



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DE DOCTORADO EN AGRONOMÍA

FACTORES QUE AFECTAN EL FUNCIONAMIENTO DEL ECOSISTEMA EN
SITIOS DOMINADOS POR ESPECIES DE DIFERENTE CALIDAD FORRAJERA
EN EL NORESTE PATAGÓNICO

MARIELA LIS AMBROSINO

BAHIA BLANCA

ARGENTINA

2017

PREFACIO

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctora en Agronomía, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el ámbito del Laboratorio de Ecología, perteneciente al Departamento de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur, el Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS-CONICET) y en la Chacra Experimental Patagones, dependiente del Ministerio de Agroindustria de la Provincia de Buenos Aires durante el período comprendido entre el 22 de noviembre de 2011 y el 17 de noviembre de 2016, bajo la dirección del Dr. Carlos Alberto Busso (CERZOS-CONICET y Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur) y la codirección de la Dra. Marcela Susana Montecchia (Instituto de Investigaciones en Biociencias Agrícolas y Ambientales CONICET y Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Buenos Aires).

Lic. Mariela Lis Ambrosino



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
Secretaría General de Posgrado y Educación
Continua

La presente tesis ha sido aprobada el / / , mereciendo la calificación de(.....)

A mis padres, Edelina y Mauricio.....

AGRADECIMIENTOS

❖ Al Dr. Carlos Busso, mi director, por su amabilidad y confianza a pesar de mis errores. Por guiarme y enseñarme en todo momento. Por su cariño, calidez humana y apoyo incondicional.

❖ A la Dra. Marcela Montecchia, mi codirectora, por sus enseñanzas y amabilidad, muy buena predisposición en todo momento, cariño y paciencia en el trabajo de laboratorio.

❖ Al Dr. Alberto Golberg, Dr. Daniel Estelrich y Dr. Roberto Brévedan, jurados de esta tesis doctoral, quienes con gran amabilidad, realizaron aportes muy valiosos que ayudaron mejorarla de manera considerable.

❖ A la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la UNLPam por brindarme la posibilidad de realizar esta beca de postgrado y hacer posible la realización de esta tesis de doctorado.

❖ Al Departamento de Agronomía de la UNS y al CERZOS-CONICET por brindarme las instalaciones, equipamiento y financiamiento necesario para la realización de los estudios que se encuentran en esta tesis.

❖ A Mamá y Papá, quienes me enseñan con el ejemplo, y a quienes admiro por sobre todas las cosas, por sus valores y humildad.

❖ A mi abuela Catalina, mi hermano Fabrizio y mi ahijado José Ignacio que son mi fortaleza.

❖ A Emiliano, por estar siempre, y por sobre todo su paciencia, cariño y comprensión, siendo mi sostén en los momentos más difíciles.

❖ A mis amigas la Dra. Yanina Torres, Dra. Leticia Ithurrart y Lic. Daniela Cardillo; por recibirme y hacerme sentir parte del grupo de Ecología desde un primer momento; por su gran paciencia, amistad, por enseñarme y apoyarme siempre. Al Mag. Tomás Montani por su gran amabilidad, cariño y por darme fuerzas en los momentos difíciles.

❖ A la Dra. Marta Cabello y Dra. Silvana Velázquez por recibirme en su laboratorio, brindarme su cariño, enseñarme, permitirme trabajar con total libertad y transmitirme su amor por las micorrizas.

❖ A la Ing. Rosana Palomo por ayudarme en el procesamiento de las muestras en el laboratorio y disposición en todo momento para lo que fuere necesario.

❖ A la Mag. Ana María Miglierina, Mag. Gabriela Minoldo, Dr. Juan Manuel Martínez, Tec. Cecilia Constantino, Dr. Carlos Cardoso, Tec. Ramiro García, Ing. María Rosa Landriscini y todo el grupo de suelos por su amabilidad y amistad, por

IV

enseñarme y guiarme en todo momento. Sin ustedes muchos de estos estudios no hubieran sido posibles.

❖ Al Ing. Hugo Giorgetti y Tec. Gustavo Rodríguez por brindarme las instalaciones de la Chacra Experimental Patagones y dejarme trabajar con total libertad. Al Ing. Oscar Montenegro por su amabilidad, apoyo en las tareas de laboratorio y amistad. Al Tec. Damián Ponce por el apoyo y ayuda en los muestreos a campo.

❖ A los integrantes del laboratorio de Nutrición Animal: Lic. María Delia Chamadoira, Dra. Marcela Martínez, Mag. Rodrigo Bravo, Mag. Maximiliano Garay y Dr. Pablo Zalba por brindarme las instalaciones y equipamiento del laboratorio para poder realizar el procesamiento y análisis de las muestras.

❖ Al Lic. Ricardo Camina y Dr. Antonio Garayalde por su amabilidad, paciencia y asesoramiento estadístico en todo momento.

❖ Al Lic. Julio Peluffo, por su cariño y apoyo incondicional desde el principio de la tesis.

❖ A la Dra. Fabiola Pagliero, Dra. Graciela Lorda, Lic. Carolina Castaño, Lic. Cinthia Lucero y Dra. Patricia García del grupo de Microbiología de la UNLPam, por recibirme en su grupo de trabajo, permitirme aprender con ustedes, darme siempre palabras de aliento y apoyo incondicional.

❖ A mis amigos Dr. Juan Facundo Dadario, Ing. Gisela Grandinetti y Dr. Guillermo Tucac por sus consejos, cursos de postgrado cursados, acompañarme en los muestreos a campo y compartir otros tantos buenos momentos, que hicieron del trabajo algo muy placentero de realizar.

❖ A todos los estudiantes ayudantes de laboratorio y en el campo que estuvieron trabajando conmigo para poder lograr la realización de las experiencias planteadas.

❖ A mis amigos de Santa Rosa y a todas las personas que en el transcurso de estos 5 años pude conocer aquí en Bahía Blanca “MI SEGUNDO HOGAR”, que estuvieron siempre acompañándome, no dejando que baje los brazos y llenaron mi corazón.....

Muchas gracias a todos!!!!, sin ustedes no lo hubiera logrado.....

Mariela “Tata”

RESUMEN

Los pastizales naturales, constituyen un recurso natural renovable importante para la producción ganadera. El pastoreo tiene efectos no solo en las especies consumidas, sino también en todas aquellas que forman parte de la comunidad vegetal. La descomposición de la broza es fundamental para mantener la productividad de los ecosistemas terrestres. La misma regula la disponibilidad de nutrientes necesarios para el crecimiento de las plantas. El proceso de descomposición, es producido por una combinación de factores bióticos y abióticos como la actividad de los microorganismos en el suelo, las características de la broza, la temperatura, la precipitación y la radiación ultravioleta. El impacto de un cambio florístico sobre el flujo de energía y el ciclo de nutrientes del ecosistema está relacionado con diferencias en rasgos funcionales importantes, como la calidad de los tejidos aéreos y de la broza, entre especies más competitivas que reemplazan a especies menos competitivas bajo condiciones apropiadas de manejo del pastoreo. *Poa ligularis*, *Nassella tenuis* y *Amelichloa ambigua* son gramíneas perennes otoño-invierno-primaverales de distintas etapas sucesionales, abundantes en los pastizales del sudoeste bonaerense. Las dos primeras especies son preferidas por el ganado doméstico y de etapas sucesionales tardías e intermedias, respectivamente; por su parte, *A. ambigua* es una especie indeseable y perteneciente a etapas sucesionales más tempranas. Las especies serales tardías, producen broza de buena calidad con altos contenidos de N, baja relación C:N y lignina, dando lugar a una rápida descomposición y mineralización de nutrientes.

En este estudio se determinaron los efectos de (1) especies de gramíneas perennes nativas de distintas etapas sucesionales (*P. ligularis*, *N. tenuis* y *A. ambigua*) y (2) la defoliación de las mismas en: (1) la demografía y el crecimiento de macollas, (2) la producción y dinámica de descomposición de la broza, (3) las comunidades microbianas, (4) la mineralización de N, (5) la diversidad morfológica de los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA), (6) el porcentaje de colonización total y de estructuras (vesículas y arbusculas) de micorrizas arbusculares, y (7) la producción de forraje anual. Los estudios se efectuaron en una clausura de 16 años al acceso de herbívoros domésticos en la Chacra Experimental de Patagones (Bs. As.). Diferentes plantas marcadas de las tres especies en cada uno de tres años consecutivos (2012-2014) fueron o no (control) defoliadas dos veces durante la estación de crecimiento, en los estadios morfológicos de desarrollo vegetativo e inmediatamente luego de la diferenciación de los ápices vegetativos en reproductivos.

Las especies palatables (es decir, *P. ligularis* y *N. tenuis*) lograron recuperar la pérdida de material fotosintético en las macollas marcadas debido a la defoliación, y tuvieron una producción similar o mayor de forraje que la especie no palatable. Las tasas relativas de crecimiento de las plantas defoliadas de las tres especies fueron similares, y en ciertos períodos mayores a aquellas en las plantas control. Esto contribuye a explicar la sobrecompensación de biomasa aérea de las tres especies en 2012, y la compensación y sobrecompensación de *A. ambigua* y *P. ligularis* en 2013, respectivamente, respecto de los controles sin defoliar por unidad de área basal. En general, las plantas de *P. ligularis* mostraron un mayor aporte de broza aérea respecto de las demás especies. La broza aérea de *P. ligularis* y *N. tenuis* se descompuso más fácilmente que la broza de *A. ambigua*; en el caso de las raíces ocurrió lo contrario, y los efectos microclimáticos de las especies, podrían influir en estadios más avanzados del proceso de descomposición. La identidad de las especies vegetales más que los tratamientos de defoliación, modularon la estructura de las comunidades bacterianas y la actividad microbiana. La mineralización neta potencial de N fue mayor bajo *A. ambigua* en 2013. Sin embargo, en las incubaciones aeróbicas no se registraron diferencias significativas entre especies. *Poa ligularis* presentó mayor densidad de hongos formadores de micorrizas arbusculares, y junto con *A. ambigua* presentaron mayor riqueza de los mismos que los sitios sin vegetación. En general, los tratamientos de defoliación afectaron la colonización total sólo en ciertos momentos de muestreo. Las plantas de *Poa ligularis* presentaron mayor porcentaje de vesículas durante 2012 y 2013, y *A. ambigua* de arbusculas en el último muestreo. Esto último demuestra la mayor dependencia de esta especie a la asociación micorrízica.

Este estudio determinó (1) un mayor aporte de broza aérea, que se descompone más fácilmente, (2) comunidades de microorganismos más heterogéneas (es decir, más diversas), y (3) una mayor actividad microbiana, densidad total de esporas y presencia de vesículas en *P. ligularis* que en *A. ambigua*. Estos resultados sugieren un mejor funcionamiento en el ecosistema estudiado (vía un mayor ciclo de nutrientes) en pastizales naturales dominados por *P. ligularis* que en aquellos dominados por *A. ambigua*.

ABSTRACT

Rangelands are an important renewable natural resource for livestock production. Grazing has effects not only on the grazed plants but also on all those which are part of the plant community. Litter decomposition is critical to maintain the productivity of terrestrial ecosystems. It regulates the availability of nutrients which are necessary for plant growth. The process of decomposition is produced by a combination of biotic and abiotic factors such as the activity of the microorganisms in the soil, litter characteristics, temperature, precipitation and ultraviolet radiation. The impact of a change in the plant species composition on the energy flow and nutrient cycling in the ecosystem is related with differences in important functional traits. These include, for example, the quality of the shoot tissues and litter between more competitive species which replace less competitive ones under appropriate livestock grazing. *Poa ligularis*, *Nassella tenuis* and *Amelichloa ambigua* are cool season perennial grasses of different successional stages, which are abundant on rangelands of southwestern Buenos Aires. *Poa ligularis* and *N. tenuis* are preferred by domestic livestock, and of late and intermediate successional stages, respectively. *Amelichloa ambigua* is a not preferred plant species, and of earlier successional stages than *P. ligularis* and *N. tenuis*. Late-seral perennial grasses produce good quality litter with high N content and low C/N and lignin ratios, which leads to a fast decomposition and nutrient mineralization.

In this study, the effects of (1) native perennial grasses of different successional stages (i.e., *P. ligularis*, *N. tenuis* and *A. ambigua*), and (2) defoliation of these grasses were determined on (1) tiller demography and growth, (2) litter production and decomposition dynamics, (3) microbial communities, (4) N mineralization, (5) morphological diversity of fungi forming mycorrhizal associations (FFMA), (6) the total percentage of mycorrhiza colonization and of those of mycorrhiza structures (vesicles and arbuscules), and (7) annual forage production. Studies were conducted within a 16-year-old enclosure to domestic livestock in the Chacra Experimental de Patagones, Provincia de Buenos Aires. Different marked plants of the three species on each of three consecutive years were either defoliated or not (i.e., control plants) twice in the growing season in the vegetative and immediately after the differentiation of the shoot apex from vegetative to reproductive developmental morphology stages.

Preferred species (i.e., *P. ligularis* and *N. tenuis*) achieved to recover photosynthetic material lost to defoliation in the marked tillers, and showed an either similar or greater forage production than undefoliated plants. Relative growth rates of the three species were either similar or greater than those on control plants. This

VIII

contributes to explain the overcompensation of aboveground biomass in the three species in 2012, and the either exact or overcompensation of that biomass on *A. ambigua* and *P. ligularis* in 2013, respectively, on a per unit basal area scale. In general, plants of *P. ligularis* showed a greater aboveground litter production in comparison to the other species. Aboveground litter of *P. ligularis* and *N. tenuis* decomposed easier than that of *A. ambigua*. The reverse was true for belowground litter, and the microclimatic effects of the plant species could influence on more advanced stages of the decomposition process. Species identity more than the defoliation treatments modulated the structure of the bacterial communities and the microbial activity. Potential N mineralization was greater underneath *A. ambigua* in 2013. However, there were not significant differences among species in the aerobic incubations. *Poa ligularis* showed a greater density of FFMA, and together with *A. ambigua* showed greater FFMA richness than uncovered, nude sites. In general, defoliation treatments affect total colonization by mycorrhizal fungi only at certain times of sampling. Plants of *P. ligularis* had a greater percentage of vesicles during two consecutive years, and those of *A. ambigua* of arbuscules at the last sampling date. This demonstrates the greater dependency of *A. ambigua* of the symbiosis with fungi in comparison to the other two plant species.

This study determined (1) a greater contribution of aboveground litter, which decomposes easily, (2) more heterogeneous microorganism communities (i.e., more diverse), and (3) a greater microbial activity, total spore density and presence of vesicles, in *P. ligularis* than in *A. ambigua*. These results suggest a better functioning in the study ecosystem (via a greater nutrient cycling) if rangelands are dominated by *P. ligularis* than by *A. ambigua*.

ÍNDICE TEMÁTICO

PREFACIO	I
AGRADECIMIENTOS	III
RESUMEN	V
ABSTRACT	VII
CAPÍTULO 1	1
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1.1 Introducción	1
1.2 Hipótesis de trabajo y objetivos.....	9
CAPÍTULO 2	10
ÁREA DE ESTUDIO	10
2.1 Clima	11
2.2 Suelo	13
2.3 Vegetación.....	13
2.4 Características de las especies en estudio	15
CAPÍTULO 3	18
DISEÑO EXPERIMENTAL-TRATAMIENTOS	18
3.1 Diseño experimental	18
3.2 Tratamientos.....	20
CAPÍTULO 4	21
DEMOGRAFÍA Y CRECIMIENTO DE MACOLLAS	21
4.1 Introducción	21
4.2 Materiales y Métodos.....	24
4.2.1 Muestreos y Mediciones	24
4.2.2 Análisis estadísticos.....	25
4.3 Resultados.....	26
4.3.1 Área basal.....	26
4.3.2 Número de hojas (verdes + secas)/macolla progenitora.....	28
4.3.3 Longitud total de hojas (láminas + vainas, verdes + secas)/macolla progenitora y tasas relativas de crecimiento.....	31
4.3.4 Altura de macolla	37
4.4 Discusión	39
CAPÍTULO 5	43
PRODUCCIÓN DE BROZA AÉREA	43
5.1 Introducción	43
5.2 Materiales y Métodos.....	44

5.2.1 Muestras y Mediciones	44
5.2.2 Análisis estadísticos.....	45
5.3 Resultados.....	46
5.3.1 Producción de broza aérea durante la estación de crecimiento (g/planta).....	46
5.3.2 Producción total de broza aérea (g/planta).....	48
5.4 Discusión	48
CAPÍTULO 6	51
DESCOMPOSICIÓN DE BROZA AÉREAY SUBTERRÁNEA	51
6.1. Introducción	51
6.2 Materiales y métodos.....	53
6.2.1 Muestras y Mediciones	53
6.2.2 Análisis estadístico	55
6.3 Resultados.....	55
6.3.1 Pérdida de materia orgánica (%)......	55
6.3.2 Contenido de N (mg).....	59
6.4 Discusión	61
CAPÍTULO 7	65
ESTRUCTURA Y ACTIVIDAD DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS DEL SUELO	65
7.1 Introducción	65
7.2 Materiales y Métodos.....	68
7.2.1 Muestras	68
7.2.2 Mediciones.....	68
7.2.3 Análisis estadísticos.....	70
7.3 Resultados.....	70
7.3.1 Estructura de las comunidades bacterianas.....	70
7.3.2 Respiración basal del suelo como estimador de la actividad microbiana	72
7.4 Discusión	73
CAPÍTULO 8	77
MINERALIZACIÓN DE NITRÓGENO	77
8.1 Introducción	77
8.2 Materiales y Métodos.....	79
8.2.1 Muestras y Mediciones	79
8.2.2 Análisis estadísticos.....	81
8.3 Resultados.....	81
8.3.1 Mineralización neta de nitrógeno in situ	81
8.3.2 Mineralización neta potencial de nitrógeno	83

8.4 Discusión	84
CAPÍTULO 9	87
HONGOS FORMADORES DE MICORRIZAS ARBUSCULARES (HFMA)	87
9.1 Introducción	87
9.2 Materiales y Métodos	89
9.2.1 Muestreos y Mediciones	89
9.2.2. Análisis estadístico	92
9.3. Resultados.....	93
9.3.1. Comunidades de HFMA.....	93
9.3.2 Porcentaje de colonización total y de estructuras (vesículas y arbusculas) de micorrizas arbusculares	99
9.4 Discusión	105
CAPÍTULO 10	113
PRODUCCIÓN DE BIOMASA AÉREA	113
10.1 Introducción	113
10.2 Materiales y Métodos	115
10.2.1 Muestreos y Mediciones	115
10.2.2 Análisis estadísticos.....	115
10.3 Resultados.....	116
10.3.1 Producción de biomasa aérea (g MS/planta)	116
10.3.2 Producción de biomasa aérea (g MS/cm ² de área basal).....	116
10.4 Discusión	117
CAPÍTULO 11	120
CONCLUSIONES GENERALES E INVESTIGACIONES FUTURAS	120
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	125
APÉNDICE	160

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1. Ubicación geográfica del sitio de estudio: Chacra Experimental de Patagones, perteneciente al Ministerio de Agroindustria (MAI) de la Provincia de Buenos Aires.....	10
Figura 2.2. Ubicación de la clausura dentro de la Chacra Experimental Patagones donde se efectuaron los estudios a campo.....	11
Figura 2.3. Datos climáticos mensuales en la Chacra Experimental Patagones: a) temperaturas medias del aire (°C), b) temperaturas medias del suelo en los primeros 20 cm (°C) c) humedad relativa media (%), d) humedad media del suelo en los primeros 30 cm (cd), e) velocidad media del viento (km/h), f) irradiancia (w/m ²) y g) precipitaciones y evapotranspiración (mm).....	12
Figura 2.4. Fotografía de la clausura donde se realizaron los estudios a campo.....	15
Figura 2.5. Fotografía de una planta de <i>Poa ligularis</i> en el sitio de estudio.....	15
Figura 2.6. Fotografía de una planta de <i>Nassella tenuis</i> en el sitio de estudio.....	16
Figura 2.7. Fotografía de una planta de <i>Amelichloa ambigua</i> en el sitio de estudio....	17
Figura 4.1. Fotografía de una planta de <i>Amelichloa ambigua</i> en el sitio de estudio. En la parte inferior se muestra una macolla marcada con un anillo de cable para realizar las mediciones.....	24
Figura 4.2. Interacción tratamientos x fechas del área basal (cm ²) de plantas pertenecientes a <i>Poa ligularis</i> (a, b), <i>Nassella tenuis</i> (c, d), y <i>Amelichloa ambigua</i> (e, f) en 2012 (a, c y e) y 2013 (b, d y f). Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar de n= 20 (a, b, d, e y f) y n= 10 (c). Letras distintas en cada panel indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre fechas (a, b, d, e y f); y letras distintas delante y detrás de la coma (c) entre fechas y tratamientos, respectivamente. Fechas de muestreo en 2012: (1) 30-03, (2) 24-04, (3) 21-05, (4) 02-07, (5) 06-08, (6) 06-09, (7) 04-10, (8) 06-11 y (9) 04-12 y en 2013: (1) 11-04, (2) 09-05, (3) 31-05, (4) 16-07, (5) 23-08, (6) 17-09, (7) 18-10, (8) 21-11 y (9) 20-12. Las flechas indican los momentos en los que se realizaron los cortes.....	27
Figura 4.3. Interacción tratamiento x fechas del número de hojas (verdes + secas)/macolla progenitora en plantas de <i>Poa ligularis</i> (a, b), <i>Nassella tenuis</i> (c, d), y <i>Amelichloa ambigua</i> (e, f) en 2012 (a, c y e) y 2013 (b,d y f). Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar de n=20 (a, d y f) y n=10 (b, c y e). Letras distintas en cada panel indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre fechas (a, d y f), y letras distintas delante y detrás de la coma (b, c y e) entre fechas y tratamientos, respectivamente. Fechas de muestreo en 2012: (1) 30-03, (2) 24-04, (3) 21-05, (4) 02-07, (5) 06-08, (6) 06-09, (7) 04-10, (8) 06-11 y (9) 04-12 y en 2013: (1) 11-04, (2) 09-05, (3) 31-05, (4)	

16-07, (5) 23-08, (6) 17-09, (7) 18-10, (8) 21-11 y (9) 20-12. Las flechas indican los momentos de defoliación.....30

Figura 4.4. Interacción tratamientos x fechas de la longitud total de hojas/macolla progenitora en plantas de *Poa ligularis* (a, b), *Nassella tenuis* (c, d), y *Amelichloa ambigua* (e, f) defoliadas o no en 2012 (a, c y e) y 2013 (b, d y f). Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar de $n= 10$. Letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p\leq 0,05$) entre fechas y tratamientos, dentro de cada especie. Fechas de muestreo en 2012: (1) 30-03, (2) 24-04, (3) 21-05, (4) 02-07, (5) 06-08, (6) 06-09, (7) 04-10, (8) 06-11 y (9) 04-12 y en 2013: (1) 11-04, (2) 09-05, (3) 31-05, (4) 16-07, (5) 23-08, (6) 17-09, (7) 18-10, (8) 21-11 y (9) 20-12. Las flechas indican los momentos en los que se realizaron los cortes.....33

Figura 4.5. Tasas Relativas de Crecimiento para la longitud total de hoja en 2012. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar ($n= 10$). Letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p\leq 0,05$) entre especies y tratamientos respectivamente, dentro de cada fecha de muestreo. Las plantas fueron defoliadas el 7-08 y 14-09.....35

Figura 4.6. Tasas Relativas de Crecimiento para la longitud total de hoja en 2013. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar ($n= 10$). Letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p\leq 0,05$) entre especies y tratamientos respectivamente, dentro de cada fecha de muestreo. Las plantas fueron defoliadas el 18-07 y 17-09.....36

Figura 4.7 Interacción tratamientos x fechas de la altura de macolla perteneciente a plantas de *Poa ligularis* (a, b), *Nassella tenuis* (c, d), y *Amelichloa ambigua* (e, f) defoliadas o no en 2012 (a, c y e) y 2013 (b, d y f) Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar de $n= 10$. Letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p\leq 0,05$) entre fechas y tratamientos, dentro de cada especie. Fechas de muestreo en 2012: (1) 30-03, (2) 24-04, (3) 21-05, (4) 02-07, (5) 06-08, (6) 06-09, (7) 04-10, (8) 06-11 y (9) 04-12 y en 2013: (1) 11-04, (2) 09-05, (3) 31-05, (4) 16-07, (5) 23-08, (6) 17-09, (7) 18-10, (8) 21-11 y (9) 20-12. Las flechas indican los momentos en los que se realizaron los cortes.....38

Figura 5.1. Trampas de broza colocadas a campo, sobre a) una planta de *Poa ligularis* y b) sobre una planta de *Amelichloa ambigua*.....45

Figura 5.2. Producción de broza aérea durante la estación de crecimiento (g/planta) de plantas pertenecientes a *P. ligularis* (a), *N. tenuis* (b) y *A. ambigua* (c). Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar de $n= 10$. Letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p\leq 0,05$) entre fechas y años, dentro de cada especie. Fechas de muestreo en 2012: (1) 23-04, (2) 22-05, (3) 03-07, (4) 07-08, (5)

06-09, (6) 05-10, (7) 06-11 y (8) 04-12, y en 2013: (1) 09-05, (2) 31-05, (3) 16-07, (4) 23-08, (5) 17-09, (6) 18-10, (7) 21-11 y (8) 27-12.....	47
Figura 5.3. Producción total de broza aérea (g/planta) de las especies en estudio. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar (n= 10). Letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre especies y años, respectivamente.....	48
Figura 6.1 Bolsas de descomposición conteniendo láminas colocadas en el campo al inicio del estudio (22-03-2012), y (b) luego de 24 meses (20-03-2014).....	54
Figura 6.2. Pérdida de materia orgánica libre de cenizas (%) en los estudios 2012-2014 (a y b) y 2013-2015 (c y d) desde la broza aérea (láminas, a y c) y subterránea (raíces, b y d), debajo de las especies en estudio en cada fecha de muestreo. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar de n= 10. Dentro de cada muestreo, letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas entre los tipos de material vegetal y entre especies, respectivamente.....	58
Figura 6.3. Ajuste al modelo exponencial negativo ($y = a \cdot e^{-kt}$) del promedio de la materia orgánica remanente (g) de cada tipo de material vegetal perteneciente a las especies estudiadas, en el estudio 2012-2014 (a) y en el estudio 2013-2015 (b).....	59
Figura 6.4. Contenido de N (mg) del material vegetal remanente en el estudio 2013-2014 perteneciente a la broza aérea (láminas, a) o subterránea (raíces, b) colocada debajo de las especies en estudio en cada fecha de muestreo. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar (n= 8). Dentro de cada muestreo, letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas entre los tipos de material vegetal y entre especies, respectivamente.....	61
Figura 7.1. Estudio 2012. Dendrogramas de los perfiles de PCR-DGGE de las comunidades bacterianas presentes en suelos debajo del follaje de <i>Poa ligularis</i> (Pl), <i>Nassella tenuis</i> (Nt) y <i>Amelichloa ambigua</i> (Aa) en el muestreo inicial (a), luego de una (b) y dos (c) defoliaciones, D: plantas defoliadas, ND: plantas no defoliadas (control).....	71
Figura 7.2 Estudio 2013. Dendrogramas de los perfiles de PCR-DGGE de las comunidades bacterianas presentes en suelos debajo del follaje de <i>Poa ligularis</i> (Pl), <i>Nassella tenuis</i> (Nt) y <i>Amelichloa ambigua</i> (Aa) en el muestreo inicial (a), luego de una (b) y dos (c) defoliaciones, D: plantas defoliadas, ND: plantas no defoliadas (control).....	72
Figura 8.1 Vista superior de los tubos PVC (15 cm longitud, 3,5 cm diámetro), puestos a incubar <i>in situ</i>	79
Figura 8.2. Frascos conteniendo 250 g de suelo para determinación de mineralización neta potencial de N por incubación aeróbica.....	80

Figura 8.3. Estudio in situ 2013. N inorgánico (mg kg^{-1}) luego de la primera (1; 18 de julio- 23 de agosto) y de la segunda (2; 17 de septiembre- 18 de octubre) incubación debajo de las especies en estudio. Letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre especies y muestreos respectivamente. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar ($n = 10$).....82

Figura 9.1. Esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares observadas bajo microscopio óptico. *Funneliformis geosporum* (a y b), aspecto general de la espора (a), detalle de la hifa sustentora (b); *Glomus* sp. (c y d), aspecto general de la espора (c), detalle de la hifa sustentora (d); vista general de la espора perteneciente a *Acaulospora mellea* (e), *Funneliformis mosseae* (f) y *Glomus microaggregatum* (g). Aumento utilizado: 400 x (a, c, e, f, y g) y 1000 x (b y d).....90

Figura 9.2. Vista al microscopio óptico de estructuras de colonización de micorrizas arbusculares en raíces pertenecientes a *Nassella tenuis*, teñidas con Azul de Tripano. Esporas (E), hifas (H), arbúculas (A) y vesículas (V). Aumento utilizado: 400 x (a y c) y 100 x (b).....92

Figura 9.3. Biplot de la proporción de esporas (número de esporas de cada especie/número total de esporas) de las principales especies de hongos formadores de micorrizas arbusculares y su relación con *Poa ligularis* (Pl), *Nassella tenuis* (Nt), *Amelichloa ambigua* (Aa) defoliadas (D) y no defoliadas (ND) y sitios sin vegetación (Sv) en agosto (Ago), septiembre (Sep) y octubre (Oct) de 2012. Correlación cofenética: 0,833.....97

Figura 9.4. Densidad (número total de esporas/100 gr de suelo) de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) presentes en los suelos asociados a *Poa ligularis* (Pl), *Nassella tenuis* (Nt), *Amelichloa ambigua* (Aa) y sitios sin vegetación (Sv) de a) Glomeraceae y Acaulosporaceae y b) Diversisporaceae. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar ($n = 12$). Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre especies de gramíneas dentro de cada familia de HFMA (a) y entre especies de gramíneas dentro cada fecha de muestreo (b).....98

Figura 9.5. Riqueza (número de especies/100 g de suelo) y Densidad (número total de esporas/100 g de suelo) de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) presentes en los suelos asociados a *Poa ligularis* (Pl), *Nassella tenuis* (Nt), *Amelichloa ambigua* (Aa) y sitios sin vegetación (Sv). Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar de $n = 12$. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre especies...99

Figura 9.6. Colonización total de micorrizas arbusculares (%) presente en el estudio 2012, en plantas pertenecientes a *N. tenuis* (a) no defoliadas (ND) o defoliadas (D) y plantas pertenecientes a *A. ambigua* (b) en las distintas fechas de muestreo. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar de $n = 18$ (a) y $n = 12$ (b). Letras distintas indican

- diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre tratamientos (a); y entre fechas de muestreo (b).....100
- Figura 9.7.** Colonización total de micorrizas arbusculares (%) presente en el estudio 2013, en plantas defoliadas o no pertenecientes a *P. ligularis* (a) y *A. ambigua* (c) y plantas pertenecientes a *N. tenuis* (b) en las distintas fechas de muestreo. Cada dato es el promedio ± 1 error estándar de $n = 6$ (a y c), y de $n = 12$ (b). Letras delante y detrás de la coma, indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre fechas y tratamientos, respectivamente (a y c); y entre fechas (b).....101
- Figura 9.8.** Presencia de vesículas (%) en el estudio 2013, en plantas de *P. ligularis* (a) defoliadas o no y de *A. ambigua* (b) en las distintas fechas de muestreo. Cada dato es el promedio ± 1 error estándar de $n = 6$ (a) y de $n = 12$ (b). Letras delante y detrás de la coma, indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre fechas y tratamientos, respectivamente (a); y en entre fechas (b).....103
- Figura 9.9.** Presencia de arbusculas (%) en el estudio 2012 de plantas de *N. tenuis*. Cada dato es el promedio ± 1 error estándar ($n = 12$). Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre fechas de muestreo.....104
- Figura 9.10.** Presencia de arbusculas (%) en el estudio 2013, en *P. ligularis* (a) y plantas defoliadas o no de *A. ambigua* (b), en las distintas fechas de muestreo. Cada dato es el promedio ± 1 error estándar de $n = 12$ (a) y de $n = 6$ (b). Letras delante y detrás de la coma, indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre fechas de muestreo (a); y entre fechas y tratamientos, respectivamente (b).....105
- Figura 10.1.** Producción de biomasa aérea (g MS/planta) de plantas pertenecientes a las especies en estudio en 2012 (a) y 2013 (b). Cada dato es el promedio ± 1 error estándar de $n = 20$ (a) y de $n = 10$ (b). Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre especies (a); y letras distintas delante y detrás de coma, entre especies dentro de cada tratamiento y tratamientos dentro de cada especie, respectivamente (b).....116
- Figura 10.2.** Producción de biomasa aérea en relación al área basal (g MS/cm²) en plantas pertenecientes a las especies en estudio defoliadas (D) o no (ND, control) en 2012 (a) y en 2013 (b). cada dato es el promedio ± 1 error estándar de $n = 30$ (a) y de $n = 10$ (b). Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre tratamientos (a); y letras distintas delante y detrás de coma entre especies dentro de cada tratamiento y tratamientos dentro de cada especie, respectivamente (b).....117

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1. Propiedades físico-químicas del suelo de la Chacra Experimental Patagones. Materia orgánica (MO), Nitrógeno total (Nt), Conductividad eléctrica (CE), Fósforo extractable (Pe), Capacidad de intercambio catiónico (CIC), Cationes Intercambiables (Na, Mg, K y Ca) y Textura. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar (n= 5).....	13
Tabla 5.1. Producción de broza aérea durante la estación de crecimiento (g/planta) de las tres especies en estudio. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar (n= 10). Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre especies en cada fecha de muestreo, dentro de cada año de estudio.....	47
Tabla 7.1. Respiración basal del suelo (mg de CO ₂ /g de suelo) durante 2012 y 2013 debajo del follaje de <i>Poa ligularis</i> (Pl), <i>Nassella tenuis</i> (Nt) y <i>Amelichloa ambigua</i> (Aa), en el muestreo inicial (1,) luego del primer (2) y segundo corte (3). D: plantas defoliadas, ND: plantas no defoliadas (control). Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar (n= 4). En cada año, dentro de cada especie, letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre fechas y tratamientos respectivamente.....	73
Tabla 8.1. Nitrógeno inorgánico (mg kg ⁻¹) mineralizado en el suelo debajo del follaje de las especies en estudio y sitios sin vegetación durante los ciclos (7) de incubación (t). Letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre especies/sitios sin vegetación dentro de cada ciclo y entre ciclos dentro de cada especie respectivamente. Cada punto es el promedio \pm 1 error estándar (n= 8).....	83
Tabla 9.1. Densidad (número de esporas/100 g de suelo) y frecuencia de ocurrencia (FO; porcentaje de aparición de cada especie de hongo en relación a las especies vegetales y sitios sin vegetación) de especies de Hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) presentes en los suelos asociados a las especies en estudio y sitios sin vegetación durante el muestreo inicial (agosto). Los datos son promedios \pm 1 error estándar (n= 12).....	94
Tabla 9.2. Densidad (número de esporas/100 g de suelo) y frecuencia de ocurrencia (FO; porcentaje de aparición de cada especie de hongo en relación a las especies vegetales defoliadas o no y sitios sin vegetación) de especies de Hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) presentes en los suelos asociados a plantas defoliadas (D) y no defoliadas (ND) de las especies en estudio y sitios sin vegetación durante el segundo (septiembre) y tercer muestreo (octubre). Los datos son promedios \pm 1 error estándar (n= 6 para las especies - tratamientos y n= 12 para los sitios sin vegetación).....	95

Tabla 9.3. Colonización total de micorrizas arbusculares (%) presente en el estudio 2012 en plantas defoliadas o no de *Poa ligularis*, *Nassella tenuis* y *Amelichloa ambigua*. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar (n= 6). Letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre especies y tratamientos de defoliación, respectivamente, dentro de cada fecha de muestreo....100

Tabla 9.4. Colonización total de micorrizas arbusculares (%) presente en el estudio 2013 en plantas defoliadas o no de *Poa ligularis*, *Nassella tenuis* y *Amelichloa ambigua*. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar (n= 6). Letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre especies y tratamientos de defoliación respectivamente, dentro de cada fecha de muestreo.....102

Tabla 9.5. Presencia de vesículas (%) en el estudio 2013 en plantas defoliadas o no de *Poa ligularis*, *Nassella tenuis* y *Amelichloa ambigua*. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar (n= 6). Letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre especies y tratamientos de defoliación respectivamente, dentro de cada fecha de muestreo.....103

Tabla 9.6. Promedio de la presencia de arbusculas (%) en el estudio 2013 en plantas defoliadas o no de *Poa ligularis*, *Nassella tenuis* y *Amelichloa ambigua*. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar (n= 6). Letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre especies y tratamientos de defoliación respectivamente, dentro de cada fecha de muestreo.....105

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1 Introducción

Los pastizales naturales de todo el mundo constituyen un recurso renovable importante para la producción ganadera. En su mayoría, se ubican en zonas climáticas áridas y semiáridas (Brown, 1995). La defoliación puede definirse como cualquier remoción de material vegetal, fisiológicamente activo, ya sea por corte, pisoteo o alimentación por parte de organismos herbívoros que determina un cambio inmediato de altura y densidad en la cobertura vegetal (Heady y Child, 1994). Las gramíneas que componen los pastizales naturales deben ser capaces de reponer rápidamente la biomasa removida por una defoliación para asegurar su persistencia en el pastizal. La reposición de dicha biomasa puede ocurrir, por ejemplo, mediante (1) la producción de nuevas macollas por activación de meristemas (yemas) axilares, con aumentos subsiguientes en el área basal de las plantas (Flemmer *et al.*, 2002); la producción de (2) hojas, y (3) láminas y vainas foliares a partir de meristemas apicales e intercalares remanentes (Briske, 1991; Busso y Richards, 1995), y la velocidad de crecimiento (ej. tasa relativa de crecimiento) a partir de dichos tejidos. Los tres tipos de meristemas (es decir, axilares, apicales, e intercalares) crecen simultáneamente durante el re-establecimiento de los tejidos aéreos; sin embargo, la velocidad de rebrote luego de la defoliación dependerá de la interacción entre los tipos de meristemas disponibles, variables ambientales y disponibilidad de recursos (Briske y Richards, 1995). La cantidad y calidad de la biomasa aérea producida también es muy importante a la hora de determinar la cantidad y calidad de las brozas aérea y subterránea (Fitter y Hay, 1983).

Los controles principales de la liberación de nutrientes desde las brozas aéreas y subterráneas al suelo son el clima, los organismos del suelo, y la constitución química de la broza (Swift *et al.*, 1979; Austin y Vivanco, 2006). Altos niveles de N y P mejoran las tasas de descomposición microbiana de la broza y su mineralización (Enríquez *et al.*, 1993). Debido a que la tasa de descomposición microbiana está relacionada con la relación C:N, es de esperar que la cantidad de N y C que llegan al suelo será proporcionalmente menor al indicado por las cantidades de N y C de la broza aérea. El contenido de lignina controla la partición de la broza en materiales estructurales y metabólicos. La mayoría del material estructural (70%) con un alto contenido de lignina se estabiliza en el suelo, al mismo tiempo que muy poco pasa a formar parte de la biomasa microbiana (Swift *et al.*, 1979). En el caso de las raíces, un

63% de su C se degrada fácilmente, y el 37% restante forma parte de la materia orgánica resistente del suelo (Swift *et al.*, 1979).

El clima afecta la producción de broza, la calidad de la misma, y la actividad microbiana. En la mayoría de los ambientes áridos y semiáridos la precipitación y la temperatura son importantes en controlar los procesos de descomposición (Lambers *et al.*, 1988). Los ciclos de los nutrientes se pueden alterar debido en parte a una menor descomposición de la materia orgánica, que determinará un menor nivel de nutrientes en las plantas vasculares asociadas (Belnap, 1995). Algunos sistemas de desierto frío pueden ser especialmente susceptibles a estas alteraciones debido parcialmente a que menores temperaturas del suelo disminuyen el ciclo de los nutrientes (Lambers *et al.*, 1988). Otro factor del suelo que puede afectar su biota es el pH (Wakelin *et al.*, 2008). Por ejemplo, la conversión de NH_4^+ a NO_3^- no ocurrirá (vía *Nitrosomas* o *Nitrobacter*) si el pH es menor que 5 (Fitter y Hay, 1983). La disponibilidad de agua, puede influir en las tasas de descomposición de la broza y liberación de nutrientes, a través de sus efectos sobre las actividades de los descomponedores (Orchard y Cook, 1983; Berg, 1986). El suministro de agua en forma de precipitaciones afecta la descomposición, por facilitar la lixiviación y desglose de hojarasca (Swift *et al.*, 1979). La descomposición de la broza debajo del suelo se ve influenciada tanto por la disponibilidad de agua como por la calidad del material (Austin *et al.*, 2009). En el caso de la broza en superficie, otros factores además de las precipitaciones influyen en la liberación de nutrientes a través de la misma (Austin *et al.*, 2009). En la estepa patagónica, Austin y Vivanco (2006) mostraron que el factor dominante de la descomposición de la broza aérea fue la fotodegradación, que es la mineralización fotoquímica de la materia orgánica; estos estudios demostraron que la biota pareció ser muy poco importante, mientras que las dosis y distribución espectral de la radiación solar fueron determinantes críticos del reciclado de carbono en el ecosistema estudiado (Austin y Vivanco, 2006).

El material vegetal fresco incorporado en el suelo, representa un sustrato fácilmente disponible para los descomponedores. La actividad principal de la mineralización de nutrientes, se lleva a cabo por las comunidades microbianas del suelo, y la calidad específica de los residuos orgánicos controla la velocidad de descomposición y la liberación de los nutrientes (Neely *et al.*, 1991; Zayed Hossain *et al.*, 2009). La broza de buena calidad, posee altos contenidos de N y baja relación C:N. Esto le permite descomponerse más rápido en comparación con la broza de baja calidad (Sánchez, 2001). Microorganismos como bacterias y hongos, segregan enzimas que pueden descomponer las moléculas grandes, tales como celulosa y lignina, en compuestos más pequeños que pueden ser absorbidos por la biota (Smalla

et al., 1993). Materia orgánica con alta relación C:N o lignina:N se descompone más lentamente, e induce bajas tasas de mineralización de N, alta inmovilización en la biomasa microbiana, y la prevalencia de amonificación (Adams y Attiwill, 1986). Compuestos de carbono complejos, como fenoles u otros metabolitos secundarios también podrían retardar la descomposición de la hojarasca y la mineralización de nutrientes en el suelo. Este retraso podría resultar del efecto del secuestro de N a través de la precipitación de proteínas, la inactivación de las enzimas microbianas y/o efectos tóxicos en los descomponedores (Lambers *et al.*, 1998; Aerts y Chapin, 2000). Por otra parte, la calidad de la broza generalmente disminuye durante el curso de la descomposición, debido a la pérdida de C fácilmente disponible, y la acumulación de compuestos recalcitrantes (Heal *et al.*, 1997). Simultáneamente, la biomasa microbiana del suelo disminuye, y la eficiencia del uso del C aumenta (Dilly *et al.*, 1996). Diferentes grupos de bacterias y los hongos tienen diferentes capacidades bioquímicas y fisiológicas, y estas diferencias pueden influir en la descomposición de la broza (Das *et al.*, 2007). Además, la mayor biodiversidad dentro de una comunidad, reduce los efectos que condiciones ambientales variables y extremas, pueden tener sobre la funcionalidad de las comunidades microbianas, y por lo tanto se preservan los procesos ecológicos relacionados (Ekschmitt *et al.*, 2001).

En Argentina, gran parte de la industria de producción del ganado de carne se basa en el pastoreo de la vegetación nativa de pastizales áridos y semiáridos, que ocupan aproximadamente las tres cuartas partes del territorio nacional. (Fernández y Busso, 1999). La Provincia Fitogeográfica del Monte se extiende de norte a sur en el centro y el oeste de Argentina, constituyendo el pastizal más árido del país. La porción patagónica, en el sur del Monte tiene un clima más frío. Su temperatura promedio anual es de 12 a 14 °C y las lluvias son escasas, entre 200 y 300 mm anuales, concentradas en invierno y primavera (Fernández y Busso, 1999). La vegetación del Monte ha sido degradada por el pastoreo excesivo y como resultado, las gramíneas perennes deseables han desaparecido y ha aumentado la cobertura de especies indeseables como arbustos, hierbas anuales y malezas (Distel y Bóo, 1996; Guevara *et al.*, 1997).

El pastoreo constituye una fuerza modificadora y modeladora, no solo de las especies afectadas, sino también de toda la comunidad vegetal y en forma directa o indirecta del microclima en especial y del microambiente en general (Anderson, 1983; Orbea *et al.*, 1985). La sucesión generada por el pastoreo selectivo puede ser positiva o negativa (Anderson, 1983). *Poa ligularis* Ness ex Steudel y *Nassella tenuis* (Phil.) Barkworth son especies preferidas por el ganado doméstico y de etapas serales tardías e intermedias, respectivamente (Distel y Bóo, 1996; Peláez *et al.*, 2010).

Amelichloa ambigua (Speg.) Arriaga y Barkworth es una especie indeseable y perteneciente a etapas serales más tempranas (Saint Pierre *et al.*, 2002). Las tres especies de gramíneas perennes C₃ son nativas de la Provincia Fitogeográfica del Monte, y su dominancia en el pastizal natural está condicionada, al menos en parte, por la historia de pastoreo y la frecuencia e intensidad de fuegos (Distel y Bóo, 1996).

El impacto de un cambio florístico sobre procesos del ecosistema está relacionado con las diferencias en rasgos funcionales importantes, como la calidad de la broza, entre especies más competitivas que reemplazan a especies menos competitivas bajo condiciones apropiadas de manejo del pastoreo y/o fuego (Distel y Bóo, 1996). Hay varios factores que hacen más competitivas a las especies palatables, como un sistema radical bien desarrollado, un sistema activo de macollaje o una estrategia de supervivencia a través de un ciclo reproductivo reforzado o múltiple (Anderson, 1983). Pelaez *et al.* (2010), demostraron en zonas de Monte en la Patagonia que sistemas de pastoreo rotativo luego de fuegos controlados favorecieron la persistencia de especies preferidas por el ganado doméstico (ej. *P. ligularis*) y redujeron aquella de especies menos preferidas (ej. *A. ambigua*). Trabajos previos, informaron que la cobertura de *P. ligularis* y *N. tenuis* se incrementó en detrimento de aquella de *A. ambigua* en áreas que habían sido severamente pastoreadas (Giorgetti *et al.*, 1999). Por otra parte, cambios florísticos han determinado cambios en los ciclos biogeoquímicos como resultado del aporte de una broza de diferente calidad (Evans *et al.*, 2001).

Flemmer *et al.* (2003), demostraron que la reducción en la cobertura vegetal de especies de gramíneas perennes incrementaba la cantidad de radiación fotosintéticamente activa que alcanzaba la superficie del suelo. Además, la temperatura de suelo se incrementa cuando se reduce la cobertura de follaje (Busso *et al.*, 2010). Los cambios en el microclima entre plantas defoliadas versus plantas no defoliadas afectarán muy probablemente la descomposición de la broza en superficie, y el tamaño y actividad de los microorganismos en el suelo (Bremer *et al.*, 1998).

El pastoreo, puede tener un impacto muy importante en las raíces, la broza, y las características del suelo. Carrera *et al.* (2008) informaron que la producción de raíces finas no varió entre sitios pastoreados y no pastoreados. La concentración de compuestos secundarios fue mayor en la broza foliar y radical de las plantas pastoreadas que no pastoreadas (Carrera *et al.*, 2008). La broza radical (fina: < 2mm) y el C mostraron una menor descomposición que la broza aérea, atribuible a los compuestos secundarios predominantes. La broza foliar se descompuso más lentamente, pero liberó más N durante la descomposición en el sitio no pastoreado que en el pastoreado (Carrera *et al.*, 2008). Estos autores hallaron que los cambios en

la estructura del follaje inducidos por la defoliación (desde especies preferidas a no preferidas) incrementaron la concentración de compuestos secundarios en las brozas aérea y subterránea conduciendo a una lenta liberación de N al suelo durante la descomposición. Además, estos autores encontraron que una disminución de la intensidad de pastoreo resultó en un incremento en el reservorio de C orgánico en el suelo en áreas dominadas por arbustos en el norte de la Patagonia. Mapfumo *et al.* (2002) informaron que (1) la provisión de C por las brozas aérea y radical de especies de gramíneas fue mayor en la medida que se redujo la intensidad de pastoreo, y (2) el C orgánico total del suelo no cambió significativamente en los primeros 30 cm de profundidad del suelo durante un período de 3 años.

La tasa de descomposición de la broza es afectada por las comunidades microbianas (Hector *et al.*, 2000). Para entender la ecología de los microorganismos del suelo, sus interacciones y las funciones que realizan, es importante estudiarlos en su hábitat natural (Sterflinger *et al.*, 1998). Altos niveles de actividad microbiana en suelos de pastizales naturales, posiblemente se relacionen con una comunidad estructuralmente adaptada a la degradación de sustratos lábiles (Ferrerías *et al.*, 2009). Las raíces de las plantas, debido a la continua pérdida de nutrientes, crean un entorno en el que las poblaciones microbianas y sus actividades, son significativamente diferentes de los sitios sin vegetación. Los compuestos perdidos desde las raíces por “rizodeposición” incluyen secreciones y exudados de bajo peso molecular, mucílagos de polisacáridos y lisados (Whipps y Lynch, 1986), que se ven afectados tanto cualitativamente como cuantitativamente por una amplia gama de factores ambientales, incluyendo las especies de plantas (Klein *et al.*, 1988) y la defoliación (Bokhari y Singh, 1974). Prácticas de manejo como el pastoreo, pueden cambiar las condiciones ambientales del suelo o la distribución de C hacia las raíces y los microorganismos asociados (Schlesinger y Andrews, 2000; Ma *et al.*, 2004). Se ha informado que la respiración microbiana se incrementó al aumentar la temperatura (MacDonald *et al.*, 1995) o el contenido de humedad (Liang *et al.*, 2003). Además, otros estudios realizados en pastizales, han demostrado que el corte reduce la respiración edáfica (Bremer *et al.*, 1998; Wan y Lu, 2003) o que bajas intensidades de pastoreo no tuvieron efecto sobre la misma (Zhou *et al.*, 2006). Estos resultados sugieren que las especies vegetales de los pastizales pueden tener diferentes grados de interacción con los microorganismos. Caracterizar la diversidad funcional microbiana puede ayudar a entender los procesos ecosistémicos implicados (Gavrichkova *et al.*, 2010), debido a que la capacidad de las plantas para resistir perturbaciones como la defoliación, dependerá en parte de las comunidades microbianas asociadas.

La mineralización de nitrógeno es afectada por factores ambientales físicos como la temperatura, humedad, pH y aireación, por el contenido de nitrógeno del sustrato, tipo de compuestos orgánicos y por los microorganismos del suelo (Binkley y Hart, 1989). En zonas áridas la actividad microbiana es frecuentemente limitada por la humedad (Austin *et al.*, 2004), por lo que las tasas de mineralización e inmovilización de nitrógeno están ligadas a los pulsos de precipitación (Fisher *et al.*, 1987). Las sequías periódicas resultan en biomasa muerta de microorganismos que sirve de reservorio (Whitford, 2002) y dejan nutrientes disponibles para las plantas u otros microorganismos, por lo que la inmovilización microbiana puede reducir pérdidas de nitrógeno del ecosistema. El pastoreo moderado, influye en el funcionamiento de los pastizales mediante la mejora de los procesos de reciclaje de nutrientes, especialmente la mineralización de nitrógeno (Bardgett *et al.*, 1998). Este efecto, se ha atribuido en gran medida a la mayor eficiencia de recirculación de nutrientes a través de los excrementos de los animales (Reuss y McNaughton, 1987), mejoras en la calidad de la broza y la descomposición de las plantas pastoreadas (Bardgett *et al.*, 1998). Además, la biota del suelo tiene un rol fundamental en la mineralización de este nutriente (Austin *et al.*, 2006). Se han sugerido aumentos en la mineralización de N en pastizales pastoreados, producto de una mayor rizodeposición de las plantas defoliadas que produjeron un incremento en el tamaño y la actividad de la biomasa microbiana del suelo (Mawdsley y Bardgett, 1997; Bardgett *et al.*, 1998).

Un mecanismo de tolerancia muy importante que poseen las gramíneas nativas a perturbaciones como la defoliación, son cambios en las relaciones simbióticas con los microorganismos de la rizósfera (Manske, 1996). Los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) se asocian a las raíces de muchas especies nativas y afectan la estructura y dinámica de la comunidad vegetal, especialmente en lugares con suelos pobres en nutrientes (Van der Heijden *et al.*, 1998; Hartnett y Wilson, 1999). A su vez, la comunidad vegetal, es la que determina la distribución y composición de los HFMA en el suelo (Johnson *et al.*, 1992). El simbionte fúngico, recibe carbohidratos desde las raíces (Harley y Smith, 1983). A su vez, el micelio externo de los hongos aumenta el área de exploración del hospedante, permitiendo el acceso a los nutrientes (tales como P, N, y C) dentro de los poros del suelo, que serían inaccesibles para las raíces por si solas (Miller *et al.*, 2012), mejoran la tolerancia al estrés ambiental (por ejemplo, la sequía), y proveen mayor resistencia al ataque por agentes patógenos (Harley y Smith, 1983). Las micorrizas arbusculares, contribuyen a la mejora de la estructura del suelo a través de la formación de los agregados, que a su vez aumentan la capacidad de retención de agua (Andrade *et al.*, 1998; Auge *et al.*, 2001). Mendoza *et al.* (2002), mostraron que una mayor cantidad y

diversidad en la población de HFMA estuvo asociada con una mayor calidad forrajera del pastizal. Las micorrizas han demostrado estimular la descomposición de la materia orgánica (Atul-Nayyar *et al.*, 2009; Cheng *et al.*, 2012) y dinámica de nutrientes en el suelo (Nuccio *et al.*, 2013). El pastoreo, al influir sobre la disponibilidad de nutrientes, puede afectar la composición de las comunidades de HFMA y la frecuencia de colonización de las micorrizas arbusculares (Smith y Read, 2008). Los efectos de la defoliación sobre la colonización por HFMA han demostrado ser muy variables. Se ha reportado que el pastoreo o la defoliación puede disminuir (Bethlenfalvay y Dakessian, 1984; Grime *et al.*, 1987; Eom *et al.*, 2001; Saravesi *et al.*, 2014) aumentar (Frank *et al.*, 2003) o no tener influencia sobre la colonización por HFMA (Torres *et al.*, 2011; Yang *et al.*, 2013). La variación en la respuesta de las micorrizas a la pérdida de la biomasa aérea podría ser debida a la cantidad de tejido removido (Gehring y Whitman, 2002; Gehring y Bennett, 2009) y la identidad del HFMA asociado (Zaller *et al.*, 2011). Especies de los géneros *Glomus* y *Rhizophagus*, comunes en ambientes áridos y semiáridos, son capaces de tolerar bajos niveles de hidratos de carbono procedentes de la planta huésped. Como resultado, los HFMA no sólo pueden sobrevivir sino también aumentar su crecimiento y abundancia (Eom *et al.*, 2001; Saito *et al.*, 2004; Su y Guo, 2007), favoreciendo así la capacidad competitiva de las plantas y la tolerancia a defoliaciones moderadas (Cheng *et al.*, 2012; Nuccio *et al.*, 2013; Kojima *et al.*, 2014).

Con un buen manejo del pastoreo en la Provincia Fitogeográfica del Monte, los cambios en la composición de especies desde especies no preferidas (ej., *A. ambigua*) por el ganado doméstico a especies preferidas (ej., *P. ligularis*) podrían determinar una mayor productividad primaria neta (entrada de C al sistema). Esto es debido a que los tejidos foliares de *P. ligularis* tienen una concentración de N superior a los de *A. ambigua* (Cano, 1988.), y la concentración de N del tejido foliar guarda una relación directa con la tasa fotosintética (Lambers *et al.*, 1998). Además, la morfología diferente de *P. ligularis*, *N. tenuis* y *A. ambigua* podría resultar en diferencias en la insolación recibida a nivel de suelo (debido a diferencias en el sombreado), factor clave estimulador de la descomposición (liberación de C del sistema) en zonas áridas (Austin y Vivanco, 2006). Los efectos microclimáticos producidos por el reemplazo de *A. ambigua* por *P. ligularis* podrían interactuar positivamente con la broza de mayor labilidad de *P. ligularis*, dando lugar a mayores aumentos en las tasas de descomposición y de mineralización del N. A largo plazo, los aumentos en el secuestro de C, y al mismo tiempo los aumentos en la liberación de C a la atmósfera por descomposición de la broza, podrían modificar las reservas de C contenidas en la materia orgánica del suelo. Al mismo tiempo, los aumentos en la mineralización del N,

provocarían incrementos en el N inorgánico del suelo. Ambos efectos afectarían la sustentabilidad ecológica y económica del sistema, y su función como sumidero global de C.

Las gramíneas perennes producen hojas de una vida corta, con una baja protección a los factores abióticos y los herbívoros (Campanella y Bertiller, 2008). Por lo tanto, los cambios de especies inducidos por un adecuado manejo del pastoreo desde gramíneas perennes no preferidas a gramíneas perennes preferidas podrían (1) afectar la cantidad y constitución química (concentración de lignina, N, etc) de la broza foliar (2) las características de las raíces finas, y sus tasas de descomposición y (3) los ciclos de los nutrientes y del C (Fisher *et al.*, 2006). Sin embargo, la tasa del ciclo de nutrientes está determinada no solo por la tasa de liberación de nutrientes sino también por la cantidad total de broza (aérea y subterránea) que es producida por unidad de área de suelo.

Hay evidencias de una gran entrada de C y nutrientes al suelo desde raíces finas en descomposición (Whitford, 2002). Sin embargo, no hay estudios de la medida en que la defoliación puede (1) modificar el microclima debajo de plantas de gramíneas perennes preferidas y no preferidas, y de los efectos que esta modificación puede tener (2) en las tasas de descomposición de las brozas aérea y subterránea, (3) la liberación de C, N y otros nutrientes desde las mismas, (4) la estructura y actividad de las comunidades microbianas, (5) la mineralización de N y (6) la simbiosis con HFMA.

1.2 Hipótesis de trabajo y objetivos

Objetivo general

Medir el efecto de los cambios en la estructura del follaje inducido por la defoliación, sobre diferentes factores que inciden en el flujo de energía y el ciclo de nutrientes, asociados a tres especies de gramíneas perennes de diferente preferencia por el ganado y de distintas etapas sucesionales (*P. ligularis*, *N. tenuis* y *A. ambigua*).

La información obtenida contribuye al conocimiento de los efectos involucrados en el reemplazo de especies serales tempranas no preferidas por el ganado doméstico, por especies serales tardías, preferidas por dicho ganado, sobre el funcionamiento del ecosistema.

Hipótesis general

La identidad y defoliación de las gramíneas perennes, al afectar el microclima debajo de las mismas, inciden diferencialmente en (1) la descomposición de las brozas aérea y subterránea, (2) la estructura y actividad de las comunidades microbianas en el suelo, (3) la mineralización de N, (4) la diversidad de HFMA y (5) la colonización de micorrizas arbusculares.

Objetivos específicos

Determinar los efectos de las especies y de la defoliación (de *P. ligularis*, *N. tenuis* y *A. ambigua*) en:

- (1) diferentes componentes de crecimiento,
- (2) la producción de broza durante la estación de crecimiento,
- (3) la pérdida de materia orgánica y los contenidos de N desde la broza aérea y subterránea de dichas especies,
- (4) la estructura y la actividad microbiana en el suelo,
- (5) la diversidad morfológica HFMA y el porcentaje de colonización total y de estructuras (vesículas y arbusculas) de micorrizas arbusculares,
- (6) la mineralización de N (potencial e *in situ*) y,
- (7) la producción de materia seca anual.

CAPÍTULO 2

ÁREA DE ESTUDIO

El estudio se efectuó desde enero de 2012 a abril de 2015 en una clausura (1,12 ha.) de 16 años al acceso de herbívoros domésticos, en la Chacra Experimental Patagones, ubicada en el sur de la Provincia de Buenos Aires ($40^{\circ} 39'S$, $62^{\circ} 54'O$; 40 m snm, Fig. 2.1 y 2.2), dentro de la Provincia Fitogeográfica del Monte (Cabrera, 1976). Dicha Provincia constituye la región más árida del país (Fernandez y Busso, 1999). En el Partido de Patagones, la combinación de factores ambientales (sequías, fuertes vientos, irregularidad en las precipitaciones) y antrópicos (desmontes y laboreos excesivos, sobrepastoreo) han conducido a la región a un estado de degradación coincidente con la aparición de procesos de desertificación, como son la pérdida de la cobertura vegetal, disminución en la fertilidad del suelo, compactación y salinización, entre otras (MEA, 2005; Pezzola y Winschel, 2007; Pezzola *et al.*, 2009; SAyDS, 2011). Además, estos ecosistemas, cuentan con bajos niveles de resiliencia (Elisetch, 2012).

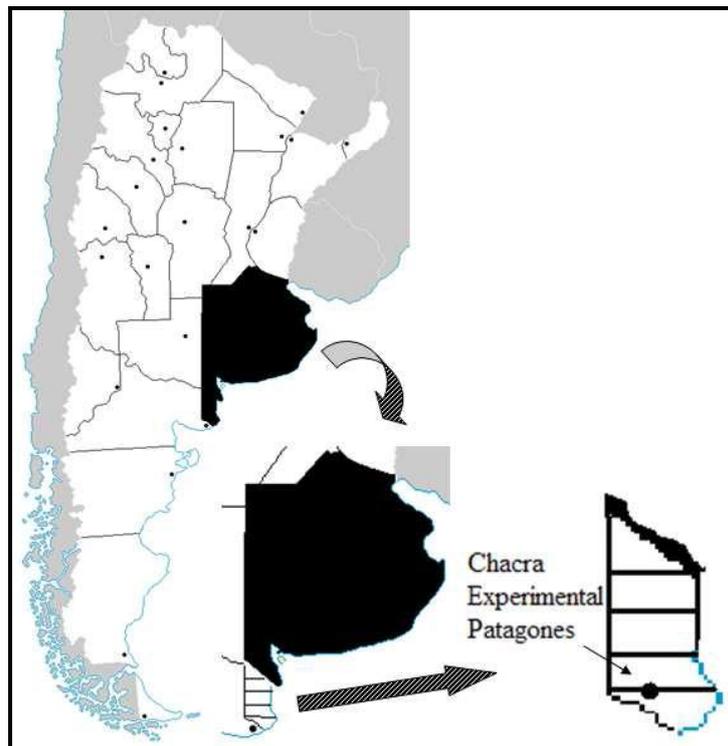


Figura 2.1. Ubicación geográfica del sitio de estudio: Chacra Experimental de Patagones, perteneciente al Ministerio de Agroindustria (MAI) de la Provincia de Buenos Aires.



Figura 2.2. Ubicación de la clausura dentro de la Chacra Experimental Patagones donde se efectuaron los estudios a campo.

2.1 Clima

El clima es templado semiárido, con precipitaciones concentradas en verano y otoño. Las precipitaciones anuales promedio son de 421 mm (1981-2012) con un máximo de 877 mm (1984) y un mínimo de 196 mm (2009), respectivamente (Ing. Montenegro, Chacra Experimental Patagones, Ministerio de Agroindustria de la Provincia de Bs. As., comunicación personal).

Los datos climáticos de temperaturas del aire y suelo, humedad relativa, precipitaciones y evapotranspiración, velocidad del viento e Irradiancia (Fig. 2.3), fueron provistos por una estación meteorológica automática ubicada a 1 km de la clausura. Los valores de precipitación anual para los años 2012, 2013 y 2014 fueron de 513, 422 y 597 mm, respectivamente.

