

TESIS DE DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Estrategias de uso de recursos, resistencia y tolerancia a la remoción de biomasa aérea en plantas nativas del centro-oeste de Argentina

por:

Biol. Lucas Damián Gorné

Directora: **Dra. Sandra Díaz**

Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBiV - CONICET)

Facultad de Ciencias Exáctas, Físicas y Naturales,

Universidad Nacional de Córdoba.



CONICET



Universidad
Nacional
de Córdoba

I M B I V

Córdoba, Argentina

2018

COMISIÓN ASESORA

Dra. Sandra M. Díaz, Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBiV), Universidad Nacional de Córdoba, CONICET, FCEFN. Córdoba, Argentina.

Dr. Martín Oesterheld, Instituto de Investigaciones Fisiológicas y Ecológicas Vinculadas a la Agricultura (IFEVA), Universidad de Buenos Aires, CONICET, FAUBA. CABA, Argentina.

Dr. Luis Marone, Instituto Argentino de Investigación de las Zonas Áridas (IADIZA), Universidad Nacional de Cuyo, CONICET, Gobierno de Mendoza. Mendoza, Argentina.

DEFENSA ORAL Y PÚBLICA

Lugar y fecha:

Calificación:

TRIBUNAL

Firma: Aclaración:

Firma: Aclaración:

Il me demanda avec brusquerie, sans préambule, comme le fruit d'un problème longtemps médité en silence:

— Un mouton, s'il mange les arbustes, il mange aussi les fleurs?

— Un mouton mange tout ce qu'il rencontre.

— Même les fleurs qui ont des épines?

— Oui. Même les fleurs qui ont des épines.

— Alors les épines, à quoi servent-elles?

(...)

— Les épines, à quoi servent-elles ?

Le petit prince ne renonçait jamais à une question

(...)

— Les épines, ça ne sert à rien, c'est de la pure méchanceté de la part des fleurs!

— Oh!

(...)

— Je ne te crois pas! Les fleurs sont faibles. Elles sont naïves. Elles se rassurent comme elles peuvent. Elles se croient terribles avec leurs épines...

(...)

Le petit prince était maintenant tout pâle de colère.

— Il y a des millions d'années que les fleurs fabriquent des épines. Il y a des millions d'années que les moutons mangent quand même les fleurs. Et ce n'est pas sérieux de chercher à comprendre pourquoi elles se donnent tant de mal pour se fabriquer des épines qui ne servent jamais à rien? Ce n'est pas important la guerre des moutons et des fleurs?

(...)

*Antoine de Saint-Exupéry. 1943. **Le Petit Prince**. Chap VII.*

Agradecimientos

A Gisella Tini, por el camino compartido.

A los hermanos del alma, por esa fortaleza intangible de felicidad.

A los compañeros de trabajo, indispensables.

A mi directora, por incitarme a la curiosidad, por desafiarme, por corregirme, por enseñarme.

A los ayudantes de campo y laboratorio, en especial a Celeste Ceballos, Noelia Molina, Gimena Farías, Germán Tini, Gisella Tini y Andres Camps, que fueron clave en el desarrollo de los experimentos.

A los miembros de la Comisión Asesora, por el acompañamiento y la orientación.

Al Tribunal Examinador por su gran aporte al presente manuscrito.

A la Universidad Nacional de Córdoba, al Doctorado en Ciencias Biológicas de la Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales, al Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, por brindarme un lugar de trabajo y un espacio de formación.

A FONCyT, a SeCyT, a CONICET, al IAI por el apoyo económico sin el cual esta tesis no existiría.

A los propietarios de los campos donde se llevó a cabo el muestreo: Marcos Bortayro; José “nene” González; Martín Ribero; Gladys Sánchez, flia. y Humberto Bazán; Gabriel Secondi y Oscar Ponce; Jorge Montoya; Ramón Ceballos y flia.; Rafaela Nuñez, flia. y Pedro Gómez; Miriam Palacio y Antonio Rivadera; Raquel “coca” Ceballos, Pablo Altamirano y Rolando Agüero; Filimón Pereyra; Alicia Manzano y Eloy Tello; Carlos Álvarez.

A la Dirección Provincial de Áreas Protegidas por permitirnos trabajar en las instalaciones de la Reserva Provincial Natural Chancaní y al personal de la reserva por colaborar con el trabajo.

A Rubén Coirini y la Asociación Civil Centro de Capacitación, Investigación y Gestión de Zonas Áridas, por su generosidad al brindarnos sus instalaciones.

A la Defensoría de la Comunidad Universitaria, por su apoyo en el momento necesario.

A todos ellos, muchas gracias.

Índice general

Abreviaturas.....	1
Resumen.....	3
Summary.....	4
1 - Introducción general.....	7
1.1 - Marco teórico y planteo del problema.....	7
1.2 - Objetivos Generales.....	14
1.3 - Hipótesis Generales.....	14
1.4 - Estructura de la tesis.....	14
2 - Materiales y Métodos Generales.....	17
2.1 - Área de estudio.....	17
2.2 - Especies seleccionadas.....	19
2.3 - Selección de sitios.....	20
2.4 - Individuos leñosos seleccionados.....	24
2.5 - Determinación de caracteres en las poblaciones residentes.....	25
2.5.1 - Leñosas.....	25
2.5.2 - Gramíneas.....	25
2.6 - Experimentos con residentes.....	26
2.6.1 - Leñosas.....	26
2.6.2 - Gramíneas.....	26
2.7 - Recolección de semillas.....	26
2.8 - Experimento con descendientes.....	27
2.8.1 - Leñosas.....	27
2.8.2 - Gramíneas.....	28
Parte I. Espectro económico foliar, resistencia a la herbivoría y tolerancia al fuego	
3 - Introducción de la Parte I.....	33
3.1 - Marco teórico.....	33
3.2 - Objetivos.....	38
3.2.1 - Objetivo general.....	38
3.2.2 - Objetivos específicos.....	38
3.3 - Hipótesis y predicciones.....	38
4 - El espectro económico foliar intra-específico.....	41
4.1 - Objetivos.....	41
4.2 - Hipótesis y predicciones.....	41
4.3 - Metodología específica.....	41
4.3.1 - Determinación de los caracteres foliares.....	41
4.3.2 - Análisis de datos.....	43
4.4 - Resultados.....	44
4.4.1 - Gramíneas.....	44
4.4.2 - Leñosas.....	47
4.5 - Discusión y conclusiones parciales.....	51
5 - Relaciones del espectro económico foliar intra-específico con resistencia a la herbivoría y tolerancia a fuego.....	55
5.1 - Objetivos.....	55
5.2 - Hipótesis y predicciones.....	55
5.3 - Metodología específica.....	55
5.3.1 - Experimento de corte en gramíneas residentes.....	56

5.3.2	- Experimento de corte y quema en gramíneas descendientes.....	58
5.3.3	- Experimento de corte en leñosas residentes.....	61
5.3.4	- Experimento de corte y quema en leñosas descendientes.....	64
5.3.5	- Análisis de datos.....	66
5.4	- Resultados.....	69
5.4.1	- Gramíneas.....	69
5.4.2	- Leñosas.....	71
5.5	- Discusión y conclusiones parciales.....	75

Parte II. Herbivoría de ungulados domésticos como agente de selección sobre el espectro económico foliar, resistencia a la herbivoría y tolerancia al fuego

6	- Introducción de la Parte II.....	79
6.1	- Marco teórico.....	79
6.2	- Objetivos.....	84
6.2.1	- Objetivo general.....	84
6.2.2	- Objetivos específicos.....	84
6.3	- Hipótesis y predicciones.....	85

7	- Efectos evolutivos de la herbivoría de ungulados domésticos sobre el espectro económico foliar.....	87
7.1	- Objetivos.....	87
7.2	- Hipótesis y predicciones.....	87
7.3	- Metodología específica.....	87
7.3.1	- Análisis de datos de las especies gramíneas.....	88
7.3.2	- Análisis de datos de las especies leñosas.....	90
7.4	- Resultados.....	91
7.4.1	- Gramíneas.....	91
7.4.2	- Leñosas.....	97
7.5	- Discusión y conclusiones parciales.....	100

8	- Efectos evolutivos de la herbivoría de ungulados domésticos sobre espinas.....	105
8.1	- Objetivos.....	105
8.2	- Hipótesis y predicciones.....	105
8.3	- Metodología específica.....	105
8.3.1	- Análisis de datos.....	106
8.4	- Resultados.....	107
8.4.1	- Leñosas.....	107
8.5	- Discusión y conclusiones parciales.....	109

9	- Adaptación y/o aclimatación a la remoción de biomasa por corte.....	111
9.1	- Objetivos.....	111
9.2	- Hipótesis y predicciones.....	111
9.3	- Metodología específica.....	112
9.3.1	- Análisis de datos de las especies gramíneas.....	112
9.3.2	- Análisis de datos de las especies leñosas.....	114
9.4	- Resultados.....	116
9.4.1	- Gramíneas.....	116
9.4.2	- Leñosas.....	120
9.5	- Discusión y conclusiones parciales.....	126

10	- Efectos evolutivos de la herbivoría de ungulados domésticos sobre la tolerancia al fuego.....	131
-----------	--	------------

10.1 - Objetivos.....	131
10.2 - Hipótesis y predicciones.....	131
10.3 - Metodología específica.....	131
10.4 - Resultados.....	133
10.4.1 - Gramíneas.....	133
10.4.2 - Leñosas.....	134
10.5 - Discusión y conclusiones parciales.....	135
11 - Discusión y conclusiones generales.....	137
Bibliografía.....	145
Apéndices.....	159
Bibliografía en Apéndices.....	160

Abreviaturas

- AF:** área foliar
- AFE:** área foliar específica
- AIC:** criterio de información de Akaike
- A_m :** tasa fotosintética máxima por unidad de masa foliar
- C:N:** relación (cociente) entre contenido de carbono y de nitrógeno foliar
- CMS:** Contenido de materia seca foliar
- CPCA:** análisis de componentes principales comunes
- EEF:** espectro económico foliar
- EF:** espesor foliar
- FTF:** Fuerza tensil foliar, o fuerza necesaria para fracturar un mm de lamina
- FTR:** Fuerza tensil necesaria para fracturar un mm² de raquis
- FTbR:** Fuerza tensil bruta necesaria para fracturar un raquis
- H:** altura máxima de la planta
- LF:** longevidad foliar
- LMA:** masa por unidad de área foliar
- N_a :** contenido de nitrógeno por unidad de área foliar
- N_m :** contenido de nitrógeno por unidad de masa foliar
- PPNA:** productividad primaria neta aérea
- SM:** masa de la semilla
- SMA:** ejes mayores estandarizados (standardized major axis). Método de regresión.
- SSD:** Densidad del leño
- Tf:** tolerancia a la remoción de biomasa por corte a nivel de familia genética. Ver Secciones 5.3.5 y 11.3

Resumen

La herbivoría es una fuerza estructuradora fundamental en los ecosistemas terrestres, que permite el ingreso de la productividad primaria a la red trófica. Además, mediante diferentes mecanismos, modula la productividad primaria y la dinámica de la materia y energía en los ecosistemas. Los caracteres foliares de las plantas también tiene un rol preponderante en esta dinámica. Dichos caracteres presentan un patrón de covariación que configura un eje de variación conocido como Espectro Económico Foliar (EEF) global y que da cuenta de la estrategia de uso de recursos de las plantas. El impacto más prominente de la herbivoría sobre los individuos vegetales es la remoción de biomasa, la cual puede afectar la aptitud del individuo y por lo tanto imponer una presión de selección. Se espera que intensidades contrastantes de herbivoría por ungulados domésticos generen diferencias a nivel intra-específico, tanto en el EEF como en la tolerancia a la remoción de biomasa y en las defensas anti-herbívoro. A su vez, los caracteres que configuran este espectro están relacionados por una estructura causal común, con compromisos bio-físicos y fisiológicos, por lo que se espera que la estructura de correlaciones se conserve a nivel intra-específico y que la herbivoría promueva cambios en todos ellos, de manera coordinada. Hasta la actualidad la información disponible respecto del EEF intra-específico y del efecto de la herbivoría sobre el mismo es escasa. Por lo que, en primer lugar, se abordó el estudio de las relaciones entre caracteres foliares a nivel intra-específico. Dada la relación a nivel global, entre el EEF y la tasa de crecimiento, la relación entre la tasa de crecimiento y la tolerancia, así como los potenciales compromisos entre tolerancia y defensas, se llevó a cabo un abordaje conjunto de las relaciones entre el EEF, tolerancia a la remoción de biomasa, las defensas anti-herbívoro y del efecto de la herbivoría por ungulados domésticos sobre todas estas variables.

Se midieron caracteres foliares relevantes para el EEF en seis especies de gramíneas y en cuatro especies de leñosas. Se seleccionaron ejemplares en sitios con cargas de ganado contrastantes, al menos en los últimos 40 años. También se tomaron diferentes métricas de las espinas presentes en los ejemplares de especies leñosas. Se hicieron experimentos de corte con estos ejemplares para conocer la plasticidad de los caracteres y la tolerancia a la remoción de biomasa. Finalmente, se reprodujeron ejemplares de todas las especies de interés a partir de semillas, se las cultivó en condiciones de jardín común y se midieron sus caracteres foliares y espinas; también se les aplicaron tratamientos de corte y quema para cuantificar su tolerancia y plasticidad de los caracteres de interés.

Se encontró evidencia de que los caracteres foliares que participan del EEF global muestran los mismos patrones de co-variación a nivel intra-específico que inter-específico. Por lo tanto es posible que la misma estructura causal propuesta a nivel inter-específico, en la literatura, sea aplicable a ambos niveles. También se observó que la variabilidad intra-específica de dichos caracteres es muy amplia y que esa amplitud tiene una fuerte componente plástica pero también una componente hereditaria.

En las gramíneas la herbivoría por ganado actúa, en tiempos “ecológicos” y a escala local, induciendo respuestas plásticas y seleccionando síndromes más adquisitivos. La herbivoría no sólo actúa sobre los caracteres, sino sobre las relaciones entre ellos, promoviendo cambios en la orientación del EEF intra-específico. Dado que se encontró un efecto positivo de la adquisitividad sobre la tolerancia a la remoción de biomasa, estos cambios, tanto fenotípicos como trans-generacionales, parecen ser adaptativos ante la herbivoría.

En las especies leñosas se encontraron algunos efectos de la historia de herbivoría sobre el EEF pero no en una dirección contundente y tampoco se encontraron respuestas plásticas a tratamientos de corte. Sin embargo se encontró mayor tolerancia al corte en los ejemplares con historia de herbivoría severa y efectos positivos de la historia de herbivoría en el tamaño de espinas tanto en ejemplares creciendo en el campo como aquellos cultivados en condiciones de jardín común. A su vez, se encontró una relación positiva entre tolerancia y tamaño de espinas, mostrando que en este caso no existe un compromiso entre tolerancia y defensas como estrategias de resistencia a la herbivoría. También se encontró una asociación positiva entre la tolerancia a la remoción de biomasa por corte y por quema.

En suma, la herbivoría por ungulados domésticos produce diferencias fenotípicas heredables, aún en tiempos “ecológicos” y escalas espaciales locales, seleccionando mayor tolerancia a la remoción de biomasa. Esta tolerancia es producto de una posición más adquisitiva en el EEF en el caso de las gramíneas pero no en las leñosas. En éstas últimas, la tolerancia a la herbivoría se hace extensiva a una mayor tolerancia a la remoción de biomasa por quema y no es contraria a un mayor desarrollo de defensas mecánicas constitutivas, en particular las espinas.

Summary

Herbivory is a major structuring force on terrestrial ecosystems, driving the inputs of primary productivity to the whole trophic web. It also modulates primary productivity and the dynamics of matter and energy in the ecosystems by different mechanisms. Also, the plant functional traits related to the resource use strategy that configure the Leaf Economic Spectrum (LES) play an important role in this dynamics. Herbivory affects plant individuals mainly through biomass removals, which imposes fitness costs and often selection pressures. It is therefore expected that contrasting histories of herbivory by domestic ungulates should result in intra-specific differences in the LES, and also in the tolerance to biomass removal and in mechanical defenses such as spines. Because the traits that determine the LES are related by a common causal structure, with biophysical and physiological trade-offs, it is expected that the correlation structure should remain at the intra-specific level and that herbivory should promote coordinate changes in all traits. The available information to date about the effect of herbivory on the

LES is scarce and has been the result of different frameworks. The information about the trade-offs that configure the LES at the intra-specific level is also scarce. Because of the global relationship between the LES and relative growth rate, the effect of herbivory by domestic ungulates on the LES, the tolerance to biomass removal (by cutting and by fire), and the mechanical defenses traits were analyzed together.

The leaf traits of interest (LA, SLA, LDMC, N_m , C:N, FTF) were measured in six grass species and in four woody legume species, from sites with contrasting pressures of grazing and browsing during at least the last 40 years. Also, measurements of spines were taken in the woody species. Defoliation experiments were performed in these individuals in order to evaluate the plasticity of such traits and the tolerance to biomass removal. In addition, seeds from the ten species were grown in a common garden and leaf traits and spines were measured on their descendants. Finally, cutting and burning treatments were applied to analyze tolerance and the plasticity of the traits.

The correlation patterns between the LES traits were found to be the same as at the intra-specific level, as expected, suggesting that the same causal structure proposed in the literature for the inter-specific level applies at both levels. The intra-specific variability of such traits was high, with an important plastic component, but also there is a hereditary component.

In the grasses, herbivory induced plastic responses and selected for a more acquisitive syndrome, by changing the average value of traits. But herbivory also affected the relationships between traits, leading to changes in the orientation of the intra-specific LES. The effect of acquisitiveness on the tolerance to the biomass removal was positive, suggesting that phenotypic and trans-generational changes are adaptive.

Some effects of the history of herbivory on the LES were found in the woody species, but they did not show a clear direction. No plastic responses to cutting treatments were found. However, the individuals with severe history of herbivory were more tolerant to cutting and had more numerous and larger thorns. At the same time, it was found a positive relation between tolerance and spine size, which means that, in that case, there is no trade-off between tolerance and defenses as a resistance strategy against herbivory. A positive relation between tolerance to biomass removal by cutting and burning was also found.

In conclusion, in the species set analysed, herbivory by domestic ungulates leads to phenotypic heritable differences, even in "ecological" (=short) time frames and local scales, selecting for higher tolerance to biomass removal. That tolerance is reached by a more acquisitive syndrome in the grasses but not in the woody legume species. In the latter, tolerance to herbivory leads to a higher tolerance to

biomass removal by burning. Additionally, in the present study, the tolerance to herbivory is not in conflict with higher investment constitutive mechanical resistance traits.

1 - Introducción general

1.1 - Marco teórico y planteo del problema

“Los organismos son sistemas abiertos que existen a cierta distancia del equilibrio termodinámico en virtud de estar abiertos a entradas y salidas de energía (...) Estos procesos contribuyen al mantenimiento del ‘milieu intérieur’ y habilitan a los organismos para la vida dentro de ciertas condiciones ecológicas.” (Calow 1987).

Las especies vegetales difieren en la magnitud y en la velocidad a la que captan y circulan los recursos en el ecosistema, es decir, difieren en las distintas estrategias para germinar, crecer, reproducirse y/o sobrevivir bajo determinadas condiciones ambientales. Estas diferencias repercuten sobre su ambiente físico y sobre la interacción con otras especies, afectando la dinámica del ecosistema (Chapin III et al. 1997; Wardle et al. 2004). Las hojas, como principal órgano fotosintético de las plantas, desempeñan un papel fundamental en la ecología de los ecosistemas terrestres. Por supuesto, la hoja no es una entidad autónoma, sino que su funcionamiento está integrado a nivel de organismo (Reich 2014) de modo que sus características más esenciales ponen de manifiesto propiedades de toda la planta. Es por eso que el estudio de las hojas, aun cuando no se consideren otros órganos de la planta, resulta altamente informativo respecto de la ecología a diferentes niveles de organización (Lambers & Poorter 1992; Díaz et al. 2004; Wright et al. 2004, 2017; Violle et al. 2007).

Distintas estrategias, o síndromes adaptativos, de las plantas se reflejan en la posesión de características morfo-funcionales distintas (i.e. caracteres funcionales) asociados al uso de recursos y también a la respuesta al ambiente (Díaz & Cabido 2001; Lavorel & Garnier 2002; Violle et al. 2007; Díaz et al. 2013). En este contexto un carácter funcional se define como cualquier característica morfológica, fisiológica, o fenológica que es medible a nivel del individuo y que tiene efecto sobre la aptitud del mismo de manera indirecta, mediante sus efectos en la tasa de crecimiento, la supervivencia y/o la inversión parental (Violle et al. 2007).

Resultan particularmente importantes aquellos caracteres funcionales que, además de afectar de manera indirecta la aptitud individual, se asocia a efectos sobre la dinámica ecosistémica. Esto es porque han permitido establecer un dialogo fructífero entre la ecología de ecosistemas y la ecología funcional. La primera mira al mundo natural desde los flujos de materia y energía a través de diferentes compartimentos del sistema. Por su parte, la ecología funcional propone abordar a los elementos en que se pueden descomponer los compartimentos bióticos del ecosistema, a diferentes niveles de organización, desde su participación en esos flujos de materia y energía. La dinámica impuesta por los caracteres de cada elemento sobre dichos flujos determinará la participación relativa de cada uno de ellos en los flujos

globales y por lo tanto su aptitud (fitness). A su vez la sumatoria de flujos a través de cada elemento determina el flujo global. Por lo tanto los caracteres que condicionan la participación relativa de cada elemento contribuyen a configurar la propia dinámica general.

Esta visión tiene profundas implicaciones teóricas y prácticas. Una de ellas es que, al centrarse la ecología funcional en caracteres cuantitativos continuos relevantes para los flujos, propone relegar la categorización de especies para dar lugar a un continuo biótico que da su impronta al ecosistema. Por esto mismo, la ecología funcional busca trascender e integrar diferentes niveles de organización dando coherencia a todos ellos (McGill et al. 2006; Read et al. 2006; Violle et al. 2007). De esta manera, el funcionamiento ecosistémico queda explicado por poblaciones de individuos más o menos similares. Los caracteres funcionales que influyen en la tasa de crecimiento y supervivencia de cada individuo se escalan a través de los parámetros poblacionales, se conjugan en propiedades comunitarias y le dan cierto dinamismo a los procesos ecosistémicos (Grime 1998; Naeem & Wright 2003; Violle et al. 2007). Pero, la ecología funcional, también permite hacer una transición directa desde el conjunto de valores que asumen determinados caracteres en el sistema al funcionamiento global del mismo (Grime 1998).

Un concepto de gran relevancia en el contexto de la ecología funcional de plantas es el de espectro económico foliar (EEF) (Wright et al. 2004). El EEF es un eje de variación continuo, configurado por el patrón de correlaciones (que se representa en la Figura 1.1) existente entre un conjunto de caracteres funcionales foliares que dan cuenta de la estrategia de uso de recursos de las plantas. Los caracteres que configuran este eje cumplen con las características antes mencionadas, de tener un doble rol de efecto sobre la aptitud individual y sobre el funcionamiento ecosistémico, así como presentar efectos a múltiples niveles. Por ejemplo, área foliar específica (AFE), contenido de materia seca (CMS), dureza (e.g.: fuerza tensil foliar - FTF -), contenido de nitrógeno por unidad de masa foliar (N_m), tienen relevancia a nivel individual por su efecto en la tasa de crecimiento y supervivencia (Lamberts & Poorter 1992; Violle et al. 2007, Reich 2014). También tienen relevancia a nivel poblacional por su efecto sobre parámetros poblacionales (Adler et al. 2014). Pero, además, tienen efecto en el ciclado de materia y energía del ecosistema mediante su efecto sobre la productividad primaria (Díaz et al. 2004; Wright et al. 2004; Violle et al. 2007), en la palatabilidad (Pérez-Harguindeguy et al. 2003; Enrico 2009; Poorter et al. 2009) y en la descomponibilidad de los tejidos vegetales (Cornelissen et al. 1999; Santiago 2007; Cornwell et al. 2008). Dado que estos caracteres tienen efecto sobre las tasas de crecimiento y supervivencia de los individuos, y a su través, de poblaciones de especies, están sujetos a filtrado ambiental (Díaz et al. 1998; Cunningham et al. 1999; Wright et al. 2002; Grime 2006; Enrico 2009; Baastrop-Spohr et al. 2015), a fenómenos competencia y partición de nicho (Shipley et al. 2006b), y a selección natural (Salgado-Luarte & Gianoli 2012). Es decir, que las condiciones ambientales (bióticas y abióticas) actúan selectivamente sobre estos caracteres determinando su distribución local (rango y

frecuencias relativas). De esta manera, la ecología funcional también trasciende a través del tiempo dando cuenta de dinámicas comunitarias y procesos evolutivos.

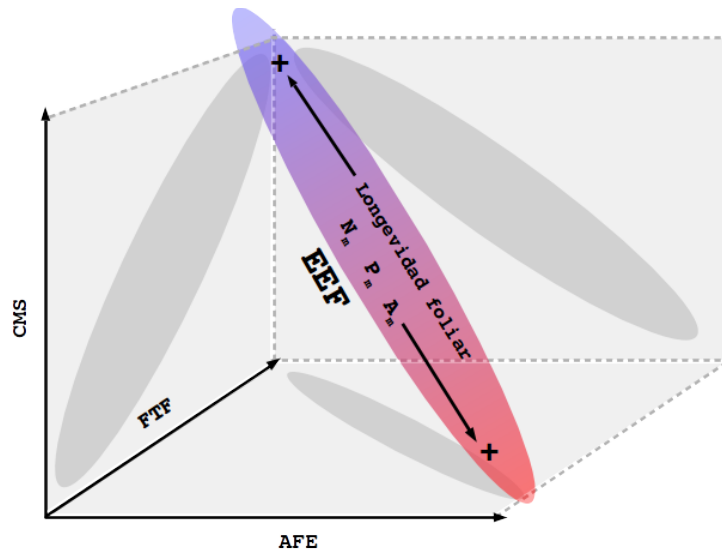


Figura 1.1. El diagrama muestra las relaciones observadas entre los caracteres foliares a nivel inter-específico y la orientación espacial del espectro económico foliar (EEF). En los ejes están indicadas las variables medidas más frecuentemente en la tesis (AFE: área foliar específica; CMS: contenido de materia seca; FTF: fuerza tensil foliar) y sobre el espectro otras variables asociadas, en algunos casos medidas (N_m : Contenido de nitrógeno por unidad de masa foliar; P_m : Contenido de fósforo por unidad de masa foliar; A_m : tasa fotosintética máxima por unidad de masa foliar).

El EEF global abarca desde especies con una rápida recuperación de la inversión foliar que, por lo tanto, reciclan materia y energía rápidamente en el sistema, hasta aquellas con características contrastantes asociadas con una lenta recuperación de la inversión foliar, que retienen materia y energía por más tiempo y por lo tanto ralentizan el ciclado. El conjunto de características primero constituye un síndrome que se corresponde con una estrategia de uso de recursos *adquisitiva* (representado por el extremo rojo del EEF en la Figura 1.1), mientras que el segundo conjunto constituye el síndrome de una estrategia de uso de recursos *conservadora* (representado por el extremo azul del EEF en la Figura 1.1). En el extremo más conservador se encuentran las hojas con mayor longevidad foliar (LF), más duras, con menor área foliar específica (AFE), mayor contenido de materia seca (CMS), menor contenido de nitrógeno por unidad de masa foliar (N_m) y menor tasa fotosintética máxima por unidad de masa (A_m). Estas hojas costosas se corresponden con plantas longevas y de crecimiento lento, que toman materia y energía lentamente y también la devuelven lentamente al ecosistema. En el otro extremo de este gradiente se encuentran las hojas más “adquisitivas”, baratas en términos de carbono y muy eficientes en la fotosíntesis, pero de vida corta. Estas hojas se corresponden con plantas de crecimiento muy rápido, de ciclos de vida cortos y cuyos tejidos se descomponen fácilmente, por lo que rápidamente devuelven los nutrientes tomados al suelo (Cornelissen et al. 1999; Díaz et al. 2004; Santiago 2007; Cornwell et al. 2008).

Este eje de variación continuo fue descrito a nivel inter-específico (Díaz et al. 2004, 2016; Wright et al. 2004), y posteriormente se ha comenzado a indagar respecto a su presencia y relevancia a nivel intra-específico (Niinemets 2015). Es decir, si las relaciones que lo determinan y las implicaciones que tiene a nivel comunitario y de especie también se presentan a nivel intra-específico. A este nivel, la evidencia respecto de la validez del concepto de EEF es muy escasa y en algunos casos contradictoria (Niinemets 2015; Anderegg et al. 2017). Sin embargo, las relaciones causales que determinan el EEF (desarrolladas en detalle en la Introducción de la Parte I) son de naturaleza física, geométrica y fisiológica (Shiple et al. 2006a; Onoda et al. 2017) por lo que cabría esperar que resultaran independientes de la especie y nivel de organización, y por lo tanto el EEF fuese válido tanto a nivel intra-específico como a nivel inter-específico. Lo que permitiría pensar al conjunto de plantas en los ecosistemas terrestres como un continuo biótico, independizándose del concepto de especie en lo relativo al EEF y sus implicaciones. **La presente tesis aborda el estudio de las relaciones entre caracteres del EEF a nivel intra-específico como aporte al conocimiento específico en este campo.**

Como se mencionó anteriormente, las condiciones abióticas ejercen un filtrado ambiental sobre las plantas en función de su posición en el EEF, favoreciendo síndromes más adquisitivos a medida que aumenta la disponibilidad de recursos, como precipitaciones (Wright et al. 2002; Enrico 2009; Bastrup-Spohr et al. 2015) y nutrientes en el suelo (Cunningham et al. 1999; Wright et al. 2002). Pero también cabe esperar que la herbivoría afecte al EEF a diferentes niveles. La evidencia sobre los efectos de la herbivoría en general, y del ganado en particular, sobre la vegetación a diferentes niveles es abundante y elocuente. De manera ilustrativa puede citarse una serie de estudios realizados en pastizales de las sierras de Córdoba (Argentina), y otros pastizales de manera comparativa (Acosta et al. 1992; Díaz et al. 1992, 1994, 2001; Cingolani et al. 2007; Whitworth-Hulse et al. 2016). En estos trabajos se muestra cómo las diferentes intensidades de pastoreo (y factores abióticos) producen cambios en la composición de las comunidades de plantas, modifican las abundancias relativas de las especies, e incluso inducen cambios morfológicos notables a nivel intra-específico. Así mismo, muestran cómo diferentes caracteres morfofuncionales (área foliar, altura, área foliar específica y dureza foliar) están relacionados con la susceptibilidad de las especies de plantas al pastoreo.

La literatura específica respecto del efecto de la herbivoría sobre el EEF (o los caracteres que lo configuran) muestra, a nivel comunitario, que la herbivoría produce comunidades más adquisitivas principalmente por cambios en la composición de especies (Cingolani et al. 2007; McIntyre 2008; Moreno Gracia et al. 2014; Firm et al. 2017). Díaz et al. (2001) reportan que especies con mayor AFE y hojas más blandas son más tolerantes al pastoreo. Resultados similares fueron reportados por Cingolani et al. (2005) donde encuentran que la respuesta específica al pastoreo se relaciona positivamente con el

AFE (pero no así con la dureza). Por lo que la evidencia a nivel específico es similar a la encontrada a nivel comunitario.

A nivel intra-específico, que es el nivel de análisis abordado en esta tesis, los antecedentes son más escasos y heterogéneos. Oesterheld y McNaughton (1988) muestran que diferentes intensidades de pastoreo dan origen a diferentes ecotipos de una misma especie de gramínea (*Themeda triandra*). Estos ecotipos difieren en los valores de múltiples caracteres, entre ellos el AFE y el N_m , con una tendencia del ecotipo asociado a mayor intensidad de pastoreo a ser más adquisitivo. Pero más importante aún es que todos los ecotipos responden al disturbio de forma plástica, produciendo hojas más adquisitivas. Si bien la respuesta en términos cualitativos es la misma, hay diferencias de grado que se traducen en cambios significativos de la tasa de crecimiento y compensación de la biomasa removida (Oesterheld & McNaughton 1988). Luego hay una serie de estudios que reportan resultados en el mismo sentido, es decir respuestas plásticas ante tratamientos de corte que implican el desplazamiento hacia un síndrome más adquisitivo y cómo esta respuesta contribuye a compensar la biomasa removida y por ende a una mayor tolerancia (Georgiadis et al. 1989; McNaughton 1992; Bråthen & Odasz-Albrigtsen 2000). Rotundo y Aguiar (2008), también reportan que poblaciones de *Poa ligularis* con diferentes historias de pastoreo (en las últimas décadas) difieren los valores de AFE, donde la población con mayor pastoreo presenta mayor AFE aun creciendo en zonas áridas (precipitación media anual 156 mm). Lind et al. (2012) muestra que el ramoneo sobre un arbusto caducifolio provoca cambios, posiblemente plásticos, generando hojas más adquisitivas (mayor AFE, menor CMS, menor dureza foliar). Whitworth-Hulse et al. (2016) evalúan la variabilidad intra-específica de caracteres funcionales de diversa índole en un conjunto de especies, herbáceas (gramíneas y latifoliadas) y leñosas, que coexisten en sitios pastoreados y no pastoreados. Estos autores encuentran diferencias significativas en diversos caracteres, pero en aquellos más relacionados al EEF (AFE, CMS, fuerza tensil foliar – FTF –) encuentran pocas diferencias significativas y la dirección de estas diferencias es especie-dependiente. Es por eso que en el presente trabajo se propone **aportar evidencia sólida sobre la relación entre el EEF nivel intra-específico y la tolerancia a la herbivoría, así como del efecto de la herbivoría sobre el EEF a nivel intra-específico, su impacto en la variabilidad fenotípica presente en las poblaciones naturales, su potencial efecto evolutivo y los cambios plásticos que induce.**

Además de los mencionados efectos de la herbivoría sobre los caracteres que determinan el EEF, hay importantes puntos de contacto entre este marco teórico de la ecología funcional y el de la resistencia de las plantas a la herbivoría. En el marco teórico de la herbivoría coexisten diferentes nomenclaturas con usos a veces contradictorios y a veces solapados de diferentes términos como “defensas” y “resistencia”. En esta tesis se seguirá la nomenclatura usada por Rosenthal & Kotanen (1994) porque hace un uso más coherente con la acepción normal los términos en el idioma castellano. Sin embargo,

dado que el citado trabajo no proporciona definiciones precisas, se tomarán las definiciones correspondientes dadas por Stowe et al. (2000). La **resistencia** de una planta a la herbivoría puede entenderse, en sentido amplio, como el conjunto de estrategias que despliega para maximizar su aptitud (fitness) bajo un contexto de herbivoría (Rosenthal & Kotanen 1994; Stowe et al. 2000). Entonces, bajo el concepto de resistencia quedan comprendidas tanto la **tolerancia** como la **evitación** (“avoidance”). La primera es la norma de reacción de la aptitud en un gradiente de daño, de modo que una planta es tolerante a una intensidad de herbivoría dada si no disminuye su aptitud a pesar de la biomasa perdida (Stowe et al. 2000). La evitación, por otro lado, es la capacidad de la planta para evitar o reducir la pérdida de biomasa por herbivoría (Stowe et al. 2000; Díaz et al. 2001), también denominado por otros autores como “resistencia” (Stowe et al. 2000) o, simplemente “defensas” (Lucas et al. 2000). A su vez el conjunto de posibles mecanismos de evitación pueden dividirse en dos categorías, el **escape** y las **defensas** (Rosenthal & Kotanen 1994). El **escape** consiste en estrategias, generalmente fenológicas o de ciclo de vida, que le permiten a la planta separarse témporo-espacialmente de la presencia del herbívoro, es decir se evita la interacción planta-herbívoro. Por otro lado, las **defensas** son todos aquellos mecanismos tendientes a evitar o reducir la pérdida de biomasa por herbivoría cuando el herbívoro coexiste con las partes consumibles de la planta.

Entonces, siguiendo la terminología definida anteriormente y retomando los puntos de contacto entre ambos marcos teóricos, la **evitación** contribuye positivamente a la LF, y la **tolerancia** se relaciona estrechamente con la tasa relativa de crecimiento y por ende con la adquisitividad. Estos vínculos teóricos entre ambos marcos conceptuales (que se desarrollarán de manera más extensa en la introducción de la Parte II) muestran cómo el efecto de la herbivoría sobre la resistencia de las plantas a la herbivoría puede repercutir a nivel ecosistémico y es por ese motivo que se propone **estudiar de manera conjunta las relaciones entre el EEF y resistencia a la herbivoría a nivel intra-específico**. Respecto de las defensas propiamente dichas, esta tesis se ocupa particularmente de las espinas, que son **defensas mecánicas**, cuya efectividad contra ungulados ramoneadores ha sido demostrada en otros sistemas (Gordon 2003) y además se ha observado que pueden inducirse o relajarse en función de la presencia de daño por herbívoros (Milewski et al. 1991; Young & Okello 1998; Gadd et al. 2001; Gómez & Zamora 2002). También se ha observado que en algunos sistemas presentan un costo que compromete la aptitud (Gómez & Zamora 2002), y cuya evolución parecen haber sido impulsada por el ramoneo de ungulados (Milton 1991; Charles-Dominique et al. 2016).

Para alcanzar los objetivos planteados hasta aquí se seleccionó un área de estudio en el Chaco Occidental de Córdoba. Los bosques chaqueños poseen una larga historia de herbivoría por ungulados. Ungulados silvestres han estado presentes desde tiempos prehistóricos (Bucher 1987; Díaz et al. 1994) y se ha practicado un uso ganadero más o menos sostenido desde la colonización española y hasta el

presente (Díaz et al. 1994; Karlin et al. 2013). El rebrote y crecimiento compensatorio es una estrategia de tolerancia a la herbivoría. Se ha documentado en diferentes sistemas que la herbivoría puede seleccionar positivamente dicha estrategia. Paralelamente, cuando consideramos la respuesta al fuego, una de las estrategias fundamentales a tener en cuenta es la capacidad de rebrotar luego de un incendio (Pausas & Keeley 2014). Las plantas rebrotan ante diferentes tipos de disturbio y, aunque represente una adaptación (*sensu* Gould & Vrba 1982) ante el fuego, el rebrote es común en muchos tipos de vegetación donde el fuego es raro (Pausas & Keeley 2014). Es decir, la capacidad de rebrote constituye una ventaja adaptativa ante el fuego que puede ser seleccionada de manera directa por un dado régimen de fuego o de manera indirecta por otros agentes de selección. En el sistema de estudio (Bosque Chaqueño Occidental de Córdoba) el régimen de incendios es desconocido (Kunst et al. 2015). En la porción más seca del Chaco los incendios son frecuentes en los parches dominados por gramíneas, pero se detienen en el ecotono entre los pastizales y las formaciones boscosas, principalmente por la escasez de combustible fino (Bravo et al. 2001; Kunst et al. 2015). Por lo que, hasta donde se sabe, sería poco frecuente la presencia del fuego en las fisonomías dominadas por leñosas del Chaco Occidental. Ya sea éste su régimen natural o inducido por cambios antrópicos, ocurre que, al menos desde la colonización española, el fuego no ha sido un factor estructurador fundamental del sistema (Grau et al. 2015). Sin embargo, y dado los cambios de uso de la tierra y la implantación de pasturas megatérmicas para forraje, en especial *Cenchrus ciliaris*, existe el riesgo de que los incendios se vuelvan más frecuentes y recurrentes (Jaureguiberry 2012). Debido al paralelismo existente entre los herbívoros y el fuego (Bond & Keeley 2005), cabría esperar que caracteres seleccionados por la historia de herbivoría de las poblaciones repercutan en beneficios ante la presencia de fuego, es decir que la adaptación de mayor tolerancia a la herbivoría represente una exaptación (Gould & Vrba 1982) al fuego. No se descarta la posibilidad de que en tiempos geológicos y pre-históricos el fuego haya sido un factor importante en la dinámica de la vegetación del sistema de estudio y por lo tanto haya actuado de manera directa seleccionando genotipos “rebrotadores”. En este sentido se ha documentado que todas las especies leñosas dominantes del Chaco Occidental de Córdoba presentan cierto grado de tolerancia al fuego, pudiendo rebrotar luego de la ocurrencia de incendios accidentales de diferentes intensidades (Jaureguiberry 2012). Pero se propone que la herbivoría actual, de ungulados domésticos, puede estar actuando como un factor de selección indirecta sobre la capacidad de rebrote post-fuego. **Por este motivo también se evaluó si la historia de herbivoría y la tolerancia a la remoción de biomasa por corte están relacionados a la tolerancia a quema.**

1.2 - Objetivos Generales

OG1: Explorar la relación, a nivel intra-específico, entre estrategias de uso de recursos, resistencia a la herbivoría y tolerancia al fuego en dos grupos taxonómicos diversos y abundantes en el área (fabáceas leñosas y poáceas C4).

OG2: Determinar si la herbivoría sostenida en el tiempo se asocia a cambios, a nivel intra-específico, de la estrategia de uso de recursos, tolerancia al fuego y resistencia a la herbivoría en dos grupos taxonómicos diversos y abundantes en el área (fabáceas leñosas y poáceas C4).

1.3 - Hipótesis Generales

H1: Las constricciones físicas y presiones de selección que configuran el EEF son independientes de la escala y el nivel de organización.

H2: El incremento en adquisitividad es un mecanismo que provee mayor tolerancia a la remoción de biomasa.

H3: La herbivoría por ungulados domésticos actúa como una presión de selección direccional que promueve el desplazamiento de caracteres funcionales de las plantas hacia un síndrome más adquisitivo.

H4: En fabáceas, la herbivoría por ungulados domésticos actúa como una presión de selección direccional que promueve la inversión de recursos en defensas mecánicas (espinas).

H5: Las poblaciones con historia de herbivoría severa se encuentran más adaptadas y/o aclimatadas a la remoción de biomasa.

H6: La adaptación a la herbivoría resulta en tolerancia al fuego como adaptación secundaria (exaptación).

1.4 - Estructura de la tesis

La estructura del presente texto reproduce la estructura conceptual de la tesis. Cuenta con secciones generales y unificadoras al comienzo (Sección 1: Introducción General; Sección 2: Materiales y Métodos Generales) y al final del texto (Sección 11: Discusión y conclusiones generales) y el cuerpo del manuscrito (secciones 3 a 10) esta dividido en dos partes que se corresponden con los objetivos generales (denominados **OG1** y **OG2**). A su vez cada una de las partes del cuerpo esta dividida en secciones que abordan cada una de las hipótesis correspondientes con dichos objetivos. La primera sección de cada una de las partes (Sección 3 y Sección 6) es una introducción particular que profundiza en el marco teórico

que es específicamente pertinente a esa parte, enuncia los objetivos específicos y las predicciones correspondientes. En las secciones de resultados (Sección 4, Sección 5 y Secciones 7 a 10) además de los resultados, se dan detalles metodológicos específicos, no desarrollados en los Materiales y Métodos Generales, y se hace una breve discusión de los resultados.

En la primera parte (Secciones 3 a 5) se analizará la relación entre los caracteres funcionales foliares y la entidad del EEF a nivel intra-específico, así como las relaciones entre estos caracteres con la resistencia a la herbivoría y la tolerancia al fuego (**OG1**). Esta parte presenta la evidencia para poner a prueba las predicciones correspondientes a las Hipótesis Generales 1 y 2 (**H1** y **H2**). La segunda parte (Secciones 6 a 10) trata sobre la herbivoría por ungulados domésticos como fuente de variación, tanto de los caracteres funcionales foliares, como de resistencia a la herbivoría y tolerancia al fuego (**OG2**). Analiza la variación fenotípica presente en el campo en función de la historia reciente de uso ganadero y su posible efecto selectivo sobre estas poblaciones. También analiza la eventual tolerancia al fuego producto de un incremento en la tolerancia a la remoción de biomasa por ungulados (exaptación). Esta segunda parte presenta la evidencia para poner a prueba la veracidad de las predicciones derivadas de las Hipótesis Generales 3, 4, 5 y 6 (**H3**, **H4**, **H5** y **H6**). Las predicciones correspondientes a cada hipótesis se presentarán en las introducciones a cada parte, donde se desarrolla más extensamente el marco teórico necesario para desglosar cada una de las hipótesis.

Tabla 1.1. Contenido de cada sección de resultados en cuanto a las hipótesis y predicciones abordadas, y objetivos desarrollados en cada una.

Sección	Objetivo general	Objetivo específico	Hipótesis	Predicciones
4	OG1	OE1.1; OE1.2	H1	P1.1
5	OG1	OE1.3; OE1.4; OE1.5	H2	P2.1
7	OG2	OE2.1; OE2.3	H3	P3.1; P3.2
8	OG2	OE2.2; OE2.3	H4	P4.1; P4.2
9	OG2	OE2.3; OE2.4	H5	P5.1; P5.2; P5.3
10	OG2	OE2.5	H6	P6.1; P6.2

En cada sección de resultados se enuncian nuevamente los objetivos, hipótesis y predicciones correspondientes, para mayor claridad del lector, respetando la denominación que se les dio originalmente. La nomenclatura utilizada en la tesis para nombrar los objetivos es la siguiente: Para los Objetivos Generales se usa la denominación **OGn** y para los Objetivos Específicos, la notación **OEn.p**, de tal modo que los objetivos específicos derivados del Objetivo General 1 (**OG1**) se denominan **OE1.1**, **OE1.2** y así sucesivamente. Esta denominación es independiente de la sección particular donde se enuncian dichos objetivos. De manera análoga se denominará a las hipótesis y predicciones, por ejemplo, las predicciones derivadas de la Hipótesis General 3 (**H3**) se denominan **P3.1**, **P3.2** y así sucesivamente. A continuación se presenta una tabla donde se enumeran los objetivos generales y específicos, las hipótesis y predicciones que se abordan en cada sección de resultados (Tabla 1.1).

2 - Materiales y Métodos Generales

2.1 - Área de estudio

El área de estudio tiene como punto central de referencia la localidad de Chancaní, al oeste de la provincia de Córdoba, y se extiende 25 km de N a S y 10 km de E a O. La misma corresponde al extremo austral y más seco de la Provincia Fitogeográfica Chaqueña, distrito del Chaco occidental (Cabrera 1971; Cabido et al. 1994; Cabido & Pacha 2002). En este trabajo se usará la denominación “Chaco Occidental” para la unidad biogeográfica de referencia y “Chaco Occidental de Córdoba” para referirse al área de estudio. Los sitios de muestreo están distribuidos en diferentes posiciones de abanicos aluviales, desde posiciones medianamente proximales hasta el límite distal, en transición hacia la planicie occidental. Dentro de estos abanicos aluviales los sitios ocupan paleocauces del cauce principal y planicies de inundación (Cabido et al. 1994). Debido a la situación topográfica los suelos varían desde Torrithentes típicos del orden de los entisoles hasta Camborthides ustólicos del orden de los aridisoles (Cabido et al. 1994). El relieve se presenta como una llanura ondulada suave, sujeta localmente a procesos de erosión laminar (Cabido et al. 1994). Dichas ondulaciones son causadas por las líneas de escorrentía de los cauces que descienden de las sierras y por lo tanto corren de este a oeste y se van atenuando hacia el poniente.

La vegetación presente en los sitios de estudio corresponde principalmente a tres de las comunidades descritas por Cabido et al. (1994): “**Bosques de *Prosopis flexuosa* y *Aspidosperma quebracho-blanco***”, “**Matorral de *Larrea divaricata***” y “**Comunidad de *Acacia aroma* y *Prosopis flexuosa***”. La primera, que se presenta en la porción más distal de los abanicos aluviales, sobre la llanura ondulada, es un bosque bajo y abierto con emergentes de *Aspidosperma quebracho-blanco* que superan los 10m de altura con un estrato arbustivo dominado por *Larrea divaricata*, *Celtis ehrenbergiana* (ex *C. pallida*) y *Mimozyanthus carinatus*, mientras que en el estrato herbáceo son abundantes las gramíneas perennes cespitosas como *Trichloris crinita*, *Trichloris pluriflora* y *Gouinia paraguayensis*. Algunos de los sitios de estudio podrían asimilarse a una comunidad más típica del llano occidental, pero muy similar a la descrita anteriormente, el “**Bosque de *Prosopis flexuosa* y *Mimozyanthus carinatus***”, que es el resultado de un “quebrachal” intervenido por la explotación forestal (Cabido et al. 1994).

El “**Matorral de *Larrea divaricata***” se presenta en las planicies de inundación o interfluvios de los abanicos aluviales, pero también en terrenos fuertemente perturbados del llano occidental. Esta comunidad no presenta estrato arbóreo y exhibe un alto porcentaje de suelo desnudo. La especie dominante en estos sitios es *L. divaricata* que crece en microelevaciones del terreno junto con las otras especies leñosas, cactáceas y herbáceas presentes. En los espacios intermedios, de suelo desnudo, sólo prosperan algunas especies como *Neobouteloua lophostachya* (Cabido et al. 1994).

Por último, la “**Comunidad de *Acacia aroma* y *Prosopis flexuosa***”, ocupa terrenos que antiguamente fueron cultivados y se caracteriza por ser un matorral abierto, relativamente bajo, con *A. aroma* y *P. flexuosa* como elementos leñosos principales. También hay presencia (más o menos abundante) de *Geoffrea decorticans*, *Larrea divaricata* y *Cercidium praecox*. El estrato herbáceo se encuentra dominado por especies de gramíneas que varían según el grado de disturbio actual.

Desde el punto de vista climático el área puede considerarse como “subtropical” y “sub-árida” (Cabido et al. 1994). La región presenta un severo déficit hídrico, con una temperatura media anual de 18,07 °C y precipitación anual promedio de 533 mm, la distribución temporal de temperaturas y precipitaciones se muestran en el climodiagrama de la Figura 2.1 (López Lauenstein et al. 2012).

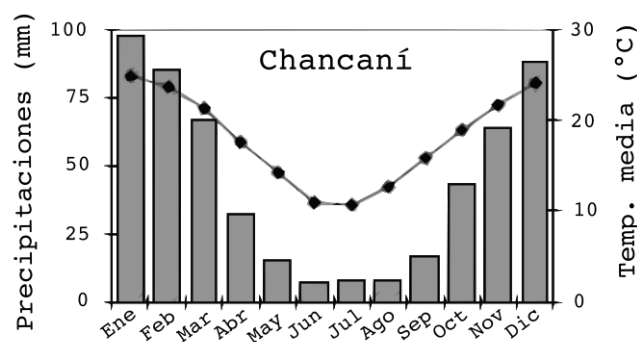


Figura 2.1. Climodiagrama Chancaní. Tomado de López Lauenstein et al. 2012. Las barras indican las precipitaciones promedio mensuales; la línea indica la temperatura media mensual. Datos del periodo 1960-1990 generados por Hijmans et al. (2005) disponibles en <http://www.worldclim.org/version1>.

En el área de estudio, la herbivoría de mamíferos es cuantitativamente más importante que la de invertebrados. Según mediciones realizadas en experimentos en la localidad de Chancaní, el consumo de productividad primaria neta aérea (PPNA) es del 25% por parte de vertebrados mientras que asciende a sólo 5% para invertebrados (Enrico 2009). La PPNA para la zona es de 562,4 g·m⁻²·año⁻¹, estimado según el índice de Rosenzweig, o de 373,71 g·m⁻²·año⁻¹ según lo estimado con imágenes del sensor MODIS (Enrico 2009). Para estos niveles de productividad primaria, según modelos estadísticos de consumo de vertebrados e invertebrados desarrollados para pastizales y sabanas en base a numerosos estudios empíricos, se estima que los vertebrados silvestres consumen entre un 19 y un 22% de la PPNA, mientras que los invertebrados consumen sólo entre el 3,9% y el 4,3% (Oesterheld et al. 1999). Por lo que según todas las estimaciones, los vertebrados consumen aproximadamente 5 veces más PPNA que los invertebrados en el área de estudio.

Además, el área tiene una larga historia de herbivoría por ungulados domésticos, habiéndose instalado como zona de importancia productiva desde el siglo XVI. En los comienzos de la ocupación colonial caracterizado por grandes unidades productivas en manos de los colonizadores, pero dominada a

lo largo de su historia por pequeñas unidades productivas de subsistencia, con trabajo familiar y sin propiedad de la tierra por parte de campesinos originarios y/o criollos (Díaz et al. 1994; Karlin et al. 2013). En la actualidad, el ganado predominante es el caprino, y en menor medida, vacuno y ovino. Los productores ganaderos y campesinos acumulan el agua en represas (o “aguadas”) donde los animales abrevan, ya sea de manera directa o en bebederos dispuestos a su alrededor. En esta área de estudio se seleccionaron sitios con historias contrastantes de herbivoría por ganado, en las últimas décadas, que denominaremos historia de herbivoría severa e historia de herbivoría leve.

2.2 - Especies seleccionadas

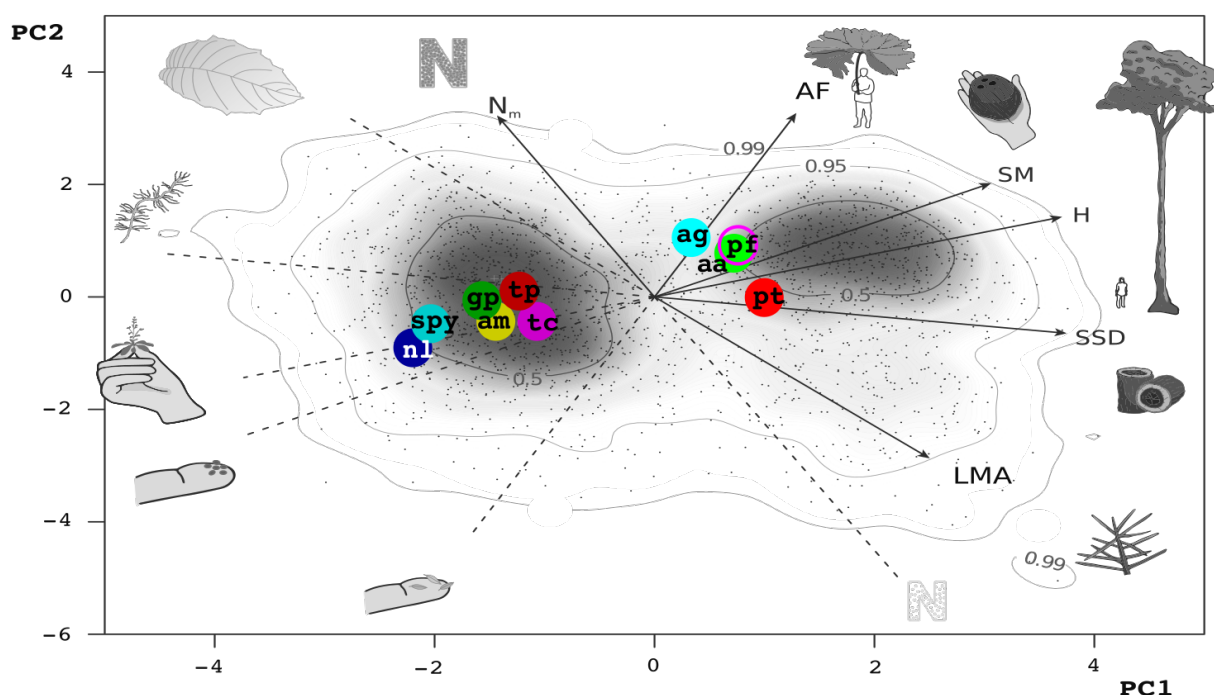


Figura 2.2. Posición de las especies seleccionadas en el espectro global de forma y función (Díaz et al. 2016). *Acacia aroma* (aa); *Acacia gilliesii* (ag); *Prosopis flexuosa* (pf); *Prosopis torquata* (pt); *Aristida mendocina* (am); *Gouinia paraguayensis* (gp); *Neobouteloua lophostachya* (nl); *Sporobolus pyramidatus* (spy); *Trichloris crinita* (tc); *Trichloris pluriflora* (tp). AF: área foliar; H: altura máxima; LMA: masa por unidad de área foliar (=AFE⁻¹); N_m: contenido de nitrógeno por unidad de masa foliar; SM: masa de la semilla; SSD: densidad específica del leño. Las dimensiones de la figura respetan la relación de tamaño de PC1 y PC2 de acuerdo a sus autovalores.

Para el presente trabajo, se seleccionaron diez especies, cuatro de ellas leñosas de la familia de las Fabáceas (*Acacia aroma* Gillies ex Hook. & Arn.; *Acacia gilliesii* Steud; *Prosopis flexuosa* DC.; *Prosopis torquata* (Cav. ex Lag.) DC.), y seis de ellas correspondientes a Poáceas C4 (*Aristida mendocina* Phil.; *Gouinia paraguayensis* (Kuntze) Parodi; *Neobouteloua lophostachya* (Griseb.) Gould; *Sporobolus pyramidatus* (Lam.) Hitchc.; *Trichloris crinita* (Lag.) Parodi; *Trichloris pluriflora* E. Fourn.).

Las especies leñosas seleccionadas son importantes representantes del estrato arbustivo y arbóreo de los bosques del Chaco Occidental (Cabido et al. 1993, 1994), y son relevantes desde el punto de vista de la provisión de forraje tanto por sus hojas como por sus frutos (Catan & Degano 2007; Karlin et al. 2013; Silvetti 2015; Martinez et al. 2016). Además presentan prominentes defensas mecánicas (espinas) fáciles de medir y que, según se ha demostrado en otras especies, constituyen verdaderas defensas (Gómez & Zamora 2002; Gordon 2003; Charles-Dominique et al. 2016). Tres de las especies son semi-caducifolias y *Acacia gilliesii* es netamente caducifolia.

Las especies de gramíneas seleccionadas son todas perennes, de manera que, en el sistema natural, todos los ejemplares están expuestos a la acción de los herbívoros de acuerdo a la carga ganadera puntual durante todo el año. Por otro lado era importante que fueran especies perennes para poder mantenerlas en jardín común para realizar las mediciones y experimentos propuestos. Entre todas las especies de gramíneas perennes presentes en el área de estudio, las seleccionadas fueron especies muy frecuentes (Cabido et al. 1993, 1994) y que pudieran ser diferenciadas entre sí, y de otras especies presentes en el sistema, por sus caracteres vegetativos, ya que en los sitios muy pastoreados resulta difícil encontrar plantas con sus estructuras sexuales intactas. Todas las especies de gramíneas seleccionadas tienen importancia forrajera de intermedia a alta y ninguna es indeseable para el ganado (Karlin et al. 2013). Son particularmente importantes forrajeras *T. crinita* y *T. pluriflora* (“pasto raíz”) (Karlin et al. 2013). Todas las especies de gramíneas seleccionadas son cespitosas con cañas erectas poco ramificadas a excepción de *G. paraguayensis* y *N. lophostachya* que presenta una forma de crecimiento rizomatosa también con cañas erectas, muy ramificadas en esta última. Para la determinación taxonómica de los individuos se consultó material de herbario del Museo Botánico de Córdoba así como la Flora Chaqueña (Molina & Rúgolo de Agrasar 2006) y la Monografía Sobre el Género *Prosopis* de Burkart (1976).

En la Figura 2.2 se muestra la distribución de las especies seleccionadas en el espectro global de forma y función de las plantas (Díaz et al. 2016), dentro del cual se inscribe el EEF, mayormente asociado a la segunda componente principal (PC2), y particularmente determinado por las variables N_m y LMA (=AFE⁻¹). La ubicación de las especies en el espectro global de forma y función se llevó a cabo calculando la posición de cada especie en cada una de las componentes principales (PC1 y PC2) de acuerdo al valor promedio de sus caracteres (estandarizados según la media y desvío estándar global) y aplicando la combinación lineal de acuerdo con los autovectores correspondientes. Los datos fueron obtenidos de la base de datos TRY (Kattge et al. 2011) y de las mediciones de realizadas en esta tesis.

