

***Mecanismos de regulación de la competencia entre una gramínea C₃
anual y otra perenne en comunidades multiespecíficas implantadas***

*Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires,
Área Ciencias Agropecuarias*

María Laura Amalia Gatti

Ingeniera Agrónoma -Universidad de Buenos Aires- 1999

Cátedra de Forrajicultura -Departamento de Producción Animal

Facultad de Agronomía - Universidad de Buenos Aires



FAUBA

Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano
Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires



COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis

Rodolfo Angel Golluscio

Ingeniero Agrónomo . Universidad de Buenos Aires
Doctor en Ciencias Agropecuarias . Universidad de Buenos Aires

Consejero de Estudios

Pablo Ariel Cipriotti

Ingeniero Agrónomo – Universidad de Buenos Aires
Doctor en Ciencias Agropecuarias . Universidad de Buenos Aires

JURADO DE TESIS

Director de tesis

Rodolfo Angel Golluscio

Ingeniero Agrónomo . Universidad de Buenos Aires
Doctor en Ciencias Agropecuarias . Universidad de Buenos Aires

JURADO

Ignacio Martín Barberis

Ingeniero Agrónomo . Universidad Nacional de Rosario
Doctor - Universidad Nacional de Rosario

JURADO

Fernando Agustín Lattanzi

Ingeniero Agrónomo . Universidad Nacional de Mar del Plata
Doctor - Technische Universität München

JURADO

Juan Alberti

Licenciado en Ciencias Biológicas - Universidad Nacional de Mar del Plata
Doctor en Ciencias Biológicas – Universidad Nacional de Mar del Plata

Fecha de defensa de la tesis: 06 de Marzo de 2015

Dedicatoria

A mis amadas hijas: Carolina y Agustina

Agradecimientos

Quiero agradecer a mi comité consejero, especialmente a mi Director el Ing. Agr. Dr. Rodolfo A. Golluscio por su solidez intelectual, el esfuerzo realizado y su infinita paciencia y al Ing. Agr. Dr. Pablo A. Cipriotti, por guiarme en el complejo camino de la estadística,

A la Facultad de Agronomía, Cátedra de Forrajicultura, ámbito en el cual desempeño mis tareas docentes,

A la UBA y la AGENCIA que financiaron el presente proyecto,

- UBACyT 2010- 2012 GEF 20020090200397. “Manejo de las interacciones en sistemas silvopastories: optimización de la producción forestal y ganadera en el Delta del Río Paraná”. Dir: Ing. Agr. M. Sc. Patricia Susana Cornaglia.
- FONCyT PICT 2007 – 0043. “Expansión de la frontera ganadera e intensificación de la ganadería: estimación de la receptividad, reversión del deterioro y manejo racional como prerrequisitos de sustentabilidad”, Dir: Dr. Ing. Agr. Rodolfo Angel Golluscio.
- UBACyT 2004- 2007 G 005. “Estabilidad productiva actual de pasturas: respuesta a la aplicación de nutrientes”, Dir: Ing. Agr. M. Sc. Alejandra Ayala Torales.

Al Sr. Mario Suárez, por sus consejos y su ayuda con el trabajo de campo,

A los estudiantes que participaron en la recolección de datos: Virginia Saldías, Rosendo Ascuy y Nadia Francic.

A la Ing. Agr. M. Sc. Patricia del Fueyo, del Laboratorio de Semillas (FAUBA) por facilitarme las cámaras de germinación,

A mis amigas forrajeras, las Ing. Agr. M. Sc. Patricia CORNAGLIA y Elizabeth JACOBO, por su apoyo incondicional.

Y muy especialmente, a mi querida maestra la Ing. Agr. Alejandra AYALA TORALES, por su generosidad y honestidad intelectual.

Declaración

Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en ésta u otra institución.

María Laura A. Gatti

PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS

- Gatti M.L., Ayala Torales A.T., Cipriotti P.A. and Golluscio R.A. (2013) Leaf and tiller dynamics in two competing C₃ grass species: influence of neighbours and nitrogen on morphogenetic traits. *Grass and Forage Science*, 68 (1), 151-164. doi: 10.1111/j.1365-2494.2012.00881.x.
- Gatti M.L., A.T. Ayala Torales A.T., Cipriotti P.A. and Golluscio R.A. (2015) Dynamics of structural traits in two competing C₃ grass species: influence of neighbours and nitrogen. *Grass and Forage Science*, 70 (1), 102-115. doi: 10.1111/gfs.12099.

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO 1 – Introducción general	1
1.1 PLANTEO DEL PROBLEMA	2
1.2. MARCO TEÓRICO	
Importancia de las decisiones culturales iniciales sobre la composición florística deseable de comunidades implantadas	3
Respuestas morfogénicas y estructurales de plantas de gramíneas C ₃ a las interacciones competitivas tempranas	5
La defoliación como disturbio regulador de la composición florística de las pasturas	23
1.3. SISTEMA Y ESPECIES BAJO ESTUDIO	
Las pasturas en Argentina	31
Antecedentes vinculados al establecimiento de las especies estudiadas en la presente Tesis	33
1.4. OBJETIVOS Y RELEVANCIA	
Objetivo general y objetivos específicos	36
Relevancia	37
1.5. ORGANIZACIÓN GENERAL DE LA TESIS	38
 CAPÍTULO 2 - Mecanismos morfogénicos de regulación de la competencia entre dos gramíneas C₃: influencia de los vecinos y del nitrógeno	 41
2.1. INTRODUCCIÓN	42
Objetivos	44
Hipótesis y predicciones	45

2.2. MATERIALES Y MÉTODOS

Condiciones ambientales	45
Material vegetal y diseño experimental	47
Colección de datos	49
Estimación de las variables morfogénicas	50
Análisis estadístico	51

2.3. RESULTADOS

Intercepción de la radiación fotosintéticamente activa (RFA) por los mini-canopeos	52
Número de hojas en el macollo principal y número de macollos por planta al momento de la fertilización	52
VARIABLES MORFOGÉNICAS	
<i>Filocrono y tasa de aparición de hojas</i>	53
<i>Longevidad de láminas o vida media foliar</i>	56
<i>Tasa de elongación foliar por macollo</i>	56
<i>Tasa de aparición de macollos</i>	59

2.4. DISCUSIÓN

Efecto de las especies sobre las variables morfogénicas en el macollo principal	61
Efecto de los vecinos sobre las variables morfogénicas en el macollo principal	64
Efecto de la fertilización sobre las variables morfogénicas en el macollo principal	66
Cambios en los efectos de las especies, la identidad de los vecinos y la fertilización nitrogenada entre cohortes de macollos	66

2.5. CONCLUSIONES	68
-------------------------	----

CAPÍTULO 3 - Mecanismos estructurales de regulación de la competencia entre dos gramíneas C₃: influencia de los vecinos y del nitrógeno ----- 70

3.1. INTRODUCCIÓN	71
-------------------------	----

Objetivos	74
-----------------	----

Hipótesis y predicciones	74
--------------------------------	----

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

Condiciones ambientales	75
-------------------------------	----

Material vegetal y diseño experimental	75
--	----

Colección de datos	75
--------------------------	----

Estimación de las variables estructurales en los macollos y en las plantas objetivo	76
--	----

Variables asociadas con el crecimiento de los macollos y de las plantas objetivo	77
---	----

Análisis estadístico	78
----------------------------	----

3.3. RESULTADOS

Intercepción de la radiación fotosintéticamente activa (RFA) por los mini-canopeos	78
---	----

Variables estructurales del macollo	
<i>Hojas por macollo</i>	79
<i>Longitud total de láminas verde por macollo</i>	85
<i>Longitud del pseudotallo</i>	85
<i>Área foliar de los macollos individuales</i>	85