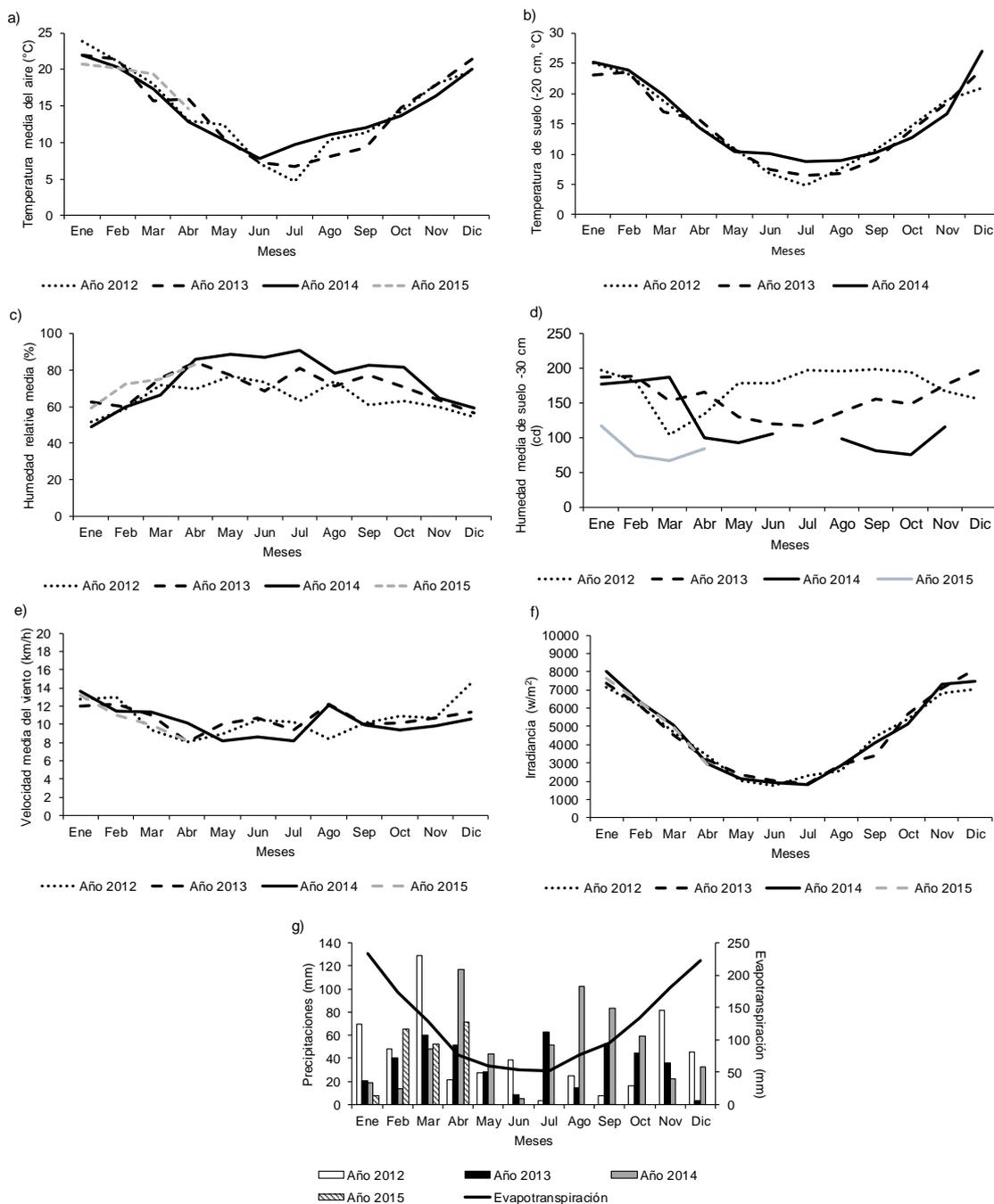


Figura 2.3. Datos climáticos mensuales en la Chacra Experimental Patagones: a) temperaturas medias del aire (°C), b) temperaturas medias del suelo en los primeros 20 cm (°C) c) humedad relativa media (%), d) humedad media del suelo en los primeros 30 cm (cd), e) velocidad media del viento (km/h), f) irradiancia (w/m²) y g) precipitaciones y evapotranspiración (mm).

2.2 Suelo

El paisaje de la región comprende vastas llanuras con ondulaciones bien marcadas y microdepresiones aisladas. Los materiales originarios de los suelos predominantes son arenas finas, transportadas por el viento y depositadas sobre tosca, y rodados líticos o materiales limo-arenosos más antiguos, débilmente consolidados (INTA-CIRN, 1989). El suelo fue clasificado como Haplocalcid típico (Giorgetti *et al.*, 1997). Diversas determinaciones físico-químicas del suelo se realizaron en el sitio de estudio tomando cinco muestras compuestas de 0-20 cm de profundidad (Tabla 2.1).

Tabla 2.1. Propiedades físico-químicas del suelo de la Chacra Experimental Patagones. Materia orgánica (MO), Nitrógeno total (Nt), Conductividad eléctrica (CE), Fósforo extractable (Pe), Capacidad de intercambio catiónico (CIC), Cationes Intercambiables (Na, Mg, K y Ca) y Textura. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar (n= 5).

Variable	Sitio de estudio
MO (%)	2,19 \pm 0,03
pH	8,26 \pm 0,02
Nt (%)	0,12 \pm 0,0008
CE (dS/m)	0,6 \pm 0,01
Pe (ppm)	9,88 \pm 0,06
CIC (cmol/kg)	12,14 \pm 0,18
Na (cmol/kg)	4,27 \pm 0,2
Mg (cmol/kg)	1,49 \pm 0,05
K (cmol/kg)	1,34 \pm 0,02
Ca (cmol/kg)	4,85 \pm 0,09
Arena (%)	50,82 \pm 0,1
Limo (%)	23,56 \pm 0,14
Arcilla (%)	25,82 \pm 0,19
Textura	Franco-arcillo-arenoso

2.3 Vegetación

La comunidad se caracteriza por un estrato arbustivo abierto que incluye especies herbáceas de diferente calidad para la producción de ganado (Giorgetti *et al.*, 1997). La dominancia de un grupo particular de gramíneas o arbustos en esta región

está condicionada, al menos en parte, por la historia de pastoreo y frecuencia e intensidad de fuegos (Distel y Bóo, 1996; Giorgetti *et al.*, 1997). *Nassella clarazii* y *Poa ligularis* son especies de gramíneas C₃ deseables y dominantes en la comunidad en áreas clausuradas al pastoreo por varios años. Con pastoreo moderado y continuo, estas especies son reemplazadas por otras gramíneas C₃ deseables, como por ejemplo *Nassella tenuis* y *Piptochaetium napostaense*. Es común encontrar otras gramíneas perennes deseables como *Bromus catharticus*, *Jarava neaei*, *J. plumosa*, *Pappophorum vaginatum*, y *Sporobolus cryptandrus*. También se encuentran especies de palatabilidad intermedia como *Pappostipa speciosa*, *Melica bonariensis*, *Aristida pallens*, *A. spegazzinii*, *A. subulata* y *A. trachyantha*. Bajo pastoreo continuo y alta carga animal, las especies deseables son reemplazadas por especies no preferidas (indeseables) por el ganado vacuno, como por ejemplo *Amelichloa ambigua*, *A. brachychaeta* y *Nassella trichotoma* (Cano, 1988; Giorgetti *et al.*, 1997). Asimismo, la baja frecuencia o falta de fuegos, conjuntamente con el pastoreo continuo y severo, contribuyen al reemplazo de las especies deseables por especies anuales como *Bromus hordeaceus*, *Medicago minima* y *Erodium cicutarium*, y especies arbustivas tales como *Geofraea decorticans*, *Brachyclados lycioides*, *Condalia microphylla*, *Chuquiraga erinacea*, *Larrea divaricata*, *Schinus fasciculatus*, *Lycium chilense*, *Prosopidastrum globosum* y *Prosopis alpataco*. En la clausura donde se realizaron los estudios, predominan las especies herbáceas, encontrándose algunas plantas leñosas aisladas (Fig. 2.4). Las especies en estudio, comienzan su crecimiento en marzo-abril, vegetan durante el invierno, florecen a mediados de octubre (*P. ligularis*) y noviembre (*A. ambigua* y *N. tenuis*), y fructifican y diseminan sus semillas a fines de primavera-comienzos del verano (Cano 1988; Ihurrart, 2015). Existe cierto defasaje en su ciclo de crecimiento, siendo *P. ligularis* la especie más adelantada, luego *N. tenuis* y finalmente *A. ambigua* (Ihurrart, 2015).



Figura 2.4. Fotografía de la clausura donde se realizaron los estudios a campo.

2.4 Características de las especies en estudio

Poa ligularis Nees ex Steudel (coirón poa):

Especie de gramínea perenne C_3 , de etapas sucesionales tardías, cespitosa de 15 a 45 cm de altura (Fig. 2.5). Hojas con vainas lisas dilatadas en la base; lígula muy larga, aguda, de 5 a 10 mm de longitud, generalmente desgarrada; lámina foliar conduplicada o convoluta, de 1 a 2 mm de ancho. Flores unisexuales en plantas dioicas (Correa, 1978). De ciclo otoño-inverno-primaveral: rebrota en marzo – abril, vegeta en invierno, florece a mediados de octubre, fructifica y disemina a fines de primavera y principio de verano. Crece en el centro, oeste y sur de la Argentina. Es una especie preferida por el ganado, que produce broza de buena calidad (altos contenidos de N, baja relación C:N y baja lignina; Moretto y Distel, 2003); se comporta como dominante en áreas donde el pastoreo es rotativo y de baja intensidad animal (Giorgetti *et al.*, 2006).



Figura 2.5. Fotografía de una planta de *Poa ligularis* en el sitio de estudio.

Nassella tenuis (Phil.) Barkworth (flechilla fina):

Especie de gramínea perenne C₃, de etapas sucesionales intermedias, cespitosa con cañas de 30 a 70 cm de altura (Fig. 2.6). Hojas con las vainas lisas o escabrosas, glabras o espinosas, lígula membranacea obtusa o truncada, de 0.5 a 2 mm de longitud, lóbulos pilosos. Láminas lineales semiconduplicadas o convolutadas, de 0,5 a 1,5 mm de ancho, variablemente pilosas (Cabrera,1970). Panoja laxa multiflora. De ciclo otoño-invierno-primaveral: rebrota en marzo – abril, vegeta en invierno, florece y fructifica en noviembre - diciembre. Se encuentra en Argentina, desde Córdoba y San Luis hasta Santa Cruz, y desde el oeste y sur de Buenos Aires hasta el pie de los Andes. Forrajera de buena calidad y alta productividad apetecida por los herbívoros durante el invierno y la primavera (Giorgetti *et al.*, 1997). Produce broza de buena calidad (Carrera *et al.*, 2005)



Figura 2.6. Fotografía de una planta de *Nassella tenuis* en el sitio de estudio.

Amelichloa ambigua (Speg.) Arriaga y Barkworth (paja vizcachera):

Especie de gramínea perenne C₃, de etapas sucesionales tempranas, cespitosa de 40 a 100 cm de altura (Fig. 2.7). Hojas con vainas lisas, lígula membranaceo-pestañosa, emarginada o retusa. Láminas foliares lineales rectas, cilíndrico filiformes rígidas. Panoja linear y compacta de 20 a 25 cm. De ciclo otoño-invierno-primaveral: rebrota en otoño, vegeta en invierno, florece y fructifica a principios de verano. En Argentina se extiende desde Santa Cruz, hasta Mendoza, San Luis, Córdoba, Santa Fe y Entre Ríos. Es una especie con alto contenido fibroso no preferida por el ganado vacuno, que produce broza de baja calidad (bajos contenidos de N, alta relación C:N y alta lignina; Saint Pierre *et al.*, 2004a; Fernández *et al.*, 2010).

Su abundancia indica sobrepastoreo, ya que es sólo despuntada por el ganado doméstico solamente cuando no hay un forraje mejor (Giorgetti *et al.*, 1997).



Figura 2.7. Fotografía de una planta de *Amelichloa ambigua* en el sitio de estudio.

CAPÍTULO 3

DISEÑO EXPERIMENTAL-TRATAMIENTOS

3.1 Diseño experimental

Se siguió un diseño completamente aleatorizado con réplicas balanceadas. Los procedimientos experimentales en cada estudio, se explican en detalle en el capítulo correspondiente.

Demografía y crecimiento de macollas, producción de broza y biomasa aérea

Dentro de la clausura se marcaron 20 plantas al azar de cada especie. La mitad ($n= 10$) de las plantas fueron defoliadas dos veces durante la estación de crecimiento, y la otra mitad permaneció sin defoliar (control). En las plantas control de las 3 especies, se midió la producción de broza anual utilizando trampas de broza aérea. Las mediciones se realizaron durante 2012, y se repitieron en un conjunto diferente de plantas, durante 2013. En el estudio de demografía y crecimiento de macollas, se analizaron como factores las especies, tratamientos de defoliación, fechas de muestreo y años. En el estudio correspondiente a la producción de broza, los factores analizados fueron las especies, las fechas de muestreo y los años; y para el caso de la producción de biomasa aérea, las variables analizadas fueron las especies, los tratamientos de defoliación y los años de estudio.

Descomposición de broza aérea y subterránea

Dentro de la clausura se marcaron 40 plantas al azar por especie. La mitad de las plantas se defolió dos veces durante la estación de crecimiento y el resto permaneció sin defoliar. En cada fecha de muestreo, fueron eliminadas 10 plantas por especie (5 plantas x 2 tratamientos de defoliación, $n= 5$). Este estudio se realizó en el período 2012-2014 y se repitió con un conjunto diferentes de plantas durante el período 2013-2015. Los factores analizados fueron los estudios (2012-2014 y 2013-2015), las especies, los tratamientos de defoliación, las fechas de muestreo y el material vegetal (láminas vs. raíces) perteneciente a cada una de las especies en estudio.

Estructura y actividad de las comunidades microbianas

Dentro de la clausura se marcaron 12 plantas al azar por especie. La mitad de las plantas (n= 6) se defolió dos veces durante la estación de crecimiento y el resto permaneció sin defoliar. El estudio para caracterizar las comunidades bacterianas se realizó durante 2012 y se repitió en un conjunto diferente de plantas durante 2013. El estudio correspondiente a la actividad microbiana del suelo asociado a las especies en estudio, se realizó durante 2012 y repitió en un conjunto diferente de plantas durante 2013 y 2014. Los factores analizados fueron las especies, los tratamientos de defoliación, las fechas de muestreo y los años.

Mineralización de nitrógeno

Para determinar la mineralización neta de N *in situ*, dentro de la clausura se marcaron 10 plantas al azar por especie (separadas al menos 1 m unas de otras). La mitad de las plantas (n= 5) se defolió dos veces durante la estación de crecimiento y el resto permaneció sin defoliar. Este estudio se realizó en 2013 y se repitió en 2014, donde nuevas plantas fueron seleccionadas. Los factores analizados fueron las especies, los tratamientos de defoliación, las fechas de muestreo y los años.

En 2013, del suelo proveniente de 8 plantas por especie y 8 sitios sin vegetación, se estimó la mineralización neta potencial de N en laboratorio. Los factores analizados fueron las especies/sitios sin vegetación y los ciclos de incubación.

Hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA)

Para caracterizar la comunidad de los HFMA, dentro de la clausura se marcaron 12 plantas al azar por especie y 12 sitios sin vegetación. La mitad de las plantas (n= 6) se defolió dos veces durante la estación de crecimiento y el resto permaneció sin defoliar. Este estudio se realizó durante 2012 y los factores analizados fueron las especies/sitios sin vegetación, los tratamientos de defoliación y las fechas de muestreo.

Para estimar el porcentaje de colonización total y de estructuras (vesículas y arbusculas) de micorrizas arbusculares, durante 2012 las mediciones se realizaron sobre las mismas plantas y momentos de muestreo que los realizados para caracterizar las comunidades de HFMA. Siguiendo el mismo diseño, este estudio se repitió en 2013 en un conjunto diferentes de plantas. Los factores analizados fueron las especies, los tratamientos de defoliación, las fechas de muestreo y los años de estudio.

3.2 Tratamientos

Con el propósito de eliminar todo el material senescente acumulado en los años anteriores y uniformar las condiciones al inicio de la estación de crecimiento en cada año de estudio, se realizó un corte de limpieza. Para esto, se defolió la totalidad de las plantas marcadas cuando las mismas se encontraban en estado de dormición (8-02-2012, 22-01-2013 y 28-01-2014) a 5 cm desde el nivel del suelo.

Tratamientos de defoliación

Los tratamientos de defoliación se realizaron de manera manual, con tijera de tusar a 5 cm desde el nivel del suelo, en los estadios morfológicos de desarrollo vegetativo (7-08-2012, 18-07-2013 y 18-07-2014) e inmediatamente luego de la diferenciación del ápice vegetativo en reproductivo (14-09-2012, 17-09-2013 y 29-08-2014). Para determinar el momento en que los ápices vegetativos de las macollas se transformaron en reproductivos, se extrajeron macollas periódicamente desde agosto en 2012, 2013 y 2014. Estas macollas (n= 10/ especie) fueron disectadas, y se determinó bajo la lupa (10 x) el estadio fenológico del ápice de crecimiento (es decir, vegetativo o reproductivo). De esta forma, los meristemas de crecimiento activo (intercalares, apicales) permanecieron en las plantas luego de la segunda defoliación y por lo tanto no afectaron su ciclo biológico de crecimiento (Briske y Richards, 1995; Giorgetti *et al.*, 2000).

Con los tratamientos de corte, se intentó simular una intensidad de pastoreo moderado (Quiroga *et al.*, 2004, 2005) y rotativo, característico de la zona de estudio (Giorgetti *et al.*, 2006). Al finalizar cada ciclo de crecimiento (22-01-2013, 28-01-2014 y 16-01-2015) las plantas fueron defoliadas nuevamente a 5 cm de altura para obtener la producción de biomasa total. Luego de las defoliaciones, el material vegetal fue secado en estufa a 72 °C durante 72 h y pesado.

CAPÍTULO 4

DEMOGRAFÍA Y CRECIMIENTO DE MACOLLAS

4.1 Introducción

Los productores primarios (es decir, las plantas) transforman la energía lumínica en energía química luego de la fijación de CO₂ atmosférico y la disponibilidad de agua en el proceso de fotosíntesis (Larcher, 2003), participando así en el flujo de energía. Los tejidos vegetales más viejos pasarán eventualmente, del compartimiento biomasa al de broza (Brevedan *et al.*, 1996). Esta broza será descompuesta por factores bióticos (ej. microorganismos) y abióticos (radiación UV, temperatura y humedad; Austin y Vivanco, 2006), aportando nutrientes al suelo y participando así en el ciclo de nutrientes, que serán absorbidos por las plantas.

El pastoreo constituye una fuerza modificadora y modeladora de la comunidad vegetal (Anderson, 1983). La cantidad y el tipo de tejidos removidos, y el momento cuando ocurre dicho disturbio en relación al desarrollo de la planta y del ambiente imperante son muy importantes en la determinación del impacto de la defoliación sobre las plantas. La pérdida de hojas viejas usualmente tiene un efecto mucho menor que la pérdida de la misma cantidad de hojas jóvenes (Gold y Caldwell, 1989a). La pérdida de tejido meristemático usualmente tiene un efecto mucho mayor que la pérdida proporcional de biomasa, área foliar o recursos de la planta (C y N) (Branson, 1953; Richards y Caldwell, 1985; Briske, 1991). Las condiciones abióticas que limitan la disponibilidad de luz, agua y nutrientes, antes y luego de la defoliación pueden tener efectos decisivos en la habilidad de la planta para recuperarse (McNaughton, 1983; Busso *et al.* 1989, 1990; Flemmer *et al.*, 2003; Torres *et al.*, 2011). Además, las especies vegetales que compiten con plantas no defoliadas o con vecinos más tolerantes a la herbivoría, pueden no recuperarse efectivamente de la defoliación, aun cuando pueden hacerlo completamente luego de una defoliación similar si se hayan aisladas (Cottam, 1986; Bryant, 1987). Debido a que gran parte de los estudios fisiológicos han examinado las respuestas de la defoliación en plantas creciendo aisladas (ej. Briske y Richards, 1995) y con alta disponibilidad de recursos, se debe tener precaución al hacer interpretaciones ecológicas de estudios de corte.

Las gramíneas pueden resistir el pastoreo por medio de dos mecanismos: evitación y/o tolerancia (Briske y Richards, 1995). La primera, involucra mecanismos que reducen la probabilidad y severidad del pastoreo, mientras que la tolerancia consiste en mecanismos que promueven el crecimiento luego de la defoliación (Briske, 1998). Los mecanismos de evitación están compuestos por atributos de la

arquitectura, disuasivos mecánicos y compuestos bioquímicos que reducen la accesibilidad y palatabilidad de los tejidos; los mecanismos de tolerancia los componen la disponibilidad y fuente de meristemas residuales y los procesos fisiológicos capaces de promover el crecimiento luego de la defoliación (Briske, 1998). El pastoreo es inevitablemente selectivo, las especies más preferidas se utilizan con mayor intensidad (Anderson, 1983). Esto resulta en cambios composicionales que frecuentemente involucran el reemplazo de las especies dominantes pertenecientes a etapas sucesionales tardías por especies de etapas sucesionales intermedias o tempranas (Ellison, 1960; Belsky, 1992). Si el reemplazo de las especies continúa, las comunidades de pastizales se pueden volver vulnerables al ingreso de especies ruderales, herbáceas y leñosas perennes, que mantienen un menor número de herbívoros domésticos y pueden eventualmente disminuir la producción potencial vegetal y ganadera del sitio, que se caracterizará por un incremento de espacios descubiertos de vegetación, en los que la energía lumínica será desperdiciada, con un impacto subsiguiente negativo en el ciclo de nutrientes (Ellison, 1960; Archer y Smeins, 1991; Milton *et al.*, 1994; Busso y Fernández, 2016).

Los cambios composicionales inducidos por el pastoreo sugieren que las especies dominantes tardías poseen estrategias de evitación menos desarrolladas y son, por lo tanto, las más palatables o preferidas dentro de la comunidad (Gómez Sal *et al.*, 1986). Aunque los mecanismos de tolerancia requieren recursos para reemplazar la biomasa removida por los herbívoros, los recursos invertidos contribuyen directamente al crecimiento, en lugar de ser desviados hacia el mismo, como es el caso de los mecanismos de evitación (Davidson, 1993). Se asume que los mecanismos de evitación representan un mayor costo de producción que los mecanismos de tolerancia (Briske, 1998).

La macolla de una gramínea representa su unidad morfofisiológica. Cada macolla está formada por la repetición de unidades similares denominadas fitómeros, diferenciadas a partir del mismo meristema apical (Briske, 1991). El nudo, entrenudo, la vaina y lámina foliares, las raíces adventicias, y la inclusión o no de una yema axilar constituyen el fitómero (Busso *et al.*, 2011). Hay varios fitómeros por macolla y varias macollas por planta (Briske, 1991). El número, la ubicación y la actividad de los meristemas son importantes para el rebrote luego del pastoreo. La tolerancia a la defoliación está relacionada con la habilidad para reponer el follaje luego de ocurrido dicho disturbio, en una situación competitiva, muchas veces con vecinos no defoliados y en condiciones de estrés hídrico (Heady y Child, 1994). El potencial para el reestablecimiento del follaje en las gramíneas está determinado por la disponibilidad y actividad de los meristemas intercalares, apicales y axilares (Heady y Child, 1994;

Briske y Richards, 1995). La interacción entre el tipo de meristema, las variables ambientales y la disponibilidad de recursos determina la tasa de expansión del área foliar. Cuando los meristemas activos son removidos o cuando las condiciones ambientales son desfavorables y limitan el crecimiento, la recuperación de las plantas se retrasa o es muy lenta. En cambio, las plantas que tienen abundantes recursos como para sostener el crecimiento, y poseen un gran número de meristemas activos, se recuperan mucho más rápido de eventos previos de defoliación (Busso *et al.*, 1990). Desde que la velocidad y magnitud del restablecimiento del área fotosintética después de una defoliación depende del número, naturaleza y cantidad de meristemas removidos (Gold y Caldwell, 1989a; Briske, 1991; Korner, 1991), esto determinará que las plantas defoliadas tengan una producción de forraje menor (subcompensación: Trlica, 1977; Belsky, 1986; Mutikainen *et al.*, 1993; Painter y Belsky, 1993), similar (compensación: McNaughton y Chapin, 1985; Maschinski y Whitham, 1989) o mayor (sobrecompensación: McNaughton, 1979, 1983, 1986; Wolf y Parrish, 1982; Dyer *et al.*, 1991; Jaindl *et al.*, 1994) que las plantas no defoliadas.

Hay varios componentes de crecimiento que pueden contribuir al restablecimiento de una superficie fotosintética: la producción y tamaño de las hojas; la altura de los macollos, el número de macollos por planta y las tasas relativas de crecimiento del tejido foliar (Anslow, 1966). Si la defoliación tiene un efecto negativo en uno o más de estos componentes de crecimiento, el rápido restablecimiento del follaje puede verse limitado luego de ocurrido dicho disturbio (Busso y Richards, 1995).

La mayor longitud radical en *P. ligularis* que en *N. tenuis* y *A. ambigua* (Ithurrtart, 2015) es posiblemente uno de los principales mecanismos que le confieren a *P. ligularis* una mayor capacidad competitiva con respecto a las otras dos especies (Distel y Boo, 1996). Otro factor que puede afectar la capacidad competitiva es la velocidad de rebrote. *Poa ligularis* muestra activo crecimiento produciendo grandes matas (Distel y Bóo, 1996), y gran capacidad competitiva, que luego de un disturbio y bajo condiciones adecuadas de humedad, permiten su rebrote y establecimiento frente a especies indeseables como *A. ambigua* (Distel *et al.*, 2008).

En este capítulo se evaluó el efecto de la defoliación en los estadios morfológicos de desarrollo vegetativo e inmediatamente luego de la diferenciación del ápice vegetativo en reproductivo sobre los componentes del crecimiento de plantas de *P. ligularis*, *N. tenuis* y *A. ambigua* durante las estaciones de crecimiento de 2012 y 2013. Plantas no defoliadas fueron utilizadas como control. Las hipótesis de trabajo fueron que: (1) las plantas defoliadas dos veces durante la estación de crecimiento compensan al menos exactamente la pérdida de material fotosintético en relación a las plantas control, debido a que los meristemas apicales e intercalares permanecen en

las mismas luego de aplicar los tratamientos y (2) las plantas de *P. ligularis* (especie de etapas serales tardías y de mayor capacidad competitiva) poseen mayores valores para los componentes de crecimiento, y se recuperan más rápido de la defoliación que las plantas de *N. tenuis* y *A. ambigua*.

4.2 Materiales y Métodos

4.2.1 Muestreos y Mediciones

El estudio se realizó en 2012 [fechas de muestreo: (1) 30-03, (2) 24-04, (3) 21-05, (4) 02-07, (5) 06-08, (6) 06-09, (7) 04-10, (8) 06-11 y (9) 04-12] y se repitió en un conjunto diferente de plantas en 2013 [fechas de muestreo: (1) 11-04, (2) 09-05, (3) 31-05, (4) 16-07, (5) 23-08, (6) 17-09, (7) 18-10, (8) 21-11 y (9) 20-12].

Dentro de la clausura se marcaron 20 plantas al azar de cada especie. Posteriormente, la mitad de las mismas fue defoliada dos veces ($n=10$) como se indicó en el Capítulo 3, y la otra mitad permaneció sin defoliar. En una posición intermedia (entre centro y periferia) de cada una de estas plantas se marcó permanentemente una macolla (Fig. 4.1) con un anillo de cable (3 especies x 2 tratamientos de defoliación x 10 réplicas/tratamiento= 60 macollas).



Figura 4.1. Fotografía de una planta de *Amelichloa ambigua* en el sitio de estudio. En la parte inferior se muestra una macolla marcada con un anillo de cable para realizar las mediciones.

En cada una de las fechas de muestreo, se determinó la circunferencia de las plantas marcadas a fin de obtener el área basal y se cuantificaron a nivel de macolla: (1) el número total de hojas (verdes + secas), (2) la longitud total de hojas (láminas + vainas, verdes + secas) y (3) la altura.

Las tasas relativas de crecimiento (TRC) de la longitud total de hojas se calcularon siguiendo a Hilbert *et al.*, (1981):

$$TRC = (\ln x_{t+1} - \ln x_t) / \Delta t,$$

- ln: logaritmo natural
- x: longitud total de hojas, t+1 representa la fecha inmediatamente posterior a t (días)
- Δt : intervalo de tiempo entre dos mediciones consecutivas.

4.2.2 Análisis estadísticos

Los datos se analizaron con el software estadístico INFOSTAT (Di Rienzo *et al.*, 2013). Previo al análisis las variables fueron transformadas a fin de cumplir con los supuestos de normalidad y homocedasticidad (Sokal y Rohlf, 1984). Para el caso de las variables “área basal”, “longitud total de hojas (láminas + vainas, verdes + secas) por macolla progenitora” y “altura de la macolla” los datos se transformaron con $\ln(x)$. Para la variable “número de hojas (verdes + secas) por macolla progenitora” los datos fueron transformados con $\sqrt{(x+1)}$. En las figuras y tablas se presentan los valores sin transformar. Las variables se analizaron con ANOVA multifactorial tomándose como factores las especies, los tratamientos de defoliación, las fechas de muestreo y los años. Debido a que los datos corresponden a medidas repetidas, se emplearon modelos lineales mixtos con diferentes estructuras de correlación según la variable considerada. Para el caso del área basal, número de hojas y longitud total de hojas por macolla progenitora se empleó un modelo de correlación residual autorregresiva de orden 1, varianzas residuales heteroscedásticas y efecto aleatorio de las plantas; para el caso de altura de la macolla y las TRC para longitud total de hojas se utilizó un modelo con una correlación residual sin estructura y varianzas residuales heterogéneas en el tiempo. La comparación de medias se realizó mediante el test de Fisher (LSD) protegido, con un nivel de significación del 0,05. A fin de simplificar la comprensión de los análisis, la descomposición de las interacciones de cada parámetro de crecimiento se realizó separando por año de estudio, y dentro de cada año, se realizó primeramente separando por fechas y comparando especies y tratamientos, y luego separando por especies y comparando fechas y tratamientos de defoliación.

4.3 Resultados

4.3.1 Área basal

Se encontró interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre las especies, tratamientos y fechas; entre las especies, tratamientos y años; y entre las especies, fechas y años. En 2012, se obtuvo interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre las especies, los tratamientos y las fechas de muestreo. En 2013, se obtuvo interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre las especies y las fechas; y entre los tratamientos y las fechas de muestreo.

En general, durante los dos años de estudio, *N. tenuis* presentó menor ($p \leq 0,05$) área basal que las otras dos especies; las plantas pertenecientes a *P. ligularis* mostraron los mayores valores ($p \leq 0,05$) de área basal diferenciándose o no de *A. ambigua* dependiendo del momento de muestreo en 2012 (año 2012: $154,62 \pm 5,15$ cm², $45,93 \pm 1,54$ cm² y $86,19 \pm 3,53$ cm²; año 2013: $162,43 \pm 5,24$ cm², $29,63 \pm 1,18$ cm² y $83,17 \pm 2,31$ cm² para *P. ligularis*, *N. tenuis* y *A. ambigua* respectivamente; Tabla A1). Durante 2013, el área basal fue siempre mayor ($p \leq 0,05$) en *P. ligularis* que en *N. tenuis* y *A. ambigua* y en promedio sobre las especies, las plantas control fueron superiores ($p \leq 0,05$) a las plantas defoliadas en las dos últimas fechas de muestreo (noviembre: $102,52 \pm 13,21$ cm² y $78,52 \pm 10,27$ cm²; diciembre: $96,33 \pm 12,98$ cm² y $77,60 \pm 10,05$ cm² para las plantas control y defoliadas, respectivamente; Tabla A1).

Durante el primer año, las plantas de *P. ligularis* y *A. ambigua* no fueron afectadas por los tratamientos de defoliación ($p > 0,05$) y en general presentaron los mayores ($p \leq 0,05$) valores de área basal en las primeras fechas de muestreo (Fig. 4.2, a y e). Respecto de las plantas de *N. tenuis*, se detectó interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre los tratamientos y las fechas de muestreo; las plantas control fueron superiores a las plantas defoliadas a partir de agosto, aunque no se detectaron diferencias al final de la estación de crecimiento (Fig. 4.2, c). En 2013, las especies no fueron afectadas por los tratamientos de defoliación (*P. ligularis*: $162,43 \pm 5,24$ cm², *N. tenuis*: $29,63 \pm 1,18$ cm² y *A. ambigua*: $83,17 \pm 2,31$ cm²; $p > 0,05$). En general, las especies palatables presentaron los mayores ($p \leq 0,05$) valores en abril (Fig. 4.2, b y d) y en particular *P. ligularis* los valores más bajos ($p \leq 0,05$) hacia el final de la estación de crecimiento (Fig. 4.2, b). En el caso de *A. ambigua*, no se registraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre las fechas de muestreo (Fig. 4.2, f).

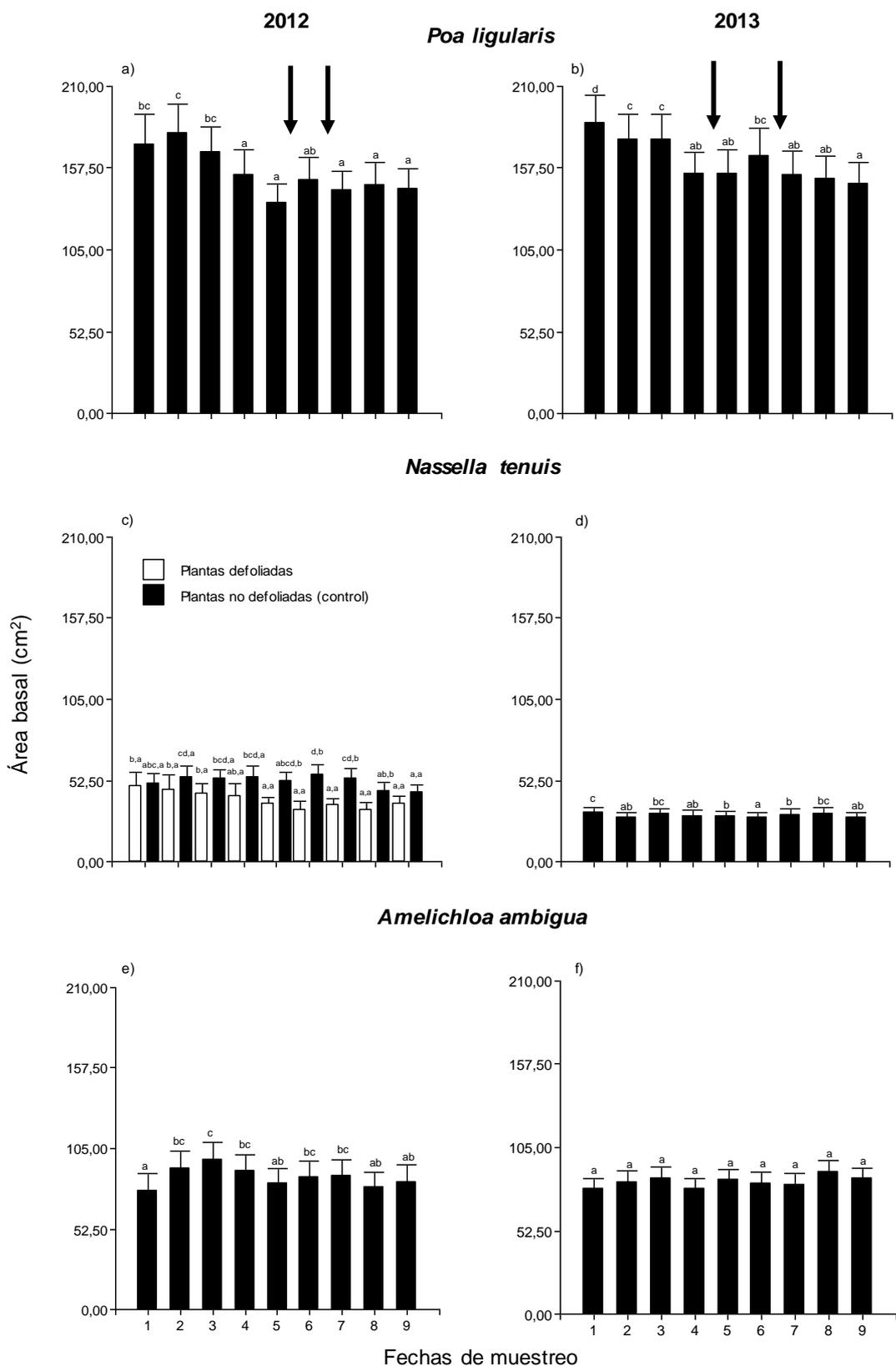


Figura 4.2. Interacción tratamientos x fechas del área basal (cm²) de plantas pertenecientes a *Poa ligularis* (a, b), *Nassella tenuis* (c, d), y *Amelichloa ambigua* (e, f) en 2012 (a, c y e) y 2013 (b, d y f). Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar de n= 20 (a, b, d, e y f) y n= 10 (c). Letras distintas en cada panel indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre fechas (a, b, d, e y f); y letras distintas delante y detrás de la coma (c) entre fechas y tratamientos, respectivamente. Fechas de muestreo en 2012: (1) 30-03, (2) 24-04, (3) 21-05, (4) 02-07, (5) 06-08, (6) 06-09, (7) 04-10, (8) 06-11 y (9) 04-12 y en 2013: (1) 11-04, (2) 09-05, (3) 31-05, (4) 16-07, (5) 23-08, (6) 17-09, (7) 18-10, (8) 21-11 y (9) 20-12. Las flechas indican los momentos en los que se realizaron los cortes.

4.3.2 Número de hojas (verdes + secas)/macolla progenitora

Se encontró interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre especies, fechas de muestreo y años; y entre tratamientos, fechas y años. Tanto en 2012 como en 2013, se obtuvo interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre las especies y las fechas de muestreo; y entre los tratamientos de defoliación y fechas de muestreo.

En marzo de 2012, *N. tenuis* presentó el mayor ($3,95 \pm 0,25$; $p \leq 0,05$) número de hojas en relación a las demás especies ($2,8 \pm 0,17$ y $2,5 \pm 0,17$ para *P. ligularis* y *A. ambigua*, respectivamente; Tabla A2); en julio y agosto las especies palatables fueron superiores ($p \leq 0,05$) a la no palatable (julio: $4,3 \pm 0,27$, $3,8 \pm 0,16$ y $3,2 \pm 0,17$; agosto: $4,1 \pm 0,24$, $4,05 \pm 0,27$ y $3,35 \pm 0,25$ para *P. ligularis*, *N. tenuis* y *A. ambigua*, respectivamente; Tabla A2). Luego de la primera defoliación solo hubo diferencias ($p > 0,05$) entre tratamientos, en promedio sobre las especies, las plantas control presentaron mayor ($p \leq 0,05$) número de hojas que las plantas defoliadas ($3,77 \pm 0,17$ y $2,80 \pm 0,12$, respectivamente; Tabla A2). Luego de dos cortes no hubo diferencias entre tratamientos ($p > 0,05$) y en general *A. ambigua* presentó mayor ($3,95 \pm 0,12$; $p \leq 0,05$) número de hojas en relación a las otras dos especies ($2,52 \pm 0,14$, $2,75 \pm 0,14$ para *P. ligularis* y *N. tenuis*, respectivamente; Tabla A2).

En el año 2013, desde el muestreo de mayo hasta la primera defoliación, no se registraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre especies y las macollas marcadas presentaron en promedio ± 1 error estándar de $3,05 \pm 0,05$ hojas. En el muestreo de agosto, *A. ambigua* presentó mayor ($3,35 \pm 0,13$; $p \leq 0,05$) número de hojas por macolla, aunque sin diferenciarse de *P. ligularis* ($3,05 \pm 0,15$), y en septiembre *N. tenuis* fue superior ($3,8 \pm 0,19$; $p \leq 0,05$) aunque no se diferenció de la especie no palatable ($3,45 \pm 0,22$; Tabla A2). Por último, en diciembre, en promedio sobre las especies, las plantas defoliadas presentaron los mayores valores ($3,40 \pm 0,12$; $p \leq 0,05$) respecto del control ($2,97 \pm 0,22$) y las especies palatables menor ($p \leq 0,05$) número de hojas (Tabla A2).

En el primer año, *P. ligularis* presentó mayor número de hojas en los muestreos de julio y agosto (Fig. 4.3, a) y los tratamientos de defoliación no la afectaron de manera significativa ($p > 0,05$); en el caso de *N. tenuis* sólo en las fechas 6 y 7 que fueron posteriores a la primer y segunda defoliación, respectivamente, se observaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre los tratamientos: las plantas control presentaron mayor ($p \leq 0,05$) número de hojas que las plantas defoliadas (Fig. 4.3, c); lo mismo se observó en el caso *A. ambigua* (Fig. 4.3, e) aunque sólo en la fecha 6 (luego del primer corte).

En 2013, *Poa ligularis* presentó mayor ($p \leq 0,05$) número de hojas por macolla progenitora en las plantas que fueron defoliadas dos veces respecto de las plantas

control en el muestreo de diciembre (Fig. 4.3, b). *Nassella tenuis* y *A. ambigua* no fueron afectadas por los tratamientos de defoliación y se obtuvieron los mayores valores del número de hojas en las fechas 6 y 7 en *N. tenuis* (Fig. 4.3, d) y a partir de la fecha 7 para la especie no palatable (Fig. 4.3, f).

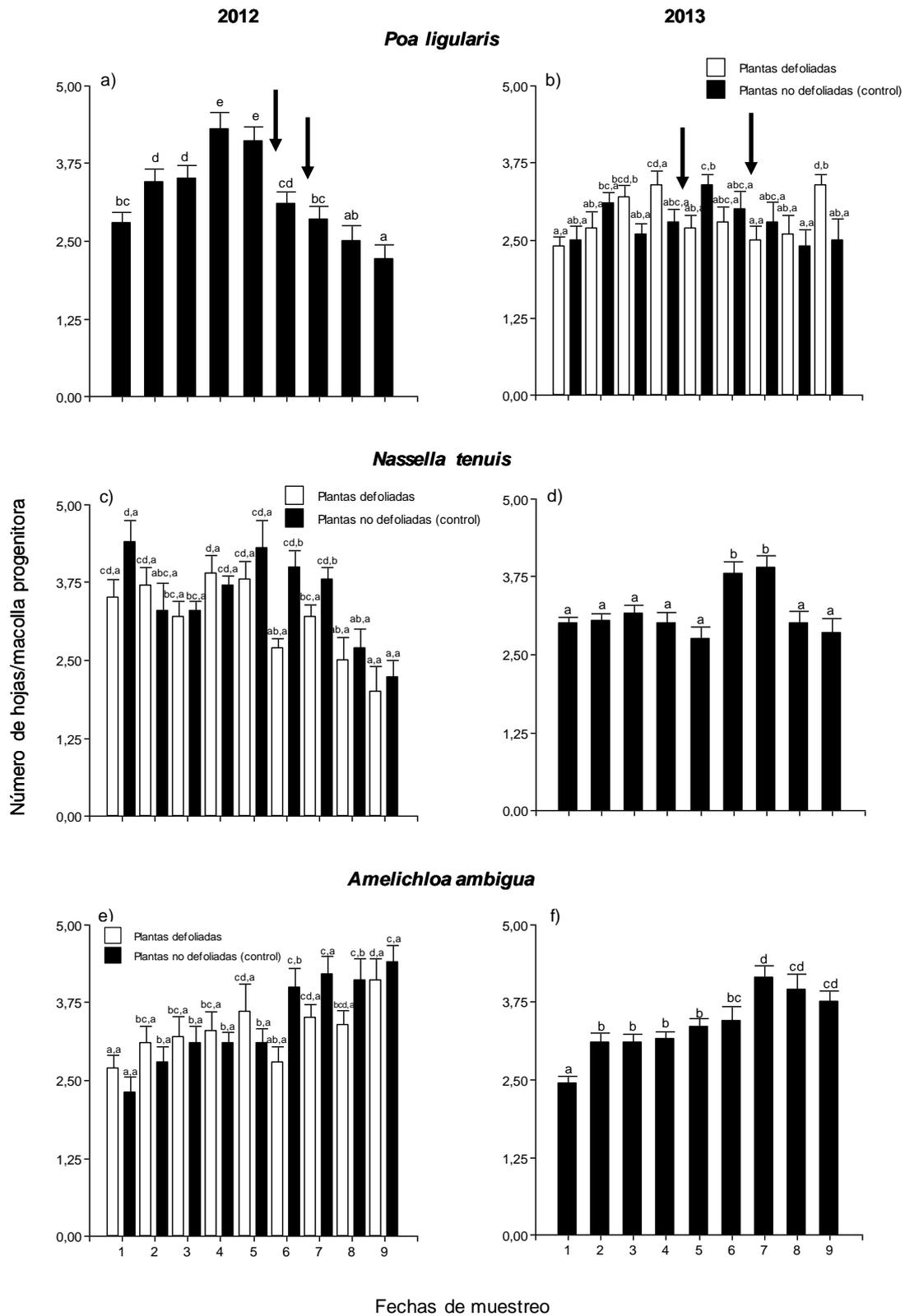


Figura 4.3. Interacción tratamiento x fechas del número de hojas (verdes + secas)/macolla progenitora en plantas de *Poa ligularis* (a, b), *Nassella tenuis* (c, d), y *Amelichloa ambigua* (e, f) en 2012 (a, c y e) y 2013 (b, d y f). Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar de $n=20$ (a, d y f) y $n=10$ (b, c y e). Letras distintas en cada panel indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre fechas (a, d y f), y letras distintas delante y detrás de la coma (b, c y e) entre fechas y tratamientos, respectivamente. Fechas de muestreo en 2012: (1) 30-03, (2) 24-04, (3) 21-05, (4) 02-07, (5) 06-08, (6) 06-09, (7) 04-10, (8) 06-11 y (9) 04-12 y en 2013: (1) 11-04, (2) 09-05, (3) 31-05, (4) 16-07, (5) 23-08, (6) 17-09, (7) 18-10, (8) 21-11 y (9) 20-12. Las flechas indican los momentos de defoliación.

4.3.3 Longitud total de hojas (láminas + vainas, verdes + secas)/macolla progenitora y tasas relativas de crecimiento

Longitud total de hojas (láminas + vainas, verdes + secas)/macolla progenitora

Se encontró interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre especies, tratamientos y fechas; entre especies, fechas y años; y entre tratamientos, fechas y años. En 2012, se obtuvo interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre las especies y las fechas de muestreo; y entre los tratamientos de defoliación y fechas de muestreo. En 2013, se obtuvo interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre las especies, los tratamientos y las fechas de muestreo.

Durante 2012, en los 5 primeros muestreos *P. ligularis* y/o *A. ambigua* presentaron mayor ($54,85 \pm 1,81$ cm y $48,38 \pm 1,75$ cm, respectivamente; $p \leq 0,05$) longitud de hojas en relación a *N. tenuis* ($33,95 \pm 1,22$ cm; Tabla A3). En promedio sobre las especies, luego de las defoliaciones, las plantas control fueron superiores ($41,69 \pm 2,47$ cm; $p \leq 0,05$) a las plantas defoliadas ($26,36 \pm 1,13$), y no hubo diferencias entre especies ($p > 0,05$), excepto en el último muestreo donde *A. ambigua* fue superior ($p \leq 0,05$, Tabla A3).

En 2013, al inicio de las mediciones, las plantas de *A. ambigua* y *P. ligularis* presentaron mayor ($58,53 \pm 1,63$ cm y $40,69 \pm 1,53$ cm, respectivamente; $p \leq 0,05$) longitud de hojas que *N. tenuis* ($23,73 \pm 0,84$ cm; Tabla A3). Luego de la primera defoliación en el muestreo de septiembre, no se registraron diferencias entre tratamientos ($p > 0,05$) en las especies palatables (*P. ligularis*: $29,19 \pm 2,77$ cm y *N. tenuis*: $23,63 \pm 1,87$; Tabla A3); por su parte, *Amelichloa ambigua* presentó mayor ($p \leq 0,05$) longitud dentro de las plantas control y no se registraron diferencias ($p > 0,05$) entre especies en las plantas defoliadas (Tabla A3). Luego del segundo corte, durante octubre y noviembre, las plantas pertenecientes a *P. ligularis* presentaron menor ($30,79 \pm 2,78$ cm; $p \leq 0,05$) longitud de hojas en relación a las demás especies en ambos tratamientos de defoliación (*N. tenuis*: $40,24 \pm 2,35$ cm y *A. ambigua*: $59,59 \pm 5,03$ cm; Tabla 4.3). En promedio sobre las especies, las plantas control tuvieron mayor ($p \leq 0,05$) longitud que las plantas defoliadas ($52,13 \pm 3,49$ cm y $32,95 \pm 2,06$ cm respectivamente; Tabla A3). En diciembre, no se registraron diferencias entre tratamientos de defoliación ($p > 0,05$) en las plantas de las especies palatables; *A. ambigua* presentó mayor ($p \leq 0,05$) longitud que las otras especies en las plantas control, y no se registraron diferencias entre especies ($p > 0,05$) en las plantas defoliadas (Tabla A3).

En el caso de las plantas pertenecientes a *P. ligularis*, solo se registraron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre los tratamientos de defoliación en los

muestreos más próximos a las defoliaciones aplicadas (septiembre y octubre de 2012, y agosto y octubre de 2013; Fig. 4.4, a y b): las plantas defoliadas presentaron menor longitud de hojas que las plantas control. Respecto de *N. tenuis*, al igual que *P. ligularis* en 2012, las plantas defoliadas presentaron menor longitud de hojas en los muestreos más próximos a la primer y segunda defoliación; en cambio en 2013, estas diferencias solo se registraron en el mes de noviembre (Fig. 4.4, c y d). En el caso de la especie no palatable, luego de la primera defoliación y hasta el final de la estación de crecimiento, las plantas control presentaron mayor ($p \leq 0,05$) longitud de hojas que las plantas defoliadas, tanto en 2012 como en 2013 (Fig. 4.4, e y f).

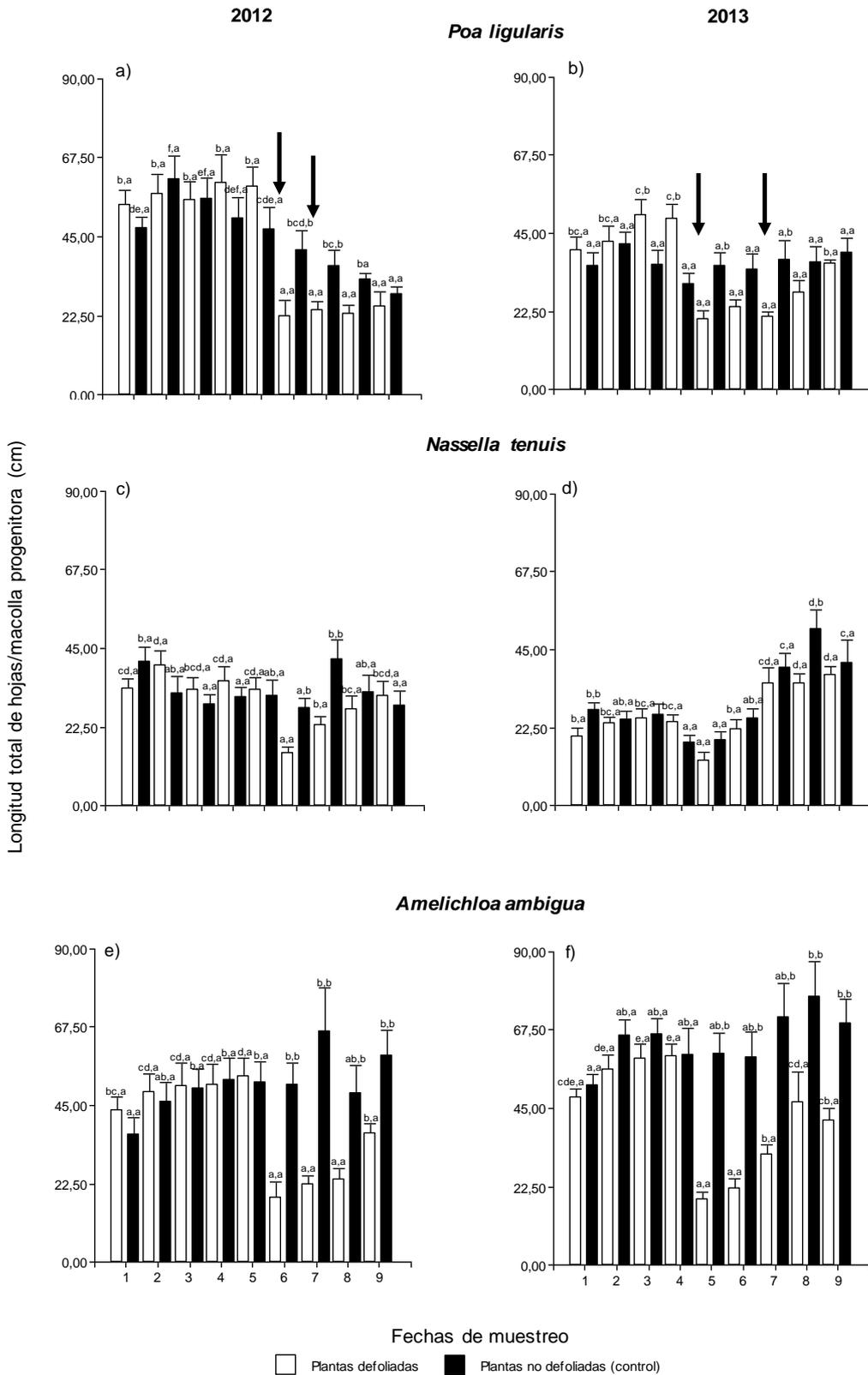


Figura 4.4. Interacción tratamientos x fechas de la longitud total de hojas/macolla progenitora en plantas de *Poa ligularis* (a, b), *Nassella tenuis* (c, d), y *Amelichloa ambigua* (e, f) defoliadas o no en 2012 (a, c y e) y 2013 (b, d y f). Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar de n= 10. Letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre fechas y tratamientos, dentro de cada especie. Fechas de muestreo en 2012: (1) 30-03, (2) 24-04, (3) 21-05, (4) 02-07, (5) 06-08, (6) 06-09, (7) 04-10, (8) 06-11 y (9) 04-12 y en 2013: (1) 11-04, (2) 09-05, (3) 31-05, (4) 16-07, (5) 23-08, (6) 17-09, (7) 18-10, (8) 21-11 y (9) 20-12. Las flechas indican los momentos en los que se realizaron los cortes.

Tasas Relativas de Crecimiento para longitud total de hojas

Se detectó interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre las especies, tratamientos y fechas de muestreo; entre las especies, fechas y años; y entre los tratamientos, fechas y años de estudio. Tanto en 2012 como en 2013, se obtuvo interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre las especies y tratamientos; entre las especies y fechas; y entre tratamientos y fechas de muestreo.

Durante 2012, producto del primer corte, se detectó una reducción significativa ($p \leq 0,05$) de las TRC en las plantas defoliadas respecto de las plantas control en el período 06-08/06-09 (Fig. 4.5, e); no ocurrió lo mismo en el caso de la segunda defoliación, donde las plantas defoliadas lograron recuperarse rápidamente y no se registraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre tratamientos (Fig. 4.5, f). En promedio sobre las especies, las plantas defoliadas presentaron mayores ($p \leq 0,05$) TRC que las plantas control en el período comprendido entre 04-10/06-11 (Fig., 4.5, g), aunque no se registraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre tratamientos al final de la estación de crecimiento (Fig. 4.5, h). En esta fecha, *A. ambigua* presentó mayores ($p \leq 0,05$) TRC respecto de *P. ligularis*, aunque no se diferenció ($p > 0,05$) de *N. tenuis* (Fig. 4.5, h).

En 2013, debido a la aplicación de la primera defoliación, en el período comprendido entre 16-07/23-08 las plantas control presentaron mayores ($p \leq 0,05$) TRC que las plantas defoliadas (Fig. 4.6, d). Posteriormente, en promedio sobre las especies, las plantas defoliadas presentaron mayores ($p \leq 0,05$) TRC que el control y *N. tenuis* mostró mayores ($p \leq 0,05$) TRC respecto de *P. ligularis* y *A. ambigua* (Fig. 4.6, e). En el caso del segundo corte, no se registraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre tratamientos y *N. tenuis* presentó mayores TRC respecto de *P. ligularis* (Fig. 4.6, f). Al final de la estación de crecimiento, las plantas pertenecientes a *P. ligularis* presentaron mayores ($p \leq 0,05$) TRC para longitud total de hojas, respecto de las demás especies y no se registraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los tratamientos de defoliación (Fig. 4.6, h).

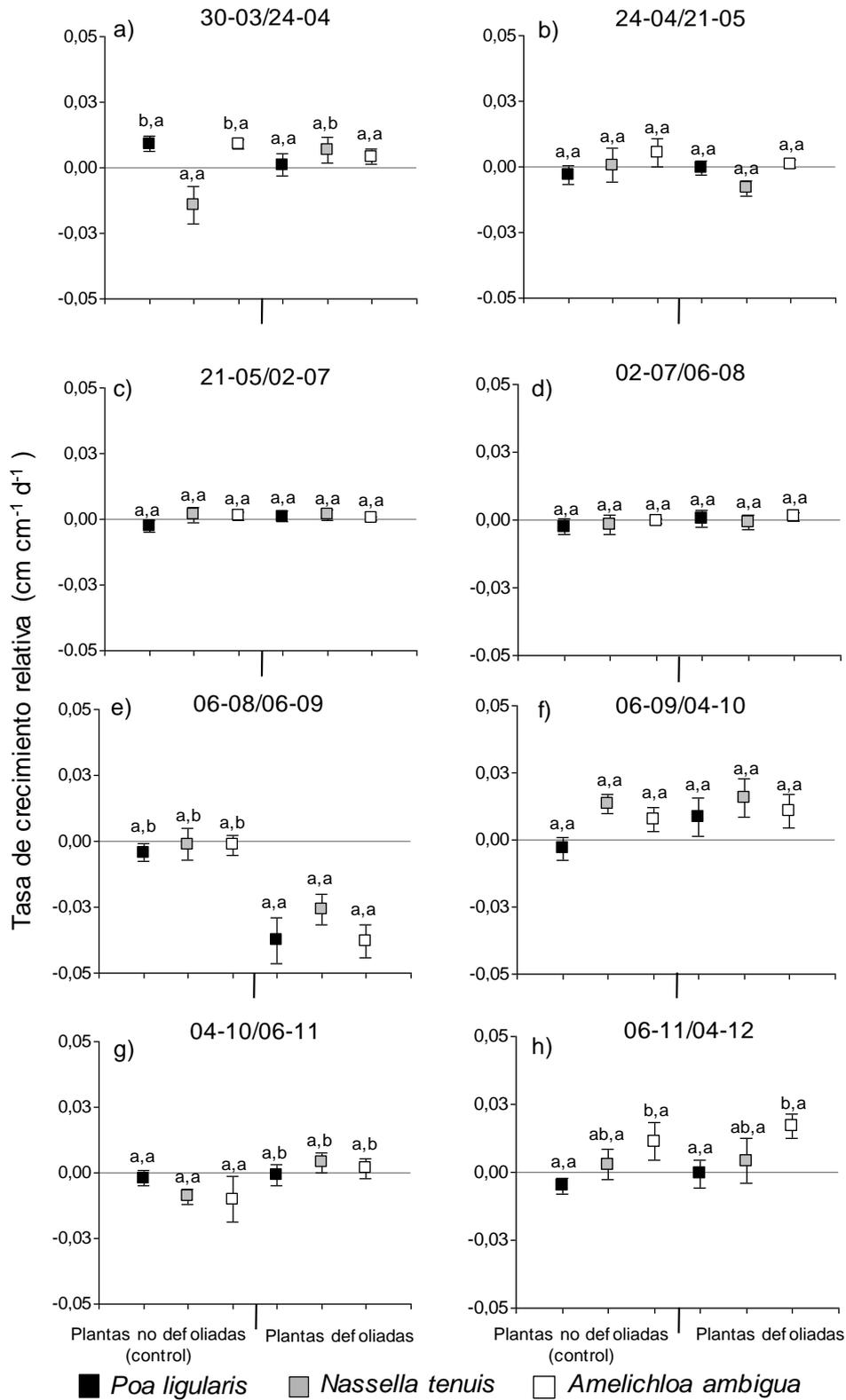


Figura 4.5. Tasas Relativas de Crecimiento para la longitud total de hoja en 2012. Cada dato es el promedio ± 1 error estándar (n= 10). Letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre especies y tratamientos respectivamente, dentro de cada fecha de muestreo. Las plantas fueron defoliadas el 7-08 y 14-09.

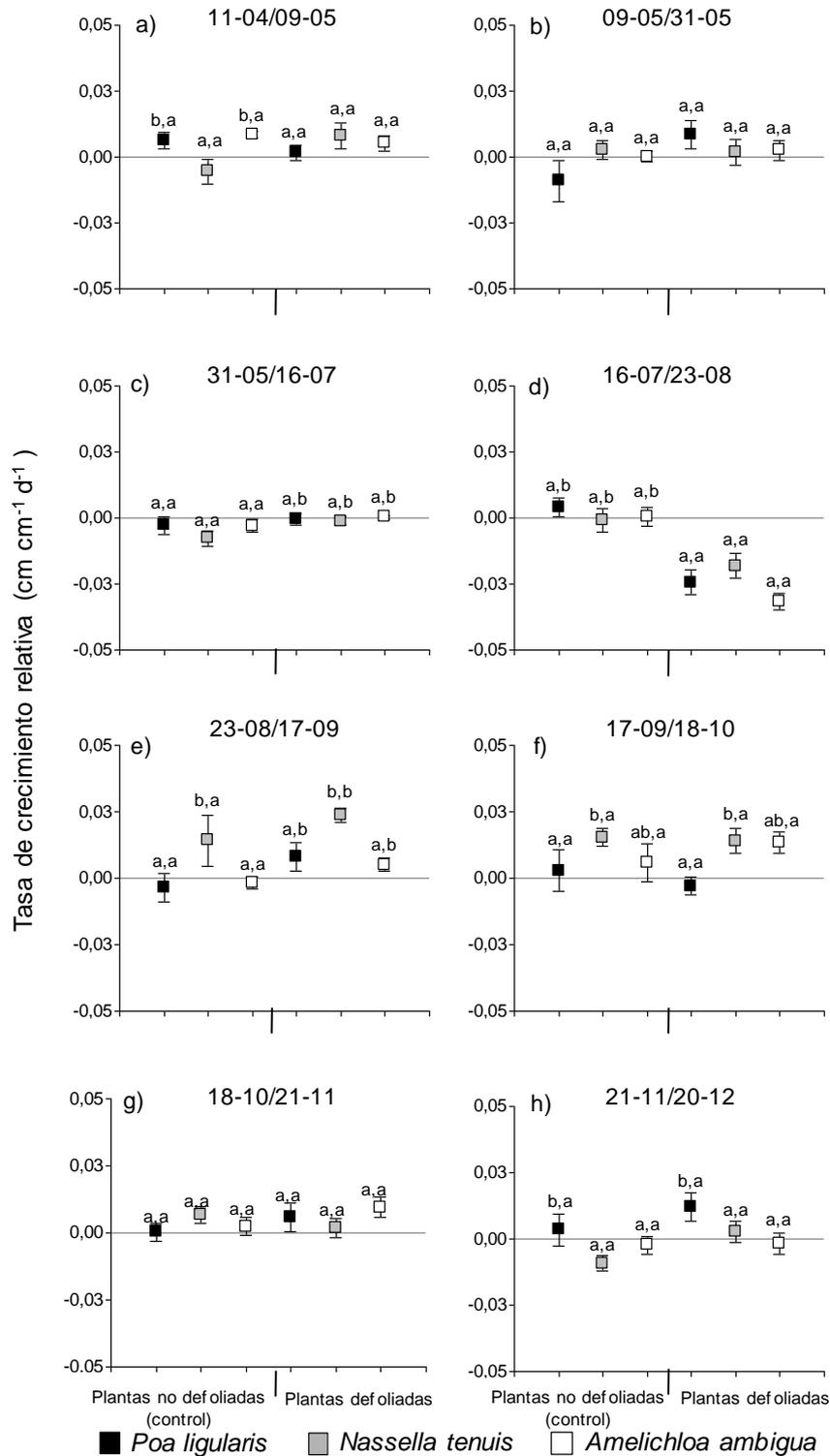


Figura 4.6. Tasas Relativas de Crecimiento para la longitud total de hoja en 2013. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar ($n=10$). Letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre especies y tratamientos respectivamente, dentro de cada fecha de muestreo. Las plantas fueron defoliadas el 18-07 y 17-09.