2.3 - Selección de sitios

Dado que los objetivos del presente estudio comprenden el nivel intra-específico se puso énfasis en seleccionar sitios con cargas puntuales de herbivoría que haya sido contrastante en las últimas décadas, y

que las condiciones actuales de uso tengan una antigüedad mínima conocida. El término “**sitio**”, en esta tesis, se refiere a una **localización puntual** en el espacio geográfico (con un radio no mayor a 20 metros) donde se encuentran o de donde provienen los individuos de las poblaciones residentes y las semillas necesarias para los experimentos con sus descendientes. En el caso de las especies leñosas cada sitio se corresponde con un ejemplar, mientras que en las especies de gramíneas se obtuvieron tres ejemplares de cada sitio (como se explicará más adelante). Además, una dada localización es sitio de varias especies, pero no necesariamente de todas.

Tanto cabras como vacas hacen un uso heterogéneo del espacio. En ambos casos la intensidad de forrajeo, y su impacto en la vegetación, es inversamente proporcional a la distancia a la fuente de agua (Senft et al. 1983, 1985; Andrew 1988; King 1992; Shrader et al. 2012). Este gradiente de intensidad de uso que hace el ganado determina un área concéntrica, en torno a la fuente de agua, de mayor carga local que se denomina piosfera (Andrew 1988). En el Chaco Occidental de Córdoba las represas constituyen el epicentro de las piosferas, por lo que el área circundante a las mismas son sitios con mayor carga local de ganado. En estas piosferas se seleccionaron los sitios correspondientes a historia de herbivoría severa.

Mediante comparación de imágenes actuales (usando Google Earth) y fotografías aéreas de la zona, tomadas en 1970, se pudo determinar qué represas presentes en la actualidad ya existían en 1970; por lo tanto se puede asegurar que la carga puntual de ganadería en torno a estas aguadas ha sido intensa al menos en los últimos 40 años. A partir de esto, se recorrió la periferia de cada represa (a una distancia no menor a 25 metros del borde de la misma) y se identificaron los senderos usados por los animales (Oba 1998), sobre esos senderos se localizaron individuos de las especies leñosas de interés y los sitios de procedencia de las gramíneas de interés.

En todos los sitios (de historia de herbivoría severa) escogidos hubo presencia de cabras y en algunos también de vacas. Si bien las cabras prefieren el ramoneo, mientras que las vacas invierten más tiempo pastoreando (consumo de vegetación herbácea), ambas especies hacen uso de los dos tipos de recurso forrajero. Las cabras hacen un uso más equitativo y diverso de los diferentes recursos, manteniendo una proporción más estable de los diferentes items alimenticios y una gama más amplia de especies consumidas durante todo el año, pero las vacas también ramonean principalmente cuando escasean las pasturas, esto es en la estación seca (Dicko & Sikená 1992; Papachristou et al. 2005; Ouédraogo-Koné et al. 2006; Sanon et al. 2007). Por lo tanto, la presencia de cabras en todos los sitios con intenso uso ganadero asegura una presión más o menos estable sobre las diferentes especies vegetales estudiadas. Además las cabras cubren distancias más cortas para alimentarse por lo que hacen un uso más intensivo de un área menor (Ouédraogo-Koné et al. 2006), lo cual es favorable al objetivo planteado.

Para seleccionar los sitios con historia de herbivoría leve se tomó la reserva Parque Natural Chancaní. Este Área Natural Protegido fue fundado en 1986 en tierras expropiadas en 1977 a la Estancia Los Pocitos y que había sido declarado “Bosque permanente y Protector” en 1966, por lo que no tiene un uso intenso desde esa fecha (Cabido & Pacha 2002). Adicionalmente, y tomando como referencia los mapas de vegetación de Hoyos et al. (2013) se pudo establecer que hay una franja más o menos extensa entre las sierras y el camino que une Villa Dolores con Chancaní que ha permanecido desde 1979 al presente en un buen estado de conservación. Además, sobre la base de relatos de los habitantes de la zona se sabe que es un espacio que nunca tuvo un uso intensivo por estar alejado de las antiguas vías de tránsito y viviendas. Además, se puede constatar con imágenes presentes y fotografías aéreas que no hubo represas en esa franja al menos desde 1970. En estas dos áreas se muestreó sistemáticamente en busca de ejemplares de las especies leñosas y gramíneas de interés, que cumplieran con los requisitos explicados más adelante.

En las áreas bajo cada una de las dos historias de herbivoría, se seleccionaron la cantidad de sitios necesarios para contar con aproximadamente 20 ejemplares de cada especie leñosa y aproximadamente 20 sitios de procedencia por especie de gramínea, para los ejemplares residentes y las semillas para los experimentos con descendientes. De modo que se procuró contar con aproximadamente 40 ejemplares por cada especie leñosa y 40 sitios de procedencia por cada especie de gramínea (las Figuras 2.4 y 2.5 muestran un panorama general del diseño experimental para leñosas y gramíneas respectivamente). Para alcanzar esta cantidad de réplicas por especie fue necesario establecer 99 sitios.

Para hacer una descripción de los suelos en ambas historias de herbivoría, se tomó, en cada uno de estos sitios, una muestra de suelo de los primeros 10 cm. Las 99 muestras de suelo (una por sitio) fueron agrupadas según la proximidad de sus sitios de origen, conformando 22 muestras compuestas. En el caso de las muestras provenientes de historia de herbivoría severa los agrupamientos se corresponden con piosferas en torno a una represa (o grupo de represas cercanas entre si que solapan sus piosferas). En el caso de las muestras provenientes de los sitios con historia de herbivoría leve el agrupamiento resulta de la manera conglomerada en que se encontraron los ejemplares de las leñosas. Cuando la distribución de los sitios, en la historia de herbivoría leve, se dio de manera más o menos homogénea en un área extensa, se estableció una división arbitraria del área en un agrupamiento que distribuye el número de muestras de manera equitativa. En las 22 muestras compuestas resultantes se analizó pH, conductividad, contenido de materia orgánico, fosfatos, silicatos, calcio, magnesio, sodio, potasio. Además, en cada uno de estos sitios se tomaron medidas de compactación superficial de suelo, compactación a dos profundidades (0-5 cm y 5-10 cm) con penetrómetro de golpe modelo INTA-Villegas, contenido volumétrico de agua a 7,62 cm (3 pulgadas) y se obtuvieron promedios de estas variables para el conjunto de sitios correspondiente al agrupamiento que da lugar a las 22 muestras compuestas descripto previamente. En la Tabla A.1 de los

apéndices se muestran los estadísticos descriptivos de este conjunto de variables para cada una de las historias de herbivoría. La Figura 2.3 muestra la distribución espacial de los sitios agrupados de acuerdo al agrupamiento de las muestras de suelo.

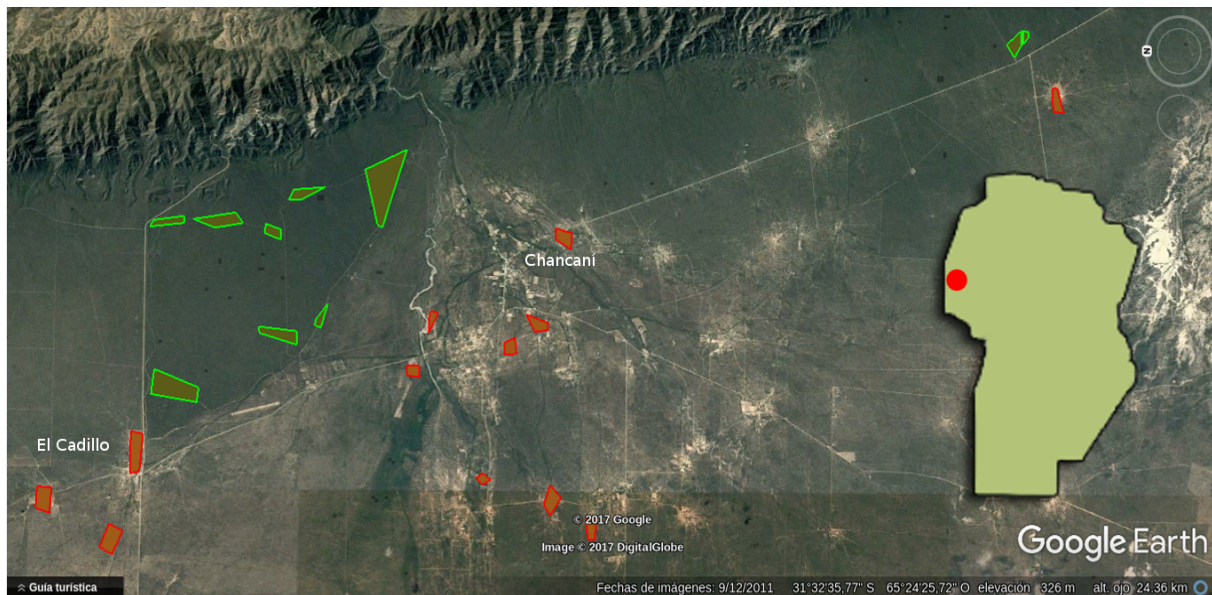


Figura 2.3. Distribución espacial de los sitios. En la silueta de la provincia de Córdoba se señala con un punto rojo la localización del área de estudio. En la imagen de Google Earth se muestra la distribución espacial de los sitios, agrupados de la misma manera que se agruparon las muestras de suelo para su análisis. Cada polígono agrupa los sitios cuyas muestras de suelo se agruparon (entre 2 y 18 sitios por polígono). Los polígonos en color verde muestran los sitios con historia de herbivoría leve, mientras que los rojos los sitios con historia de herbivoría severa. Nótese que en la imagen de Google Earth el norte está hacia la izquierda.

Para cada especie, los ejemplares seleccionados en leñosas o los sitios de procedencia de los ejemplares de gramíneas y sus semillas, se escogieron de manera que estuvieran separados por al menos 100 metros (medida por GPS con un error menor o igual a 5m) unos de otros. Además los ejemplares y sitios de procedencia debían estar alejados al menos 25 metros de represas en la situación de historia de herbivoría severa, y a no menos de 25 metros de bordes de caminos y alambrados en el caso de los sitios de historia de herbivoría leve. La distancia mínima entre ejemplares/sitios de procedencia de cada especie fue establecida con el objetivo de minimizar la posibilidad de muestrear individuos estrechamente relacionados o de recolectar semillas con altas probabilidades de compartir material genético entre sitios. De esta manera se buscó minimizar la probabilidad de obtener semillas producto de cruzamiento entre ejemplares con diferentes historias de herbivoría y evitar sesgos producto de muestrear plantas emparentadas. Diversos autores muestran que una distancia de 50 metros es suficiente para restringir el flujo génico en diversas especies de *Prosopis*, entre ellas *P. flexuosa* (Vilardi et al. 1988; Saidman & Vilardi 1993; Bessega et al. 2000, 2005). Resultados y criterios similares se reportan para especies del género *Acacia* (Butcher et al. 1998; Casiva et al. 2004). Además, Bateman (1947) muestra que la capacidad de dispersión del polen por insectos (las especies leñosas aquí estudiadas son

principalmente entomófilas) es menor que la capacidad de dispersión por viento. A su vez, la capacidad de dispersión del polen por el viento, como es el caso de las gramíneas, es bastante restringida. Se ha demostrado que la probabilidad de migración del polen cae exponencialmente con la distancia (Bateman 1947, Caisse & Antonovics 1978), de manera que a una distancia de solo 9,15 m el flujo génico cae rápidamente a 5% (Jain & Bradshaw 1966) y al 1% en 21m (Bateman 1947), por lo que el flujo a una distancia de 50 ó 100 metros sería completamente despreciable ($< 3 \times 10^{-7}$ y $< 3 \times 10^{-14}$ respectivamente). Resultados similares presenta Griffiths (1950), llegando a la conclusión que una distancia de 50 a 100 metros es suficiente para lograr un aislamiento de flujo, resaltando además que la presencia de poblaciones intermedias, en el espacio, hace caer más rápidamente la probabilidad de flujo (Griffiths 1950). En concordancia con esto se demostró, en *Festuca pratensis*, que la competencia polínica disminuye notablemente las probabilidades de polinización cruzada entre poblaciones alejadas (Rognli et al. 2000). Todo esto demuestra que la distancia mínima establecida (100m), constituye un criterio prudencial para establecer que los ejemplares y las semillas recogidas son, desde el punto de vista genético, réplicas independientes.

2.4 - Individuos leñosos seleccionados

La selección de los ejemplares leñosos se hizo de tal manera que se buscó maximizar la probabilidad de que los mismos se hayan establecido y crecido bajo las condiciones actuales de uso ganadero, esto es ejemplares no mayores de 40 años de edad. Debido a que no se pudo establecer la edad de los individuos se seleccionaron aquellos ejemplares de menor porte que cumplieran con las condiciones necesarias para la realización de las mediciones y experimentos. Estas condiciones fueron tener una altura mayor a 1,5m (presentar ramas que hayan escapado al ramoneo) pero presentar ramas a menos de 1,5m (accesibles al ganado), ser reproductivamente maduros (para poder obtener semillas de ellos para los experimentos con descendientes). De todos los ejemplares se midió el diámetro a la base (en *A. gilliesii* se midió el diámetro del fuste principal) para corroborar que, en cada especie, no hubiera diferencias de talla entre los conjuntos de individuos de cada historia de herbivoría (Apéndice, Tabla A.2). Estos ejemplares son los denominados **leñosas residentes** y para el experimento de corte con leñosas residentes, constituyen los **ejemplares focales**.

Para *A. aroma* y *P. flexuosa* se puede tener una estimación aproximada del rango etario de los ejemplares. De acuerdo al estudio de la tasa de crecimiento de *A. aroma* en el Chaco Occidental llevado a cabo por Bravo et al. (2006), los ejemplares seleccionados de esta especie podrían tener entre 13 y 35 años de edad. Asimismo, de acuerdo a los estudios sobre crecimiento de *P. flexuosa* llevados a cabo por Perpiñal et al. (1995) en el Chaco Occidental de Córdoba, los ejemplares seleccionados de esta especie tendrían entre 16 y 40 años.

2.5 - Determinación de caracteres en las poblaciones residentes

2.5.1 - Leñosas

En diciembre de 2013 se determinaron los caracteres foliares AFE, CMS, fuerza tensil del raquis (FTR), fuerza tensil bruta del raquis (FTbR) y espinas (tamaño y cobertura) de los ejemplares seleccionados en el campo (residentes) de *A. gilliesii* y *P. flexuosa*. En febrero de 2014 se llevaron a cabo las mismas mediciones en *A. aroma* y *P. torquata*. Para todas las especies se seleccionaron las tres ramas terminales más bajas del individuo (siempre por debajo de 1,5 m), que estén expuestas en la superficie externa de la copa y que presenten espinas maduras (lignificadas). De la misma manera se seleccionaron tres ramas altas (por sobre 1,5 m). De estas ramas se midió largo y diámetro a la base de las espinas (el diámetro en dirección paralela al eje de la rama) de los nudos 3° y 5° hacia basal descartando los 3 cm apicales, de cada una de las ramas. De esos mismos nudos se colectaron las hojas, se las colocó en bolsas plásticas cerradas, con una aspersion de agua, se mantuvieron en conservadora con hielo durante el trabajo de campo y luego en heladera a 4 °C hasta su procesamiento.

2.5.2 - Gramíneas

Para la determinación de los caracteres foliares de las gramíneas en el campo (residentes) se obtuvieron muestras de tres ejemplares por sitio. Dado que los mismos ejemplares serían utilizados para un experimento de corte y que aplicar los tratamientos en el campo no era factible, se transplantaron todos los ejemplares en macetas y se trasladaron a un jardín experimental en la ciudad de Córdoba, en las instalaciones del Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal. Los ejemplares fueron transplantados con su propio pan de tierra a macetas de plástico soplado N° 12 (para *N. lophostachya* y *S. pyramidatus*) y N° 14 (para las otras especies). Para trasladar la totalidad de los ejemplares se realizaron tres viajes en 2013 (2 en marzo y uno en abril). A su vez fue necesario un viaje más en mayo de 2014, para reponer ejemplares que habían muerto y que se necesitaban para el experimento de corte, dichos ejemplares también fueron incluidos en las mediciones de caracteres de las poblaciones residentes. Una vez en el jardín común los ejemplares se mantenían con riego diario, ajustado periódicamente, según las condiciones climáticas, para evitar la desecación de la tierra en las macetas. Inmediatamente trasladadas las plantas al jardín experimental se procedió a la medición de sus caracteres foliares, pero debido al gran número de ejemplares hubo una diferencia de varias semanas entre la medición de la primera planta y la última. Por estos motivos, en los análisis estadísticos necesarios para hacer inferencias respecto al efecto de la historia de herbivoría sobre caracteres foliares, el sitio de origen, el año y la fecha de extracción se incluyeron como factores de efecto aleatorio. El tiempo transcurrido entre la extracción de cada planta y la medición de los caracteres foliares fue considerado como variable regresora en la selección de modelos, dentro de la parte de efectos fijos. Estas plantas fueron mantenidas en el jardín experimental, bajo las mismas condiciones y con rotaciones periódicas hasta la culminación del experimento de corte.

2.6 - Experimentos con residentes

2.6.1 - Leñosas

El experimento de poda sobre leñosas residentes se realizó solo con los ejemplares de *P. torquata*. La medición inicial y tratamiento se realizó en diciembre (1 al 3) de 2014 y la medición final en marzo (4 al 7) de 2015. Por cada ejemplar focal (seleccionado previamente para la determinación de caracteres en las poblaciones residentes) se eligió un **ejemplar vecino**, de la misma especie, que se encuentra a una distancia no mayor a 10m, que presenta ramas altas (> 1,5m). De cada ejemplar focal se escogieron ramas altas y bajas (por sobre y debajo de 1,5 m respectivamente), se midió el tamaño de las ramas, las espinas, se tomaron muestras foliares (para determinación de caracteres) y se asignaron a diferentes tratamientos (poda, consistente en decapitación y defoliación de la rama), desespinado y controles. Asimismo se tomaron mediciones y muestras foliares en el vecino (control externo) para discriminar variaciones relacionadas con las manipulaciones experimentales hechas en el ejemplar focal de variaciones generales independientes. Una descripción más detallada de este experimento se encuentra en la Sección 5.3.3.

2.6.2 - Gramíneas

De las plantas procedentes de cada sitio (por especie) se asignó una de ellas a tratamiento y otra a control. El tratamiento consistió en remoción de biomasa aérea por corte, a partir de la parte cortada se determinaron los caracteres foliares. La biomasa cortada se utilizó para estimar la biomasa inicial remanente y luego estimar el crecimiento de la planta post-corte. Las plantas control solamente se usaron para cuantificar los caracteres foliares al comienzo y al final del experimento. El experimento comenzó el 12 de enero de 2015 y entre 62-64 días después del tratamiento se realizaron las mediciones finales y se cosechó la parte aérea de las plantas destinadas a tratamiento para determinar la biomasa final aérea y el crecimiento. Una descripción más detallada de este experimento se encuentra en Metodología específica de la Sección 5.3.1.

2.7 - Recolección de semillas

En 2013 y 2014 se realizaron varios viajes para recolectar semillas de todas las especies. En el caso de las leñosas se visitaron todos los ejemplares seleccionados y se recolectaron sus frutos. También se recolectaron semillas del vecino para suplir semillas en caso de que no se encontraran frutos en los ejemplares focales, o que éstos fueran muy escasos y no alcanzaran para producir la cantidad de plántulas necesarias. De cada ejemplar se recolectaron al menos 100 semillas de diferentes ramas, según lo recomendado por Vilardi et al. (1988). En el caso de las gramíneas se recolectaron semillas de todas las especies de interés en todos los sitios sin discriminar la planta madre en un radio de 20m. De esta manera se procuró obtener la cantidad de semillas necesaria para generar ejemplares descendientes en cantidad

suficiente para realizar las mediciones y experimentos mencionado en la Sección 2.8 y subsiguientes. Respecto del origen de las semillas, se buscó que los descendientes lo fueran de ejemplares desarrollados en sitios bajo una u otra historia de herbivoría (leve y severa). Por este motivo en las leñosas se puso especial énfasis en conseguir semillas de los mismos ejemplares focales seleccionados, ya que éstos fueron escogidos teniendo en cuenta su tamaño y por ende la probabilidad que se hayan desarrollado bajo el régimen de disturbio actual. En el caso de las gramíneas, debido a su menor longevidad, no se extremaron estos cuidados y se recolectaron semillas, según su disponibilidad, en todos los sitios.

2.8 - Experimento con descendientes

2.8.1 - Leñosas

Para las especies leñosas se procuraron descendientes de 40 plantas madre por especie (20 de cada historia de herbivoría). De cada planta madre se sembraron semillas para generar seis descendientes (familia genética de medios hermanos maternos). Finalmente se usarían cuatro descendientes de cada familia de medios hermanos para las diferentes mediciones. Este número no se alcanzó en todos los casos por diferencias en la viabilidad de las semillas. Fueron particularmente poco viables las semillas de *A. gilliesii*. En los resultados se indican las réplicas obtenidas en cada caso.

La siembra se hizo priorizando las semillas provenientes de los ejemplares focales. De cada planta madre se sembraron semillas en seis recipientes plásticos de 10 cm de diámetro por 30 cm de alto. El sustrato utilizado fue tierra de vivero cuyas características se detallan en la Tabla A.3. La siembra se realizó en enero y febrero de 2015, con las semillas previamente escarificadas mecánicamente. La germinación se registró unos pocos días posterior a la siembra y cuando fue necesario se volvió a sembrar en las macetas donde no había habido germinación. En todos los casos se revisó y registró semanalmente la germinación en cada maceta. En cada recipiente se sembraron hasta cuatro semillas y luego se raleó hasta dejar un solo ejemplar. El orden de siembra fue establecido de la siguiente forma, primero se relevó el estado de las semillas de ejemplares focales y vecinos, dando prioridad a los primeros, se seleccionaron las semillas necesarias para sembrar todas las macetas con semillas procedentes de 20 plantas madre de sitios distintos de cada historia de herbivoría. Luego se aleatorizaron esas procedencias para que las familias de medios hermanos maternos quedaran ordenadas de manera completamente aleatoria y por ende también las historias de herbivoría. Todos los descendientes de una dada especie se colocaron juntos en un arreglo compacto con filas de 10-12 macetas, donde los descendientes de la misma planta madre se colocaron alineados de manera sucesiva en la misma fila. Es decir, los descendientes quedaron agrupados por especie y por familia de medios hermanos maternos. Pero dentro de cada especie las familias de medios hermanos estuvieron distribuidas al azar y, por lo tanto, también lo estuvieron las historias de herbivoría. Con estos ejemplares, a comienzos de 2016, se

determinaron caracteres foliares y espinosidad (tamaño promedio y cobertura de espinas), y se realizaron los experimentos de quema y corte descritos en la Sección 5.3.4.

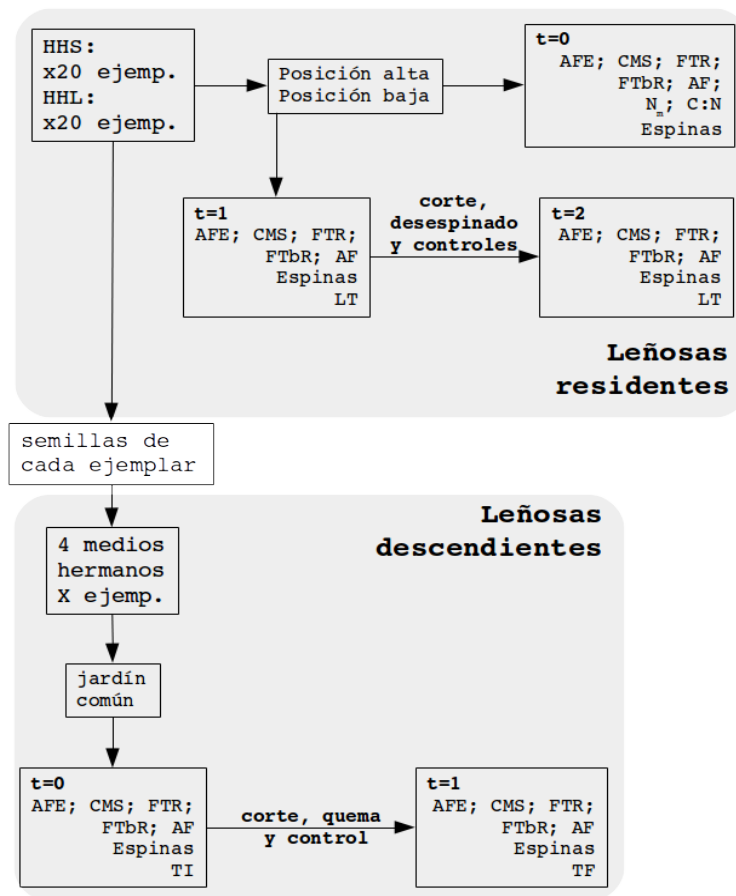


Figura 2.4. Esquema general del diseño experimental para leñosas. **HHS:** historia de herbivoría severa; **HHL:** historia de herbivoría leve; **LT:** longitud total; **TI:** tamaño inicial; **TF:** tamaño final; **AF:** área foliar; **AFE:** área foliar específica; **CMS:** contenido de materia seca; **FTR:** fuerza tensil del raquis; **FTbR:** fuerza tensil bruta del raquis; **N_m:** contenido de nitrógeno en base a masa; **C:N:** relación carbono:nitrógeno (M/M).

2.8.2 - Gramíneas

Para las especies de gramíneas se siguió el mismo procedimiento que para las leñosas solo que se utilizaron recipientes de 10 cm de diámetro por 10 cm de alto y se acomodaron las macetas en arreglos de 40 filas por 6 columnas, una fila correspondiente a cada procedencia de las semillas, para cada especie. Además se colocó sobre cada maceta una tela antiheladas, sujeta a su contorno y separada de la superficie de la tierra con un trípode para pizza. Esto último se hizo para evitar que semillas de la misma especie, o especies similares, cayeran y germinaran sobre la maceta y fueran confundidas con plantines de las semillas sembradas. Cuando las semillas sembradas germinaron se practicó una incisión en la tela antiheladas para que las plantas puedan crecer y se raleó cada maceta en dos oportunidades para obtener una sola planta por maceta. En todos los casos se revisó y registró semanalmente la germinación en cada

maceta. La siembra se comenzó en octubre de 2014 y se prosiguió resembrando hasta acercarse lo más posible a la cantidad deseada de 6 ejemplares por sitio, por 20 sitios para cada historia de herbivoría (leve y severa) para cada especie. También se transplantaron plantas entre macetas correspondientes a la misma procedencia cuando no se disponía de más semillas de sitio en cuestión y había macetas con más de una planta y otras sin germinación. Finalmente, a comienzos de 2016, se usaron tres o cuatro ejemplares descendientes de cada sitio (por cada especie) para determinar caracteres foliares de los ejemplares descendientes y realizar los experimentos de quema y corte descritos en la Sección 5.3.2.

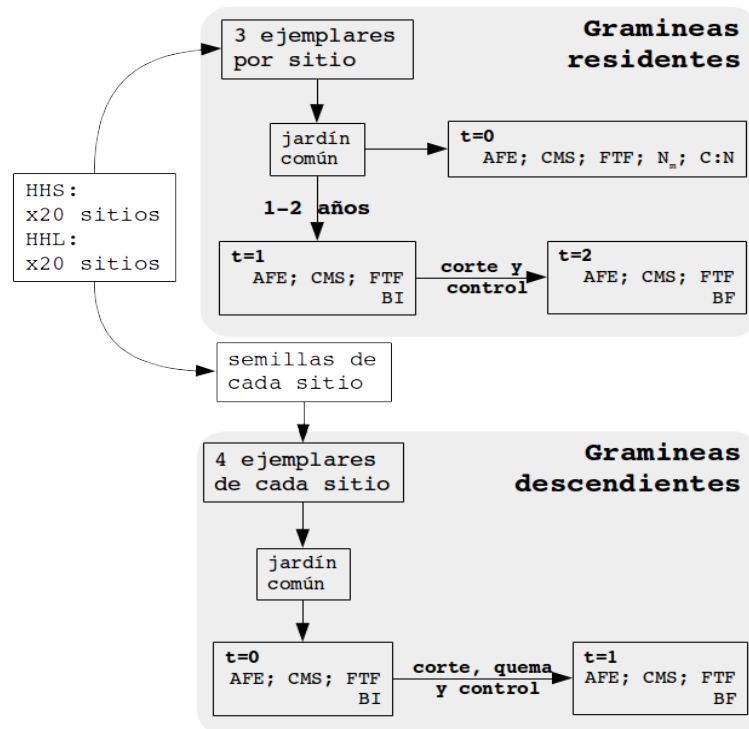


Figura 2.5. Esquema general del diseño experimental para gramíneas. **HHS:** historia de herbivoría severa; **HHL:** historia de herbivoría leve; **BI:** biomasa aérea inicial; **BF:** biomasa aérea final; **AFE:** área foliar específica; **CMS:** contenido de materia seca; **FTF:** fuerza tensil foliar; **N_m :** contenido de nitrógeno en base a masa; **C:N:** relación carbono:nitrógeno (M/M).

Parte I

Espectro económico foliar intra-específico, resistencia a la herbivoría y tolerancia al fuego

3 - Introducción de la Parte I

3.1 - Marco teórico

Como se mencionó en la Introducción General el EEF está caracterizado por un patrón de variación conjunta de los caracteres funcionales foliares que determina la existencia de una componente principal que concentra la mayor parte de la varianza. Este hecho se explica porque los caracteres funcionales foliares que participan no son independientes, sino que están vinculados por una estructura causal común, que los involucra a todos. Estos motivos, la estructura causal subyacente al EEF y la predominancia de una componente principal, hacen posible pensar el EEF de manera simplificada como una variable unidimensional cuantitativa y continua que cubre el espectro de plantas desde el extremo más conservador hasta el extremo más adquisitivo (Figura 1.1). En esta tesis se considerará arbitrariamente que el EEF crece hacia su extremos más adquisitivo por lo que valores más elevados de esta variable corresponden a síndromes más adquisitivos.

Este eje de variación continua fue descrito a nivel inter-específico (Reich et al. 1997; Wright et al. 2004; Díaz et al. 2004, 2016). Posteriormente se ha comenzado a indagar respecto a su presencia y relevancia a nivel intra-específico, siendo la evidencia a este nivel aun escasa y contradictoria (Niinemets 2015; Anderegg et al. 2017). **Es por eso que el presente trabajo se propone realizar un aporte a este vacío de conocimiento, analizando la variabilidad intra-específica de los caracteres funcionales foliares del EEF y sus patrones de correlación en un gran número de muestras foliares de 10 especies nativas del centro-oeste de Argentina.**

La estructura causal subyacente al EEF ha sido sintetizada y puesta a prueba de diferentes maneras (Shipley et al. 2006a; Onoda et al. 2017). La Figura 3.1 muestra una hipótesis causal entre los caracteres funcionales foliares que resulta de la síntesis de los trabajos previamente citados, con modificaciones propias basadas en la literatura existente y que se explican más abajo. Esta hipótesis causal, como tal (y en su totalidad), no será puesta a prueba en el presente trabajo porque sería necesario contar con la medición de más variables. El desafío de medir de manera precisa cada una de las variables participantes en esta estructura causal se opone a la tarea de generar un volumen de datos empíricos representativos que permitan una descripción robusta de patrones más básicos. En esta tesis se priorizó la representatividad y robustez. Sin embargo, si es factible poner a prueba partes de dicha hipótesis, mediante el estudio de las relaciones entre los caracteres medidos, y además, brinda el marco teórico para comprender las relaciones entre los caracteres y la naturaleza del patrón de correlaciones.

Una variable central en el EEF es la relación entre pared celular y plasmalema, que se denominará *célula:pared* para mayor simplicidad:

$$célula:pared = V_c \cdot V_p^{-1} \quad (\text{ec. 1})$$

Donde V_c es el volumen ocupado por el plasmalema y V_p el volumen ocupado por la pared celular. Esta relación es considerada por algunos autores como la principal causa de la variabilidad en los caracteres funcionales foliares (Shiple et al. 2006a; Onoda et al. 2017). Dado que el plasmalema es mayoritariamente agua y la pared celular materia seca, el CMS resulta en un estimador de esta relación. Por otro lado la mayor parte del nitrógeno se encuentra en el plasmalema, por lo que la proporción de volumen que ocupe éste determinará en buena medida el N_m . Mientras mayor proporción de pared celular haya en la hoja, ésta será más densa y por lo tanto, generalmente más dura. Adicionalmente contribuyen a la dureza total, la dureza específica del material (γ) y el espesor de la hoja (EF), este último aumentando el área de la sección cortada. La relación célula:pared participa en la densidad del material y por lo tanto de AFE. El Espesor foliar también tiene efecto en AFE por una razón meramente geométrica, mientras más espesa es la hoja, manteniendo todas las otras variables constantes, más materia tiene por unidad de área. La relación célula:pared, además de sus efectos indirectos sobre A_m , mediados por AFE y N_m , también tiene un efecto directo porque influye en la conductividad del mesófilo (paredes más gruesas son menos permeables a los gases). A todo esto se podría agregar la proporción ocupada por aire dentro de la hoja, que se denominará *proporción de aire*:

$$proporción\ de\ aire = V_A \cdot V_T^{-1} \quad (\text{ec. 2})$$

Donde V_A es el volumen de aire presente en la hoja, es decir el volumen no ocupado por plasmalema ni por pared celular. Mientras que V_T es el volumen foliar total. Esta variable tendrá efecto en la densidad del material y por lo tanto en la dureza foliar y AFE, pero además el espacio aéreo entre las células facilita la difusión de los gases incrementando la conductividad del mesófilo y por lo tanto teniendo un efecto positivo sobre A_m . Finalmente hay que señalar que la longevidad foliar (LF) depende directamente de la resistencia mecánica de la hoja (Wright et al. 2004; Onoda et al. 2011; Kitajima et al. 2012).

Este marco teórico ha sido desarrollado a nivel inter-específico pero, como se dijo anteriormente, los caracteres se miden a nivel de individuo y las relaciones aquí descriptas son de tal naturaleza (físicas, geométricas, fisiológicas) que mayoritariamente resultan independientes de la especie por lo que cabe esperar que dicha estructura causal sea válida a diferentes niveles, **de manera que a nivel intra-específico se debería observar el mismo patrón de correlaciones que se observa a nivel inter-específico.**

En el EEF resulta central la relación entre los caracteres A_m y LF. Se trata de una fuerte correlación negativa a nivel inter-específico (Wright et al. 2004) y expresa el compromiso entre eficiencia en la

adquisición de recursos (A_m) y la cantidad de tiempo que se puede mantener esa tasa de adquisición. De tal manera que el producto de ambas ($LF \cdot A_m$) informa de la asimilación total lograda por cada unidad de masa invertida en hoja. Ahora bien, suele prestarse más atención a la relación entre AFE y LF, probablemente porque es mucho más accesible medir AFE que A_m y por lo tanto hay mucha más información disponible del primero. Además, AFE está estrechamente relacionado a A_m debido a la relación causal directa que los vincula y a que comparten causas parentales comunes con efectos en el mismo sentido (Figura 3.1). Además el AFE (o su recíproco, masa por unidad de área foliar, LMA por sus siglas en inglés) informa del costo en carbono de desplegar una determinada cantidad de área foliar, por lo que su relación con LF brinda una perspectiva intuitiva de la relación entre el costo del área foliar y su duración. En estos términos podría resumirse la dicotomía adquisitivo vs conservador de la siguiente manera, siempre comparativamente: una planta presenta un síndrome adquisitivo (o es más adquisitiva, o tiene una estrategia de uso de recursos más adquisitiva que otra) cuando exhibe una serie de atributos funcionales (estado de los caracteres funcionales) asociados a elevadas A_m . Por el contrario, una planta es conservadora cuando presenta una serie de atributos funcionales asociados a hojas más longevas (alta LF).

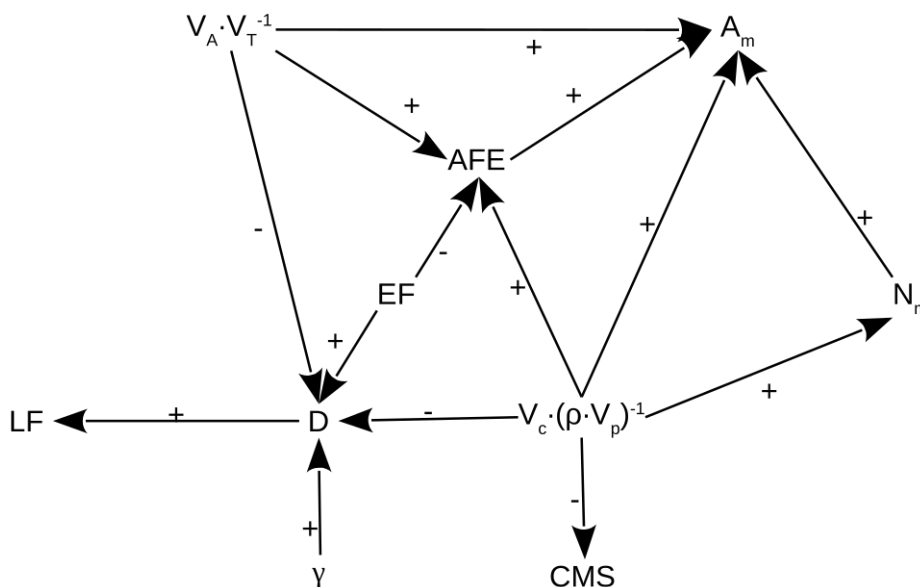


Figura 3.1. Hipótesis causal de relaciones entre caracteres funcionales foliares que determinan el espectro económico foliar. *AFE*: área foliar específica. *A_m*: tasa fotosintética máxima por unidad de masa foliar. *CMS*: contenido de materia seca. *D*: dureza foliar. *EF*: espesor foliar. *LF*: longevidad foliar. *N_m*: contenido de nitrógeno por unidad de masa foliar. *V_A*: volumen ocupado por aire en la hoja. *V_c*: volumen ocupado por citoplasmas. *V_p*: volumen ocupado por pared celular. *ρ*: gravedad específica. *γ*: dureza específica del material.

El EEF se encuentra tensionado por diferentes fuerzas evolutivas. Se puede pensar un paisaje adaptativo (Wright 1932) en términos de la conceptualización que hace Simpson (1964). En este paisaje los caracteres fenotípicos definen las coordenadas (i.e. la posición en el paisaje) y la elevación del

terreno representa la aptitud correspondiente a la combinación de estados de los caracteres en una posición dada del paisaje. El paisaje adaptativo determinado por los caracteres LF y A_m (o LF y AFE), tendrá una pendiente positiva hacia la combinación que maximice ambos caracteres. Por lo tanto queda claro que el EEF, por las constricciones físicas y fisiológicas que lo determinan, queda dispuesto de manera más o menos perpendicular al gradiente de selección (Figura 3.2). Esto dificulta la evolución de dichos caracteres, porque la varianza en la dirección del gradiente de selección es baja y porque la correlación negativa entre caracteres tiene causas estructurales. De manera que hay poco margen para incrementar una de las variables sin ir en detrimento de la otra. En la hipótesis causal aquí planteada (Figura 3.1), la única posibilidad es lograr un incremento en la dureza específica (γ), lo que permitiría aumentar la LF sin disminuir A_m . Por otro lado, la alternativa sería incrementar la tasa fotosintética por unidad de N (PNUE – Onoda et al. 2017), que no ha sido incorporada aquí, y que podría lograrse optimizando la partición de N, favoreciendo la asignación a la actividad fotosintética (particularmente a la enzima Rubisco) en detrimento de la asignación a funciones estructurales (Onoda et al. 2004, 2017).

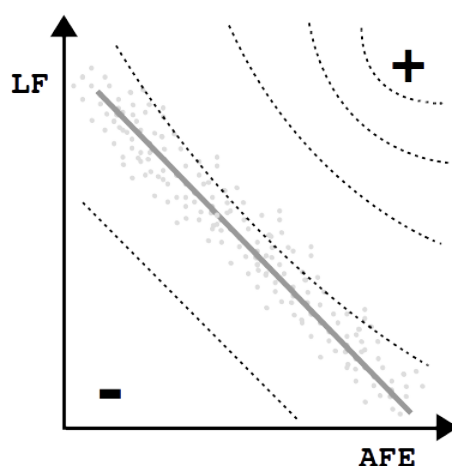


Figura 3.2. Posición del espectro económico foliar en el paisaje adaptativo. Los puntos representan plantas individuales, la línea continua representa el espectro económico foliar, los signos más y menos indican el máximo y mínimo de aptitud en el paisaje representado. Las líneas punteadas representan la topografía de dicho paisaje. AFE: área foliar específica; LF: longevidad foliar.

Como se explicó en la introducción general, el EEF está íntimamente relacionado con la tasa relativa de crecimiento (Figura 3.3) y, a su vez, ésta es uno de los mecanismos mediante los cuales se explica la tolerancia a la herbivoría. Es por eso que se espera una relación positiva entre el EEF y la tolerancia. Sin embargo existen otros factores involucrados que condicionan la tasa relativa de crecimiento y la tolerancia (simbolizados como X_n y X_p en la Figura 3.3). En primer lugar, la actividad fotosintética es condición necesaria pero no suficiente para que ocurra el crecimiento. Esto es porque, ante un estrés por escasez de recursos (por ejemplo una sequía leve), siempre se ve limitado el

crecimiento antes que la fotosíntesis (Wardlaw 1969; Herms & Mattson 1992). A su vez la asignación de productos de fotosíntesis a diferentes funciones puede hacer que no haya una relación directa entre ambas variables. La redistribución de recursos dentro de la misma planta puede desacoplar la tasa relativa de crecimiento y la tolerancia (Herms & Mattson 1992). Por ejemplo la acumulación de reservas de carbono en diferentes órganos puede modificar la susceptibilidad/tolerancia de las plantas frente al disturbio (Dyer et al. 1991) independientemente de la tasa relativa de crecimiento inicial.

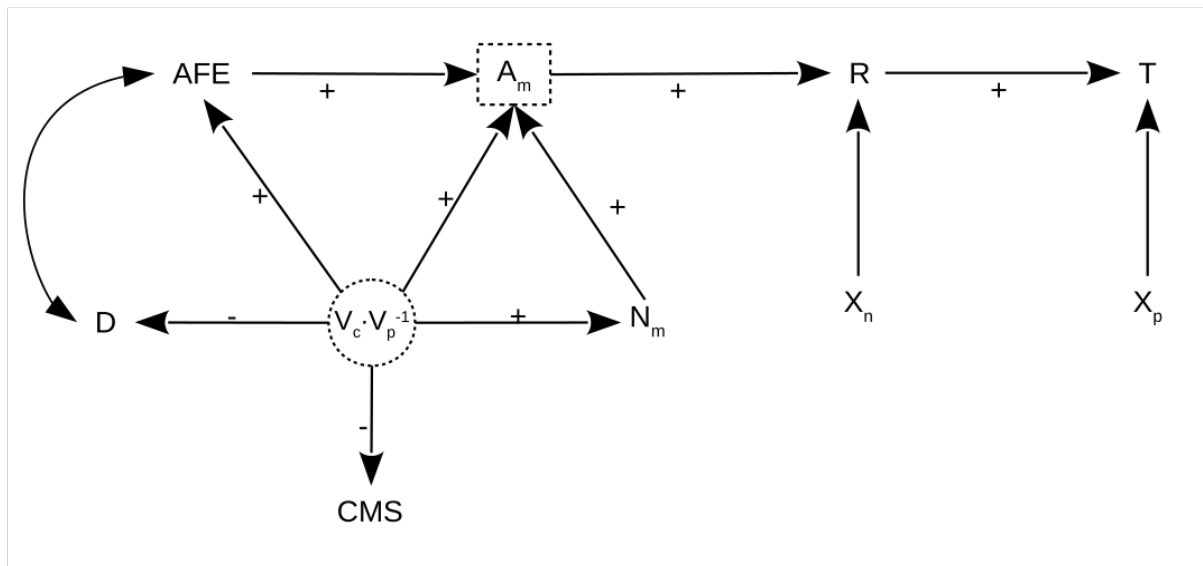


Figura 3.3. Relación entre EEF, tasa relativa de crecimiento (R) y tolerancia a la herbivoría (T). La estructura causal del EEF es una versión simplificada de la planteada en la Figura 3.1. las variables X_n y X_p simbolizan un conjunto de variables desconocidas y que hipotéticamente tienen efectos sobre R y T , que son independientes del EEF. A_m : tasa fotosintética máxima por unidad de masa foliar (que no fue cuantificada en esta tesis); AFE: área foliar específica; CMS: contenido de materia seca foliar; D: dureza foliar; N_m : contenido de nitrógeno por unidad de masa foliar; $V_c \cdot V_p^{-1}$: relación célula:pared. La doble flecha curva indica una correlación entre variables.

En cuanto a la relación entre las espinas, como defensas mecánicas, y el EEF la literatura sugiere la existencia de un compromiso entre tolerancia y defensas (Coley et al. 1985; Endara & Coley 2011), por lo que podría encontrarse una relación negativa entre ambas. Sin embargo, los caracteres del EEF involucran a las hojas y las espinas no interfieren con su función, por lo que no sería contradictorio pensar que las plantas puedan combinar hojas adquisitivas con ramas bien defendidas, ya que esto permitiría aprovechar la mayor eficiencia fotosintética de hojas adquisitivas para destinar los productos de fotosíntesis al crecimiento en general y de las espinas en particular. De esta manera estaría incrementando su LF efectiva sin comprometer la eficiencia de sus hojas.

3.2 - *Objetivos*

3.2.1 - Objetivo general:

OG1: Explorar la relación, a nivel intra-específico, entre estrategias de uso de recursos, resistencia a la herbivoría y tolerancia al fuego en dos grupos taxonómicos diversos y abundantes en el área (fabáceas leñosas y poáceas C4).

3.2.2 - Objetivos específicos:

OE1.1: Conocer la variabilidad intra-específica de caracteres funcionales foliares, indicativos del espectro económico foliar (EEF), en fabáceas leñosas de los géneros *Acacia* y *Prosopis*, y poáceas C4.

OE1.2: Conocer las correlaciones que existen entre los caracteres funcionales foliares a nivel intra-específico y compararlas con la tendencia global a nivel inter-específico.

OE1.3: Conocer la variabilidad intra-específica en resistencia a la herbivoría, esto es tolerancia (en fabáceas leñosas de los géneros *Acacia* y *Prosopis* y poáceas C4) y defensas mecánicas (espinas, en las fabáceas leñosas).

OE1.4: Conocer la variabilidad intra-específica en tolerancia al fuego, de renovales de fabáceas leñosas de los géneros *Acacia* y *Prosopis*, y poáceas C4.

OE1.5: Conocer las correlaciones que existen a nivel intra-específico entre caracteres funcionales foliares, resistencia a la herbivoría (defensas mecánicas y tolerancia) y tolerancia al fuego.

3.3 - *Hipótesis y predicciones*

H1: Las constricciones físicas y presiones de selección que configuran el EEF son independientes de la escala y el nivel de organización.

P1.1: El patrón de correlaciones, a nivel intra-específico, entre los caracteres que participan del EEF será el mismo que el reportado a nivel inter-específico. Esto es, el AFE se correlacionará negativamente con el CMS y la FTF, mientras que estas dos últimas tendrán una correlación positiva entre ellas.

H2: El incremento en adquisitividad es un mecanismo que provee mayor tolerancia a la remoción de biomasa.

P2.1: Plantas con hojas más adquisitivas serán más tolerantes a la remoción de biomasa. Es decir, aquellas plantas que presenten mayor AFE y menor CMS y/o menor FTF y/o mayor N_m tendrán tasas de crecimiento relativo mayores ante la herbivoría simulada y rebrotarán más frecuentemente y/o de manera más vigorosa ante eventos de quema experimental.

4 - El espectro económico foliar intra-específico

4.1 - Objetivos:

OE1.1: Conocer la variabilidad intra-específica de caracteres funcionales foliares, indicativos del espectro económico foliar (EEF), en fabáceas leñosas de los géneros *Acacia* y *Prosopis*, y poáceas C4.

OE1.2: Conocer las correlaciones que existen entre los caracteres funcionales foliares a nivel intra-específico y compararlas con la tendencia global a nivel inter-específico.

4.2 - Hipótesis y predicciones

H1: Las constricciones físicas y presiones de selección que configuran el EEF son independientes de la escala y el nivel de organización.

P1.1: El patrón de correlaciones, a nivel intra-específico, entre los caracteres que participan del EEF será el mismo que el reportado a nivel inter-específico. Esto es, el AFE se correlacionará negativamente con el CMS y la FTF, mientras que estas dos últimas tendrán una correlación positiva entre ellas.

4.3 - Metodología específica

4.3.1 - Determinación de los caracteres foliares

Las muestras foliares analizadas en esta sección corresponden a las de los ejemplares residentes, tanto gramíneas como leñosas, en tiempo cero ($t=0$) según lo descrito en la Materiales y Métodos Generales. En todos los casos se trató de ejemplares adultos (con capacidad de producir estructuras reproductivas sexuales). En el caso de las gramíneas dado que se transplantaron los ejemplares a macetas y que se las mantenía bajo riego, las muestras se tomaron en el momento de la medición. Se tomaron al menos tres láminas (y al menos 50 mg de peso fresco), de hojas completamente expandidas, de cada ejemplar por muestra. Una buena proporción de las muestras foliares de las gramíneas presentaban algún signo de senescencia hacia el ápice de la lámina, en estos casos se descartaron las partes de lámina con dichos signos. Por este motivo no se analizó el AF en el caso de las gramíneas. En el caso de los ejemplares leñosos se tomaron (en el campo) dos muestras por ejemplar, una muestra por sobre 1,5 m de altura y otra por debajo de esta altura. Cada muestra conformada por al menos 10 hojas completamente expandidas y de la parte más externa de la copa. Estas muestras fueron asperjadas con agua y mantenidas en bolsas plásticas, refrigeradas, hasta su procesamiento. Al momento de procesarlas se siguió el mismo criterio de cantidad (mínimo tres hojas, mínimo 50 mg de peso fresco) por muestra.

Estas muestras fueron procesadas frescas para la determinación de peso fresco, escaneadas para luego determinar el área foliar y finalmente se midió la dureza, como se explica más abajo. Posteriormente se secaron las muestras foliares para determinar su pesos seco. Con esta información se calculó el CMS:

$$CMS=PS \cdot PF^{-1} \quad (\text{ec. 3})$$

Siendo *CMS* es contenido de materia seca, *PS* el peso seco de la muestra foliar y *PF* el peso fresco de la misma muestra. A partir de las imágenes generadas mediante el escaneo se cuantificó AF utilizando el software ImageJ (<http://imagej.nih.gov/ij>) y se calculó el AFE

$$AFE=AF \cdot PS^{-1} \quad (\text{ec. 4})$$

Siendo *AFE* el área foliar específica, *AF* el área de lámina de una muestra foliar y *PS* el peso seco de la misma muestra. Finalmente las muestras fueron molidas a polvo para la determinación del contenido de nitrógeno por unidad de masa seca (N_m) y la relación carbono-nitrógeno (C:N) mediante Analizador Elemental Perkin Elmer 2400 Series II. Todo esto según los protocolos estándares detallados por Pérez-Harguindeguy et al. (2013). Por el elevado costo de las determinaciones de composición elemental, no se pudo realizar la determinación de N_m y C:N sobre todas las muestras. En el caso de las gramíneas se seleccionaron las dos especies más disímiles en cuanto a morfología y habito de crecimiento, estas son *N. lophostachya* y *T. pluriflora*. En el caso de las leñosas, durante los análisis preliminares de los caracteres foliares de los ejemplares residentes, las dos especies de *Prosopis* mostraron mayores diferencias entre historias de herbivoría que las *Acacias* y por ese motivo se decidió medir los caracteres químicos foliares en las primeras.

En las muestras foliares de las leñosas se separaron los foliólulos de los raquis para evitar que en el proceso de escaneo los foliólulos queden solapados. A su vez, se observó que los raquis, dependiendo de su espesor y orientación en el escaner, proyectaban sombra en el proceso de escaneo alterando notablemente el área estimada de los mismos. Por este motivo se estimó sólo el área de la lámina foliar y, para mantener una coherencia entre las mediciones de los diferentes caracteres foliares, se cuantificaron AFE, CMS, N_m y C:N de la lámina foliar. Entonces, en las leñosas, cuando se hace habla de los caracteres foliares AF, AFE, CMS, N_m y C:N siempre se hace referencia a esas propiedades pero de la lámina foliar, excluyendo los raquis.

La dureza foliar en las gramíneas se determinó como fuerza de fractura o Fuerza Tensil Foliar (FTF) que es la fuerza de tensión (en *newtons*) necesaria para fracturar una porción de lámina de un milímetro de ancho, por lo que queda expresada en $N \cdot mm^{-1}$. En las especies leñosas se midió la fuerza de

fractura sobre los raquis (FTR). Esta decisión se basa en un criterio de factibilidad, con el dispositivo disponible, se hace imposible medir la fuerza tensil de los foliólulos en la mayoría de las muestras, por no poderse montar y sujetar en el aparato (solo posible en algunas muestras de *P. flexuosa* con foliólulos excepcionalmente grande), pero también en un criterio biológico. El criterio biológico es que, así como en otras especies los peciolo responden mediante cambios morfológicos y anatómicos a diferentes estímulos mecánicos (Onoda & Anten 2011), en hojas compuestas la dureza de los raquis podrían ser más relevantes en relación a la herbivoría de vertebrados que la dureza de los foliólulos. Por otro lado, la mayoría de las hojas de *P. flexuosa* y *P. torquata* no presentan un raquis primario, sino una yuga de dos pinnas luego del peciolo, y los raquis secundarios de *A. gilliesii* resultan demasiado delicados para ser medidos con el dispositivo disponible. Por este motivo se midieron raquis primarios en el caso de *A. gilliesii*, secundarios en el caso de *P. flexuosa* y *P. torquata*, primarios y secundarios en el caso de *A. aroma*. Se midió el ancho del raquis cortado en sentido transversal respecto de la dimensión abaxial-adaxial, y dado que el raquis no es una estructura plana se relativizó la fuerza tensil por el cuadrado del ancho, de manera que la FTR es la fuerza de tensión (en *newtons*) necesaria para cortar un raquis de un milímetro cuadrado de sección, de manera que queda expresada en $N \cdot mm^{-2}$. Para unificar la variable y habiendo observado que los resultados de la FTR de *A. aroma* medida sobre ambos raquis (primarios y secundarios) estaban fuertemente correlacionados, se usó la medición sobre raquis secundarios para las tres especies que presentaban dicha medición y la FTR de raquis primario para *A. gilliesii*. En algunos casos también resultó relevante analizar la dureza del raquis como unidad, independientemente de sus dimensiones, es decir la fuerza tensil bruta (en *newtons*) necesaria para cortar un raquis, a la cual denominamos Fuerza Tensil Bruta del Raquis (FTbR), y queda expresada en *newtons* (*N*).

4.3.2 - Análisis de datos

El eje central de esta sección es la relación entre los caracteres foliares a nivel intra-específico, por lo tanto cada muestra foliar se consideró como una réplica. Para cada ejemplar de gramíneas se tomó una muestra. Mientras que, en las leñosas se tomaron dos muestras, una correspondiente a la parte alta de la planta y la otra correspondiente a la parte baja como se explicó anteriormente. Esto deviene en aproximadamente 120 muestras por especie de gramínea (40 sitios por tres plantas por sitio) y aproximadamente 80 muestras por especie de leñosa (40 ejemplares por dos muestras por ejemplar). Debido a las diferencias en los conjuntos de variables (mencionadas en los dos párrafos precedentes) y la diferente biología de las gramíneas y las especies leñosas se analizaron por separado estos dos conjuntos de datos. Para todos los caracteres foliares medidos se calcularon estadísticos descriptivos. También se realizó una descomposición de la varianza mediante ANAVA (análisis de la varianza) de cada variable en función de las especies para conocer la contribución de la variabilidad intra-específica (Suma de cuadrados del error) respecto de la varianza total. Asimismo, se calcularon correlaciones lineales de Pearson y regresiones lineales de ejes principales estandarizados (SMA, por sus siglas en inglés

standardised major axis) (Warton et al. 2006), entre caracteres, utilizando el paquete “*smatr 3*” (Warton et al. 2012). Finalmente, se realizaron análisis de componentes principales comunes (CPCA, por sus siglas en inglés) (Flury 1984) para comparar las matrices de correlación de caracteres en conjunto, entre las especies. Las variables AF, FTF y FTR fueron transformadas a logaritmo decimal previo a los análisis bivariados debido a su distribución aproximadamente log-normal. Para los CPCA se usaron todas las variables estandarizadas, AF, FTF y FTR previamente transformadas a logaritmo. Todos los análisis se realizaron en entorno R (R Core Team 2017) a excepción de CPCA que se llevó a cabo con el paquete desarrollado por Phillips (1998; Phillips & Arnold 1999). El p-valor de las correlaciones simples fue corregido mediante el método de Hommel (1988) de acuerdo al número de correlaciones entre pares de variables realizado para cada especie. Esto es tres (3) para *A. mendocina*, *G. paraguayensis*, *S. pyramidatus* y *T. crinita*; nueve (9) para *N. lophostachya* y *T. pluriflora*; seis (6) para *A. aroma* y *A. gilliesii*; y catorce (14) para *P. flexuosa* y *P. torquata*.

4.4 - Resultados

4.4.1 - Gramíneas

En los individuos residentes, los caracteres funcionales foliare medidos (AFE, CMS, FTF, N_m y C:N) mostraron una amplia variabilidad intra-específica, lo que se refleja en un alto porcentaje de la varianza total atribuible a la varianza a nivel intra-específico (Tabla 4.1). Las correlaciones intra-específicas entre las variables AFE, CMS y FTF se muestran en la Tabla 4.2. Mientras que, en la Figura 4.1 se muestran las líneas de regresión ajustadas mediante SMA para las correlaciones con p-valores inferiores a 0,1.

Las especies de gramíneas compartieron el mismo patrón general cualitativo de variabilidad intra-específica (Tabla 4.2 y Figura 4.1). Todas las especies presentaron un eje principal de variación que concentra la mayor parte de la variabilidad intra-específica y dicho eje tuvo una orientación similar en el espacio multivariado, pero fue cuantitativamente diferente entre especies (Figura 4.2). El análisis de componentes principales comunes (Flury 1984) indica que las matrices de correlación de caracteres son significativamente diferentes entre especies. Es decir que no comparten autovectores, de un modo más gráfico se puede decir que la forma y orientación de la nube de puntos (en el espacio tridimensional determinado por AFE, CMS y FTF) es significativamente diferentes entre las especies de gramíneas. De manera que las especies no solo difirieron en su posición en el espacio de estos caracteres sino que además difirieron en su orientación espacial. Estas diferencias en las matrices de correlación entre las especies se corroboró al analizar las relaciones entre pares de variables. En la relación AFE vs CMS, *N. lophostachya* tuvo una pendiente más pronunciada que el resto de las especies y *G. paraguayensis* tuvo una pendiente menos pronunciada que el resto, a excepción de las dos especies de *Trichloris*, a su vez *T.*

pluriflora tuvo una pendiente menos pronunciada que la de *A. mendocina* (Figura 4.1a). En la relación AFE vs FTF, *G. paraguayensis* tuvo una pendiente menos pronunciada que el resto de las especies y, a su vez, hubo diferencias significativas entre *N. lophostachya* y *A. mendocina* (Figura 4.1b). En la relación CMS vs FTF, *N. lophostachya* tuvo una pendiente menos pronunciada que *S. pyramidatus* y que *T. pluriflora* (Figura 4.1c).