VARIABLES ASOCIADAS CON EL CRECIMIENTO DE LOS MACOLLOS

Biomasa de los macollos 86

VARIABLES ESTRUCTURALES DE LAS PLANTAS OBJETIVO

Densidad final de macollos de las plantas 89

Área foliar de las plantas 89

VARIABLES ASOCIADAS CON EL CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS

Biomasa aérea de las plantas 90

Biomasa de raíz de las plantas 93

Biomasa total de las plantas y partición de la biomasa 93

Índice de competencia relativa 94

3.4. DISCUSIÓN

Efecto de las especies 94

Efecto de los vecinos 95

Efecto de la fertilización nitrogenada 98

Jerarquías entre cohortes y entre plantas en el canopeo..... 100

3.5. CONCLUSIONES 102

CAPÍTULO 4 - Efectos de la defoliación y la fertilización nitrogenada sobre la productividad y persistencia de gramíneas C₃ perennes en pasturas multiespecíficas ---105

4.1. INTRODUCCIÓN 106

Objetivos 110

Hipótesis y predicciones 110

4.2. MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y diseño experimental 111

Determinación del estado de rebrote requerido..... 113

Período experimental	113
Colección de datos	118
Condiciones ambientales	120
VARIABLES DE RESPUESTA	121
Análisis estadístico	123
4.3. RESULTADOS	
Subperíodos de entrenamiento y de recuperación	
<i>Filocrono de las especies guía</i>	124
<i>Rebrote de láminas</i>	125
Período observacional total	
<i>Tasa de acumulación de la biomasa aérea</i>	126
<i>Tasa de acumulación de la biomasa radical</i>	128
<i>Tasa de acumulación de la biomasa total (aérea+radical)</i>	128
<i>Tasa de acumulación neta de macollos</i>	129
<i>Tasa de acumulación de los hidratos de carbono de reserva (HCR)</i>	129
4.4. DISCUSIÓN	
Efecto de las altas frecuencias y la reiteración de defoliaciones	129
Efecto del nitrógeno	132
Efecto de la anticipación sin reiteración de defoliaciones en N ⁻ y N ⁺ .	
Relevancia ecológica de los resultados	134
4.5. CONCLUSIONES	135

5.1. Competencia entre gramíneas anuales y perennes durante la fase de establecimiento de la pastura- Nuevo modelo conceptual	139
5.2. Análisis de las aproximaciones metodológicas utilizadas	
a) Efectos de las interacciones competitivas	143
b) Efectos de la frecuencia de defoliación	145
5.3. Análisis integrado de los resultados obtenidos respecto a las hipótesis planteadas	
a) Resumen de hipótesis y principales resultados	
a.1.) Interacciones competitivas y fertilización nitrogenada	146
a.2.) Defoliación y fertilización nitrogenada	148
b) Análisis integrado de los resultados y avances en la teoría	
b.1.) Diferencias morfogénicas y estructurales de origen genotípico entre gramíneas C ₃ anuales y perennes	150
b.2.) Diferencias morfogénicas, estructurales y funcionales asociadas al efecto de los vecinos	155
b.3.) Diferencias morfogénicas y estructurales asociadas al efecto del nitrógeno	160
b.4.) Defoliación y fertilización nitrogenada	161
5.4. Relevancia de los resultados	
a) Interacciones competitivas y fertilización nitrogenada	164
b) Defoliación y fertilización nitrogenada	167
5.5. Perspectivas futuras	169
5.6. CONCLUSIONES GENERALES	170
BIBLIOGRAFÍA	174

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO 1 – Introducción general

Figura 1.1. Modelo conceptual general de la morfogénesis y del crecimiento de las gramíneas C_3 que relaciona las características morfogénicas (en verde) y estructurales (en rosado) con las señales del ambiente (adaptado de Lemaire y Chapman 1996, Lemaire y Agnusdei 2000, Lemaire et al. 2009)..... **18**

CAPÍTULO 2 – Mecanismos morfogénicos de regulación de la competencia entre dos gramíneas C_3 : influencia de los vecinos y del nitrógeno

Figura 2.1. Temperatura media diaria del aire (línea llena), mínimas y máximas (líneas punteadas) ($^{\circ}C$) registradas entre la emergencia de las plántulas y la cosecha final. La flecha indica el día de la fertilización (19 de Julio). Los datos de temperatura se obtuvieron en la estación climatológica de la Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires (FAUBA). **46**

Figura 2.2. Diagrama del arreglo de siembra de los cuatro mini-canopeos: a) BW rodeado por BW (BW Bw), b) DG rodeada por DG (DG Dg), c) BW rodeada por DG (BW Dg) y d) DG rodeada por BW (DG Bw). Los símbolos oscuros identifican la planta objetivo: \blacklozenge BW y \bullet DG; \times TP; G línea de gramíneas y L línea de leguminosas. **48**

Figura 2.3. a) Filocrono (GDC. hoja^{-1}), b) tasa de aparición de hojas (TAF= hojas. día^{-1}) y c) longevidad o vida media foliar (VMF= GDC. hoja^{-1}) evaluadas en cuatro situaciones diferentes de competencia intra- e interespecífica de la gramínea perenne *Dactylis glomerata* (DG) y la anual *Bromus willdenowii* (BW) en los tratamientos no fertilizados (N-) y fertilizados (N+). Los datos corresponden a valores medios \pm error estándar de las tres cohortes de macollos (mac=macollo; macollo principal y aquellos marcados aparecidos 20 y 30 días después de la fertilización= ddf). La primera abreviatura: nombre de la especie objetivo; la segunda abreviatura: nombre de la especie vecina (por ejemplo: DG Dg). GDC=grados día centígrados. **54**

Figura 2.4. a) Tasa de elongación foliar bruta ($\text{TEF}_{\text{bruta}}$), b) tasa de senescencia foliar (TSF) y c) tasa de elongación foliar neta (TEF_{neta}) por macollo ($\text{mm. macollo}^{-1}.\text{día}^{-1}$) evaluadas en cuatro situaciones diferentes de competencia intra- e interespecífica de la gramínea perenne *Dactylis glomerata* (DG) y la anual *Bromus willdenowii* (BW) en los tratamientos no fertilizados (N-) y fertilizados (N+). Los datos corresponden a valores medios \pm error estándar de las tres cohortes de macollos (mac=macollo; macollo principal y aquellos marcados aparecidos 20 y 30 días después de la fertilización= ddf). La primera abreviatura: nombre de la especie objetivo; la segunda abreviatura: nombre de la especie vecina (por ejemplo: DG Dg). **57**

Figura 2.5. a) Tasa de aparición de macollos ($\text{TAM} = \text{macollos. planta}^{-1}.\text{día}^{-1}$), b) tasa relativa de aparición de macollos ($\text{TRM} = \text{macollos. macollo}^{-1}.\text{día}^{-1}$) y c) tasa de llenado de sitios ($\text{Ll}_S = \text{macollos. hoja}^{-1}$) comparando sólo el efecto de las cuatro situaciones diferentes de competencia intra- e interespecífica de la gramínea perenne *Dactylis glomerata* (DG) y la anual *Bromus willdenowii* (BW). El efecto de la fertilización

nitrogenada fue $\geq 0,05$ (Ver Tabla 2.2. para un mayor grado de detalles). Los datos corresponden a valores medios \pm error standard. La primera abreviatura: nombre de la especie objetivo; la segunda abreviatura: nombre de la especie vecina (por ejemplo: DG Dg). 60

CAPÍTULO 3 – Mecanismos estructurales de regulación de la competencia entre dos gramíneas C₃: influencia de los vecinos y del nitrógeno