4.3.4 Altura de macolla

Se detectó interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre las especies, tratamientos, fechas de muestreo y años. Tanto en 2012 como en 2013, se obtuvo interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre las especies, los tratamientos de defoliación y las fechas de muestreo.

En 2012 antes de la primera defoliación, las plantas pertenecientes a *P. ligularis* y/o *A. ambigua* presentaron mayor altura ($26,04 \pm 0,86$ cm y $24,97 \pm 0,83$ cm, respectivamente) que las plantas de *N. tenuis* ($14,85 \pm 0,44$ cm; Tabla A4). Luego del primer corte, esta diferencia se mantuvo solo en las plantas control (Tabla A4). En octubre, las plantas defoliadas dos veces de las especies preferidas fueron superiores ($p \leq 0,05$) a la especie no palatable, aunque no se registraron diferencias significativas entre especies ($p > 0,05$) en las plantas control (Tabla A4). En diciembre, *N. tenuis* presentó mayor ($28,19 \pm 2,66$ cm; $p \leq 0,05$) altura respecto de *P. ligularis* y *A. ambigua* ($15,53 \pm 1,07$ cm y $16,61 \pm 1,14$ cm) y no hubo diferencias significativas ($p > 0,05$) entre tratamientos. De manera similar, en 2013, antes de la primera defoliación las plantas de *A. ambigua* presentaron mayor ($29,44 \pm 0,53$ cm; $p \leq 0,05$) altura, seguidas por *P. ligularis* y *N. tenuis* ($21,23 \pm 0,5$ cm y $11,22 \pm 0,29$ cm, respectivamente; Tabla A4). En septiembre, esta tendencia se mantuvo en las plantas control, y en las defoliadas, *P. ligularis* alcanzó los mayores valores (Tabla A4). En la última fecha, las plantas defoliadas pertenecientes a *N. tenuis* presentaron mayor ($p \leq 0,05$) altura respecto de *P. ligularis* y *A. ambigua*, aunque no hubo diferencias significativas entre especies ($p > 0,05$) en las plantas control (Tabla A4).

En el caso de las plantas pertenecientes a *P. ligularis*, solo se registraron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre los tratamientos de defoliación, con valores superiores para las plantas control, en los muestreos más próximos a las defoliaciones aplicadas (septiembre de 2012, y agosto y octubre de 2013; Fig. 4.7, a y b). Respecto de *N. tenuis*, las plantas defoliadas lograron recuperar la altura de macolla rápidamente luego de ser defoliadas, debido a que no se registraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre tratamientos en ninguna de las fechas de muestreo en los dos años de estudio (Fig. 4.7, c y d). No ocurrió lo mismo con *A. ambigua*: luego de la primera defoliación y hasta el final de la estación de crecimiento, las plantas control presentaron mayor ($p \leq 0,05$) altura que las defoliadas, tanto en 2012 como en 2013 (Fig. 4.7, e y f).

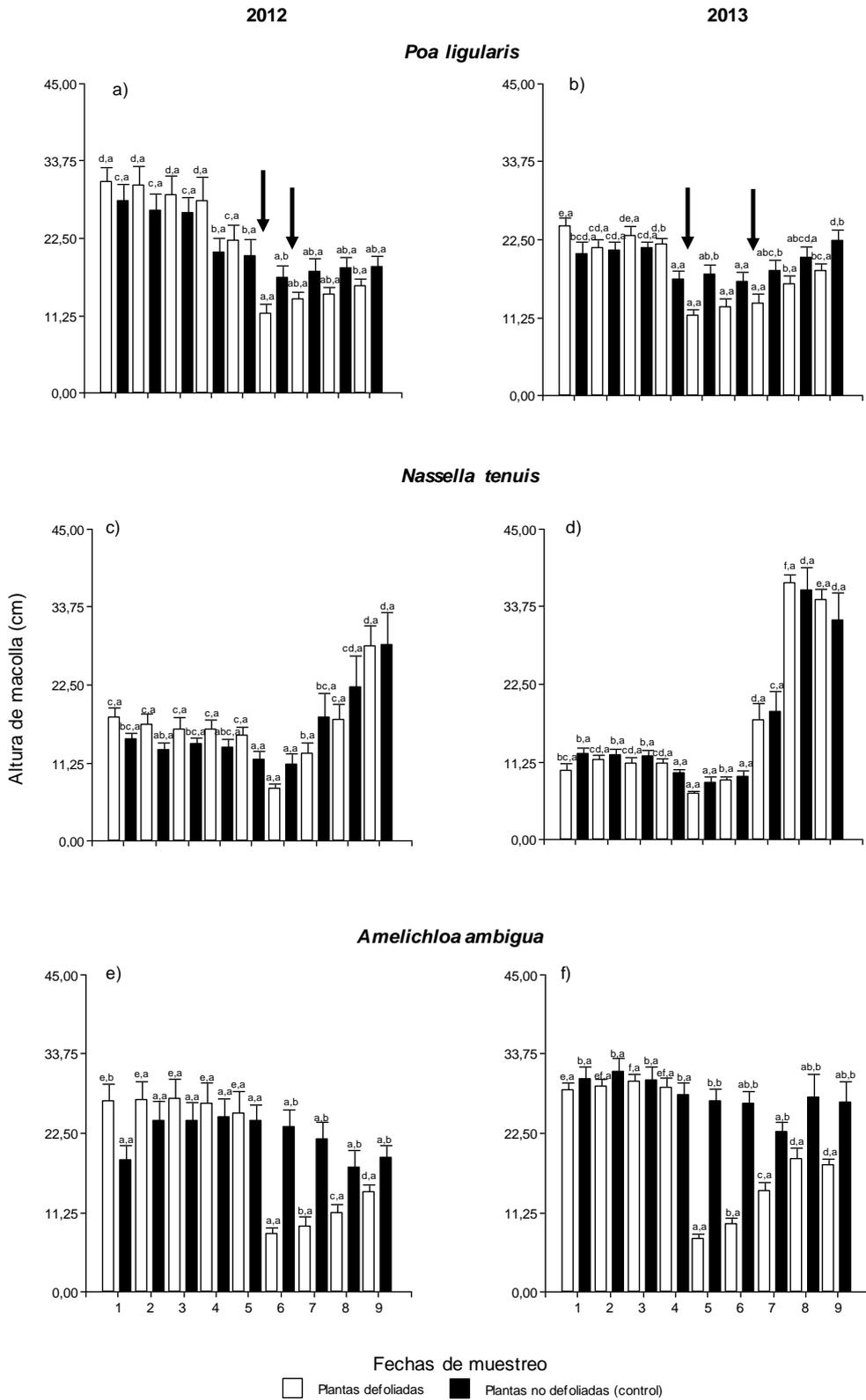


Figura 4.7 Interacción tratamientos x fechas de la altura de macolla perteneciente a plantas de *Poa ligularis* (a, b), *Nassella tenuis* (c, d), y *Amelichloa ambigua* (e, f) defoliadas o no en 2012 (a, c y e) y 2013 (b, d y f) Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar de $n=10$. Letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre fechas y tratamientos, dentro de cada especie. Fechas de muestreo en 2012: (1) 30-03, (2) 24-04, (3) 21-05, (4) 02-07, (5) 06-08, (6) 06-09, (7) 04-10, (8) 06-11 y (9) 04-12 y en 2013: (1) 11-04, (2) 09-05, (3) 31-05, (4) 16-07, (5) 23-08, (6) 17-09, (7) 18-10, (8) 21-11 y (9) 20-12. Las flechas indican los momentos en los que se realizaron los cortes.

4.4 Discusión

En general los tratamientos de defoliación afectaron inicialmente los componentes de crecimiento de las especies en estudio. Aunque las gramíneas palatables lograron compensar la pérdida de material fotosintético, no siempre ocurrió lo mismo en el caso de *A. ambigua*. Dentro de una comunidad vegetal, las especies preferidas poseen mecanismos de tolerancia que reducen los daños luego de la defoliación. Por ejemplo, (1) un marcado vigor basado en un sistema radical bien desarrollado, (2) un sistema activo de macollaje, o (3) una estrategia de supervivencia a través de un ciclo reproductivo reforzado o múltiple (Anderson, 1983). Además, la defoliación en la fase vegetativa incrementa la producción vegetal desde los meristemas (intercalares y/o apicales) en activo crecimiento remanentes (Briske y Richards, 1995). En este estudio se observó un incremento continuo en la longitud foliar total y en la altura luego de la defoliación en 2012 y 2013 en las tres especies.

Las plantas de *P. ligularis* presentaron mayor área basal en los años de estudio, diferenciándose o no de *A. ambigua* en 2012. A excepción de *N. tenuis* en el primer año, los tratamientos de defoliación no afectaron el área basal de las especies. Esto puede deberse a que las precipitaciones registradas durante los períodos de estudio fueron superiores o iguales a la media (promedio: 1981-2012: 421 mm; 513 y 422 mm para 2012 y 2013, respectivamente); al no haber limitaciones en la disponibilidad de agua, las plantas pudieron compensar los efectos negativos producidos por los cortes (Moretto y Distel, 1999). A su vez, la distribución de las lluvias puede jugar un rol importante en variación del área basal de las gramíneas perennes; cuando se concentran al principio y al final de la estación de crecimiento pueden producir una reducción del tamaño de las plantas (Moretto y Distel, 1999). Esto podría explicar, al menos en parte, la disminución en el área basal de las plantas de *P. ligularis* en 2012 y 2013 y en las plantas defoliadas de *N. tenuis* en 2012.

En el primer año de estudio, las especies palatables presentaron mayor número de hojas por macolla progenitora hasta la primera defoliación. Tanto en 2012 como 2013, se produjo una rápida elongación de los entrenudos (principalmente de las especies palatables) debido al pasaje del estado vegetativo al reproductivo. Cuando las macollas entran en estado reproductivo no producen nuevas hojas y los ápices crecen por encima de la altura mínima de pastoreo (Branson, 1953). Esto puede contribuir a explicar que, la especie no palatable presentó mayor número de hojas en relación a las especies preferidas luego de dos cortes. Estos resultados coinciden con otros estudios realizados en el mismo sitio y trabajando con las mismas especies, donde se informó que las macollas de *P. ligularis* que no fueron quemadas ni

defoliadas produjeron menos hojas que las macollas de la especie no deseable (Ithurrart, 2015); las plantas vegetaron durante el invierno y florecieron a mediados de octubre (*P. ligularis*) y noviembre (*A. ambigua* y *N. tenuis*). Se demostró la existencia de cierto desfase entre las tres especies, siendo el ciclo de *P. ligularis* el más adelantado, luego el de *N. tenuis* y finalmente el de *A. ambigua* (Ithurrart, 2015). Quizás el retraso ocurrido en la especie no palatable pudo ser debido a la mayor asignación de recursos a la producción de nuevas hojas en detrimento de la diferenciación floral (Ithurrart, 2015). Por otro lado, comparando entre las especies preferidas, en general, presentaron valores similares de esta variable en los dos años de estudio y tratamientos de defoliación. Estos resultados coinciden con los hallados por Becker *et al.* (1997b), quienes obtuvieron valores similares entre *N. tenuis* y *Piptochaetium napostaense* luego de aplicar los mismos tratamientos de defoliación. Ithurrart (2015) mostró que las macollas de *P. ligularis* exhibieron un mayor número de hojas que las de *N. tenuis* cuando fueron quemadas y defoliadas durante la elongación de los entrenudos en los dos años de estudio (Ithurrart, 2015). Esta diferencia puede deberse a que en nuestro trabajo las plantas se vieron expuestas a tratamientos menos rigurosos, y ambas especies pudieron recuperarse luego del disturbio. Tanto en 2012 como en 2013, el número de hojas por macolla progenitora no pareció ser afectado por los tratamientos de defoliación en las especies estudiadas. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Becker *et al.* (1997b) donde las plantas de las especies mencionadas anteriormente lograron recuperarse luego de las defoliaciones aplicadas y presentaron igual número de hojas verdes por macolla que las plantas control hacia el final de la estación de crecimiento.

Amelichloa ambigua y *P. ligularis* presentaron los mayores valores de la longitud total de hojas por macolla progenitora antes de las defoliaciones en los dos años de estudio. Luego de las mismas, en 2012, la especie no palatable presentó mayores TRC para esta variable al final de la estación de crecimiento. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Ithurrart (2015), y se podrían deber, al menos en parte al menor esfuerzo reproductivo observado en las plantas de *A. ambigua*, respecto de las otras especies. Esto probablemente determinó una mayor asignación de carbohidratos a la reposición de tejido fotosintético luego de un disturbio en *A. ambigua*. Por otro lado, las especies palatables lograron recuperarse de las defoliaciones aplicadas y hacia el final de la estación de crecimiento no se observaron diferencias entre tratamientos; no ocurrió lo mismo con *A. ambigua*, donde las plantas defoliadas fueron inferiores a las plantas control en ambos años. Esto pudo deberse a una menor capacidad competitiva en *A. ambigua* que en las especies deseables luego

de un disturbio. Saint Pierre *et al.*, (2004a) demostraron que la especie deseable *Nassella clarazii* tuvo una mayor capacidad competitiva que *A. ambigua* usando ^{15}N .

Incrementos en la TRC después de la defoliación permiten que las plantas puedan restablecer rápidamente el equilibrio de la raíz/tallo, obtener una mayor parte de los recursos disponibles en el suelo, y mantener sus relaciones de competencia con los vecinos (Busso y Richards, 1995; Becker *et al.*, 1997b; Saint Pierre *et al.*, 2004a). En este estudio, las TRC para longitud de hoja fueron inferiores al control luego de aplicar la primera defoliación en ambos años. Posteriormente, con menos follaje, las plantas defoliadas crecieron a una TRC similar y por momentos mayor que las plantas no defoliadas. Estos resultados coinciden parcialmente con Becker *et al.* (1997b) quienes demostraron que las TRC para la longitud total de hojas fueron mayores en los macollos defoliados en vegetativo y antes de la elongación de los entrenudos que en los controles no defoliados en *N. tenuis* y *P. napostaense*. Por otro lado, Oesterheld y McNaughton (1991) mostraron que la TRC de plantas defoliadas se redujo o no se vio afectada en un período de 16-24 días post-defoliación; sin embargo, cuando el periodo de recuperación más largo (32-40 días), las TRC aumentaron. Esto les permite a las especies recuperarse, y al menos compensar la pérdida de tejido fotosintético como resultado de la defoliación.

Las especies palatables presentaron mayor altura de macolla que *A. ambigua* luego de aplicar las defoliaciones. Esto puede deberse a rápida elongación de los entrenudos mencionada anteriormente producto de la diferenciación de los ápices a reproductivo. Por otro lado, a excepción de *P. ligularis* en 2013, las especies preferidas, logran recuperarse de los tratamientos aplicados; no ocurre lo mismo con *A. ambigua*, donde las plantas defoliadas no lograron reestablecer la altura de macolla en relación a las plantas control. Aplicar defoliaciones en los estadios vegetativos e inmediatamente luego de la diferenciación del ápice vegetativo en reproductivo permite recuperar la altura de las macollas de las especies preferidas (Becker *et al.*, 1997b) sin afectar su desarrollo.

Las respuestas de las plantas a la defoliación dependen de varios factores relacionados, por ejemplo, con la biología de la especie vegetal, la disponibilidad de nutrientes, y la frecuencia, intensidad y tiempo de recuperación después de dicho disturbio (Agrawal, 2000; Ferraro y Oesterheld, 2002). En este estudio los tratamientos de corte permitieron compensar las pérdidas de material fotosintéticos de las especies palatables y afectaron de manera negativa a *A. ambigua* en algunas de las variables estudiadas. El pastoreo por los animales es inevitablemente selectivo sea cual fuera el sistema aplicado al pastizal natural. Las especies preferidas se utilizan con mayor intensidad (Anderson, 1983). El resultado final depende primeramente del orden de

preferencia animal y segundo de la estación de pastoreo (Harlan, 1960). Por lo tanto, la utilización sustentable de las especies palatables llevadas a cabo por cargas animales moderadas y pastoreo intermitente, en reemplazo de un pastoreo de alta carga y continuo (Distel, 2016), son muy importantes para mantener la capacidad competitiva de las especies de etapas serales tardías (*P. ligularis*) e intermedias (*N. tenuis*). De esta forma, se conservará una buena calidad de forraje en los pastizales naturales del sudoeste bonaerense.

CAPÍTULO 5

PRODUCCIÓN DE BROZA AÉREA

5.1 Introducción

La broza es un compartimento importante en el ciclo de nutrientes y el flujo de energía (Bormann y Likens, 1979). La cantidad de broza que se libera al suelo depende de las características de las hojas de las especies vegetales que conforman la comunidad, las condiciones climáticas y los factores edáficos, que varían entre los sitios y años (Bray y Gorham, 1964; Maya y Arriaga, 1996; Martínez-Yrizar *et al.*, 1999; Bussotti *et al.*, 2003). La producción de broza suele ser estacional (Lambers *et al.*, 2000), y las mayores tasas se producen con la entrada en un período de inactividad fisiológica al inicio de estación seca en la mayoría de los ecosistemas áridos (Martínez-Yrizar *et al.*, 1999; Descheemaeker *et al.*, 2006; Campanella y Bertiller, 2008). Esta alta tasa de producción, se interpreta como una forma de evadir el estrés hídrico a través de la reducción del área foliar (Grace, 1998), y los mecanismos implicados podrían depender de interacciones complejas entre la humedad del suelo, la temperatura, y fenología de las especies (Martínez-Carretero y Dalmasso, 1992). Estudios realizados en diferentes ambientes, han encontrado un aumento en la producción de broza en años con precipitaciones superiores a la media (Strojan *et al.*, 1979; Münster-Swendsen, 1984; Bo Pedersen y BilleHansen, 1999; Pavón *et al.*, 2005).

El efecto de las diferentes especies de plantas en la fertilidad del suelo está determinado por las tasas de liberación de nutrientes desde la broza, y la cantidad total que se produce por unidad de área (Chapin, 1991). Las especies vegetales dentro de una misma comunidad, pueden diferir en la composición química de la broza y en la cantidad y momento en el cual se produce en función de sus características intrínsecas, en particular las relacionadas con la fijación de carbono y estrategias de conservación de nutrientes (Lambers *et al.*, 1998; Kikuzawa, 2004; Carrera *et al.*, 2005). Plantas de crecimiento lento, características de ecosistemas con baja disponibilidad de agua y N, tienden a producir hojas de vida larga con altas concentraciones de compuestos secundarios, baja concentración de N y bajas tasas de fotosíntesis (Coley, 1988; Poorter y Remkes, 1990; Reich *et al.*, 1992). Los altos costos de producción de las hojas son a menudo compensados por hojas de vida larga, lo que permite un período de actividad con un uso más prologado de N en la planta (Aerts, 1995; Westoby *et al.*, 2002; Wright *et al.*, 2002; Escudero y Mediavilla, 2003; Kikuzawa, 2004). Estructuras mecánicas y químicas que actúan como defensas

contra herbívoros y la escasez de agua, también pueden proteger a la broza del ataque de organismos del suelo que retrasan su descomposición, lo que afecta el ciclado de nutrientes y otros procesos ecosistémicos relacionados (Takeda *et al.*, 1987; Cornelissen y Thompson, 1997).

Las gramíneas de etapas serales tardías, preferidas por el ganado doméstico, producen broza de buena calidad, dando lugar a una rápida descomposición y mineralización de nutrientes (Milton *et al.*, 1994). Lo contrario ocurre en gramíneas de etapas serales tempranas no preferidas por los animales a pastoreo (Moretto *et al.*, 2001). Debido a que los metabolitos secundarios protegen las plantas contra los herbívoros, patógenos, la radiación UV-B y estrés hídrico (Whitford, 2002), plantas con hojas de vida larga tienden a invertir mucho más C en compuestos secundarios. El pastoreo selectivo, por lo general, resulta en la reducción de la cobertura vegetal y sustitución de especies dentro de la comunidad en los ecosistemas áridos y semiáridos (Bertiller y Bisigato, 1998). En condiciones de sobrepastoreo, se produce la invasión por gramíneas de baja calidad (Pisani *et al.*, 2000) que tienen baja productividad potencial y de recambio de tejidos (Aerts y Chapin, 2000). Por lo tanto, estas formas de vida vegetal pueden diferir fuertemente en la cantidad y calidad de la broza afectando la descomposición de la materia orgánica, las tasas de mineralización de N y la fertilidad del suelo (Aerts y Chapin, 2000; Carrera *et al.*, 2000, 2003, 2005; Campanella y Bertiller, 2008).

El objetivo de este capítulo, fue determinar la producción de broza aérea de las gramíneas perennes en estudio, durante la estación de crecimiento de los años 2012 y 2013. La hipótesis de trabajo fue que la producción de broza de *P. ligularis* y *N. tenuis* (de etapas serales tardías e intermedias, respectivamente) es mayor que la de *A. ambigua* (de etapas serales tempranas) debido a que producen hojas de vida corta y poseen alta reposición de tejidos fotosintéticos.

5.2 Materiales y Métodos

5.2.1 Muestreos y Mediciones

El estudio se realizó durante la estación de crecimiento de las especies en 2012 [fechas de muestreo: (1) 23-04, (2) 22-05, (3) 3-07, (4) 7-08, (5) 6-09, (6) 5-10, (7) 6-11 y (8) 4-12] y se repitió en un conjunto diferente de plantas durante 2013 [fechas de muestreo: (1) 9-05, (2) 31-05, (3) 16-07, (4) 23-08, (5) 17-09, (6) 18-10, (7) 21-11 y (8) 27-12].

Dentro de la clausura se marcaron 10 plantas al azar de cada especie (n=10) y se colocaron trampas de broza (Fig. 5.1) de 0,80 m de altura, 0,40 m de diámetro y

con una apertura de malla de 0,01 m (Carrera *et al.*, 2008). Mensualmente, se colectó la broza aérea producida por las mismas.



Figura 5.1. Trampas de broza colocadas a campo, sobre a) una planta de *Poa ligularis* y b) sobre una planta de *Amelichloa ambigua*.

La broza se secó en estufa a 70 °C hasta peso constante, y posteriormente se transfirió a una mufla a 550 °C durante 6 h. Se obtuvo así el peso seco (g/planta) de la broza libre de cenizas (McNaughton *et al.*, 1998) durante la estación de crecimiento y sumando la broza obtenida en cada fecha de muestreo, se obtuvo la producción total de broza aérea libre de cenizas (g/planta) de cada año en estudio.

5.2.2 Análisis estadísticos

Los datos fueron analizados utilizando el software INFOSTAT (Di Rienzo *et al.*, 2013). Previo al análisis, los datos fueron transformados con $\ln(x+1)$ a fin de cumplir con los supuestos de normalidad y homocedasticidad (Sokal y Rohlf, 1984). En las figuras se presentan los valores sin transformar. Para el caso de la producción de broza durante la estación de crecimiento las variables se analizaron con ANOVA multifactorial, tomándose como factores las especies, las fechas de muestreo y los años. Debido a que los datos corresponden a medidas repetidas, para el análisis, se emplearon modelos lineales mixtos con una correlación residual sin estructura y varianzas residuales heterogéneas en el tiempo. Los datos correspondientes al total de broza aérea, se analizaron mediante ANOVA doble utilizando las especies y los años como factores. La comparación de medias se realizó mediante el test de Fisher (LSD) protegido, con un nivel de significación del 0,05.

5.3 Resultados

5.3.1 Producción de broza aérea durante la estación de crecimiento (g/planta)

Se obtuvo interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre las especies, las fechas de muestreo y los años. En los dos años de estudio, se detectó interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre las especies y las fechas de muestreo.

En abril de 2012, *P. ligularis* y *A. ambigua* presentaron mayor ($p \leq 0,05$) producción de broza que *N. tenuis*, y en agosto *P. ligularis* produjo mayor ($p \leq 0,05$) broza que *N. tenuis* y *A. ambigua* (Tabla 5.1). En el resto de los momentos de muestreo, si bien se mantuvo esta tendencia (mayor producción para *P. ligularis*), no se registraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre especies (Tabla 5.1). En 2013, *P. ligularis* y *A. ambigua* tuvieron una producción similar ($p > 0,05$) de broza en mayo, septiembre y noviembre, y esta producción fue mayor que aquella en *N. tenuis*. En los muestreos restantes, *P. ligularis* mostró la mayor ($p \leq 0,05$) producción de broza, y la menor ($p \leq 0,05$) producción correspondió a *N. tenuis* (Tabla 5.1).

Durante los dos años de estudio, las plantas de *P. ligularis* presentaron menor ($p \leq 0,05$) producción en mayo, julio, agosto y septiembre respecto de las últimas fechas de muestreo donde se realizó el mayor aporte (Fig. 5.2, a). A excepción de abril y noviembre donde no se registraron diferencias ($p > 0,05$), la producción de esta especie fue mayor ($p \leq 0,05$) en el año 2013 que en 2012 (Fig. 5.2, a). Las plantas de *N. tenuis*, en general presentaron un patrón similar a *P. ligularis* a lo largo de la estación de crecimiento (Fig. 5.2, b), aunque en los muestreos 2, 5 y 7 el aporte fue mayor ($p \leq 0,05$) en 2012 que 2013 y en las demás fechas no se observaron diferencias significativas entre años (Fig. 5.2, b).

En el caso de *A. ambigua* la producción fue mayor ($p \leq 0,05$) hacia el final de la estación de crecimiento en los dos años de estudio, aunque las diferencias fueron menos evidentes que en el caso de las especies palatables (Fig. 5.2, c). Al igual que *P. ligularis* presentó mayor ($p \leq 0,05$) aporte de broza en el año 2013, a excepción de los muestreos 1, 5, 6 y 7 donde no se registraron diferencias significativas ($p > 0,05$; Fig. 5.2, c).

Tabla 5.1. Producción de broza aérea durante la estación de crecimiento (g/planta) de las tres especies en estudio. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar (n= 10). Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre especies en cada fecha de muestreo, dentro de cada año de estudio.

Especies	2012								2013							
	(1) 23-04	(2) 22-05	(3) 03-07	(4) 07-08	(5) 06-09	(6) 05-10	(7) 06-11	(8) 04-12	(1) 09-05	(2) 31-05	(3) 16-07	(4) 23-08	(5) 17-09	(6) 18-10	(7) 21-11	(8) 27-12
<i>P. ligularis</i>	0,38 \pm 0,04 b	0,19 \pm 0,03 a	0,23 \pm 0,05 a	0,19 \pm 0,03 b	0,17 \pm 0,05 a	0,43 \pm 0,08 a	0,58 \pm 0,12 a	0,53 \pm 0,13 a	0,83 \pm 0,24 b	0,53 \pm 0,1 b	0,83 \pm 0,16 c	0,59 \pm 0,07 c	0,8 \pm 0,13 b	1,31 \pm 0,17 c	0,69 \pm 0,13 b	2,03 \pm 0,44 c
<i>N. tenuis</i>	0,19 \pm 0,03 a	0,14 \pm 0,02 a	0,12 \pm 0,01 a	0,1 \pm 0,02 a	0,11 \pm 0,01 a	0,35 \pm 0,06 a	0,34 \pm 0,07 a	0,34 \pm 0,08 a	0,13 \pm 0,03 a	0,07 \pm 0,02 a	0,13 \pm 0,01 a	0,07 \pm 0,02 a	0,05 \pm 0,01 a	0,24 \pm 0,05 a	0,17 \pm 0,03 a	0,38 \pm 0,07 a
<i>A. ambigua</i>	0,58 \pm 0,13 b	0,17 \pm 0,02 a	0,22 \pm 0,04 a	0,08 \pm 0,02 a	0,15 \pm 0,03 a	0,35 \pm 0,08 a	0,35 \pm 0,06 a	0,33 \pm 0,03 a	0,48 \pm 0,09 b	0,39 \pm 0,09 b	0,44 \pm 0,07 b	0,35 \pm 0,07 b	0,67 \pm 0,35 b	0,49 \pm 0,04 b	0,62 \pm 0,2 b	1,01 \pm 0,18 b

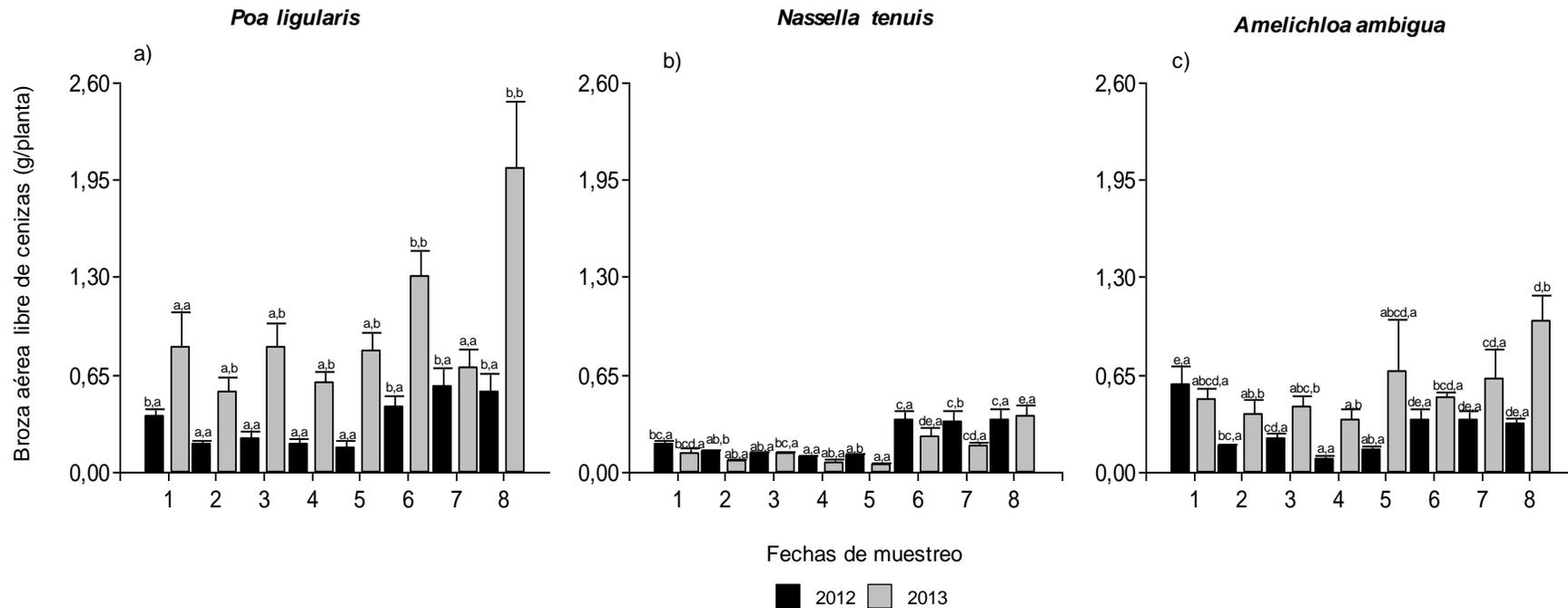


Figura 5. 2. Producción de broza aérea durante la estación de crecimiento (g/planta) de plantas pertenecientes a *P. ligularis* (a), *N. tenuis* (b) y *A. ambigua* (c). Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar de n= 10. Letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre fechas y años, dentro de cada especie. Fechas de muestreo en 2012: (1) 23-04, (2) 22-05, (3) 03-07, (4) 07-08, (5) 06-09, (6) 05-10, (7) 06-11 y (8) 04-12, y en 2013: (1) 09-05, (2) 31-05, (3) 16-07, (4) 23-08, (5) 17-09, (6) 18-10, (7) 21-11 y (8) 27-12.

5.3.2 Producción total de broza aérea (g/planta)

Se detectó interacción significativa entre las especies y los años de muestreo.

Las plantas pertenecientes a *P. ligularis* y *A. ambigua* produjeron más ($p \leq 0,05$) broza en 2013 que en 2012 y lo contrario ocurrió en el caso de *N. tenuis* (Fig. 5.3). En ambos años, la producción total de broza de las especies palatables, fue mayor ($p \leq 0,05$) en *P. ligularis* que en *N. tenuis* (Fig. 5.3).

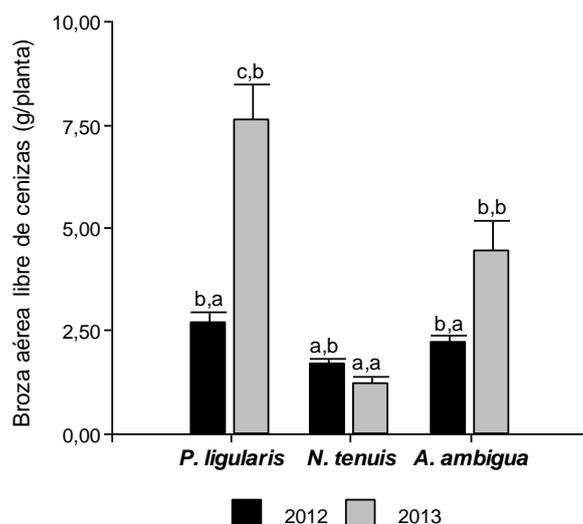


Figura 5.3. Producción total de broza aérea (g/planta) de las especies en estudio. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar ($n = 10$). Letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre especies y años, respectivamente.

5.4 Discusión

El aporte de broza por las especies vegetales es la entrada principal de carbono al suelo y la descomposición de restos vegetales afecta el balance entre el carbono que retorna la atmósfera y el carbono secuestrado en las plantas y suelos (Whitford, 2002). La producción de broza en los ecosistemas desérticos es generalmente baja; sin embargo, varía en las distintas regiones, los diferentes sitios de una misma región y entre los años en un mismo lugar (Noy-Meir, 1973, 1985).

Las gramíneas perennes palatables producen hojas de una vida corta, con una baja protección frente a los herbívoros y de rápida descomposición (Moretto y Distel, 2000; Campanella y Bertiller, 2008). Las especies que producen broza de baja calidad poseen baja productividad potencial y recambio de tejidos (Aerts y Chapin, 2000).

Las plantas de *P. ligularis* aportaron mayor cantidad de broza que las otras dos especies en 4 de las 8 fechas de muestreo durante el año 2013. Estudios realizados en el mismo sitio en 2011 y 2012 demostraron un desfase en el ciclo biológico de las especies siendo el ciclo de *P. ligularis* el más adelantado, luego el de *N. tenuis* y finalmente el de *A. ambigua* (Ithurrart, 2015). Lo mismo fue observado por Campanella y Bertiller (2008) donde; las plantas pertenecientes a *P. ligularis* florecieron a principios de primavera y fructificaron a finales de la misma estación, las plantas pertenecientes a *N. tenuis* y *Stipa speciosa* (especie no palatable) florecieron a mediados de primavera y fructificaron desde finales de primavera hasta principios de verano. Esta característica fenológica puede contribuir a explicar el mayor aporte de broza de *P. ligularis* respecto de las otras especies. Esto es debido a que al entrar en el estadio reproductivo la tasa de aparición de follaje se acelera, y de esta forma la de producción de broza (Colabelli *et al.*, 1998).

Dentro de cada una de las especies, el aporte de material vegetal fue mayor hacia el final de la estación de crecimiento. Durante diciembre, se diseminan las semillas, y el follaje está formado por hojas secas y restos de cañas (Llorens, 2013), las plantas entran en dormancia y aportan broza al suelo. En las especies palatables las tasas de senescencia y aparición de hojas son similares en el estadio vegetativo, y las plantas se mantienen mayormente verdes durante la estación fría (Moore *et al.*, 1991; Llorens, 2013). Esto contribuye a explicar el menor aporte de broza durante el otoño e invierno (Jobbagy y Sala, 2000; Campanella y Bertiller, 2008). En el caso de *A. ambigua*, si bien la producción de broza fue aumentando hacia los meses de septiembre, octubre y noviembre, las diferencias fueron más leves. Esto podría deberse al menor esfuerzo reproductivo de esta especie en relación a las especies preferidas (Ithurrart, 2015).

Analizando la producción total de broza en 2012 y 2013, observamos que en el caso de *P. ligularis* y *A. ambigua* el mayor aporte fue realizado en el segundo año de estudio, lo contrario ocurrió en *N. tenuis*. En estos años las precipitaciones fueron superiores o similares a la media (2012: 513 mm y 2013: 422 mm), con los mayores valores durante marzo y noviembre para 2012, y los meses de otoño y primavera para 2013. Esta diferencia en la distribución de las precipitaciones, podría contribuir a explicar las diferencias encontradas entre años. Existen evidencias de cierta dependencia en cuanto a la de producción de broza, la cantidad de lluvia y el uso de nutrientes durante el período de crecimiento de las especies vegetales (Pavón *et al.*, 2005; Milla *et al.*, 2005). Sin embargo, las respuestas suelen ser muy variadas y contradictorias. En un estudio realizado en el desierto de Mojave se encontró que la producción total de broza y la contribución relativa de broza con baja relación C:N fue

mayor en un año húmedo que en uno seco (Weatherly *et al.*, 2003). Por otro lado, Campanella y Bertiller (2010), demostraron que *N. tenuis* registró mayor aporte de broza en un año seco, aunque intraaunualmente *P. ligularis* respondió con mayor producción luego de períodos de lluvias. Por lo tanto, las respuestas a eventos de precipitación surgen de la acción combinada de características propias de las especies en estudio y del patrón temporal de dinámica del agua en el suelo (Golluscio y Sala 1993; Myers *et al.*, 1998). Por último, la menor producción de broza en *N. tenuis* en comparación con las otras especies en ambos años, probablemente se debe a su menor tamaño de área basal (ver Capítulo 4). Es decir, a plantas inherentemente más chicas en estado adulto, en comparación con las otras dos especies. Peri y Lasagno (2010), mostraron que el carbono y la asignación de nutrientes varían de acuerdo al tamaño de la planta. En general, plantas más grandes asignan más carbono y nutrientes en las hojas verdes y seniles que las plantas más pequeñas.

CAPÍTULO 6

DESCOMPOSICIÓN DE BROZA AÉREA Y SUBTERRÁNEA

6.1. Introducción

La descomposición de la broza, es fundamental para mantener la productividad de los ecosistemas terrestres (Bormann y Likens, 1979). Esto se debe a que la misma regula la disponibilidad de nutrientes necesarios para el crecimiento de las plantas (Lambers *et al.*, 1998; Koukoura *et al.*, 2003). El proceso de descomposición, es producido por una combinación de factores bióticos y abióticos como la actividad de los microorganismos en el suelo, la calidad de la broza, la temperatura, la precipitación y la radiación ultravioleta (Moretto *et al.*, 2001; Austin y Vivanco, 2006). A escala local, la calidad del material vegetal juega un rol determinante en la tasa de descomposición considerando que las condiciones ambientales permanecen relativamente constantes (Lavelle *et al.*, 1993; Aerts, 1997; Cornwell *et al.*, 2008; Kazakou *et al.*, 2009).

La disponibilidad de agua puede influir en las tasas de descomposición y la liberación de nutrientes desde la broza, al afectar las actividades de las comunidades de descomponedores (Orchard y Cook, 1983; Berg, 1986; Clein y Schimel, 1994). En la mayoría de zonas áridas y semiáridas, la precipitación es el principal factor climático que controla estos procesos (Noy Meir, 1973) en particular en los ecosistemas de alta variabilidad inter e intra-anual de precipitaciones (Giese *et al.*, 2009).

La calidad de la broza suele ser el mejor predictor de las tasas de descomposición dentro de una región climática particular (Parton *et al.*, 2007; Silver y Miya, 2001). Los procesos de descomposición que ocurren por encima y por debajo del suelo se ven afectados por diferentes parámetros ambientales, con consecuencias considerables para el ciclo de los nutrientes. Estudios realizados en ambientes semiáridos, arrojan resultados contradictorios al respecto. En algunos, la descomposición de las raíces fue más rápida (Seastedt *et al.*, 1992; Moretto *et al.*, 2001) o más lenta (Biondini *et al.*, 1998) que la descomposición de la broza aérea en plantas herbáceas. Por otro lado, las plantas pueden diferir en la pérdida de materia orgánica desde sus raíces, debido a diferencias morfológicas dadas por la presencia de células corticales (Jefferies, 1916), el área específica (Hobbie *et al.*, 2010; Smith *et al.*, 2014) y su composición química. Una mayor área puede dar lugar a una lenta descomposición, aunque esta relación puede invertirse en los estadios más avanzados del proceso (Hobbie *et al.*, 2010), como así también, mayores contenidos de N favorecen el ciclado de nutrientes (Wardle *et al.*, 1997).

El clima incide sobre la descomposición de la materia orgánica a través de sus efectos sobre la producción de broza, calidad de la misma, y la actividad microbiana. Los pastizales son sistemas dinámicos en los cuales la producción y la pérdida de forraje ocurren en forma simultánea (Hodgson *et al.*, 1981). En los pastizales de climas áridos y semiáridos bien manejados por el hombre, es común encontrar gramíneas perennes, preferidas por el ganado, que producen hojas de vida corta (Campanella y Bertiller, 2008) y que aportan broza aérea con altos contenidos de N, baja relación C:N y lignina. Los compuestos lábiles, como el N, suelen controlar la pérdida de peso seco durante la primera fase de la descomposición, mientras que los compuestos recalcitrantes, como lignina o carbohidratos lignificados, controlan la segunda fase (Berg, 1986; Palm y Rowland, 1997). En numerosos trabajos ha sido corroborado que tanto el contenido de nitrógeno y de lignina, como la relación entre ambos, son buenos predictores de la descomposición de la broza (Melillo *et al.*, 1982; Taylor *et al.*, 1989; Milton *et al.*, 1994; Aerts, 1997; Cornwell *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2008; Poca *et al.*, 2014). En general, las especies con mayor contenido inicial de nitrógeno, menor contenido de lignina, o baja relación lignina: nitrógeno presentan mayores tasas de descomposición en relación a especies que tengan los atributos opuestos (Poca *et al.*, 2014).

La riqueza de especies vegetales, estimula la descomposición de la materia orgánica debido a aumentos en la diversidad de las comunidades microbianas (Stephan *et al.*, 2000). Se ha demostrado, que la broza se descompone más rápido en suelos de un área dominada por plantas de varias especies de las que proviene el material, en comparación con el suelo dominado por solo una especie; esto muestra una especialización de los microorganismos en descomponer con mayor eficacia la broza a la que están más expuestos (Wardle *et al.*, 2002; Strickland *et al.*, 2009; Ayres *et al.*, 2009). De esta forma, se produce un aumento en la disponibilidad de nutrientes para la planta y mejora su competitividad dentro de la comunidad (Ayres *et al.*, 2006).

Disturbios en el ecosistema, como el pastoreo selectivo producen cambios en la composición florística y en los microorganismos asociados, que pueden afectar la calidad y la tasa de descomposición de las brozas aérea y subterránea (Holland *et al.*, 1992; Milchunas y Lauenroth, 1993). Grime *et al.* (1996) encontraron una relación directa entre la palatabilidad de las hojas de las especies vegetales y la tasa de descomposición de la hojarasca. Además, el pastoreo aumenta la penetración de la luz (Ritchie *et al.*, 1998) y decrece el contenido de agua del suelo (Naeth *et al.*, 1991). Busso *et al.* (2010) informaron que la temperatura de la superficie se incrementó al reducirse la cobertura de follaje sobre la misma. Es de esperar entonces que la

defoliación incrementa la cantidad de radiación incidente sobre dicha superficie, reduciendo el contenido de humedad y aumentando la temperatura del suelo.

El objetivo de este capítulo fue evaluar la pérdida de materia orgánica y el contenido de N de las brozas aérea y subterránea, debajo de plantas defoliadas y sin defoliar de las especies en estudio. Las hipótesis planteadas fueron: (1) diferencias en la calidad del material vegetal, produce distinta pérdida de materia orgánica y N desde la broza aérea y subterránea, y (2) la identidad de las especies y la defoliación inciden sobre el microclima debajo de cada planta afectando diferencialmente la pérdida de materia orgánica y N a partir de las brozas aérea y subterránea.

6.2 Materiales y métodos

6.2.1 Muestreos y Mediciones

El diseño experimental fue completamente aleatorizado, con réplicas balanceadas ($n= 5$). En noviembre de 2011, se recolectaron plantas de las tres especies estudiadas, con la finalidad de obtener sus raíces y láminas recientemente senescentes, aún ligadas a las macollas. Para poder obtener gran parte del sistema radical de las plantas extraídas, el suelo fue removido por lavado (suavemente) utilizando agua corriente. Ambas porciones (láminas y raíces) se secaron a temperatura ambiente hasta peso constante. Posteriormente, se cortaron en trozos de 4 cm y se colocaron en bolsas confeccionadas con tela de gasa (Moretto y Distel, 2003) de 10 x 10 cm (1 g por bolsa); con una apertura de malla de 0,35 mm (Fig. 6.1; Carrera *et al.*, 2008). La inclusión de una mezcla de raíces vivas y muertas en las bolsas de broza podría conducir a una sobreestimación en las tasas de descomposición de las raíces finas. Sin embargo, las tasas de descomposición de la mezcla de raíces se podrían asemejar a aquellas de las raíces en senescencia debido a la alta renovación de raíces finas y la re-movilización despreciable de N durante la senescencia de las raíces finas (Gill y Jackson, 2000). Si bien la apertura de malla de las bolsas, no permite el paso de invertebrados, se considera que el aporte de éstos al proceso de descomposición es pequeño en comparación a la actividad de protozoos, bacterias y hongos (Cornelissen, 1996; Perez-Harguindeguy *et al.*, 2000; Vaieretti *et al.*, 2010).

El 22 de marzo de 2012, se colocó una bolsa de láminas y otra de raíces de cada una de las tres especies estudiadas debajo de cada planta (5 plantas/especie x 3 especies); 6 bolsas/planta= 3 bolsas de láminas (1 de cada especie) y 3 bolsas de raíces. Esto se efectuó en cada uno de los tratamientos de defoliación (defoliado y no defoliado) y de las cuatro fechas de muestreo, totalizando 720 bolsas (6 bolsas/planta

x 5 plantas/especie x 3 especies x 2 tratamientos de defoliación x 4 fechas de muestreo).



Figura 6.1 Bolsas de descomposición conteniendo láminas colocadas en el campo al inicio del estudio (22-03-2012), y (b) luego de 24 meses (20-03-2014).

Las bolsas conteniendo láminas se colocaron horizontalmente debajo del follaje de las plantas, sobre la superficie del suelo y se fijaron mediante clavos; y las que contenían raíces, de igual forma, pero a 10 cm de profundidad.

De las 40 plantas/especie marcadas (5 plantas/especie x 2 tratamientos de defoliación x 4 fechas de muestreo), la mitad se defolió dos veces durante la estación de crecimiento tal como se explicó en el Capítulo 3 y el resto permaneció sin defoliar. En cada fecha de muestreo, luego de 2 (21-05-12), 7 (13-10-12), 13 (25-04-13) y 24 (20-03-14) meses de iniciado el estudio, se retiraron 180 bolsas (3 especies x 6 bolsas/réplica x 5 réplicas/tratamiento de defoliación x 2 tratamientos de defoliación). En el laboratorio, el material vegetal fue limpiado de residuos extraños y se pesó luego de haberlo secado en estufa a 60 °C durante 72 h. La corrección por contaminantes inorgánicos en las muestras vegetales se hizo colocándolas en mufla a 550 °C durante 6 h (McNaughton *et al.*, 1998). Con estos datos se calculó la pérdida de materia orgánica (%) a los 2, 7, 13 y 24 meses desde el inicio y se estimaron las tasas de descomposición (k) de cada tipo de material vegetal. Este estudio se repitió en un conjunto diferente de plantas durante el período 2013-2015 [fecha de inicio: 18-04-13, fechas de muestreos (1) 15-06-13, (2) 21-11-13, (3) 22-04-14 y (4) 18-04-15] pero colocando 1440 bolsas (12 bolsas debajo de cada planta marcada). Seis bolsas se utilizaron para evaluar la pérdida de materia orgánica, y las otras para determinar, el contenido de N (mg) del material remanente en cada fecha de muestreo.

6.2.2 Análisis estadístico

Los datos fueron analizados utilizando el software INFOSTAT (Di Rienzo *et al.*, 2013). La pérdida de materia orgánica desde la broza aérea y subterránea, se analizó de forma independiente con ANOVA multifactorial en un diseño de parcelas divididas [Parcela principal: estudio (1= 2012-2014 y 2= 2013-2015), especie, tratamiento y fecha de muestreo; Subparcela: material vegetal (láminas o raíces, según el análisis) de cada una de las especies].

Para estimar las tasas de pérdida de materia orgánica se utilizaron los promedios de materia orgánica remanente en el material colocado debajo de cada especie. Los datos fueron ajustados a un modelo de regresión exponencial negativa (Swift *et al.*, 1979) de la forma:

$$y = a \times e^{-kt}$$

Donde **y** es la materia orgánica remanente libre de cenizas (g) en el tiempo **t** (meses), **a** es la cantidad de material puesto a descomponer al inicio (1 g) y **k** es la tasa de pérdida de materia orgánica libre de cenizas (g mes⁻¹).

En el caso del contenido de N, previo al análisis los datos fueron transformados con $\sqrt{(x+0,05)}$ a fin de cumplir con los supuestos de normalidad y homocedasticidad (Sokal y Rohlf, 1984). Se realizó un análisis inicial del material colocado en las bolsas de descomposición mediante un ANOVA simple. Respecto del contenido de N del material remanente, los datos se analizaron con ANOVA multifactorial en un diseño de parcelas divididas [Parcela principal: especie, tratamiento y fecha de muestreo; Subparcela: material vegetal (láminas o raíces, según el análisis) de cada una de las especies]. Solo se consideraron en el análisis las tres primeras fechas de muestreo y el material proveniente de 8 plantas por especie debido a inconvenientes de laboratorio (falla en el equipo para hacer las determinaciones).

En todos los casos, la comparación de medias se realizó mediante el test de Fisher (LSD), con un nivel de significación del 0,05.

6.3 Resultados

6.3.1 Pérdida de materia orgánica (%)

Durante el análisis exploratorio de los datos, no se obtuvo efecto ($p > 0,05$) de los tratamientos de defoliación en ninguna de las fechas de muestreo. Por lo tanto, se trabajó sin considerar este factor. En ambas porciones, se detectó interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre el material vegetal, estudio, fechas de muestreo y especie.

En el estudio 2012-2014, el análisis de la broza aérea (láminas) no detectó ($p > 0,05$) efecto de especie durante las dos primeras fechas; las láminas de *N. tenuis*

perdieron mayor ($p \leq 0,05$) porcentaje de materia orgánica libre de cenizas, seguidas por *P. ligularis*, y *A. ambigua*, fue la que presentó los valores más bajos (Fig. 6.2, a; $p \leq 0,05$). A los 13 meses desde el inicio, debajo de *P. ligularis* y *N. tenuis*, las especies palatables mostraron mayor ($p \leq 0,05$) pérdida de material vegetal en relación a la especie no palatable y debajo de *A. ambigua*, la broza perteneciente a *P. ligularis* fue superior ($p \leq 0,05$) a las demás especies (Fig. 6.2, a). Las láminas de *P. ligularis* y *A. ambigua*, no registraron diferencias ($p > 0,05$) en la pérdida de materia orgánica en relación a los sitios donde fueron colocadas a descomponer. En cambio, la broza de *N. tenuis* se descompuso más ($p \leq 0,05$) debajo de las especies palatables que debajo de *A. ambigua* (Fig. 6.2, a). En el último muestreo, nuevamente no se detectó ($p > 0,05$) efecto de especies, y al igual que al inicio, y las láminas de *N. tenuis* presentaron los mayores ($p \leq 0,05$) porcentajes de pérdida y la especie no palatable presentó los valores más bajos ($p \leq 0,05$). Las tasas estimadas de pérdida de materia orgánica fueron de 0,0629 y 0,0693 g mes⁻¹ para *P. ligularis* y *N. tenuis* respectivamente y de 0,0304 g mes⁻¹ para la especie no palatable (Fig. 6.3, a).

Respecto de la broza subterránea (raíces), en los dos primeros muestreos en 2012-2014, el material vegetal de *A. ambigua* presentó un mayor ($p \leq 0,05$) porcentaje de pérdida de materia orgánica, respecto del material proveniente de las gramíneas palatables (Fig. 6.2, b) y *N. tenuis* mostró el menor ($p \leq 0,05$) porcentaje de pérdida en comparación a las otras dos especies (Fig. 6.2, b) A los 13 meses, debajo de *P. ligularis* y de *N. tenuis* la broza perteneciente a la especie no palatable presentó los mayores ($p \leq 0,05$) porcentajes de pérdida de materia orgánica, aunque debajo de las plantas pertenecientes a su misma especie, los porcentajes no se diferenciaron de las otras especies (Fig. 6.2, b). Sólo la broza de *N. tenuis* presentó mayor pérdida debajo de *A. ambigua* que debajo de las especies palatables; en los otros tipos de material vegetal no hubo diferencias entre especies (Fig. 6.2, b; $p > 0,05$). A los dos años, nuevamente la broza subterránea de *A. ambigua* presentó los mayores ($p \leq 0,05$) porcentajes de pérdida de materia orgánica (Fig. 6.2, b) en relación a las raíces de las demás especies. Las tasas estimadas de descomposición fueron de 0,0418 y 0,0398 g mes⁻¹ para las raíces de *P. ligularis* y *N. tenuis*, respectivamente, y de 0,0610 g mes⁻¹ para el material de *A. ambigua* (Fig. 6.3, a).

En el estudio 2013-2015, en el caso de la broza aérea, las dos primeras fechas arrojaron los mismos resultados que en 2012-2014. En el tercer muestreo, las láminas de *N. tenuis* perdieron mayor ($p \leq 0,05$) porcentaje que la broza aérea de las otras especies, y *A. ambigua* presentó los valores más bajos ($p \leq 0,05$); Las láminas de *P. ligularis* perdieron mayor ($p \leq 0,05$) materia orgánica debajo de las especies palatables, y *A. ambigua* presentó los menores ($p \leq 0,05$) valores debajo de las plantas de su

misma especie, aunque no difirió ($p > 0,05$) de la pérdida registrada bajo *P. ligularis*. A los 24 meses nuevamente las láminas de *N. tenuis* presentaron los mayores valores ($p \leq 0,05$) en relación a las demás especies. Las tasas estimadas de descomposición fueron de 0,0855 y 0,1450 g mes⁻¹ para las láminas de *P. ligularis* y *N. tenuis* respectivamente y de 0,0513 g mes⁻¹ para la especie no palatable (Fig. 6.3, b). Respecto de las raíces, no se registró ($p > 0,05$) efecto de especies en ninguna de las cuatro fechas de muestro. *Amelichloa ambigua*, presentó mayor ($p \leq 0,05$) pérdida en los dos años de estudio, seguida por *P. ligularis*, aunque la misma no se diferenció ($p > 0,05$) de la broza de *N. tenuis* luego de 13 y 24 meses. En este caso, las tasas estimadas de pérdida de materia orgánica fueron de 0,0734, 0,0655 y 0,1362 g mes⁻¹ para la broza subterránea de *P. ligularis*, *N. tenuis* y *A. ambigua* respectivamente (Fig. 6.3, b).

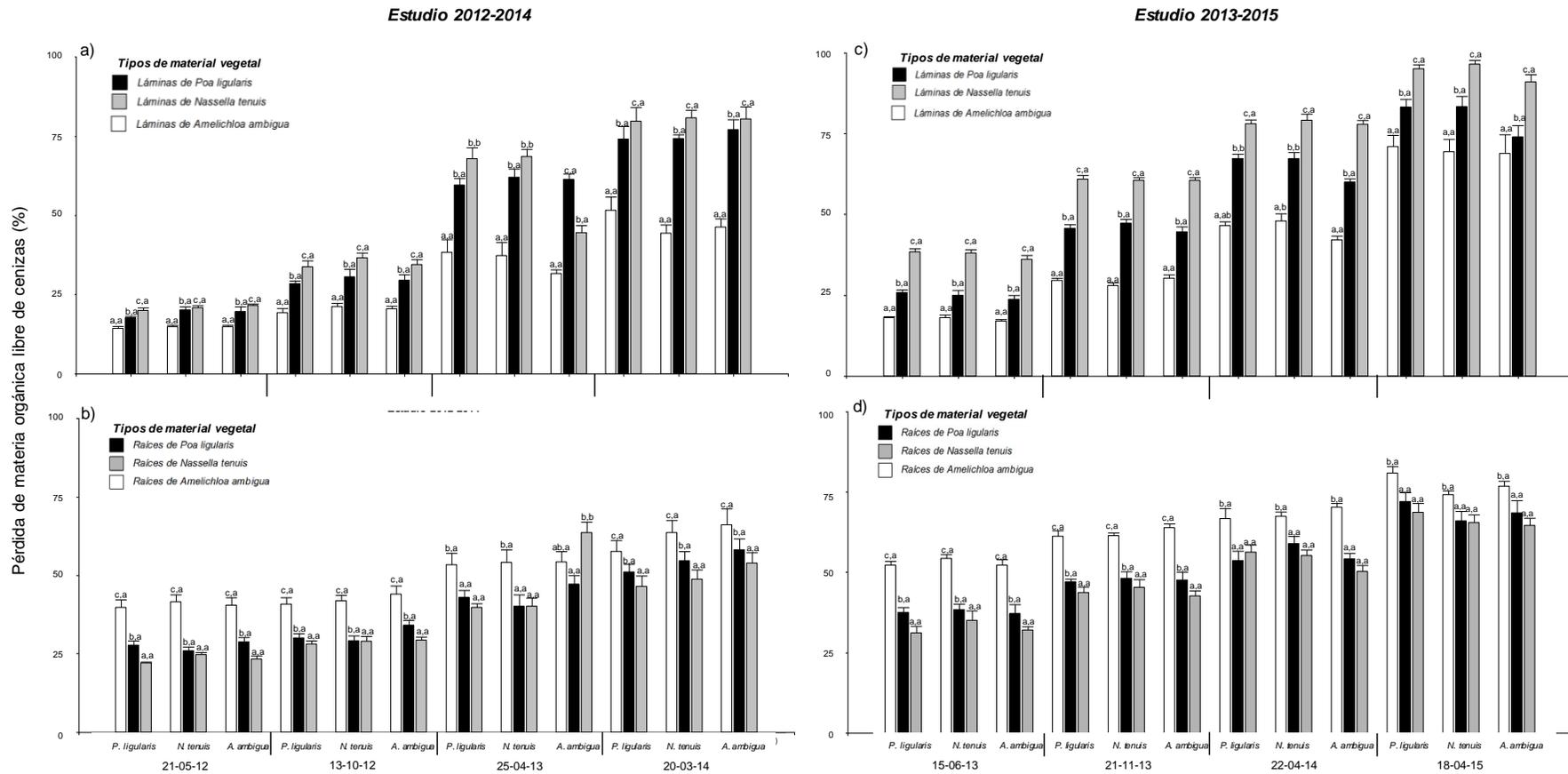


Figura 6.2. Pérdida de materia orgánica libre de cenizas (%) en los estudios 2012-2014 (a y b) y 2013-2015 (c y d) desde la broza aérea (láminas, a y c) y subterránea (raíces, b y d), debajo de las especies en estudio en cada fecha de muestreo. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar de $n=10$. Dentro de cada muestreo, letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas entre los tipos de material vegetal y entre especies, respectivamente.

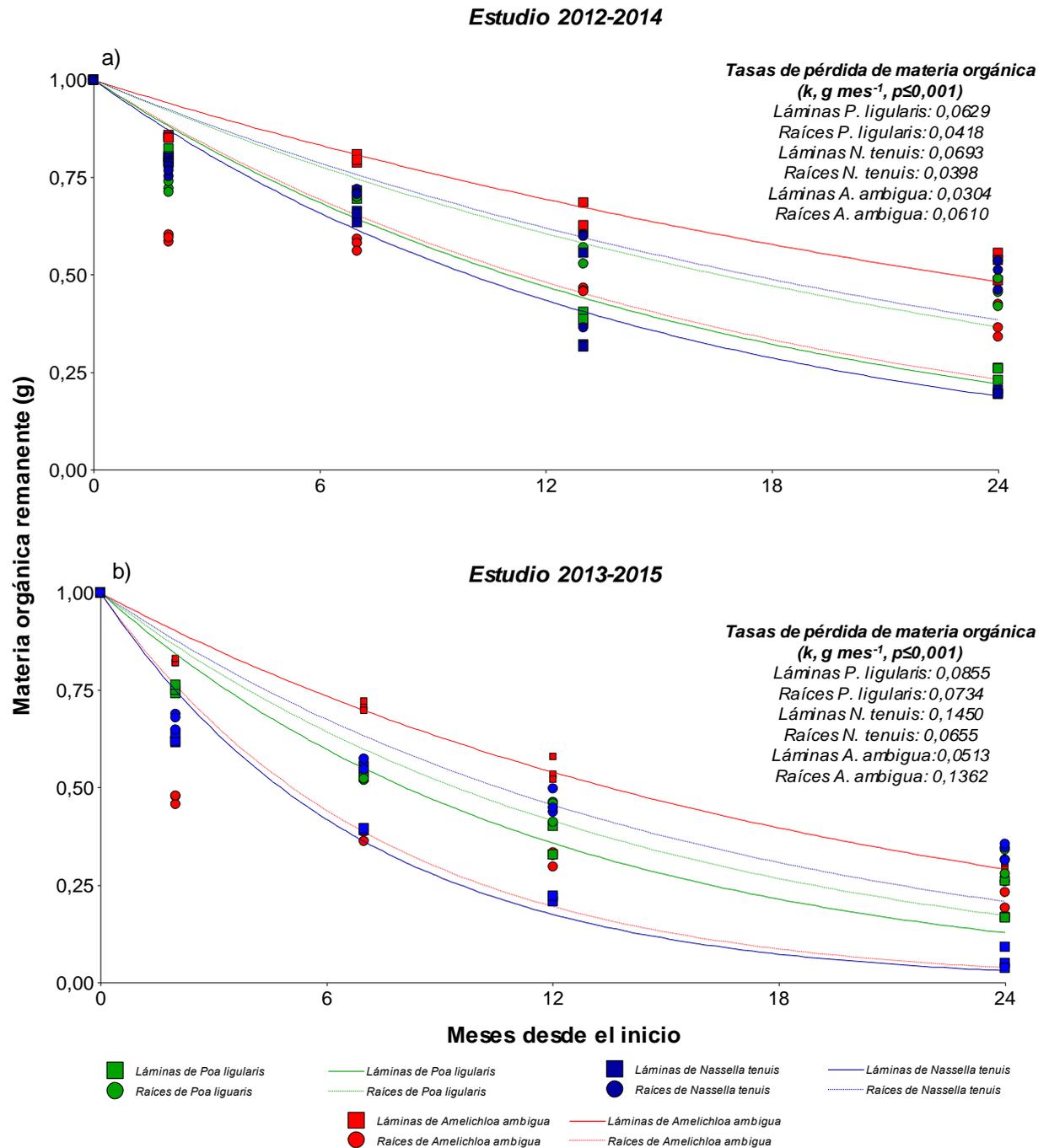


Figura 6.3. Ajuste al modelo exponencial negativo ($y = a \cdot e^{-kt}$) del promedio de la materia orgánica remanente (g) de cada tipo de material vegetal de las especies estudiadas, en el estudio 2012-2014 (a) y en el estudio 2013-2015 (b).