Tabla 4.1. Porcentaje de variabilidad intra-específica, media, rango de variabilidad y tamaño muestral para los caracteres área foliar específica (AFE), contenido de materia seca (CMS) y fuerza tensil foliar (FTF) en gramíneas residentes.

	<u>AFE (mm²·mg⁻¹)</u>			<u>CMS (proporción)</u>		
% Var. Intra-Esp.	46,9			47,6		
<u>Especie</u>	<u>media</u>	<u>rango</u>	<u>n</u>	<u>media</u>	<u>rango</u>	<u>n</u>
<i>A. mendocina</i>	20,9	13,0-33,3	116	0,423	0,312-0,547	116
<i>G. paraguayensis</i>	28,9	22,5-42,5	117	0,398	0,316-0,461	117
<i>N. lophostachya</i>	19,3	13,9-33,5	168	0,429	0,265-0,577	165
<i>S. pyramidatus</i>	22,9	16,8-31,5	128	0,312	0,219-0,454	128
<i>T. crinita</i>	18,6	12,6-25,1	120	0,374	0,313-0,460	121
<i>T. pluriflora</i>	21,8	12,1-32,3	101	0,358	0,220-0,423	101

	<u>FTF (N·mm⁻¹)</u>		
% Var. Intra-Esp.	30,5		
<u>Especie</u>	<u>media</u>	<u>rango</u>	<u>n</u>
<i>A. mendocina</i>	5,44	2,60-9,75	115
<i>G. paraguayensis</i>	2,87	1,42-4,10	116
<i>N. lophostachya</i>	3,93	1,62-8,04	168
<i>S. pyramidatus</i>	1,42	0,45-3,72	128
<i>T. crinita</i>	1,42	0,67-2,33	121
<i>T. pluriflora</i>	1,81	0,79-6,51	100

Tabla 4.2. Correlación entre caracteres foliares de gramíneas residentes. Se indican los coeficientes de Pearson y el nivel de significancia (: p-valor<0,1; *: p-valor<0,05; **: p-valor<0,01; ***: p-valor<0,001) entre los pares de caracteres área foliar específica (AFE), contenido de materia seca (CMS) y fuerza tensil foliar (FTF).

<u>Especie</u>	<u>AFE:CMS</u>		<u>AFE:log₁₀(FTF)</u>		<u>CMS:log₁₀(FTF)</u>	
	<u>r</u>	<u>n</u>	<u>r</u>	<u>n</u>	<u>r</u>	<u>n</u>
<i>A. mendocina</i>	-0,79***	116	-0,50***	115	0,41***	115
<i>G. paraguayensis</i>	-0,69***	117	-0,43***	116	0,40***	116
<i>N. lophostachya</i>	-0,79***	165	-0,58***	168	0,65***	165
<i>S. pyramidatus</i>	-0,76***	128	-0,58***	127	0,46***	128
<i>T. crinita</i>	-0,65***	120	-0,30**	120	0,22*	121
<i>T. pluriflora</i>	-0,52***	101	-0,57***	98	0,20*	100

El contenido de nitrógeno (N_m) y la relación carbono nitrógeno (C:N) fueron determinados en las especies *Neobouteloua lophostachya* y *Trichloris pluriflora*. En ambas especies mostraron relaciones similares entre estas variables y el resto de los caracteres foliares (Figura 4.3). Sólo en las relaciones N_m vs AFE y C:N vs CMS se observaron pendientes diferentes entre las especies, mientras que, para las otras variables sólo hubo diferencias en elevación (ordenada al origen).

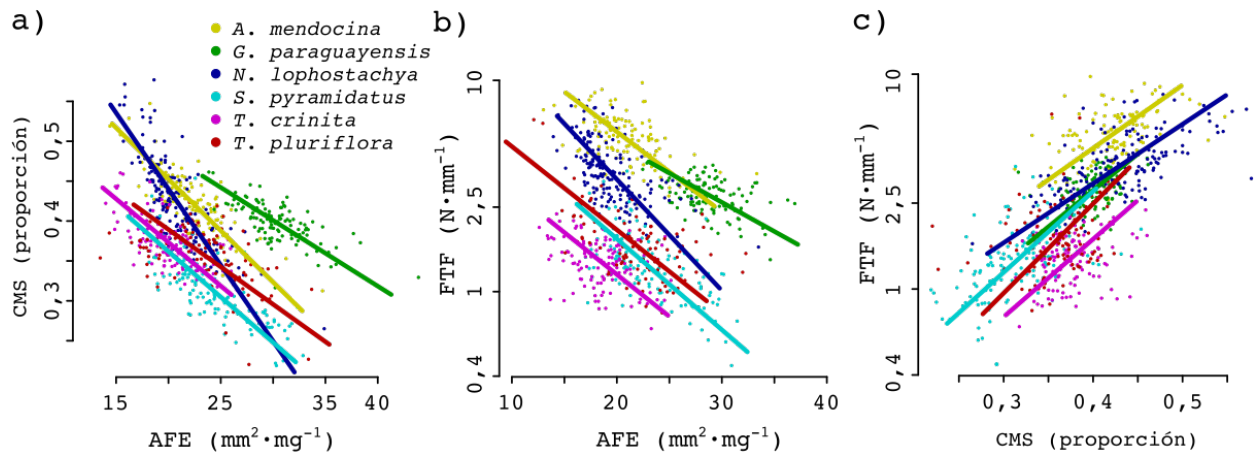


Figura 4.1. Relaciones entre caracteres foliares de ejemplares de gramíneas residentes. Se muestran los gráficos bivariados entre los caracteres área foliar específica (AFE), contenido de materia seca (CMS) y fuerza tensil foliar (FTF). La línea de regresión fue ajustada mediante SMA para cada especie.

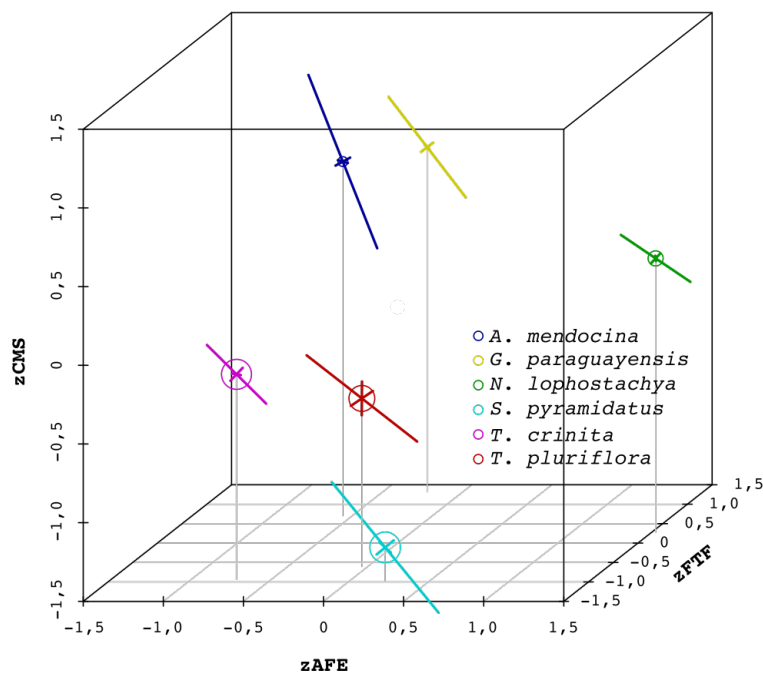


Figura 4.2. El gráfico muestra las componentes principales de variación de cada una de las especies en el espacio determinado por los caracteres foliares estandarizados ($zAFE$: área foliar específica; $zCMS$: contenido de materia seca; $zFTF$: fuerza tensil foliar). La posición del símbolo central de cada especie corresponde a la posición del centroide de su distribución en ese espacio multivariado y el tamaño del símbolo está en relación a su posición en el eje $zFTF$ (mientras más grande más cerca del observador, esto es menos FTF). Los tamaños de los segmentos representan la varianza en cada una de las componentes principales.

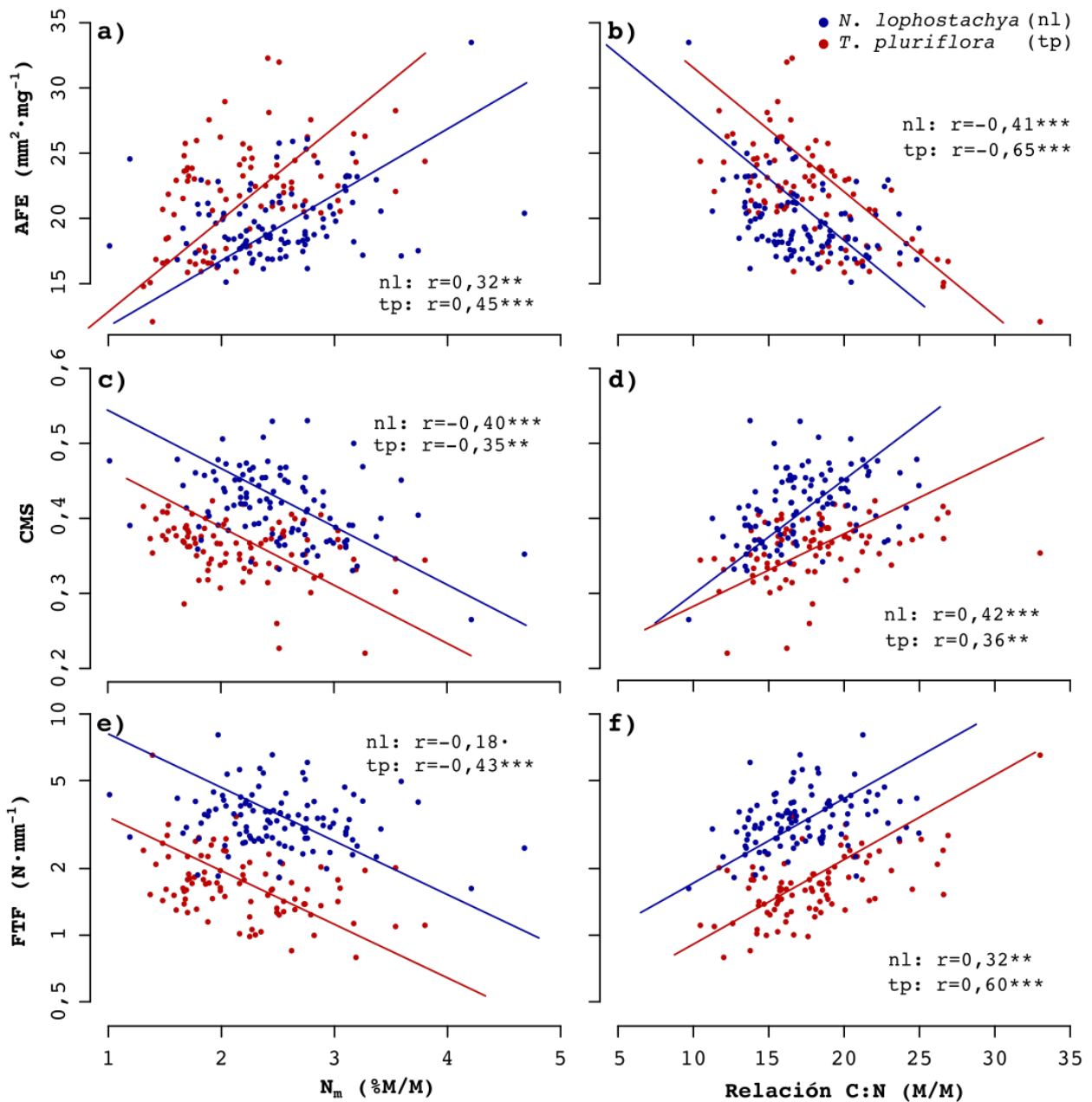


Figura 4.3. Relaciones entre contenido de nitrógeno por unidad de masa foliar (N_m) y relación C:N con el resto de caracteres foliares para las especies *N. lophostachya* ($n=106$) y *T. pluriflora* ($n=90$). Se muestran los coeficientes de correlación de Pearson entre las variables para cada especie (·: p -valor $<0,1$; *: p -valor $<0,05$; **: p -valor $<0,01$; ***: p -valor $<0,001$). Las líneas representan las regresiones lineales según SMA para ambas especies. AFE: área foliar específica; CMS: contenido de materia seca; FTF: fuerza tensil foliar.

4.4.2 - Leñosas

De manera similar a lo encontrado en las gramíneas, todos los caracteres medidos presentaron una amplia variabilidad intra-específica (Tabla 4.3). Los rangos de variación de cada carácter, para cada especie, fueron relativamente amplios y por lo tanto el porcentaje de la varianza total de cada carácter, correspondiente a la variabilidad intra-específico fue alto. Las correlaciones intra-específicas entre las variables AF, AFE, CMS y FTR se muestran en la Tabla 4.4. En el la Figura 4.4 se muestran las líneas de

regresión ajustadas mediante SMA para las correlaciones con p-valores inferiores a 0,1. Al igual que en el caso de las gramíneas, las matrices de correlación del conjunto de caracteres no guardaron relación entre las especies. Es decir que el conjunto de individuos de cada especie se orientó, en el espacio multidimensional, de manera diferente a los conjuntos de individuos de otras especies. Dado este resultado cobra relevancia analizar las relaciones bivariadas para el conjunto de las especies leñosas.

Tabla 4.3. Porcentaje de variabilidad intra-específica, media, rango de variabilidad y tamaño muestral para los caracteres área foliar (AF), área foliar específica (AFE), contenido de materia seca (CMS), fuerza tensil del raquis (FTR) en leñosas residentes.

	<u>AF (mm²)</u>			<u>AFE (mm² · mg⁻¹)</u>		
% Var. Intra-Esp.	46,4			17,9		
<u>Especie</u>	<u>media</u>	<u>rango</u>	<u>n</u>	<u>media</u>	<u>rango</u>	<u>n</u>
<i>A. aroma</i>	897,2	330,2-1867,3	82	13,6	8,8-19,2	82
<i>A. gilliesii</i>	438,8	245,1- 920,3	86	23,8	16,8-31,7	86
<i>P. flexuosa</i>	554,8	215,6-1562,7	97	11,6	8,3-16,3	97
<i>P. torquata</i>	207,2	76,2- 809,2	83	12,6	9,0-16,4	83

	<u>CMS (proporción)</u>			<u>FTR (N · mm⁻¹)</u>		
% Var. Intra-Esp.	47,6			64,9		
<u>Especie</u>	<u>media</u>	<u>rango</u>	<u>n</u>	<u>media</u>	<u>rango</u>	<u>n</u>
<i>A. aroma</i>	0,463	0,389-0,557	85	28,8	14,1-63,3	85
<i>A. gilliesii</i>	0,386	0,301-0,489	87	40,0	19,2-76,6	87
<i>P. flexuosa</i>	0,390	0,325-0,445	97	35,6	16,7-61,6	97
<i>P. torquata</i>	0,418	0,369-0,463	81	47,8	25,1-73,3	83

Los pares de caracteres fuertemente correlacionados fueron AF vs AFE y AFE vs CMS. En el primer caso todas las correlaciones fueron positivas. *A. gilliesii* presentó una pendiente más pronunciada que el resto de las especies y *A. aroma* mostró una pendiente más pronunciada que las dos especies de *Prosopis* (Figura 4.4a). En el par de caracteres AFE vs CMS la relación estuvo caracterizada por una correlación fuertemente negativa (Tabla 4.4) en todas las especies. Las pendientes de las dos *Acacias* difirieron entre sí, a su vez *A. aroma* y *A. gilliesii* difirieron de *P. torquata* y *P. flexuosa* respectivamente (Figura 4.4d). En los otros pares de variables solo algunas especies presentaron correlaciones significativas. La relación entre AF y CMS tendió a ser negativa para todas las especies pero sólo en *P. flexuosa* esta correlación alcanzó a ser significativas (Tabla 4.4). La relación entre AF y FTR tiene la particularidad de que, considerando en conjunto las cuatro especies, la correlación entre ambos caracteres fue evidentemente negativa (hojas más grandes tiene raquis más blandos) (Figura 4.4c), sin embargo las correlaciones intra-específicas no son significativas. Resultados similares a nivel intra-específico se observaron entre AFE y FTR (sin haber un patrón general) (Tabla 4.4 y Figura 4.4e). En general se podría decir que hubo poca, o ninguna relación entre CMS de la lámina y la FTR, sólo en *A. aroma* se encontró una correlación significativa con una pendiente positiva (Tabla 4.4 y Figura 4.4f).

Tabla 4.4. Correlación entre caracteres foliares de leñosas residentes. Se indican los coeficientes de Pearson y el nivel de significancia (: p-valor<0,1; *: p-valor<0,05; **: p-valor<0,01; ***: p-valor<0,001) entre los pares de caracteres área foliar (AF), área foliar específica (AFE), contenido de materia seca (CMS) y fuerza tensil del raquis (FTR).

Especie	$\log_{10}(AF) : AFE$		$\log_{10}(AF) : CMS$		$\log_{10}(AFE) : \log_{10}(FTR)$	
	r	n	r	n	r	n
<i>A. aroma</i>	0,35**	82	-0,25.	82	0,00	82
<i>A. gilliesii</i>	0,40***	86	-0,18	86	0,24.	86
<i>P. flexuosa</i>	0,32*	97	-0,39**	97	0,10	97
<i>P. torquata</i>	0,31*	83	-0,19	81	0,24	83

Especie	AFE : CMS		AFE : $\log_{10}(FTR)$		CMS : $\log_{10}(FTR)$	
	r	n	r	n	r	n
<i>A. aroma</i>	-0,52***	82	0,12	82	0,26*	85
<i>A. gilliesii</i>	-0,63***	86	0,32**	86	-0,08	87
<i>P. flexuosa</i>	-0,43***	97	0,16	97	-0,06	97
<i>P. torquata</i>	-0,47***	81	0,46***	82	-0,21	80

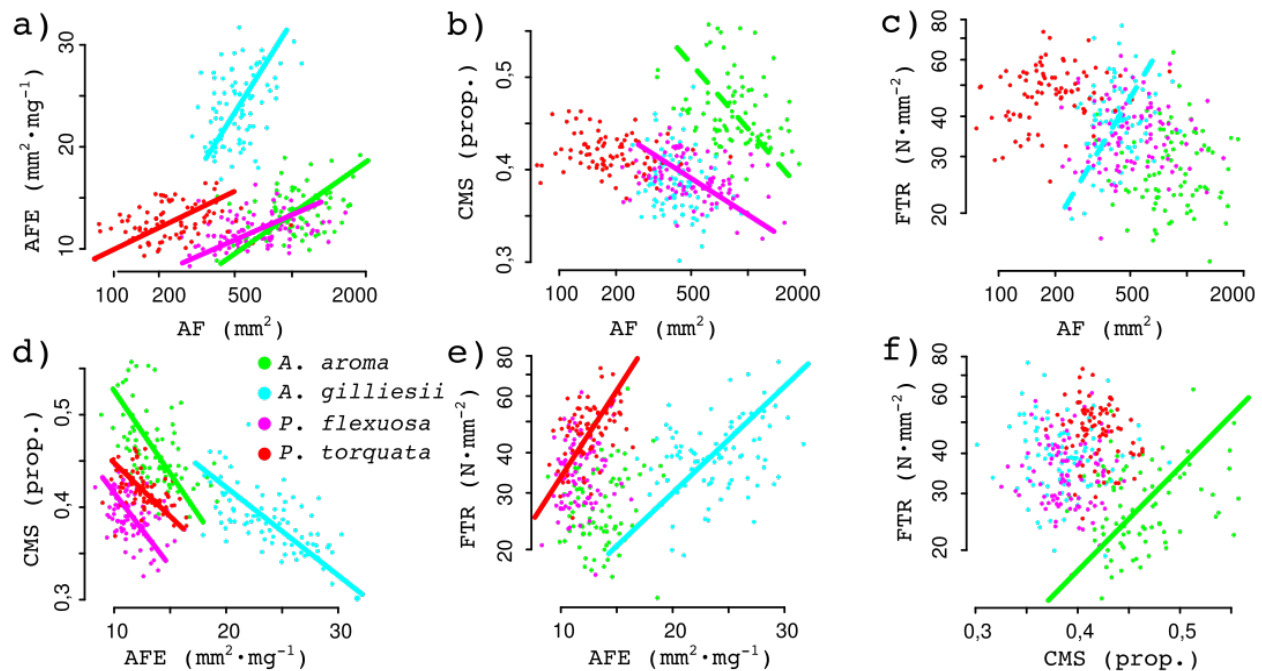


Figura 4.4. Relaciones entre caracteres foliares de ejemplares leñosos residentes. Se muestran los gráficos bivariados entre los caracteres foliares área foliar (AF), área foliar específica (AFE), contenido de materia seca (CMS) y fuerza tensil del raquis (FTR). La línea de regresión ajustada mediante SMA para cada especie. Las líneas continuas corresponden a correlaciones significativas (p -valor<0,05), las líneas punteadas corresponden a correlaciones con p -valor<0,1 y la ausencia de línea corresponde a p -valor>0,1.

El contenido de nitrógeno (N_m) y la relación C:N, que fueron medidos en las dos especies de *Prosopis*, mostraron relaciones muy débiles a nivel intra-específico con el resto de los caracteres foliares. Como se muestra en la Figura 4.5, *P. flexuosa* no presentó ninguna correlación significativa entre N_m y el resto de las variables. *P. torquata* sólo presentó una correlación significativa (negativa) entre N_m y CMS (Figura 4.5e), así como la recíproca correlación positiva entre C:N y CMS (Figura 4.5f). *P. flexuosa* presentó correlaciones significativas entre C:N y AFE (Figura 4.5b), C:N y CMS (Figura 4.5f), así como

entre C:N y FTR (Figura 4.5h). Si bien el AF no se correlacionó, a nivel intra-específico, con las características químicas de las hojas, se observó que, al considerar las dos especies en conjunto, presenta una correlación positiva con N_m y una correlación negativa con C:N (Figura 4.5c, d).

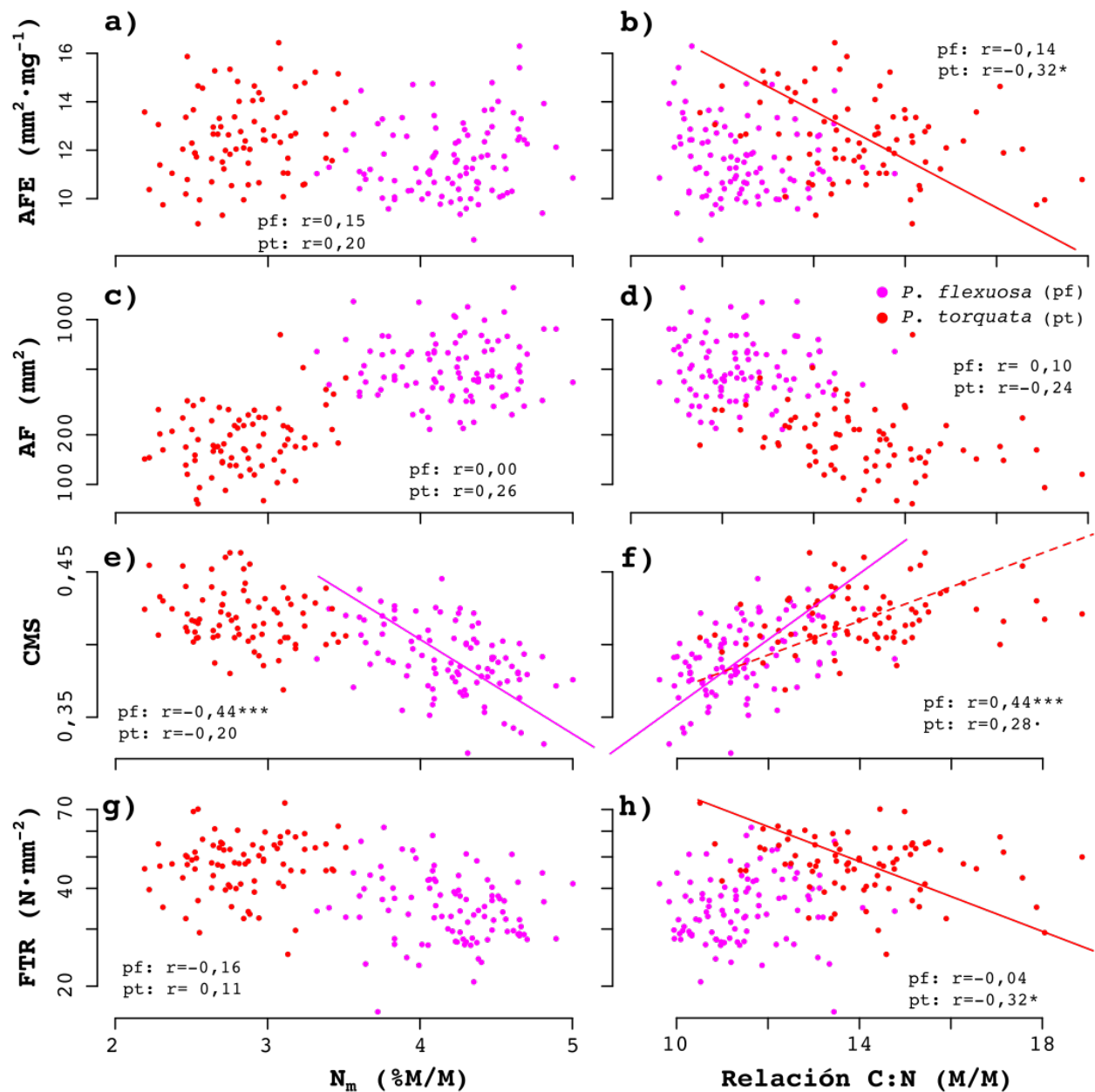


Figura 4.5. Relaciones entre el contenido de nitrógeno por unidad de masa foliar (N_m) y la relación C:N con el resto de caracteres foliares para las especies *P. flexuosa* ($n=97$) y *P. torquata* ($n=79$). Se muestran los coeficientes de correlación de Pearson entre las variables para cada especie (: p-valor menor que 0,1; *: p-valor menor que 0,05; **: p-valor menor que 0,01). Las líneas representan regresiones lineales según SMA cuando el p-valor de la correlación es menor a 0,1 (línea punteada) o menor a 0,05 (línea sólida), la ausencia de línea corresponde a una correlación con p-valor > 0,1. AF: área foliar; AFE: área foliar específica; CMS: contenido de materia seca; FTR: fuerza tensil del raquis.

4.5 - Discusión y conclusiones parciales

Considerando gramíneas y leñosas por separado, las magnitudes de variabilidad intra-específica de los caracteres foliares analizados fueron similares en todas las especies (Figuras 4.1, 4.4, 4.3 y 4.5). Con respecto a los caracteres foliares que son directamente comparables entre leñosas y gramíneas (AFE, CMS, N_m y C:N), éstas últimas presentaron mayor variabilidad intra-específica. Cabe destacar que, mientras menor es el número de especies y mientras éstas son más parecidas entre sí (en este caso se analizaron conjuntos de especies del mismo tipo funcional y familia taxonómica), mayor preponderancia cobra la variabilidad intra-específica por sobre la inter-específica. No obstante, el rango de variación intra-específico es de una magnitud importante y pone en evidencia el grado de solapamiento que existe entre especies en sus caracteres funcionales. Por ejemplo, si se considera la variabilidad de AFE en *A. mendocina*, la amplitud de su rango de variación es de $20,3 \text{ mm}^2 \cdot \text{mg}^{-1}$ ($33,3 - 13 \text{ mm}^2 \cdot \text{mg}^{-1}$). Este rango de variación representa el 9,98% del rango global de variación inter-específico para dicho carácter ($204,08 \text{ mm}^2 \cdot \text{mg}^{-1} - 0,6636 \text{ mm}^2 \cdot \text{mg}^{-1}$; Díaz et al. 2016). Es decir, la variabilidad de una sola especie en una sola locación cubre aproximadamente el 10% de la variabilidad encontrada para 10490 especies distribuidas en todo el planeta. De modo similar, la variabilidad intra-específica de N_m en *N. lophostachya* (1,01 a 4,68 % M/M) corresponde al 55,19 % del rango global de variabilidad inter-específica documentado para 8695 especies que oscila entre 0,248 y 6,898 % M/M (Díaz et al. 2016). Presumiblemente, para la variable CMS, por su naturaleza, la variabilidad intra-específica cubra una proporción mucho mayor del rango global. Por ejemplo, en *N. lophostachya*, el rango de variabilidad de CMS es de 0,312 (0,577-0,265), lo cual implica que una sola especie cubre más del 30 % de la variabilidad teórica posible para dicho carácter. En el caso de la FTF el rango de variación encontrado en este estudio, tanto a nivel inter- como intra-específico, abarca más de un orden de magnitud y representa una porción importante del intervalo empírico de confianza del 95% estimado a nivel global para esta variable ($0,19 - 5,11 \text{ N} \cdot \text{mm}^{-1}$; Kattge et al. 2011). Por ejemplo, el rango de variación intra-específica de FTF en *G. paraguayensis* y *S. pyramidatus* (Tabla 4.1) abarcan el 55% y el 66% respectivamente de la amplitud de este intervalo de confianza a nivel global. Esto coincide con trabajos publicados sobre la variabilidad intra-específica de caracteres funcionales foliares (Niinemets 2015; Albert et al. 2010; Messier et al. 2010), y refuerza consideraciones hechas respecto de sus posibles implicancias para el abordaje funcional de la ecología (Albert et al. 2011).

La dureza foliar, si bien no es un carácter que haya sido incluido en el espectro económico foliar en la definición original de Wright et al. (2004), es una de las principales causas hipotetizadas por los propios autores para explicar las diferencias en longevidad foliar. En el mismo sentido, se ha encontrado evidencia empírica de que el espesor de la hoja, el contenido de fibras y la densidad de la lámina contribuyen a la longevidad foliar de manera indirecta, mediante su efecto en la dureza de la lámina

(Onoda et al. 2011; Kitajima et al. 2012). Todo esto justifica la incorporación de la dureza como un elemento del EEF, al menos como un indicador de la longevidad foliar. Al considerar los resultados de esta variable para las especies leñosas hay que tener en cuenta, primero, que se trata de especies caducifolias o semi-caducifolias, por lo que la longevidad foliar máxima está determinada fisiológicamente por su fenología. Por lo que es posible que la longevidad foliar y las características físicas de la hoja no estén tan estrechamente relacionadas como en especies perennifolias (Wright et al. 2004). Segundo, la medición de dureza se realizó sobre el raquis (FTR), que podría tener efecto sobre la resistencia de la hoja completa a factores de disturbio bióticos o abióticos, pero la hoja puede ir perdiendo foliólulos individuales reduciendo la longevidad promedio de la lámina sin que la hoja haya caído. En este sentido no podemos asegurar que la FTR tenga relación con la longevidad de la lámina foliar y sería importante tener una estimación de esta última variable para la construcción del eje principal del EEF en especies con esta fenología y morfología foliar.

El AF tampoco se encuentra incluida en el EEF y desde la teoría que sustenta la existencia de este eje principal de variación (Wright et al. 2004; Shipley et al. 2006a; Onoda et al. 2017) no necesariamente tendría sentido su incorporación en un eje de uso de recursos. Más bien cobra relevancia, a nivel inter-específico, en el espectro global de forma y función (Díaz et al. 2016) y como un factor que limita la distribución de las plantas por la susceptibilidad de las hojas, en función de su tamaño, a temperaturas muy altas durante el día y muy bajas durante la noche (Wright et al. 2017). Sin embargo, y a pesar de que el tamaño de la hoja está sujeto a un control muy complejo y todavía no completamente conocido (González et al. 2012), la tasa de crecimiento de la planta y la formación y expansión de las hojas están completamente vinculados por vías comunes de señalización hormonal (Taiz & Zeiger 2002; Hu et al. 2003). Por lo tanto sería esperable que la tasa relativa de crecimiento y AF, a nivel intra-específico, estén correlacionados positivamente.

Los resultados de esta sección muestran un patrón de covariación entre los caracteres funcionales foliares a nivel intra-específico consistente con el EEF global. Por lo tanto la evidencia presentada en esta sección apoya, en términos generales, la predicción **P1.1** y por lo tanto a la **H1**. Sin embargo, se observan diferencias cuantitativas (en la relación entre caracteres) entre las especies, principalmente entre gramíneas y leñosas. En estas últimas algunas correlaciones predichas por el EEF a nivel inter-específico no se corroboran a nivel intra-específico (principalmente las relaciones AFE vs N_m y CMS vs N_m) pero tampoco son contradichas. Estas diferencias entre especies pueden responder a dos conjuntos de razones no mutuamente excluyentes. Una de ellas sería que en el nivel de organización intra-específico el valor de los coeficientes de la estructura causal sean especie dependiente y por lo tanto no haya una relación causal idéntica para todas las especies y que trascienda a otros niveles de organización. Esto es factible, pero no niega la estructura general y el sentido (signo) asignado a las relaciones, que es lo que se

consideró como hipótesis. También es posible que la relación causal sea idéntica (con los mismos coeficientes inclusive) pero que los valores de ciertos caracteres no medidos (dureza específica del material, espesor foliar, proporción de aire, gravedad específica) sean diferentes entre especies. Por ejemplo, una especie con mayor dureza específica del material foliar (γ) tendrá una relación diferente (pendiente diferente) entre CMS y FTF así como entre AFE y FTF.

La persistencia del patrón general a nivel intra-específico permite inferir que los compromisos fisiológicos y estructurales que subyacen al EEF (Shipley et al. 2006a; Onoda et al. 2017) son similares a diferentes niveles de organización y entre especies. Esto es esperable, ya que se trata de relaciones entre los caracteres impuestas por fenómenos fisiológicos a nivel tisular de la hoja. En el EEF resulta que el factor central es el espesor relativo de las paredes celulares (relación célula:pared) y el espesor de la propia hoja, lo cual impacta en la resistencia estructural de la hoja (y por lo tanto en la longevidad), modifica el CMS (al modificar la relación célula:pared), cambia el AFE (al cambiar la densidad del tejido y su espesor), modifica N_m mediante cambios en la relación de masa del plasmalema y de las paredes celulares (ya que la mayor parte del nitrógeno se encuentra en la metabólicamente activa de la célula). A su vez cambia la partición de nitrógeno entre compuestos estructurales y metabólicos, ya que mayor cantidad de pared celular implica necesariamente más nitrógeno destinado a esta estructura, dejando menos disponibilidad para la producción de enzima (Onoda et al. 2004). El cambio en el espesor relativo de las paredes celulares también cambia la conductividad del mesófilo (paredes más gruesas son menos permeables) (Onoda et al. 2017 ; Shipley et al. 2006a). Todos estos factores impactan sobre la tasa de asimilación neta de la hoja. Muy escasos son los trabajos que abordan a nivel intra-específico la validez del EEF que fue definido en la literatura a nivel inter-específico (Wright et al. 2004; Shipley et al. 2006a; Díaz et al. 2016; Onoda et al. 2017). Niinemets (2015) reporta resultados similares a los expuestos en el presente trabajo, en cuanto a la persistencia de las correlaciones características del EEF a nivel intra-específico. Sin embargo Anderegg et al. (2017), estudiando las relaciones entre los caracteres del EEF a diferentes niveles taxonómicos en coníferas de Norteamérica, reporta que la relación predicha por el EEF, entre AFE y longevidad foliar (LF) desaparece o incluso se invierte a nivel intra-específico. Un aspecto que hay que tener en cuenta al analizar los patrones de covariación de caracteres del EEF a nivel intra-específico, y que podría causar discrepancias con el patrón global, es la relación entre el conjunto de constricciones que generan el EEF y el gradiente de selección en el paisaje adaptativo (Figura 4.6). El eje de variabilidad que describe el EEF (línea continua gris en la Figura 4.6) responde a una serie de constricciones fisiológico-estructurales que restringen la variabilidad en el espacio multivariado. La tendencia impuesta por estas restricciones se opone al gradiente de selección (línea entrecortada rojo oscuro en la Figura 4.6), que beneficiará hojas lo más longevas posibles y con la máxima área foliar específica (es decir hojas muy eficientes en la adquisición de recursos y al mismo tiempo muy durables). La evolución en dicha dirección se ve limitada por las propias constricciones del EEF, que imponen que

una hoja más adquisitiva necesariamente deba ser más blanda, en general más palatable y, por lo tanto, más propensa a sufrir daños por herbivoría y factores abióticos como el viento y la foto-oxidación, lo que reduce su longevidad. Sin embargo hay una cierta variabilidad en sentido transversal al eje del EEF, que puede estar sujeta a la selección natural. Si se considera una sección acotada del EEF, por ejemplo la variabilidad intra-específica de alguna especie particularmente poco variable (elipse roja en la Figura 4.6), podría evidenciarse la direccionalidad opuesta (al EEF) que está promoviendo el paisaje adaptativo subyacente.

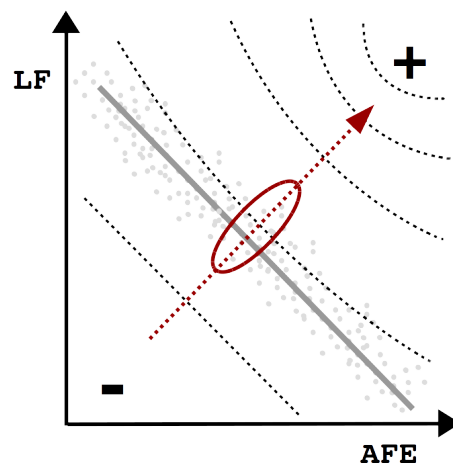


Figura 4.6. Relación entre EEF y paisaje adaptativo. Cada punto representa un individuo de la misma especie o no. Las líneas punteadas negras representan la topografía de un paisaje adaptativo cuya cima se encuentra en el extremo superior derecho y el valle en el extremo inferior izquierdo. La línea continua gris representa el EEF y la roja punteada, el gradiente de selección impulsado por el paisaje adaptativo. AFE: área foliar específica; LF: longevidad foliar.

5 - Relaciones del espectro económico foliar intra-específico con resistencia a la herbivoría y tolerancia a fuego

5.1 - Objetivos

OE1.3: Conocer la variabilidad intra-específica en resistencia a la herbivoría, esto es tolerancia (en fabáceas leñosas de los géneros *Acacia* y *Prosopis* y poáceas C4) y defensas mecánicas (espinas, en las fabáceas leñosas).

OE1.4: Conocer la variabilidad intra-específica en tolerancia al fuego de renovales de fabáceas leñosas de los géneros *Acacia* y *Prosopis*, y poáceas C4.

OE1.5: Conocer las correlaciones que existen a nivel intra-específico entre caracteres funcionales foliares, resistencia a la herbivoría (defensas mecánicas y tolerancia) y tolerancia al fuego.

5.2 - Hipótesis y predicciones

H2: El incremento en adquisitividad es un mecanismo que provee mayor tolerancia a la remoción de biomasa.

P2.1: Plantas con hojas más adquisitivas serán más tolerantes a la remoción de biomasa. Es decir, aquellas plantas que presenten mayor AFE y menor CMS y/o menor FTF y/o mayor N_m tendrán tasas de crecimiento relativo mayores ante la herbivoría simulada y rebrotarán más frecuentemente y/o de manera más vigorosa ante eventos de quema experimental.

5.3 - Metodología específica

Los caracteres foliares (AFE, AF, CMS, N_m , C:N, FTF, FTR) fueron medidos como se detalló en la Sección 4.3. Para analizar las relaciones entre variables de tolerancia, derivadas de los experimentos de corte sobre ejemplares residentes, y los caracteres foliares, éstos últimos se volvieron a medir al comienzo de dicho experimento ($t=1$). No se utilizaron las mediciones realizadas en $t=0$, que se realizaron uno a dos años previo al experimento y que podrían haber cambiado por diferencias ambientales en ese lapso temporal, especialmente en las gramíneas que fueron trasladadas a un jardín común.

En las leñosas residentes en $t=0$ se midieron las espinas, en tanto defensas mecánicas, de dos maneras. Una de ellas es el tamaño promedio de espina y la otra es la cobertura promedio de espinas. Estas variables se midieron en diciembre de 2013 para *A. gilliesii* y *P. flexuosa* y en febrero de 2014 para *A. aroma* y *P. torquata*, de las mismas ramas y nudos de donde se tomaron las muestras foliares. Para

todas las especies se seleccionaron las tres ramas terminales más bajas del individuo (siempre por debajo de 1,5 m), que estuvieran expuestas en la superficie externa de la copa y que presentaran espinas maduras (lignificadas). De la misma manera se seleccionaron tres ramas altas (por sobre 1,5 m). De estas ramas se midió largo y diámetro a la base de las espinas (diámetro en dirección paralela al eje de la rama) de los nudos 3° y 5° hacia basal descartando los 3 cm apicales de cada una de las ramas. Con estas medidas se calculó el volumen de cada espina asumiendo una forma cónica y luego se calculó el volumen promedio para el individuo en sus posiciones alta y baja respectivamente. Esta variable es el tamaño de espinas en las leñosas residentes. La cobertura de espinas es la cantidad de espinas encontrada respecto del total esperado para los seis nudos considerados en cada posición de cada individuo.

5.3.1 - Experimento de corte en gramíneas residentes

Las mediciones y tratamientos se aplicaron de un modo que minimizara la diferencia temporal dentro de cada especie. Es decir, que el tiempo transcurrido entre la medición inicial y aplicación del tratamiento al primer ejemplar de una especie dada y el último ejemplar de la misma especie sea el mínimo posible. Las plantas fueron trasladadas del jardín común al laboratorio asegurando que ejemplares de una misma especie provenientes de un mismo sitio fueran trasladados, tratados y medidos al mismo tiempo. Entre las plantas de cada especie procedentes de un mismo sitio se asignó una de ellas a tratamiento y otra a control. Cuando quedó una sola planta por sitio (debido a mortalidad de las otras) se priorizó la asignación al grupo tratamiento. Primero se limpió cada planta de materia muerta (cañas y hojas secas) y panojas. El tratamiento de corte consistió en cortar cada macollo vivo removiendo el 50% de su longitud total (contando desde la base hasta el ápice de las hojas verdes más apicales). De todo el material removido se tomaron hojas verdes (por lo menos 3 hojas y 50 mg) para la medición de los caracteres foliares. El resto de la materia verde se secó y masó para estimar la biomasa inicial remanente, que se asumió igual a la biomasa cortada. Las plantas control se dividieron (imaginariamente) en dos partes, se trazó sobre la maceta la línea divisoria y se rotularon las mitades con “1” y “2”. De la mitad “1” se tomaron muestras foliares para medir caracteres. Todas las plantas fueron mantenidas separadas del jardín común durante dos días antes de devolverlas al mismo para evitar posible efectos inducidos por compuestos volátiles liberados ante el tratamiento de corte (Turlings & Tumlinson 1992). A su vez, los ejemplares destinados a tratamiento, luego de aplicados los mismos, se colocaron en una habitación separada de los controles durante ese lapso.

A los 63 días del tratamiento inicial (el 16 de marzo de 2015), esto es en $t=2$, se comenzaron las mediciones post-tratamiento. Se realizaron en el mismo orden en que se aplicaron los tratamientos y manteniendo el mismo lapso temporal para todos los individuos (62-64 días). Para asegurar que en todos los casos las muestras foliares tomadas en $t=2$ se hubieran desarrollados con posterioridad a la medición inicial y tratamiento, en las plantas cortadas se tomaron muestras de hojas desarrolladas por sobre las

cicatrices del tratamiento; y en los controles se tomaron las hojas completamente desarrolladas más nuevas (mas apicales en cada macollo) del lado “2” de la planta. En las plantas asignadas a tratamiento se cosechó toda la biomasa aérea para determinar la biomasa aérea final y crecimiento de cada planta. El cálculo de crecimiento fue sólo sobre la parte aérea.

Los controles fueron sólo para los caracteres foliares, no estimó la biomasa inicial de los mismos y por lo tanto tampoco el crecimiento sin corte. Esto hace que no se pueda estimar la compensación de manera estricta, sin embargo se puede hacer una estimación de la tasa relativa de crecimiento (Fisher 1921) de los individuos bajo tratamiento de la siguiente manera:

$$e^{Rt} = BF \cdot BI^{-1} \quad (\text{ec. 5})$$

Donde BF es la biomasa aérea final, BI es la biomasa aérea inicial, R la tasa relativa de crecimiento y t el tiempo transcurrido entre la medición de BI y BF . Dado que la biomasa inicial se estima a partir de la biomasa cortada asumiendo que se removió la mitad de la biomasa aérea en el tratamiento de corte:

$$BI = a \cdot BC \quad ; \quad a \approx 1 \quad (\text{ec. 6})$$

Donde BC es la biomasa cortada y a un coeficiente de proporcionalidad. Reemplazando BI en la ecuación 5 y desarrollando, obtenemos:

$$e^{Rt} = BF \cdot (a \cdot BC)^{-1}$$

$$a \cdot e^{Rt} = BF \cdot BC^{-1}$$

$$\ln(a \cdot e^{Rt}) = \ln(BF \cdot BC^{-1})$$

$$R \cdot t + \ln(a) = \ln(BF) - \ln(BC) \quad ; \quad c = \ln(a)$$

$$R \cdot t + c = \ln(BF) - \ln(BC) \quad (\text{ec. 7})$$

En el caso ideal de que $a=1$, entonces $\ln(a)=0$ y por lo tanto

$$R = (\ln(BF) - \ln(BC)) \cdot t^{-1} \quad (\text{ec. 8})$$

Pero si no se cumple que $a=1$, entonces $(\ln(BF) - \ln(BC)) \cdot t^{-1} = R + c \cdot t^{-1}$, es un estimador sesgado de la tasa relativa de crecimiento. Sin embargo, a los fines de este estudio, este estimador es útil porque el tiempo es homogéneo para todas las plantas y dentro de cada especie ' a ' es una constante, de tal manera

que para cada especie, las diferencias en el estimador $(\ln(BF)-\ln(BC))\cdot t^{-1}$ deberían deberse solamente a diferencias en R .

5.3.2 - Experimento de corte y quema en gramíneas descendientes

Se mantuvieron las mismas precauciones que con los ejemplares residentes para minimizar diferencias temporales en las mediciones y tratamientos de los ejemplares de la misma especie y sitio, así como posibles efectos causados por la liberación de compuestos volátiles. Estos experimentos y mediciones se realizaron entre marzo y mayo de 2016. Los tratamientos de quema fueron aplicados a todas las especies, mientras que los tratamientos de corte se aplicaron sólo sobre en las especies *N. lophostachya* y *T. pluriflora*.

En estas dos especies, de los ejemplares procedentes de cada sitio (6 ejemplares) primero se escogieron los 4 ejemplares más similares en tamaño. A su vez, de entre esos cuatro se eligieron los dos ejemplares más similares en cuanto al número y tamaño de los macollos que lo conformaban. Esos dos ejemplares fueron asignados uno de ellos a control y el otro a corte leve. Los ejemplares restantes se asignaron al azar a los tratamientos de corte severo y a quema. Los ejemplares destinados a corte fueron tratados de manera similar a lo hecho en el experimento de corte con residentes y se midieron los caracteres foliares de los cuatro ejemplares de cada sitio. Además se midió la longitud del ejemplar destinado a tratamiento de quema para tener una estimación de su tamaño inicial. El tamaño inicial de los ejemplares destinados a corte leve y corte severo fue considerado igual a la biomasa removida en cada uno de ellos (al igual que en el experimento de corte con gramíneas residentes). El tamaño inicial del ejemplar control fue considerado igual que el tamaño de su par destinado a corte leve, previo al corte (esto es, dos veces la biomasa cortada de dicho ejemplar). Entre 2 y 3 semanas posterior al primer corte se aplicó un nuevo corte en los ejemplares destinados a corte severo, en esta ocasión se removió toda la biomasa crecida por sobre las cicatrices del corte previo. Entre 42 y 49 días posterior a la medición inicial se volvieron a medir los caracteres foliares y se cosecharon las plantas enteras (desarmando el pan de tierra bajo una corriente de agua para recuperar las raíces lo más sanas posible). Las hojas colectadas para determinación de caracteres foliares fueron hojas desarrolladas con posterioridad a los tratamientos (hojas en posiciones anatómicas hacia apical de las cicatrices del corte). La biomasa aérea final (sumando la biomasa destinada a muestra foliar final y la biomasa removida en el segundo corte) fueron utilizadas para calcular el crecimiento, de la misma manera que se calculó en el experimento de gramíneas residentes. Adicionalmente se calculó la tolerancia (en los tratamientos de corte) como la tasa relativa de crecimiento, relativa a la biomasa previa al corte, esto es:

$$T = (\ln(BF)-\ln(2\cdot BC))\cdot t^{-1} \quad (\text{ec. 9})$$

Donde T es la tolerancia, BF es la biomasa aérea final, BC es la biomasa cortada inicialmente de los ejemplares sometidos a tratamiento y t el tiempo transcurrido entre el primer corte y la cosecha de la planta. De esta manera se estimó si el crecimiento logrado por el individuo cortado alcanzó a compensar la pérdida por corte, esta medida de tolerancia se compara con la tasa relativa de crecimiento del control, de manera que si resulta igual a la tasa relativa de crecimiento del control, significa que el individuo compensó la pérdida causada por corte. La ecuación 9 deriva de:

$$BF \cdot BI^{*-1} = e^{Tt} \quad (\text{ec. 10})$$

Donde BI^* es la biomasa inicial, previa al corte. Dado que la biomasa inicial se estima a partir de la biomasa cortada asumiendo que se removió la mitad de la biomasa aérea en el tratamiento de corte:

$$BI^* = 2a \cdot BC \quad (\text{ec. 11})$$

Donde BC es la biomasa cortada y a el coeficiente de proporcionalidad de la ecuación 6. Reemplazando BI^* en la ecuación 10 y siguiendo un procedimiento similar al desarrollado para la tasa relativa de crecimiento, obtenemos:

$$T \cdot t + c + \ln(2) = \ln(BF) - \ln(BC) \quad (\text{ec. 12})$$

En el caso ideal de que $a=1$, entonces $\ln(a)=0$, de esa manera se llega a la ecuación 9 y a la ecuación 13:

$$T = R - \ln(2) \cdot t^{-1} \quad (\text{ec. 13})$$

Donde T es la tolerancia, R es la tasa relativa de crecimiento y t el tiempo transcurrido. Queda entonces en evidencia que la tolerancia está matemáticamente relacionada con la tasa relativa de crecimiento (ecuación 13), pero ofrece la posibilidad de conocer cuantitativamente, mediante la comparación con la tasa relativa de crecimiento del control, si se alcanza a compensar la biomasa perdida. En términos matemáticos y a modo de ejemplo, aplicando la ecuación 8, para el conjunto de ejemplares de un sitio dado, las tasas de crecimiento de los individuos destinados a control, corte leve y corte severo son:

$$R_{control} = (\ln(BF_{control}) - \ln(2 \cdot BC_{corte\ leve})) \cdot t^{-1}$$

$$R_{corte\ leve} = (\ln(BF_{corte\ leve}) - \ln(BC_{corte\ leve})) \cdot t^{-1}$$

$$R_{corte\ severo} = (\ln(BF_{corte\ severo}) - \ln(BC_{corte\ severo})) \cdot t^{-1}$$

Mientras que la tolerancia de los mismos ejemplares, según la ecuación 9, es:

$$T_{control} = (\ln(BF_{control}) - \ln(2 \cdot BC_{corte\ leve})) \cdot t^{-1} = R_{control}$$

$$T_{corte\ leve} = (\ln(BF_{corte\ leve}) - \ln(2 \cdot BC_{corte\ leve})) \cdot t^{-1}$$

$$T_{corte\ severo} = (\ln(BF_{corte\ severo}) - \ln(2 \cdot BC_{corte\ severo})) \cdot t^{-1}$$

En resumen, cuando se habla de **crecimiento** se está haciendo referencia al incremento en biomasa/tamaño relativo a la biomasa/tamaño inicial. Cuando se habla de **tolerancia** se hace referencia al incremento en biomasa/tamaño relativo a la biomasa/tamaño previa al disturbio. Por último, cuando se habla de **compensación** se refiere a la comparación entre la tolerancia al corte y el crecimiento del control correspondiente sin disturbio. Estas definiciones se aplican a todos los experimentos y siempre se refieren a la parte aérea de la planta. En esta sección, para las gramíneas, se muestra la tasa relativa de crecimiento (no la tolerancia), para permitir la comparación entre los resultados obtenidos en los dos experimentos de corte con gramíneas. En el experimento con gramíneas residentes podría haberse calculado la tolerancia, pero no resulta informativa sin ejemplares control contra los cuales se pueda comparar la tasa relativa de crecimiento.

Los ejemplares seleccionados para quema fueron quemados en tandas de a 8 individuos, registrando el evento de quema, y la curva de temperatura cada 5 segundos con una termocupla. En el dispositivo mostrado en la Figura 5.1, se colocó, en cada evento de quema 0,5 kg de material vegetal seco por sobre y entre las plantas distribuido de manera homogénea (a modo de combustible estándar). El material vegetal utilizado como combustible fue cosechado de un pastizal dominado (cobertura superior al 90%) por *Festuca hieronymii*. La cantidad de combustible colocado corresponde a la carga de combustible presente en un pastizal nativo del Chaco Occidental (Ledesma et al. 2011). El fuego fue iniciado desde el centro y las cuatro esquinas con una antorcha de algodón embebida en alcohol. Con los ejemplares sobrantes de este experimento (dos por sitio) se analizó la relación entre la biomasa aérea y la longitud total (la sumatoria de la longitud de todos los macollos y ramificaciones) para poder estimar la biomasa aérea inicial de los ejemplares destinados a quema.

En las cuatro especies restantes se procedió a seleccionar, aleatoriamente, tres ejemplares por sitio de los cuales se midieron los caracteres foliares. De éstos tres ejemplares por sitio, dos fueron medidos para estimar la biomasa aérea y uno de ellos fue destinado al tratamiento de quema. Los dos ejemplares no quemados fueron cosechados completos de la misma manera que los ejemplares de *T. pluriflora* y *N. lophostachya*, para medir la biomasa final alcanzada y para tener una estimación de la biomasa del ejemplar quemado.

En casi todas las especies se encontró que la longitud total (sumatoria de las longitudes de todos los macollos y ramificaciones) es un buen estimador de la biomasa total, excepto para *T. crinita*. Para esta última especie se ajustó una función que incorpora la longitud del macollo más grande y el número total de macollos. Cabe aclarar que para *S. pyramidatus*, por la gran cantidad y densidad de macollos que presenta, se midieron los todos los macollos que superaban los tres centímetros de largo (y como mínimo tres macollos). De esta manera se logró un ajuste entre las variables usadas como indicador del tamaño y la biomasa de 82% para *A. mendocina*, 84% para *G. paraguayensis*, 95% para *N. lophostachya*, 71% para *S. pyramidatus*, 69% para *T. pluriflora* (todas estas relaciones entre largo total y biomasa total) y 58% para *T. crinita*, en este caso es la relación entre biomasa total y $l_m \cdot (l_m \cdot 1,14^{-Nm})$ siendo l_m el largo del macollo más grande y N_m el número total de macollos.

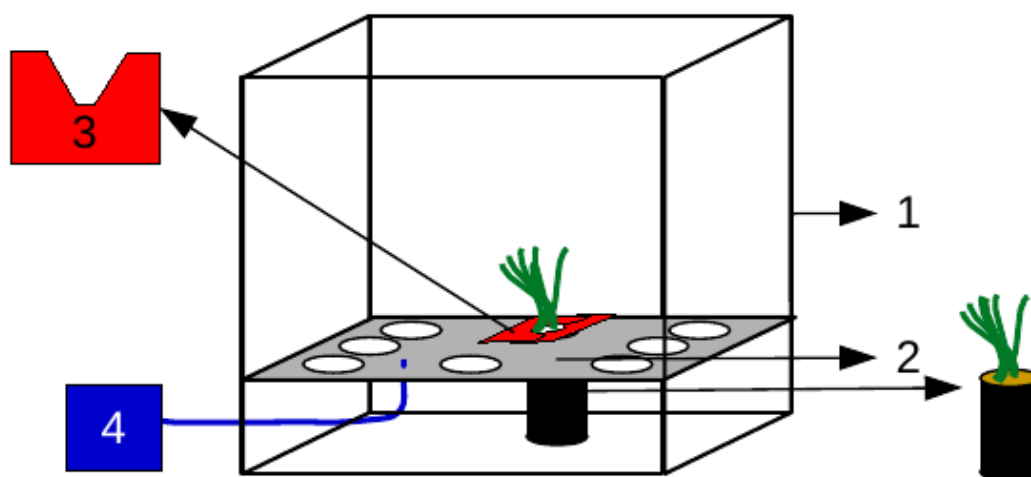


Figura 5.1. Dispositivo de quema. 1: estructura cúbica con paredes metálicas de un metro de lado. 2: placa aislante de 1,5 cm de espesor conformada por dos láminas metálicas rellena de lana de vidrio, de altura regulable para ajustar a la altura de las macetas. 3: piezas de chapa para cerrar la abertura en torno a la base de la planta. 4: sensor de temperatura con termocupla ubicada en la línea de las plantas a 2-3 cm por sobre la superficie de la placa aislante.

Los ejemplares de *N. lophostachya* y *T. pluriflora* destinados a quema, fueron quemados el 31 de marzo de 2016. Mientras que los ejemplares de las otras gramíneas destinados al mismo tratamiento fueron quemados el 29 de abril de 2016. Todas las gramíneas quemadas fueron revisadas a los 40 días post-quema, registrando si hubo rebrotado o no y cosechando la biomasa aérea rebrotada para su cuantificación como masa seca.

5.3.3 - Experimento de corte en leñosas residentes

El experimento de poda sobre leñosas residentes se realizó sólo con los ejemplares de *P. torquata* tomando como referencia el procedimiento seguido por Gadd et al. (2001). La medición inicial y tratamiento se realizó entre el 1 y el 3 de diciembre de 2014 y la medición final entre el 4 y el 7 de marzo

de 2015. Por cada ejemplar focal (seleccionado previamente, según lo descrito en Materiales y Métodos Generales, para la determinación de caracteres en las leñosas residentes) se eligió un ejemplar “vecino”. Este ejemplar vecino es de la misma especie que el focal, se encuentra a una distancia no mayor a 10m del mismo y presenta ramas altas ($> 1,5\text{m}$). De cada ejemplar focal se escogieron dos ramas bifurcadas (por debajo de 1,5 m y una por encima de esa altura) con al menos 5 nudos subapicales en cada bifurcación (esto es 5 nudos hacia proximal desde el ápice, considerando a éste como los últimos 7 cm de la rama) y que presentaban signos de crecimiento activo (epidermis sin suberificar en el ápice). Una de las bifurcaciones fue asignada a **control apareado** y la otra a **poda**. En el individuo focal también se seleccionaron una rama baja y una alta independientes de las bifurcadas cuyas espinas fueron removidas (tratamiento de **desespinado**). En el ejemplar vecino se seleccionó una rama terminal alta que constituyó el **control estructural externo**, la cual se midió para cuantificar crecimiento y cambio en tamaño de espinas. No se tomaron muestras foliares del control estructural externo. En todas las ramas mencionadas se midió la longitud total (sumatoria de la longitud del eje principal y ramificaciones si las tuviera). En las ramas control apareado, poda y control estructural externo se midió el largo y diámetro basal de las espinas en los 5 nudos sub apicales (desde 7cm del ápice hacia proximal). El largo se midió desde el lado externo y el diámetro en sentido del eje principal de la rama.

