueden variar debido a la gran heterogeneidad espacial inducida por el relieve y el tipo de vegetación (Giorgis *et al.*, 2013). El perfil de suelo no tiene desarrollo de horizontes genéticos, sino capas superpuestas de origen geológico y granulometría heterogénea, de textura arenosa franca. Los mismos se desarrollan sobre pampas, valles y pendientes poco pronunciadas, formados por sedimentos gruesos, arenosos y loesoides, de escaso espesor sobre la roca meteorizada. Los afloramientos rocosos, especialmente graníticos y neísicos, abarcan frecuentemente grandes superficies debido a que la conjunción de características del relieve, de la textura del suelo y actividades antrópicas predisponen una alta susceptibilidad del suelo a la erosión hídrica (Vázquez *et al.*, 1979).

Dentro de la provincia fitogeográfica Chaqueña, el estudio se enmarca en el distrito Chaqueño Serrano (Cabrera, 1971), caracterizado por una vegetación de tipo bosque de montaña subtropical seco, el cual se entremezcla con arbustales, sabanas y pastizales, conformando una estructura compleja de fisonomías, dependiendo de las presiones de pastoreo y recurrencia de fuego (Luti *et al.*, 1979; Bucher, 1982; Gavier & Bucher, 2004).

Las especies vegetales que dominan el estrato arbóreo son *Schinopsis lorentzii* (Griseb.) Engl., *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. y *Zanthoxylum coco* Engl. (Cabrera, 1971). El área de estudios se ubica en el primer piso altitudinal de vegetación, el denominado Bosque Serrano, donde la altura de los sitios ronda entre los 820 y los 1200 m s.n.m. Debido a las presiones de diferentes disturbios antrópicos que ocurren en esta zona (Gavier & Bucher, 2004), la misma se ha ido transformando en una franja altitudinal de transición entre el bosque propiamente dicho (característico de la zona más baja) y los pastizales (típicos de las cumbres más elevadas), en la que se encuentran representadas todas las fisonomías posibles de vegetación (Giorgis *et al.*, 2013). Sumado a esto, uno de los principales factores que afecta a las características de la vegetación en el área es la invasión de especies leñosas exóticas, particularmente la invasión de "siempreverde", *Ligustrum lucidum* (Zeballos *et al.*, 2014).

En esta región, los incendios forestales típicamente ocurren al finalizar la marcada estación seca, propiciados por el aumento de las temperaturas, la escasa humedad de la biomasa combustible y vientos que alcanzan altas velocidades (Bravo *et al.*, 2001). La fuente de ignición principal que da origen a los incendios se debe a la actividad humana, a pesar de que la región posee una elevada cantidad de descargas eléctricas naturales (María Gabriela Nicora, com. pers.). En los últimos 30 años se ha documentado un aumento en la frecuencia de fuego para la Región Chaqueña en general, asociados principalmente al aumento de las precipitaciones a nivel regional que provocan mayor acumulación del combustible fino altamente inflamable (Miglietta, 1994; Bravo *et al.*, 2010). Los incendios en el bosque Chaqueño Serrano en particular, tienen un origen antrópico debido principalmente a accidentes e incluso focos intencionales. La utilización del fuego como herramienta de manejo de pastizales naturales para favorecer su rebrote tierno es una práctica casi inexistente en campos de sierras (Argañaraz, 2016). Dentro de las Sierras Chicas, la frecuencia de fuego promedio estimada para el periodo 1999-2011 fue de un incendio cada cinco años aproximadamente y se calcula que el 25 % de su superficie se ha quemado durante ese mismo periodo (Argañaraz *et al.*, 2015b; Argañaraz, 2016).

Selección de sitios de muestreo

Existe un problema común en la mayoría de los estudios sobre ecología del fuego en ambientes naturales, el cual implica que la consideración de todos los factores del régimen

de fuego es compleja y escasamente abordada. Ante el conocimiento de tal limitación, se intentó seleccionar sitios con diferentes regímenes de frecuencia de fuego pero que tuvieran el mismo tiempo transcurrido desde el último incendio. Para lograr esto, se compiló la historia de fuego de los últimos 22 años de toda el área de estudio a partir de diferentes bases de datos. Se utilizaron registros de fuegos realizados por la Dra. M. A. Giorgis en conjunto con Defensa Civil de la Localidad de Río Ceballos (Departamento Colón) para el período 1991-2011 (Giorgis *et al.*, 2013). Luego se procedió a la corroboración de la precisión de límites geográficos de los eventos de fuego a partir de una base de datos proporcionada por el Dr. J. P. Argañaraz sobre vectores de incendios basados en imágenes satelitales Landsat TN y ETM, con una resolución espacial de 30 m, para el periodo 1999-2011 (Argañaraz *et al.*, 2015a). Finalmente, se combinaron entrevistas con residentes locales de la zona rural y observaciones *in situ* para corroborar definitivamente los registros de incendios. En base a todo esto, se seleccionaron nueve sitios, donde estuvieron presentes las tres especies a estudiadas, con diferentes regímenes de fuego, los que fueron clasificados en tres escenarios de fuego: (i) tres sitios ***no quemados***, (ii) tres sitios de ***baja frecuencia de fuego***, con 1 a 2 eventos de fuego; y (iii) tres sitios de ***alta frecuencia de fuego***, con 3 a 4 incendios, durante el periodo de 22 años analizado. Es importante destacar que el factor de análisis de esta tesis (frecuencia de fuego) está conformado por tres escenarios de fuego, los que se hallan representados por tres réplicas espaciales del mismo régimen de fuego, pero con eventos de fuego diferentes entre sitios. Además, el tiempo transcurrido desde el último evento de fuego es similar para todos los sitios quemados. Los detalles del régimen de fuego de los sitios y su ubicación geográfica son presentados en la Tabla A y Figura A. La fisonomía de cada sitio de estudio es ilustrada en la Figura B a partir de una imagen del paisaje característico. Se puede evidenciar que los sitios no quemados están representados por una fisonomía dominada por un estrato arbóreo bajo, mientras que los sitio de ambos escenarios quemados presentan un estructura de arbustal con mayor o menor predominio del estrato herbáceo (Figura B).

Tabla A. Características topográficas y régimen de fuego para el periodo 1991-2013, de nueve sitios de estudio agrupados en tres diferentes escenarios de fuego del Chaco Serrano, Córdoba, Argentina.

Código	Nombre del sitio	Elevación (m)	Coordenadas	Pendiente dominante	Años de fuego	Nº de fuegos	Régimen de fuego
1	La Quebrada	824-845	31° 9'11.73"S 64°20'40.35"O	O	-	0	
2	Indarte	976-1000	31° 6'38.83"S 64°22'18.54"O	Irregular	-	0	No quemado
3	Salto	952-965	31° 6'29.48"S 64°21'22.38"O	NE	-	0	
4	Escuela	980-1000	31° 6'52.45"S 64°21'54.10"O	NO	2011	1	
5	Sitio I	1132-1180	31° 7'27.30"S 64°22'43.33"O	E	1995 2010	2	Baja frecuencia de fuego
6	Malanca	1011-1040	31° 6'23.70"S 64°23'0.51"O	NE	2003 2011	2	
7	Sitio F	1017-1036	31° 7'8.16"S 64°21'48.50"O	Irregular	1995 2007 2011	3	
8	Sitio A	1180-1206	31° 7'49.94"S 64°24'10.49"O	N	1991 1993 2000 2011	4	Alta frecuencia de fuego
9	Candongga	1030-1040	31° 5'38.53"S 64°21'5.79"O	N	1995 2003 2008 2011	4	

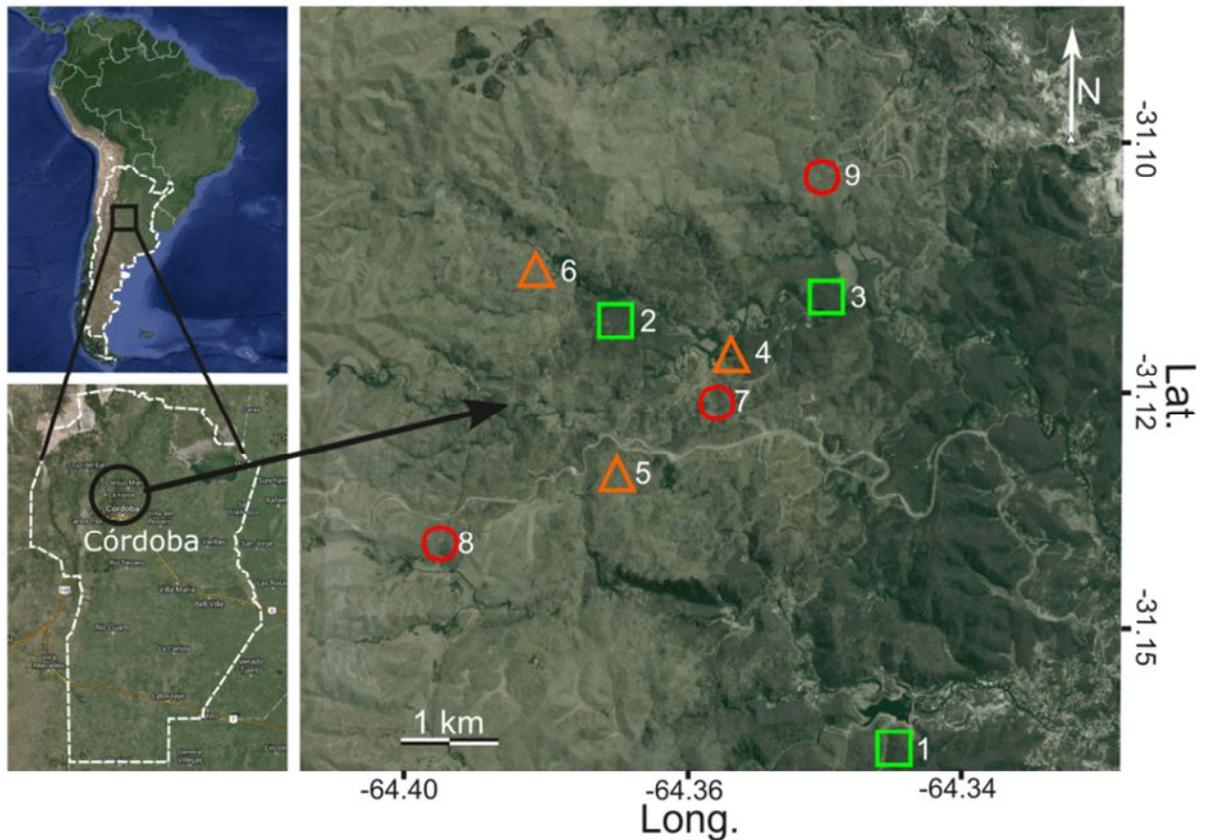


Figura A. Localización de los sitios de estudio en el bosque Chaqueño Serrano, provincia de Córdoba, centro de Argentina. Escenarios de frecuencia de fuego: no quemado (sitios 1, 2 y 3; cuadrados verdes), baja frecuencia de fuego (sitios 4, 5 y 6; triángulos naranjas) y alta frecuencia de fuego (sitios 7, 8 y 9; círculos rojos).

La distancia promedio entre sitios fue de 1530 m, y el rango de elevación estuvo comprendido entre 824 y 1206 m s.n.m. Todos los sitios seleccionados pertenecen a propiedades privadas y además, los sitios 1, 5 y 8 están incluidos dentro de los límites de la Reserva Hídrica Natural Parque La Quebrada. Debido a que la cría de ganado bovino es la actividad principal desarrollada en la región y como una forma de determinar si este factor podría causar algún efecto sinérgico con la frecuencia de fuego en la respuesta de las especies vegetales estudiadas, es que se estimó la carga ganadera en cada uno de los sitios mediante el conteo de deposiciones del ganado en un área de 500 m² durante los diferentes muestreos. Las cargas ganaderas registradas fueron bajas y similares entre todos los sitios de estudio, por lo tanto, se decidió inicialmente no tener en cuenta este factor de disturbio en el marco de la tesis.



Figura B. Fisonomía característica de los sitios de estudio con diferente frecuencia de fuego: no quemado, baja frecuencia de fuego y alta frecuencia de fuego. La numeración de referencia de los sitios puede encontrarse en la Tabla A, junto a otras características.

Especies vegetales estudiadas

Descripción botánica

Cologania broussonetii (Balb.) DC. (Fabaceae, Faboideae, Phaseoleae).

Figura C (a-c).

Especie nativa de América, hallándose desde Estados Unidos hasta el centro de Argentina. Es una forrajera de adecuada digestibilidad hasta el estado de vaina, la que aporta valor proteico en los pastizales de cumbre (Lovey *et al.*, 2010). Es una enredadera perenne, con raíces leñosas que forman nuevos tallos a partir de una corona de yemas cada año (Turner, 1992). Sus hojas son trifoliadas pinnadas, con folíolos oval-lanceolados, con pubescencia rala en el envés. Las flores se agrupan en inflorescencias en las axilas de las hojas. Presenta dos tipos de flores, casmógamas y cleistógamas. Las primeras, adaptadas a la polinización por abejas, poseen un tamaño de 1,8 a 2,5 cm de largo, pedicelo de ca. 8 mm de longitud, cáliz tubuloso de base evidentemente gibosa, corola púrpura a magenta formada por 5 pétalos: estandarte, 2 alas laterales y quilla formada por 2 pétalos de uñas libres y limbo soldado, androceo formado por 10 estambres diadelfos, 9 estambres soldados y el opuesto al estandarte libre; nectario anular que rodea la base del ovario, este con 8-13 óvulos. Las flores cleistógamas se distinguen por poseer un tamaño de ca. 6 mm de longitud, presentar pedicelo más breve (ca. 3 mm de longitud), cáliz de base atenuada, ausencia de corola, reducido número de estambres, ausencia de nectario, ovario con menor número de óvulos y estigma en contacto con anteras. Las flores cleistógamas producen frutos por autogamia obligada, reducidos en tamaño y número de semillas. Las flores casmógamas desarrollan frutos más largos y con mayor número de semillas, estas con dehiscencia elástica. La relación de flores casmógamas y cleistógamas varía entre plantas, y esto podría estar relacionado a diferentes condiciones de crecimiento de las plantas (McVaugh, 1987). Los individuos de poblaciones sujetas a baja y alta frecuencias de fuego presentaron mayores porcentajes de flores cleistógamas (Carbone, datos no publicados), lo que sugiere que este rasgo podría ser modelado por el fuego (Cascone *et al.*, 2016, datos no publicados). Las flores casmógamas presentan una temprana dehiscencia de sus anteras y liberación de polen en estado de botón floral. Sin embargo, el estigma se torna receptivo en el estado de anthesis floral y a partir de allí se evidencia el desarrollo de tubos polínicos

germinando sobre el estigma y avanzando por el estilo. La longevidad de las flores a campo fue de un día, pero las flores que se excluyeron de polinizadores tuvieron una longevidad de hasta cuatro días en invernadero.

Desmodium uncinatum (Jacq.) DC. (Fabaceae, Faboideae, Hedysareae).

N.V.: “pega-pega”. Figura C (d-f).

Planta nativa de América tropical y subtropical, que habita en el centro, norte y nordeste del país. Es una planta forrajera de buen valor y buena aceptación por el ganado (Vanni, 2001). Se trata de una especie forrajera frecuente en pasturas naturales, muy valiosa por su alta resistencia al pastoreo y al alto valor proteico (Sérsic *et al.*, 2006). Es una hierba o subarbusto perenne, con rizomas leñosos. Sus tallos, hojas y frutos poseen una densa cubierta de pelos uncinados (con forma de gancho), la que otorga la característica de adherencia a esta planta y de allí surge su nombre vulgar “pega-pega”. Sus hojas son trifoliadas pinnadas, con folíolos ovados u oval-lanceolados. La cara adaxial de los folíolos es verde oscura con una característica franja reluciente blanquecino-plateada a lo largo de la nervadura media. Sus flores se disponen en extendidos racimos terminales o axilares, presentando dos flores en cada nudo. Las flores son perfectas, poseen un tamaño de ca. 1,2 cm de longitud, de color rosado, las que se tornan azuladas al senescer. La corola posee 5 pétalos, de los cuales alas y quillas encierran fuertemente al androceo y gineceo. Posee 10 estambres diadelfos, los que sueltan el polen de manera explosiva por única vez luego de la visita de un polinizador legítimo. No presenta nectario, por lo que la única recompensa para los polinizadores es polen. El ovario presenta de 3 a 9 óvulos. Sus flores poseen una longevidad máxima de 10 h, ocurriendo la antesis en las primeras horas de la mañana. El fruto es un lomento con 4-6 artejos cubiertos de pelos uncinados, que se dispersan independientemente por propagación epizooica (Burkart *et al.*, 1987).

Rhynchosia edulis Griseb. (Fabaceae, Faboideae, Phaseoleae).

N.V.: “alvarillo del campo”, “porotillo”. Figura C (g-i).

Especie nativa de Sudamérica cálida, creciendo desde el sur de Estados Unidos hasta el norte de Argentina. Es una planta forrajera espontánea del Chaco Semiárido, de la cual el ganado consume la planta entera (Fortunato, 1983). Es una enredadera perenne, que

presenta raíz leñosa, a veces napiforme, y rizomas filiformes, que nacen del cuello epicotiledonar junto con ramas aéreas. Estas raíces poseen la función específica de almacenar reservas, lo que le permite sobrevivir en ambientes estresados (Kraus & Basconsuelo, 2009). Sus ramas pueden desarrollarse hasta 2,5 m de longitud. Las hojas son trifoliadas pinnadas, con el folíolo terminal ovado-rómbicos de base truncada, con pelos simples y glandulares viscosos. Las flores se disponen en racimos axilares más largos que las hojas. Las flores son hermafroditas, de ca. 1 cm de longitud, con corola amarilla, 10 estambres diadelfos, nectario anular que rodea al ovario, ovario bi-ovulado. En estadio de pimpollo floral las anteras ya han comenzado su dehiscencia y liberación de polen, pero el estigma se torna receptivo luego de la anthesis de la flor. La producción de néctar es muy escasa. Sus flores despliegan el estandarte en las horas del día con mayor insolación y temperatura (después de las 12 h a.m.) y pueden recibir varias visitas de polinizadores. El fruto es una legumbre típica, elásticamente dehiscente, con (1)-2 semillas (Burkart *et al.*, 1987).

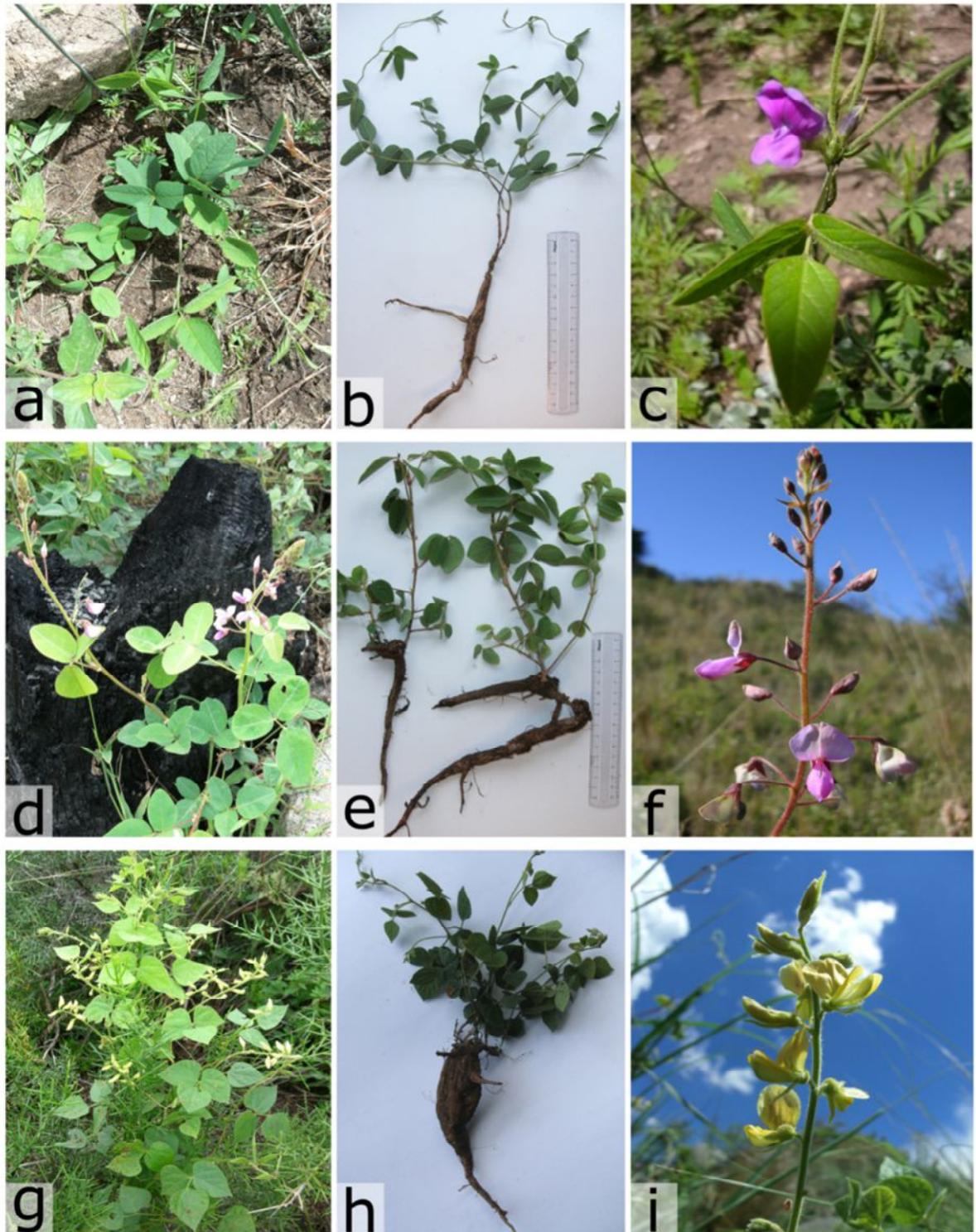


Figura C. Especies vegetales estudiadas: a-c: *Cologania broussonetii*, d-f: *Desmodium uncinatum*, g-i: *Rhynchosia edulis*.

Muestras vegetales de las tres especies seleccionadas para esta tesis fueron colectadas de los sitios de estudio y depositadas como especímenes de referencia en los herbarios de la Facultad de Ciencias Agropecuarias (ACOR) y del Museo Botánico (CORD) de la Universidad Nacional de Córdoba.

Desde hace varias décadas hasta la actualidad se vienen realizando ensayos experimentales de estas especies en diferentes lugares del mundo, como Australia (Andreu & Bryan, 1958) y Kenya (Khan *et al.*, 2002; Njarui *et al.*, 2004). Desde el punto de vista de la restauración de zonas incendiadas, estas especies podrían realizar un importante aporte al ciclado de nutrientes del sistema. En este sentido, trabajos previos y observaciones propias realizadas a campo, han comprobado que las tres especies poseen la capacidad de fijación biológica de N₂ a partir de la asociación simbiótica con bacterias que se desarrollan en nódulos radicales (Chen *et al.*, 1985; de Faria *et al.*, 1989; Grau *et al.*, 2009; Carbone, obs. pers.). Su estación de crecimiento comienza hacia fines de primavera y se extiende hasta fines de verano. Durante el invierno entran en un periodo de dormancia coincidente con la estación seca, donde pierden toda su biomasa aérea, pero conservan yemas de renuevo sobre órganos subterráneos, a partir de las cuales vuelven a brotar en la próxima temporada (Hemicriptófitas). Poseen como principal estrategia de persistencia post-fuego el rebrote a partir de yemas ubicadas en raíces reservantes, rizomas y xilopodios, que pueden alcanzar un diámetro de 2 a 5 cm (Figura C) y que les permiten rebrotar rápidamente después del disturbio (Carbone, obs. pers.). No obstante, sus semillas poseen dormición física impuesta por cubiertas duras, son estimuladas a germinar por efecto de temperaturas de hasta 100 °C, pero su viabilidad es fuertemente afectada por temperaturas superiores (Martinat & Fuentes, 2016). En efecto, esto indicaría que las semillas de estas plantas podrían persistir en el banco de semillas del suelo a profundidades donde las altas temperaturas son amortiguadas. Sin embargo, no se observó a campo un pulso de germinación o reclutamiento de plántulas con posterioridad al fuego, y el número de plántulas establecidas fue en general muy bajo y similar entre sitios quemados y no quemados (Carbone, obs. pers.), por lo que la persistencia de las poblaciones con posterioridad al fuego está dada por los individuos adultos. Es probable que el reclutamiento de plántulas sea un proceso viable en el periodo entre fuegos. En conclusión,

siguiendo el criterio de Pausas *et al.* (2004) estas especies se comportan como rebrotadoras obligadas en escenarios post-fuego del Chaco Serrano.

Caracterización de la comunidad de plantas en los sitios de estudio

Con el objetivo de caracterizar la comunidad vegetal de los diferentes regímenes de fuego, se realizó un censo de vegetación durante Febrero de 2014 en una parcela de 500 m² por cada uno de los sitios de estudio, incluyendo a las poblaciones de las especies focales estudiadas, donde se registró la altura y cobertura promedio de los diferentes estratos de vegetación, la composición y la abundancia relativa de todas las especies de plantas, y el número de deposiciones del ganado doméstico (bovino y equino). La metodología utilizada para el muestreo a campo y para los análisis de riqueza, composición y especies indicadoras es desarrollada en el Apéndice II.

Con respecto a la caracterización fisonómica de los sitios estudiados, los sitios no quemados presentaron alrededor de 55 % de su superficie ocupada por árboles nativos y una altura promedio del estrato arbóreo de 4 m (Tabla B), por lo que se los puede incluir dentro de una fisonomía intermedia entre un matorral cerrado y un bosque nativo cerrado, según la categorización realizada por Giorgis (2011). En contraste, los sitios quemados tanto de baja como de alta frecuencia de fuego presentaron un escaso desarrollo del estrato arbóreo, una cobertura promedio del estrato arbustivo del 19 % y una altura de alrededor de 1.1 m (Tabla B), conformando una fisonomía de matorral abierto.

Se registró un total de 241 taxones (incluyendo especies, subespecies, variedades y formas) en los nueve sitios de muestreo, agrupados en 64 familias de plantas. De ellos, 181 taxones fueron nativos, 35 endémicos, 22 exóticos y 3 cosmopolitas. En cuanto a la forma de vida, se observaron 18 especies de árboles, 40 de arbustos, 163 de hierbas y 20 especies de enredaderas. La frecuencia relativa y el porcentaje de cobertura promedio de cada uno de los taxones en los diferentes regímenes de fuego se muestran en el Apéndice III. La riqueza de especies estimada fue significativamente menor en los sitios de baja y alta frecuencia de fuego con respecto a los escenarios no quemados (Apéndice II, Figura II.2). Sin embargo, no se encontraron diferencias en la riqueza entre ambos escenarios quemados. Por otro lado, tanto el número de especies leñosas (árboles, arbustos y enredaderas) como su cobertura mostraron una drástica reducción (>50%) en los sitios quemados con respecto al escenario no quemado. La composición de especies resultó significativamente diferente entre el escenario no quemado y ambos escenarios quemados,

pero no se hallaron diferencias en la composición entre los escenarios quemados de baja y alta frecuencia de fuego (Apéndice II).

Sobre la base de estos resultados se evidencia que el fuego no solo produce una disminución en el número de especies de plantas, sino que también modifica la composición de la vegetación de los sitios sujetos a incendios. Asimismo, surgen especies vegetales indicadoras exclusivas de sitios no quemados, es decir, que no ocurren en sitios disturbados por el fuego (Apéndice II, Tabla II.2).

Por otro lado, es importante considerar que la ocurrencia y cobertura de las tres especies foco de estudio de esta tesis no mostraron grandes cambios a través de los escenarios de frecuencia de fuego (Tabla B), por ende, constituyen un buen modelo de estudio para analizar los efectos de diferentes regímenes de fuego sobre caracteres vegetativos y reproductivos manteniendo constante la densidad conespecífica, y por lo tanto todos los efectos que son afectados por esta variable (Calviño, 2006).

Tabla B. Caracterización de los estratos de vegetación (cobertura y altura promedio) y cobertura de las tres especies de plantas estudiadas en sitios con diferente frecuencia de fuego: no quemado, baja y alta frecuencia de fuego. Los datos fueron obtenidos en los censos realizados para caracterizar la composición florística.

Variable	No quemado			Baja frecuencia de fuego			Alta frecuencia de fuego			
	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3	Sitio 4	Sitio 5	Sitio 6	Sitio 7	Sitio 8	Sitio 9	
Cobertura estrato (%):										
arbóreo	38	38	88	3.5	0	3.5	0.5	0	0	
arbustivo	63	16	38	16	3.5	16	63	5	10	
herbáceo	100	88	88	38	88	88	88	63	88	
Altura estrato (m):										
arbóreo	5.0	4.0	3.5	1.5	0.0	5.0	1.5	0.0	0.0	
arbustivo	1.8	1.3	1.5	1.0	1.0	1.5	1.3	0.8	1.0	
herbáceo	0.6	0.5	0.6	0.5	0.5	0.7	0.6	0.4	0.7	
Cobertura especies estudiadas (%):										
<i>Cologania broussonetii</i>	0.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	0.5	
<i>Desmodium uncinatum</i>	0.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	0.5	3.5	
<i>Rhynchosia edulis</i>	0.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	0.5	3.5	

Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos de los datos serán descriptos en detalle para cada uno de los capítulos. En cada análisis se corroboró la bondad de ajustes de los modelos desarrollados para comprobar que cumplieran con los supuestos implícitos para realizar correctas interpretaciones de los mismos, que en general fueron homogeneidad de varianzas y distribuciones de errores acordes a cada variable respuesta. Todos los análisis y gráficos han sido realizados en entorno R (R Core Team, 2016), excepto aquellos que se detallan específicamente en cada caso.

CAPÍTULO I

Efectos de la frecuencia de fuego sobre caracteres foliares¹

INTRODUCCIÓN

El fuego es un disturbio natural presente en la mayoría de los ecosistemas terrestres, el cual modela la distribución, estructura y dinámica de los biomas alrededor del mundo (Bond *et al.*, 2005). El impacto del fuego sobre las comunidades de plantas, y su potencial recuperación, depende del régimen de fuego histórico, es decir de patrones de frecuencia, intensidad y estacionalidad del fuego a través del tiempo, y de rasgos de historia de vida de las especies vegetales adaptadas a un determinado régimen de disturbio (Davies, 2013). Actividades antrópicas como cambios en el uso de la tierra, crecimiento de la población mundial y el calentamiento global consecuente, pueden alterar los regímenes de fuego a partir de afectar su frecuencia y/o intensidad, provocando así consecuencias irreversibles sobre procesos ecológicos y sobre la dinámica de poblaciones vegetales (Pausas & Keeley, 2009; Keeley *et al.*, 2011). Ante los actuales cambios en el régimen de incendios, es importante conocer cómo responde la vegetación al incremento en la frecuencia de fuego para poder predecir los efectos sobre comunidades de plantas alrededor del mundo (Pausas *et al.*, 2004).

Los incendios puede generar importantes cambios en las propiedades del suelo, tanto a corto como a largo plazo, afectando la dinámica de agua y nutrientes (Raison, 1979). Elevadas frecuencias de fuego incrementan la repelencia al agua afectando la permeabilidad del sustrato, lo que conduce a una menor capacidad de retención hídrica de los suelos (Doerr & Shakesby, 2013). Esto es producido por la recurrente deposición de cenizas que obstruye los poros del suelo, creando una discreta y continua capa hidrofóbica que reduce la conductividad hidráulica y la infiltración de agua hacia horizontes inferiores (Certini, 2005). Al mismo tiempo, la eliminación de la vegetación y de la hojarasca aumenta el impacto de las gotas de lluvia y los eventos de escorrentía de agua, intensificando el impacto de la erosión hídrica del suelo (Certini, 2005; González-Pelayo *et*

¹ Publicación derivada de este capítulo: Carbone, L. M. & R. Aguilar. (2016). Contrasting effects of fire frequency on plant traits of three dominant perennial herbs from Chaco Serrano. *Austral Ecology* 41(7), 778-790. DOI: 10.1111/aec.12364.

al., 2015). En cuanto a las propiedades químicas, el fuego induce la mineralización de la materia orgánica del suelo, provocando así que el carbono (C) y nitrógeno (N) orgánicos sean parcialmente volatilizados y liberados a la atmósfera, mientras que el fósforo (P) mineralizado puede a su vez ser reciclado por las plantas o perderse por lixiviación hacia capas del suelo más profundas. Parte del N orgánico se mineraliza a formas inorgánicas como amonio y nitrato (Certini, 2005). Un trabajo de revisión ha demostrado que en general los niveles de nitratos tienden inicialmente a incrementarse en el post-fuego temprano, alcanzando máximos valores entre 0.5 y 1 año después del incendio, luego del cual estos valores disminuyen consistentemente debido a los procesos de lixiviación y absorción de nitratos por parte de la materia orgánica y minerales (Wan *et al.*, 2001). En resumen, mientras un aumento de los nutrientes edáficos son observados con posterioridad a un evento de fuego en el corto plazo, frecuencias de fuego elevadas producen una significativa erosión del suelo en el mediano y largo plazo, agotando las reservas edáficas de C y N, pero no necesariamente las de P (Certini, 2005; Wang *et al.*, 2012; Pellegrini *et al.*, 2015).

Los efectos del fuego sobre las propiedades edáficas pueden indirectamente actuar como un agente selectivo de ciertos rasgos de historia de vida de las plantas (*e.g.* Keeley *et al.*, 2011). Varios estudios han evaluado los efectos del fuego sobre rasgos funcionales de plantas íntimamente relacionados con fotosíntesis y tasa de crecimiento, tales como área foliar (AF), área foliar específica (AFE), contenido de materia seca foliar (CMSF) y concentración foliar de N y P (Paula & Pausas, 2006; Anacker *et al.*, 2011; Cianciaruso *et al.*, 2012; Dantas *et al.*, 2013 a). En particular, el AFE ha sido considerado un carácter funcional clave debido a que es un indicador de la amplitud en el uso de los recursos y funcionamiento ecosistémico (Díaz *et al.*, 1998; Anacker *et al.*, 2011). Como un rasgo de adquisición de recursos, el AFE es modulado por el clima a gran escala y a escala reducida por disturbios (incluyendo el fuego) y por interacciones bióticas (Anacker *et al.*, 2011). Por ejemplo, en áreas con limitaciones edáficas de nutrientes causadas por incendios, las plantas pueden mostrar un crecimiento lento resultando en bajos valores de AFE (Anacker *et al.*, 2011). Además, a partir de evaluar cambios en el AFE de especies de plantas abundantes a través de condiciones de frecuencia de fuego contrastantes, se podrían anticipar cambios potenciales en importantes procesos ecosistémicos, como descomposición de la hojarasca, productividad o flamabilidad (Díaz *et al.*, 1999; Anacker *et al.*, 2011).

La mayoría de los estudios realizados hasta la actualidad se han focalizado sobre la evaluación de caracteres funcionales de plantas a nivel interespecífico en respuesta a la variabilidad natural de factores abióticos (*e.g.* Rosbakh *et al.*, 2015) o de disturbios (*e.g.* Díaz *et al.*, 1999), incluyendo el fuego (Pausas *et al.*, 2004; Saura-Mas & Lloret, 2009) con el objetivo de caracterizar la respuesta de la comunidad de plantas. Solo unos pocos trabajos han evaluado la variabilidad intraespecífica de caracteres funcionales asociados ya sea con regímenes de disturbios naturales (*e.g.* Albert *et al.*, 2010; Rosbakh *et al.*, 2015) o antropogénicos (*e.g.* Prado-Júnior *et al.*, 2015). Las escasas investigaciones que evalúan los efectos de la frecuencia de fuego sobre caracteres funcionales han encontrado una disminución del AFE y de niveles de nutrientes foliares al aumentar la frecuencia de incendios (Loiola *et al.*, 2010; Cianciaruso *et al.*, 2012; Dantas *et al.*, 2013 a). El incremento en la frecuencia de fuego puede tener una importante influencia sobre la variabilidad intraespecífica a escala local, pudiendo afectar la amplitud de nicho nutricional de las especies que sobreviven bajo diferentes frecuencias de fuego y la estabilidad del sistema (Cianciaruso *et al.*, 2012; Moreira *et al.*, 2012; Carbone *et al.*, 2013; Dantas *et al.*, 2013 a). Sin embargo, debido a que no todas las especies de plantas responden igualmente al estrés nutricional del ambiente, estudios que evalúen la variabilidad intraespecífica de estos caracteres pueden permitir la detección de respuestas específicas de las especies que de otra manera no podrían ser vislumbradas mediante estudios a nivel interespecífico. Por ejemplo, especies con capacidad de asociarse simbióticamente con bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico (N₂), podrían contrarrestar las limitantes nutricionales, especialmente las de N, impuestas por las altas frecuencias de fuego. La fijación biológica de N₂ pueden cumplir un importante rol en la dinámica de nutrientes a escala microambiental en ecosistemas afectados por el fuego y brindarle una gran plasticidad a las especies para adaptarse a diversas condiciones ambientales (Carreira & Niell, 1992; Goergen & Chambers, 2009).

Las comunidades de plantas nativas del Chaco en el centro de Argentina están sometidas a diferentes niveles de explotación que reducen y amenazan su diversidad (Cabido *et al.*, 2010). En las últimas décadas, el régimen de fuego de esta región ha sido principalmente determinado por actividades antrópicas y condiciones climáticas (Bravo *et al.*, 2010). A pesar que los humanos son los responsables de la mayoría de las igniciones que ocasionan los incendios forestales, variables climáticas como precipitación anual, evapotranspiración potencial anual y estacionalidad de la temperatura son los controladores

más importantes de la frecuencia de fuego (Argañaraz *et al.*, 2015a). Un reciente estudio conducido en la región serrana del centro de Argentina muestra que las Sierras Chicas fueron el área más afectada por los incendios forestales, con el mayor número de eventos de fuego, área quemada y frecuencia de fuego durante el periodo 1999-2011 (Argañaraz *et al.*, 2015b). Sin embargo, no existen estudios que documenten como era el régimen de fuego histórico en las sierras cordobesas y si este ha sido cambiado por la influencia del hombre.

Evaluaciones florísticas realizadas en las Sierras Chicas de Córdoba han revelado que varias especies de Fabaceae nativas son un componente importante del rebrote post-fuego, y las mismas son utilizadas como recursos forrajeros para el ganado en estos sitios incendiados (Fuentes *et al.*, 2011). Entre las Fabaceae herbáceas con una elevada abundancia relativa en la comunidad se encuentran *Cologania broussonetii* (Balb.) DC., *Desmodium uncinatum* (Jacq.) DC. y *Rhynchosia edulis* Griseb., las cuales se caracterizan por tener un ciclo de vida perenne y presentar asociación simbiótica con bacterias fijadoras de N₂. Como muchas especies rebrotadoras de larga vida, estas se caracterizan por desarrollar una estrategia conservativa en el uso de los recursos (Saura-Mas & Lloret, 2009). Estas plantas son unas de las Fabaceae del estrato herbáceo más abundantes de los matorrales y pastizales del Chaco Serrano, comunidades propensas a fuegos recurrentes (Giorgis *et al.*, 2011). El análisis de la variabilidad intraespecífica de caracteres funcionales de estas especies nativas en ambientes frecuentemente quemados es un primer paso para conocer su respuesta frente a cambios en los regímenes de fuego.

El objetivo de este capítulo es analizar los efectos de la frecuencia de fuego sobre propiedades del suelo y sobre la variabilidad intraespecífica e interespecífica de caracteres funcionales en *C. broussonetii*, *D. uncinatum* y *R. edulis*, hierbas perennes fijadoras de N₂, abundantes en ambientes post-fuego del Chaco Serrano. Se hipotetiza que el incremento en la frecuencia de fuego disminuirá la humedad y fertilidad general del suelo, lo que a su vez afectará a caracteres funcionales de estas plantas como el AF, AFE, CMSF y biomasa. En consecuencia, la disminución en la calidad edáfica inducida por fuegos frecuentes estará positivamente correlacionada con la disminución intraespecífica de los caracteres funcionales morfométricos (excepto para CMSF, la cual mostrará una relación inversa). Sin embargo, debido a que las especies presentan fijación biológica de N₂, y un eficiente y conservativo uso de los recursos, la concentración de nutrientes foliares (N y P) no será afectada por el menor contenido de nutrientes en el suelo de escenarios frecuentemente

incendiados. Finalmente, debido a que estas leguminosas comparten los mismos rasgos de historia de vida, los efectos generales de la frecuencia de fuego sobre los caracteres funcionales a nivel interespecífico serán similares, es decir las tres especies responderán de la misma manera. Los mecanismos respuesta hipotetizados, conjuntamente con las predicciones anteriormente expuestas se resumen en la Figura 1.1.

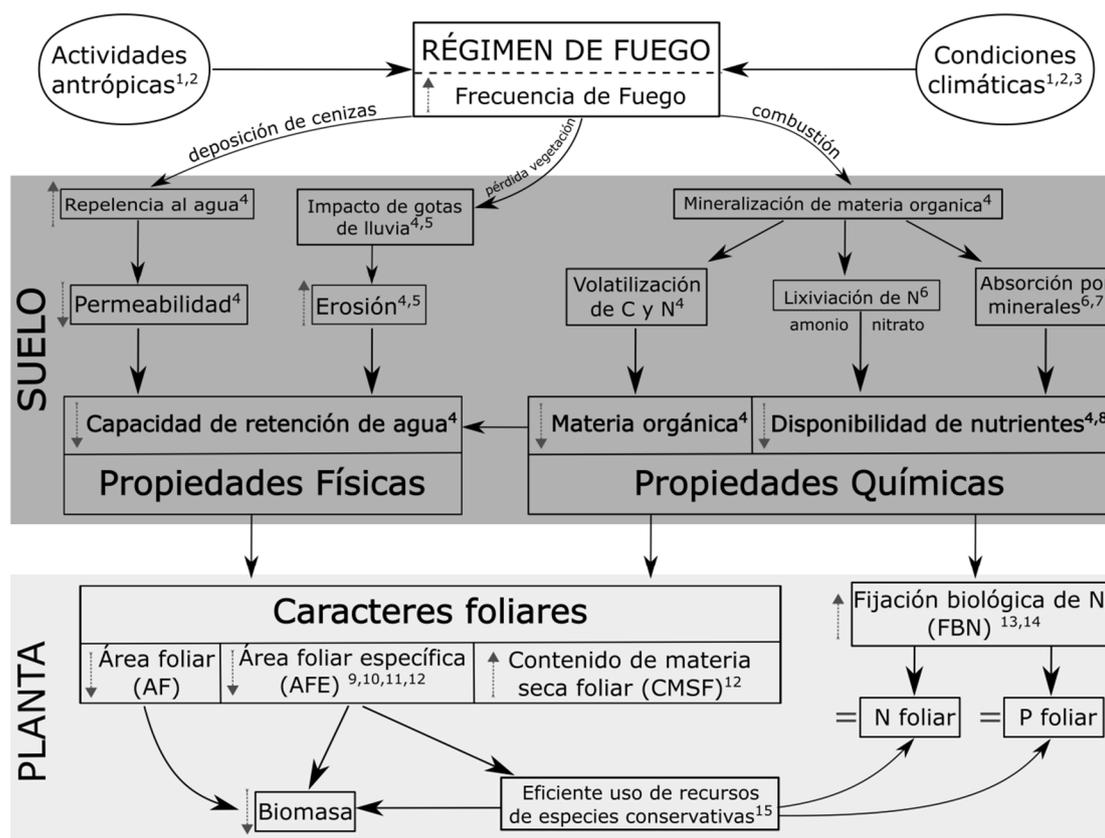


Figura 1.1. Diagrama de los mecanismos que actúan en las respuestas hipotetizadas de los efectos del aumento en la frecuencia de fuego sobre características del suelo y caracteres funcionales de las plantas. El incremento en la frecuencia de fuego disminuye la fertilidad general del suelo (propiedades físicas y químicas), las cuales a su vez afectan caracteres foliares morfométricos (AF, AFE y CMSF) pero no afecta a caracteres foliares nutricionales (N y P) debido a dos mecanismos ecológicos compensatorios: fijación biológica de N_2 y uso conservativo de los recursos de las Fabaceae estudiadas. Los superíndices indican las referencias que soportan cada predicción: ⁽¹⁾Argañaraz *et al.* (2015a), ⁽²⁾ Argañaraz *et al.* (2015b), ⁽³⁾ Bravo *et al.* (2010), ⁽⁴⁾ Certini (2005), ⁽⁵⁾González-Pelayo *et al.* (2015), ⁽⁶⁾ Wang *et al.* (2012), ⁽⁷⁾ Wan *et al.* (2001), ⁽⁸⁾ Pellegrini *et al.* (2015), ⁽⁹⁾ Anacker *et al.* (2011), ⁽¹⁰⁾ Loiola *et al.* (2010), ⁽¹¹⁾ Cianciaruso *et al.* (2012), ⁽¹²⁾ Dantas *et al.* (2013 a), ⁽¹³⁾ Carreira & Niell (1992), ⁽¹⁴⁾ Goergen & Chambers (2009), ⁽¹⁵⁾ Saura-Mas & Lloret (2009).

MATERIALES Y MÉTODOS

Propiedades edáficas

En diciembre de 2013, dos años después de último incendio en la mayoría de los sitios, fueron colectadas cuatro muestras de suelo (0-10 cm de profundidad) en cada uno de los nueve sitios seleccionados (ver Materiales y Métodos Generales), tomadas aleatoriamente de las inmediaciones de los individuos estudiados. Las muestras fueron colocadas inmediatamente en doble bolsa de plástico y almacenadas en conservadora portátil para evitar la deshidratación del suelo en el campo. Para obtener humedad gravimétrica de suelo, las muestras fueron pesadas inmediatamente al llegar al laboratorio y posteriormente puestas a secar en estufa a 60 °C hasta peso constante. El contenido de agua del suelo (%) fue calculado como la relación entre la masa de agua (g) y la masa del suelo seco (g). Seguidamente, se procedió a conformar una muestra compuesta a partir de las cuatro muestras individuales de cada sitio, las cuales fueron enviadas al Laboratorio de Suelo y Agua de la Facultad de Ciencias Agropecuarias (UNC) para analizar los siguientes parámetros de suelo: materia orgánica (MO, %), C orgánico (%) por método de digestión húmeda de Walklev-Black, N total (%) por el método semi-micro Kjeldahl, relación C:N, nitratos (ppm) usando electrodos selectivos, P extractable (ppm) por el método Bray-Kurtz, sulfatos (ppm), pH actual en agua y conductividad eléctrica (CE, dS/m; relación suelo-agua 1:1). Para obtener MO del suelo se multiplicó el C orgánico por un factor de 1.72 (Howard & Howard, 1990). También se caracterizó la clase textural del suelo, la cual fue arenosa franca para el promedio de los sitios.

Muestreo y mediciones

El muestreo de las plantas también se realizó en diciembre de 2013. Se seleccionaron al azar doce individuos adultos para cada una de las tres especies, en los nueve sitios representando a los tres escenarios de fuego, en resumen: 36 individuos/especie/escenario, totalizando 108 individuos por especie (detalles del diseño experimental y selección de sitios en Materiales y Métodos Generales). Las plantas fueron marcadas con estacas de hierro y etiquetas de aluminio, y estuvieron separadas unas de otras por una distancia mínima de 3 m. Todos los individuos se encontraban en estado reproductivo al momento del muestreo y fueron similares en tamaño, sugiriendo similar edad de las plantas. En cada

individuo, se seleccionaron aleatoriamente cinco hojas totalmente expandidas (descartando las hojas de la base y del ápice de las ramas), al mismo tiempo en todos los sitios. Las mismas fueron cuidadosamente colectadas y guardadas en bolsas de polietileno con cierre hermético, y acondicionadas en una conservadora a baja temperatura para evitar su deshidratación. A las mismas se les efectuaron las siguientes mediciones: (i) área foliar (AF, cm^2) mediante el escaneo de las hojas frescas y posterior procesamiento de las imágenes con el programa ImageJ 1.47v (National Institutes of Health, USA); (ii) área foliar específica (AFE, cm^2/g) calculada a partir de AF/masa seca foliar; (iii) contenido de materia seca foliar (CMSF, mg/g) calculada como masa seca foliar/masa de las hojas frescas saturadas; para estos tres caracteres foliares se siguieron los protocolos detallados por Pérez-Harguindeguy *et al.*, (2013); (iv) biomasa foliar total (BFT, g) por individuo, estimada a partir de multiplicar el número de hojas totales por individuo (contadas inicialmente en el muestreo) y su masa seca foliar promedio; y (v) concentración foliar de N y P (mg/g) de las mismas hojas colectadas de cinco individuos de cada especie por sitio ($n=45$ individuos por especie). Para la medición de nutrientes foliares, las hojas fueron previamente molidas mecánicamente, seguidamente digeridas en una solución de $\text{CuSO}_4/\text{K}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{SO}_4$ por 30 minutos a $160\text{ }^\circ\text{C}$, y luego por 1 hora a $380\text{ }^\circ\text{C}$ en un digestor Easy Block Smart (Westco). Luego de la digestión, se procedió a medir la concentración de N y P total (mg del nutriente/ g de materia seca foliar) en un espectrofotómetro automatizado SmartChem 200 (Westco).

Análisis de datos

Los análisis fueron realizados en entorno R (R Core Team, 2015) y cada especie fue analizada de manera independiente. Se utilizaron modelos lineales mixtos (función *lme* del paquete *nlme*, Pinheiro *et al.*, 2009) para las variables respuesta continuas (morfométricas) con distribución de errores de tipo normal (AF, AFE, CMSF, BFT, N y P) y modelos lineales generalizados mixtos (función *glmer* del paquete *lme4*; Bates *et al.*, 2014) para contenido de agua del suelo debido a su distribución de errores de tipo binomial. Se designó la frecuencia de fuego como efecto fijo con tres niveles (no quemado, baja y alta frecuencia de fuego) y a sitio como efecto aleatorio ($n=9$) anidado en la condición de frecuencia de fuego. La significancia del efecto fijo (frecuencia de fuego) fue probada mediante comparación del modelo global con un modelo nulo anidado mediante pruebas

de razón de verosimilitud (likelihood ratio test, LRT, en inglés). Las diferencias entre los niveles del factor fijo fueron evaluadas con estadísticos F (Fisher) y Z (Wald) en modelos lineales mixtos generales y generalizados, respectivamente. Para las propiedades del suelo (excepto contenido de agua) que fueron obtenidas a nivel de sitio, se probaron diferencias entre los tres escenarios de fuego usando modelos lineales generalizados (función *glm* del paquete *stat*) con distribución de errores gaussiana (para las variables relación C:N, nitratos, P, sulfatos, pH y CE) y binomial (para las variables MO, C y N). Los parámetros del modelo fueron estimados con métodos de máxima verosimilitud restringida (REML, por sus siglas en inglés) y máxima verosimilitud (ML) para las funciones *lme* y *glmer*, respectivamente.

Además, se analizaron las relaciones entre propiedades del suelo y caracteres foliares de cada especie a través de todos los sitios, con pruebas de correlación de Pearson. Finalmente, se evaluó la respuesta interespecífica del carácter foliar morfométrico más relevante (AFE) y de los caracteres nutricionales (N y P foliar). Debido a que estas variables respuesta tuvieron magnitudes y rangos de variación diferente entre especies, se calculó una nueva medida estandarizada (*i.e.* magnitud del efecto) para cada carácter foliar y se utilizó una aproximación meta-analítica para comparar su respuesta a través de las especies (Koricheva *et al.*, 2013). Para este análisis se consideró solo las variables respuesta en dos condiciones contrastantes (quemado y no quemado) y utilizamos la diferencia media estandarizada, d (Hedges), entre la condición quemada y no quemada como la magnitud de efecto. Para esto, se agruparon los datos de los escenarios de alta y baja frecuencia de fuego, y fueron considerados como efectos del tratamiento y a la condición no quemada como control (ver Koricheva *et al.*, 2013, para detalles de cálculo). La magnitud del efecto, d , puede ser interpretada como la inversa de la diferencia ponderada por la varianza en valores de caracteres funcionales entre la condición no quemada y quemada, medida en unidades de desviación estándar. Valores negativos de d implican una disminución del valor promedio del carácter foliar hacia la condición quemada, mientras que valores positivos de d corresponden a un incremento en comparación con la condición no quemada.