6.3.2 Contenido de N (mg)

En el caso de las láminas, el contenido de N del material puesto a descomponer fue superior ($p \leq 0,05$) en *N. tenuis* ($23,16 \pm 0,80$ mg), seguido por *P.*

ligularis ($16,96 \pm 0,28$ mg) y *A. ambigua* presentó los valores más bajos ($7,90 \pm 0,45$ mg). Lo contrario ocurrió en el caso de las raíces, donde la especie no palatable fue superior ($8,81 \pm 0,19$ mg; $p \leq 0,05$), seguida por *N. tenuis* ($7,73 \pm 0,11$ mg) y por último *P. ligularis* ($6,98 \pm 0,20$ mg).

En cuanto al contenido N del material remanente, no se obtuvo efecto ($p > 0,05$) de los tratamientos de defoliación en ninguna de las fechas de muestreo. Por lo tanto, se trabajó sin considerar este factor en los análisis. En ambas porciones se detectó interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre el material vegetal, fechas muestreos y especie.

Respecto del contenido de N en las láminas, en el primer muestreo debajo de las tres especies, el material vegetal perteneciente a *N. tenuis* presentó los mayores ($p \leq 0,05$) valores, seguido por el de *P. ligularis* y por último *A. ambigua* ($p \leq 0,05$; Fig. 6.4, a). *Nassella tenuis* presentó menor contenido ($p \leq 0,05$) en el material puesto debajo de las plantas de su misma especie que debajo de *A. ambigua* (Fig. 6.4, a); en los demás tipos de material no se registraron diferencias ($p > 0,05$) entre especies (Fig. 6.4, a). En la segunda fecha de muestreo, continuó la misma tendencia con los valores más bajos ($p \leq 0,05$) para la especie no palatable, aunque no hubo diferencias ($p > 0,05$) entre las láminas de *N. tenuis* y *P. ligularis* (Fig. 6.4, a). El 22 de abril de 2014, las láminas de *A. ambigua* y *P. ligularis* tuvieron un contenido de N similar ($p > 0,05$), y superior ($p \leq 0,05$) a aquel en las láminas de *N. tenuis* (Fig. 6.4, a).

En el caso de la broza subterránea, en los dos primeros muestreos, las raíces de *N. tenuis*, presentaron el mayor ($p \leq 0,05$) contenido de N, seguido por el de *P. ligularis*, y las raíces de *A. ambigua* presentaron los valores más bajos ($p \leq 0,05$; Fig. 6.4, b). En el último muestreo, las especies palatables tuvieron un contenido de N similar en las raíces ($p > 0,05$) pero mayor ($p \leq 0,05$) a aquel en *A. ambigua* debajo de las plantas de *P. ligularis* (Fig. 6.4, b). El contenido de N de las raíces fue similar ($p > 0,05$) en las tres especies debajo de las plantas de *N. tenuis* (Fig. 6.4, b). Finalmente, debajo de las plantas de *A. ambigua*, se obtuvo el mismo modelo observado en las dos primeras fechas, es decir el contenido de N de las raíces de *N. tenuis* fue superior a *P. ligularis* y *A. ambigua* presentó los valores más bajos. Las raíces pertenecientes a *P. ligularis* presentaron menor contenido de N debajo de las plantas de *N. tenuis* y la broza de esta especie debajo de las especies preferidas (Fig. 6.4, b). En el caso de la especie no palatable, se registró menor contenido ($p \leq 0,05$) debajo de las plantas de su misma especie, aunque sin diferenciarse del valor registrado cuando fueron colocadas bajo *P. ligularis* (Fig. 6.4, b).

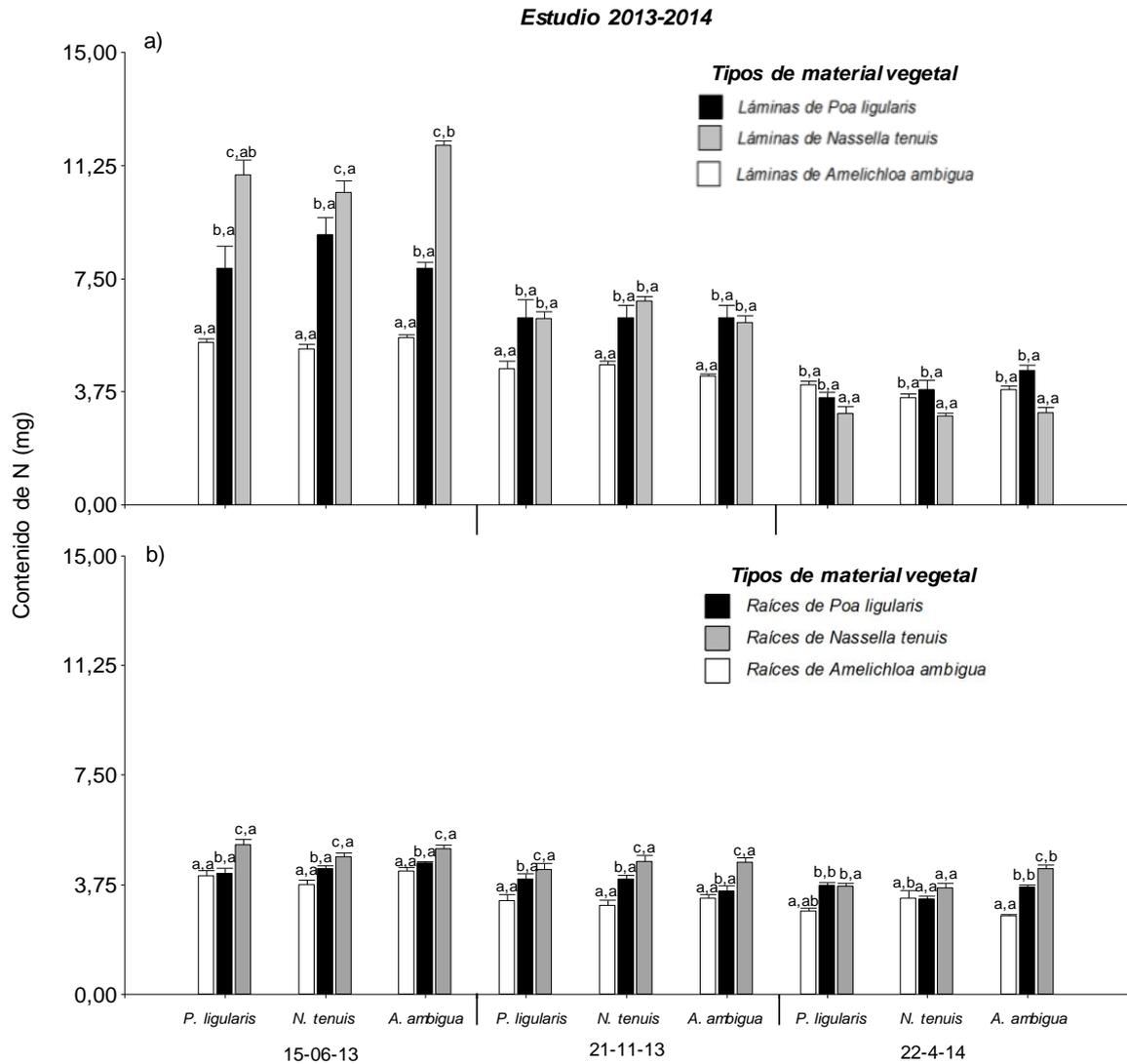


Figura 6.4. Contenido de N (mg) del material vegetal remanente en el estudio 2013-2014 perteneciente a la broza aérea (láminas, a) o subterránea (raíces, b) colocada debajo de las especies en estudio en cada fecha de muestreo. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar ($n=8$). Dentro de cada muestreo, letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas entre los tipos de material vegetal y entre especies, respectivamente.

6.4 Discusión

Las gramíneas perennes palatables producen hojas de vida corta, con baja protección frente a los herbívoros y de rápida descomposición (Campanela y Bertiller, 2008). Se ha demostrado que el pastoreo incrementa la penetración de la luz (Ritchie *et al.*, 1998) y en los pastizales naturales de las zonas áridas, la fotodegradación juega un papel importante en la descomposición de la broza aérea (Giese *et al.*, 2009). El

incremento en la presión de pastoreo ha mostrado aumentar la descomposición de las raíces (Shariff *et al.*, 1994) o no tener efectos sobre la misma (Smith *et al.*, 2014). Por otro lado, su incidencia sobre todo en la broza aérea, puede depender del tiempo. Estudios realizados por Giese *et al.* (2009) mostraron que diferentes intensidades de pastoreo no provocaron diferencias significativas en la descomposición de broza aérea y subterránea durante el primer año de estudio; luego de este tiempo, la broza aérea si se vio afectada y se descompuso más rápido en el sitio con mayor presión de ganado. Estos resultados coinciden parcialmente con los encontrados en nuestro estudio. La rápida reposición del tejido fotosintético demostrada en el Capítulo 4 principalmente en las especies palatables, pudo ser la causa de que no hayamos detectado efecto significativo de los tratamientos de defoliación en la pérdida de materia orgánica y en el contenido de N de las brozas aérea y subterránea.

Se ha indicado que la broza de un grupo dado de especies se descompone más rápido en el suelo donde dichas especies son dominantes, de las cuales mayormente proviene la broza, que en áreas de suelo dominado por otras especies. Esto se ha llamado “ventaja del local” (Ayres *et al.*, 2006, 2009; Strickland *et al.*, 2009; Wallenstein *et al.*, 2010; Keiser *et al.*, 2011, 2013), y es el resultado de la especialización de las comunidades microbianas del suelo en descomponer con mayor eficacia la broza a la que normalmente están más expuestas (Hunt *et al.*, 1988; Gholz *et al.*, 2000; Strickland *et al.*, 2009; Ayres *et al.*, 2009). Por el contrario, en otros trabajos realizados en pastizales no se ha podido detectar este efecto (Hunt *et al.*, 1988; Strickland *et al.*, 2009; Osanai *et al.*, 2012). Respecto de la pérdida de materia orgánica desde la broza, pudimos observar efecto de sitio en el tercer muestreo para las láminas en ambos estudios, y para las raíces sólo en el estudio 2012-2014. En el mismo, se observó principalmente que las láminas de *N. tenuis* registraron mayores valores de pérdida debajo de las especies palatables en 2012-2014 y lo mismo ocurrió con las láminas de *P. ligularis* en el estudio 2013-2015. En el caso de las raíces, debajo de *P. ligularis* y de *N. tenuis*, la broza de *A. ambigua* se descompuso más rápido, y debajo de su misma especie no se diferenció del resto de los tipos de material vegetal. Cuando se evaluaron los contenidos de N en el material remanente, se observó efecto de sitio en el primer muestreo para el caso de las láminas y en el tercero para el caso de las raíces. Las láminas de *N. tenuis* presentaron menor contenido cuando fueron colocadas debajo de las plantas de su misma especie, respecto de las bolsas colocadas bajo *A. ambigua*. Por su parte, las raíces de *N. tenuis* perdieron mayor N debajo de las especies preferidas y el material radical de *P. ligularis* debajo de las plantas de *N. tenuis*. Moretto y Distel (2003) demostraron, comparando especies de gramíneas de diferente palatabilidad, que la descomposición

de la broza aérea quedo determinada tanto por la calidad del material como las características del sitio donde fue puesto a descomponer. La descomposición de las raíces solo fue determinada por su composición química. Los efectos de las especies de plantas individuales sobre la degradación microbiana de la materia orgánica, sobre todo en el caso de broza subterránea, puede variar dependiendo de la liberación de compuestos lábiles carbonados a partir de las raíces vivas (Van der Krift *et al.*, 2001, 2002), el suministro de oxígeno en el suelo (Weiss *et al.*, 2005; Neubauer *et al.*, 2007) y la desecación del mismo como resultado del uso de agua por la planta (Jenkinson, 1977).

En general, las láminas pertenecientes a las especies palatables presentaron mayor pérdida de materia orgánica desde la broza aérea en relación a *A. ambigua* durante los dos estudios realizados. Estos resultados coinciden con los hallados por Moretto *et al.* (2001), Kokoura *et al.* (2003), Moretto y Distel (2003), Fisher *et al.* (2006) y Poca *et al.* (2014). Estos autores analizaron la composición de la broza de varias especies y encontraron que las especies palatables de broza de mejor calidad se descomponen más fácilmente que las de baja calidad. Las láminas de *P. ligularis* y *N. tenuis* presentaron mayor contenido de N que las láminas *A. ambigua*. Esto contribuiría a explicar que la rápida descomposición de las especies palatables está asociada a los mayores contenidos de N iniciales de su broza (Moretto *et al.*, 2001; Moretto y Distel, 2003), principalmente en las primeras etapas del proceso (Poca *et al.*, 2014).

En el caso de la broza subterránea, ocurrió lo contrario. En general, *A. ambigua* fue la que perdió mayor porcentaje de materia orgánica en relación a *P. ligularis* y *N. tenuis*. Moretto *et al.* (2001) no encontraron diferencias claras en la tasa de descomposición de las raíces entre especies palatables o no palatables, trabajando con *Nassella clarazii* (ex. *Stipa clarazii*), *P. ligularis* y *Nassella tenuíssima* (ex. *Stipa tenuíssima*). Los resultados hallados, podrían deberse a que las raíces de *A. ambigua* poseen un mayor diámetro en relación a las de *P. ligularis* (Ithurrat, 2015); raíces más gruesas pueden contener células corticales de almacenamiento más grandes que las raíces finas lo que provoca que sean más fácilmente visitadas por descomponedores (Jefferies, 1916; Robinson, 1990; Smith *et al.*, 2014), principalmente durante los primeros meses desde el inicio del proceso de descomposición (Hobbie *et al.*, 2010). Además, los contenidos iniciales de N en las raíces de esta especie fueron superiores a los de las especies palatables, pero fueron inferiores a los de las mismas desde los primeros muestreos. Esto demuestra una relación positiva entre los contenidos iniciales de N y su pérdida a lo largo del estudio (Smith *et al.*, 2014). Si bien en el caso de las especies palatables los contenidos iniciales de N fueron superiores en *N. tenuis*

respecto de *P. ligularis* en el tercer muestreo no se registraron diferencias entre sí, cuando fueron colocadas a descomponer debajo de las plantas de su misma especie.

Por último, las tasas estimadas de pérdida de materia orgánica desde las brozas aérea y subterránea están dentro del rango de variación reportado para varias especies de plantas de otros ecosistemas áridos y semiáridos (Koukoura *et al.*, 2003; Arriaga y Maya, 2007; Brandt *et al.*, 2007; Scheffer y Aerts, 2000; Silver y Miya, 2001; Carrera *et al.*, 2008). El aumento registrado (principalmente en el caso de las raíces de *A. ambigua* y ambas porciones de *N. tenuis*) en el estudio 2013-2015 respecto del estudio 2012-2014 puede deberse a las variaciones en la distribución de las precipitaciones mostradas en el Capítulo 2. Las tasas de pérdida de materia orgánica desde las brozas aérea y subterránea han demostrado estar fuertemente correlacionadas con las precipitaciones en los ambientes áridos y semiáridos (Strojan *et al.*, 1987; Giese *et al.*, 2009). Este factor puede facilitar la lixiviación y ruptura de la broza aérea (Swift *et al.*, 1979) e incrementar la biomasa y actividad de los descomponedores (Orchard y Cook, 1983; Berg, 1986; Clein y Schimel, 1994).

CAPÍTULO 7

ESTRUCTURA Y ACTIVIDAD DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS DEL SUELO

7.1 Introducción

El suelo es un recurso natural cuya calidad depende de un gran número de propiedades químicas, físicas y biológicas (Jenny, 1980). La fertilidad de los suelos, está determinada por una red de complejas interacciones bióticas entre los microorganismos que lo componen y otros miembros del ecosistema, como plantas y animales (Buscot y Varma, 2005). La microbiota del suelo, juega un rol central en los procesos que permiten aumentar la disponibilidad de nutrientes, como la humificación, ciclado y mineralización de la materia orgánica (Emmerling, *et al.*, 2002). A su vez, los microorganismos favorecen la formación de agregados en el suelo que promueven el crecimiento vegetal y la resistencia a los procesos de erosión (Buscot y Varma, 2005). Las propiedades edáficas, pueden ser afectadas por procesos de degradación provocados por fenómenos naturales o por las actividades antrópicas (Jenny, 1980; Sylvia *et al.*, 2005).

Los pastizales naturales pueden verse expuestos a la acción de los herbívoros domésticos (Whitford, 2002). A largo plazo, un pastoreo intensivo, induce, directa o indirectamente, cambios en la estructura de la vegetación, tales como la reducción de la cobertura de las especies preferidas por el ganado y el aumento de las especies indeseables. Las mismas, difieren en gran medida en la calidad de su broza (Cornelissen, 1996; Grime *et al.*, 1996; Cornwell *et al.*, 2008), la cual está influenciada por su composición química (Wardle *et al.*, 2003; Bardgett, 2005).

La defoliación de las plantas puede influir sustancialmente en el ciclo de nutrientes (Mikola *et al.*, 2001; Bardgett *et al.*, 1998) y la biodiversidad del suelo (Collins *et al.*, 1998). Esto se debe a cambios en la cantidad y calidad de materia orgánica que es incorporada; la mineralización y tasa de descomposición microbiana son más altas en brozas con altos niveles de nitrógeno y fósforo (Enríquez *et al.*, 1993), mientras que la presencia de sustancias de defensa contra herbívoros, por ej. compuestos fenólicos y taninos, llevan a procesos de descomposición más lentos consecuencia de una menor actividad microbiana (Hattenschwiler y Gasser, 2005). Por otro lado, la defoliación produce alteraciones en los patrones de distribución de carbono y de exudación radical, y a largo plazo, cambios en la biomasa y morfología de las raíces de las especies afectadas (Bardgett *et al.*, 1998). Los suelos bajo pastoreo intensivo, tienden a perder materia orgánica y reducir la disponibilidad de

carbono (Lal, 2002; Stark y Kytoviita, 2006). Sin embargo, Uhlírová *et al.* (2005), Zhou *et al.* (2007) y Hamilton *et al.* (2008) demostraron que defoliaciones controladas mejoran la calidad de los pastizales debido a que estimulan la rizodeposición, aumentando la biomasa microbiana del suelo, y en consecuencia de carbono lábil disponible.

Sumado a los efectos de la defoliación, la identidad de las especies vegetales, es otro factor que afecta a los procesos del ecosistema (Vitousek *et al.*, 1987; Hobbie, 1992; Vinton y Burke, 1997), como el ciclo de nutrientes (Wedin y Tilman, 1990), la composición y biomasa microbiana (Bardgett *et al.*, 1999), y la actividad enzimática del suelo (Kourtev, *et al.*, 2002). Mawdsley y Bardgett (1997) demostraron que la defoliación continua de *Trifolium repens* y *Lolium perenne* aumenta la biomasa microbiana de la rizosfera, en ambas especies, pero el grado y tiempo de respuesta depende de la especie vegetal. Esta respuesta diferencial podría ser consecuencia de diferencias en la calidad y cantidad de los exudados radicales de cada especie, o en la composición de las comunidades bacterianas asociadas, las cuales responden diferencialmente a los cambios inducidos por la defoliación (Mawdsley y Bardgett, 1997).

La diversidad de las comunidades bacterianas en el suelo, está influenciada por la intensidad de pastoreo y la composición de la comunidad vegetal (Qu *et al.*, 2016). Su estudio, en un sistema tan complejo como el suelo requiere de la utilización de distintas técnicas que provean información complementaria y permitan un análisis integral. Debido a que se estima que más del 99% de los microorganismos presentes en el suelo no son fácilmente cultivables (Amann *et al.*, 1995), se han desarrollado en el área de la ecología microbiana molecular varios métodos independientes del cultivo para superar las dificultades y limitaciones asociadas con las técnicas dependientes del cultivo de microorganismos. En general son métodos basados en el análisis de la secuencia de los genes ribosomales, ya que su análisis comparativo es una de las herramientas más poderosas para evaluar la biodiversidad. Una de las técnicas actualmente muy utilizada para estos fines, es la electroforesis en geles de poliacrilamida con gradiente desnaturizante o DGGE (Denaturing gradient gel electrophoresis; Muyzer *et al.*, 1993). Este método se basa en la extracción de ADN de la comunidad microbiana del suelo, la amplificación por PCR (Polymerase Chain Reaction) de los genes ribosomales y su separación por secuencia en geles con gradiente químico desnaturizante. El análisis del perfil de bandas que se obtiene permite evaluar la diversidad presente en comunidades de distintos ambientes, o los cambios en una comunidad a través del tiempo o luego de alguna perturbación (Heuer *et al.*, 1997; MacCaig *et al.*, 2001; Griffiths *et al.*, 2003; Das *et al.*, 2007). Si bien la

metodología de PCR-DGGE provee información de la estructura de la comunidad microbiana, da poca información sobre aspectos funcionales de esa comunidad. En consecuencia, es conveniente que sea complementada con metodologías que contemplen aspectos funcionales de las comunidades microbianas, los cuales comúnmente son estudiados a través de técnicas clásicas.

Una metodología muy utilizada para estimar la actividad microbiana global es la respiración del suelo, que representa la actividad heterotrófica, y es también un indicador del flujo potencial de CO₂ a la atmósfera. La evolución del CO₂ es un parámetro ligado a la utilización de materiales orgánicos (Abril, 2003), y puede ser utilizada para estimar así la capacidad del suelo para el ciclado de nutrientes. Con esta metodología se ha demostrado que la reducción de la cobertura de especies de gramíneas perennes debido a una gran intensidad de pastoreo afecta las actividades microbianas relacionadas con el ciclo del carbono en los ecosistemas áridos de monte patagónico (Prieto *et al.*, 2011). Algunos estudios en pastizales han demostrado también que la defoliación reduce la respiración del suelo (Bremer *et al.*, 1998; Craine *et al.*, 1999; Wan y Luo, 2003). Sin embargo, se ha encontrado que bajas frecuencias de defoliación no tuvieron un efecto significativo sobre esta variable en pastizales del centro de Estados Unidos (Zhou *et al.*, 2006).

Peri *et al.* (2015) encontraron diferencias significativas en las tasas de respiración del suelo entre pastizales naturales contrastantes, dominados por distintas especies vegetales de la Patagonia Austral argentina. Esto sugiere que el tipo de vegetación influye en la actividad de los microorganismos del suelo. Otros estudios han demostrado que la presencia de plantas vivas, combinadas con su broza, tiene un efecto neutral o negativo sobre la respiración basal (Dornbush, 2007). Esto puede deberse a que, bajo ciertas condiciones, existe una competencia entre las plantas y los microorganismos del suelo por la captación de nutrientes necesarios para su crecimiento y desarrollo (Fontaine *et al.*, 2003; Dornbush, 2007).

El presente capítulo tuvo como objetivos evaluar los efectos de la identidad de las especies vegetales y de la defoliación sobre: (1) la estructura de las comunidades bacterianas mediante el análisis por DGGE de los genes ribosomales 16S (PCR-DGGE) y (2) la actividad microbiana global, estimada a partir de la respiración basal de los suelos asociados a *P. ligularis*, *N. tenuis* y *A. ambigua*. Las hipótesis planteadas fueron que (1) las comunidades bacterianas del suelo asociado a las especies preferidas que aportan broza de mejor calidad, presentarán mayor diversidad y actividad microbiana global en relación a *A. ambigua*, y (2) la defoliación de las gramíneas perennes, afecta la estructura de las comunidades bacterianas y la actividad microbiana del suelo.

7.2 Materiales y Métodos

7.2.1 Muestreos

El estudio correspondiente al análisis de la estructura de las comunidades bacterianas se realizó en 2012 y 2013. Dentro de la clausura se marcaron 12 plantas al azar de cada especie. Durante 2012, en el estadio morfológico de desarrollo vegetativo (6-08), se realizó el muestreo inicial. Para esto, se tomaron muestras de suelo (0-10 cm) en sitios debajo del follaje de las plantas marcadas (12 plantas/especie x 3 especies= 36 muestras de suelo). Posteriormente, la mitad fue defoliada (n= 6) como se indicó en el Capítulo 3 y el resto permaneció sin defoliar. A fin de evaluar el efecto de la defoliación, se tomaron nuevas muestras de suelo en los mismos sitios del muestreo inicial, en dos fechas posteriores; 14-09 luego de la primera defoliación y 19-10 luego de la segunda defoliación (6 plantas/especie x 2 tratamientos de defoliación x 3 especies= 36 muestras de suelo/muestreo). En 2013 las fechas de muestreo fueron: 18-07 (inicial), 23-08 (efecto de la primera defoliación) y 18-10 (efecto de la segunda defoliación). Todas las muestras de suelo fueron tamizadas (2 mm) y se conservaron a -80°C hasta su procesamiento.

Los muestreos correspondientes al estudio de la actividad microbiana se realizaron durante tres años. En 2012 y 2013 se utilizaron las mismas plantas y momentos de muestreo mencionados anteriormente. En 2014, siguiendo el mismo diseño se marcó un conjunto diferente de plantas, y las muestras se tomaron el 18-07 (inicial), 21-08 (efecto de la primera defoliación) y 25-09 (efecto de la segunda defoliación). En el laboratorio, las muestras fueron tamizadas (2 mm) y conservadas a 4°C hasta su análisis.

7.2.2 Mediciones

Preparación de ADN y análisis de la estructura de las comunidades bacterianas por PCR-DGGE

Se extrajo DNA total de 0,25 g de suelo utilizando un kit comercial (PowerSoil DNA isolation kit de MO BIO) según las instrucciones provistas e incluyendo el paso de lisis alternativo (70°C, 10 min). El ADN extraído se cuantificó por fluorometría (Qubit dsDNA BR Assay Kit, Invitrogen) y se ajustó a 10 ng/μl. Se amplificaron las regiones V6-V8 de los genes 16S rRNA utilizando los cebadores universales para bacterias F984GC y R1378 (Heuer *et al.*, 1997), siguiendo las condiciones descritas por Montecchia *et al.* (2011). El tamaño de los productos de PCR se verificó por electroforesis en gel de agarosa 1 % en buffer TBE 1x revelados con SYBR Safe DNA

Gel Stain. Los fragmentos amplificados se separaron en geles de poliacrilamida 6% con gradiente desnaturizante de urea y formamida (45-65%). Los geles se corrieron a 1700 V/h en buffer TAE 1x a 60°C, utilizando el equipo DGGEK-2001-220 (CBS Scientific) y se revelaron con SYBR Green I (Molecular probes). Las imágenes de los geles se obtuvieron bajo iluminación UV con el sistema de documentación InGenius LHR2 (Syngene).

Actividad microbiana: Respiración basal del suelo

La respiración basal del suelo se determinó por el método estático de “respiración por titulación” desarrollado por Isermeyer (Alef y Nannipieri, 1995). Cada muestra de suelo (25 g), se incubó en frascos herméticos durante 7 días, en condiciones de oscuridad y a 25°C, junto con una trampa de NaOH. El NaOH captura el CO₂ y su remanente se determina por titulación con HCl. Para esto último, transcurrido el tiempo de incubación, se retiró cada vial del frasco y se le agregó inmediatamente 2 ml de BaCl₂ 0,5 M para precipitar el CO₂ absorbido como BaCO₃, y 3-4 gotas de fenolftaleína como indicador para la titulación del NaOH remanente con HCl 0,2 M.

La diferencia entre los tratamientos y los blancos (frascos sin suelo) permite calcular el CO₂ proveniente de la actividad respiratoria en la muestra de suelo a través de la siguiente fórmula (Isermeyer, 1952):

$$\text{mg CO}_2/\text{g de suelo: } \frac{[\text{blanco (ml)} - \text{muestra (ml)}] \times 4,4}{\text{Peso suelo seco (g)}}$$

- blanco (ml): ml de HCl empleados en titular el blanco
- muestra (ml): ml de HCl empleados en titular la muestra
- 4,4: factor de conversión entre el HCl y el CO₂.

Las determinaciones se realizaron por triplicado. Para la determinación del peso seco, los frascos conteniendo la muestra de suelo se secaron en estufa a 70°C durante 2 días.

7.2.3 Análisis estadísticos

PCR-DGGE

El análisis de los perfiles genéticos y la construcción de dendrogramas se efectuó con el programa GelCompar II v. 6.5 (Applied Maths NV) utilizando el coeficiente de correlación de Pearson y el método de agrupamiento jerárquico UPGMA (Rademaker *et al.*, 1999).

Respiración basal de suelo

Los datos fueron analizados utilizando el software INFostat (Di Rienzo *et al.*, 2013). Se analizaron los datos obtenidos de 4 plantas por especie y tratamientos de defoliación (n= 4) a fin de disminuir la gran variabilidad entre muestras encontrada en el análisis exploratorio de los datos. Las variables se analizaron con ANOVA multifactorial, tomándose como factores las especies, los tratamientos de defoliación, las fechas de muestreo y los años de estudio. Debido a que los datos corresponden a medidas repetidas, para el análisis se emplearon modelos lineales mixtos con un modelo de correlación residual autorregresiva de orden 1 y varianzas residuales heteroscedásticas. La comparación de medias se realizó mediante el test de Fisher (LSD) protegido, con un nivel de significación del 0,05.

7.3 Resultados

7.3.1 Estructura de las comunidades bacterianas

Para facilitar su visualización, se muestran los resultados de cuatro réplicas (n= 4) por especie del muestreo inicial, y tres réplicas por especie y tratamiento cuando se realizaron los cortes (n= 3). En el muestreo inicial durante 2012 el análisis de agrupamiento de los perfiles de PCR-DGGE, evidenció diferencias en la estructura de las comunidades bacterianas del suelo asociado a las tres especies (Fig. 7.1, a). A un nivel de similitud del 65 % pueden definirse dos grupos; el I conformado por *P. ligularis* y *N. tenuis*, y en el II se encuentra *A. ambigua* (Fig. 7.1, a). A su vez, los perfiles genéticos de las comunidades bacterianas del suelo de la especie no palatable, resultaron más homogéneos que los de las especies preferidas (Fig. 7.1, a). El análisis de agrupamiento de los perfiles genéticos luego de un mes del tratamiento de defoliación se muestra en la Fig. 7.1, b. A un nivel de similitud del 75 %, pueden definirse 4 grupos. En el caso de *A. ambigua*, las plantas defoliadas (excepto una) formaron parte del grupo I y las plantas control del grupo III (Fig. 7.1, b). En los casos de *P. ligularis* y *N. tenuis* no se observó un agrupamiento claro entre tratamientos, sin embargo, esta última especie, conforma grupos separados del resto (grupos II y IV;

Fig. 7.1, b). Al momento del muestreo luego de dos defoliaciones, no se observaron agrupamientos entre especies o tratamientos; los perfiles genéticos de las comunidades bacterianas del suelo asociados a las distintas especies, defoliadas o no, fueron homogéneos, con una similitud mayor al 87 % (Fig. 7.1, c)

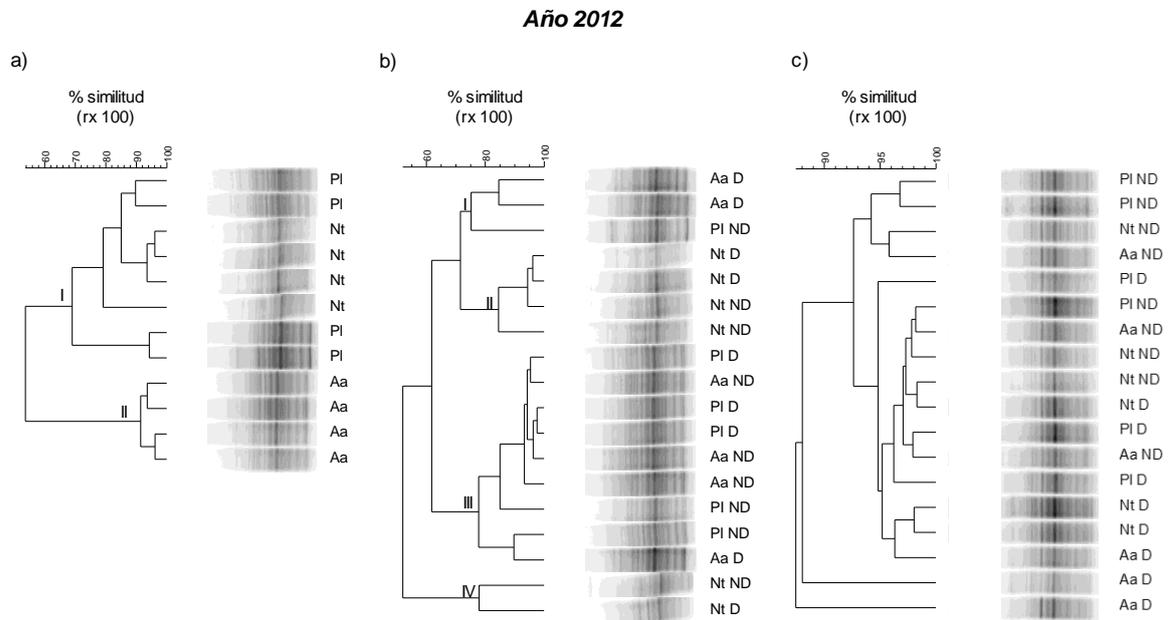


Figura 7.1. Estudio 2012. Dendrogramas de los perfiles de PCR-DGGE de las comunidades bacterianas presentes en suelos debajo del follaje de *Poa ligularis* (PI), *Nassella tenuis* (Nt) y *Amelichloa ambigua* (Aa) en el muestreo inicial (a), luego de una (b) y dos (c) defoliaciones, D: plantas defoliadas, ND: plantas no defoliadas (control).

Durante 2013, en el muestreo inicial, a un nivel de similitud del 70 % pueden definirse dos grupos; el I conformado por *P. ligularis* y *A. ambigua*, y en el II se encuentra *N. tenuis* (Fig. 7.2, a). Los perfiles genéticos de las comunidades bacterianas encontradas debajo del follaje de la especie no palatable fueron algo más heterogéneos que los de las especies preferidas (Fig. 7.2, a). Luego de un mes del tratamiento de defoliación, a un nivel de similitud del 85 % pueden definirse dos grupos (Fig. 7.2, b). Las plantas no defoliadas de *A. ambigua* se separan del resto, agrupándose en el grupo II, que incluye también a una de las plantas defoliadas (Fig. 7.2, b). En las demás especies, no se observó efecto de tratamiento (Fig. 7.2, b). En la última fecha de muestreo, luego de dos defoliaciones, pueden definirse dos grupos principales en el análisis de agrupamiento a un nivel de similitud del 75 %; el grupo I conformado por las muestras pertenecientes a *N. tenuis* defoliadas o no, y el grupo II por el resto de las especies y tratamientos (Fig. 7.2, c).

Año 2013

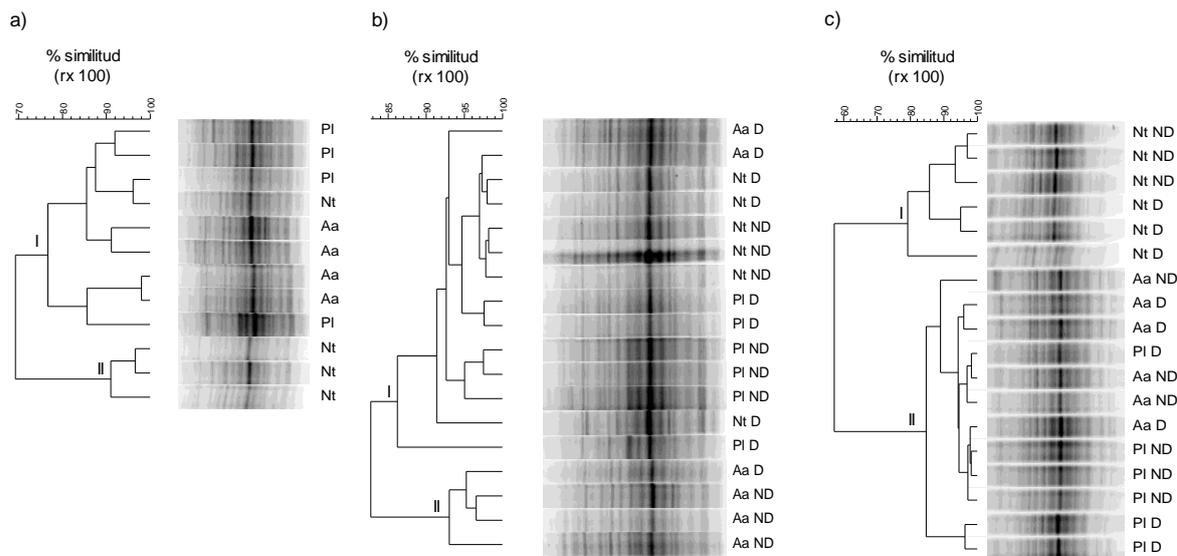


Figura 7.2 Estudio 2013. Dendrogramas de los perfiles de PCR-DGGE de las comunidades bacterianas presentes en suelos debajo del follaje de *Poa ligularis* (PI), *Nassella tenuis* (Nt) y *Amelichloa ambigua* (Aa) en el muestreo inicial (a), luego de una (b) y dos (c) defoliaciones, D: plantas defoliadas, ND: plantas no defoliadas (control).

7.3.2 Respiración basal del suelo como estimador de la actividad microbiana

Se detectó interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre las especies y los años; entre los tratamientos de defoliación y los años; y entre las fechas de muestreo y los años de estudio. Tanto en 2012 como en 2013, el análisis de los datos detectó interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre las especies y los tratamientos de defoliación.

En 2012, *A. ambigua* no presentó diferencias significativas ($p > 0,05$) entre fechas de muestreo ni entre tratamientos de defoliación (Tabla 7.1). En cambio, debajo de las especies palatables los mayores valores de actividad microbiana se detectaron en octubre ($p \leq 0,05$), aunque no se diferenciaron del muestreo de agosto (Tabla 7.1). Sólo debajo de *N. tenuis* se registraron diferencias entre tratamientos ($p \leq 0,05$), las muestras extraídas debajo de las plantas defoliadas presentaron valores superiores ($p \leq 0,05$) al control (Tabla 7.1). Dentro de los tratamientos, solo se registraron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre especies en las plantas control, donde el suelo proveniente de la rizósfera de *P. ligularis* presentó mayor actividad ($0,89 \pm 0,06$ mg de CO_2/g de suelo) respecto de las demás especies (*N. tenuis* = $0,45 \pm 0,06$ mg de CO_2/g de suelo y *A. ambigua* = $0,60 \pm 0,05$ mg de CO_2/g de suelo).

En 2013, debajo de las especies palatables, la actividad microbiana fue mayor ($p \leq 0,05$) en el muestreo de octubre y las plantas control presentaron mayor respiración

basal ($p \leq 0,05$) que las plantas defoliadas (Tabla 7.1). En caso de la especie no palatable, no hubo efecto ($p > 0,05$) de los tratamientos de defoliación y la actividad fue mayor en agosto y octubre ($p \leq 0,05$; Tabla 7.1). Las plantas defoliadas de *P. ligularis* y *A. ambigua* presentaron mayor actividad ($0,44 \pm 0,04$ y $0,47 \pm 0,05$ mg de CO_2/g de suelo, respectivamente) respecto de *N. tenuis* ($0,35 \pm 0,03$ mg de CO_2/g de suelo). Sin embargo, en el caso de las plantas control, la especie no palatable registró valores más bajos ($0,39 \pm 0,04$ mg de CO_2/g de suelo; $p \leq 0,05$) en relación a aquellos en las especies preferidas (*P. ligularis* = $0,59 \pm 0,05$ mg de CO_2/g de suelo y *N. tenuis* = $0,52 \pm 0,04$ mg de CO_2/g de suelo).

En 2014, se detectaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre tratamientos y fechas de muestreo. Las plantas control de las tres especies presentaron mayor ($p \leq 0,05$) respiración basal en relación ($0,61 \pm 0,04$ CO_2/g de suelo) a las plantas defoliadas ($0,51 \pm 0,03$ mg de CO_2/g de suelo). Los mayores valores de actividad microbiana se registraron en el mes de agosto ($0,60 \pm 0,03$ mg de CO_2/g de suelo), aunque no se diferenciaron del muestreo realizado a fines de septiembre ($0,58 \pm 0,06$ mg de CO_2/g de suelo).

Tabla 7.1. Respiración basal de suelo (mg de CO_2/g de suelo) durante 2012 y 2013 debajo del follaje de *Poa ligularis* (PI), *Nassella tenuis* (Nt) y *Amelichloa ambigua* (Aa), en el muestreo inicial (1,) luego del primer (2) y segundo corte (3). D: plantas defoliadas, ND: plantas no defoliadas (control). Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar ($n = 4$). En cada año, dentro de cada especie, letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre fechas y tratamientos respectivamente.

		Fechas de muestreo 2012			Fechas de muestreo 2013		
		(1) 6-08	(2) 14-09	(3) 19-10	(1) 18-07	(2) 23-08	(3) 18-10
PI	ND	0,91 \pm 0,08 ab,a	0,7 \pm 0,07 a,a	1,06 \pm 0,09 b,a	0,45 \pm 0,02 a,b	0,52 \pm 0,03 b,b	0,78 \pm 0,04 c,b
Nt		0,52 \pm 0,16 ab,a	0,39 \pm 0,05 a,a	0,44 \pm 0,06 b,a	0,38 \pm 0,02 a,b	0,55 \pm 0,06 b,b	0,64 \pm 0,07 c,b
Aa		0,51 \pm 0,1 a,a	0,56 \pm 0,03 a,a	0,74 \pm 0,07 a,a	0,24 \pm 0,01 a,a	0,38 \pm 0,02 b,a	0,55 \pm 0,06 b,a
PI	D	0,67 \pm 0,14 ab,a	0,68 \pm 0,06 a,a	0,91 \pm 0,18 b,a	0,3 \pm 0,02 a,a	0,43 \pm 0,04 b,a	0,6 \pm 0,06 c,a
Nt		0,65 \pm 0,12 ab,b	0,5 \pm 0,05 a,b	0,74 \pm 0,07 b,b	0,28 \pm 0,04 a,a	0,32 \pm 0,05 b,a	0,47 \pm 0,03 c,a
Aa		0,85 \pm 0,05 a,a	0,7 \pm 0,08 a,a	0,86 \pm 0,24 a,a	0,3 \pm 0,04 a,a	0,51 \pm 0,06 b,a	0,59 \pm 0,09 b,a

7.4 Discusión

La composición química de la broza tiene una gran influencia en la interacción biológica entre las comunidades bacterianas y las comunidades de hongos durante la

descomposición, y los cambios resultantes de esta interacción pueden alterar el proceso de descomposición de la hojarasca (Hossain *et al.*, 2010).

En este trabajo, la relación existente entre las comunidades bacterianas del suelo asociadas a las gramíneas perennes, fue variando a lo largo de la estación de crecimiento de las especies vegetales, los tratamientos de defoliación y los años de muestreo. Durante 2012, en el muestreo inicial, la estructura de las comunidades bacterianas dominantes asociadas a *P. ligularis* y *N. tenuis* mostró ser más heterogénea que la de *A. ambigua*; el aporte de broza aérea de mayor labilidad (altas concentraciones de N y P, baja concentración de lignina y bajas relaciones C:N; Moretto y Distel, 2003) de las especies preferidas podría contribuir a determinar un mayor número de nichos ecológicos diferentes en el suelo, debido a una mejora nutricional para la biota. Carrera *et al.* (2008) informaron que en el Monte Patagónico la defoliación de las plantas pudo haber incrementado la concentración de compuestos secundarios en la broza, conduciendo a una lenta liberación de N al suelo durante su descomposición. De ser así en nuestro estudio, esto podría haber contribuido a modular la estructura de las comunidades bacterianas del suelo, en particular las de *A. ambigua*.

La disponibilidad de carbono es uno de los principales factores que determinan la proliferación bacteriana en el suelo (Wardle, 1992), y que afecta los patrones genéticos de DGGE (Yang y Crowley, 2000). La mortalidad y descomposición de las raíces en especies herbáceas puede comenzar dentro de las 24 a 48 horas luego de la defoliación (Whitehead, 1983; Richards y Caldwell, 1985). Esto podría explicar el mayor efecto de la defoliación observado en las plantas pertenecientes a *A. ambigua*. Sus raíces poseen rápida descomposición (ver Capítulo 6) y podría ser la causa de los cambios inducidos en los perfiles genéticos de las comunidades bacterianas. Sin embargo, este efecto no que se mantuvo luego de la segunda defoliación aplicada en septiembre.

En 2013, la concentración de las lluvias durante los meses de otoño y primavera pudo haber contribuido a determinar que algunos efectos registrados en 2012 no se detectaron nuevamente. Las variaciones interanuales de las precipitaciones pueden aumentar la producción de broza, principalmente de *P. ligularis* y *A. ambigua*, y facilitar la lixiviación y ruptura de la misma (ver Capítulo 5; Swift *et al.*, 1979), así como incrementar la biomasa y actividad de los microorganismos (Orchard y Cook, 1983; Berg, 1986; Clein y Schimel, 1994). En general, la identidad de la especie vegetal parece tener una mayor influencia sobre la estructura de las comunidades bacterianas del suelo que los tratamientos de defoliación.

Durante la descomposición, una parte del carbono es devuelto a la atmósfera en forma de CO₂ (proceso de respiración), mientras que otra se transforma en otros compuestos más sencillos o se almacena en las propias estructuras microbianas (Pérez-Batallón *et al.*, 1998). De esta manera, la respiración heterotrófica contribuye a la descomposición, junto a otros procesos como la humificación y la fragmentación del detritus (Carmona *et al.*, 2006).

El pastoreo puede afectar negativamente el porcentaje de cobertura de las gramíneas perennes (Prieto *et al.*, 2011); este cambio se asocia a una disminución del carbono orgánico que influye en la descomposición potencial de la materia orgánica y en el ciclo de nutrientes del suelo (Prieto *et al.*, 2011). En nuestro estudio, los efectos de las defoliaciones sobre la actividad microbiana del suelo variaron en relación a las especies consideradas y los años de estudio. Tal como fue mencionado inicialmente, se ha encontrado que bajas frecuencias de cortes no tuvieron efecto significativo sobre esta variable en pastizales del centro de Estados Unidos (Zhou *et al.*, 2006). Por otro lado, estudios realizados por Gavrikova *et al.* (2010) demostraron una disminución significativa de la respiración basal de los microorganismos del suelo asociados a plantas defoliadas. Las especies palatables, que muestran una alta capacidad competitiva (Saint Pierre *et al.*, 2004a; Saint Pierre y Busso, 2006) podrían producir cambios en los patrones de exudación radical, como aumentos en la liberación de ácidos orgánicos desde las raíces de las plantas defoliadas (Dyer y Bokhari, 1976) e inducir una mayor eficiencia en el uso del carbono por parte de los microorganismos del suelo (Mawdsley y Bardgett, 1997; Guitian y Bardgett, 2000). Esto podría explicar en parte, que los mayores efectos de la defoliación sobre la actividad microbiana global, fueron hallados en los suelos asociados a *P. ligularis* y *N. tenuis*.

El mayor tamaño registrado en las plantas pertenecientes a *P. ligularis* (ver Capítulo 4) y la mayor producción total de broza aérea (ver Capítulo 5) de buena calidad (Moretto y Distel, 2003), contribuyen a explicar la mayor actividad registrada debajo de esta especie en relación a las demás, en los años 2012 y 2013. Sin embargo, estas diferencias no fueron consistentes en todas las fechas de muestreo y años de estudio. Fontaine *et al.* (2003) sugieren que los cambios en la mineralización de la materia orgánica, dependen principalmente de cambios en la actividad y composición microbiana resultante de la entrada de materia orgánica fresca. Es probable que los microorganismos degraden tanto la materia orgánica que ingresa como la que se encuentra en el suelo (Fontaine *et al.*, 2003), produciendo de esta forma un aumento en la mineralización de la misma. Sin embargo, la exudación regular y lenta de compuestos orgánicos por las raíces de las plantas, podría ser un medio por el cual se estimula la mineralización, mientras que al mismo tiempo se

minimiza el costo de energía, y la actividad microbiana se mantiene sin cambios o incluso disminuye (Fontaine *et al.*, 2003).

Los factores ambientales también influyen en la actividad de los microorganismos del suelo. En la mayoría de los ambientes áridos y semiáridos la precipitación y la temperatura son factores importantes en controlar los procesos de descomposición (Lambers *et al.*, 1998). Aumentos en la humedad del suelo, pueden determinar un mayor crecimiento de las plantas, e incrementos en la disponibilidad de sustratos carbonados para la respiración microbiana (Saiz *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2007). Esto puede contribuir a explicar que en general durante los tres años de estudio, los mayores valores de actividad microbiana global se incrementaron hacia el segundo y el tercer muestreo para las tres especies, coincidente con eventos de precipitaciones y aumentos en la temperatura edáfica (ver Capítulo 2).

CAPÍTULO 8

MINERALIZACIÓN DE NITRÓGENO

8.1 Introducción

La materia orgánica (MO) le confiere al suelo características muy particulares por el efecto que ejerce sobre sus propiedades químicas y físicas. Constituye una importante fuente de nutrientes para las plantas, proporcionando casi todo el nitrógeno y una gran parte del fósforo y del azufre. El ciclo global del N describe las principales fuentes y formas de N, como así también los procesos en cuales el N es transformado en los agroecosistemas (St. Luce *et al.*, 2011). Este reviste gran complejidad por la gran cantidad de interacciones entre los factores del suelo y planta. Las mayores transformaciones en este ciclo biogeoquímico, son la mineralización, inmovilización y las pérdidas por las diferentes vías. Por su parte, la mineralización convierte fracciones de N orgánico a formas inorgánicas disponibles para las plantas (Binkley y Hart, 1989; Celaya-Michel y Castellanos-Villegas, 2011). El N inorgánico está constituido por las formas solubles como nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-) y amonio (NH_4^+) intercambiable y fijado en las arcillas (Rutherford *et al.*, 2007). La cantidad total de N liberada de la materia orgánica es llamada mineralización gruesa o potencial, mientras que la cantidad resultante después de eliminar la inmovilización microbiana se denomina mineralización neta (Binkley y Vitousek, 1989) y se expresa como la tasa de cambio en un periodo de tiempo. La mineralización neta se ha utilizado para estimar el N disponible para la planta (Hart *et al.*, 1994; Neill *et al.*, 1999).

En los ecosistemas áridos, la disponibilidad de N para las especies vegetales y los microorganismos es dinámica, y variable anualmente en relación con la disponibilidad de agua. La mineralización y la inmovilización son procesos sensibles a la humedad, sin embargo, en algunos ecosistemas áridos la mineralización de N disminuye a medida que aumenta la disponibilidad de agua (Reichmann *et al.*, 2013; Yahdjian *et al.*, 2006). Estudios realizados por Yahdjian y Sala (2008), han demostrado que la ocurrencia de precipitaciones no afectó los contenidos de N inorgánico. Esto fue atribuido a que los microorganismos responsables de los procesos de nitrificación y amonificación, poseen diferente sensibilidad a la disponibilidad de agua.

La calidad de la broza ejerce un control importante en la dinámica de N en el suelo (Hobbie, 1992). Parton *et al.* (2007) demostraron que el N liberado inicialmente desde la broza, está mayormente asociado a la concentración inicial de este nutriente en el tejido, más allá del clima, las condiciones edáficas, o la biota del suelo. La producción de broza de buena calidad (baja relación C:N y lignina) conduce a una

rápida descomposición y mineralización neta de N; mientras que cuando la broza posee una alta relación C:N y lignina da lugar a procesos de descomposición más lentos e inmovilización de N. (Vitousek, 1982; Pastor *et al.*, 1984; Aber y Melillo, 1991; Aerts y Chapin, 2000). Por ejemplo, Moretto y Distel (2002) demostraron que la mineralización neta potencial de N fue mayor en el suelo debajo de *P. ligularis* que el suelo de *Stipa tenuissima* especie no palatable y que produce broza de menor calidad. Disturbios que afecten a las características de la broza y del suelo podrían influir en las comunidades de microorganismos, en el ciclo de nutrientes, y afectar los procesos biológicos de las plantas (Wardle, 2002). En pastizales áridos y semiáridos existen especies preferidas por el ganado de etapas serales tardías que producen broza de buena calidad dando lugar a altas tasas de mineralización neta de N (Wedin, 1995).

El pastoreo afecta el flujo de nutrientes de diferentes formas (pisoteo, consumo, la deposición de excretas, redistribución; Bauer *et al.*, 1987) modificando la calidad de la broza y, en consecuencia, el aporte de N hacia el ecosistema (Sirotnak y Huntly, 2000). El pastoreo selectivo reduce la cobertura vegetal de las especies preferidas, e induce su sustitución por plantas de hojas de vida más larga y bajas tasas de crecimiento y reposición de tejidos (Distel y Bóo, 1996). Se ha demostrado que los contenidos de N inorgánico del suelo fueron altos en áreas excluidas al ganado doméstico (Lavado *et al.*, 1995). Por su parte, Sahariff *et al.* (1994) reportaron que las tasas de descomposición y la mineralización de N fueron mayores bajo pastoreo moderado que en sitios con altas intensidades o sin carga animal. Esto fue atribuido a una mayor retención de N en la materia orgánica (humus y raíces muertas), que lo hace al N menos susceptible a pérdidas por lixiviación y erosión.

Los objetivos de este capítulo fueron evaluar los efectos de diferentes especies vegetales y de la defoliación sobre la mineralización neta de N que ocurre debajo del follaje, de *P. ligularis*, *N. tenuis* y *A. ambigua*. Las hipótesis de este trabajo fueron: (1) El contenido de N disponible y la mineralización neta de N son mayores en el suelo obtenido debajo del follaje de las especies palatables que debajo de aquel de la especie no palatable y (2) los contenidos de N disponible del suelo son mayores debajo de las plantas defoliadas en los distintos estadios fenológicos de las tres especies.

8.2 Materiales y Métodos

8.2.1 Muestras y Mediciones

Mineralización neta de nitrógeno in situ

Dentro de la clausura, se marcaron 10 plantas por especie y se determinó la mineralización neta de N *in situ* durante la estación de crecimiento, utilizando la técnica de incubación de tubos (Raison *et al.*, 1987). Durante 2013, en el estadio vegetativo (18-07), se realizó un muestreo inicial de suelo (0-15 cm) debajo del follaje de las plantas marcadas; luego, la mitad de las mismas fueron defoliadas como se indicó en el Capítulo 3. Posteriormente, nuevas muestras de suelo fueron tomadas y colocadas a incubar por un mes en tubos de PVC (15 cm longitud, 3,5 cm diámetro; Fig. 8.1) cubiertos con una malla de 2 mm de diámetro en ambos extremos (fueron retirados el 23-08). El 17-09 (momento de la diferenciación de ápices desde vegetativos a estado reproductivo; ver Capítulo 3) las plantas fueron nuevamente defoliadas y se repitió el muestreo de suelo e incubación en tubos para evaluar el efecto del segundo corte (fueron retirados el 18-10).



Figura 8.1 Vista superior de los tubos PVC (15 cm longitud, 3,5 cm diámetro), puestos a incubar *in situ*.

Este estudio se repitió durante 2014 en un conjunto diferente de plantas. La fecha del muestreo inicial y primer corte fue el 18-07 mientras que la fecha del segundo corte fue el 29-08. Los tubos se retiraron el 21-08 y el 25-09 para medir los efectos de la primera y segunda defoliación, respectivamente.

Las muestras de suelo obtenidas en cada muestreo, fueron inmediatamente colocadas en contenedores con hielo luego de su extracción y transportadas al

laboratorio. Posteriormente, fueron tamizadas (2 mm) y conservadas a 4 °C hasta su análisis.

Mineralización neta potencial de nitrógeno

En julio de 2013, de las mismas plantas utilizadas a campo para determinar la mineralización de N *in situ* se tomaron muestras adicionales de suelo (0-15 cm) en 8 plantas de cada especie y en 8 sitios sin vegetación. Se procesaron las muestras de suelo y se realizó una incubación aeróbica de largo plazo de acuerdo al protocolo de Honeycutt *et al.* (2005) y Griffin *et al.* (2008). El procedimiento consistió en pesar 250 g de suelo seco al aire que fueron colocados en frascos de vidrio de 1 L. Se utilizó un tratamiento control para realizar el seguimiento de la humedad. Se estimó la porosidad total (PT; Klute, 1986) de los suelos muestreados y secos al aire y por porcentaje en masa de suelo se determinó el 60% de la porosidad total que sería un valor aproximado a la capacidad de campo. Se ajustó la humedad gravimétrica actual de los suelos en los frascos a 60% de la porosidad total y se incubó durante 7 ciclos (t) de humedecimiento y secado con una temperatura de 25 °C (Fig. 8.2).



Figura 8.2. Frascos conteniendo 250 g de suelo para determinación de mineralización neta potencial de N por incubación aeróbica.

Diariamente, se realizó el pesaje de las muestras hasta el momento en que la humedad gravimétrica llegaba al 30% de la PT, estimada por diferencias de masa. Luego, se rehidrataban las muestras distribuyendo el riego en forma homogénea hasta el 60% calculado por masa de suelo, se dejaba estabilizar unas horas, y se procedía a muestrear con un sacabocados de 1 cm de diámetro para realizar los análisis.

Las determinaciones de N inorgánico ($\text{N-NH}_4^+ + \text{N-NO}_3^-$) se realizaron mediante micro destilación por arrastre de vapor (Mulvaney, 1996). La mineralización neta de N

in situ se calculó restando las concentraciones finales de N-NH_4^+ y N-NO_3^- a la obtenida inicialmente en el muestreo de julio. Por su parte, la mineralización neta potencial de N se calculó restando las concentraciones finales de N-NH_4^+ y N-NO_3^- en cada ciclo, a la obtenida en el análisis del suelo seco al aire antes del comienzo de la preincubación.

8.2.2 Análisis estadísticos

Los datos fueron analizados utilizando el software INFOSTAT (Di Rienzo *et al.*, 2013).

Previo al análisis las variables fueron transformados con $\sqrt{(x+0,5)}$ a fin de cumplir con los supuestos de normalidad y homocedasticidad (Sokal y Rohlf, 1984).

En el estudio correspondiente a la mineralización neta de N *in situ*, los datos correspondientes al análisis inicial de las concentraciones de N inorgánico en cada año de estudio, se analizaron mediante ANOVA simple, tomándose como factores las especies. Posteriormente, las variables se analizaron con ANOVA multifactorial utilizando como factores fijos las especies, los tratamientos de defoliación, las fechas de muestreo y los años. Debido a que los datos corresponden a medidas repetidas, se emplearon modelos lineales mixtos de correlación residual auto regresiva de orden 1 y varianzas residuales homocedásticas.

En el estudio correspondiente a mineralización neta potencial de N, las variables se analizaron con ANOVA multifactorial tomándose como factores las especies/sitios sin vegetación, y los ciclos de incubación. Debido a que los datos corresponden a medidas repetidas, se emplearon modelos lineales mixtos de correlación residual auto regresiva de orden 1, varianzas residuales homocedásticas y efecto aleatorio de planta/sitio sin vegetación. La comparación de medias se realizó mediante el test de Fisher (LSD) protegido, con un nivel de significación del 0,05.

8.3 Resultados

8.3.1 Mineralización neta de nitrógeno *in situ*

Hubo interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre las especies, tratamientos de defoliación y años de estudio.

Los contenidos iniciales de N inorgánico en el estudio 2013, fueron mayores en los suelos debajo del follaje de las especies palatables (*P. ligularis*= $53,55 \pm 6,6 \text{ mg kg}^{-1}$, *N. tenuis*= $54,18 \pm 3,87 \text{ mg kg}^{-1}$) con respecto a *A. ambigua* ($35,36 \pm 3,82 \text{ mg kg}^{-1}$). El análisis detectó interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre las especies y las fechas de muestreo. No se obtuvo efecto ($p > 0,05$) de los tratamientos de defoliación, y el suelo perteneciente a *A. ambigua* presentó mayores ($p \leq 0,05$) valores de N inorgánico

respecto de las especies palatables (Fig. 8.3) en las dos incubaciones realizadas. El suelo tomado debajo del follaje de *P. ligularis* mostró ($p \leq 0,05$) una mayor mineralización en la segunda que en la primera incubación a campo (Fig. 8.3), sin embargo, en las otras dos especies no se detectaron diferencias ($p > 0,05$) entre muestreos (Fig. 8.3).

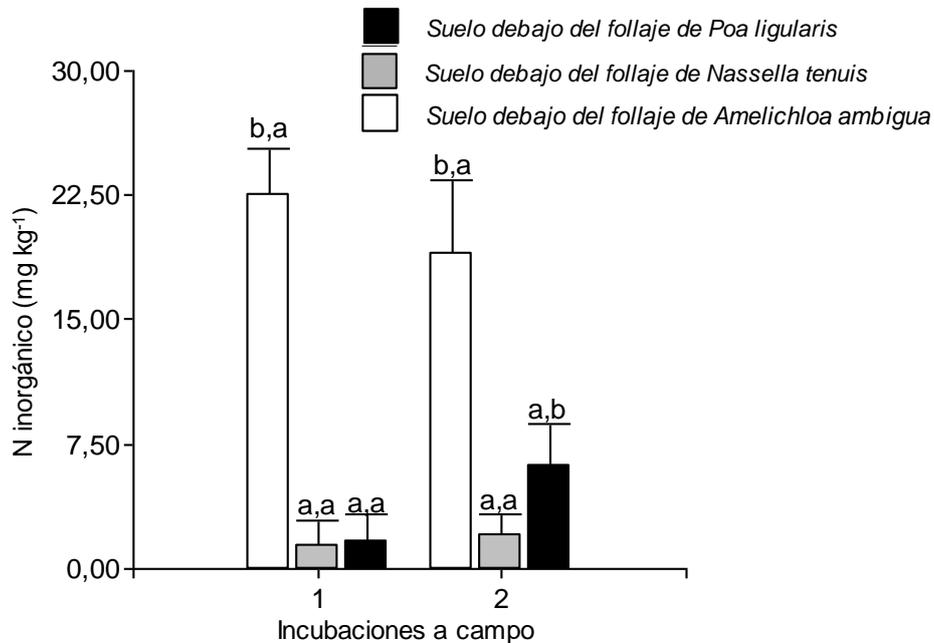


Figura 8.3. Estudio *in situ* 2013. N inorgánico (mg kg^{-1}) luego de la primera (1; 18 de julio- 23 de agosto) y de la segunda (2; 17 de septiembre- 18 de octubre) incubación debajo de las especies en estudio. Letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre especies y muestreos respectivamente. Cada dato es el promedio ± 1 error estándar ($n = 10$).

Los contenidos iniciales de N inorgánico en el estudio 2014, fueron mayores en los suelos debajo de *P. ligularis* ($96,85 \pm 5,31 \text{ mg kg}^{-1}$) respecto de *A. ambigua* ($73,49 \pm 4,8 \text{ mg kg}^{-1}$) mientras que los suelos de *N. tenuis* presentaron valores intermedios a ambas especies ($83,43 \pm 5,51 \text{ mg kg}^{-1}$). El análisis detectó interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre las especies y los tratamientos de defoliación. Dentro de cada especie, no se detectaron diferencias significativas ($p > 0,05$) en el N mineralizado entre fechas de muestreo, ni entre tratamientos de defoliación. Los valores promedio ± 1 error estándar fueron para *P. ligularis* = $2,64 \pm 1,61 \text{ mg kg}^{-1}$, para *N. tenuis* = $8,89 \pm 2,89 \text{ mg kg}^{-1}$ y para *A. ambigua* = $8,73 \pm 2,72 \text{ mg kg}^{-1}$. En promedio sobre las especies, las plantas defoliadas, presentaron mayor ($p \leq 0,05$) mineralización en la primera incubación ($11,51 \pm 3,73 \text{ mg kg}^{-1}$) que en la segunda ($4,61 \pm 2,65 \text{ mg kg}^{-1}$). Dentro de

las plantas control, no se registraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre fechas ni entre especies y presentaron en promedio ± 1 error estándar $5,44 \pm 1,74 \text{ mg kg}^{-1}$.

8.3.2 Mineralización neta potencial de nitrógeno

Cada ciclo de incubación duró en promedio 40 días. Hubo interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre los diferentes suelos obtenidos debajo de cada una de las especies/sitios sin vegetación, y los períodos de incubación.