Se removieron los 7 cm apicales de las ramas destinadas a poda y fueron defoliadas completamente. Estas hojas fueron guardadas para la medición de caracteres foliares. También se tomó una muestra foliar de ramas altas del vecino (**control foliar externo**). En la Figura 5.2 se representan los diferentes tratamientos y controles por cada par de ejemplares (focal y vecino).

El objetivo de los controles externos es discriminar los cambios generales en las variables respuesta del ejemplar focal causadas por las múltiples manipulaciones de aquellos cambios generales causado por otros factores que de cualquier índole que afecten las variables respuesta pero sobre todos los ejemplares en ese sitio. Por tales motivos, en el ejemplar vecino no se establecieron controles en la parte baja. Controles establecidos en la parte baja hubieran estado sometidos a posibles eventos de ramoneo, principalmente en los sitios con historia de herbivoría severa. Estos eventos de ramoneo habrían distorsionando dichos controles ya que hubieron representado disturbios locales, sobre los controles.

Al final del experimento se registró mortalidad de las ramas control apareado, poda y desespinado. Se registró signos de ramoneo en las ramas desespinado y control apareado. Se midió nuevamente el largo total de todas las ramas (poda, control apareado, control estructural externo, y desespinado) para determinar su crecimiento. En las ramas poda, control apareado y control estructural externo se midió el tamaño de las espinas en los 5 nudos sub-apicales de la misma manera que al comienzo. Además se tomaron muestras foliares de las ramas poda, control apareado, control foliar externo y de ramas altas

independientes (**control foliar interno**) del ejemplar focal. Se tomaron muestras para control foliar interno sólo de ramas altas para asegurar que las hojas no provienen de ramas ramoneadas.

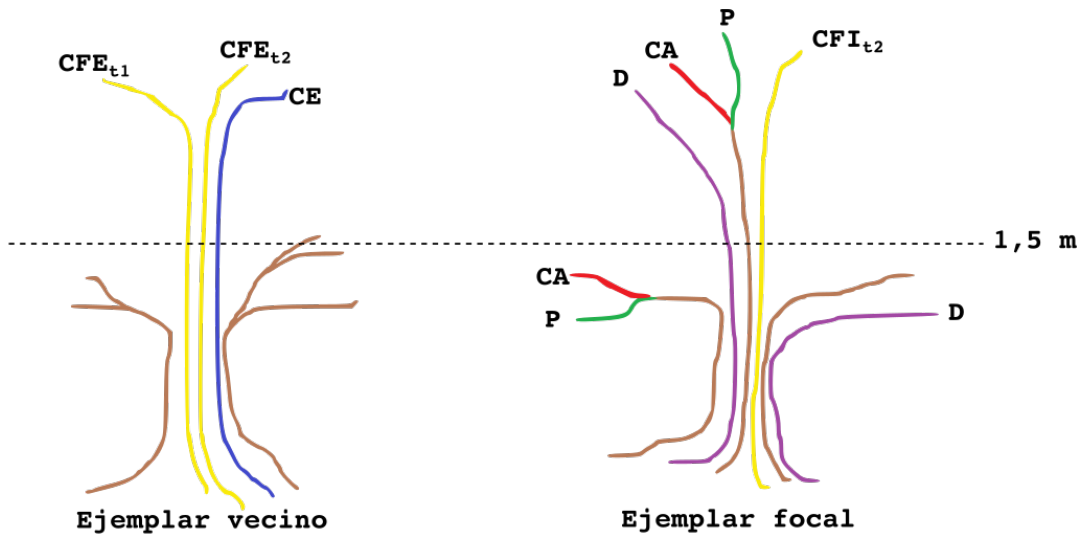


Figura 5.2. Diagrama de tratamientos y controles en cada ejemplar del experimento de corte con leñosas residentes. Se representa el ejemplar focal y su correspondiente vecino. Tratamientos y controles: **CA**: control apareado; **CE**: control estructural externo; **CFE_{tx}**: control foliar externo; **CFI_{iz}**: control foliar interno (muestra foliar para la estimación de cambios en los caracteres foliares en el ejemplar focal independiente de los tratamientos); **D**: tratamiento de desespinado; **P**: tratamiento de poda.

Con las muestras foliares se cuantificó el cambio relativo de los caracteres foliares (AFE, CMS, FTR, FTbR) como:

$$\Delta'X = (X_f - X_0) \cdot X_0^{-1} \quad (\text{ec. 14})$$

Donde $\Delta'X$ es el cambio relativo del carácter X , X_f es el valor final del carácter X y X_0 su valor inicial. Para la rama control apareado y el control foliar interno, se consideró que el estado inicial de los caracteres foliares fue igual al de la rama podada de la altura correspondiente. Además se cuantificó el cambio en el tamaño de las espinas como:

$$\sigma T_{esp} = \ln(T_f) - \ln(T_0) \quad (\text{ec. 15})$$

Donde σT_{esp} es el cambio relativo en el tamaño de espinas de una rama, T_f el tamaño promedio de espinas al final del experimento en dicha rama y T_0 es el tamaño promedio de espinas al comienzo del experimento en la misma rama. En este caso el tamaño se cuantificó como volumen de espina asumiendo una forma cónica.

En el experimento de corte con leñosas residentes se calculó una serie de variables similares a las calculadas para el experimento de corte con gramíneas descendientes. Dado que el lapso temporal de

crecimiento evaluado es idéntico para todas las ramas se calculó el crecimiento relativo (sin dividir por la cantidad de días) pero se usa la misma terminología que en el caso de las gramíneas. Esto es, se calculó el crecimiento relativo de cada rama de manera similar a la ecuación 8:

$$R = \ln(LT_f) - \ln(LT_0) \quad (\text{ec. 16})$$

Donde R es el crecimiento relativo, LT_0 el largo total (sumatoria del largo del eje principal y todas sus ramificaciones) en el tiempo inicial y LT_f el largo total al final del experimento. Además se calculó la tolerancia para el conjunto de las ramas poda más control apareado, de manera similar a lo expresado en la ecuación 9, esto es:

$$T = \ln(LT_f) - \ln(LT^*_0) \quad (\text{ec. 17})$$

Donde T es la tolerancia, LT^*_0 el largo total del conjunto poda más control apareado previo al tratamiento de corte y LT_f el largo total del mismo conjunto al final del experimento. La compensación fue calculada como la diferencia entre el la tolerancia del conjunto poda más control apareado y el crecimiento relativo del control estructural externo, esto es:

$$\begin{aligned} \text{Comp} &= T_{P+CA} - R_{CE} \quad (\text{ec. 18}) \\ &= (\ln(LT_{f(P+CA)}) - \ln(LT^*_{0(P+CA)})) - (\ln(LT_{f(CE)}) - \ln(LT_{0(CE)})) \end{aligned}$$

Donde $Comp$ es la variable compensación, T_{P+CA} es la tolerancia del conjunto poda más control apareado, R_{CE} es el crecimiento relativo del control estructural externo, $LT_{f(P+CA)}$ es el largo total final del conjunto poda más control apareado, $LT^*_{0(P+CA)}$ es el largo total del conjunto poda más control apareado previo al tratamiento de corte, $LT_{f(CE)}$ es el largo total final del control estructural externo y $LT_{0(CE)}$ es el largo total inicial del control estructural externo. Todo esto sólo es aplicable a las ramas altas. Muchas de estas variables no son abordadas en la presente sección pero se explica por formar parte de experimentos de cuyos datos se presentan, parcialmente, aquí.

5.3.4 - Experimento de corte y quema en leñosas descendientes

En primera instancia se cosecharon ejemplares sobrantes para establecer qué variables alométricas ofrecían una buena estimación de la biomasa para las diferentes especies. Se encontró que el logaritmo de un estimador del volumen ($v\hat{o}l$)

$$v\hat{o}l = DAB^2 \cdot LT \quad (\text{ec. 19})$$

Donde *DAB* es el diámetro a la base y *LT* es la longitud total (sumatoria de la longitud de todas las ramas de cada ejemplar), es un excelente estimador del logaritmo de la biomasa para tres de las cuatro especies. En el caso de *P. flexuosa* el logaritmo de este estimador del volumen explicó el 92% del logaritmo de la biomasa aérea de cada ejemplar. En *P. torquata*, explicó el 91% y en *A. gilliesii* el 87%. Para *A. aroma* se encontró que el logaritmo del DAB^2 , por si solo explicó el 71% del logaritmo de la biomasa y que la incorporación de la longitud total empeoró el ajuste.

El experimento de quema se aplicó en todas las especies a un ejemplar seleccionado al azar de cada una de las familias genéticas de medios hermanos maternos, se registró el rebrote (si/no) y se midió el largo del rebrote producido a los 58-79 días (73-78 días para *A. aroma*; 78-79 días para *A. gilliesii*; 58-63 días para *P. flexuosa* y 71-77 días para *P. torquata*). El tratamiento de quema sobre los descendientes de leñosas se realizó el día 16 de marzo de 2016, con el mismo dispositivo y de la misma manera que lo explicado en el experimento de quema de gramíneas descendientes.

El experimento de corte se aplicó solamente a las especies del género *Prosopis* pero se midieron los caracteres foliares, tamaño inicial y espinas en todas las especies, en cuatro ejemplares por familia genética por especie. Los caracteres foliares fueron medidos de la manera explicada en la Sección 4.3. En los descendientes se midió sólo el largo de una espina por nudo, pero se midieron los nudos 4° y 5° subapicales (contando desde el ápice hacia proximal) de todas las ramas de cada ejemplar. De esta manera se calculó el valor de tamaño promedio de espina por ejemplar. La cobertura de espinas es la cantidad de nudos con espinas respecto del total de nudos examinados en cada ejemplar.

En las especies de *Prosopis*, de los cuatro ejemplares medidos, uno fue asignado a quema, otro a control, otro a corte leve y otro a corte severo. El corte consistió en la decapitación de la rama principal y hasta tres ramas, si el ejemplar estuviera ramificado, priorizando las ramas que presentaban crecimiento activo. La decapitación consistió en cortar la rama por debajo del tercer nudo desde apical a proximal. Los ejemplares asignados a corte leve y corte severo fueron cortados por primera vez entre el 29 de febrero y el 8 de marzo para *P. torquata*, y entre el 8 y el 14 de marzo para *P. flexuosa*. Posteriormente se aplicó una fina aspersion de pintura en aerosol de manera que quedaran unas pequeñas manchas sobre hojas y tallos, a fin de poder luego reconocer las hojas nuevas y crecimiento de nuevo tallo. Las manchas fueron tan pequeñas que eran casi imperceptibles a simple vista, pero claramente visibles con una lupa 30X. Entre 15 y 18 días luego del primer corte se aplicó el segundo, de la misma intensidad (sobre ramas diferentes si las hubiera). Luego de 58-63 días de la medición inicial para *P. flexuosa* y 71-77 días para *P. torquata*, se volvió a medir el *DAB*, se midió la longitud de nuevo crecimiento, la longitud de todas las espinas nuevas producidas, y se tomaron nuevas muestras foliares para medir caracteres. En esta ocasión sólo *P. torquata* había producido hojas en un número de individuos que permitiera algún análisis (*P.*

flexuosa sólo produjo hojas en tres ejemplares). El crecimiento de los ejemplares se cuantificó de manera similar a lo expresado en la ecuación 16 para las ramas individuales de los ejemplares residentes:

$$R = (\ln(T_f) - \ln(T_i)) \cdot t^{-1} ; \text{ tal que } T_i = DAB_i^2 \cdot LT ; T_f = DAB_f^2 \cdot (LT + NL) \quad (\text{ec. 20})$$

Donde T_f es el tamaño final y T_i el tamaño inicial, DAB_f y DAB_i diámetro a la base final e inicial respectivamente, LT es el largo total inicial y NL es la nueva longitud crecida.

5.3.5 - Análisis de datos

Para analizar la relación entre el EEF y la tolerancia al corte, en las gramíneas residentes, se realizaron correlaciones lineales de Pearson entre la tasa relativa de crecimiento y el EEF intra-específico. En la Sección 4 se mostró que, en las gramíneas, los caracteres foliares se encuentran fuertemente correlacionados a nivel intra-específico y configuran un EEF a este nivel. Por este motivo, y para evitar problemas de inferencias múltiples, se presentan los resultados de la relación entre tasa relativa de crecimiento y el EEF, en lugar de analizar la relación del crecimiento con cada carácter foliar por separado. La variable EEF resultó de la combinación lineal de los caracteres (AFE, CMS y FTF) estandarizados de acuerdo a los coeficientes del autovector principal calculado para cada especie en la Sección 4 mediante el análisis CPCA. Es decir, se calculó la posición de cada ejemplar en el eje principal de variación de su propia especie. Cuando se calculó el cambio de EEF en un periodo de tiempo (ΔEEF) se tomó como referencia el espacio multidimensional (con su centro, varianza y autovectores) del tiempo inicial. Cabe notar, que estas variables (EEF y ΔEEF) así construidas son relativas a cada especie y son adimensionales, por lo que no tienen unidades. La relación entre tasa relativa de crecimiento y estas variables se analizó mediante correlaciones simples. El tamaño muestral aproximado para estos análisis es de 40 para cada especie ya que se aplicó el tratamiento de corte a un ejemplar por sitio, los tamaños muestrales exactos se informan en los resultados. En los gráficos se representan las correlaciones significativas mediante líneas cuya pendiente y elevación fueron calculadas mediante regresiones SMA (utilizando el paquete “*smatr 3*”; Warton et al. 2012).

En las gramíneas descendientes, donde se cuenta con diferentes niveles del tratamiento de corte y controles, se aplicó un modelo lineal mixto para analizar la relación de EEF con la tasa relativa de crecimiento, y la relación de ésta última con ΔEEF . En estos modelos mixtos el factor de efecto aleatorio fue el sitio de origen de las semillas y se realizó un proceso de selección de modelo mediante el criterio de información de Akaike (AIC). Para ajustar estos modelos se utilizó la función “*lme*” del paquete “*nlme*” (Pinheiro et al. 2017). En estos análisis, el tamaño muestral planificado para cada especie fue de 120 ejemplares correspondientes a 40 sitios (20 sitios por cada historia de herbivoría) pero el tamaño

efectivo varió según el éxito en la germinación. Las cantidades exactas para cada variable se informan en los resultados.

También se analizó la relación entre el EEF y la tolerancia a la quema de las gramíneas descendientes mediante dos análisis. En primer lugar la relación entre el EEF intra-específico y la probabilidad de rebrote, para lo cual se implementó un modelo lineal generalizado mixto con familia binomial y función de enlace *logit*, con el evento de quema como factor de efecto aleatorio, para lo que se usó la función “*glmer*” del paquete “*lme4*” (Bates et al. 2015). En este caso, dado que la función utilizada no estima niveles de significancia para los términos del modelo, se ajustó un modelo nulo que incorporó como factores de efecto fijo, la especie y el tamaño relativo de la planta quemada (el tamaño estimado, respecto del tamaño estimado para la planta más grande de su especie) y luego se comparó, mediante AIC, este modelo nulo con los modelos que incorporaban el EEF intra-específico (o los caracteres foliares individuales) en interacción con la especie. En este análisis se planificó usar un ejemplar por sitio por especie, lo que implica una cantidad aproximada de 40 ejemplares por especie, las cantidades exactas para cada variable se informan en los resultados. En el segundo análisis, sobre los ejemplares que efectivamente rebrotaron, se analizó la intensidad del rebrote, esto es la biomasa producida con posterioridad a la quema. En este segundo análisis se utilizó la función “*lme*” de paquete “*nlme*” (Pinheiro et al. 2017) y también se incorporó el tamaño inicial relativo de la planta quemada como variable regresora.

En las leñosas residentes se analizaron las relaciones entre tres variables de resistencia a la herbivoría y los caracteres foliares. Estas tres variables fueron el tamaño de las espinas (en $t=0$), la cobertura de espinas (en $t=0$) y la compensación (ecuación 18). Los caracteres foliares medidos para todas las especies en $t=0$ son AFE, AF, CMS, FTR, y adicionalmente se midió N_m , C:N en los *Prosopis*. En $t=1$ se cuenta con las mediciones de los caracteres foliares AFE, AF, CMS y FTR. La relación entre los caracteres foliares con el tamaño de las espinas y la compensación se analizaron mediante correlaciones simples, mientras que la cobertura de espinas (por ser una variable de naturaleza binomial) se analizó mediante la función “*glm*” del paquete “*stats*”. Los p-valores de estos análisis fueron corregidos mediante el método de Hommel (1988) de acuerdo al número de análisis, por especie, para cada variable de resistencia a la herbivoría. Esto es, para compensación cuatro, para tamaño y cobertura de espinas en las *Acacia* cuatro y en los *Prosopis* seis. En los resultados de la variable binomial se informa, además del p-valor ajustado, el efecto de la variable predictora sobre la cobertura de espinas, en términos de probabilidad, y el intervalo de confianza del 95% calculado a partir de los parámetros estimados por el modelo. Nótese que el efecto negativo de una dada variable continua sobre la ocurrencia de un evento se corresponde con una probabilidad significativamente menor a 0,5 y viceversa. En todos estos análisis, para cada especie se planificó medir 40 ejemplares en dos posiciones completando una

cantidad aproximada de 80 mediciones, las cantidades exactas para cada variable se informan en los resultados.

En las leñosas descendientes se analizaron las mismas relaciones que en las residentes por lo que se utilizaron los mismos procedimientos que los mencionados anteriormente. Sin embargo, en las leñosas descendientes no se contó con información de N_m y $C:N$, por lo que la corrección del p-valor para las relaciones de cada variable, en cada especie, fue siempre para cuatro estimaciones (la relación de cada variable con AF, AFE, CMS y FTR). En estos análisis, para cada especie se planificó usar 160 ejemplares provenientes de 40 plantas madre, sin embargo la cantidad exacta varió según el éxito de las germinaciones. Las cantidades exactas para cada variable se informan en los resultados.

Además, para analizar la tolerancia a la herbivoría en relación con los caracteres foliares se calculó una variable similar a la compensación, que resulta de la diferencia entre la tasa relativa de crecimiento del individuo sometido a tratamiento de corte severo y el control correspondiente de la misma familia genética de medios hermanos maternos. Por simplicidad llamaremos a esta variable Tf :

$$Tf_i = R_{i;CS} - R_{i;C} \quad (\text{ec. 21})$$

Donde Tf_i es la tolerancia de la familia genética i a la remoción de biomasa por corte, $R_{i;CS}$ es la tasa de crecimiento relativa del ejemplar destinado a corte severo de la familia genética i , $R_{i;C}$ es la tasa de crecimiento relativo del ejemplar destinado a control en la familia genética i . Se analizó la relación entre ésta variable y los caracteres foliares promedio de la familia. Cabe aclarar que el análisis de la variable Tf , así construida, arrojó resultados similares a los que se observaron utilizando la diferencia entre tasa de crecimiento de los ejemplares sometidos a corte leve y control, o utilizando un promedio entre las diferencias de las tasas de crecimiento de cada nivel de corte con el control. En este análisis, para cada especie se cuenta con aproximadamente 40 datos, uno por familia genética de medios hermanos maternos, las cantidades exactas para cada variable se informan en los resultados.

También se analizó la relación entre los caracteres foliares (AF, AFE, CMS, FTR) y la tolerancia a la quema de las leñosas descendientes mediante dos análisis. En primer lugar la relación entre los caracteres foliares y la probabilidad de rebrote, para lo cual se implementó un modelo lineal generalizado mixto siguiendo las mismas consideraciones y procedimientos que los descritos para el análisis del experimento de quema con gramíneas. En este análisis se aplicó el tratamiento de quema a un ejemplar por familia genética por lo que se planificó contar con aproximadamente 40 datos, sin embargo el tamaño muestral varió según el éxito de las germinaciones. Las cantidades exactas para cada variable se informan en los resultados. En segundo lugar se analizó la intensidad del rebrote (largo total de los nuevos brotes) en función de los caracteres foliares, para lo cual se seleccionó un modelo lineal mixto, de

manera similar a lo que se hizo para las gramíneas. También aquí se aplicó la corrección de los p-valores dado que se analizó la relación de cada variable de tolerancia al fuego con los cuatro caracteres foliares, para cada especie.

5.4 - Resultados

5.4.1 - Gramíneas

En el experimento de corte llevado a cabo con gramíneas residentes en jardín común se encontró que la tasa relativa de crecimiento y la posición en el EEF intra-específico, al momento del corte, fue variable entre especies. El patrón general mostró una correlación positiva entre ambas variables ($r=0,21$; $n=281$; $p\text{-valor}<0,001$), sin embargo sólo dos especies presentaron correlaciones positivas significativas (Figura 5.3a), estas son *A. mendocina* ($r=0,42$; $n=50$; $p\text{-valor}=0,002$) y *G. paraguayensis* ($r=0,36$; $n=59$; $p\text{-valor}=0,005$). En tres especies no se encontró relación entre las dos variables, estas son *S. pyramidatus* ($r=0,01$; $n=38$; $p\text{-valor}=0,94$), *T. crinita* ($r=0,17$; $n=54$; $p\text{-valor}=0,22$) y *T. pluriflora* ($r=0,23$; $n=45$; $p\text{-valor}=0,12$). En *N. lophostachya* se encontró una correlación significativa negativa ($r=-0,35$; $n=35$; $p\text{-valor}=0,042$). En el experimento de corte realizado con los ejemplares descendientes de gramíneas, donde sólo se usaron las especies *N. lophostachya* (104 ejemplares, 37 sitios) y *T. pluriflora* (110 ejemplares, 38 sitios), se encontró que la tasa relativa de crecimiento estuvo relacionada positivamente con la posición de los ejemplares en el EEF intra-específico al comienzo del experimento sólo en los ejemplares sometidos a corte (ya sea severo o leve) mientras que en los ejemplares control no hubo relación entre la tasa relativa de crecimiento y el EEF (Figura 5.3c).

En el experimento de corte con gramíneas residentes la correlación general entre ΔEEF y tasa relativa de crecimiento fue negativa ($r=-0,39$; $n=257$; $p\text{-valor}<0,001$). El mismo patrón se observó en cada especie por separado (Figura 5.3b). En *A. mendocina* ($r=-0,46$; $n=41$; $p\text{-valor}=0,002$), *T. crinita* ($r=-0,38$; $n=53$; $p\text{-valor}=0,005$) y *T. pluriflora* ($r=-0,58$; $n=45$; $p\text{-valor}<0,001$) esta correlación fue significativa. En *N. lophostachya* ($r=-0,37$; $n=25$; $p\text{-valor}=0,07$) y *S. pyramidatus* ($r=-0,29$; $n=35$; $p\text{-valor}=0,09$) fue marginalmente significativa. La correlación negativa no fue significativa en *G. paraguayensis* ($r=-0,11$; $n=58$; $p\text{-valor}=0,41$).

En el experimento con gramíneas descendientes se encontró el mismo patrón entre ΔEEF y tasa relativa de crecimiento (Tamaño muestral: *N. lophostachya*: 88 ejemplares, 36 sitios; *T. pluriflora*: 109 ejemplares, 38 sitios), pero sólo en los grupos sometidos a tratamiento de corte severo de ambas especies (Figura 5.3d). Por lo que, en ambos experimentos de corte se observó que los individuos cortados que alcanzaron menores tasas de crecimiento, se movieron en el EEF hacia el extremo más adquisitivo (mayor AFE, menor CMS y menor FTF) (Figura 5.3 b y d).

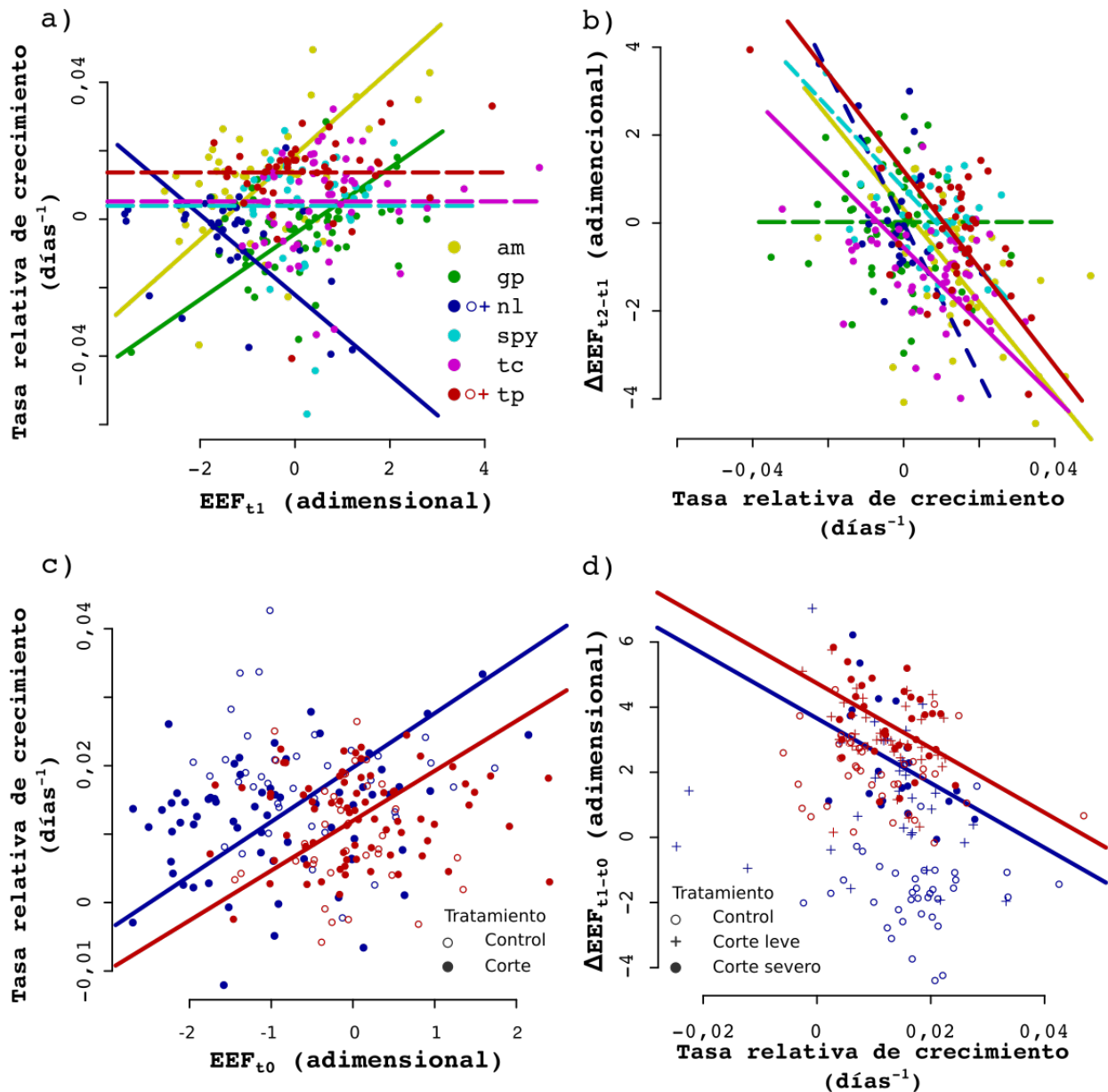


Figura 5.3. Relación entre la tasa relativa de crecimiento y espectro económico foliar (EEF) en gramíneas. El panel **a** muestra la relación entre la posición de los ejemplares en el EEF intra-específico al comienzo del experimento de corte (EEF_{t1}) y la tasa relativa de crecimiento alcanzada durante la duración del mismo, para los ejemplares sometidos a corte de gramíneas residentes. El panel **b** muestra la relación entre el crecimiento y el cambio de posición en el espectro económico foliar (ΔEEF) experimentado por cada ejemplar de gramínea residente sometido a corte. Los paneles **c** y **d** muestran resultados similares para los ejemplares de gramíneas descendientes. En los paneles **a** y **b** las pendientes representan la línea de mejor ajuste según la regresión SMA para aquellas especies que presentaron una correlación entre las variables de los ejes x e y con p -valor $< 0,1$. Estas líneas son sólidas cuando el p -valor de la correlación fue menor a 0,05. Las líneas punteadas horizontales corresponden a las especies donde la correlación tuvo un p -valor $> 0,1$. En el panel **c** no se distinguen corte leve por corte severo porque no hubo diferencias entre ambos, respecto de la relación entre EEF y crecimiento, por lo que las líneas sólidas representan el efecto predicho por el modelo seleccionado ($R \sim spp*trat + EEF*trat$) del EEF_{t0} sobre la tasa relativa de crecimiento, para los tratamientos de corte. En el panel **d**, la línea de tendencia corresponde solamente a tratamiento de corte severo para ambas especies, ya que según el modelo seleccionado ($\Delta EEF \sim spp*trat + R*trat$) sólo hubo efecto de la tasa relativa de crecimiento sobre ΔEEF en este tratamiento. Especies: **am**: *A. mendocina*; **gp**: *G. paraguayensis*; **nl**: *N. lophostachya*; **spy**: *S. pyramidatus*; **tc**: *T. crinita*; **tp**: *T. pluriflora*.

El número de ejemplares descendientes, de cada especie de pasto, sometidos a tratamiento de quema fue similar para todas las especies. Sin embargo la cantidad de ejemplares que rebrotó fue muy variable entre especies (Figura 5.4). Debido al escaso número de ejemplares rebrotados en *A. mendocina*, *G. paraguayensis* y *N. lophostachya*, estas tres especies no se incluyeron en el análisis de rebrote (binomial). Por el mismo motivo, *S. pyramidatus* también se excluyó del análisis de la intensidad de rebrote. Sin embargo no se encontró ninguna relación entre el EEF intra-específico (o los caracteres foliares individuales) y las variables de rebrote.

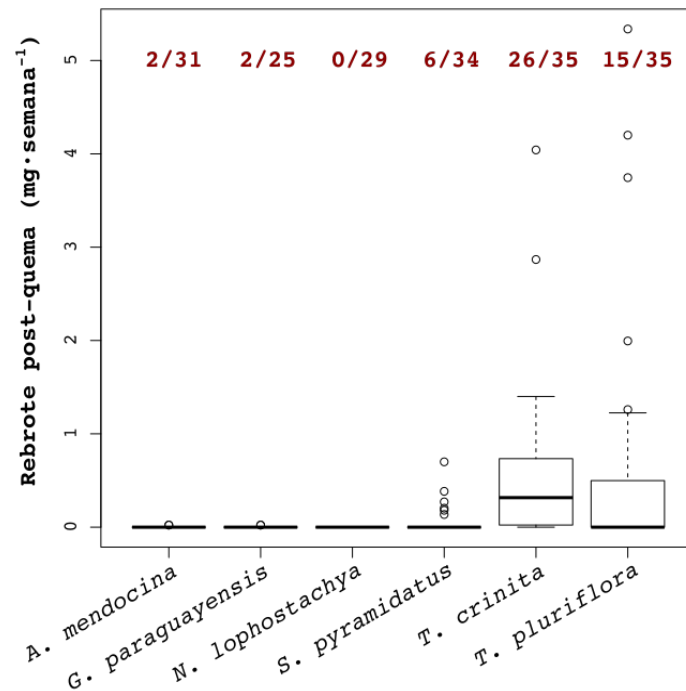


Figura 5.4. Rebrote post-quema de gramíneas descendientes a los 40 días del tratamiento. Las cajas muestran mediana, primer y tercer cuartil, y los bigotes indican hasta 1,5 recorridos intercuartílicos desde el borde de la caja. Se muestran los resultados para cada especie. En la línea superior en rojo se indica la cantidad de ejemplares rebrotados sobre el total de ejemplares quemados por especie.

5.4.2 - Leñosas

Los ejemplares residentes presentaron una amplia variación en el tamaño y cobertura de espinas. Principalmente *P. flexuosa* que presenta el rango más amplio para ambas variables, con ejemplares completamente carente de espinas hasta ejemplares con las espinas más prominentes del conjunto de especies estudiadas (Figura 5.5).

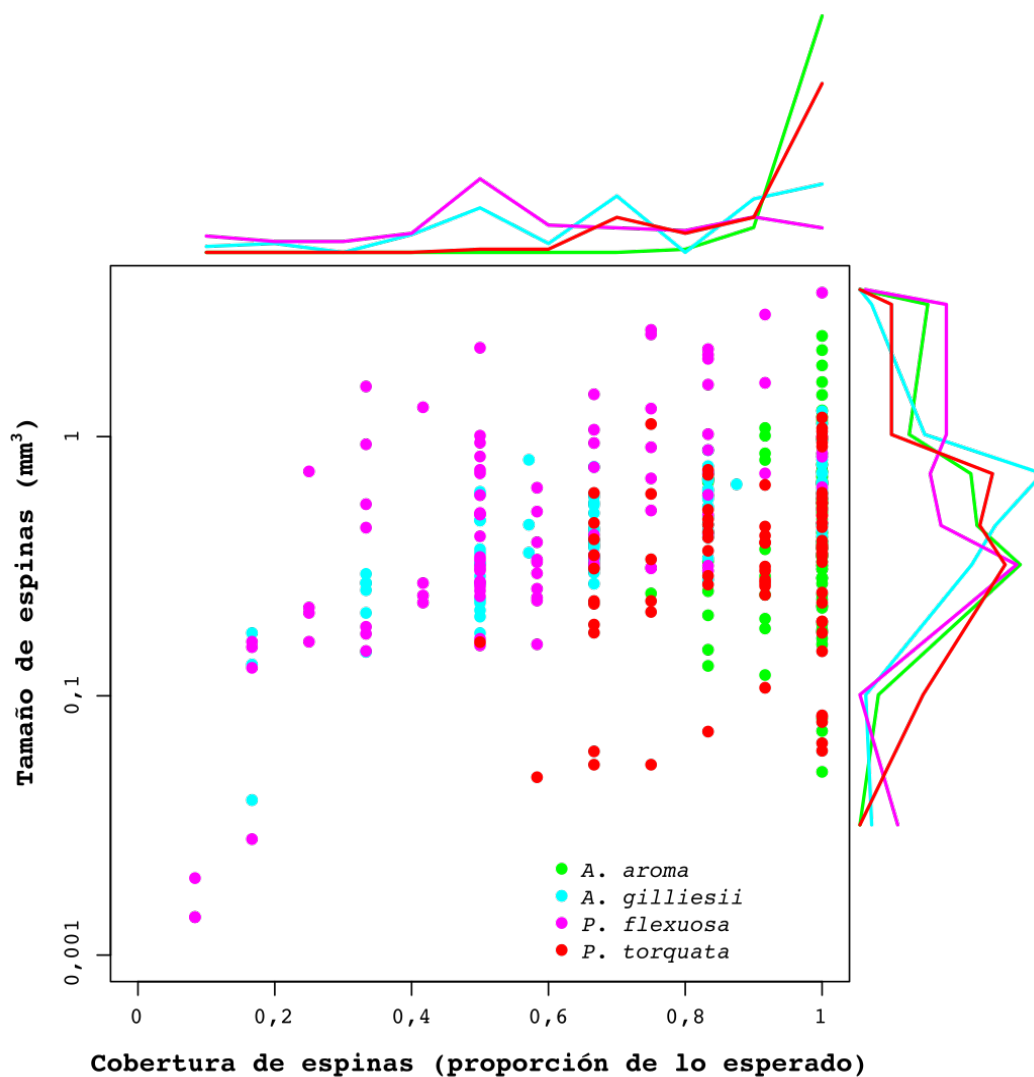


Figura 5.5. Espinosidad (tamaño y cobertura de espinas en las ramas medidas) en ejemplares residentes de las cuatro especies de leguminosas leñosas estudiadas. Las curvas en los márgenes superior y derecho indican la densidad de datos a lo largo del rango de la variable (histograma).

No se encontraron relaciones claras y consistentes entre las variables de espinosidad y los caracteres funcionales foliares en las cuatro especies. Sin embargo se observaron algunas relaciones particulares en especies individuales representadas en la Figura 5.6 (con su intervalo de confianza del 95%) y que se detallan a continuación. Se debe recordar que los efectos de los caracteres foliares sobre la cobertura de espinas están expresados en términos de probabilidad, además se informa el intervalo de confianza del 95% y el p-valor de la hipótesis nula de efecto no diferente del azar. En los ejemplares residentes de las especies de *Acacia*, no se encontró ninguna relación significativa entre las variables de espinosidad y los caracteres funcionales foliares. Pero en los descendientes de *A. gilliesii* se encontró una relación positiva significativa entre ambas, tamaño ($r=0,32$; $n=85$; $p\text{-valor}=0,011$) y cobertura de espinas ($0,99$ [$0,99-1$]; $n=85$; $p\text{-valor}<0,001$), con CMS. En ejemplares residentes de *P. flexuosa*, se observó que la cobertura de espinas esta relacionada negativamente con AFE ($0,47$ [$0,45 - 0,49$]; $n=97$; $p\text{-valor}=0,012$), con AF

(0,4998 [0,4997 - 0,4999]; n=97; p-valor<0,001) y con C:N (0,459 [0,432 - 0,487]; n=97; p-valor=0,015) pero positivamente con N_m (0,603 [0,523 - 0,679]; n=97; p-valor=0,037). En los descendientes de esta especie también se encontró una relación negativa entre cobertura de espinas y AFE (0,488 [0,480 - 0,496]; n=157; p-valor=0,019), así como una correlación negativa entre tamaño de espinas y FTR ($r=-0,18$; n=157; p-valor=0,048) pero positiva con AF ($r=0,30$; n=157; p-valor<0,001). En residentes de *P. torquata*, se observó que la cobertura de espinas esta relacionada positivamente con AF (0,5018 [0,5010 - 0,5025]; n=84; p-valor<0,001) y N_m (0,736 [0,586 - 0,847]; n=81; p-valor=0,015); a su vez el tamaño de espinas también se correlacionó positivamente con AF ($r=0,30$; n=83; p-valor=0,035). En los descendientes de esta especie también se observó una correlación positiva entre tamaño de espinas y AF ($r=0,28$; n=128; p-valor=0,005).

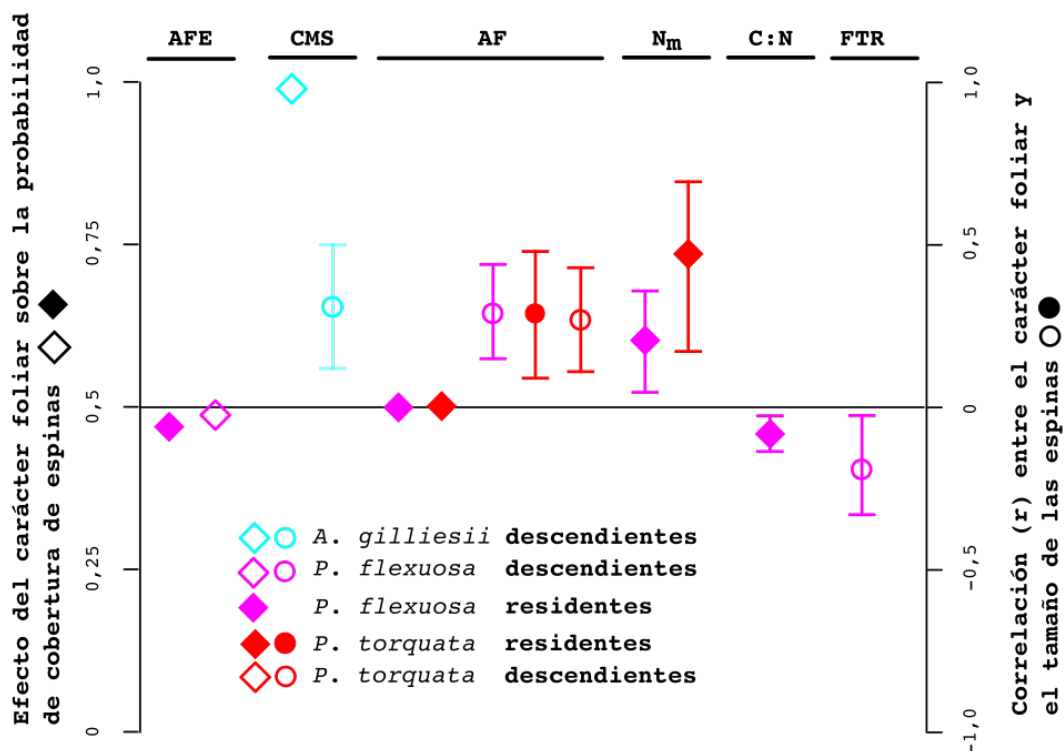


Figura 5.6. Resumen de las correlaciones y efectos estadísticamente significativas entre caracteres foliares (AFE: área foliar específica; CMS: contenido de materia seca; AF: área foliar; N_m : contenido de nitrógeno foliar; FTR: fuerza tensil del raquis; C:N: relación carbono-nitrógeno) y las variables de espinosidad (Cobertura de espinas y Tamaño de espinas). Se muestran los resultados tanto de leñosas residentes (símbolos cerrados) como de leñosas descendientes (símbolos abiertos). Para la cobertura de espinas (rombos) se indica el efecto del carácter en la probabilidad de cobertura de espinas con su intervalo de confianza del 95%. La probabilidad de 0,5 es la dada por azar, por lo que los efectos significativamente superiores a ese límite son positivos y viceversa. Para el tamaño de las espinas (círculos) se indica el coeficiente de correlación de Pearson entre dicha variable y los caracteres foliares, y su intervalo de confianza. En algunos grupos el intervalo de confianza quedó comprendido dentro de los márgenes del símbolo, por lo que no se observa.

Como se puede observar en la Figura 5.6 algunos de los efectos significativos que se encontraron son, sin embargo, de una magnitud de efecto muy pequeña, como por ejemplo las relaciones encontradas

entre AF y cobertura de espinas, mientras que otros efectos son fuertes. En esta figura se observa que el CMS tuvo una relación positiva fuerte con la espinosidad de *A. gilliesii*. También se observa que AFE mostró una relación negativa moderada, pero consistente, sobre la cobertura de espinas de *P. flexuosa*. En ambas especies de *Prosopis* el AF se correlacionó positivamente con el tamaño de las espinas y el contenido de nitrógeno de la hoja tiene una relación positiva con la cobertura de espinas. En *P. flexuosa*, también se encontró que la FTR esta correlacionada negativamente con el tamaño de las espinas.

Algunos elementos a resaltar de estos resultados es que, para cada especie, los resultados encontrados en ejemplares residentes y descendientes nunca fueron contradictorios (aunque no siempre se observaron efectos significativos en las mismas variables en ambos conjuntos de datos). Otro aspecto a destacar es que hay una gran similitud en los patrones observados entre las dos especies de *Prosopis* y que estos se diferencian notablemente de las dos especies de *Acacia*.

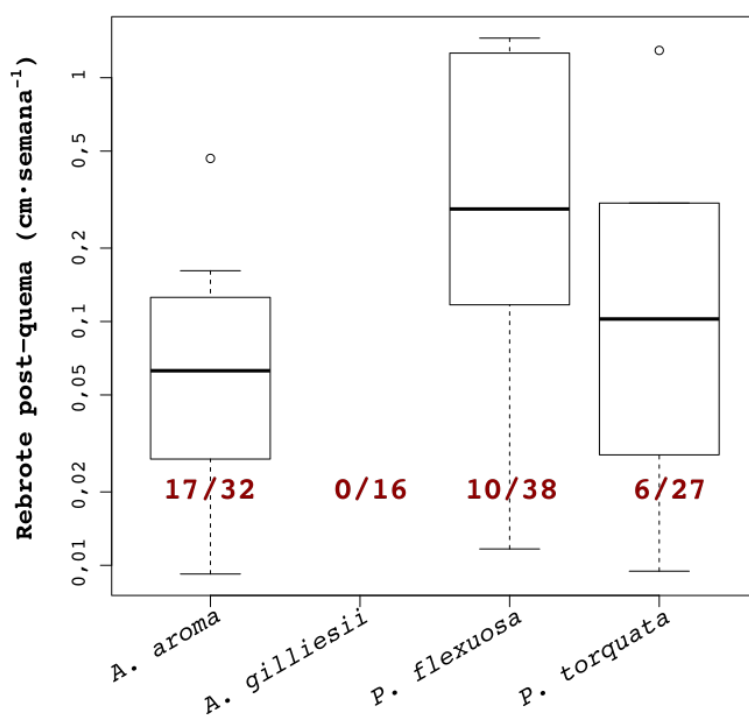


Figura 5.7. Rebrote post-quema de descendientes de cuatro especies de leñosas. Las cajas muestran mediana, primer y tercer cuartil, los bigotes indican hasta 1,5 recorridos intercuartílicos desde el borde de la caja. En la línea inferior en rojo se indica la cantidad de ejemplares rebrotados sobre el total de ejemplares quemados por especie.

Al analizar la relación entre la compensación ante la remoción de biomasa por poda (ecuación 18) y los caracteres funcionales foliares en los ejemplares residentes de *P. torquata*, sólo se encontró una correlación significativa con el AF ($r=-0,49$; $n=30$; $p\text{-valor}=0,022$). Mientras que en los ejemplares descendientes, donde se analizó Tf (ecuación 21) en las dos especies de *Prosopis*, no se encontró ninguna relación de esta variable con los caracteres foliares medidos.

En el experimento de quema se encontró que ningún ejemplar de *A. gilliesii* toleró el tratamiento, mientras que en las otras tres especies hubo una buena proporción de ejemplares que rebrotaron (Figura 5.7). En cuanto a la relación entre los caracteres foliares y la tolerancia al fuego, no se encontró relación entre ninguno de los caracteres foliares y el evento de rebrote (si/no). En cuanto a la intensidad del rebrote (largo de los brotes) sólo se encontró, en los *Prosopis*, una relación negativa con AFE.

5.5 - Discusión y conclusiones parciales

Sobre la base de las relaciones conocidas e hipotetizadas (Shipley et al. 2006a; Onoda et al. 2017) que vinculan los caracteres funcionales foliares para dar lugar al EEF (Figura 3.1), se espera que la relación del EEF con la tasa relativa de crecimiento sea tal que mayores tasas de crecimiento se observen en plantas con mayor AFE, mayor N_m , menor CMS y menor FTF (Figura 3.3). Sin embargo los resultados aquí descritos no concuerdan totalmente con la predicción **P2.1** y por lo tanto con la hipótesis **H2**. En primer lugar, para gramíneas residentes sometidas a corte, la predicción de dicha hipótesis sólo se cumple para algunas especies (Figura 5.3a). En el caso de las gramíneas descendientes, la predicción se cumple para las dos especies estudiadas pero sólo en los ejemplares bajo tratamiento de corte, ya que en los ejemplares control no se observó ninguna relación entre el crecimiento y EEF (Figura 5.3c). Dado que ambos experimentos fueron realizados en condiciones de jardín común, con las plantas bajo riego diario, existen otros factores que están condicionando el crecimiento no contemplados en este estudio, y no atribuible a la disponibilidad de recursos. En segundo lugar, el corte interactúa con el EEF para modelar el crecimiento. Esto parecería confirmar, para las gramíneas, que el EEF tiene un efecto concreto en la tolerancia a la herbivoría. Pero también se pone de manifiesto que la relación de causalidad puede no ser unidireccional y que el corte podría estar afectando la posición en el EEF a través de su efecto sobre la tasa relativa de crecimiento.

El corte disminuye el área fotosintética total de la planta, por lo que genera un desbalance en la proporción de órganos que generan productos de fotosíntesis y órganos que los demandan (e.g. raíces). Eso reduce la disponibilidad de fosintetatos para la producción de nuevos tejidos y por lo tanto afectará negativamente el crecimiento. Los resultados aquí presentados sugieren que mientras mayor fue el efecto negativo del corte sobre la tasa relativa de crecimiento, las plantas produjeron hojas más adquisitivas (y más “baratas” en términos de inversión en carbono estructural), pero sin lograr compensar la caída en la tasa relativa de crecimiento. Los mecanismos subyacentes a este patrón no pueden ser dilucidados aquí, pero ya se ha reportado en otros estudios que el corte, en general, provoca un efecto inicial negativo en la tasa de crecimiento de las gramíneas, que luego tiende a ser compensado (Ferraro & Oosterhel 2002) mediante cambios plásticos, de la planta que también involucran cambios foliares consistentes con un incremento en la adquisitividad (Oosterheld & McNaughton 1988). Las hojas presentes en la planta al

momento del corte no pueden cambiar su posición en el espectro económico foliar y hacerse más adquisitivas. Pero si puede haber un cambio en las cualidades de las nuevas hojas producidas por la planta (respecto de las hojas producidas en un ejemplar no cortado). Por lo tanto un posible incremento en la tasa de crecimiento causado por cambios en las cualidades de las nuevas hojas esta necesariamente diferido en el tiempo. Es decir que, de alguna manera, la caída inicial en la tasa relativa de crecimiento causada por el corte induce una respuesta plástica hacia un síndrome más adquisitivo, como el que se reporta aquí, y que este cambio en los caracteres foliares contribuye (luego de la caída inicial) a incrementar la tasa de crecimiento y a compensar la biomasa perdida.

Las consideraciones previas parecen sólo válidas para las gramíneas, ya que en las leñosas no se encontró ninguna relación entre la tolerancia a la remoción de biomasa por corte y el EEF. En el caso de las defensas mecánicas (espinas) no se detectó un patrón general compartido por todas las especies. Los patrones tampoco parecen depender del tipo de espina, ya que las espinas de *P. flexuosa* y de *A. gilliesii* son de tipo caulinar, mientras que las de *P. torquata* y de *A. aroma* son estipulares. Sin embargo resulta importante rescatar la relación positiva observada, consistentemente en los *Prosopis*, entre tamaño de espinas y AF. Como se verá en secciones posteriores, tanto AF como el tamaño de espinas se encuentran relacionados positivamente con la tasa de crecimiento de la rama. Por lo que es probable que la correlación aquí observada sea consecuencia de una causa común que es la tasa de crecimiento del módulo del cual provienen las mediciones, que podría estar afectando también a los diferentes órganos que lo conforman. Un patrón que se observó en los *Prosopis*, y resulta interesante, es la relación positiva entre N_m y cobertura de espinas. Ésto indicaría que ejemplares con hojas más costosas en nutrientes, y potencialmente más palatables, defienden dichas hojas de manera más constante, presentando espinas en cada nudo de donde nacen las mismas.

En cuanto a la tolerancia al fuego, no guarda relación con el EEF para las gramíneas y en las leñosas sólo se encontró una relación entre AFE y la intensidad de rebrote en los *Prosopis*, por lo que tampoco resulta una evidencia fuerte respecto de alguna posible relación entre la estrategia de uso de recursos y la tolerancia la fuego. Por lo tanto la hipótesis **H2** sólo fue apoyada parcialmente. En el caso de remoción de biomasa por corte, en las gramíneas se encontró sustento para la **P2.1**. Pero para las leñosas no se encontró ninguna evidencia a favor de dicha predicción, como así tampoco para la relación entre EEF y tolerancia al fuego.

Parte II

Efectos evolutivos de la herbivoría de ungulados domésticos sobre el espectro económico foliar, la resistencia a la herbivoría y la tolerancia al fuego

6 - Introducción de la Parte II

6.1 - Marco teórico

Como se mencionó en la introducción general, el EEF se encuentra tensionado por diferentes fuerzas evolutivas. En primer lugar, el paisaje adaptativo determinado por los caracteres LF y A_m (o LF y AFE), tendrá una pendiente positiva hacia la combinación que maximice ambos caracteres. Se hace entonces evidente, que el EEF por las constricciones físicas y fisiológicas que lo determinan, queda dispuesto de manera más o menos perpendicular al gradiente de selección (Figura 6.1a). Esto dificulta la evolución de dichos caracteres, porque la varianza en la dirección del gradiente de selección es baja y porque la correlación negativa entre caracteres tiene causas estructurales. Hay poco margen para incrementar una de las variables sin ir en detrimento de la otra. Según la hipótesis causal planteada en la introducción de la primera parte (Figura 3.1), la única posibilidad es lograr un incremento en la dureza específica del material (γ), lo que permitiría aumentar la LF sin disminuir A_m . Otra alternativa sería incrementar la tasa fotosintética por unidad de N (PNUE – Onoda et al. 2017), variable que no ha sido incorporada aquí, y que podría lograrse optimizando la partición de N, favoreciendo la asignación a la actividad fotosintética (particularmente a la enzima Rubisco) por sobre otras vías metabólicas o funciones estructurales (Onoda et al. 2004, 2017).

El espectro económico foliar, tal como está expresado en la Figura 3.1, aparenta cierta rigidez ya que las variables AFE, CMS, dureza, LF, N_m y A_m (típicamente indicadoras del EEF) tienen pocas posibilidades de variar independientemente. Sin embargo, hay evidencia de que la configuración del EEF está afectada por causas biogeográficas históricas, es decir, floras con diferentes historias evolutivas difieren cuantitativamente (aunque comparten las mismas relaciones cualitativas) en las relaciones entre caracteres foliares del EEF (Heberling & Fridley 2012). Además se ha encontrado que, a nivel intra-específico, la selección natural podría ser un factor más importante que las constricciones genéticas en la configuración actual del EEF (Donovan et al. 2011). Por lo que la evolución por selección natural del EEF podría desempeñar un papel importante en su configuración y la herbivoría podría ser una fuerza evolutiva relevante. Cuando se habla de constricciones genéticas se hace referencia a cualidades del sistema genético que pueden condicionar e impedir la evolución. Éstas podrían ser la falta de varianza genética aditiva de los caracteres, que derivaría en una heredabilidad nula de los mismos, o a correlaciones genéticas entre caracteres que pueden estar sujetos a presiones de selección tales que se anulen mutuamente. Esto podría suceder por efectos pleiotrópicos o por desequilibrio de ligamiento (Steppan et al. 2002). Sin embargo, se ha encontrado que las correlaciones de AFE con A_m y con N_m , que a nivel inter-específico son fuertemente positivas, a nivel genético (intra-específico) son variables desde negativas a positivas (Donovan et al. 2011).

Los resultados hasta aquí expuestos (Secciones 4 y 5) muestran que la varianza fenotípica (intra-específica) de los caracteres foliares es amplia, al punto de representar una proporción importante de la variabilidad global de dichos caracteres. No se puede inferir a partir de esta varianza fenotípica qué proporción corresponde a varianza genética aditiva y por lo tanto en qué medida puede contribuir a procesos evolutivos. Pero se ha observado que la heredabilidad de los caracteres foliares del EEF es de magnitud comparable al de otros caracteres morfológicos y fisiológicos (Donovan et al. 2011). Esto pone en evidencia que, al menos en principio, las especies presentan un sustrato de variabilidad fenotípica y genética sobre el cual puede actuar la selección natural de la herbivoría (como de otros factores) y generar cambios evolutivos.

Como se desarrolló en la Introducción General, en general se encuentra que a nivel comunitario la herbivoría por ungulados produce comunidades más adquisitivas (Cingolani et al. 2007; McIntyre 2008; Moreno García et al. 2014). A nivel de especie se encuentra que aquellas más adquisitivas suelen ser más tolerantes al pastoreo (Díaz et al. 2001; Cingolani et al. 2005). A nivel intra-específico, que es el nivel de interés en esta tesis, la evidencia del efecto de la herbivoría sobre el espectro económico foliar es más variable (Oesterheld & McNaughton 1988; Georgiadis et al. 1989; McNaughton 1992; Bråthen & Odasz-Albrigtsen 2000; Rotundo & Aguiar 2008; Lind et al. 2012; Whitworth-Hulse et al. 2016). Adicionalmente, convergen aquí discusiones de otros marcos teóricos respecto del efecto de la herbivoría que son pertinentes rescatar. En primer lugar, otros marcos conceptuales de estudio de la vegetación predicen que el pastoreo no selectivo conduce a la dominancia de plantas con elevada AFE, un rápido crecimiento compensatorio y alto recambio de hojas, mientras que la supresión del pastoreo causaría un desplazamiento hacia una composición comunitaria con especies de baja AFE, pero con mayor altura y capacidad competitiva (Westoby 1999). En segundo lugar, la vinculación del EEF con la tasa de crecimiento y la dureza foliar, la cual condiciona la LF por su efecto sobre la resistencia a la herbivoría, evoca el clásico dilema de las plantas, crecer o defenderse planteado por Herms y Mattson (1992), en este caso, hacerse más adquisitivas o más conservadoras ante la herbivoría. Un dilema que resulta mediado por la disponibilidad de recursos y la consecuente tasa de crecimiento máxima, posible de ser alcanzada en un determinado contexto de herbivoría, dada la inversión en defensas (Coley et al. 1985; Endara & Coley 2011). En este sentido se ha demostrado que las especies pueden responder de diferente manera ante la herbivoría o su supresión (incrementando o disminuyendo su tasa de crecimiento) (Coughenour 1985; Ferraro & Oesterheld 2002), y experimentar cambios evolutivos en pocas décadas y en escalas espaciales locales (Turley et al. 2013, Gorné & Díaz 2017).

El presente trabajo propone que el efecto de la herbivoría sobre el EEF debería depender de la relación entre la diversidad del EEF y la capacidad de selección de los herbívoros en el sistema de estudio. La Figura 6.1a presenta la relación entre LF y AFE predicha por el EEF. En un sistema

hipotético donde los herbívoros estén ausentes, la LF está limitada tanto por factores abióticos, como el viento y la foto-oxidación, como por procesos fisiológicos y metabólicos. En dicho sistema hipotético se observaría una LF potencial expresada en su máxima nivel. Si en dicho sistema se incorporasen herbívoros que tengan la máxima capacidad de discriminar entre hojas de diferente calidad, de tal manera que la probabilidad de cada hoja de ser consumida fuera directamente proporcional a su AFE, entonces la LF efectiva (i.e.: el tiempo que efectivamente persiste la hoja en presencia de los herbívoros) será menor a la LF potencial, pero no de manera homogénea a lo largo de todo el EEF. Mientras mayor sea AFE, mayor la probabilidad de una hoja de ser consumida, y mayor será la diferencia entre la LF potencial y la LF efectiva. Por lo tanto, habrá un cambio en la pendiente de la relación entre LF y AFE. Este cambio se representa en la Figura 6.1b, donde la línea punteada representa la relación entre LF potencial y AFE y la línea continua muestra la relación entre la LF efectiva y AFE. Se observa como, en esta situación, a medida que aumenta el AFE, una hoja con cierta AFE presenta menos longevidad foliar efectiva que lo que cabría esperar sobre la base de su posición en el espectro económico foliar (LF potencial). Esta situación acarrea dos consecuencias, en primer lugar las hojas con valores extremadamente altos de AFE ya no serán viables en el sistema (tendrán una LF efectiva igual a cero), lo que automáticamente hará que la media de AFE de toda la comunidad disminuya. En segundo lugar, por el efecto de la herbivoría selectiva, se produciría un descenso en el paisaje adaptativo que afectará más severamente a las plantas mientras mayor sea su AFE, y como consecuencia otorgará una ventaja adaptativa relativa a las hojas con menor AFE. En este sentido, se esperaría que al analizar el efecto de la herbivoría sobre el EEF global, o al analizar el efecto de la herbivoría de invertebrados (en general altamente selectiva), se encontrara que **la pendiente entre LF y AFE se haga más pronunciada a medida que aumenta la intensidad de la herbivoría** ya que, mientras mayor el AFE mayor la preferencia de los herbívoros por dichas plantas (Grime et al. 1996; Pérez-Harguindeguy et al. 2003; Enrico 2009; Poorter et al. 2009). **Esto daría como resultado un desplazamiento del EEF hacia una posición más conservadora.** En esta situación se puede considerar que el EEF es también un gradiente de resistencia a la herbivoría, donde hojas con menor AFE (y por lo tanto más duras) evitan ser consumidas.