Figura 3.1. a) Número de hojas en expansión simultánea (número de hojas en crecimiento= NHc =hojas.macollo⁻¹), b) número de hojas expandidas (NHe =hojas.macollo⁻¹), c) número de hojas vivas (NHv =hojas.macollo⁻¹) y d) proporción de $NHc:NHv^{-1}$ (hojas. hoja⁻¹.macollo⁻¹), comparando sólo el efecto de las cuatro diferentes situaciones de competencia intra- e interespecífica de la gramínea perenne *Dactylis glomerata* (DG) y la anual *Bromus willdenowii* (BW). El efecto de la fertilización fue ≥ 0.05 (ver Tabla 3.1. para mayor detalle). Los datos corresponden a valores medios \pm error standard de las tres cohortes de macollos (mac=macollo; macollo principal y aquellos marcados aparecidos 20 y 30 días después de la fertilización= ddf). La primera abreviatura: nombre de la especie objetivo; la segunda abreviatura: nombre de la especie vecina (por ejemplo: DG Dg). 80

Figura 3.2. a) Longitud total de láminas verdes por macollo (LLv =cm.macollo⁻¹), b) longitud del pseudotallo (cm.macollo⁻¹) y c) densidad de macollos (número.planta⁻¹) evaluadas en cuatro situaciones diferentes de competencia intra- e interespecífica de la gramínea perenne *Dactylis glomerata* (DG) y la anual *Bromus willdenowii* (BW) en los tratamientos no fertilizados (N-) y fertilizados (N+). En a) y b) los datos corresponden a valores medios \pm error standard de las tres cohortes de macollos (mac=macollo; macollo principal y aquellos marcados aparecidos 20 y 30 días después de la fertilización= ddf) y en c) de la planta (efecto de la fertilización $\geq 0,05$; Ver Tabla 3.2.). La primera abreviatura: nombre de la especie objetivo; la segunda abreviatura: nombre de la especie vecina (por ejemplo: DG Dg). 83

Figura 3.3. a) Biomasa bruta aérea y componentes de la biomasa viva del macollo (g.macollo⁻¹): b) biomasa de láminas y c) biomasa del pseudotallo en la cosecha final (13 de Septiembre) en cuatro situaciones diferentes de competencia intra- e interespecífica de la gramínea perenne *Dactylis glomerata* (DG) y la anual *Bromus willdenowii* (BW) en los tratamientos no fertilizados (N-) y fertilizados (N+). Los datos corresponden a valores medios \pm error standard de las tres cohortes de macollos (mac=macollo; macollo principal y aquellos marcados aparecidos 20 y 30 días después de la fertilización= ddf). La primera abreviatura: nombre de la especie objetivo; la segunda abreviatura: nombre de la especie vecina (por ejemplo: DG Dg) 87

Figura 3.4. a) Biomasa bruta aérea y componentes de la biomasa viva de las plantas (g.planta⁻¹): b) biomasa de láminas y c) biomasa del pseudotallo, y d) biomasa de raíz (g.planta⁻¹) de las plantas objetivo en la cosecha final (13 de Septiembre) en cuatro situaciones diferentes de competencia intra- e interespecífica de la gramínea perenne *Dactylis glomerata* (DG) y la anual *Bromus willdenowii* (BW) en los tratamientos no fertilizados (N-) y fertilizados (N+). Los datos corresponden a valores medios \pm error standard. El efecto de la fertilización $\geq 0,05$ (Ver Tabla 3.3.). La primera abreviatura:

nombre de la especie objetivo; la segunda abreviatura: nombre de la especie vecina (por ejemplo: DG Dg). Sp= efecto de la especie; Vec= efecto del vecino 91

CAPÍTULO 4 – Efectos de la defoliación y la fertilización nitrogenada sobre la productividad y persistencia de gramíneas C₃ perennes en pasturas multiespecíficas

Figura 4.1. Diagrama del arreglo de siembra de los mini-canopeos idénticos en su composición florística inicial en los que se respetaron frecuencias altas y óptimas de defoliación para cada una de las especies guía: *Dactylis glomerata* [DG] y *Bromus willdenowii* [BW]). ♦ DG y • BW; × TP; G línea de gramíneas y L línea de leguminosas. 112

Figura 4.2. Líneas temporales en las que se indica las fechas de cortes y cosechas de la especie perenne *Dactylis glomerata* [DG] para cada uno de los ocho tratamientos: 2 niveles de fertilización (no=N⁻, líneas punteada ó si=N⁺= fertilización con 170 kgN. ha⁻¹ aplicados en invierno, líneas continuas) y 4 tipos de defoliación (resultante de la combinación de especie guía (BW ó DG) y frecuencia de defoliación o número de hojas de rebrote por macollo: 4 Hojas: [4H] ó 2 Hojas: [2H]). El subperíodo de entrenamiento finaliza luego del corte (C) 1 en los tratamientos de 4H y luego del C 2 en 2H. El subperíodo de recuperación finaliza en la cosecha final (Co). Ci=corte inicial. 116

Figura 4.3. Radiación fotosintéticamente activa interceptada por el canopeo (%) durante el subperíodo de entrenamiento a) defoliaciones realizadas en 4 hojas de rebrote por macollo (4H), b) defoliaciones realizadas en 2 hojas (2H) en el tratamiento no fertilizado (N⁻) y c) defoliaciones realizadas en 2H en los tratamientos fertilizados (N⁺). Las flechas indican las fechas de cortes. C1= corte 1 y C2= corte 2 en los tratamientos que reiteraron defoliaciones en 2H 121

Figura 4.4. Filocrono (grados día centígrados por hoja=GDC.hoja⁻¹) de *Bromus willdenowii* (BW) y de *Dactylis glomerata* (DG) durante los subperíodos de entrenamiento y de recuperación en los tratamientos no fertilizados (N⁻) y fertilizados (N⁺). En a) se grafica el efecto de la defoliación; barras lisas corresponden a defoliaciones efectuadas con 4 hojas (4 H) y las rayadas, a aquéllas con 2 hojas de rebrote por macollo (2 H). En b), la interacción significativa ($P < 0,05$) Fertilización (Fert)* Período; barras blancas representan el tratamiento N⁻ y las negras, el de N⁺. Los datos corresponden a valores medios \pm error estándar y los valores P : ** $P < 0,01$; * $P < 0,05$ y ns = efecto no significativo. Temperatura base= 0° C. 125

Figura 4.5. Rebrote de láminas de la población de *Dactylis glomerata* en los tratamientos no fertilizados (N⁻) y fertilizados (N⁺) durante los subperíodos de entrenamiento y de recuperación. Sin embargo, el efecto del tiempo fue no significativo ($P < 0,05$) En a) se grafica el efecto de la defoliación; barras lisas corresponden a defoliaciones efectuadas con 4 hojas (4 H) y las rayadas, a aquéllas con 2 hojas de rebrote por macollo (2 H). En b), el efecto de la fertilización (Fert); barras blancas representan el tratamiento N⁻ y las negras, el de N⁺. En el tipo de defoliación: la primera abreviatura: nombre de la especie guía de la defoliación (BW ó DG); segunda abreviatura: número de hojas de rebrote por macollo cuando se efectuó la defoliación

(en 4 hojas=4 H ó en 2 hojas= 2 H; por ejemplo: DG 4H). Los datos corresponden a valores medios \pm error estándar. GDC= grados día centígrados. 126