Durante los tres primeros muestreos, no se registraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre las especies/sitios sin vegetación (Tabla 8.1). En los ciclos restantes de incubación, los suelos pertenecientes a los sitios desnudos presentaron los valores más bajos ($p \leq 0,05$) de mineralización de N, respecto de los suelos de las gramíneas perennes, aunque no se diferenciaron ($p > 0,05$) de *A. ambigua* y *P. ligularis* en $t = 4$ y $t = 6$ respectivamente (Tabla 8.1). Posteriormente, con la excepción en el quinto ciclo de incubación, donde *A. ambigua* tuvo una mayor mineralización neta potencial de N que *P. ligularis*, no hubo diferencias significativas ($p > 0,05$) en el resto de los ciclos de incubación (Tabla 8.1).

En los suelos debajo de las tres especies, y en los sitios sin vegetación, hubo en general un incremento ($p \leq 0,05$) progresivo en el N inorgánico mineralizado desde el primero ($t = 1$) hasta el último ($t = 7$) ciclo de incubación (Tabla 8.1). Los incrementos en la mineralización neta potencial de N desde el primero hasta el séptimo ciclo de incubación fueron específicos para cada especie.

Tabla 8.1. Nitrógeno inorgánico (mg kg^{-1}) mineralizado en el suelo debajo del follaje de las especies en estudio y sitios sin vegetación durante los ciclos (7) de incubación (t). Letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre especies/sitios sin vegetación dentro de cada ciclo y entre ciclos dentro de cada especie respectivamente. Cada punto es el promedio ± 1 error estándar ($n = 8$).

t	Suelo debajo del follaje (0-15 cm)			
	<i>Poa ligularis</i>	<i>Nassella tenuis</i>	<i>Amelichloa ambigua</i>	Sitios sin vegetación
1	14 \pm 4,79 a,a	16,2 \pm 3,9 a,a	20,22 \pm 3,85 a,a	7,71 \pm 3,6 a,a
2	29,9 \pm 5,49 a,ab	49,19 \pm 6,2 a,b	47,83 \pm 8,27 a,ab	45,9 \pm 7,92 a,b
3	40,05 \pm 9,68 a,b	57,1 \pm 11,76 a,b	38,77 \pm 13,13 a,bc	21,64 \pm 4,88 a,b
4	70,72 \pm 7,93 b,cd	58,93 \pm 9,03 b,b	51,37 \pm 7,93 ab,c	36,64 \pm 8,4 a,bc
5	52,19 \pm 12,23 b,bc	59,01 \pm 5,46 bc,b	85,85 \pm 11,55 c,d	22,65 \pm 6,37 a,c
6	74,73 \pm 12,43 ab,cd	89,15 \pm 10,13 b,bc	103,43 \pm 10,27 b,d	47,18 \pm 8,25 a,c
7	98,77 \pm 18,71 b,d	113,63 \pm 9,66 b,c	117,17 \pm 17,18 b,d	53,81 \pm 5,14 a,c

8.4 Discusión

En el presente estudio, durante el año 2013, no se detectaron efectos de los tratamientos de defoliación sobre la mineralización de N a campo. Estos resultados son opuestos a los hallados por otros trabajos, donde se registró una mayor (McNaughton *et al.*, 1988; Chaneton *et al.*, 1996; Hamilton y Frank, 2001) o menor (Biondini *et al.*, 1998) mineralización en sitios pastoreados. Esta diferencia puede deberse, el menos en parte, a las distintas condiciones climáticas, las características del pastoreo (intensidad, frecuencia, momento, etc.), la historia de uso del suelo en actividades agropecuarias, y al sesgo ocasionado por los cortes manuales en nuestra investigación para simular los efectos de la defoliación (Heady y Child, 1994). La presencia de animales involucra otros aspectos, como ser el pisoteo que puede dañar las especies vegetales, y la incorporación de excrementos y orina, que modifican la disponibilidad de nutrientes (Sirotnak y Huntly, 2000). Sin embargo, Andrioli *et al.*, (2010) comparando sitios sometidos a altas presiones de pastoreo y áreas excluidas al ganado, demostraron que los contenidos y la mineralización potencial de N del suelo asociado a plantas de *N. tenuis* no se vieron afectados. Por su parte, Ithurrart (2015) trabajando con las mismas especies y en el mismo sitio de estudio que el utilizado en el presente trabajo, no encontraron efecto del fuego y la defoliación sobre la disponibilidad de este nutriente en el suelo. Pueden haber ocurrido distintos procesos de ganancias y pérdidas debidos a la incidencia de la temperatura y la humedad (Binkley y Hart, 1989) que hayan enmascarado los efectos de las defoliaciones aplicadas. Durante 2014, tampoco se registraron diferencias dentro de las especies en relación a los tratamientos de defoliación, aunque en promedio sobre las especies el suelo asociado a las plantas defoliadas mostró mayor mineralización durante la primera incubación (julio-agosto). Otros estudios han mostrado, que la remoción del tejido fotosintético puede determinar diferencias en las tasas de mortandad y descomposición de las raíces (Whitehead, 1983; Richards y Caldwell, 1985; Becker *et al.*, 1997a) modificando la magnitud del N orgánico disponible para mineralizar. Por otro lado, debido a que durante la segunda incubación (agosto-septiembre) se registraron altas precipitaciones (ver Capítulo 2), parte del N mineralizado puede haberse perdido por lixiviación (Philippot y Germon, 2005).

Respecto del efecto de las especies vegetales sobre la disponibilidad y mineralización de N, tanto en 2013 como en 2014 el contenido de N inorgánico inicial fue mayor en el suelo asociado a *P. ligularis*. Especies serales tardías que producen broza aérea de buena calidad (Moretto y Distel, 2003), dan lugar a altas tasas de descomposición y altos valores de N disponible (Aber y Melillo, 1991). Por otra parte,

al analizar la mineralización de N *in situ* durante 2013, *A. ambigua* registró los mayores valores en las dos incubaciones realizadas. Estos resultados coinciden parcialmente con los hallados por Andrioli y Distel (2008). Estos autores no encontraron diferencias en los contenidos de N inorgánico en los suelos asociados a las mismas especies; la única excepción ocurrió en noviembre cuando los valores más bajos se registraron en el suelo debajo de *P. ligularis* en relación a las especies no palatables. Sin embargo, trabajos realizados en el mismo sitio de estudio con tratamientos de quema y defoliación (Ithurrart, 2015) demostraron mayores contenidos de N disponible en el suelo asociado a *A. ambigua* en comparación a aquel obtenido debajo de *P. ligularis* y *N. tenuis* durante los muestreos de otoño (Ithurrart, 2015). Esto se podría deber, a que la broza subterránea de esta especie presentó (1) mayores contenidos de N, (2) mayor descomposición que aquella de las especies palatables (ver Capítulo 6), y (3) un ciclo biológico retrasado en relación a *P. ligularis* y *N. tenuis* (Ithurrart, 2015). En 2014, no se registraron diferencias entre especies. Estas discrepancias entre los dos años de estudio se podrían deber a que el total de precipitaciones fueron inferiores en 2013 (422 mm) respecto de 2014 (597 mm), y concentradas en los meses de agosto, septiembre y octubre (ver Capítulo 2) en este último año. Como resultado, es probable que gran parte del N mineralizado pueda haberse perdido por lixiviación (Philippot y Germon, 2005).

Respecto del estudio de mineralización neta potencial de N, los suelos pertenecientes a los sitios desnudos presentaron los valores más bajos de mineralización con respecto a aquellos obtenidos debajo de las gramíneas perennes durante los siete ciclos de incubación. En las zonas áridas y semiáridas, la heterogeneidad de la humedad y la temperatura debajo del follaje de las especies vegetales en comparación con los espacios abiertos, permite a los microorganismos asociados a las plantas tener más actividad a lo largo del año (Whitford, 2002), dando lugar a una mayor descomposición y mineralización de N (Austin *et al.*, 2004). Respecto del suelo asociado a las especies de gramíneas perennes, si bien *A. ambigua* presentó mayores valores de N inorgánico a partir de $t=5$, no se diferenció, en general, de las especies palatables. Estos resultados son opuestos a los hallados por Moretto y Distel (2002) donde los suelos colectados debajo de *P. ligularis* mostraron mayor mineralización neta potencial de N que los obtenidos debajo del follaje de *Stipa tenuíssima* (especie no palatable). Sin embargo, son coincidentes con Andrioli y Distel (2008), quienes trabajando con suelos asociados a las mismas especies que este estudio, extraídos en diferentes épocas del año y realizando incubaciones por 60 días, no encontraron diferencias entre especies, a excepción de la

incubación realizada de muestras obtenidas en noviembre, donde *P. ligularis* fue superior a *N. tenuis*.

La complejidad de factores que afectan el ciclado y la dinámica del N en el suelo es alta (Celaya-Michel y Castellanos-Villegas, 2011). Se ha informado además que los efectos del pastoreo sobre la disponibilidad de este nutriente pueden ser negativos, positivos o neutros (Shariff, *et al.*, 1994; Lavado *et al.*, 1995; Andrioli *et al.*, 2010). Nuestros resultados indican que los cambios florísticos que se pueden producir por un mal manejo de los pastizales naturales (es decir, reemplazo de las especies palatables por especies no palatables), pueden modificar la mineralización de N en la rizósfera de las gramíneas perennes. De esta forma, la calidad del suelo de los ecosistemas áridos y semiáridos puede ser afectada (Celaya-Michel y Castellanos-Villegas, 2011).

CAPÍTULO 9

HONGOS FORMADORES DE MICORRIZAS ARBUSCULARES (HFMA)

9.1 Introducción

La subsistencia de las plantas en ambientes desfavorables puede ser consecuencia de múltiples factores y estrategias, una de ellas es la simbiosis a partir de la asociación con hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA; Tinker, 1978; Brown y Bledsoe, 1996). En esta asociación, las plantas proveen fotosintatos, fuentes de carbono necesarias para el crecimiento y desarrollo de los HFMA (Smith y Read, 2008). Los beneficios más importantes que obtienen las plantas de esta simbiosis, son la mayor absorción de nutrientes, en especial de aquellos poco móviles (Smith y Read, 2008), el aumento en la tolerancia al déficit hídrico y la protección contra patógenos (Miller *et al.*, 1986; Pedersen y Sylvia, 1996).

Los hongos formadores de micorrizas arbusculares, afectan la estructura y dinámica de la comunidad vegetal, especialmente en lugares con suelos pobres en nutrientes (Van der Heijden *et al.*, 1998; Hartnett y Wilson, 1999). A su vez, la comunidad vegetal es la que determina la distribución y composición de los HFMA en el suelo (Johnson *et al.*, 1992).

La sucesión en las comunidades vegetales se ha relacionado con cambios en los morfotipos de micorrizas y su diversidad (Johnson *et al.*, 1992; Allen, 1996). Pezzani *et al.* (2006), demostraron que en el caso de la sucesión en el Desierto de Chihuahua (México), las especies de gramíneas pioneras no son dependientes de HFMA, o si se asocian a ellos lo hacen principalmente en los estadios de plántula. En cambio, las de etapas sucesionales tardías, presentan una mayor densidad de esporas. La magnitud de colonización micorrícica está asociada a caracteres del hospedante como el estadio fenológico (Hetrick *et al.*, 1988, 1992) y la arquitectura de la raíz (Fitter, 1987; Hetrick *et al.*, 1992; Roumet *et al.*, 2006). Se ha encontrado que el mayor diámetro de raíces se vincula con un mayor índice de colonización (Reinhardt y Miller, 1990).

Los HFMA extienden su micelio en el suelo y colonizan la corteza radical. Dentro de la raíz, se forman hifas que absorben y transportan carbohidratos y nutrientes; algunos originan vesículas que funcionan como órganos de reserva de lípidos; y arbusculas que están involucradas en el intercambio de nutrientes entre los simbiosites (Smith y Read, 1997). El grado de colonización (intensidad de colonización) y la proporción de las diferentes estructuras fúngicas (calidad de colonización) depende de las especies de plantas y de las condiciones ambientales (McNaughton y

Oosterheld, 1990). Por su parte, las especies vegetales no se benefician de la misma manera con los HFMA, y ese grado de beneficio depende de la identidad del HFMA asociado (Zaller *et al.*, 2011). Así, diferentes especies de HFMA pueden variar en su demanda de carbono (Pearson y Jakobsen, 1993), la movilización de fósforo a la raíz (Ravnskov y Jakobsen, 1995), el almacenamiento de carbono (Van Aarle y Olsson, 2003), y la inversión en la relación biomasa intra y extrarradical (Hart y Reader, 2002).

En general, las prácticas antrópicas que perturban a la vegetación, es probable que modifiquen la diversidad fúngica en los pastizales. El pastoreo puede alterar la morfología de las raíces, las propiedades físico-químicas del suelo y la estructura y composición de las comunidades vegetales (Eom *et al.*, 2001; Su y Guo, 2007; Hiiesalu *et al.*, 2014). Estas modificaciones, podrían alterar la formación de micorrizas en diversos grados (Kojima *et al.*, 2014). Se ha demostrado que el pastoreo o la defoliación, disminuye (Bethlenfalvay y Dakessian, 1984; Grime *et al.*, 1987; Eom *et al.*, 2001; Saravesi *et al.*, 2014) aumenta (Frank *et al.*, 2003) o no tiene influencia sobre la colonización por HFMA (Torres *et al.*, 2011; Yang *et al.*, 2013). Por otra parte, la defoliación puede ser afectada la calidad de la colonización. Se ha demostrado que la misma aumentó la presencia de arbusculas en las raíces de los simbiontes, pero no tuvo efecto sobre la cantidad de vesículas (Piippo *et al.*, 2011b). Sin embargo, en otro estudio, se demostró que el pastoreo tuvo un efecto positivo sobre la presencia de vesículas en las raíces de las especies preferidas, como una estrategia que permitirá a los simbiontes afrontar situaciones de estrés (Parodi y Pezzani, 2011). Bajo condiciones limitantes de disponibilidad de nutrientes, un pastoreo intensivo, puede afectar negativamente a los HFMA, debido a la reducción de la capacidad fotosintética de las plantas (Harley y Smith, 1983). Esta disminución limitaría el suministro de carbono hacia las raíces y sus simbiontes (Barto *et al.*, 2010), que son totalmente dependientes del carbono fijado por el huésped (Harley y Smith, 1983). Como contrapartida, bajo pastoreo moderado, la simbiosis con HFMA aumentará la tolerancia al pastoreo por incrementar la oferta de nutrientes, favoreciendo la capacidad competitiva de las plantas (Hartnett y Wilson, 2002).

En los pastizales áridos y semiáridos, coexisten especies de gramíneas de diferente calidad nutricional. Un manejo del pastoreo inadecuado puede conducir al reemplazo de especies de gramíneas deseables, de buena calidad forrajera (altos contenidos de N, baja relación C:N y lignina) por especies indeseables de baja calidad (Distel y Bóo, 1996; Giorgetti *et al.*, 1997; Sánchez, 2001). Esto disminuye la tasa de descomposición de la broza y la mineralización de nutrientes (Milton *et al.*, 1994). Mendoza *et al.* (2002) mostraron que una mayor cantidad y diversidad en la población de HFMA estuvo asociada con una mayor calidad forrajera del pastizal. Las micorrizas

han demostrado estimular la descomposición de la materia orgánica (Atul-Nayyar *et al.*, 2009; Cheng *et al.*, 2012) y dinámica de nutrientes en el suelo (Nuccio *et al.*, 2013). Las prácticas que perturban a las comunidades vegetales y/o a los HFMA, es probable que afecten la diversidad de estos últimos (Kojima *et al.*, 2014). Por lo tanto, factores tales como la defoliación, que pueden influir sobre los HFMA, pueden alterar la capacidad competitiva de las plantas, la intensidad y calidad de colonización de las micorrizas arbusculares, el ciclo de nutrientes y la dinámica de la comunidad vegetal (Allsopp, 1998; Grigera y Oesterheld, 2004).

Los objetivos de este capítulo fueron (1) determinar la identidad de las esporas de HFMA en los suelos debajo del follaje de *P. ligularis*, *N. tenuis* y *A. ambigua* (2) evaluar los efectos de la defoliación comparando plantas defoliadas y sin defoliar, sobre la densidad, riqueza, frecuencia y diversidad de esporas de HFMA y sobre el porcentaje de colonización total y de estructuras (vesículas y arbusculas) de micorrizas arbusculares. Las hipótesis planteadas fueron: (1) el suelo debajo del follaje de las diferentes especies en estudio contiene distinta identidad, densidad y frecuencia de esporas pertenecientes a HFMA, (2) la densidad, frecuencia y diversidad de esporas pertenecientes a HFMA no cambia luego que las plantas son expuestas a defoliaciones moderadas con respecto a las plantas sin defoliar, (3) la colonización total de micorrizas arbusculares no se ve afectada por los tratamientos de defoliación, y (4) la presencia de arbusculas y vesículas es mayor en las plantas defoliadas que en las plantas control.

9.2 Materiales y Métodos

9.2.1 Muestreos y Mediciones

Comunidades de HFMA

Dentro de la clausura, se marcaron 36 plantas (n= 12/especie) en sitios dominados por *P. ligularis*, *N. tenuis* y *A. ambigua* y 12 sitios sin vegetación. El 6-08-2012, en el estadio morfológico de desarrollo vegetativo, se realizó el muestreo inicial. Para esto, se tomaron 48 muestras de suelo (0-10 cm): debajo del follaje de las plantas de las tres especies y en los lugares sin vegetación (n= 12). Posteriormente, la mitad de las plantas de cada especie fue defoliada (n= 6) como se explicó en el Capítulo 3 y el resto permaneció sin defoliar. A fin de evaluar el efecto de una y luego de dos defoliaciones sobre las comunidades de HFMA se volvieron a realizar los muestreos a campo [14-09 y 19-10, respectivamente; (6 plantas/especie x 2 tratamientos de defoliación x 3 especies) + 12 sitios sin vegetación= 48 muestras de

suelo/muestreo]. En total se analizaron 144 muestras de suelo (48 muestras de suelo/muestreo x 3 muestreos).

Se aislaron las esporas de 100 g de suelo seco, utilizando el método de decantación y tamizado (Gerdemann y Nicolson, 1963) y centrifugado en un gradiente de sacarosa (Walker *et al.*, 1982).

Las esporas se aislaron con pipetas Pasteur bajo microscopio estereoscópico, se separaron en grupos individuales de acuerdo a rasgos morfológicos comunes (tamaño, color, conexiones hifales, características de la superficie de la espora) y posteriormente los grupos individuales se transfirieron en agua a vidrios de reloj. Para la identificación de cada tipo de esporas, las mismas se montaron en polivinil-ácido láctico-glicerina (PVLG; Koske y Tessier 1983) y PVLG en una mezcla 1:1 (v / v) con reactivo de Melzer (Brundrett *et al.*, 1994). La identificación se basó en los criterios taxonómicos actualmente aceptados para el tamaño de las esporas, color, ornamentación superficial y la estructura de la pared [Schenck y Perez, 1990; INVAM (International Culture Collection of Arbuscular and Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi), <http://invam.caf.wvu.edu>; Fig. 9.1]. Los especímenes no identificados fueron nombrados con el nombre de género.

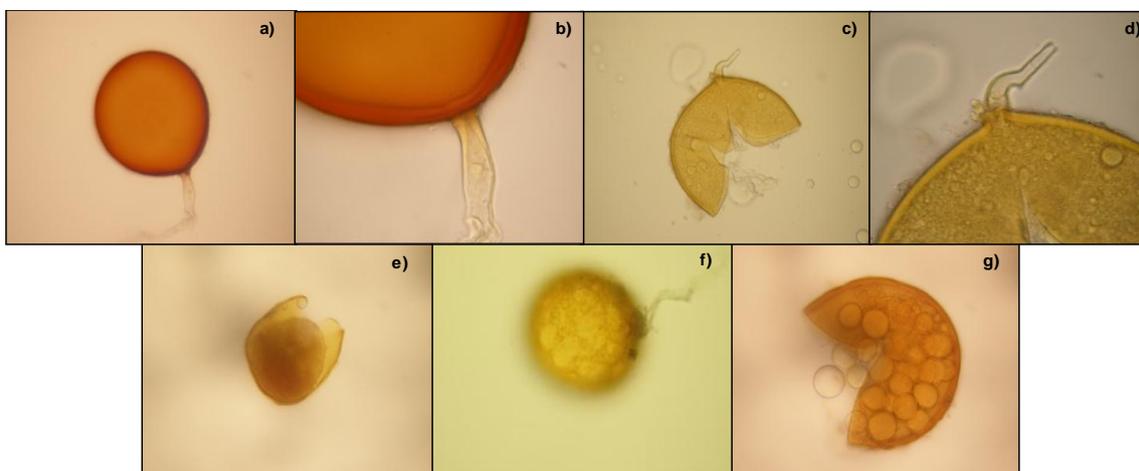


Figura 9.1. Esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares observadas bajo microscopio óptico. *Funneliformis geosporum* (a y b), aspecto general de la espora (a), detalle de la hifa sustentora (b); *Glomus* sp. (c y d), aspecto general de la espora (c), detalle de la hifa sustentora (d); vista general de la espora perteneciente a *Acaulospora mellea* (e), *Funneliformis mosseae* (f) y *Glomus microaggregatum* (g). Aumento utilizado: 400 x (a, c, e, f, y g) y 1000 x (b y d).

Sobre la base de los datos anteriores, se realizaron las siguientes determinaciones: (i) Frecuencia de ocurrencia de las especies de HFMA (% de

aparición de cada especie particular de HFMA en relación a las especies vegetales y sitios sin vegetación); (ii) Densidad de esporas de cada familia de HFMA (número total de esporas de cada familia/100 g de suelo); (iii) Densidad total de esporas de HFMA (número total de esporas/ 100 g de suelo); (iv) Riqueza de HFMA (número de especies/ 100 g de suelo) e (v) Índice de diversidad de Shannon – Weaver (1949):

$$H' = -\sum p_i \log_2 p_i$$

donde p_i es la densidad relativa de las especies en comparación con el total de especies identificadas por muestra.

Porcentaje de colonización total y de estructuras (vesículas y arbusculas) de micorrizas arbusculares

Este estudio se realizó durante en 2012 y 2013. Durante 2012, las mediciones se realizaron sobre las mismas plantas y momentos de muestreo que los realizados para caracterizar las comunidades de HFMA. En 2013, siguiendo el mismo diseño, se marcó un conjunto diferente de plantas y las muestras se tomaron el 18-07 (inicial), 23-08 (se midió el efecto de la primera defoliación) y 18-10 (se determinó el efecto de la segunda defoliación).

El porcentaje de colonización total y de estructuras (vesículas y arbusculas) de micorrizas arbusculares se determinó por el método de McGonigle *et al.*, (1990). Las raíces fueron cortadas en segmentos de 1,5 cm de longitud e introducidas en frascos de vidrio con KOH (Hidróxido de potasio) al 10 % p/v para clarear el citoplasma de las células radicales. Se calentaron durante 15 minutos a 90 °C y se lavaron con agua destilada. Luego se colocaron en recipientes con Azul de Tripiano durante 20 min. a 90 °C. Posteriormente, se retiró el exceso de colorante con lactoglicerol, conservándose en la heladera en frascos individuales con esa misma solución.

Las raíces así teñidas se montaron en forma paralela y perpendiculares a la longitud mayor de cada portaobjetos (al menos 10 segmentos radicales por portaobjeto) y se contó el número de intersecciones conteniendo hifas, esporas, vesículas y/o arbusculas al realizar tres recorridas a lo largo de cada uno de tres portaobjetos por muestra bajo microscopio (Leica ICC50 40-400X; Fig. 9.2).

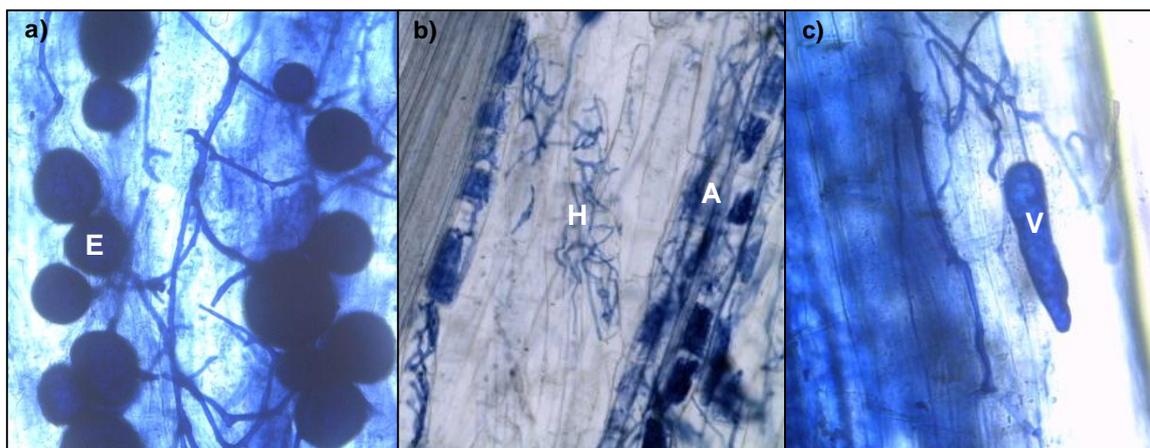


Figura 9.2. Vista al microscopio óptico de estructuras de colonización de micorrizas arbusculares en raíces pertenecientes a *Nassella tenuis*, teñidas con Azul de Tripano. Esporas (E), hifas (H), arbúsculas (A) y vesículas (V). Aumento utilizado: 400 x (a y c) y 100 x (b).

Finalmente, el porcentaje de colonización total por micorrizas arbusculares, en cada una de las seis plantas por tratamiento, se obtuvo a partir de:

$$\text{Porcentaje de colonización} = (\text{IC} / \text{IO}) \times 100$$

donde **IC** es el número de intersecciones colonizadas con respecto al número total de intersecciones observadas (**IO**). Adicionalmente, se estimó el porcentaje de presencia de arbúsculas y vesículas, de la misma forma que lo mencionado anteriormente, pero relacionando el número de intersecciones conteniendo cada una de las estructuras sobre el total de intersecciones observadas.

9.2.2. Análisis estadístico

Los datos fueron analizados utilizando el software INFOSTAT (Di Rienzo *et al.*, 2013).

Comunidades de HFMA

Se realizó un análisis de componentes principales para correlacionar las principales especies de HFMA con las especies de gramíneas perennes/sitios sin vegetación, tratamientos de defoliación y fechas de muestreo. Los datos correspondientes a densidad de esporas de cada familia y totales fueron transformados utilizando $\log_2(x + 1)$ para cumplir con los supuestos de normalidad y homocedasticidad (Sokal y Rohlf, 1984). En las figuras se presentan los valores sin transformar. La densidad, riqueza y diversidad de esporas fue analizada utilizando ANOVA con medidas repetidas en el tiempo, utilizando como factores las

especies/sitios sin vegetación, los tratamientos de defoliación y las fechas de muestreo. Se utilizó la aproximación Multivariada mediante el estadístico de Wilks (Wilks, 1932).

Porcentaje de colonización total y de estructuras (vesículas y arbusculas) de micorrizas arbusculares

Previo al análisis los datos fueron transformados con $\arcsen \sqrt{x}$ a fin de cumplir con los supuestos de normalidad y homocedasticidad. En las figuras se presentan los valores sin transformar. Las variables se analizaron con ANOVA multifactorial tomándose como factores las especies, los tratamientos de defoliación, las fechas de muestreo y los años. Debido a que los datos corresponden a medidas repetidas y dos años de estudio, se emplearon modelos lineales mixtos con errores independientes y varianzas residuales homocedásticas.

La comparación de medias se realizó mediante el test de Fisher (LSD) protegido, con un nivel de significación del 0,05.

9.3. Resultados

9.3.1. Comunidades de HFMA

Especies de HFMA

Las esporas aisladas durante las fechas de muestreo (5297 esporas durante la estación de crecimiento), fueron agrupadas en 16 morfoespecies pertenecientes a Acaulosporaceae, Ambisporaceae, Claroideoglomeraceae, Glomeraceae, Diversisporaceae y Pacisporaceae. En todos los casos fueron identificadas hasta el nivel de género y especie. Los especímenes no identificados pertenecientes a Glomeraceae y Pacisporaceae fueron nombrados a nivel de género (Tablas 9.1 y 9.2).

Tabla 9.1. Densidad (número de esporas/100 g de suelo) y frecuencia de ocurrencia (FO; porcentaje de aparición de cada especie de hongo en relación a las especies vegetales y sitios sin vegetación) de especies de Hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) presentes en los suelos asociados a las especies en estudio y sitios sin vegetación durante el muestreo inicial (agosto). Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar (n= 12).

Especies de HFMA	<i>Poa ligularis</i>	<i>Nassella tenuis</i>	<i>Amelichloa ambigua</i>	Sitios sin vegetación	FO (%)
Fam. Glomeraceae					
<i>Funneliformis mosseae</i> (T.H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & Schuessler	7,50 \pm 2,46	2,17 \pm 1,14	1 \pm 0,39	1,67 \pm 0,69	100
<i>F. geosporum</i> (T.H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & Schuessler	23,58 \pm 4,58	7,33 \pm 1,44	18,50 \pm 4,12	9,17 \pm 3,41	100
<i>Glomus sp.</i>	10,33 \pm 3,70	3,83 \pm 3,83	7,67 \pm 3,01	0	75
<i>G. microaggregatum</i> Koske, Gemma & P.D. Olexia	0	0	0,17 \pm 0,17	0	25
<i>Rhizophagus clarus</i> (T.H. Nicolson & N.C. Schenck) C. Walker & Schuessler	0	0	0,33 \pm 0,22	0	25
<i>R. irregularis</i> (Błaszk., Wubet, Renker & Buscot) C. Walker & Schuessler	1,17 \pm 0,87	2,67 \pm 1,44	2,33 \pm 1,65	8,67 \pm 2,06	100
Fam. Claroideoglomeraceae					
<i>Claroideoglomus etunicatum</i> Walker & Schüßler	1 \pm 0,67	0	2 \pm 1,37	0	50
Fam. Diversisporaceae					
<i>Diversispora spurca</i> C.M. Pfeiff., C. Walker & Bloss) C. Walker & A. Schuessler	12,33 \pm 2,74	11,17 \pm 3,92	6,50 \pm 2,51	9,67 \pm 2,72	100
Fam. Pacisporaceae					
<i>Pacispora sp.</i>	0	0,17 \pm 0,17	0	0	25
Fam. Acaulosporaceae					
<i>Acaulospora excavata</i> Ingleby & C. Walker	0	0	0,17 \pm 0,17	0	25
<i>A. laevis</i> Gerd. & Trappe	0	0,17 \pm 0,17	0	0	25
<i>A. mellea</i> Spain & N.C. Schenck	5 \pm 2,43	1,83 \pm 0,58	0,67 \pm 0,38	2,50 \pm 0,61	100
Fam. Ambisporaceae					
<i>Ambispora leptoticha</i> (N.C. Schenck & G.S. Sm.) R.J. Bills & J.B. Morton	0,33 \pm 0,33	0,17 \pm 0,17	0	0	50
<i>A. gerdemannii</i> (S.L. Rose, B.A. Daniels & Trappe) C. Walker, Vestberg & Schuessler	0,17 \pm 0,17	0,17 \pm 0,17	0	0	50
Incertae sedis (de posición incierta)					
<i>Entrophospora báltica</i> Błaszk., Madej & Tadych	0	0	0,17 \pm 0,17	0	25

Tabla 9.2. Densidad (número de esporas/100 g de suelo) y frecuencia de ocurrencia (FO; porcentaje de aparición de cada especie de hongo en relación a las especies vegetales defoliadas o no y sitios sin vegetación) de especies de Hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) presentes en los suelos asociados a plantas defoliadas (D) y no defoliadas (ND) de las especies en estudio y sitios sin vegetación durante el segundo (septiembre) y tercer muestreo (octubre). Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar (n= 6 para las especies - tratamientos y n= 12 para los sitios sin vegetación).

Especies de HFMA	<i>Poa ligularis</i>				<i>Nassella tenuis</i>				<i>Amelichloa ambigua</i>				Sitios sin vegetación		FO (%)	
	D		ND		D		ND		D		ND		Sep.	Oct.		
	Sep.	Oct.	Sep.	Oct.	Sep.	Oct.	Sep.	Oct.	Sep.	Oct.	Sep.	Oct.				
Fam. Glomeraceae																
<i>Funnelformis mosseae</i> (T.H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & Schuessler	1,67 \pm 1,09	3,67 \pm 2,89	2,67 \pm 1,76	2 \pm 1,03	3 \pm 1,53	1 \pm 0,68	3 \pm 1,69	0,33 \pm 0,33	4 \pm 1,86	0,67 \pm 0,67	1,33 \pm 1,33	2,67 \pm 1,69	3,33 \pm 1,62	0,33 \pm 0,22	100	
<i>F. geosporum</i> (T.H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & Schuessler	31 \pm 6,13	18,00 \pm 6,55	21,33 \pm 8,76	16 \pm 6,43	6,33 \pm 2,09	3,67 \pm 2,16	10 \pm 2,42	5,33 \pm 2,76	34,33 \pm 11,86	11,33 \pm 2,56	26 \pm 6,97	10 \pm 4,59	6,67 \pm 1,90	7,83 \pm 5,87	100	
<i>Glomus sp.</i>	21,67 \pm 9,05	3,67 \pm 1,20	8 \pm 3,01	4,67 \pm 1,84	8,33 \pm 3,52	0	5 \pm 2,35	0	11,33 \pm 1,43	2 \pm 1,63	14 \pm 5,11	2,67 \pm 1,76	3,50 \pm 2,64	0,67 \pm 0,38	85,71	
<i>G. microaggregatum</i> Koske, Gemma & P.D. Olexia	0	0	0,33 \pm 0,33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,14	
<i>Rhizophagus clarus</i> (T.H. Nicolson & N.C. Schenck) C. Walker & Schuessler	0	0	0,33 \pm 0,33	0	0	0	0	0	2 \pm 1,26	0	1 \pm 1	0	0	0	21,43	
<i>R. irregularis</i> (Blaszk., Wubet, Renker & Buscot) C. Walker & Schuessler	7,33 \pm 3,82	7,67 \pm 2,03	5,67 \pm 2,75	3,67 \pm 1,82	4,33 \pm 1,74	2,33 \pm 0,95	5 \pm 2,62	8,33 \pm 2,89	9,67 \pm 4,60	2,67 \pm 1,33	1,33 \pm 0,99	3,67 \pm 1,31	5,50 \pm 1,83	1,50 \pm 0,5	100	
Fam. Claroideoglomeraceae																
<i>Claroideoglomus</i> <i>etunicatum</i> Walker & Schüssler	2,67 \pm 2,67	0,67 \pm 0,67	2,67 \pm 1,33	0	0,67 \pm 0,67	0	1,33 \pm 0,99	0	1,33 \pm 0,84	0	1,33 \pm 0,84	0	0,17 \pm 0,17	0	57,14	
Fam. Diversisporaceae																
<i>Diversispora spurca</i> C.M. Pfeiff., C. Walker & Bloss) C. Walker & A. Schuessler	10 \pm 1,55	8,67 \pm 2,23	6,33 \pm 1,41	2,33 \pm 0,95	4,33 \pm 1,67	9,67 \pm 1,50	6 \pm 1,37	8,33 \pm 1,74	2,67 \pm 1,33	7 \pm 1,53	3,33 \pm 1,98	6,33 \pm 1,74	1,83 \pm 0,76	2 \pm 0,95	100	
Fam. Acaulosporaceae																
<i>Acaulospora mellea</i> Spain & N.C. Schenck	6,33 \pm 2,44	2,67 \pm 2,29	4,67 \pm 1,98	2,67 \pm 0,99	3 \pm 1,24	2,33 \pm 1,58	1,67 \pm 1,09	0,33 \pm 0,33	0,67 \pm 0,67	1,33 \pm 0,84	1,67 \pm 0,61	1 \pm 0,68	2,67 \pm 0,96	2,67 \pm 1,11	100	
Fam. Ambisporaceae																
<i>Ambispora leptoticha</i> (N.C. Schenck & G.S. Sm.) R.J. Bills & J.B. Morton	0,33 \pm 0,33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,14	
<i>A. gerdemannii</i> (S.L. Rose, B.A. Daniels & Trappe) C. Walker, Vestberg & Schuessler	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,33 \pm 0,33	7,14	

De todas las especies halladas en las tres fechas de muestreo, *Funneliformis mosseae*, *Funneliformis geosporum*, *Rhizophagus irregularis*, *Diversispora spurca* y *Acaulospora mellea* fueron las especies dominantes (100% de frecuencia de ocurrencia) encontrándose asociadas a las gramíneas perennes y sitios sin vegetación, seguidas por *Glomus* sp. (primer muestreo= 75%; segundo y tercer muestreo= 85,71%) y *Claroideoglomus etunicatum* (primer muestreo= 50%; segundo y tercer muestreo= 57,14%; Tablas 9.1 y 9.2).

En el análisis de componentes principales, la primera componente separa *Glomus* sp., *C. etunicatum* y *F. geosporum* que se encuentran correlacionados positivamente, relacionándose directamente, y negativamente de *D. spurca* y *R. irregularis* (Fig. 9.3). En la segunda componente, se encuentran correlacionados positivamente *A. mellea* y *F. mosseae* (Fig. 9.3). Estas dos componentes explicaron el 60,4 % de la variación total de los datos. En agosto, *P. ligularis* y *A. ambigua* presentaron en general la mayor proporción de las especies de *F. geosporum*, *Glomus* sp. y *C. etunicatum*. Al mismo tiempo, *N. tenuis* y los sitios sin vegetación la mayor proporción de *D. spurca* y *R. irregularis* (Fig. 9.3). En el segundo muestreo (septiembre) tanto las plantas defoliadas como las no defoliadas de *P. ligularis* y *A. ambigua* presentaron principalmente alta proporción de esporas de *F. geosporum* y *Glomus* sp., en relación a plantas defoliadas y no defoliadas de *N. tenuis* y sitios sin vegetación. Estos últimos estuvieron asociados a una alta proporción de esporas de *A. mellea* (Fig. 9.3). En octubre las plantas defoliadas y no defoliadas de *N. tenuis* presentaron altas proporciones de *D. spurca* y *R. irregularis*; las demás especies y sitios sin vegetación parecieron no asociarse a ninguna especie en particular de HFMA (Fig. 9.3). En septiembre, las especies de *Glomus* sp., *C. etunicatum* y *F. geosporum* tendieron a producir una mayor proporción de esporas en las especies asociadas a plantas defoliadas y no defoliadas de *A. ambigua*, seguidas por *P. ligularis*. Dentro de cada una de las especies de gramíneas los efectos de la defoliación sobre la comunidad de HFMA se hicieron notorios luego de dos defoliaciones sucesivas (muestreo de octubre) (Fig. 9.3).

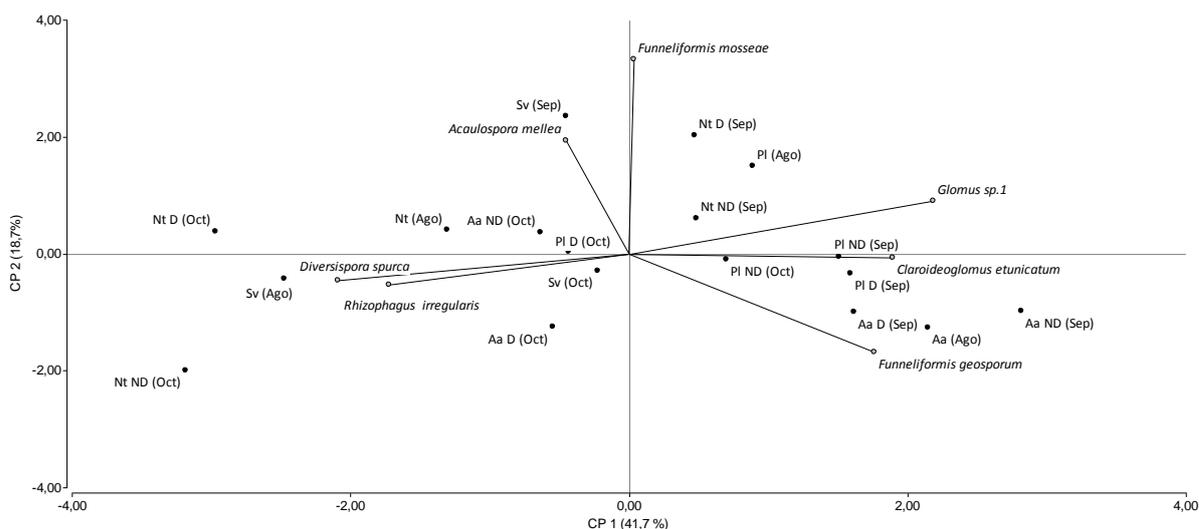


Figura 9.3. Biplot de la proporción de esporas (número de esporas de cada especie/número total de esporas) de las principales especies de hongos formadores de micorrizas arbusculares y su relación con *Poa ligularis* (PI), *Nassella tenuis* (Nt), *Amelichloa ambigua* (Aa) defoliadas (D) y no defoliadas (ND) y sitios sin vegetación (Sv) en agosto (Ago), septiembre (Sep) y octubre (Oct) de 2012. Correlación cofenética: 0,833.

Principales familias de HFMA

No se registró ($p > 0,05$) efecto de la defoliación sobre la densidad de esporas de las familias más abundantes (Acaulosporaceae, Diversisporaceae y Glomeraceae.).

En el caso de Acaulosporaceae, para las tres fechas, las muestras de suelo tomadas debajo del follaje de *P. ligularis* presentaron la mayor ($p \leq 0,05$) densidad de las especies palatables, en relación a *A. ambigua*, aunque no se diferenciaron ($p > 0,05$) de *N. tenuis* y el sitio sin vegetación (Fig. 9.4, a). Para Glomeraceae, en promedio en las tres fechas de muestreo, las especies de *P. ligularis* y *A. ambigua* presentaron mayor ($p \leq 0,05$) densidad de esporas de HFMA. *Nassella tenuis* y los sitios sin vegetación, mostraron los valores más bajos ($p \leq 0,05$; Fig. 9.4, a). En cuanto a Diversisporaceae, las especies de gramíneas se comportaron de manera diferentes en las tres fechas de muestreo. En el muestreo inicial (agosto), no hubo diferencias entre las especies ($p > 0,05$, Fig. 9.4, b). En septiembre, *P. ligularis* presentó mayor ($p \leq 0,05$) densidad en relación a *A. ambigua*, que no se diferenció ($p > 0,05$) de los sitios sin vegetación (Fig. 9.4, b). En la última fecha de muestreo (octubre), todas las especies presentaron mayor ($p \leq 0,05$) densidad de esporas en relación a los sitios sin vegetación, y de las especies palatables, *N. tenuis* mostró mayor ($p \leq 0,05$) densidad que *P. ligularis* (Fig. 9.4, b).

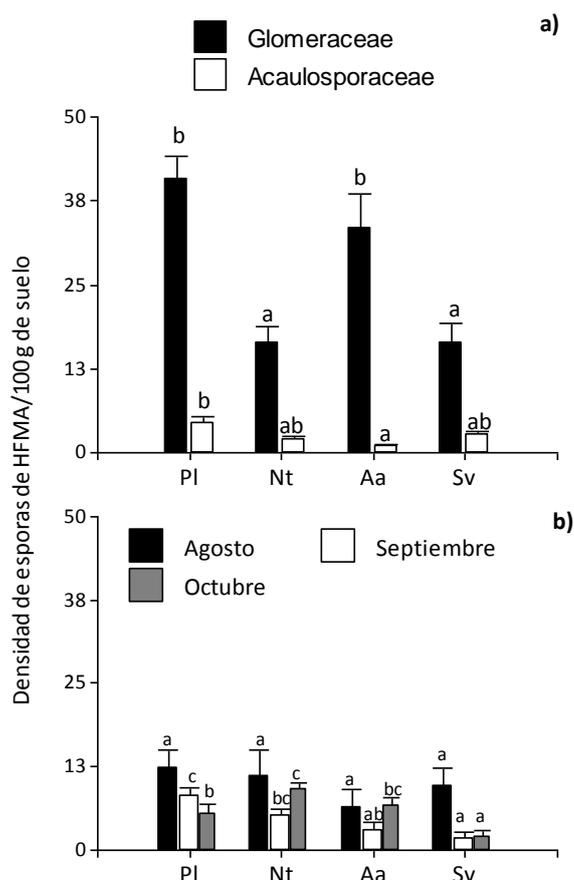


Figura 9.4. Densidad (número total de esporas/100 gr de suelo) de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) presentes en los suelos asociados a *Poa ligularis* (PI), *Nassella tenuis* (Nt), *Amelichloa ambigua* (Aa) y sitios sin vegetación (Sv) de a) Glomeraceae y Acaulosporaceae y b) Diversisporaceae. Cada dato es el promedio ± 1 error estándar ($n = 12$). Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre especies de gramíneas dentro de cada familia de HFMA (a) y entre especies de gramíneas dentro cada fecha de muestreo (b).

Densidad total, riqueza y diversidad de HFMA

No hubo efecto ($p > 0,05$) de las fechas de muestreo, ni de la defoliación sobre la densidad y riqueza de especies de HFMA. En promedio para las tres fechas, *P. ligularis* fue la especie de gramínea que presentó la mayor ($p \leq 0,05$) densidad total de morfoespecies de Glomeromycota, y todas las especies de gramíneas presentaron mayor ($p \leq 0,05$) número total de esporas que los sitios desnudos (Fig. 9.5). Respecto de la riqueza, las muestras de suelo tomadas debajo del follaje de plantas de *P. ligularis* presentaron mayor ($p \leq 0,05$) número de especies de HFMA en relación a *N.*

tenuis, y junto con *A. ambigua* presentaron mayor ($p \leq 0,05$) riqueza que los sitios sin vegetación (Fig. 9.5).

Cuando se analizó la diversidad de HFMA, no hubo diferencias significativas entre especies ($p > 0,05$), ni entre tratamientos de defoliación. En promedio, la diversidad fue de $1,53 \pm 0,04$.

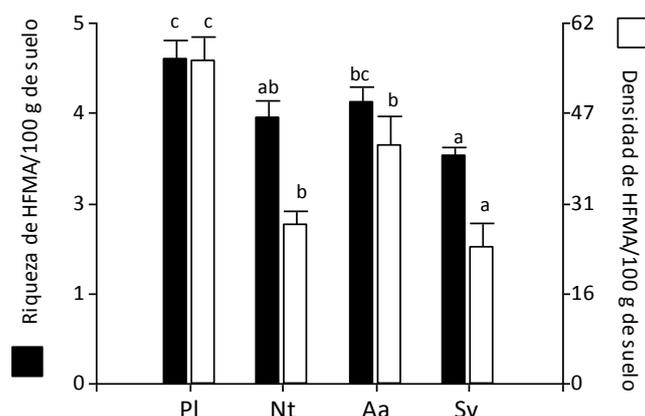


Figura 9.5. Riqueza (número de especies/100 g de suelo) y Densidad (número total de esporas/100 g de suelo) de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) presentes en los suelos asociados a *Poa ligularis* (PI), *Nassella tenuis* (Nt), *Amelichloa ambigua* (Aa) y sitios sin vegetación (Sv). Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar ($n = 12$). Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre especies.

9.3.2 Porcentaje de colonización total y de estructuras (vesículas y arbusculas) de micorrizas arbusculares

Porcentaje de colonización total de micorrizas arbusculares

El análisis de los datos arrojó interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre las especies, los tratamientos de defoliación y los años; y entre las especies, las fechas de muestreo y los años. En los dos años de estudio, se detectó interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre las especies y tratamientos; y entre las especies y fechas de muestreo.

Durante 2012, las plantas pertenecientes a *P. ligularis*, no se vieron afectadas ni por los tratamientos de defoliación, ni por las fechas de muestreo y presentaron $28,99 \pm 1,96$ % de colonización por micorrizas arbusculares. En el caso de *N. tenuis*, en promedio sobre las tres fechas de muestreo, las plantas defoliadas presentaron menor porcentaje ($p \leq 0,05$) que las plantas control (Fig. 9.6, a), y *A. ambigua* presentó mayor ($p \leq 0,05$) colonización hacia el muestreo de octubre (Fig. 9.6., b). Sólo se detectaron diferencias entre especies en el muestreo de septiembre, donde las plantas

defoliadas de las especies palatables, presentaron mayor ($p \leq 0,05$) colonización que *A. ambigua* (Tabla 9.3).

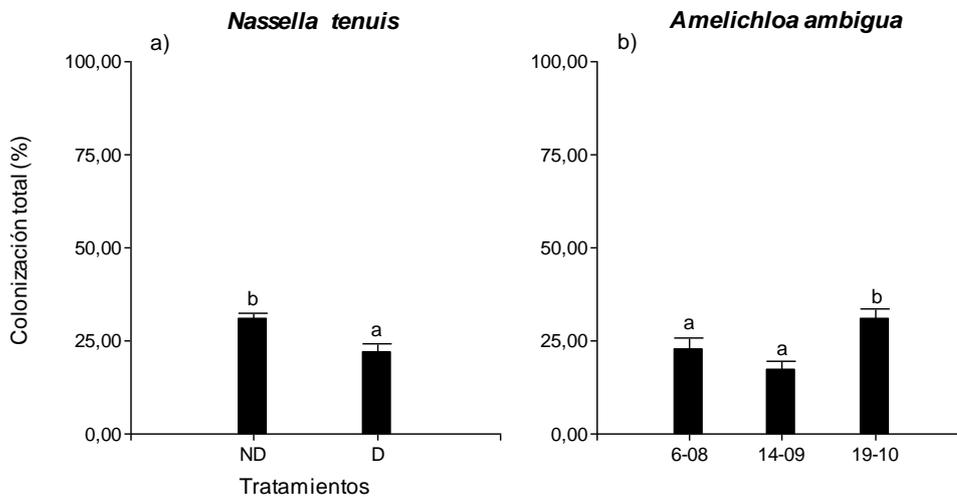


Figura 9.6. Colonización total de micorrizas arbusculares (%) presente en el estudio 2012, en plantas pertenecientes a *N. tenuis* (a) no defoliadas (ND) o defoliadas (D) y plantas pertenecientes a *A. ambigua* (b) en las distintas fechas de muestreo. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar de $n = 18$ (a) y $n = 12$ (b). Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre tratamientos (a); y entre fechas de muestreo (b).

Tabla 9.3. Colonización total de micorrizas arbusculares (%) presente en el estudio 2012 en plantas defoliadas o no de *Poa ligularis*, *Nassella tenuis* y *Amelichloa ambigua*. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar ($n = 6$). Letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre especies y tratamientos de defoliación, respectivamente, dentro de cada fecha de muestreo.

Muestreos	<i>P. ligularis</i>	<i>N. tenuis</i>	<i>A. ambigua</i>	<i>P. ligularis</i>	<i>N. tenuis</i>	<i>A. ambigua</i>
	Plantas no defoliadas (control)			Plantas defoliadas		
(1) 6-08	33,52 \pm 6,74 a,a	29,81 \pm 2,17 a,a	22,04 \pm 5,14 a,a	31,33 \pm 7,66 a,a	16,48 \pm 3,9 a,a	23,15 \pm 3,9 a,a
(2) 14-09	21,11 \pm 4,38 a,a	33,15 \pm 3,71 a,a	20,67 \pm 2,93 a,a	31,11 \pm 2,64 b,a	27,04 \pm 3 b,a	13,33 \pm 3,62 a,a
(3) 19-10	28,33 \pm 2,48 a,a	29,26 \pm 2,54 a,a	29,44 \pm 3,24 a,a	28,52 \pm 2,34 a,a	22,22 \pm 3,31 a,a	32,41 \pm 4,36 a,a

En el segundo año, las plantas defoliadas pertenecientes a *P. ligularis* presentaron menor ($p \leq 0,05$) colonización respecto de las plantas control en el muestreo de octubre (Fig. 9.7, a). Además, en este tratamiento, los porcentajes de colonización total fueron mayores ($p \leq 0,05$) en julio y agosto que en octubre (Fig. 9.7, a). A diferencia de 2012, las plantas pertenecientes a *N. tenuis*, no se vieron

afectadas por los tratamientos de corte ($p > 0,05$) y presentaron mayor ($p \leq 0,05$) colonización en el tercer muestreo (Fig. 9.7, b). En el caso de la especie no palatable, en promedio sobre las tres fechas de muestreo, las plantas defoliadas presentaron mayor ($p \leq 0,05$) colonización que las plantas control y al igual que *N. tenuis* la presencia de estructuras de micorrizas arbusculares fue mayor ($p \leq 0,05$) hacia el final del estudio en ambos tratamientos (Fig. 9.7, c). Las plantas pertenecientes a *A. ambigua* y *P. ligularis* presentaron mayor ($p \leq 0,05$) colonización durante las dos primeras fechas de muestreo, aunque esta última no se diferenció de *N. tenuis* en el muestreo de julio (Tabla 9.4). En octubre, las plantas defoliadas pertenecientes a la especie no palatable presentaron mayor ($p \leq 0,05$) colonización seguidas ($p \leq 0,05$) por *N. tenuis*, y *P. ligularis* presentó los menores ($p \leq 0,05$) porcentajes (tabla 9.4).

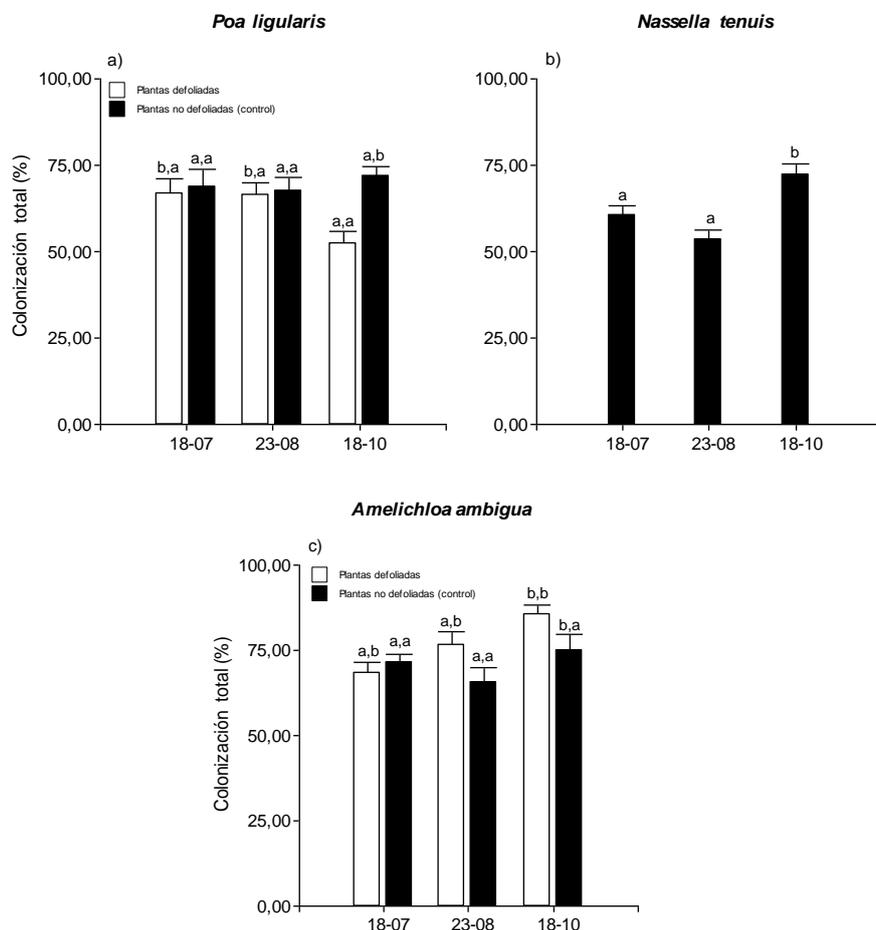


Figura 9.7. Colonización total de micorrizas arbusculares (%) presente en el estudio 2013, en plantas defoliadas o no pertenecientes a *P. ligularis* (a) y *A. ambigua* (c) y plantas pertenecientes a *N. tenuis* (b) en las distintas fechas de muestreo. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar de $n = 6$ (a y c), y de $n = 12$ (b). Letras delante y detrás de la coma, indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre fechas y tratamientos, respectivamente (a y c); y entre fechas (b).

Tabla 9.4. Colonización total de micorrizas arbusculares (%) presente en el estudio 2013 en plantas defoliadas o no de *Poa ligularis*, *Nassella tenuis* y *Amelichloa ambigua*. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar (n= 6). Letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre especies y tratamientos de defoliación respectivamente, dentro de cada fecha de muestreo.

Muestreos	<i>P. ligularis</i>	<i>N. tenuis</i>	<i>A. ambigua</i>	<i>P. ligularis</i>	<i>N. tenuis</i>	<i>A. ambigua</i>
	Plantas no defoliadas (control)			Plantas defoliadas		
(1) 18-07	68,89 \pm 4,94 ab,a	64,07 \pm 4,8 a,a	71,3 \pm 2,59 b,a	66,67 \pm 4,32 ab,a	57,22 \pm 2,48 a,a	68,33 \pm 3,1 b,a
(2) 23-08	67,41 \pm 4,02 b,a	50 \pm 3,55 a,a	65,56 \pm 4,53 b,a	66,3 \pm 3,7 b,a	56,67 \pm 4,93 a,a	76,48 \pm 3,97 b,a
(3) 18-10	71,85 \pm 2,72 a,b	71,11 \pm 4,48 a,a	75,19 \pm 4,55 a,a	52,41 \pm 3,36 a,a	73,52 \pm 4,16 b,a	85,37 \pm 2,73 c,a

Presencia de vesículas (%)

El análisis de los datos detectó interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre las especies, los tratamientos de defoliación y los años; y entre las especies, las fechas y los años de estudio.

En 2012, no se detectó efecto ($p > 0,05$) de las fechas de muestreo ni de los tratamientos de defoliación. Las plantas pertenecientes a *P. ligularis* presentaron mayor ($p \leq 0,05$) porcentaje de vesículas en sus raíces (1,42 \pm 0,32 %) que las plantas pertenecientes a *N. tenuis* y *A. ambigua* (0,68 \pm 0,29 y 0,46 \pm 0,14 %, respectivamente).

En 2013, se detectó interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre las especies y fechas de muestreo. Dentro de *P. ligularis*, en promedio sobre las fechas de muestreo, las plantas control presentaron valores superiores ($p \leq 0,05$) a las plantas defoliadas; los mayores ($p \leq 0,05$) porcentajes de vesículas se registraron en el muestreo de julio y los más bajos en el muestreo de octubre en ambos tratamientos (Fig. 9.8, a). Por su parte *N. tenuis* no se vio afectada por los tratamientos de defoliación ni por las fechas de muestreo y presentó 15,06 \pm 0,03 % de vesículas en sus raíces. En el caso de *A. ambigua*, no se vio afectada por los tratamientos de corte y presentó, al igual que *P. ligularis*, el mayor ($p \leq 0,05$) porcentaje de vesículas en el mes de julio y el menor ($p \leq 0,05$) en octubre (Fig. 9.8, b). En las dos primeras fechas, las plantas pertenecientes a *P. ligularis* presentaron mayor ($p \leq 0,05$) porcentaje de vesículas en sus raíces respecto de las demás especies, aunque no se diferenciaron ($p > 0,05$) de *N. tenuis* en el muestreo de octubre (Tabla 9.5). No hubo diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada fecha de muestreo en ninguna de las especies estudiadas (Tabla 9.5).

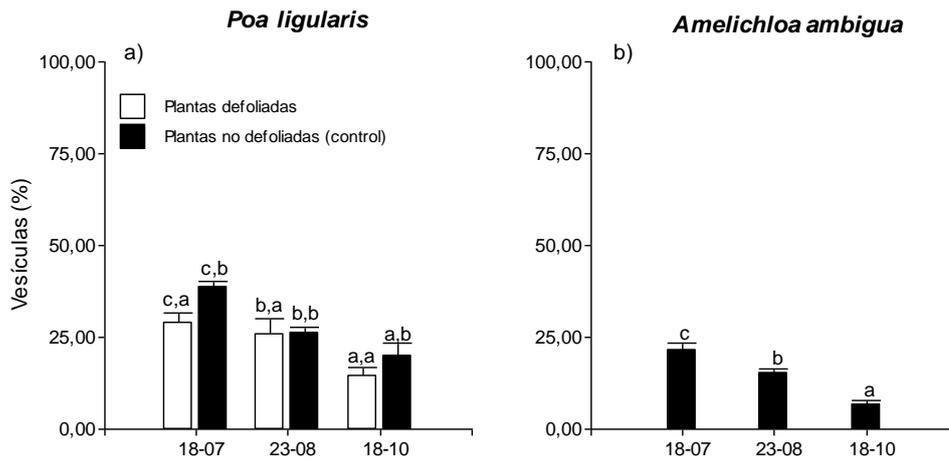


Figura 9.8. Presencia de vesículas (%) en el estudio 2013, en plantas de *P. ligularis* (a) defoliadas o no y de *A. ambigua* (b) en las distintas fechas de muestreo. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar de $n=6$ (a) y de $n=12$ (b). Letras delante y detrás de la coma, indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre fechas y tratamientos, respectivamente (a); y en entre fechas (b).

Tabla 9.5. Presencia de vesículas (%) en el estudio 2013 en plantas defoliadas o no de *Poa ligularis*, *Nassella tenuis* y *Amelichloa ambigua*. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar ($n=6$). Letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre especies y tratamientos de defoliación respectivamente, dentro de cada fecha de muestreo.

Muestreos	<i>P. ligularis</i>	<i>N. tenuis</i>	<i>A. ambigua</i>	<i>P. ligularis</i>	<i>N. tenuis</i>	<i>A. ambigua</i>
	Plantas no defoliadas (control)			Plantas defoliadas		
(1) 18-07	38,67 \pm 1,45 b,a	20,37 \pm 3,45 a,a	21,3 \pm 3,39 a,a	29,07 \pm 2,37 b,a	16,11 \pm 1,31 a,a	21,67 \pm 1,74 a,a
(2) 23-08	26,3 \pm 1,42 b,a	12,22 \pm 2,18 a,a	13,7 \pm 2,04 a,a	25,74 \pm 4,5 b,a	15,56 \pm 2,55 a,a	16,48 \pm 2,25 a,a
(3) 18-10	20 \pm 3,5 b,a	12,41 \pm 2,21 b,a	7,59 \pm 2,23 a,a	14,44 \pm 2,48 b,a	13,7 \pm 2,27 b,a	5,93 \pm 1,02 a,a

Presencia de arbusculas (%)

El análisis de los datos detectó interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre las especies, los tratamientos de defoliación, las fechas de muestreo y los años de estudio.

En 2012, las plantas de a *P. ligularis* y *A. ambigua*, no presentaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre tratamientos de defoliación, ni entre las fechas de muestreo, y mostraron 2,93 \pm 0,67 y 3,27 \pm 0,65 % de arbusculas en sus raíces, respectivamente. *Nassella tenuis* no registró diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los tratamientos de defoliación y presentó mayor ($p \leq 0,05$) porcentaje de arbusculas en el muestreo de septiembre en relación a las demás fechas (Fig. 9.9).

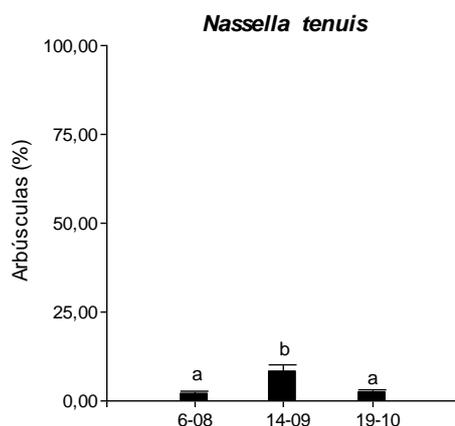


Figura 9.9. Presencia de arbúsculas (%) en el estudio 2012 de plantas de *N. tenuis*. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar ($n= 12$). Letras distintas indican diferencias significativas ($p\leq 0,05$) entre fechas de muestreo.