Partiendo del mismo sistema hipotético inicial (Figura 6.1a), se podría plantear la otra situación extrema. Los herbívoros no pueden discriminar en absoluto entre hojas de diferente calidad y por lo tanto consumen aleatoriamente y con la misma tasa promedio a lo largo de todo el EEF. Esto provocaría una disminución generalizada en la LF efectiva respecto de la LF potencial (Figura 6.1c). Si la presión de herbivoría es suficiente, habrá un límite máximo para la LF efectiva que estará determinado por la frecuencia promedio con que cada planta o parte de la planta (independientemente de la calidad de sus hojas) es atacada por herbívoros. Por ejemplo, si en un pastizal cada mata de una gramínea es pastoreada en promedio cada 3 meses, en dicho pastizal la LF efectiva máxima será de 3 meses independientemente de la LF potencial que confiera el AFE de esa hoja, de allí la meseta y el “techo” representados en la

Figura 6.1c. Las plantas con valores de AFE que caigan dentro de dicha meseta tendrán una aptitud menor que el resto en ese sistema, porque producirán hojas más costosas en carbono sin poder compensar esta inversión con una mayor LF. En esta situación se puede considerar que el EEF es también un gradiente de tolerancia a la herbivoría, donde hojas con mayor AFE (y por lo tanto menor LF potencial) tienen mayor capacidad relativa de compensar la pérdida causada por herbivoría. Por lo tanto, se puede pensar el EEF, de manera paralela a su sentido original, como un gradiente de resistencia a la herbivoría que va desde la estrategia de defensa (en el extremo más conservador) hasta la estrategia de tolerancia (en el extremo más adquisitivo).

Las situaciones planteadas en las Figuras 6.1b y c son extremos teóricos. Sin embargo, si se analiza un sector acotado del EEF, donde los herbívoros no puedan discriminar la calidad de las hojas, por ejemplo ungulados consumiendo ejemplares de una misma especie vegetal (como en el sistema de estudio abordado por esta tesis) se estará ante una situación cercana a la planteada en la Figura 6.1c. En ambos casos (b y c) la herbivoría disminuye la LF efectiva de la lámina foliar y por lo tanto genera descensos en el paisaje adaptativo, pero, según sea la situación, algunas combinaciones de caracteres verán particularmente más disminuidas su posición en el paisaje adaptativo.

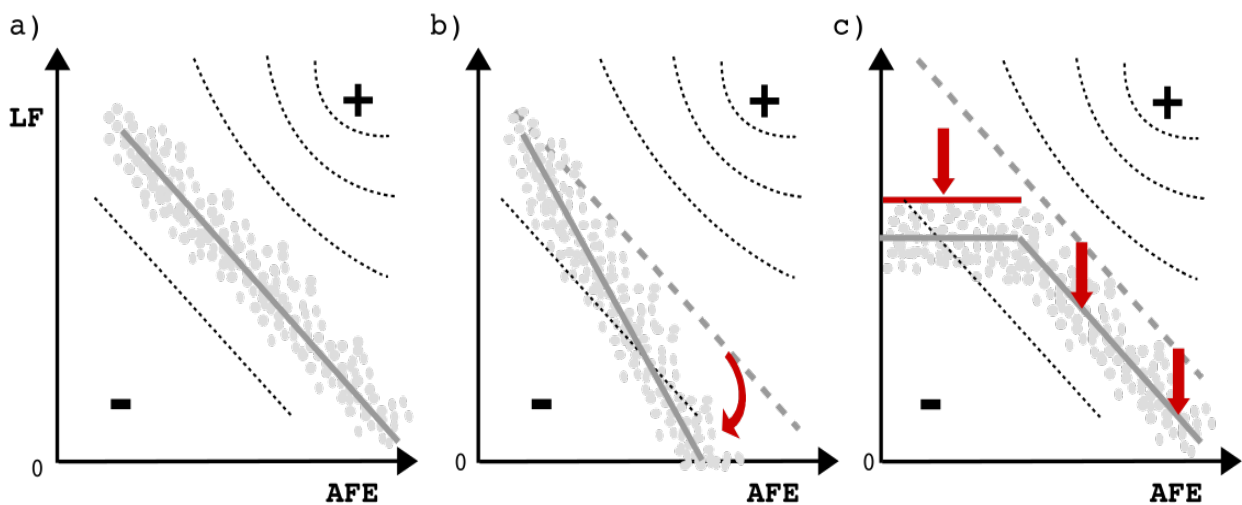


Figura 6.1. Tendencias evolutivas del espectro económico foliar (EEF). **a:** Paisaje adaptativo y EEF en una situación sin herbivoría. **b:** Efecto de herbivoría selectiva. **c:** Efecto de herbivoría generalista. En los tres paneles se esquematiza la relación entre área foliar específica (AFE) y longevidad foliar (LF). Los puntos grises representan plantas (individuos) diferentes, que pueden ser de la misma especie o no. Las líneas finas punteadas representan la topografía del paisaje adaptativo. La línea continua gris representa el EEF observado (=efectivo) en cada situación. La línea punteada gris, en los paneles **b** y **c**, representa la posición del EEF en una situación de menor presión de herbivoría que la línea continua. Las flechas y líneas rojas en los paneles **b** y **c** representan el efecto de la herbivoría en cada caso.

Estos procesos podrían conducir a evolución por selección natural de las poblaciones en función del tipo de herbivoría a la que estén sometidas, pero también podría suceder que, a pesar de existir una selección fenotípica, la evolución se viera prevenida por cambios plásticos adaptativos en respuesta al

disturbio (Price et al. 2003; Ghalambor et al. 2007). Si hubiera una plasticidad adaptativa en los diferentes caracteres cabría esperar que en los ejemplares establecidos en el campo con historia de herbivoría severa respondieran menos a tratamientos de corte que los con historia de herbivoría leve. Esto es porque los ejemplares con historia de herbivoría severa están sometidos a un régimen de disturbio superior al de los de historia de herbivoría leve, lo que haría que los primeros ya estén expresando su plasticidad cerca de su límite máximo, mientras que los otros tendrían más margen de cambio plástico. Esto, asumiendo que no hay diferencias de plasticidad entre poblaciones desarrolladas bajo diferentes historias de herbivoría. De hecho se han encontrado efectos plásticos en la tasa de crecimiento ante diferentes escenarios de herbivoría (Hjálten et al. 1993; Mabry & Wayne 1997; Hawkes & Sullivan 2001), por lo que el estudio de la plasticidad de los caracteres que son objeto de este estudio (no sólo los del EEF sino también los de resistencia a la herbivoría) se vuelve relevante para comprender el efecto de este disturbio sobre las poblaciones naturales.

Desde el punto de vista de las estrategias de resistencia a la herbivoría, resulta evidente la ventaja adaptativa que aporta la **tolerancia**, ya que es la norma de reacción del fitness en un gradiente de daño. Sin embargo, en el caso de las **defensas**, en tanto rasgos, no siempre se corrobora su efectividad o que la prevención de pérdida de biomasa reporte una ventaja adaptativa. Los rasgos de defensa son muy variados; pueden implicar caracteres mecánicos (espinas, mayor dureza de los tejidos, etc), químicos (taninos, alcaloides, etc), arquitecturales, entre otros. Toda esta gama de caracteres defensivos se clasifican, según diferentes criterios, en constitutivos (si están presentes en la planta de manera permanente) o inducibles (si responden a estímulos causados por herbivoría), cuantitativos (si su eficiencia depende de la cantidad invertida en esa defensa en particular, por ejemplo taninos) o cualitativos (si su sola presencia es suficiente para repeler a un herbívoro, típicamente defensas químicas como alcaloides), mecánicos o químicos (Herms & Mattson 1992). A su vez las **defensas mecánicas** son todos los rasgos morfológicos o anatómicos que confieren una ventaja adaptativa a la planta reduciendo el consumo que los herbívoros hacen de ella (Hanley et al. 2007). En este estudio se pone atención en las espinas, cuya efectividad como defensa contra ungulados ramoneadores ha sido demostrada en otros sistemas (Gordon 2003; Charles-Dominique et al. 2016). Si bien aparecen como defensas mecánicas constitutivas y, una vez formada una espina sus componentes no pueden ser reasignados por la planta, estudios previos han demostrado que su expresión puede inducirse o relajarse en función de la presencia de daño por herbívoros (Milewski et al. 1991; Young & Okello 1998; Gadd et al. 2001; Gómez & Zamora 2002) y que presentan un costo que compromete la aptitud (Gómez & Zamora 2002). Todos estos aspectos fueron evaluados experimentalmente en individuos creciendo en condiciones de campo y de jardín común, para determinar si este rasgo está siendo seleccionado por la herbivoría de ungulados domésticos.

Los mecanismos que subyacen a la tolerancia no están bien comprendidos pero se propone que, además de cambios en la tasa fotosintética, también participaría la redistribución de recursos dentro de la planta (Oosterheld & McNaughton 1988; Dyer et al. 1991; Stoweet al. 2000). Este mecanismo podría conferir mayor tolerancia ante la pérdida de biomasa tanto por herbivoría como por fuego. Por ello se espera que ambas tolerancias estén relacionadas positivamente y que los herbívoros promuevan la selección de ambas, una de manera directa, la otro como adaptación secundaria (o exaptación) (Gould & Vrba 1982).

6.2 - Objetivos

6.2.1 - Objetivo general:

OG2: Determinar si la herbivoría sostenida en el tiempo se asocia a cambios, a nivel intra-específico, de la estrategia de uso de recursos, tolerancia al fuego y resistencia a la herbivoría en dos grupos taxonómicos diversos y abundantes en el área (fabáceas leñosas y poáceas C4).

6.2.2 - Objetivos específicos:

OE2.1: Determinar si la historia de herbivoría por ungulados domésticos se asocia con diferencias intra-específicas en la estrategia de uso de recursos (indicada por caracteres funcionales) en especies dominantes de los géneros *Acacia* y *Prosopis*, y en poáceas C4 creciendo en condiciones de campo.

OE2.2: Determinar si la historia de herbivoría por ungulados domésticos se asocia a diferencias intra-específicas en el desarrollo de espinas, en las especies leñosas estudiadas, creciendo en condiciones de campo.

OE2.3: Determinar si la historia de herbivoría por ungulados domésticos constituye una presión de selección para los caracteres de interés de este trabajo. Esto es, si se encuentran diferencias asociadas a la historia de herbivoría en los descendientes cultivados desde semillas en jardín común, a nivel de:

- a) Estrategia de uso de recursos, indicada por caracteres funcionales foliares.
- b) Asignación de carbono a defensas mecánicas, en particular espinas.
- c) Plasticidad de los caracteres caracteres funcionales foliares ante tratamientos de remoción de biomasa por corte.
- d) Plasticidad en defensas mecánicas ante tratamientos de remoción de biomasa por corte.

e) Tolerancia a la remoción de biomasa por corte.

OE2.4: Determinar si la historia de herbivoría por ungulados domésticos se asocia con diferencias intra-específicas en la respuesta de *Acacia*, *Prosopis* y poáceas C4 a aplicaciones experimentales controladas de corte en los individuos creciendo en el campo, midiéndose dicha respuesta a nivel de:

a) Estrategia de uso de recursos, indicada por caracteres funcionales foliares.

b) Asignación a defensas mecánicas, en particular espinas.

c) Tasa de crecimiento y supervivencia.

OE2.5: Determinar si la adaptación a la herbivoría en los descendientes, cultivados en jardín común, genera una adaptación secundaria de tolerancia al fuego. Esto es:

a) Determinar si la historia de herbivoría de los ejemplares que crecen en el campo (parentales) tiene efecto en la capacidad de supervivencia y rebrote de los descendientes ante un evento de quema.

b) Explorar las correlaciones entre la tolerancia al fuego y la tolerancia a la herbivoría simulada por corte.

6.3 - *Hipótesis y predicciones*

H3: La herbivoría por ungulados domésticos actúa como una presión de selección direccional que promueve el desplazamiento de caracteres funcionales de plantas hacia un síndrome más adquisitivo.

P3.1: La posición en el espectro económico foliar de los ejemplares que han crecido en el campo con historia de herbivoría severa será más adquisitiva, es decir, poseerán mayor área foliar específica (AFE), mayor contenido de N, menor relación C:N, menor fuerza tensil (FTF, FTR) y menor contenido de materia seca (CMS), que las que crecieron bajo historia de herbivoría leve.

P3.2: La posición en el espectro económico foliar de los descendientes (criados en jardín común) de las poblaciones con historia de herbivoría severa será más adquisitiva (involucrando las mismas variables que se mencionan en la predicción anterior), comparada con la de los descendientes de las poblaciones con historia de herbivoría leve.

H4: En fabáceas, la herbivoría actúa como una presión de selección direccional que promueve la inversión de recursos en defensas mecánicas (espinas).

P4.1: Los ejemplares que han crecido en el campo con historia de herbivoría severa tendrán espinas más desarrolladas.

P4.2: Los descendientes de las poblaciones con historia de herbivoría severa, cultivados en jardín común, tendrán una media basal (estado del carácter previo a los tratamientos experimentales) de tamaño y cobertura de espinas más elevada que los descendientes de poblaciones con historia de herbivoría leve.

H5: Las poblaciones con historia de herbivoría severa se encuentran más adaptadas y/o aclimatadas a la remoción de biomasa.

P5.1: Los individuos desarrollados en el campo con historia de herbivoría severa responderán menos y de forma más homogénea (en las variables del espectro económico foliar y defensas mecánicas) a herbivoría simulada *in situ*, que aquellos individuos de poblaciones con historia de herbivoría leve.

P5.2: En respuesta a los tratamientos experimentales de herbivoría simulada *in situ*, los atributos funcionales de los individuos con historia de herbivoría leve se acercarán a los atributos de los individuos con historia de herbivoría severa.

P5.3: Los residentes y descendientes de poblaciones con historia de herbivoría severa presentarán mayor tolerancia ante tratamientos de herbivoría simulada.

H6: La adaptación a la herbivoría resulta en tolerancia al fuego como adaptación secundaria.

P6.1: Los descendientes, cultivados en jardín común, de poblaciones con historia de herbivoría severa tendrán una mayor supervivencia y tasa de crecimiento ante la aplicación experimental de fuego..

P6.2: Las familias de descendientes, cultivados en jardín común, que presenten mayor tolerancia a la herbivoría simulada por corte, tendrán una mayor aptitud (=“fitness”; expresado como tasa de crecimiento y supervivencia) ante la aplicación experimental de fuego.

7 - Efectos evolutivos de la herbivoría de ungulados domésticos sobre el espectro económico foliar

7.1 - Objetivos

OE2.1: Determinar si la historia de herbivoría por ungulados domésticos se asocia con diferencias intra-específicas en la estrategia de uso de recursos (indicada por caracteres funcionales) en especies dominantes de los géneros *Acacia* y *Prosopis*, y en poáceas C4 creciendo en condiciones de campo.

OE2.3a: Determinar si la historia de herbivoría por ungulados domésticos constituye una presión de selección para la estrategia de uso de recursos, indicada por caracteres funcionales foliares (en individuos descendientes cultivados en jardín común).

7.2 - Hipótesis y predicciones

H3: La herbivoría por ungulados domésticos actúa como una presión de selección direccional que promueve el desplazamiento de caracteres funcionales de plantas hacia un síndrome más adquisitivo.

P3.1: La posición en el espectro económico foliar de los individuos que han crecido en el campo con historia de herbivoría severa será más adquisitiva, es decir, poseerán mayor área foliar específica (AFE), mayor contenido de N, menor relación C:N, menor fuerza tensil (FTF, FTR) y menor contenido de materia seca (CMS), que los que crecieron bajo historia de herbivoría leve.

P3.2: La posición en el espectro económico foliar de los descendientes (criados en jardín común) de las poblaciones con historia de herbivoría severa será más adquisitiva (involucrando las mismas variables que se mencionan en la predicción anterior), comparada con la de los descendientes de las poblaciones con historia de herbivoría leve.

7.3 - Metodología específica

Los datos presentados en esta sección corresponden a la medición de los caracteres foliares de los ejemplares residentes según lo detallado en Materiales y Métodos Generales, bajo el título “Determinación de caracteres en las poblaciones residentes” y al estado de los caracteres foliares al comienzo del experimento con descendientes (t=0). Asimismo se analizó el estado de los caracteres foliares al comienzo del experimento de corte con las gramíneas residentes (t=1).

7.3.1 - Análisis de datos de las especies gramíneas

Los caracteres foliares analizados en esta sección como variables dependientes fueron AFE, CMS, FTF, N_m y relación C:N, éstas últimas sólo en ejemplares residentes de *N. lophostachya* y *T. pluriflora*. También se analizó el EEF intra-específico calculado para cada especie. Para estimar el efecto de la historia de herbivoría sobre el estado de los caracteres foliares se aplicaron, en todos los casos, modelos lineales mixtos utilizando la función “*lme*” del paquete “*nlme*” (Pinheiro et al. 2017) en el entorno R (R Core Team 2017). En el análisis de las gramíneas residentes en $t=0$ se incorporó como factores de efecto aleatorio, la procedencia de las plantas (*sitio.año*), el evento de extracción del correspondiente año (*dC.año*) y el año (2013; 2014) de manera anidada, esto es “*random=~1|año/dC.año/sitio.año*” de acuerdo a la nomenclatura de la función “*lme*”. Como factores de efecto fijo se incorporaron las variables especie (*spp*), historia de herbivoría de los sitios (*histo*) y tiempo transcurrido (*t*) entre la extracción del individuo y el procesamiento de la muestra foliar, con todas las interacciones entre estas tres variables predictoras (“*~spp*t*histo*” de acuerdo a la nomenclatura de la función “*lme*”). En todos los casos se implementaron procedimientos de selección de modelos (backward y forward) para elegir el mejor modelo según el criterio de información de Akaike (AIC). Cuando los dos procedimientos no convergieron a una solución única, se completó el procedimiento de manera manual hasta probar todos los modelos posibles intermedios y seleccionar el mejor. El proceso de selección mediante AIC indicó que no se podía simplificar el modelo eliminando interacciones o factores. Para el análisis de N_m y C:N fue necesario incorporar el año de muestreo como factor de efecto fijo para dar cuenta de una interacción que, de no tenerse en cuenta, producía una violación de los supuestos. Para la variable N_m , la estructura de factores de efecto fijo seleccionada mediante AIC fue “*~spp*t+spp*año+histo*”. Para la variable C:N la estructura de factores de efecto fijo seleccionada fue “*~spp*t+spp*año+spp*histo+histo*t*”. La estructura de factores de efecto aleatorio en ambos casos fue “*random=~1|dC.año/sitio.año*”. El tamaño muestral planificado para cada especie fue de 120 ejemplares correspondientes a 40 sitios (20 sitios por cada historia de herbivoría) pero el tamaño efectivo varió según la supervivencia. Las cantidades exactas para cada variable se informan en los resultados.

Para el conjunto de datos de gramíneas residentes al comienzo del experimento de corte ($t=1$), esto es luego de haber estado uno o dos años en condiciones de jardín común, se usó la misma estructura para los factores de efecto aleatorio del modelo que la descripta anteriormente. Previamente se comparó esta estructura con una más sencilla, que sólo da cuenta de la procedencia de las plantas por especie (*sitio.spp*), para contemplar posibles relaciones de parentesco entre las plantas de la misma procedencia, y se encontró que la estructura más compleja da mejores resultados usando el criterio AIC, motivo por el cual se mantuvo la estructura de efectos aleatorios usada en $t=0$. La especie, la historia de herbivoría del sitio de procedencia, y la interacción entre ambos se incluyeron como factores de efecto fijo. El tamaño

muestral planificado para cada especie fue de 120 ejemplares correspondientes a 40 sitios (20 sitios por cada historia de herbivoría) pero el tamaño efectivo varió según la supervivencia. Las cantidades exactas para cada variable se informan en los resultados.

Para el conjunto de datos de las gramíneas descendientes previo al tratamiento de corte ($t=0$), se incorporó el sitio de procedencia de las semillas por especie como factor de efecto aleatorio en el modelo. Como factores de efecto fijo se incorporaron la especie, la historia de herbivoría en el sitio de procedencia de las semillas, y la interacción entre ambos. Además se evaluó el efecto de la autocorrelación espacial (ya que los plantines no fueron movidos durante el desarrollo del experimento), y se incorporó esta correlación sólo en los casos donde mejorase el modelo según AIC. Para las especies *N. lophostachya* y *T. pluriflora* se planificó usar 160 ejemplares (cuatro ejemplares por sitio) correspondientes a 40 sitios (20 sitios por cada historia de herbivoría), mientras que para el resto de las especies la cantidad de ejemplares planificada fue 120 (tres ejemplares por sitio). Sin embargo las cantidades exactas, que se informan en los resultados, variaron según el éxito de las germinaciones.

Para los tres conjuntos de datos, además de analizar el efecto de la historia de herbivoría sobre los caracteres individuales se analizó su efecto sobre la posición en el eje del EEF. Para esto se calculó la posición de cada individuo en el EEF intra-específico. A partir de los resultados del análisis de componentes principales comunes reportado en la Sección 4, mediante la estandarización de las variables foliares (AFE, CMS, $\log_{10}(\text{FTF})$) y la combinación lineal de las mismas según las componentes del autovector principal, para cada especie, se obtuvo la posición de cada muestra foliar en el EEF de su especie. Esta variable, así construida para cada conjunto de datos (residentes $t=0$, residentes $t=1$, descendientes $t=0$), fue analizada de la misma manera que los caracteres que conforman dicho espectro.

En todos los casos se probaron los supuestos de normalidad y homocedasticidad de los residuos. Se modeló la varianza cuando fue necesario para contemplar desviaciones de dichos supuestos. Sólo se aplicaron transformaciones logarítmicas (\log_{10}) de las variables respuesta cuando fue necesario para lograr una distribución normal de los residuos. Dicha transformación sólo fue necesaria para la variable FTF (en los tres conjuntos de datos) y para AFE en las gramíneas residentes en $t=1$. Los estadísticos descriptivos reportados en las diferentes tablas (media y error estándar de la media) y el nivel de significancia corresponden a lo estimado a partir de los modelos estadísticos seleccionados. Cuando a partir de un modelo ajustado fue necesario hacer contrastes *a posteriori*, para establecer la significancia de diferencias entre determinados grupos, los p-valores fueron corregidos mediante el método de Hommel (1988).

Además se analizó el efecto de la historia de herbivoría sobre las relaciones entre los caracteres del EEF. Para esto se realizó el análisis de componentes principales comunes (CPCA) comparando los

conjuntos de individuos procedentes de las diferentes historias de herbivoría para cada especie (Fruly 1984). Este análisis se llevó a cabo para los tres conjuntos de datos. Cuando el análisis arrojó que las matrices de correlación no compartían la primera componente principal entre historias de herbivoría, se hicieron análisis bivariados (SMA) para indagar en más detalles tales diferencias (Warton et al. 2006).

7.3.2 - Análisis de datos de las especies leñosas

Los caracteres foliares analizados en esta sección como variables dependientes fueron AFE, CMS, FTR, FTbR, N_m y relación C:N, las últimas dos sólo en ejemplares residentes de *P. flexuosa* y *P. torquata*. Para conocer el efecto de la historia de herbivoría sobre el estado de los caracteres foliares en las especies leñosas se aplicaron, en todos los casos, modelos lineales mixtos utilizando la función “*lme*” del paquete “*nlme*” (Pinheiro et al. 2017) en el entorno R (R Core Team 2017). En el análisis de los ejemplares de leñosas residentes en $t=0$ se incorporó el ejemplar del cual provienen las muestras como factor de efecto aleatorio, ya que se tomaron muestras en dos posiciones de cada ejemplar. Como factores de efecto fijo del modelo se incorporaron las variables especie (*spp*), historia de herbivoría de los sitios (*histo*) y posición (*pos*), con todas las interacciones entre estas tres variables predictoras (“ $\sim spp*histo*pos$ ” de acuerdo a la nomenclatura de la función “*lme*”). En todos los casos se implementaron procedimientos de selección de modelos (backward y forward) para elegir el mejor modelo según el criterio AIC. Cuando los dos procedimientos no convergieron a una solución única, se completó el procedimiento de manera manual hasta probar todos los modelos posibles intermedios y seleccionar el mejor. El modelo seleccionado en cada caso se informa en las tablas correspondientes, donde se presentan los resultados. El tamaño muestral planificado para cada especie fue de 80 muestras correspondientes a 40 ejemplares (20 de cada historia de herbivoría) pero el tamaño efectivo varió levemente según el éxito en la búsqueda y selección de los ejemplares. Las cantidades exactas para cada variable se informan en los resultados.

Para el conjunto de datos de las leñosas descendientes previo al tratamiento de corte ($t=0$), se incorporó la planta madre de la cual provenían las semillas como factor de efecto aleatorio en el modelo. Por ello el factor de efecto aleatorio representa la familia genética. Como factores de efecto fijo se incorporaron la especie, la historia de herbivoría en la localización de la planta madre y la interacción entre ambos. Luego se procedió a la selección de modelos siguiendo el mismo procedimiento. El tamaño muestral planificado para cada especie fue de 160 ejemplares correspondientes a 40 plantas madre (20 de cada historia de herbivoría) pero el tamaño efectivo varió según el éxito de las germinaciones. Las cantidades exactas para cada variable se informan en los resultados.

En todos los casos se probaron los supuestos de normalidad y homocedasticidad de los residuos. Se modeló la varianza cuando fue necesario para contemplar desviaciones de dichos supuestos. Sólo se

aplicaron transformaciones logarítmicas (\log_{10}) de las variables respuesta cuando fue necesario para lograr una distribución normal de los residuos. Se explicita en los resultados, con el modelo seleccionado, cuando se utilizó esta transformación. Los estadísticos descriptivos reportados en las diferentes tablas (media y error estándar de la media) y el nivel de significancia corresponden a lo estimado a partir de los modelos estadísticos seleccionados. Cuando, a partir de un modelo ajustado fue necesario hacer contrastes *a posteriori*, para establecer la significancia de diferencias entre determinados grupos, los p-valores fueron corregidos mediante el método de Hommel (1988).

Además se analizó el efecto de la historia de herbivoría sobre las relaciones entre los caracteres AF, AFE, CMS y FTR. Para esto se realizó el análisis de componentes principales comunes (CPCA) comparando los conjuntos de individuos procedentes de las diferentes historias de herbivoría para cada especie (Fruly 1984). Este análisis se llevó a cabo para los residentes y descendientes en $t=0$. En el caso de las leñosas los caracteres foliares que informan sobre la calidad química de la lámina (N_m y la relación C:N) sólo están disponibles para los ejemplares residentes de *Prosopis* en $t=0$. Por ello, al analizar las relaciones entre estos caracteres foliares se abordaron directamente las comparaciones de a pares de caracteres. De esta manera se cuenta con la comparación, entre historias de herbivoría, de la relación entre AFE y CMS para las cuatro especies, en los dos conjuntos de datos (residentes $t=0$ y descendientes $t=0$). Adicionalmente se cuenta con la comparación, entre historias de herbivoría, de la relación entre N_m y C:N con AFE y con CMS para las residentes en $t=0$ de las dos especies de *Prosopis*. En las especies leñosas resultó de interés analizar la fuerza tensil bruta de los raquis (sin relativizar por la sección de los mismos - FTbR -), por lo que se describen los resultados de esta variable conjuntamente con los resultados de FTR.

7.4 - Resultados

7.4.1 - Gramíneas

Antes de abordar las diferencias intra-específicas cabe remarcar algunas diferencias generales entre los conjuntos de datos. En las gramíneas residentes, en general, se observó un aumento de AFE (Tabla 7.1) y una disminución de la FTF en las gramíneas residentes en $t=1$ respecto a los mismos ejemplares en $t=0$ (Tabla 7.3). En los descendientes se encontraron valores similares de AFE y CMS que en los residentes (Tablas 7.1 y 7.2), pero se encontraron valores mayores de FTF para todas las especies (Tabla 7.3).

En todas las especies de gramíneas residentes, en $t=0$, se observó que al menos un carácter se diferencia significativamente entre historias de herbivoría. En todos los casos esas diferencias son consistentes con un síndrome más adquisitivo en los ejemplares que crecieron bajo historia de herbivoría

severa que en aquellos que crecieron bajo historia de herbivoría leve (Tablas 7.1, 7.2, 7.3). El carácter menos variable entre historias de herbivoría fue el CMS (Tabla 7.2), mientras que la FTF varió en la mayoría de las especies (Tabla 7.3). Las gramíneas residentes, provenientes de diferentes historias de herbivoría, fueron mucho más homogéneas en t=1 (luego de un año o dos en jardín común) que en t=0. Sólo algunas diferencias se mantuvieron y una diferencia nueva apareció: en *T. crinita*, en t=1 los residentes de historia de herbivoría severa presentan mayor AFE que los residentes de historia de herbivoría leve. Las pocas diferencias que se encontraron en estas condiciones fueron en el mismo sentido que las observadas en t=0. La historia de herbivoría también se asoció con diferencias intra-específicas en el contenido de nitrógeno (N_m) y en la relación C:N (Tabla 7.4). Estas diferencias fueron en el mismo sentido que el del resto de caracteres, consistentes con un síndrome más adquisitivo en historia de herbivoría severa. En los descendientes se encontraron menos diferencias en función de la historia de herbivoría que en residentes en t=0, pero más que en residentes t=1. Las diferencias, cuando presentes, fueron en el mismo sentido que en los casos anteriores (Tablas 7.1; 7.2 y 7.3).

Tabla 7.1. Área foliar específica (AFE – $mm^2 \cdot mg^{-1}$), media y error estándar en función de la historia de herbivoría, para cada especie en el campo (residentes t=0), en las plantas mantenidas en jardín común (residentes t=1) y en plantas descendientes, cultivadas y mantenidas en jardín común (descendientes t=0). Historia de herbivoría leve (H=l), historia de herbivoría severa (H=s). En negrita aquellas medias que se diferencian, entre historias de herbivoría, con un nivel de significancia de 0,05 y en itálica las que tienen un p-valor entre 0,1 y 0,05. En subíndice, al lado de cada estimación se indica el número de ejemplares y sitios correspondientes.

Especie	Residentes t=0		Residentes t=1	
	H=l	H=s	H=l	H=s
<i>A. mendocina</i>	16,48 (1,5) _{59;21}	21,77 (1,7) _{57; 21}	24,67 (1,6) _{29;17}	25,36 (1,6) _{35;21}
<i>G. paraguayensis</i>	30,28 (2,7) _{57;21}	34,98 (2,8) _{60; 21}	30,48 (1,9) _{51;21}	31,45 (2,0) _{56;21}
<i>N. lophosthachya</i>	18,62 (1,3) _{70;22}	21,37 (1,3) _{101;21}	26,36 (1,8) _{25;15}	25,79 (1,7) _{34;19}
<i>S. pyramidatus</i>	19,72 (1,8) _{51;19}	26,73 (1,4) _{77; 23}	24,79 (1,6) _{40;18}	26,83 (1,7) _{40;20}
<i>T. crinita</i>	19,85 (2,3) _{61;22}	18,90 (2,8) _{59; 21}	25,69 (1,6) _{52;21}	28,38 (1,8) _{55;21}
<i>T. pluriflora</i>	12,27 (1,8) _{48;20}	20,59 (1,9) _{53; 19}	26,15 (1,7) _{44;19}	27,98 (1,8) _{47;19}

Especie	Descendientes t=0	
	H=l	H=s
<i>A. mendocina</i>	19,77 (0,48) _{46;19}	22,46 (0,49) _{47;17}
<i>G. paraguayensis</i>	31,48 (0,66) _{57;20}	29,83 (0,94) _{27;11}
<i>N. lophosthachya</i>	19,52 (0,45) _{66;18}	20,72 (0,43) _{70;19}
<i>S. pyramidatus</i>	19,70 (0,53) _{52;18}	22,38 (0,51) _{51;20}
<i>T. crinita</i>	24,39 (0,53) _{55;19}	23,60 (0,54) _{53;19}
<i>T. pluriflora</i>	23,72 (0,44) _{80;20}	23,92 (0,47) _{66;18}

Tabla 7.2. Contenido de materia seca (CMS – proporción), media y error estándar en función de la historia de herbivoría, para cada especie en el campo (residentes t=0), en las plantas mantenidas en jardín común (residentes t=1) y en plantas descendientes, cultivadas y mantenidas en jardín común (descendientes t=0). Historia de herbivoría leve (H=l), historia de herbivoría severa (H=s). En negrita aquellas medias que se diferencian, entre historias de herbivoría, con un nivel de significancia de 0,05 y en *itálica* las que tienen un p-valor entre 0,1 y 0,05. En subíndice, al lado de cada estimación se indica el número de ejemplares y sitios correspondientes.

Especie	Residentes t=0		Residentes t=1	
	H=l	H=s	H=l	H=s
<i>A. mendocina</i>	0,48 (0,021) _{59;21}	0,44 (0,023) _{57;21}	0,37 (0,015) _{32;17}	0,37 (0,015) _{37;21}
<i>G. paraguayensis</i>	0,39 (0,028) _{57;21}	0,41 (0,028) _{60;21}	0,39 (0,014) _{58;21}	0,39 (0,014) _{58;21}
<i>N. lophosthachya</i>	0,44 (0,021) _{69;22}	0,37 (0,021) _{99;21}	0,41 (0,016) _{24;15}	0,40 (0,015) _{34;19}
<i>S. pyramidatus</i>	0,34 (0,024) _{52;19}	0,28 (0,019) _{77;23}	0,33 (0,015) _{40;18}	0,33 (0,015) _{40;20}
<i>T. crinita</i>	0,34 (0,028) _{61;22}	0,38 (0,032) _{60;21}	0,34 (0,015) _{52;21}	0,33 (0,014) _{55;21}
<i>T. pluriflora</i>	0,32 (0,026) _{50;20}	0,31 (0,026) _{53;19}	0,34 (0,014) _{44;19}	0,33 (0,014) _{46;19}

Especie	Descendientes t=0	
	H=l	H=s
<i>A. mendocina</i>	0,43 (0,0057) _{46;19}	0,39 (0,0058) _{47;17}
<i>G. paraguayensis</i>	0,40 (0,0053) _{57;20}	0,41 (0,0073) _{27;11}
<i>N. lophosthachya</i>	0,41 (0,0054) _{66;18}	0,40 (0,0052) _{70;19}
<i>S. pyramidatus</i>	0,36 (0,0056) _{52;18}	0,34 (0,0054) _{51;20}
<i>T. crinita</i>	0,36 (0,0054) _{55;19}	0,36 (0,0055) _{53;19}
<i>T. pluriflora</i>	0,40 (0,0050) _{80;20}	0,40 (0,0054) _{66;18}

Tabla 7.3. Fuerza tensil foliar (FTF – N·mm⁻¹), media y error estándar en función de la historia de herbivoría, para cada especie en el campo (residentes t=0), en las plantas mantenidas en jardín común (residentes t=1) y en plantas descendientes, cultivadas y mantenidas en jardín común (descendientes t=0). Historia de herbivoría leve (H=l), historia de herbivoría severa (H=s). En negrita aquellas medias que se diferencian, entre historias de herbivoría, con un nivel de significancia de 0,05 y en *itálica* las que tienen un p-valor entre 0,1 y 0,05. En subíndice, al lado de cada estimación se indica el número de ejemplares y sitios correspondientes.

Especie	Residentes t=0		Residentes t=1	
	H=l	H=s	H=l	H=s
<i>A. mendocina</i>	7,56 (1,03) _{61;21}	4,74 (0,63) _{64;21}	3,81 (0,26) _{33;17}	3,58 (0,24) _{37;21}
<i>G. paraguayensis</i>	4,06 (0,82) _{58;21}	2,19 (0,45) _{61;21}	1,66 (0,10) _{58;21}	1,78 (0,11) _{58;21}
<i>N. lophosthachya</i>	2,92 (0,36) _{71;22}	2,49 (0,30) _{105;21}	1,71 (0,12) _{24;15}	1,79 (0,12) _{34;19}
<i>S. pyramidatus</i>	3,76 (0,68) _{53;19}	1,20 (0,15) _{85;23}	1,29 (0,08) _{40;18}	1,01 (0,07) _{40;20}
<i>T. crinita</i>	1,66 (0,24) _{61;22}	1,15 (0,20) _{63;21}	1,10 (0,07) _{52;21}	1,00 (0,06) _{55;21}
<i>T. pluriflora</i>	3,65 (0,77) _{49;20}	1,66 (0,31) _{52;19}	0,92 (0,06) _{44;19}	0,91 (0,06) _{47;19}

Especie	Descendientes t=0	
	H=l	H=s
<i>A. mendocina</i>	13,51 (0,59) _{46;19}	11,93 (0,52) _{47;17}
<i>G. paraguayensis</i>	4,99 (0,19) _{57;20}	5,68 (0,31) _{27;11}
<i>N. lophosthachya</i>	8,29 (0,34) _{66;18}	7,71 (0,30) _{70;19}
<i>S. pyramidatus</i>	4,99 (0,23) _{52;18}	3,50 (0,16) _{51;20}
<i>T. crinita</i>	3,90 (0,15) _{55;19}	3,62 (0,14) _{53;19}
<i>T. pluriflora</i>	4,28 (0,14) _{80;20}	3,89 (0,14) _{66;18}

Tabla 7.4. Contenido de nitrógeno (N_m - %) y relación C:N, media y error estándar en función de la historia de herbivoría, para cada especie en el campo (residentes $t=0$). Historia de herbivoría leve ($H=l$), historia de herbivoría severa ($H=s$). En negrita aquellas medias que se diferencian, entre historias de herbivoría, con un nivel de significancia de 0,05 y en itálica las que tienen un p-valor entre 0,1 y 0,05. En subíndice, al lado de cada estimación se indica el número de ejemplares y sitios correspondientes.

Especie	N_m		C:N	
	H=l	H=s	H=l	H=s
<i>N. lophosthachya</i>	2,47 (0,12) _{53;21}	2,75 (0,12) _{57;21}	16,40 (1,17) _{53;21}	12,58 (1,13) _{57;21}
<i>T. pluriflora</i>	2,74 (0,46) _{48;20}	3,03 (0,45) _{49;19}	21,68 (3,14) _{48;20}	11,44 (2,64) _{49;19}

El análisis del EEF intra-específico mostró un patrón consistente con el análisis de los caracteres individuales, mayormente relacionado con las variaciones en AFE. En todos los casos donde se encontraron diferencias significativas estas implican una posición más adquisitiva asociada a la herbivoría severa. Consistentemente con lo anterior, se observó que los residentes tendieron a homogeneizarse en $t=1$ respecto de $t=0$, pero los descendientes de algunas especies presentaron diferencias en función de la historia de herbivoría de sus sitios de procedencia (Tabla 7.5).

Tabla 7.5. Espectro económico foliar (EEF), media y error estándar en función de la historia de herbivoría, para cada especie en el campo (residentes $t=0$), en las plantas mantenidas en jardín común (residentes $t=1$) y en plantas descendientes, cultivadas y mantenidas en jardín común (descendientes $t=0$). Historia de herbivoría leve ($H=l$), historia de herbivoría severa ($H=s$). En negrita aquellas medias que se diferencian, entre historias de herbivoría, con un nivel de significancia de 0,05 y en itálica las que tienen un p-valor entre 0,1 y 0,05. En subíndice, al lado de cada estimación se indica el número de ejemplares y sitios correspondientes.

Especie	Residentes $t=0$		Residentes $t=1$	
	H=l	H=s	H=l	H=s
<i>A. mendocina</i>	-2,19 (0,69) _{58;21}	0,09 (0,77) _{57;21}	-0,42 (0,54) _{28;17}	-0,32 (0,53) _{35;21}
<i>G. paraguayensis</i>	0,33 (1,20) _{56;21}	2,14 (1,23) _{60;21}	-0,45 (0,52) _{51;21}	-0,32 (0,52) _{56;21}
<i>N. lophosthachya</i>	-0,11 (0,64) _{68;21}	1,68 (0,66) _{94;21}	0,43 (0,55) _{24;15}	0,39 (0,53) _{34;19}
<i>S. pyramidatus</i>	-1,79 (0,81) _{51;19}	1,26 (0,66) _{76;23}	-0,25 (0,53) _{40;18}	0,68 (0,52) _{40;20}
<i>T. crinita</i>	1,00 (1,05) _{61;22}	0,46 (1,23) _{59;21}	-0,80 (0,52) _{52;21}	-0,12 (0,52) _{55;21}
<i>T. pluriflora</i>	-2,25 (0,90) _{47;20}	0,40 (0,91) _{51;19}	-0,27 (0,52) _{44;19}	0,10 (0,52) _{46;19}

Especie	Descendientes $t=0$	
	H=l	H=s
<i>A. mendocina</i>	-0,57 (0,24) _{46;19}	0,56 (0,25) _{47;17}
<i>G. paraguayensis</i>	0,19 (0,23) _{57;20}	-0,42 (0,32) _{27;11}
<i>N. lophosthachya</i>	-0,37 (0,23) _{66;18}	0,30 (0,22) _{70;19}
<i>S. pyramidatus</i>	-0,61 (0,24) _{52;18}	0,68 (0,23) _{51;20}
<i>T. crinita</i>	0,012 (0,23) _{55;19}	-0,0065 (0,23) _{53;19}
<i>T. pluriflora</i>	-0,16 (0,21) _{80;20}	0,22 (0,23) _{66;18}

Además de las diferencias de medias en caracteres individuales (tablas 7.1 a 7.4) y en el EEF intra-específico (Tabla 7.5) se encontró que la historia de herbivoría puede cambiar las relaciones entre los

caracteres funcionales foliares. La orientación de la componente principal, en términos cualitativos, fue la misma para todas las especies y para los conjuntos de individuos con diferente historia de herbivoría dentro de cada especie. Sin embargo, cuantitativamente se encontró que en las especies *N. lophostachya* y *T. pluriflora* las poblaciones con diferentes historias de herbivoría no comparten la misma componente principal (Figura 7.1). Al analizar las relaciones entre pares de variables de estas dos especies, se encontró que las diferencias en función de la historia de herbivoría son particulares de cada una (Tabla 7.6). Estas diferencias observadas para los residentes en $t=0$ desaparecen en $t=1$. En el caso de los descendientes sólo en una de las especies (*S. pyramidatus*) las diferencias entre las matrices de correlación fue tal que no comparten la componente principal (Figura 7.2). En los descendientes de *S. pyramidatus* las diferencias de relaciones entre variables, en función de la historia de herbivoría, resultaron similares a las de los residentes de *N. lophostachya* (Tabla 7.6).

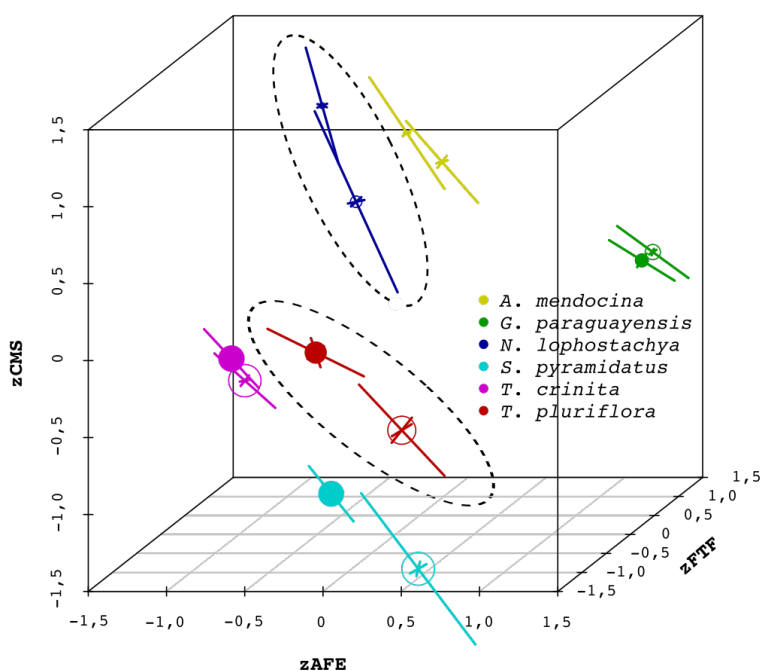


Figura 7.1. Representación gráfica del análisis de componentes principales comunes (CPCA) para gramíneas residentes en $t=0$. Símbolos abiertos: historia de herbivoría severa; símbolo cerrado: historia de herbivoría leve. Los símbolos señalan la posición (centroide) de cada grupo en el espacio tridimensional dado por las variables estandarizadas de área foliar específica ($zAFE$), contenido de materia seca ($zCMS$) y fuerza tensil foliar ($zFTF$); el tamaño de los símbolo está en relación a la posición del centroide en el eje $zFTF$ (mientras más grande, más cerca del observador, por lo tanto menor $zFTF$). Los segmentos que lo atraviesan representan los autovectores principales, de tal manera que su tamaño es indicativo de la varianza absorbida por cada vector. Los óvalos de líneas punteadas señalan las especies para las cuales se encontró que las matrices de correlación son diferentes entre historias de herbivoría, a tal punto que no comparten el eje principal.

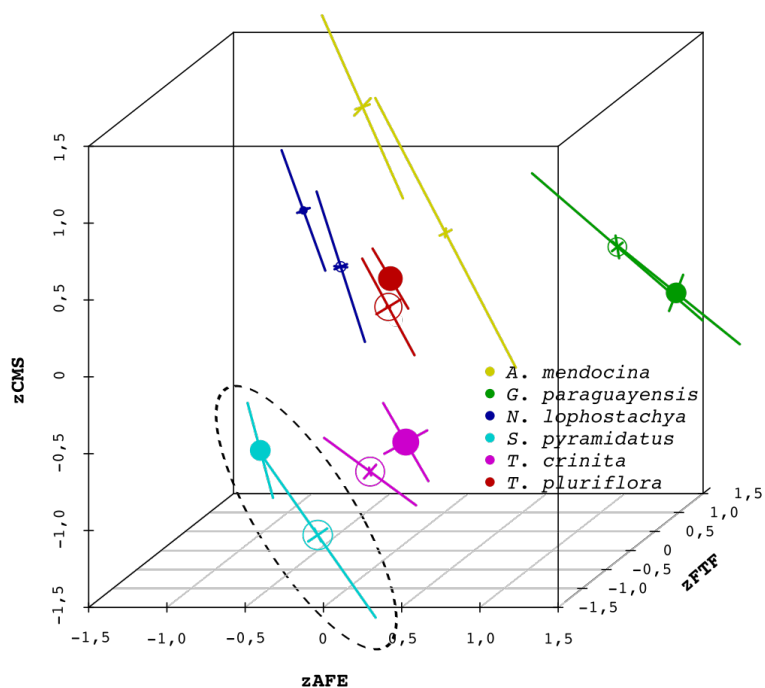


Figura 7.2. Representación gráfica del análisis de componentes principales comunes (CPCA) para gramíneas descendientes en $t=0$. Símbolos abiertos: historia de herbivoría severa; símbolos cerrados: historia de herbivoría leve. Los símbolos señalan la posición (centroide) de cada grupo en el espacio tridimensional dado por las variables estandarizadas de área foliar específica ($zAFE$), contenido de materia seca ($zCMS$) y fuerza tensil foliar ($zFTF$); el tamaño de los símbolo está en relación a la posición del centroide en el eje $zFTF$ (mientras más grande, más cerca del observador, por lo tanto menor $zFTF$). Los segmentos que lo atraviesan representan los autovectores principales, de tal manera que su tamaño es indicativo de la varianza absorbida por cada vector. Los óvalos de líneas punteadas señalan las especies para las cuales se encontró que las matrices de correlación son diferentes entre historias de herbivoría, a tal punto que no comparten el eje principal.

Tabla 7.6. Comparación de las pendientes que expresan la relación de los distintos pares de caracteres foliares entre sitios con herbivoría severa y sitios con herbivoría leve. Se muestran sólo las especies y grupos donde las matrices de correlación entre los caracteres no compartían la misma componente principal. $l>s$ significa que la pendiente del conjunto de individuos con historia de herbivoría leve presenta un valor de pendiente significativamente mayor que el conjunto de individuos con historia de herbivoría severa. Si la pendiente general para ese par de caracteres es negativa, significa que la pendiente en historia de herbivoría leve es menos pronunciada que la pendiente en historia de herbivoría severa.

	$y = AFE$	$=CMS$	$=FTF$	Especie	grupo
$x=CMS$	$l>s$			<i>N. lophostachya</i>	Residentes $t=0$
	$l<s$			<i>T. pluriflora</i>	Residentes $t=0$
	$l>s$			<i>S. pyramidatus</i>	Descendientes $t=0$
$=FTF$	$l>s$	$l=s$		<i>N. lophostachya</i>	Residentes $t=0$
	$l=s$	$l<s$		<i>T. pluriflora</i>	Residentes $t=0$
	$l>s$	$l=s$		<i>S. pyramidatus</i>	Descendientes $t=0$
$=N_m$	$l=s$	$l=s$	$l<s$	<i>N. lophostachya</i>	Residentes $t=0$
	$l=s$	$l=s$	$l=s$	<i>T. pluriflora</i>	Residentes $t=0$
$=C:N$	$l>s$	$l=s$	$l=s$	<i>N. lophostachya</i>	Residentes $t=0$
	$l>s$	$l>s$	$l=s$	<i>T. pluriflora</i>	Residentes $t=0$

7.4.2 - Leñosas

En los ejemplares residentes de leñosas se encontraron diferencias de AFE en función de la historia de herbivoría, pero en el sentido opuesto al encontrado en las gramíneas (menor AFE en historia de herbivoría severa). A su vez se registró una diferencia de AFE en función de la posición en el ejemplar, siendo mayor en la parte baja que en la parte alta. Entre los descendientes sólo se encontró una diferencia significativa para *P. flexuosa* y fue en el mismo sentido que los residentes. Los valores de AFE entre residentes y descendientes fueron similares, levemente mayores para los descendientes de todas las especies a excepción de *A. gilliesii*, para la cual los valores de los descendientes resultaron levemente menores que el de los residentes (Tabla 7.7).

Tabla 7.7. Área foliar específica (AFE – $\text{mm}^2\cdot\text{mg}^{-1}$), media y error estándar de las cuatro especies de leñosas para el conjunto de datos de residentes en $t=0$ y de descendientes en $t=0$. Historia de herbivoría severa ($H=s$); historia de herbivoría leve ($H=l$); posición alta ($>1,5\text{m}$; $P=a$) en las plantas residentes; posición baja ($<1,5\text{m}$; $P=b$) en las plantas residentes. El nivel de significancia para las comparaciones entre historias (H) y posiciones (P) se indican en las columnas bajo en título **sig** (ns: $p\text{-valor}>0,1$; \cdot : $p\text{-valor}<0,1$; *: $p\text{-valor}<0,05$; **: $p\text{-valor}<0,01$; ***: $p\text{-valor}<0,001$). Estructura de factores de efecto fijo para leñosas residentes en $t=0$: $\text{AFE} \sim \text{spp}*\text{pos}+\text{histo}$. Estructura de factores de efecto fijo para leñosas descendientes en $t=0$: $\log_{10}(\text{AFE}) \sim \text{spp}*\text{histo}$. En residentes se indica el número de ejemplares de cada historia de herbivoría incluidos en el análisis (n), en los descendientes se indica el número de ejemplares (ej.) y el número de familias genéticas (fam.).

Especie	Residentes $t=0$							sig	
	H=l			H=s			H		
	P=a	P=b	n	P=a	P=b	n			
<i>A. aroma</i>	13, 15 (0, 34)	14, 65 (0, 33)	22	12, 47 (0, 34)	13, 97 (0, 33)	21	**	***	
<i>A. gilliesii</i>	22, 61 (0, 49)	25, 40 (0, 48)	24	21, 93 (0, 50)	24, 73 (0, 49)	20	**	***	
<i>P. flexuosa</i>	11, 59 (0, 24)	12, 36 (0, 24)	24	10, 91 (0, 24)	11, 68 (0, 24)	25	**	***	
<i>P. torquata</i>	12, 22 (0, 25)	13, 59 (0, 25)	24	11, 55 (0, 27)	12, 91 (0, 27)	18	**	***	

Especie	Descendientes $t=0$				sig		
	H=l	ej. fam.		H=s			ej. fam.
<i>A. aroma</i>	19, 45 (0, 41)	61	16	20, 27 (0, 38)	79	20	ns
<i>A. gilliesii</i>	20, 20 (0, 51)	32	11	20, 64 (0, 41)	53	17	ns
<i>P. flexuosa</i>	14, 77 (0, 36)	80	20	13, 48 (0, 34)	77	20	*
<i>P. torquata</i>	16, 47 (0, 28)	65	18	15, 84 (0, 27)	64	17	ns

Las diferencias observadas en el CMS fueron similares a las encontradas para AFE. Si bien no se encontró una diferencia significativa entre historias de herbivoría para los residentes, se encontró que las hojas en posición baja, de todas las especies y en ambas historias de herbivoría, presentaron menor CMS que las en posición alta. En este caso se encontraron diferencias significativas en función de la historia de herbivoría para los descendientes de las cuatro especies, siendo mayor el CMS en los descendientes de historia de herbivoría severa (Tabla 7.8).

En el análisis de las cualidades químicas de la lámina (N_m y $C:N$) en función de la historia de herbivoría, sólo se encontraron diferencias significativas para *P. flexuosa*, dichas diferencias en sentido

opuesto a lo indicado por AFE y CMS para esta especie, es decir mayor contenido de nitrógeno en hojas de ejemplares con historia de herbivoría severa (Tabla 7.9). Además no se encontró un efecto de la posición (alta o baja) sobre estos caracteres.

Tabla 7.8. Contenido de materia seca (CMS – proporción), media y error estándar de las cuatro especies de leñosas para el conjunto de datos de residentes en t=0 y de descendientes en t=0. Historia de herbivoría severa (H=s); historia de herbivoría leve (H=l); posición alta (>1,5m; P=a) en las plantas residentes; posición baja (<1,5m; P=b) en las plantas residentes. El nivel de significancia para las comparaciones entre historias (H) y posiciones (P) se indican en las columnas bajo en título sig. (ns: p-valor>0,1; ∙: p-valor<0,1; *: p-valor<0,05; **: p-valor<0,01; ***: p-valor<0,001). Estructura de factores de efecto fijo para leñosas residentes en t=0: CMS ~ spp+pos+histo. Estructura de factores de efecto fijo para leñosas descendientes en t=0: CMS ~ spp+histo. En residentes se indica el número de ejemplares de cada historia de herbivoría incluidos en el análisis (n), en los descendientes se indica el número de ejemplares (ej.) y el número de familias genéticas (fam.).

Residentes t=0								
Especie	H=l			H=s			sig	
	P=a	P=b	n	P=a	P=b	n	H	P
<i>A. aroma</i>	0,456 (0,004)	0,453 (0,012)	22	0,460 (0,004)	0,457 (0,012)	21	ns	**
<i>A. gilliesii</i>	0,383 (0,004)	0,379 (0,012)	24	0,387 (0,004)	0,383 (0,012)	20	ns	**
<i>P. flexuosa</i>	0,390 (0,004)	0,387 (0,012)	24	0,394 (0,004)	0,391 (0,012)	25	ns	**
<i>P. torquata</i>	0,418 (0,004)	0,415 (0,012)	24	0,422 (0,004)	0,418 (0,012)	17	ns	**

Descendientes t=0									
Especie	H=l		ej. fam.		H=s		ej. fam.		sig
	H=l	ej. fam.	H=s	ej. fam.	H=s	ej. fam.			
<i>A. aroma</i>	0,430 (0,0054)	61 16	0,441 (0,0051)	79 20				*	
<i>A. gilliesii</i>	0,430 (0,0065)	32 11	0,441 (0,0060)	53 17				*	
<i>P. flexuosa</i>	0,379 (0,0050)	80 20	0,389 (0,0050)	77 20				*	
<i>P. torquata</i>	0,403 (0,0054)	65 18	0,414 (0,0054)	64 17				*	

Tabla 7.9. Contenido de nitrógeno foliar (N_m - %M/M) y relación C:N (M/M), media y error estándar de *P. flexuosa* y *P. torquata* para residentes en t=0. Historia de herbivoría severa (H=s); historia de herbivoría leve (H=l). El nivel de significancia para las comparaciones entre historias (H) se indican en las columnas bajo en título sig. (ns: p-valor>0,1; ∙: p-valor<0,1; *: p-valor<0,05; **: p-valor<0,01; ***: p-valor<0,001). Estructura de factores de efecto fijo para leñosas residentes en t=0: X ~ spp*histo. El número de ejemplares de cada historia de herbivoría incluidos en el análisis es el mismo indicado en la tabla 7.8.

Especie	N_m			C:N		
	H=l	H=s	sig	H=l	H=s	sig
<i>P. flexuosa</i>	4,05 (0,057)	4,34 (0,055)	**	11,81 (0,19)	10,98 (0,17)	**
<i>P. torquata</i>	2,79 (0,057)	2,89 (0,067)	ns	14,06 (0,24)	13,95 (0,26)	ns

Los resultados de AF apuntan en el mismo sentido que AFE: hubo una tendencia a menor AF en historia de herbivoría severa para los residentes y una diferencia significativa, en el mismo sentido, para los descendientes, de todas las especies. Además hubo una diferencia significativa entre la parte alta y baja de los ejemplares residentes de *A. gilliesii* y *P. torquata*, siendo mayor el AF en la parte baja (Tabla 7.10).

Tabla 7.10. Área foliar (AF – mm²), media y error estándar de las cuatro especies de leñosas para el conjunto de datos de residentes en t=0 y de descendientes en t=0. Historia de herbivoría severa (H=s); historia de herbivoría leve (H=l); posición alta (>1,5m; P=a) en las plantas residentes; posición baja (<1,5m; P=b) en las plantas residentes. El nivel de significancia para las comparaciones entre historias (H) y posiciones (P) se indican en las columnas bajo en título sig. (ns: p-valor>0,1; ∴ p-valor<0,1; *: p-valor<0,05; **: p-valor<0,01; ***: p-valor<0,001). Estructura de factores de efecto fijo para leñosas residentes en t=0: log₁₀(AF) ~ spp*pos+histo. Estructura de factores de efecto fijo para leñosas descendientes en t=0: log₁₀(AF) ~ spp+histo. En residentes se indica el número de ejemplares de cada historia de herbivoría incluidos en el análisis (n), en los descendientes se indica el número de ejemplares (ej.) y el número de familias genéticas (fam.).