RESULTADOS

Propiedades del suelo

Se encontraron diferencias significativas en el contenido de agua, nitratos y conductividad eléctrica entre escenarios de frecuencia de fuego, con valores más elevados de estos tres parámetros de suelo en la condición no quemada (Tabla 1.1). El contenido de agua del suelo fue similar entre escenarios de baja y alta frecuencia de fuego. Los niveles de nitratos resultaron diferentes entre el escenario no quemado y el de alta frecuencia de fuego, mientras que la CE difirió significativamente entre las tres condiciones (Tabla 1.1). Aunque el resto de los parámetros de suelo medidos mostraron consistentemente los mayores valores en los sitios no quemados, no se hallaron diferencias significativas entre las tres condiciones de frecuencia de fuego.

Debido a que las variables contenido de agua, nitratos y CE estuvieron altamente correlacionadas entre sí ($r=0.72-0.88$; $p<0.0001$), se procedió a calcular una nueva variable integral de calidad de suelo al multiplicar estas tres variables significativas (ver Aguirre-Acosta *et al.*, 2014). Posteriormente, se utilizó esta variable integral de calidad edáfica (transformada a logaritmo) para analizar su relación con los caracteres funcionales foliares.

Tabla 1.1. Propiedades edáficas de los diferentes escenarios de frecuencia de fuego (no quemado, baja y alta frecuencia de fuego). Cada escenario está representado por 3 sitios. Los valores reportados son medias \pm desvíos estándar. Diferentes letras en negrita indican diferencias estadísticamente significativas ($p<0.05$) de los parámetros edáficos entre escenarios de frecuencia de fuego. Las pruebas estadísticas corresponden a modelos lineales mixtos generales y generalizados.

Propiedad de suelo	Escenario de frecuencia de fuego			Prueba estadística
	No quemado	Baja frecuencia	Alta frecuencia	
Contenido de agua (%)	11.05 \pm 4.90 a	3.36 \pm 2.20 b	3.18 \pm 1.20 b	$Z>2.446$; $p<0.014$
Materia orgánica (%)	6.37 \pm 0.25	5.23 \pm 1.77	5.00 \pm 0.70	$Z<0.721$; $p>0.471$
Carbono orgánico (%)	3.70 \pm 0.20	3.03 \pm 1.08	2.90 \pm 0.36	$Z<0.547$; $p>0.584$
Nitrógeno total (%)	0.27 \pm 0.01	0.24 \pm 0.07	0.21 \pm 0.05	$Z<0.153$; $p>0.879$
Relación C:N	13.90 \pm 1.41	12.60 \pm 1.03	13.80 \pm 1.21	$F=0.989$; $p=0.425$
Nitratos (ppm)	38.27 \pm 19.10 a	21.70 \pm 6.68 ab	8.40 \pm 2.46 b	$F=4.829$; $p=0.050$
Fósforo (ppm)	6.10 \pm 0.50	3.87 \pm 2.70	4.17 \pm 0.90	$F=1.611$; $p=0.275$
Sulfatos (ppm)	24.07 \pm 15.40	23.63 \pm 5.83	22.23 \pm 9.21	$F=0.023$; $p=0.977$
pH	6.50 \pm 0.30	6.17 \pm 0.70	6.30 \pm 0.20	$F=0.442$; $p=0.662$
Conductividad eléctrica (dS/m)	0.67 \pm 0.10 a	0.5 \pm 0.00 b	0.37 \pm 0.10 c	$F=30.50$; $p<0.001$

Variabilidad intraespecífica de caracteres foliares

La variable frecuencia de fuego explicó significativamente las variaciones intraespecíficas de los caracteres foliares AF ($\chi^2 > 9.219$, $p < 0.01$) y AFE ($\chi^2 > 9.263$, $p < 0.01$) en las tres especies, y de CMSF ($\chi^2 > 7.257$, $p < 0.02$) solo en *C. broussonetii*. Los caracteres AF y AFE mostraron consistentemente el mismo patrón de respuesta en cada una de las especies estudiadas: una disminución significativa en los escenarios de baja y alta frecuencia de fuego en comparación con el escenario no quemado (Tabla 1.2; Figura 1.2 a–f). En contraste, CMSF mostró un incremento en ambos escenarios quemados comparados con el no quemado. Estas diferencias fueron solo significativas para *C. broussonetii*. El efecto del factor aleatorio sitio explicó en promedio el 21% de la varianza del modelo en todas las variables respuesta, en las tres especies.

Variabilidad intraespecífica de nutrientes foliares y biomasa

La frecuencia de fuego mostró ser una buena variable explicativa de las variaciones en la concentración foliar de N en *C. broussonetii* ($\chi^2 = 6.936$, $p = 0.03$) y *R. edulis* ($\chi^2 = 9.145$, $p = 0.01$), y también de las variaciones de P en hojas de esta última especie ($\chi^2 = 6.02$, $p = 0.05$). Una mayor concentración de N foliar fue observada en dos de las leguminosas estudiadas, *C. broussonetii* y *R. edulis*, en el escenario de alta frecuencia de fuego, duplicando los niveles del escenario no quemado (Tabla 1.2; Figura 1.2 g, h). A diferencia de lo anterior, los valores de N foliar en *D. uncinatum* fueron similares a través de los escenarios de fuego. La concentración de P en hojas de *R. edulis* fueron más elevadas en los sitios de alta frecuencia de fuego en comparación con los sitios no quemados (Tabla 1.2; Figura 1.2 g, h). Tanto en *C. broussonetii* como en *D. uncinatum*, el P foliar fue similar entre escenarios de fuego. El factor aleatorio sitio explicó en promedio ~18% de la variabilidad nutricional.

Las estimaciones de biomasa foliar a nivel de planta no mostraron diferencias entre escenarios de fuego en ninguna de las tres especies. Sin embargo, los valores promedios más altos de biomasa en las tres Fabaceae fueron coincidentes con alguno de los escenarios quemados, ya sea de baja o alta frecuencia de incendios (Tabla 1.2). En todos estos análisis, la identidad del sitio explicó una mayor proporción (~32%) de la variación de la biomasa.

Tabla 1.2. Caracteres funcionales de *Cologania broussonetii*, *Desmodium uncinatum* y *Rhynchosia edulis* en diferentes escenarios de frecuencia de fuego. Los valores reportados son medias \pm desvíos estándar. Diferentes letras en negrita en cada columna indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en los caracteres funcionales entre escenarios de frecuencia de fuego. Las pruebas estadísticas corresponden a modelos lineales mixtos con frecuencia de fuego como efecto fijo y sitio como efecto aleatorio.

Especie	Carácter	Escenario de frecuencia de fuego			Prueba estadística
		No quemado	Baja frecuencia	Alta frecuencia	
<i>Cologania broussonetii</i>	AF (cm ²)	29.08 \pm 7.09 a	10.97 \pm 3.80 b	11.99 \pm 3.08 b	$F=63.294$; $p=0.0001$
	AFE (cm ² /g)	294.85 \pm 70.07 a	182.05 \pm 22.51 b	182.48 \pm 33.81 b	$F=13.088$; $p=0.007$
	CMSF (mg/g)	263.12 \pm 24.02 a	305.44 \pm 33.92 ab	316.76 \pm 39.06 b	$F=4.954$; $p=0.027$
	BFT (g)	1.72 \pm 0.81	1.46 \pm 0.93	2.25 \pm 2.02	$F=0.554$ $p=0.602$
	N (mg /g)	4.03 \pm 3.80 a	8.01 \pm 2.60 ab	8.88 \pm 2.24 b	$F=4.457$; $p=0.035$
	P (mg /g)	1.86 \pm 1.34	2.58 \pm 0.90	2.25 \pm 0.72	$F=0.808$; $p=0.489$
<i>Desmodium uncinatum</i>	AF (cm ²)	31.99 \pm 7.68 a	20.26 \pm 6.84 b	21.17 \pm 6.90 b	$F=9.528$; $p=0.014$
	AFE (cm ² /g)	320.21 \pm 78.47 a	210.40 \pm 32.00 b	214.03 \pm 31.16 b	$F=25.234$; $p=0.001$
	CMSF (mg/g)	276.41 \pm 27.47	304.71 \pm 22.07	307.41 \pm 23.30	$F=3.150$; $p>0.116$
	BFT (g)	2.26 \pm 1.65	3.13 \pm 2.07	3.64 \pm 2.09	$F=0.863$ $p=0.468$
	N (mg /g)	8.36 \pm 2.23	8.68 \pm 2.64	8.18 \pm 2.97	$F=0.232$; $p=0.800$
	P (mg /g)	2.21 \pm 1.03	1.80 \pm 0.67	1.62 \pm 0.51	$F=0.986$; $p=0.426$
<i>Rhynchosia edulis</i>	AF (cm ²)	33.11 \pm 9.05 a	14.98 \pm 4.06 b	13.44 \pm 3.65 b	$F=56.186$; $p=0.0001$
	AFE (cm ² /g)	259.59 \pm 70.19 a	170.71 \pm 19.27 b	174.07 \pm 34.77 b	$F=9.776$; $p=0.013$
	CMSF (mg/g)	354.81 \pm 29.15	371.31 \pm 26.94	370.60 \pm 38.75	$F=1.167$; $p=0.373$
	BFT (g)	2.84 \pm 1.95	3.90 \pm 3.16	3.11 \pm 2.41	$F=0.311$; $p=0.744$
	N (mg /g)	2.40 \pm 1.45 a	3.26 \pm 1.49 a	4.77 \pm 1.20 b	$F=11.326$; $p=0.009$
	P (mg /g)	0.78 \pm 0.32 a	0.95 \pm 0.19 ab	1.18 \pm 0.34 b	$F=3.307$; $p=0.043$

AF: área foliar; AFE: área foliar específica; CMSF: contenido de materia seca foliar; BFT: biomasa foliar total; N: concentración de N foliar; P: concentración de P foliar.

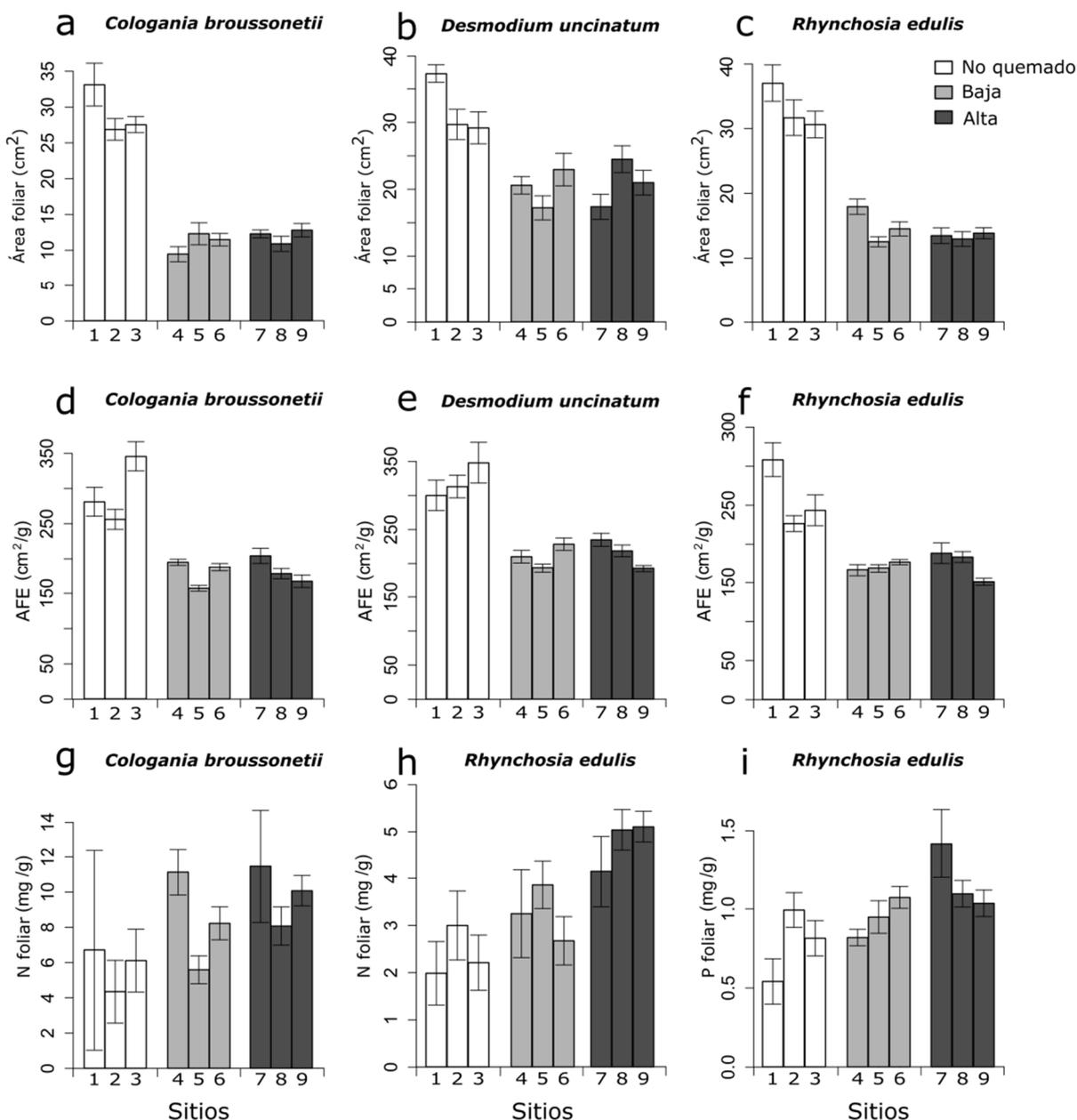


Figura 1.2. Caracteres foliares morfométricos: área foliar (a, b, c), área foliar específica (AFE; d, e, f), y nutricionales: concentración foliar de nitrógeno (g, h) y fósforo (i) de *Cologania broussonetii*, *Desmodium uncinatum* y *Rhynchosia edulis*, en nueve sitios con diferentes regímenes de fuego: no quemado (barras blancas), baja frecuencia de fuego (barras gris claro) y alta frecuencia de fuego (barras gris oscuro). Los valores reportados son medias \pm errores estándar. Las diferencias estadísticas entre regímenes de fuego pueden verse en la Tabla 1.2.

Relación entre calidad de suelo y caracteres foliares

En general, la variable integral de calidad de suelo mostró una correlación fuerte y positiva con AF y AFE en las tres especies estudiadas ($r=0.60-0.87$; $p<0.05$). Además, los mayores valores de fertilidad edáfica y de estos caracteres foliares fueron consistentemente encontrados en la condición no quemada (Figura 1.3 a, b). El CMSF estuvo negativamente correlacionado con la calidad del suelo en las tres especies, pero esta correlación solo fue significativa para *C. broussonetii* ($r=-0.86$; $p=0.005$; Figura 1.3 c). Llamativamente, el N foliar en *C. broussonetii* y *D. uncinatum* no mostró relación alguna con la calidad edáfica, a pesar que esta variable integral de suelo incluye a los nitratos, la principal fuente de nitrógeno para las plantas. Inclusive, la relación resultó negativa entre el N foliar de *R. edulis* y la fertilidad edáfica ($r=-0.93$; $p=0.0007$; Figura 1.3 d). La concentración de P en hojas no estuvo relacionada con la calidad de suelo en ninguna de las especies estudiadas ($P>0.05$) (Figura 1.3 e).

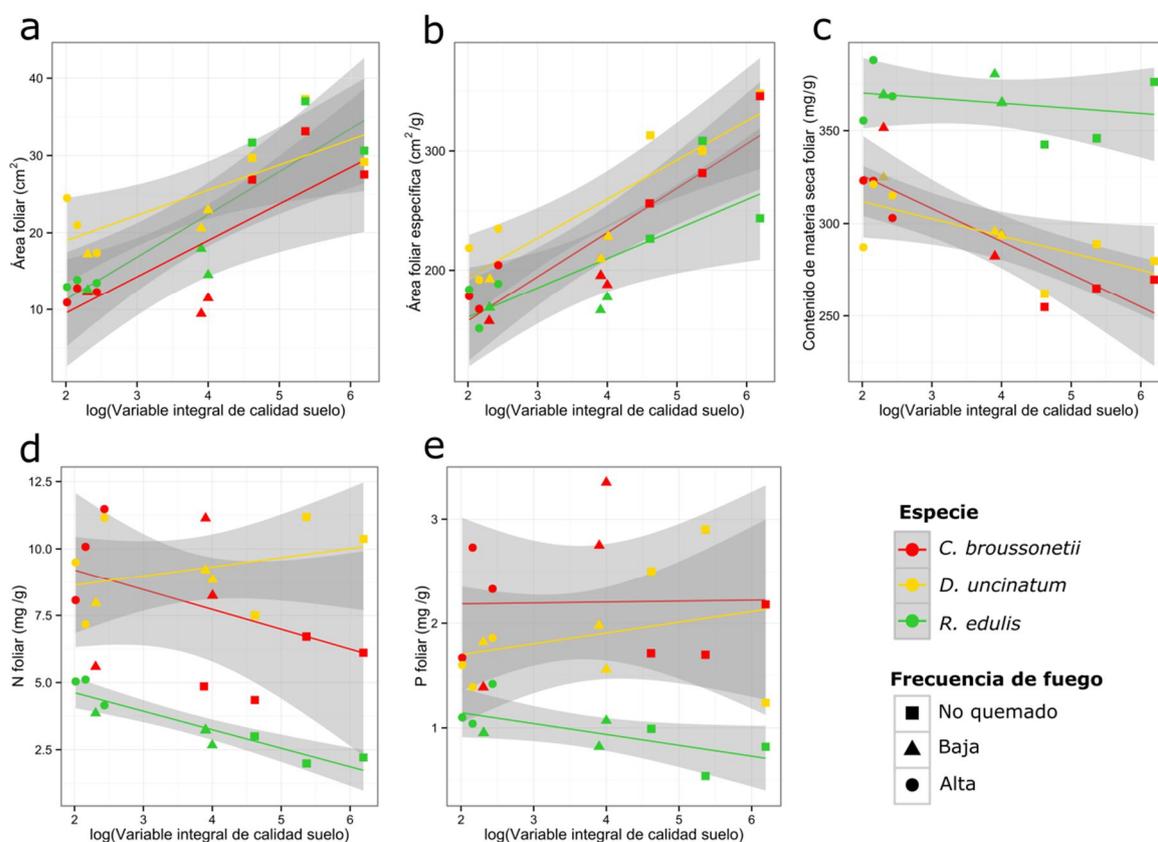


Figura 1.3. Relaciones entre valores promedios de área foliar (a), área foliar específica (b), contenido de materia seca foliar (c), concentración foliar de nitrógeno (d) y fósforo foliar (e) con la variable integral de calidad de suelo (trasformada a logaritmo) en escenarios no

quemados (cuadrados), de baja frecuencia de fuego (triángulos) y de alta frecuencia de fuego (círculos), para *Cologania broussonetii* (rojo), *Desmodium uncinatum* (amarillo) y *Rhynchosia edulis* (verde). Cada par ordenado (x, y) de los gráficos está representando por el valor promedio del carácter foliar y los parámetros de calidad edáfica por sitio (n=9). En ciertos casos, valores idénticos generan puntos superpuestos en el gráfico. Las líneas representan relación lineal modelada, y las sombras representan los intervalos de confianza (95%).

Respuesta interespecífica del AFE y nutrientes foliares

A nivel interespecífico, el AFE fue afectada negativamente por el fuego, encontrándose los menores valores de esta variable en la condición quemada para las tres especies de plantas estudiadas (i. e. los intervalos de confianza no se superponen con el valor cero de d (Hedges)). De manera opuesta, los niveles foliares de N incrementaron significativamente con el fuego en *C. broussonetii* y *R. edulis*. La especie que mostró un incremento significativo del P foliar en la condición quemada con respecto a la condición no quemada fue *R. edulis* (Figura 1.4 a), mientras que las especies restantes no mostraron cambios (i. e. los intervalos de confianza se superponen al valor cero de la magnitud del efecto d). La respuesta general del AFE al fuego a través de las tres especies fue negativa y significativamente diferente de cero (Figura 1.4 b), implicando una disminución neta del AFE hacia la condición quemada. El N foliar mostró un incremento promedio significativo en los sitios quemados, y el P foliar no evidenció cambios ante el tratamiento fuego a través de las especies, como se observa por la superposición de los intervalos de confianza con el cero (Figura 1.4 b).

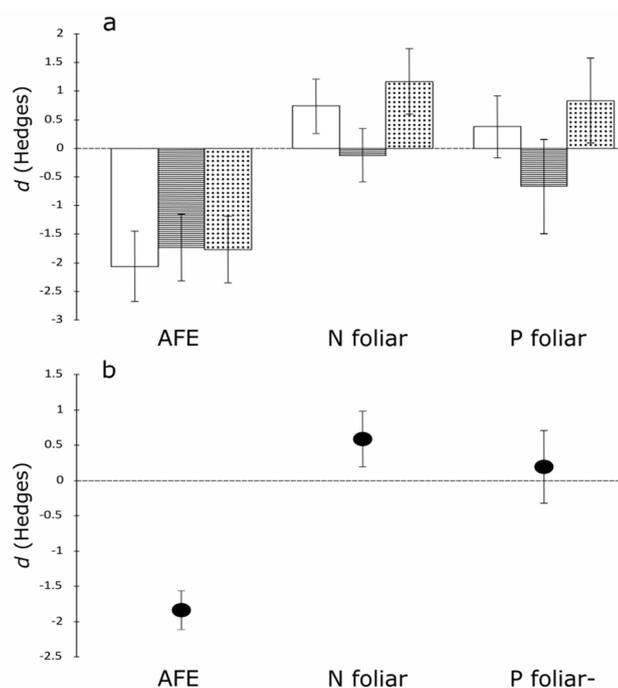


Figura 1.4. Respuesta interespecífica (a) y general (b) del área foliar específica (AFE), concentración foliar de nitrógeno (N) y fósforo (P) a los efectos del fuego. Los valores reportados son medias ponderadas e intervalos de confianza (95%). *Cologania broussonetii* (barras en blanco), *Desmodium uncinatum* (barras rayadas) y *Rhynchosia edulis* (barras punteadas). La línea horizontal punteada denota d (Hedges) = 0. Valores medios con intervalos de confianza que se superponen a esta línea, implica que la respuesta al fuego no es significativamente diferente de cero.

DISCUSIÓN

El rol del fuego como modulador de filtros ambientales es fundamental en la estructuración y generación de variabilidad de caracteres en plantas, tanto a nivel poblacional como comunitario (Dantas *et al.*, 2013 a y b; Ojeda *et al.*, 2010). Los regímenes naturales de fuego, los cuales involucran a factores como la frecuencia de fuego, intensidad y tiempo desde el último incendio, entre otros, pueden ser alterados por actividades antrópicas y provocar serias consecuencias sobre la biodiversidad (Keeley *et al.*, 2011). La medición simultánea de tales aspectos del régimen de fuego es rara vez lograda en un solo estudio, lo cual es una deficiencia generalizada de la mayoría de los trabajos en el área de la ecología del fuego (Whelan, 1995).

En base a los resultados reportados, se confirma la hipótesis inicial de trabajo: el incremento en la frecuencia de fuego causa una fuerte disminución en parámetros de calidad de suelo, lo que a su vez modifica los caracteres funcionales foliares a nivel intraespecífico. Sin embargo, se observaron respuestas opuestas de los caracteres morfométricos y nutricionales dentro de la misma especie de planta. Más específicamente, mientras el AF y AFE disminuyeron con la frecuencia de fuego, la biomasa, N y P foliares no fueron afectados o se halló un incremento en las especies estudiadas. A nivel interespecífico, la respuesta general del AFE en las tres especies fue similar, como una consecuencia de compartir rasgos ecológicos y de historia de vida.

La elevada recurrencia de incendios sobre un mismo sitio aumenta la hidrofobicidad del horizonte superficial del suelo, afectando la infiltración del agua de lluvia y por lo tanto incrementando los eventos de escorrentía (Certini, 2005; González-Pelayo *et al.*, 2015), lo cual favorece la erosión de suelo con un alto impacto sobre la humedad edáfica (Shakesby & Doerr, 2006). Sumado a esto, los suelos con textura gruesa de tipo arenosa, como los del área de estudio, se caracterizan típicamente por presentar bajo contenido de agua disponible para las plantas, por lo que pequeñas fluctuaciones pueden tener grandes consecuencias sobre el crecimiento vegetal (Albanesi & Anriquez, 2003; Thompson & Troeh, 1988). La disminución de la humedad edáfica en los sitios frecuentemente quemados puede causar una disminución directa del AFE como una respuesta de la planta para economizar el uso del agua disponible a partir de una estrategia conservativa en el uso de los recursos (Pérez-Ramos *et al.*, 2012). Además, la disminución de los niveles de conductividad eléctrica debido a la elevada frecuencia de fuego puede deberse a los reducidos niveles de iones inorgánicos del complejo de intercambio catiónico del suelo (principalmente Ca y Mg extractables) los cuales son nutrientes esenciales para el crecimiento de las plantas (Brye, 2006). En contraste, el N total del suelo, P, C orgánico y la relación C:N no mostraron cambios significativos a través de los escenarios de fuego. Estos parámetros edáficos han sido considerados como indicadores imprecisos de la disponibilidad de nutrientes para la vegetación, debido a que las reservas de nutrientes que ellos presentan son formas recalcitrantes no disponibles (Aerts & Chapin, 2000). Las formas mineralizadas de N (nitratos) junto con otros controladores del ciclado de nutrientes, como textura y humedad edáfica, pueden ser mejores indicadores de la disponibilidad de nutrientes para las plantas (Aerts & Chapin, 2000; Ordoñez *et al.*, 2009). Esta puede ser la situación en los escenarios de baja y alta frecuencia de fuego, donde la

disponibilidad hídrica y los niveles de nitratos comprometen seriamente el crecimiento vegetal, manifestándose con valores menores de AF y AFE, y mayores de CMSF consistentemente en las tres especies estudiadas.

Este es el primer estudio de nuestro conocimiento que relaciona la calidad de suelo y variabilidad intraespecífica de caracteres funcionales foliares en diferentes condiciones de frecuencia de fuego. Evaluaciones que indaguen los efectos de la recurrencia de fuego sobre caracteres funcionales en plantas a nivel intraespecífico han sido llevadas a cabo en ambientes del Cerrado, pero en ellas no se analizan parámetros de calidad edáfica (Loiola *et al.*, 2010; Cianciaruso *et al.*, 2012; Dantas *et al.*, 2013 a). Estos estudios se condicen con nuestros resultados, debido a que también reportan una disminución de AF y AFE al aumentar la frecuencia de fuego. Sin embargo, estos autores también encuentran una disminución de nutrientes foliares en sitios con mayor frecuencia de fuego, lo cual contrasta con los resultados aquí expuestos. A nivel interespecífico, las tres Fabaceae estudiadas responden de manera similar, lo cual es esperado cuando las plantas están emparentadas filogenéticamente y comparten rasgos de historia de vida, como se ha observado en otros trabajos (Anacker *et al.*, 2011; Dantas *et al.*, 2013 b).

Varias especies de Fabaceae tienen diferentes estrategias para desarrollarse en ambientes estresados nutricionalmente, manteniendo niveles óptimos de nutrientes en sus tejidos con importantes implicancias para el funcionamiento ecosistémico (Carreira & Niell, 1992; Goergen & Chambers, 2009). Por ejemplo, plantas rebrotadoras de larga vida, como las especies estudiadas, tienen un uso conservativo de los nutrientes y destinan más recursos a órganos de regeneración como rizomas y xilopodios, los cuales permiten el rebrote (Saura-Mas & Lloret, 2009). Además, la biomasa aérea de las plantas rebrotadoras es eliminada por el fuego, mientras que sus raíces y demás órganos subterráneos sobreviven. De este modo, la alta recurrencia de fuego disminuye la relación biomasa aérea-radical, permitiendo a las plantas rebrotadoras alcanzar altas concentraciones de nutrientes foliares, independientemente de la eficiencia de absorción de nutrientes desde el suelo o de la fertilidad edáfica (Chapin, 1980; Carreira & Niell, 1992). Un mecanismo adicional para el mantenimiento o aún el incremento del contenido de N foliar al aumentar la frecuencia de fuego puede estar relacionado con la capacidad biológica de fijar N₂ de estas leguminosas. De hecho, el incremento en la disponibilidad de luz después del fuego y la disminución de nitratos en suelos de sitios frecuentemente quemados podría favorecer la asociación simbiótica con bacterias fijadoras de N₂, aumentando así la tasa de fijación del

nutriente y por ende el contenido de N en la planta (Carreira & Niel, 1992; Casals *et al.*, 2005; Goergen & Chambers, 2009). Es conocido que alrededor del 20% de las especies de Fabaceae interaccionan simbióticamente con bacterias del género *Rhizobium* fijadoras de N₂ (Sprent & Sprent, 1990), y esta familia de plantas muestra usualmente alta frecuencia, densidad y diversidad de especies en escenarios post-fuego como resultado del beneficio de esta interacción (Hendricks & Boring, 1999; Guinto *et al.*, 2000). Por ejemplo, especies del género *Rhynchosia* (Fabaceae) aumentan sus niveles de fijación biológica de N₂ después del fuego, mostrando una asociación positiva entre el N absorbido desde la atmósfera y la biomasa total producida por planta (Hiers & Mitchell, 2007). Tales respuestas pueden ser esperadas debido a que las deficiencias minerales en el suelo raramente limitan las tasas de fijación biológica de N₂ (Raison, 1979; Aranibar *et al.*, 2003); por el contrario, una elevada disponibilidad de nitratos en el suelo produce un efecto negativo sobre la nodulación (Casals *et al.*, 2005), presuntamente por reducir los altos costos energéticos de mantener la simbiosis (Aerts & Chapin, 2000).

Cuando la fijación biológica de N₂ permite a las plantas alcanzar elevados niveles de N en sus órganos, las mismas pueden ayudar al enriquecimiento del ambiente a partir de los exudados de las raíces y de la descomposición de los tejidos (Casals *et al.*, 2005; Reverchon *et al.*, 2012). En sitios con baja fertilidad edáfica ocasionada por fuegos recurrentes, aún las bajas tasas de fijación biológica de N₂ pueden representar una valorable fuente para restaurar los niveles de N en el suelo (Raison, 1979; Caon *et al.*, 2014). De hecho, la fijación biológica de N₂ representa un rasgo funcional clave de las plantas para el ciclado de nutrientes de áreas quemadas, como ha sido demostrado en algunas Fabaceae de los géneros *Cologania*, *Rhynchosia* y *Lupinus* (Hiers *et al.*, 2003; Goergen & Chambers, 2009; Grau *et al.*, 2009). Debido al mantenimiento o incremento de nutrientes en sus tejidos en escenarios quemados, las especies nativas estudiadas podrían modelar la dinámica sucesional y contribuir al ciclado de nutrientes a escala microambiental, mejorando las condiciones abióticas y permitiendo la emergencia de otras especies. A pesar de esto, la transferencia de nutrientes desde la hojarasca al suelo requiere de periodos de tiempo lo suficientemente largos para evidenciar estabilización o aumento de N debidos al mecanismo de fijación biológica de N₂ (Reverchon *et al.*, 2012). Por consiguiente, son necesarias prácticas activas de manejo de áreas quemadas evitando la recurrencia del fuego con el fin de que trascorra el tiempo necesario para completar el

ciclado de nutrientes y así restaurar la fertilidad edáfica de estos sitios empobrecidos por el fuego.

En las últimas décadas, se ha evidenciado un incremento de los incendios forestales y del área quemada en varias regiones subtropicales y templadas, tales como bosques del este de Australia (Bradstock, 2010) y de la región Chaqueña en el centro de Argentina (Kunst & Bravo, 2003; Bravo *et al.*, 2010). Debido a que el fuego opera como un filtro ecológico, los cambios en el régimen de fuego histórico de una región pueden alterar significativamente la estructura y composición de la comunidad de plantas, seleccionando a especies con combinaciones particulares de caracteres morfológicos y funcionales (Bradstock, 2010; Keeley *et al.*, 2011). Es así que especies de plantas con rasgos de persistencia al fuego son seleccionadas y sobrerrepresentadas en comunidades frecuentemente quemadas, delimitando así la composición de especies y la diversidad funcional de plantas encontradas en la comunidad (Pausas & Verdú, 2008). Actualmente, varios ecosistemas boscosos del mundo están transformándose en sabanas como resultado del incremento en la frecuencia de incendios, la cual produce un aumento en la dominancia de especies herbáceas y una reducción del estrato arbóreo y arbustivo (e.g. Bradstock, 2010). Es probable que ocurra un proceso similar en los sitios quemados estudiados, donde la comunidad de plantas esta mayormente representada por especies herbáceas. De hecho, en los sitios de alta frecuencia de fuego existen menos del 50 % de las especies de árboles y arbustos que los que habitan en sitios no quemados (datos de esta tesis). Las especies leñosas que permanecen en estos escenarios quemados se caracterizan por presentar rasgos de historia de vida como rebrote (e.g. *Lithraea molleoides*, *Celtis ehrenbergiana*, *Colletia spinosissima*, *Condalia* spp., *Baccharis* spp.) y capacidad para fijar N₂ (e.g. *Acacia* spp, *Geoffroea decorticans*). Por lo tanto, los suelos más secos y empobrecidos que se encuentran en los sitios sujetos a mayor frecuencia de fuegos en el Chaco Serrano pueden no solo afectar la variación de caracteres a nivel intraespecífico, sino también modelar la comunidad hacia una predominancia de plantas con estrategia conservativa en el uso de los recursos (Pérez-Ramos *et al.*, 2012; Reverchon *et al.*, 2012). Tal proceso podría conducir a una homogeneización de la comunidad donde las especies de plantas rebrotadoras, de crecimiento lento y con hojas reducidas, además de un eficiente uso del agua, las pondría en ventaja frente a especies de rápido crecimiento, con hojas grandes y una estrategia adquisitiva en el uso de los recursos. Finalmente, estos cambios comunitarios desencadenados por un régimen de fuego con frecuencias elevadas podrían afectar

importantes procesos ecosistémicos como descomposición y productividad (Díaz *et al.*, 1999; Anacker *et al.*, 2011).

CAPÍTULO II

Efectos de la frecuencia de fuego sobre la reproducción: importancia de polinizadores y disponibilidad de recursos

INTRODUCCIÓN

El fuego representa un importante factor ecológico y evolutivo que modela la estructura y composición de las comunidades de plantas en la mayor parte de los ecosistemas naturales (Bond *et al.*, 2005). Las plantas a menudo están adaptadas a un particular régimen de fuego, el cual implica ciertas características de frecuencia, intensidad y estacionalidad de los eventos de fuego en una determinada área a través del tiempo (Pausas, 2015b). Sin embargo, el éxito reproductivo de las plantas con flores varía ampliamente a nivel poblacional y esta variación es determinada principalmente por fluctuaciones en el servicio de polinización y en la disponibilidad de recursos (Haig & Westoby, 1988; Burkle & Irwin, 2009). Actualmente, se ha sugerido al fuego como uno de los principales factores que puede afectar sustancialmente la polinización (Ne'eman *et al.*, 2000; Potts *et al.*, 2001, 2006; Pauw, 2007; Geerts *et al.*, 2012; Van Nuland *et al.*, 2013) y la disponibilidad de recursos abióticos (Certini, 2005; Wang *et al.*, 2012; Pellegrini *et al.*, 2015) con serias implicancias para la reproducción sexual de las plantas. No obstante, el desarrollo de modelos predictivos sobre la respuesta de las plantas a cambios antrópicos en el régimen de fuego son torna limitado debido al escaso conocimiento recabado sobre cómo la dinámica de nutrientes y la polinización influyen en la reproducción de las plantas (Brown *et al.*, 2016 b).

Las interacciones planta-polinizador representan uno de los procesos fundamentales en la integridad y funcionamiento de los ecosistemas, debido a que la mayoría de las angiospermas dependen de la polinización por animales para reproducirse sexualmente (Ollerton *et al.*, 2011). A pesar de que algunas plantas son menos dependientes de polinizadores para producir frutos, como las especies hermafroditas autocompatibles, el mutualismo de la polinización tiene una función clave en el mantenimiento o incremento de la diversidad genética y el consecuente potencial evolutivo de las poblaciones vegetales. En la actualidad, disturbios antrópicos como pérdida de hábitat, cambios en el régimen de

fuego y otros tipos de degradación de los ecosistemas pueden provocar la disrupción de las interacciones entre plantas y polinizadores (Winfree *et al.*, 2009; Neuschulz *et al.*, 2016) con importantes consecuencias para la reproducción y por ende para la persistencia a largo plazo de las poblaciones de plantas (Aguilar *et al.*, 2006; Medel *et al.*, 2009). Una disminución de los animales polinizadores inducida por disturbios puede afectar de manera directa el cuajado de frutos y semillas, debido a mermas en la cantidad y/o calidad de polen recibido sobre los estigmas. Esta situación es más evidente cuando las especies de plantas tienen una alta dependencia sobre los polinizadores para la reproducción sexual (Campbell & Halama, 1993; Burkle & Irwin, 2009). Mientras la mayor parte de los estudios a nivel mundial han analizado los efectos de la pérdida y fragmentación de hábitat sobre la fauna de polinizadores, solo unos pocos trabajos han indagado los efectos del fuego sobre los polinizadores (van Mantgem *et al.*, 2015, Brown *et al.*, 2016 a).

El fuego puede afectar a los polinizadores por efecto directo de las llamas, o indirectamente a través de modificar la cantidad y calidad de los recursos para su nidificación y alimentación (Whelan, 1995; Dafni *et al.*, 2012). La disponibilidad de recursos para nidificación, como suelo desnudo, cavidades preexistentes o tipo de sustrato vegetal, son importantes determinantes de la estructura de la comunidad y de la abundancia relativa de abejas en ambientes mediterráneos después del fuego (Potts *et al.*, 2005). En este mismo tipo de ambientes, el aumento en la diversidad de plantas y los cambios en la estructura de la vegetación en respuesta al fuego pueden inducir cambios en la comunidad de abejas debido a una mayor disponibilidad de recursos para el forrajeo de los animales polinizadores (Potts *et al.*, 2003; van Nuland *et al.*, 2013; Brown *et al.*, 2016). En este sentido, se ha encontrado un aumento en la abundancia de visitantes florales en bosques templados manejados con fuegos prescritos debido a un efecto positivo de la cobertura de plantas herbáceas (Campbell *et al.*, 2007). Sin embargo, existen estudios que han reportado efectos negativos del fuego sobre los polinizadores de matorrales mediterráneos (Ne'eman *et al.*, 2000; Potts *et al.*, 2003) e inclusive estudios que no encuentran efectos del fuego sobre las abejas, uno de los grupos de polinizadores más importantes (Campbell *et al.*, 2007; Winfree *et al.*, 2009; Potts *et al.*, 2010). En esta misma dirección, se ha postulado que si bien los insectos polinizadores poseen una resiliencia intermedia a los efectos de un único fuego, la misma disminuye tras repetidos eventos del disturbio, aumentando el tiempo para su recuperación (Moretti *et al.*, 2006). Si bien la mayoría de estos trabajos fueron conducidos en ambientes mediterráneos o en bosque templados donde el fuego es

considerado una fuerza evolutiva, no existen estudios que evalúen la interacción planta-polinizador en ecosistemas subtropicales del hemisferio sur sujetos a incendios frecuentes.

Los diferentes grupos o gremios de insectos polinizadores pueden responder al fuego de distinta manera, y por ende, el éxito reproductivo de las plantas polinizadas por un gremio susceptible puede disminuir significativamente. Por ejemplo, la menor actividad de abejas solitarias puede producir una disminución en la producción de frutos en ciertas plantas que crecen en matorrales mediterráneos quemados (Ne'eman *et al.*, 2000). En estas mismas áreas quemadas, la mayor frecuencia de abejorros sociales (*Bombus*) que poseen una mayor capacidad de vuelo, no amortigua la disminución en la producción de semillas sobre otras especies de plantas (Ne'eman & Dafni, 1999). En síntesis, analizar cómo diferentes grupos de polinizadores, que a menudo difieren en su comportamiento de forrajeo y en la eficiencia en la transferencia de polen, responden a los efectos de la frecuencia de fuego resulta de importancia para detectar respuestas específicas de cada gremio o especie y sobre su actual rol en la polinización (Potts, 2005).

El estrés hídrico y nutricional del suelo generado por una elevada frecuencia de fuego puede impactar en la producción de frutos y semillas de las plantas. Una de las causas del menor éxito reproductivo es la disminución del crecimiento vegetativo, de la biomasa y por ende de la cantidad de recursos que la planta posee para invertir en la reproducción sexual (Burkle & Irwin, 2009). Por lo tanto, uno de los resultados de esta limitación de recursos es la mayor aborción de flores producidas. Sin embargo, esto depende de cuán costosas de producir sean las flores, lo cual depende de la demanda de fotoasimilados en función de sus rasgos florales (Obeso, 2002). Para poder entender en qué medida los recursos abióticos determinan la reproducción sexual y separar su efecto de la limitación por polen, las plantas autóгамas (aquellas que producen semillas con polen del mismo individuo) son un buen sistema de estudio debido a que en general no presentan limitación polínica. Por el contrario, las especies de plantas exógamas (aquellas que producen semillas por polinización cruzada con otros individuos) en general dependen de vectores de polen para la fecundación y por ende son más propensas a la limitación polínica cuando los polinizadores son escasos (Brunet, 2005). En el caso de que exista una limitación de recursos edáficos en simultáneo a una limitación de vectores de polen, estos efectos podrán ser detectados al comparar especies con diferente sistema de apareamiento (autógamas vs. exógamas) en diferentes condiciones de frecuencia de fuego.

Asimismo, la menor disponibilidad de recursos edáficos puede modificar rasgos florales relacionados con la atracción de los polinizadores, debido a cambios en la oferta de recompensas florales para polinizadores y/o disminución en la producción de flores (Muñoz *et al.*, 2005; Tunes *et al.*, 2016). Se ha demostrado que los factores abióticos influyeron más el éxito reproductivo de una especie dependiente de polinizadores a través de sus efectos directos que mediante los efectos indirectos por modificar la interacción planta-polinizador, evidenciando una mayor relevancia del control ascendente en la reproducción de las plantas (Ne'eman *et al.*, 2006; Burkle & Irwin, 2009; 2010). A pesar de estas evidencias experimentales basadas en algunas especies de plantas, no ha sido abordada la relación entre factores abióticos y sus efectos sobre los patrones de visitas de polinizadores en ecosistemas con cambios de los regímenes de fuego actuales.

El objetivo de este capítulo es evaluar el efecto de la frecuencia de fuego sobre la reproducción sexual de *Desmodium uncinatum* y *Rhynchosia edulis*, y su relación con los polinizadores y la disponibilidad de recursos abióticos en diferentes escenarios post-fuego. Para esto se evaluaron las propiedades edáficas (Capítulo I), la interacción planta-polinizador y la reproducción de las dos especies de plantas mencionadas en escenarios no quemados, de baja frecuencia de fuego y de alta frecuencia de fuego, durante dos periodos reproductivos consecutivos. Estas dos especies presentan estrategias reproductivas diferentes: *D. uncinatum* posee un sistema de apareamiento exógamo, con una elevada dependencia reproductiva de polinizadores (Alemán *et al.*, 2014), mientras que *R. edulis* se reproduce principalmente por autogamia y posee una baja dependencia de polinizadores (Morales & Galetto, 2003). Por consiguiente, se hipotetiza que el incremento de la frecuencia de fuego erosiona las propiedades edáficas y por ende limita la disponibilidad de recursos abióticos para la reproducción sexual. Además, causará una disminución de la frecuencia de visitas de polinizadores a las flores debido a la menor oferta floral producida por planta y/o de recompensas. En consecuencia, las plantas que crecen en sitios frecuentemente quemados reducirán su fecundidad como resultado de la disminución tanto de recursos abióticos como de polinizadores. En este sentido, debido a un efecto aditivo de estos factores bióticos y abióticos, la disminución del éxito reproductivo será más pronunciada en *D. uncinatum*, la cual presenta una mayor dependencia de polinizadores para su reproducción.

MATERIALES Y MÉTODOS

Especies estudiadas

Las especies estudiadas en el presente capítulo son *Desmodium uncinatum* y *Rhynchosia edulis*, excluyendo a *Cologania broussonetii*, debido a que esta especie presentó altas proporciones de flores cleistógamas en sitios con alta frecuencia de fuego, reproduciéndose independientemente de los polinizadores. Si bien estos resultados escapan a los objetivos planteados en esta tesis, la proporción de flores y frutos cleistógamos de *C. broussonetii* en diferentes escenarios de frecuencia de fuego son presentados en el Apéndice IV.

Si bien las dos especies seleccionadas para este capítulo, *D. uncinatum* y *R. edulis*, presentan una exitosa regeneración post-fuego a partir del rebrote desde órganos vegetativos, estas leguminosas solo pueden reproducirse por semillas. Las plantas originadas de semillas florecen dentro del primer año de crecimiento (Carbone, obs. pers.). Sus flores con una morfología papilionada típica están adaptadas a la polinización por abejas (Hymenoptera), las que visitan las flores en busca de néctar y polen (*R. edulis*) o solo polen (*D. uncinatum*). En cuanto al sistema de compatibilidad, las dos especies son autocompatibles, pero las mismas presentan diferentes estrategias reproductivas: *D. uncinatum* posee un mecanismo de polinización explosivo, el cual solo puede ser activado por la visita de algún polinizador. Si las flores no son visitadas por un polinizador legítimo, esta no puede autopolinizarse y producir frutos de manera autónoma, por lo tanto esta especie posee una alta dependencia de insectos polinizadores para reproducirse (Klein *et al.*, 2007, Alemán *et al.*, 2014). Sus flores son polinizadas principalmente por abejorros sociales (*Bombus* spp.) (Figuroa-Fleming, 2014). En contraste, *R. edulis* es visitada principalmente por abejas solitarias (Megachilidae) y puede producir frutos por autopolinización autónoma (Morales & Galetto, 2003), por lo que posee una baja dependencia de estas abejas solitarias para producir frutos (Figuroa-Fleming, 2014).

Además, las flores de *D. uncinatum* tiene un número variable de óvulos en sus ovarios, y por lo tanto el número de semillas producidas en sus frutos puede variar de 4 a 10. Las mismas poseen una dispersión por epizoocoria, debido a que los pelos uncinados del pericarpio le confieren una gran capacidad de adherirse al pelaje de los animales y ser dispersado a largas distancias. Por otro lado, las flores de *R. edulis* solo poseen dos óvulos por ovario (al igual que todas las especies del mismo género), rasgo que no presenta variabilidad, por lo que sus frutos pueden presentar como máximo dos semillas. La

dispersión de las mismas es por autocoria, es decir, por gravedad y a cortas distancias de la planta madre.

En cada uno de los nueve sitios seleccionados, se marcaron 12 individuos adultos para cada especie, contabilizando un total de 108 individuos por especie a través de los tres escenarios con frecuencias de fuego contrastantes. Sobre estos individuos, se registró los niveles de polinización y reproducción en dos periodos reproductivos consecutivos, desde diciembre a marzo de 2013-2014 y 2014-2015. Durante estas estaciones reproductivas medidas, se registraron marcadas diferencias en los niveles de precipitaciones en el área de estudio: 883.5 mm en el primer periodo y 1154 mm durante el segundo. Considerando que la precipitación media es de 882.5 mm (± 179.3) durante el periodo 1990-2014, para la misma área de estudio (Apéndice I; Familia Malanca, comunicación personal), se puede aseverar que el primer periodo de mediciones correspondió a un año con aporte pluviométrico promedio, mientras que el segundo periodo las lluvias superaron la media anual.

Interacción planta-polinizador

Se registraron todos los visitantes florales de *D. uncinatum* y *R. edulis* durante los dos periodos de floración antes mencionados. El muestreo consistió en registrar todos los insectos que visitaron flores abiertas en periodos de aproximadamente 15 minutos por planta, en 7 a 12 plantas por especie por sitio, a lo largo de todo el periodo de floración. El esfuerzo de muestreo general acumulado durante los dos periodos de floración fue similar para cada especie, contabilizando aproximadamente 50 horas de observación (Apéndice V). La observación de visitantes florales fue realizada a partir de dos métodos: observación directa focal sobre un grupo de flores ofrecidas por un individuo y a través de filmaciones con cámara de alta definición. Las mismas fueron conducidas durante el horario diurno de máximo despliegue floral, de 8:00 a 14:00 h para *D. uncinatum* y de 12:00 a 16:00 h para *R. edulis*. En cada observación se registró el número de flores abiertas por individuo, la cantidad de flores visitadas y la identidad taxonómica de cada insecto visitante. Luego se procedió a diferenciar visitantes florales de polinizadores legítimos observando el contacto con las piezas florales fértiles. Asimismo, se estimó la abundancia relativa de polinizadores y se definió la frecuencia de visitas de polinizadores como el número de flores visitadas por planta por periodo de observación (*ca.* 15 min). Las observaciones fueron realizadas en las mismas plantas en las que luego se midieron los rasgos reproductivos.

Reproducción

Se marcaron todas las inflorescencias desarrolladas en individuos de *D. uncinatum* y al menos seis inflorescencias en individuos de *R. edulis* en cada uno de los dos periodos de floración (diciembre-marzo 2013-2014 y 2014-2015). Las mediciones fueron conducidas en los mismos individuos rebrotadores¹ (10-12 plantas por especie en cada sitio) a través de los dos periodos, excepto en aquellos individuos que murieron, los cuales fueron reemplazados (1-2 plantas por especie en cada sitio). Se contabilizó el número de flores producidas en cada inflorescencia marcadas y posteriormente los frutos cuajados por polinización natural. La proporción de fructificación o cuajado de frutos (*fruit-set*) fue calculada como: número de frutos maduros/número de flores marcadas. También se contabilizó el número de semillas por fruto y se calculó la proporción de semillas producidas (*seed-set*) como: número de semillas por fruto/número de óvulos por flor.

Finalmente se midió la producción total de flores y frutos por planta por polinización natural durante las dos estaciones reproductivas analizadas, en todos los escenarios de frecuencia de fuego.

Análisis de datos

Con el objetivo de analizar los efectos de la frecuencia de fuego sobre el ensamble de polinizadores de *D. uncinatum* y *R. edulis*, se analizó la riqueza de especies a través de rarefacción y extrapolación basada en un tamaño muestral comparable entre escenarios de fuego con el programa iNEXT Online (Hsieh *et al.*, 2013). Además, se evaluó la composición de especies entre regímenes de fuego a través de un análisis de similitud no paramétrico de una vía, ANOSIM (con 999 permutaciones). Para esto, se construyó una matriz con valores de disimilitud de Jaccard utilizando el paquete Vegan (Oksanen, 2015), a partir de datos de incidencia de las especies en cada sitio. Este análisis permite poner a prueba la hipótesis nula que la composición de especies de polinizadores no es diferente entre escenarios de fuego (Clarke, 1993). Los análisis se realizaron de manera independiente para cada periodo de muestreo.