En los dos primeros muestreos, no se registraron diferencias significativas ($p>0,05$) entre especies, y entre tratamientos en la segunda fecha; las plantas presentaron $2,56\pm 0,66$ y $5,05\pm 0,68$ % de arbúsculas en sus raíces para agosto y septiembre, respectivamente. En octubre, no hubo efecto de los tratamientos de defoliación ($p>0,05$) y *A. ambigua* presentó mayor ($p\leq 0,05$) porcentaje de arbúsculas ($4,81\pm 1,86$ %) respecto de *P. ligularis* ($1,02\pm 0,42$ %); por su parte, *N. tenuis* no mostró diferencias significativas ($p>0,05$; $2,42\pm 1,26$ %) en relación a las demás especies.

En el segundo año de estudio, en las plantas pertenecientes a *P. ligularis* no hubo efecto ($p>0,05$) de los tratamientos de defoliación y presentaron mayor porcentaje de arbúsculas ($p\leq 0,05$) en el muestreo de octubre, aunque no se diferenciaron ($p>0,05$) de los valores registrados en septiembre (Fig. 9.10, a). Por su parte, *N. tenuis* no se vio afectada ($p>0,05$) por los tratamientos de defoliación ni las fechas de muestreo y presentó $13,21\pm 1,03$ % de arbúsculas en sus raíces. En el caso de la especie no palatable, sólo se registraron diferencias significativas ($p\leq 0,05$) entre tratamientos, en la última fecha de muestreo, donde las plantas que recibieron dos cortes presentaron mayores ($p\leq 0,05$) porcentajes de arbúsculas, respecto del control (Fig.9.10, b). Las plantas defoliadas de *A. ambigua* presentaron mayor ($p\leq 0,05$) porcentaje hacia el final de la estación de crecimiento y en el caso de las plantas control, no se registraron diferencias significativas ($p>0,05$) entre fechas de muestreo (Fig.9.10, b). En octubre, dentro de las plantas defoliadas, *A. ambigua* presentó mayor ($p\leq 0,05$) porcentaje de arbúsculas en sus raíces respecto de las especies palatables,

sin embargo, no se registraron diferencias significativas ($p>0,05$) entre especies en las plantas control (Tabla 9.6).

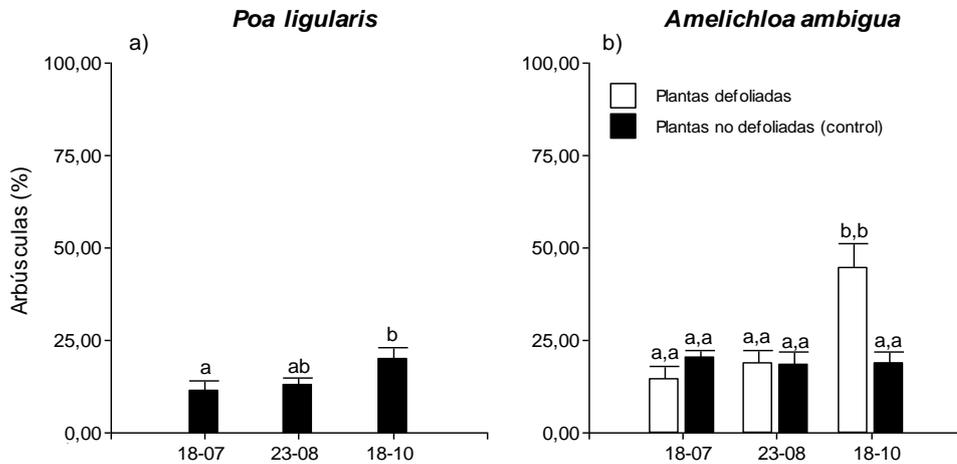


Figura 9.10. Presencia de arbusculas (%) en el estudio 2013, en *P. ligularis* (a) y plantas defoliadas o no de *A. ambigua* (b), en las distintas fechas de muestreo. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar de $n=12$ (a) y de $n=6$ (b). Letras delante y detrás de la coma, indican diferencias significativas ($p\leq 0,05$) entre fechas de muestreo (a); y entre fechas y tratamientos, respectivamente (b).

Tabla 9.6. Presencia de arbusculas (%) en el estudio 2013 en plantas defoliadas o no de *Poa ligularis*, *Nassella tenuis* y *Amelichloa ambigua*. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar ($n=6$). Letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p\leq 0,05$) entre especies y tratamientos de defoliación respectivamente, dentro de cada fecha de muestreo.

Muestreos	<i>P. ligularis</i>	<i>N. tenuis</i>	<i>A. ambigua</i>	<i>P. ligularis</i>	<i>N. tenuis</i>	<i>A. ambigua</i>
	Plantas no defoliadas (control)			Plantas defoliadas		
(1) 18-07	11,3 \pm 1,26 a,a	11,67 \pm 2,55 a,a	20,19 \pm 2,08 a,a	11,48 \pm 5,78 a,a	12,41 \pm 1,93 a,a	14,26 \pm 3,61 a,a
(2) 23-08	11,67 \pm 2,78 a,a	9,81 \pm 3,48 a,a	18,33 \pm 3,58 a,a	13,89 \pm 3,66 a,a	15,37 \pm 2,92 a,a	18,7 \pm 3,64 a,a
(3) 18-10	26,48 \pm 4,46 a,b	16,3 \pm 2,27 a,a	18,89 \pm 3,02 a,a	13,33 \pm 1,92 a,a	13,7 \pm 1,71 a,a	44,63 \pm 6,46 b,b

9.4 Discusión

Comunidades de HFMA

En el presente trabajo se observó que las principales especies de HFMA asociadas a las gramíneas perennes y sitios sin vegetación fueron *Glomus sp.*, *C.*

etunicatum, *F. geosporum*, *D. spurca*, *R. irregularis*, *A. mellea* y *F. mosseae*. En las gramíneas la asociación con HFMA es muy extendida en hábitats infértiles, observándose en especies anuales y perennes, salvo pocas excepciones (Newsham y Watkinson, 1998).

Las plantas pertenecientes a *P. ligularis* y *A. ambigua* en general se asociaron más a *C. etunicatum* y *F. geosporum*. Las mismas especies de HFMA han sido reportadas para otras especies de gramíneas (Dhillion, 1992) con características similares a las especies en estudio (Mendoza *et al.*, 2002). *Claroideoglossum etunicatum* se ha encontrado en ambientes degradados (Irrazabal *et al.*, 2005), ha mostrado ser muy eficiente cuando las plantas se encuentran en condiciones de alto estrés (Lozano-Ruiz *et al.* 1995) y no ser afectado por la defoliación (Klironomos *et al.*, 2004). *Funneliformis geosporum* es sensible a altas presiones de pastoreo (Uhlmann *et al.*, 2006) pero se lo ha encontrado en áreas restauradas, no pastoreadas y con pastoreo moderado (Su y Gou, 2007). Esto puede contribuir a explicar porque dichas especies de HFMA se encontraron positivamente correlacionadas entre si y se mostraron tolerantes a la primera defoliación.

Las plantas de *N. tenuis* y los sitios sin vegetación parecieron asociarse más a *D. spurca* y *Rizophagus irregularis* durante agosto y octubre, y a *A. mellea* y *F. mosseae* en septiembre. Especies del género *Rizophagus* han sido reportados para otros ambientes semiáridos del mundo (Aliasgharzadeh *et al.*, 2001; Carvalho *et al.*, 2001). Cepas de *F. mosseae* han demostrado ser sensibles sólo a altas presiones de pastoreo (Uhlmann *et al.*, 2006; Su y Gou, 2007) y al igual que *D. spurca* toleran condiciones de sequía (Soteras *et al.*, 2013; Lozano-Ruiz *et al.*, 1995). Durante la primavera la densidad de esporas de *A. mellea* aumenta (Lugo y Cabello, 2002), lo que puede contribuir a explicar su mayor asociación con *N. tenuis* y los sitios sin vegetación en septiembre.

En este estudio, los tratamientos de defoliación no afectaron la densidad, riqueza y diversidad de especies de HFMA. Nuestros resultados son coincidentes con los hallados por Allen *et al.* (1989). Estos autores no encontraron patrones consistentes en la densidad de esporas de HFMA en suelos asociados a dos especies de gramíneas perennes, que habían sido expuestas a diferentes tratamientos de defoliación bajo varios regímenes de humedad de suelo. Sin embargo, se han encontrado incrementos en la densidad de esporas como resultado de la exposición a situaciones de mayor disturbio (Mecinas *et al.*, 1991).

En nuestro trabajo, los meristemas apicales e intercalares permanecieron en las plantas luego de los tratamientos de defoliación. Estos meristemas poseen un rápido crecimiento en relación a los meristemas de las yemas axilares (Briske y

Richards, 1995). Bajo similares tratamientos de defoliación en el mismo sitio de estudio, Saint Pierre *et al.* (2004b) reportaron mayores tasas relativas de crecimiento en plantas defoliadas que aquellas no defoliadas en las gramíneas perennes palatables *Nassella clarazii* y *N. tenuis*, y en la no palatable *A. ambigua*. Por lo tanto, el carbono puede no haber sido un factor limitante en las plantas defoliadas, lo que puede haber contribuido a mantener la asociación con los HFMA sin afectar la producción de esporas de manera significativa. Kula *et al.* (2005) demostraron que la asociación con HFMA estimula el crecimiento compensatorio en plantas expuestas a tratamientos de defoliación. Sin embargo, cuando el carbono es un recurso limitante, la interacción entre las plantas y los HFMA puede pasar de ser mutualista a parasítica (Fitter y Hay, 1983). Defoliaciones a largo plazo, durante al menos 20 años, han demostrado reducir la densidad de esporas de HFMA (Frank *et al.*, 2003; Su y Guo, 2007; Murray *et al.*, 2010).

Entendemos que al emplear cortes manuales en nuestra investigación para simular los efectos de la defoliación, imitamos pobremente los efectos del pastoreo. Sin embargo, los resultados de este estudio son coincidentes con trabajos realizados en pastizales y praderas naturales sometidos a pastoreos leves y moderados (Lugo y Cabello, 2002; Dhillon y Gardsjord, 2004; Yang *et al.*, 2013) y cortes manuales (Allen *et al.*, 1989; Eom, *et al.*, 1999; Bentivenga y Hetrick, 1992; Klionomos *et al.*, 2004). Por otro lado, Busso *et al.* (2001) informaron que la densidad de esporas de HFMA se incrementó en las plantas defoliadas de especies de gramíneas perennes en relación a las plantas control. Los efectos de la defoliación sobre los HFMA, son difíciles de predecir y están muy influenciados por las especies de hongos implicadas en la simbiosis (Zaller *et al.*, 2011). Dado que las plantas dentro de una comunidad, pueden estar asociados con diferentes HFMA, se espera que la defoliación pueda producir una amplia variación de efectos sobre la fenología y función de los hongos micorrízicos (Klironomos *et al.*, 2004). Algunas especies de *Glomus* son capaces de tolerar y sobrevivir reducciones en la asimilación de carbono por la planta huésped, y sobrevivir, aumentando inclusive su crecimiento y abundancia (Eom *et al.*, 2001; Saito *et al.*, 2004; Su y Guo 2007; Barto y Rillig, 2010).

Las familias identificadas en las comunidades de HFMA coinciden con las reportadas en diversos estudios realizados en pastizales semiáridos sometidos a disturbios con diferentes especies vegetales (Yang *et al.*, 2013; Hiiesalu *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2014; Ohsowski *et al.*, 2014). Los HFMA pueden presentar lo que se denomina “especificidad ecológica del hospedante” (McGonigle y Fitter, 1990) en la cual las raíces de plantas creciendo en un mismo ambiente pueden ser colonizadas por algunas especies de hongos en contraste con las raíces de otras plantas aun cuando

se encuentran en presencia de la misma comunidad de hongos micorrízicos arbusculares. En este estudio, la densidad de esporas de cada una de las familias varió principalmente en respuesta a las especies de gramíneas asociadas y en algunos casos a los momentos de muestreo, mostrando una relación con las características fenológicas del hospedante. Acaulosporaceae es comúnmente hallada en los pastizales (Velázquez *et al.*, 2013; Chagnon *et al.*, 2013). Especies del género *Acaulospora* suelen ser dominantes en los pastizales naturales (Eom *et al.*, 2000; Lugo y Cabello, 2002; Oehl *et al.*, 2003; Kojima *et al.*, 2009).

En el norte de la Meseta Tibetana (China) aumentó la proporción de esporas en pastizales severamente degradados en relación a aquellos considerados normales (Cai *et al.*, 2014). En este estudio, sin embargo, no hubo efectos de la defoliación sobre la producción de esporas sugiriendo que el pastizal degradado no ha alcanzado un estado similar de degradación. La diferencia hallada entre especies palatables (*P. ligularis*) y no palatables (*A. ambigua*) puede deberse a que la broza aérea de *P. ligularis* se descompone con mayor rapidez que la de las especies no palatables (ver Capítulo 6; Moretto y Distel, 2003; Fisher *et al.*, 2006). *Poa ligularis* al acelerar la descomposición de la materia orgánica del suelo, y por ende producir un aumento de carbohidratos y lípidos en el micelio extrarradical de estos simbioses, facilitaría el almacenamiento de nutrientes y estimularía la producción de esporas (ej., Fig. 9.4, a) para la propagación de los HFMA (Quillam *et al.*, 2010; Cai *et al.*, 2014).

Los miembros de Glomeraceae son capaces de producir gran cantidad de esporas en un período corto de tiempo y regular su crecimiento en función de la actividad de la planta hospedadora, características propias de las especies r-estrategas (Sýkorová *et al.*, 2007; Chagnon *et al.*, 2013). El género *Rhizophagus*, descrito para otros ambientes semiáridos del mundo (Aliasgharzadeh *et al.*, 2001; Carvalho *et al.*, 2001), se caracteriza por su gran tolerancia al estrés ambiental (Liu *et al.*, 2009) y al pastoreo (Yang *et al.*, 2013). Por su parte, *Glomus* comúnmente hallado en ambientes con escasez de precipitaciones (Lovelock *et al.*, 2003), presenta gran adaptación a suelos de diferente calidad, y gran capacidad para establecer relaciones simbióticas con diferentes especies vegetales (Mendoza y Pagani 1997; Mendoza *et al.*, 2002; Barriga *et al.*, 2011; Cai *et al.*, 2014). Mendoza *et al.* (2002) demostraron que *Claroideoglomus etunicatum* se encontró en mayor proporción en las rizósferas de *Deschampsia flexuosa* y *Poa rigidifolia* que en otras especies de gramíneas, y que la cantidad y diversidad de hongos micorrízicos arbusculares está asociada con una mayor calidad forrajera del pastizal. Estos resultados concuerdan sólo parcialmente con los hallados en este trabajo donde, en promedio, en las tres fechas de muestreo, las especies de *P. ligularis* y *A. ambigua* presentaron mayor densidad de esporas de

HFMA de Glomeraceae. Sin embargo, de estas dos especies sólo la primera presenta un alto valor forrajero. Por su parte, *N. tenuis* y los sitios sin vegetación presentaron los valores más bajos. Las diferencias entre las especies vegetales, podrían deberse, a un mayor porte de las plantas de *P. ligularis* y *A. ambigua* (ver Capítulo 4) en relación a *N. tenuis*. Las mismas, poseen un mayor tamaño y una mayor densidad de macollas que contribuirán a determinar una mayor área fotosintética (Saint Pierre *et al.*, 2004c), y podran fijar una mayor cantidad de hidratos de carbono (Ithurrtart, 2015). Moora y Zobel (1996) y Piippo *et al.* (2011b) mostraron que un mayor porte de las plantas en gramíneas permite asignar recursos adicionales a las raíces e incrementar su capacidad de asociación con hongos micorrizicos los que ante un disturbio, como la defoliación, contribuirán a la captación de nutrientes y aumentarán la capacidad competitiva de sus hospedantes.

En el caso de Diversisporaceae, habría un efecto de los diferentes estadios fenológicos de las especies de gramíneas sobre la densidad de esporas. En el segundo muestreo, la rápida diferenciación de los ápices de vegetativo a reproductivo en las plantas de *P. ligularis* (Ithurrtart, 2015) produce el alargamiento de los entrenudos (Giorgetti *et al.*, 2000). Cuando esto ocurre, se reduce la producción de hojas nuevas, decrece el número de hojas vivas por macolla (Busso y Richards, 1995; Becker *et al.*, 1997a), y va aumentando relativamente la edad de las hojas en la planta. Una vez que las hojas jóvenes han alcanzado una tasa fotosintética neta máxima, la misma se reduce con incrementos en la edad de las hojas (Jones, 1992). En el estadio de crecimiento y desarrollo reproductivo, la asignación de carbono aumenta proporcionalmente más hacia las partes reproductivas aéreas que hacia las raíces (Jones, 1992). La asignación de menores recursos carbonados hacia las raíces puede originar en los hongos, la movilización de lípidos almacenados en vesículas para la producción de estructuras de resistencia, induciendo de esta forma, una mayor esporulación de HFMA (Bentivenga y Hetrick, 1992). Si bien es solo para esta familia de HFMA, este resultado concuerda con los hallados en estudios realizados en otras especies de gramíneas y hierbas perennes donde se registró mayor densidad de esporas en relación al periodo de floración (Sutton y Barron, 1972; Ebberts *et al.*, 1987; Bentivenga y Hetrick, 1992; Sigüenza *et al.*, 1996; Lugo y Cabello, 2002; Zhang *et al.*, 2012).

En general, *P. ligularis* fue la especie de gramínea que presentó mayor densidad total de esporas de HFMA. Los hongos micorrizicos modelan las comunidades de microorganismos saprófitos promoviendo el desarrollo de los más eficientes en la degradación de compuestos orgánicos (Nuccio *et al.*, 2013). A su vez, dichos HFMA pueden (1) estimular la descomposición de la broza (Atul-Nayyar *et al.*,

2009; Cheng *et al.*, 2012) a través de la secreción de enzimas hidrolíticas en el suelo implicadas en la degradación de material vegetal (Varma, 1999; García-Garrido *et al.*, 1992; Talbot *et al.*, 2008), (2) acelerar las tasas de descomposición por incremento de las relaciones C:N (Nuccio *et al.*, 2013) y (3) incrementar la mineralización de N, debido a que aumentan la capacidad de las plantas para utilizar los residuos orgánicos como fuente de N (Hodge *et al.*, 2001; Atul-Nayyar *et al.*, 2009; Hodge y Fitter, 2010). Por lo tanto, las especies palatables y de etapas sucesionales tardías que poseen broza de buena calidad y altas tasas de descomposición de la materia orgánica (Moretto y Distel, 2003) facilitarían la producción de esporas para la propagación de los HFMA (Mendoza *et al.*, 2002; Pezzani *et al.*, 2006; Quilliam *et al.*, 2010, Hodge, 2014; Cai *et al.*, 2014).

El porte de las especies vegetales, tal como fue mencionado anteriormente, también es un factor muy importante en la estructuración de las comunidades de HFMA (Moora y Zobel, 1996; Piippo *et al.*, 2011a) y podría contribuir a explicar la mayor densidad y riqueza de especies de HFMA hallada en *P. ligularis* respecto de *N. tenuis*.

Porcentaje de colonización total y de estructuras (vesículas y arbusculas) de micorrizas arbusculares

Debido a que el 85% de las plantas terrestres forman esta simbiosis (Smith y Read, 1997), muchas plantas que sufren el impacto del pastoreo presentan micorrización. La herbivoría simulada o natural puede afectar los niveles de colonización por los hongos micorrízicos arbusculares, si la planta hospedante reduce la asignación de carbono hacia los hongos. Gehring y Whitman (1994) encontraron en 23 de 37 estudios que los niveles de colonización por micorrizas arbusculares decrecieron luego de eventos de herbivoría naturales o simulados. Los autores especularon que estas disminuciones podrían tener profundos efectos en las interacciones entre las plantas, reduciendo su habilidad competitiva. En contraste, otros autores encontraron que el pastoreo no tenía influencia sobre la frecuencia de infección (Davidson y Christensen, 1977; Reece y Bonham, 1978; Lugo *et al.*, 2003; Parodi y Pezzani, 2011). Las variaciones de colonización, se explican en general por la relación costo-beneficio experimentada por la planta hospedadora (Bethlenfalvay y Dakessian, 1984; Koide y Schreiner, 1992). La reducción de la asignación de carbono hacia las raíces producto de la defoliación puede reducir la intensidad de la colonización (Bethlenfalvay y Dakessian, 1984; Bethlenfalvay *et al.*, 1985; Hetrick *et al.*, 1990). Por otro lado, McNaughton (1983) sugirió que el pastoreo incrementa el crecimiento compensatorio si los meristemas activos permanecen en la planta luego

del mismo. La asociación micorrízica puede ayudar a la captación de nutrientes de sus hospedantes e incrementar las tasas fotosintéticas (Allen, 1991). En nuestro estudio, en general, los tratamientos de defoliación, que dejaron los meristemas activos en las plantas luego de ocurridos dichos eventos, afectaron la colonización total de las micorrizas arbusculares sólo en ciertos momentos de muestreo, y en los casos en los que fue detectado (por ejemplo, en las plantas de *N. tenuis*) no tuvo consistencia durante los años de estudio. La micorrización puede incrementar la tolerancia de las plantas a la defoliación, debido a que provee nutrientes que contribuyen a superar los efectos de la remoción del tejido aéreo (Walling y Zabinski, 2006; Parodi y Pezzani, 2011). Esto contribuiría a explicar la mayor colonización total registrada hacia la última fecha de muestreo en las plantas de *A. ambigua* en 2012 y 2013, y de *N. tenuis* durante 2013. Por otro lado, durante el segundo año de estudio, las plantas de *A. ambigua*, aunque sin diferenciarse de *P. ligularis* en los dos primeros muestreos, presentaron en general, lo mayores porcentajes de colonización, mostrando gran dependencia de esta especie a la simbiosis con HFMA. Estos resultados coinciden parcialmente con los hallados por Ithurrt (2015) quien trabajó con las mismas especies que en este estudio. Ithurrt (2015) demostró que *A. ambigua* posee un mayor diámetro radical lo que contribuiría a explicar su mayor dependencia de la colonización por micorrizas arbusculares (Reinhardt y Miller, 1990; Koltai y Kapulnik, 2010).

Respecto a la calidad de la colonización micorrízica, tal como fue mencionado, se ha demostrado que la defoliación aumentó la presencia de arbusculas en las raíces de los simbiontes, y no tuvo efecto sobre la presencia de vesículas (Piippo *et al.*, 2011b). Sin embargo, se ha encontrado un mayor porcentaje de vesículas en áreas pastoreadas, como una estrategia del hongo que le permitiría afrontar situaciones de estrés (Parodi y Pezzani, 2011). Grigera y Oosterheld (2004) demostraron que la presencia de arbusculas y vesículas, se vio reducida por el pastoreo en comparación con áreas clausuradas en invierno (estación seca), pero no hubo efecto del pastoreo en comparación a dichas áreas en primavera y verano (estaciones más húmedas). Esto demuestra que las condiciones ambientales pueden modular las respuestas de las especies vegetales y sus simbiontes ante un disturbio como la defoliación. La presencia de arbusculas y vesículas se incrementa como respuesta a condiciones de alta humedad, temperatura y buena radiación solar (Lugo *et al.*, 2003). En nuestro estudio, las precipitaciones durante 2012 y 2013 fueron superiores o similares al promedio histórico y los contenidos de humedad registraron los valores elevados durante los momentos de muestreo. Esta podría ser la razón por la cual no detectamos efectos de la defoliación sobre estas estructuras. La presencia de esporas

pertenecientes a las familias Acualosporaceae y Glomeraceae (que producen gran cantidad de vesículas en las raíces de sus simbioses: Lugo *et al.*, 2003), sumado al aporte de broza aérea de buena calidad (que se descompone rápidamente y mejora la disponibilidad de nutrientes en el suelo: Moretto y Distel, 2003), contribuirían a explicar la mayor presencia de vesículas debajo de las plantas de *P. ligularis* en relación a las demás especies durante los dos años de estudio. Por otro lado, hubo un mayor porcentaje de arbusculas (implicadas en el intercambio de nutrientes entre los simbioses; Smith y Read, 1997) en las raíces de *A. ambigua* comparado a las otras dos especies en los dos años estudio en el muestreo de octubre. Esto contribuiría a demostrar la mayor dependencia de *A. ambigua* de las micorrizas arbusculares lo que le permitiría aumentar su superficie de exploración del suelo, la captación de nutrientes (Reinhardt y Miller, 1990; Koltai y Kapulnik, 2010; Ithurrart, 2015) y la recuperación del tejido fotosintético luego de un disturbio (ej. la defoliación en 2013; Walling y Zabinski, 2006).

CAPÍTULO 10

PRODUCCIÓN DE BIOMASA AÉREA

10.1 Introducción

La mayoría de los ecosistemas áridos templados de sudamérica están expuestos a altas presiones de pastoreo, lo que ha llevado a pérdidas locales de las especies palatables (Ares *et al.*, 1990; Cingolani *et al.*, 2005). El pastoreo afecta la estructura y la función de los pastizales naturales en varios niveles de organización incluyendo plantas individuales, poblaciones, comunidades y ecosistemas (Coughenour, 1985; Milchunas y Lauenroth, 1993; Oesterheld *et al.*, 1999; Cingolani *et al.*, 2005).

El concepto de resistencia al pastoreo, dentro del contexto de los pastizales y el manejo de pasturas, describe la habilidad relativa de las plantas para sobrevivir y crecer en sistemas pastoreados (Briske, 1991). La resistencia al pastoreo puede dividirse en dos componentes: evitación y tolerancia, basados en los mecanismos generales que confieren resistencia (Briske y Richards, 1995). Los mecanismos de evitación, están compuestos por atributos de la arquitectura, disuasivos mecánicos y compuestos bioquímicos que reducen la accesibilidad y palatabilidad de los tejidos; los mecanismos de tolerancia los componen la disponibilidad y fuente de los meristemas residuales, y los procesos fisiológicos capaces de promover el crecimiento luego de la defoliación (Briske, 1991). Los cambios composicionales inducidos por el pastoreo sugieren que las especies dominantes tardías poseen una estrategia de evitación menos desarrollada y son, por lo tanto, las más palatables o preferidas dentro de la comunidad (Gomez Sal *et al.*, 1986).

La cantidad y el tipo de tejido removido, y el momento cuando ocurre en relación al desarrollo de la planta y del ambiente imperante, son muy importantes en la determinación del impacto de la defoliación sobre las plantas. La edad y tipo de tejidos removidos tiene una gran influencia sobre qué tan rápido la planta puede recuperarse. La pérdida de hojas viejas usualmente tiene un efecto mucho menor que la pérdida de la misma cantidad de hojas jóvenes (Gold y Caldwell, 1989b). La pérdida de tejido meristemático usualmente tiene un efecto mucho mayor que la pérdida proporcional de biomasa, área foliar o recursos de la planta (carbono y nitrógeno) (Branson, 1953; Richards y Caldwell, 1985; Briske, 1991). La capacidad para una rápida recuperación de tejido removido es una característica distintiva de las plantas tolerantes a la defoliación (Davidson y Milthorpe, 1966; Richards y Caldwell, 1985; Mott *et al.*, 1992).

Entre las características que contribuyen a la rápida recuperación, la más importante es la presencia de meristemas activos en los tallos, remanentes luego de la defoliación. La presencia de estos meristemas en las plantas, permite la expansión foliar como resultado único de la expansión de células ya formadas, en lugar de tener que producir nuevas células (Briske, 1991). Esto resulta en un uso eficiente de los recursos de carbono para la producción de hojas (Richards y Caldwell, 1985).

La producción primaria neta, representa la principal energía de entrada de los ecosistemas (McNaughton *et al.*, 1989). En los pastizales, la cantidad y estacionalidad de la productividad primaria neta determina la disponibilidad de forraje, la capacidad de carga de los herbívoros, y las estrategias de pastoreo (Jobbágy y Sala, 2000). En las zonas áridas y semiáridas, el pastoreo moderado es más beneficioso al pastizal en todos sus aspectos que el sobreuso o el subuso. Numerosos trabajos a campo y de laboratorio, indican que la producción primaria puede ser estimulada por el pastoreo bajo ciertas circunstancias (Pearson, 1965; Reardon *et al.*, 1972; Dyer, 1975; McNaughton, 1976; Becker *et al.*, 1997a) y McNaughton (1979) sugiere que la misma es maximizada bajo algunos niveles de pastoreo óptimo. Una variedad de mecanismos propuestos y observados pueden dar cuenta del incremento en producción luego del pastoreo. Estos incluyen: 1) aumento de las tasas fotosintéticas en los tejidos remanentes y producidos luego del pastoreo (Hodgkinson *et al.*, 1972; Gifford y Marshall, 1973; Detling *et al.*, 1979; Painter y Detling, 1981), 2) aumento de la proporción de fotosintatos asignados a la producción de nueva área foliar (Ryle y Powell, 1975; Detling *et al.*, 1979, 1980) y 3) aumento del macollaje por apertura del follaje y aumento de la penetración lumínica (Laude, 1972), o conservación de la humedad del suelo por reducción del área de transpiración (McNaughton, 1979). Sin embargo, para que esto ocurra, el pastoreo no debe ser continuo, sino que se debe intercalar con descansos durante períodos cortos programados para coincidir con fenofases críticas de las especies claves de manejo (Anderson, 1983). Por lo tanto, la posibilidad de alcanzar el crecimiento compensatorio depende de la intensidad y del tipo de defoliación aplicada, y de las respuestas fisiológicas de la planta pastoreada en relación a los factores ambientales (Verkaar, 1988).

El conocimiento de las respuestas individuales de las especies a determinadas frecuencias e intensidades de defoliación, sumado al conocimiento de la preferencia relativa de las mismas en relación a las otras especies presentes en el pastizal aporta información válida para predecir respuestas de la vegetación (Privitello *et al.*, 1995).

El presente capítulo tuvo como objetivo evaluar el efecto producido por la defoliación en los estadios morfológicos del desarrollo vegetativo e inmediatamente luego de la diferenciación del ápice vegetativo en reproductivo sobre la producción de

biomasa aérea en plantas de *P. ligularis*, *N. tenuis* y *A. ambigua* durante las estaciones de crecimiento de 2012 y 2013. Plantas no defoliadas fueron utilizadas como control. Las hipótesis de trabajo fueron que: (1) las plantas defoliadas dos veces durante la estación de crecimiento compensan la pérdida de material fotosintético en relación a las plantas control, debido a que los meristemas apicales e intercalares permanecen en las mismas luego de aplicar los tratamientos y, (2) las plantas pertenecientes a *P. ligularis* y *N. tenuis*, especies preferidas y de etapas serales tardías e intermedias, respectivamente, presentan una mayor producción de biomasa aérea que *A. ambigua* luego de las defoliaciones aplicadas.

10.2 Materiales y Métodos

10.2.1 Muestreos y Mediciones

Las mismas plantas utilizadas en las mediciones de demografía y crecimiento de macollas (Capítulo 4) fueron utilizadas para estimar la producción de biomasa aérea durante las estaciones de crecimiento en 2012 y 2013 de las especies vegetales expuestas a los tratamientos de defoliación.

Dentro de la clausura se marcaron 20 plantas al azar de cada especie. La mitad ($n= 10$) de las plantas fueron defoliadas dos veces durante la estación de crecimiento tal como se detalló en el Capítulo 3, y la otra mitad permaneció sin defoliar (control). El material vegetal cosechado en cada fecha de defoliación y al final del estudio (22-01-2013 y 28-01-2014) fue secado en estufa a 70 °C durante 72 h y pesado, a fin de obtener la producción de materia seca total, expresada en g MS/planta y g MS/cm² de aérea basal.

10.2.2 Análisis estadísticos

Los datos fueron analizados utilizando el software INFOSTAT (Di Rienzo *et al.*, 2013). Previo al análisis, fueron transformados con $\ln(x+1)$ a fin de cumplir con los supuestos de normalidad y homocedasticidad (Sokal y Rohlf, 1984). En las figuras se presentan los valores sin transformar. Los datos se analizaron mediante ANOVA triple utilizando como factores las especies, los tratamientos de defoliación y los años de estudio. La comparación de medias se realizó mediante el test de Fisher (LSD) protegido, con un nivel de significación del 0,05.

10.3 Resultados

10.3.1 Producción de biomasa aérea (g MS/planta)

El análisis de los datos detectó interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre las especies y los tratamientos de defoliación; y entre las especies y los años.

En 2012, no se registraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los tratamientos de defoliación y las plantas pertenecientes a *P. ligularis* presentaron la mayor ($p \leq 0,05$) producción de materia seca, seguidas por *A. ambigua*, y *N. tenuis* presentó los valores más ($p \leq 0,05$) bajos (Fig. 10.1, a). En 2013, se detectó interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre las especies y los tratamientos de defoliación. *Poa ligularis* y *A. ambigua* no se vieron afectadas ($p > 0,05$) por los tratamientos de defoliación (Fig. 10.1, b), en cambio, las plantas control de *N. tenuis* presentaron mayor ($p \leq 0,05$) producción de biomasa aérea en relación a las plantas defoliadas de su misma especie (Fig. 10.1, b). La producción de biomasa aérea de las plantas defoliadas fue similar ($p > 0,05$) en *P. ligularis* y *A. ambigua*, aunque en ambas especies fue mayor ($p \leq 0,05$) que en *N. tenuis* (Fig. 10.1, b). Al mismo tiempo, las plantas control de *A. ambigua* tuvieron una biomasa similar ($p > 0,05$) a *P. ligularis*, y mayor a aquella en *N. tenuis* (Fig. 10.1, b).

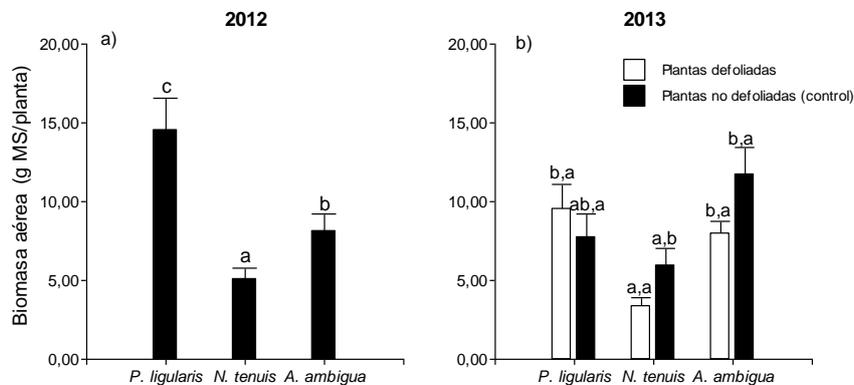


Figura 10.1. Producción de biomasa aérea (g MS/planta) de las especies en estudio en 2012 (a) y 2013 (b). Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar de $n = 20$ (a) y de $n = 10$ (b). Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre especies (a); y letras distintas delante y detrás de coma, entre especies dentro de cada tratamiento y tratamientos dentro de cada especie, respectivamente (b).

10.3.2 Producción de biomasa aérea (g MS/cm² de área basal)

El análisis de los datos detectó interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre las especies, tratamientos de defoliación y años de estudio.

En 2012, no se registraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre especies, y las plantas defoliadas presentaron mayor ($p \leq 0,05$) producción de biomasa aérea que las plantas control (Fig. 10.2, a). En el segundo año de estudio, se detectó interacción significativa ($p \leq 0,05$) entre las especies y los tratamientos de defoliación. En el caso de las especies palatables, se registró un comportamiento diferencial, con los mayores ($p \leq 0,05$) valores de producción en las plantas defoliadas y las plantas control para *P. ligularis* y *N. tenuis* respectivamente (Fig. 10.2, b). Por el contrario, los tratamientos de defoliación no afectaron ($p > 0,05$) la producción de biomasa aérea en las plantas pertenecientes a *A. ambigua* (Fig. 10.2, b). No se registraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre especies en las plantas defoliadas ($p \leq 0,05$); y en las plantas control, *N. tenuis* mostró la mayor ($p \leq 0,05$) producción, seguida por *A. ambigua* y *P. ligularis* presentó los valores más bajos ($p \leq 0,05$; Fig. 10.2, b).

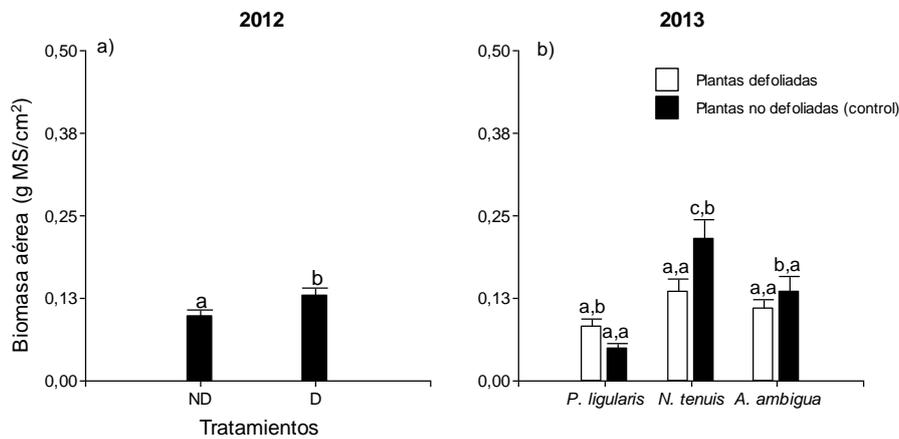


Figura 10.2. Producción de biomasa aérea en relación al área basal (g MS/cm²) de las especies en estudio defoliadas (D) o no (ND, control) en 2012 (a) y en 2013 (b). cada dato es el promedio \pm 1 error estándar de $n = 30$ (a) y de $n = 10$ (b). Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre tratamientos (a); y letras distintas delante y detrás de coma entre especies dentro de cada tratamiento y tratamientos dentro de cada especie, respectivamente (b).

10.4 Discusión

En nuestro estudio, *P. ligularis* y *A. ambigua* presentaron una mayor producción de biomasa aérea por planta que *N. tenuis* en ambos años, debido fundamentalmente a que las mismas presentan mayor área basal (ver Capítulo 4). Además, no se hallaron diferencias entre tratamientos en las tres especies en 2012 y en *P. ligularis* y *A. ambigua* en 2013, mostrando que las especies lograron recuperarse luego de las

defoliaciones aplicadas y lograron una compensación exacta. Las TRC de las plantas defoliadas de las dos especies, mostraron ser similares o mayores en algunos períodos que las plantas control (Capítulo 4); contribuyendo a explicar los resultados obtenidos. Estos resultados, coinciden con los hallados por Ithurrart (2015) quien, trabajando con las mismas especies expuestas a tratamientos de quema y defoliación en el mismo sitio de estudio, obtuvo mayor producción en las plantas de *P. ligularis* y *A. ambigua* que aquellas de *N. tenuis*. Por otro lado, estudios de defoliación realizados en gramíneas forrajeras de ambientes semiáridos (Zhao *et al.*, 2008) y dando tiempo suficiente para que las plantas puedan recuperarse (Briske y Richards, 1995), muestran respuestas compensatorias en la producción de materia seca después de aplicar defoliaciones moderadas, es decir dejando los meristemas activos en las plantas luego de la defoliación (Gittins *et al.*, 2010; Ithurrart, 2015).

Cuando el efecto de tamaño de planta fue eliminado, al final de la estación de crecimiento en 2012, las plantas defoliadas de las tres especies lograron una mayor producción de biomasa aérea por cm² que las plantas control. Esto concuerda con las mayores TRC de las plantas defoliadas de las tres especies comparando a las plantas no defoliadas (Capítulo 4). En cambio, este resultado sólo se observó en *P. ligularis* en 2013; en el caso de *N. tenuis* la producción fue menor en las plantas defoliadas que las plantas control. Diversos trabajos realizados con las mismas especies o de características similares a las de nuestro estudio, han demostrado que la producción de las plantas defoliadas fue superior (Saint Pierre *et al.*, 2004c), menor (Torres, 2011; Rotundo y Aguiar, 2008) o igual (Williamson *et al.*, 1989) a las plantas control. Estas diferencias pueden deberse a que la recuperación de las especies vegetales luego de eventos de defoliación, depende de ciertas condiciones bióticas y abióticas. Las condiciones abióticas que limitan la disponibilidad de recursos (luz, agua, nutrientes), antes y luego de la defoliación pueden tener efectos decisivos en la habilidad de las especies para recuperarse (McNaughton *et al.*, 1983; Busso *et al.*, 1989, 1990). Un mayor estrés hídrico afecta el crecimiento de las plantas y por lo tanto de la producción forrajera (Schultze, 1986) haciendo que no logren compensar la pérdida de tejido fotosintético luego de las defoliaciones aplicadas (Torres, 2011). En nuestro estudio la disponibilidad de agua no fue un factor limitante, debido a que las precipitaciones en 2012 y 2013 fueron superiores o similares a la media (ver Capítulo 2). Por otra parte, defoliaciones leves o moderadas, cuando las condiciones lumínicas y de humedad son las adecuadas para el rebrote, pueden ejercer una influencia positiva en la producción primaria neta anual si los meristemas activos quedan en la planta luego de las defoliaciones (Briske y Richards, 1995). Además, las plantas que compiten con plantas no defoliadas o con vecinos más tolerantes a la herbivoría pueden no recuperarse

efectivamente de la defoliación, aun cuando sí pueden hacerlo completamente de una defoliación similar si se hayan aisladas (Cottam, 1986; Bryant, 1987). Las diferencias específicas halladas en el segundo año de estudio, pueden deberse a una mayor tolerancia al pastoreo y capacidad competitiva mostrada por *P. ligularis* en relación a las demás especies. Se ha demostrado que las especies pertenecientes a etapas sucesionales tardías con respecto a aquellas de etapas sucesionales más tempranas, poseen una mayor capacidad competitiva y estrategias de tolerancia a disturbios más desarrolladas (Saint Pierre *et al.*, 2000, 2002).

Amelichloa ambigua mostró sobrecompensar o compensar exactamente la pérdida de biomasa en los dos años de estudio. Coincidiendo con nuestros resultados, se ha demostrado que esta especie produjo mayor biomasa cuando fue expuesta a defoliaciones moderadas en relación a las plantas control (Saint Pierre *et al.*, 2004c). Por otra parte, estudios de defoliación y quema han afectado negativamente la productividad de esta especie (Ithurrart, 2015). Por lo tanto, serían necesarias otras prácticas de manejo además de la defoliación, para reducir la productividad de las especies no palatables en los pastizales naturales.

La producción de biomasa aérea por planta o por cm² demostró que las especies de etapas serales más tardías pueden tener una producción similar o mayor que las especies de etapas sucesionales más tempranas. Sin embargo, la defoliación selectiva de las especies preferidas, y prácticas de manejo inapropiadas pueden dar lugar a su sustitución por especies menos o no preferidas dentro de la comunidad vegetal (Anderson y Briske, 1995). Se ha demostrado que a medida que se incrementa el número y frecuencia de las defoliaciones, disminuye la producción de materia seca de las gramíneas perennes (Ehrenreich y Aikmann, 1957). Por otra parte, el momento en el cual se producen las defoliaciones es importante; el corte o el pastoreo durante o después de la elongación de los entrenudos puede ser perjudicial para la persistencia de las especies preferidas (Busso y Richards, 1995; Becker *et al.*, 1997a). Las variaciones interanuales de precipitaciones dentro de una región semiárida en particular, afectan la producción de biomasa anual en los pastizales naturales (Giorgetti *et al.*, 1997). Por lo tanto, prácticas de manejo sustentables llevadas a cabo por un pastoreo moderado, intercalando y programado con períodos de descanso, que permitan la recuperación de las especies, sin afectar su ciclo biológico de crecimiento (Anderson, 1983) son críticos para permitir la persistencia de especies de etapas serales tardías y deseables para el ganado doméstico.

CAPÍTULO 11

CONCLUSIONES GENERALES E INVESTIGACIONES FUTURAS

Se evaluaron los efectos de la defoliación en gramíneas perennes C₃ preferidas o no preferidas por el ganado doméstico y de distintas etapas sucesionales sobre diferentes factores que influyen en determinar el flujo de energía y el ciclo de nutrientes (es decir, el funcionamiento) de los ecosistemas en el noreste patagónico. Los factores estudiados fueron: (1) la demografía y el crecimiento de macollas, (2) la producción y dinámica de descomposición de la broza, (3) las comunidades microbianas, (4) la mineralización de N, (5) la diversidad morfológica de los HFMA, (6) el porcentaje de colonización total y de estructuras (vesículas y arbusculas) de micorrizas arbusculares, y (7) la producción de forraje total anual de cada especie estudiada. Las gramíneas perennes estudiadas incluyeron: *A. ambigua* (indeseable y de etapas sucesionales tempranas), *N. tenuis* (deseable y de etapas sucesionales intermedias) y *P. ligularis* (deseable y de etapas sucesionales tardías).

El pastoreo por los animales domésticos, es un disturbio que afecta la estructura (es decir, las características analíticas cuanti y cualitativas) de la comunidad vegetal de los pastizales naturales. El resultado de las interacciones entre los animales domésticos y las plantas tiene un gran impacto en el flujo de energía y en el ciclo de nutrientes, y depende al menos en parte, de la frecuencia e intensidad de dicho disturbio, y del tiempo de recuperación de las plantas al pastoreo. Los resultados de esta tesis aportan información valiosa sobre el conocimiento de algunos factores que contribuyen al funcionamiento del ecosistema bajo estudio.

Los resultados obtenidos permitieron aceptar parte de las hipótesis planteadas inicialmente y rechazar otras. Diferencias inter e intra-anales en la distribución de las precipitaciones llevaron a analizar la variación de los factores estudiados considerando cada año en particular. Esto contribuyó a explicar, la variación interanual de algunos de los parámetros medidos en los tres (2012, 2013 y 2014) años de estudio.

La evaluación de los componentes de crecimiento y producción de biomasa aérea en las especies de gramíneas en estudio, nos permitió aceptar parcialmente las hipótesis planteadas en nuestro estudio. La especie de mayor preferencia animal (*P. ligularis*) pudo sobrecompensar la pérdida de material fotosintético por unidad de área basal luego de las defoliaciones moderadas. Sin embargo, en 2013, las plantas defoliadas de *A. ambigua* compensaron exactamente, y las de *N. tenuis* no alcanzaron a compensar, la producción de materia seca de los controles sin defoliar por unidad de área basal. Estos resultados se obtuvieron dejando los meristemas apicales e intercalares en las plantas de las tres especies luego de las defoliaciones. Las plantas

de *P. ligularis* y *A. ambigua*, debido al mayor área basal, presentaron mayor producción de biomasa aérea por planta que *N. tenuis*. Estos resultados sugieren la necesidad de otras prácticas de manejo, además de la defoliación, que fomenten la presencia de especies de etapas serales más tardías dentro de la comunidad vegetal para mantener una buena calidad de forraje en los pastizales naturales del sudoeste bonaerense. *Amelichloa ambigua*, se vio afectada por los tratamientos de corte principalmente en parámetros como la longitud total de hojas y la altura de macolla. En general, los componentes de crecimiento evaluados fueron superiores en *P. ligularis* que en *A. ambigua*. Las especies preferidas tuvieron un número similar de hojas por macolla, el cual fue mayor al obtenido en la especie no palatable antes de aplicar los tratamientos de defoliación. Luego de los mismos, sin embargo, *A. ambigua* mostró un número mayor de hojas por macolla que las especies preferidas. Esto se debió probablemente a una rápida elongación de los entrenudos en *P. ligularis* y *N. tenuis*, asignando así más recursos a la formación de estructuras reproductivas y altura de macolla (Ithurrt, 2015). Resultados similares se obtuvieron entre *A. ambigua* y *P. ligularis*, cuando se analizó la longitud total de hojas, donde la especie no palatable mostró valores superiores respecto de las especies preferidas luego de los tratamientos de corte.

Las brozas aéreas y subterráneas son un compartimento importante en el ciclo de nutrientes y el flujo de energía. El aporte de la misma por parte de las diferentes especies de plantas es uno de las principales fuentes de materia orgánica en el suelo. Los resultados obtenidos en este estudio apoyaron parcialmente la hipótesis planteada. En general se observó la tendencia de un mayor aporte de broza aérea por parte de las plantas de *P. ligularis* respecto de las demás especies, aunque esta diferencia solo fue significativa en ciertos momentos de su ciclo biológico de crecimiento. Contrariamente a lo esperado, las plantas de *N. tenuis*, presentaron la menor producción total de material senescente aéreo en comparación a *P. ligularis* y *A. ambigua* en ambos años de estudio; esto puede ser debido principalmente a su menor tamaño de área basal. El menor aporte de broza aérea de las especies palatables ocurrió durante el otoño e invierno, y el mayor fue hacia el final de la estación de crecimiento de las mismas. En el caso de la especie no palatable, posiblemente debido a su menor esfuerzo reproductivo (Ithurrt, 2015), las diferencias estacionales fueron menos notorias.

Conocer la dinámica de la descomposición de las brozas aérea y subterránea es indispensable para evaluar los efectos sobre la fertilidad del suelo producidos por el reemplazo de especies en los pastizales naturales. Los resultados obtenidos en el presente estudio permitieron aceptar la primera hipótesis planteada referida a que

diferencias en la calidad del material vegetal afectan la pérdida de materia orgánica y de N desde ambos tipos de broza. Sin embargo, respecto de la segunda hipótesis, la descomposición en ambos tipos de broza no se vio afectada por la defoliación y la identidad de las especies influyó sobre las variables en relación al momento de muestreo. Esto fue debido en parte, a que las plantas de las tres especies lograron recuperarse rápidamente luego de aplicar los tratamientos de corte. En general, la broza aérea de las especies palatables presentó mayor contenido inicial de N y una mayor pérdida de materia orgánica en relación a *A. ambigua*. Lo contrario ocurrió en el caso de las raíces, donde el material vegetal de la especie no palatable tuvo un mayor contenido inicial de N y pérdida de materia orgánica con respecto a aquel de *P. ligularis* y *N. tenuis*. La pérdida de materia orgánica desde los distintos tipos de material vegetal, varió sólo en el cuarto muestreo, en relación a la identidad de las especies donde fueron colocados a descomponer. En general, las brozas aéreas de *N. tenuis* (en el estudio 2012-2014) y *P. ligularis* (en el estudio 2013-2014) se descompusieron más rápido debajo del follaje de las especies preferidas. En el estudio 2012-2014, la broza subterránea de *A. ambigua* se descompuso más rápido debajo de las especies palatables, y debajo de su misma especie no se diferenció del material radical de las demás especies. Respecto de la dinámica de N, en el primer muestreo, las láminas de *N. tenuis* presentaron menor contenido de dicho nutriente cuando fueron colocadas debajo de las plantas de su misma especie, respecto al material puesto a descomponer bajo *A. ambigua*. En el tercer muestreo, las raíces de *N. tenuis* presentaron menor contenido de N debajo de las especies preferidas, y las raíces de *P. ligularis* debajo de las plantas de *N. tenuis*. En el caso de las especies palatables, los contenidos iniciales de N en ambos tipos de broza fueron superiores en *N. tenuis* respecto de *P. ligularis*. En el tercer muestreo, sin embargo, no se registraron diferencias entre estas especies en las brozas aéreas y subterráneas cuando fueron colocadas a descomponer debajo de plantas de su misma especie. Los contenidos iniciales de N de las raíces de *A. ambigua* disminuyeron en gran medida desde los primeros muestreos, demostrando una relación positiva entre los mismos y la pérdida de materia orgánica desde la broza subterránea. En síntesis, la identidad de las especies y los efectos micro climáticos asociados a las mismas, serían un componente a considerar en etapas avanzadas del proceso de descomposición en estudios de la dinámica de los nutrientes en los pastizales naturales. Además, en futuras investigaciones sería importante determinar la concentración y contenido de lignina, P y compuestos fenólicos de las brozas aérea y subterránea de estas especies, y evaluar la existencia de efectos microclimáticos en la dinámica de los mismos.

El conocimiento de la estructura y actividad de las comunidades bacterianas asociadas a las especies de gramíneas en estudio, y los efectos que la defoliación puede tener sobre las mismas, resulta un factor clave para poder entender las complejas interacciones entre los microorganismos descomponedores de la materia orgánica del suelo y de la broza que ingresa al sistema. Los resultados obtenidos en nuestro estudio permitieron aceptar parcialmente las hipótesis planteadas. Solo durante 2012, las comunidades bacterianas asociadas a las especies de gramíneas perennes preferidas mostraron ser más heterogéneas que las asociadas a *A. ambigua*. Por otro lado, los tratamientos de defoliación afectaron principalmente a las comunidades asociadas a la especie no palatable en ambos años de estudio, aunque este efecto se perdió luego del segundo tratamiento de corte. Respecto de la actividad de las comunidades microbianas, la alta capacidad competitiva de las especies palatables contribuiría a explicar la mayor sensibilidad registrada en esta variable en respuesta a los tratamientos de defoliación. Aunque no fue consistente en todos los años y fechas de muestreo, el mayor tamaño y producción de broza aérea de buena calidad de las plantas perteneciente de *P. ligularis* contribuirían a explicar los mayores valores de respiración basal registrados debajo de su follaje en relación a las demás especies. Los efectos sobre la estructura de las comunidades bacterianas parecieron relacionarse más con la identidad de las especies a las cuales se encontraron asociados que a los tratamientos de defoliación aplicados. Además, la actividad de las comunidades microbianas mostró ser más sensible en el suelo asociado a las especies de etapas serales más tardías. Para lograr una mejor comprensión de los resultados obtenidos, se podrían utilizar otras técnicas que complementen a las empleadas en esta tesis. Estas técnicas están basadas en el análisis de marcadores moleculares, tales como el perfil de ácidos grasos de fosfolípidos (PLFA) que permitirá determinar distintos grupos funcionales de microorganismos (Zelles, 1999), y el potencial metabólico de los mismos caracterizando de los perfiles fisiológicos a nivel de comunidad (CLPP; Garland *et al.*, 2010) en los suelos asociados a las especies vegetales en estudio.

El estudio de mineralización de nitrógeno nos permitió aceptar parcialmente la primera hipótesis planteada. Si bien, la concentración inicial de N inorgánico fue mayor en los suelos asociados a las especies palatables, que aquellos correspondientes a *A. ambigua*, en las incubaciones realizadas a campo durante 2013, los valores de mineralización fueron mayores en *A. ambigua* que en *P. ligularis* y *N. tenuis*. El mayor contenido de N en la broza subterránea de *A. ambigua*, la mayor descomposición de sus raíces y el retraso de su ciclo biológico (Ithurrart, 2015) pueden contribuir a explicar estos resultados. Si bien en las incubaciones aeróbicas realizadas en

laboratorio se observó la misma tendencia, excepto en $t=5$, no se registraron diferencias significativas entre especies. Por otra parte, la segunda hipótesis planteada fue rechazada, no se detectaron efectos de los tratamientos de defoliación en la mineralización de este nutriente dentro de las especies de gramíneas durante los dos años de estudio.

La simbiosis entre las raíces y los HFMA, es una de las múltiples estrategias que permiten la supervivencia de las especies vegetales a diferentes disturbios, como la defoliación. Además, estos simbiosiontes, contribuyen a la absorción de nutrientes y a incrementar las tasas de descomposición, favoreciendo así el establecimiento y la persistencia de las comunidades vegetales en los pastizales semiáridos. En nuestro estudio, las esporas aisladas fueron agrupadas en 15 morfoespecies. *Funneliformis mosseae*, *F. geosporum*, *R. irregularis*, *D. spurca* y *A. mellea* fueron las especies dominantes, seguidas por *Glomus* sp y *C. etunicatum*. En general, para las familias más abundantes (Acaulosporaceae, Diversisporaceae y Glomeraceae), *P. ligularis* presentó los valores más altos de densidad de esporas. Tal como fue propuesto en la segunda hipótesis de nuestro estudio, los tratamientos de defoliación no afectaron la densidad, riqueza y diversidad total de especies de HFMA. Además, *Poa ligularis* fue la especie de gramínea que presentó mayor densidad total de HFMA, y junto con *A. ambigua* presentaron mayor riqueza de HFMA que los sitios sin vegetación. Respecto de los estudios de colonización total y de calidad de la colonización micorrízica, no pudo establecerse un patrón claro de los efectos de los tratamientos de corte sobre las estructuras estudiadas. En general, las plantas de *P. ligularis* presentaron un mayor porcentaje de vesículas que las demás especies durante los dos años de muestreo. Por otro lado, el porcentaje de arbusculas asociado a las raíces de *A. ambigua* fue mayor que aquel observado en *P. ligularis* y *N. tenuis* en la última fecha. Este resultado estaría demostrando una mayor dependencia de *A. ambigua* hacia la simbiosis con HFMA. Esto le permitiría a dicha especie aumentar la superficie exploratoria de los recursos del suelo y recuperarse luego de un disturbio. Si bien las muestras obtenidas para analizar el efecto sobre las comunidades de HFMA asociados a las gramíneas perennes y tratamientos de defoliación se compararon con aquellas de los sitios sin vegetación, las esporas extraídas de los muestreos a campo presentan heterogeneidad en cuanto al momento de su formación y edad. La realización de estudios sobre las mismas especies de gramíneas, comparando sitios con diferentes historias de pastoreo, efectuando tinciones vitales de esporas, permitirá evaluar, cambios en la actividad micorrízica y su potencial como propágulos en el suelo con mayor especificidad (An et al., 1998).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aber, J.D., Melillo J.M. 1991. *Terrestrial Ecosystems*. Saunder College Publishing, Philadelphia. Pp 429.
- Abril, A. 2003. ¿Son los microorganismos edáficos buenos indicadores de impacto productivo en los ecosistemas? *Ecología Austral* 13:195-204.
- Adams, M.A., Attiwill, P.M. 1986. Nutrient cycling and nitrogen mineralization in eucalypt forest of south-east Australia. *Plant and Soil* 92: 341-362.
- Aerts, R. 1995. The advantages of being evergreen. *Trends in Ecology & Evolution* 10: 402-407.
- Aerts, R. 1997. Climate, leaf litter chemistry and leaf litter decomposition in terrestrial ecosystems: a triangular relationship. *Oikos* 79: 439-449.
- Aerts, R., Chapin, F.S. 2000. The mineral nutrition of wild plants revisited: a re-evaluation of processes and patterns. *Advances in Ecological Research* 30: 1–67.
- Agrawal, A.A. 2000. Overcompensation of plants in response to herbivory and the by-product benefits of mutualism. *Trends in Plant Science* 5: 309-313.
- Alef, K., Nannipieri, P. (eds.). 1995. *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press, London, 576 pp.
- Aliasgharzadeh, N., Saleh Rastin, N., Towfighi, H., Alizadeh, A. 2001. Occurrence of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in saline soils of the Tabriz Plain of Iran in relation to some physical and chemical properties of soil. *Mycorrhiza* 11: 119-122.
- Allen, M.F. 1991. Community ecology. In: Barnes RSK, Brks HJB, Connor EF, Harper JL, Paine RL, eds. *The ecology of mycorrhizae*. Cambridge, UK: Cambridge University Press. pp 72-101.
- Allen, M.F. 1996. The ecology of arbuscular mycorrhizas: a look back into the 20th century and a peek into the 21st. *Mycological Research* 100: 769-782.
- Allen, M.F., Richards, J.H., Busso, C.A. 1989. Influence of clipping and soil water status on vesicular-arbuscular mycorrhiza of two semi-arid tussock grasses. *Biology and Fertility of Soils* 8: 285-289.
- Allsopp, N. 1998. Effect of defoliation on the arbuscular mycorrhizas of three perennial pasture and rangeland grasses. *Plant and Soil* 202: 117-124.
- Amann, R.I., Ludwig, W., Schleifer, K.H. 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological Reviews* 59 (1): 143–169.

- An, Z.Q., Guo, B.Z., Hendrix, J.W. 1998. Viability of soilborne spores of glomalean mycorrhizal fungi. *Soil Biology & Biochemistry* 30:1133-1136.
- Anderson, D.L. 1983. Compatibilidad entre pastoreo y mejoramiento de los pastizales naturales. *Revista Argentina de Producción Animal* 10: 3-22.
- Anderson, V.J., Briske, D.D. 1995. Herbivore-induced species replacement in grasslands: is it driven by herbivory tolerance or avoidance? *Ecological Applications* 5: 1014-1024.
- Andrade, G., Mihara, K., Linderman, R., Bethlenfalvay, G. 1998. Soil aggregation status and rhizobacteria in the mycorrhizosphere. *Plant and Soil* 202: 89-96.
- Andrioli, R.J., Distel, R.A. 2008. Litter quality of C3 perennial grasses and soil inorganic nitrogen in a semiarid rangeland of central Argentina. *Journal of Arid Environments* 72: 1684-1689.
- Andrioli, R.J., Distel, R.A., Didoné, N.G. 2010. Influence of cattle grazing on nitrogen cycling in soils beneath *Stipa tenuis*, native to central Argentina. *Journal of Arid Environments* 74: 419-422.
- Anslow, R.C. 1966. The rate of appearance of leaves on tillers of the gramineae. *Herbage Abstract* 36: 149-155.
- Archer, S., Smeins, F.E. 1991. Ecosystem-level processes. In *Grazing Management: An Ecological Perspective*, eds. R. K. Heitschmidt and J. W. Stuth. Portland, OR: Timber Press.
- Ares, J., Beeskow, A.M., Bertiller, M.B., Rostagno, C.M., Irisarri, M., Anchorena, J., Defosse, G., Merino, C. 1990. Structural and dynamic characteristics of overgrazed lands of northern Patagonia, Argentina. In: Breymer A. (ed.). *Managed Grasslands*. Elsevier Science, Amsterdam, pp 149-175.
- Arriaga, L., Maya, Y. 2007. Spatial variability in decomposition rates in a desert scrub of Northwestern Mexico. *Plant Ecology* 189: 213-225.
- Atul-Nayyar, A., Hamel, C., Hanson, K., Germida, J. 2009. The arbuscular mycorrhizal symbiosis links N mineralization to plant demand. *Mycorrhiza* 19: 239-246.
- Auge, R.M. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* 11: 3-42.
- Austin, A.T., Araujo P.I., Leva P.E. 2009. Interaction of position, litter type, and water pulses on decomposition of grasses from the semiarid Patagonian steppe. *Ecology* 90 (9): 2642-2647.
- Austin, A.T., Sala, O.E., Jackson, R.B. 2006. Inhibition of nitrification alters carbon turnover in the
- Austin, A.T., Vivanco, L. 2006. Plant litter decomposition in a semiarid ecosystem controlled by photodegradation. *Nature* 442: 555-558.

- Austin, A.T., Yahdjian, L., Stark, J.M., Belnap, J., Porporato, A., Norton, U., Ravetta, D.A., Schaeffer, S.M. 2004. Water pulses and biogeochemical cycles in arid and semiarid ecosystems. *Oecologia* 141: 221-235.
- Ayres, E., Dromph, K.M., Bardgett, R.D. 2006. Do plant species encourage soil biota that specialise in the rapid decomposition of their litter? *Soil Biology & Biochemistry* 38: 183-186.
- Ayres, E., Steltzer, H., Berg, S., Wall, D.H. 2009. Soil biota accelerate decomposition in high-elevation forests by specializing in the breakdown of litter produced by the plant species above them. *Journal of Ecology* 97: 901-912.
- Bardgett, R.D. 2005. *The biology of soil: a community and ecosystem approach*. Oxford University Press, Oxford. Pp 242.
- Bardgett, R.D., Mawdsley, J.L., Edwards, S., Hobbs, P.J., Rodwell, J.S., Davies, W.J. 1999. Plant species and nitrogen effects on soil biological properties of temperate upland grasslands. *Functional Ecology* 13: 650-660.
- Bardgett, R.D., Wardle, R.D., Yeates, G.W. 1998. Linking aboveground and belowground interactions: how plant responses to foliar herbivory influence soil organisms. *Soil Biology & Biochemistry* 30: 1867-1878.
- Barriga, J., Visbal, M., Acero, J. 2011. Relación entre los caracteres de las micorrizas arbusculares nativas con las propiedades físicoquímicas del suelo y bromatología del pasto estrella en ganadería de carne. *Revista Científica UDO Agrícola* 11(1): 134-141.
- Barto, E., Alt, F., Oelmann, Y., Wilcke, W., Rillig, M. 2010. Contributions of biotic and abiotic factors to soil aggregation across a land use gradient. *Soil Biology & Biochemistry* 42: 2316-2324.
- Barto, E., Rillig, M. 2010. Does herbivory really suppress mycorrhiza? A meta-analysis. *Journal of Ecology* 98: 745-753.
- Bauer, A., Cole, C.V., Black, A.L. 1987. Soil property comparisons in virgin grasslands between grazed and nongrazed management systems. *Soil Science Society of America Journal* 51: 176-182.
- Becker, G.F., Busso, C.A., Montani, T. 1997a. Effects of defoliating *Stipa tenuis* and *Piptochaetium napostaense* at different phenological stages. I. Axillary bud viability and growth. *Journal of Arid Environments* 35:233-250
- Becker, G.F., Busso, C.A., Montani, T., Brevedan, R.E., Orchansky, A., Burgos, M.A., Flemmer, A.C. 1997b. Effects of defoliating *Stipa tenuis* and *Piptochaetium napostaense* at different phenological stages. II. Tiller demography and growth. *Journal of Arid Environments* 35: 251-268.