Residentes t=0								
Especie	H=l			H=s			sig	
	P=a	P=b	n	P=a	P=b	n	H	P
<i>A. aroma</i>	884,3 (49,4)	858,7 (47,7)	22	809,5 (46,9)	786,0 (45,5)	21	.	ns
<i>A. gilliesii</i>	418,1 (22,8)	448,2 (24,2)	24	382,7 (21,6)	410,2 (22,9)	20	.	.
<i>P. flexuosa</i>	511,5 (26,1)	527,3 (26,9)	24	468,2 (23,6)	482,6 (24,3)	25	.	ns
<i>P. torquata</i>	181,9 (11,0)	200,3 (11,8)	24	166,5 (10,6)	183,3 (11,5)	18	.	ns

Descendientes t=0					
Especie	H=l		H=s		sig
	ej.	fam.	ej.	fam.	
<i>A. aroma</i>	533,05 (23,16)	61 16	493,29 (20,44)	79 20	*
<i>A. gilliesii</i>	114,79 (6,43)	32 11	106,23 (5,62)	53 17	*
<i>P. flexuosa</i>	356,36 (14,06)	80 20	329,79 (13,10)	77 20	*
<i>P. torquata</i>	226,95 (8,33)	65 18	210,03 (7,77)	64 17	*

Tabla 7.11. Fuerza tensil del raquis (FTR – N·mm⁻²), media y error estándar de las cuatro especies de leñosas para el conjunto de datos de residentes en t=0 y de descendientes en t=0. Historia de herbivoría severa (H=s); historia de herbivoría leve (H=l); posición alta (>1,5m; P=a) en las plantas residentes; posición baja (<1,5m; P=b) en las plantas residentes. El nivel de significancia para las comparaciones entre historias (H) y posiciones (P) se indican en las columnas bajo en título sig. (ns: p-valor>0,1; ∴ p-valor<0,1; *: p-valor<0,05; **: p-valor<0,01; ***: p-valor<0,001). Estructura de factores de efecto fijo para leñosas residentes en t=0: log₁₀(FTR) ~ spp+pos+histo. Estructura de factores de efecto fijo para leñosas descendientes en t=0: log₁₀(FTR) ~ spp+histo. En residentes se indica el número de ejemplares de cada historia de herbivoría incluidos en el análisis (n), en los descendientes se indica el número de ejemplares (ej.) y el número de familias genéticas (fam.).

Residentes t=0								
Especie	H=l			H=s			sig	
	P=a	P=b	n	P=a	P=b	n	H	P
<i>A. aroma</i>	28,38 (1,01)	28,94 (1,03)	22	25,49 (0,90)	26,00 (0,92)	21	**	*
<i>A. gilliesii</i>	39,83 (1,38)	40,62 (1,40)	24	35,78 (1,32)	36,49 (1,34)	20	**	*
<i>P. flexuosa</i>	36,42 (1,21)	37,14 (1,23)	24	32,71 (1,05)	33,36 (1,07)	25	**	*
<i>P. torquata</i>	48,79 (1,58)	49,76 (1,61)	24	43,83 (1,51)	44,70 (1,54)	18	**	*

Descendientes t=0					
Especie	H=l		H=s		sig
	ej.	fam.	ej.	fam.	
<i>A. aroma</i>	31,12 (1,01)	61 16	30,33 (0,87)	79 20	ns
<i>A. gilliesii</i>	38,26 (2,05)	32 11	40,45 (1,69)	53 17	ns
<i>P. flexuosa</i>	43,62 (1,18)	80 20	46,55 (1,29)	77 20	ns
<i>P. torquata</i>	48,73 (1,37)	65 18	44,13 (1,26)	64 17	.

En cuanto a la FTR, se encontraron diferencias significativas tanto en función de la historia de herbivoría de los residentes como entre posición alta y baja de cada ejemplar. Siendo los raquis de la parte baja más duros que los de la parte alta y los de historia de herbivoría leve más duros que los de historia de herbivoría severa (Tabla 7.11). En los descendientes, sólo se encontró diferencias significativas en *P. torquata*, en función de la historia de herbivoría de los parentales, y fue en el mismo sentido que lo observada para residentes (Tabla 7.11). Sin embargo al analizar la FTbR no se encuentran tales diferencias.

Al analizar las relaciones entre las variables relacionadas a la calidad de la lámina se encontró que en general no hay diferencias en las pendientes entre AFE y CMS. Sólo en *P. torquata*, se encontró una diferencia, en los residentes en t=0, que no se mantiene en los ejemplares descendientes (Tabla 7.12). El análisis de componentes principales comunes (CPCA) también reveló diferencias entre las matrices de correlación de residentes de *P. torquata* en función de la historia de herbivoría, pero no así en las otras especies ni en los descendientes de ninguna de ellas.

Tabla 7.12. Comparación de las pendientes que expresan la relación de los distintos pares de caracteres foliares entre ejemplares residentes y descendientes (en t=0) de historia de herbivoría severa e historia de herbivoría leve. l>s significa que la pendiente del conjunto de individuos con historia de herbivoría leve presenta un valor de pendiente significativamente mayor que el conjunto de individuos con historia de herbivoría severa. Si la pendiente general para ese par de caracteres es negativa, significa que la pendiente en historia de herbivoría leve es menos pronunciada que la pendiente en historia de herbivoría severa.

y = AFE	=Nm	=C:N	Especie	grupo
x=CMS	l=s		<i>A. aroma</i>	Residentes
	l=s		<i>A. gilliesii</i>	Residentes
	l=s	l>s	<i>P. flexuosa</i>	Residentes
	l<s	l>s	<i>P. torquata</i>	Residentes
	l=s		<i>A. aroma</i>	Descendientes
	l=s		<i>A. gilliesii</i>	Descendientes
	l=s		<i>P. flexuosa</i>	Descendientes
	l=s		<i>P. torquata</i>	Descendientes
=AFE	l=s	l=s	<i>P. flexuosa</i>	Residentes
	l=s	l=s	<i>P. torquata</i>	Residentes

7.5 - Discusión y conclusiones parciales

Los resultados aquí presentados muestran que la herbivoría por ungulados domésticos se asocia con diferencias en los caracteres funcionales foliares a nivel intra-específico. Además sugieren que el efecto de la herbivoría por ganado varía entre gramíneas y leñosas.

En las gramíneas es contundente el efecto de la historia de herbivoría severa, promoviendo síndromes más adquisitivos, ya que todas las especies estudiadas mostraron cambios significativos en ese sentido al menos en uno de los caracteres estudiados. También se hace evidente que este efecto tiene una fuerte componente plástica, ya que los mismos ejemplares mantenidos en condiciones comunes y con riego, tendieron a homogeneizarse y a hacerse más adquisitivos. A pesar de esta plasticidad, la historia de

herbivoría se asoció con diferencias intra-específicas en los descendientes de algunas especies, en el mismo sentido que los residentes, lo cual permitiría afirmar que el pastoreo por ungulados domésticos estaría actuando como una presión de selección que promueve cambios hacia una posición más adquisitiva en el EEF y que dichos cambios pueden ser heredables. Por lo tanto la evidencia empírica apoya la hipótesis **H3** (a través de sus predicciones **P3.1** y **P3.2**) en el caso de las gramíneas.

El hecho de que el carácter menos variable fuera el CMS sugiere que la relación célula:pared es más rígida que otros caracteres a nivel intra-específico. También se observa a nivel global que el CMS es un carácter muy poco variable (Kattge et al. 2011). Por el contrario, y dado que la FTF, seguida de AFE fueron los caracteres que más cambiaron en función de la historia de herbivoría, pareciera que el espesor foliar (EF) es mucho más plástico y con mayor variabilidad genética (o epigenética), ya que cambios en esta variable generaría cambios en la FTF y en AFE sin afectar al CMS, como los que se observan aquí. Pero también es posible que haya cambios en la dureza específica del material (γ) asociados a la historia de herbivoría, esto produciría diferencias en la FTF sin afectar otros caracteres foliares. A nivel inter-específico se sabe que la dureza específica del material es responsable de aproximadamente el 60% de la variabilidad en la dureza de la hoja (medida por diferentes métodos) y que, tanto el espesor de la hoja como la densidad del material explican aproximadamente un 20% cada uno (Onoda et al. 2011). La densidad del material está relacionado con el CMS pero también con la proporción de aire (Figura 3.1), por lo que el CMS tendría una participación minoritaria en la determinación de la resistencia mecánica de la hoja. Por lo que es factible que a nivel intra-específico γ también sea más variable que otras componentes de la dureza y difiera en función de la historia de herbivoría.

El hecho de que en los residentes (en $t=0$) de *N. lophostachya* y los descendientes (en $t=0$) de *S. pyramidatus* la pendiente entre FTF y AFE fuera diferente entre historias de herbivoría (Tabla 7.6) es evidencia de cambios en la dureza específica del material, en función de la historia de herbivoría. Esto es porque, de las tres componentes de la dureza foliar (espesor de la hoja, densidad del material y dureza específica del material), sólo la dureza específica del material puede cambiar la pendiente entre AFE y FTF. Cambios en el espesor de la hoja o en la densidad del material, afectarían conjuntamente a AFE y FTF de manera que producirían desplazamientos sobre la misma recta. Pero la dureza específica del material, al afectar a la FTF de manera independiente de AFE, puede generar cambios en la relación entre estas dos variables, que se evidencia en cambios en la pendiente entre ambas. Por otro lado, en las dos especies que se midió la relación C:N, se encontraron diferencias significativas entre historias de herbivoría (Tabla 7.4) lo que podría implicar cambios en el contenido de fibras foliar u otros cambios en la composición de los materiales estructurales de la hoja, que sean la causa de los cambios en la dureza específica del material en función de la historia de herbivoría.

De manera que la herbivoría por ungulados domésticos estaría promoviendo cambios plásticos y evolutivos sobre diferentes variables como la relación célula:pared, el espesor foliar y la dureza específica del material (γ), produciendo un desplazamiento hacia síndromes más adquisitivos y configurando poblaciones que difieren en la matriz de correlaciones de sus caracteres. El hecho que, luego de un año en jardín común, estas diferencias se atenúen y las diferencias entre las matrices de correlación desaparezcan muestra la gran plasticidad de estos caracteres y sus relaciones. A pesar de todo, el proceso evolutivo no alcanza a ser impedido por la plasticidad adaptativa, ya que en los descendientes se verifican diferencias significativas en el mismo sentido que en los ejemplares residentes, tanto en la media de los caracteres como en sus relaciones.

En las leñosas el efecto de la herbivoría por ungulados domésticos tiene un efecto diferente, y en ciertos aspectos inverso, al que tiene sobre las gramíneas. En primer lugar, los cambios en AFE y CMS parecerían indicar que el ramoneo promueve un síndrome foliar más conservador. Además, las relaciones entre los caracteres foliares parecen mucho más constantes, ya que casi no se encontraron diferencias en las relaciones entre caracteres en función de la historia de herbivoría. Por otra parte, dichos caracteres no parecen estar moldeados por cambios plásticos en respuesta al ramoneo actual. Esto se infiere del hecho que las diferencias entre posiciones de las hojas en la planta (alta o baja) se mantuvieron independientemente del ramoneo actual. Si las ramas bajas fueran más adquisitivas (o conservadoras) por causa del ramoneo actual, la diferencia entre ramas altas y bajas debería modificarse según la historia de herbivoría, sin embargo los modelos seleccionados nunca retuvieron la interacción entre historia y posición. Además la diferencia de AFE y CMS según la posición es consistente con estudios previos donde encuentran que hay un patrón general para especies arbóreas donde las hojas de una misma planta disminuyen su AFE a medida que están más cerca del punto más alto de la planta (Poorter et al. 2009).

Algunas diferencias entre historias de herbivoría se manifestaron con mayor claridad en la condición de jardín común, como es el caso del CMS y AF (Tablas 7.8 y 7.10). Esto hace pensar que quizás el ganado esté seleccionando caracteres principalmente en los estadios tempranos de desarrollo. Dado que las especies leñosas pueden escapar del ramoneo por ganado creciendo en altura, si logran sobrevivir y crecer lo suficiente, es probable que los ungulados ejerzan una mayor presión de selección sobre los caracteres de los estadios más tempranos de desarrollo (plántula y renoval). Por ejemplo, retomando lo observado en relación a AF en ejemplares residentes y descendientes, se ha documentado consistentemente en la literatura, en diferentes grupos funcionales de plantas, que el AF es un carácter que tiende a reducirse en situaciones de intensa herbivoría de ganado y que esa reducción estaría asociada a una mayor capacidad de supervivencia en dicha situación (Díaz et al. 1992, 2001; Whitworth-Hulse et al. 2016). Los resultados aquí presentados muestran que en los ejemplares residentes de leñosas hay una tendencia a menores AF en los sitios con historia de herbivoría severa. Pero que en los

descendientes, que se encuentran en un estado de desarrollo más vulnerable al ramoneo, ya que no pueden escapar en altura, esta diferencia se acentúa a pesar de haber sido cultivados en jardín común, lo cual podría tener una función adaptativa. También se deben considerar posibles efectos indirectos. Dado que en esta tesis no se midió la selección natural del ganado sobre los diferentes caracteres no se puede afirmar que esté actuando sobre alguno de ellos de manera directa y sobre otros de manera indirecta. Sin embargo, por ejemplo, si la herbivoría por ungulados selecciona ejemplares con menor AF, esta selección “directa” generará una presión de selección indirecta sobre AFE ya que están correlacionados positivamente (Tabla 4.4 y Figura 4.4a). Por lo tanto, por efecto de la selección de menor AF también tenderá a disminuir AFE y por la misma razón tenderá a aumentar el CMS. Por el contrario, para el caso de los caracteres químicos (N_m y C:N), donde no se encontró una correlación a nivel intra-específico entre estos caracteres y AF (Figura 4.5c, d), una eventual selección sobre éste último no generaría ningún impacto sobre las cualidades químicas de la hoja. De hecho los caracteres químicos muestran, en términos de estrategia de uso de recursos, un patrón de cambio inverso al de AFE y CMS.

El patrón encontrado para las cualidades químicas de la lámina (N_m y C:N) cuestiona la estructura causal asumida en la introducción de la Parte I (Sección 3, Figura 3.1), haciendo necesario pensar en otras fuentes de variación para el N_m . El efecto de la posición en la planta (alta o baja), tan claro en AFE y CMS (Tablas 7.7 y 7.8), no aparece en N_m ni en C:N. Además, el efecto de la historia de herbivoría, cuando presente (en *P. flexuosa*), ocurre en sentido opuesto al esperado en base a los cambios observados en AFE y CMS.

Respecto de la FTR, si bien se observaron diferencias en función de la historia de herbivoría y de la posición (alta o baja) en los ejemplares residentes y en descendientes, estas diferencias no parecen relevantes, en virtud que la resistencia a la fractura de los raquis como unidad funcional (FTbR) no cambió en función de estos factores. Los cambios observados en la dureza relativa pueden estar asociados a cambios morfológicos en la hoja, que necesariamente son acompañados de cambios en el diámetro de los raquis, pero esa diferencia en el grosor es compensada de manera de ofrecer la misma resistencia. Por lo tanto, para las leñosas, la evidencia no resulta concluyente en favor o en contra de la hipótesis **H3** (y sus predicciones **P3.1** y **P3.2**).

8 - Efectos evolutivos de la herbivoría de ungulados domésticos sobre espinas

8.1 - Objetivos

OE2.2: Determinar si la historia de herbivoría por ungulados domésticos se asocia a diferencias intra-específicas en el desarrollo de espinas, en las especies leñosas estudiadas, creciendo en condiciones de campo.

OE2.3b: Determinar si la historia de herbivoría por ungulados domésticos constituye una presión de selección para la asignación de carbono a defensas mecánicas, en particular espinas, en individuos descendientes creciendo en jardín común.

8.2 - Hipótesis y predicciones

H4: En fabáceas, la herbivoría actúa como una presión de selección direccional que promueve la inversión de recursos en defensas mecánicas (espinas).

P4.1: Los ejemplares que han crecido en el campo con historia de herbivoría severa tendrán espinas más desarrolladas.

P4.2: Los descendientes, de las poblaciones con historia de herbivoría severa, cultivados en jardín común, tendrán una media basal (estado del carácter previo a los tratamientos experimentales) en tamaño y cobertura de espinas más elevada que los descendientes de poblaciones con historia de herbivoría leve.

8.3 - Metodología específica

Aquí se analizan las variables de espinosidad (tamaño y cobertura de espinas) determinadas en leñosas residentes ($t=0$) y en leñosas descendientes previo al tratamiento de corte ($t=0$), en función de la historia de herbivoría.

Las espinas, en leñosas residentes en $t=0$, se midieron en diciembre de 2013 para *A. gilliesii* y *P. flexuosa* y en febrero de 2014 para *A. aroma* y *P. torquata*. Para todas las especies se seleccionaron las tres ramas terminales más bajas del individuo (siempre por debajo de 1,5 m), que estuvieran expuestas en la superficie externa de la copa y que presentaran espinas maduras (lignificadas). De la misma manera se seleccionaron tres ramas altas (por sobre 1,5 m). De estas ramas se midió largo y diámetro a la base de las espinas (el diámetro en dirección paralela al eje de la rama) de los nudos 3° y 5° hacia basal descartando los 3 cm apicales, de cada una de las ramas. Con estas medidas se calculó el volumen de

cada espina asumiendo una forma cónica y luego se calculó el volumen promedio para el individuo en sus posiciones alta y baja respectivamente. Esta variable es el tamaño de espinas en las leñosas residentes. La cobertura de espinas es la cantidad de espinas encontrada respecto del total esperado (se espera encontrar 2 espinas por nudo en todas las especies excepto en *A. gilliesii* que presenta una espina con dos agujones) para los seis nudos considerados en cada posición de cada individuo.

En los descendientes se midió el largo de una espina por nudo, en los nudos 4° y 5° subapicales (contando desde el ápice hacia proximal) de todas las ramas terminales de cada ejemplar. De esta manera se calculó el valor promedio del tamaño de espina por ejemplar. La cobertura de espinas de cada ejemplar es el total de nudos con espinas respecto del total de nudos examinado.

8.3.1 - Análisis de datos

Para el análisis del tamaño de las espinas (*Tesp* - ya sea volumen o longitud) se aplicaron modelos lineales mixtos utilizando la función “*lme*” del paquete “*nlme*” (Pinheiro et al. 2017) en el entorno R (R Core Team 2017). En el análisis de los ejemplares de leñosas residentes en $t=0$ se incorporó, como factor de efecto aleatorio, el ejemplar del cual provienen las mediciones, ya que se midieron las espinas en dos posiciones de cada ejemplar. Como factores de efecto fijo se incorporaron las variables especie (*spp*), historia de herbivoría de los sitios (*histo*) y posición (*pos*), con todas las interacciones entre estas tres variables (“ $\sim spp*histo*pos$ ” de acuerdo a la nomenclatura de la función “*lme*”). En todos los casos se implementaron procedimientos de selección de modelos (backward y forward) para elegir el mejor modelo según el criterio AIC. Cuando los dos procedimientos no convergieron a una solución única se completó el procedimiento de manera manual hasta probar todos los modelos posibles intermedios y seleccionar el mejor. El modelo seleccionado se informa con los resultados correspondientes. En estos análisis se incluyeron, por especie e historia de herbivoría, las siguientes cantidades de ejemplares: *A. aroma* (leve: 22; severa: 21); *A. gilliesii* (leve: 25; severa: 20); *P. flexuosa* (leve: 24; severa: 25); *P. torquata* (leve: 24; severa: 18).

Para el conjunto de datos de las leñosas descendientes previo al tratamiento de corte ($t=0$), se incorporó la planta madre de la cual provenían las semillas como factor de efecto aleatorio. Por lo que el factor aleatorio representa la familia genética. Como factores de efecto fijo se incorporaron la especie, la historia de herbivoría en la locación de la planta madre y la interacción entre ambos. Luego se procedió a la selección de modelos siguiendo el mismo procedimiento que el anteriormente descrito. En estos análisis se incluyeron, por especie e historia de herbivoría, las siguientes cantidades de ejemplares y familias genéticas: *A. aroma* (leve: 61/16; severa: 79/20); *A. gilliesii* (leve: 32/11; severa: 53/17); *P. flexuosa* (leve: 80/20; severa: 77/20); *P. torquata* (leve: 65/18; severa: 64/17).

En todos los casos se probaron los supuestos de normalidad y homocedasticidad de los residuos. Se modeló la varianza cuando fue necesario para contemplar desviaciones de dichos supuestos. Sólo se aplicaron transformaciones logarítmicas (\log_{10}) de las variables respuesta cuando fue necesario para lograr una distribución normal de los residuos. Se explicita en los resultados, con el modelo seleccionado, cuando se utilizó esta transformación. Los estadísticos descriptivos representados en las diferentes figuras (media y error estándar de la media) y el nivel de significancia corresponden a lo estimado a partir de los modelos estadísticos seleccionados. Cuando, a partir de un modelo ajustado fue necesario hacer contrastes *a posteriori*, para establecer la significancia de diferencias entre determinados grupos, los p-valores fueron corregidos mediante el método de Hommel (1988).

La variable cobertura de espinas (*Cesp*) es binomial, por lo que se aplicó un modelo general mixto, utilizando la función “*glmer*” del paquete “*lme4*” (Bates et al. 2015). Se implementó la misma estructura de factores de efecto aleatorio para el análisis de esta variable que para el tamaño de espinas. De manera similar se construyó la parte de factores de efectos fijos del modelo, se seleccionó el mejor modelo mediante AIC, y se corrigieron los p-valores estimados cuando fue necesario.

8.4 - Resultados

8.4.1 - Leñosas

En los ejemplares residentes se encontró un efecto de la historia de herbivoría, sobre el tamaño de espinas, generalizado e independiente de la especie (el factor especie no fue retenido en la selección de modelo). El efecto de la historia de herbivoría es tal que los ejemplares de sitios con historia de herbivoría severa tienen tamaño promedio de espinas mayor que el de sitios con historia de herbivoría leve (Figura 8.1). También se encontró una tendencia de la posición, con espinas de mayor tamaño en la parte baja de los ejemplares. Si bien este factor no parece tener un efecto significativo, fue retenido en la selección de modelo, lo que indica que parte de la varianza de los datos es explicada por él (Figura 8.1).

Un patrón similar se observó en la cobertura de espinas, donde se encontró un efecto generalizado de la historia de herbivoría. La historia de herbivoría severa se asoció con una mayor cobertura de espinas (0,635 [0,561 – 0,704]; p-valor=0,0005). Además, se observó un efecto de la posición, en interacción con la especie ($Cesp \sim spp*pos + histo$). En *P. flexuosa*, las ramas bajas presentaron una mayor cobertura de espinas que las ramas altas (0,626 [0,566 – 0,683]; p-valor=0,002), mientras que en el resto de las especies no se advierte tal diferencia.

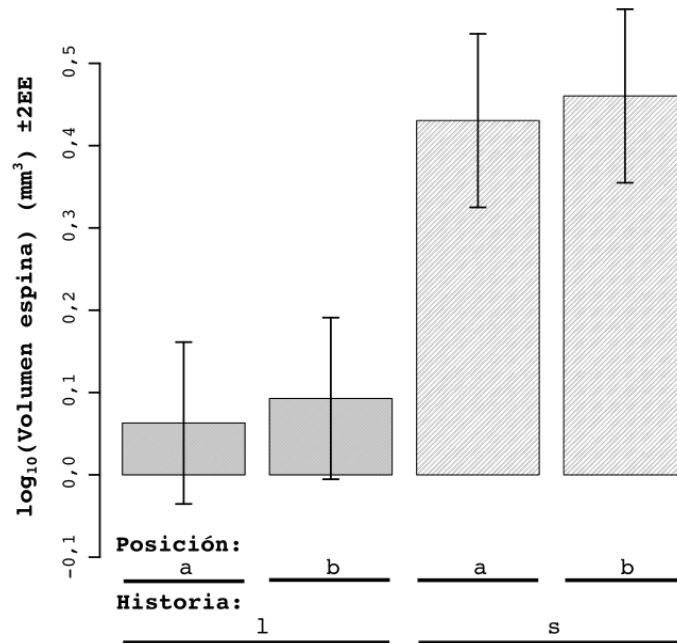


Figura 8.1. Volumen de espinas (media +/- 2EE) de ejemplares residentes, de las cuatro especies de leñosas en conjunto, según historia de herbivoría y posición de la planta. Estadísticos estimados según el mejor modelo ajustado (Estructura de factores de efecto fijo: $\log_{10}(V) \sim \text{histo} + \text{pos}$). Historia de herbivoría (l: leve; s: severa). Posición en la planta (a: alta, por sobre 1,5m; b: baja, por debajo de 1,5m). Las cuatro especies presentaron el mismo patrón.

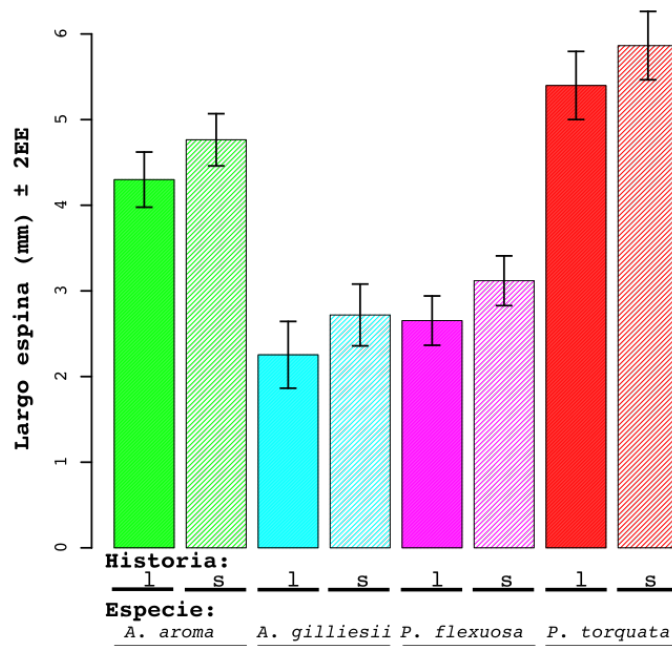


Figura 8.2. Largo de espina (media +/- 2EE) de descendientes cultivados en jardín común, de cada una de las cuatro especies de leñosas, según la historia de herbivoría en su sitio de origen. Estadísticos estimados según el mejor modelo ajustado (Estructura de factores de efecto fijo: $L \sim \text{spp} + \text{histo}$). Historia de herbivoría (l: leve; s: severa). Las cuatro especies muestran el mismo patrón, hay un efecto general de la historia.

En los ejemplares descendientes de todas las especies, la historia de herbivoría tuvo un efecto general de manera que los descendientes de ejemplares con historia de herbivoría severa presentaron espinas más grandes que los descendientes de historia de herbivoría leve (Figura 8.2). En cuanto a la cobertura de espinas, fue total en casi todos los ejemplares de *A. aroma* y *P. torquata*: sólo 6 casos sobre 140 y uno entre 129, respectivamente, presentaron coberturas menores al 100%. Por tal motivo, el efecto de la historia de herbivoría sobre la cobertura de espinas se analizó sólo en las otras dos especies (*A. gilliesii* y *P. flexuosa*). Se detectó un efecto general en ambas especies sobre la cobertura de espinas, donde los descendientes de ejemplares con historia de herbivoría severa presentaron mayores coberturas de espinas que los descendientes de historia de herbivoría leve (0,681 [0,568 – 0,775]; p-valor=0,002).

8.5 - Discusión y conclusiones parciales

La historia de herbivoría severa se asoció claramente con mayor espinosidad, expresada tanto en espinas de mayor tamaño como en mayor cobertura de espinas. Esto se observó en los ejemplares residentes así como en los descendientes cultivados en condiciones de jardín común y no sometidos a herbivoría simulada. Esto indica que la herbivoría promueve la asignación de recursos a defensas mecánicas como espinas y que las diferencias que se observan en el campo tienen una componente heredable (genética o epigenética, como por ejemplo efecto materno). Esto apoya la hipótesis **H4** (mediante sus predicciones **P4.1** y **P4.2**). Sin embargo, el tamaño y cobertura de espinas no parecen estar sujetos a efectos plásticos por el ramoneo actual, ya que el efecto de la posición en el tamaño y cobertura de espinas es independiente de la historia de herbivoría. Dado que la parte baja de los ejemplares de historia de herbivoría severa permanece expuesta al ramoneo, se esperaba encontrar una interacción entre historia de herbivoría y la posición. Se esperaba que en tal interacción la diferencia en tamaño y/o cobertura de espinas en la parte baja de los ejemplares con historia de herbivoría severa fuera mayor que en los ejemplares con historia de herbivoría leve. Sin embargo el efecto de la posición fue aditivo (sin interacción) y no significativo.

El hecho de que los sitios con historia de herbivoría leve presenten en la actualidad menor presión de ramoneo no es sólo un supuesto derivado de que dichos sitios están fuera de la piósfera y la mayoría de ellos en un área protegida con exclusión de ganado, sino que fue corroborado directamente durante el experimento de corte con leñosas residentes. En las ramas con tratamiento de desespinado y control apareado (en ambas historias de herbivoría y en ambas posiciones) se registró mortalidad y signos de ramoneo (ver metodología específica de la Sección 5). Se encontraron 17 ramas ramoneadas sobre 173 relevadas. Dieciséis de los 17 eventos ocurrieron en ramas bajas. Estos 17 eventos afectaron a 14 de los 44 ejemplares que formaron parte del experimento. De los 14 ejemplares ramoneados, en alguna de las ramas desespinadas o control apareado, diez (10/14 ejemplares y 13/17 eventos) corresponden a

ejemplares con historia de herbivoría severa. Habiendo constatado la mayor frecuencia de ramoneo en los sitios de historia de herbivoría severa, se esperaba que, en dichos sitios no sólo el tamaño y la cobertura de espinas fueran mayores, sino que hubiera más diferencias entre las ramas altas y bajas. Entonces, o bien se trataría de un carácter mucho menos plástico que lo reportado para otras especies (Milewski et al. 1991; Young & Okello 1998; Gadd et al. 2001; Gómez & Zamora 2002), o la frecuencia de ramoneo actual, si bien menor, es suficiente para inducir un mayor tamaño y cobertura de espinas en las ramas bajas. Los resultados del experimento de corte practicado sobre residentes de *P. toquata*, discutidos más adelante (Sección 9), hacen pensar que la primera opción es la más factible.

9 - Adaptación y/o aclimatación a la remoción de biomasa por corte

9.1 - Objetivos

OE2.3: Determinar si la historia de herbivoría por ungulados domésticos constituye una presión de selección para los caracteres de interés de este trabajo. Esto es, si se encuentran diferencias asociadas a la historia de herbivoría en los descendientes cultivados desde semillas en jardín común, a nivel de:

c) Plasticidad de los caracteres funcionales foliares ante tratamientos de remoción de biomasa por corte.

d) Plasticidad en defensas mecánicas ante tratamientos de remoción de biomasa por corte.

e) Tolerancia a la remoción de biomasa por corte.

OE2.4: Determinar si la historia de herbivoría por ungulados domésticos se asocia con diferencias intra-específicas en la respuesta de *Acacia*, *Prosopis* y poáceas C4 a aplicaciones experimentales controladas de corte en los individuos creciendo en el campo, midiéndose dicha respuesta a nivel de:

a) Estrategia de uso de recursos, indicada por caracteres funcionales foliares.

b) Asignación a defensas mecánicas, en particular espinas.

c) Tasa de crecimiento y supervivencia.

9.2 - Hipótesis y predicciones

H5: Las poblaciones con historia de herbivoría severa se encuentran más adaptadas y/o aclimatadas a la remoción de biomasa.

P5.1: Los individuos desarrollados en el campo con historia de herbivoría severa responderán menos y de forma más homogénea (en las variables del espectro económico foliar y defensas mecánicas) a herbivoría simulada *in situ*, que aquellos individuos de poblaciones con historia de herbivoría leve.

P5.2: En respuesta a los tratamientos experimentales de herbivoría simulada *in situ*, los atributos funcionales de los individuos con historia de herbivoría leve se acercará a los atributos de los individuos con historia de herbivoría severa.

P5.3: Los residentes y descendientes de poblaciones con historia de herbivoría severa presentarán mayor tolerancia ante tratamientos de herbivoría simulada.

Cabe aclarar respecto a las predicciones **P5.1** y **P5.2**, que la predicción **P5.2** implica probar, **(a)** cambios plásticos de los caracteres funcionales foliares hacia una posición más adquisitiva en respuesta a la herbivoría simulada pero también requiere **(b)** que la predicción **P3.1** sea verdadera, es decir que los individuos de historias de herbivoría severa presenten inicialmente un síndrome más adquisitivo, lo cual se confirma en las gramíneas. La predicción **P5.1** también requiere de **a** y **b**, y además necesita **(c)** que el régimen de disturbio previo al tratamiento experimental sea diferente para las dos historias de herbivoría. Dadas las condiciones **a**, **b** y **c**, sería de esperar que el tratamiento de corte signifique un cambio en el régimen de disturbio en los ejemplares de historia de herbivoría leve, pero no en los de historia de herbivoría severa. Por lo que los ejemplares de historia de herbivoría severa ya estarían expresando su plasticidad (i.e. estarían aclimatados) mientras que los otros no. Al haber trasladado todos los ejemplares de gramíneas residentes a un jardín común, donde no hay herbivoría por vertebrados, están todos bajo el mismo régimen de disturbio previo al experimento. Por este motivo se puede poner a prueba **P5.2** en las gramíneas y leñosas tanto residentes como descendiente, probando la veracidad de **a** y dado que **b** se corrobora para las gramíneas. Mientras que la predicción **P5.1** sólo puede ser evaluada para las leñosas residentes.

9.3 - Metodología específica

Los datos aquí analizados corresponden a los generados durante los experimentos de corte en ejemplares residentes y descendientes de gramíneas y de leñosas según se detalla en Materiales y Métodos Generales y en Metodología específica de la Sección 5.

9.3.1 - Análisis de datos de las especies gramíneas

En las gramíneas se analizaron las variables de cambio relativo en los caracteres foliares ($\Delta'X$; ecuación 14), cambio en el espectro económico foliar intra-específico (ΔEEF), la tasa relativa de crecimiento (ecuación 8) y la tolerancia (ecuación 9). En el caso de las gramíneas residentes, se aplicaron los tratamientos a todas las especies y en los descendientes solo a dos (*N. lophostachya* y *T. pluriflora*). El ΔEEF se calculó de acuerdo al espacio multivariado en el tiempo inicial. La posición en el EEF intra-específico se calculó mediante la combinación lineal de los caracteres foliares (AFE, CMS y FTF) de acuerdo a las componentes (scores) del autovector principal, de cada especie, estimado en el CPCA. Finalmente se calculó el cambio de esta variable ($EEF_t - EEF_i$). No se usó el cambio relativo al valor inicial porque EEF ya es una variable estandarizada dado que surge del PCA de variables estandarizadas. Para conocer el efecto de la historia de herbivoría sobre todas estas variables se aplicaron modelos

lineales mixtos utilizando la función “*lme*” del paquete “*nlme*” (Pinheiro et al. 2017) en el entorno R (R Core Team 2017).

Para el conjunto de las gramíneas residentes, se analizó la tasa relativa de crecimiento (ecuación 8), entre el tratamiento de corte y la cosecha final, en función de la historia de herbivoría, por lo que se incorporaron las variables especie (*spp*), historia de herbivoría de los sitios (*histo*) y las interacciones entre éstas (“*~spp*histo*” de acuerdo a la nomenclatura de la función “*lme*”) como factores de efecto fijo. En general, una planta por sitio fue destinada a tratamiento de corte y por lo tanto se cuenta con una medición de crecimiento por sitio. Sin embargo, cuando fue posible se utilizó más de una planta por sitio por lo que se incorporó la procedencia de las plantas por especie (*sitio.spp*) como factor de efecto aleatorio, para dar cuenta de posibles relaciones de parentesco entre las plantas de la misma procedencia. Al comparar modelos con dicho factor de efectos aleatorios con modelos que contemplan una estructura más compleja, que refleje la recolección de las plantas además de su procedencia (i.e. “*random=~1|año/dC.año/sitio.año*” de acuerdo a la nomenclatura de la función “*lme*”), se encontró que el modelo más sencillo tenía menor AIC por lo que se mantuvo sólo el *sitio.spp* como factor aleatorio. En estos análisis, la cantidad de ejemplares y sitios utilizados por especie y por historia de herbivoría fueron los siguientes: *A. mendocina* (leve: 24/17; severa: 30/20); *G. paraguayensis* (leve: 33/21; severa: 31/20); *N. lophostachya* (leve: 15/13; severa: 21/19); *S. pyramidatus* (leve: 19/18; severa: 19/17); *T. crinita* (leve: 28/21; severa: 26/21); *T. pluriflora* (leve: 21/19; severa: 25/18).

Para analizar el efecto de la historia de herbivoría, como modulador de los cambios en los caracteres foliares de las gramíneas residentes ante tratamientos de corte se incorporaron las variables especie (*spp*), historia de herbivoría de los sitios (*histo*), el tratamiento (*trat*) y las interacciones entre éstas (“*~spp*histo*trat*” de acuerdo a la nomenclatura de la función “*lme*”) como factores de efecto fijo. Como factores de efecto aleatorio se mantuvo la estructura que da cuenta del diseño de extracción y traslado de los ejemplares (i.e. “*random=~1|año/dC.año/sitio.año*” de acuerdo a la nomenclatura de la función “*lme*”), tal como se hizo en el análisis de los caracteres foliares en t=0 y en t=1. En todos los casos se comparó esta estructura con una más sencilla, que sólo da cuenta de la procedencia de las plantas por especie (*sitio.spp*) y se encontró que la estructura más compleja da mejores resultados usando el criterio de información de Akaike (AIC). La cantidad de ejemplares planificada para cada combinación de especie, historia de herbivoría y tratamiento es aproximadamente 20 (40 para cada tratamiento por especie) pero las cantidades exactas son variables según la supervivencia de las gramíneas residentes. Las cantidades exactas para cada variable se informan en los resultados.

Para el conjunto de datos de las gramíneas descendientes de las especies *N. lophostachya* y *T. pluriflora*) se analizaron todas las variables en función de la historia de herbivoría y de los diferentes

niveles de tratamiento (control, corte leve, corte severo). La especie, la historia de herbivoría en el sitio de procedencia de las semillas, el tratamiento, y la interacción entre ellos fueron incorporados como factores de efecto fijo. Como factor de efecto aleatorio, se incorporó el sitio de procedencia de las semillas por especie (*sitio.spp*). Además, se evaluó el efecto de la autocorrelación espacial (ya que los plantines no fueron movidos durante el desarrollo del experimento), y se descartó por no mejorar el modelo según AIC. La cantidad de ejemplares y sitios utilizados por especie, por historia de herbivoría y por tratamiento en los análisis de tasa de crecimiento y tolerancia se muestran en la Tabla 9.1. En el análisis de cambio en los caracteres foliares las cantidades son aproximadamente las mismas pero se informan las cantidades exactas en los resultados.

Tabla 9.1. Cantidad de ejemplares y cantidad de sitios de procedencia de gramíneas descendientes en el experimento de corte por especie, historia de herbivoría y tratamiento (Cont.: Control; C. leve: corte leve; C. severo: corte severo).

Historia	<u><i>N. lophostachya</i></u>				<u><i>T. pluriflora</i></u>			
	<u>Ejemplares por trat.</u>			<u>sitios</u>	<u>Ejemplares por trat.</u>			<u>sitios</u>
	<u>Cont.</u>	<u>C. leve</u>	<u>C. severo</u>		<u>Cont.</u>	<u>C. leve</u>	<u>C. severo</u>	
leve	19	18	15	19	20	20	20	20
severa	19	18	18	19	18	17	16	18

En todos los casos se probaron los supuestos de normalidad y homocedasticidad de los residuos. Se modeló la varianza cuando fue necesario para contemplar desviaciones de dichos supuestos. Luego, se implementaron procedimientos de selección de modelos (backward y forward) para elegir el mejor modelo según el criterio AIC. Cuando los dos procedimientos no convergieron a una solución única se completó el procedimiento de manera manual hasta probar todos los modelos posibles intermedios y seleccionar el mejor. Los estadísticos descriptivos representados en las figuras (media y error estándar de la media) y el nivel de significancia corresponden a lo estimado a partir de los modelos estadísticos seleccionados, que también se informa en los resultados. Cuando, a partir de un modelo ajustado fue necesario hacer contrastes *a posteriori*, para establecer la significancia de diferencias entre determinados grupos, los p-valores fueron corregidos mediante el método de Hommel (1988).

9.3.2 - Análisis de datos de las especies leñosas

En las leñosas se analizaron las variables de cambio relativo en los caracteres foliares ($\Delta'X$; ecuación 14), cambio relativo en el tamaño de espinas (σT_{esp} ; ecuación 15), el crecimiento relativo (ecuaciones 16 y 20) y la tolerancia (ecuación 17). Los datos se restringen casi exclusivamente a la especie *P. torquata*. Si bien en los ejemplares descendientes se aplicaron los tratamientos a ambas especies de *Prosopis*, *P. flexuosa* no produjo nuevas hojas ni crecimiento longitudinal para poder medir el cambio en los caracteres foliares ni en el tamaño de espinas. Sin embargo, si se registró crecimiento en el diámetro a la base de ambas especies y por lo tanto en leñosas descendientes se pudo analizar el

crecimiento para ambas especies. En todos los casos se aplicaron modelos lineales mixtos utilizando la función “lme” del paquete “nlme” (Pinheiro et al. 2017) en el entorno R (R Core Team 2017).

En los ejemplares residentes de *P. torquata* se analizó cada una de las variable mencionadas en función de la historia de herbivoría, la posición en la planta y los diferentes tratamientos. Por lo tanto, se incorporaron las variables historia de herbivoría de los sitios (*histo*) y un factor que resulta de la combinación de posición y tratamiento (*pos.trat*), y la interacción entre estos dos como factores de efecto fijo. Se utilizó el factor *pos.trat* en lugar de los factores posición (*pos*) y tratamiento (*trat*) por separado, con interacción (*pos*trat*), porque en la parte baja no hay control estructural externo ni controles foliares externo ni interno, por lo que no existe la combinación correspondiente para probar la interacción entre ambos factores. Como factor de efecto aleatorio se incorporó el ejemplar focal sobre el cual se hicieron las aplicaciones experimentales. La cantidad de ejemplares utilizados en estos experimento fueron 25 de historia de herbivoría leve y 19 de historia de herbivoría severa.

Para el conjunto de datos de las leñosas descendientes se analizó la tasa relativa de crecimiento (ecuación 20), el cambio relativo en los caracteres foliares ($\Delta'X$; ecuación 14) y en el tamaño de espinas (σT_{esp} ; ecuación 15) en función de la historia de herbivoría y de los niveles del tratamiento (control, corte leve y corte severo). Por lo que se incorporaron como factores de efecto fijo las variables especie, historia de herbivoría, tratamiento, y la interacción entre estas. Como factor de efecto aleatorio se incorporó la planta madre, de la cual provienen las semillas (familia genética). La cantidad de ejemplares y familias utilizados por especie, por historia de herbivoría y por tratamiento en el análisis de la tasa relativa de crecimiento se muestran en la Tabla 9.2.

Tabla 9.2. Cantidad de ejemplares y familias genéticas de leñosas descendientes en el experimento de corte por especie, historia de herbivoría y tratamiento (Cont.: Control; C. leve: corte leve; C. severo: corte severo).

Historia	<i>P. flexuosa</i>				<i>P. torquata</i>			
	Ejemplares por trat.			fam.	Ejemplares por trat.			fam.
	Cont.	C. leve	C. severo		Cont.	C. leve	C. severo	
leve	19	20	20	20	18	15	18	18
severa	19	19	20	20	17	16	17	17

Los ejemplares descendientes de *P. flexuosa* no registraron crecimiento longitudinal (es decir, un incremento en la longitud total de los individuos por producción de nuevos nudos) ni producción de hojas luego del tratamiento, motivo por el cual, sólo se disponen de resultados de cambio en los caracteres funcionales foliares y espinas para *P. toquata*. Por este motivo, los análisis de cambio en los caracteres foliares y espinosidad en función de la historia de herbivoría ante diferentes niveles de disturbio en leñosas descendientes se llevó a cabo solo con ejemplares de *P. torquata*. En ésta especie no todos los ejemplares produjeron nuevos nudos y nuevas hojas pero si una cantidad considerable que

permitió realizar los análisis pertinentes. Para los caracteres foliares se obtuvieron muestras de 76 ejemplares en t=1, 40 de historia de herbivoría severa y 36 de historia de herbivoría leve. Entre los de historia de herbivoría leve 12 corresponden al grupo control, 13 a tratamiento de corte leve y 15 a tratamiento de corte severo, mientras que la distribución de ejemplares descendientes de historia de herbivoría severa, para estos grupos, fue de 13, 11 y 12 respectivamente. Para la cuantificación de la respuesta en el tamaño de espinas se contó con datos de 68 ejemplares, 34 de cada historia de herbivoría. De historia de herbivoría leve, 12, 13 y 9 ejemplares respectivamente distribuidos entre tratamiento control, corte leve y corte severo. Mientras que los de historia de herbivoría severa fueron, 11, 10 y 13 respectivamente.

En todos los casos se probaron los supuestos de normalidad y homocedasticidad de los residuos. Se modeló la varianza cuando fue necesario para contemplar desviaciones de dichos supuestos. Luego, se implementaron procedimientos de selección de modelos (backward y forward) para elegir el mejor modelo según el criterio AIC. Cuando los dos procedimientos no convergieron a una solución única se completó el procedimiento de manera manual hasta probar todos los modelos posibles intermedios y seleccionar el mejor. Los estadísticos descriptivos representados en las figuras (media y error estándar de la media) y el nivel de significancia corresponden a lo estimado a partir de los modelos estadísticos seleccionados, que también se informa en los resultados. Cuando, a partir de un modelo ajustado fue necesario hacer contrastes *a posteriori*, para establecer la significancia de diferencias entre determinados grupos, los p-valores fueron corregidos mediante el método de Hommel (1988).

9.4 - Resultados

9.4.1 - Gramíneas

En los experimentos de corte con los ejemplares residentes, no se encontró ningún efecto de la historia de herbivoría sobre la respuesta de las plantas en ninguna de las variables analizadas. Tal es así que los procedimientos de selección de modelos nunca retuvieron la historia de herbivoría como factor explicativo de ninguna de las variables. En el caso de las cualidades foliares se encontró que el corte tuvo un efecto variable sobre el EEF y sobre los caracteres foliares AFE y CMS. En *A. mendocina*, *S. pyramidatus* y *T. pluriflora* no se observó ningún tipo de efecto (Figura 9.1). En *G. paraguayensis* se encontró que el corte promovió un síndrome más adquisitivo respecto del control, mientras que en *N. lophostachya* se observó el patrón inverso (Figura 9.1a). Estos cambios se corresponden con diferencias significativas en caracteres individuales. Por el contrario, en *T. crinita* diferencias significativas en el cambio de AFE (Figura 9.1b) no generaron un desplazamiento en su EEF intra-específico. En la FTF tampoco se observó ningún efecto del tratamiento de corte. Sin embargo, hubo un aumento generalizado en todas las especies de la FTF que podría responder a un cambio fenológico (Figura 9.1c).

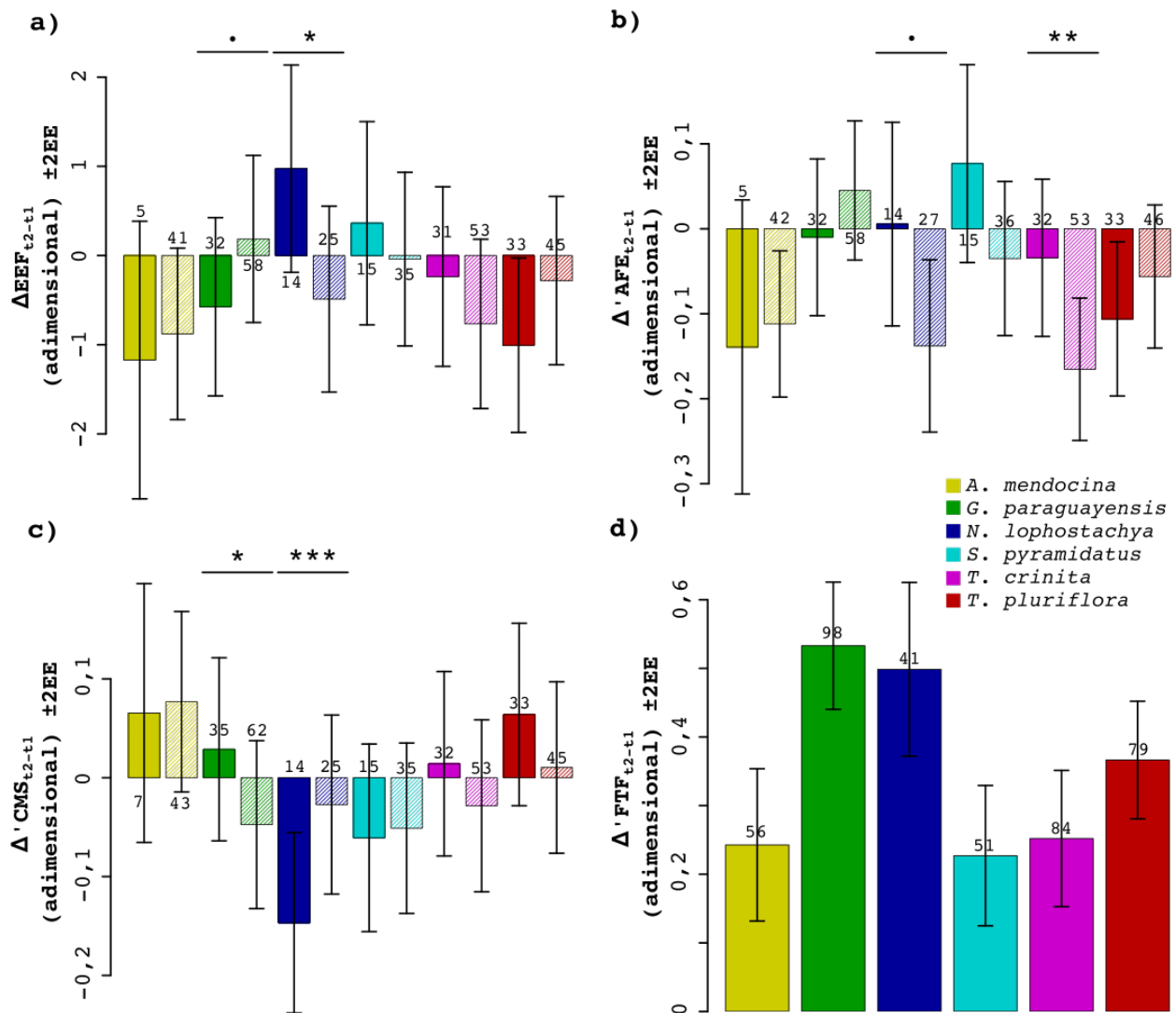


Figura 9.1. Respuesta de gramíneas residentes ante tratamiento de corte, en términos de desplazamiento en el espectro económico foliar (ΔEEF) y en los caracteres foliares individuales. El panel **a**, muestra el cambio de las plantas en el EEF respecto de la posición inicial. Los paneles **b**, **c** y **d**, muestran el cambio relativo respecto de la posición inicial en las variables área foliar específica (ΔAFE), contenido de materia seca (ΔCMS) y fuerza tensil foliar (ΔFTF) respectivamente. En cada barra se indica el número de ejemplares representado por la misma. La estructura de factores de efecto fijo de los modelos estadísticos seleccionados fueron: **a**: $\Delta EEF_{t2-t1} \sim spp*trat$; **b**: $\Delta AFE_{t2-t1} \sim spp*trat$; **c**: $\Delta CMS_{t2-t1} \sim spp*trat$; **d**: $\Delta FTF_{t2-t1} \sim spp$. Las barras sólidas representan los valores para el grupo control (excepto en el panel **d**), las barras rayadas representan los valores para el tratamiento de corte (excepto en el panel **d**). Los segmentos sobre las barras indican los contrastes a posteriori que arrojaron diferencias significativas: *: p -valor $< 0,05$; **: p -valor $< 0,01$; ***: p -valor $< 0,001$.

En el caso de los descendientes de *N. lophostachya* y *T. pluriflora*, no se encontró efecto de la historia de herbivoría sobre la tasa de crecimiento ni sobre la tolerancia, pero sí sobre el cambio en los caracteres foliares (Figura 9.2). Sin embargo este efecto fue aditivo lo cual implica que, si bien la historia de herbivoría tiene un efecto significativo para explicar la variabilidad de los datos, no hay diferencias en la respuesta al tratamiento en función de la historia (ya que los controles se ven afectados de la misma manera). Lo cual podría significar que existen cambios fenológicos diferenciales en función de la historia de herbivoría pero no diferencias en la plasticidad de los caracteres ante el disturbio.

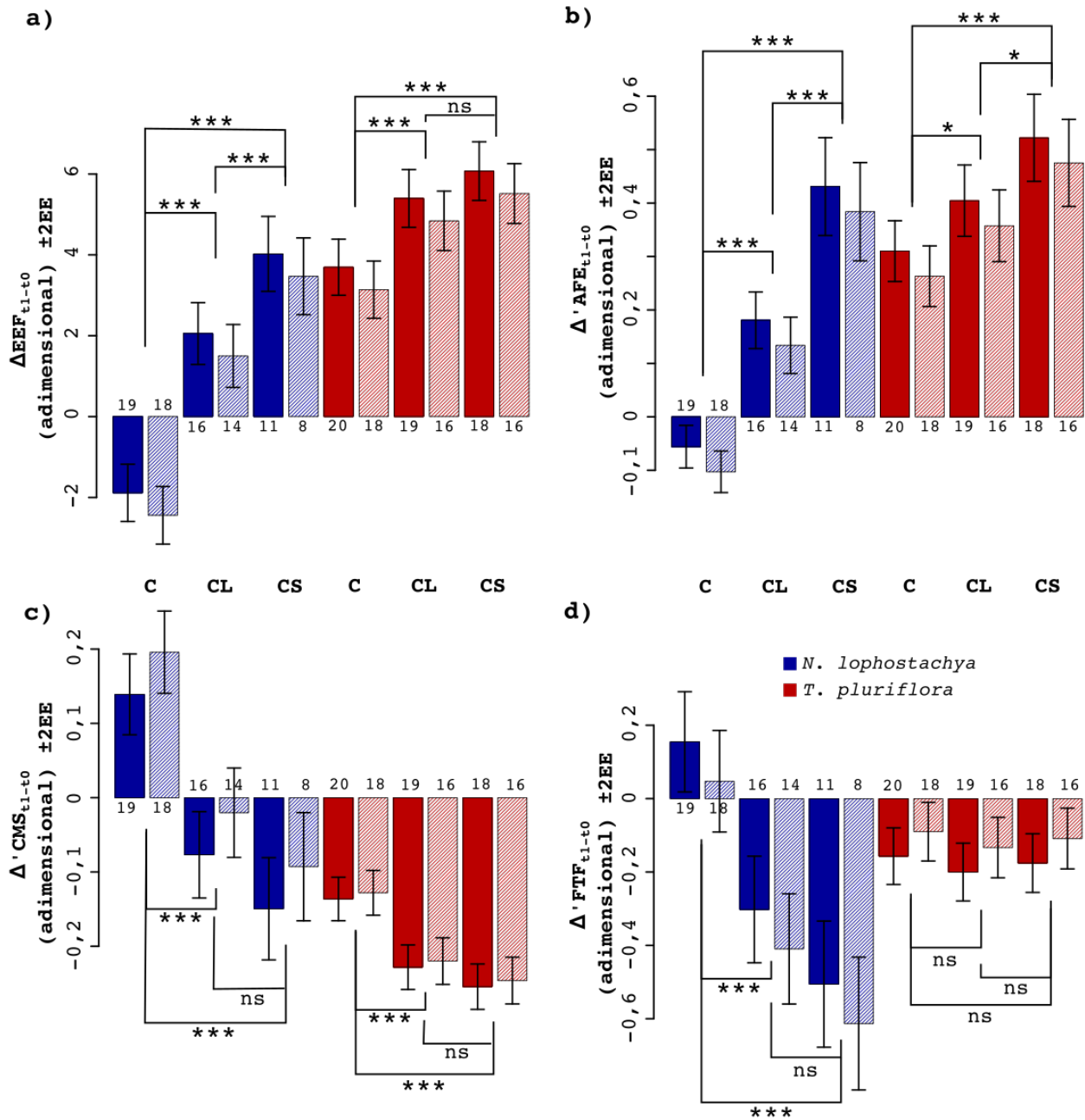


Figura 9.2. Respuesta de gramíneas descendientes ante tratamiento de corte, en términos de desplazamiento en el espectro económico foliar (ΔEEF) y en los caracteres foliares individuales. El panel **a**, muestra el cambio de las plantas en el EEF respecto de la posición inicial. Los paneles **b**, **c** y **d**, muestran el cambio relativo respecto de la posición inicial en las variables área foliar específica (ΔAFE), contenido de materia seca (ΔCMS) y fuerza tensil foliar (ΔFTF) respectivamente. En cada barra se indica el número de ejemplares representado por la misma. La estructura de factores de efecto fijo de los modelos estadísticos seleccionados fueron: **a**: $\Delta EEF_{t1-t0} \sim spp*trat + histo$; **b**: $\Delta AFE_{t1-t0} \sim spp*trat+histo$; **c**: $\Delta CMS_{t1-t0} \sim spp*trat + spp*histo$; **d**: $\Delta FTF_{t1-t0} \sim spp*trat + spp*histo$. Las barras sólidas representan los valores para historia de herbivoría leve, las barras rayadas representan los valores para historia de herbivoría severa. Las líneas que unen barras representan los contrastes a posteriori y se indica el grado de significancia de la comparación: ns: $p\text{-valor} > 0,05$; *: $p\text{-valor} < 0,05$; **: $p\text{-valor} < 0,01$; ***: $p\text{-valor} < 0,001$. Tratamientos: C: control, CL: corte leve, CS: corte severo.

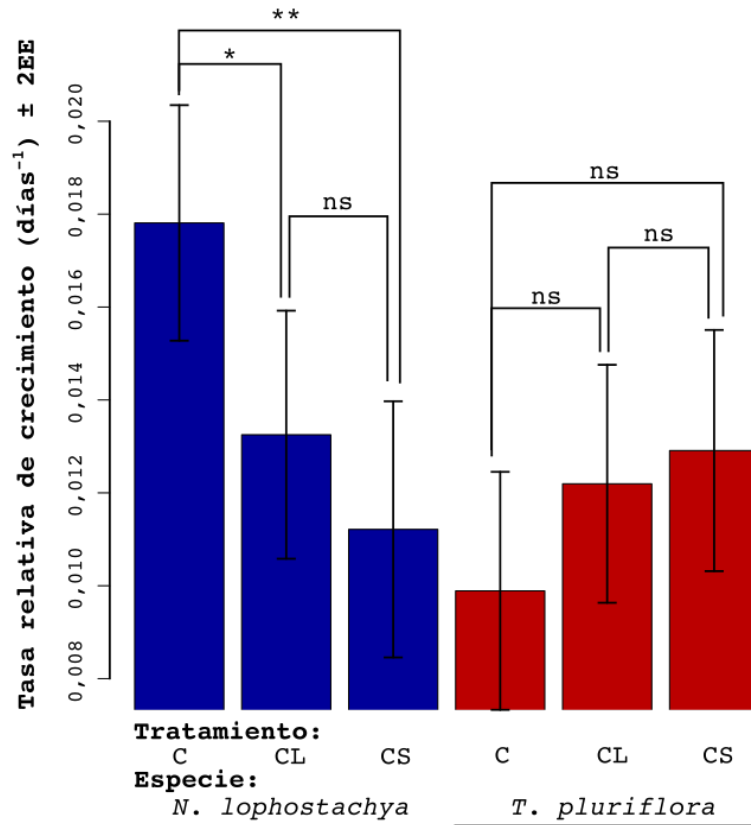


Figura 9.3. Tasa relativa de crecimiento (media \pm 2EE) en función del tratamiento en gramíneas descendientes. Estadísticos estimados en función del mejor modelo ajustado (Estructura de factores de efecto fijo: $R \sim spp * trat$). Tratamiento: C: control; CL: corte leve (remoción de la mitad de la biomasa aérea una vez); CS: corte severo (CL más remoción de la biomasa rebrotada a las 2-3 semanas). Las líneas que unen barras representan los contrastes a posteriori y se indica el grado de significancia de la comparación: ns: p -valor $> 0,05$; *: p -valor $< 0,05$; **: p -valor $< 0,01$; ***: p -valor $< 0,001$.