Figura 4.6. Variables asociadas a la productividad y ecológicas durante el período observacional total en la población de *Dactylis glomerata*. Tasa de acumulación a) de la biomasa aérea ($\text{mg.GDC}^{-1}.\text{m}^{-2}$), incluye material de láminas y pseudotallos vivos y muertos (sólo biomasa vegetativas), b) de la biomasa de raíz ($\text{mg.GDC}^{-1}.\text{m}^{-2}$), c) neta de macollos vegetativos ($\text{macollos.GDC}^{-1}.\text{m}^{-2}$) y d) hidratos de carbono de reserva ($\text{HCR} = \text{mg.macollo}^{-1}.\text{GDC}^{-1}.\text{m}^{-2}$) en los tratamientos no fertilizados (N) y fertilizados (N⁺). En a), c) y d) el efecto de la fertilización nitrogenada no resultó significativo ($P > 0,05$) y en b) la interacción tipo de defoliación*fertilización resultó significativa ($P < 0,05$). En el tipo de defoliación: la primera abreviatura: nombre de la especie guía de la defoliación (BW ó DG); segunda abreviatura: número de hojas de rebrote por macollo cuando se efectuó la defoliación (en 4 hojas=4 H ó en 2 hojas= 2 H; por ejemplo: DG 4H). Los datos corresponden a valores medios \pm error estándar y los valores P : ** $P < 0,01$; * $P < 0,05$ y ns = efecto no significativo. GDC= grados día centígrados. 127

CAPÍTULO 5 – Discusión general

Figura 5.1. Relaciones entre variables morfogénicas ○ y estructurales □ componentes del crecimiento de las plantas objetivo (adaptado de Lemaire y Chapman 1996, Lemaire y Agnusdei 2000, Bahmani et al. 2000, Hirata y Pakiding 2002, Lemaire et al. 2009) asociadas a las respuestas de gramíneas C₃ anuales y perennes a diferentes situaciones competitivas. Las líneas llenas conectan rasgos morfogénicos y estructurales de origen genético. Las líneas quebradas, las de origen plástico asociadas a las plantas vecinas. En azul se representan los efectos plásticos del agregado de nitrógeno..... 141

Figura 5.2. Integración de los principales mecanismos morfogénicos y estructurales de origen genético determinantes del mayor tamaño del macollo, de la ocupación vertical del espacio y de la competitividad por luz favorables a la especie anual/bianual *Bromus willdenowii* (BW) en pasturas templadas durante la etapa crítica de establecimiento. TEF_i representa la tasa de elongación de hojas individuales. Los signos (=, >, <) comparan cada mecanismo de BW con el correspondiente de *Dactylis glomerata*.... 152

Figura 5.3. Integración de los principales mecanismos morfogénicos y estructurales de origen genético determinantes de la similar densidad de macollos y ocupación horizontal del espacio de las gramíneas en pasturas templadas durante la etapa crítica de establecimiento. Los números representan las tres aparentes etapas: (0) mayor velocidad inicial de ocupación de la especie anual (previo al inicio de los registros), 1) de recuperación y 2) de estabilización del macollaje de la especie perenne, en las que se definió la tasa de aparición (TAM) y la densidad de macollos al final del período experimental. TRM= tasa de aparición relativa de macollos. Los signos (=, >, <) comparan cada mecanismo de *Bromus willdenowii* (BW) con el correspondiente de *Dactylis glomerata*. En rojo figura aquel mecanismo que no pudo ser corroborado en esta Tesis. 153

Figura 5.4. Integración de los dos mecanismos morfogénicos y estructurales simultáneos de origen ambiental o plástico, determinantes de la menor densidad de macollos y de la menor ocupación horizontal del espacio asociados al vecino anual/bianual *Bromus willdenowii* (BW) en pasturas templadas durante la etapa crítica de establecimiento. Los signos (<, =, >) comparan los valores alcanzados por cualquiera de las dos especies cuando estuvieron acompañadas por BW contra cuando su vecino fue *Dactylis glomerata*. En rojo figura aquel mecanismo que no pudo ser corroborado en esta Tesis. **157**

Figura 5.5. Integración de los mecanismos morfogénicos y estructurales determinantes de la menor productividad aérea y radical de la población de la gramínea C₃ perenne *Dactylis glomerata* en respuesta a la anticipación con reiteración de defoliaciones en pasturas templadas con la gramínea anual/bianual *Bromus willdenowii* (BW) durante la etapa crítica de implantación del cultivo. **163**

ÍNDICE DE CUADROS

CAPÍTULO 2 – Mecanismos morfogénicos de regulación de la competencia entre dos gramíneas C₃: influencia de los vecinos y del nitrógeno

Cuadro 2.1. Resultados del análisis de la varianza comparando el efecto de las especies (dos niveles: *Dactylis glomerata* [DG] y *Bromus willdenowii* [BW]), los vecinos (dos niveles: DG y BW), la fertilización invernal (dos niveles: sin=N⁻ y con=N⁺) y sus interacciones, sobre las variables morfogenéticas a escala de hojas (n=3). Los resultados presentados son los valores medios y los valores P: ** P< 0,01; * P< 0,05 y ns = efecto no significativo. GDC=grados día centígrados. 55

Cuadro 2.2. Resultados del análisis de la varianza comparando el efecto de las especies (dos niveles: *Dactylis glomerata* [DG] y *Bromus willdenowii* [BW]), los vecinos (dos niveles: DG y BW), la fertilización invernal (dos niveles: sin=N⁻ y con=N⁺) y sus interacciones, sobre las variables morfogenéticas a escala macollo y planta (n=3). Los resultados presentados son los valores medios y los valores P: ** P< 0,01; * P< 0,05 y ns = efecto no significativo. 58

CAPÍTULO 3 – Mecanismos estructurales de regulación de la competencia entre dos gramíneas C₃: influencia de los vecinos y del nitrógeno

Cuadro 3.1. Resultados del análisis de la varianza comparando el efecto de las especies (dos niveles: *Dactylis glomerata* [DG] y *Bromus willdenowii* [BW]), los vecinos (dos niveles: DG y BW), la fertilización invernal (dos niveles: sin=N⁻ y con=N⁺) y sus interacciones, sobre las variables estructurales a escala macollo (n=3). Los resultados presentados son los valores medios y los valores P: ** P< 0,01; * P< 0,05 y ns= efecto no significativo. 82

Cuadro 3.2. Resultados del análisis de la varianza comparando el efecto de las especies (dos niveles: *Dactylis glomerata* [DG] y *Bromus willdenowii* [BW]), los vecinos (dos niveles: DG y BW), la fertilización invernal (dos niveles: sin=N⁻ y con=N⁺) y sus interacciones, sobre algunas variables estructurales clave a escala macollo y planta (n=3). Los resultados presentados son los valores medios y los valores P: ** P< 0,01; * P< 0,05 y ns= efecto no significativo 84

Cuadro 3.3. Resultados del análisis de la varianza comparando el efecto de las especies (dos niveles: *Dactylis glomerata* [DG] y *Bromus willdenowii* [BW]), los vecinos (dos niveles: DG y BW), la fertilización invernal (dos niveles: sin=N⁻ y con=N⁺) y sus interacciones, sobre variables asociadas al crecimiento de los macollos (n=3). Los resultados presentados son los valores medios y los valores P: ** P< 0,01; * P< 0,05 y ns= efecto no significativo. 88

Cuadro 3.4. Resultados del análisis de la varianza comparando el efecto de las especies (dos niveles: *Dactylis glomerata* [DG] y *Bromus willdenowii* [BW]), los vecinos (dos niveles: DG y BW), la fertilización invernal (dos niveles: sin=N⁻ y con=N⁺) y sus interacciones, sobre variables asociadas al crecimiento de las plantas objetivo (n=3). Los resultados presentados son los valores medios y los valores P: ** P< 0,01; * P< 0,05 y ns= efecto no significativo. 92

CAPÍTULO 4 – Efectos de la defoliación y la fertilización nitrogenada sobre la productividad y persistencia de gramíneas C₃ perennes en pasturas multiespecíficas