Para analizar los efectos de la frecuencia de fuego sobre las variables respuesta (frecuencia de visitas de polinizadores, proporción de fructificación y producción total de

¹ Los individuos rebrotadores se diferenciaron de las plántulas nuevas originadas de semillas mediante la observación a campo de la morfología foliar en relación a su estado ontogenético. En las plantas originadas por semilla se evidencia la presencia de las dos hojas embrionales (cotiledones) y de las dos primeras hojas verdaderas, simples y en filotaxis opuesta. Este tipo de hojas perdura en la planta entre 1 y 2 meses desde su emergencia. Los individuos adultos que inician su rebrote a partir de órganos vegetativos subterráneos hacia la primavera presentan todas sus hojas trifoliadas y en filotaxis alterna desde la base de las ramas.

flores y frutos) se utilizaron modelos lineales generalizados a efectos mixtos (*generalized linear mixed models*, GLMM de aquí en adelante). La frecuencia de fuego fue considerada como efecto fijo con tres niveles (no quemado, baja frecuencia de fuego y alta frecuencia de fuego). La identidad del sitio y el periodo en el que se realizó la medición fueron asignados como factores aleatorios, con nueve y dos niveles, respectivamente. Se efectuaron diferentes extensiones de GLMM de acuerdo a la distribución de errores de cada variable respuesta. La frecuencia de visitas de polinizadores exhibió un exceso de valores ceros, es decir, donde no se registraron visitas de polinizadores, lo cual es común en conjuntos de datos sobre observación de polinizadores durante intervalos de muestreo cortos (Ebeling *et al.*, 2008) y es un problema que típicamente ocurre en bases de datos sobre conteos. Por consiguiente, se utilizó un GLMM inflado en ceros con una distribución binomial negativa (función *glmmadmb* del paquete *glmmADMB*, Bolker *et al.*, 2012). Luego de comprobar los supuestos para la inclusión de una covariable, el número de flores abiertas por planta al momento de la observación fue incluido en el modelo como una covariable, para probar los efectos de la oferta floral de cada planta sobre la frecuencia de visitas de polinizadores. La inclusión del factor fijo (frecuencia de fuego) y de los factores aleatorios (sitio y periodo) fue realizada a través de un análisis de devianza de modelos anidados (LR ratio, relación de verosimilitud). Debido a que los efectos aleatorios no fueron significativos, los mismos fueron excluidos del modelo y finalmente la variable frecuencia de visitas fue analizada usando una extensión de modelos lineales generalizado: modelos *hurdle* (función *hurdle* del paquete *pscl*, Jackman, 2008), los cuales además de modelar la sobredispersión son capaces de considerar el exceso de ceros verdaderos de la frecuencia de visitas. Esta aproximación asume que el exceso de ceros es una propiedad del sistema natural y que no es creado por artilugios del muestreo. Esto se ha definido a partir de muestreos preliminares, donde en tiempos de observación superiores a los 15 min se seguían registrando visitas nulas. Estos modelos tienen dos componentes: un componente binomial que modela los ceros vs los conteos positivos, y un componente truncado para los conteos positivos, con distribución binomial negativa (Zeileis *et al.*, 2007). Este enfoque es capaz de estimar la probabilidad de que una planta sea visitada y luego estima el número relativo de visitas de polinizadores entre las plantas que fueron visitadas al menos una vez (Martin *et al.*, 2005). La significancia del efecto fijo fue comprobada con pruebas de verosimilitud (*likelihood ratio test*, LRT). Los análisis fueron desarrollados para cada especie por separado.

Para evaluar el efecto de la frecuencia de fuego sobre las variables respuesta reproductivas (proporción de fructificación y producción total de flores y frutos), se utilizaron GLMM (funciones *glmer* y *glmer.nb* del paquete *lme4*, Bates *et al.*, 2014) con distribución de errores binomial para la proporción de fructificación y binomial negativa para la producción total de flores y frutos debido a que ambas variables presentaron sobredispersión. Para estos análisis, la estructura de efectos fijos y aleatorios fue la misma que se detalló previamente. Después de comprobar el ajuste del modelo y los supuestos a cumplir, la significancia del efecto fijo fue calculada con Z-Wald. Para evaluar el efecto de los factores aleatorios periodo y sitio, se compararon modelos anidados (un modelo con el factor aleatorio y el otro sin este) con el modelo global usando LRT. Los parámetros de los modelos fueron estimados con máxima verosimilitud restringida (método REML).

Además, se utilizaron pruebas de correlación de Pearson para evaluar la relación entre la proporción de fructificación y la frecuencia de visitas de (i) todos los polinizadores y (ii) del grupo de polinizadores más abundante de plantas de las dos especies estudiadas que fueron visitadas al menos una vez (datos positivos). Al mismo tiempo, para evaluar en qué grado la variación en la proporción de fructificación es determinada por la calidad de suelo, se analizó la relación entre la variable integral de calidad de suelo (ver Capítulo I para forma de cálculo) usando modelos lineales generalizados (GLM) con distribución de errores binomial para cada especie de planta. Este análisis fue realizado solo con el grupo de datos del periodo 2013-2014, debido a que fue el momento en donde las muestras de suelo y las variables reproductivas en las plantas fueron tomadas simultáneamente.

Todos los análisis (excepto el análisis de riqueza de polinizadores) fueron desarrollados en entorno R (versión R 3.3.0, R Core Team 2016).

RESULTADOS

Interacción planta-polinizador

Se registró un total de 14 especies de insectos visitando las flores de *Desmodium uncinatum* y *Rhynchosia edulis* a través de los diferentes escenarios de frecuencia de fuego durante los dos periodos de floración (Tabla 2.1). Estos visitantes florales pueden ser divididos en dos grupos funcionales: 1) visitantes sociales principalmente representadas por especies de *Bombus* (Apidae) y 2) visitantes solitarios representadas por las abejas cortadoras de hojas *Megachile* sp. y *Notanthidium* sp. (Megachillidae), abejas carpinteras

Xylocopa ordinaria (Apidae) y las llamadas avispa del polen *Trimeria* sp. (Vespidae). La frecuencia de fuego no afectó de manera significativa la riqueza específica de polinizadores de ambas especies vegetales estudiadas en ninguno de los dos periodos de floración (Tabla 2.2). Con respecto a la composición de estos ensambles, no se observaron diferencias en las especies de polinizadores que visitaron tanto a *D. uncinatum* (periodo 2013-2014: $R=0.07$, $p=0.39$; periodo 2014-2015: $R= -0.11$, $p=0.77$) como a *R. edulis* (periodo 2013-2014: $R=-0.11$, $p=0.78$; periodo 2014-2015: $R= -0.12$, $p=0.91$) entre escenarios de frecuencia de fuego.

Tabla 2.1. Abundancia relativa de visitantes florales de *Desmodium uncinatum* y *Rhynchosia edulis* en diferentes escenarios de frecuencia de fuego del Chaco Serrano. Los datos son porcentaje de visitas de una particular especie de insecto en relación al número total de visitas por régimen de fuego durante dos periodos de floración (2013-2014 y 2014-2015).

Visitante floral	Orden	Familia	<i>Desmodium uncinatum</i>			<i>Rhynchosia edulis</i>		
			No quemado	Baja	Alta	No quemado	Baja	Alta
<i>Apis melifera</i>	H	Apidae	-	-	-	-	1.10	-
<i>Bombus bellicosus</i>	H	Apidae	18.75	20.63	38.78	-	-	6.52
<i>Bombus morio</i>	H	Apidae	15.63	-	-	-	-	-
<i>Bombus opifex</i>	H	Apidae	31.25	19.05	44.90	4.24	-	8.70
<i>Chioides catillus</i> ^a	L	Hesperiidae	-	1.06	-	-	-	-
<i>Colletes</i> sp.	H	Colletidae	-	0.53	-	1.69	-	-
<i>Helophylus</i> sp. ^a	D	Syrphidae	-	-	2.04	-	0.74	6.52
<i>Lepidoptera</i> sp. ^a	L	-	-	-	-	-	0.37	2.17
<i>Lepidoptera</i> sp.1 ^a	L	-	-	-	-	-	0.37	-
<i>Lepidoptera</i> sp.2 ^a	L	-	-	-	-	-	0.37	-
<i>Megachile</i> sp.	H	Megachillidae	28.13	17.46	14.29	6.78	18.38	17.39
<i>Notanthidium</i> sp.	H	Megachillidae	-	-	-	13.56	5.51	8.70
<i>Trimeria</i> sp. ^b	H	Vespidae	6.25	21.16	-	73.73	70.22	28.26
<i>Xylocopa ordinaria</i>	H	Apidae	-	20.11	-	-	2.94	21.74
Nº visitantes:			5	7	4	5	9	8

^a Robador de néctar. ^b Visitante floral ilegítimo. Orden: D: Diptera, H: Hymenoptera, L: Lepidoptera.

Los polinizadores más abundantes de *D. uncinatum* fueron abejorros del género *Bombus* en todos los regímenes de fuego, liderando las visitas *B. opifex*, con el 40-84 %

del total de las mismas, seguido en segundo lugar por *B. bellicosus* (Apéndice VI). Además, las avispas del polen (*Trimeria* sp.) visitaron asiduamente las flores de *D. uncinatum*, especialmente en el escenario de baja frecuencia de fuego. Las mismas poseen el comportamiento particular de permanecer en la misma planta por largos periodos de tiempo, realizando varias visitas prolongadas a la misma flor. Sin embargo, estas avispas del polen no fueron polinizadores legítimos debido a que fueron incapaces de activar el mecanismo de polinización explosivo de las flores de *D. uncinatum*.

En los tres escenarios de frecuencia de fuego, *R. edulis* fue principalmente visitada por *Trimeria* sp., realizando del 28 al 74 % de las visitas totales, seguido por las dos especies de Megachilidae y *X. ordinaria* (Tabla 2.1; Apéndice VI). Estos últimos visitantes florales fueron polinizadores legítimos de *R. edulis*.

Tabla 2.2. Riqueza de especies de polinizadores observada y estimada para *Desmodium uncinatum* y *Rhynchosia edulis* en dos periodos de floración, para una cobertura de muestreo comparable entre diferentes escenarios de frecuencia de fuego del Chaco Serrano.

Especie	Periodo	Frecuencia de fuego	Riqueza observada	Riqueza estimada	IC inferior	IC superior	Cobertura (%)
<i>D. uncinatum</i>	2013-2014	No quemado	4	4.4	2.6	6.2	
		Baja	6	4.9	4.3	5.5	88
		Alta	3	2.7	2.3	3.2	
	2014-2015	No quemado	4	3.8	2.4	5.1	
		Baja	4	5.9	2.1	9.8	75
		Alta	2	1.5	1.3	1.8	
<i>R. edulis</i>	2013-2014	No quemado	5	3.9	3.2	4.6	
		Baja	5	3.5	3.0	4.0	87
		Alta	3	3.5	3.0	4.0	
	2014-2015	No quemado	3	3.7	2.0	5.3	
		Baja	4	1.7	1.5	1.8	49
		Alta	5	5.0	3.2	6.9	

La frecuencia de fuego afectó significativamente el número de visitas de polinizadores en *D. uncinatum* ($\chi^2=10.6$, $P=0.031$), pero no tuvo efecto sobre los polinizadores de *R. edulis* ($\chi^2=5.429$, $P=0.246$) (Tabla 2.3). El número de flores como covariable explicó en gran medida la variación en el número de visitas de polinizadores en

ambas especies de plantas (*D. uncinatum*: $\chi^2=47.1$, $p<0.001$; *R. edulis*: $\chi^2=45.6$, $P<0.001$). Al disgregar la variable número de visitas en sus componentes, mientras la probabilidad de que una planta de *D. uncinatum* sea visitada por un insecto fue mayor en el escenario de baja frecuencia de fuego que en los de alta frecuencia ($Z=2.719$, $P=0.007$) y que en la condición no quemada ($Z=2.549$, $P=0.011$) (Figura 2.1), los individuos de *D. uncinatum* que fueron visitados al menos una vez (conteos positivos) recibieron similar cantidad de visitas de polinizadores en todos los escenarios de frecuencia de fuego (Figura 2.2 a). El número de flores disponibles como covariable en el modelo afectó significativamente tanto la probabilidad de que una planta sea visitada ($Z>2.386$, $P<0.017$) como también el número de visitas a plantas de las dos Fabaceae ($Z>4.965$, $P< 0.001$). El número de visitas de acuerdo al grupo funcional de abejas (sociales y solitarias) para cada especie de planta fue similar al patrón encontrado para todos los polinizadores en su conjunto.

Tabla 2.3. Análisis de devianza (máxima verosimilitud) de modelos anidados describiendo la variación en la frecuencia de visitas de polinizadores en *Desmodium uncinatum* y *Rhynchosia edulis*.

Especie	Variable explicativa	Prueba de verosimilitud ^a	
		$\chi^2_{(1)}$	<i>p</i> valor
<i>D. uncinatum</i>	Frecuencia de fuego	10.649	0.031
	Nº flores	47.139	<0.001
	Nº flores * Frecuencia de fuego	5.921	0.205
<i>R. edulis</i>	Frecuencia de fuego	5.429	0.246
	Nº flores	45.627	<0.001
	Nº flores * Frecuencia de fuego	4.620	0.329

^a Likelihood-ratio test. Obtenido por comparación de modelos Hurdle anidados al modelo global.

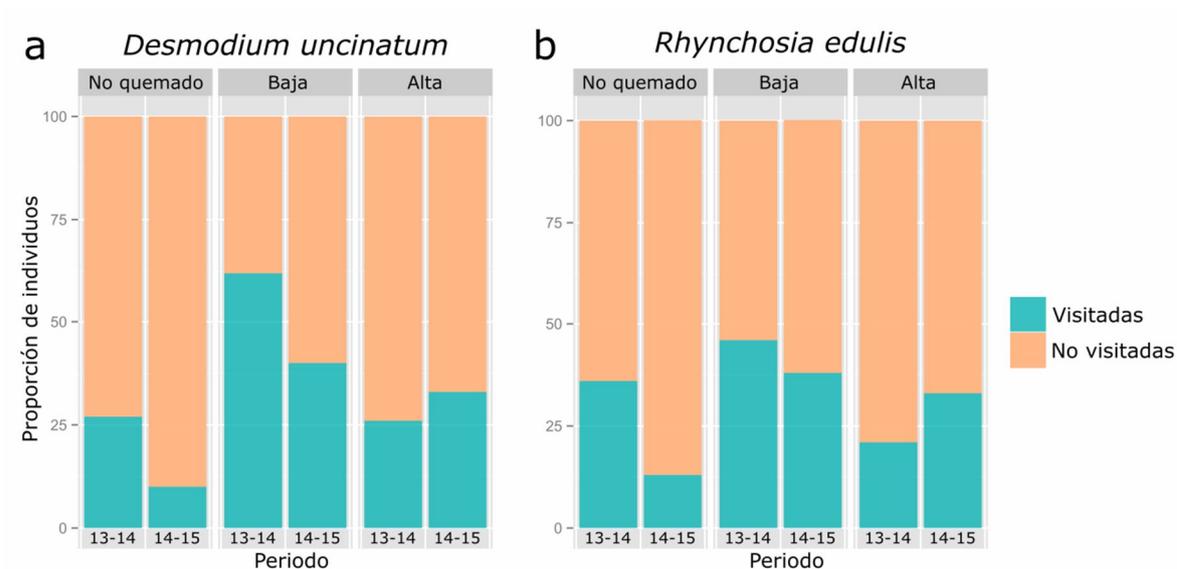


Figura 2.1. Proporción de plantas visitadas y no visitadas de *Desmodium uncinatum* (a) y *Rhynchosia edulis* (b) por polinizadores durante dos periodos de floración (2013-2014 y 2014-2015) en sitios de Chaco Serrano sujetos a diferente frecuencia de fuego (no quemado, baja y alta frecuencia de fuego). Los valores graficados son promedios de los tres sitios por régimen de fuego.

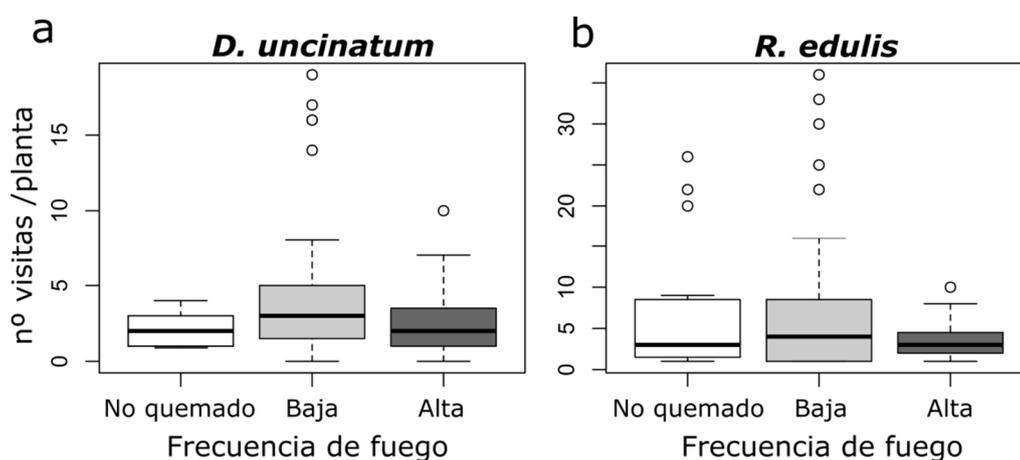


Figura 2.2. Número de visitas promedio de polinizadores a plantas de *Desmodium uncinatum* (a) y *Rhynchosia edulis* (b) que recibieron al menos una visita en escenarios con diferente frecuencia de fuego (no quemado, baja y alta frecuencia) durante dos periodos de floración (2013-2014 y 2014-2015).

Reproducción

La producción total de flores por planta en *D. uncinatum* permaneció sin cambios a través de las condiciones de frecuencia de fuego. Contrariamente, los individuos de *R. edulis* mostraron una mayor producción de flores en la condición no quemada ($\chi^2= 5.891$, $P=0.053$; Tabla 2.4a; Figura 2.3a-b). Por otra parte, el número de frutos por planta fue afectado significativamente por la frecuencia de fuego en las dos especies estudiadas (*D. uncinatum*: $\chi^2= 15.3$, $P=0.0004$; *R. edulis*: $\chi^2= 15.1$, $P=0.0005$; Tabla 2.4b), con los mayores valores absolutos de frutos producidos en la condición no quemada ($Z> 4.523$, $P<0.001$; Figura 2.3c-d). No obstante, el periodo de muestreo como factor aleatorio tuvo un efecto significativo sobre la variación tanto en la producción de flores como en la de frutos en ambas Fabaceae ($\chi^2=21.3$, $P<0.001$). Las plantas de *D. uncinatum* y *R. edulis* produjeron entre 1.5 y 4 veces más flores y frutos durante el periodo más húmedo (2014-2015) en comparación con el periodo más seco (2013-2014).

La proporción de fructificación en relación a las flores producidas por *D. uncinatum* fue significativamente explicada por la frecuencia de fuego ($\chi^2=24.7$, $P<0.001$) y el patrón de respuesta fue similar en los dos periodos analizados. La fructificación de las poblaciones creciendo en escenarios no quemados fue alrededor de 2.8 veces mayor (Figura 2.3e) en comparación con ambos escenarios quemados, de baja y alta frecuencia de fuego (no quemado-baja: $Z=9.599$, $P<0.001$; no quemado-alta: $Z=10.195$, $P<0.001$), entre los cuales no se hallaron diferencias (baja-alta: $Z=0.583$, $P=0.829$).

Contrariamente, la proporción de fructificación en *R. edulis* fue bastante similar a través de todos los escenarios de fuego ($\chi^2=5.52$, $P=0.063$; Tabla 2.4c), difiriendo solo en el régimen no quemado del régimen de alta frecuencia de fuego ($Z=2.750$; $P=0.016$; Figura 2.3f).

La identidad del sitio como factor aleatorio mostró una influencia significativa sobre la variación de la proporción de fructificación en la dos especies estudiadas ($\chi^2>23.90$, $P<0.001$). El factor aleatorio periodo no tuvo efecto sobre la variación de la proporción de fructificación en *D. uncinatum* ($\chi^2=2.451$, $P=0.117$), pero sí tuvo una influencia significativa y mayor que la identidad del sitio sobre la variación de la proporción de fructificación en *R. edulis* ($\chi^2=80.3$, $P<0.001$; Tabla 2.4c).

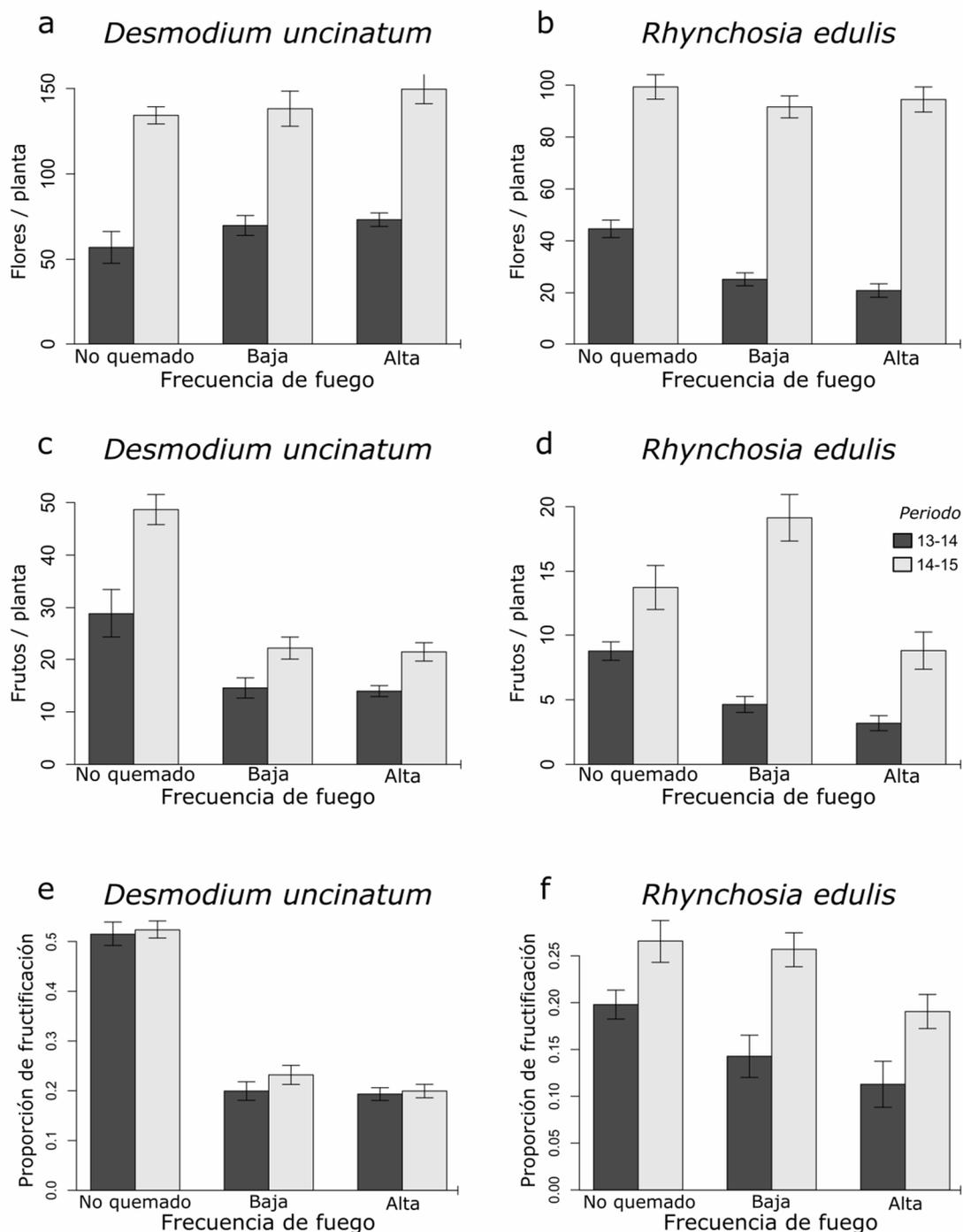


Figura 2.3. Producción total de flores por planta (a, b), frutos por plantas (c, d) y proporción de fructificación (e, f) de *Desmodium uncinatum* y *Rhynchosia edulis* durante dos periodos (2013-2014: barras gris oscuro, 2014-2015: barras gris claro) en sitios del Chaco Serrano con diferente frecuencia de fuego (no quemado, baja y alta frecuencia de fuego). Los valores graficados son medias \pm error estándar.

Tabla 2.4. Modelo lineal generalizado a efectos mixtos para producción de frutos (a), número total de flores (b) y frutos (c) por planta de *Desmodium uncinatum* y *Rhynchosia edulis*.

Variable respuesta	Especie	Efecto	Prueba de verosimilitud ^a		
			$\chi^2_{(1)}$	p valor	
(a) Flores totales	<i>D. uncinatum</i> (n= 193)	Fijo			
		Frecuencia de fuego	2.036	0.361	
		Aleatorio	Varianza ^b (±DE)		
		Sitio	0.008 ± 0.087	3.087	0.079
		Periodo	0.144 ± 0.380	116.460	<0.001
	<i>R. edulis</i> (n=204)	Fijo			
		Frecuencia de fuego	5.891	0.053	
		Aleatorio	Varianza (±DE)		
		Sitio	0.022 ± 0.150	11.221	0.0008
		Periodo	0.359 ± 0.599	200.510	<0.001
(b) Frutos totales	<i>D. uncinatum</i> (n= 194)	Fijo			
		Frecuencia de fuego	15.381	0.0005	
		Aleatorio	Varianza (±DE)		
		Sitio	0.011 ± 0.104	1.325	0.250
		Periodo	0.047 ± 0.217	21.355	<0.001
	<i>R. edulis</i> (n=206)	Fijo			
		Frecuencia de fuego	15.122	0.0005	
		Aleatorio	Varianza (±DE)		
		Sitio	0.001 ± 0.001	0.001	1.000
		Periodo	0.015 ± 0.385	36.223	<0.001
(c) Proporción de fructificación (frutos/flores)	<i>D. uncinatum</i> (n= 216)	Fijo			
		Frecuencia de fuego	24.672	<0.001	
		Aleatorio	Varianza (±DE)		
		Sitio	0.027 ± 0.165	83.079	<0.001
		Periodo	0.002 ± 0.044	2.451	0.117
	<i>R. edulis</i> (n=207)	Fijo			
		Frecuencia de fuego	5.522	0.063	
		Aleatorio	Varianza (±DE)		
		Sitio	0.042 ± 0.206	23.901	<0.001
		Periodo	0.096 ± 0.310	80.323	<0.001

^a Sitio y periodo fueron usados como factores aleatorios en los modelos. La significancia del efecto fijo y de los efectos aleatorios fueron comprobadas con pruebas de verosimilitud (*likelihood-ratio test*, LRT).

^b La varianza (±ES) indica la variación absoluta de cada variable respuesta debido a los factores aleatorios (Sitio y periodo).

Relación entre polinizadores y reproducción

Se encontró una relación general positiva y significativa entre la frecuencia de visitas de todos los polinizadores y la proporción de fructificación en *D. uncinatum* a través de todos los sitios sujetos a diferentes regímenes de fuego. Sin embargo, esta relación no fue encontrada en *R. edulis* (Figura 2.4). Al analizar esta relación para cada escenario de frecuencia de fuego por separado, no se encontró una relación entre la frecuencia de visitas de todos los polinizadores y la proporción de fructificación de *D. uncinatum* y *R. edulis* en los diferentes escenarios de frecuencia de fuego, excepto en el caso particular de *D. uncinatum* en la condición sujeta a baja frecuencia de fuego (Figura 2.5a, b; Tabla 2.5). Además, tampoco se halló relación alguna entre la tasa de visitas de los polinizadores efectivos más abundantes del ensamble de cada especie vegetal y la proporción de fructificación en ninguno de los escenarios de frecuencia de fuego (Figura 2.5 c, d; Tabla 2.5).

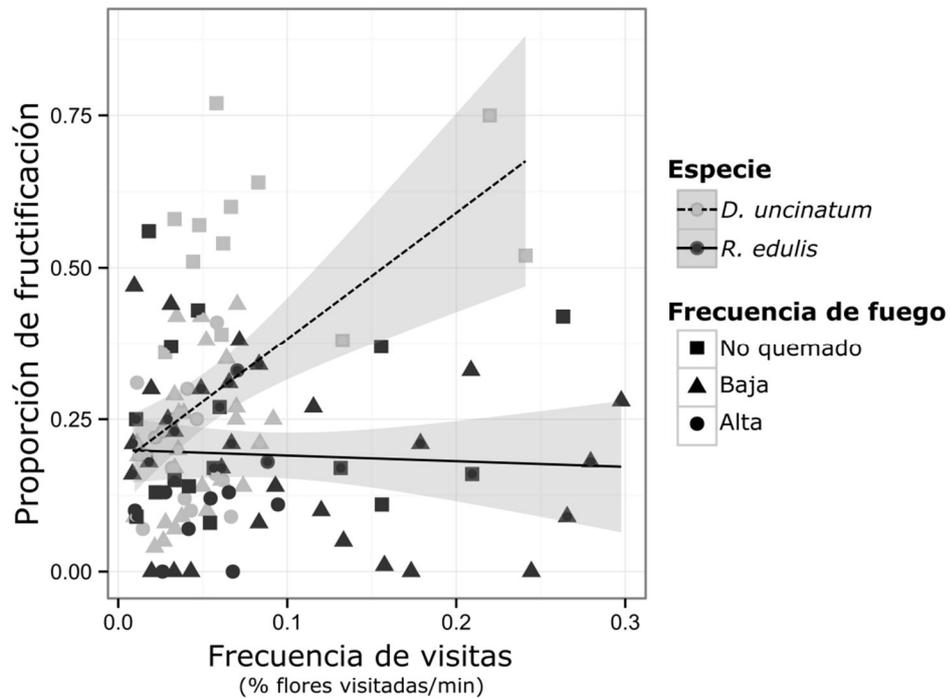


Figura. 2.4. Relación entre producción de fructificación y frecuencia de visitas de todos los polinizadores de *Desmodium uncinatum* (gris, línea punteada) y *Rhynchosia edulis* (negro, línea continua) durante dos periodos de floración en diferentes escenarios de frecuencia de fuego: no quemado (cuadrados), baja frecuencia de fuego (triángulos) y alta frecuencia de fuego (círculos). Cada punto representa el promedio de proporción de fructificación y frecuencia de visitas a plantas que fueron visitadas al menos una vez (conteos positivos) en nueve sitios. En ciertos casos se superponen valores idénticos. Las

sombras grises representan intervalos de confianza al 95%. Correlación de Pearson para *D. uncinatum*: $r=0.48$, $P=0.0003$, $n=53$; y para *R. edulis*: $r=-0.05$, $P=0.701$, $n=56$).

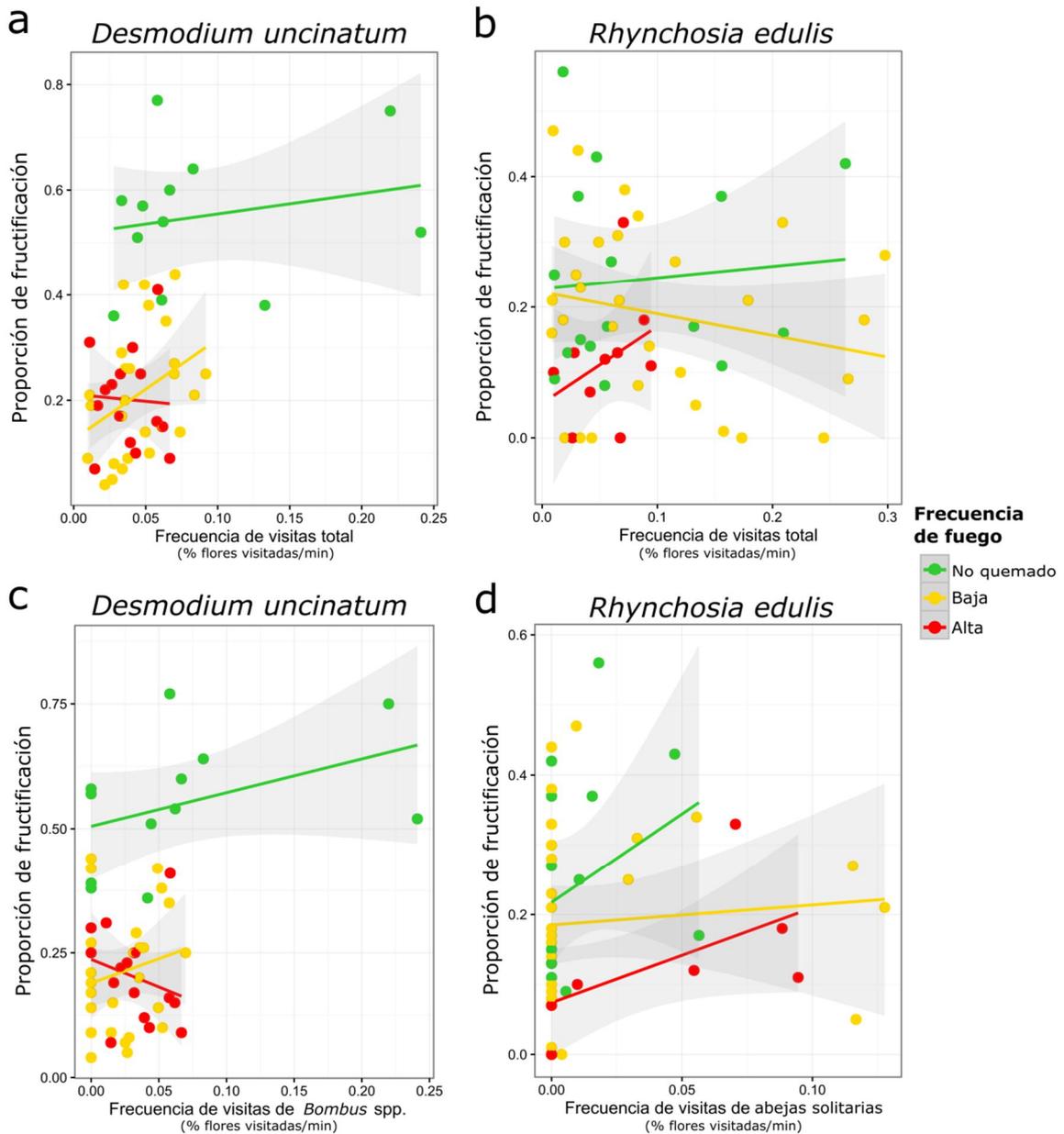


Figura 2.5. Relación entre proporción de fructificación y frecuencia de visitas de todos los polinizadores (a, b) y de los polinizadores efectivos más abundantes (c, d) del ensamble de *Desmodium uncinatum* y *Rhynchosia edulis* durante dos periodos de floración en diferentes escenarios de frecuencia de fuego: no quemado (verde), baja frecuencia de fuego (amarillo) y alta frecuencia de fuego (rojo). Cada punto representa el promedio de proporción de fructificación y frecuencia de visitas a plantas que fueron visitadas al menos una vez (conteos positivos) en nueve sitios. En ciertos casos se superponen valores idénticos. Las sombras grises representan intervalos de confianza al 95%. Como abejas solitarias se incluye a *Megachile* sp., *Notanthidium* sp. y *Xylocopa ordinaria*. Los análisis de correlación se muestran en la Tabla 2.5.

Tabla 2.5. Análisis de correlación de Spearman entre la proporción de fructificación y la frecuencia de visitas de todos los polinizadores y de los polinizadores efectivos más abundantes del ensamble de *Desmodium uncinatum* y *Rhynchosia edulis* durante dos periodos de floración en diferentes escenarios de frecuencia de fuego: no quemados, de baja y alta frecuencia. Valores en negrita indican significancia estadística ($p < 0.05$).

Especie		No quemado		Baja frecuencia		Alta frecuencia	
		<i>r</i>	<i>p</i> valor	<i>r</i>	<i>p</i> valor	<i>r</i>	<i>p</i> valor
<i>D. uncinatum</i>	Todos los polinizadores	0.231	0.471	0.413	0.036	-0.139	0.620
	<i>Bombus</i> spp.	0.470	0.123	0.197	0.335	-0.407	0.132
<i>R. edulis</i>	Todos los polinizadores	0.077	0.778	-0.188	0.319	0.433	0.211
	Abejas solitarias ¹	0.438	0.089	0.220	0.243	0.488	0.153

¹Incluye a *Megachile* sp., *Notanthidium* sp. y *Xylocopa ordinaria*.

Relación entre recursos abióticos y reproducción

La proporción de fructificación en ambas especies de plantas estudiadas fue significativamente explicada por la variable integral de calidad de suelo (Capítulo I), y mostró una fuerte relación positiva y significativa (Figura 2.6). Esta relación presentó una mayor pendiente para *D. uncinatum* que para *R. edulis*. Asimismo, los sitios sujetos a alta frecuencia de fuego mostraron los valores más bajos de calidad edáfica (en relación a contenido de agua, nitratos y conductividad eléctrica) y los menores niveles de fructificación en relación a los sitios no quemados para las dos Fabaceae.

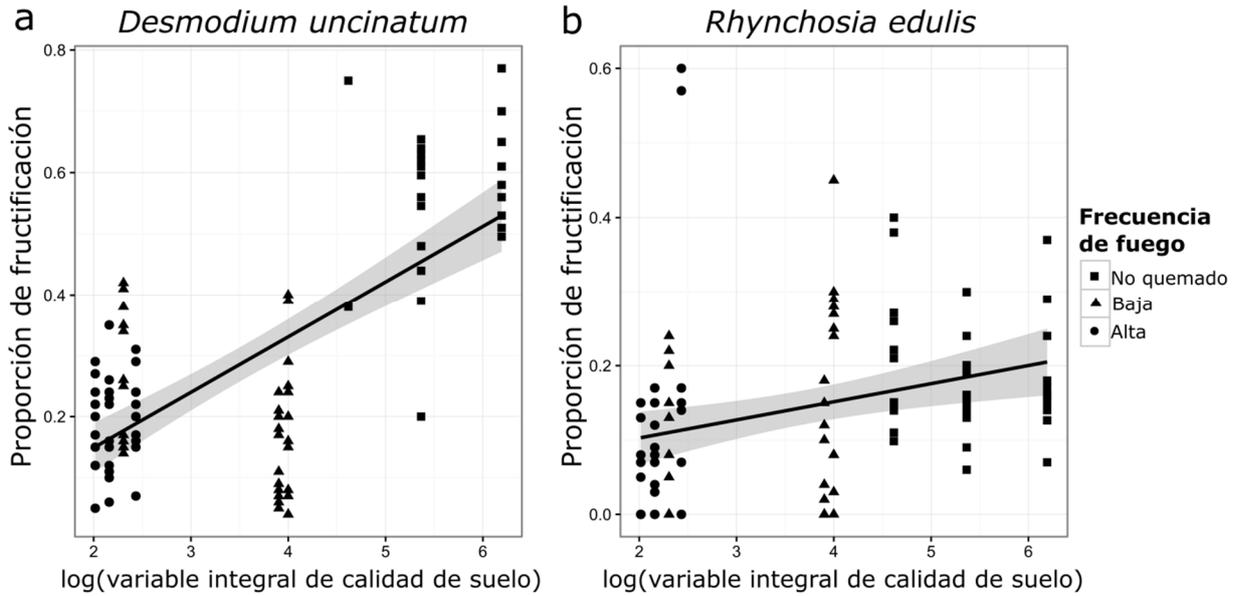


Figura 2.6. Relación entre la proporción de fructificación de *Desmodium uncinatum* (a) y *Rhynchosia edulis* (b) durante el periodo 2013-2014 y la variable integral de calidad de suelo (transformada a logaritmo) en diferentes frecuencias de fuego: no quemado (cuadrados), baja (triángulos) y alta frecuencia (círculos). La relación es significativa para las dos especies de plantas (*D. uncinatum*: $Z=24.20$; $P<0.001$; *R. edulis*: $Z=5.54$; $P<0.001$) de acuerdo a modelos lineales generalizados. Las sombras grises representan intervalos de confianza del 95%.

DISCUSIÓN

El fuego es un disturbio natural en muchos ecosistemas terrestres que modela la distribución, estructura y dinámica de las comunidades de plantas (Bond *et al.*, 2005) y animales (van Mantgem *et al.*, 2015). El régimen de fuego ha sido modificado por el hombre desde su historia temprana sobre la tierra, y en las recientes décadas estos rápidos cambios del régimen se deben al crecimiento poblacional, a factores socioeconómicos y al cambio en el uso de la tierra (Pausas & Keeley, 2009). A escala global, la dirección y magnitud de estos cambios son tan diversos que se requiere una aproximación regional para analizar sus efectos (Pausas & Keeley, 2009). Está previsto que la frecuencia de fuego, la severidad de los incendios y el área quemada en las próximas décadas siga modificándose en los principales ecosistemas del mundo (Pausas, 2004; Running, 2006; Pausas & Keeley, 2009). En consecuencia, es probable esperar un aumento del riesgo de

disrupción del proceso de polinización, lo cual podría afectar la fecundidad y persistencia de poblaciones de plantas a largo plazo (Wilcock & Neiland, 2002; Dafni *et al.*, 2012).

Los resultados de este capítulo muestran que la frecuencia de fuego no afectó la riqueza, composición y frecuencia de visitas del ensamble de polinizadores de *D. uncinatum* y *R. edulis*, dos hierbas rebrotadoras del Chaco Serrano durante la tercera y cuarta temporada post-fuego. Al mismo tiempo, la frecuencia de fuego tampoco modificó la oferta floral producida por las dos especies de plantas. Sin embargo, se observó que los frutos totales producidos por planta disminuyeron en términos generales hacia los sitios más quemados en las dos especies, y que la proporción de fructificación en la especie de planta más dependiente de polinizadores, *Desmodium uncinatum*, disminuyó fuertemente en escenarios sujetos a baja o alta frecuencia de fuego. Este menor éxito de la reproducción sexual estaría más relacionado con factores abióticos modelados por el fuego (*i.e.* disponibilidad de recursos edáficos) que con factores bióticos, como la interacción con polinizadores. Mientras todos los individuos de *D. uncinatum* produjeron igual cantidad de flores a través de todos los regímenes de fuego, las plantas que crecieron en la condición no quemada fueron más eficientes en la fructificación que las plantas de ambos escenarios quemados. En otras palabras, las plantas sujetas a frecuencia de fuego abortaron una mayor cantidad de flores debido principalmente a limitación de recursos abióticos. Por lo tanto, se confirma parcialmente la hipótesis inicialmente planteada, ya que aunque se encontró una disminución pronunciada de la reproducción de *D. uncinatum*, la especie más dependiente de polinizadores, esta disminución no fue debida a una reducción en la polinización. Además, la influencia del segundo periodo medido con mayores precipitaciones sobre la reproducción de *R. edulis* también sustenta la hipótesis de limitación de recursos abióticos. Durante la estación de crecimiento más húmeda que el promedio histórico de lluvias, hubo mayor producción absoluta de flores y frutos, y un incremento en el porcentaje de cuajado de frutos en *R. edulis*, independientemente de la frecuencia de fuego.

Las Fabaceae son una familia de plantas principalmente polinizadas por unas pocas especies de insectos estrechamente relacionadas, y por ende tienen un considerable riesgo de sufrir los efectos de las fallas en la polinización debido a pérdida o disminución de sus polinizadores (Wilcock & Neiland, 2002). Los resultados de este capítulo muestran que el ensamble de polinizadores no es afectado por la frecuencia de incendios, lo que no apoya la hipótesis de disrupción del mutualismo de polinización inducida por este disturbio. Resultados en esta misma dirección fueron reportados en bosques de pinos y matorrales

Mediterráneos, donde la riqueza y abundancia de abejas, el más importante grupo de polinizadores, no fue afectada por la frecuencia y ni por la edad post-fuego (Winfrey *et al.*, 2009; Lazarina *et al.*, 2016). La sucesión de las poblaciones de insectos depende en gran medida de las características de vegetación post-fuego y de su regeneración (Whelan, 1995; Lazarina *et al.*, 2016). Particularmente, las plantas aquí estudiadas y al igual que la mayor parte de las plantas del Chaco Serrano (Torres *et al.*, 2014), se recuperan del fuego de manera endógena, es decir a partir del rebrote de individuos adultos que sobreviven a repetidas quemadas, por lo que la frecuencia o el tiempo de retorno del fuego juega un rol importante en la determinación de su respuesta al fuego. Por el contrario, la frecuencia de fuego tiene un limitado papel en determinar la recuperación de animales, debido a que su recolonización depende más de sus dinámicas metapoblacionales (van Mantgem *et al.*, 2015). Se ha sugerido que la recolonización de zonas quemadas por la fauna depende principalmente del tamaño del incendio y de la disponibilidad de refugios no quemados. Los animales muestran una mayor recuperación en incendios pequeños o con mayor presencia de parches no quemados producto de la heterogeneidad espacial del fuego (Whelan, 1995). Otro mecanismo por el cual el régimen de fuego impacta en la visitas a las flores es a través de inducir cambios en la densidad de las plantas dominantes (van Nuland *et al.*, 2013). En este sentido, cambios en la densidad de conoespecíficos puede afectar la interacción planta-polinizador y por tanto en la cantidad y calidad del polen necesario para la formación de frutos y semillas. Si bien en este trabajo no se registró la densidad de las especies estudiadas, las mediciones de su abundancia indican similar cobertura entre escenarios de frecuencia de fuego, lo que podría indicar que la oferta floral a nivel del sitio no fue diferente y por lo tanto tampoco se observaron cambios en los ensambles de polinizadores entre escenarios de fuego.

Por otro lado, la edad post-fuego es uno de los más importantes efectos dependiente del evento de fuego que condiciona la dinámica de los organismos y la sucesión post-fuego (Bond & van Wilgen, 1996). Particularmente, características del incendio como la intensidad condicionan el tiempo para que plantas y animales se recuperen (Lazarina *et al.*, 2016). Considerando que la severidad (la cual es positivamente relacionada con la intensidad) del último evento de fuego en los sitios de estudio ha sido de intermedia a baja, y que las Fabaceae estudiadas presentan una elevada velocidad de rebrote, es probable que los insectos polinizadores sufran una disminución poblacional en el post-fuego temprano, pero su recuperación sería muy rápida y seguramente su resiliencia sea total entre el primer

y el tercer año post-fuego, a pesar de que esta resiliencia puede ser atenuada por el número de fuegos a los que estuvo sujeto el sitio (Moretti *et al.*, 2006).

Resultados previos sobre estas especies (Capítulo I) sugieren una disminución del crecimiento vegetativo de las plantas interpretado a través de cambios intraespecíficos de caracteres funcionales foliares como resultado del empobrecimiento de los suelos en sitios sujetos a un régimen de fuego de alta frecuencia (Carbone & Aguilar, 2016). Estos cambios a nivel vegetativo pueden ser una de las causas próximas de las mermas en la reproducción sexual. En contraste con los resultados hallados, Araújo *et al.* (2013) encontraron un incremento en la reproducción de hierbas perennes en la temporada contigua a la aplicación de una única quema, debido a la mayor disponibilidad de luz y nutrientes edáficos en un ambiente de sabana del Cerrado. No obstante, los efectos de un evento de fuego aislado pueden ser poco representativos de los efectos dependientes de los intervalos de un régimen de fuego (Bond & van Wilgen, 1996). En este sentido, se ha demostrado que la alta frecuencia de fuego producto de un régimen de fuego modificado impacta negativamente en la reproducción sexual de plantas rebrotadoras en sabanas neotropicales, y a su vez se promueve la reproducción vegetativa, la cual tiene un menor costo que la reproducción sexual (Hoffmann, 1998). En el Cerrado, la menor reproducción tiene su causa en los efectos del fuego al destruir estructuras reproductivas (Hoffmann, 1998) más que a una limitación de recursos abióticos, ya que la fertilidad edáfica en esas sabanas es incrementada por el fuego (Dantas *et al.*, 2015). No obstante, el efecto del tiempo post-fuego en el que se realizan las mediciones puede determinar en gran medida los patrones de respuesta encontrados. En ecosistemas dependientes o adaptados al fuego, se observa en general que la reproducción sexual de las plantas no es afectada o inclusive puede responder positivamente tras los efectos del fuego (Liu *et al.*, 2005; Barrios *et al.*, 2011). Contrariamente, el incremento en la frecuencia de fuego y en la presión de pastoreo en ecosistemas montañosos del centro de Argentina provoca erosión del suelo y por lo tanto degradación ambiental (Cingolani *et al.*, 2013), efectos que repercuten fuertemente sobre la variabilidad intraespecífica de rasgos vegetativos (Carbone & Aguilar, 2016) y también reproductivos.

El fuego afecta de manera directa a las plantas debido a la remoción de la biomasa tras el paso de las llamas. Al mismo tiempo, la frecuencia o intensidad de fuego pueden alterar factores como la disponibilidad de recursos edáficos y polinizadores que afectan la reproducción de las plantas (Burkepile *et al.*, 2016). En general, se ha visto que la

reproducción de ciertas plantas responde más fuertemente a los efectos de la disponibilidad de recursos abióticos, específicamente N edáfico y precipitaciones, que a los cambios en el servicio de polinización (Burkle & Irwin, 2009; 2010; Brown & York, 2016). Es decir, el control ascendente de la reproducción a través de los recursos abióticos puede tener una mayor influencia relativa que el control descendente a través de la polinización. La respuesta reproductiva de las plantas a las limitaciones de recursos edáficos y polinizadores depende de los rasgos de historia de vida de las especies (Chapin *et al.*, 1986; Burkle & Irwin, 2009). En particular, las especies perennes pueden mostrar una respuesta retrasada del éxito reproductivo con respecto al momento en el que ocurre la limitación de nutrientes. Esta respuesta diferida en el tiempo es probable que sea resultado del almacenamiento de nutrientes en órganos vegetativos y de la preformación de meristemas vegetativos y reproductivos que normalmente presentan las plantas herbáceas de larga vida (Burkle & Irwin, 2009). Los resultados de este capítulo demuestran que la frecuencia de fuego como factor de disturbio ejerce un fuerte efecto negativo sobre plantas rebrotadoras perennes que se prolonga desde el tiempo en el que ocurre el fuego mediado principalmente por control ascendente (*bottom up*, en inglés) de la reproducción sexual en ambientes naturales del Chaco Serrano.

Al analizar la relación general entre la frecuencia de visitas de polinizadores y la proporción de fructificación, se pudo evidenciar que las plantas de *D. uncinatum* que recibieron más visitas de polinizadores presentaron una mayor probabilidad de fructificación y viceversa, mientras que la fructificación en *R. edulis* mostró ser independiente de los polinizadores (Figura 2.5). Esto coincide con los diferentes niveles de dependencia de los polinizadores de estas dos especies. *D. uncinatum* posee una mayor dependencia reproductiva de los polinizadores debido a que no produce frutos si sus flores no son visitadas por polinizadores efectivos (Alemán *et al.*, 2014), por lo tanto el ajuste con los polinizadores es más fuerte. Por el contrario, *R. edulis* puede reproducirse por autogamia sin interactuar con polinizadores y por lo tanto posee un débil ajuste de su reproducción y el comportamiento de sus polinizadores. Por otro lado, al analizar la relación entre frecuencia de visitas y proporción de fructificación de *D. uncinatum* en cada escenario de frecuencia de fuego en particular, se puede evidenciar un cambio de la pendiente general hallada para esta especie (Figura 2.6), lo que podría indicar que la frecuencia de fuego modela la relación entre los polinizadores y la fructificación en plantas con un sistema de apareamiento mixto o exógamo. Para poder aseverar fehacientemente

esta hipótesis y comprobar el grado de generalización de estos resultados, sería necesario evaluar la respuesta de un mayor número de especies no relacionadas filogenéticamente con diferente grado de dependencia reproductiva de los polinizadores.