En las gramíneas descendientes el corte promovió un desplazamiento en el EEF hacia una posición más adquisitiva (Figura 9.2a). En ambas especies la magnitud del desplazamiento se correspondió con la intensidad del disturbio aplicado, sin embargo en *T. pluriflora* no se evidenció una diferencia significativa en ΔEEF entre CL y CS (Figura 9.2a). Este desplazamiento se corresponde con cambios en el mismo sentido en los caracteres individuales, a excepción de la FTF en *T. pluriflora* donde no hubo efecto del tratamiento (Figura 9.2b, c y d). En *N. lophostachya* el corte produjo una disminución significativa en la tasa relativa de crecimiento respecto del control pero sin diferencias significativas entre intensidades de corte (Figura 9.3). En *T. pluriflora* no se encontró un efecto significativo del tratamiento de corte sobre la tasa relativa de crecimiento, sin embargo, pareciera haber una tendencia de mayor tasa relativa de crecimiento en los ejemplares sometidos a corte (Figura 9.3).

Si bien se observó que el corte repercute negativamente en el crecimiento de *N. lophostachya*, mientras que no afectó (o incluso incrementó) el crecimiento de *T. pluriflora* (Figura 9.3), se encontró que la tolerancia de los ejemplares sometidos a corte, en ambas especies, no alcanza la tasa relativa de

crecimiento del grupo control, por lo que se puede afirmar que ninguna de las dos especies compensó la remoción de biomasa (Figura 9.4).

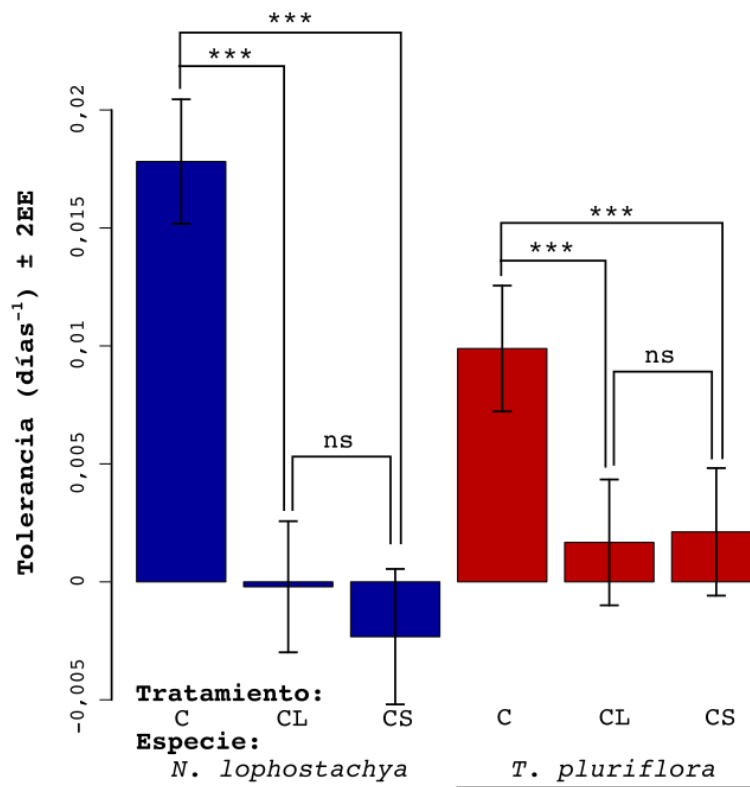


Figura 9.4. Tolerancia a la remoción de biomasa (media \pm 2EE) en gramíneas descendientes. Tasa relativa de crecimiento, respecto de la biomasa inicial previa del tratamiento. Estadísticos estimados en función del mejor modelo ajustado (Estructura de factores de efecto fijo: $T \sim spp \cdot trat$). Tratamiento: C: control; CL: corte leve (remoción de la mitad de la biomasa aérea una vez); CS: corte severo (CL más remoción de la biomasa rebrotada a las 2-3 semanas). Las líneas que unen barras representan los contrastes a posteriori y se indica el grado de significancia de la comparación: ns: p -valor $> 0,05$; *: p -valor $< 0,05$; **: p -valor $< 0,01$; ***: p -valor $< 0,001$.

9.4.2 - Leñosas

En el experimento con residentes de *P. torquata* se encontró que los ejemplares con historia de herbivoría severa son más tolerantes al corte que los ejemplares con historia de herbivoría leve. Al analizar la tasa relativa de crecimiento de cada rama se encontró que la posición y los tratamientos tuvieron un efecto significativo. Las ramas altas en general crecieron más que las bajas (p -valor=0,0007). En las ramas bajas no se encontró efecto de los tratamientos, independientemente de éste, todas las ramas crecieron poco. En las ramas altas sí se observó efecto del tratamiento: la rama podada creció menos que su control apareado y que el control estructural externo; el control apareado no se diferenció significativamente del control estructural externo; la tasa relativa de crecimiento de la rama desespinaada no se diferenció significativamente del control estructural externo ni del control apareado (Figura 9.5).

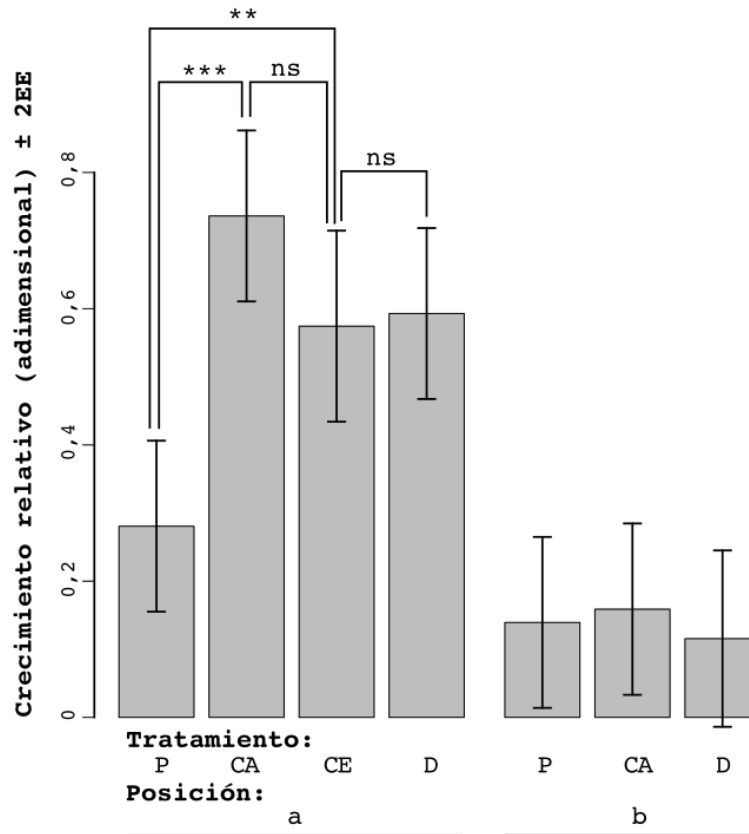


Figura 9.5. Crecimiento relativo (media \pm 2EE), durante el experimento de corte con residentes de *P. torquata*, en función del tratamiento. Posición: **a**: alto (>1,5m); **b**: bajo (<1,5m). Tratamiento: **P**: rama podada; **CA**: Control apareado (bifurcación de la misma rama que P); **CE**: Control estructural externo (rama alta de vecino); **D**: desespinado. Estadísticos estimados en base al mejor modelo ajustado (Estructura de factores de efecto fijo: $R \sim \text{pos.trat}$). Las líneas que unen barras representan los contrastes a posteriori y se indica el grado de significancia de la comparación: **ns**: $p\text{-valor} > 0,05$; *****: $p\text{-valor} < 0,05$; ******: $p\text{-valor} < 0,01$; *******: $p\text{-valor} < 0,001$. En la parte baja no se muestran las comparaciones, todas resultaron no significativas.

Si bien no se encontró un efecto de la historia de herbivoría sobre la tasa relativa de crecimiento de las ramas individuales, al analizar la tolerancia (i.e. el crecimiento relativo al tamaño previo a la poda) y considerar al módulo conformado por la rama podada y su control apareado como una única unidad, se encontró un efecto significativo de la historia de herbivoría. El control estructural externo no difirió entre historias de herbivoría, lo que indica que no hay una diferencia en la tasa relativa de crecimiento “normal” en ambas situaciones (Figura 9.6). Pero ante un evento de disturbio, los ejemplares correspondientes a historia de herbivoría severa, en sus ramas altas, lograron compensar completamente la remoción ya que la tolerancia del módulo poda más control apareado igualó al crecimiento del control estructural externo. Por el contrario, en los ejemplares correspondientes a historia de herbivoría leve la tolerancia del módulo poda más control apareado no alcanzó a igualar el crecimiento del control estructural externo (Figura 9.6).

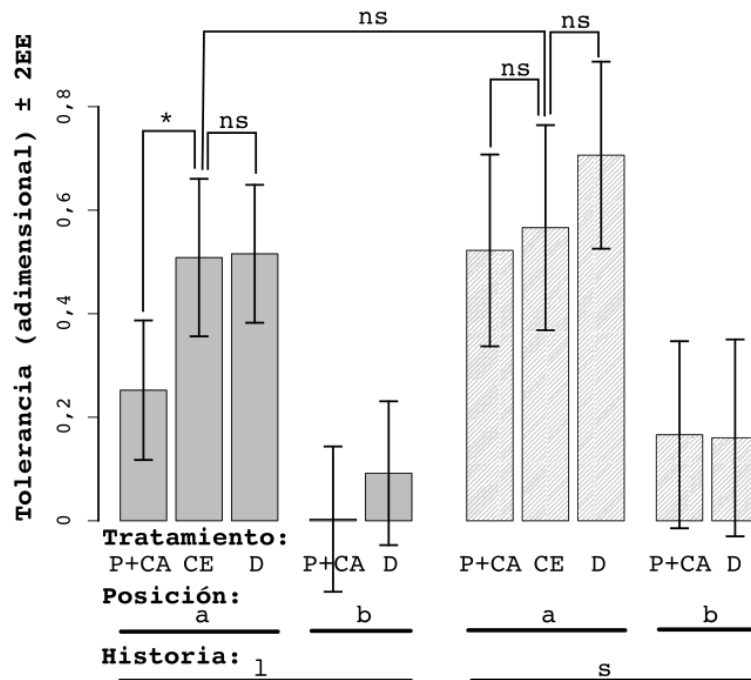


Figura 9.6. Tolerancia (media \pm 2EE), durante el experimento de corte con residentes de *P. torquata*, en función del tratamiento. Posición: **a**: alto (>1,5m); **b**: bajo (<1,5m). Tratamiento: **P+CA**: módulo conformado por la rama podada y el control apareado; **CE**: Control estructural externo (rama alta de vecino); **D**: desespinado. Estadísticos estimados en base al mejor modelo ajustado (Estructura de factores de efecto fijo: $T \sim pos.trat \cdot hist$). Las líneas que unen barras representan los contrastes a posteriori y se indica el grado de significancia de la comparación: **ns**: p -valor > 0,05; *****: p -valor < 0,05; ******: p -valor < 0,01; *******: p -valor < 0,001.

Respecto del efecto de la historia de herbivoría sobre la plasticidad de los caracteres foliares en respuesta al corte, en los ejemplares residentes de *P. torquata* se observaron cambios diferentes en función de la historia de herbivoría pero no en respuesta al tratamiento. Es decir, que los cambios asociados a la historia de herbivoría fueron cambios generalizados, aditivos, e independientes del tratamiento. Por lo que podrían tratarse de cambios fenológicos diferenciales entre historias de herbivoría, pero no atribuibles a diferencias en la plasticidad de los caracteres ante el corte. En general todos los ejemplares, en sus diferentes tratamientos, incrementaron su AFE y redujeron su CMS (es decir, se hicieron más adquisitivos), pero los ejemplares de historia de herbivoría severa cambiaron menos que los de historia de herbivoría leve (Figura 9.7a y b). En cuanto a la FTR, se observó que los provenientes de historia de herbivoría severa se hicieron más duros mientras que los de historia de herbivoría leve se hicieron menos duros (con diferencias significativas – Figura 9.7c), sin embargo no hubo cambios diferenciados en la FTbR, en función de la historia de herbivoría (Figura 9.7d). El AF presentó un patrón de cambio más complejo (Figura 9.7e), con efectos significativos de la historias de herbivoría, el factor *pos.trat* y la interacción entre éstos. Sin embargo, éstos cambios presentaron un fuerte paralelismo con la tasa relativa de crecimiento asociada a los tratamientos análogos y por lo tanto parece estar asociado a ésta (Figura 9.7f). El único caso que no se ajusta a este patrón en el cambio de AF es el control foliar

externo de historia de herbivoría leve, que no acompaña al crecimiento en el control estructural externo, en todos los otros casos el paralelismo es evidente.

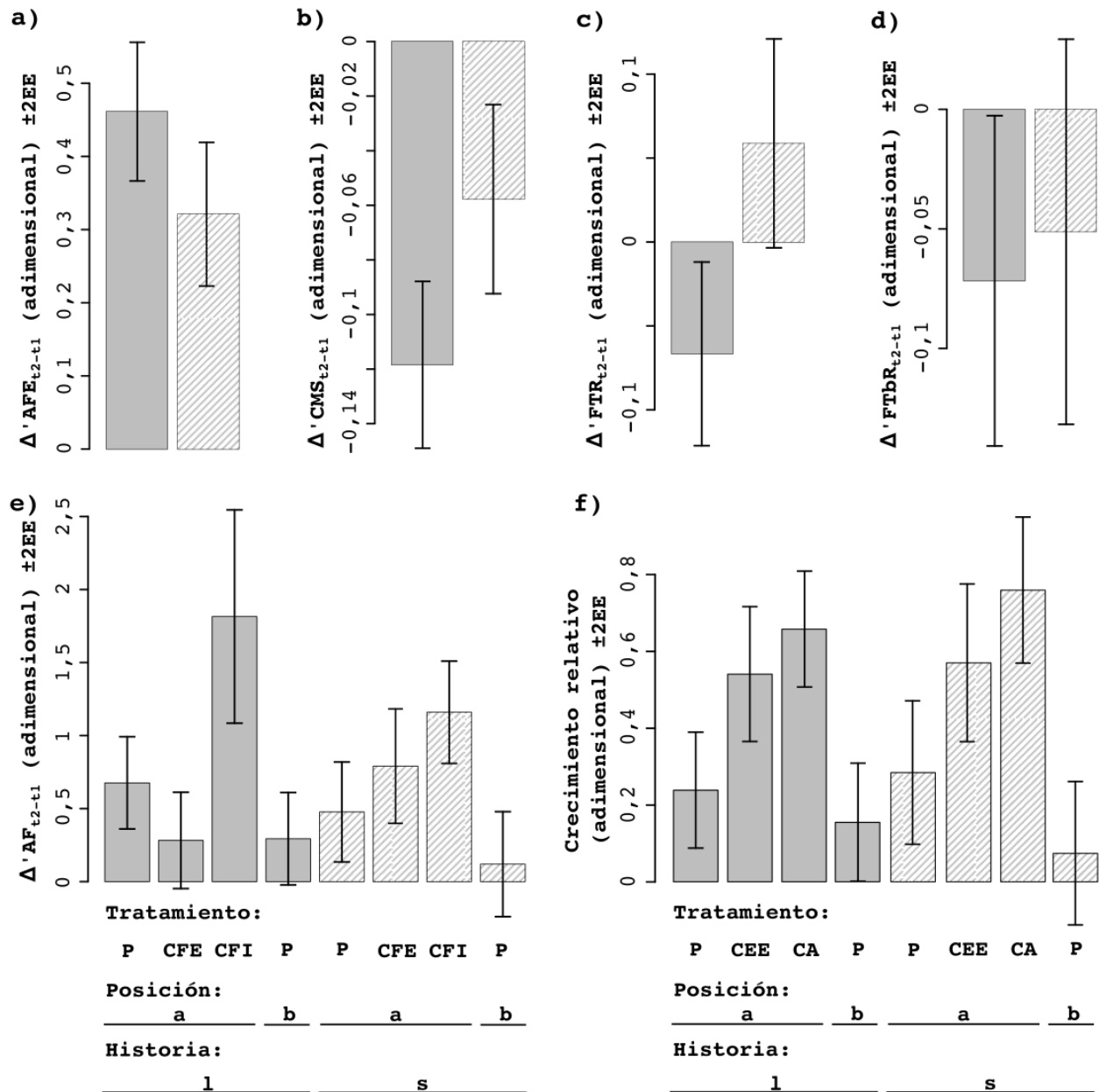


Figura 9.7. Cambio relativo de los caracteres foliares en el experimento de corte con ejemplares residentes de *P. torquata* con historia de herbivoría leve (barras sólidas) o severa (barras rayadas). La estructura de factores de efecto fijo de los modelos estadísticos seleccionados fueron: **a:** cambio relativo en área foliar específica ($\Delta'AFE_{t2-t1} \sim \text{histo}$); **b:** cambio relativo en contenido de materia seca ($\Delta'CMS_{t2-t1} \sim \text{histo}$); **c:** cambio relativo en fuerza tensil de los raquis ($\Delta'FTR_{t2-t1} \sim \text{histo}$); **d:** cambio relativo en fuerza tensil bruta de los raquis ($\Delta'FTbR_{t2-t1} \sim 1$); **e:** cambio relativo en área foliar ($\Delta'AF_{t2-t1} \sim \text{histo} * \text{pos.trat}$). El panel **f** muestra el crecimiento relativo de las ramas con tratamientos análogos a los del panel **e**, esto es P-P; CFE-CEE; CFI-CA. Tratamientos: **P:** corte; **CFE:** control foliar externo; **CFI:** control foliar interno; **CEE:** control estructural externo; **CA:** control apareado. Posición: **a:** alta (>1,5m); **b:** baja (<1,5m). Historia: **l:** historia de herbivoría leve; **s:** historia de herbivoría severa.

De manera similar a lo observado en el cambio relativo de AF, el cambio en el tamaño de espinas presentó un patrón complejo en función de la historia, posición y tratamiento. Este patrón de cambio también es similar al patrón de la tasa relativa de crecimiento durante el experimento de corte (Figura 9.8), lo que condujo a analizar la relación entre cambio relativo en el tamaño de las espinas y la tasa relativa de crecimiento. Cuando se incorporó esta variable como variable regresora en el modelo estadístico, junto con los factores historia, *pos.trat* y las interacciones entre todos ellos, desaparecieron los efectos de la historia, la posición y el tratamiento. En el proceso de selección de modelos mediante AIC todas las variables predictoras, a excepción del crecimiento relativo, fueron descartadas. De tal modo que el cambio relativo en el tamaño de espina sólo se relacionó con la tasa relativa de crecimiento, y esta relación fue positiva (Figura 9.9).

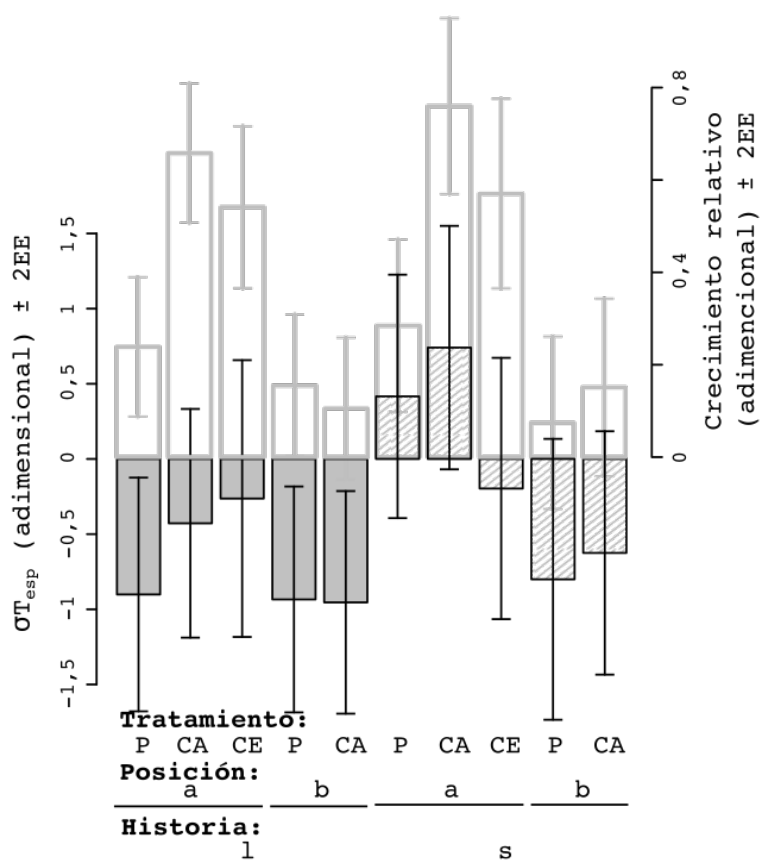


Figura 9.8. Cambio relativo del tamaño de espinas (σT_{esp}) en el experimento de corte con ejemplares residentes de *P. torquata* con historia de herbivoría leve (barras sólidas) o severa (barras rayadas). Las barras vacías de borde gris muestran el crecimiento relativo para las ramas correspondientes a esas combinaciones de historia, posición y tratamiento. Tratamientos: **P**: corte; **CA**: control apareado; **CE**: control estructural externo. Posición: **a**: alta (>1,5m); **b**: baja (<1,5m). Historia, **l**: historia de herbivoría leve; **s**: historia de herbivoría severa. La estructura de factores de efecto fijo del modelo estadísticos seleccionado fue: $\sigma T_{esp} \sim \text{histo} * \text{pos.trat}$.

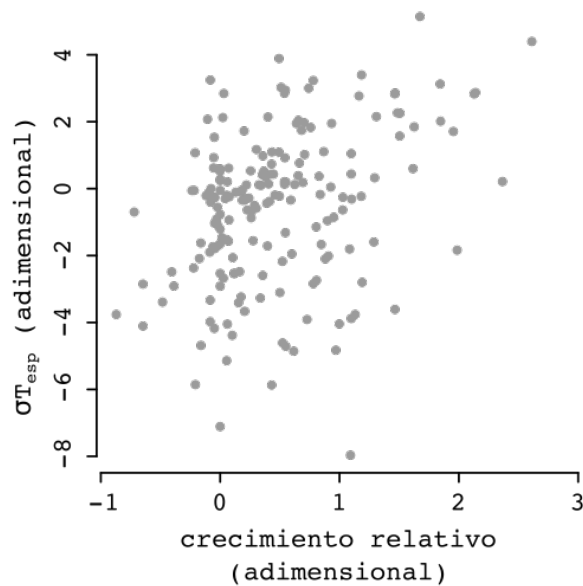


Figura 9.9. Cambio relativo del tamaño de espinas (σT_{esp}) en el experimento de corte con ejemplares residentes de *P. torquata*, en función del crecimiento relativo (R) de las ramas correspondientes. La estructura de factores de efecto fijo del modelo estadístico seleccionado fue: $\sigma T_{esp} \sim R$.

En las leñosas descendientes de *P. flexuosa* y *P. torquata*, no se encontró efecto de la historia de herbivoría en la tasa relativa de crecimiento. Ésta, no difirió significativamente entre historias de herbivoría, ni entre tratamientos. Por lo que se puede decir que todas las plantas fueron igualmente tolerantes, pero se desconoce si alcanzaron a compensar la remoción de biomasa. La tasa relativa de crecimiento (y error estándar), medido como cambio relativo de tamaño (según se explica en Metodología específica de la Sección 5) por día, en *P. flexuosa* y *P. torquata* fueron 0,0025 (0,00019) y 0,0017 (0,00018) respectivamente.

En los ejemplares descendientes de *P. torquata* no se encontró efecto de la historia de herbivoría sobre la respuesta ante tratamientos de corte en los caracteres foliares ni en el tamaño de las espinas. Se observó un efecto de la historia en el cambio relativo del CMS, pero no asociado al tratamiento de corte, sino un cambio generalizado en el cual los ejemplares de historia de herbivoría severa tendieron a disminuir su CMS (-0,048; EE=0,030), mientras que los de historia de herbivoría leve tendieron a aumentarlo (0,0439; EE=0,031). En el cambio relativo de la FTR se observaron algunas diferencias entre tratamientos, pero al analizar la variación en la FTbR no se observó ningún efecto de la historia ni de los tratamientos. En cuanto al tamaño de espinas, como se mencionó antes, no se observó efecto de la historia de herbivoría en la respuesta ante tratamientos de corte. Es más, no se encontró efecto alguno del tratamiento. Hubo una diferencia en el cambio de tamaño de las nuevas espinas relacionado a la historia de herbivoría, pero independiente del tratamiento. Tampoco se encontró ningún efecto de la tasa relativa de crecimiento sobre el cambio de tamaño de espinas en los descendientes, durante el experimento de corte.

9.5 - Discusión y conclusiones parciales

Los resultados encontrados muestran que la historia de herbivoría no está modelando la plasticidad de los caracteres foliares ya que, ni en los ejemplares residentes ni en los descendientes, se encontró que la historia de herbivoría se asocia con cambios diferenciales entre tratamientos. Cuando se encuentra algún efecto de la historia de herbivoría, se trata de uno aditivo. Esto último, junto al hecho de que los grupos control también cambiaron los valores de sus caracteres foliares, hace pensar que, a lo largo de la temporada de crecimiento, hay cambios fenológicos en los caracteres foliares, y que la historia de herbivoría estaría influyendo sobre esta fenología. Estas observaciones son válidas tanto para gramíneas como para leñosas. Tampoco se observa en los ejemplares residentes de *P. torquata* que haya un efecto de la historia de herbivoría sobre el cambio relativo en el tamaño de espinas en respuesta al tratamiento de corte. Por lo tanto se hace evidente que no se cumple la predicción **P5.1**. Esto implica que las poblaciones con historia de herbivoría severa no se encuentran más aclimatadas a la remoción de biomasa.

En las gramíneas descendientes se observa claramente que el corte genera un cambio plástico hacia un síndrome más adquisitivo. Dado que para ambas especies (*N. lophostachya* y *T. pluriflora*) los descendientes de historia de herbivoría severa tuvieron un síndrome más adquisitivo que los de historia de herbivoría leve (como se mostró en la Sección 7), este resultado apoya parcialmente la predicción **P5.2**. Sin embargo, en los ejemplares residentes no hay un patrón claro, apareciendo respuestas contradictorias en diferentes especies. Dado que, como se mostró en secciones previas, la historia de herbivoría severa promueve un síndrome más adquisitivo, los cambios plásticos observados en las gramíneas descendiente parecen ser adaptativos, y concuerdan con algunos de los mecanismos de tolerancia propuestos en la literatura (Oosterheld & McNaughton 1988; Stowe et al. 2000).

En las leñosas, los caracteres foliares no respondieron a la herbivoría simulada. El único carácter foliar que mostró un cambio asociado a los tratamientos de corte fue el AF pero, como se muestra en la Figuras 9.7e y f, y al igual que el tamaño de espinas, su respuesta está asociada a cambios en la tasa relativa de crecimiento. Esto último parece indicar que no hay un compromiso entre defensas y tolerancia, al menos entre espinas y tolerancia en ejemplares de *P. torquata* creciendo en condiciones de campo. Este resultado es llamativo pero no es contradictorio con evidencia preexistente ni con el marco teórico que explica la inversión en defensas anti-herbívoro en las plantas. En primer lugar Koricheva (2002) muestra con contundencia una relación negativa entre defensas (medida como la recíproca de la abundancia de los herbívoros o como caracteres individuales de defensa) y la aptitud (fitness, medido como crecimiento y/o reproducción), ya sea esta relación medida a nivel genético o fenotípico. Sin embargo, al analizar diferentes variables que regulan esta relación, encuentra que en ambientes con baja disponibilidad de recursos la relación negativa desaparece y tiende a ser positiva, tal como se reporta en

este trabajo. Además, esto es consistente con lo predicho, tanto por la hipótesis de disponibilidad de recursos (Coley et al. 1985) como por la teoría balance entre crecimiento y diferenciación (Growth-Differentiation Balance o GDB; Herms & Mattson 1992). La primera establece que cuando la tasa máxima de crecimiento es baja, como se espera en un ambiente con baja disponibilidad de recursos, se favorece una elevada inversión en caracteres de defensa. La teoría GDB predice una relación no lineal entre tasa de crecimiento, el metabolismo secundario y, en consecuencia, la inversión en caracteres de defensa. En ambientes ricos en recursos el crecimiento recibe recursos prioritariamente, en detrimento de la inversión en caracteres de defensa, pero en ambientes con menor disponibilidad de recursos la tasa de asimilación neta, el crecimiento y el metabolismo secundario están positivamente correlacionados. Esto es porque, cualquier factor que limite al crecimiento más que a la fotosíntesis, como la sequía moderada (Wardlaw 1969), incrementará la disponibilidad de productos de fotosíntesis para el metabolismo secundario sin generar un compromiso con el crecimiento (Herms & Mattson 1992). Esto también explicaría por qué la remoción de las espinas en desarrollo no redundó en un incremento en la tasa relativa de crecimiento de las ramas desespinadas. Como se desarrolló en la introducción, en diferentes sistemas se ha demostrado que las espinas tienen un costo, al punto de que la remoción de espinas (en un contexto de ausencia de ramoneo) puede incrementar la producción de frutos en las plantas (Gómez & Zamora 2002). En el caso de esta tesis se esperaba que la remoción de espinas (principalmente las que estaban en desarrollo) dejara disponible para el crecimiento una mayor cantidad de productos de fotosíntesis. Por lo tanto se esperaba que, aquellas ramas desespinadas que no fueran consumidas crecieran más que los controles respectivos.

Tampoco se encontraron diferencias en la tasa relativa de crecimiento basal (en ausencia de corte) entre individuos procedentes de distintas historias de herbivoría, en leñosas residentes o en leñosas y gramíneas descendientes, lo cual no niega la posibilidad de una adaptación local, pero contrasta con lo encontrado por Turley et al. (2013). Los resultados indican que, en el caso de las gramíneas, la historia de herbivoría por ungulados domésticos no afecta la tasa relativa de crecimiento, la supervivencia o la tolerancia a la remoción de biomasa de ejemplares creciendo en condiciones de campo, ni de los descendientes de estas poblaciones, cultivados en jardín común. O sea, la evidencia más directa no permite afirmar que las poblaciones con historia de herbivoría severa se encuentren más adaptadas y/o aclimatadas a la remoción de biomasa, es decir que en el caso de las gramíneas la predicción **P5.3** no es apoyada, pero tampoco se la contradice. Sin embargo, los resultados de las Secciones 5 y 7 sí brindan evidencia que apoya la hipótesis **H5**.

En el experimento con descendientes de *N. lophostachya* y de *T. pluriflora*, donde se contó con un grupo control de la variable crecimiento, se pudo constatar que hay efectos diferentes entre especies y que *N. lophostachya* parece particularmente sensible a la remoción de biomasa, la que tuvo un impacto

negativo sobre la tasa relativa de crecimiento. Los ejemplares de la otra especie, en cambio, mantuvieron su tasa relativa de crecimiento independientemente de la intensidad del tratamiento de corte (Figura 9.3). Como se verá más adelante, esto tiene su correlato en los tratamientos de quema. A pesar de estas diferencias, ninguna de las dos especies pudo compensar la biomasa perdida en el lapso temporal considerado (Figura 9.4).

Trabajos previos han mostrado que, comúnmente, después del disturbio la tasa de crecimiento disminuye abruptamente y luego, se incrementa hasta compensar (o sobre-compensar) la biomasa perdida en un lapso temporal de hasta 100 días (Oosterheld & McNaughton 1988; Ferraro & Oosterheld 2002). Los mismos trabajos reportan que los cambios en la tasa relativa de crecimiento inducidos por el corte pueden variar entre ecotipos de una misma especie (Oosterheld & McNaughton 1988), por lo que cabe la posibilidad de que efectos diferenciales de la historia de herbivoría sobre la tasa relativa de crecimiento y la tolerancia se manifiesten a más largo plazo y no hayan sido captados en el intervalo considerado.

En las leñosas descendientes de *P. flexuosa* y *P. torquata*, tampoco se observó efecto alguno de la historia de herbivoría en la tasa relativa de crecimiento ante tratamiento de corte. Tampoco hubo efecto del tratamiento en la tasa relativa de crecimiento, es decir que los ejemplares continuaron creciendo a la misma tasa con que lo hubieran hecho sin ese disturbio. Por lo tanto, se puede inferir que los descendientes provenientes de ambas historias de herbivoría, en ambas especies, fueron igualmente tolerantes. Sin embargo, no es posible conocer si alcanzaron a compensar la biomasa perdida porque no se midió cada ejemplar previo al corte, para calcular su tolerancia.

Sin embargo, en el caso de *P. totquata* se encontró que los ejemplares residentes de poblaciones con historia de herbivoría severa tuvieron mayor tolerancia y compensaron la biomasa removida por corte, lo cual no se observó en los ejemplares de historia de herbivoría leve (Figura 9.6). Este efecto sólo se observó en las ramas altas. Esto, junto al hecho de que las ramas bajas en conjunto crecieron menos que las altas, y su crecimiento fue apenas superior a cero, hace pensar que las diferencias se observaron en las ramas altas y no en las bajas porque estas últimas tendrían su crecimiento inhibido por algún fenómeno fisiológico como la dominancia apical. Por todo esto, parecería que la herbivoría por ungulados domésticos sí actúa como una presión de selección sobre las leñosas, dando como resultado poblaciones más tolerantes a la remoción de biomasa. O sea, la evidencia empírica en el caso de las leñosas, apoya la predicción **P5.3**. Esto implicaría que, en el caso de las leñosas si bien no están más aclimatadas a la remoción de biomasa si están más adaptadas a dicho disturbio.

Por otro lado, los resultados reportados muestran que los caracteres foliares del EEF están muy integrados, de manera que cambios en AFE en un sentido siempre fueron acompañados de cambios

recíprocos en sentido inverso en CMS. Sin embargo, se observan varios casos, como por ejemplo descendientes de *T. pluriflora* y en las gramíneas residentes en general, donde los cambios en FTF no fueron acompañados por cambios en CMS en el mismo sentido. La situación es particularmente interesante, por lo clara, en los descendientes de *T. pluriflora* que, sometidos a tratamientos de corte, lograron mantener una FTF similar a la del control a pesar de disminuir significativamente su CMS y aumentar AFE. Esto contrasta con lo que se observa en *N. lophostachya*, donde los tres caracteres cambiaron de manera coordinada y recíproca. Este último caso es consistente con una situación donde este cambiando principalmente la relación célula:pared. Mientras que, en los descendientes de *T. pluriflora*, además de la relación célula:pared estaría cambiando la dureza específica del material (γ), de manera de compensar la disminución de CMS, lo que permitiría tener hojas más baratas en carbono pero no menos longevas. Este sería un caso en el que el EEF se estaría desplazando a una posición más elevada en el paisaje adaptativo, ya que para una longevidad constante se lograría una mayor AFE (y presumiblemente una mayor A_m), mientras que en *N. lophostachya* se trataría de un cambio de posición sobre el mismo eje y no un desplazamiento del eje.

10 - Efectos evolutivos de la herbivoría de ungulados domésticos sobre la tolerancia al fuego

10.1 - Objetivos

OE2.5: Determinar si la adaptación a la herbivoría en descendientes, cultivados en jardín común, genera una adaptación secundaria de tolerancia al fuego. Esto es:

a) Determinar si la historia de herbivoría de las poblaciones residentes tienen efecto en la capacidad de supervivencia y rebrote de los descendientes ante un evento de quema.

b) Explorar las correlaciones entre la tolerancia al fuego y la tolerancia a la herbivoría simulada por corte.

10.2 - Hipótesis y predicciones

H6: La adaptación a la herbivoría resulta en tolerancia al fuego como adaptación secundaria.

P6.1: Los descendientes de poblaciones con historia de herbivoría severa tendrán una mayor supervivencia y tasa de crecimiento ante la aplicación experimental de fuego.

P6.2: Las familias de descendientes que presenten mayor tolerancia a la remoción de biomasa por corte, tendrán una mayor aptitud (=“fitness”; expresado como tasa de crecimiento y supervivencia) ante la aplicación experimental de fuego.

10.3 - Metodología específica

Aquí se analizaron los resultados del experimento de quema practicado sobre los descendientes de gramíneas y leñosas. El procedimiento seguido en el experimento se desarrolla en Materiales y Métodos Generales y en la Metodología específica de la Sección 5. Las variables respuestas son el rebrote, considerado como una variable binomial (si/no), y la intensidad del rebrote que es una variable continua. Esta última, medida solamente en los ejemplares que rebrotaron, es la biomasa aérea producida en el caso de las gramíneas, o la longitud total de los brotes producidos (divido el tiempo en días) en el caso de las leñosas. En las leñosas se dividió por el tiempo trascurrido porque hubo hasta 20 días de diferencia en la medición del rebrote entre ejemplares (se midió el rebrote producido a los 58-63 días para *P. flexuosa*; 71-77 días para *P. torquata* y 73-78 días para *A. aroma*), mientras que en las gramíneas se cosechó la biomasa aérea producida de todos los ejemplares quemados en un mismo día (40 días post-quema).

Al analizar las variables respuesta se consideró la posibilidad de que el tamaño del individuo, previo a la quema, tuviera efecto sobre éstas. Para contemplar esta posibilidad, y dado que los estimadores de tamaño no fueron iguales en todas las especies (ver Metodología específica de la Sección 5), se incorporó en los modelos estadísticos el tamaño relativo. El tamaño relativo es el valor de la variable indicadora del tamaño dividido el valor máximo de dicha variable para la especie correspondiente. De esta manera el tamaño relativo de cada ejemplar queda expresado como proporción del ejemplar más grande de su especie y queda acotada entre cero y uno.

La variable rebrote (binomial) se analizó mediante modelos lineales generalizados mixtos, con la función “*glmer*” del paquete “*lme4*” (Bates et al. 2015), mientras que la variable intensidad de rebrote se analizó mediante modelos lineales mixtos con la función “*lme*” del paquete “*nlme*” (Pinheiro et al. 2017), todo esto en el entorno R (R Core Team 2017). En todos los casos los factores de efecto fijo fueron la especie, la historia de herbivoría de los sitios de procedencia, el tamaño relativo del ejemplar y la interacción entre ambos. Mientras que el factor de efecto aleatorio incorporado fue el evento de quema, cabe recordar que en cada evento se quemaron ocho ejemplares.

Los resultados se analizaron a nivel de individuo y a nivel de familia genética u origen de las semillas. La tolerancia al fuego (rebrote e intensidad de rebrote) en función de la historia de herbivoría se analizó a nivel de individuo y para todas las especies donde hubo rebrote. La relación entre tolerancia a la remoción de biomasa por corte y la tolerancia al fuego se analizó a nivel de familia, ya que no se practicaron ambos tratamientos sobre un sólo ejemplar. A su vez este análisis se realizó en las especies donde, además del tratamiento de quema se aplicaron los tratamientos de corte. En las gramíneas descendientes, debido a que en *N. lophostachya* no hubo rebrote post-quema, sólo se pudo hacer este análisis para *T. pluriflora*. En las leñosas descendientes se llevó a cabo en las dos especies de *Prosopis*. Para los análisis a nivel de familia genética se calculó la variable tolerancia familiar a corte (*Tf*; ecuación 21) y se analizó esta variable en función del rebrote (binomial) mediante un modelo lineal mixto, donde el evento de quema fue incorporado como factor de efecto aleatorio. Asimismo se analizó la correlación entre *Tf* y la intensidad del rebrote.

En todos los casos se implementaron procedimientos de selección de modelos (backward y forward) para elegir el mejor modelo según el criterio AIC. Cuando los dos procedimientos no convergieron a una solución única se completó el procedimiento de manera manual hasta probar todos los modelos posibles intermedios y seleccionar el mejor. Los estadísticos descriptivos representados en las figuras (media y error estándar de la media) y el nivel de significancia corresponden a lo estimado a partir de los modelos estadísticos seleccionados, que también se informan en los resultados. Cuando, a partir de un modelo ajustado fue necesario hacer contrastes *a posteriori*, para establecer la significancia de diferencias entre

determinados grupos, los p-valores fueron corregidos mediante el método de Hommel (1988) según el número de comparaciones. La cantidad de ejemplares sometidos a tratamiento de quema por especie e historia de herbivoría se detallan en la Tabla 10.1.

Tabla 10.1. Cantidad de ejemplares de cada especie e historia de herbivoría sometidos a tratamiento de quema.

<u>Especie</u>	<u>Historia de herbivoría</u>	
	<u>leve</u>	<u>severa</u>
<i>A. mendocina</i>	15	16
<i>G. paraguayensis</i>	18	7
<i>N. lophostachya</i>	14	15
<i>S. pyramidatus</i>	17	17
<i>T. crinita</i>	18	17
<i>T. pluriflora</i>	20	15
<i>A. aroma</i>	13	19
<i>A. gilliesii</i>	6	10
<i>P. flexuosa</i>	20	18
<i>P. torquata</i>	14	13

10.4 - Resultados

10.4.1 - Gramíneas

La probabilidad de rebrote post-quema difirió notablemente en función de la especie. En *N. lophostachya* no hubo ningún sobreviviente de los 29 ejemplares descendiente quemados. En *A. mendocina* y *G. paraguayensis* sobrevivieron dos de cada especie, de un total de 31 y 25 ejemplares descendientes quemados respectivamente. En *S. pyramidatus* rebrotaron 5 de los 34 ejemplares descendientes quemados. En las especies del género *Trichloris* fue donde se registró mayor sobrevida, en *T. crinita* rebrotaron 26 de 35 ejemplares descendientes y en *T. pluriflora* lo hicieron 15 de 35 (Figura 5.4).

Dados estos resultados se decidió analizar solamente los datos de las especies del género *Trichloris*. El modelo que mejor explica los datos incorpora especie (spp) e historia (histo), con su interacción, y de manera aditiva, el tamaño relativo (TR) ($rebrote \sim spp * histo + TR$). El resultado de este modelo indica que el tamaño relativo tuvo un efecto positivo en la probabilidad de rebrote post-quema y que la historia de herbivoría tuvo efectos diferentes en *T. crinita* que en *T. pluriflora*. En la primera, la historia de herbivoría severa tendió a aumentar la probabilidad de rebrote mientras que en la segunda tendió a disminuirla (Figura 10.1). Dentro de cada especie, la probabilidad de rebrote no difirió significativamente según la historia de herbivoría. Los descendientes de historia de herbivoría leve mostraron probabilidades de rebrote muy similares en las dos especies, sin embargo los descendientes de

historia de herbivoría severa de *T. crinita* tienen mayor probabilidad de rebrote post-quema que los descendientes de historia de herbivoría severa de *T. pluriflora* (p-valor=0,003) (Figura 10.1).

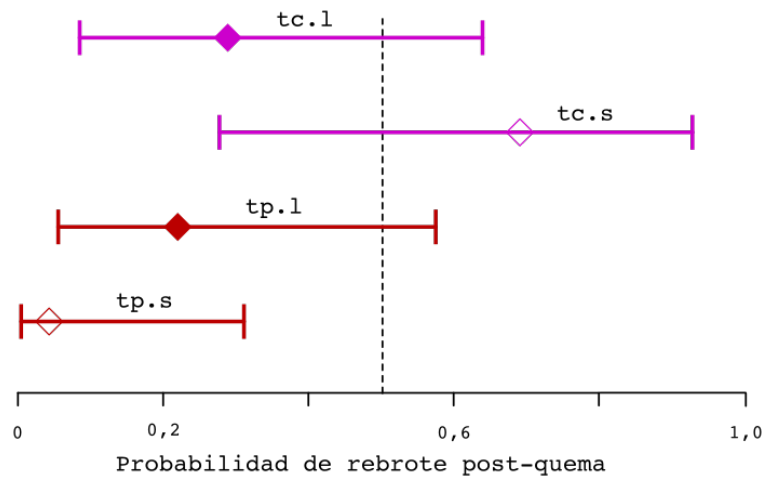


Figura 10.1. Probabilidad de rebrote post-quema (descontando el efecto del tamaño relativo) para los grupos **tc.l**: Descendientes de historia de herbivoría leve de *T. crinita*; **tc.s**: Descendientes de historia de herbivoría severa de *T. crinita*; **tp.l**: Descendientes de historia de herbivoría leve de *T. pluriflora*; **tp.s**: Descendientes de historia de herbivoría severa de *T. pluriflora*. Se indica la probabilidad y el intervalo de confianza estimado por el modelo rebrote $\sim spp*histo + TR + (1|N_quema)$, donde *spp* es la especie, *histo* es la historia de herbivoría, *TR* el tamaño relativo y *N_quema* el evento de quema, éste último como factor de efecto aleatorio. La probabilidad de rebrote de *tc.s* es mayor que la de *tp.s* (p-valor=0,003). La línea punteada indica la probabilidad de rebrote igual al azar (0,5).

En cuanto a la intensidad del rebrote, esto es, la biomasa aérea generada post-quema en aquellos ejemplares que rebrotaron, no se encontró efecto ni de la historia de herbivoría ni del tamaño relativo previo a la quema, ni se encontraron diferencias entre las dos especies. Tampoco se encontró relación entre la tolerancia a la remoción de biomasa por corte y por quema, ya que no se encontró ninguna relación entre *Tf* y rebrote, ni entre *Tf* e intensidad del rebrote.

10.4.2 - Leñosas

Entre las leñosas descendientes sometidas a tratamiento de quema se encontró que *A. gilliesii* fue particularmente susceptible al fuego, no rebrotando ninguno de los 16 ejemplares quemados. En *A. aroma* rebrotaron 17 de 32, en *P. flexuosa* 10 de 38 y en *P. torquata* 6 de 27 (Figura 5.7). Dado que ni el tamaño relativo ni la historia de herbivoría fueron retenidos en el proceso de selección de modelos, no hubo efecto de estos factores sobre la probabilidad de rebrote ni sobre la intensidad de rebrote, y sólo se encontraron diferencias entre especies. Sin embargo, las plantas que rebrotaron vienen de familias de medios hermanos que también fueron más tolerantes al corte severo (Figura 10.2). Sin diferencias entre las dos especies de *Prosopis*, se observó que el grupo de ejemplares que rebrotaron post-quema corresponde a familias con *Tf* significativamente mayor que el grupo de ejemplares que no rebrotó. No se encontró correlación entre *Tf* y la intensidad de rebrote.

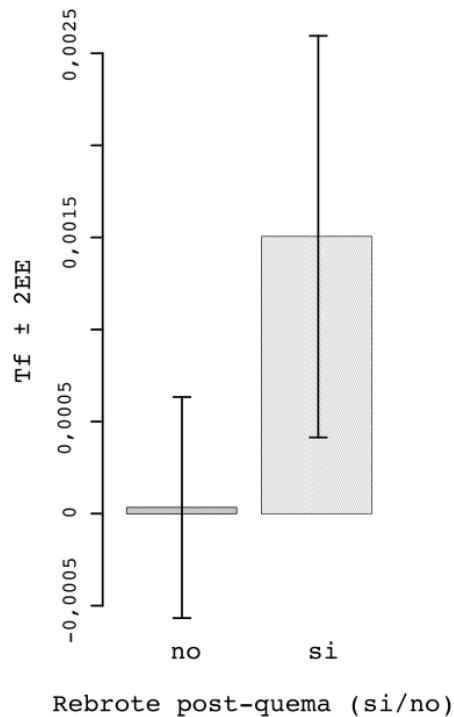


Figura 10.2. Tolerancia al corte, a nivel familiar (T_f), en función de la tolerancia a quema. Media ($\pm 2EE$) de la diferencia en tasa relativa de crecimiento entre el individuo sometido a corte severo y el control de cada familia de descendientes, en función de la tolerancia a quema del individuo quemado de la misma familia para cada grupo, estimado según el mejor modelo ajustado (Estructura de factores de efecto fijo: $T_f \sim \text{rebrote}$).

10.5 - Discusión y conclusiones parciales

Los resultados aquí reportados arrojan evidencia parcial en favor de la hipótesis **H6** de que la adaptación a la herbivoría resulta en tolerancia al fuego como adaptación secundaria, pero sin ser concluyentes en esa dirección. La asociación positiva entre la tolerancia al corte y al fuego en las familias genéticas de ambas especies de *Prosopis* (evidencia a favor de la predicción **P6.2**) y la tendencia hacia una mayor probabilidad de rebrote post-quema observada en los descendientes de historia de herbivoría severa de *T. crinita* (evidencia a favor de la predicción **P6.1**), apoyan dicha hipótesis.

Por otro lado, en *T. pluriflora*, el efecto de la historia de herbivoría severa sobre la probabilidad de rebrote post-quema tendió a ser negativo. Esta evidencia refuta la predicción **P6.1** de dicha hipótesis y sugiere que el efecto de la herbivoría sobre la tolerancia al fuego es especie-dependiente. Sin embargo, cabe recordar que en las gramíneas, al comparar los ejemplares descendientes de poblaciones con diferentes historias de herbivoría, no se encontró evidencia directa de que la historia de herbivoría promoviera una mayor tolerancia a la remoción de biomasa (Sección 9). Por lo que, no habiendo efecto de la historia de herbivoría sobre la tolerancia a la remoción de biomasa por corte, no se puede poner a prueba la hipótesis aún si hubiera efectos sobre la tolerancia a la quema. Tampoco se encontró ningún

efecto significativo de la historia de herbivoría ni de *Tf* en la intensidad del rebrote, dejando sin soporte empírico parte de las predicciones pero sin contradecirlas.

Algunos de los resultados experimentales a nivel de especie son consistentes con observaciones hechas en incendios accidentales en la misma zona de estudio. Jaureguiberry (2012) estudió el rebrote en especies leñosas y herbáceas (principalmente gramíneas) del Chaco Occidental de Córdoba. Las especies leñosas consideradas en su estudio incluyen las cuatro estudiadas aquí y sus resultados también muestran que *A. gilliesii* es la menos tolerante al fuego de las cuatro, y una de las menos tolerantes de todas las contempladas en su análisis. Respecto de las gramíneas, Jaureguiberry (2012) no analiza la supervivencia por especie debido a la imposibilidad de identificarlas en el campo luego de haber sido quemadas, pero informa que en los lugares donde el fuego fue de alta intensidad no se observó rebrote de graminoides con excepción de unos pocos individuos aislados, lo que sería consistente con la baja tolerancia al fuego encontrada en la mayoría de las especies de gramíneas abordadas en esta tesis. Además, se observó que los pocos individuos aislados que rebrotaron en los sitios con altas intensidades de fuego correspondían a ejemplares de las especies de mayor porte, nunca a *N. lophostachya*, *S. pyramidatus*, *A. mendocina*, o *G. paraguayensis* (Pedro Jaureguiberry, comunicación personal), especies que en el presente experimento también mostraron poca tolerancia a la quema. De *G. paraguayensis*, además, nunca se encontraron ejemplares rebrotados en los incendios accidentales estudiados por Jaureguiberry (2012).

Otros autores, trabajando con especies leñosas similares, encuentran fuertes relaciones entre el tamaño de los ejemplares previo al fuego y diferentes métricas del rebrote (Gurvich et al. 2005, Jaureguiberry 2012), sin embargo aquí no se encontró ninguna relación. Esta diferencia con la bibliografía existente puede deberse, con bastante probabilidad, a la gran diferencia que hay entre los ejemplares estudiados en cada caso. En esta tesis se estudiaron ejemplares pequeños y todos de la misma edad, por lo que el rango de tamaños abarcado es estrecho y ubicado hacia el extremo de menor tamaño, respecto de los trabajos citados. Estos trabajos estudiaron incendios dentro de los sistemas naturales, por lo que el rango de tamaños de los ejemplares incluidos en esos estudios es mucho más amplio.

En suma, la evidencia generada apunta a que, en las leñosas, la adaptación a la remoción de biomasa por herbivoría (tolerancia) redundó en una adaptación secundaria de tolerancia al fuego. Mientras que en las gramíneas no se encontró evidencia en este sentido, pero tampoco en sentido opuesto. Además, en las gramíneas, la historia de herbivoría severa generó tendencias opuestas en las dos especies donde se puso a prueba la predicción **P6.1**, no permitiendo hacer alguna generalización al respecto.

11 - Discusión y conclusiones generales

Si bien la variabilidad intra-específica siempre está en el corazón de la biología evolutiva y está presente en la ecología funcional desde sus comienzos (Calow 1987), la ecología funcional de plantas se desarrolló fuertemente desde un enfoque comunitario y ecosistémico, centrándose en la variabilidad inter-específica. En los últimos años se ha comenzado a considerar la relevancia de la variabilidad intra-específica de los caracteres funcionales para lograr una síntesis que trascienda diferentes escalas y niveles de organización (Albert et al. 2011; Violle et al. 2012). Sin embargo, es aún escasa la información a este respecto y casi inexistentes los estudios que abordan el EEF a nivel intra-específico (Donovan et al. 2011; Niinemets 2015; Anderegg et al. 2017). Asimismo, hasta la actualidad, la información disponible respecto del efecto de la herbivoría sobre el EEF a nivel intra-específico es escasa y, mayoritariamente, convergente de otros marcos teóricos que se vinculan tangencialmente (Oosterheld & McNaughton 1988; Georgiadis et al. 1989; McNaughton 1992; Bråthen & Odasz-Albrigtsen 2000; Rotundo & Aguiar 2008; Lind et al. 2012; Whitworth-Hulse et al. 2016).

En esta tesis se presenta evidencia a favor y en contra de las distintas hipótesis y predicciones planteadas. Dado que algunas de la hipótesis comprendían varias predicciones, que encontraron diferente grado de apoyo empírico, a continuación se discuten primero las predicciones, resumidas en la Tabla 11.1. Se señala cada predicción en la tabla y en el texto con “+” cuando se encontró evidencia que la apoya, “-” cuando se encontró evidencia que la contradice y “~” cuando la evidencia no la apoya ni la contradice. Al final de esta sección, se discuten las hipótesis de modo más general.

Esta tesis provee evidencia de que los caracteres foliares que participan del EEF global muestran los mismos patrones cualitativos de co-variación a nivel intra-específico. Por lo tanto es posible que la estructura causal propuesta a nivel inter-específico sea aplicable a niveles inferiores (+P1.1). Además, se observó que los caracteres foliares del EEF están muy integrados a nivel intra-específico, de manera que cambios en uno de ellos casi siempre va acompañado de cambios recíprocos en el resto, siguiendo el sentido de la estructura causal propuesta. Sin embargo, también se observó que la variabilidad intra-específica de dichos caracteres y de las relaciones entre ellos es muy amplia. Esa amplitud tiene una fuerte componente plástica pero también una componente hereditaria, lo que daría sustrato a procesos evolutivos por selección natural. Esto es consistente con los antecedentes reportados por Donovan et al. (2011) respecto de la amplia variabilidad genética de los caracteres del EEF y su consecuente heredabilidad. No obstante, contrasta con los datos reportados por estos investigadores en que en ningún caso se encontró evidencia de correlaciones entre caracteres que contradijeran el EEF. Incluso en las mediciones hechas sobre ejemplares descendientes, cultivados en jardín común, siempre el patrón de correlaciones confirmó la existencia de un eje principal de variación consistente con el encontrado a nivel inter-específico. Sin embargo desde el punto de vista cuantitativo, se encontraron diferencias entre

los EEF intra-específicos de cada especie e incluso entre poblaciones de la misma especie pero con diferentes historias de herbivoría. Esto sugiere que en la estructura causal propuesta (Figura 3.1) pueden faltar variables independientes que le den más libertad a dicha estructura, así como la dureza específica del material.

La herbivoría por ganado actúa sobre la diversidad intra-específica del EEF, seleccionando síndromes más adquisitivos e induciendo respuestas plásticas en el mismo sentido, en las gramíneas (+P3.1; +P3.2; +P5.2). Estos cambios, tanto fenotípicos como trans-generacionales, parecen ser adaptativos ante la herbivoría, a la luz de que en los experimentos de corte con gramíneas descendientes se observó que, en presencia de disturbio, hay un efecto positivo de la adquisitividad sobre la tolerancia (+P2.1). Si bien no se encontró que las gramíneas residentes ni descendientes de historia de herbivoría severa fueran más tolerantes a la remoción de biomasa (~P5.3), el efecto contundente de la historia de herbivoría sobre el EEF, y el efecto positivo de éste sobre la tolerancia hace pensar que puede haber un efecto, quizás indirecto y mediado por el EEF, de la herbivoría sobre la tolerancia. Al respecto ya se mencionaron algunos antecedentes previos donde se muestra que la historia de herbivoría selecciona fenotipos más tolerantes de gramíneas y que el incremento de AFE sería uno de los mecanismos mediante el cual se alcanza esa mayor tolerancia (Oesterheld & McNaughton 1988). Además, estos resultados concuerdan con algunos mecanismos de tolerancia propuestos (Stowe et al. 2000), y también son consistentes con estudios previos, realizados en pastizales pastoreados por ganado, donde detectaron que las especies más tolerantes (aquellas que aumentaban o no disminuían su abundancia relativa a la condición no pastoreada cuando el pastoreo es intenso) presentaban hojas con menor FTF y mayor AFE (Díaz et al. 2001; Cingolani et al. 2005).

La herbivoría no solo actúa sobre los caracteres, sino sobre las relaciones entre ellos, promoviendo cambios en la orientación del EEF. Estos cambios son en gran medida plásticos, ya que como se observó en las gramíneas residentes, algunas diferencias encontradas en el campo desaparecen luego de un periodo bajo condiciones de jardín común. Sin embargo, hay alguna componente heredable, ya que también se encontraron diferencias de esta naturaleza en los descendientes cultivados desde semilla en condiciones de jardín común. Todo esto pone en evidencia que, si bien los compromisos fundamentales que dan origen al EEF atraviesan las diferentes escalas (+P1.1), la variabilidad en todos los aspectos relacionados al EEF no parecen ser limitantes para la evolución del mismo. Como también se reporta en estudios previos tanto a nivel de patrones biogeográficos del EEF (Heberling & Fridley 2012), como en mediciones de genética cuantitativa de los caracteres y sus relaciones a nivel intra-específico (Donovan et al. 2011).

En las gramíneas, el carácter menos variable en función de la historia de herbivoría fue el CMS. Pero, en especies donde no se observaron cambios en esta variable, se observaron cambios en AFE y FTF, lo que hace pensar que la relación célula:pared es menos variable que otros caracteres a nivel intra-específico. Por el contrario, pareciera que el espesor foliar (EF) es mucho más plástico y con mayor variabilidad genética (o epigenética). Cambios en esta variable generarían cambios en la FTF y en AFE sin afectar al CMS. Pero también es factible que haya cambios en la dureza específica del material (γ) asociado a la historia de herbivoría. De esta manera la herbivoría por ungulados domésticos estaría promoviendo cambios plásticos y evolutivos sobre diferentes variables como la relación célula:pared, el EF y la dureza específica del material (γ), produciendo un desplazamiento hacia síndromes más adquisitivos y configurando poblaciones que difieren en la matriz de correlaciones de sus caracteres.