Cuadro 4.1. a) Fechas de defoliación, intervalos entre defoliaciones o descansos (IE) y duración del subperíodo de entrenamiento. Los registros obtenidos en las altas frecuencias de defoliación corresponden a los cortes 1 y 2 (anticipación y reiteración de defoliaciones). b) Fechas, intervalos entre defoliaciones y duración del subperíodo de recuperación. % de la radiación interceptada antes de la defoliación (% Rinterc.) y número de hojas por macollo en la especie perenne (n° hojas en DG). Los valores de IE están expresados en días y en grados centígrados día (GDC) contados a partir del corte inicial (8 de Julio) durante el subperíodo de entrenamiento y desde la fecha del último corte durante el subperíodo de recuperación. Efecto del tipo de defoliación (combinación de especie (sp.) guía+frecuencia con cuatro niveles: guía *Dactylis glomerata* [DG] ó guía *Bromus willdenowii* [BW]) + número de hojas del rebrote por macollo cuando se efectuó la defoliación: 2H= defoliación con 2 hojas ó 4H= defoliación) y el efecto de la fertilización nitrogenada invernal (con dos niveles: sin (N⁻) y con 170 kg N ha⁻¹ (N⁺)). **117**

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AF_m= Área foliar del macollo (cm².macollo⁻¹)

AF_p= Área foliar de la planta (cm².planta⁻¹)

BW= *Bromus willdenowii*

C= Carbono

Dde= Días desde la emergencia

Ddf= Días desde la fertilización

Dds= Días desde la siembra

DG= *Dactylis glomerata*

H= Hojas

HCR= Hidratos de carbono de reserva

IAF= Índice de área foliar

ICR= Índice de competencia relativa (%)

IE =intervalo entre defoliaciones

GDC= grados día centígrados

LLv= Longitud total de láminas verdes (cm.macollo⁻¹),

Lls= Tasa de llenado de sitios (macollos hoja⁻¹)

NHv=Número de hojas vivas (hojas. macollo⁻¹),

NHe= Número de hojas expandidas (hojas.macollo⁻¹),

NHc= Número de hojas en crecimiento o expansión simultánea (hojas. macollo⁻¹)

NHc.NHv⁻¹= Proporción de hojas en crecimiento por macollo

N= Nitrógeno

P= Fósforo

TAF= Tasa de aparición foliar (hojas macollo⁻¹.día⁻¹),

TAM= Tasa de aparición de macollos (macollos planta⁻¹.día⁻¹)

TRM = Tasa relativa de macollaje

TEF_{bruta}= Tasa de elongación foliar bruta (mm macollo⁻¹.día⁻¹)

TEF_{neta}= Tasa de elongación foliar neta (mm macollo⁻¹.día⁻¹)

TRM= Tasa relativa de aparición de macollos (macollos macollo⁻¹.día⁻¹)

TSF= Tasa de senescencia foliar (mm macollo⁻¹.día⁻¹)

TP= *Trifolium pratense*

RFA= Radiación fotosintéticamente activa (μMOL.m⁻² s⁻¹).

VMF= Vida media foliar o longevidad de hojas (GDC hoja⁻¹)

Resumen

El mantenimiento de la composición florística óptima, dada por la dominancia de las gramíneas C₃ perennes sobre las anuales, es altamente relevante en pasturas templado- húmedas. Las decisiones culturales tales como los arreglos de siembra, las fertilizaciones y las frecuencias de defoliación, son clave para lograrlo. El objetivo de mi tesis fue analizar los mecanismos involucrados en la dinámica de las relaciones de competencia intra e interespecífica entre los componentes gramíneas C₃ perenne y anual/bianual y el efecto de diferentes frecuencias de defoliación y de la fertilización nitrogenada sobre la persistencia y la productividad de la gramínea perenne. Se realizaron dos ensayos manipulativos en distintos niveles de organización y escalas temporales. En el primero, se analizaron los mecanismos morfogénicos y estructurales involucrados en la dinámica de las relaciones de competencia entre *Dactylis glomerata* L. (pasto ovilla, perenne) y *Bromus willdenowii* Kunth (cebadilla, anual/bianual), durante el establecimiento temprano. Se establecieron cuatro combinaciones de siembra -sólo cebadilla, sólo pasto ovilla y cada especie rodeada por vecinos de la otra- sin y con fertilización nitrogenada invernal. Las variables bajo estudio se registraron en tres cohortes de macollos de la planta objetivo, el principal y los aparecidos 20 y 30 días después de la fertilización. Ambas gramíneas rodeadas por anuales fueron restringidas en la ocupación espacial horizontal y subterránea. Las mayores tasas de elongación foliar y la longitud total de láminas verdes y de pseudotallos indicaron una mayor jerarquía de la gramínea anual en captura de luz. Los vecinos anuales causaron disminuciones de la vida media foliar de los macollos más jóvenes y retrasaron la tasa de aparición de hojas en el macollo principal y en los aparecidos 20 días post-fertilización. Además, disminuyeron los números de hojas expandidas y vivas en los macollos de edad intermedia de las dos especies y redujeron la tasa de aparición de macollos, su densidad por planta y su biomasa radical. En el segundo ensayo, las frecuencias de defoliación se definieron por el número de hojas presentes por macollo y por la especie guía. Las altas frecuencias de defoliación afectaron consistente y negativamente a la especie perenne. La desventaja de las defoliaciones frecuentes, habiendo o no fertilizado, se expresó en incrementos del filocrono y disminuciones en las tasas de acumulación de biomasa tanto radical como aérea, y en el contenido de hidratos de carbono de reserva durante la implantación de la pastura. Se propone que los cuatro mecanismos principales de regulación del crecimiento y de la habilidad competitiva son la tasa de aparición de hojas, la tasa de elongación foliar, el número de hojas expandidas y la biomasa radical. El conocimiento de la respuesta de dichas variables ante cambios en el ambiente biótico y abiótico permitirá la toma de decisiones culturales y de manejo sobre bases objetivas.

Palabras clave

Composición florística óptima de la pastura, competencia inicial intra e interespecífica, *Dactylis glomerata* L., *Bromus willdenowii* Kunth., fertilización nitrogenada invernal, cohortes de macollos, frecuencia fisiológica óptima de defoliación, tasa de aparición de hojas, tasa de elongación foliar, hojas expandidas por macollo, biomasa radical.

Competition regulatory mechanisms between an annual and a perennial C₃ grasses in sowing multispecific communities

Abstract

Optimal floristic composition maintenance, given by the dominance of perennial C₃ grasses over the annuals, is highly relevant in humid- temperate pastures. Cultural decisions, such as seeding arrangements, fertilization and defoliation frequencies, are key factors for achieving this proposal. The aim of my thesis was to analyze the mechanisms involved in the dynamics of intra- and interspecific competition between perennial and annual/biennial C₃ grasses components and the effects of different defoliation frequencies and nitrogen fertilization on persistence and productivity of perennial grass. Two manipulative tests at different levels of organization and time scales were performed. In the first one, morphogenetic and structural mechanisms involved in the dynamics of competitive relationship between *Dactylis glomerata* L. (cocksfoot, perennial) and *Bromus willdenowii* Kunth (prairie grass, annual/ biennial) were analyzed during early pasture establishment. Four seed combinations were established -only prairie grass, only cocksfoot and each species flanked by neighbours of the other one- with and without winter nitrogen fertilization. The variables under study were recorded in three tiller cohorts of target plants, the main tiller and those appeared 20 and 30 days after fertilization. Both grasses when they are flanked by annual plants were restricted in horizontal and underground space occupation. Greater leaf elongation rate, and total green lamina length and pseudostem height per tiller indicated a greater hierarchy in light capture of annual grass. Annual neighbours decreased the leaf lifespan in the younger tillers and caused a delay in the leaf appearance rate on the main tiller and in the cohort that appeared 20 days post-fertilization. In addition, they decreased the number of expanded and living leaves in intermediate tillers age cohorts of the two species, and reduced the tiller appearance rate, tiller density per plant and root biomass. In the second trial, defoliation frequencies were defined by the number of leaves per tiller and species guide. Higher defoliation frequencies affected firmly and negatively the perennial species. The disadvantage of frequent defoliation, whether or not fertilized, was expressed in phyllochron increases and decreases in the accumulation rates of aerial and root biomass, and carbohydrate reserves during pasture implantation. It is proposed that the four main mechanisms which control the growth and competitive ability, are leaf appearance and leaf elongation rates, the number of expanded leaves and root biomass. Knowledge of the responses of these variables to changes in the biotic and abiotic environment will allow cultural and management decisions based on objective data.