La producción de flores, frutos y semillas demandan de cantidades significativas de recursos, los que podrían haber sido destinados hacia otras funciones, como mantenimiento o crecimiento. Ante una situación de limitación de recursos abióticos, la inversión en la función reproductiva a menudo resulta en una disminución de la asignación hacia funciones no reproductivas, con una baja subsecuente de la tasa de crecimiento y de los recursos almacenados. Esto puede tener un alto costo reproductivo con un impacto negativo en la supervivencia y/o en la demografía de las poblaciones de plantas (Bernett *et al.*, 2009; Sunmonu *et al.*, 2013). Se ha sugerido que los costos de reproducción podrían ser más aparentes en ambientes con baja disponibilidad de recursos o con otras condiciones estresantes (Obeso, 2002). Por una lado, las plantas que dependen en gran medida de polinizadores para reproducirse (e.g. *D. uncinatum*) invierten una gran cantidad de recursos en caracteres florales de atracción y recompensa para visitantes florales, como pétalos grandes y altamente pigmentados, polen en cantidad y calidad, compuestos volátiles, etc. Las flores de estas especies son más costosas en términos de recursos en comparación con plantas menos dependiente de polinizadores, debido a que estos rasgos florales determinan indirectamente la aptitud biológica de las plantas (Strauss, 1997). Por lo tanto, ante un mismo escenario de baja disponibilidad de recursos y debido al mayor costo reproductivo, las especies más dependientes de polinizadores no serían capaces de afrontar un mayor cuajado de frutos pues ya destinaron sus recursos limitados a flores caras. Por otro lado, existe evidencia acerca de que fallas en la fructificación inducidas por factores ambientales, promueven el almacenamiento de recursos hacia órganos subterráneos, lo que representa una respuesta plástica a los disturbios (Obeso, 2002; Puntieri *et al.*, 2014). Si consideramos que las especies estudiadas son hierbas perennes que rebrotan después del fuego a expensas de reservas subterráneas, las mismas pueden desarrollar una mayor inversión de recursos en almacenamiento que en reproducción debido a que la estrategia de persistencia de los individuos podría ser más exitosa a nivel poblacional que el reclutamiento de plántulas.

En este estudio se registraron datos durante dos periodos reproductivos, y si bien son pocas réplicas para realizar una comparación interanual, los resultados sugieren que la oferta floral producida por las plantas de las dos especies al igual que el número total de

frutos producidos presentaron variaciones entre años, ligadas a los niveles de precipitación. Sin embargo, la proporción de fructificación en *D. uncinatum* presentó el mismo patrón interanual, mientras que en *R. edulis* fue altamente variable entre periodos reproductivos. Esto indica que las condiciones climáticas son condicionantes de la oferta floral y de la cantidad absoluta de frutos producidos y del éxito reproductivo de la especie autógama (*R. edulis*), pero que el éxito reproductivo de la especie exógama (*D. uncinatum*) estaría determinado por las condiciones edáficas modeladas por la frecuencia de fuego del sitio donde crece la planta, al menos cuando la oferta de polinizadores se mantiene constante. Esta estabilidad interanual del patrón de fructificación ya ha sido reportado para otras especies del Chaco Serrano con alta dependencia reproductiva de los polinizadores (Giorgis *et al.*, 2015). Considerando que el área de estudio se caracteriza por una elevada variación interanual en las precipitaciones (entre 600 y 1400 mm aproximadamente; Apéndice I), se podría esperar una mayor variación temporal del éxito reproductivo de las especies cuya reproducción es condicionada por las precipitaciones (Giorgis *et al.*, 2015). Este tipo de respuesta puede tener serias implicancias ante el actual escenario de cambio climático, donde el régimen de precipitaciones puede modificarse abruptamente, con consecuencias en la dinámica reproductiva de especies con diferente sistema de apareamiento que coexisten en sitios con distinta frecuencia de fuego.

En los ecosistemas montañosos, las variaciones ambientales generadas por su escarpado relieve y por los abruptos cambios de altura, hacen que las condiciones a las que están sujetos los organismos sean muy heterogéneas. Ante este contexto, el intento de establecer un diseño experimental a campo con diferentes frecuencias de fuego, manteniendo constante la edad post-fuego de los sitios, se encuentra con la limitación de que quedan afuera otras características del sitio que podrían condicionar la respuesta poblacional. En efecto, varios de los modelos mixtos desarrollados arrojaron efectos significativos del factor aleatorio sitio sobre rasgos reproductivos, lo cual indica que existirían características específicas de los sitios que están influyendo en la variabilidad observada. Al respecto, dos importantes factores que podrían modelar la respuesta del suelo y de la vegetación al fuego son la exposición de la ladera y la posición topográfica (Giorgis *et al.*, 2013; Karlin *et al.*, 2016). Además, otras variables como las características geomorfológicas, la posición en la ladera y la historia de uso, incluyendo al pastoreo, también podrían determinar la recuperación de la vegetación en estos ambientes post-fuego (Giorgis *et al.*, 2013). Sin embargo, el desarrollo de estudios que contemplen esta gran

variedad de factores requiere de una elevada disponibilidad de recursos económicos y humanos, y es una gran limitación para los estudios en el área de la ecología del fuego basados en diseños observacionales.

El fuego puede afectar procesos demográficos como crecimiento, reproducción y mortalidad, demostrando la importancia de los estudios de especies dominantes a nivel poblacional como generadores de información para gestionar estrategias de manejo del fuego (Tulloch *et al.*, 2016). Por ejemplo, la cantidad de progenie producida en un evento reproductivo determina el potencial máximo de reclutamiento poblacional para la próxima generación. En este estudio, se ha demostrado que la fecundidad es afectada por la frecuencia de fuego y esto puede afectar potencialmente la viabilidad poblacional a largo plazo de estas especies forrajeras. La abundancia actual de estas especies resultó similar en los distintos escenarios de fuego, lo cual se debe a la persistencia de los individuos adultos a repetidos eventos de fuego a partir de su capacidad de rebrote basal, el cual es considerado una de las estrategias más comunes en áreas con disturbios severos o frecuentes (Bond & Midgley, 2001). Sin embargo, si la reproducción permaneciera crónicamente baja se producirá una merma en la cantidad de descendencia para el reclutamiento anual y el aporte de propágulos al banco de semillas, donde solo será cuestión de tiempo empezar a ver el declinamiento de estas poblaciones. Estudios detallados que evalúen el reclutamiento y la demográfica de estas especies en condiciones contrastantes de fuego serían necesarios para vislumbrar la trayectoria poblacional en estos ambientes disturbados.

En síntesis, se puede afirmar a partir del análisis realizado que está ocurriendo una reducción en el éxito reproductivo a través de dos años consecutivos en hierbas perennes nativas del Chaco Serrano, con mayor magnitud cuando la especie depende de polinizadores para producir descendencia. Como una consecuencia, al menos la cantidad de progenie se ve comprometida en escenarios quemados, especialmente en los de mayor frecuencia de fuego. De acuerdo a los resultados encontrados en esta tesis en torno al empobrecimiento del suelo inducido por la frecuencia de fuego, las estrategias de manejo activas deberían involucrar la conservación de recursos limitados para las plantas a partir de prácticas que promuevan el ciclado de nutrientes y la retención de agua. A largo plazo, y mientras se mantengan estables los actuales niveles de polinización provistos por los insectos nativos, este tipo de esfuerzos permitirá restablecer los niveles de semillas

producidas por plantas nativas de importancia económica y evitar su declinamiento poblacional.

CAPÍTULO III

Efectos de la frecuencia de fuego sobre el éxito reproductivo de *Rhynchosia edulis*: importancia de caracteres vegetativos e interacciones bióticas

INTRODUCCIÓN

La mayoría de los estudios que evalúan el efecto de disturbios antropogénicos sobre las interacciones entre plantas y animales ponen a prueba la hipótesis de que los mismos causan una disrupción de las interacciones, tanto antagonistas como mutualistas. En consecuencia, dependiendo del signo y de la intensidad de la interacción afectada por los disturbios, los efectos netos sobre el éxito reproductivo de las plantas pueden ser variables (Kearns *et al.*, 1998; Hódar *et al.*, 2009). En general, los disturbios naturales o antrópicos raramente afectan de manera directa al éxito reproductivo de las plantas que sobreviven. La alteración del hábitat desencadena una serie de cambios tanto en variables físicas como biológicas, y son estas las causas mediatas que determinan la frecuencia e intensidad de los efectos sobre interacciones mutualistas y antagonistas, afectando de esta forma la reproducción sexual de las plantas (Aizen, 2007). Bajo este escenario, un enfoque orientado en las múltiples relaciones que establecen las plantas con su ambiente y con otros organismos interactuantes, permite poner a prueba hipótesis de causalidad entre variables y comprender los mecanismos más importantes que afectan tanto la dirección como la intensidad de los cambios observados en el éxito reproductivo de las plantas (Schemske & Horvitz, 1988; Aizen, 2007).

La mayor parte de las plantas con flores establecen interacciones mutualistas y antagonistas en simultáneo con animales. Por su relevancia para las plantas, se pueden destacar el mutualismo de la polinización y antagonismos como la herbivoría y la depredación de semillas. El resultado reproductivo de las plantas depende en gran medida del balance total entre las interacciones bióticas en las que las plantas se encuentran involucradas. Entre estas, es ampliamente reconocido el papel de la polinización como una fuerza selectiva que determina la cantidad y calidad de la progenie producida por las plantas en un evento reproductivo. Sin embargo, es probable que el éxito reproductivo tenga diferentes relaciones de compromiso con una variedad de otras fuerzas selectivas

(Brody, 1997). Al respecto, la herbivoría es una presión de selección que limita la cantidad de recursos que las plantas disponen para crecimiento y reproducción, y por lo tanto, este antagonismo impacta de manera indirecta en la producción de frutos y semillas. Sumado a esto, la depredación de semillas podría considerarse la principal interacción potencialmente opuesta a la polinización, la que determina las características de la progenie que sobrevive para el reclutamiento poblacional (Crawley, 2000). Por lo tanto, es probable que el efecto neto de estas interacciones moldee la respuesta reproductiva y la dinámica de las poblaciones vegetales (Cariveau *et al.*, 2004). En general, los estudios tienden a compartimentalizar el foco de análisis en los distintos tipos de interacciones por separado, lo cual limita el entendimiento global, debido a que los efectos de las diferentes interacciones pueden anularse o inclusive generar sinergias, y el camino evolutivo que sigue el organismo puede ser muy diferente cuando está sometido a fuerzas selectivas opuestas (García & Ehrlén, 2009).

La escasa evidencia acumulada en relación a los efectos del fuego sobre diversas interacciones, y en particular sobre la polinización, muestra que no se pueden realizar generalizaciones sobre una respuesta a escala global, y que la reproducción de las plantas es afectada por múltiples factores dependiente de características propias y del entorno (Scott *et al.*, 2013). En base a una revisión bibliográfica acerca de los efectos de disturbios antrópicos sobre polinizadores, se ha generalizado acerca de que los incendios forestales no tendrían efectos sobre la riqueza y abundancia de abejas (Winfree *et al.*, 2009), y por lo tanto se podría especular que las plantas polinizadas por este tipo de insectos tampoco verían disminuida su reproducción en sitios quemados. Sin embargo, aún son muy escasos en la literatura mundial, y prácticamente inexistentes para la región Chaqueña, los estudios básicos de campo que analizan los efectos de diferentes factores del régimen de fuego sobre la polinización y el éxito reproductivo de poblaciones vegetales nativas.

Los animales en general poseen estrategias comportamentales para sobrevivir a los efectos directos de las altas temperaturas. El impacto del fuego sobre los insectos está relacionado con el grado de exposición a las llamas y con la movilidad (o estado de vida) de las diferentes especies. La búsqueda de refugios que los aislen de las llamas en el suelo o en los tejidos basales de las plantas quemadas es quizás la estrategia más eficaz cuando los incendios no son tan intensos (Swengel, 2001). Una respuesta a nivel de paisaje es la permanencia o concentración de individuos en parches de vegetación no afectados por el fuego dentro del área quemada, lo que se conoce como reservorios de regeneración

(Whelan, 1995). Esta estrategia permite la rápida recolonización de las áreas quemadas. Entre los artrópodos, los herbívoros son considerados uno de los grupos más resilientes a los efectos del fuego (Moretti *et al.*, 2006). Las langostas y orugas pueden ser totalmente destruidos por las llamas, pero su recuperación mediante la colonización desde remanentes no quemados puede ser muy rápida (Whelan, 1995) e inclusive su abundancia puede ser mayor en sitios quemados (Swengel, 2001). Uno de los mecanismos por los cuales los herbívoros pueden ser atraídos hacia los sitios quemados es al aumento de la palatabilidad y de la calidad nutricional de los tejidos vegetales producto del pulso de nutrientes disponible post-fuego (Augustine & Milchunas, 2009; Allred *et al.*, 2011). Sin embargo, un mecanismo que se opone al anterior es el desarrollo de una mayor inversión en defensa contra herbívoros debido al menor crecimiento y a cambios en la relación C/nutrientes de los tejidos foliares de una misma especie vegetal creciendo en sitios con limitación de recursos edáficos (Borge & Dirzo, 2004).

La depredación de semillas pre-dispersión está especialmente representada entre las Fabaceae, caracterizándose por la depredación previa al proceso de dispersión de las semillas por parte de brúquidos (Coleoptera, Bruchidae). En general, esta interacción se caracteriza por una alta especificidad, es decir que una especie de brúquido se desarrolla en una o unas pocas especies de plantas hospederas (Center & Johnson, 1974), por lo que pequeños cambios en el entorno pueden producir importantes cambios en las poblaciones de ambas partes de la interacción. Los brúquidos son los principales depredadores de semillas de las zonas tropicales y subtropicales de todo el mundo (Kingsolver, 2004). En general, los depredadores adultos oviponen en el ovario de las flores antes o durante el proceso de polinización (Zimmerman, 1980) y en esta instancia es cuando los depredadores podrían seleccionar plantas más grandes o más atractivas para maximizar la probabilidad de supervivencia de sus larvas (Cariveau *et al.*, 2004; Kingsolver, 2004). Se ha postulado que la variabilidad observada en la depredación de semillas entre sitios puede ser atribuida a las variaciones en el régimen de incendios (Auld, 1983). Los efectos de la frecuencia de fuego sobre la fauna de depredadores de semillas deberían ser similares a los postulados para la fauna de polinizadores: disminución de la abundancia relativa y riqueza de depredadores. Esto resultaría en una reducción en los niveles de semillas depredadas en escenarios de alta frecuencia de incendios y un beneficio para las plantas por la interrupción de esta interacción antagonista (García *et al.*, 2016). Una disminución en la depredación compensaría la menor polinización en estos escenarios. Sin embargo, se ha hipotetizado

que la disponibilidad de nutrientes de las semillas, especialmente nitrógeno, podría modificar los patrones de depredación (De Menezes *et al.*, 2010). Por ende, cualquier factor ecológico que modifique la asimilación de nutrientes de las plantas hospedadas podría modificar la magnitud de los efectos de este antagonismo. No obstante estas predicciones, en general la respuesta de la fauna puede mostrar patrones muy variables entre especies y de acuerdo a las características del disturbio. En particular, existe muy poca información sobre el impacto de los cambios en la depredación de semillas inducidos por el fuego en la reproducción sexual de plantas (pero ver García *et al.*, 2016) y sobre los mecanismos por los cuales el fuego y las estrategias de las plantas en sitios quemados modelan el comportamiento de los depredadores de semillas (Whelan, 1995; Hiers *et al.*, 2000, Tasker *et al.*, 2011).

Las poblaciones vegetales a menudo están sujetas a diferentes condiciones ambientales que pueden afectar su éxito reproductivo. Diferentes disturbios pueden influenciar de manera indirecta la reproducción sexual a partir de modificar rasgos funcionales vegetativos sensibles a las condiciones lumínicas, nutricionales e hídricas del ambiente e indicadores de la disponibilidad de recursos de las plantas (Kilkenny & Galloway, 2008). El área foliar específica (AFE) es un rasgo vegetativo foliar indicador de la capacidad de asimilación de recursos y por ende de la disponibilidad de los mismos en las plantas (Díaz *et al.*, 1999). Si bien ha sido ampliamente probada su calidad como indicador funcional de diferentes estrategias de crecimiento a nivel interespecífico, es creciente la evidencia que sustenta la aplicación a nivel intraespecífico para evaluar la respuesta ecológica de una misma especie en función de gradientes ambientales y de disturbios (Rosbakh *et al.*, 2015). En este sentido, la existencia de un gradiente de limitación de recursos inducido por la frecuencia de fuego podría aumentar los costos de la reproducción para las plantas en sitios más frecuentemente disturbados y una reducción de la producción de frutos y semillas será evidente.

Uno de los principales desafíos de las investigaciones en el área de la ecología del fuego es comprender cómo los rasgos de historia de vida de planta y animales son moldeados por los regímenes de fuego y por los actuales cambios inducidos por la actividad humana y por el calentamiento global consecuente (Bowman & Murphy, 2010). Sin embargo, una vacante de conocimiento lo representan las repuestas de las interacciones ecológicas entre estos organismos. En particular, resulta un aporte original evaluar cómo

los nuevos regímenes de fuego inducen cambios en la intensidad y dirección de múltiples interacciones y a su vez en la reproducción sexual de una misma especie vegetal.

El objetivo de este capítulo es analizar desde una perspectiva integral los efectos de la frecuencia de fuego sobre la reproducción de *Rhynchosia edulis*, a través de los efectos de caracteres vegetativos e interacciones bióticas (polinización, herbivoría y depredación de semillas), indagando sobre la importancia relativa de cada una de ellas y los efectos netos sobre el éxito reproductivo femenino. La frecuencia de fuego, como un componente principal del régimen de este disturbio, puede afectar los efectos parciales entre las variables vegetativas y las interacciones ecológicas mencionadas, y por lo tanto modificar el resultado reproductivo poblacional. Para ello, se propone un enfoque de análisis de rutas (en inglés, *path analysis*) en donde a partir de un esquema de relaciones causales hipotetizado a priori, se pueden vislumbrar las relaciones directas e indirectas entre las variables de interés (Figura 3.1).

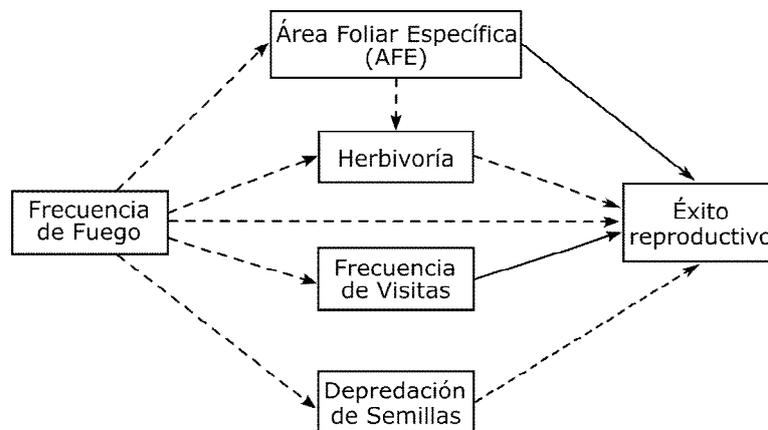


Figura 3.1. Relaciones causales hipotetizadas como determinantes del éxito reproductivo de *Rhynchosia edulis*. La frecuencia de fuego puede afectar directa e indirectamente al éxito reproductivo a través del carácter foliar AFE y de interacciones ecológicas como la herbivoría, la frecuencia de visitas de polinizadores y la depredación de semillas. Las flechas continuas y punteadas indican efectos positivos y negativos, respectivamente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este capítulo fue desarrollado en base a una de las tres especies estudiadas en los capítulos anteriores de la tesis, *Rhynchosia edulis*, debido a que fue la única especie que presentó valores representativos para evaluar los efectos de las tres interacciones bióticas (polinización, herbivoría y depredación de semillas) en simultáneo.

En cada uno de los nueve sitios de estudio sujetos a diferente frecuencia de fuego, se estimaron las variables de interés en seis individuos adultos reproductivos de *R. edulis*, durante la temporada estival comprendida entre los meses de diciembre de 2014 y marzo de 2015 (cuarta temporada de crecimiento después del último incendio). Sobre las plantas madres se registró el área foliar específica (AFE) en base a cinco hojas muestreadas por planta, como uno de los caracteres foliares indicadores de la tasa de crecimiento y de características físicas de las hojas (dureza, palatabilidad) que pueden condicionar el nivel de daño por herbívoros. La metodología para la obtención del AFE puede consultarse en el Capítulo I.

Para cuantificar la polinización se registró la frecuencia de visitas de polinizadores legítimos como: número de flores visitadas / número de flores disponibles / tiempo en que se registraron las visitas, estandarizándose estos valores a proporción de flores visitadas por minuto. Esta forma de cálculo permite controlar los efectos del número de flores disponibles sobre la atracción de polinizadores. El registro de observación fue realizado en periodos de aproximadamente 15 minutos por planta focal. Los detalles metodológicos para la obtención de esta variable fueron desarrollados en el Capítulo II.

La herbivoría fue estimada como porcentaje de daño realizado a hojas por insectos folívoros masticadores, a partir de asignar visualmente el área consumida en cinco hojas adultas totalmente expandidas al azar por planta mediante seis categorías de daño: 0= 0%, 1= 0-6%, 2= 6-12%, 3= 12-25%, 4=25-50%, 5= 50-100%. Estas categorías fueron utilizadas debido a que los niveles de daño bajos son los más frecuentes y por lo tanto requieren de intervalos más estrechos, mientras que, los niveles de daño altos son muy raros y pueden agruparse en categorías con intervalos más amplios (Boege & Dirzo, 2004). Con estas categorías se calculó un índice de herbivoría (IH) para cada individuo, $IH=(\sum ni * i)/N$, donde ni es el número de hojas por categoría, i es la categoría de herbivoría y N el número total de hojas analizadas por individuo (Dirzo & Domínguez, 1995).

Para evaluar la depredación de semillas, se colectaron a campo frutos de cada uno de los individuos previos a la dispersión de sus semillas. Los mismos fueron conservados en

laboratorio hasta el total desarrollo de las larvas y la eclosión de los adultos. Los insectos adultos fueron acondicionados para su posterior identificación. La depredación de semillas fue calculada como porcentaje de semillas depredadas por planta madre.

El éxito reproductivo femenino fue cuantificado a partir de multiplicar la producción de frutos (frutos maduros/flores producidas) y la producción de semillas (semillas sanas no depredadas por fruto/óvulos desarrollados por flor). La producción de frutos fue medida en al menos 6 inflorescencias por planta madre, las que fueron marcadas en etapa de floración, contabilizando al número de flores en las que luego se registró el cuajado de frutos por polinización natural. Esos frutos fueron colectados y se cuantificó la producción de semillas en laboratorio. Cabe aclarar que el género *Rhynchosia*, y por lo tanto la especie estudiada en este capítulo, desarrolla solo dos óvulos por ovario, un carácter no variable que facilitó la cuantificación de la producción de semillas.

Análisis de datos

Para evaluar los efectos de la frecuencia de fuego sobre diferentes variables que pueden afectar el éxito reproductivo de *R. edulis*, se utilizó la técnica de análisis de rutas (*Path analysis*), la cual es una forma general de regresión múltiple en donde a partir de un esquema de relaciones causales hipotetizado a priori, permite la discriminación de los efectos postulados en directos e indirectos, obteniendo la dirección y magnitud de cada uno de ellos (Mitchell, 2001). El principal propósito que tiene un análisis de rutas es confirmatorio, es decir, comprobar si hay acuerdo entre una hipótesis causal específica y los datos empíricos (Shipley, 2013). De esta manera, se elaboró un modelo de relaciones causales inicial, en el cual se planteó que la frecuencia de fuego, medida como el número de incendios a los que estuvieron sujetos los sitios de estudio (ver Tabla A en Materiales y Métodos Generales), puede afectar el éxito reproductivo de las plantas a través de modificar ciertos caracteres vegetativos y/o las interacciones bióticas entre plantas y animales. Más detalladamente, la frecuencia de fuego puede afectar a caracteres foliares como el AFE, íntimamente relacionado con la tasa de crecimiento y la asimilación de recursos por las plantas. Por consiguiente, cambios en el AFE pueden afectar el éxito reproductivo de las plantas al modificar la disponibilidad de recursos que las mismas poseen para asignar a reproducción. Además, estos cambios en el AFE podrían estar relacionados con cambios en las características físicas (palatabilidad) de los tejidos consumidos por los herbívoros. Al mismo tiempo, la frecuencia de fuego puede tener efectos negativos sobre la fauna en general, por lo que se podría esperar una disrupción del

mutualismo de la polinización y también de antagonismos como la herbivoría (a pesar de que la respuesta puede ser muy variable) y la depredación de semillas con efectos opuestos sobre el éxito reproductivo.

Los análisis de rutas fueron realizados con las variables estandarizadas. Los coeficientes de ruta fueron obtenidos a partir de los coeficientes parciales de regresión entre una variable independiente o causa (por ejemplo AFE) sobre una variable dependiente o efecto (herbivoría), con cualquier otro efecto de otra variable mantenido constante (control estadístico). Estos coeficientes de ruta indican el número de desviación estándar de cambio en la variable dependiente esperado al cambiar una unidad en la variable independiente; por ejemplo, la variación del AFE que solo se atribuye a la variación de la Frecuencia de Fuego. A partir de un modelo hipotético inicial general (Figura 3.1), se generaron modelos anidados más parsimoniosos mediante la eliminación de efectos poco importantes, es decir, con coeficientes de rutas no significativos (ver modelos en Figura 3.3). El ajuste de los modelos y el método de selección de los mismos se basaron en el criterio de información de Akaike (AIC) utilizando análisis de relaciones de independencia condicional (en inglés, *d-separation test*; Shipley, 2013). Se utilizó este criterio porque el tamaño muestral de este estudio no fue suficiente para evaluar el ajuste de modelos alternativos y realizar comparaciones entre ellos a través de métodos de análisis de rutas tradicionales, y además, la naturaleza de las variables no cumple con varios de los supuestos para su implementación (Shipley, 2013). El análisis de independencia condicional considera un conjunto de base de k pares de variables que no son directamente conectadas con una flecha en el modelo causal. Para cada par de variables i de este conjunto de base, es posible calcular su probabilidad de independencia, p_i , con una prueba estadística que se asuma como acorde a las características del diseño experimental y de los datos. En este caso se utilizaron modelos lineales mixtos generales y generalizados (función *lme* y *glmer* de los paquetes *nlme* y *lme4*, respectivamente) colocando a la identidad del sitio como factor aleatorio para controlar la jerarquía intrínseca producto del diseño experimental. Con la información de estos modelos se estimó la máxima verosimilitud para cada modelo, basado en el estadístico C de Fisher (Shipley, 2013):

$$C = -2 \sum_{i=1}^c \ln(p_i)$$

Para el ajuste del modelo se evaluaron las diferencias entre las correlaciones observadas y las esperadas por el modelo, tomando como hipótesis nula que los datos se ajustan a la estructura de covariación implícita en el modelo. Por lo tanto, la aceptación de la misma ($P > 0.05$) indica un buen ajuste de los datos bajo el modelo planteado, mientras que el modelo es rechazado si el valor de P es inferior al nivel de significancia elegido, $\alpha = 0.05$ (Shipley, 2013). El valor de C asociado a cada modelo causal fue utilizado para calcular el AIC corregido para muestras pequeñas: $AIC_c = C + 2K [n/(n - K - 1)]$, donde K es el número total de parámetros calculados por el modelo y n es el tamaño muestral. El modelo con mejor ajuste es el que presenta el valor más bajo de AIC_c . Para la comparación entre modelos se calculó el ΔAIC_c como la diferencia entre un modelo dado y el modelo con el mejor ajuste.

Todos los análisis fueron realizados en entorno R (R Core Team, 2016). Los coeficientes de rutas y efectos indirectos fueron calculados con la función *sem* del paquete *lavaan* (Rosseel, 2012). Los análisis de independencia condicional (*d-sep test*) para calcular el ajuste de los modelos fueron realizados con la función *sem.fit* del paquete *piecewiseSEM* (Lefcheck, 2016).

RESULTADOS

Niveles de polinización, herbivoría y depredación de semillas

Como se ha reportado en el capítulo II de esta tesis, la polinización, medida como frecuencia de visitas de polinizadores (% flores visitas / min) a flores de *R. edulis*, fue escasamente afectada por la frecuencia de fuego durante la temporada reproductiva 2014-2015 (Figura 3.2).

El daño a las hojas de *R. edulis* fue ocasionado por insectos folívoros masticadores, principalmente estadios ninfales y adultos de los órdenes Orthoptera (Acrididae, tucuras) y en menor medida larvas de Lepidoptera (Apéndice VII). El porcentaje de tejido foliar consumido por estos insectos fitófagos fue en promedio del 1.8% (IH=0.62, DE \pm 0.06) en los escenarios no quemados, mientras que los niveles ascendieron a 4.3% (IH=1.48, DE

± 0.17) del área foliar consumida en el régimen de alta frecuencia de fuego, por lo que la frecuencia de fuego incrementó los niveles de herbivoría (Figura 3.2).

La depredación de semillas de *R. edulis* estuvo principalmente representada por una especie de brúquido, *Acanthoscelides* sp. (Coleoptera, Bruchidae) (Apéndice VIII), aunque también se registraron ataques por una especie de Lepidoptera en baja proporción. En un trabajo previo (Carbone & Martinat, 2012) los individuos de este taxón fueron erróneamente identificados como *A. obtectus*, un brúquido generalista de distribución cosmopolita que ataca una gran diversidad de plantas cultivadas (Kingsolver, 2004). La incorrecta identificación se debe a que los caracteres taxonómicos diferenciales de este grupo de insectos se basan en la anatomía de la genitalia de los machos, un carácter inconspicuo de difícil interpretación. En base a un análisis posterior más detallado realizado por un especialista en el género *Acanthoscelides*, el Dr. Arturo L. Terán (Fundación Miguel Lillo, UNT), fue posible establecer la correcta identidad taxonómica de este brúquido a nivel genérico, sin concordar con ninguna de las especies descritas hasta el momento de acuerdo a las revisiones sistemáticas existentes. Los resultados de esta reciente clasificación indican que podría tratarse de una nueva especie para la ciencia. Para comprobar esto deberían realizarse estudios taxonómicos exhaustivos sobre este importante grupo de depredadores (Terán, 2013, comunicación personal). Con respecto a los hábitos de este depredador, no se ha registrado su presencia en semillas de otras especies de Fabaceae que coocurren con *R. edulis*, el hospedador principal en los sitios de estudio. En conclusión, esta es la primera referencia de la interacción entre *R. edulis* y *Acanthoscelides* sp., una interacción extremadamente especializada la cual podría tener un importante rol ecológico en la dinámica poblacional de los dos organismos interactuantes.

En una semilla de *R. edulis* se registró el desarrollo de solo una larva del brúquido. Tras la emergencia de los adultos, las semillas almacenadas no vuelven a ser infestadas por ellos, lo que significa que la depredación no continúa luego de la dispersión de las semillas en el campo. Las semillas que son depredadas por esta especie de brúquido muestran un estímulo para su germinación, pues el insecto provoca la ruptura de la dormición física de las semillas de *R. edulis* sin dañar su embrión (Carbone & Martinat, 2012). Sin embargo, la progenie proveniente de semillas depredadas tiene menor supervivencia post-germinación debido al consumo de sus reservas y a los mayores niveles de ataque por hongos patógenos (Carbone, obs. pers.; Apéndice VIII).

Las plantas de los sitios no quemados tuvieron en promedio un nivel de depredación de semillas que rondó el 18% (DE ± 0.06), mientras que en el escenario de alta frecuencia de fuego los valores fueron de alrededor del 11% (DE ± 0.06), por lo que la frecuencia de fuego afectó negativamente a la depredación de semillas por brúquidos (Figura 3.2). Como consecuencia de esta disminución en la depredación hacia la condición de máxima frecuencia de fuego, la proporción de semillas sanas producidas por individuos de *R. edulis* mostró un respuesta positiva a los efectos del fuego (Figura 3.2).

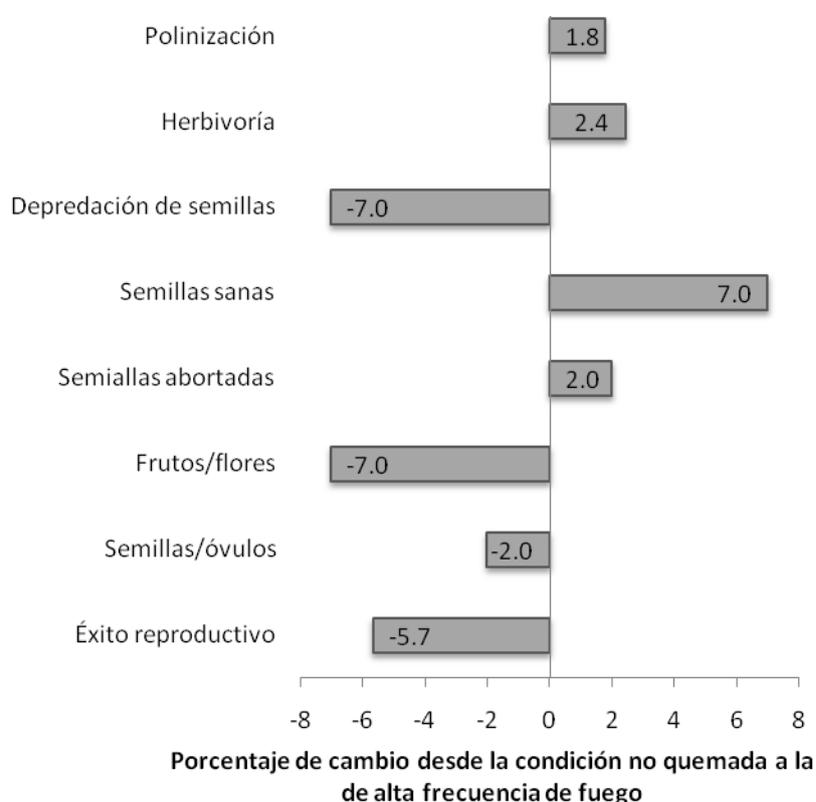


Figura 3.2. Porcentaje de cambio desde el escenario no quemado al de alta frecuencia de fuego para las interacciones planta-insecto (polinización, herbivoría y depredación de semillas) y variables reproductivas (semillas sanas, abortadas, frutos/flores, semillas/óvulos y éxito reproductivo). Valores positivos indican un incremento del valor promedio de cada variable hacia la condición de alta frecuencia de fuego y valores negativos indican disminuciones hacia la condición de alta frecuencia de fuego.

Análisis de rutas

El modelo de relaciones causales inicialmente propuesto (Figura 3.3, Modelo 1) explicó significativamente la variación observada de los datos ($C=6.81$, $P=0.743$). Sin embargo, los modelos anidados más parsimoniosos desarrollados a partir de la simplificación de efectos no significativos del modelo general, presentaron un mejor ajuste. El modelo que mostró el mejor ajuste de los datos fue el más sencillo (Modelo 3), representado por los efectos directos de la frecuencia de fuego sobre el AFE y la herbivoría, y a su vez por los efectos de estas variables sobre el éxito reproductivo de *R. edulis* (Figura 3.3; Tabla 3.1).

Al analizar los coeficientes de rutas del Modelo 3 se pudo evidenciar que la frecuencia de fuego tuvo un fuerte efecto negativo sobre el AFE ($Z=-5.040$, $P=0.0001$), y a su vez el AFE mostró un efecto positivo sobre el éxito reproductivo ($Z=2.198$, $P=0.028$). En general, se pudo observar que la frecuencia de fuego tuvo un efecto neto negativo sobre el éxito reproductivo ($Z=-1.951$, $P=0.05$), a través del efecto indirecto del AFE (Tabla 3.2). En otras palabras, en los sitios sujetos a un mayor número de incendios, el éxito reproductivo de esta especie disminuyó principalmente como consecuencia de los menores valores de AFE.

Por otro lado, al evaluar las relaciones entre la frecuencia de fuego y las interacciones bióticas del modelo competente global, Modelo 1 (Figura 3.3), se pudo evidenciar que la frecuencia de fuego tuvo un efecto positivo y significativo solo sobre la herbivoría por insectos, sin afectar la frecuencia de visitas de los polinizadores ni los niveles de depredación de semillas pre-dispersión por brúquidos. La frecuencia de fuego tuvo un efecto positivo sobre los niveles de daño que ocasionaron los insectos a las hojas ($Z=3.331$, $P=0.001$). Sin embargo, esta interacción no fue afectada por las variaciones en el AFE, un carácter que posiblemente modifica la calidad (palatabilidad) de los tejidos vegetales. Al considerar las relaciones entre las diferentes interacciones planta-insecto y el éxito reproductivo, ninguna de ellas resultó relevante en la reproducción sexual de la especie vegetal evaluada. Además, los efectos indirectos del fuego sobre la reproducción de *R. edulis* mediados a través de estas interacciones bióticas resultaron no significativos.

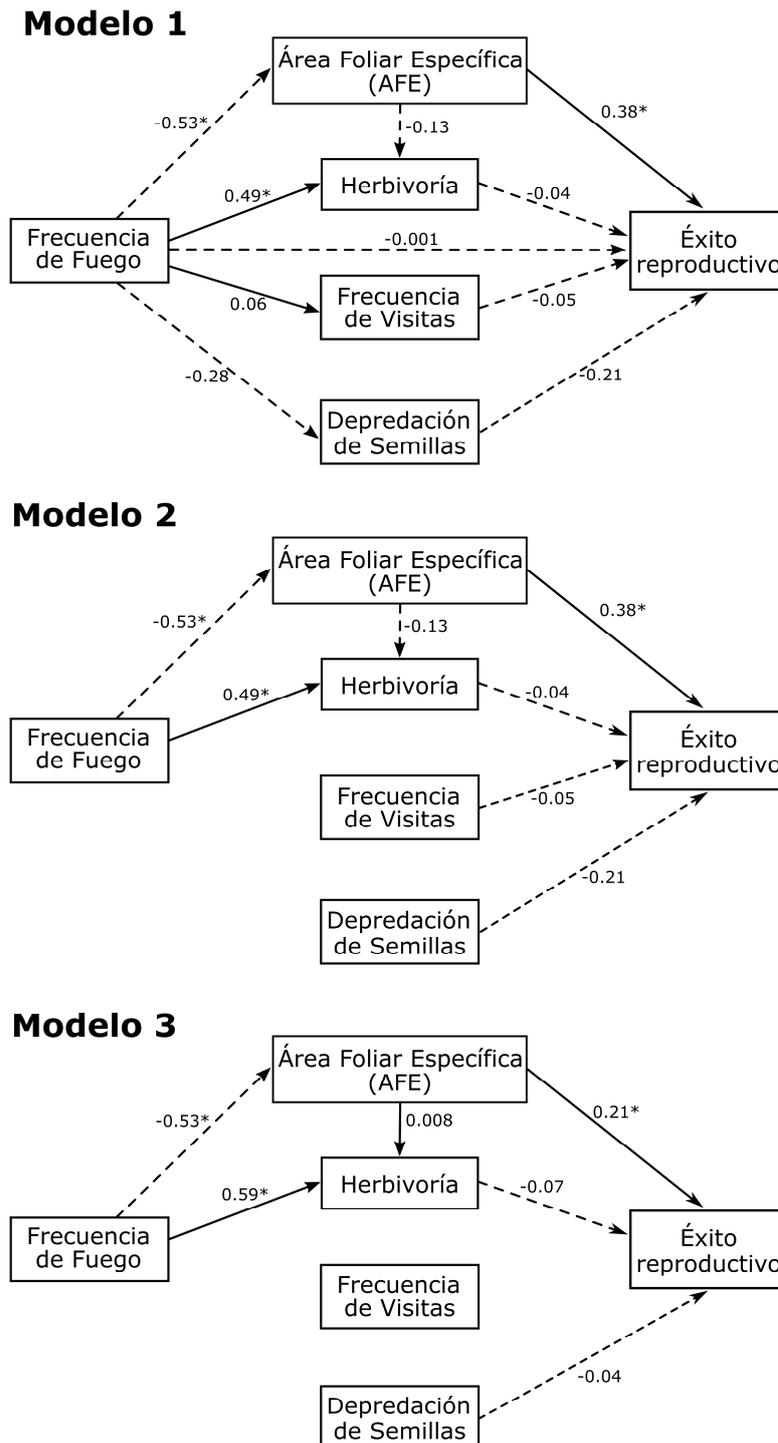


Figura 3. 3. Modelos de relaciones causales que evalúan los efectos de factores ecológicos sobre el éxito reproductivo de *Rhynchosia edulis*. Todos los modelos ajustaron satisfactoriamente a la variación de los datos, pero el modelo 3 fue el seleccionado (Tabla 3. 1). Los números sobre las flechas son los coeficientes de rutas. Los asteriscos indican significancia estadística al nivel de $\alpha=0.05$.

Tabla 3.1. Parámetros estadísticos para evaluar los modelos de la Figura 3.3.

Modelo	<i>C</i>	GL	<i>P</i>	<i>K</i>	AIC _c	ΔAIC _c
1	6.81	10	0.743	27	132.81	63.17
2	6.30	8	0.614	19	70.51	0.87
3	6.94	16	0.974	20	69.64	0.00

Nota: *C* es el estadístico de Fisher usado para la prueba de separación direccional (*d-sep*), GL son los grados de libertad de cada modelo, *P* es la probabilidad nula, *K* es el número de parámetros estimados por el modelo, AIC_c es el criterio de información de Akaike para muestras pequeñas, y ΔAIC_c es la diferencia de cada modelo con respecto al mejor modelo (Modelo 3).

Tabla 3.2. Magnitud de los efectos directos, indirectos (mediados por el AFE y herbivoría) y totales de la frecuencia de fuego y depredación de semillas sobre el éxito reproductivo de *Rhynchosia edulis* para el modelo 3. Los asteriscos indican efectos significativos ($p < 0.05$).

Variable	Efecto directo	Efecto indirecto vía AFE	Efecto indirecto vía herbivoría	Efecto total
Frecuencia de fuego	-	-0.12 *	-0.04	-0.15 *
Depredación de semillas	-0.04	-	-	-0.04

DISCUSIÓN

Ante las condiciones ambientales cambiantes impuestas por el fuego, y específicamente por el aumento en su frecuencia, es probable encontrar respuestas en la comunidad de insectos que establecen interacciones con las plantas (Swengel, 2001). Los patrones respuesta de diferentes grupos de insectos son en general difíciles de predecir debido a que están indirectamente influenciados por el fuego a través de cambios inducidos en el ambiente, disponibilidad de alimento y tasas de depredación, además de características intrínsecas que los hacen más o menos susceptibles al régimen de disturbios (Andersen, 2003). En relación a los efectos de la frecuencia de incendios sobre las interacciones planta-animal, los resultados hallados ponen en evidencia diferencias en la

respuesta de las distintas interacciones. Si bien se observaron efectos positivos de la frecuencia de fuego sobre los niveles de herbivoría y frecuencia de visita de polinizadores, y negativos sobre la depredación de semillas, el único efecto significativo del fuego fue sobre la herbivoría. De esta manera, queda refutada la hipótesis inicial, en la que se postulaba que la frecuencia de fuego provocaría una disrupción de todas las interacciones planta-insecto. Por el contrario, dos de las interacciones no fueron afectadas por el aumento en la frecuencia de fuego, mientras que la herbivoría mostró un fuerte incremento.

Al analizar los efectos de las interacciones ecológicas sobre el éxito reproductivo de *R. edulis*, los resultados muestran que el mutualismo y los antagonismos evaluadas no influyen en su reproducción sexual de manera significativa. En contraste, la única vía que afectó de manera significativa al éxito reproductivo fue a través del carácter foliar AFE, mediando los efectos de la frecuencia de fuego. El AFE es uno de los caracteres funcionales más utilizados como predictores de la tasa de crecimiento potencial a nivel interespecífico (Díaz *et al.*, 1998), aunque también hay evidencias que lo postulan como moderador del crecimiento a nivel intraespecífico (Alber *et al.*, 2010). Particularmente, la fertilidad y humedad edáfica pueden afectar el crecimiento de organismos sésiles como las plantas, con consecuencias sobre los órganos fotosintetizantes y la biomasa producida por las mismas. Por lo tanto, la cantidad de recursos que disponen las plantas en ambientes estresados resulta en una mayor limitación para la función reproductiva femenina en plantas autocompatibles (*i.e.* producción de frutos y semillas), que la disponibilidad de polen (Burd, 1994). Los resultados hallados son congruentes con los reportados en los Capítulos I y II, y permiten confirmar la hipótesis de limitación por recursos edáficos de la reproducción sexual inducida por la frecuencia de fuego. Asimismo, el patrón encontrado de los efectos indirectos de la frecuencia de fuego sobre la reproducción sexual mediados por el AFE, apoya la idea del importante rol que posee la variabilidad intraespecífica de rasgos funcionales foliares como predictores de las respuestas reproductivas de plantas a los efectos de disturbios antrópicos, hallazgo que no tiene precedentes en la literatura mundial.

Recientes trabajos han demostrado que ciertas comunidades de abejas cambian su diversidad y composición en relación al tiempo post-fuego (Moretti *et al.*, 2009). Además, el fuego puede disminuir la diversidad de estos polinizadores en algunos ambientes, pero en otros existe una gran resiliencia y una rápida recuperación post-fuego (Moretti *et al.*, 2006) debido a la mayor oferta de néctar de las especies dominantes y a cambios en la

disponibilidad de recursos para nidificar (Potts *et al.*, 2005). En consecuencia, las predicciones no pueden extrapolarse de una región a otra con diferentes configuraciones de la vegetación (Moretti *et al.*, 2009). En este sentido, si bien en el centro de Argentina se ha evaluado el impacto de diferentes disturbios antrópicos sobre la polinización y la interacción planta-polinizador, entre ellos la fragmentación del hábitat, agriculturización, pastoreo, invasiones biológicas y cambio climático (Aizen & Feinsinger, 1994; Aguilar, 2005; Chacoff & Morales, 2007), los efectos del fuego han sido prácticamente inexplorados en el Chaco Serrano.

Si bien no se han observado cambios en la frecuencia de visitas de polinizadores en los sitios sujetos a diferente frecuencia de fuego, *R. edulis* es autocompatible y normalmente produce frutos por autogamia, por lo tanto tiene una baja dependencia reproductiva sobre sus polinizadores. Es decir, en esta especie la cantidad y calidad del polen que puedan proveer los polinizadores no afecta significativamente su éxito reproductivo (Ashworth, 2004). Esto se observó en el Capítulo II, donde no se encontró relación alguna entre la frecuencia de visitas de los polinizadores y el éxito reproductivo femenino. En conclusión, la independencia de los visitantes florales podría significar una estrategia de aseguramiento reproductivo que permite a *R. edulis* la permanencia en sitios con incendios recurrentes mediante la reproducción uniparental (autopolinización espontánea), una estrategia que podría resultar beneficiosa ante una situación de escases de polinizadores, como lo expresan Eckert *et al.* (2006).

La hipótesis de asignación de recursos predice una correlación negativa entre la disponibilidad de recursos de las plantas y su nivel de defensa contra herbívoros (Boege & Dirzo, 2004). Contrariamente a esto, la disminución en el AFE inducida por la frecuencia de fuego, lo cual conllevaría a un posible aumento en la dureza foliar y disminución de su palatabilidad, no resultó en menores niveles de herbivoría en *R. edulis*. Esto implica que los cambios intraespecíficos en caracteres foliares relacionados con atributos físicos no representan un mecanismo de defensa importante contra herbívoros masticadores en *R. edulis*. El efecto positivo hallado de la frecuencia de fuego sobre los niveles de herbivoría encuentra apoyo en trabajos previos que han demostrado un incremento en la densidad de insectos fitófagos debido a cambios en la estructura de la vegetación e incremento de nutrientes foliares en ambientes frecuentemente quemados (Adams & Rieske, 2003; Kay *et al.*, 2007). Además, estos mismos autores remarcan que los incendios forestales aumentan la apertura del dosel arbóreo y modifican la composición química de los tejidos vegetales,

factores que promueven el crecimiento poblacional de insectos herbívoros (Kay *et al.*, 2007). En este sentido, además de hallarse cambios florísticos en los escenarios con diferente frecuencia de fuego estudiados, se evidenció una mayor concentración de nitrógeno y fósforo foliar en *R. edulis* (Carbone & Aguilar, 2016). Cambios en los nutrientes foliares inducidos por el fuego han sido reportados a nivel intraespecífico en plantas con baja relación filogenética de variados ambientes (Christensen, 1977; Reich *et al.*, 1990; Rieske, 2002). Estos cambios pueden afectar en gran medida los patrones de alimentación de los herbívoros y a su vez sus efectos sobre las plantas (Rieske, 2002; Adams & Rieske, 2003). Típicamente esta respuesta positiva de la herbivoría al fuego también se fundamenta en el hábito de alimentación generalista de estos insectos, los que no dependen de la recuperación de una sola especie de planta para colonizar áreas post-fuego (García *et al.*, 2016). En síntesis, la variabilidad intraespecífica de rasgos nutricional moldeada por la frecuencia de fuego podría ser uno de los mecanismos que explique la atracción de herbívoros y los mayores niveles de folivoría sobre la especie forrajera estudiada.

A pesar que el efecto de la depredación de semillas previo a su dispersión sobre el éxito reproductivo no fue estadísticamente significativo, la tendencia sugiere que esta interacción fue la que tuvo el efecto más importante sobre el éxito reproductivo entre las tres interacciones planta-animal evaluadas. Algunos trabajos ya han reportado el mayor peso relativo de la depredación de semillas por sobre la polinización en determinar la producción final de semillas viables (Cariveau *et al.*, 2004). Por otro lado, los resultados muestran una tendencia no significativa donde al aumentar la frecuencia de incendios los niveles de depredación disminuyen. Los escasos trabajos que evalúan depredación de semillas de Fabaceae en ambientes incendiados no encontraron un claro patrón de respuesta general. Mientras algunas especies muestran una marcada disminución de los niveles de infestación (García *et al.*, 2016), otras no expresan cambios con posterioridad al fuego (Auld & O'Connell, 1989). No obstante, la intensidad de depredación en las plantas que se benefician con menor niveles de infestación en el post-fuego temprano, puede restablecerse al transcurrir el tiempo desde el incendio (Auld & O'Connell, 1989), pero aún se desconoce cómo es la respuesta a los diferentes factores del régimen de fuego. Entre los factores que pueden afectar la depredación de semillas y que a su vez son modificados por los nuevos regímenes de fuego está la disponibilidad de recursos de las plantas hospederas. El tamaño de la planta y la cantidad de flores producidas, variables influenciadas por la

disponibilidad de recursos, son dos factores que pueden afectar los patrones de oviposición de los depredadores adultos (Cariveau *et al.*, 2004). Al respecto, las restricciones abióticas de los sitios más quemados afectan rasgos foliares relacionados con el crecimiento de las plantas y por ende también se podrían modificar rasgos de atracción para los depredadores, provocando una disminución en la presión que ejercen estos parásitos sobre las progenies (Cariveau *et al.*, 2004). Desde el punto de vista de las plantas, una de las consecuencias de este antagonismo es que puede limitar el reclutamiento poblacional a través de impactar negativamente en el banco de semillas (Auld, 1983; Auld & O'Connell, 1989). Sin embargo, se ha reportado para algunas especies perennes, que aún infestaciones superiores al 95% pueden tener efectos negativos en el desempeño individual y no necesariamente incidir en el banco de semillas y en el reclutamiento poblacional debido a la inmigración de propágulos desde sitios que han escapado a los depredadores (Andersen, 1989). A partir de este capítulo y en contraste con lo hallado por García *et al.* (2016), se muestra que la frecuencia de fuego no provoca una interrupción significativa de la interacción planta-depredador de semillas durante la cuarta temporada de crecimiento post-fuego y por lo tanto *R. edulis* no se ve beneficiada por liberarse de este antagonismo tan especializado.