A su vez, parece que la relación entre EEF y crecimiento no es unidireccional, ya que mientras mayor fue el efecto negativo del disturbio sobre la tasa relativa de crecimiento, las plantas produjeron hojas más adquisitivas (y más “baratas” en términos de carbono). Es decir que una posición más adquisitiva en el EEF contribuye a una mayor tolerancia ante la herbivoría (+H2) pero, a su vez, el impacto negativo del disturbio sobre la tasa relativa de crecimiento se asocia a una respuesta plástica hacia mayor adquisitividad. Los mecanismos que podrían mediar esta relación son desconocidos pero parece ser una respuesta inducida, proporcional a la severidad del disturbio, es decir a la magnitud del impacto negativo del disturbio sobre la tasa relativa de crecimiento. Esta respuesta contribuiría a compensar la biomasa perdida, dentro de un cierto lapso (Oosterheld & McNaughton 1988). De acuerdo a la literatura, es común en las gramíneas que inmediatamente después del disturbio la tasa de crecimiento disminuya abruptamente y luego se incrementa hasta compensar (o sobre-compensar) la biomasa perdida (Oosterheld & McNaughton 1988; Ferraro & Oosterheld 2002). Parece bastante claro, en las gramíneas, que una mayor adquisitividad otorga mayor tolerancia a la remoción de biomasa, lo cual constituye una ventaja adaptativa en un contexto de herbivoría. Sin embargo para poder comprender la relevancia del EEF intra-específico en un contexto evolutivo sería necesario establecer si tiene un efecto sobre la tasa de crecimiento en diferentes contextos de disponibilidad de recursos, competencia y herbivoría. Esto aportaría importantes pistas respecto de la evolución del EEF tanto a nivel intra-específico como a nivel global.

También es importante destacar que puede haber respuestas adaptativas de las plantas a la herbivoría, que redunden en mayor tolerancia a la herbivoría y que no dependan de la compensación de la biomasa removida. Aquí se escogió tal abordaje por su vínculo con el EEF y por sus consiguientes consecuencias comunitarias y ecosistémicas. Sin embargo, en estudios previos se ha mostrado que historias contrastantes de herbivoría por ungulados domésticos conduce a genotipos con diferente

tolerancia a tratamientos de corte en *T. crinita*. Pero esta tolerancia se expresa en la producción de semillas y no en la biomasa vegetativa producida (Quiroga et al. 2010).

En las leñosas no se encontró ninguna relación entre la tolerancia a la remoción de biomasa por corte y el EEF (~**P2.1**). Sin embargo sí se observó un efecto de la historia de herbivoría en la tolerancia a la remoción de biomasa aérea (en residentes de *P. torquata*) (+**P5.3**). Si bien este efecto luego no se corrobora en los descendientes (~**P5.3**), es notable que en una especie leñosa cuyos tiempos generacionales son mucho más prolongados que los de las gramíneas, puedan observarse diferencias en este sentido, que es claramente adaptativo y que no puede ser atribuido a una respuesta plástica, porque la tolerancia es en sí misma la plasticidad de la aptitud (fitness) en un gradiente de disturbio. Otros autores también han encontrado que el ramoneo puede estimular un crecimiento más vigoroso (Danell et al. 1985; Du Toit et al. 1990), pero no se encontraron antecedentes previos que muestren diferencias intra-específicas, en leñosas, respecto a la tolerancia a herbivoría asociada a diferentes historias recientes de ramoneo.

En las leñosas, el efecto de la herbivoría por ungulados domésticos tiene un efecto diferente al que tiene sobre las gramíneas, llegando a ser inverso en ciertos aspectos. En primer lugar, los cambios de caracteres foliares sobre AFE y CMS (tanto en residentes como en descendientes) parecerían indicar que el ramoneo promueve un síndrome foliar más conservador. Sin embargo, los caracteres químicos, cuando diferentes, cambian en sentido opuesto (+/-**P3.1**; -**P3.2**). Dichos caracteres no parecen estar moldeados por cambios plásticos en respuesta al ramoneo actual, ya que las diferencias entre la parte alta y baja de los ejemplares residentes se mantiene independientemente de la historia de herbivoría, y no se encontraron respuestas plásticas de los caracteres foliares, ante el tratamiento de corte, ni en los ejemplares residentes ni en los descendientes (~**P5.1**, ~**P5.2**).

Un factor que puede estar interfiriendo es la herbivoría por invertebrados, mucho más selectiva, la cual, como se desarrolló en la introducción, tendría un efecto antagónico sobre los caracteres del EEF. Si bien, como se explicó en Materiales y Métodos Generales, en el área de estudio la herbivoría de mamíferos es unas cinco veces mayor que la de invertebrados, las leguminosas leñosas muestran un patrón peculiar. Se ha documentado que, en el área de estudio, el consumo de área foliar de *A. gilliesii* por vertebrados es mayor que el consumo por invertebrados (Enrico 2009). Sin embargo en las otras especies de los géneros *Prosopis* y *Acacia* estudiadas por Enrico (2009) (*P. flexuosa*, *P. torquata*, *P. nigra*, *A. caven*) en un gradiente de productividad primaria que incluye el área de estudio de esta tesis, los invertebrados consumen más área foliar que los vertebrados. Si bien estos resultados no son directamente aplicables a la situación experimental de esta tesis, debido a que el estudio citado estimó el consumo por vertebrados en sitios con cargas ganaderas consideradas sustentables y no en la piósfera,

donde las cargas puntuales son muy superiores, indican claramente que las especies leñosas seleccionadas en esta tesis, en general soportan una importante presión de herbivoría de invertebrados. Si la hipótesis respecto del efecto de la herbivoría por ganado sobre el EEF resultara correcta, como parecen indicarlo los resultados obtenidos con las gramíneas, esto tendría un efecto positivo sobre los herbívoros invertebrados, que incrementarían su presión sobre las plantas, que se mostrarán más adquisitivas, posiblemente contrarrestando tal efecto. Dado que las especies leñosas seleccionadas pueden escapar del ganado (pero no de los invertebrados) es posible que un síndrome más adquisitivo no sea seleccionado positivamente. Este tipo de interacciones indirectas, con efectos positivos entre herbívoros, han sido documentadas en otros sistemas de estudio tanto entre invertebrados (Ohgushi 2005) como entre vertebrados e invertebrados (Lind et al. 2012).

Tampoco puede descartarse la posibilidad, discutida en la Sección 7.5, de que la herbivoría por ungulados seleccione hojas más pequeñas sobre todo en los estadios tempranos del desarrollo y antes de que los ejemplares puedan escapar en altura del ramoneo. Se ha reportado recurrentemente en la literatura que el ganado promueve comunidades con menor AF (Díaz et al. 1992), que las especies con menores AF resultan menos susceptibles al pastoreo (Díaz et al. 2001) y que a nivel intra-específico, poblaciones sometidas a intenso uso ganadero tienen menor AF (Díaz et al. 1992; Whitworth-Hulse et al. 2016). En la presente tesis se encuentra el mismo patrón, principalmente en los ejemplares descendientes. Debido a la fuerte correlación fenotípica que tiene AFE con AF y con el CMS, una selección directa hacia menor AF podría tener como consecuencia una evolución por selección indirecta hacia menor AFE y mayor CMS. En las especies leñosas, y a nivel intra-específico, no se encontró correlación entre N_m , ni relación C:N, con el AF. Por tal motivo una fuerza de selección sobre el AF no afectará a dichos caracteres químicos de la hoja. Esto explicaría por qué el conjunto de caracteres AF, AFE y CMS muestra un patrón de cambio inverso a N_m y C:N en función de la historia de herbivoría en las especies leñosas de esta tesis. Todo esto pone de manifiesto la importancia de considerar posibles efectos evolutivos indirectos en el estudio de la evolución del EEF.

Las correlaciones de los caracteres foliares del EEF a nivel intra-específico, los cambios coordinados en estos caracteres y los posibles efectos de selección indirecta ponen en relieve la necesidad de comenzar a considerar el conjunto de caracteres del EEF como un módulo evolutivo. Esto implica la necesidad de conocer el grado de integración de los caracteres involucrados y profundizar en la naturaleza de las relaciones que determinan dicho módulo. En consecuencia, abordar la evolución de todos ellos en conjunto. Pero también se plantea otra posibilidad, la de establecer, medir y analizar las variables independientes causales del EEF. Según se describe en la Figura 3.1 (Shipley et al. 2006a; Onoda et al. 2017), estas causas parentales podrían ser la proporción celular:pared, la proporción de aire, el espesor foliar y la dureza específica del material. Según la estructura causal propuesta, estas cuatro

variables son independientes y determinan todo el patrón de correlaciones del EEF. Medir estas variables de manera directa representa importantes desafíos metodológicos pero podría contribuir a una mejor comprensión del EEF a diferentes niveles de organización y sobre cómo diferentes factores ambientales (bióticos y abióticos) actúan sobre el mismo.

Por otro lado, en las especies leñosas se observó que la historia de herbivoría severa se asocia con espinas de mayor tamaño y mayor cobertura de espinas, tanto en los ejemplares residentes como en los descendientes (+P4.1; +P4.2). Esto indica que las diferencias que se observan en el campo tienen una componente heredable (genética o epigenética, como p. ej. efecto materno). Sin embargo la respuesta a tratamientos de corte, en términos de cambio en el tamaño de espinas no difirió entre historias de herbivoría (ni en residente ni descendientes). Por el contrario, se encontró que el tamaño y cobertura de espinas no parece estar sujeto a efectos plásticos por el ramoneo actual, ya que el efecto de la posición (en ramas altas o bajas) sobre el tamaño y cobertura de espinas es independiente de la historia de herbivoría. Es decir, la posición tiene algún efecto en el tamaño de las espinas, ya que este factor fue retenido en el proceso de selección de modelos, y la tendencia es que las espinas de la parte baja de los ejemplares sean mayores a las de la parte alta (aunque la diferencia no sea significativa a un nivel de confianza del 95%), pero la tendencia es la misma en ambas historias de herbivoría, por lo que no parece ser el ramoneo actual el que modele dicha diferencia. Además, en el experimento de corte los cambios en el tamaño de espina no estuvieron asociados al disturbio en sí, sino a la tasa relativa de crecimiento de las ramas durante la duración del mismo. Pero, siendo que en todos los casos las ramas bajas crecieron menos que las altas y por lo tanto sus espinas crecieron menos, pareciera que el tamaño de espinas en diferentes posiciones de la planta no está regulado solamente por el crecimiento.

A su vez, se encontró que la remoción de las espinas (maduras y en desarrollo), tanto en las ramas altas como bajas, no repercutió en un cambio en la tasa relativa de crecimiento, lo que indica que no hay un costo que comprometa al crecimiento, asociado a la generación y maduración de espinas. Otra evidencia en el mismo sentido es que el cambio en el tamaño de espinas, en respuesta a los tratamientos de corte, está correlacionado positivamente con los cambios en la tasa relativa de crecimiento. Como ya se desarrolló en la discusión de la Sección 9.5, este resultado es consistente con evidencia preexistente en sistemas con limitación de recursos (Koricheva 2002) y con el marco teórico que explica la inversión en defensas anti-herbívoro en las plantas en situaciones donde la tasa máxima de crecimiento es baja debido a una escasa disponibilidad de recursos, que limite al crecimiento más que a la fotosíntesis (Coley et al. 1985; Herms & Mattson 1992), como la sequía moderada que cabría esperar de una zona con marcado déficit hídrico estacional.

Tanto en las especies leñosas como en las gramíneas se observa que la historia de herbivoría no está modelando la plasticidad de los caracteres foliares. Sin embargo en todos los experimentos de corte, se observaron cambios diferenciales en los caracteres foliares en función de la historias de herbivoría pero no relacionados al tratamiento. Esto sugiere fuertemente que, a lo largo de la temporada de crecimiento, hay cambios fenológicos en los caracteres foliares y en el EEF, y que la historia de herbivoría estaría influyendo sobre esta fenología.

En cuanto a la tolerancia al fuego, la evidencia generada apunta a que la adaptación a la remoción de biomasa por herbivoría (tolerancia) redundante en una adaptación secundaria de tolerancia al fuego en las leñosas (+**P6.2**). Mientras que en las gramíneas no se encontró evidencia en este sentido, pero tampoco en sentido opuesto (~**P6.2**). A su vez, en las gramíneas, la historia de herbivoría severa generó tendencias opuestas en las dos especies cuando se puso a prueba la predicción 6.1 (+/- **P6.1**), no permitiendo generalizar al respecto. Además, no se encontró una relación entre el EEF y la tolerancia al fuego (~**P2.1**), para ninguno de los dos tipos funcionales de plantas (gramíneas y leñosas). Esto sugiere que los mecanismos subyacentes a la adaptación a la herbivoría en las leñosas, que redundan en tolerancia a la tolerancia al fuego, no están relacionados con la estrategia de uso de recursos. Mientras que en las gramíneas, una estrategia de uso de recursos más adquisitiva contribuye a la tolerancia a la herbivoría pero no reporta ningún beneficio ante el fuego.

Tabla 11.1. Resumen del soporte empírico hallado para cada una de las hipótesis y predicciones. “+”: la evidencia apoya la predicción. “~”: la evidencia no apoya la predicción pero tampoco la niega. “-”: la evidencia va en sentido opuesto a la predicción. “np”: predicción no puesta a prueba.

	<u>H1</u>	<u>H2</u>	<u>H3</u>		<u>H4</u>		<u>H5</u>			<u>H6</u>	
	<u>P1.1</u>	<u>P2.1</u>	<u>P3.1</u>	<u>P3.2</u>	<u>P4.1</u>	<u>P4.2</u>	<u>P5.1</u>	<u>P5.2</u>	<u>P5.3</u>	<u>P6.1</u>	<u>P6.2</u>
Gramíneas	+	+~	+	+	np	np	np	+	~	+~	~
Leñosas	+	~	+~	-	+	+	~	~	+~	~	+

Las distintas líneas de evidencia empírica generadas en esta tesis permiten obtener algunas conclusiones generales respecto a las hipótesis planteadas inicialmente. En primer lugar, se encontró un sólido apoyo a la hipótesis **H1** en los diferentes grupos funcionales de plantas (gramíneas y leñosas) y en las diferentes condiciones de estudio (campo y jardín común) por lo que se podría afirmar que las constricciones físicas que configuran el EEF son independientes de la escala y nivel de organización.

La hipótesis **H2** no encontró apoyo en su totalidad pero sí parcialmente. La adquisitividad es efectivamente un mecanismo que provee mayor tolerancia a la herbivoría, pero no reporta ningún beneficio ante la remoción de biomasa por quema. Por lo tanto se refuta el supuesto subyacente de que **necesariamente** un mecanismo que resulta adaptativo a la herbivoría, incrementando la tolerancia a la

misma, resulta en una exaptación al fuego. Estas observaciones se complementan con la evidencia relativa a la hipótesis **H6**, donde se encontró que efectivamente la adaptación a la herbivoría, en las leñosas, redundaba en tolerancia al fuego, pero no está relacionada con el EEF. Mientras que en las gramíneas no se encontró evidencia concluyente respecto de la **H6**.

La hipótesis **H3** es fuertemente apoyada por la evidencia en el caso de las gramíneas. En éstas, todas las observaciones indican que la herbivoría por ungulados promueve una mayor adquisitividad, como respuesta plástica y como cambio poblacional heredable, y esa mayor adquisitividad resulta adaptativa en un contexto donde el pastoreo es intenso y constituye la principal presión de herbivoría. En las leñosas la evidencia no es concluyente, pero debido a las consideraciones hechas anteriormente no podemos descartar que en estos casos el ramoneo de ungulados no sea la principal presión de herbivoría, o que aun siéndolo esté ejerciendo presiones de selección que resulten antagónicas en términos del EEF.

La hipótesis **H4**, que sólo aplica a las leñosas, fue apoyada en su totalidad. Esto implica que la herbivoría de ungulados domésticos tiene un efecto selectivo sobre las espinas como **defensa mecánica constitutiva**, ya que se encontró evidencia a favor de las predicciones **P4.1** y **P4.2**.

La hipótesis **H5** sólo tiene apoyo empírico directo en forma parcial, para la predicción **P5.3**, en el caso de las leñosas, y para la predicción **P5.2**, en el caso de las gramíneas, pero en ningún caso se encontró evidencia en sentido opuesto. Lo cual implica que las poblaciones de *P. torquata* con historia de herbivoría severa se encuentran más adaptadas a la remoción de biomasa por corte, ya que son más tolerantes a dicho disturbio; y que las gramíneas responden plásticamente al corte, haciéndose más adquisitivas. La falta de evidencia a favor de las predicciones **P5.1** y **P5.2** muestran que las poblaciones residentes no se encuentran más aclimatadas a la remoción de biomasa. Sin embargo también hay evidencia indirecta en apoyo a esta hipótesis. La evidencia conjunta a favor de las hipótesis **H2** y **H3** encontrada en las gramíneas también permiten inferir que las poblaciones de gramíneas con historia de herbivoría severa se encuentran más adaptadas a la remoción de biomasa por corte.

En suma, el EEF es un concepto válido a nivel intra-específico. La herbivoría por ungulados domésticos produce diferencias fenotípicas heredables, aún en tiempos “ecológicos” y escalas espaciales locales, seleccionando mayor tolerancia a la remoción de biomasa. Esta tolerancia es producto de una posición más adquisitiva en el EEF en el caso de las gramíneas pero no en las leñosas. En éstas últimas, la tolerancia a la herbivoría se hace extensiva a una mayor tolerancia a la remoción de biomasa por quema y no es contraria a un mayor desarrollo de defensas mecánicas constitutivas.

Bibliografía

- Acosta A, Díaz S, Menghi M & Cabido MR. 1992. **Patrones comunitarios a diferentes escalas espaciales en pastizales de las Sierras de Córdoba, Argentina.** *Revista Chilena de Historia Natural*, 65 (2): 195–207.
- Adler PB, Salguero-Gómez R, Compagnoni A, Hsu JS, Ray-Mukherjee J, Mbeau-Ache C & Franco M. 2014. **Functional traits explain variation in plant life history strategies.** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111 (2): 740–745.
- Albert CH, Thuiller W, Yoccoz NG, Soudant A, Boucher F, Saccone P & Lavorel S. 2010. **Intraspecific functional variability: extent, structure and sources of variation.** *Journal of Ecology*, 98 (3): 604–613.
- Albert CH, Grassein F, Schurr FM, Vieilledent G & Violle C. 2011. **When and how should intraspecific variability be considered in trait-based plant ecology?** *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 13 (3): 217–225.
- Anderegg L, Berner LT, Badgley G, Law BE & Hillerislambers J. 2017. **Traits on trial: Within-species trait variation challenges our understanding of the causes and consequences of trait variation and covariation.** *39 New Phytologist Symposium. Trait covariation: Structural and functional relationships in plant ecology*, p. 27.
- Andrew MH. 1988. **Grazing impact in relation to livestock watering points.** *Trends in Ecology & Evolution*, 3 (12): 336–339.
- Baastrup-Spohr L, Sand-Jensen K, Nicolajsen SV & Bruun HH. 2015. **From soaking wet to bone dry: predicting plant community composition along a steep hydrological gradient.** *Journal of Vegetation Science*, 26 (4): 619–630.
- Bateman A. 1947. **Contamination in seed crops. III. Relation with isolation distance.** *Heredity*, 1 (2): 235–246.
- Bates D, Mächler M, Bolker B & Walker S. 2015. **Fitting linear mixed-effects models using lme4.** *Journal of Statistical Software*, 67 (1): 1–48.
- Bessega C, Ferreyra L, Julio N, Montoya S, Saidman B & Vilardi JC. 2000. **Mating system parameters in species of genus *Prosopis* (Leguminosae).** *Hereditas*, 132 (1): 19–27.
- Bessega C, Saidman BO & Vilardi JC. 2005. **Genetic relationships among american species of *Prosopis* (Leguminosae) based on enzyme markers.** *Genetics and Molecular Biology*, 28 (2): 277–286.
- Bond WJ & Keeley JE. 2005. **Fire as a global ‘herbivore’: the ecology and evolution of flammable ecosystems.** *Trends in Ecology & Evolution*, 20 (7): 387–394.

- Bråthen KA & Odasz-Albrigtsen AM. 2000. **Tolerance of the arctic graminoid *Luzula arcuata* ssp. *confusa* to simulated grazing in two nitrogen environments.** *Canadian Journal of Botany*, 78 (8): 1108–1113.
- Bråthen KA, Ims RA, Yoccoz NG, Fauchald P, Tveraa T & Hausner VH. 2007. **Induced shift in ecosystem productivity? Extensive scale effects of abundant large herbivores.** *Ecosystems*, 10 (5): 773–789.
- Bravo S, Kunst C, Gimenez A & Moglia G. 2001. **Fire regime of a *Elionorus muticus* Spreng. savanna, western Chaco region, Argentina.** *International Journal of Wildland Fire*, 10 (1): 65–72.
- Bravo S, Giménez A & Moglia J. 2006. **Caracterización anatómica del leño y evolución del crecimiento en ejemplares de *Acacia aroma* y *Acacia furcatispina* en la Región Chaqueña , Argentina.** *Bosque*, 27 (2): 146–154.
- Bucher EH. 1987. **Herbivory in arid and semi-arid regions of Argentina.** *Revista Chilena de Historia Natural*, 60 (2): 265–273.
- Burkart A. 1976. **A Monograph of the genus *Prosopis* (Leguminosae subfam. Mimosoideae).** *Journal of the Arnold Arboretum*, 57 (1; 3): 219-249; 450-525.
- Butcher P, Moran G & Perkins H. 1998. **RFLP diversity in the nuclear genome of *Acacia mangium*.** *Heredity*, 81 (2): 205–213.
- Cabido MR, González C, Acosta A & Díaz S. 1993. **Vegetation changes along a precipitation gradient in Central Argentina.** *Vegetatio*, 109 (1): 5–14.
- Cabido MR, Manzur A, Carranza L & González Albarracín C. 1994. **La vegetación y el medio físico del Chaco Árido en la provincia de Córdoba, Argentina Central.** *Phytocoenologia*, 24 (1): 423–460.
- Cabido MR & Pacha MJ. 2002. **Vegetación y flora de la reserva natural Chancaní.** Agencia Córdoba Ambiente. Gobierno de la Provincia, Córdoba, Argentina.
- Cabrera AL. 1971. **Fitogeografía de la república Argentina.** *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 14 (1–2): 1–42.
- Caisse M & Antonovics J. 1978. **Evolution in closely adjacent plant populations. Evolution of reproductive isolation in clinal populations.** *Heredity*, 40 (3): 371–384.
- Calow P. 1987. **Towards a definition of functional ecology.** *Functional Ecology*, 1 (1): 57–61.
- Casiva PV, Vilardi JC, Cialdella AM & Saidman BO. 2004. **Mating system and population structure of *Acacia aroma* and *A. macracantha* (Fabaceae).** *American Journal of Botany*, 91 (1): 58–64.

- Catan A & Degano CAM. 2007. **Composición botánica de la dieta de caprinos en un bosque del Chaco semiárido (Argentina).** *Quebracho*, 14 (1): 15–22.
- Chapin III FS, Walker BH, Hobbs RJ, Hooper DU, Lawton JH, Sala OE & Tilman D. 1997. **Biotic control over the functioning of ecosystems.** *Science*, 277 (5325): 500–504.
- Charles-Dominique T, Davies TJ, Hempson GP, Bezeng BS, Daru BH, Kabongo RM, Maurin O, Muasya AM, van der Bank M & Bond WJ. 2016. **Spiny plants, mammal browsers, and the origin of African savannas.** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113 (38): E5572–E5579.
- Cingolani AM, Posse G & Collantes MB. 2005. **Plant functional traits, herbivore selectivity and response to sheep grazing in Patagonian steppe grasslands.** *Journal of Applied Ecology*, 42 (1): 50–59.
- Cingolani AM, Cabido M, Gurvich DE, Renison D & Díaz S. 2007. **Filtering processes in the assembly of plant communities: Are species presence and abundance driven by the same traits?** *Journal of Vegetation Science*, 18 (6): 911–920.
- Coley PD, Bryant JP & Chapin FS. 1985. **Resource availability and plant antiherbivore defense.** *Science*, 230 (4728): 895–899.
- Cornelissen JHC, Pérez-Harguindeguy N, Díaz S, Grime J, Marzano B, Cabido MR, Vendramini F & Cerabolini B. 1999. **Leaf structure and defence control litter decomposition rate across species and life forms in regional floras on two continents.** *New Phytologist*, 143 (1): 191–200.
- Cornwell WK, Cornelissen JHC, Dorrepaal E, Eviner VT, Godoy O, Hobbie SE, Hoorens B, Kurokawa H, Pérez-Harguindeguy N, Quested HM, Santiago LS, Wardle DA, Wright IJ, Aerts R, Allison SD, van Bodegom P, Brovkin V, Chatain A, Callaghan TV, Díaz S, Garnier E, Gurvich DE, Kazakou E, Klein JA, Read J, Reich PB, Soudzilovskaia NA, Vaieretti MV & Westoby M. 2008. **Plant species traits are the predominant control on litter decomposition rates within biomes worldwide.** *Ecology Letters*, 11 (10): 1065–1071.
- Coughenour MB. 1985. **Graminoid responses to grazing by large herbivores: Adaptations, exaptations, and interacting processes.** *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 72 (4): 852–863.
- Cunningham SA, Summerhayes B & Westoby M. 1999. **Evolutionary divergences in leaf structure and chemistry, comparing rainfall and soil nutrient gradients.** *Ecological Monographs*, 69 (4): 569–588.
- Danell K, Huss-Danell K & Bergström R. 1985. **Interactions between browsing moose and two species of birch in Sweden.** *Ecology*, 66 (6): 1867–1878.

- Danell K & Bergström R. 2002. **Mammalian herbivory in terrestrial environments.** *Plant-Animal interactions, an evolutionary approach* (eds CM Herrera & O Pellmyr), pp. 107–131. Blackwell Science.
- Díaz S, Acosta A & Cabido MR. 1992. **Morphological analysis of herbaceous communities under different grazing regimes.** *Journal of Vegetation Science*, 3 (5): 689–696.
- Díaz S, Acosta A & Cabido MR. 1994. **Community structure in montane grasslands of central Argentina in relation to land use.** *Journal of Vegetation Science*, 5 (4): 483–488.
- Díaz S, Cabido MR & Casanoves F. 1998. **Plant functional traits and environmental filters at a regional scale.** *Journal of Vegetation Science*, 9 (1): 113–122.
- Díaz S & Cabido MR. 2001. **Vive la différence: Plant functional diversity matters to ecosystem processes.** *Trends in Ecology & Evolution*, 16 (11): 646–655.
- Díaz S, Noy-meir I & Cabido MR. 2001. **Can grazing response of herbaceous plants be predicted from simple vegetative traits?** *Journal of Applied Ecology*, 38 (3): 497–508.
- Díaz S, Hodgson JG, Thompson K, Cabido MR, Cornelissen JHC, Jalili A, Montserrat-Martí G, Grime JP, Zarrinkamar F, Asri Y, Band SR, Basconcelo S, Castro-Díez P, Funes G, Hamzehee B, Khoshnevi M, Pérez-Harguindeguy N, Pérez-Rontomé MC, Shirvany FA, Vendramini F, Yazdani S, Abbas-Azimi R, Bogaard A, Boustani S, Charles M, Dehghan M, Torres-Espuny L, Falczuk V, Guerrero-Campo J, Hynd A, Jones G, Kowsary E, Kazemi-Saeed F, Maestro-Martínez M, Romo-Díez A, Shaw S, Siavash B, Villar-Salvador P & Zak MR. 2004. **The plant traits that drive ecosystems: Evidence from three continents.** *Journal of Vegetation Science*, 15 (3): 295–304.
- Díaz S, Purvis A, Cornelissen JHC, Mace GM, Donoghue MJ, Ewers RM, Jordano P & Pearse WD. 2013. **Functional traits, the phylogeny of function, and ecosystem service vulnerability.** *Ecology and Evolution*, 3 (9): 2958–2975.
- Díaz S, Kattge J, Cornelissen JHC, Wright IJ, Lavorel S, Dray S, Reu B, Kleyer M, Wirth C, Prentice IC, Garnier E, Bönsch G, Westoby M, Poorter H, Reich PB, Moles AT, Dickie J, Gillison AN, Zanne AE, Chave J, Wright SJ, Sheremet'ev SN, Jactel H, Christopher B, Cerabolini B, Pierce S, Shipley B, Kirkup D, Casanoves F, Joswig JS, Günther A, Falczuk V, Rüger N, Mahecha MD & Gorné LD. 2016. **The global spectrum of plant form and function.** *Nature*, 529 (7585): 167–171.
- Dicko MS & Sikena LK. 1992. **Feeding behavior, quantitative and qualitative intake of browse by domestic ruminants.** *Legume trees and other fodder trees as protein sources for livestock* (eds Speedy & Pugliese), pp. 129–144.
- Donovan LA, Maherali H, Caruso CM, Huber H & de Kroon H. 2011. **The evolution of the worldwide leaf economics spectrum.** *Trends in Ecology & Evolution*, 26 (2): 88–95.

- Du Toit JT, Bryant JP & Frisby K. 1990. **Regrowth and palatability of *Acacia* shoots following pruning by african savanna browsers.** *Ecology*, 71 (1): 149–154.
- Dyer MI, Acra MA, Wang GM, Coleman DC, Freckman DW, McNaughton SJ & Strain BR. 1991. **Source-sink carbon relations in two *Panicum coloratum* ecotypes in response to herbivory.** *Ecology*, 72 (4): 1472–1483.
- Endara MJ & Coley PD. 2011. **The resource availability hypothesis revisited: a meta-analysis.** *Functional Ecology*, 25 (2): 389–398.
- Enrico L. 2009. **Herbivoría y caracteres funcionales de plantas a lo largo de un gradiente climático en el centro-oeste de Argentina.** Universidad Nacional de Córdoba.
- Ferraro DO & Oesterheld M. 2002. **Effect of defoliation on grass growth. A quantitative review.** *Oikos*, 98 (1): 125–133.
- Firn J, Schütz M, Nguyen H & Risch AC. 2017. **Herbivores sculpt leaf traits differently in grasslands depending on life form and land-use histories.** *Ecology*, 98 (1): 239–252.
- Fisher RA. 1921. **Some remarks on the methods formulated in a recent article on ‘The quantitative analysis of plant growth’.** *Annals of Applied Biology*, 7 (4): 367–372.
- Flury BN. 1984. **Common principal components in k groups.** *Journal of the American Statistical Association*, 79 (388): 892–898.
- Gadd ME, Young TP & Palmer TM. 2001. **Effects of simulated shoot and leaf herbivory on vegetative growth and plant defense in *Acacia drepanolobium*.** *Oikos*, 92 (3): 515–521.
- Georgiadis NJ, Ruess RW, McNaughton SJ & Western D. 1989. **Ecological conditions that determine when grazing stimulates grass production.** *Oecologia*, 81 (3): 316–322.
- Ghalambor CK, McKay JK, Carroll SP & Reznick DN. 2007. **Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments.** *Functional Ecology*, 21 (3): 394–407.
- Gómez JM & Zamora R. 2002. **Thorns as induced mechanical defense in a long-lived shrub (*Hormathophylla spinosa*, Cruciferae).** *Ecology*, 83 (4): 885–890.
- Gonzalez N, Vanhaeren H & Inzé D. 2012. **Leaf size control: Complex coordination of cell division and expansion.** *Trends in Plant Science*, 17 (6): 332–340.
- Gordon IJ. 2003. **Browsing and grazing ruminants: are they different beasts?** *Forest Ecology and Management*, 181 (1): 13–21.

- Gorné LD & Díaz S. 2017. **A novel meta-analytical approach to improve systematic review of rates and patterns of microevolution.** *Ecology and Evolution*, 7 (15): 5821–5832.
- Gould SJ & Vrba E. 1982. **Exaptation—A missing term in the science of form.** *Paleobiology*, 8 (1): 4–15.
- Grau HR, Torres R, Gasparri NI, Blendinger PG, Marinaro S & Macchi L. 2015. **Natural grasslands in the Chaco. A neglected ecosystem under threat by agriculture expansion and forest-oriented conservation policies.** *Journal of Arid Environments*, 123 (1): 40–46.
- Griffiths DJ. 1950. **The liability of seed crops of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) to contamination by wind-borne pollen.** *The Journal of Agricultural Science*, 40 (1): 19–38.
- Grime JP, Cornelissen JHC, Thompson K & Hodgson JG. 1996. **Evidence of a causal connection between anti-herbivore defence and the decomposition rate of leaves.** *Oikos*, 77 (3): 489–494.
- Grime JP. 1998. **Benefits of plant diversity to ecosystems: Immediate, filter and founder effects.** *Journal of Ecology*, 86 (6): 902–910.
- Grime PJ. 2006. **Trait convergence and trait divergence in herbaceous plant communities: Mechanisms and consequences.** *Journal of Vegetation Science*, 17 (2): 255–260.
- Gurvich DE, Enrico L & Cingolani AM. 2005. **Linking plant functional traits with post-fire sprouting vigour in woody species in central Argentina.** *Austral Ecology*, 30 (7): 789–796.
- Hanley ME, Lamont BB, Fairbanks MM & Rafferty CM. 2007. **Plant structural traits and their role in anti-herbivore defence.** *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 8 (4): 157–178.
- Hawkes CV & Sullivan JJ. 2001. **The impact of herbivory on plants in different resource conditions: a meta-analysis.** *Ecology*, 82 (7): 2045–2058.
- Heberling JM & Fridley JD. 2012. **Biogeographic constraints on the world-wide leaf economics spectrum.** *Global Ecology and Biogeography*, 21 (12): 1137–1146.
- Herms DA & Mattson WJ. 1992. **The dilemma of plants: to grow or defend.** *The Quarterly Review of Biology*, 67 (3): 283–335.
- Hijmans RJ, Cameron SE, Parra JL, Jones PG & Jarvis A. 2005. **Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas.** *International Journal of Climatology*, 25 (15): 1965–1978.
- Hjálten J, Danell K & Ericson L. 1993. **Effects of simulated herbivory and intraspecific competition on the compensatory ability of birches.** *Ecology*, 74 (4): 1136–1142.
- Hommel G. 1988. **A stagewise rejective multiple test procedure based on a modified bonferroni test.** *Biometrika*, 75 (2): 383–386.

- Hoyos LE, Cingolani AM, Zak MR, Vaieretti MV, Gorla DE & Cabido MR. 2013. **Deforestation and precipitation patterns in the arid Chaco forests of central Argentina.** *Applied Vegetation Science*, 16 (2): 260–271.
- Hu Y, Xie Q & Chua N-H. 2003. **The *Arabidopsis* auxin-inducible gene ARGOS control lateral organ size.** *The Plant Cell*, 15 (9): 1951–1961.
- Jain S & Bradshaw A. 1966. **Evolutionary divergence among adjacent plant populations. I. The evidence and its theoretical analysis.** *Heredity*, 21 (3): 407–441.
- 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.** Universidad Nacional de Córdoba.
- Karlin MS, Karlin UO, Coirini RO, Reati GJ & Zapata RM. 2013. **El Chaco árido**, 1st edn. (MS Karlin, Editor). Córdoba, Argentina.
- Kattge J, Díaz S, Lavorel S, Prentice IC, Leadley P, Bönisch G, Garnier E, Westoby M, Reich PB, Wright IJ, Cornelissen JHC, Violle C, Harrison SP, van Bodegom PM, Reichstein M, Enquist BJ, Soudzilovskaia NA, Ackerly DD, Anand M, Atkin O, Bahn M, Baker TR, Baldocchi D, Bekker R, Blanco CC, Blonder B, Bond WJ, Bradstock R, Bunker DE, Casanoves F, Cavender-Bares J, Chambers JQ, Chapin III FS, Chave J, Coomes D, Cornwell WK, Craine JM, Dobrin BH, Duarte L, Durka W, Elser J, Esser G, Estiarte M, Fagan WF, Fang J, Fernández-Méndez F, Fidelis A, Finegan B, Flores O, Ford H, Frank D, Freschet GT, Fyllas NM, Gallagher R V., Green WA, Gutierrez AG, Hickler T, Higgins SI, Hodgson JG, Jalili A, Jansen S, Joly CA, Kerkhoff AJ, Kirkup D, Kitajima K, Kleyer M, Klotz S, Knops JMH, Kramer K, Kühn I, Kurokawa H, Laughlin D, Lee TD, Leishman M, Lens F, Lenz T, Lewis SL, Lloyd J, Llusà J, Louault F, Ma S, Mahecha MD, Manning P, Massad T, Medlyn BE, Messier J, Moles AT, Müller SC, Nadrowski K, Naeem S, Niinemets Ü, Nöller S, Nüske A, Ogaya R, Oleksyn J, Onipchenko VG, Onoda Y, Ordoñez J, Overbeck G, Ozinga WA, Patiño S, Paula S, Pausas JG, Peñuelas J, Phillips OL, Pillar V, Poorter H, Poorter L, Poschlod P, Prinzing A, Proulx R, Rammig A, Reinsch S, Reu B, Sack L, Salgado-Negret B, Sardans J, Shiodera S, Shipley B, Siefert A, Sosinski E, Soussana JF, Swaine E, Swenson N, Thompson K, Thornton P, Waldram M, Weiher E, White M, White S, Wright SJ, Yguel B, Zaehle S, Zanne AE & Wirth C. 2011. **TRY - a global database of plant traits.** *Global Change Biology*, 17 (9): 2905–2935.
- King D. 1992. **Home ranges of feral goats in a pastoral area in Western Australia.** *Wildlife Research*, 19 (6): 643–649.
- Kitajima K, Llorens A-M, Stefanescu C, Vargas Timchenko M, Lucas PW & Wright SJ. 2012. **How cellulose-based leaf toughness and lamina density contribute to long leaf lifespans of shade-tolerant species.** *The New Phytologist*, 195 (3): 640–652.
- Koricheva J. 2002. **Meta-analysis of sources of variation in fitness costs of plant antiherbivore defence.** *Ecology*, 83 (1): 176–190.

- Kunst C, Ledesma R, Albanesi A, Bravo S, Casillo J, Anriquez A, Silberman J & Defosse GE. 2015. **Fire history, fire ecology and management in the argentine Chaco.** *Current International Perspectives on Wildland Fires, Mankind and the Environment* (eds B Leblon & M Alexander), pp. 211–234. Nova Sciences Publishers.
- Lambers H & Poorter H. 1992. **Inherent variation in growth rate between higher plants: a search for physiological causes and ecological consequences.** *Advances in Ecological Research*, 23 (1): 187–261.
- Lavorel S & Garnier E. 2002. **Predicting changes in community composition and ecosystem functioning from plant traits: revisiting the Holy Grail.** *Functional Ecology*, 16 (5): 545–556.
- Ledesma R, Kunst C, Bravo S, Leiva M, Lorea L, Godoy J & Navarrete V. 2011. **Fire intensity and air temperature profiles in experimental burns in Chaco shrublands.** *IX Congreso Internacional de Manejo de Pastizales IRC 2011*, p. 456. Rosario, Argentina.
- Lind EM, Myron EP, Giaccai J & Parker JD. 2012. **White-tailed deer alter specialist and generalist insect herbivory through plant traits.** *Environmental Entomology*, 41 (6): 1409–1416.
- López Lauenstein D, Fernández ME & Verga A. 2012. **Respuesta diferenciada a la sequía de plantas jóvenes de *Prosopis chilensis*, *P. flexuosa* y sus híbridos interespecíficos: implicancias para la reforestación en zonas áridas.** *Ecología Austral*, 22 (1): 43–52.
- Lucas PW, Turner IM, Dominy NJ & Yamashita N. 2000. **Mechanical defences to herbivory.** *Annals of Botany*, 86 (5): 913–920.
- Mabry C & Wayne P. 1997. **Defoliation of the annual herb *Abutilon theophrasti*: mechanisms underlying reproductive compensation.** *Oecologia*, 111 (2): 225–232.
- Martínez G, Romero C, Pen C, Villar M & Durando P. 2016. **Etnobotánica participativa en escuelas rurales de la comuna Paso Viejo (Departamento Cruz del Eje, Córdoba, Argentina).** *Bonplandia*, 25 (2): 145–162.
- McGill BJ, Enquist BJ, Weiher E & Westoby M. 2006. **Rebuilding community ecology from functional traits.** *Trends in Ecology & Evolution*, 21 (4): 178–85.
- McIntyre S. 2008. **The role of plant leaf attributes in linking land use to ecosystem function in temperate grassy vegetation.** *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 128 (4): 251–258.
- McNaughton SJ. 1992. **Laboratory-simulated grazing: Interactive effects of defoliation and canopy closure on Serengeti grasses.** *Ecology*, 73 (1): 170–182.
- Messier J, McGill BJ & Lechowicz MJ. 2010. **How do traits vary across ecological scales? A case for trait-based ecology.** *Ecology Letters*, 13 (7): 838–848.

- Milewski A, Young TP & Madden D. 1991. **Thorns as induced defenses: experimental evidence.** *Oecologia*, 86 (1): 70–75.
- Milton SJ. 1991. **Plant spinescence in arid southern Africa: does moisture mediate selection by mammals?** *Oecologia*, 87 (2): 279–287.
- Molina AM & Rúgolo de Agrasar ZE (Eds.). 2006. **Flora Chaqueña (Gramíneas) - Argentina - (Formosa, Chaco y Santiago del Estero).** *Colección Científica del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria*, i-viii+848.
- Moreno García CA, Schellberg J, Ewert F, Brüser K, Canales-Prati P, Linstädter A, Oomen RJ, Ruppert JC & Perelman SB. 2014. **Response of community-aggregated plant functional traits along grazing gradients: Insights from African semi-arid grasslands.** *Applied Vegetation Science*, 17 (3): 470–481.
- Naeem S & Wright JP. 2003. **Disentangling biodiversity effects on ecosystem functioning: deriving solutions to a seemingly insurmountable problem.** *Ecology Letters*, 6 (6): 567–579.
- Niinemets Ü. 2015. **Is there a species spectrum within the world-wide leaf economics spectrum? Major variations in leaf functional traits in the mediterranean sclerophyll *Quercus ilex*.** *New Phytologist*, 205 (1): 79–96.
- Oba G. 1998. **Effects of excluding goat herbivory on *Acacia tortilis* woodland around pastoralist settlements in northwest Kenya.** *Acta Oecologica*, 19 (4): 395–404.
- Oesterheld M & McNaughton SJ. 1988. **Intraspecific variation in the response of *Themeda triandra* Intraspecific to defoliation: the effect of time growth of recovery and growth rates on compensatory.** *Oecologia*, 77 (2): 181–186.
- Oesterheld M, Loreti J, Semmartin M & Paruelo JM. 1999. **Grazing, fire, and climate effects on primary productivity of grasslands and savannas.** *Ecosystems of disturbed ground* (ed L Walker), pp. 287–306. Elsevier.
- Ohgushi T. 2005. **Indirect interaction webs: herbivore-induced effects through trait change in plants.** *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 36 (1): 81–105.
- Onoda Y, Hikosaka K & Hirose T. 2004. **Allocation of nitrogen to cell walls decreases photosynthetic nitrogen-use efficiency.** *Functional Ecology*, 18 (3): 419–425.
- Onoda Y & Anten NPR. 2011. **Challenges to understand plant responses to wind.** *Plant Signaling & Behavior*, 6 (7): 1057–1059.
- Onoda Y, Westoby M, Adler PB, Choong AMF, Clissold FJ, Cornelissen JHC, Díaz S, Dominy NJ, Elgart A, Enrico L, Fine PVA, Howard JJ, Jalili A, Kitajima K, Kurokawa H, McArthur C, Lucas PW, Markesteijn L, Pérez-Harguindeguy N, Poorter L, Richards L, Santiago LS, Sosinski EEJ, VanBael

- SA, Warton DI, Wright IJ, Wright SJ & Yamashita N. 2011. **Global patterns of leaf mechanical properties.** *Ecology Letters*, 14 (3): 301–312.
- Onoda Y, Wright IJ, Evans JR, Hikosaka K, Kitajima K, Niinemets Ü, Poorter H, Tosens T & Westoby M. 2017. **Physiological and structural tradeoffs underlying the leaf economics spectrum.** *New Phytologist*, 214 (4): 1447–1463.
- Ouédraogo-Koné S, Kaboré-Zoungrana CY & Ledin I. 2006. **Behaviour of goats, sheep and cattle on natural pasture in the sub-humid zone of West Africa.** *Livestock Science*, 105 (1): 244–252.
- Papachristou TG, Dziba LE & Provenza FD. 2005. **Foraging ecology of goats and sheep on wooded rangelands.** *Small Ruminant Research*, 59 (2): 141–156.
- Pausas JG & Keeley JE. 2014. **Evolutionary ecology of resprouting and seeding in fire-prone ecosystems.** *New Phytologist*, 204 (1): 55–65.
- Pérez-Harguindeguy N, Díaz S, Vendramini F, Cornelissen JHC, Gurvich DE & Cabido MR. 2003. **Leaf traits and herbivore selection in the field and in cafeteria experiments.** *Austral Ecology*, 28 (6): 642–650.
- Pérez-Harguindeguy N, Díaz S, Garnier E, Lavorel S, Poorter H, Jaureguiberry P, Bret-Harte MS, Cornwell WK, Craine JM, Gurvich DE, Urcelay C, Veneklaas EJ, Reich PB, Poorter L, Wright IJ, Ray P, Enrico L, Pausas JG, de Vos AC, Buchmann N, Funes G, Quétier F, Hodgson JG, Thompson K, Morgan HD, ter Steege H, van der Heijden MGA, Sack L, Blonder B, Poschlod P, Vaieretti MV, Conti G, Staver AC, Aquino S & Cornelissen JHC. 2013. **New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide.** *Australian Journal of Botany*, 61 (3): 167–234.
- Perpiñal E, Balzarini M, Catalán L, Pietrarelli L & Karlin U. 1995. **Edad de culminacion de crecimiento en *Prosopis flexuosa* D.C. en el Chaco Arido argentino.** *Investigación agraria. Sistemas y recursos forestales*, 4 (1): 45–55.
- Phillips PC. 1998. **CPC: common principal component analysis program.**
URL:<http://pages.uoregon.edu/pphil/programs/cpc/cpc.htm>.
- Phillips PC & Arnold SJ. 1999. **Hierarchical comparison of genetic variance-covariance matrices. I. Using the flury hierarchy.** *Evolution*, 53 (5): 1506–1515.
- Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, Sarkar D & R Core Team. 2017. **nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-131.**
- Poorter H, Niinemets Ü, Poorter L, Wright IJ & Villar R. 2009. **Causes and consequences of variation in leaf mass per area (LMA): a meta-analysis.** *New Phytologist*, 182 (3): 565–588.

- Price TD, Qvarnström A & Irwin DE. 2003. **The role of phenotypic plasticity in driving genetic evolution.** *Proceedings of the Royal Society B*, 270 (1523): 1433–1440.
- Quiroga RE, Golluscio RA, Blanco LJ & Fernández RJ. 2010. **Aridity and grazing as convergent selective forces: an experiment with an Arid Chaco bunchgrass.** *Ecological Applications*, 20 (7): 1876–1889.
- R Core Team. 2017. **R: A language and environment for statistical computing.** Vienna, Austria. URL:<https://www.r-project.org>.
- Read C, Wright IJ & Westoby M. 2006. **Scaling-up from leaf to canopy-aggregate properties in sclerophyll shrub species.** *Austral Ecology*, 31 (3): 310–316.
- Reich PB, Walters MB & Ellsworth DS. 1997. **From tropics to tundra: global convergence in plant functioning.** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94 (25): 13730–13734.
- Reich PB. 2014. **The world-wide ‘fast-slow’ plant economics spectrum: a traits manifesto.** *Journal of Ecology*, 102 (2): 275–301.
- Rognli OA, Nilsson NO & Nurminiemi M. 2000. **Effects of distance and pollen competition on gene flow in the wind-pollinated grass *Festuca pratensis* Huds.** *Heredity*, 85 (6): 550–560.
- Rosenthal JP & Kotanen PM. 1994. **Terrestrial plant tolerance to herbivory.** *Trends in Ecology & Evolution*, 9 (4): 145–148.
- Rotundo JL & Aguiar MR. 2008. **Herbivory resistance traits in populations of *Poa ligularis* subjected to historically different sheep grazing pressure in Patagonia.** *Plant Ecology*, 194 (1): 121–133.
- Saidman BO & Vilardi JC. 1993. **Genetic variability and germplasm conservación in the genus *Prosopis*.** *Nursery Technology for Agroforestry Applications in Arid and Semiarid Regions* (eds S Puri & PK Khosla), pp. 187–198. Oxford & IBH publishing Co. PVT. LTD., New Delhi, Bombay, Calcutta.
- Salgado-Luarte C & Gianoli E. 2012. **Herbivores modify selection on plant functional traits in a temperate rainforest understory.** *American Naturalist*, 180 (2): E42–E53.
- Sanon HO, Kaboré-Zoungrana C & Ledin I. 2007. **Behaviour of goats, sheep and cattle and their selection of browse species on natural pasture in a Sahelian area.** *Small Ruminant Research*, 67 (1): 64–74.
- Santiago LS. 2007. **Extending the Leaf Economics Spectrum to decomposition: evidence from a tropical forest.** *Ecology*, 88 (5): 1126–1131.

- Senft RL, Rittenhouse LR & Woodmansee RG. 1983. **The use of regression models to predict spatial patterns of cattle behavior.** *Journal of Range Management*, 36 (5): 553–557.
- Senft RL, Rittenhouse LR & Woodmansee RG. 1985. **Factors influencing patterns of cattle grazing behavior on shortgrass steppe.** *Journal of Range Management*, 38 (1): 82–87.
- Shipley B, Lechowicz MJ, Wright IJ & Reich PB. 2006a. **Fundamental trade-offs generating the worldwide leaf economics spectrum.** *Ecology*, 87 (3): 535–541.
- Shipley B, Vile D & Garnier E. 2006b. **From plant traits to plant communities: a statistical mechanistic approach to biodiversity.** *Science*, 314 (5800): 812–814.
- Shrader AM, Kerley GIH, Brown JS & Kotler BP. 2012. **Patch use in free-ranging goats: does a large mammalian herbivore forage like other central place foragers?** (M Herberstein, *Editor*). *Ethology*, 118 (10): 967–974.
- Silvetti F. 2015. **Las representaciones sociales de campesinos capricultores sobre los recursos forrajeros del bosque nativo en el Chaco Seco, provincia de Córdoba, Argentina.** *V Congreso Latinoamericano de Agroecología*, pp. A5-197. La Plata, Argentina.
- Simpson GG. 1964. **Organisms and molecules in evolution.** *Science*, 146 (3651): 1535–1538.
- Steppan SJ, Phillips PC & Houle D. 2002. **Comparative quantitative genetics: evolution of the G matrix.** *Trends in Ecology & Evolution*, 17 (7): 320–327.
- Stowe KA, Marquis RJ, Hochwender CG & Simms EL. 2000. **The evolutionary ecology of tolerance to consumer damage.** *Annual Review of Ecology and Systematics*, 31 (1): 565–595.
- Strauss SY & Zangerl AR. 2002. **Plant-Insect interactions in terrestrial ecosystems.** *Plant-Animal interactions, an evolutionary approach* (eds CM Herrera & O Pellmyr), pp. 77–106. Blackwell Science.
- Taiz L & Zeiger E. 2002. **Plant physiology**, 3rd edn. Sinauer Associates.
- Turley NE, Odell WC, Schaefer H, Everwand G, Crawley MJ & Johnson MTJ. 2013. **Contemporary evolution of plant growth rate following experimental removal of herbivores.** *The American Naturalist*, 181 (S1): S21–S34.
- Turlings TCJ & Tumlinson JH. 1992. **Systemic release of chemical signals by herbivore-injured corn.** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89 (17): 8399–8402.
- Vilardi JC, Saidman BO & Palacios R. 1988. **Muestreo Según Variabilidad.** *Prosopis en Argentina. Primer taller internacional sobre recurso genético y conservación de germoplasma en Prosopis*, pp. 119–124. Buenos Aires, Argentina.

- 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.
- Violle C, Enquist BJ, McGill BJ, Jiang L, Albert CH, Hulshof C, Jung V & Messier J. 2012. **The return of the variance: intraspecific variability in community ecology.** *Trends in Ecology & Evolution*, 27 (4): 244–252.
- Wardlaw IF. 1969. **The effect of water stress on translocation in relation to photosynthesis and growth. II. Effect during leaf development in *Lolium temulentum* L.** *Australian Journal of Biological Sciences*, 22 (1): 1–16.
- Wardle DA, Bardgett RD, Klironomos JN, Setälä H, van der Putten WH & Wall DH. 2004. **Ecological linkages between aboveground and belowground biota.** *Science*, 304 (5677): 1629–1633.
- Warton DI, Wright IJ, Falster DS & Westoby M. 2006. **Bivariate line-fitting methods for allometry.** *Biological Reviews*, 81 (61): 259–291.
- Warton DI, Duursma RA, Falster DS & Taskinen S. 2012. **smatr 3 - an R package for estimation and inference about allometric lines.** *Methods in Ecology and Evolution*, 3 (2): 257–259.
- Westoby M. 1999. **The LHS strategy scheme in relation to grazing and fire.** *VIth International Rangeland Congress*, pp. 893–896.
- Whitworth-Hulse JJ, Cingolani AM, Zeballos SR, Poca M & Gurvich DE. 2016. **Does grazing induce intraspecific trait variation in plants from a sub-humid mountain ecosystem?** *Austral Ecology*, 41 (7): 745–755.
- Wright IJ, Westoby M & Reich PB. 2002. **Convergence towards higher leaf mass per area in dry and nutrient-poor habitats has different consequences for leaf life span.** *Journal of Ecology*, 90 (3): 534–543.
- Wright IJ, Reich PB, Westoby M, Ackerly DD, Baruch Z, Bongers F, Cavender-Bares J, Chapin T, Cornelissen JHC, Diemer M, Flexas J, Garnier E, Groom PK, Gulias J, Hikosaka K, Lamont BB, Lee T, Lee W, Lusk C, Midgley JJ, Navas M-L, Niinemets Ü, Oleksyn J, Osada N, Poorter H, Poot P, Prior L, Pyankov VI, Roumet C, Thomas SC, Tjoelker MG, Veneklaas EJ & Villar R. 2004. **The worldwide leaf economics spectrum.** *Nature*, 428 (6985): 821–827.
- Wright IJ, Dong N, Maire V, Prentice IC, Westoby M, Díaz S, Gallagher RV, Jacobs BF, Kooyman R, Law EA, Leishman MR, Niinemets Ü, Reich PB, Sack L, Villar R, Wang H & Wilf P. 2017. **Global climatic drivers of leaf size.** *Science*, 357 (6354): 917–921.
- Wright S. 1932. **The roles of mutation, inbreeding, crossbreeding and selection in evolution.** *Proceedings of the sixth international congress on genetics* (ed DF Jones), pp. 356–366. Ithaca, New York.

Young TP & Okello BD. 1998. **Relaxation of an induced defense after exclusion of herbivores: spines on *Acacia drepanolobium*.** *Oecologia*, 115 (4): 508–513.

Apéndices

Tabla A.1. Media (**m**), desvío estándar (**SD**) de las variables edáficas medidas para cada historia de herbivoría. Sobre la base de 10 muestras compuestas para historia de herbivoría leve y 12 muestras compuestas para historia de herbivoría severa. Se muestran en negrita las variables para las cuales se encontró diferencias significativas (p -valor < 0,05) entre historias de herbivoría, luego de aplicar la corrección de Hommel (1988). Los fosfatos extractables (PO_4^{2-}) fueron determinados mediante la técnica de Olsen (Sparks et al. 1996). Los silicatos (SiO_4^{2-}) fueron extraídos y determinados según Wei-min et al. 2005. PO_4^{2-} y SiO_4^{2-} fueron determinados en el Espectrofotómetro Automatizado SmartChem 200, Marca Westco. El contenido porcentual de materia orgánica (**M org**) fue determinado mediante Walkley & Black (Sparks et al. 1996). La concentración de cationes (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ y K^+) fue determinada por espectrometría de absorción atómica en el Laboratorio de Edafología del Departamento de Recursos Naturales de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba. La compactación y humedad volumétrica (**Humedad 3'**), fueron medidos como se detalla en el texto principal.

Variables edáficas	Historia de herbivoría			
	leve		severa	
	m	SD	m	SD
pH	6,757	0,2962	6,891	0,2115
Conductividad (μS)	148,2	51,885	125,3	44,751
M org (% M/M)	3,251	0,7513	2,204	0,4626
PO_4^{2-} (mg/kg)	31,90	6,5858	27,72	6,8121
SiO_4^{2-} (mg/kg)	247,5	56,684	288,9	61,754
Ca^{2+} (meq/100g)	12,90	2,8655	11,71	3,5385
Mg^{2+} (meq/100g)	1,850	0,7472	1,583	0,9495
Na^+ (meq/100g)	1,116	0,2730	1,208	0,3832
K^+ (meq/100g)	0,072	0,0230	0,087	0,0359
Compactación sup ($\text{kg}\cdot\text{cm}^{-2}$)	2,059	0,7568	2,935	0,7709
Compactación 0-5 cm ($\text{kg}\cdot\text{cm}^{-2}$)	9,899	3,8936	16,34	4,6564
Compactación 5-10 cm ($\text{kg}\cdot\text{cm}^{-2}$)	24,91	5,9442	32,47	10,279
Humedad 3' (%)	4,864	0,6709	5,544	1,6188

Tabla A.2. Diámetro del fuste a la base (media, desvío estándar, rango y tamaño muestral) de los ejemplares focales de leñosas, por especie y por historia de herbivoría. Medidas expresadas en centímetros.

Especie	Historia de herbivoría							
	leve				severa			
	media	SD	Rango	N	media	SD	Rango	N
<i>A. aroma</i>	10,36	3,1071	5,5-16,6	23	11,36	3,0248	7,5-18,0	21
<i>A. gilliesii</i>	6,63	2,2073	3,2-12,7	25	7,02	2,7227	3,7-14,3	20
<i>P. flexuosa</i>	10,27	2,6963	5,7-14,6	24	10,11	2,7847	4,5-15,1	26
<i>P. torquata</i>	10,21	2,8023	4,6-15,7	25	11,77	3,9005	6,4-20,0	19

Tabla A.3. Características del sustrato utilizado para el cultivo de los descendiente en jardín común. El contenido de nitrógeno total (N) fue determinado mediante Analizador Elemental Perkin Elmer 2400 Series II. El contenido porcentual de materia orgánica (M org) fue determinado mediante Walkley & Black (Sparks et al. 1996). La textura fue determinada mediante el método de la pipeta modificado por Indorante et al. 1990.

pH	7,35
Conductividad (μ S)	150
N (% M/M)	0,085
M org (% M/M)	1,544
Arcilla (% M/M)	20
Limo (% M/M)	70
Arena (% M/M)	10
Clase textural	FRANCO-LIMOSO

Bibliografía en Apéndices

- Hommel G. 1988. **A stagewise rejective multiple test procedure based on a modified bonferroni test.** *Biometrika*, 75 (2): 383–386.
- Indorante SJ, Follmer LR, Hammer RD & Koenig PG. 1990. **Particle-size analysis by a modified pipette procedure.** *Soil Science Society of America Journal*, 54 (2): 560–563.
- Sparks DL, Page AL, Helmke PA, Loeppert RA, Soltanpour PN, Tabatabai MA, Jhonston CT & Sumner ME (Eds.). 1996. **Methods of Soil Analysis, Part 3, Chemical Methods**, 3rd edn. Soil Science Society of America, American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, USA.
- Wei-min D, Ke-qin Z, Bin-wu D, Cheng-xiao S, Kang-le Z, Run C & Jie-yun Z. 2005. **Rapid Determination of Silicon Content in Rice.** *Rice Science*, 12 (2): 145–147.