Keywords

Optimal pasture floristic composition, intra- and interspecific initial competition, *Dactylis glomerata* L., *Bromus willdenowii* Kunth., winter nitrogen fertilization, tiller cohorts, optimal physiological frequency defoliation, leaf appearance rate, leaf elongation rate, expanded leaves per tiller, root biomass.

Capítulo 1
Introducción general

1.1 PLANTEO DEL PROBLEMA

La expansión de la agricultura está generando la necesidad de intensificar los sistemas ganaderos en nuestro país. Las pasturas constituyen una alternativa válida para satisfacer los requerimientos animales debido a su elevada productividad potencial, asociada a que se siembran en los ambientes más productivos, con genotipos mejorados y se fertilizan. Sin embargo, los resultados de las siembras, de la fertilización nitrogenada y frecuencia de defoliación en las pasturas, no siempre son los esperados, ya que éstas muchas veces sufren cambios florísticos que reducen la persistencia en el tiempo, la calidad forrajera y afectan la productividad de la comunidad vegetal.

A diferencia de las comunidades naturales, la estructura y el funcionamiento de las pasturas se basan enteramente en decisiones humanas. Sin embargo, quienes trabajan con pasturas han tenido poco acercamiento a los conceptos ecológicos para diseñar y manejar mezclas y han relegado el problema del mantenimiento de una composición florística deseable, sólo a las prácticas de manejo posteriores a la siembra (Kemp y King 2001). Las malas decisiones iniciales pueden conducir a las pasturas a estados de deterioro irreversibles y por lo tanto, imposibles de ser modificados por acciones de manejo posterior. Un proceso productivo virtuoso se inicia desde el momento en que se planifica la siembra.

Por lo tanto, el problema del mantenimiento de la composición florística de las pasturas exige la comprensión de las relaciones de competencia, interferencia y facilitación entre las especies que la componen y de cómo dichas relaciones se ven modificadas por las decisiones culturales iniciales como los genotipos elegidos para mezclar y las densidades de siembra a utilizar (Harris 2001, Kemp y King 2001) y por otras posteriores, como la fertilización nitrogenada y la frecuencia de defoliación, que permitan regular el crecimiento y optimizar la composición florística.

1.2. MARCO TEÓRICO

Importancia de las decisiones culturales iniciales sobre la composición florística deseable de comunidades implantadas

Las decisiones en cuanto a las formas de vida, grupos funcionales y especies inicialmente elegidos para ser mezclados, así como también de la densidad y el diseño de siembra de los mismos, deben basarse en principios ecológicos básicos, asociados a la limitación de nicho impuesta por las condiciones del ambiente y a las interacciones bióticas (Harris 2001). El primer principio –ajuste ambiental- es el de buscar la correspondencia entre las especies y el ambiente donde serán sembradas. Esta correspondencia depende de la respuesta de las especies a la temperatura y a la disponibilidad o exceso de agua y nutrientes en el suelo. Las especies incluídas en las mezclas deben ser capaces de sobrevivir, crecer y competir en dicho ambiente. El segundo principio ecológico a tener en cuenta para asegurar la persistencia de las especies sembradas a largo plazo, es que la mezcla debe incluir especies que rápidamente puedan ocupar el espacio inhibiendo el establecimiento de las malezas que puedan regenerarse o germinar a partir del momento de la siembra. El tercer principio es el de seleccionar una mezcla versátil capaz de ocupar la heterogeneidad de los microsítios del ambiente o nichos ecológicos (Clark 2001). Las mezclas pueden emplear mejor los recursos disponibles en el ambiente si las especies componentes tienen distintos umbrales de tolerancia a la escasez de distintos recursos, pueden satisfacer sus requerimientos a partir de distintos espacios aéreos y/o subterráneos, tienen morfologías contrastantes o respuestas reguladas por la temperatura (por ejemplo especies C_3 y C_4 o anuales y perennes), que logran alcanzar sus niveles óptimos de crecimiento en diferentes estaciones del año - separación temporal de nichos- (Hazard y Ghesquière 1995, Harris 2001, Bartholomew y Williams 2005). De esta forma cada especie requiere

diferente nivel de recursos de ese ambiente y puede explotar un nicho en el que está mejor capacitada que sus competidores para sobrevivir. Sin embargo, esta conformación de las mezclas inevitablemente inducirá una variación en la distribución de las especies en el espacio y a lo largo del año.

Las especies sembradas, sus interacciones competitivas y las condiciones abióticas definirán el curso de la sucesión (Harris 2001). Eso genera la necesidad de gestionar los momentos y la forma de intervenir, a fin de minimizar la competencia (Bartholomew y Williams 2005) y promover la complementación entre las especies, lo que se traduciría en un mejor funcionamiento y productividad, menor enmalezamiento y una mayor persistencia de las comunidades implantadas. Las decisiones humanas influyen las interacciones competitivas entre especies coexistentes, así como su respuesta al ambiente. Tales interacciones, determinan qué especies serán capaces de sobrevivir y funcionar bien bajo condiciones de crecimiento cambiantes (Lazenby y Tow 2001, Kemp y King 2001, Bahmani et al. 2003, Zhai et al. 2004) y cuáles disminuirán su abundancia (Noy-Meir et al. 1989, Wilson y Shay 1990). Sin embargo, el curso de la sucesión puede ser alterado por el uso de fertilizantes o el manejo de la defoliación (Harris 2001). Por lo tanto, el manejo económico y ambiental sustentable de las pasturas debe basarse en una visión integral de las mismas como sistema y en el entendimiento de los procesos que controlan los cambios en su composición florística (Garden y Bolger 2001).

A diferencia de lo que ocurre con los cultivos para grano, quienes diseñan y manejan pasturas deben buscar optimizar la composición florística más que maximizar la productividad (Kemp y King 2001). A fin de optimizar la composición florística se debe alcanzar un estado en la que las gramíneas perennes y las leguminosas dominen

sobre las gramíneas anuales (Kemp et al. 2000, Kemp y King 2001, Laidlaw y Teuber 2001). En general, las pasturas dominadas por gramíneas perennes tienen una mejor función ecosistémica que las dominadas por anuales, debido a las interacciones especies-ambiente en la transformación del flujo de energía y materia (carbono, agua, minerales). Entre dichas funciones se destacan el control en el flujo de nutrientes y la mayor fijación de carbono, entre otras (Garden y Bolger 2001, Lazenby y Tow 2001). Gracias al desarrollo de un sistema radical más profundo que el de las anuales, realizan un uso más eficiente del agua y capturan nitratos desde estratos profundos, todo lo cual disminuye la salinización y acidificación de los suelos (Kemp et al. 2000, Kemp y King 2001) al controlar mejor su lixiviación. También, mejoran las condiciones físicas del suelo (Garden y Bolger 2001). Asimismo, los tapices dominados por especies perennes, presentan menor variabilidad productiva a lo largo del año que los dominados por anuales y proveen una más completa cobertura del suelo que reduce la invasión de malezas (Kemp et al. 2000, Lazenby y Tow 2001). La baja tasa de crecimiento de dichas especies perennes impone una menor productividad potencial inicial. El componente gramínea anual en las pasturas influencia la dinámica de las gramíneas perennes (Garden y Bolger 2001). En estas circunstancias, la alta tasa de crecimiento de las gramíneas anuales fertilizadas podría contribuir al desplazamiento de las gramíneas y leguminosas perennes (Suding et al. 2005).