CAPÍTULO IV

Efecto de la frecuencia de fuego sobre la progenie: análisis desde una perspectiva ecológica y evolutiva

INTRODUCCIÓN

Los incendios forestales han sido considerados históricamente por la sociedad y por los ecólogos un desastre natural con efectos negativos sobre los organismos y ecosistemas. Sin embargo, en la actualidad esta concepción destructiva ha cambiado hacia una visión del fuego como un proceso ecológico que modela la estructura y función de la mayoría de los ecosistemas del mundo (Bond *et al.*, 2005; Pausas & Schwilk, 2012) y la distribución, abundancia y rasgos ecológicos de las poblaciones vegetales (Bond & Midgley, 2001). Asimismo, se ha propuesto recientemente al fuego como una fuerza evolutiva que modela tanto la biodiversidad, es decir desde una perspectiva macroevolutiva (Schwilk & Ackerly, 2001), como también la adaptación de rasgos de las poblaciones, desde un enfoque microevolutivo (Bond & Midgley, 1995; Bond & Keeley, 2005). No obstante, muchos rasgos de las plantas que han sido rotulados como adaptaciones al fuego carecen de un riguroso análisis de la importancia funcional del rasgo y sus implicancias para el desempeño de la progenie (Bond & Keeley, 2005).

El fuego puede afectar las características de la progenie a través de alterar (i) los patrones de apareamientos plantas y (ii) el ambiente materno. En primer lugar, los patrones de apareamiento pueden ser afectados por los cambios antrópicos en el régimen de incendios debido a cambios en la abundancia, composición, y/o comportamiento de los polinizadores, afectándose el servicio de polinización (Brown *et al.*, 2016 b). Por un lado, puede disminuir la cantidad de polen removido, dispersado y depositado en los estigmas, produciendo menor cantidad de progenie. Por otro lado, la calidad del polen puede cambiar debido a una mayor incidencia de cruzamientos endógamos por sobre los exógamos, lo que podría disminuir la calidad o vigor de la descendencia (Wilcock & Nieland, 2002). Mientras existen varios estudios que evalúan polinización y éxito reproductivo de plantas en ambientes incendiados que demuestran resultados dispares y dependientes del contexto ecológico (Van Nuland *et al.*, 2013, Brown & York, 2016), son escasos los trabajos que

analizan el efecto de cierto régimen de fuego sobre características de la progenie (Poulin *et al.*, 2007; Gómez-González *et al.*, 2011; Ojeda *et al.*, 2016).

Entre las consecuencias de los cambios en los patrones de apareamientos, un incremento en las tasas de autopolinización o polinización entre parientes cercanos puede aumentar significativamente los coeficientes de endogamia en la progenie. Si estos procesos de polinización endógama persisten en el tiempo pueden conducir a la expresión de la depresión por endogamia, disminuyendo la aptitud biológica de la progenie autógena con respecto a la progenie exógama (Sage *et al.*, 2005). La depresión por endogamia resulta de la expresión de genes homocigotas recesivos que producen deficiencias en los organismos aumentando su mortalidad y disminuyendo su aptitud biológica (Charlesworth & Charlesworth, 1987). En este proceso intervienen factores genéticos determinantes, pero también existen factores ambientales que pueden interactuar en la expresión de la depresión por endogamia. Existen evidencias de que en ambientes estresados la depresión por endogamia puede ser más severa y que la expresión de caracteres puede ser más variable en la progenie autógena como un mecanismo compensatorio para lidiar con las contingencias ambientales (Shi *et al.*, 2005). Sin embargo, la depresión por endogamia normalmente se expresa en especies con un sistema de cruzamiento exógamo y altamente dependientes de polinizadores. En contraste, las especies con sistemas de apareamiento mayormente endógamo tienen menos probabilidad de expresar depresión por endogamia debido a que los alelos o genes deletéreos ya han sido purgados de las poblaciones a través de sucesivas generaciones de endogamia. Así, la autogamia suele ser un mecanismo de aseguramiento reproductivo en ambientes donde la presencia de polinizadores es más variable (Carpenter & Recher, 1979; Brunet, 2005).

Varios estudios han evaluado los efectos de la polinización y de la disponibilidad de recursos abióticos de manera experimental sobre el vigor de la progenie (Shi *et al.*, 2005) inclusive en el contexto de disturbios (Latzel *et al.*, 2009; 2010). Sin embargo, hasta la actualidad no se han desarrollado trabajos que analicen el efecto del tipo de polinización sobre el vigor de la progenie en ambientes donde el fuego induce limitación de recursos. Además, resulta de interés aplicado comprender cuál será la respuesta de plantas nativas asociadas a la oferta forrajera en áreas donde la cría de ganado es la principal actividad económica. En este sentido, los resultados de este capítulo pueden aportar una herramienta para planificar un manejo del pastoreo tendiendo a la conservación de las poblaciones nativas.

El segundo factor que puede mediar los efectos del fuego sobre la progenie, es el llamado ambiente o efecto materno, el cual se refiere a las características genéticas de las plantas madres así como a los efectos de las condiciones ambientales donde ellas crecen que pueden condicionar el vigor de la progenie (Miao *et al.*, 1991; Latzel *et al.*, 2010). Este efecto es considerado un caso particular de plasticidad transgeneracional debido a que una respuesta fenotípica puede ser transmitida a la próxima generación (Latzel *et al.*, 2010). El efecto materno es mediado por almacenamiento de reservas, hormonas, enzimas y toxinas en las semillas, pero también puede deberse a mecanismos epigenéticos (Latzel *et al.*, 2009). Plantas madres creciendo en ambientes estresados tiene recursos limitados para invertir en las semillas que producen y por lo tanto, los efectos pueden evidenciarse en la masa de las semillas, su germinación y el vigor en estadios ontogenéticos iniciales, perdiendo efecto con el desarrollo de la progenie (Latzel *et al.*, 2010). Se ha demostrado que el nivel de nutrientes en el suelo es un importante factor inductor del efecto materno. En este sentido, la descendencia de plantas madre creciendo en condiciones nutricionales óptimas pueden evidenciar un mayor crecimiento y este efecto puede perdurar por varias generaciones (Miao *et al.*, 1991). Si bien no se ha analizado al fuego como un factor predisponente del efecto materno, el estrés edáfico inducido por la frecuencia de fuego en el Chaco Serrano constituye un buen escenario para poner a prueba el efecto materno en el contexto de la ecología del fuego.

Desde una perspectiva evolutiva, ya se ha mencionado que el régimen de fuego puede ejercer una presión de selección sobre caracteres que resulten beneficiosos para poblaciones vegetales creciendo en determinadas condiciones. Existen evidencias de microevolución de diversos caracteres de las plantas modelada por el fuego. Entre ellas, se ha visto que caracteres seminales de *Helenium aromaticum*, como la forma y pubescencia, son modelados por fuegos frecuentes en matorrales Mediterráneos, presentando una ventaja para el establecimiento de nuevos individuos (Gómez-González *et al.*, 2011). En otro estudio se ha sugerido que la inflamabilidad de plantas de *Ulex parviflorus* es incrementada por fuegos recurrentes y esto genera un espacio vacío con mayor probabilidad de reclutamiento post-fuego (Pausas *et al.*, 2012). También se ha demostrado que fuegos de alta intensidad (o también de alta frecuencia) seleccionan el grosor de la corteza de árboles, por lo cual plantas que localizan recursos en cortezas gruesas, aislantes térmicamente, presentan una mayor resistencia a fuegos intensos o periódicos (Dantas &

Pausas, 2013; Pausas, 2015 c). Para que ocurra evolución por selección natural, los rasgos deben cumplir ciertas condiciones: variabilidad intrapoblacional, relación significativa entre el rasgo y la aptitud biológica relativa y que sean heredados por la progenie (Endler, 1986). En este sentido, si bien muchos trabajos han postulado a ciertos caracteres como adaptativos al fuego, son escasos los estudios que han demostrado empíricamente su heredabilidad (Gómez-González *et al.*, 2011; Moreira *et al.*, 2014). Una forma tradicional de comprobar la heredabilidad es a través de pruebas de progenie en jardín común, analizando la correlación de un rasgo de interés entre progenitores y progenies (Pausas, 2015b). Mientras los estudios con un enfoque evolutivo del fuego han sido desarrollados en ecosistemas históricamente propensos a este disturbio, como matorrales y bosques mediterráneos (Gómez-González *et al.*, 2011; 2016; Moreira *et al.*, 2014) y sabanas tropicales (Dantas & Pausas, 2013), aún no se ha indagado sobre el rol del fuego como fuerza selectiva en bosques subtropicales como los del Chaco Serrano. Al igual que en otras regiones, las Sierras Chicas de Córdoba poseen actualmente una elevada frecuencia de incendios como perturbación de alto impacto, lo cual predispondría a una fácil detección de selección natural (Gómez-González *et al.*, 2011).

Este capítulo tiene como objetivos analizar los efectos de la frecuencia de fuego sobre características de la progenie de *Desmodium uncinatum* y *Rhynchosia edulis*, desde un enfoque ecológico, analizando caracteres funcionales relacionados con el vigor bajo diferentes tipos de polinización, y desde una perspectiva evolutiva, indagando sobre la heredabilidad de caracteres foliares.

Se hipotetiza que el aumento en la frecuencia de fuego modifica los patrones de apareamientos mediante cambios en el servicio de polinización, incrementando la autogamia. Asimismo, la mayor frecuencia de fuego genera un ambiente materno hostil por limitación de recursos edáficos. En consecuencia, los cruzamientos exógamos estarán menos representados en los escenarios de alta frecuencia de fuego, por lo que se evidenciará una disminución del vigor de la progenie obtenida en estos sitios. No obstante, se esperaría esta respuesta particularmente para *D. uncinatum*, pues es altamente dependiente de polinizadores y presenta un sistema de apareamiento exógamo o mixto. En contraste, en *R. edulis*, al ser una especie autógena y con baja dependencia reproductiva de polinizadores, no presentará diferencias en el vigor de la progenie de diferentes tipos de polinización y tampoco entre escenarios de fuego. Por otro lado, se esperaría que las limitaciones nutricionales impuestas por las altas frecuencias de fuego afecten

negativamente a las plantas madres y repercute en un menor vigor de la progenie proveniente de esos escenarios. En contraste, la progenie de los escenarios no quemados mostrará un mayor vigor producto del efecto materno favorable, independientemente del tipo de polinización.

Por otro lado, considerando que los individuos de las tres Fabaceae estudiadas en esta tesis mostraron variabilidad intraespecífica de caracteres foliares (área foliar, área foliar específica) inducida por el fuego (Capítulo I; Carbone & Aguilar, 2016) y las poblaciones sujetas a diferentes regímenes de fuego presentaron diferencias en el éxito reproductivo (Capítulo II), se propone evaluar si este patrón de variación intraespecífico hallado en los progenitores a campo es producto de adaptación local modelada por la frecuencia de fuego. En este caso, los cambios observados en los caracteres foliares tendrían base genética como consecuencia de selección natural y serían heredables, pues representarían un aumento en la aptitud biológica de los individuos que poseen este nuevo rasgo (Salgado-Negret & Paz, 2016). Si el fuego es una importante fuerza que selecciona caracteres funcionales foliares claves en la asimilación de recursos de estas plantas, la variación será favorable en sitios frecuentemente quemados con limitación de recursos y por lo tanto serán heredados por la progenie. En este sentido, si estos caracteres son adaptaciones producto de selección natural se espera encontrar una correlación positiva entre los caracteres funcionales foliares de progenitores y su progenie. Por el contrario, si los cambios observados en estos caracteres no son heredables, entonces su variación es producto plasticidad fenotípica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Especies estudiadas y diseño experimental

Las especies estudiadas en este capítulo son *Desmodium uncinatum* y *Rhynchosia edulis*, excluyendo a *Cologania broussonetii*, debido a que se ha encontrado que el fuego favorece la producción de flores cleistógamas en altas proporciones en esta especie (Apéndice IV; Cascone *et al.*, 2016, datos no publicados), imposibilitando la realización de tratamientos de polinización sobre flores casmógamas en todos los escenarios de frecuencia de fuego.

Se seleccionaron 6 individuos de *D. uncinatum* y *R. edulis* en tres sitios representando a tres escenarios de frecuencia de fuego (9 sitios x 6 individuos: 54 individuos/especie) durante la cuarta temporada reproductiva post-fuego (diciembre 2014-febrero 2015). En estos individuos, considerados plantas madre, se colectaron cinco hojas por planta durante su estadio reproductivo para medirles caracteres funcionales, particularmente área foliar (AF), área foliar específica (AFE) y contenido de materia seca foliar (CMSF). La metodología para la obtención de estos caracteres foliares fue la misma que ha sido desarrollada en el Capítulo I, en base a Pérez-hurguindeguy *et al.* (2013).

En las mismas plantas madre se obtuvieron semillas de polinización libre (PL) como control y de dos tratamientos de polinización: (i) autogamia (A), al menos tres inflorescencias fueron cubiertas con bolsas de tul previo a la apertura floral para excluir el efecto de los polinizadores; luego se realizó autopolinización manual en *D. uncinatum*, mientras que las flores de *R. edulis* no fueron manipuladas debido que tienen la capacidad de autopolinizarse espontáneamente; y (ii) exogamia (E), tres inflorescencias fueron cubiertas de la manera antes detallada y en estado de pimpollo, antes de la dehiscencia de las anteras, las flores fueron manualmente polinizadas con polen de otras plantas espacialmente alejadas. Varias plantas fuentes de polen fueron utilizadas para realizar la polinización cruzada. En estas especies la emasculación es dificultosa, y la mayor manipulación de la flor aumenta la liberación del polen propio y el daño sobre el pistilo. Además, el estigma y estilo de flores dañadas por emasculación pueden funcionar de manera anormal, arrojando resultados erróneos (Dafni, 1992). Por estas razones la emasculación no fue realizada en este tratamiento.

Los frutos de cada planta madre fueron colectados y acondicionados en laboratorio. Para evaluar el desempeño de la progenie, se puso a germinar 5 semillas sanas no depredadas por planta madre y tratamiento de polinización en cápsulas de Petri, en cámara de germinación con condiciones controladas. A cada semilla individualmente identificada se les midió la masa (mg), debido a que esta variable puede influenciar el vigor de las plantas en las primeras etapas. Se calculó el porcentaje de germinación a los 4 días desde la siembra y se realizó el trasplante a invernadero de dos plántulas por planta madre y por tratamiento de polinización. En total fueron trasplantadas a invernadero 324 plántulas de cada especie. Las mismas fueron trasplantadas en macetas plásticas de 22 cm de alto y 6 cm de diámetro bajo condiciones controladas de invernadero, con sustrato preparado en base a las propiedades edáficas promedio del área de estudio. Cabe aclarar que el sustrato donde se desarrollaron las plantas fue previamente mezclado con suelo de los sitios de

estudio con el objetivo de asegurar la fuente de inóculo para la normal formación de nódulos radicales de bacterias fijadoras de N_2 que normalmente interaccionan en simbiosis con estas dos especies. Las mismas fueron regadas e intercambiadas de lugar regularmente para evitar que la localización en el invernadero afecte el crecimiento de las plantas. Se monitoreó el crecimiento durante un periodo de 75 días post-trasplante (agosto-noviembre 2015). En el mismo se cuantificó: número de hojas y altura cada 15 días, estableciendo cinco fechas de medición y cuatro intervalos de tiempo (15-30, 30-45, 45-60 y 60-75 días). Con los datos de altura se procedió a calcular la tasa de crecimiento relativa para cada uno de los cuatro intervalos de tiempo y la tasa de crecimiento global de todo el periodo. Al final del experimento se cosecharon las plantas, se diseccionaron las partes aérea y subterránea y se cuantificó el número de nódulos radicales para estimar fijación biológica de N_2 . Posteriormente, se colectaron tres hojas totalmente desarrolladas por planta y se midieron los mismos caracteres foliares medidos en los progenitores (área foliar, AF; área foliar específica, AFE y contenido de materia seca foliar, CMSF). Las partes aérea y subterránea de las plantas fueron secadas separadamente en estufa a 60 °C hasta llegar a peso constante y posteriormente se midió la biomasa seca aérea y radical con balanza de precisión. Para obtener una medición de vigor de las plántulas a través de todos los estadios de vida medidos, se estimó una variable de vigor multiplicativo por plántula (Aguilar *et al.*, 2012), a partir de multiplicar: n° hojas, tasa de crecimiento relativa total y biomasa seca total.

En la Figura 4.1 se esquematiza el diseño experimental común para las dos especies estudiadas, conjuntamente con las mediciones realizadas.

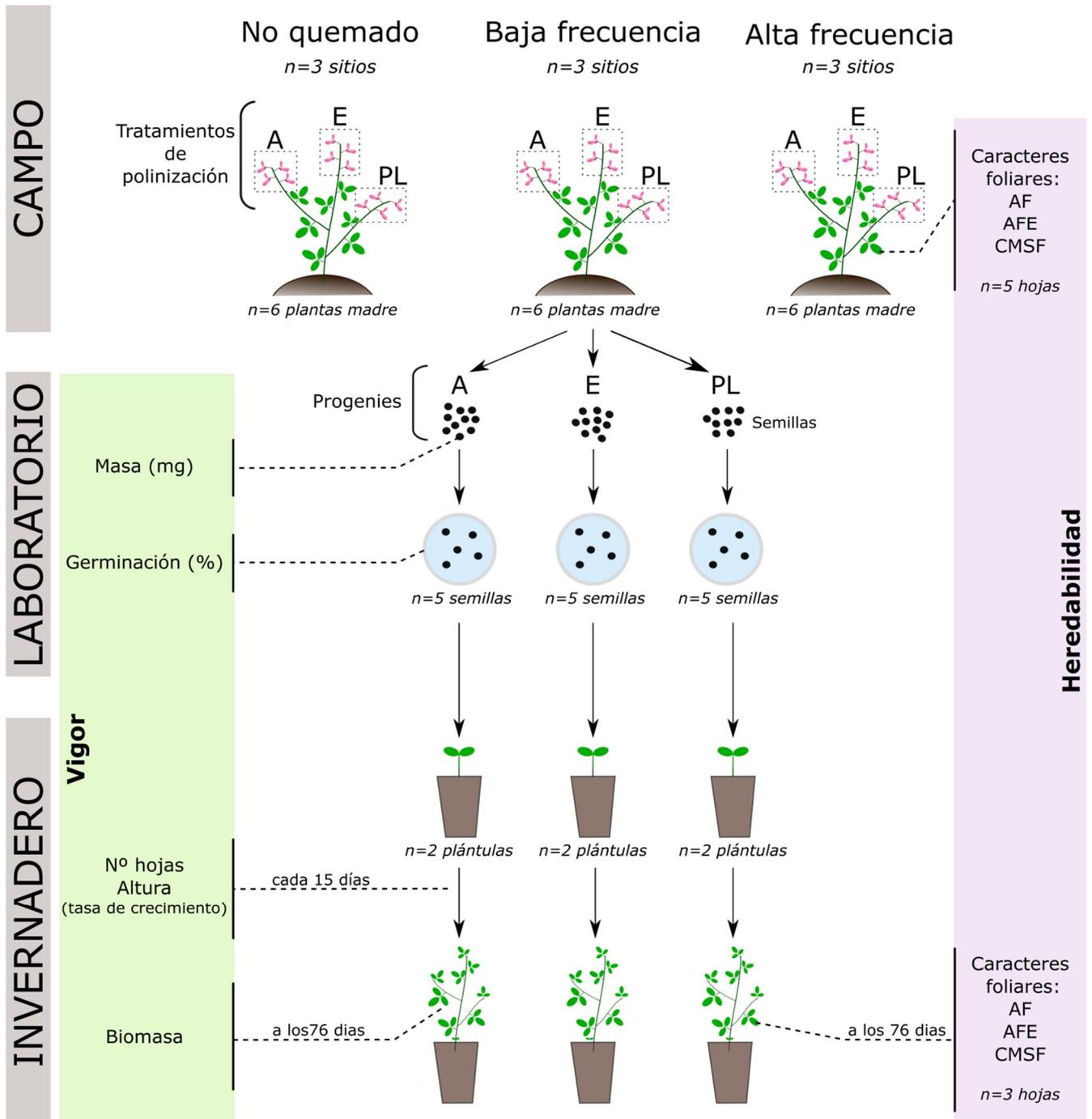


Figura 4.1. Esquema del diseño experimental para evaluar progenies de *Desmodium uncinatum* y *Rhynchosia edulis* provenientes de diferentes escenarios de frecuencia de fuego y tratamientos de polinización: A: autogamia; E: exogamia; PL: polinización libre. Hacia la izquierda se encuentran las variables de vigor medidas, mientras que en la parte derecha se encuentran las variables medidas para determinar heredabilidad.

Análisis de datos

Para evaluar el efecto de la frecuencia de fuego y del tratamiento de polinización como factores explicativos de las diferentes variables de vigor de la progenie (masa de la semilla, germinación, tasa de crecimiento relativa, biomasa y vigor multiplicativo), se utilizaron modelos lineales a efectos mixtos. De esta manera, se controló la jerarquía intrínseca producto del diseño experimental (tres sitios representando a cada frecuencia de fuego) y la falta de independencia producida por pseudorréplicas (plántulas replicando a plantas madres). Para las variables respuesta con distribución de errores normal (masa semilla, tasa de crecimiento relativa y biomasa) se utilizó la función *lme* del paquete *nlme* (Pinheiro *et al.*, 2009), mientras que para la variable germinación (%) se utilizó la función *glmer* del paquete *lme4* (Bates *et al.*, 2014) con distribución de errores binomial. La estructura de factores fijos y aleatorios en estos modelos fue la siguiente: frecuencia de fuego (no quemado, baja y alta frecuencia) y tratamiento de polinización (autogamia, exogamia y polinización libre) fueron los factores fijos, mientras que sitio y planta madre fueron factores aleatorios. Se comprobaron los supuestos de normalidad (en modelos *lme*) y homocedasticidad, y se comprobó el ajuste de los modelos a partir de diagnósticos gráficos y cálculo de sobredispersión. Para obtener la significancia de los factores fijos y analizar su interacción se compararon modelos anidados al modelo global con pruebas de verosimilitud (*Likelihood ratio test*, máxima verosimilitud, *ML method*). En los modelos para cada variable respuesta no se halló interacción entre los dos factores fijos (régimen de fuego y tratamiento de polinización), por lo que los mismos fueron tratados de manera aditiva. La importancia de los factores aleatorios (en los modelos *lme*) fue obtenida a partir de análisis de componentes de la varianza, obteniendo el porcentaje de la varianza explicada por cada efecto aleatorio. Las comparaciones *a posteriori* entre los niveles de los factores fijos fue evaluada con test de Tukey (*F*-Fisher y *Z*-Wald para las variables respuesta normales y no-normales, respectivamente). En particular, para la variable vigor multiplicativo se ajustó un modelo lineal a efectos mixtos con familia binomial negativa (función *glm.nb* del paquete *MASS*; Venables & Ripley, 2002).

Además, se probó la inclusión de la masa de semillas como una covariable para el modelo explicativo de la tasa de crecimiento relativa en las dos especies. Sin embargo, la utilización de esta covariable no fue válida para ninguna de las especies evaluadas debido a que hubo un efecto de la frecuencia de fuego sobre la masa de semillas (*D. uncinatum*: $\chi^2=8.342$, $P=0.015$; *R. edulis*: $\chi^2=12.755$, $P=0.013$). Luego de ajustar estos modelos, se

incluyó el efecto de la pseudorreplicación temporal que involucra repetidas mediciones sobre los mismos individuos a través del tiempo. Para esto, se ajustó una estructura de correlación autorregresiva para modelar dependencia entre intervalos de medición (función *corAR1* del paquete *nlme*; Pinheiro & Bates, 2000). Estas mediciones están correlacionadas temporalmente unas con otras y esta correlación disminuye a medida que aumenta la separación temporal.

Para evaluar la heredabilidad de los caracteres foliares que resultaron significativamente afectados por la frecuencia de fuego (AF y AFE; Capítulo I), se evaluó la relación entre el fenotipo materno y el de la progenie a partir de un análisis de correlación entre la media de la progenie obtenida por polinización natural ($n=2$) y el fenotipo de la planta madre para cada carácter foliar (Gómez-González *et al.*, 2011). El rasgo fue considerado heredable cuando la pendiente de la regresión fue positiva y significativamente mayor que cero ($P<0.05$).

Los análisis fueron realizados separadamente para cada especie estudiada.

RESULTADOS

Vigor de la progenie

Masa de semillas y germinación

La masa de semillas de *D. uncinatum* no fue afectada por la frecuencia de fuego ni tampoco por el tipo de polinización ($\chi^2_{(1)}<1.868$, $P>0.393$), y la interacción entre estos factores resultó no significativa ($\chi^2_{(1)}=4.184$; $P=0.382$). En contraste, la masa seminal de *R. edulis* fue significativamente afectada por la interacción entre frecuencia de fuego y tipo de polinización ($\chi^2_{(1)}=10.589$; $P=0.032$): las semillas más pesadas fueron producidas por autogamia en los escenarios no quemado y de alta frecuencia, mientras que en el escenario de baja frecuencia la exogamia resultó en semillas de mayor masa (Figura 4.2). Para ambas especies, la identidad de la planta madre explicó una mayor variación de la masa de semillas (*D. uncinatum*: 33%, *R. edulis*: 17%) que la identidad del sitio (*D. uncinatum*: 23%, *R. edulis*: 10%).

Con respecto al porcentaje de germinación, en general las semillas de las dos especies presentaron valores altos y poco variables a través de los escenarios de fuego y tipos de polinización. Sin embargo, mientras la germinación de *D. uncinatum* no fue afectada por

ninguno de estos dos factores ($\chi^2_{(1)} < 3.89$; $P > 0.143$), la germinación de *R. edulis* fue influenciada por la interacción entre fuego y polinización ($\chi^2_{(1)} = 12.755$; $P = 0.013$). Es decir, para esta última especie los mayores niveles de germinación de la progenie de distintos tipos de polinización se observó en distintos escenarios de fuego. Este efecto puede deberse al patrón previamente descrito de la masa seminal a través de los escenarios de fuego y tratamientos de polinización. En este sentido, la masa de semilla y el porcentaje de germinación mostraron una correlación positiva y significativa para *D. uncinatum* ($r = 0.321$, $P = 0.0007$, $N = 107$), mientras que en *R. edulis* esta relación no fue significativa ($r = 0.032$, $P = 0.689$, $N = 162$). Esto indica que las semillas de mayor masa de *D. uncinatum* tienen más probabilidades de germinar, independientemente del tipo de polinización y del régimen de fuego del sitio donde las plantas madre crecen.

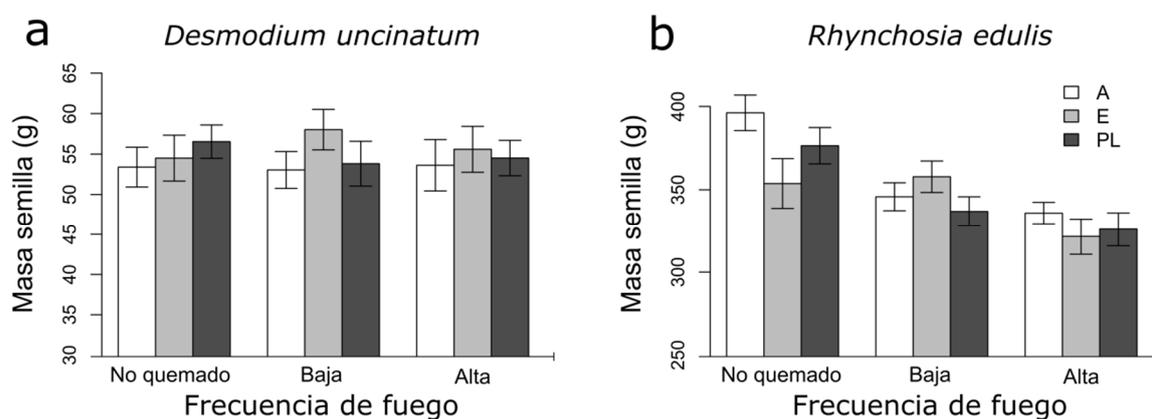


Figura 4.2. Masa de semillas de progenie de *Desmodium uncinatum* (a) y *Rhynchosia edulis* (b) provenientes de diferentes escenarios de frecuencia de fuego (no quemado, baja y alta frecuencia) y tratamientos de polinización (A: autogamia, E: exogamia, PL: polinización libre). Los valores mostrados son media \pm error estándar.

Tasa de crecimiento relativa

La tasa de crecimiento relativa de las dos especies a través de los cuatro intervalos de medición no fue afectada por los dos factores de análisis, frecuencia de fuego (*D. uncinatum*: $L\ ratio = 1.685$, $P = 0.431$; *R. edulis*: $L\ ratio = 3.201$, $P = 0.202$) y tipo de polinización (*D. uncinatum*: $L\ ratio = 4.171$, $P = 0.124$; *R. edulis*: $L\ ratio = 0.333$, $P = 0.847$). Tal como se observa en la Figura 4.3., la tasa de crecimiento solamente mostró diferencias significativas entre intervalos de medición (*D. uncinatum*: $L\ ratio = 234.236$, $P < 0.0001$; *R.*

edulis: L ratio=681.270, $P<0.0001$). La identidad del sitio como factor aleatorio explicó entre 16 % y 23 % de la variación en la tasa de crecimiento de *D. uncinatum* y *R. edulis*, mientras que la identidad de la planta madre aportó muy poco a la varianza total.

Además, se analizó separadamente el cuarto intervalo de muestreo (60-75 días) donde se observó una mayor tasa de crecimiento de las plántulas de *D. uncinatum* provenientes de exogamia en los escenarios de baja y alta frecuencia de fuego (Figura 4.3 b-c), tendencia que no fue estadísticamente significativa (L ratio<2.635935, $P>0.268$).

La masa de la semilla y la tasa de crecimiento relativa mostraron una relación general (*i.e.* sin considerar los escenarios de fuego y el tipo de polinización) positiva para las dos especies estudiadas en los primeros intervalos de evaluación post-trasplante (Tabla 4.1). Esta relación dejó de ser significativa en los estadios posteriores del desarrollo de las plántulas.

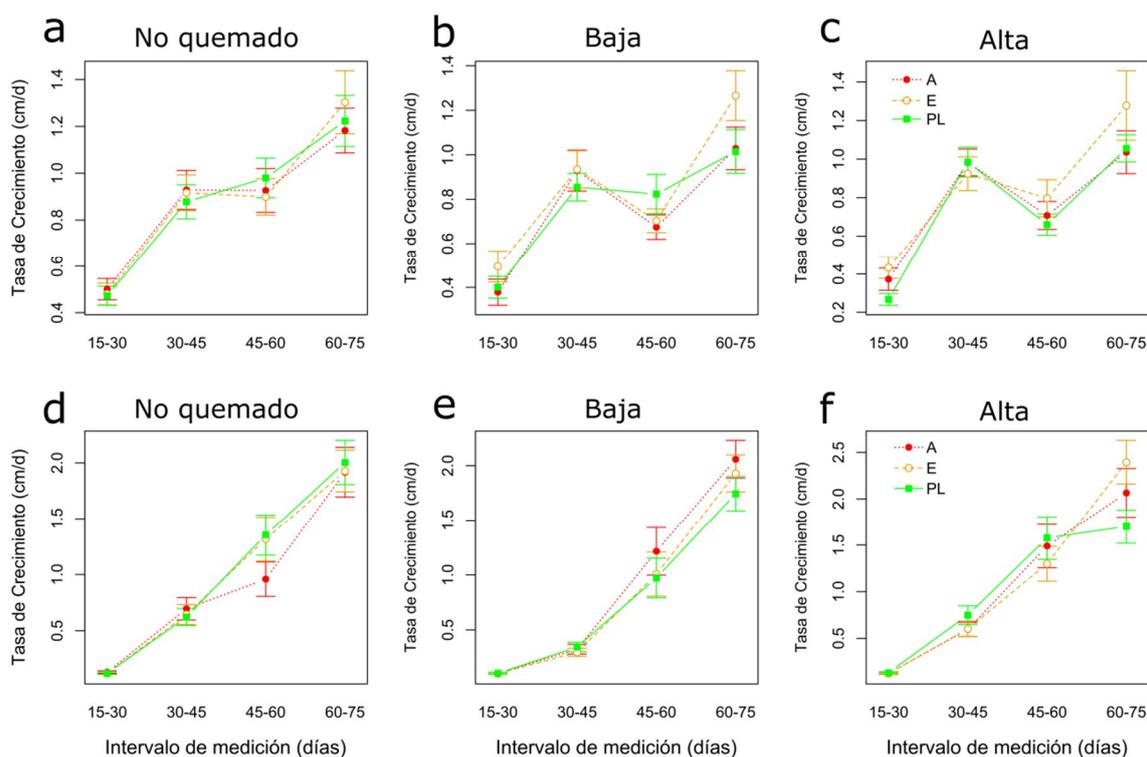


Figura 4.3. Tasa de crecimiento relativa de progenies autóгамas (A, rojo), exógamas (E, naranja) y de polinización libre (PL, verde) de *Desmodium uncinatum* (a-c) y *Rhynchosia edulis* (d-f) en diferentes escenarios de frecuencia de fuego (no quemado, baja y alta frecuencia) y en cuatro intervalos de medición. Los valores mostrados son media \pm error estándar.

Tabla 4.1. Relación entre la masa de semilla y la tasa de crecimiento relativa de *Desmodium uncinatum* y *Rhynchosia edulis* en cinco intervalos de medición y a través de todo el periodo. Valores en negrita indican diferencias significativas ($p < 0.05$) arrojadas por el test de correlación (método Pearson). Tamaño muestral (nº de plántulas por intervalo): *D. uncinatum*: N=194; *R. edulis*: N=316.

Intervalo de medición	<i>Desmodium uncinatum</i>		<i>Rhynchosia edulis</i>	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
0-15 días	0.34	<0.001	0.24	<0.001
15-30 días	0.14	0.056	0.15	0.006
30-45 días	-0.07	0.308	0.10	0.065
45-60 días	-0.03	0.661	0.02	0.764
60-75 días	0.16	0.030	-0.03	0.597
Todo periodo (0-75 días)	0.04	0.271	0.02	0.560

Biomasa

La biomasa total (aérea y radical) producida por plántulas de *D. uncinatum* a los 75 días posteriores al trasplante fue similar entre escenarios de fuego ($L\ ratio = 0.493$, $P = 0.782$) y también entre tratamientos de polinización ($L\ ratio = 4.973$, $P = 0.083$) (Figura 4.4a). Por el contrario, las variaciones en la biomasa de plántulas de *R. edulis* fueron significativamente explicadas por el régimen de frecuencia de fuego ($L\ ratio = 8.321$, $P = 0.016$) pero no por el tipo de polinización ($L\ ratio = 0.224$, $P = 0.894$). En efecto, las plántulas de *R. edulis* de los escenarios no quemado y de alta frecuencia de fuego mostraron mayores valores de biomasa que las plántulas provenientes de baja frecuencia de fuego, independientemente del tipo de polinización (Figura 4.4b). El factor aleatorio sitio explicó una mayor proporción de la varianza en la biomasa producida (*D. uncinatum*: 35%, *R. edulis*: 20%) que la identidad de la planta madre (*D. uncinatum*: 12%, *R. edulis*: 8%).

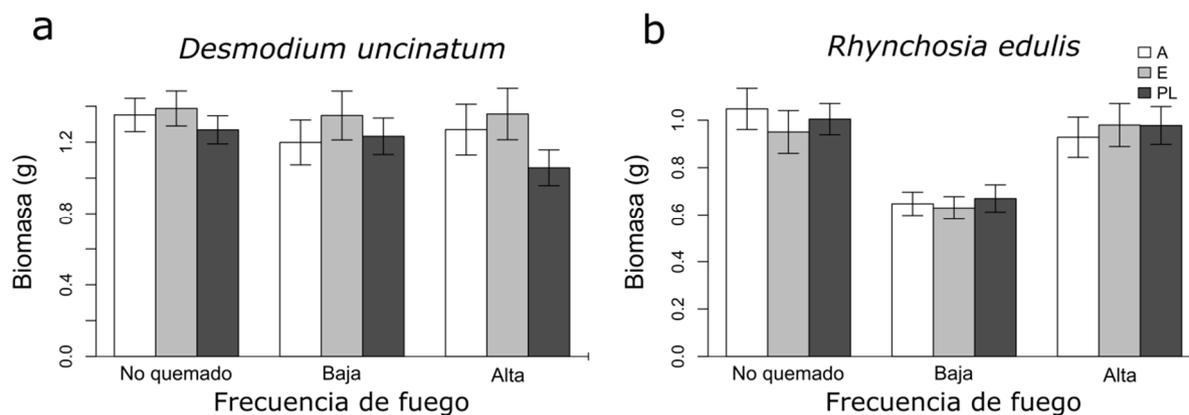


Figura 4.4. Biomasa total producida por plántulas de *Desmodium uncinatum* (a) y *Rhynchosia edulis* (b) provenientes de diferentes escenarios de frecuencia de fuego (no quemado, baja y alta frecuencia) y tratamientos de polinización (A: autogamia, E: exogamia, PL; polinización libre). Los valores mostrados son media \pm error estándar.

Vigor multiplicativo

La variable integral de vigor de plántulas (hojas x tasa relativa de crecimiento x biomasa) de *D. uncinatum* no fue afectada por ninguno de los factores fijos (frecuencia de fuego y tipo de polinización, $\chi^2_{(1)} < 2.027$; $P > 0.363$). En cambio, las variaciones en el vigor multiplicativo de *R. edulis* fueron significativamente explicadas por la frecuencia de fuego ($\chi^2_{(1)} = 21.105$; $P < 0.0001$), sin ser afectadas por el tipo de polinización ($\chi^2_{(1)} = 2.900$; $P = 0.235$). Para esta última especie, las progenie proveniente de los escenarios no quemados y de alta frecuencia de fuego tuvieron en promedio mayor vigor que las progenies del escenario de baja frecuencia de fuego ($Z > 3.759$; $P < 0.0004$; Figura 4.5).

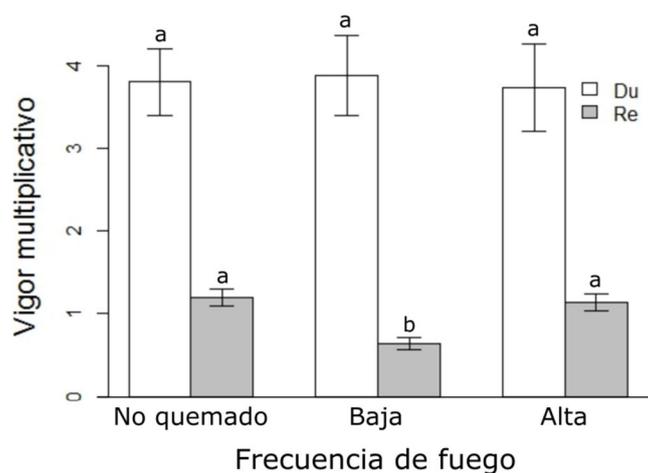


Figura 4.5. Vigor integral multiplicativo de plántulas de *Desmodium uncinatum* (barras blancas) y *Rhynchosia edulis* (barras grises) en diferentes escenarios de frecuencia de fuego: no quemado, baja y alta frecuencia. El vigor multiplicativo fue calculado como: n° de hojas \times tasa relativa de crecimiento \times biomasa total. Los valores mostrados son media \pm error estándar.

Heredabilidad de caracteres foliares

Los caracteres área foliar (AF) y área foliar específica (AFE) medidos en las plantas madres mostraron una variación significativa con la frecuencia de fuego en las dos especies estudiadas, a diferencia del contenido de materia seca (CMSF) que no mostró cambios con el régimen de fuego (Capítulo I). Sin embargo, no se encontró una clara correlación entre el fenotipo del AF y AFE de los adultos creciendo a campo y el fenotipo de los caracteres de su progenie en condiciones de jardín común en invernadero (Figura 4.6; Tabla 4.2). El análisis de correlación entre el área foliar específica (AFE) de los progenitores y sus progenies demostró una relación negativa y significativa para *D. uncinatum* en el escenario no quemado (Figura 4.6c; Tabla 4.2), indicando que las plantas madres con altos niveles de AFE tuvieron progenies cuyos valores de AFE fueron opuestamente bajos.

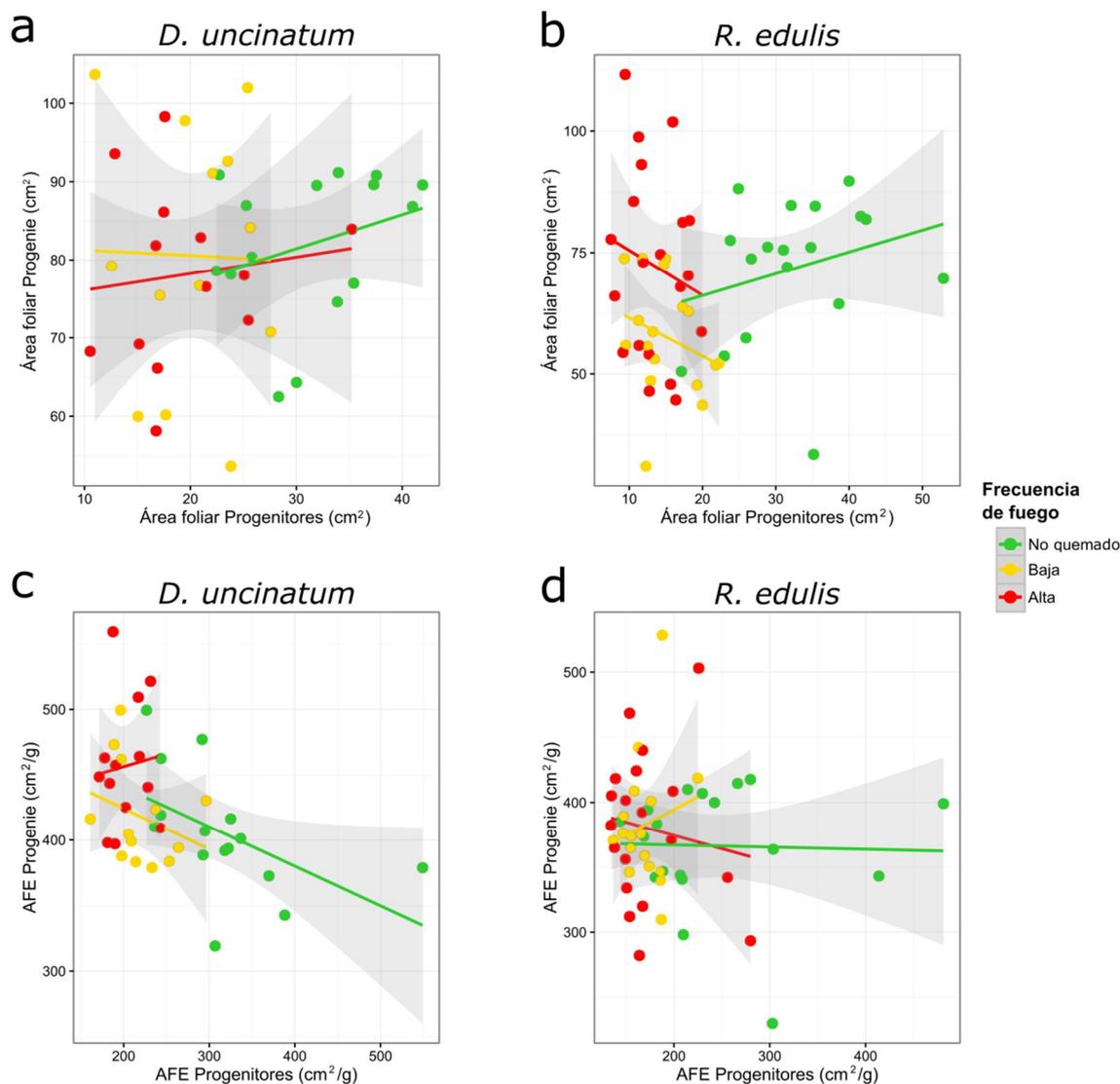


Figura 4. 6. Relaciones entre el fenotipo materno y el fenotipo de progenies de caracteres foliares: área foliar y área foliar específica (AFE) en *Desmodium uncinatum* (a, c) y *Rhynchosia edulis* (b, d) en diferentes escenarios de frecuencia de fuego (no quemado, baja y alta frecuencia). Los caracteres de la progenie son promedio de dos plántulas evaluadas por cada planta madre. Las sombras grises representan intervalos de confianza del 95%. Los análisis de correlación para cada condición se muestran en la Tabla 4.2.

Tabla 4.2. Análisis de correlación de Spearman entre el fenotipo materno y el fenotipo de progenies del área foliar (AF) y área foliar específica (AFE) de *Desmodium uncinatum* y *Rhynchosia edulis* en diferentes escenarios de frecuencia de fuego: no quemado, baja y alta frecuencia. Valores en negrita indican significancia estadística ($p < 0.05$).

Especie		No quemado		Baja frecuencia		Alta frecuencia	
		<i>r</i>	<i>p</i> valor	<i>r</i>	<i>p</i> valor	<i>r</i>	<i>p</i> valor
<i>D. uncinatum</i>	AF	0.25	0.361	-0.05	0.878	0.22	0.470
	AFE	-0.71	0.004	-0.44	0.135	0.08	0.807
<i>R. edulis</i>	AF	0.28	0.253	-0.36	0.156	-0.15	0.513
	AFE	0.12	0.621	0.002	0.996	-0.09	0.713

DISCUSIÓN

Efecto del fuego sobre el vigor de la progenie

La alteración antrópica de los sistemas naturales puede impactar en diferentes procesos del ciclo de vida de las plantas, tales como el crecimiento, la supervivencia y la fecundidad de los individuos de una población. Sin embargo, especial importancia reciben estos efectos sobre la reproducción, pues de ella depende la diversidad genética de las poblaciones y la cantidad y calidad biológica de la progenie (Wilcock & Neiland, 2002).

Los resultados hallados demuestran que el efecto de la frecuencia de fuego y del tipo de polinización sobre el vigor de la progenie, medido en base a caracteres de las semillas y de plántulas, es específico de cada especie. En este sentido, la especie con una estrategia reproductiva más dependiente de polinizadores (*D. uncinatum*) no mostró variaciones de vigor en ninguno de los factores analizados; mientras que la especie con una estrategia reproductiva autógama (*R. edulis*) evidenció variaciones en ciertos atributos de vigor como consecuencia de los factores de fuego y tipo de polinización. De esta manera, queda rechazada la hipótesis planteada, en la que se había considerado que el incremento en la frecuencia de fuego modificaría los patrones de apareamientos, y por ende disminuiría el vigor de la progenie de *D. uncinatum* de los sitios frecuentemente quemados como consecuencia de afectar las tasas de exocruzamientos. Por el contrario, se observaron respuestas debidas al fuego en varios de los atributos de vigor (masa de semillas, germinación, biomasa y vigor multiplicativo) en la progenie de la especie autógama *R. edulis*, que presenta baja dependencia reproductiva de los polinizadores.

Desmodium uncinatum y *Rhynchosia edulis* son especies que presentan diferencias en rasgos de historia de vida. Con respecto a la capacidad de dispersión de semillas, *D. uncinatum* dispersa sus semillas por epizoocoria, mientras que *R. edulis* posee dispersión de semillas por gravedad a cortas distancias (autocoria). Además, *D. uncinatum* es polinizada por abejorros sociales de mayor tamaño corporal y gran capacidad de vuelo, mientras que *R. edulis* es polinizada por abejas solitarias, de menor tamaño corporal y con hábito de forrajeo más limitado espacialmente. Estas diferencias en la capacidad de movimiento diferencial de ambos tipos de diásporas indicarían que *D. uncinatum* presenta un alto flujo de genes vía polen y semillas entre los diferentes sitios. Esto produce una baja estructura genética, donde la mayor parte de la diversidad genética se encuentra dentro de las poblaciones. Así, la progenie de *D. uncinatum* generada en los diferentes escenarios de frecuencia de fuego no mostraría diferencias de vigor debido a mantener altos niveles de polinización exocruzada por *Bombus* spp. en todos los sitios (Capítulo II). Por el contrario, la mayor incidencia de autogamia y dispersión de semillas a corta distancia de *R. edulis* resultaría en una mayor estructura genética, pudiéndose observar una mayor diferenciación genética entre las poblaciones. Por esta razón, las poblaciones de *R. edulis* podrían estar conformadas por individuos más emparentados genéticamente, y sus genotipos adaptados a las condiciones específicas del sitio, serían más variables entre sus poblaciones.

Al indagar las diferencias de vigor entre los niveles del factor frecuencia de fuego en etapas avanzadas del desarrollo de *R. edulis* (biomasa final y vigor multiplicativo), se encontró un menor desempeño de la progenie proveniente del régimen de baja frecuencia de fuego, resultando similares entre sí los escenarios no quemado y de alta frecuencia de fuego. Este patrón de respuesta cuestiona el efecto real de la frecuencia de fuego como factor modelador de atributos de la progenie. De hecho, los modelos que arrojaron diferencias significativas entre regímenes de fuego para progenies de *R. edulis* explicaron una baja proporción de la variación del vigor hallada (5.5 % para vigor multiplicativo), y en relación a esto la identidad del sitio del cual provino la progenie explicó una mayor proporción de los parámetros de vigor (16-35%). Al respecto, la mayor importancia relativa del sitio y de las plantas madre como efectos aleatorios en los modelos de vigor, podrían explicar parte de estos resultados. En síntesis, el menor vigor de progenies provenientes de sitios sujetos a baja frecuencia de fuego en *R. edulis*, podrían tener sus bases en características ambientales como la posición topográfica o la exposición de la ladera y otros aspectos del régimen de fuego de estos sitios como la intensidad del fuego.

Existe una relación intrínseca entre dos de los principales componentes del régimen de fuego, frecuencia e intensidad, que determina en cierta medida la respuesta de la vegetación. La historia de fuego de un sitio, incluyendo la frecuencia y el tiempo desde el último incendio, puede tener un marcado efecto sobre la intensidad de un evento de fuego futuro, a través de modificar la disponibilidad de biomasa combustible (Whelan, 1995; Pausas, 2012). En nuestro estudio, los sitios sujetos a baja frecuencia de fuego presentaron entre uno y dos eventos de fuego en el periodo analizado (22 años) y una estimación promedio del intervalo entre fuego de alrededor de 14 años. La mayor acumulación de biomasa combustible y de material vegetal leñoso favorece el mayor tiempo de permanencia del fuego sobre un sitio. En consecuencia, el incendio puede alcanzar mayor intensidad y los efectos sobre el suelo y las plantas (severidad) pudiesen haber sido mayores que en los sitios sujetos a fuegos más frecuentes. El efecto evidenciado en progenies de *R. edulis* de sitios de baja frecuencia de fuego, pero quizás con mayor severidad, podría ser una consecuencia de las desfavorables condiciones ambientales a las que estaban sujetas las plantas madres, es decir, debido a un probable efecto materno desfavorable inducido por la severidad del fuego.

Heredabilidad de caracteres foliares en escenarios post-fuego

En la actualidad es ampliamente aceptado el rol del fuego como un proceso ecológico que determina la estructura y funcionamiento de muchos ecosistemas (Pausas, 2012). Sin embargo, mucho se ha discutido con respecto al papel del fuego como un proceso evolutivo (Keeley *et al.*, 2011). Con respecto a este punto, se ha evidenciado desde un enfoque microevolutivo que el fuego es una presión que selecciona ciertos rasgos en especies reclutadoras post-fuego, lo cual podría representar una adaptación en poblaciones frecuentemente quemadas (Gómez-González *et al.*, 2011; Pausas *et al.*, 2012; Pausas, 2015 b). A pesar de esto, aún son muy escasos los trabajos que demuestran las bases genéticas de estas adaptaciones (Moreira *et al.*, 2014).