- Belnap, J. 1995. Surface disturbances: their role in accelerating desertification. *Environmental Monitoring and Assessment* 37 (1): 39-57.
- Belsky, A.J. 1986. Does herbivory benefit plants? A review of evidence. *The American Naturalist* 127: 870-892.
- Belsky, A.J. 1992. Effects of grazing, competition, disturbance and fire on species composition and diversity in grassland communities. *Journal of Vegetation Science* 3: 187-200.
- Bentivenga, S., Hetrick, B. 1992. Seasonal and temperature effects on mycorrhizal activity and dependence of cool and warm-season tallgrass prairie grasses. *Canadian Journal of Botany* 70: 1596-1602.
- Berg, B. 1986. Nutrient release from litter and humus in coniferous forest soils-a mini review. *Scandinavian Journal of Forest Research* 1: 359-369.
- Bertiller, M.B., Bisigato, A.J. 1998. Vegetation dynamics under grazing disturbance. The state – and – transition model for the Patagonian steppes. *Ecología Austral* 8: 191-199.
- Bethlenfalvai, G., Dakessian, S. 1984. Grazing effects on mycorrhizal colonization and floristic composition of the vegetation on a semiarid range in northern Nevada. *Journal of Range Management* 37: 312-316.
- Bethlenfalvai, G.J., Evans, R.A., Lesperance, A. 1985. Mycorrhizal colonization of crested wheatgrass as influenced by grazing. *Agronomy Journal* 77: 233-236.
- Binkley, D., Hart, S.C. 1989. The components of nitrogen availability assessments in forest soils. *Advances in Soil Science* 10: 57-112.
- Binkley, D., Vitousek, P. 1989. Soil nutrient availability. In: R. W. Pearcy, J. R. Ehleringer, H. A. Mooney, and P. W. Rundel (eds.). *Plant physiological ecology. Field methods and instrumentation*. Chapman and Hall. London. pp. 75- 96.
- Biondini, M.E., Patton, B.D., Nyren, P.E. 1998. Grazing intensity and ecosystem processes in Northern Mixed-Grass Prairie, USA. *Ecological Applications* 8: 469-479.
- Bo Pedersen L., Bille-Hansen, J. 1999. A comparison of litterfall and element fluxes in even aged Norway spruce, sitka spruce and beech stands in Denmark. *Forest Ecology and Management* 114: 55-70.
- Bokhari, U.G., Singh, J.S. 1974. Effects of temperature and clipping on growth, carbohydrate reserves and root exudation of western wheatgrass in hydroponic culture. *Crop Science* 14: 790-794.
- Borman, F.H., Likens, G.E. 1979. *Pattern and process in a forested ecosystem*. Springer. Verlag, New York. 253 pp.

- Brandt, L.A., King, J.Y., Milchunas, D.G. 2007. Effects of ultraviolet radiation on litter decomposition depend on precipitation and litter chemistry in a shortgrass steppe ecosystem. *Global Change Biology* 13: 2193-2205.
- Branson, F.A. 1953. Two factors affecting resistance of grasses to grazing. *Journal of Range Management* 6: 165-171.
- Bray, J.R., Gorham, E. 1964. Litter production in forests of the world. *Advances in Ecological Research* 2: 101-157.
- Bremer, J.D., Ham, J.M., Owensby, C.E., Knapp, A.K. 1998. Responses of soil respiration to clipping and grazing in a tallgrass prairie. *Journal of Environmental Quality* 27 (6): 1539-1548.
- Brevedan, R.E., Busso C.A., Montani, T., Fernández, O.A. 1996. Production and nitrogen cycling in an ecosystem of *Eragrostis curvula* in semiarid Argentina. II. Nitrogen content and transfers. *Acta Oecologica, International Journal of Ecology* 17:211-223.
- Briske, D.D. 1991. Developmental morphology and physiology of grasses. En: *Grazing Management: An Ecological Perspective*. Heitschmidt, RK, Stuth, JW (eds.). Timber Press, Inc., Portland, Oregon, USA, 259 pp.
- Briske, D.D. 1998. Strategies of plant survival in grazed systems: a functional interpretation. In: Hodgson, J. & Illius, A.W. (eds.), pp 37-67. *The Ecology and Management of Grazing Systems*, CAB International, New York. 466 p.
- Briske, D.D., Richards, J.H. 1995. Plant response to defoliation: A physiologic, morphologic and demographic evaluation. In Bedunah DJ, Sosebee RE (eds.). *Wildland Plants: Physiological Ecology and Developmental Morphology*. Society for Range Management. Denver, Colorado, USA. pp. 635-710.
- Brown, A., Bledsoe, C. 1996. Spatial and temporal dynamics of mycorrhizas in *Jaumea carnosa*, a tidal saltmarsh halotype. *Journal of Ecology* 84: 703-715.
- Brown, R.W. 1995. The water relations of range plants: adaptations to water deficits. En: *Wildland Plants: Physiological Ecology and Developmental Morphology*. Bedunah, D.J., Sosebee, R.E. (eds.). Society for Range Management. Denver, Colorado, USA. pp. 291-413.
- Brundrett, M., Abbot, L., Jasper, D. 1994. Glomalean fungi from tropical Australia I. Comparison of the effectiveness of isolation procedures. *Mycorrhiza* 8: 305-314.
- Bryant, J.P. 1987. Feltleaf willow-snowshoe hare interactions: plant carbon/nutrient balance and floodplain succession. *Ecology* 68: 1319-1327.
- Buscot, F., Varma, A. (eds.). 2005. *Microorganisms in Soils: Roles in Genesis and Functions*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg press, Germany, 419 pp.

- Busso, C.A., Bonvissuto, G.L., Torres, Y.A. 2010. Germination and seedling establishment of grasses and shrubs in arid Patagonia, Argentina. *Land Degradation and Development* 23: 116-129.
- Busso, C.A., Briske, D.D., Olalde-Portugal, V. 2001. Root traits associated with nutrient exploitation following defoliation in three coexisting perennial grasses in a semi-arid savanna. *Oikos* 93: 332-342.
- Busso, C.A., Fernández, O. A. 2016. Arid and Semiarid Territories in Argentina. En: *Climate variability, land-use change and impact on livelihoods in arid land*. Springer. Berlin, en prensa.
- Busso, C.A., Gittins, C., Becker, G.F., Ghermandi, L. 2011. Tiller hierarchy and defoliation frequency determine bud viability in the grass *Poa ligularis*. *Ecological Research* 26: 985-997.
- Busso, C.A., Mueller, R.J., Richards, J.H. 1989. Effects of drought and defoliation on bud viability in two caespitose grasses. *Annals of Botany* 63: 477-485.
- Busso, C.A., Richards, J.H. 1995. Drought and clipping effects on tiller demography and growth of two bunch grasses in Utah. *Journal of Arid Environment* 29: 239-251.
- Busso, C.A., Richards, J.H., Chatterton, N.J. 1990. Nonstructural carbohydrates and spring regrowth of two cool-season grasses: Interaction of drought and clipping. *Journal of Range Management* 43: 336-343.
- Bussotti, F., Borghini, F., Celesti, C., Leonzio, C., Cozzi, A., Bettini, D., Ferretti, M. 2003. Leaf shedding, crown condition and element return in two mixed holm oak forests in Tuscany, central Italy. *Forest Ecology and Management* 76: 273-285.
- Cabrera, A.L. 1970. Flora de la Provincia de Buenos Aires. Gramíneas. Colección Científica INTA 4 (2): 1-624.
- Cabrera, A.L. 1976. Regiones fitogeográficas Argentinas. En: *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*. Ferreira Sobral, E.F. (ed.). ACME, Buenos Aires, Argentina, p. 1-85.
- Cai, X.B., Peng, Y.L., Yang, M.N., Zhang, T., Zhang, Q. 2014. Grassland Degradation Decrease the Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Species in Tibet Plateau. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 42(2): 333-339.
- Campanella, M.V., Bertiller, M.B. 2008. Plant phenology, leaf traits, and leaf litterfall of contrasting life forms in the arid Patagonian Monte, Argentina. *Journal of Vegetation Science* 19 (1): 75-85.
- Campanella, M.V., Bertiller, M.B. 2010. Leaf litterfall patterns of perennial plant species in the arid Patagonian Monte, Argentina. *Plant Ecology* 210: 43-52.

- Cano, E. 1988. Pastizales naturales de La Pampa. Descripción de las especies más importantes. Convenio AACREA - Provincia de La Pampa, Argentina, 438 pp.
- Carmona, M., Aguilera, M., Pérez, C. y Serey, I. 2006. Actividad Respiratoria en el horizonte orgánico de suelos de ecosistemas forestales del centro y sur de Chile. *Gayana Botanica* 63: 1-12.
- Carrera, A.L., Bertiller, M.B., Larreguy, C. 2008. Leaf litterfall, fine-root production, and decomposition in shrublands with different canopy structure induced by grazing in the Patagonian Monte, Argentina. *Plant and Soil* 311: 39-50.
- Carrera, A.L., Bertiller, M.B., Sain, C.L., Mazzarino, M.J. 2003. Relationship between plant nitrogen conservation strategies and the dynamics of soil nitrogen in the arid Patagonian Monte, Argentina. *Plant and Soil* 255: 595-604.
- Carrera, A.L., Sain, C.L., Bertiller, M.B., 2000. Patterns of nitrogen conservation in shrubs and grasses in the Patagonian Monte, Argentina. *Plant and Soil* 224: 185-193.
- Carrera, A.L., Vargas, D.N., Campanella, M.V., Bertiller, M.B., Sain, C.L., Mazzarino, M.J., 2005. Soil nitrogen in relation to quality and decomposability of plant litter in the Patagonian Monte, Argentina. *Plant Ecology* 181: 139-151.
- Carvalho, L.M., Caçador, I., Martins-loução, M. 2001. Temporal and spatial variation of arbuscular mycorrhizas in salt marsh plants of the Tagus estuary (Portugal). *Mycorrhiza* 11: 303-309.
- Celaya-Michel, H., Castellanos-Villegas, A. E. 2011. Mineralización de nitrógeno en el suelo de zonas áridas y semiáridas. *Terra Latinoamericana* 29 (3): 343-356.
- Chagnon, P., Bradley, R.L., Maherali, H., Klironomos, J.N. 2013. A trait-based framework to understand life history of mycorrhizal fungi. *Trends in Plant Science* 18: 484-49.
- Chaneton, E.J., Lemcof, J.H., Lavado, R.S. 1996. Nitrogen and phosphorous cycling in grazed and ungrazed plots in a temperate subhumid grassland in Argentina. *Journal of Applied Ecology* 33: 291-302.
- Chapin, F.S. 1991. Effects of multiple stresses on nutrient availability and use. In: *Response of Plants to Multiple Stresses* (ed. by H.A. Mooney, W.E. Winner and E.J. Pell). Academic Press, San Diego. pp. 67-88.
- Cheng, L., Booker, F., Tu, C., Burkey, K., Zhou, L., Shew, H., Rufty, T., Hu, S. 2012. Arbuscular mycorrhizal fungi increase organic carbon decomposition under elevated CO₂. *Science* 337: 1084-1087.
- Cingolani, A., Posse, G., Collantes, M. 2005. Plants traits, herbivore selectivity and response to sheep grazing in Patagonia steppe grasslands. *Journal of Applied Ecology* 42: 50-59.

- Clein, J.S., Schimel, J.P. 1994. Reduction in microbial activity in birch litter due to repeated drying and rewetting events. *Soil Biology & Biochemistry* 26: 403-406.
- Colabelli, M., Agnusdei, M., Mazzanti, A., Labrveux, M. 1998. El proceso de crecimiento y desarrollo de gramíneas forrajeras como base para el manejo de la defoliación. Fundamentos para el manejo del pastoreo de pastizales y pasturas en la Pampa Húmeda Bonaerense. Boletín Técnico N° 147. E.E.A. Balcarce, INTA.
- Coley, P.D. 1988. Effects of plant growth rate and leaf life time on the amount and type of anti-herbivore defense. *Oecologia* 74: 531-536.
- Collins, S.L., Knapp, A.K., Briggs, J.M., Blair, J.M., Steinauer, E.M. 1998. Modulation of diversity by grazing and mowing in native tallgrass prairie. *Science* 280 (May (5364)) 745-747.
- Cornelissen, J.H.C. 1996. An experimental comparison of leaf decomposition rates in a wide range of temperate plant species and types. *Journal of Ecology* 84: 573-582.
- Cornelissen, J.H.C., Thompson, K. 1997. Functional leaf attributes predict litter decomposition rate in herbaceous plants. *New Phytologist* 135 (1): 109-114.
- Cornwell, W.K., Cornelissen, J.H.C., Amatangelo, K., Dorrepaal, E., Eviner, V.T., Godoy, O., Hobbie, S.E., Hoorens, B., Kurokawa, H.P., Erez-Harguindeguy, N. *et al.* 2008. Plant species traits are the predominant control on litter decomposition rates within biomes worldwide. *Ecology Letters* 11: 1065-1071.
- Correa, M.N. 1978. Gramineae, Flora Patagónica. Colección Científica INTA 8(3): 1-563.
- Cottam, D.A. 1986. The effects of slug-grazing on *Trifolium repens* and *Dactylis glomerata* in monoculture and mixed sward. *Oikos* 47: 275-279.
- Coughenour, M.B. 1985. Graminoid responses to grazing by large herbivores: adaptations, exaptations, and interacting processes. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 72: 852-863.
- Craine, F.M., Wedin, D.A., Chapin III, F.S. 1999. Predominance of ecophysiological controls on soil CO₂ flux in a Minnesota grassland. *Plant and Soil* 207: 77-86.
- Das, M., Royer, T.V., Leff, L.G. 2007. Diversity of Fungi, Bacteria, and Actinomycetes on Leaves Decomposing in a Stream. *Applied and Environmental Microbiology* 73(3): 756-767.
- Davidson, D.E., Christensen, M. 1977. Root-microfungal associations in a shortgrass prairie. In: Marshall J.K. (ed.). *The belowground ecosystem: A synthesis of plant associated processes*. Colorado State University, Fort Collins, pp 279-287.

- Davidson, D.W. 1993. The effects of herbivory and granivory on terrestrial plant succession. *Oikos* 68: 23-35.
- Davidson, J.L., Milthorpe, F.L. 1966. Leaf growth in *Dactylis glomerata* following defoliation. *Annals of Botany* 30: 173-184.
- Descheemaeker, K., Muys, B., Nyseen, J., Poesen, J., Raes, D., Haile, M., Deckers, J. 2006. Litter production and organic matter accumulation in exclosures of the Tigray highlands, Ethiopia. *Forest Ecology and Management* 233: 21-35.
- Detling, J.K., Dyer, M.I., Procter-Gregg, C., Win, D.T. 1980. Plant-herbivore interactions: Examination of potential effects of bison saliva on regrowth of *Bouteloua gracilis* (H.B.K.) Lag. *Oecologia* 45: 26-31.
- Detling, J.K., Dyer, M.I., Winn, D.T. 1979. Net photosynthesis, root respiration, and regrowth of *Bouteloua gracilis* following simulated grazing. *Oecologia* 41: 127-134.
- Dhillon, S.S. 1992. Evidence for host mycorrhizal preference in native grassland species. *Mycological Research* 96: 359-362.
- Dhillon, S.S., Gardsjord, T. 2004. Arbuscular mycorrhizas influence plant diversity, productivity, and nutrients in boreal grasslands. *Canadian Journal of Botany* 82: 104-114.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M., Robledo, C.W. INFOSTAT versión 2013. Grupo INFOSTAT, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Dilly, O., Munch, J.C. 1996. Microbial biomass content, basal respiration and enzyme activities during the course of decomposition of leaf litter in a black alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) forest. *Soil Biology & Biochemistry* 28: 1073-1081.
- Distel, R.A. 2016. Grazing ecology and the conservation of the caldenal rangelands, Argentina. *Journal of Arid Land* 134: 49-55.
- Distel, R.A., Bóo, R.M. 1996. Vegetation states and transitions in temperate semiarid rangelands of Argentina. En: *Proceedings of the Vth International Rangeland Congress. Rangelands in a Sustainable Biosphere*. West, E.N. (ed.). Society for Range Management, Salt Lake City, USA, p. 117-118.
- Distel, R.A., Pietragalla, J., Rodríguez Iglesias, R.M., Didoné, N.G., Andrioli, R.J. 2008. Restoration of palatable grasses: a study case in degraded rangelands of central Argentina. *Journal of Arid Environment*. 72: 1968-1972.
- Dornbush, M.E. 2007. Grasses, litter, and their interaction affect microbial biomass and soil enzyme activity. *Soil Biology & Biochemistry* 39: 2241-2249.

- Dyer, M.I. 1975. The effect of red-winged blackbirds (*Agelaius phoeniceus* L.) on biomass production of corn grains (*Zea mays* L.). *Journal of Applied Ecology* 12: 719-726.
- Dyer, M.I., Bokhari U.G. 1976. Plant-animal interactions: studies of the effects of grasshopper grazing on blue grama grass. *Ecology* 57: 762-772.
- Dyer, M.I., Turner, C.L., Seastedt, T.R. 1991. Herbivory and its consequences. *Ecological Applications* 3:10-16.
- Ebbers, B., Anderson, R., Liberta, A. 1987. Aspects of the mycorrhizal ecology of prairie dropseed, *Sporobolus heterolepis* (Poaceae). *American Journal of Botany* 74: 564-573.
- Ehrenreich, J.H., Aikman, J.M. 1957. Effects of burning on seedstalk production of native prairie grasses. *The proceedings of the Iowa Academy of Science*. Pp. 64.
- Ekschmitt, K., Klein, A., Pieper, B., Wolters, V. 2001. Biodiversity and functioning of ecological communities-why is diversity important in some cases and unimportant in others? *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 164: 239-246.
- Elisetch, M. 2012. Manejo sustentable de ecosistemas áridos y semiáridos para el control de la desertificación en la Patagonia. Proyecto GEF Arg/07/G35, 152 pp.
- Ellison, L. 1960. Influence of grazing on plant succession of rangelands. *Botanical Review* 26: 1-78.
- Emmerling, C., Schloter, M., Hartmann, A., Kander, E. 2002. Functional diversity of soil organisms- a review of recent research activities in Germany-. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 165: 408-420.
- Enriquez, S., Duarte, M., Sand-Jensen, K. 1993. Patterns in decomposition rates among photosynthetic organisms: the importance of detritus C:N:P content. *Oecologia* 94: 457-471.
- Eom, A., Hartnett, D., Wilson, G. 2000. Host plant species effects on arbuscular mycorrhizal fungal communities in tallgrass prairie. *Oecologia* 122: 435-444.
- Eom, A., Hartnett, D.C., Wilson, G.W.T., Figge, D.A.H. 1999. The effect of fire, mowing and fertilizer amendment on arbuscular mycorrhizas in tallgrass prairie. *American Midland Naturalist* 142: 55-70.
- Eom, A., Wilson, G., Hartnett, D. 2001. Effects of ungulate grazers on arbuscular mycorrhizal symbiosis and fungal community composition in tallgrass prairie. *Mycologia* 93: 233-242.

- Escudero, A., Mediavilla, S. 2003. Decline in photosynthetic nitrogen use efficiency with leaf age and nitrogen resorption as determinants of leaf life span. *Journal of Ecology* 91: 880-889.
- Evans, R.D., Rimer, R., Sperry, L., Belnap, J. 2001. Exotic plant invasion alters nitrogen dynamics in an arid grassland. *Ecological Applications* 11: 1301-1310.
- Fernández Mayer, A.E., Lauric, A., Tulesi, M., Gómez, D., Vázquez, L. 2010. Evaluación de la calidad nutricional del pasto puna (*Stipa brachychaeta* Godron) y la paja vizcachera (*Stipa ambigua* Spegazzini) a lo largo de todo un año. *Sitio Argentino de Producción Animal*. 10p. www.produccionanimal.com.ar
- Fernández, O.A., Busso, C.A. 1999. Arid and semi-arid rangelands: two thirds of Argentina. En: *Case Studies of Rangeland Desertification*, Agricultural Research Institute Report N° 200. Arnalds, O., Archer, S. (eds.). Reykjavik, Islandia, p. 41-60.
- Ferraro, D.O., Oesterheld, M. 2002. Effect of defoliation on grass growth. A quantitative review. *Oikos* 98: 125-133.
- Ferreras, L., Toresani, S., Bonel, B., Fernández, E., Bacigaluppo, S., Faggioli, V., Beltrán, C. 2009. Parámetros químicos y biológicos como indicadores de calidad del suelo en diferentes manejos. *Ciencia del Suelo* 27(1): 103-114.
- Fisher, D.G., Hart, S.C., Rehill, B.J., Lindroth, R.L., Keim, P., Whitham, T.G. 2006. Do high-tannin leaves require more roots? *Oecologia* 149: 668-675.
- Fisher, F.M., Parker, L.W., Anderson, J.P., Whitford, W.G. 1987. Nitrogen mineralization in a desert soil: Interacting effects of soil moisture and nitrogen fertilizer. *Soil Science Society of America Journal* 51: 1033-1041.
- Fitter, A.H. 1987. An architectural approach to the comparative ecology of plant root systems. *New Phytologist* 106: 61-77.
- Fitter, A.H., Hay, R.K.M. 1983. *Environmental physiology of plants*. Academic Press, New York. Pp.
- Flemmer, A.C., Busso, C.A., Fernández, O.A. 2002. Bud viability in perennial grasses: Water stress and defoliation effects. *Journal of Range Management* 55:150-163.
- Flemmer, A.C., Busso, C.A., Fernández, O.A., Montani, T. 2003. Effects of defoliation at varying soil water regimes on aboveground biomass of perennial grasses. *Arid Land Research and Management* 17: 139-152.
- Fontaine, S., Mariotti, A., Abbadie, L. 2003. The priming effect of organic matter: a question of microbial competition? *Soil Biology & Biochemistry* 35: 837-843.
- Frank, D., Gehring, C., Machut, L., Phillips, M. 2003. Soil community composition and the regulation of grazed temperate grassland. *Oecologia* 137: 603-609.

- Garcia-Garrido, J., Garcia-Romera, I., Ocampo, J. 1992. Cellulase production by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.). Gerd Trappe. *New Phytologist* 121: 221-226.
- Garland, J.L., Mackowiak, C.L., Zabaloy, M.C. 2010. Organic waste amendment effects on soil microbial activity in a corn-rye rotation: Application of a new approach to community-level physiological profiling. *Applied Soil Ecology* 44: 262-269.
- Gavrishkova, O., Moscatelli, M.C., Kuzyakov, Y., Grego, S., Valentini, R. 2010. Influence of defoliation on CO₂ efflux from soil and microbial activity in a Mediterranean grassland. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 136: 87-96.
- Gehring, C.A., Bennett, A. 2009. Mycorrhizal fungal-plant-insect interactions: the importance of a community approach. *Environmental Entomology* 38(1): 93-102.
- Gehring, C.A., Whitham, T.G. 2002. Mycorrhizae-herbivore interactions: population and community consequences. In: Van der Heijden, M.G.A., Sanders, I. (eds.), *Mycorrhizal Ecology*. Springer, Berlin, pp. 295-320.
- Gehring, C.A., Whitham, T.G., 1994. Interactions between aboveground herbivores and the mycorrhizal mutualists of plants. *Trends in Ecology and Evolution* 9 (7): 251-256.
- Gerdemann, J.W., Nicolson, T.H. 1963. Spores of a mycorrhizal endogone species extracted from the soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society* 46: 235-244.
- Gholz, H.L., Wedin, D.A., Smitherman, S.M., Harmon, M.E. y Parton, W.J. 2000. Long-term dynamics of pine and litter decomposition in contrasting environments: towards a global model of decomposition. *Global Change Biology* 6: 751-765.
- Giese, M., Gao, Y.Z., Zhao, Y., Pan, Q., Lin, S., Peth, S., Brueck, H. 2009. Effects of grazing and rainfall variability on root and shoot decomposition in a semi-arid grassland. *Applied Soil Ecology* 41: 8-18
- Gifford, R.M., Marshall, C. 1973. Photosynthesis and assimilate distribution in *Lolium multiflorum* L. following differential tiller defoliation. *Australian Journal of Biological Science* 26: 517-526.
- Gill, R.A., Jackson, R.B. 2000. Global patterns of root turnover for terrestrial ecosystems. *New Phytologist* 147: 13-31.
- Giorgetti, H.D., Busso, C.A., Montenegro, O.A., Rodríguez, G.D., Kugler, N.M. 2006. Cattle raising in Central, Semiarid Rangelands of Argentina. *Rangelands* 28: 32-36.

- Giorgetti, H.D., Manuel, Z., Montenegro, O.A., Rodríguez, G.D., Busso, C.A. 2000. Phenology of some herbaceous and woody species in Central, Semiarid Argentina. *Phyton-International Journal of Experimental Botany* 69: 91-108.
- Giorgetti, H.D., Montenegro, O.A., Rodríguez, G.D., Busso, C.A. 1999. Influencia de manejos previos en la Provincia Fitogeográfica del Monte: Porcentaje de cobertura. XIX Reunión de la Asociación Argentina de Ecología, Tucumán. 21-23 Abril. p. 100.
- Giorgetti, H.D., Montenegro, O.A., Rodríguez, G.D., Busso, C.A., Montani, T., Burgos, M.A., Flemmer, A.C., Toribio, M.B., Horvitz, S.S. 1997. The comparative influence of past management and rainfall on range herbaceous standing crop in east-central Argentina: 14 years of observations. *Journal of Arid Environments* 36: 623-637.
- Gittins, C., Busso, C.A., Becker, G., Ghermandi, L., Siffredi, G. 2010. Defoliation frequency affects morphophysiological traits in the bunchgrass *Poa ligularis*. *Phyton- International Journal of Experimental Botany* 79: 55-68.
- Gold, W.G., Caldwell M.M. 1989b. The effects of the spatial pattern of defoliation on regrowth of a tussock grass. II. Canopy gas exchange. *Oecologia* 81: 437-442.
- Gold, W.G., Caldwell, M.M. 1989a. The effects of the spatial pattern of defoliation on regrowth of a tussock grass. I. *Oecologia* 80: 289-296.
- Golluscio, R.A., Sala, O.E. 1993. Plant functional types and ecological strategies in Patagonian forbs. *Journal of Vegetation Science* 4: 839-846.
- Gómez Sal, A., de Miguel, J.M., Casado, M.A., Pineda, F.D. 1986. Successional changes in the morphology and ecological responses of a grazed pasture ecosystem in Central Spain. *Vegetatio* 67 (1): 33-44.
- Grace, J. 1998. Plant water relations. In: Crawley M.J. (ed.). *Plant Ecology*, 2nd ed. Blackwell Science, Oxford, pp 28-50.
- Griffin, T.S., Honeycutt, C.W., Albrecht, S.L., Sistani, K.R., Torbert, H.A., Wienhold, B.J., Woodbury, B.L., Hubbard, R.K., Powell, J.M. 2008. Nationally-coordinated evaluation of soil nitrogen mineralization rate using a standardized aerobic incubation protocol. *Communications of Soil Science and Plant Analysis* 39: 257-268.
- Griffiths, R. I., Whiteley, A. S., O'Donnell, A. G., Bailey, M. J. 2003. Influence of depth and sampling time on bacterial community structure. *FEMS Microbiology Ecology* 43: 35-43.
- Grigera, G., Oesterheld, M. 2004. Mycorrhizal colonization patterns under contrasting grazing and topographic conditions in the flooding Pampa (Argentina). *Journal of Range Management* 57: 601-605.

- Grime, J., Mackey, J., Hillier, S., Read, D. 1987. Floristic diversity in a model system using experimental microcosms. *Nature* 328: 420-422.
- Grime, J.P., Cornelissen, J.H.C., Thompson, K., Hodgson, J.G. 1996. Evidence of a casual connection between anti-herbivore defence and the decomposition rate of leaves. *Oikos* 77: 489-494.
- Guevara, J.C., Cavagnaro, J.B., Estevez, O.R., Le Houerou, H.N., Stasi, C.R. 1997. Productivity, management and development problems in the arid rangelands of the central Mendoza plains (Argentina). *Journal of Arid Environments* 35: 575-600.
- Guitian, R., Bardgett, R.D. 2000. Plant and soil microbial responses to defoliation in temperate semi-natural grassland. *Plant and Soil* 220: 271-277.
- Hamilton, E.W., Frank, D.A. 2001. Can plant stimulate soil microbes and their own nutrient supply? Evidence for a grazing tolerant grass. *Ecology* 82: 2397-2402.
- Hamilton, E.W., Frank, D.A., Hinchey, P.M., Murray, T.R. 2008. Defoliation induces root exudation and triggers positive rhizospheric feedbacks in a temperate grassland. *Soil Biology & Biochemistry* 40: 2865-2873.
- Harlan, J.R. 1960. Production characteristics of Oklahoma forages: native ranges. *Oklahoma Agricultural Experiment Station Bulletin* h-547.
- Harley, J., Smith, S. 1983. *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press. London. 483 p.
- Hart, M., Reader, R. 2002. Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 153: 335-344.
- Hart, S.C., Nason, G.E., Myrold, D.D., Perry, D.A. 1994. Dynamics of gross nitrogen transformations in an old-growth forest: the carbon connection. *Ecology* 75: 880-891.
- Hartnett, D., Wilson, G. 1999. Mycorrhizal influence plant community structure and diversity in tallgrass prairie. *Ecology* 80: 1187-1195.
- Hartnett, D., Wilson, G. 2002. The role of mycorrhizas in plant community structure and dynamics: lessons from grasslands. *Plant and Soil* 244: 319-331.
- Hattenschwiler, S., Gasser, P. 2005. Soil animals alter plant litter diversity effects on decomposition. *Proceedings of the National Academy Science USA* 102: 1519-1524.
- Heady, H.F., Child, D.R. 1994. *Rangeland Ecology and Management*. Westview Press. Boulder, Colorado, USA, 519 pp.
- Heal, O. W., Anderson, J.M., Swift, M.J. 1997. Plant litter quality and decomposition: an historical overview. In G. Cadisch and K. E. Giller (eds.). *Driven by nature. Plant litter quality and decomposition*. CAB International, Wallingford, United Kingdom. p. 3-10.

- Hector, A., Beale, A.J., Minns, A., Otway, S.J. 2000. Lawton Consequences of the Reduction of Plant Diversity for Litter Decomposition: Effects through Litter Quality and Microenvironment. *Oikos* 90: 357-371.
- Hetrick, B.A., Kitt, D.G., Wilson, G.T. 1988. Mycorrhizal dependence and growth habit of warm-season and cool-season tallgrass prairie plants. *Canadian Journal of Botany* 66: 1376-1380.
- Hetrick, B.A., Wilson, W.T., Todd, T.C. 1992. Relationships of mycorrhizal symbiosis, rooting strategy, and phenology among tallgrass prairie forbs. *Canadian Journal of Botany* 70: 1521-1528.
- Hetrick, B.A.D., Wilson, G.W.T., Todd, T.C. 1990. Differential responses of C3 and C4 grasses to mycorrhizal symbiosis, phosphorus fertilization and soil microorganisms. *Canadian Journal of Botany* 68:461-46.
- Heuer, H., Krsek, M., Baker, P., Smalla, K., Wellington, E. M. H. 1997. Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S rRNA and gel-electrophoretic separation in denaturing gradients. *Applied and Environmental Microbiology* 63: 3233-3241.
- Hiesalu, I., Pärtel, M., Davison, J., Gerhold, P., Metsis, M., Moora, M., Öpik, M., Vasar, M., Zobel, M., Wilson, S.D. 2014. Species richness of arbuscular mycorrhizal fungi: associations with grassland plant richness and biomass. *New Phytologist* 203: 233-244.
- Hilbert, D.W., Swift, D.M., Detling, J.K., Dyer, M.I. 1981. Relative growth rates and the grazing optimization hypothesis. *Oecologia* 51:14-18.
- Hobbie, S.E. 1992. Effects of plant species on nutrient cycling. *Trends in Ecology and Evolution* 7: 336-339.
- Hobbie, S.E., Oleksyn, J., Eissenstat, D.M., Reich, P.B. 2010. Fine root decomposition rates do not mirror those of leaf litter among temperate tree species. *Oecologia* 162: 505-513.
- Hodge, A. 2014. Interactions Between Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Organic Material Substrates. En: G. [Gadd](#) & S. [Sariaslani](#) (eds.). *Advances in Applied Microbiology*. Elsevier Inc. Volume 89. Pp: 48-99.
- Hodge, A., Campbell, C.D., Fitter, A.H., 2001. An arbuscular mycorrhizal fungus accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material. *Nature* 413: 297-299.
- Hodge, A., Fitter, A. 2010. Substantial nitrogen acquisition by arbuscular mycorrhizal fungi from organic material has implications for N cycling. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 107: 13754-13759.

- Hodgkinson, K.C., Smith, N.G., Miles, G.E. 1972. The photosynthetic capacity of stubble leaves and their contribution to growth of the lucerne plant after high level of cutting. *Australian Journal of Agricultural Research* 23: 225-238.
- Hodgson, J., Birchman, J., Grant, S., King, J. 1981. The influence of cutting and grazing management on herbage growth and utilization. In Wright C.E. (ed.). *Plant Physiology and Herbage Production. Occasional Symposium of the British Grassland Society. N.º 13.* pp. 51-62.
- Holland, E.A., Parton, W.J., Detling, J.K., Coppock, D.L. 1992. Physiological responses of plant populations to herbivory and their consequences for ecosystem nutrient flow. *American Naturalist* 140: 685-706.
- Honeycutt, C.W., Griffin, T.S., Weinhold, B.J., Eghball, B., Albrecht, S.L., Powell, J.M., Woodbury, B.L., Sistani, K.R., Hubbard, R.K., Torbert, H.A., Eigenberg, R.A., Wright, R.J., Jawson, M.D. 2005. Protocols form nationally coordinated laboratory and field research on manure nitrogen mineralization. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 36: 2807-2822.
- Hossain, M.Z., Okubo, A., Sugiyama, S. 2010. Effects of grassland species on decomposition of litter and soil microbial communities *Ecological Research* 25: 255-261.
- Hunt, H.W., Ingham, E.R., Coleman, D.C., Elliot, E.T., Reid, C.P.P., 1988. Nitrogen limitation of production and decomposition in prairie, mountain meadow, and pine forest. *Ecology* 69 1009-1016.
- INTA-CIRN. 1989. Mapa de Suelos de la Provincia de Buenos Aires. Escala 1:500.000. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca. Proyecto PNUD-ARG 85/019, 527 pp.
- Irrazabal, G., Schalamuk, S., Velázquez, M.S., Cabello, M. 2005. Especies de hongos formadores de micorrizas arbusculares: nuevas citas para la República Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 40(1-2): 17-22.
- Isermeyer, H. 1952. Estimation of soil respiration in closed jars. En: *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. 1995. Alef, K, Nannipieri, P. (eds.), Londres, Inglaterra, p. 214-216.
- Ithurrart, L. 2015. Efectos de la defoliación luego de la quema de gramíneas perennes nativas, palatables y no palatables, en el sudoeste bonaerense. Tesis de doctorado en Agronomía. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca. 222 pp.
- Jaindl, R.G., Doescher, P., Miller, R.F., Eddleman, L.E. 1994. Persistence of idaho fescue on degraded rangelands: adaptation to defoliation or tolerance. *Journal of Range Management* 47: 54-59.

- Jefferies, T.A. 1916. The vegetative anatomy of *Molinia caerulea*, the purple heath grass. *New Phytologist* 15: 49-71.
- Jenkinson, D.S. 1977. Studies on the decomposition of plant material in soil. V. The effects of plant cover and soil type on the loss of carbon from ¹⁴C labelled ryegrass decomposing under field conditions. *Journal of Soil Science* 28: 424-434.
- Jenny, H. 1980. The soil resource: origin and behavior. In: Billings, W.D., Lange, O.L., Remmert, K. (eds.), *Ecological Studies* No. 37. Springer, New York.
- Jobbágy, E.G., Sala, O.E. 2000. Controls of grass and shrub aboveground production in the Patagonian steppe. *Ecological Application* 10: 541-549.
- Johnson, N., Tilman, D., Wedin, D. 1992. Plant and soil controls on mycorrhizal fungal communities. *Ecology* 73: 2034-2042.
- Jones, H.G. 1992. *Plants and microclimate. A quantitative approach to environmental plant physiology.* University of Cambridge, Cambridge, U.K. 428 pp.
- Kazakou, E., Violle, C., Roumet, C., Pintor, C., Gimenez, O., *et al.* 2009. Litter quality and decomposability of species from a Mediterranean succession depend on leaf traits but not on nitrogen supply. *Annals of Botany* 104: 1151-1161.
- Keiser, A.D., Knoepp, J.D., Bradford, M.A. 2013. Microbial communities may modify how litter quality affects potential decomposition rates as tree species migrate. *Plant and Soil* 372: 167-176.
- Keiser, A.D., Strickland, M.S., Fierer, N., Bradford, M.A. 2011. The effect of resource history on the functioning of soil microbial communities is maintained across time. *Biogeosciences* 8: 1477-1486.
- Kikuzawa, K. 2004. Ecology of leaf senescence. In: Noodén, L.D. (ed.) *Plant Cell Death Processes.* Elsevier Academic Press, San Diego, CA, US. pp. 363-370.
- Klein, D.A., Frederick, B.A., Biondini, M., Trlica, M.J. 1988. Rhizosphere microorganism effects on soluble amino acids, sugars and organic acids in the root zone of *Agropyron cristatum*, *A. smithii* and *Bouteloua gracilis*. *Plant and Soil* 110: 19-25.
- Klironomos, J.N., McCune, J., Moutoglis, P. 2004. Species of arbuscular mycorrhizal fungi affect mycorrhizal responses to simulated herbivory. *Applied Soil Ecology* 26: 133-141.
- Klute, A. 1986. Water retention: Laboratory methods. En: Klute, A. (ed.). *Methods of soil analysis. Part 1.* American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, Estados Unidos. *Agronomy Monograph* N°9. Pp. 597-618.

- Koide, T., Schreiner, R.P. 1992. Regulation of vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 43: 557-581.
- Kojima, T., Jenkins, S., Weerasekara, A., Fan, J. 2014. Arbuscular Mycorrhizal Diversity and Function in Grassland Ecosystems. En: Z Solaiman *et al.* (eds.), *Mycorrhizal Fungi: Use in Sustainable Agriculture and Land Restoration*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Pp: 149-169.
- Kojima, T., Saito, M., Shoji, A., Ando, S., Sugawara, K. 2009. The diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in Japanese grasslands. *Japanese Journal of Grassland Science* 55: 148-155.
- Koltai, H., Kapulnik, Y. 2010. *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*. Springer, Dordrecht, Netherlands, 320 p.
- Körner, C. 1991. Some often overlooked plant characteristics as determinants of plant growth: a reconsideration. *Functional Ecology* 5: 162-173.
- Koske, R.E., Tessier, B. 1983. A convenient, permanent slide mounting medium. *Mycological Society of America Newsletter* 34: 1-59.
- Koukoura, Z., Mamolos, A.P. y Kalburtji, K.L. 2003. Decomposition of dominant plant species litter in a semi-arid grassland. *Applied Soil Ecology* 23: 13-23.
- Kourtev, P.S., Ehrenfeld, J.G., Haggblom, M. 2002. Exotic plant species alter the microbial community structure and function in the soil. *Ecology* 83: 3152-3166.
- Kula, A.A.R., Hartnett, D.C., Wilson, G.W.T. 2005. Effects of mycorrhizal symbiosis on tallgrass prairie plant–herbivore interactions. *Ecology Letters* 8: 61-69.
- Lal, R. 2002. Soil carbon dynamics in cropland and rangeland. *Environmental Pollution* 116: 353-362.
- Lambers, H., Chapin, F.S., Pons, T. 2000. *Plant Physiological Ecology*. Springer, New York. 540 pp.
- Lambers, H., Chapin, F.S., Pons, T.L. 1998. *Plant Physiological Ecology*. Springer-Verlag, New York, NY, US. pp. 197-198.
- Larcher, W. 2003. *Physiological Plant Ecology*. 4th. edition. Springer, Berlin. 513 pp.
- Laude, H.M. 1972. External factors affecting tiller development. En: Youngner, V.B., C.M. McKell (eds.). *The biology and utilization of grasses*. Academic Press, New York, pp 146-154.
- Lavado, R.S., Sierra, J.O., Hashimoto, P.N. 1995. Impact of grazing on soil nutrients in a Pampean grassland. *Journal of Range Management* 49: 452-467.
- Lavelle, P., Blanchart, E., Martin, S., Spain, A.V., Toutain, F., *et al.* 1993. A hierarchical model for decomposition in terrestrial ecosystems: applications to soils of the humid tropics. *Biotropica* 25: 130-150.

- Li, X., Gai, J., Cai, X., Li, X., Christie, P., Zhang, F., Zhang, J. 2014. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with two co-occurring perennial plant species on a Tibetan altitudinal gradient. *Mycorrhiza* 24: 95-107.
- Liang, C., Das, K.C., McClendon, R.W. 2003. The influence of temperature and moisture contents regimes on the aerobic microbial activity of a biosolids composting blend. *Bioresource and Technology* 86 (2): 131-137.
- Liu, W.X., Xu, Z., Wan, S.Q. 2007. Responses of microbial biomass and respiration of soil to topography, burning, and nitrogen fertilization in a temperate steppe. *Biology and Fertility of Soils* 44 (2): 259-268.
- Liu, Y., He, L., An, L., Helgason, T., Feng, H, 2009. Arbuscular mycorrhizal dynamics in a chronosequence of *Caragana korshinskii* plantations. *FEMS Microbiology Ecology* 67: 81-92.
- Llorens., 2013. Caracterización de las especies. Gobierno de la Provincia de la Pampa, Ministerio de la producción (ed.). Caracterización y manejo de los pastizales del centro de la Pampa. 1ª ed. Pp.8-12. L&M s.r.l 52 pp.
- Lovelock, C.E., Andersen, K., Morton, J.B. 2003. Arbuscular mycorrhizal communities in tropical forests are affected by host tree species and environment. *Oecologia* 135: 268-279.
- Lozano-Ruiz, J.M., Azcon, R., Gomez, M. 1995. Effect of Arbuscular-Mycorrhizal *Glomus* species on drought tolerance: physiological and nutritional plant responses. *Applied and Environmental Microbiology* 61(2): 456-460.
- Lugo, M.A., Cabello, M.N. 2002. Native arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) from mountain grassland (Córdoba, Argentina) I. Seasonal variation of fungal spore diversity. *Mycologia* 94 (4): 579-586.
- Lugo, M.A., Gonzáles Maza, M.E., Cabello, M.N. 2003. Arbuscular mycorrhizal fungi in a mountain grassland: II Seasonal variation of colonization studied, along with its relation to grazing and metabolic host type. *Mycologia* 95: 407-415.
- Ma, S., Chen, J., North, M., Erikson, H., Bresee, M., LeMoine, J. 2004. Short-term effects of experimental burning and thinning on soil respiration in an old-growth, mixedwood forest. *Forest Ecology and Management* 97(1): 265-275.
- MacDonald, N.W., Zak, D.R., Pregitzer, K.S. 1995. Temperature effects on kinetics of microbial respiration and net nitrogen and sulfur mineralization. *Soil Science Society of America Journal* 59: 233-240.
- Manske, L.L. 1996. Adaptive tolerance mechanisms in grass plants. Total Ranch Management in the Northern Great Plains. Grazing and Pasture Technology Program and Saskatchewan Agriculture. Regina, Saskatchewan.

- Mapfumo, E., Neath, M.A., Baron, V.S., Dick, A.C., Chanasyk, D. S. 2002. Grazing impacts on litter and roots: perennial versus annual grasses. *Journal of Range Management* 55: 1622.
- Martinez-Carretero, E., Dalmasso, A.D. 1992. Litter yield in shrubs of *larrea* in the andean piedmont of Mendoza, Argentina. *Vegetatio* 101: 21-33.
- Martínez-Yrizar, A., Núñez, S., Miranda, H., Búrquez, A. 1999. Temporal and spatial variation of litter production in Sonoran Desert communities. *Plant Ecology* 145: 37-48.
- Maschinski, J., Whitham, T.G. 1989. The continuum of plant responses to herbivory: the influence of plant association, nutrient availability and timing. *The American Naturalist* 134: 1-19.
- Mawdsley, J.L., Bardgett, R.D. 1997. Continuous defoliation of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) and white clover (*Trifolium repens*) and associated changes in the microbial population of an upland grassland soil. *Biology and Fertility of Soils* 24: 52-58.
- Maya, Y., Arriaga, L. 1996. Litterfall and phenological patterns of the dominant overstorey species of a desert scrub community in north-western Mexico. *Journal of Arid Environments* 4: 23-35.
- McCaig, A. E., Glover, L. A., Prosser, J. I. 2001. Numerical analysis of grassland bacterial community structure under different land management regimens by using 16S ribosomal DNA sequence data and denaturing gradient gel electrophoresis banding patterns. *Applied and Environmental Microbiology* 67: 4554-4559.
- McGonigle, T.P., Fitter, A.H., 1990. Ecological specificity of vesicular-arbuscular mycorrhizal associations. *Mycological Research* 94: 120-122.
- McGonigle, T.P., Miller, M.H., Evans, D.G., Fairchild, G.L., Swam, J.A. 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 115: 495-501.
- McNaughton, S.J. 1976. Serengeti migratory wildebeest: Facilitation of energy flow by grazing. *Science* 191: 92-94.
- McNaughton, S.J. 1979. Grazing as an optimization process: Grass–ungulate relationships in the Serengeti. *American Naturalist* 113: 691-703.
- McNaughton, S.J. 1983. Compensatory plant growth as a response to herbivory. *Oikos* 40: 329-336.
- McNaughton, S.J. 1986. On plants and herbivores. *American Naturalist* 128: 765-770.
- McNaughton, S.J., Banyikwa, F.F., McNaughton, M.M. 1998. Root biomass and productivity in a grazing ecosystem: The Serengeti. *Ecology* 79: 587-592.

- McNaughton, S.J., Chapin, F.S. 1985. Effects of phosphorus nutrition and defoliation on C₄ graminoids from the Serengeti plants. *Ecology* 66: 1617-1629.
- McNaughton, S.J., Oesterheld, M. 1990. Extramatricial mycorrhizal abundance and grass nutrition in a tropical grazing ecosystem, the Serengeti National Park, Tanzania. *Oikos* 59: 92-96.
- McNaughton, S.J., Oesterheld, M., Frank, D.A., Williams, K.J. 1989. Ecosystem level patterns of primary productivity and herbivory in terrestrial habitats. *Nature* 341: 142-144.
- McNaughton, S.J., Ruess, R.W., Seagle, S.W. 1988. Large mammals and process dynamics in African ecosystems. *Bioscience* 38: 794-800.
- McNaughton, S.J., Wallace, L.L., Coughenour, M.B. 1983. Plant adaptation in an ecosystem context: effects of defoliation, nitrogen, and water on growth of an African C₄ sedge. *Ecology* 64: 307-318.
- MEA - Millennium Ecosystem Assessment. 2005. *Ecosystems and Human Well-being: Desertification Synthesis*. World Resources Institute, Washington DC, USA. 36 pp.
- Mecinas, L.J., Door, R.C., Chung, M.A., Moreno, D.P. 1991. Micorrizas en tres especies forestales de la amazonía peruana. *Revista Forestal de Perú* 18 (2): 29-43.
- Melillo, J.M., Aber, J.D., Muratore, J.F. 1982. Nitrogen and lignin control of hardwood leaf litter decomposition dynamics. *Ecology* 63: 621-626.
- Mendoza, R., Goldmann, V., Rivas, J., Escudero, V., Pagani, E., Collantes, M., Marbán, L. 2002. Poblaciones de hongos micorrízicos arbusculares en relación con las propiedades del suelo y de la planta hospedante en pastizales de Tierra del Fuego. *Ecología Austral* 12: 105-116.
- Mendoza, R., Pagani, E. 1997. Influence of phosphorous nutrition on mycorrhizal growth response and morphology of mycorrhizae in *Lotus tenuis*. *Journal of Plant Nutrition* 20: 625-639.
- Mikola, J., Yeates, G.W., Wardle, D.A., Barker, G.M., Bonner, K.I. 2001. Response of soil food-web structure to defoliation of different plant species combinations in an experimental grassland community. *Soil Biology & Biochemistry* 33: 205-214.
- Milchunas, D.G., Lauenroth, W.K. 1993. Quantitative effects of grazing on vegetation and soils over a global range of environments. *Ecological Monographs* 63(4): 327-366.
- Milla, R., Castro-Díez, P., Maestro-Martínez, M., Montserrat-Martí, G. 2005. Relationships between phenology and the remobilization of nitrogen,

- phosphorus and potassium in branches of eight Mediterranean evergreens. *New Phytologist* 168: 167-178.
- Miller, J., Rajapapase, S., Garber, R. 1986. Vesicular-arbuscular mycorrhizae in vegetable crops. *Hortscience* 21: 974-984.
- Miller, R.M., Wilson, G.W.T., Johnson, N.C. 2012. Arbuscular Mycorrhizae and Grassland Ecosystems. In: *Biocomplexity of Plant–Fungal Interactions*, First Edition. Edited by Darlene Southworth. pp 59-83.
- Milton, S.J., Dean, W.R.J., Du Plessis, M.A., Siegfried, W.R. 1994. A conceptual model of arid rangeland degradation. *Bioscience* 44: 70-76.
- Montecchia, M.S., Correa, O.S., Soria, M.A., Frey, S.D., García, A.F., Garland, J.L. 2011. Multivariate approach to characterizing soil microbial communities in pristine and agricultural sites in Northwest Argentina. *Applied Soil Ecology* 47: 176–183.
- Moora, M., Zobel, M. 1996. Effect of arbuscular mycorrhiza on inter- and intraspecific competition of two grassland species. *Oecologia* 108: 79-84.
- Moore, K.J., Moser, L.E., Vogel, K.P., Waller, S.S., Johnson, B.E., Pedersen J.F. 1991. Describing and Quantifying Growth Stages of Perennial Forage Grasses. *Agronomy & Horticulture Faculty Publications*. Paper 507.
- Moretto, A.S., Distel, R.A. 2000. Nitrógeno disponible en suelos de sitios dominados por gramíneas de distinta relación C:N. XVII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. Asociación Argentina de la Ciencia del Suelo, Mar del Plata (CD version).
- Moretto, A.S., Distel, R.A. 2002. Soil nitrogen availability under grasses of different palatability in a temperate semi-arid rangeland of central Argentina. *Austral Ecology* 27: 509-514.
- Moretto, A.S., Distel, R.A. 2003. Decomposition of and nutrient dynamics in leaf litter and roots of *Poa ligularis* and *Stipa gyneriodes*. *Journal of Arid Environments* 55: 503-514.
- Moretto, A.S., Distel, R.A., 1999. Effects of selective defoliation on the competitive interaction between palatable and unpalatable grasses. *Journal of Arid Environments* 42, 167-175.
- Moretto, A.S., Distel, R.A., Didone, N.G. 2001. Decomposition and nutrient dynamic of leaf litter and roots from palatable and unpalatable grasses in a semi-arid grassland. *Applied Soil Ecology* 18: 31-37.
- Mott, J.J., Ludlow, M.M., Richards, J.H., Parsons, A.D. 1992. Effects of moisture supply in the dry season and subsequent defoliation on persistence of the savanna

- grasses *Themeda triandra*, *Heteropogon contortus* and *Panicum maximum*. Australian Journal of Agricultural Research 43: 241-260.
- Mulvaney, R.L. 1996. Nitrogen-Inorganic forms. En: Sparks, DL *et al.* (eds.). Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods. Book Series N°5. Pp. 1123-1184. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, Estados Unidos.
- Münster-Swendsen, M. 1984. The effect of precipitation on radial increment in Norway spruce (*Picea abies* Karst) and on the dynamics of lepidopteran pest insects. Journal of Applied Ecology 24: 563-571.
- Murray, T.R., Frank, D.A., Gehring, C.A. 2010. Ungulate and topographic control of arbuscular mycorrhizal fungal spore community composition in a temperate grassland. Ecology 91(3): 815-827.
- Mutikainen, P., Walls, M., Ojala, A. 1993. Effects of simulated herbivory on tillering and reproduction in an annual ryegrass, *Lolium remotum*. Oecologia 95: 54-60.
- Muyzer, G., Waal, E.C., Uitterlinden, A.G. 1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. Applied and Environmental Microbiology 59:695–700.
- Myers, B.A., Williams, R.J., Fordyce, I., Duff, G.A., Eamus, D. 1998. Does irrigation affect leaf phenology in deciduous and evergreen trees of the savannas of northern Australia? Australian Journal of Ecology 23: 329-339.
- Naeth, M.A., Chanasyk, D.S., Rothwell, R.L., Bailey, A.W. 1991. Grazing impacts on soil water in mixed prairie and fescue grassland of Alberta Canada. Canadian Journal of Soil Science 71: 313-326.
- Neely, C.L., Beare, M.H., Hargrove, W.L., Coleman, D.C. 1991. Relationships between fungal and bacterial substrate-induced respiration, biomass and plant residue decomposition. Soil Biology & Biochemistry 23: 947-954.
- Neill, C., Piccolo, M., Melillo, J., Steudler, P., Cerri, C. 1999. Nitrogen dynamics in Amazon forest and pasture soils measured by ¹⁵N pool dilution. Soil Biology & Biochemistry 31: 567-572.
- Neubauer, S.C., Toledo-Duran G.E., Emerson, D., Megonigal, J.P. 2007. Returning to their roots: iron-oxidizing bacteria enhance short-term plaque formation in the wetland-plant rhizosphere. Geomicrobiology Journal 24: 65-73.
- Newsham, K.K., Watkinson, A.R. 1998. Arbuscular mycorrhizas and the population biology of grasses. In: Cheplick G.P. (ed.), Population Biology of Grasses. UK: Cambridge University Press, Cambridge, pp 286-310.
- Noy-Meir, I. 1973. Desert ecosystems: environment and producers. Annual Review of Ecology and Systematics 4: 25-51.

- Noy-Meir, I. 1985. Desert ecosystems structure and function. In: Evenary, M., Noy-Meir, I. y Woodall, D. W. (eds.). Hot deserts and shrublands. Elsevier Scientific Publishing Company, New York. Pp. 93-104.
- Nuccio, E., Hodge, A., Pett-Ridge, J., Herman, D., Weber, P., Firestone, M. 2013. An arbuscular mycorrhizal fungus significantly modifies the soil bacterial community and nitrogen cycling during litter decomposition. *Environmental Microbiology* 15: 1870-1881.
- Oehl, F., Sieverding, E., Ineichen, K., Mäder, P., Boller, T., Wiemken, A. 2003. Impact of land use intensity on the species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems of Central Europe. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 2816-2824.
- Oesterheld, M., Loreti, J., Semmartin, M., Paruelo, J.M. 1999. Grazing, fire and climate effects on primary productivity of grasslands and savannas. In: L. Walker (ed.). *Ecosystems of disturbed ground*. Elsevier. Amsterdam, Netherlands. Pp. 287-306.
- Oesterheld, M., McNaughton, S.J. 1991. Effect of stress and time for recovery on the amount of compensatory growth after grazing. *Oecologia* 85: 305-313.
- Ohswski, B., Zaitsoff, P., Öpik, M., Hart, M. 2014. Where the wild things are: looking for uncultured Glomeromycota. *New Phytologist* 204: 171-179.
- Orbea, J.R., Agnus, M., Cauhepé, M.A. 1985. Efecto de tres intensidades de corte sobre la productividad, vigor y persistencia de *Poa lanigera* Nees. *Revista Argentina de Producción Animal* 5: 441-450.
- Orchard, V.A., Cook, F.J. 1983. Relationship between soil respiration and soil moisture. *Soil Biology & Biochemistry* 15: 447-453
- Osanai, Y., Flittner, A., Janes, J.K., Theobald, P., Pendall, E., Newton, P.C.D. y Hovenden, M.J. 2012. Decomposition and nitrogen transformation rates in a temperate grassland vary among co-occurring plant species. *Plant and Soil* 350: 365-378.
- Painter, E.L., Belsky, A.J. 1993. Application of herbivory optimization theory to rangelands of the western United States. *Ecological Applications* 3: 2-9.
- Painter, E.L., Detling, J.K. 1981. Effects of defoliation on net photosynthesis and regrowth of western wheatgrass. *Journal of Range Management* 34: 68-71.
- Palm, C.A., Rowland, A.P. 1997. A minimum dataset for characterization of plant quality for decomposition. Cadisch, G. y Giller K.E. (eds.). *Driven by Nature: Plant Litter Quality and Decomposition*. CAB International-University Press, Cambridge. Pp. 379-392.

- Parodi, G., Pezzani, F. 2011. Micorrizas arbusculares en dos gramíneas nativas de Uruguay en áreas con y sin pastoreo. *Agrociencia Uruguay* 15:1-10.
- Parton, W., Silver, W. L., Burke, I. C., Grassens, L., Harmon, M. E., Currie, W. S., King, J. Y., Adair, E. C., Brandt, L. A., Hart, S. C., Fasth, B. 2007. Global-scale similarities in nitrogen release patterns during long-term decomposition. *Science* 315: 361-364.
- Pastor, J., Aber, J.D., Mc Clagherty, C.A., Melillo, J.M. 1984. Aboveground production and N and P cycling along a nitrogen mineralization gradient on Blackhawk Island, Wisconsin. *Ecology* 65: 256-268.
- Pavón, N.P., Briones, O., Flores-Rivas, J. 2005. Litterfall production and nitrogen content in an intertropical semi-arid Mexican scrub. *Journal of Arid Environments* 60: 1-13.
- Pearson, J., Jakobsen, I. 1993. Symbiotic exchange of carbon and phosphorus between cucumber and three arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 124: 481-488.
- Pearson, L.C. 1965. Primary production in grazed and ungrazed desert communities of eastern Idaho. *Ecology* 46: 278-285.
- Pedersen, C., Sylvia, D. 1996. Mycorrhizal ecological implications of plant interactions. En: KG Mukerji (ed.). *Concepts in mycorrhizal research. Handbook of vegetation science*, vol 19/2. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. 372 pp
- Peláez, D.V., Giorgetti, H.D., Montenegro, O.A., Elia, O.R., Rodriguez, G.D., Bóo, R.M., Mayor, M.D., Busso, C.A. 2010. An efficient protocol for culturing meristems of sorghum hybrids *Phyton- International Journal of Experimental Botany* 79: 163-176.
- Pérez-Batallón, P., Ouro, G., Merino, A., Macías, F. 1998. Descomposición de materia orgánica, biomasa microbiana y emisión de CO₂ en un suelo forestal bajo diferentes manejos sevícolas. *Edafología* 5: 83-93.
- Pérez-Harguindeguy, N., Vendramini, F., Díaz, S., Cabido, M., Cornelissen, J.H.C., *et al.* 2000. Descomposición y caracteres foliares de especies de Pteridófitas y Angiospermas del Chaco Serrano de Córdoba, Argentina. *Kurtziana* 28: 35-44.
- Peri, P.L., H. Bahamonde, H., Christiansen, R. 2015. Soil respiration in Patagonian semiarid grasslands under contrasting environmental and use conditions *Journal of Arid Environments* 119: 1-8.
- Peri, P.L., Lasagno, R.G. 2010. Biomass, carbon and nutrient storage for dominant grasses of cold temperate steppe grasslands in southern Patagonia, Argentina. *Journal of Arid Environments* 74: 23-34.

- Pezzani, F., Montaña, C., Guevara, R. 2006. Associations between arbuscular mycorrhizal fungi and grasses in the successional context of a two-phase mosaic in the Chihuahuan Desert. *Mycorrhiza* 16: 285-295.
- Pezzola, A, Winschel, C. 2007. Importancia de la teledetección en el seguimiento de la evaluación de las áreas quemadas. En: Día de campo a tranqueras abiertas: A tres años de una quema controlada. Chacra Experimental de Patagones. Dirección Provincial de Agricultura y Alimentos, Ministerio de Asuntos Agrarios de la Provincia de Buenos Aires, Argentina. 31 pp.
- Pezzola, A., Agamennoni, R., Winschel, C., Enrique, M., Giorgetti, G. 2009. Estimación expeditiva de suelos erosionados del partido de Patagones - Prov. de Buenos Aires. Laboratorio de Teledetección y SIG, EEA INTA H. Ascasubi, Buenos Aires, Argentina, 7 pp.
- Philippot, L., Germon, J.C. 2005. Contribution of bacteria to initial input and cycling of nitrogen in soils. In: F. Buscot and A. Varma (eds.). *Microorganisms in soils: roles in genesis and functions*. Soil Biology. Springer-Verlag. Heidelberg, Germany. pp. 159-176.
- Piippo, S., Huhta, A.P., Rautio, P., Markkola, A., Tuomi, J., 2011a. Grazing tolerance and mycorrhizal colonization: Effects of resource manipulation and plant size in biennial *Gentianella campestris*. *Flora* 206: 808-813.
- Piippo, S., Markkola, A., Härmä, E., Tuomi T. 2011b. Do compensatory shoot growth and mycorrhizal symbionts act as competing above- and below-ground sinks after simulated grazing? *Plant Ecol* 212: 33-42.
- Pisani, J.M., Distel, R.A., Bontti, E.E. 2000. Diet selection by goats on a semi-arid shrubland in central Argentina. *Ecología Austral* 10: 103-108.
- Poca, M., Pérez-Harguindeguy, N., Vaieretti, M.V., Cingolani, A.M. 2014. Descomposición y calidad físico-química foliar de 24 especies dominantes de los pastizales de altura de las sierras de Córdoba, Argentina. *Ecología Austral* 24: 249-257.
- Poorter, H., Remkes, C. 1990. Leaf area ratio and net assimilation rate of 24 wild species differing in relative growth rate. *Oecologia* 83: 553-559.
- Prieto, L.H., Bertiller, M.B., Carrera, A.L., Olivera, N.L. 2011. Soil enzyme and microbial activities in a grazing ecosystem of Patagonian Monte, Argentina. *Geoderma* 162: 281-287.
- Privitello, M.L., Gabutti, E.G., Harrison, R.U. 1995. Efecto de dos intensidades y cuatro frecuencias de defoliación sobre la persistencia y producción de *Schizachyrium plumigerum* (Eckman) Parodi y *Bothriochloa springfieldii* (Gould.) Parodi. *Revista Argentina de Producción Animal* 15 (1): 349-352.