Respuestas morfológicas y estructurales de plantas de gramíneas C₃ a las interacciones competitivas tempranas

Las pasturas son ecosistemas complejos en los que cada planta individual interactúa con individuos de la misma y de diferentes especies simultáneamente (Kemp

y King 2001) y en las que las competencias intra e interespecífica afectan severamente su crecimiento (Lemaire y Chapman 1996). La competencia, interacción entre plantas que comparten recursos limitantes, lleva a una reducción en el número de sobrevivientes y/o a una disminución en su crecimiento (Begon et al. 1996). La competencia en las pasturas ocurre desde el momento mismo de la siembra e influye sobre la dinámica poblacional, que incluye la germinación, el establecimiento, el reclutamiento, la fecundidad, la tasa de mortalidad y la fenología (Kemp y King 2001).

La proximidad a otras plántulas frecuentemente ejerce efectos negativos aunque a veces puede mejorar la germinación y la supervivencia de las mismas (Linhart 1976, Skinner 2005). A medida que cada planta individual germina, las relaciones espaciales y temporales con otras plántulas vecinas determinan el éxito de ese individuo (Skinner 2005). Las especies forrajeras se consideran establecidas cuando 4 ó 5 hojas y por lo menos 2 raíces adventicias han aparecido en las plántulas (Ries y Svejcar 1991, Sanderson et al. 2002). El establecimiento es una etapa crítica en la supervivencia de las plántulas, que requiere asegurar un rápido desarrollo de área foliar y un número crítico de raíces (Sanderson et al. 2002), de manera de interceptar luz (Hume 1991a) y ocupar rápidamente el espacio; esto contribuye a la habilidad competitiva de las especies (Black et al. 2006). Las interacciones tempranas en la línea de siembra dependen de la identidad, tamaño, cercanía y número de vecinos, habilidades competitivas y heterogeneidad de recursos edáficos (Fowler 1982, Murphy y Briske 1992, Stoll y Weiner 2000, Silvertown y Wilson 2000, Sanderson y Elwinger 2002). El lento o pobre establecimiento de algunas gramíneas perennes las hace susceptibles a la competencia (Robson et al. 1988, Andrews et al. 1997, Harris 2001). En esta etapa las diferencias entre especies de gramíneas en las características y el tamaño de su sistema radicular son muy relevantes ya que les pueden brindar una capacidad competitiva diferencial

(Nurjaya y Tow 2001). Por eso, durante el establecimiento, las interacciones tempranas planta- planta tienen influencia en las habilidades competitivas de las poblaciones (Eagles et al. 1982) y son decisivas en el éxito potencial y en el balance de largo plazo entre las mismas. La comprensión de los mecanismos de las interacciones tempranas entre gramíneas C₃ anuales y perennes permitirá analizar y regular la composición florística futura.

El estudio de las interacciones competitivas entre las poblaciones que componen las pasturas tiene algunas aristas conflictivas. Si bien no existe controversia en cuanto al concepto de competencia en sí mismo, sí la hay en cuanto a la definición de habilidad competitiva (Goldberg 1997) y a las maneras de evaluarla y medirla (Kemp y King 2001) bajo distintas condiciones ambientales (Aerts 1999). En general, el diseño de experimentos de competencia involucra un compromiso en el cual algunos factores son ignorados, a pesar de su importancia para la competencia, buscando hacer posible el estudio de otros (Sackville Hamilton 2001). Existen tres grandes enfoques: a) experimentos directos, que manipulan la competencia entre plantas individuales o entre poblaciones y pueden en algunos casos extrapolarse mediante modelos a la escala de comunidad, b) inferencia de la habilidad competitiva de distintas poblaciones a partir de caracteres medidos en las plantas y relacionados con sus estrategias, y c) inferencia a partir de la interpretación de los cambios en composición florística en el tiempo a partir de estudios de campo (Kemp y King 2001). Este último enfoque permitiría inferir relaciones competitivas entre especies, que reflejan los resultados de la competencia en plazos largos (Wilson y Gitay 1995). Sin embargo, para estudiar la competencia inicial entre gramíneas C₃ en la línea de siembra parecen más adecuados los dos primeros enfoques por ser de corto plazo (Wolfe y Dear 2001).

Dentro del primer enfoque, numerosos estudios han medido directamente las interacciones entre plantas ya sea de la misma (competencia intraespecífica) o de distintas especies (competencia interespecífica) y evaluado el resultado de la competencia en función de la performance de una planta objetivo. La performance ha sido caracterizada generalmente a partir de variables como emergencia, supervivencia, biomasa aérea y radical, número de macollos, altura, fenología o número de semillas producidas. En ellos se utiliza la exclusión de plantas vecinas, la comparación de stands puros vs. mezclas, y la comparación bajo densidades, distancias de siembra y disponibilidades de nutrientes variables (Fowler 1982, Berendse y Aerts 1984, Benner y Bazzaz 1987, Goldberg 1987, Miller y Werner 1987, McGraw y Chapin III 1989, Di Tommaso y Aarsen 1991, Duralia y Reader 1993, Wilson y Tilman 1993, Berendse 1994, Lowe et al. 2003; entre otros). La disponibilidad de nitrógeno afectó la competencia entre *Bromus tectorum*, anual, y *Bouteloa gracilis*, perenne, en pastizales naturales en el oeste de los EEUU. En los niveles mínimos de nitrógeno ninguna especie fue afectada por la competencia. A medida que la disponibilidad de nitrógeno aumentó, el incremento en la biomasa aérea de *Bromus* fue más negativamente afectada por la competencia intraespecífica en relación a la interespecífica, mientras que lo contrario ocurrió con *Bouteloa*. Las especies anuales, de rápido crecimiento, tienen mejor respuesta al agregado de nitrógeno respecto de aquellas nativas y perennes; sin embargo los bajos niveles de nitrógeno son capaces de reducir la presión competitiva de las primeras sobre las segundas (Lowe et al. 2003). También es frecuente, en el caso de adición de nutrientes, la manipulación del tipo de competencia: sólo aérea, sólo radical o total a fin de determinar algunos de los mecanismos involucrados en la competencia (Jørgensen 1994, Rajaniemi 2002). Existe abundante información referente a las interacciones entre plantas adultas (Harper 1977), sin embargo existe relativamente

poca información disponible sobre las interacciones entre plántulas durante la etapa de establecimiento y de implantación (hasta el primer año del cultivo) de pasturas (sin embargo ver Sanderson et al. 2002, Skinner, 2005).