De acuerdo a los resultados encontrados, la falta de una correlación positiva entre el fenotipo materno y el de su progenie confirma que la variación significativa de rasgos foliares inducidos por la frecuencia de fuego se deberían a plasticidad fenotípica de los

individuos a campo, y no a un proceso de adaptación a la frecuencia de fuego. Por lo tanto, se rechaza la hipótesis que postulaba al fuego como presión de selección de rasgos foliares.

Los estudios que evidencian el valor adaptativo de ciertos rasgos al fuego han analizado caracteres de las semillas como pubescencia y forma (Gómez-González *et al.*, 2011), inflamabilidad de los tejidos (Pausas *et al.*, 2012) y grado de serotinia (producción de conos cerrados y que solo se abren por efecto del fuego; Pausas, 2015 b) en especies reclutadoras posfuego. Esta estrategia de regeneración posfuego implica que las poblaciones persisten a través de la germinación de nuevos individuos, producto de la reproducción sexual. En otras palabras, las especies reclutadoras presentan una nueva generación después de cada evento de fuego, creando un completo recambio poblacional (Pausas, 2012). En cambio, las especies rebrotadoras, como las estudiadas en esta tesis, sobreviven a repetidos eventos de fuego, tienen un ciclo reproductivo iteróparo y un largo tiempo generacional (Pausas & Keeley, 2014). El resultado de estas diferencias funcionales entre formas de vida tiene un impacto directo en la microevolución de caracteres (Litsios *et al.*, 2014). Al respecto, una alternativa podría ser que las dos especies rebrotadoras estudiadas no hayan tenido aun el tiempo suficiente a través de múltiples generaciones para que estas variaciones en los rasgos foliares sean fijadas genéticamente. Otra explicación alternativa podría ser que estos caracteres foliares sean extremadamente plásticos y no posean una base genética o que no representen un beneficio para el desempeño de los individuos. Por lo tanto, al no cumplirse con alguno de los requisitos para que se exprese la selección natural, es oportuna la conclusión de que estas especies deben su persistencia en sitios frecuentemente quemados a otros mecanismos.

La plasticidad fenotípica, o la habilidad de un genotipo para producir diferentes fenotipos en respuesta a variaciones en el ambiente, es uno de los principales mecanismos de persistencia de las poblaciones frente a cambios ambientales (Herrera & Bazaga, 2013; Salgado-Negret & Paz, 2016). Cambios en la disponibilidad de algún recurso para las plantas generalmente repercuten en modificaciones morfológicas o fisiológicas de rasgos funcionales que determinan la habilidad de las plantas para adquirir recursos y mitigar las restricciones impuestas por los recursos limitantes (Freschet *et al.*, 2015). Las hojas responden morfo-fisiológicamente con gran plasticidad y en periodos de tiempos relativamente cortos a los cambios ambientales. Se ha sugerido que la mayor parte de los ajustes del área foliar de las plantas en respuesta a variación en la disponibilidad de recursos está dada por cambios plásticos del AFE (Poorter *et al.*, 2012). Estas

modificaciones morfológicas de los órganos fotosintetizantes implican un reajuste a la menor disponibilidad de recursos (agua y nutrientes) impuestas por fuegos recurrentes. Al respecto, los individuos pueden desarrollar mayor tolerancia al estrés hídrico a partir de adaptar su follaje para maximizar el uso de los recursos limitantes. Esta plasticidad fenotípica de rasgos funcionales le permite a una especie ser exitosa a través de un amplio espectro de hábitats y también en un mismo hábitat con condiciones ambientales cambiantes (Chin & Sillet, 2016). Esta mayor ocupación funcional de una especie podría implicar una mayor estabilidad o resiliencia de las poblaciones a través del tiempo y del espacio ante disturbios, niveles de explotación, cambio climático, etc. (Salgado-Negret & Paz, 2016).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES GENERALES

En el contexto del antropoceno, la nueva época geológica por la que estamos transitando, el cambio climático global es uno de los principales factores que puede afectar a los ecosistemas, alterando los agentes de disturbio tanto naturales como antrópicos, a través de inducir cambios en su régimen de ocurrencia, es decir, su frecuencia, intensidad, estacionalidad y duración. En particular, los cambios en el régimen de incendios pueden producir una alteración en el ciclado de nutrientes y en las propiedades del suelo, extinciones locales de las especies susceptibles, cambios en la dinámica poblacional de las especies tolerantes, afectando así la dinámica sucesional y el valor de los bosques para la retención de agua, refugio para la vida silvestre, recreación y la salud humana, entre otras (Flannigan *et al.*, 2000; Dale *et al.*, 2001; Tulloch *et al.*, 2016). En el escenario local, las tendencias indican que la región Chaqueña de Argentina central posee una de las tasas de deforestación más elevadas del mundo. Se estimó que hasta el año 1999 solo quedaba un 15 % de su cobertura arbórea original producto de cambios en el uso de la tierra. La vegetación nativa no solo es segregada a remanentes de matorrales y pastizales secundarios degradados (Zak *et al.*, 2004), sino que debido a la mayor inflamabilidad de la biomasa combustible producida en estos sitios (Jaureguiberry, 2011), es mayor la probabilidad de que ocurran incendios recurrentes (Argañaraz, 2016). Estos cambios antrópicos en la configuración de la vegetación, sumados al crecimiento de las áreas urbanizadas en las Sierras Chicas y el aumento de las fuentes de igniciones antrópicas, traen como resultado un régimen de incendios forestales en el Chaco Serrano con las mayores frecuencias del centro del país, consideradas entre las más elevadas en todo el mundo (Whelan, 1995; Bond *et al.*, 2005; Pausas, 2012). Por lo tanto, evaluar los factores que afectan la respuesta ecológica de poblaciones de plantas nativas sujetas a diferentes regímenes de frecuencia de fuego es una prioridad no solo para la conservación de los recursos fitogenéticos, sino también para el manejo sustentable de estos ambientes donde la cría de ganado es la principal actividad agropecuaria.

En este estudio se evaluó el efecto de diferentes frecuencias de fuego sobre la respuesta ecológica vegetativa y reproductiva de *Cologania broussonetii*, *Desmodium uncinatum* y *Rhynchosia edulis*, Fabaceae nativas forrajeras del Chaco Serrano.

Específicamente, se indagó sobre la variabilidad intraespecífica de caracteres funcionales vegetativos relacionados con el crecimiento y con el uso de los recursos disponibles en escenarios con diferente frecuencia de fuego. Entre los caracteres reproductivos, el éxito reproductivo femenino fue estimado a partir de evaluar la producción de frutos y semillas, y se analizó el papel de los polinizadores como determinantes de la respuesta reproductiva. Con el objetivo de explorar los efectos indirectos del fuego sobre la reproducción sexual mediados por interacciones bióticas, se ensamblaron a la polinización las interacciones antagonistas de herbivoría y depredación de semillas, a modo de inferir los efectos en simultáneo sobre los patrones de respuesta observados del éxito reproductivo. Además, se analizaron los posibles efectos transgeneracionales de la frecuencia de fuego sobre el vigor de progenies y la evolución de rasgos foliares modelados por el fuego. En síntesis, en este trabajo se pudo abarcar los procesos biológicos más importantes que determinan la respuesta actual y la dinámica reproductiva de especies vegetales y su progenie en escenarios con diferente frecuencia de fuego.

Son escasos los estudios ecológicos que abordan varios factores del régimen de fuego en simultáneo. Esto es debido a que resulta prácticamente imposible replicar incendios forestales con similares características, y por lo tanto también es difícil controlar por todos los factores que determinan un régimen de fuego (Whelan, 1995). Cabe destacar que en esta tesis se ha realizado un esfuerzo inicial por conseguir réplicas espacialmente separadas para una misma frecuencia de fuego, y además que estuviesen representadas por diferentes eventos de fuego (Materiales y Métodos Generales). Desde el punto de vista del diseño experimental, esto es una ventaja que aporta confiabilidad y robustez en las respuestas medidas a campo en base a una buena representación espacial, aspectos no siempre considerados en la literatura. Además, los patrones respuesta observados a lo largo de esta tesis han sido registrados en sitios de muestreo con aproximadamente el mismo tiempo desde el último incendio, por lo que se pudo controlar uno de los factores clave del régimen de fuego que suele incidir en la sucesión de la vegetación y en la respuesta de las plantas (Giorgis *et al.*, 2013). De esta forma, se destaca la importancia de evaluar los efectos de la frecuencia de fuego como componente del régimen a lo largo de un periodo de tiempo significativo y no los efectos aislados del último evento de fuego *per se* (Bond & van Wilgen, 1996; Keeley *et al.*, 2011).

Los escenarios sujetos a una alta frecuencia de fuego muestran una disminución del contenido de agua de los suelos, lo cual repercute sobre caracteres vegetativos de las

plantas, los que podrían hacer más propensa la ocurrencia de futuros incendios. El peligro de incendios de ambientes serranos del centro del país está determinado por factores ambientales como la variabilidad en la disponibilidad hídrica y sus efectos sobre el contenido de humedad de la vegetación (Argañaraz, 2016). Otro factor de significativo impacto en la respuesta del ambiente a los incendios es la pendiente del terreno. Los sitios con mayor pendiente no sólo se queman más frecuentemente (Argañaraz, 2016) sino que además son más susceptibles a los eventos de erosión hídrica post-fuego potenciados por el pastoreo, por lo que si no se realizan acciones que prevengan la creciente pérdida de suelo pueden convertirse en desiertos rocosos estériles para la conservación de la biodiversidad (Cingolani *et al.*, 2013). Asimismo, la exposición de la ladera también podría condicionar la respuesta tanto del suelo como de las características de la vegetación (Giorgis *et al.*, 2013) y por ende la ocurrencia de futuros incendios. Si bien se trató de que todas estas características respecto del sitio de muestreo fueran similares entre las diferentes frecuencias de fuego y de este modo evitar que se enmascararan los efectos de este factor, quizás las variaciones a pequeña escala en cuanto a pendiente o en exposición pudiesen haber influido en las respuestas específicas halladas en relación al efecto del sitio.

La fuerte disminución en parámetros de calidad del suelo como humedad y nitratos, como resultado del incremento en la frecuencia de fuego puede modificar caracteres funcionales foliares a nivel intraespecífico. A pesar de que la respuesta negativa del suelo a los efectos del fuego surge como resultado de un muestreo en una sola temporada, estudios previos ya han reportado esta tendencia para las altas cumbres (Cingolani *et al.*, 2013) e inclusive para las Sierras Chicas (Giorgis *et al.*, 2013). Sin embargo, la respuesta al fuego de caracteres foliares a nivel poblacional resulta novedoso para el Chaco Serrano. Específicamente, se hallaron respuestas opuestas dentro de una misma especie vegetal, encontrándose una disminución de caracteres foliares relacionados con el crecimiento vegetal, pero un incremento en la concentración de nutrientes como N y P. Estos resultados contrastantes pueden explicarse mediante dos posibles mecanismos. El primero está relacionado a la capacidad biológica de fijar N₂ de estas Fabaceae que les otorgaría una ventaja competitiva en los ambientes frecuentemente quemados con bajos niveles de nitratos en el suelo. El segundo posible mecanismo está ligado a las estrategias de adquisición de recursos y tolerancia al estrés. Estas plantas rebrotadoras de larga vida, que poseen órganos subterráneos leñosos donde acumulan reservas, presentan un uso conservador de los recursos. Este rasgo funcional hace que mantengan altas

concentraciones de nutrientes foliares independientemente de la eficiencia de captación de nutrientes en el suelo (Chapin, 1980; Carreira & Niell, 1992; Saura-Mas & Lloret, 2009). A nivel global, se podría esperar que las especies de plantas rebrotadoras disminuyan los niveles de AFE al aumentar la frecuencia de fuego. Esto puede fundamentarse debido a que en general estos regímenes de fuego generan estrés hídrico (Bond & van Wilgen, 1996) y una disminución del AFE contribuiría a economizar el recurso hídrico de las plantas a través de una reducción de la transpiración de sus hojas (Salgado Negret & Paz, 2015). Sin embargo, la respuesta nutricional a los efectos del fuego podría depender de la estrategia de regeneración post-fuego y de la capacidad de fijar N_2 . Al respecto, se esperaría que las especies rebrotadoras mantengan constantes los niveles de nutrientes foliares o inclusive los aumenten ya que poseen un uso conservativo de los recursos, mientras que las especies reclutadoras disminuyan su estatus nutricional. Además, se podría esperar que las especies que interaccionan en simbiosis con bacterias fijadoras de N_2 amortigüen los efectos del empobrecimiento edáfico inducido por el fuego manteniendo estables el contenido de nutrientes foliares. Las consecuencias ecosistémicas de una mayor dominancia de especies con ciertos atributos funcionales pueden traer aparejado alteraciones en importantes procesos ecológicos como el ciclado de nutrientes, a través de afectar la descomposición de la hojarasca (Salgado Negret & Paz, 2015). En ecosistemas donde predominan especies rebrotadoras, como es el caso del Chaco Serrano (Gurvich *et al.*, 2005; Torres *et al.*, 2014), es probable que la menor AFE produzca una disminución de la tasa de descomposición de la hojarasca, del ingreso de materia orgánica al suelo y se genere una reducción del almacenamiento de C en los suelos (Giorgis *et al.*, 2013), produciendo una degradación progresiva de los ambientes sujetos a elevadas frecuencias de incendios.

Las especies pueden ser amenazadas cuando los humanos alteran el régimen de fuego, ya sea por incremento o disminución de su frecuencia (Keeley *et al.*, 2011). Los regímenes de fuego de mayores frecuencias que las naturales para una región pueden producir pérdida de biodiversidad (Tolloch *et al.*, 2016) y en consecuencia, de servicios ecosistémicos que brindan estos ambientes (Rocca *et al.*, 2014). La producción de biomasa por comunidades de plantas nativas es uno de los principales servicios ecosistémicos utilizados para alimentación del ganado que depende a su vez de otros procesos primarios (*e.g.* ciclado de nutrientes en el suelo, secuestro de carbono), de la composición de la comunidad de plantas y de la frecuencia de fuego (Bateman *et al.*, 2011). Desde el punto

de vista de la producción forrajera como un servicio ecosistémico de estas poblaciones naturales, los regímenes de fuego actuales no causarían una disminución de la cantidad de biomasa vegetativa, pero sí podrían aumentar su calidad nutricional. Si estos patrones hallados a nivel intraespecífico en las especies estudiadas escalan al nivel comunitario, es probable que se expresen relaciones de compromiso entre la cantidad y calidad del forraje producido al nivel de la comunidad. En este sentido, sería interesante indagar empíricamente cuál es el efecto del régimen de fuego sobre comunidades forrajeras nativas del Chaco Serrano. Una menor productividad de los agroecosistemas no solo tendrá un impacto negativo desde el punto de vista ecológico, sino que también incidirá en la sustentabilidad de las actividades agropecuarias que allí se desarrollan (Rocca *et al.*, 2014).

La pérdida de alrededor del 30% de la diversidad vegetal y el cambio en la composición de la vegetación entre los ambientes con incendios recurrentes estudiados y los sitios no quemados, pueden postular a la frecuencia de fuego como un filtro ecológico donde solo especies con atributos favorables a ese régimen y a las nuevas condiciones ambientales son las que persisten (Pausas & Verdú, 2008; Pausas, 2012). Aquí cabe la aclaración de que en esta tesis no se estudiaron todos los tipos de fisonomías de la vegetación del Chaco Serrano (ver Giorgis, 2011). Los sitios no quemados usados como control (comunidades intermedias entre matorrales cerrados y bosques nativos abiertos) no se corresponden con la fisonomía en estadio sucesional más tardío de esta región (bosques maduros). Estos bosques, como comunidad arbórea de mayor desarrollo de las Sierras Chicas, no poseen la mayor diversidad de especies vegetales y si hubiesen sido considerados en esta tesis seguramente veríamos que la riqueza y composición están en íntima relación con la fisonomía de la vegetación y su régimen de fuego característico (Giorgis, 2011). En este sentido, es sabido que las distintas fisonomías encontradas en una misma región no pueden ser predichas solo por modelos climáticos y se ha propuesto para distintos ecosistemas que estas fisonomías, con diferencias florísticas y funcionales, son mantenidas por una retroalimentación entre el fuego y la vegetación (Dantas *et al.*, 2013; Paritsis *et al.*, 2015).

Cuando las condiciones de un régimen de disturbio se tornan extremas, como es el caso de las elevadas frecuencias de fuego reportadas para las Sierras Chicas (Argañaraz, 2016), puede desencadenarse una homogenización de la vegetación y pérdida de diversidad funcional, como ya se ha documentado para otras regiones del mundo con regímenes de fuego cambiantes (Li & Waller, 2015). Estos autores reportan que la homogenización

biótica se refiere a una reorganización no aleatoria del ensamblaje de especies, con incremento de la similitud genética, taxonómica o funcional como resultado de extinciones locales y de invasión de plantas exóticas (Olden *et al.*, 2004; Rooney *et al.*, 2007). Las especies que persisten bajo nuevos regímenes de fuego comparten atributos como la forma de vida, el tipo de polinización y el grado de tolerancia a las nuevas condiciones lumínicas (Li & Waller, 2015). En el sistema de estudio, la persistencia al fuego de las especies analizadas se debe a la capacidad de rebrotar de los individuos a partir de órganos vegetativos subterráneos (xilopodios y rizomas). Las plantas con sistemas radicales robustos y profundos pueden ser más tolerantes a las condiciones de sequía que generan los incendios (Bond & van Wilgen, 1996). Además, estas condiciones suelen ser un impedimento para el reclutamiento por semillas de muchas especies de plantas, en donde la mortalidad de plántulas puede ser elevada y restringida a periodos húmedos continuos. Visualizando el concepto de homogenización biótica, los ambientes del Chaco Serrano con incendios periódicos podrían responder con un mayor predominio de especies rebrotadoras, con estrategias de aseguramiento reproductivo (*i.e.* independencia de polinizadores vía autogamia o cleistogamia) y con alta tolerancia a condiciones extremas de déficit hídrico e irradiación solar. Entre las consecuencias de una comunidad más homogénea se presentan una disminución general del funcionamiento ecosistémico y de su estabilidad ante cambios ambientales por acotamiento del rango de respuestas de las especies que conforman la comunidad homogenizada (Olden *et al.*, 2004). Sumando los efectos del fuego a otras presiones antrópicas como la transformación del hábitat, las comunidades del Chaco Serrano se están convirtiendo en ambientes cada vez más hostiles que gradualmente conservarán menos especies, de grupos funcionales similares (Aguilar *et al.*, 2017; datos no publicados).

La respuesta ecológica al fuego de las especies vegetales ha sido caracterizada en base a tres aspectos centrales: la inflamabilidad, es decir la forma en que las plantas se queman durante un incendio y por ende afectan las características físicas del evento de fuego; y la habilidad de las plantas de rebrotar y de germinar a partir de un banco de semillas que sobrevive al fuego (Lloret *et al.*, 2005; Jaureguiberry, 2011; Torres *et al.*, 2014). La combinación de estas tres funciones específicas determina el síndrome de tolerancia al fuego de una planta (Jaureguiberry, 2011). En general, la gran mayoría de las especies tanto leñosas como herbáceas dominantes del Chaco Occidental poseen un síndrome alto o medio de tolerancia al fuego (Jaureguiberry, 2011). Sin embargo, no se ha

evaluado hasta la actualidad la posible variación intraespecífica de estos rasgos en relación al régimen de fuego. Además, la reproducción sexual de estas plantas, como proceso de fundamental importancia para la viabilidad poblacional, puede ser sensiblemente afectada por el fuego (Tulloch *et al.*, 2016), y conjuntamente con el crecimiento y la dispersión, no han sido considerados a la hora de analizar la respuesta de las especies vegetales a aspectos del régimen de fuego. Si se considera que las tres Fabaceae estudiadas en esta tesis poseen una respuesta favorable a los efectos del fuego debido a la rápida regeneración mediante rebrote, podrían ser categorizadas como tolerantes al fuego. Sin embargo, al evaluar procesos vitales en estadios de desarrollo más avanzados, se ha encontrado una reducción de aproximadamente el 60 % de la fecundidad en *D. uncinatum* en escenarios de alta frecuencia de fuego durante dos temporadas consecutivas, mientras que *R. edulis* no ha mostrado cambios en su reproducción. Esto indica que especies con una potencial tolerancia al fuego e inclusive emparentadas filogenéticamente pueden mostrar diferentes susceptibilidades en función de su adecuación reproductiva. A largo plazo, es probable que la reducción de la producción de frutos y semillas produzca un desabastecimiento del banco de semillas y del reclutamiento de plántulas en los periodos libre de fuegos.

Los efectos del fuego sobre las diferentes interacciones planta-insecto pueden ser una de las causas fundamentales del éxito reproductivo de las especies vegetales (Vickery, 2002 a). Sin embargo, la importancia de considerar múltiples interacciones en simultáneo y su implicancia para las plantas en ambientes incendiados se ha limitado a estudios específicos para cada interacción (Vickery, 2002 b; Dafni *et al.*, 2012; Brown & York, 2016; García *et al.*, 2016), en biomas dependientes del fuego, principalmente matorrales mediterráneos (Bond *et al.*, 2005). De las interacciones antagonistas y mutualistas en las que interviene *Rhynchosia edulis*, solo la herbivoría fue afectada por la frecuencia de fuego, incrementándose los niveles de daño en los sitios frecuentemente quemados, mientras que la polinización y la depredación de semillas no mostraron cambios. Sin embargo, aún los mayores niveles de herbivoría no resultaron determinantes del éxito reproductivo de esta Fabaceae, mientras que sí fueron determinados por las variaciones del AFE. Si bien estos resultados deben ser considerados específicos para la especie vegetal estudiada en el contexto comunitario del Chaco Serano, representan la primera aproximación empírica que analiza el efecto de la frecuencia de fuego sobre múltiples interacciones bióticas como determinantes del desempeño individual de plantas nativas. De esta manera, el estudio de las interacciones planta-insecto en relación a los efectos del

fuego y de los cambios de sus regímenes naturales se establece como un área del conocimiento en creciente y necesaria expansión, tanto para comprender los procesos ecológicos y evolutivos que las mismas modelan, como para recomendar qué prácticas son las más adecuadas para conservar no solo la biodiversidad sino también las interacciones bióticas de las cuales dependen los especies en ambientes donde el régimen de fuego está cambiando por efecto del hombre.

Si bien la producción de semillas establece el límite máximo del reclutamiento poblacional potencial, el régimen de fuego también puede afectar otros procesos posteriores a la reproducción como son el vigor de las plántulas en la etapa de germinación y establecimiento (Fenesi *et al.*, 2016). En este sentido, la frecuencia de fuego afectó diferencialmente el vigor de progenie en las dos especies vegetales estudiadas. Por un lado, las plántulas de *D. uncinatum* no mostraron variaciones en sus parámetros de crecimiento debido al fuego ni tampoco al tipo de polinización. Por otro lado, se evidenció que el vigor de la progenie de *R. edulis* es significativamente afectado por la frecuencia de fuego. Estos resultados indican que no solo la fecundidad de plantas del Chaco Serrano está disminuyendo como consecuencia de la frecuencia de fuego, sino que diferentes aspectos post-reproductivos tales como el menor vigor de la progenie pueden también reducir la persistencia futura de estas poblaciones.

La variabilidad intraespecífica de rasgos en las plantas puede ser producto de variación genética y adaptación o plasticidad fenotípica, dos procesos que han sido modelados por el fuego en diferentes grupos funcionales de plantas (Gómez-González *et al.*, 2011; 2016; Pausas 2015 b; Ojeda *et al.*, 2016). Se espera que la selección natural opere más rápidamente en poblaciones de organismos con tiempos generacionales cortos, como lo son las especies reclutadoras post-fuego. Las mismas se comportan funcionalmente como poblaciones semélparas, con breves tiempos generacionales en comparación con las especies rebrotadoras, las que presentan una estrategia reproductiva iterópara (Ojeda *et al.*, 2016). En efecto, las especies con una regeneración post-fuego a partir de rebrote pueden adecuarse a las nuevas condiciones generada por los regímenes de fuego mediante plasticidad fenotípica (Ojeda *et al.*, 2016). Se ha propuesto que estos dos grupos funcionales de plantas poseen diferentes tasas de diferenciación genética de sus poblaciones, presentando las especies rebrotadoras alta diversidad genética y baja diferenciación entre poblaciones por el solapamiento de generaciones longevas (Segarra-Moragues *et al.*, 2013; Bradbury *et al.*, 2016). Para nuestro conocimiento, los resultados

del Capítulo IV de esta tesis son los primeros en indagar sobre el rol del fuego como una presión de selección de rasgos en plantas en ecosistemas subtropicales secos desde una perspectiva microevolutiva. A partir del experimento en jardín común, se demuestra que las especies rebrotadoras estudiadas del Chaco Serrano muestran plasticidad fenotípica de caracteres foliares relacionados con el crecimiento, resultado de las condiciones ambientales generadas por la frecuencia de fuego.

Haciendo un ejercicio de análisis prospectivo, asumiendo que frecuencia de fuego y el empobrecimiento edáfico se mantuviesen a través del tiempo en los niveles observados, que la reproducción sexual siga mostrando una respuesta negativa, que la herbivoría por insectos folívoros conserve sus niveles de daño, y que el vigor de la progenie (al menos en *R. edulis*) siga disminuyendo, se podría predecir un colapso demográfico de las poblaciones sujetas a alta frecuencia de fuego al momento en que los individuos adultos medidos lleguen al final de su vida. Este colapso se podría evitar si estos individuos adultos pueden dejar descendencia viable que sobreviva en los sitios de estudio. Si se sucedieran varias generaciones de estas poblaciones en las mismas condiciones de frecuencia de fuego quizás podrían comenzar a observarse individuos que presenten cambios adaptativos en algún rasgo que aumente su aptitud biológica. Para detectar esta base adaptativa se deberían monitorear plántulas a campo y realizar un seguimiento por varias generaciones, lo cual es un impedimento metodológico debido a los largos tiempos generacionales de las plantas rebrotadoras. Por lo tanto, si bien se confirma la respuesta plástica de Fabaceae herbáceas rebrotadoras del Chaco Serrano, no se podría descartar a la frecuencia de fuego como una presión de selección y es por ello que serían necesarios estudios con técnicas moleculares que evalúen la ecología evolutiva del fuego en estos ecosistemas.

Si bien se considera que la región Chaqueña tiene una larga historia de ocurrencia de incendios forestales (Bucher, 1982; Kunst, 2011), y que en las altas cumbre la frecuencia de fuego fue probablemente elevada durante los últimos siglos (Cingolani *et al.*, 2013), específicamente no se puede aseverar que el régimen de alta frecuencia de fuego que presentan actualmente las Sierras Chicas no haya tenido precedentes a lo largo de la historia. De hecho, no existen estudios que documenten el régimen de fuego pasado en esta región y así realizar comparaciones con el régimen actual (Argañaraz, 2016). Sin embargo, estos ecosistemas serranos sometidos a numerosas presiones antrópicas, podrían posicionarse como ecológicamente susceptibles a las frecuencias de fuego actuales, debido

a que el suelo y sus propiedades edáficas, la sucesión de la vegetación y parámetros reproductivos de plantas de importancia son sensiblemente afectados. Este escenario reclama por sí mismo la necesidad de que se generen e implementen activamente políticas que integren el manejo del fuego y de la carga ganadera post-fuego, con el objetivo de contrarrestar los drásticos cambios de procesos ecológicos y frenar la pérdida de valor biológico, ecológico y económico de los ambientes frecuentemente quemados (Durigan & Ratter, 2016).

Las especies vegetales estudiadas en esta tesis representan recursos forrajeros que han sido adoptadas en otras partes del mundo con fines productivos (Andreu & Bryan, 1958; Khan *et al.*, 2002; Njarui *et al.*, 2004), pero llamativamente en su rango de distribución nativo, correspondiente a la región Chaqueña Argentina, está subestimada su utilización como alternativa forrajera y tampoco se cuenta con la disponibilidad de semillas para su implantación. Un primer paso hacia la domesticación y para que se incorporen estos recursos fitogenéticos nativos a los bancos de semillas es planificar estratégicamente la obtención de semillas de poblaciones espontáneas en función de las presiones a las cuales están sujetas. Como práctica estratégica se recomienda la recolección de semillas de poblaciones nativas no quemadas, ya sea en matorrales o bosques abiertos, debido a que el mayor éxito reproductivo de las plantas en estos sitios tendrá un menor impacto de la extracción de diásporas sobre la viabilidad poblacional y además, la calidad de las semillas será mayor (al menos en *R. edulis*) en términos del vigor de las plántulas que producirán.

Para poder establecer prioridades de conservación y manejo de los recursos naturales es necesario contar con sistemas de información geográficos validados que informen sobre el riesgo de que los incendios forestales afecten la dinámica ecológica de los ecosistemas. Para las Sierras Chicas se han desarrollado mapeos de la frecuencia de incendios (Argañaraz, 2016), por lo que la delimitación de las zonas más quemadas es factible en tiempo real. Como acción de manejo orientada a la conservación de los suelos y de las poblaciones de plantas forrajeras sujetas a alta frecuencia de fuego, se recomienda como primer medida restringir el acceso del ganado en el post-fuego temprano y manejar diferencialmente la carga ganadera en función de la frecuencia de fuego de los sitios y del tiempo transcurrido desde el último evento de fuego.

A partir del conocimiento que aporta esta tesis, surgen nuevas aproximaciones sobre este sistema de estudio que resultaría interesante indagar en relación a los efectos de la

frecuencia de fuego sobre diferentes procesos ecológicos en dos niveles de organización, poblacional y comunitario. Con respecto al primero, el efecto del régimen de incendios sobre el sistema reproductivo de las plantas es un aspecto novedoso y desconocido para ecología del fuego del Chaco Serrano. Específicamente, queda pendiente una evaluación profunda de cómo el estrés ambiental generado por el aumento en la frecuencia de fuego modela los patrones de apareamientos a través de la ocurrencia de cleistogamia en las poblaciones vegetales y cuáles son las implicancias para la dinámica reproductiva de las plantas y para la conservación de polinizadores nativos. Asimismo, resultaría sumamente conveniente que se realicen estudios demográficos sobre las especies dominantes del Chaco Serrano (*Lithraea molleoides*; *Acacia caven*), o especies con problemas de conservación (*Gymnocalycium* spp., u otras especies endémicas) en diferentes regímenes de frecuencia de fuego. La utilización de modelos matriciales de proyección permitirá estimar la tasa de crecimiento poblacional en diferentes regímenes de fuego, además de conocer cuáles son los procesos vitales (establecimiento, crecimiento de adultos, fecundidad) que más influyen en la dinámica de esas poblaciones y qué estadio en el ciclo de vida es el más susceptible sobre el que se debería concentrar las acciones de manejo para su conservación. Respecto a los futuros estudios a nivel comunitario, sería trascendente evaluar cómo la frecuencia de fuego afecta el ciclado de nutrientes en el suelo, la composición taxonómica y funcional de la comunidad de plantas y cómo estos inciden sobre servicios ecosistémicos como la calidad y retención de agua de los suelos y la producción de forraje. Además, la inclusión del ganado como otro factor de disturbio permitirá predecir la respuesta de las plantas y los animales con los que interactúan a los posibles efectos sinérgicos de varias presiones antrópicas. En este sentido, se presenta el interrogante de si existe una combinación de frecuencia de fuego y carga ganadera que maximice la conservación de suelo y la producción de forraje, o por el contrario, que resulte altamente perjudicial para el ambiente y para la actividad ganadera y que sea necesario priorizar su conservación. Estos tipos de estudios proponen a largo plazo establecer estrategias de manejo sustentable compatibles con la producción ganadera, la conservación de vegetación nativa y de los suelos en un mundo cambiante.

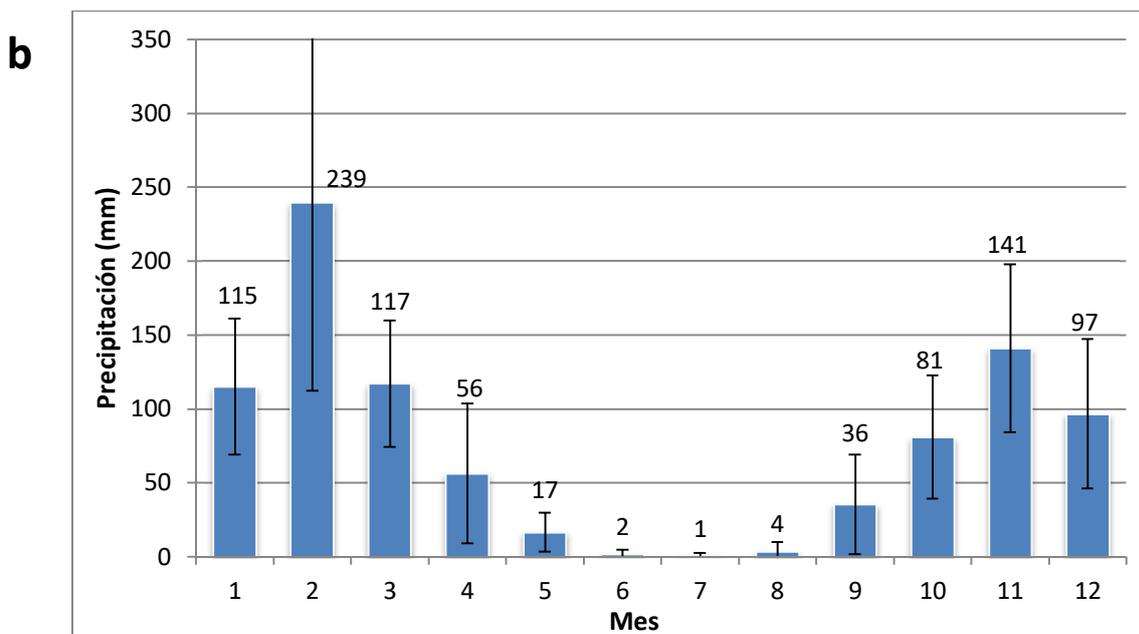
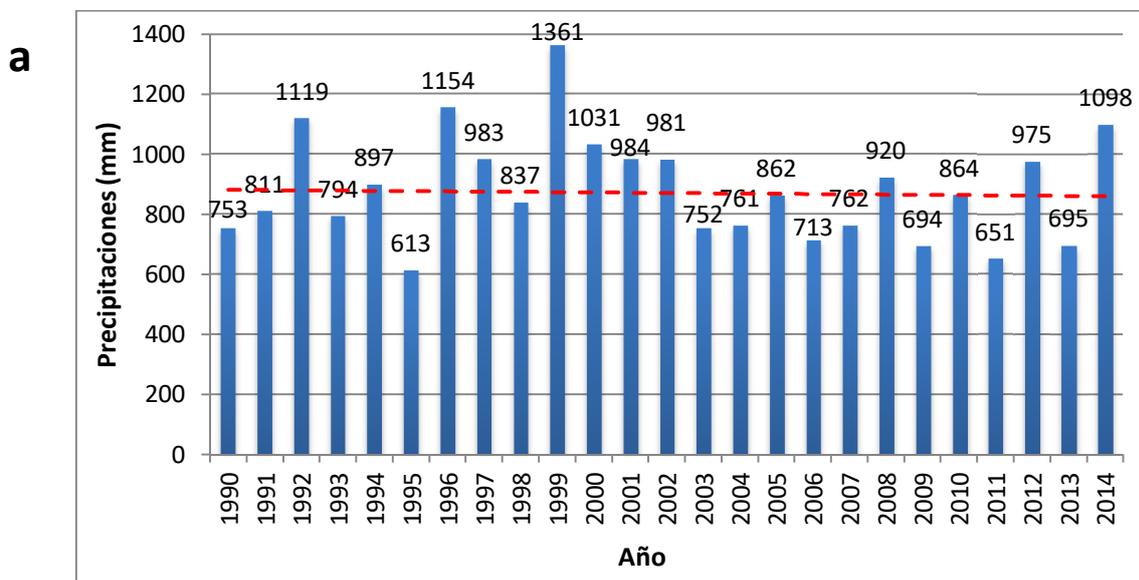
Conclusiones principales

- La comunidad de plantas es significativamente afectada por la frecuencia de fuego. En los escenarios quemados estudiados (matorrales abiertos) se produce una disminución de alrededor del 30% de la riqueza de especies vegetales con respecto al escenario no quemado (matorral cerrado/bosque abierto) y un cambio en la composición florística que se manifiesta a través de la emergencia de especies vegetales indicadoras de las condiciones quemadas y no quemadas.
- El incremento en la frecuencia de fuego causa una fuerte disminución de parámetros relacionados con la calidad edáfica, como el contenido de humedad, nitratos y conductividad eléctrica.
- En las Fabaceae estudiadas (*Cologania broussonetii*, *Desmodium uncinatum* y *Rhynchosia edulis*) diferentes caracteres funcionales foliares son modelados de distinta manera a nivel intraespecífico por los cambios edáficos inducidos por el aumento en la frecuencia de fuego. Específicamente, mientras los caracteres morfométricos (área foliar y área foliar específica) disminuyen con la frecuencia de fuego, los caracteres nutricionales (N y P foliares) no son afectados o incrementan.
- La riqueza, composición y frecuencia de visitas del ensamble de polinizadores de *Desmodium uncinatum* y *Rhynchosia edulis* no son afectadas por la frecuencia de fuego.
- El número total de frutos producidos y la proporción de fructificación disminuyen fuertemente en escenarios sujetos a baja o alta frecuencia de fuego, disminuciones que fueron más abruptas en la especie vegetal más dependiente de polinizadores, *Desmodium uncinatum*. Esta merma en la reproducción sexual muestra una mayor relación con factores abióticos modelados por el fuego (*i.e.* disponibilidad de recursos edáficos) que con interacciones bióticas como la polinización.
- La reproducción sexual de *Rhynchosia edulis*, especie con una estrategia reproductiva independiente de polinizadores, varía significativamente a través del tiempo en función de las precipitaciones, independientemente de la frecuencia de fuego.

- El fuego afecta de diferente manera a las interacciones bióticas en las que interviene *Rhynchosia edulis*. Mientras la polinización y la depredación de semillas pre-dispersión no son afectadas por la frecuencia de fuego, la herbivoría muestra un fuerte incremento hacia sitios con mayor número de incendios. Sin embargo, los efectos indirectos del fuego sobre la reproducción mediados por estas interacciones no afectan el éxito reproductivo.
- Las variaciones en el éxito reproductivo de *Rhynchosia edulis* son fuertemente explicadas por el efecto indirecto de la frecuencia de fuego mediado a través del carácter funcional área foliar específica. Esto permite aseverar una limitación por recursos edáficos de la reproducción sexual inducida por la frecuencia de fuego.
- El vigor de progenies de *Desmodium uncinatum* y *Rhynchosia edulis* responde diferencialmente a los efectos de la frecuencia de fuego y del tipo de polinización. La especie con mayor dependencia reproductiva de polinizadores no mostró diferencias en el vigor de sus plántulas, mientras que la especie independiente de los polinizadores (*R. edulis*) evidencia variaciones en ciertos atributos de vigor como consecuencia de los factores fuego y polinización. Estas diferencias podrían explicarse a través de rasgos funcionales como la dispersión de sus semillas y la capacidad de vuelo de sus polinizadores en relación a la variabilidad genética intrínseca de las especies.
- La significativa variación de caracteres funcionales foliares inducidos por la frecuencia de fuego se debe a plasticidad fenotípica de los individuos a campo. Por lo tanto, se descarta, al menos para estos rasgos, la existencia de un proceso de adaptación modelado por el fuego como una presión de selección en el Chaco Serrano.

APÉNDICES

Apéndice I. Régimen de precipitaciones con centro de registro en el departamento Colón, Camino del Cuadrado, La Estancita (31°6'23.7"S; 64°23'0.51"O). **a:** Precipitación anual para el periodo 1990-2014, media: 882.5 (indicada con la línea roja punteada), DE: ± 179.3 . **b:** Precipitación media mensual para el periodo 2010-2014. Los meses corresponden: 1: enero; 12: diciembre. Los datos fueron sistemáticamente registrados por la Familia Malanca y gentilmente cedidos para su procesamiento y publicación.



Apéndice II. Caracterización de la comunidad de plantas en diferentes escenarios de frecuencia de fuego del Chaco Serrano.

Con el objetivo de caracterizar la comunidad vegetal de los diferentes regímenes de fuego, se realizó un censo de vegetación en una parcela de 500 m² por cada uno de los sitios de estudio (incluyendo a las poblaciones de las especies focales estudiadas), donde se registró la composición y la abundancia relativa de todas las especies de plantas vasculares durante el mes de Febrero de 2014. Las especies de plantas registradas fueron identificadas siguiendo a diferentes obras botánicas, la actualización de los nombres científicos se realizó según la versión on-line del Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur, al igual que la categorización según su forma de vida (árboles, arbustos, enredaderas y hierbas) y su origen (nativas, endémicas y exóticas). El tamaño de la muestra fue definido en base a estudios fitosociológicos previos que determinan el área mínima necesaria para incluir casi la totalidad de las especies (Cabido *et al.*, 1991).

Análisis de datos

Para corroborar la confiabilidad del muestreo en base al tamaño muestral indicado por Cabido *et al.* (1991) se calcularon estimadores no paramétricos de riqueza de especies basados en la ocurrencia de las mismas (ICE, Chao2, Jackknife 1 y 2), utilizando el programa EstimateS (Colwell, 2013). Además, se construyeron curvas de acumulación de especies para cada escenario de fuego como un método gráfico para analizar la confiabilidad del muestreo. Para comparar el número de especies entre escenarios de fuego se estimó la riqueza de especies a través de rarefacción y extrapolación basada en un tamaño muestral comparable con el programa iNEXT Online (Hsieh *et al.*, 2013). Por otra parte, para el cálculo de similitud en composición de especies entre regímenes de fuego (tres réplicas para cada frecuencia de fuego), se construyó una matriz con valores de disimilitud de Jaccard en entorno R (R Core Team, 2016) utilizando el paquete Vegan (Oksanen, 2015), a partir de datos de presencia de las especies en cada sitio. En base a esto, se realizó un análisis de similitud no paramétrico de una vía, ANOSIM, con 999 permutaciones. Este análisis permite poner a prueba la hipótesis nula de que la composición de especies no es diferente entre escenarios de fuego (Clarke, 1993). Además, para analizar las diferencias en composición de modo gráfico, se realizó un análisis de ordenamiento NMDS (nonmetric multidimensional scaling) utilizando las medidas de

disimilitud calculadas. Por último se realizó un análisis de especies indicadoras mediante el cálculo del valor de indicación (IndVal) con el paquete *indicspecies* (De Cáceres & Legendre, 2009). Este método combina las medidas de especificidad de una especie a un determinado hábitat y su fidelidad dentro de esa condición. Los valores de indicación oscilan entre 0 (ninguna indicación) y 100 (indicación perfecta). La indicación perfecta indica que la presencia de una especie coincide sin error con una condición del hábitat en particular. En general, una especie se considera buena indicadora cuando los valores de IndVal son mayores a 70 %, mientras que valores entre 40 y 70 % suelen considerarse especies detectoras, es decir especies que cambian su frecuencia ante la presencia de una modificación ambiental pero sin desaparecer como la haría una buena especie indicadora.

Resultados

Se registraron un total de 241 taxones (incluyendo especies, subespecies, variedades y formas) en los nueve sitios de muestreo, agrupados en 64 familias de plantas. De ellos, 181 taxones fueron nativos, 35 endémicos, 22 exóticos y 3 cosmopolitas. En cuanto a la forma de vida, se observaron 18 especies de árboles, 40 de arbustos, 163 de hierbas y 20 especies de enredaderas. La frecuencia relativa y la cobertura promedio de cada uno de los taxones en los diferentes regímenes de fuego se detallan en el Apéndice III. Los diferentes estimadores de confiabilidad del muestreo mostraron valores intermedios a altos para los diferentes escenarios: no quemado 55-73%, baja frecuencia de fuego 69-85% y alta frecuencia de fuego 50-72%. Esto indica que el esfuerzo de muestreo fue levemente diferente en los distintos regímenes de fuego, por lo tanto para comparar el número de especies fue necesario estimar la riqueza de especies a través de rarefacción y extrapolación basada en el tamaño muestral (iNEXT Online, Hsieh *et al.*, 2013). La riqueza de especies observada y estimada para una cobertura de muestreo equiparable (~75 %) puede observarse en la Tabla II.1.

Tabla II.1. Riqueza de especies observada y estimada a una cobertura de muestreo del 75 % en diferentes escenarios de frecuencia de fuego del Chaco Serrano, Córdoba, Argentina.

Frecuencia de fuego	Riqueza observada promedio	Riqueza estimada	IC inferior	IC superior
No quemado	107	158	145.57	170.43
Baja	88	108	100.63	116.04
Alta	64	114	104.52	123.48

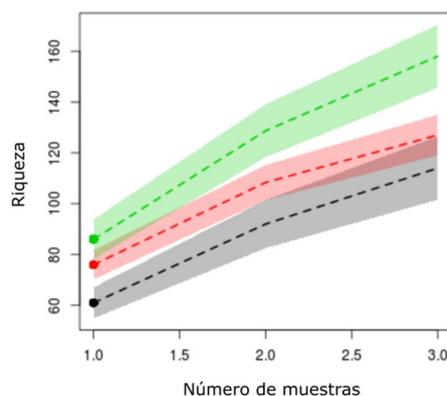


Figura II.1. Riqueza de especies estimada para una muestra rarefaccionada y extrapolada hasta el doble del tamaño muestral de referencia para los diferentes escenarios de frecuencia de fuego: no quemado (verde), baja frecuencia de fuego (negro) y alta frecuencia de fuego (rojo). Las líneas punteadas corresponden a riqueza de especies estimada y las siluetas a los intervalos de confianza al 95%.

La riqueza de especies estimada fue significativamente menor en los sitios de baja y alta frecuencia de fuego con respecto a los escenarios no quemados, lo que se evidencia por la no superposición entre los intervalos de confianza (Figura II.1). Sin embargo, no se encontraron diferencias en la riqueza entre ambos escenarios quemados, debido a la superposición de los intervalos de confianza para 3 unidades de muestreo. Por otro lado, tanto el número de especies leñosas (árboles, arbustos y enredaderas) como su cobertura mostraron una drástica reducción (>50%) en los sitios quemados con respecto al escenario no quemado. Si bien el número de taxones herbáceos también mostró una ligera reducción (~14%), su cobertura tuvo un sustancial aumento provocado por la frecuencia de fuego.

Según el análisis estadístico de similitud (ANOSIM) los escenarios con diferentes regímenes de fuego mostraron diferencias significativas en su composición florística en

términos de ocurrencia de especies ($R=0.329$, $p=0.028$). La composición de especies resultó significativamente diferente entre el escenario no quemado y ambos escenarios de baja y alta frecuencia de fuego ($R=0.466$, $p=0.029$), pero no se hallaron diferencias en la composición entre los escenarios quemados ($R=0.034$, $p=0.393$). La separación espacial de las comunidades sujetas a diferentes frecuencias de fuego pueden observarse visualmente en el gráfico de ordenamiento NMDS (Figura II.2).

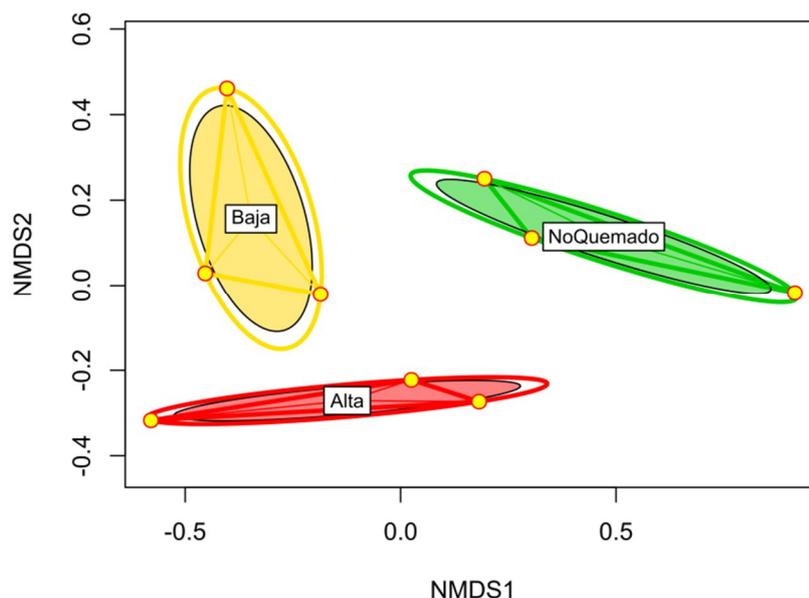


Figura II.2. Gráfico de ordenamiento NMDS, representando a los sitios (puntos amarillos) con diferente frecuencia de fuego: no quemado (verde), baja frecuencia (amarillo) y alta frecuencia de fuego (rojo). La separación de elipses que agrupan sitios sujetos al mismo régimen de fuego indica diferencias en la composición de especies. El gráfico fue construido con medidas de disimilitud de Jaccard.

Como la composición de especies fue diferente entre regímenes de fuego, resulta interesante evaluar la presencia de especies indicadoras de las diferentes condiciones. Al analizar los valores de indicación considerando los tres regímenes de fuego se halló que 5 de los 241 taxones resultaron especies indicadoras del escenario no quemado ($p<0.05$; $\text{IndVal}>70\%$), mientras que no se observaron especies indicadoras de los escenarios de baja y de alta frecuencia de fuego (Tabla II.2 a). Por otro lado, al considerar las dos condiciones de frecuencia de fuego como una sola condición quemada, y compararla con el ambiente no quemado, el número de especies indicadoras de la condición no quemada

ascendió a 10 especies y surgió una especie indicadora de la condición quemada (Tabla II.2 b).

Tabla II.2. Especies indicadoras de acuerdo al análisis de tres condiciones de frecuencia de fuego: no quemado, baja y alta frecuencia de fuego (a), y de dos condiciones contrastantes: no quemado y quemado (b).

	Especie	Abundancia máxima	Condición	IndVal	Valor <i>p</i>
a	<i>Araujia odorata</i>	100	No quemado	100	0.037
	<i>Chromolaena arnottiana</i>	100	No quemado	100	0.037
	<i>Dicliptera squarrosa</i>	100	No quemado	100	0.037
	<i>Euphorbia acerensis</i>	100	No quemado	100	0.037
	<i>Lorentzianthus viscidus</i>	100	No quemado	100	0.037
b	<i>Abutilon pauciflorum</i>	100	Quemado	83.3	0.04
	<i>Araujia odorata</i>	100	No quemado	100	0.011
	<i>Celtis ehrenbergiana</i>	86	No quemado	85.7	0.05
	<i>Chromolaena arnottiana</i>	100	No quemado	100	0.011
	<i>Dicliptera squarrosa</i>	100	No quemado	100	0.011
	<i>Euphorbia acerensis</i>	100	No quemado	100	0.011
	<i>Heterosperma ovatifolium</i>	86	No quemado	85.7	0.055
	<i>Janusia guaranitica</i>	86	No quemado	85.7	0.050
	<i>Lorentzianthus viscidus</i>	100	No quemado	100	0.011
	<i>Salpichroa origanifolia</i>	86	No quemado	85.7	0.050
	<i>Tillandsia capillaris</i>	86	No quemado	85.7	0.040

Sobre la base de estos resultados se evidencia que el fuego no solo produce una disminución en el número de especies de plantas en las fisonomías estudiadas (fisonomía intermedia entre matorral cerrado y bosque nativo abierto), sino que también modifica la composición florística de los sitios sujetos a fuego. Asimismo, surgen especies vegetales indicadoras exclusivas de sitios no quemados, es decir, que no ocurren en sitios disturbados por el fuego.