- Qu, T-b., Du, W-c., Yuan, X., Yang, Z-m., Liu, D-b., Wang, D-l., Yu, L-j. 2016. Impacts of Grazing Intensity and Plant Community Composition on Soil Bacterial Community Diversity in a Steppe Grassland. *Plos One* 11(7): e0159680.
- Quilliam, R.S., Hodge, A., Jones, D.L. 2010. Sporulation of arbuscular mycorrhizal fungi in organic-rich patches following host excision. *Applied Soil Ecology* 46: 247-250.
- Quiroga, R.E., Blanco, L.J., Oriente, E.L. 2004. Efecto de la frecuencia e intensidad de defoliación sobre la productividad forrajera de *Digitaria californica* y *Pappophorum caespitosum*. *Revista Argentina de Producción Animal* 24. Disponible en CD.
- Quiroga, R.E., Blanco, L.J., Oriente, E.L. 2005. Efecto residual de la defoliación sobre la productividad forrajera de *Digitaria californica* y *Pappophorum caespitosum*. *Revista Argentina de Producción Animal* 25. Disponible en CD.
- Rademaker, J.L.W., Louws, F.J., Rossbach, U., Vinuesa, P., de Bruijn, F.J. 1999. Computer-assisted pattern analysis of molecular fingerprints and database construction. In: Akkermans, A.D.L., van Elsas, J.D., de Bruijn, F.J. (eds.). *Molecular Microbial Ecology Manual*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 1–33.
- Raison, R.J., Connell, M.J., Khanna, P.K. 1987. Methodology for studying fluxes of soil mineral N in situ. *Soil Biology & Biochemistry* 19: 521-530.
- Ravnskov, S., Jakobsen, I., 1995. Functional compatibility in arbuscular mycorrhizas measured as hyphal P transport to the plant. *New Phytologist* 129: 611-618.
- Reardon, P.O., Leinweber, C.L., Merrill, L.B. 1972. The effect of bovine saliva on grasses. *Journal of American Science* 34: 897-898.
- Reece, P.E., Bonham, C.D. 1978. Frequency of endomycorrhizal infection in grazed and ungrazed blue grama plants. *Journal of Range Management* 31: 149-151.
- Reich, P.B., Watson, M.B., Ellsworth, D.S. 1992. Leaf lifespan in relation to leaf, plant and stand characteristics among diverse ecosystems. *Ecological Monographs* 62: 365-392.
- Reichmann, L.G., Sala, O.E., Peters, D.P.C. 2013. Water controls on nitrogen transformations and stocks in an arid ecosystem. *Ecosphere* 4 (1): art.11.
- Reinhardt, D.R., Miller, R.M. 1990. Size classes of root diameter and mycorrhizal fungal colonization in two temperate grassland communities. *New Phytology* 116: 129-136.
- Richards, J.H., Caldwell, M.M. 1985. Soluble carbohydrates, concurrent photosynthesis and efficiency in regrowth following defoliation: a field study with *Agropyron* species. *Journal of Applied Ecology* 22: 907-920.

- Ritchie, M.E., Tilman, D., Knops, J.M.H. 1998. Herbivore effects on plant and nitrogen dynamics in Oak Savanna. *Ecology* 79: 165-177.
- Robinson, D. 1990. Phosphorus availability and cortical senescence in cereal roots. *Journal of Theoretical Biology* 145: 257-265.
- Rotundo, J.L., Aguiar, M.R. 2008. Herbivory resistance traits in populations of *Poa ligularis* subjected to historically different sheep grazing pressure in Patagonia. *Plant Ecology* 194: 121-133.
- Roumet, C., Urcelay, C., Díaz, S. 2006. Suites of root traits differ between annual and perennial species growing in the field. *New Phytologist* 170: 357-368.
- Ruess, R.W., McNaughton, S.J. 1987 Grazing and the dynamics and energy regulated microbial processes in the Serengeti grassland. *Oikos* 49: 101-110.
- Rutherford, P.M., McGill, W.B., Arocena, J.M., Figueiredo, C.T. 2007. Total nitrogen. In: M. R. Carter and E.G. Gregorich, (eds.). *Soil sampling and method of analysis*. CRC Press. Boca Raton, FL, USA. pp. 239-250.
- Ryle, G.J.A., Powell, C.E. 1975. Defoliation and regrowth in the graminaceous plant: The role of current assimilate. *Annals of Botany* 39: 297-310.
- Saint Pierre, C. 2002. Capacidad competitiva y tolerancia a la defoliación en *Stipa clarazii*, *Stipa tenuis* y *Stipa ambigua*. Universidad Nacional del sur. Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina. 81 pp.
- Saint Pierre, C., Busso C.A. 2006. Capacidad competitiva y tolerancia a la defoliación en *Stipa clarazii* y *Stipa ambigua*. *Phyton - International Journal of Experimental Botany* 75: 21-30.
- Saint Pierre, C., Busso, C.A., Montenegro, O.A., Rodríguez, G.D., Giorgetti, H.D., Montani, T. 2000. Producción de materia seca en especies de gramíneas perennes nativas del centro de argentina. XVI Reunión latinoamericana de producción animal, Montevideo. 4pp. www.produccionanimal.com.
- Saint Pierre, C., Busso, C.A., Montenegro, O.A., Rodríguez, G.D., Giorgetti, H.D., Montani, T., Bravo, O.A. 2002. Root proliferation in perennial grasses of low and high palatability. *Plant Ecology* 165: 161-169.
- Saint Pierre, C., Busso, C.A., Montenegro, O.A., Rodríguez, G.D., Giorgetti, H.D., Montani, T., Bravo, O.A. 2004a. Direct assessment of competitive ability and defoliation tolerance in perennial grasses. *Canadian Journal of Plant Science* 84: 195-204.
- Saint Pierre, C., Busso, C.A., Montenegro, O.A., Rodríguez, G.D., Giorgetti, H.D., Montani, T., Bravo, O.A. 2004b. Defoliation tolerance and ammonium uptake rate in perennial tussock grasses. *Journal of Range Management* 57: 82-88.

- Saint Pierre, C., Busso, C.A., Montenegro, O.A., Rodríguez, G.D., Giorgetti, H.D., Montani, T., Bravo, O.A. 2004c. Soil resource acquisition mechanisms, nutrient concentrations and growth in perennial grasses. *Interciencia* 29: 303-311.
- Saito, K., Suyama, Y., Sato, S. 2004. Defoliation effects on the community structure of arbuscular mycorrhizal fungi based on 18S rDNA sequences. *Mycorrhiza* 14: 363-373.
- Saiz, G., Byrne, K.A., Butterbach-Bahl, K., Kiese, R., Blujdea, V., Farrell, E.P. 2006. Stand age-related effects on soil respiration in a first rotation Sitka spruce chronosequence in central Ireland. *Global Change Biology* 12 (6): 1007-1020.
- Sanchez, F.G. 2001. Loblolly pine needle decomposition and nutrient dynamics as affected by irrigation, fertilization, and substrate quality. *Forest Ecology Management* 152: 85-96
- Saravesi, K., Ruotsalainen, A., Cahill, J. 2014. Contrasting impacts of defoliation on root colonization by arbuscular mycorrhizal and dark septate endophytic fungi of *Medicago sativa*. *Mycorrhiza* 24: 239-245.
- Scheffer, R.A., Aerts, R. 2000. Root decomposition and soil nutrient and carbon cycling in two temperate fen ecosystems. *Oikos* 91: 541-549.
- Schenck, N., Perez, Y. 1990. Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi. 3rd ed. Gainesville, Florida: Synergistic Publications.
- Schlesinger, W.H., Andrews, J.A. 2000. Soil respiration and the global carbon cycle. *Biogeochemistry* 48(1): 7-20.
- Schultze, E.D. 1986. Whole-plant responses to drought. *Australian Journal of Plant Physiology* 13: 127-141.
- Seastedt, T.R., Parton, W.J., Ojima, D.S., 1992. Mass loss and nitrogen dynamics of decaying litter of grasslands: the apparent low nitrogen immobilization potential of root detritus. *Canadian Journal of Botany* 70: 384-391.
- Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable (SAyDS). 2011. Fondo de adaptación: Aumento de la resiliencia climática y mejora del manejo sustentable de la tierra en el sudoeste de la Provincia de Buenos Aires. 149 pp.
- Shannon, C.E., Weaver, W. 1949. *The Mathematical Theory of Communication*. University Illinois. Press, Urbana, IL. EEUU, pp 1-144.
- Shariff, A.R., Biondini, M.E., Grygiel, C.E. 1994. Grazing intensity effects on litter decomposition and soil nitrogen mineralization. *Journal of Range Management* 47: 444-449.
- Sigüenza, C., Espejel, I. Allen, E. 1996. Seasonality of mycorrhizae in coastal sand dunes of Baja California. *Mycorrhiza* 6: 151-157.

- Silver, W.L., Miya, R.K. 2001. Global patterns in root decomposition: comparisons of climate and litter quality effects. *Oecologia* 129: 407-419.
- Sirotnak, J.M., Huntly, N.J., 2000. Direct and indirect effects of herbivores on nitrogen dynamics: voles in riparian areas. *Ecology* 81: 78-87.
- Smalla, K., Cresswell, N., Mendoca-Hagler, L.C., Wolters, A., van Elsas, J.D. 1993. Rapid DNA extraction protocol from soil for polymerase chain reaction-mediated amplification. *Journal of Applied Bacteriology* 74: 78-85.
- Smith, S., Read, D. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*. Third ed. London. Academic Press.
- Smith, S.E., Read, D.J. 1997. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press, Inc San Diego California. ISBN 0-12-652840-3.
- Smith, S.W., Woodin, S.J., Pakeman, R.J., Johnson, D., van der Wal, R. 2014. Root traits predict decomposition across a landscape-scale grazing experiment *New Phytologist* 203: 851-862.
- Sokal, R.R., Rohlf, F.J. 1984. *Introducción a la Bioestadística*. Editorial Reverté S.A., Barcelona, España, 376 pp.
- Soteras, F., Cofré, N., Bartoloni, J., Cabello, M., Becerra, A. 2013. Hongos arbusculares (Glomeromycota) en la rizosfera de *Atriplex lampa* en dos ambientes salinos de Córdoba: influencia de la profundidad en la colonización radical y presencia de morfoespecies. *Boletín de la Sociedad Argentina Botánica*. 48(2): 211-219.
- St. Luce, M., Whalen, J.K., Ziadi, N., Zebarth, B.J. 2011. Nitrogen dynamics and indices to predict soil nitrogen supply in humid temperate soils. *Advances in Agronomy* 112: 55-102.
- Stark, S., Kytoviita, M.M. 2006. Simulated grazer effects on microbial respiration in a subarctic meadow: implications for nutrient competition between plants and soil microorganisms. *Applied Soil Ecology* 31: 20-31.
- Stephan, A., Meyer, A.H., Schmid, B., 2000. Plant diversity affects culturable soil bacteria in experimental grassland communities. *Journal of Ecology* 88 (6): 988-998.
- Sterflinger, K., Krumbein, W.E., Schwiertz, A. 1998. A protocol for PCR in situ hybridization of hyphomycetes. *International Microbiology* 1: 217-220.
- Strickland, M.S., Osburn, E., Lauber, C., Fierer, N., Bradford, M.A. 2009. Litter quality is in the eye of the beholder: initial decomposition rates as a function of inoculum characteristics. *Functional Ecology* 23: 627-636.
- Strojan, C.L., Randall, D.C., Turner, F.B. 1987. Relationship of leaf litter decomposition rates to rainfall in the Mojave Desert. *Ecology* 68: 741-744.

- Strojan, C.L., Turner, F.B., Castetter, R. 1979. Litterfall from shrubs in the northern Mojave Desert. *Ecology* 60: 891-900.
- Su, Y., Guo, L. 2007. Arbuscular mycorrhizal fungi in non-grazed, restored and over-grazed grassland in the Inner Mongolia steppe. *Mycorrhiza* 17: 689-693.
- Sutton, J.C., Barron, G.L. 1972. Population dynamics of endogone spores in soil. *Canadian Journal of Botany* 50: 1909-1914.
- Swift, M.J., Heal, O.W., Anderson, J.M. 1979. *Decomposition in Terrestrial Ecosystems*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 372 pp.
- Sýkorová, Z., Ineichen, K., Wiemken, A., Redecker, D. 2007. The cultivation bias: different communities of arbuscular mycorrhizal fungi detected in roots from the field, from bait plants transplanted to the field, and from a greenhouse trap experiment. *Mycorrhiza* 18: 1-14.
- Sylvia, D.M., Fuhrmann, J.J., Hartel, P.G., Zuberer, D.A. 2005. *Principles and applications of soil microbiology*, Second ed. Pearson Education, Upper Saddle River, New Jersey.
- Takeda, H., Ishida, Y., Tsutsumi, T. 1987. Decomposition of leaf litter in relation to litter quality and site conditions. *Memoirs of the College of Agriculture, Kyoto University* 180: 17-38.
- Talbot, J., Allison, S., Treseder, K. 2008. Decomposers in disguise: mycorrhizal fungi as regulators of soil C dynamics in ecosystems under global change. *Functional Ecology* 22: 955-963.
- Taylor, B.R., Parkinson, D., Parsons, W.F.J. 1989. Nitrogen and lignin content as predictors of litter decay rates: a microcosm test. *Ecology* 70: 97-104.
- Tinker, P. 1978. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizas on plant nutrition and plant growth. *Physiologie Vegetale* 16: 743-751.
- Torres, Y.A. 2011. Producción forrajera y de semillas, y características morfofisiológicas en gramíneas perennes primavero estivales nativas, naturalizadas introducidas en el centro de Argentina. Tesis de doctorado en Agronomía. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca. 200 pp.
- Torres, Y.A., Busso, C., Montenegro, O., Ithurrart L., Giorgetti, H., Rodríguez, G., Bentivegna, D., Bredan, R., Fernández, O., Mujica, M.M., Baioni, S., Entío, J., Fioretti, M.N., Tucac, G. 2011. Defoliation effects on the arbuscular mycorrhizas of ten perennial grass genotypes in arid Patagonia, Argentina. *Applied Soil Ecology* 49: 208-214.
- Trlica, M.J. 1977. Effects of frequency and intensity of defoliation on primary producers of arid and semiarid rangelands. In: *Proceedings of the Second United States-*

- Australian Range Panel, pp. 25–55. Adelaide: Australian Rangeland Society
376 pp.
- Uhlířová, E., Simek, M., Santruckov , H. 2005. Microbial transformation of organic matter in soils of mountain grasslands under different management. *Applied Soil Ecology* 28: 225-235.
- Uhlmann, E., Gorke, C., Petersen, A., Oberwinkler, F. 2006. Arbuscular mycorrhizae from arid parts of Namibia. *Journal of Arid Environments* 64: 221-237.
- Vaieretti, M.V., Cingolani, A.M., Perez-Harguindeguy, N., De Gurvich y Cabido, M. 2010. Does decomposition of standard materials differ among grassland patches maintained by livestock? *Austral Ecology* 35: 935-943.
- Van Aarle, I., Olsson, P. 2003. Fungal lipid accumulation and development of mycelial structures by two arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 6762-6767.
- Van Der Heijden, M., Boller, T., Wiemken, A., Sanders, I. 1998. Different arbuscular mycorrhizal fungal species are potential determinants of plant community structure. *Ecology* 79(6): 2082-2091.
- Van Der Krift, T.A.J., Gioacchini, P., Kuikman, P.J., Berendse F. 2001. Effects of high and low fertility plant species on dead root decomposition and nitrogen mineralisation. *Soil Biology & Biochemistry* 33: 2115-2124.
- Van Der Krift, T.A.J., Kuikman, P.J., Berendse, F. 2002. The effect of living plants on root decomposition of four grass species. *Oikos* 96: 36-45.
- Varma, A. 1999. Hydrolytic enzymes from arbuscular mycorrhizae: the current status. En: Varma A. Hock B. (eds.). *Mycorrhiza*, 2nd ed. Springer, Berlin, pp 373-389.
- Velázquez, M.S., Cabello, M.N., Barrera, M. 2013. Composition and structure of arbuscular-mycorrhizal communities in El Palmar National Park, Argentina. *Mycologia* 105(3): 509-520.
- Verkaar, H.J. 1988. Are defoliators beneficial for their host plants in terrestrial ecosystems?-a review. *Acta Botanica Neerlandica* 37: 137-152.
- Vinton, M.A., Burke, I.C. 1997. Contingent effects of plant species on soils along a regional moisture gradient in the Great Plains. *Oecologia* 110: 393-402.
- Vitousek, P. 1982. Nutrient cycling and nutrient use efficiency. *American Naturalist* 119: 553-572.
- Vitousek, P.M., Walker, L.R., Whiteaker, L.D., Mueller-Dombois, D., Matson, P.A. 1987. Biological invasion by *Myrica faya* alters ecosystem development in Hawaii. *Science* 238: 802-804.
- Wakelin, S.A., Macdonald, L.M., Rogers, S.L., Gregg, A.L., Bolger, T.P., Baldock J.A. 2008. Habitat selective factors influencing the structural composition and

- function capacity of microbial communities in agricultural soils. *Soil Biology & Biochemistry* 40: 803-813.
- Walker, C., Mize, W., McNabb, H. 1982. Populations of endogonaceous fungi at two populations in central Iowa. *Canadian Journal of Botany* 60: 2518-2529.
- Wallenstein, M.D., Hess, A.M., Lewis, M.R., Steltzer, H., Ayres, E. 2010. Decomposition of aspen leaf litter results in unique metabolomes when decomposed under different tree species. *Soil Biology & Biochemistry* 42: 484-490.
- Walling, S.Z., Zabinski, C.A. 2006. Defoliation effects on arbuscular mycorrhizae and plant growth of two native bunchgrasses and an invasive forb. *Applied Soil Ecology* 32:111-117.
- Wan, S., Luo, Y. 2003. Substrate regulation of soil respiration in tall grass prairie: results of clipping and shading experiment. *Global Biogeochemical Cycles* 17: 1-12.
- Wardle, D.A. 1992. A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. *Biological Review* 67: 321-358.
- Wardle, D.A., Bonner, K.I., Barker, G.M. 2002. Linkage between plant litter decomposition, litter quality, and vegetation responses to herbivores. *Functional Ecology* 16: 585-595.
- Wardle, D.A., Yeates, G.W., Williamson, W., Bonner, K. 2003. The response of a three trophic level soil food web to the identity and diversity of plant species and functional groups. *Oikos* 102: 45-56.
- Wardle, D.A., Zackrisson, O., Hörnberg, G., Gallet, C. 1997. The influence of island area on ecosystem properties. *Science* 277: 1296-1299.
- Weatherly, H.E., Zitzer, S.F., Coleman, J.S., Arnone, J.A. III. 2003. In situ litter decomposition and litter quality in a Mojave Desert ecosystem: effects of elevated atmospheric CO₂ and interannual climate variability. *Global Change Biology* 9 (8): 1223-1233.
- Wedin, D.A., Tieszen, L.L., Deway, B., Pastor, J. 1995. Carbon isotope dynamics during grass decomposition and soil organic matter formation. *Ecology* 76: 1383-1392.
- Wedin, D.A., Tilman, D. 1990. Species effects on nitrogen cycling: a test with perennial grasses. *Oecologia* 84: 433-441.
- Weiss, J.V., Emerson, D., Megonigal, J.P. 2005. Rhizosphere iron (III) deposition and reduction in a *Juncus effusus* L.-dominated wetland. *Soil Science Society of America Journal* 69: 1861-1870.

- Westoby, M., Falster, D.S., Moles, A.T., Vesk, P.A., Wright, I.J. 2002. Plant ecological strategies: some leading dimensions of variation between species. *Annual Review of Ecology and Systematics* 33: 125-159.
- Whipps, J.M., Lynch, J.M. 1986. The influence of the rhizosphere on crop productivity. *Advances in Microbial Ecology* 9: 187-244.
- Whitehead, D.C. 1983. The influence of frequent defoliation and of drought on nitrogen and sulfur in the roots of perennial ryegrass and white clover. *Annals of Botany* 52: 931- 934.
- Whitford, W. 2002. *Ecology of Desert Systems*. Academic Press, USA.
- Wilks, S.S. 1932. Certain generalizations in the analysis of the variance. *Biometrika* 24: 471-494.
- Williamson, S.C., Detling, J.K., Dodd, J.L., Dyer, M.I. 1989. Experimental evaluation of the grazing optimization hypothesis. *Journal of Range Management* 42: 149-152.
- Wolf, D.D., Parrish, D.J. 1982. Short term growth responses of tall fescue to changes in soil water potential and to defoliation. *Crop Science* 22: 996-999.
- Wright, I.J., Westoby, M., Reich, P.B. 2002. Convergence towards higher leaf mass per area in dry and nutrient-poor habitats has different consequences for leaf lifespan. *Journal of Ecology* 90: 534-543.
- Yahdjian, L., Sala, O.E. 2008. Do litter decomposition and nitrogen mineralization show the same trend in the response to dry and wet years in the Patagonian steppe? *Journal of Arid Environments* 72: 687-695.
- Yahdjian, L., Sala, O.E., Austin, A.T. 2006. Differential controls of water input on litter decomposition and nitrogen dynamics in the Patagonian steppe. *Ecosystems* 9: 128-141.
- Yang, C., Crowley, D.E. 2000. Rhizosphere microbial community structure in relation to root location and plant iron nutritional status. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 345-351.
- Yang, W., Yong, Z., Cheng, G., Xinhua, H., Qiong, D., Yongchan, K., Yichao, R., Shiping, W., Liang-Dong, G. 2013. The arbuscular mycorrhizal fungal community response to warming and grazing differs between soil and roots on the Qinghai-Tibetan Plateau. *Plos One* 8(9): e76447.
- Zabed Hossain, M., Okubo, A., Sugiyama, S. 2009. Effects of grassland species on decomposition of litter and soil microbial communities *Ecological Research* 25: 255-261.
- Zaller, J.G., Heigl, F., Grabmaier, A., Lichtenegger, C., Piller, K., Allabashi, R., Frank, T., Drapela, T. 2011. Earthworm-mycorrhiza interactions can affect the diversity,

- structure and functioning of establishing model grassland communities. *Plos One* 6:e29293.
- Zelles, L. 1999. Fatty acids patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterization of microbial communities in soil: a review. *Biology and Fertility of Soils* 29:111-129.
- Zhang, D., Hui, D., Luo, Y., Zhou, G. 2008. Rates of litter decomposition in terrestrial ecosystems: global patterns and controlling factors. *Journal of Plant Ecology* 1: 85-93.
- Zhang, T., Sun, Y., Shi, Z., Feng, G. 2012. Arbuscular Mycorrhizal Fungi Can Accelerate the Restoration of Degraded Spring Grassland in Central Asia. *Journal of Rangeland Ecology and Management* 65: 426-432.
- Zhao, W., Shi-Ping, C., Guang-Hui, L. 2008. Compensatory growth responses to clipping defoliation in *Leymus chinensis* (Poaceae) under nutrient addition and water deficiency conditions. *Plant Ecology* 196: 85-99.
- Zhou, X.H., Sherry, R.A., An, Y., Wallace, L.L., Luo, Y.Q. 2006. Main and interactive effects of warming, clipping and doubled precipitation on soil CO₂ efflux in a grassland ecosystem. *Global Biogeochemical Cycles* 20, GB1003.
- Zhou, Z., Sun, O.J., Huang, J., Li, L., Liu, P., Han, X. 2007. Soil carbon and nitrogen stores and storage potential as affected by land-use in an agro-pastoral ecotone of northern China. *Biogeochemistry* 82: 127-138.

APÉNDICE

Tabla A1. Comparación del área basal (cm²) de *Poa ligularis* (Pl), *Nassella tenuis* (Nt) y *Amelichloa ambigua* (Aa) defoliadas (D) o no defoliadas (ND). Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar (n= 10). Letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre especies y tratamientos respectivamente, dentro de cada fecha de muestreo. Las plantas fueron defoliadas el 7-08 y 14-09 en 2012, y el 18-07 y 17-09 en 2013.

		Pl	Nt	Aa	Pl	Nt	Aa
		ND			D		
Fechas de muestreo (2012)	(1) 30-03	141,92 \pm 24,78 \pm b,a	50,47 \pm 6,18 \pm a,a	99,16 \pm 16,35 \pm b,b	203,83 \pm 26,31 \pm b,a	48,58 \pm 9,2 \pm a,a	56,12 \pm 12,26 \pm a,a
	(2) 24-04	146,9 \pm 23,32 \pm c,a	54,69 \pm 7 \pm a,a	103,8 \pm 15,31 \pm b,a	212,28 \pm 27,59 \pm c,a	46,47 \pm 9,42 \pm a,a	80,07 \pm 17,53 \pm b,a
	(3) 21-05	139,11 \pm 21,61 \pm b,a	53,45 \pm 6,35 \pm a,a	114,56 \pm 16,34 \pm b,a	195,44 \pm 23,77 \pm c,a	44,31 \pm 6,23 \pm a,a	80,1 \pm 15,47 \pm b,a
	(4) 02-07	131,74 \pm 21,4 \pm c,a	54,77 \pm 7,21 \pm a,a	102,77 \pm 15,08 \pm b,a	174,03 \pm 23,28 \pm c,a	42,28 \pm 8,46 \pm a,a	78,67 \pm 13,55 \pm b,a
	(5) 06-08	112,62 \pm 12,75 \pm b,a	52,4 \pm 5,34 \pm a,b	94,72 \pm 13,6 \pm b,a	158,24 \pm 18,38 \pm c,a	37,65 \pm 4,21 \pm a,a	69,08 \pm 13,38 \pm b,a
	(6) 06-09	127,84 \pm 21,51 \pm b,a	56,53 \pm 6,35 \pm a,b	99,39 \pm 14,71 \pm b,a	171,87 \pm 16,61 \pm c,a	33,44 \pm 5,23 \pm a,a	72,78 \pm 14,97 \pm b,a
	(7) 04-10	125,51 \pm 19,24 \pm b,a	54,12 \pm 6,33 \pm a,b	100,37 \pm 14,17 \pm b,a	160,43 \pm 15,71 \pm c,a	36,36 \pm 4,35 \pm a,a	74,22 \pm 14,63 \pm b,a
	(8) 06-11	123,37 \pm 20,01 \pm b,a	45,94 \pm 5,09 \pm a,b	93,78 \pm 13,78 \pm b,a	170,38 \pm 17,75 \pm c,a	33,25 \pm 4,6 \pm a,a	65,92 \pm 13,54 \pm b,a
	(9) 04-12	126,59 \pm 19,38 \pm b,a	44,99 \pm 5,03 \pm a,a	100,15 \pm 13,08 \pm b,b	161,12 \pm 17,11 \pm b,a	37,12 \pm 5,39 \pm a,a	65,78 \pm 16,81 \pm a,a
Fechas de muestreo (2013)	(1) 11-04	215,84 \pm 24,04 \pm c,b	34,59 \pm 6,23 \pm a,b	85,2 \pm 10,24 \pm b,b	157,42 \pm 22,4 \pm c,a	28,24 \pm 2,69 \pm a,a	72,2 \pm 8,59 \pm b,a
	(2) 09-05	207,07 \pm 24,43 \pm c,a	32,22 \pm 6,23 \pm a,a	85,88 \pm 11,34 \pm b,a	144,65 \pm 17,94 \pm c,a	25,13 \pm 2,65 \pm a,a	79,63 \pm 9,5 \pm b,a
	(3) 31-05	206,66 \pm 25,88 \pm c,a	33,5 \pm 6,59 \pm a,a	88,19 \pm 10,11 \pm b,a	144,38 \pm 18,19 \pm c,a	27,95 \pm 3,31 \pm a,a	82,73 \pm 10,08 \pm b,a
	(4) 16-07	169,45 \pm 20,82 \pm c,a	31,63 \pm 7,6 \pm a,a	77,14 \pm 9,73 \pm b,a	137,48 \pm 18,34 \pm c,a	26,35 \pm 2,88 \pm a,a	80,13 \pm 9,9 \pm b,a
	(5) 23-08	172,77 \pm 23,1 \pm c,a	31,93 \pm 6,43 \pm a,a	86,11 \pm 11,03 \pm b,a	135,54 \pm 17,99 \pm c,a	26,55 \pm 2,73 \pm a,a	82,72 \pm 8,63 \pm b,a
	(6) 17-09	196,02 \pm 29,67 \pm c,a	30,92 \pm 6,63 \pm a,a	84,44 \pm 9,64 \pm b,a	134,58 \pm 17,46 \pm c,a	25,35 \pm 2,84 \pm a,a	80,51 \pm 9,84 \pm b,a
	(7) 18-10	170,52 \pm 23,43 \pm c,a	33,32 \pm 6,85 \pm a,a	83,19 \pm 12,57 \pm b,b	135,93 \pm 17,96 \pm c,a	27,03 \pm 2,92 \pm a,a	79,14 \pm 9,67 \pm b,a
	(8) 21-11	170,99 \pm 22,02 \pm c,b	35,07 \pm 6,82 \pm a,b	101,49 \pm 11,37 \pm b,b	130,61 \pm 17,83 \pm c,a	26,93 \pm 2,64 \pm a,a	77,15 \pm 9,9 \pm b,a
	(9) 20-12	165,31 \pm 21,82 \pm c,b	30,93 \pm 6,89 \pm a,b	92,77 \pm 9,97 \pm b,b	128,59 \pm 17,63 \pm c,a	25,78 \pm 2,61 \pm a,a	78,43 \pm 8,47 \pm b,a

Tabla A2. Comparación del número de hojas (verdes + secas)/macolla progenitora de *Poa ligularis* (PI), *Amelichloa ambigua* (Aa) y *Nassella tenuis* (Nt) defoliadas (D) o no defoliadas (ND), dentro de cada fecha y año de muestreo. Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar (n= 10). Letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre especies y tratamientos respectivamente, dentro de cada fecha de muestreo. Las plantas fueron defoliadas el 7-08 y 14-09 en 2012, y el 18-07 y 17-09 en 2013.

		PI	Nt	Aa	PI	Nt	Aa
		ND			D		
Fechas de muestreo (2012)	(1) 30-03	2,9 \pm 0,23 a,a	4,4 \pm 0,34 b,a	2,3 \pm 0,26 a,a	2,7 \pm 0,26 a,a	3,5 \pm 0,31 b,a	2,7 \pm 0,21 a,a
	(2) 24-04	3,8 \pm 0,33 a,a	3,3 \pm 0,45 a,a	2,8 \pm 0,25 a,a	3,1 \pm 0,23 a,a	3,7 \pm 0,3 a,a	3,1 \pm 0,28 a,a
	(3) 21-05	3,7 \pm 0,3 a,a	3,3 \pm 0,15 a,a	3,1 \pm 0,28 a,a	3,3 \pm 0,3 a,a	3,2 \pm 0,25 a,a	3,2 \pm 0,33 a,a
	(4) 02-07	4,4 \pm 0,27 b,a	3,7 \pm 0,15 b,a	3,1 \pm 0,18 a,a	4,2 \pm 0,49 b,a	3,9 \pm 0,28 b,a	3,3 \pm 0,3 a,a
	(5) 06-08	3,8 \pm 0,29 b,a	4,3 \pm 0,45 b,a	3,1 \pm 0,23 a,a	4,4 \pm 0,37 b,a	3,8 \pm 0,29 b,a	3,6 \pm 0,45 a,a
	(6) 06-09	3,3 \pm 0,3 a,b	4 \pm 0,26 a,b	4 \pm 0,3 a,b	2,9 \pm 0,23 a,a	2,7 \pm 0,15 a,a	2,8 \pm 0,25 a,a
	(7) 04-10	2,8 \pm 0,2 a,a	3,8 \pm 0,2 b,a	4,2 \pm 0,29 b,a	2,9 \pm 0,38 a,a	3,2 \pm 0,2 b,a	3,5 \pm 0,22 b,a
	(8) 06-11	2,4 \pm 0,16 a,a	2,7 \pm 0,3 a,a	4,1 \pm 0,35 b,a	2,6 \pm 0,5 a,a	2,5 \pm 0,37 a,a	3,4 \pm 0,22 b,a
	(9) 04-12	2,2 \pm 0,2 a,a	2,22 \pm 0,28 a,a	4,4 \pm 0,27 b,a	2,2 \pm 0,47 a,a	2 \pm 0,39 a,a	4,1 \pm 0,35 b,a
Fechas de muestreo (2013)	(1) 11-04	2,5 \pm 0,22 a,a	3,1 \pm 0,1 b,a	2,6 \pm 0,16 a,a	2,4 \pm 0,16 a,a	2,9 \pm 0,18 b,a	2,3 \pm 0,15 a,a
	(2) 09-05	3,1 \pm 0,18 a,a	3,1 \pm 0,18 a,a	3,3 \pm 0,21 a,a	2,7 \pm 0,26 a,a	3 \pm 0,15 a,a	2,9 \pm 0,23 a,a
	(3) 31-05	2,6 \pm 0,16 a,a	3,1 \pm 0,23 a,a	3,3 \pm 0,21 a,a	3,2 \pm 0,2 a,b	3,2 \pm 0,2 a,a	2,9 \pm 0,18 a,a
	(4) 16-07	2,8 \pm 0,2 a,a	2,8 \pm 0,25 a,a	3,2 \pm 0,2 a,a	3,4 \pm 0,22 a,a	3,2 \pm 0,25 a,a	3,1 \pm 0,18 a,a
	(5) 23-08	3,4 \pm 0,16 ab,a	2,7 \pm 0,26 a,a	3,3 \pm 0,15 b,a	2,7 \pm 0,21 ab,a	2,8 \pm 0,29 a,a	3,4 \pm 0,22 b,a
	(6) 17-09	3 \pm 0,3 a,a	3,9 \pm 0,23 b,a	3,6 \pm 0,16 ab,a	2,8 \pm 0,25 a,a	3,7 \pm 0,3 b,a	3,3 \pm 0,42 ab,a
	(7) 18-10	2,8 \pm 0,33 a,b	4,3 \pm 0,21 b,b	4,3 \pm 0,21 b,b	2,5 \pm 0,22 a,a	3,5 \pm 0,27 b,a	4 \pm 0,33 b,a
	(8) 21-11	2,4 \pm 0,27 a,a	3,2 \pm 0,29 a,a	4,2 \pm 0,33 b,a	2,6 \pm 0,31 a,a	2,8 \pm 0,29 a,a	3,7 \pm 0,37 b,a
	(9) 20-12	2,5 \pm 0,34 a,a	2,6 \pm 0,43 a,a	3,8 \pm 0,25 b,a	3,4 \pm 0,16 a,b	3,1 \pm 0,18 a,b	3,7 \pm 0,26 b,b

Tabla A3. Comparación de la longitud total de hojas (láminas + vainas, verdes + secas)/macolla de *Poa ligularis* (PI), *Amelichloa ambigua* (Aa) y *Nassella tenuis* (Nt) defoliadas (D) o no defoliadas (ND). Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar (n=10). Letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre especies y tratamientos respectivamente, dentro de cada fecha de muestreo. Las plantas fueron defoliadas el 7-08 y 14-09 en 2012, y el 18-07 y 17-09 en 2013.

		PI	Nt	Aa	PI	Nt	Aa
		ND			D		
Fechas de muestreo (2012)	(1) 30-03	47,3 \pm 3,3 b,a	41,06 \pm 4,22 a,a	36,56 \pm 4,81 a,a	54,15 \pm 4,07 b,a	33,45 \pm 2,89 a,a	43,5 \pm 3,86 a,a
	(2) 24-04	61,29 \pm 6,75 b,a	32,04 \pm 5,1 a,a	45,97 \pm 5,72 b,a	57,06 \pm 5,66 b,a	40,13 \pm 4,11 a,a	48,73 \pm 5,44 b,a
	(3) 21-05	55,96 \pm 5,63 b,a	28,91 \pm 2,67 a,a	49,88 \pm 5,6 b,a	55,59 \pm 5,17 b,a	33,24 \pm 3,46 a,a	50,75 \pm 6,37 b,a
	(4) 02-07	50,39 \pm 5,72 b,a	30,88 \pm 2,81 a,a	52,44 \pm 6,08 b,a	60,36 \pm 7,93 b,a	35,44 \pm 4,37 a,a	51,07 \pm 5,91 b,a
	(5) 06-08	47,1 \pm 6,4 b,a	31,23 \pm 4,68 a,a	51,67 \pm 6 b,a	59,26 \pm 5,67 b,a	33,15 \pm 3,32 a,a	53,24 \pm 5,35 b,a
	(6) 06-09	41,15 \pm 5,59 a,b	28,01 \pm 2,64 a,b	50,87 \pm 6,45 a,b	22,17 \pm 4,85 a,a	15,03 \pm 1,57 a,a	18,45 \pm 4,59 a,a
	(7) 04-10	36,67 \pm 4,32 a,b	41,78 \pm 5,6 a,b	66,35 \pm 12,53 a,b	23,92 \pm 2,76 a,a	23,14 \pm 2,41 a,a	22,19 \pm 2,42 a,a
	(8) 06-11	32,81 \pm 1,61 a,b	32,34 \pm 4,99 a,b	48,32 \pm 8,18 a,b	23,18 \pm 2,45 a,a	27,52 \pm 3,73 a,a	23,76 \pm 3,06 a,a
	(9) 04-12	28,72 \pm 2,05 a,b	28,77 \pm 3,97 a,b	59,44 \pm 7,36 b,b	25,25 \pm 4,03 a,a	31,34 \pm 4,28 a,a	36,98 \pm 2,96 b,a
Fechas de muestreo (2013)	(1) 11-04	35,51 \pm 3,91 b,a	27,54 \pm 1,98 a,b	51,74 \pm 2,93 c,a	40,07 \pm 3,8 b,a	20,01 \pm 2,43 a,a	48,09 \pm 2,37 b,a
	(2) 09-05	41,8 \pm 3,67 b,a	24,86 \pm 2,38 a,a	66,01 \pm 4,38 c,a	42,45 \pm 4,68 b,a	23,88 \pm 1,47 a,a	56,3 \pm 3,96 c,a
	(3) 31-05	35,98 \pm 4,14 a,a	26,25 \pm 2,95 a,a	66,15 \pm 4,7 b,a	50,21 \pm 4,42 b,b	25,28 \pm 2,54 a,b	59,37 \pm 3,95 b,a
	(4) 16-07	30,38 \pm 3,11 b,b	18,12 \pm 1,95 a,b	60,4 \pm 7,59 c,b	49,11 \pm 4,2 b,a	23,91 \pm 2,2 a,a	60,15 \pm 3,43 c,a
	(5) 23-08	35,51 \pm 3,78 b,b	18,78 \pm 2,42 a,a	60,72 \pm 5,98 c,b	20,18 \pm 2,42 b,a	13,04 \pm 2,21 a,a	18,72 \pm 2,08 b,a
	(6) 17-09	34,63 \pm 4,6 a,a	25,17 \pm 2,76 a,a	59,67 \pm 7,22 b,b	23,74 \pm 2,13 a,a	22,09 \pm 2,58 a,a	21,82 \pm 2,9 a,a
	(7) 18-10	37,47 \pm 5,4 a,b	39,82 \pm 4,3 b,b	71,03 \pm 9,97 b,b	21,1 \pm 1,09 a,a	35,19 \pm 4,45 b,a	31,62 \pm 3,02 b,a
	(8) 21-11	36,69 \pm 4,41 a,b	50,84 \pm 5,56 b,b	76,92 \pm 10,25 c,b	27,88 \pm 3,49 a,a	35,1 \pm 2,83 b,a	46,79 \pm 8,7 c,a
	(9) 20-12	39,3 \pm 4,2 a,a	41,28 \pm 6,51 a,a	69,51 \pm 6,99 b,b	36,12 \pm 1,33 a,a	37,53 \pm 2,61 a,a	41,4 \pm 3,77 a,a

Tabla A4. Comparación de la altura de macolla en plantas de *Poa ligularis* (PI), *Amelichloa ambigua* (Aa) y *Nassella tenuis* (Nt) defoliadas (D) o no defoliadas (ND). Cada dato es el promedio \pm 1 error estándar (n= 10). Letras distintas delante y detrás de la coma indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre especies y tratamientos respectivamente, dentro de cada fecha de muestreo. Las plantas fueron defoliadas el 7-08 y 14-09 en 2012, y el 18-07 y 17-09 en 2013.

		PI	Nt	Aa	PI	Nt	Aa
		ND			D		
Fechas de muestreo (2012)	(1) 30-03	27,85 \pm 2,57 c,a	14,7 \pm 0,87 a,a	18,65 \pm 2,14 b,a	30,65 \pm 2,17 c,a	17,85 \pm 1,31 a,a	27 \pm 2,52 b,a
	(2) 24-04	26,52 \pm 2,42 b,a	13,02 \pm 1,12 a,a	24,18 \pm 2,77 b,a	30,12 \pm 2,77 b,a	16,83 \pm 1,53 a,a	27,15 \pm 2,65 b,a
	(3) 21-05	26,12 \pm 2,34 b,a	13,91 \pm 0,94 a,a	24,31 \pm 2,56 b,a	28,77 \pm 2,87 b,a	16,02 \pm 1,74 a,a	27,35 \pm 2,78 b,a
	(4) 02-07	20,37 \pm 2,15 b,a	13,39 \pm 1,31 a,a	24,79 \pm 2,66 b,a	27,9 \pm 3,51 b,a	16,04 \pm 1,46 a,a	26,75 \pm 2,86 b,a
	(5) 06-08	19,95 \pm 2,45 b,a	11,64 \pm 1,28 a,a	24,17 \pm 2,3 b,a	22,13 \pm 2,27 b,a	15,12 \pm 1,36 a,a	25,34 \pm 3,03 b,a
	(6) 06-09	16,77 \pm 1,71 b,b	11,03 \pm 1,46 a,a	23,4 \pm 2,41 b,b	11,44 \pm 1,51 a,a	7,49 \pm 0,71 a,a	8,25 \pm 0,83 a,a
	(7) 04-10	17,65 \pm 1,82 a,a	17,8 \pm 3,45 a,a	21,65 \pm 2,48 a,b	13,55 \pm 1,08 b,a	12,63 \pm 1,43 b,a	9,32 \pm 1,25 a,a
	(8) 06-11	18,1 \pm 1,62 a,b	22,2 \pm 4,53 a,b	17,69 \pm 2,33 a,b	14,23 \pm 1,15 a,a	17,37 \pm 2,36 a,a	11,13 \pm 1,31 a,a
	(9) 04-12	18,27 \pm 1,55 a,a	28,3 \pm 4,63 b,a	19,03 \pm 1,81 a,a	15,53 \pm 1,07 a,a	28,08 \pm 2,91 b,a	14,18 \pm 0,95 a,a
Fechas de muestreo (2013)	(1) 11-04	20,47 \pm 1,73 b,a	12,36 \pm 0,94 a,a	30,1 \pm 1,87 c,a	24,35 \pm 1,37 b,a	10,01 \pm 0,93 a,a	28,52 \pm 1,1 b,a
	(2) 09-05	20,86 \pm 1,31 b,a	12,16 \pm 0,9 a,a	31,17 \pm 1,89 c,a	21,36 \pm 1,17 b,a	11,5 \pm 0,75 a,a	29,11 \pm 1,08 c,a
	(3) 31-05	21,23 \pm 0,98 b,a	12,1 \pm 0,88 a,a	30,05 \pm 1,87 c,a	23,01 \pm 1,49 b,a	11,03 \pm 0,77 a,a	29,8 \pm 1,07 c,a
	(4) 16-07	16,66 \pm 1,31 b,a	9,65 \pm 0,53 a,a	27,89 \pm 1,68 c,a	21,87 \pm 0,89 b,b	10,91 \pm 0,69 a,b	28,88 \pm 1,46 c,b
	(5) 23-08	17,36 \pm 1,47 b,b	8,26 \pm 0,81 a,a	27,01 \pm 1,78 c,b	11,57 \pm 0,8 b,a	6,61 \pm 0,39 a,a	7,57 \pm 0,56 a,a
	(6) 17-09	16,44 \pm 1,41 b,a	9,03 \pm 0,84 a,a	26,67 \pm 1,79 c,b	12,77 \pm 1,14 b,a	8,57 \pm 0,54 a,a	9,54 \pm 0,86 a,a
	(7) 18-10	18,03 \pm 1,5 a,b	18,48 \pm 3,01 a,b	22,6 \pm 1,39 a,b	13,29 \pm 1,41 a,a	17,24 \pm 2,55 a,a	14,37 \pm 1,16 a,a
	(8) 21-11	19,84 \pm 1,68 a,a	36,07 \pm 3,33 c,a	27,60 \pm 3,20 b,b	16,00 \pm 1,23 a,a	37,10 \pm 1,19 b,a	18,76 \pm 1,59 a,a
	(9) 20-12	22,39 \pm 1,53 a,b	31,83 \pm 3,93 a,a	26,83 \pm 2,91 a,b	17,96 \pm 1,03 a,a	34,78 \pm 1,55 b,a	17,94 \pm 0,96 a,a

Tabla A5: Análisis del Modelo lineal con efectos mixtos para un diseño multifactorial con las Especies, Tratamientos, Fechas de muestreo y Años como efectos fijos del área basal.

Factor	numDF	F-value	p-value
Especie	2	118,52	<0,0001
Tratamiento	1	4,07	0,0460
Fecha	8	8,51	<0,0001
Año	1	2,32	0,1303
Especie*Tratamiento	2	1,36	0,2621
Especie*Fecha	16	4,09	<0,0001
Especie*Año	2	4,60	0,0121
Tratamiento*Fecha	8	1,18	0,3089
Tratamiento*Año	1	0,03	0,8528
Fecha*Año	8	5,39	<0,0001
Especie*Tratamiento*Fecha	16	2,21	0,0040
Especie*Tratamiento*Año	2	3,90	0,0232
Especie*Fecha*Año	16	1,66	0,0492
Tratamiento*Fecha*Año	8	1,77	0,0794
Especie*Tratamiento*Fecha*Año	16	1,18	0,2798

Tabla A6: Análisis del Modelo lineal con efectos mixtos para un diseño multifactorial con las Especies, Tratamientos, Fechas de muestreo y Años como efectos fijos del número de hojas (verdes + secas) por macolla progenitora.

Factor	numDF	F-value	p-value
Especie	2	8,15	0,0005
Tratamiento	1	3,64	0,0591
Fecha	8	9,35	<0,0001
Año	1	3,97	0,0488
Especie*Tratamiento	2	0,46	0,6319
Especie*Fecha	16	10,26	<0,0001
Especie*Año	2	1,74	0,1796
Tratamiento*Fecha	8	2,56	0,0092
Tratamiento*Año	1	0,84	0,3606
Fecha*Año	8	5,53	<0,0001
Especie*Tratamiento*Fecha	16	1,19	0,2662
Especie*Tratamiento*Año	2	0,75	0,4754
Especie*Fecha*Año	16	2,60	0,0006
Tratamiento*Fecha*Año	8	2,12	0,0317
Especie*Tratamiento*Fecha*Año	16	1,18	0,2755

Tabla A7: Análisis del Modelo lineal con efectos mixtos para un diseño multifactorial con las Especies, Tratamientos, Fechas de muestreo y Años como efectos fijos de la longitud total de hojas (láminas + vainas, verdes + secas) por macolla progenitora.

Factor	numDF	F-value	p-value
Especie	2	40,22	<0,0001
Tratamiento	1	21,70	<0,0001
Fecha	8	15,23	<0,0001
Año	1	0,62	0,4311
Especie*Tratamiento	2	4,26	0,0165
Especie*Fecha	16	7,59	<0,0001
Especie*Año	2	6,79	0,0017
Tratamiento*Fecha	8	16,15	<0,0001
Tratamiento*Año	1	0,19	0,6677
Fecha*Año	8	17,35	<0,0001
Especie*Tratamiento*Fecha	16	2,94	0,0001
Especie*Tratamiento*Año	2	0,73	0,4846
Especie*Fecha*Año	16	2,91	0,0001
Tratamiento*Fecha*Año	8	9,42	<0,0001
Especie*Tratamiento:Fecha*Año	16	0,80	0,6866

Tabla A8: Análisis del Modelo lineal con efectos mixtos para un diseño multifactorial con las Especies, Tratamientos, Fechas de muestreo y Años como efectos fijos de las tasas relativas de crecimiento para longitud total de hojas.

Factor	numDF	F-value	p-value
Especie	2	14,93	<0,0001
Tratamiento	1	0,92	0,3372
Fecha	7	13,80	<0,0001
Año	1	34,39	<0,0001
Especie*Tratamiento	2	6,99	0,0010
Especie*Fecha	14	4,35	<0,0001
Especie*Año	2	12,96	<0,0001
Tratamiento*Fechas	7	11,59	<0,0001
Tratamiento*Año	1	7,58	0,0060
Fecha*Año	7	14,05	<0,0001
Especie*Tratamiento*Fecha	14	1,94	0,0200
Especie*Tratamiento*Año	2	0,25	0,7790
Especie*Fechas*Año	14	1,69	0,0531
Tratamiento*Fecha*Año	7	10,33	<0,0001
Especies*Tratamiento*Fecha*Año	14	0,89	0,5724

Tabla A9: Análisis del Modelo lineal con efectos mixtos para un diseño multifactorial con las Especies, Tratamientos, Fechas de muestreo y Años como efectos fijos de la altura de macolla.

Factor	numDF	F-value	p-value
Especie	2	31,40	<0,0001
Tratamiento	1	8,93	0,0029
Fecha	8	75,75	<0,0001
Año	1	3,7E-03	0,9513
Especie*Tratamiento	2	5,25	0,0054
Especie*Fecha	16	26,20	<0,0001
Especie*Año	2	4,79	0,0085
Tratamiento*Fecha	8	22,75	<0,0001
Tratamiento*Año	1	1,94	0,1636
Fecha*Año	8	26,45	<0,0001
Especie*Tratamiento*Fecha	16	5,20	<0,0001
Especie*Tratamiento*Año	2	0,38	0,6863
Especie*Fecha*Año	16	5,18	<0,0001
Tratamiento*Fecha*Año	8	16,22	<0,0001
Especie*Tratamiento*Fecha*Año	16	2,99	0,0001

Tabla A10: Análisis del Modelo lineal con efectos mixtos para un diseño trifactorial con las Especies, Fechas de muestreo y Años como efectos fijos de la producción de broza durante la estación de crecimiento.

Factor	numDF	F-value	p-value
Especie	2	41,05	<0,0001
Fecha	7	22,55	<0,0001
Año	1	37,07	<0,0001
Especie*Fechas	14	2,27	0,0053
Especies*Año	2	19,01	<0,0001
Fecha*Año	7	6,36	<0,0001
Especies*Fechas*Año	14	2,16	0,0084

Tabla A11: Análisis de la varianza bifactorial utilizando las especies y los años de estudio como factores de la producción total de broza aérea.

Factor	gl	F	p-valor
Especies	2	50,67	<0,0001
Año	1	30,46	<0,0001
Especies*Año	2	20,01	<0,0001
Error	54		
Total	59		

Tabla A12: Análisis de la varianza multifactorial en un diseño de parcelas divididas en el estudio de descomposición (pérdida de materia orgánica), tomando como parcelas principales los Estudios, Fechas de muestreo y Especies; y como subparcela el Material Vegetal (broza aérea) de cada una de las especies.

Factores	gl	F	p-valor
Estudio	1	443,95	<0,0001
Fecha	3	1539,80	<0,0001
Especie	2	9,09	0,0002
Estudio*Fecha	3	10,15	<0,0001
Estudio*Especie	2	0,32	0,7275
Fecha*Especie	6	3,62	0,0019
Estudio*Fecha*Especie	6	2,26	0,0386
Estudio*Fecha*Especie>Repetición	216	1,47	0,0004
Mat vegetal	2	809,42	<0,0001
Mat vegetal*Estudio	2	45,57	<0,0001
Mat vegetal*Fecha	6	27,10	<0,0001
Mat vegetal*Especie	4	1,25	0,2887
Mat vegetal*Estudio*Fecha	6	14,64	<0,0001
Mat vegetal*Estudio*Especie	4	4,57	0,0013
Mat vegetal*Fecha*Especie	12	1,24	0,2558
Mat vegetal*Estudio*Fecha*Especie	12	2,67	0,0018
Error	430		
Total	717		

Tabla A13: Análisis de la varianza multifactorial en un diseño de parcelas divididas en el estudio de descomposición (pérdida de materia orgánica), tomando como parcelas principales los Estudios, Fechas de muestreo y Especies; y como subparcela el Material Vegetal (broza subterránea) de cada una de las especies.

Factores	gl	F	p-valor
Estudio	1	369,32	<0,0001
Fecha	3	296,56	<0,0001
Especie	2	3,49	0,0324
Estudio*Fecha	3	5,45	0,0013
Estudio*Especie	2	7,28	0,0009
Fecha*Especie	6	0,91	0,4909
Estudio*Fecha*Especie	6	2,40	0,0286
Estudio*Fecha*Especie>Repetición	216	1,99	<0,0001
Mat vegetal	2	307,63	<0,0001
Mat vegetal*Estudio	2	4,34	0,0136
Mat vegetal*Fecha	6	6,36	<0,0001
Mat vegetal*Especie	4	0,30	0,8782
Mat vegetal*Estudio*Fecha	6	1,64	0,1356
Mat vegetal*Estudio*Especie	4	3,78	0,0049
Mat vegetal*Fecha*Especies	12	1,15	0,3209
Mat vegetal*Estudio*Fecha*Especies	12	2,55	0,0029
Error	432		
Total	719		

Tabla A14: Análisis de la varianza utilizando a las Especies como factor del contenido inicial de nitrógeno en la broza aérea.

Factor	gl	F	p-valor
Especie	2	221,54	<0,0001
Error	21		
Total	23		

Tabla A15: Análisis de la varianza utilizando a las Especies como factor del contenido inicial de nitrógeno en la broza subterránea.

Factor	gl	F	p-valor
Especie	2	28,18	<0,0001
Error	21		
Total	23		

Tabla A16: Análisis de la varianza multifactorial en un diseño de parcelas divididas en el estudio de descomposición (contenido de N), tomando como parcelas principales las Fechas de muestreo y Especies; y como subparcela el Material Vegetal (broza aérea) de cada una de las especies.

Factor	gl	F	p-valor
Fecha	2	416,96	<0,0001
Especie	2	0,65	0,5264
Fecha*Especie	4	1,17	0,3345
Fecha*Especie>Repetición	63	1,41	0,0518
Mat vegetal	2	114,86	<0,0001
Mat vegetal*Fecha	4	83,07	<0,0001
Mat vegetal*Especie	4	1,15	0,3368
Mat vegetal*Fecha*Especie	8	2,28	0,0258
Error	126		
Total	215		

Tabla A17: Análisis de la varianza multifactorial en un diseño de parcelas divididas en el estudio de descomposición (contenido de N), tomando como parcelas principales las Fechas de muestreo y Especies; y como subparcela el Material Vegetal (broza subterránea) de cada una de las especies.

Factor	gl	F	p-valor
Fecha	2	57,20	<0,0001
Especie	2	1,11	0,3362
Fecha*Especie	4	0,61	0,6582
Fecha*Especie>Repetición	63	1,77	0,0035
Mat vegetal	2	118,11	<0,0001
Mat vegetal*Muestreo	4	2,72	0,0324
Mat vegetal*Especie	4	1,03	0,3948
Mat vegetal*Fecha*Especie	8	4,94	<0,0001
Error	126		
Total	215		

Tabla A18: Análisis del Modelo linear con efectos mixtos para un diseño multifactorial con las Especies, Tratamientos, Fechas de muestreo y Años como efectos fijos de la respiración basal del suelo como estimador de la actividad microbiana.

Factor	numDF	F-value	p-value
Especie	2	12,31	<0,0001
Tratamiento	1	1,79	0,1828
Fecha	2	11,37	<0,0001
Año	2	27,02	<0,0001
Especie*Tratamiento	2	7,35	0,0009
Especie*Fecha	4	1,19	0,3168
Especie*Año	4	3,17	0,0155
Tratamiento*Fecha	2	0,87	0,4213
Tratamiento*Año	2	5,10	0,0071
Fecha*Año	4	7,68	<0,0001
Especie*Tratamiento*Fecha	4	0,80	0,5285
Especie*Tratamiento*Año	4	1,78	0,1348
Especie*Fecha*Año	8	0,44	0,8924
Tratamiento*Fecha*Año	4	0,62	0,6467
Especie*Tratamiento*Fecha*Año	8	0,91	0,5077

Tabla A19: Análisis de la varianza utilizando a las especies como factores de la concentración inicial de N inorgánico en 2013.

Factor	gl	F	p-valor
Especies	2	4,69	0,0179
Error	27		
Total	29		

Tabla A20: Análisis de la varianza utilizando a las especies como factores de la concentración inicial de N inorgánico en 2014.

Factor	gl	F	p-valor
Especies	2	5,06	0,0136
Error	27		
Total	29		

Tabla A21: Análisis del Modelo linear con efectos mixtos para un diseño multifactorial con las Especies, Tratamientos, Fechas de muestreo y Años como efectos fijos mineralización neta de nitrógeno *in situ*.

Factor	numDF	F-value	p-value
Especie	2	15,13	<0,0001
Tratamiento	1	0,78	0,3787
Fecha	1	2,60	0,1104
Año	1	1,62	0,2065
Especie*Tratamiento	2	0,83	0,4378
Especie*Fecha	2	1,21	0,3013
Especie*Año	2	8,22	0,0005
Tratamiento*Fecha	1	0,47	0,4961
Tratamiento*Año	1	0,08	0,7818
Fecha*Año	1	6,63	0,0115
Especie*Tratamiento*Fecha	2	1,29	0,2791
Especie*Tratamiento*Año	2	4,00	0,0214
Especie*Fecha*Año	2	1,36	0,2619
Tratamiento*Fecha*Año	1	2,37	0,1269
Especie*Tratamiento*Fecha*Año	2	1,05	0,3550

Tabla A22: Análisis del Modelo linear con efectos mixtos para un diseño multifactorial con el Suelo asociado a las especies y los Ciclos como efectos fijos de la mineralización neta potencial de nitrógeno.

Factor	numDF	F-value	p-value
Suelo	3	5,55	0,0041
Ciclo	6	42,19	<0,0001
Suelo*Ciclo	18	2,26	0,0037

Tabla A23: Análisis de la varianza con medidas repetidas en el tiempo utilizando las Especies/sitos sin vegetación, Tratamientos y Fechas de muestreo como factores para la densidad de esporas de Acaulosporaceae (análisis de la interacción de los factores con el tiempo).

Cuadro de Análisis de la Varianza (Wilks)

Factor	F	gl (num)	p
Especie	0,43	6	0,8536
Tratamiento	0,23	2	0,7947
Especie*Tratamiento	0,79	6	0,5771

Tabla A24: Análisis de la varianza con medidas repetidas en el tiempo utilizando las Especies/sitos sin vegetación, Tratamientos y Fechas de muestreo como factores para la densidad de esporas de Diversisporaceae (análisis de la interacción de los factores con el tiempo).

Cuadro de Análisis de la Varianza (Wilks)

Factor	F	gl (num)	p
Especie	2,68	6	0,0202
Tratamiento	0,28	2	0,7546
Especie*Tratamiento	1,73	6	0,1242

Tabla A25: Análisis de la varianza con medidas repetidas en el tiempo utilizando las Especies/sitos sin vegetación, Tratamiento y Fechas de muestreo como factores para la densidad de esporas de Glomeraceae (análisis de la interacción de los factores con el tiempo).

Cuadro de Análisis de la Varianza (Wilks)

Factor	F	gl (num)	p
Especie	1,46	6	0,2025
Tratamiento	0,74	2	0,4824
Especie*Tratamiento	0,5	6	0,8062

Tabla A26: Análisis de la varianza con medidas repetidas en el tiempo utilizando las especies/sitos sin vegetación, Tratamientos y Fechas de muestreo como factores para la densidad total de esporas de HFMA (análisis de la interacción de los factores con el tiempo).

Cuadro de Análisis de la Varianza (Wilks)

Factor	F	gl (num)	p
Especie	1,32	6	0,2569
Tratamiento	0,44	2	0,6449
Especie*Tratamiento	0,57	6	0,7525

Tabla A27: Análisis de la varianza con medidas repetidas en el tiempo utilizando las Especies/sitos sin vegetación, Tratamientos y Fechas de muestreo como factores para la riqueza de HFMA (análisis de la interacción de los factores con el tiempo).

Cuadro de Análisis de la Varianza (Wilks)

Factor	F	gl (num)	p
Especie	0,97	6	0,4494
Tratamiento	0,32	2	0,731
Especie*Tratamiento	0,49	6	0,8156

Tabla A28: Análisis de la varianza con medidas repetidas en el tiempo utilizando las Especies/sitos sin vegetación, Tratamientos y Fechas de muestreo como factores para diversidad de HFMA (análisis de la interacción de los factores con el tiempo).

Cuadro de Análisis de la Varianza (Wilks)

Factor	F	gl (num)	p
Especie	1,11	6	0,3637
Tratamiento	1,22	2	0,3049
Especie*Tratamiento	0,49	6	0,8148

Tabla A29: Análisis del Modelo linear con efectos mixtos para un diseño multifactorial con las Especies, Tratamientos, Fechas de muestreo y Años como efectos fijos de colonización total de micorrizas arbusculares.

Factor	numDF	F-value	p-value
Especie	2	3,17	0,0445
Tratamiento	1	1,05	0,3061
Fecha	2	7,85	0,0005
Año	1	846,16	<0,0001
Especie*Tratamiento	2	2,18	0,1164
Especie*Fecha	4	4,45	0,0019
Especie*Año	2	13,00	<0,0001
Tratamiento*Fecha	2	1,98	0,1412
Tratamiento*Año	1	1,10	0,2959
Fecha*Año	2	0,62	0,5389
Especie*Tratamiento*Fecha	4	2,02	0,0929
Especie*Tratamiento*Año	2	5,79	0,0036
Especie*Fecha*Año	4	4,68	0,0013
Tratamiento*Fecha*Año	2	0,57	0,5650
Especie*Tratamiento*Fecha*Año	4	1,67	0,1583

Tabla A30: Análisis del Modelo linear con efectos mixtos para un diseño multifactorial con las Especies, Tratamientos, Fechas de muestreo y Años como efectos fijos del porcentaje de arbusculas.

Factor	numDF	F-value	p-value
Especie	2	4,68	0,0104
Tratamiento	1	0,64	0,4236
Fecha	2	5,40	0,0053
Año	1	260,46	<0,0001
Especie*Tratamiento	2	0,23	0,7982
Especie*Fecha	4	2,84	0,0256
Especie*Año	2	7,27	0,0009
Tratamiento*Fechas	2	0,50	0,6089
Tratamiento*Año	1	2,21	0,1388
Fecha*Año	2	8,50	0,0003
Especie*Tratamiento*Fecha	4	2,02	0,0936
Especie*Tratamiento*Año	2	3,21	0,0426
Especie*Fechas*Año	4	1,44	0,2232
Tratamiento*Fecha*Año	2	1,21	0,3007
Especie*Tratamiento*Fechas*Año	4	3,01	0,0195

Tabla A31: Análisis del Modelo linear con efectos mixtos para un diseño multifactorial con las Especies, Tratamientos, Fechas de muestreo y Años como efectos fijos del porcentaje de vesículas.

Factor	numDF	F-value	p-value
Especie	2	32,67	<0,0001
Tratamiento	1	2,19	0,1405
Fecha	2	22,05	<0,0001
Año	1	1251,08	<0,0001
Especie*Tratamiento	2	1,91	0,1515
Especie*Fecha	4	0,97	0,4267
Especie*Año	2	9,71	0,0001
Tratamiento*Fecha	2	1,36	0,2587
Tratamiento*Año	1	2,2E-03	0,9622
Fecha*Año	2	20,03	<0,0001
Especie*Tratamiento*Fecha	4	1,73	0,1462
Especie*Tratamiento*Año	2	2,95	0,0546
Especie*Fecha*Año	4	3,29	0,0124
Tratamiento*Fecha*Año	2	0,78	0,4587
Especie*Tratamiento*Fecha*Año	4	0,47	0,7548

Tabla A32: Análisis de la varianza trifactorial utilizando las Especies, Tratamientos y Años como factores de la producción de biomasa aérea por planta.

Factor	gl	F	p-valor
Especies	2	18,20	<0,0001
Tratamiento	1	0,008	0,9763
Año	1	0,30	0,5856
Especies*Tratamiento	2	4,54	0,0128
Especies*Año	2	3,22	0,0437
Tratamiento*Año	1	2,79	0,0975
Especies*Tratamiento*Año	2	1,49	0,2289
Error	108		
Total	119		

Tabla A33: Análisis de la varianza trifactorial utilizando las Especies, Tratamientos y Años como factores de la producción de biomasa aérea por cm².

Factor	gl	F	p-valor
Modelo.	11	4,85	<0,0001
Especies	2	13,92	<0,0001
Tratamiento	1	0,27	0,6022
Año	1	0,39	0,5346
Especies*Tratamiento	2	1,21	0,3023
Especies*Año	2	4,36	0,0151
Tratamiento*Año	1	6,62	0,0114
Especies*Tratamiento*Año	2	3,55	0,0322
Error	108		
Total	119		