Es interesante destacar que los estudios previos que evalúan los efectos del fuego sobre la diversidad de plantas en el Chaco Serrano lo hacen con respecto al factor tiempo post-fuego (Verzino *et al.*, 2005; Giorgis *et al.*, 2013), encontrando un aumento de la riqueza de especies en los sitios quemados (Giorgis *et al.*, 2013). Esto se debe básicamente

a que los ambientes no quemados utilizados como control son las fisonomías del bosque Serrano en estadios sucesionales más tardíos (bosques nativos muy maduros; ver Giorgis, 2011). A pesar de que estos estudios remarcan la problemática de la alta recurrencia de incendios en el centro de Argentina, los mismos no consideran factores determinantes del régimen histórico del fuego como la frecuencia. Es por ello que los resultados de este apartado constituyen el primer reporte de pérdida de diversidad de plantas y cambios en la composición florística debido al incremento en la frecuencia de fuego en ambientes del Chaco Serrano, al menos entre las fisonomías de matorrales y bosques nativos no maduros.

Apéndice III. Composición florística de los escenarios con diferente frecuencia de fuego del Chaco Serrano. Los taxones se caracterizan según su origen: nativos (N), endémicos (End), exóticos (E) y cosmopolita (C); y según su forma de vida: árbol (A), arbusto (a), hierba (H) y enredadera (E). Se detalla para cada taxón el porcentaje de frecuencia relativa (Fr. rel.) del total de censos en el que fue registrado y el porcentaje de cobertura promedio (Cober.) en cada escenario de frecuencia de fuego: no quemado, baja y alta frecuencia de fuego. Los casos particulares en los que un taxón posee 33% de frecuencia relativa y 0% de cobertura para la misma frecuencia de fuego, indican que solo fue registrado un ejemplar aislado en un sitio con una cobertura despreciable.

Base de datos para la actualización de los nombres científicos:

- Instituto de Botánica Darwinion. Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur. Argentina. Acceso el 28 de diciembre de 2014.

<http://www2.darwin.edu.ar/Proyectos/FloraArgentina/fa.htm>.

- Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. Acceso el 28 de diciembre de 2014.

<http://www.tropicos.org>.

Taxón	Familia	Origen	Forma de vida	No Quemado		Baja Frecuencia		Alta Frecuencia	
				Fr. rel.	Cober.	Fr. rel.	Cober.	Fr. rel.	Cober.
<i>Abutilon grandifolium</i>	Malvaceae	N	a	33	0.2	0	0.0	0	0.0
<i>Abutilon pauciflorum</i>	Malvaceae	N	a	0	0.0	67	1.3	100	1.5
<i>Acacia caven</i>	Fabaceae	N	A	100	2.5	100	15.5	67	25.3
<i>Acacia praecox</i>	Fabaceae	N	A	33	0.2	0	0.0	0	0.0
<i>Acalypha communis</i>	Euphorbiaceae	N	H	100	7.5	100	6.5	100	26.5
<i>Acalypha poiretii</i>	Euphorbiaceae	N	H	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Acanthostyles buniifolius</i>	Asteraceae	N	a	33	1.2	67	0.2	33	0.2
<i>Acer negundo</i>	Aceraceae	E	A	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Achyrocline flaccida</i>	Asteraceae	N	H	67	0.2	33	0.0	33	0.0
<i>Achyrocline venosa</i>	Asteraceae	N	H	67	0.3	33	0.0	67	0.2
<i>Agrostis montevidensis</i>	Poaceae	N	H	67	0.3	67	0.2	100	0.1
<i>Aloysia gratissima</i>	Verbenaceae	N	a	100	3.5	33	1.2	67	1.3
<i>Amaranthus hybridus</i> ssp. <i>hybridus</i>	Amaranthaceae	E	H	33	0.0	0	0.0	33	0.2
<i>Amblyopetallum coccineum</i>	Apocynaceae	End	H	67	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Anemia tormentosa</i>	Schizaeaceae	N	H	67	0.2	67	0.3	33	0.2
<i>Anoda cristata</i>	Malvaceae	N	H	33	0.0	33	0.2	0	0.0
<i>Anredera cordifolia</i>	Bassellaceae	N	E	100	5.3	67	0.3	67	0.2
<i>Araujia odorata</i>	Apocynaceae	N	E	100	1.5	0	0.0	0	0.0
<i>Aristida adscencionis</i>	Poaceae	N	H	0	0.0	33	1.2	0	0.0
<i>Aristida spegazzinii</i>	Poaceae	N	H	0	0.0	33	0.2	0	0.0
<i>Asclepias mellodora</i>	Apocynaceae	N	H	33	0.0	0	0.0	33	0.0
<i>Asteraceae</i> sp.	Asteraceae		H	0	0.0	0	0.0	67	0.0

<i>Ayenia cordobensis</i>	Sterculiaceae	End	H	33	0.0	67	0.0	0	0.0
<i>Baccharis coridifolia</i>	Asteraceae	N	a	100	1.5	100	0.5	33	0.2
<i>Baccharis crispa</i>	Asteraceae	N	a	33	0.2	33	0.2	0	0.0
<i>Baccharis pingraea</i>	Asteraceae	N	H	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Bernardia multicaulis</i>	Euphorbiaceae	N	H	33	0.2	67	0.3	67	0.3
<i>Blechnum laevigatum</i>	Blechnaceae	End	H	33	0.0	0	0.0	33	0.2
<i>Borreria spinosa</i>	Rubiaceae	N	H	67	0.3	100	0.4	33	0.2
<i>Bothriochloa alta</i>	Poaceae	N	H	33	0.2	100	0.5	67	22.2
<i>Bothriochloa barbinodis</i>	Poaceae	N	H	33	0.2	33	0.2	33	1.2
<i>Bothriochloa laguroides</i>	Poaceae	N	H	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Bougainvillea stipitata</i>	Nyctaginaceae	N	A	33	0.2	0	0.0	0	0.0
<i>Bouteloua curtipendula</i> var. <i>caespitosa</i>	Poaceae	N	H	67	4.6	33	4.0	67	10.1
<i>Bouteloua megapotamica</i>	Poaceae	N	H	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Bromus catharticus</i>	Poaceae	N	H	0	0.0	0	0.0	33	0.0
<i>Caesalpinia gilliesii</i>	Fabaceae	N	a	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Cantinoa mutabilis</i>	Lamiaceae	N	H	100	11.5	100	5.5	100	3.5
<i>Cardiospermum halicacabum</i>	Sapindaceae	C	E	33	0.2	0	0.0	0	0.0
<i>Carduus acanthoides</i>	Asteraceae	E	H	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Celtis australis</i>	Celtidaceae	E	A	33	1.2	33	1.2	0	0.0
<i>Celtis ehrenbergiana</i>	Celtidaceae	N	A	100	3.5	33	0.0	33	0.0
<i>Cenchrus miosuroides</i>	Poaceae	N	H	0	0.0	33	0.0	0	0.0
<i>Cenchrus spinifex</i>	Poaceae	N	H	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Centrosema virginianum</i>	Fabaceae	N	E	67	0.3	33	0.2	33	0.2
<i>Cestrum parqui</i>	Solanaceae	N	a	67	0.3	67	0.3	67	0.2
<i>Chaptalia integerrima</i>	Asteraceae	N	H	100	0.5	100	0.4	67	0.3
<i>Chascolytrum subaristatum</i>	Poaceae	N	H	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Cheilanthes buchtienii</i>	Pteridaceae	N	H	0	0.0	100	0.2	33	0.2
<i>Chenopodium album</i>	Chenopodiaceae	E	H	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Chiropetalum griseum</i>	Euphorbiaceae	N	a	33	0.2	33	0.0	0	0.0
<i>Chromolaena arnottiana</i>	Asteraceae	N	a	100	0.5	33	0.0	0	0.0
<i>Chromolaena hirsuta</i>	Asteraceae	End	H	0	0.0	33	0.2	0	0.0
<i>Clitoria cordobensis</i>	Fabaceae	End	H	33	0.0	33	0.2	33	0.0
<i>Colletia spinosisima</i>	Rhamnaceae	N	a	100	2.3	100	6.4	100	14.0
<i>Cologania broussonetii</i>	Fabaceae	N	E	100	2.5	100	3.5	100	2.5
<i>Commelina erecta</i>	Commelinaceae	N	H	100	0.5	67	1.2	100	0.5
<i>Commelina tuberosa</i>	Commelinaceae	N	H	33	0.2	0	0.0	0	0.0
<i>Condalia buxifolia</i>	Rhamnaceae	N	A	100	34.8	67	0.3	67	2.3
<i>Condalia montana</i>	Rhamnaceae	End	a	33	0.2	0	0.0	0	0.0
<i>Cortaderia selloana</i>	Poaceae	N	H	33	0.0	0	0.0	33	0.0
<i>Croton argentinus</i>	Euphorbiaceae	End	a	0	0.0	67	1.2	0	0.0
<i>Croton hirtus</i>	Euphorbiaceae	N	H	100	0.2	33	0.0	0	0.0
<i>Croton lachnostachyus</i>	Euphorbiaceae	N	a	67	0.3	0	0.0	33	0.0
<i>Croton serratifolius</i>	Euphorbiaceae	N	a	0	0.0	67	1.3	67	0.3
<i>Croton subpanosus</i>	Euphorbiaceae	End	a	0	0.0	33	0.2	0	0.0
<i>Cuphea glutinosa</i>	Lytraceae	N	H	67	0.1	67	0.1	33	0.0
<i>Cynoglossum amabile</i>	Boraginaceae	E	H	33	0.0	33	0.0	0	0.0

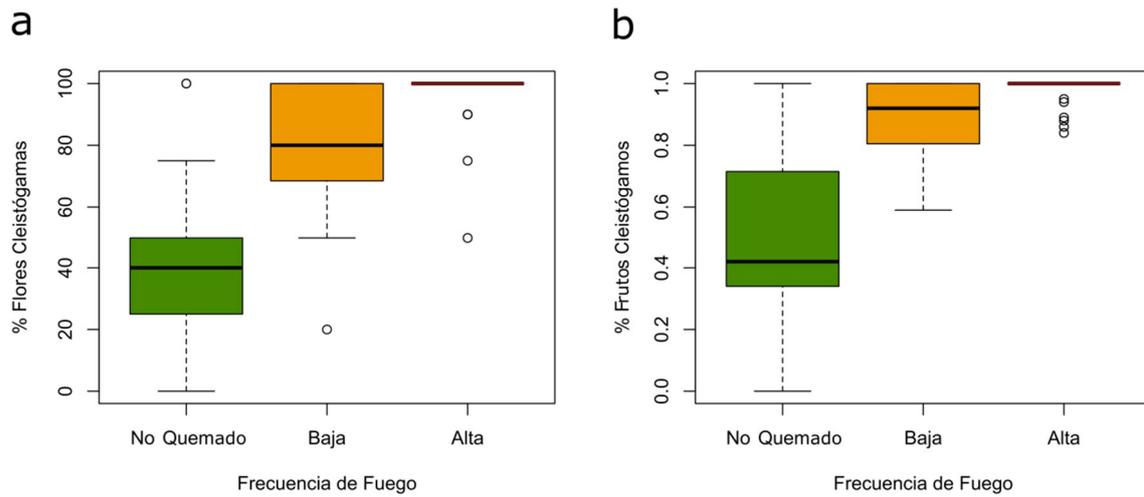
<i>Cyperus aggregatus</i>	Cyperaceae	N	H	100	3.2	67	0.2	67	0.8
<i>Cyperus hermaphroditus</i>	Cyperaceae	N	H	67	0.3	33	0.2	33	0.2
<i>Cyperus incommutus</i> var. <i>incommutus</i>	Cyperaceae	N	H	67	0.5	33	0.2	0	0.0
<i>Dallea elegans</i> var. <i>elegans</i>	Fabaceae	End	H	0	0.0	33	0.2	0	0.0
<i>Desmanthus tatumensis</i>	Fabaceae	N	H	0	0.0	100	0.1	33	0.0
<i>Desmodium uncinatum</i>	Fabaceae	N	H	100	2.5	100	7.5	100	2.5
<i>Dichondra microcalix</i>	Convolvulaceae	N	H	67	0.3	0	0.0	33	0.2
<i>Dicliptera squarrosa</i>	Acanthaceae	N	H	100	0.4	33	0.0	0	0.0
<i>Digitaria eriantha</i>	Poaceae	E	H	33	0.2	0	0.0	0	0.0
<i>Digitaria sanguinalis</i>	Poaceae	E	H	33	0.2	0	0.0	0	0.0
<i>Ditassa burchellii</i>	Apocynaceae	N	E	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Dolichandra cynanchoides</i>	Bignoniaceae	N	E	67	0.2	0	0.0	0	0.0
<i>Dolichandra unguis-cati</i>	Bignoniaceae	N	E	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Dyschoriste humilis</i>	Acanthaceae	N	H	33	0.2	0	0.0	0	0.0
<i>Echinopsis aureae</i>	Cactaceae	End	H	33	0.0	67	0.3	0	0.0
<i>Eragrostis curvula</i>	Poaceae	E	H	0	0.0	0	0.0	67	0.2
<i>Eragrostis polytricha</i>	Poaceae	N	H	33	0.0	67	0.3	33	0.2
<i>Eryngium elegans</i>	Apiaceae	N	H	33	0.2	33	0.0	0	0.0
<i>Eryngium horridum</i>	Apiaceae	N	H	67	1.2	100	15.0	100	14.0
<i>Euphorbia acerensis</i>	Euphorbiaceae	N	H	100	1.5	0	0.0	0	0.0
<i>Euphorbia lorentzii</i>	Euphorbiaceae	N	H	67	0.3	100	0.1	33	0.2
<i>Euphorbia pentadactyla</i>	Euphorbiaceae	N	H	67	0.3	100	0.4	33	0.2
<i>Eustachys distichophylla</i>	Poaceae	N	H	0	0.0	0	0.0	67	0.2
<i>Eustachys retusa</i>	Poaceae	N	H	67	12.8	100	1.5	33	0.0
<i>Exhalimolobos weddellii</i>	Brassicaceae	N	H	33	0.0	0	0.0	33	0.2
<i>Fleischmannia prasiifolia</i>	Asteraceae	N	a	33	0.2	0	0.0	0	0.0
<i>Gaillardia megapotamica</i>	Asteraceae	End	H	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Galactia galucophylla</i>	Fabaceae	End	H	0	0.0	33	0.2	0	0.0
<i>Galactia marginalis</i>	Fabaceae	N	H	0	0.0	100	0.2	0	0.0
<i>Galium latoramosum</i>	Rubiaceae	N	H	67	0.3	0	0.0	33	0.0
<i>Galium richardianum</i>	Rubiaceae	End	H	0	0.0	67	0.2	0	0.0
<i>Gaya parviflora</i>	Malvaceae	N	H	67	0.3	33	0.2	100	0.5
<i>Glandularia peruviana</i>	Verbenaceae	N	H	33	0.2	67	0.2	67	0.3
<i>Glandularia pulchella</i>	Verbenaceae	End	H	0	0.0	33	0.0	0	0.0
<i>Gleditsia triacanthos</i>	Fabaceae	E	A	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Gomphrena perennis</i>	Amaranthaceae	N	H	100	0.5	67	0.3	33	1.2
<i>Gouinia latifolia</i>	Poaceae	N	H	33	0.2	0	0.0	0	0.0
<i>Grindelia pulchella</i>	Asteraceae	End	a	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Gymnocalycium erinaseum</i>	Cactaceae	End	H	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Gymnocalycium monvillei</i>	Cactaceae	End	H	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Gymnocalycium mostii</i>	Cactaceae	End	H	33	0.2	100	0.5	33	0.2
<i>Gymnocalycium</i> sp.	Cactaceae	End	H	0	0.0	33	0.2	0	0.0
<i>Gyptis artemisifolia</i>	Asteraceae	End	H	0	0.0	67	0.3	0	0.0
<i>Heimia salicifolia</i>	Lytraceae	N	a	0	0.0	33	0.0	33	0.0
<i>Heliotropium nicotianaefolium</i>	Boraginaceae	N	H	33	0.0	33	0.0	0	0.0
<i>Heterosperma ovatifolium</i>	Asteraceae	N	H	100	6.5	33	0.0	33	0.2

<i>Heterothalamus alienus</i>	Asteraceae	End	a	33	0.2	33	0.2	33	5.2
<i>Ipomea purpurea</i>	Convolvulaceae	N	E	67	21.2	0	0.0	0	0.0
<i>Ipomea rubriflora</i>	Convolvulaceae	N	E	33	0.0	33	0.0	0	0.0
<i>Ipomoea hieronymii</i>	Convolvulaceae	End	E	0	0.0	67	1.3	33	0.2
<i>Iresine diffusa</i>	Amaranthaceae	N	H	100	2.5	67	1.2	100	5.4
<i>Janusia guaranitica</i>	Malpighiaceae	N	E	100	0.5	33	0.0	0	0.0
<i>Jarava pseudoichu</i>	Poaceae	N	H	100	3.5	33	0.2	33	5.2
<i>Jodina rhombifolia</i>	Cervantesiaceae	N	A	0	0.0	0	0.0	33	0.2
<i>Kageneckia lanceolata</i>	Rosaceae	N	A	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Krapovickasia flavescens</i>	Malvaceae	N	H	67	1.3	100	1.5	100	0.5
<i>Lantana camara</i>	Verbenaceae	N	a	67	1.3	0	0.0	67	5.3
<i>Lantana grisebachii</i>	Verbenaceae	N	a	67	0.3	33	0.0	67	0.2
<i>Lepechinia floribunda</i>	Lamiaceae	N	a	100	1.5	67	1.2	67	0.2
<i>Ligaria cuneifolia</i>	Loranthaceae	N	H	33	0.2	0	0.0	0	0.0
<i>Ligustrum lucidum</i>	Oleaceae	E	A	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Lippia junelliana</i>	Verbenaceae	End	a	33	1.2	0	0.0	0	0.0
<i>Lithraea molleoides</i>	Anacardiaceae	N	A	100	19.0	67	1.2	33	1.2
<i>Lonicera japonica</i>	Caprifoliaceae	E	E	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Lorentzianthus viscidus</i>	Asteraceae	N	a	100	14.0	0	0.0	0	0.0
<i>Lucilia acutifolia</i>	Asteraceae	N	H	0	0.0	67	0.2	33	0.0
<i>Malvastrum coromandelianum</i>	Malvaceae	N	H	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Malvastrum interruptum</i>	Malvaceae	N	H	33	0.2	33	0.2	33	0.2
<i>Mandevilla pentlandiana</i>	Apocynaceae	N	E	67	1.3	33	0.0	0	0.0
<i>Mandevilla petraea</i>	Apocynaceae	N	H	33	0.2	33	0.2	0	0.0
<i>Margyricarpus pinnatus</i>	Rosaceae	N	H	33	0.0	67	0.2	0	0.0
<i>Matelea australis</i>	Apocynaceae	End	H	0	0.0	67	0.0	33	0.0
<i>Melica macra</i>	Poaceae	End	H	33	0.0	33	0.0	0	0.0
<i>Melinis repens</i>	Poaceae	E	H	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Melochia argentina</i>	Sterculiaceae	N	H	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Mintostachis verticillata</i>	Lamiaceae	End	H	33	0.2	0	0.0	33	0.2
<i>Mitracarpus megapotamicus</i>	Rubiaceae	N	H	0	0.0	67	0.3	33	0.0
<i>Morus alba</i>	Moraceae	E	A	33	0.2	33	0.2	0	0.0
<i>Nassella filiculmis</i>	Poaceae	End	H	0	0.0	0	0.0	33	0.2
<i>Oenothera parodiana</i>	Onagraceae	N	H	0	0.0	33	0.0	0	0.0
<i>Opuntia elata</i>	Cactaceae	N	H	100	0.2	0	0.0	33	0.0
<i>Opuntia salmiana</i>	Cactaceae	N	H	33	0.2	0	0.0	0	0.0
<i>Oxalis conorhyza</i>	Oxalidaceae	N	H	33	0.2	33	0.2	0	0.0
<i>Oxypetalum arnotianum</i>	Apocynaceae	N	H	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Oxypetalum crispum</i>	Apocynaceae	N	H	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Parietaria debilis</i>	Urticaceae	C	H	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Parodia submamulosa</i>	Cactaceae	End	H	67	0.2	67	0.0	0	0.0
<i>Partenium hysterophorus</i>	Asteraceae	N	H	33	0.2	0	0.0	67	0.3
<i>Paspalum notatum</i>	Poaceae	N	H	67	1.2	0	0.0	33	0.2
<i>Paspalum dilatatum</i>	Poaceae	N	H	33	1.2	0	0.0	0	0.0
<i>Paspalum humboltianum</i>	Poaceae	N	H	0	0.0	67	0.0	0	0.0
<i>Paspalum malacophyllum</i>	Poaceae	N	H	67	1.3	100	0.5	100	0.4

<i>Paspalum plicatulum</i>	Poaceae	N	H	0	0.0	0	0.0	33	0.2
<i>Passiflora caerulea</i>	Passifloraceae	N	E	33	0.0	0	0.0	67	0.2
<i>Passiflora morifolia</i>	Passifloraceae	N	E	33	0.2	0	0.0	0	0.0
<i>Pavonia argentina</i>	Malvaceae	N	a	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Pavonia aurigloba</i>	Malvaceae	End	a	67	1.3	100	2.4	100	2.5
<i>Pfaffia gnaphaloides</i>	Amaranthaceae	N	H	67	0.3	67	0.1	33	0.2
<i>Phacelia artemisioides</i>	Boraginaceae	N	H	0	0.0	0	0.0	33	0.0
<i>Philibertia gilliesii</i>	Apocynaceae	N	E	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Philibertia tomentosa</i>	Apocynaceae	N	E	0	0.0	33	0.0	0	0.0
<i>Phyllanthus niruri</i>	Phyllanthaceae	N	H	33	0.2	0	0.0	0	0.0
<i>Physalis viscosa</i>	Solanaceae	N	H	0	0.0	0	0.0	33	0.0
<i>Pinus</i> sp.	Pinaceae	E	A	0	0.0	33	1.2	0	0.0
<i>Piptochaetium montevidense</i>	Poaceae	N	H	67	0.2	33	0.0	33	0.0
<i>Pithecoctenium cynanchoides</i>	Bignoniaceae	N	E	67	0.3	0	0.0	0	0.0
<i>Plantago tomentosa</i>	Plantaginaceae	N	H	0	0.0	33	0.0	33	0.0
<i>Pleopeltis tweediana</i>	Polypodiaceae	N	H	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Plumbago caerulea</i>	Plumbaginaceae	N	a	67	0.2	0	0.0	0	0.0
<i>Podocoma hirsuta</i>	Asteraceae	N	H	33	0.0	67	0.1	33	0.0
<i>Porlieria microphylla</i>	Zygophyllaceae	N	a	67	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Porophyllum ruderales</i>	Asteraceae	N	H	33	0.2	0	0.0	0	0.0
<i>Portulaca grandiflora</i>	Portulacaceae	End	H	33	0.2	33	0.0	0	0.0
<i>Portulaca oleraceae</i>	Portulacaceae	E	H	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Pseudabutilon pedunculatum</i>	Malvaceae	N	a	0	0.0	0	0.0	33	1.2
<i>Pseudabutilon virgatum</i>	Malvaceae	N	a	33	0.2	0	0.0	0	0.0
<i>Pterocaulon alopecuroides</i>	Asteraceae	N	H	33	0.2	67	0.3	33	0.2
<i>Puya sphatacea</i>	Bromeliaceae	N	H	0	0.0	33	0.0	0	0.0
<i>Pyracantha acanthoides</i>	Rosaceae	E	a	33	0.2	33	0.0	0	0.0
<i>Pyracantha angustifolia</i>	Rosaceae	E	a	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Rhynchosia bicentrica</i>	Fabaceae	N	H	0	0.0	67	0.3	0	0.0
<i>Rhynchosia edulis</i>	Fabaceae	N	E	100	2.5	100	3.5	100	2.5
<i>Richardia brasiliensis</i>	Rubiaceae	N	H	33	0.0	33	0.0	0	0.0
<i>Rivina humilis</i>	Phytolaccaceae	N	H	67	0.3	0	0.0	0	0.0
<i>Ruprechtia apetala</i>	Polygonaceae	N	A	67	5.2	0	0.0	0	0.0
<i>Salpichroa origanifolia</i>	Solanaceae	N	H	100	1.5	33	0.2	0	0.0
<i>Schinus fasciculatus</i>	Anacardiaceae	N	a	100	0.3	67	0.1	33	0.2
<i>Schinus longifolius</i>	Anacardiaceae	End	a	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Schizachyrium microstachyum</i>	Poaceae	N	H	0	0.0	100	1.5	33	1.2
<i>Schizachyrium salzmannii</i>	Poaceae	N	H	0	0.0	67	0.2	0	0.0
<i>Schizachyrium</i> sp.	Poaceae	N	H	33	0.2	0	0.0	0	0.0
<i>Schkuhria pinnata</i>	Asteraceae	N	H	33	0.2	67	0.2	67	1.3
<i>Sebastiania commersoniana</i>	Euphorbiaceae	N	A	67	2.3	0	0.0	0	0.0
<i>Selaginella</i> sp.	Selaginellaceae	N	H	67	5.2	33	0.2	0	0.0
<i>Senecio pampeanus</i>	Asteraceae	N	H	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Senecio vira-vira</i>	Asteraceae	N	H	0	0.0	0	0.0	33	0.2
<i>Setaria lachnea</i>	Poaceae	N	H	33	1.2	33	1.2	33	0.2
<i>Setaria oblongata</i>	Poaceae	N	H	33	0.0	33	0.0	0	0.0

<i>Setaria pampeana</i>	Poaceae	N	H	67	0.3	0	0.0	33	0.2
<i>Sida dyctiocarpa</i>	Malvaceae	N	H	67	1.3	0	0.0	67	0.3
<i>Sida rhombifolia</i>	Malvaceae	N	H	67	0.3	100	0.5	100	5.5
<i>Sida spinosa</i>	Malvaceae	N	H	33	0.0	0	0.0	33	0.2
<i>Sida variegata</i>	Malvaceae	N	H	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Silene anthirrina</i>	Caryophyllaceae	E	H	0	0.0	67	0.2	67	0.1
<i>Simsia dombeyana</i>	Asteraceae	N	H	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Solanum chenopodioides</i>	Solanaceae	End	a	67	0.3	0	0.0	67	0.2
<i>Solanum juvenale</i>	Solanaceae	End	H	0	0.0	0	0.0	33	1.2
<i>Solanum palinacanthum</i>	Solanaceae	N	a	100	5.3	33	0.2	0	0.0
<i>Solanum pseudocapsicum</i>	Solanaceae	N	H	33	0.2	0	0.0	0	0.0
<i>Solanum sisymbriifolium</i>	Solanaceae	N	H	0	0.0	33	0.2	0	0.0
<i>Solanum stuckertii</i>	Solanaceae	N	a	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Solanum tucumanense</i>	Solanaceae	N	a	33	1.2	0	0.0	0	0.0
<i>Solidago chilensis</i>	Asteraceae	N	H	0	0.0	33	0.0	33	0.2
<i>Sphaeralcea cordobensis</i>	Malvaceae	End	H	0	0.0	0	0.0	33	0.2
<i>Stenandrium diphyllum</i>	Acanthaceae	N	H	0	0.0	67	0.2	0	0.0
<i>Stylosanthes montevidensis</i>	Fabaceae	N	H	33	0.2	100	0.5	67	0.2
<i>Tagetes minuta</i>	Asteraceae	N	H	33	0.2	0	0.0	33	0.2
<i>Talinum paniculatum</i>	Portulacaceae	E	H	33	0.2	0	0.0	33	0.2
<i>Tillandsia capillaris</i>	Bromeliaceae	N	H	100	0.5	33	0.2	0	0.0
<i>Tragia geraniifolia</i>	Euphorbiaceae	N	H	67	0.3	100	0.5	100	0.5
<i>Trixis divaricata</i>	Asteraceae	N	a	33	0.0	0	0.0	33	0.2
<i>Ulmus pumila</i>	Ulmaceae	E	A	0	0.0	33	0.2	0	0.0
<i>Verbascum virgatum</i>	Scrophulariaceae	E	H	0	0.0	33	0.0	33	0.0
<i>Verbena intermedia</i>	Verbenaceae	N	H	0	0.0	33	0.0	0	0.0
<i>Vernonanthura nudiflora</i>	Asteraceae	N	H	33	1.2	67	2.3	100	1.5
<i>Vicia setifolia</i> var. <i>setifolia</i>	Fabaceae	N	H	0	0.0	33	0.0	33	0.0
<i>Vigna caracalla</i>	Fabaceae	N	H	33	5.2	0	0.0	0	0.0
<i>Wahlenbergia linarioides</i>	Campanulaceae	N	H	0	0.0	33	0.0	0	0.0
<i>Wissadula gymnanthemum</i>	Malvaceae	N	H	33	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Zanthoxylum coco</i>	Rutaceae	N	A	33	1.2	0	0.0	33	1.2

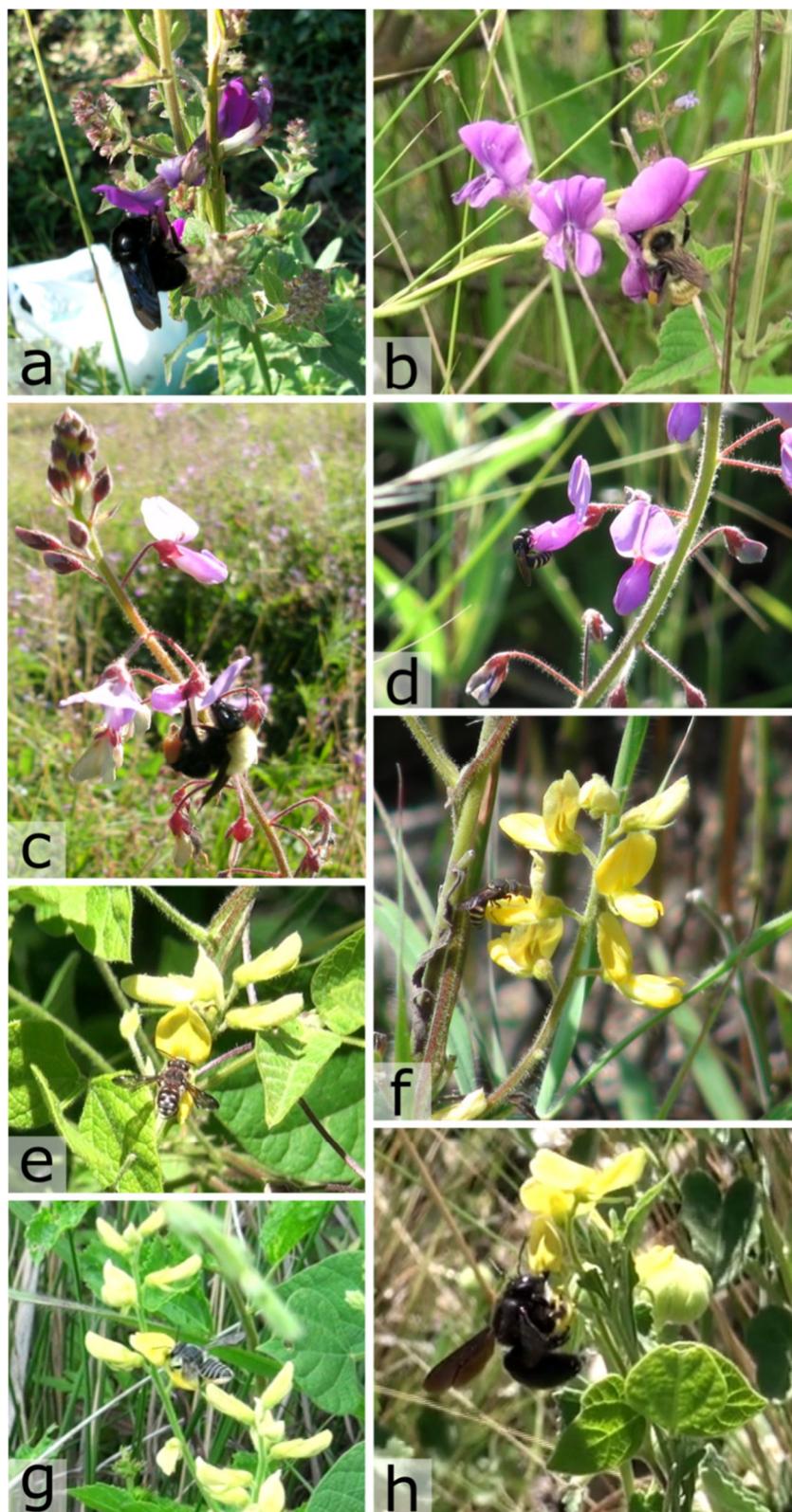
Apéndice IV. Proporción de flores cleistógamas (a) y frutos cleistógamos (b) producidos por individuos de *Cologania broussonetii* en sitios del Chaco Serrano con diferente frecuencia de fuego. La proporción de cleistogamia es calculada como la relación entre el número de flores cleistógamas y el número de flores totales (cleistógamas + casmógamas) en 12 individuos por sitio a lo largo de la temporada de crecimiento 2014-2015. El mismo cálculo se aplica para la proporción de frutos cleistógamos.



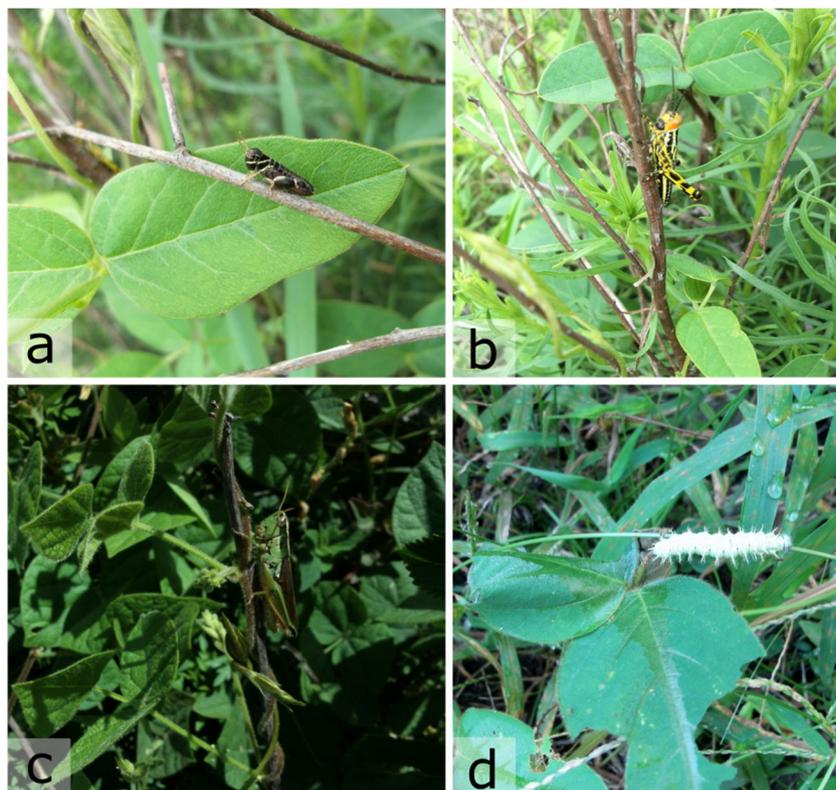
Apéndice V. Esfuerzo de muestreo (minutos) destinado para registrar visitantes florales y frecuencia de visitas en *Desmodium uncinatum* y *Rhynchosia edulis* durante dos periodos reproductivos (2013/2014 y 2014/2015), en sitios del Chaco Serrano con diferente frecuencia de fuego. Las unidades de observación fueron periodos de aproximadamente 15 minutos por individuo focal a lo largo de toda la temporada de floración (diciembre a marzo).

Régimen de fuego:		No quemado			Baja frecuencia			Alta frecuencia			
Sitio:		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Especie	Periodo	Quebrada	Indarte	Salto	Escuela	Sitio I	Malanca	Sitio F	Sitio A	Candongá	Total
<i>Desmodium uncinatum</i>	2013/2014	143	147	107	442	373	162	300	163	298	2134
	2014/2015	94	117	108	95	139	114	96	112	107	983
<i>Rhynchosia edulis</i>	2013/2014	177	275	212	330	342	278	166	204	160	2143
	2014/2015	55	102	88	147	125	113	94	96	107	928

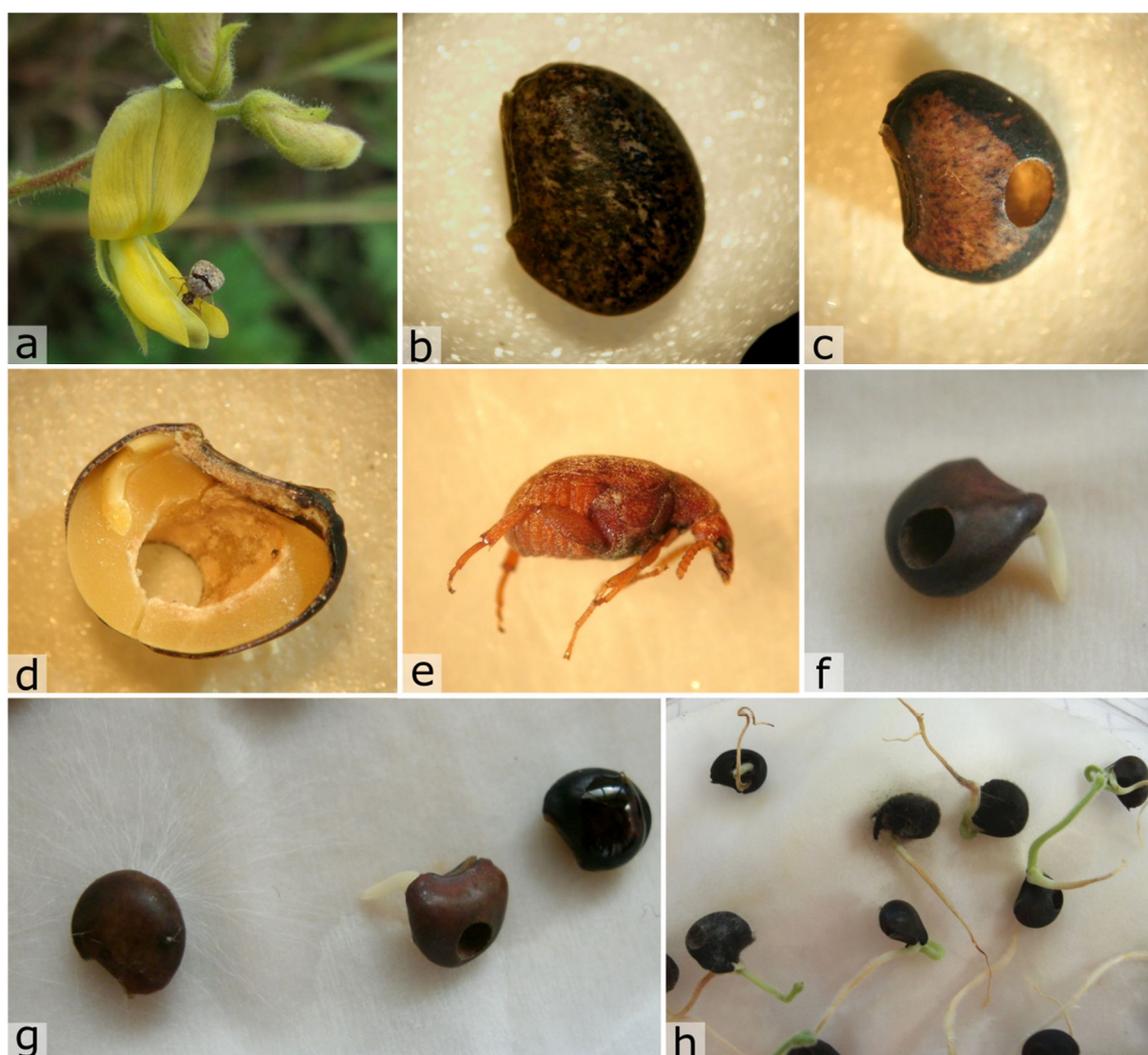
Apéndice VI. Visitantes florales más frecuentes. *Cologania broussonetii* visitada por *Xylocopa ordinaria* (a) y por *Bombus opifex* (b). *Desmodium uncinatum* visitado por *Bombus bellicosus* (c) y por *Trimeria* sp. (d). *Rhynchosia edulis* visitada por *Notanthidium* sp. (e), por *Trimeria* sp. (f), por *Megachile* sp. (g) y por *Xylocopa ordinaria* (h).



Apéndice VII. Insectos folívoros de las Fabaceae estudiadas. Ninfas de Acrididae (Orthoptera) en las inmediaciones de hojas de *Cologania broussonetii* (a, b). Adulto de Acrididae sobre *Rhynchosia edulis* (c). Larva de Lepidoptera alimentándose de *Desmodium uncinatum* (d).



Apéndice VIII. Depredación pre-dispersiva de semillas de *Rhynchosia edulis* por el brúquido *Acanthoscelides* sp. (Coleoptera, Bruchidae). (a): brúquido adulto alimentándose de polen para luego oviponer sobre el ovario. (b): semilla antes de la eclosión del depredador adulto. (c): semilla depredada con orificio de salida. (d): semilla mostrando las reservas consumidas por el brúquido y el embrión sin ser afectado. (e): individuo adulto de *Acanthoscelides* sp. (f): germinación de semilla depredada. (g): infección de semillas depredadas por hongos durante la germinación y (h) el crecimiento de plántulas en laboratorio.



BIBLIOGRAFÍA

- Abbott, I. (1985). Reproductive ecology of *Banksia grandis* (Proteaceae). *New phytologist*, 99(1), 129-148.
- Adams, A. S., & Rieske, L. K. (2003). Prescribed fire affects white oak seedling phytochemistry: implications for insect herbivory. *Forest ecology and management*, 176(1), 37-47.
- Aerts, R., & Chapin, III F. S. (2000). The mineral nutrition of wild plants revisited: a re-evaluation of processes and patterns. *Adv. Ecol. Res.* 30, 1-67.
- Aguilar, R. (2005). Efectos de la fragmentación de hábitat sobre el éxito reproductivo de especies bosque Chaqueño Serrano de Córdoba. Tesis Doctoral. FCEFyN, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Aguilar, R., Ashworth, L., & Aizen, M. A. (2006). Plant reproductive susceptibility to habitat fragmentation: review and synthesis through a meta-analysis. *Ecology letters*, 9(8), 968-980.
- Aguilar, R., Ashworth, L., Cagnolo, L., Jausoro, M., Quesada, M., & Galetto, L. (2009). Dinámica de interacciones mutualistas y antagonistas en ambientes fragmentados. *En: Medel, R., Aizen M. & Zamora, R. (Eds.). Ecología y evolución de interacciones planta-animal. Editorial Universitaria. pp: 199- 231.*
- Aguilar, R., Ashworth, L., Calviño, A., & Quesada, M. (2012). What is left after sex in fragmented habitats? Assessing the quantity and quality of progeny in the endemic tree *Prosopis caldenia* (Fabaceae). *Biological Conservation*, 152, 81-89.
- Aguilar, R., Calviño, A., Asworth, L., Aguirre-Acosta, N., Carbone, L. M., & Cagnolo, L. (2017). Plant extinction debt payment in a fragmented Chaco Serrano forest after a decade. *En vías de publicación.*
- Aguirre-Acosta N., Kowaljow E. & Aguilar R. (2014). Reproductive performance of the invasive tree *Ligustrum lucidum* in a subtropical dry forest: does habitat fragmentation boost or limit invasion? *Biol. Invasions* 16, 1397-1410.
- Aizen, M. A. (2007). Enfoques en el estudio de la reproducción sexual de las plantas en ambientes alterados: limitaciones y perspectivas. *Ecología Austral*, 17, 7-19.
- Aizen, M. A., & Feinsinger, P. (1994). Habitat fragmentation, native insect pollinators, and feral honey bees in Argentine “Chaco Serrano”. *Ecological Applications* 4:378–392.
- Albanesi, A. & Anriquez, A. (2003). El fuego y el suelo. *En: Kunst, C. R. , S. Bravo & J. L. Panigatti (Eds.). Fuego en los ecosistemas Argentinos. pp. 47-59. INTA, Santiago del Estero, Arg.*
- Albert, C. H., Thuiller, W., Yoccoz, N. G., Soudant, A., Boucher, F., Saccone, P., & Lavorel, S. (2010). Intraspecific functional variability: extent, structure and sources of variation. *J. Ecol.*, 98, 604-613.
- Alemán, M., Figueroa-Fleming, T., Etcheverry, Á., Sühring, S., & Ortega-Baes, P. (2014). The explosive pollination mechanism in Papilionoideae (Leguminosae): an analysis with three *Desmodium* species. *Plant Systematics and Evolution*, 300(1), 177-186.
- Alencar, A. A., Brando, P. M., Asner, G. P., & Putz, F. E. (2015). Landscape fragmentation, severe drought, and the new Amazon forest fire regime. *Ecological Applications*, 25(6), 1493-1505.
- Allred, B. W., Fuhlendorf, S. D., Engle, D. M., & Elmore, R. D. (2011). Ungulate preference for burned patches reveals strength of fire–grazing interaction. *Ecology and Evolution*, 1(2), 132-144.

- Anacker, B., Rajakaruna, N., Ackerly, D., Harrison, S., Keeley, J., & Vasey, M. (2011). Ecological strategies in California chaparral: interacting effects of soils, climate, and fire on specific leaf area. *Plant Ecology & Diversity*, 4(2-3), 179-188.
- Andersen, A. L. (2003). Burning Issues in Savanna, Ecology and Management. *En: Andersen, A. L., Cook, G. D., & Williams, R. J. (Eds.). Fire in Tropical Savannas. The Kapalga Experiment. Springer. Ecological Studies 169. Pp: 1-14.*
- Andersen, A. N. (1989). How important is seed predation to recruitment in stable populations of long-lived perennials?. *Oecologia* 81, 310-315.
- Andreu, C. S. & Bryan, W.W. (1958). Pasture studies on the coastal lowlands of subtropical Queensland III. The nutrient requirements and potentialities of *Desmodium uncinatum* and white clover on a lateritic podzolic soil. *Aust J Agr Res* 9(3):267-285.
- Aranibar, J. N., Macko, S. A., Anderson, I. C., Potgieter, A. L. F., Sowry, R., & Shugart, H. H. (2003). Nutrient cycling responses to fire frequency in the Kruger National Park (South Africa) as indicated by stable isotope analysis. *Isot. Environ. Health. S.* 39(2), 141-158.
- Araújo, G. M., Amaral, A. F., Bruna, E. M., & Vasconcelos, H. L. (2013). Fire drives the reproductive responses of herbaceous plants in a Neotropical swamp. *Plant ecology*, 214(12), 1479-1484.
- Argañaraz, J. P. (2016). Dinámica espacial del fuego en las Sierras de Córdoba. Tesis Doctoral. FCEFYN, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Argañaraz, J. P., Pizarro, G. G., Zak, M., Landi, M. A., & Bellis, L. M. (2015 a) Human and biophysical drivers of fires in semiarid Chaco mountains of central Argentina. *Sci. Total Environ.* 520: 1-12.
- Argañaraz, J. P., Pizarro G. G., Zak M. & Bellis L. M. (2015 b). Fire regime, climate, and Vegetation in the Sierras de Córdoba, Argentina. *Fire Ecology* 11(1), 55-73.
- Ashworth, L. (2004). Variabilidad espacio-temporal en el éxito reproductivo de plantas leñosas del Bosque Chaqueño Serrano. Tesis Doctoral. FCEFYN, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Augustine, D. J., & Milchunas, D. G. (2009). Vegetation responses to prescribed burning of grazed shortgrass steppe. *Rangeland Ecol. Manage.*, 62(1), 89-97.
- Auld, T. D. (1983). Seed predation in native legumes of south-eastern Australia. *Australian Journal of Ecology*, 8(4), 367-376.
- Auld, T. D., & O'Connell, M. A. (1989). Changes in predispersal seed predation levels after fire for two Australian legumes, *Acacia elongata* and *Sphaerolobium vimineum*. *Oikos*, 55-59.
- Barrios, B., Arellano, G., & Koptur, S. (2011). The effects of fire and fragmentation on occurrence and flowering of a rare perennial plant. *Plant Ecology*, 212(6), 1057-1067.
- Bateman, I. J., Mace, G. M., Fezzi, C., Atkinson, G., & Turner, K. (2011). Economic analysis for ecosystem service assessments. *Environmental and Resource Economics*, 48(2), 177-218.
- Bates, D., Maechler, M., Bolker, B. & Walker, S. (2014). lme4: Linear mixed-effects models using Eigen and S4. R package version 1.1-7, URL: <http://CRAN.Rproject.org/package=lme4>.
- Bernett, C. C., Laemmerzhals, A., & Rockwood, L. L. (2009). Reduction in reproductive output and leaf size in *Sanguinaria canadensis* as a cost of reproduction. *The Journal of the Torrey Botanical Society*, 136(4), 457-464.
- Boege, K., & Dirzo, R. (2004). Intraspecific variation in growth, defense and herbivory in *Dialium guianense* (Caesalpiniaceae) mediated by edaphic heterogeneity. *Plant Ecology*, 175(1), 59-69.
- Bolker, B., Skaug, H., Magnusson, A., & Nielsen, A. (2012). Getting started with the glmmADMB package. Available at: <http://glmmadmb.r-forge.r-project.org/glmmADMB.pdf>.

- Bond, W. J., & Keeley, J. E. (2005). Fire as a global 'herbivore': the ecology and evolution of flammable ecosystems. *Trends in ecology & evolution*, 20(7), 387-394.
- Bond, W. J., & Midgley, J. J. (1995). Kill thy neighbour: an individualistic argument for the evolution of flammability. *Oikos*, 73, 79-85.
- Bond, W. J., & Midgley, J. J. (2001). Ecology of sprouting in woody plants: the persistence niche. *Trends in ecology & evolution*, 16(1), 45-51.
- Bond, W. J. & Van Wilgen, B. W. (1996). *Fire and plants*. Springer, Netherlands. 263 p.
- Bond, W. J., Woodward, F. I., & Midgley, G. F. (2005). The global distribution of ecosystems in a world without fire. *New Phytologist*, 165(2), 525-538.
- Bourg, N. A., Gill, D. E., & McShea, W. J. (2015). Fire and canopy removal effects on demography and reproduction in turkeybeard (*Xerophyllum asphodeloides*), a fire-dependent temperate forest herb. *Journal of Sustainable Forestry*, 34(1-2), 71-104.
- Bowman, D. M., & Murphy, B. P. (2010). *Fire and biodiversity*. *En: Sodhi, N. S. Conservation biology for all*. Oxford University Press.
- Bradbury, D., Tapper, S. L., Coates, D., Hankinson, M., McArthur, S., & Byrne, M. (2016). How does the post-fire facultative seeding strategy impact genetic variation and phylogeographical history? The case of *Bossiaea ornata* (Fabaceae) in a fire-prone, mediterranean-climate ecosystem. *Journal of Biogeography*, 43(1), 96-110.
- Bradstock, R. A. (2010) A biogeographic model of fire regimes in Australia: current and future implications. *Global Ecol. Biogeogr.* 19, 145-158.
- Bravo, S., Kunst, C., Gimenez, A., & Moglia, G. (2001) Fire regime of a *Elionorus muticus* Spreng. savanna, western Chaco region, Argentina. *Int. J. Wildland Fire* 10, 65-72.
- Bravo, S., Kunst, C., Grau, R., & Aráoz, E. (2010). Fire-rainfall relationships in Argentine Chaco savannas. *Journal of Arid Environments*, 74(10), 1319-1323.
- Brody, A. K. (1997). Effects of pollinators, herbivores, and seed predators on flowering phenology. *Ecology*, 78(6), 1624-1631.
- Brown, J., & York, A. (2016). Fire, food and sexual deception in the neighbourhood of some Australian orchids. *Austral Ecology*. En prensa.
- Brown, J., York, A., & Christie, F. (2016 a) Fire effects on pollination in a sexually deceptive orchid. *International Journal of Wildland Fire*. En prensa.
- Brown, J., York, A., Christie, F., & McCarthy, M. (2016 b). Effects of fire on pollinators and pollination. *Journal of Applied Ecology* 54(1): 313-322.
- Brunet, J. (2005). Plant-pollinator interactions and pollen dispersal. *In: Dafni, A., Kevan, P. G., & Husband, B. C. (Eds.). Practical pollination biology*. Pp: 56-82. Enviroquest, Ltd. Cambridge, Ontario, Canada.
- Brye, K. R. (2006). Soil physiochemical changes following 12 years of annual burning in a humid-subtropical tallgrass prairie: a hypothesis. *Acta Oecologica* 30, 407-413.
- Bucher, E. (1982). Chaco and Caatinga. South American arid savannas, woodlands and thickets. *En: B. Huntley y B. Walker. Ecology of tropical savannas*. Ecological studies 42: 48-79.
- Bucher, E. H. & J. Schofield. (1981). Economic assault on Chagas disease. *New Scientist* 92: 321-324.
- Burd, M. (1994). Bateman's principle and plant reproduction: the role of pollen limitation in fruit and seed set. *The Botanical Review*, 60(1), 83-139.
- Burkart, A. (1987). Leguminosae. *En: Burkart, A., N. Troncoso & N. Bacigalupo (Eds.). Flora de Entre Ríos. Tomo VI. Parte III: Dicotiledóneas Arquiclamídeas*. INTA Ediciones, Buenos Aires.

- Burkepile, D. E., Thompson, D. I., Fynn, R. W., Koerner, S. E., Eby, S., Govender, N., Hagenah, N., Lemoine, N.P., Matchett, K.P., Wilcox, K.R., Collins, S.L. Kirkman, K.P., Knapp, A.K. & M.D. Smit (2016). Fire frequency drives habitat selection by a diverse herbivore guild impacting top-down control of plant communities in an African savanna. *Oikos* 125: 1636–1646.
- Burkle, L. A. & Irwin, R. E. (2009). The effects of nutrient addition on floral characters and pollination in two subalpine plants, *Ipomopsis aggregata* and *Linum lewisii*. *Plant Ecology*, 203(1), pp.83–98.
- Burkle, L.A. & Irwin, R.E. (2010). Beyond biomass: Measuring the effects of community-level nitrogen enrichment on floral traits, pollinator visitation and plant reproduction. *Journal of Ecology*, 98(3), pp.705–717.
- Cabido, M., Carranza, M. L., Acosta, A., & Páez, S. (1991). Contribución al conocimiento fitosociológico del Bosque Chaqueño Serrano en la provincia de Córdoba, Argentina. *Phytocoenologia*, 19, 547-566.
- Cabido, M., Giorgis, M., & Tourn, M. (2010). Guía para una excursión botánica en las Sierras de Córdoba. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 45 (1-2): 209-219.
- Cabrera, A. L. (1971) Fitogeografía de la República Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 14 (1-2), 1-42.
- Calviño, A. A. (2006). Evaluación del éxito reproductivo de *Caesalpinia gilliesii* (Fabaceae) en función de la densidad a distintas escalas. Tesis Doctoral. FCEFyN, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Campbell, D. R., & Halama, K. J. (1993). Resource and pollen limitations to lifetime seed production in a natural plant population. *Ecology*, 74(4), 1043-1051.
- Campbell, J. W., Hanula, J. L., & Waldrop, T. A. (2007). Effects of prescribed fire and fire surrogates on floral visiting insects of the blue ridge province in North Carolina. *Biological conservation*, 134(3), 393-404.
- Caon, L., Vallejo V. R., Coen R. J. & Geissen V. (2014). Effects of wildfire on soil nutrients in Mediterranean ecosystems. *Earth-Sci. Rev.* 139, 47-58.
- Capitanelli, C. (1979) . Clima. *En: Vázquez, J.B., Miatello, R.A., & Roqué, M.E. (Eds.). Geografía física de la provincia de Córdoba.* Ed. Boldt. Argentina.
- Carbone, L. M., & Aguilar, R. (2016). Contrasting effects of fire frequency on plant traits of three dominant perennial herbs from Chaco Serrano. *Austral Ecology*, 41(7), 778-790.
- Carbone, L. M., & Martinat, J. E. (2012). Efecto de la depredación pre-dispersiva de semillas por Bruchidae (Coleoptera) en la germinación de *Rhynchosia edulis* Griseb. (Fabaceae). V Jornadas Integradas de Investigación y Extensión. Facultad Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba. ISSN: 978-987-1925-01-8.
- Carbone, L. M., Aguilar, R., & Fuentes, E. (2013). Caracteres funcionales y herbivoría en Fabaceae nativas forrajeras en relación al fuego. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 48 (Supl.), 63.
- Carbone, L. M., Fuentes, E., & Aguilar, R. (2015). Interacción entre polinizadores y Fabaceae nativas forrajeras en escenarios post-fuego del Chaco Serrano. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 50 (Supl.): 103.
- Cardel, Y. J., & Koptur, S. (2010). Effects of florivory on the pollination of flowers: an experimental field study with a perennial plant. *International Journal of Plant Sciences*, 171(3), 283-292.
- Cariveau, D., Irwin, R. E., Brody, A. K., Garcia-Mayeya, L. S., & Von Der Ohe, A. (2004). Direct and indirect effects of pollinators and seed predators to selection on plant and floral traits. *Oikos*, 104(1), 15-26.

- Carpenter, F. L., & Recher, H. F. (1979). Pollination, reproduction, and fire. *The American Naturalist*, 113(6), 871-879.
- Carreira, J. A., & Niell, F. X. (1992). Plant nutrient changes in a semi-arid Mediterranean shrubland after fire. *J. Veg. Sci.* 3, 457-66.
- Casals, P., Romanya, J. & Vallejo, V. R. (2005). Short-term nitrogen fixation by legume seedlings and resprouts after fire in Mediterranean old-fields. *Biogeochemistry* 76, 477-501.
- Cascone, G., Carbone, L. M. & Aguilar, R. (2016). Evaluación de progenies de *Cologania broussonetii* provenientes de diferentes estrategias reproductivas y escenarios de frecuencia de fuego. Proyecto de Tesis de Licenciatura en Cs. Biológicas. FCEFYN, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. En desarrollo.
- Center, T. D., & Johnson, C. D. (1974). Coevolution of some seed beetles (Coleoptera: Bruchidae) and their hosts. *Ecology*, 55(5), 1096-1103.
- Certini, G. (2005). Effects of fire on properties of forest soils: a review. *Oecologia*, 143(1), 1-10.
- Chacoff, N. P., & Morales, C. L. (2007). Impacto de las alteraciones antrópicas sobre la polinización y la interacción planta-polinizador. *Ecología Austral*, 17(1), 3-5.
- Chapin, III F. S. (1980). The mineral nutrition of wild plants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 11, 233-260.
- Chapin. III F.S, Vitousek P. & Van Cleve K. (1986). The nature of nutrient limitation in plant communities. *Am Nat* 127:48-58.
- Charlesworth, D., & Charlesworth, B. (1987). Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual review of ecology and systematics*, 237-268.
- Chen, H., Batley, M., Redmond, J., & Rolfe, B. G. (1985). Alteration of the effective nodulation properties of a fastgrowing broad host range *Rhizobium* due to changes in exopolysaccharide synthesis. *J Plant Physiol* 120:331-349
- Chin, A. R., & Sillett, S. C. (2016). Phenotypic plasticity of leaves enhances water-stress tolerance and promotes hydraulic conductivity in a tall conifer. *American journal of botany*, 103(5), 796-807.
- Christensen, N. L. (1977). Fire and soil-plant nutrient relations in a pine-wiregrass savanna on the coastal plain of North Carolina. *Oecologia*, 31(1), 27-44.
- Cianciaruso, M. V., Silva, I. A., Batalha, M. A., Gaston, K. J. & Petchey, O. L. (2012). The influence of fire on phylogenetic and functional structure of woody savannas: moving from species to individuals. *Perspect. Plant. Ecol.* 14, 205-216.
- Cingolani, A. M., Vaieretti, M. V., Giorgis, M. A., La Torre, N., Whitworth-Hulse, J. I., & Renison, D. (2013). Can livestock and fires convert the sub-tropical mountain rangelands of central Argentina into a rocky desert?. *The Rangeland Journal*, 35(3), 285-297.
- Clarke, K. R. (1993). Non-parametric multivariate analysis of changes in community structure. *Australian Journal of Ecology* 18, 117-143.
- Colwell, R. K. (2013). EstimateS, Version 9.1: Statistical Estimation of Species Richness and Shared Species from Samples. User's Guide and application published at: <http://purl.oclc.org/estimates>.
- Cornelissen, J. H. C., Lavorel, S., Garnier, E., Diaz, S., Buchmann, N., Gurvich, D. E., ... & Pausas, J. G. (2003). A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Australian journal of Botany*, 51(4), 335-380.
- Crawley, M. J. (2000). Seed predators and plant population dynamics. *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*. CAB International, Wallingford, 167-182.
- Crutzen, P. J. (2006). The Anthropocene. *En: Ehlers, E. & Ktafft, T. (Ed.). Earth system science in the anthropocene*. Springer. Pp: 13-18.
- Dafni, A. (1992). *Pollination Ecology: A Practical Approach*. Oxford University Press.

- Dafni, A., Izhaki, I. & Ne'eman, G. (2012). The effect of fire on biotic interactions in Mediterranean basin ecosystems: pollination and seed dispersal. *Israel Journal of Ecology & Evolution*, 58(2-3), 235-250.
- Dale, V. H., Joyce, L. A., McNulty, S., Neilson, R. P., Ayres, M. P., Flannigan, M. D., Hanson, P. J., Irland, L. C., Lugo, A. E., Peterson, C. J., Simberloff, D., Swanson, F. J., Stocks, B. J., & Wotton, B. M. (2001). Climate change and forest disturbances. *BioScience*, 51(9), 723-734.
- Dantas, V. de L., & Pausas, J. G. (2013). The lanky and the corky: fire-escape strategies in savanna woody species. *Journal of Ecology*, 101(5), 1265-1272.
- Dantas, V. de L., Pausas, J. G., Batalha, M. A., Loiola, P. de P., & Cianciaruso, M. V. (2013 a). The role of fire in structuring trait variability in Neotropical savannas. *Oecologia* 171, 487-494.
- Dantas, V. de L., Batalha, M. A., & Pausas, J. G. (2013 b). Fire drives functional thresholds on the savanna–forest transition. *Ecology* 94(11), 2454-2463.
- Dantas, V. de L., Batalha, M. A., França, H., & Pausas, J. G. (2015). Resource availability shapes fire-filtered savannas. *Journal of Vegetation Science*, 26(2), 395-403.
- Davies, G. M. (2013). Understanding fire regimes and the ecological effects of fire. *En: Belcher, C. M. (Ed.). Fire phenomena and the earth system: an interdisciplinary guide to fire science.* (pp. 95-124. First Edition, John Wiley & Sons Ltd. Published, UK.
- De Cáceres, M., & Legendre, P. (2009). Associations between species and groups of sites: indices and statistical inference. *Ecology* 90(12): 3566-3574.
- De Faria, S.M., Lewis, G.P., Sprent, J.I., & Sutherland, J.M. (1989). Occurrence of nodulation in the Leguminosae. *New Phytol* 111:607-619
- De Menezes, L. C., Klein, J., Kestring, D., & Rossi, M. N. (2010). Bottom-up and top-down effects in a pre-dispersal seed predation system: are non-predated seeds damaged?. *Basic and Applied Ecology*, 11(2), 126-134.
- Díaz, S., Cabido, M., & Casanoves, F. (1998). Plant functional traits and environmental filters at a regional scale. *J. Veg. Sci.* 9(1):113-122.
- Díaz, S., Cabido, M., Zak, M., Carretero, E. M. & Aranibar, J. (1999). Plant functional traits, ecosystem structure and land-use history along a climatic gradient in central-western Argentina. *J. Veg. Sci.* 10:651-660.
- Díaz, S., Noy-Meir, I., & Cabido, M. (2001). Can grazing response of herbaceous plants be predicted from simple vegetative traits?. *Journal of Applied Ecology*, 38(3), 497-508.
- Dirzo, R., & Domínguez, C. A. (1995). Plant-herbivore interactions in Mesoamerican tropical dry forests. *En: Bullock, S.H., Mooney, H.A. & Medina, E. (Eds.). Seasonally Dry Tropical Forests.* pp 304-325.
- Doerr, S.H. & Shakesby R.A. (2013). Fire and the land surface. *En: Belcher, C. M. (Ed.). Fire Phenomena and the Earth System. An interdisciplinary guide to fire science.* Wiley-Blackwell.
- Durigan, G., & Ratter, J. A. (2016). The need for a consistent fire policy for Cerrado conservation. *Journal of Applied Ecology*, 53(1), 11-15.
- Ebeling, A., Klein, A.M., Schumacher, J., Weisser, W.W. & Tschardtke, T. (2008). How does plant richness affect pollinator richness and temporal stability of flower visits? *Oikos* 117: 1808-1815.
- Eckert, C. G., Samis, K. E., & Dart, S. (2006). Reproductive assurance and the evolution of uniparental reproduction in flowering plants. *En: Hardet, L.D. & Barret, S.C.H. (Eds.). Ecology and evolution of flowers.* Oxford Biology. Pp: 183-203.
- Ellis, E. C., & Ramankutty, N. (2008). Putting people in the map: anthropogenic biomes of the world. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 6(8), 439-447.

- Endler, J. A. (1986). *Natural Selection in the Wild*. Princeton Univ Press, Princeton. 336 p.
- Fenesi, A. R., Saura-Mas, S., Blank, R. R., Kozma, A., LÃ³zer, B. T. M., & Ruprecht, E. (2016). Enhanced fire-related traits may contribute to the invasiveness of Downy Brome (*Bromus tectorum*). *Invasive Plant Science and Management*, en prensa. <http://dx.doi.org/10.1614/IPSM-D-16-00006.1>
- Fernández, J. G. B., Pizzio, C. A., Pallarés, R. M. R., Fernández, O. M. J. G., Benítez, C. A., Pizzio, R. M., & Pallarés, O. M. R. (1988). Leguminosas forrajeras nativas del Este de la provincia de Corrientes. Serie Técnica N° 26. INTA Mercedes: 21-27.
- Figueroa-Fleming, T. (2014). Interacciones planta-polinizador en Papilionoideas (Leguminosae) simpátricas nativas de Salta, Argentina. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de Salta, Argentina.
- Flannigan, M. D., Stocks, B. J., & Wotton, B. M. (2000). Climate change and forest fires. *Science of the total environment*, 262(3), 221-229.
- Fortunato, R.H. (1983). Sinopsis de las Especies Argentinas del Genero *Rhynchosia*. *Parodiana* 2(1), 25-58.
- Fortunel, C., & Garnier, E. (2009). Leaf traits capture the effects of land use changes and climate on litter decomposability of grasslands across Europe. *Ecology* 90, 598-611.
- Freschet, G. T., Swart, E.M., & Cornelissen, J.H. (2015). Integrated plant phenotypic responses to contrasting above and below ground resources: key roles of specific leaf area and root mass fraction. *New Phytologist*, 206(4), 1247-1260.
- Fuentes, E., Carreras, M.E., Carbone, L.M., Jewsbury, G., Loyola, M.J. & Martinat, J.E. (2011). Especies nativas de las Sierras Chicas (Córdoba, Argentina) con estrategias de regeneración post- fuego. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 46 (Supl.): 192.
- García, M. B. & Ehrlén, J. (2009). Evaluación de los efectos demográficos y evolutivos de las interacciones planta-animal mediante modelos matriciales. *En: Medel, R., Aizen, M. & Zamora, R. (Eds.). Ecología y evolución de interacciones planta-animal*. Editorial Universitaria. pp:95- 111.
- García, Y., Castellanos, M. C., & Pausas, J. G. (2016). Fires can benefit plants by disrupting antagonistic interactions. *Oecologia*, en prensa.
- Gavier, G. I., & Bucher, E. H. (2004). Deforestación de las Sierras Chicas de Córdoba (Argentina) en el período 1970-1997. *Academia Nacional de Ciencias. Miscelánea*, 101,1-27.
- Geerts, S., Malherbe, S. D., & Pauw, A. (2012). Reduced flower visitation by nectar-feeding birds in response to fire in Cape fynbos vegetation, South Africa. *Journal of Ornithology*, 153(2), 297-301.
- Giorgis, M. A. (2011). Caracterización florística y estructural del Bosque Chaqueño Serrano (Córdoba) en relación a gradientes ambientales y de uso. Tesis Doctoral. FCEfyN, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Giorgis, M. A., Cingolani, A. M., Chiarini, F., Chiapella, J., Barboza, G., Ariza Espinar, L., Morero, R., Gurvich, D. E., Tecco, P. A., Subils, R. & Cabido, M. (2011). Composición florística del Bosque Chaqueño Serrano en la provincia de Córdoba, Argentina. *Kurtziana* 36(1), 9-43.
- Giorgis, M. A., Cingolani, A. M., & Cabido, M. (2013). El efecto del fuego y las características topográficas sobre la vegetación y las propiedades del suelo en la zona de transición entre bosques y pastizales de las sierras de Córdoba, Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 48(3-4), 493-513.
- Giorgis, M. A., Cingolani, A. M., Gurvich, D. E., & Astegiano, J. (2015). Flowering phenology, fruit set and seed mass and number of five coexisting *Gymnocalycium* (Cactaceae) species from Córdoba mountain, Argentina. *The Journal of the Torrey Botanical Society*, 142(3), 220-230.

- Glikson, A. (2013). Fire and human evolution: the deep-time blueprints of the Anthropocene. *Anthropocene*, 3, 89-92.
- Goergen, E.M. & Chambers, J.C. (2009). Influence of a native legume on soil N and plant response following prescribed fire in sagebrush steppe. *Int. J. Wildland Fire* 18, 665-675.
- Gómez-González, S., Torres-Díaz, C., Bustos-Schindler, C., & Gianoli, E. (2011). Anthropogenic fire drives the evolution of seed traits. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(46), 18743-18747.
- Gómez-González, S., Ojeda, F., Torres-Morales, P., & Palma, J. E. (2016). Seed pubescence and shape modulate adaptive responses to fire cues. *PloS one*, 11(7), e0159655.
- González-Pelayo, O., Gimeno-García, E., Ferreira, C.S.S., Ferreira, A.J.D., Keizer, J.J., Andreu, V., & Rubio, J.L. (2015). Water repellency of air-dried and sieved samples from limestone soils in central Portugal collected before and after prescribed fire. *Plant and Soil*, 394(1-2), 199-214.
- Grau, G., Yates, R.J., Deiana, P. & Howieson, J.G. (2009). Novel strains of nodulating *Burkholderia* have a role in nitrogen fixation with papilionoid herbaceous legumes adapted to acid, infertile soils. *Soil Biol Biochem* 41:125-134
- Guinto, D. F., Xu, Z., House, A. P., & Saffigna, P. G. (2000). Assessment of N₂ fixation by understory acacias in recurrently burnt eucalypt forests of subtropical Australia using ¹⁵N isotope dilution techniques. *Canadian journal of forest research*, 30(1), 112-121.
- Gurvich, D. E., Enrico, L., & Cingolani, A. M. (2005). Linking plant functional traits with post-fire sprouting vigour in woody species in central Argentina. *Austral Ecology*, 30(7), 789-796.
- Haig, D. & Westoby, M. (1988). On limits to seed production. *The American Naturalist*, 131(5), pp.757-759.
- Hendricks, J. L. & Boring, L. R. (1999). N₂-fixation by native herbaceous legumes in burned pine ecosystems of the southwestern United States. *For. Ecol. Manage.* 113, 167-177.
- Herrera, C. M., & Bazaga, P. (2013). Epigenetic correlates of plant phenotypic plasticity: DNA methylation differs between prickly and nonprickly leaves in heterophyllous *Ilex aquifolium* (Aquifoliaceae) trees. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 171(3), 441-452.
- Hiers, J. K., Wyatt, R., & Mitchell, R. J. (2000). The effects of fire regime on legume reproduction in longleaf pine savannas: is a season selective?. *Oecologia*, 125(4), 521-530.
- Hiers, J. K. & Mitchell, R. J. (2007). The influence of burning and light availability on N₂-fixation of native legumes in longleaf pine woodlands. *J. Torrey Bot. Soc.* 134(3), 398-409.
- Hiers, J. K., Mitchell, R. J., Boring, L. R., Hendricks, J. J. & Wyatt, R. (2003). Legumes native to longleaf pine savannas exhibit capacity for high N₂-fixation rates and negligible impacts due to timing of fire. *New Phytol.* 157, 327-338.
- Hódar, J. A., Obeso, J. R. & Zamora, R. (2009). Cambio climático y modificación de interacciones planta-animal. *En: Medel, R., Aizen M. & Zamora, R. (Eds.). Ecología y evolución de interacciones planta-animal. Editorial Universitaria. pp:287- 299.*
- Hoffmann, W. A. (1998). Post-burn reproduction of woody plants in a neotropical savanna: the relative importance of sexual and vegetative reproduction. *Journal of Applied Ecology*, 35(3), 422-433
- Howard, P. J. A. & Howard, D. M. (1990). Use of organic carbon and loss on ignition to estimate soil organic matter in different soil types and horizons. *Biol. Fert. Soils* 9, 306-310.
- Hsieh, T. C., K. H. Ma, & A. Chao. (2013). iNEXT online: interpolation and extrapolation (Version 1.0) [Software]. Available from <http://chao.stat.nthu.edu.tw/blog/software-download/>.
- Jackman, S., Fearon, J., Jackman, M. S., & MCMCpack, S. (2008). The pscl Package. Political Science Computational Laboratory. Available at: <http://pscl.stanford.edu/>

- Jaureguiberry, P. (2012). Caracteres funcionales, flamabilidad y respuesta al fuego de especies vegetales dominantes en distintas situaciones de uso de la tierra en el centro-oeste de Argentina. Tesis Doctoral. FCEFyN, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Karlin, M., Arnulphi, S., Alday, A., Bernasconi, J., & Accietto, R. (2016). Revegetación post-incendio en matorrales de *Acacia* spp. en las Sierras de Córdoba, Argentina central. *Oecologia Australis*, 20(4): 464-476.
- Kay, A. D., Schade, J. D., Ogdahl, M., Wesslerle, E. O., & Hobbie, S. E. (2007). Fire effects on insect herbivores in an oak savanna: the role of light and nutrients. *Ecological Entomology*, 32(6), 754-761.
- Kearns, C.A., Inouye, D.W., & Waser, N.M. (1998). Endangered mutualisms: the conservation of plant-pollinator interactions. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 29: 83-112.
- Keeley, J. E., & Zedler, P. H. (1978). Reproduction of chaparral shrubs after fire: a comparison of sprouting and seeding strategies. *American Midland Naturalist*, 142-161.
- Keeley, J. E., Pausas, J. G., Rundel, P. W., Bond, W. J. & Bradstock, R. A. (2011). Fire as an evolutionary pressure shaping plant traits. *Trends Plant Sci.* 16(8), 406-411.
- Khan, Z. R., Hassanali, A., Overholt, W., Khamis, T. M., Hooper, A. M., Pickett, J. A., Wadhams, L. J., & Woodcock, C. M. (2002). Control of witchweed *Striga hermonthica* by intercropping with *Desmodium* spp., and the mechanism defined as allelopathic. *Journal of chemical ecology*, 28(9), 1871-1885.
- Kilkenny, F. F., & Galloway, L. F. (2008). Reproductive success in varying light environments: direct and indirect effects of light on plants and pollinators. *Oecologia*, 155(2), 247-255.
- Kingsolver, J. M. (2004). Handbook of the Bruchidae of the United States and Canada (Insecta, Coleoptera).
- Klein, A. M., Vaissiere, B. E., Cane, J. H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen, C., & Tscharntke, T. (2007). Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 274(1608), 303-313.
- Knicker, H. (2007). How does fire affect the nature and stability of soil organic nitrogen and carbon? A review. *Biogeochemistry*, 85(1), 91-118.
- Koricheva, J., Gurevitch, J., & Mengersen, K. (2013). Handbook of meta-analysis in ecology and evolution. Princeton and Oxford: Princeton University Press, Princeton.
- Kraus, T., & Basconsuelo, S. (2009). Secondary root growth in *Rhynchosia edulis* Griseb. (Leguminosae): Origin of cambium and their products. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 204(9), 635-643.
- Kunst, C. (2011). Ecología y uso del fuego en la región chaqueña Argentina. *Boletín Informativo CIDEU*, (10), 81-105.
- Kunst, C. R. & Bravo, S. (2003). Ecología y régimen de fuego en la región chaqueña argentina. *En: Kunst, C. R. & Bravo S. & J. L. Panigatti (Eds.). Fuego en los ecosistemas Argentinos.* pp. 47-59. INTA, Santiago del Estero, Arg.
- Latzel, V., Hájek, T., Klimešová, J., & Gómez, S. (2009). Nutrients and disturbance history in two *Plantago* species: maternal effects as a clue for observed dichotomy between resprouting and seeding strategies. *Oikos*, 118(11), 1669-1678.
- Latzel, V., Klimešová, J., Hájek, T., Gómez, S., & Šmilauer, P. (2010). Maternal effects alter progeny's response to disturbance and nutrients in two *Plantago* species. *Oikos*, 119(11), 1700-1710.
- Lazarina, M., Sgardelis, S. P., Tscheulin, T., Devalez, J., Mizerakis, V., Kallimanis, A. S., ... & Petanidou, T. (2017). The effect of fire history in shaping diversity patterns of flower-visiting insects in post-fire Mediterranean pine forests. *Biodiversity and Conservation*, 26(1), 115-131.

- Lefcheck, J. S. (2016). piecewiseSEM: Piecewise structural equation modelling in r for ecology, evolution, and systematics. *Methods in Ecology and Evolution* 7, 573–579.
- Lewis, S. L., & Maslin, M. A. (2015). Defining the anthropocene. *Nature*, 519(7542), 171-180.
- Li, D., & Waller, D. (2015). Drivers of observed biotic homogenization in pine barrens of central Wisconsin. *Ecology*, 96(4), 1030-1041.
- Litsios, G., Wüest, R. O., Kostikova, A., Forest, F., Lexer, C., Linder, H. P., Pearman P.B., Zimmermann N.E., & Salamin, N. (2014). Effects of a fire response trait on diversification in replicated radiations. *Evolution*, 68(2), 453-465.
- Liu, H., Menges, E. S., Snyder, J. R., Koptur, S., & Ross, M. S. (2005). Effects of fire intensity on vital rates of an endemic herb of the Florida Keys, USA. *Natural Areas Journal*, 25(1), 71-76.
- Lloret, F., Estevan, H., Vayreda, J., & Terradas, J. (2005). Fire regenerative syndromes of forest woody species across fire and climatic gradients. *Oecologia*, 146(3), 461-468.
- Loiola, P. P., Cianciaruso, M. V., Silva, I. A., & Batalha, M. A. (2010). Functional diversity of herbaceous species under different fire frequencies in Brazilian savannas. *Flora* 205, 674-681.
- Lovey, R. J., Perissé, P., Vieyra, C., & Coraglio, J. C. (2010). Caracterización de semilla, germinación y plántula de *Cologania broussonetii* (Balb.) DC. *Phyton* 79, 5-10.
- Luti, R., Bertran de Solis, M. A., Galera, M. F., Müller de Ferreira, N., Berzal, M., Nores, M., Herrera, M. A., & Barrera, J. C. (1979). Vegetación. *En: Vázquez, J. B., Miatello, R. A., & Roqué, M. E. (Eds.). Geografía física de la provincia de Córdoba.* pp. 297-368. Editorial Boldt, Buenos Aires, Arg.
- Martin, T. G., Wintle, B. A., Rhodes, J. R., Kuhnert, P. M., Field, S. A., Low-Choy, S. J., & Possingham, H. P. (2005). Zero tolerance ecology: improving ecological inference by modelling the source of zero observations. *Ecology letters*, 8(11), 1235-1246.
- Martinat, J. E., & Fuentes, E. (2016). Efecto de las altas temperaturas en la germinación de Fabaceae forrajeras de las Sierras Chicas de Córdoba, Argentina. *Iheringia. Série Botânica.*, 71(1), 5-12.
- McVaugh, R. (1987). *Flora Novo-Galiciana. A descriptive account of the Vascular Plants of Western Mexico. Volume 5: Leguminosae.* Ann Arbor. The University of Michigan Press.
- Medel, R., Aizen, M.A., & Zamora, R. (2009). *Ecología y evolución de interacciones planta-animal.* Editorial Universitaria. Santiago, Chile. 399p.
- Miao, S. L., Bazzaz, F. A., & Primack, R. B. (1991). Persistence of maternal nutrient effects in *Plantago major*: the third generation. *Ecology*, 72(5), 1634-1642.
- Miglietta, S. (1994). Patrón de ocurrencia de incendios y su efecto sobre la vegetación en el Bosque Serrano de Córdoba. Tesis de Maestría. FCEfyN, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina, 60 p.
- Mitchell, R. J. (2001). Path analysis - Pollination. *En: Scheiner S.M. & Gurevitch J. (Eds). Design and analysis of ecological experiments. Second edition.* Oxford University Press.
- Morales, C. L. & Galetto, L. (2003). Influence of compatibility system and life form on plant reproductive success. *Plant Biology*, 5(5), pp.567–573.
- Moreira, B., Tavsanoğlu Ç., & Pausas, J. G. (2012). Local vs. regional intraspecific variability in regeneration traits. *Oecologia* 168, 671-677.
- Moreira, B., Castellanos, M. C., & Pausas, J. G. (2014). Genetic component of flammability variation in a Mediterranean shrub. *Molecular ecology*, 23(5), 1213-1223.
- Morello, J., & Saravia Toledo, C. (1959). El bosque chaqueño I y II. *Revista Agronómica del Noroeste Argentino*, 3: 5-81/209-258.

- Moretti, M., Duelli, P., & Obrist, M. K. (2006). Biodiversity and resilience of arthropod communities after fire disturbance in temperate forests. *Oecologia*, 149(2), 312-327.
- Moretti, M., De Bello, F., Roberts, S. P., & Potts, S. G. (2009). Taxonomical vs. functional responses of bee communities to fire in two contrasting climatic regions. *Journal of Animal Ecology*, 78(1), 98-108.
- Moritz, M. A., Parisien, M. A., Batllori, E., Krawchuk, M. A., Van Dorn, J., Ganz, D. J., & Hayhoe, K. (2012). Climate change and disruptions to global fire activity. *Ecosphere*, 3(6), 1-22.
- Muñoz, A. A., Celedon-Neghme, C., Cavieres, L. A., & Arroyo, M. T. (2005). Bottom-up effects of nutrient availability on flower production, pollinator visitation, and seed output in a high-Andean shrub. *Oecologia*, 143(1), 126-135.
- Ne'eman, G., & Dafni, A. (1999). Fire, bees, and seed production in a Mediterranean key species *Salvia fruticosa* Miller (Lamiaceae). *Israel Journal of Plant sciences*, 47(3), 157-163.
- Ne'eman, G., Dafni, A., & Potts, S. G. (2000). The effect of fire on flower visitation rate and fruit set in four core-species in east Mediterranean scrubland. *Plant Ecology*, 146(1), 97-104.
- Ne'eman, G., Ne'eman, R., & Ellison, A. M. (2006). Limits to reproductive success of *Sarracenia purpurea* (Sarraceniaceae). *American Journal of Botany*, 93(11), 1660-1666.
- Nepstad, D., Carvalho, G., Barros, A. C., Alencar, A., Capobianco, J. P., Bishop, J., Moutinho P., Lefebvre P., Lopes Silva U.J., & Prins, E. (2001). Road paving, fire regime feedbacks, and the future of Amazon forests. *Forest ecology and management*, 154(3), 395-407.
- Neuschulz, E. L., Mueller, T., Schleuning, M., & Böhning-Gaese, K. (2016). Pollination and seed dispersal are the most threatened processes of plant regeneration. *Scientific Reports*, 6, 29839.
- Nield, A. P., Enright, N. J., & Ladd, P. G. (2016). Fire-stimulated reproduction in the resprouting, non-serotinous conifer *Podocarpus drouynianus* (Podocarpaceae): the impact of a changing fire regime. *Population Ecology*, 58(1), 179-187.
- Njarui, D.M.G., Beattie W.M., Jones R.K., & Keating, B. A. (2004). Evaluation of forage legumes in the semi-arid region of eastern Kenya. I. Establishment, visual bulk rating, insects pests and diseases incidences of a range of forage legumes. *Trop Subtro. Agroecosyt* 4:33-55.
- Obeso, J. R. (2002). The costs of reproduction in plants. *New Phytologist*, 155(3), 321-348.
- Ojeda, F., Pausas, J. G., & Verdú, M. (2010). Soil shapes community structure through fire. *Oecologia* 163, 729-735.
- Ojeda, F., Niet, T., Malan, M. C., Midgley, J. J., & Segarra-Moragues, J. G. (2016). Strong signature of selection in seeder populations but not in resprouters of the fynbos heath *Erica coccinea* (Ericaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181(1), 115-126.
- Oksanen, J., Blanchet, F.G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., Minchin, P.R., O'Hara, R. B., Simpson, G.L., Solymos, P., Stevens, M.H.H., Szoecs, E., & Wagner, H. (2016). *vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.4-0. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>.
- Olden, J. D., Poff, N. L., Douglas, M. R., Douglas, M. E., & Fausch, K. D. (2004). Ecological and evolutionary consequences of biotic homogenization. *Trends in ecology & evolution*, 19(1), 18-24.
- Ollerton, J., Winfree, R., & Tarrant, S. (2011). How many flowering plants are pollinated by animals?. *Oikos*, 120(3), 321-326.
- Ordoñez, J. C., van Bodegom, P. M., Witte, J. P. M., Wright, I. J., Reich, P. B. & Aerts, R. (2009). A global study of relationships between leaf traits, climate and soil measures of nutrient fertility. *Global Ecol. Biogeogr.* 18, 137-149.

- Paritsis, J., Veblen, T. T., & Holz, A. (2015). Positive fire feedbacks contribute to shifts from *Nothofagus pumilio* forests to fire-prone shrublands in Patagonia. *Journal of Vegetation Science*, 26(1), 89-101.
- Paula, S., & Pausas, J. G. (2006). Leaf traits and resprouting ability in the Mediterranean basin. *Funct. Ecol.* 20, 941-947.
- Pausas, J. G. (2004). Changes in fire and climate in the eastern Iberian Peninsula (Mediterranean Basin). *Climatic Change* 63, 337-350.
- Pausas, J. G. (2012). Incendios Forestales. Ed. Catarata. CSIC. Madrid, España. 119 p.
- Pausas, J.G. (2015 a). Alternative fire-driven vegetation states. *Journal of Vegetation Science*, 26(1), 4-6.
- Pausas, J. G. (2015 b). Evolutionary fire ecology: lessons learned from pines. *Trends in Plant Science* 20(5), 318-324.
- Pausas, J. G. (2015 c). Bark thickness and fire regime. *Functional Ecology*, 29(3), 315-327.
- Pausas, J. G., & Keeley, J. E. (2009). A burning story: the role of fire in the history of life. *BioScience* 59(7), 598-601
- Pausas, J. G., & Keeley, J. E. (2014). Evolutionary ecology of resprouting and seeding in fire-prone ecosystems. *New Phytologist*, 204(1), 55-65.
- Pausas, J. G., & Schwilk, D. (2012). Fire and plant evolution. *New Phytologist*, 193(2), 301-303.
- Pausas, J. G., & Verdú, M. (2008). Fire reduces morphospace occupation in plant communities. *Ecology* 89(8), 2181-2186.
- Pausas, J. G., Bradstock, R. A., Keith, D. A., Keeley, J. E., & GCTE. (2004). Plant functional traits in relation to fire in crown-fire ecosystems. *Ecology* 85(4), 1085-1100.
- Pausas, J. G., Alessio, G, Moreira, B, & Corcobado, G. (2012). Fires enhance flammability in *Ulex parviflorus*. *New Phytologist* 193, 18–23.
- Pausas, J. G., Pratt, R. B., Keeley, J. E., Jacobsen, A. L., Ramirez, A. R., Vilagrosa, A., Paula, S., Kaneakua-Pia, I. N., & Davis, S. D. (2016). Towards understanding resprouting at the global scale. *New Phytologist*, 209(3), 945-954.
- Pauw, A. (2007). Collapse of a pollination web in small conservation areas. *Ecology*, 88(7), 1759-1769.
- Pellegrini, A. F. A., Hedin, L. O., Staver, A. C. & Govender, N. (2015). Fire alters ecosystem carbon and nutrients but not plant nutrient stoichiometry or composition in tropical savanna. *Ecology* 96(5), 1275-1285.
- Pérez-Harguindeguy, N., Diaz, S., Garnier, E., *et al.* (2013). New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany* 61(3), 167-234.
- Pérez-Ramos, I. M., Roumet, C., Cruz, P., Blanchard, A., Autran P., & Garnier, E. (2012). Evidence for a 'plant community economics spectrum' driven by nutrient and water limitations in a Mediterranean rangeland of southern France. *J. Ecol.* 100, 1315-1327.
- Pinheiro, J., & Bates, D. (2000). nlme: Linear and nonlinear mixed effects models. R package version 3:1-120. [URL:http://CRAN.Rproject.org/package=nlme](http://CRAN.Rproject.org/package=nlme)
- Pinheiro, J., Bates, D., Debroy, S., Sarkar, D., & The R Core team. (2009). nlme: Linear and nonlinear mixed effects models. R package version 3, 1-96.
- Poorter, H., Niklas, K. J., Reich, P. B., Oleksyn, J., Poot, P., & Mommer, L. (2012). Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental control. *New Phytologist*, 193(1), 30-50.
- Potts, S. G. (2005). Plant-Pollinator interfase. *In*: Dafni, A., Kevan, P. G., & Husband, B. C. (Eds.). *Practical pollination biology*. Pp: 329-339. Enviroquest, Ltd. Cambridge, Ontario, Canada.

- Potts, S. G., Dafni, A., & Ne'eman, G. (2001). Pollination of a core flowering shrub species in Mediterranean phrygana: variation in pollinator diversity, abundance and effectiveness in response to fire. *Oikos*, 92(1), 71-80.
- Potts, S. G., Vulliamy, B., Dafni, A., Ne'eman, G., O'Toole, C., Roberts, S., & Willmer, P. (2003). Response of plant-pollinator communities to fire: changes in diversity, abundance and floral reward structure. *Oikos*, 101(1), 103-112.
- Potts, S. G., Vulliamy, B., Roberts, S., O'Toole, C., Dafni, A., Ne'eman, G., & Willmer, P. (2005). Role of nesting resources in organising diverse bee communities in a Mediterranean landscape. *Ecological Entomology*, 30(1), 78-85.
- Potts, S. G., Petanidou, T., Roberts, S., O'Toole, C., Hulbert, A., & Willmer, P. (2006). Plant-pollinator biodiversity and pollination services in a complex Mediterranean landscape. *Biological Conservation*, 129(4), 519-529.
- Potts, S. G., Biesmeijer, J. C., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O., & Kunin, W. E. (2010). Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology & Evolution*, 25(6), 345-353.
- Poulin, J., Sakai, A. K., Weller, S. G., & Nguyen, T. (2007). Phenotypic plasticity, precipitation, and invasiveness in the fire-promoting grass *Pennisetum setaceum* (Poaceae). *American Journal of Botany*, 94(4), 533-541.
- Prado-Júnior, J., Schiavini, I., Vale, V., Lopes, S., Arantes, C., & Oliveira, A. P. (2015). Functional leaf traits of understory species: strategies to different disturbance severities. *Braz. J. Biol.* 75(2), 339-346.
- Programa Nacional de Estadística Forestal. (2011). Estadística de Incendios Forestales 2010. Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación Argentina. Buenos Aires, Argentina. 102p. ISSN 1850-7239.
- Puntieri, J. G., Gatica, N., & Grosfeld, J. E. (2014). Flower removal increases rhizome mass in natural populations of *Alstroemeria aurea* (Alstroemeriaceae). *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 209(7), 332-339.
- R Core Team. (2016). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>
- Raison, R. J. (1979). Modification of the soil environment by vegetation fires, with particular reference to nitrogen transformations: a review. *Plant Soil* 51, 73-108.
- Reich, P. B., Abrams, M. D., Ellsworth, D. S., Kruger, E. L., & Tabone, T. J. (1990). Fire affects ecophysiology and community dynamics of central Wisconsin oak forest regeneration. *Ecology*, 71(6), 2179-2190.
- Renison, D., Cingolani, A.M., & Suarez, R. (2002). Efectos del fuego sobre un bosquecillo de *Polylepis australis* (Rosaceae) en las montañas de Córdoba, Argentina. *Revista chilena de historia natural*, 75(4), 719-727.
- Reverchon, F., Xu, Z., Blumfield, T. J., Chen, C., & Abdullah, K. M. (2012). Impact of global climate change and fire on the occurrence and function of understory legumes in forest ecosystems. *J. Soils Sediments* 12, 150-160.
- Rieske, L. K. (2002). Wildfire alters oak growth, foliar chemistry, and herbivory. *Forest Ecology and Management*, 168(1), 91-99.
- Rocca, M. E., Brown, P. M., MacDonald, L. H., & Carrico, C. M. (2014). Climate change impacts on fire regimes and key ecosystem services in Rocky Mountain forests. *Forest Ecology and Management*, 327, 290-305.
- Rooney, T. P., Olden, J. D., Leach, M. K., & Rogers, D. A. (2007). Biotic homogenization and conservation prioritization. *Biological Conservation*, 134(3), 447-450.

- Rosbakh, S., Romermann, C., & Poschold, P. (2015). Specific leaf area correlates with temperature: new evidence of trait variation at the population, species and community levels. *Alp. Botany* 125 (2), 79–86.
- Rosseel, Y. (2012). lavaan: An R package for structural equation modeling. *Journal of Statistical Software* 48(2), 1-36.
- Running, S.W. (2006). Is global warming causing more, larger wildfires?. *Science* 313(5789), 927-928.
- Sage, T. L., Husband, B. C., & Routley, M. B. (2005). Intrinsic attributes of the breeding system. *In: Dafni, A., Kevan, P. G., & Husband, B. C. (Eds.). Practical pollination biology.* Pp: 30-55. Enviroquest, Ltd. Cambridge, Ontario, Canada.
- Salgado-Negret, B., & Paz, H. (2015). Escalando de los rasgos funcionales a procesos poblacionales, comunitarios y ecosistémicos. pp 12-35. *En: Salgado-Negret, B. (Ed.). La ecología funcional como aproximación al estudio, manejo y conservación de la biodiversidad: protocolos y aplicaciones.* Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá, D. C. Colombia. 236 pp.
- Saura-Mas, S., & Lloret, F. (2009). Linking post-fire regenerative strategy and leaf nutrient content in Mediterranean woody plants. *Perspectives Plant Ecol.* 11, 219-229.
- Schemske, D. W., & Horvitz, C. C. (1988). Plant-animal interactions and fruit production in a neotropical herb: a path analysis. *Ecology*, 69(4), 1128-1137.
- Scott, A. C., Bowman, D. M., Bond, W. J., Pyne, S. J., & Alexander, M. E. (2013). *Fire on earth: an introduction.* John Wiley & Sons.
- Segarra-Moragues, J. G., Torres-Díaz, C., & Ojeda, F. (2013). Are woody seeder plants more prone than resprouter to population genetic differentiation in Mediterranean-type ecosystems?. *Evolutionary Ecology*, 27(1), 117-131.
- Sérsic, A., Cocucci, A., Benítez-Vieyra, S., Cosacov, A., Díaz, L., Glinos, E., Grosio N, Lazarte C., Medina M., Moré M., Moyano, M., Nattero J., Paiaro V., Trujillo C. & Wiemer P. (2006). Flores del centro de Argentina. Una guía ilustrada para conocer 141 especies. Córdoba, Arg. 354p.
- Shakesby, R. A., & Doerr, S. H. (2006). Wildfire as a hydrological and geomorphological agent. *Earth-Sci. Rev* 74, 69-307.
- Shi, X. J., Michaels, H. J., & Mitchell, R. J. (2005). Effects of self-pollination and maternal resources on reproduction and offspring performance in the wild lupine, *Lupinus perennis* (Fabaceae). *Sexual Plant Reproduction*, 18(2), 55-64.
- Shipley, B. (2013). The AIC model selection method applied to path analytic models compared using a d-separation test. *Ecology* 94(3), 560-564.
- Sprent, J. I., & Sprent, P. (1990). *Nitrogen fixing organisms. Pure and applied aspects.* Chapman and Hall, London.
- Stein, S. M., Comas, S. J., Menakis, J., Carr, M. A., Stewart, S. I., Cleveland, H., Bramwell; L., & Radeloff, V. C. (2013). Wildfire, wildlands, and people: understanding and preparing for wildfire in the wildland-urban interface. A Forests on the Edge report. USDA. Mountain Research Station. 36 p.
- Strauss, S. Y. (1997). Floral characters link herbivores, pollinators, and plant fitness. *Ecology*, 78(6), 1640-1645.
- Sunmonu, N., Ida, T. Y., & Kudo, G. (2013). Photosynthetic compensation by the reproductive structures in the spring ephemeral *Gagea lutea*. *Plant Ecology*, 214(2), 175-188.
- Swengel, A. B. (2001). A literature review of insect responses to fire, compared to other conservation managements of open habitat. *Biodiversity & Conservation*, 10(7), 1141-1169.

- Tasker, E. M., Denham, A. J., Taylor, J. E., & Strevens, T. C. (2011). Post-fire seed predation: Does distance to unburnt vegetation matter?. *Austral Ecology*, 36(7), 755-766.
- Tavella, J. (2016). Disturbios ambientales como moduladores de la estructura espacial y la topología de redes de interacciones mirmecófilas. Tesis Doctoral en desarrollo. FCEFYN, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Thompson, L. M., & Troeh, F. R. (1988). El agua del suelo. *En*: Thompson, L. M. & Troeh, F. R. (Eds.). *Los suelos y su fertilidad*. pp. 99-134. Reverté, Barcelona, España.
- Torres, R. C., Giorgis, M. A., Trillo, C., Volkmann, L., Demaio, P., Heredia, J., & Renison, D. (2014). Post-fire recovery occurs overwhelmingly by resprouting in the Chaco Serrano forest of Central Argentina. *Austral Ecology*, 39(3), 346-354.
- Tulloch, A. I., Pichancourt, J. B., Gosper, C. R., Sanders, A., & Chadès, I. (2016). Fire management strategies to maintain species population processes in a fragmented landscape of fire-interval extremes. *Ecological Applications*. In press.
- Tunes, P., Alves, V. N., Valentin-Silva, A., Batalha, M. A., & Guimarães, E. Does fire affect the temporal pattern of trophic resource supply to pollinators and seed-dispersing frugivores in a Brazilian savanna community?. *Plant Ecology*. En prensa.
- Turner, B. L. (1992). Taxonomic overview of the genus *Cologania* (Fabaceae, Phaseoleae). *Phytologia* 73:281-301.
- Van Mantgem, E. F., Keeley, J. E., & Witter, M. (2015). Faunal responses to fire in chaparral and sage scrub in California, USA. *Fire Ecology*, 11(3), 128-148.
- Van Nuland, M. E., Haag, E. N., Bryant, J. A., Read, Q. D., Klein, R. N., Douglas, M. J., Gorman, C. E., Greenwell, T. D., Busby, M. W., Collins, J., LeRoy, J. T., Schuchmann, G., Schweitzer, J. A., & Bailey, J. K. (2013). Fire promotes pollinator visitation: Implications for ameliorating declines of pollination services. *Plos One*, 8(11), e79853.
- Vanni, R. O. (2001). El género *Desmodium* (Leguminosae-Desmodieae) en Argentina. *Darwiniana* 39(3-4): 255-285.
- Vázquez, J. B., Miatello, R. A., & Roqué, M. E. (1979). Geografía física de la provincia de Córdoba. Ed. Boldt. Argentina.
- Venables, W. N., & Ripley, B. D. (2002). *Modern Applied Statistics with S*. Fourth Edition. Springer, New York. ISBN 0-387-95457-0
- Verzino, G., Joseau, J., Dorado, M., Gellert, E., Rodríguez Reartes, S., & Nobile, R. (2005). Impacto de los incendios sobre la diversidad vegetal, Sierras de Córdoba, Argentina. *Ecología Aplicada*, 4(1-2), 25-34.
- Vickery, P. D. (2002 a). Effects of prescribed fire on the reproductive ecology of northern blazing star *Liatrix scariosa* var. *novae-angliae*. *The American midland naturalist*, 148(1), 20-27.
- Vickery, P. D. (2002 b). Effects of the size of prescribed fire on insect predation of northern blazing star, a rare grassland perennial. *Conservation Biology*, 16(2), 413-421.
- Villaron Franceschinelli, E., & Bawa, K. S. (2005). The post-fire effects on the outcrossing rate of a Brazilian savannah shrub, *Helicteres sacarolha* A. St.-Hil. *Brazilian Journal of Botany*, 28(1), 163-170.
- Violle, C., Navas, M. L., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, I., & Garnier, E. (2007). Let the concept of trait be functional!. *Oikos*, 116(5), 882-892.
- Vulliamy, B., G Potts, S., & G Willmer, P. (2006). The effects of cattle grazing on plant-pollinator communities in a fragmented Mediterranean landscape. *Oikos*, 114(3), 529-543.
- Wan, S., Hui, D., & Luo, Y. (2001). Fire effects on nitrogen pools and dynamics in terrestrial ecosystems: a meta-analysis. *Ecol. Appl.* 11(5), 1349-1365.

- Wang, Q., Zhong, M., & Wang, S. (2012). A meta-analysis on the response of microbial biomass, dissolved organic matter, respiration, and N mineralization in mineral soil to fire in forest ecosystems. *Forest Ecol. Manag.* 271, 91-97.
- Whelan, R. J. (1995). *The Ecology of Fire*. Cambridge University Press. Cambridge, UK.
- Wilcock, C., & Neiland, R. (2002). Pollination failure in plants: why it happens and when it matters. *Trends in Plant Science*, 7(6), 270-277.
- Winfree, R., Aguilar, R., Vázquez, D. P., LeBuhn, G., & Aizen, M. A. (2009). A meta-analysis of bees' responses to anthropogenic disturbance. *Ecology*, 90(8), 2068-2076.
- Zak, M. R., Cabido, M., & Hodgson, J. G. (2004). Do subtropical seasonal forests in the Gran Chaco, Argentina, have a future?. *Biological conservation*, 120(4), 589-598.
- Zeballos, S. R., Tecco, P. A., Cabido, M., & Gurvich, D. E. (2014). Composición de especies leñosas en comunidades invadidas en montañas del centro de Argentina: su relación con factores ambientales locales. *Revista de Biología Tropical*, 62(4), 1673-1681.
- Zeileis, A., Kleiber, C., & Jackman, S. (2007). *Regression Models for Count Data in R*. Research Report Series / Department of Statistics and Mathematics, 53. Department of Statistics and Mathematics, WU Vienna University of Economics and Business, Vienna.
- Zimmerman, M. 1980. Reproduction in *Polemonium*: pre-dispersal seed predation. *Ecology* 61: 502-506.