En relación al segundo enfoque, existen distintos marcos teóricos acerca de la relación entre las estrategias de las plantas y su habilidad competitiva, a partir de los cuales se puede predecir el resultado de la competencia. Los modelos conceptuales de Grime (1977, 1979) y Tilman (1982) conducen a predicciones diferentes. La teoría de Grime (1979) propone un compromiso entre tolerar el estrés y la habilidad para competir y, además, la competencia por luz es el fenómeno más importante que guía la dinámica de la vegetación. Como consecuencia un buen competidor por luz también lo es por recursos edáficos, en cambio Tilman (1982) propone que la habilidad competitiva y la tolerancia al estrés por un recurso dado, pueden ser conferidos a partir de los mismos rasgos (Lazenby y Tow 2001). De acuerdo a Tilman, existe un compromiso evolutivo que impide que las plantas puedan maximizar simultáneamente el crecimiento, asociado a la captura de luz, y la captura, retención o conservación de nutrientes (Aerts 1999). Esto parece imponer un compromiso entre la habilidad de las especies de competir por recursos del suelo o por luz. Este compromiso entre factores ambientales impondría patrones diferenciales de partición del carbono. En efecto los buenos competidores por N tendrían alta partición hacia raíces y baja a hojas, baja concentración de N en los tejidos y baja partición a las semillas y los buenos competidores por luz tendrían particiones opuestas (Tilman 1990).

Sin embargo, las escuelas de Tilman y Grime no son mutuamente excluyentes. Cada teoría puede ser aplicada a distintas circunstancias. La teoría de Grime hace predicciones útiles en ambientes productivos o ricos, como los de las pasturas, mientras que la de Tilman es más adecuada para entender sistemas pobres en nutrientes y durante

períodos de tiempo más prolongados (Kemp y King 2001). A su vez, Goldberg (1990) distinguió dos componentes en la habilidad competitiva. La respuesta competitiva es la habilidad de las plantas para crecer y resistir la supresión por la presencia de vecinos y el efecto competitivo es la habilidad de las plantas vecinas de reducir el crecimiento de un individuo o de una especie objetivo. Peltzer y Wilson (2001) integraron los rasgos de las plantas que confieren alta respuesta y alto efecto competitivo a partir de datos de Grime 1977, Grime 1979, Tilman 1987, Tilman 1990, Berendse y Elberse 1990, entre otros. Por otra parte, Berendse y Elberse (1990) y Berendse (1994) en un intento por reconciliar ambas teorías, sugirieron que en ambientes fértiles las especies más competitivas son aquellas que tienen altas tasas de adquisición de recursos del suelo, crecimiento aéreo y captura de luz. En cambio en suelos pobres en recursos, dominarán las especies con bajas tasas de crecimiento, asociadas con un alto grado de conservación de recursos. Por lo tanto, a lo largo de gradientes nutricionales, los mecanismos de la competencia cambian de ser principalmente por competencia subterránea por nutrientes en ambientes de bajos recursos, a ser aérea por luz en ambientes ricos en nutrientes (Wilson y Tilman 1991). En ambientes ricos, la competencia por luz es el mecanismo más importante y determina la capacidad de compartir otros recursos (Grime 1977, Lemaire 2001). Como la luz es un recurso que varía en el espacio en forma unidireccional, los rasgos que distinguen competidores exitosos por luz son aquellos que conducen a superar en altura a los vecinos: arreglo espacial de las hojas en estratos, con relativamente más área foliar en el estrato superior que en los inferiores (Grime 1979, Aerts 1999). Por otra parte, los modelos mecanísticos, que infieren competencia, han demostrado experimentalmente que una competitividad superior está asociada con la tasa potencial de crecimiento y sus componentes; rasgos morfológicos y fisiológicos

(Poorter 1989, Lambers y Poorter 1992, van der Werf et al. 1993, Garnier y Vancaeyzeele 1994, Reich et al. 2003, entre otros).

Si bien es claro que los rasgos vinculados a la competencia por luz tienen una importancia ecofisiológica clara, tal vez no sean suficientes para caracterizar la capacidad competitiva de las plantas dentro de las comunidades de pasturas porque a) existe cierta incertidumbre sobre la predicción de los resultados de competencia sin medir directamente las interacciones entre especies (Kemp y King 2001), b) no resultan suficientes para identificar los mecanismos ecofisiológicos responsables de los efectos o de las respuestas a la competencia (Lemaire 2001) y c) además, la capacidad competitiva no es fija (Bullock 1996, Kemp y King 2001) y puede variar en el tiempo, dependiendo de las condiciones de manejo y las variaciones térmicas e hídricas estacionales, que condicionan la disponibilidad de nutrientes en ambientes ricos (Bullock 1996, Kemp y King 2001). Por lo tanto, dado que la competencia es de naturaleza dinámica, sólo puede ser entendida en la medida que evoluciona en el tiempo en respuesta al crecimiento inicial, a las condiciones del sitio y a las interacciones e interferencias entre las especies y entre éstas y el ambiente (Zhai et al. 2004).

Grime (1977, 1979) y Tilman (1982, 1989, 1990) demostraron que ciertos rasgos morfológicos y fisiológicos están asociados a la competitividad. Sin embargo, estos rasgos no sólo son características inherentes a las especies sino que también resulta de las respuestas plásticas de las plantas a la competencia. Así las diferencias entre rasgos morfológicos entre especies de la misma comunidad pueden revelar más una diferencia en su posición jerárquica en la captura de luz y en la adquisición de recursos edáficos dentro del stand, que una diferencia intrínseca entre especies (Lemaire y Millard 1999, Lemaire 2001). En canopeos densos, como lo son los de las pasturas, la dependencia del

sistema radical de la energía capturada por las hojas, impone una fuerte jerarquía entre la competencia por luz y por los recursos del suelo entre plantas coexistentes; el éxito en un tipo de competencia refuerza la posibilidad de éxito en el otro. Esta visión es consistente con una aproximación dinámica de la interferencia entre plantas y cuestiona severamente el establecimiento de jerarquías competitivas estáticas (Lemaire 2001). Por lo tanto, sólo estudios dinámicos que usen rasgos morfológicos podrían permitir la distinción entre la capacidad competitiva intrínseca de una especie y su respuesta plástica a la intensidad de la misma dentro de un stand (Lemaire 2001).

Esta aproximación ecofisiológica, al igual que la propuesta por Grime (1977), considera a la competencia por luz como el proceso más importante que determina la capacidad de compartir otros recursos pero no contradice la teoría de Tilman (1982), ya que la misma también considera a la luz como el principal recurso limitante en ambientes edáficamente ricos. La jerarquía desarrollada entre plantas dentro de un stand para adquirir luz y nutrientes, puede ser el resultado de respuestas generadas durante las etapas iniciales del desarrollo del canopeo y de la habilidad para percibir tempranamente la presencia de plantas vecinas (Lemaire y Millard 1999). Cualquier ventaja en altura ganada cuando las plantas son pequeñas representa una ventaja inicial en el curso de la competencia, que puede exacerbarse con el tiempo en la medida que interceptan más luz y sombrean a sus vecinos (Tremmel y Bazzaz 1993). Sin embargo, no sólo la biomasa del vecino sino también su identidad determinarán la biomasa de la planta objetivo, ya que diferentes vecinos poseen diferentes rasgos específicos asociados a su habilidad competitiva (Tremmel y Bazzaz 1993). Entonces, resulta necesario entender los mecanismos y la dinámica de las interacciones entre genotipos de distintas formas de vida, midiendo directamente dichas interacciones en distintos niveles de organización de los individuos o macollos: hojas y de la metapoblación o

planta (White 1979): macollos y raíces, durante el establecimiento de la pastura (Skinner 2005). En esa etapa se define la jerarquía y el espacio que cada genotipo ocupará luego en el canopeo, afectando marcadamente la composición futura de la comunidad (Ross y Harper 1977, Eagles et al. 1982).

A fin de comprender y regular la dinámica de las interacciones planta- planta durante el establecimiento en pasturas multiespecíficas (Skinner 2005), no es suficiente con entender el equilibrio funcional (Lemaire y Millard 1999); es decir la coordinación entre el crecimiento y el desarrollo radical y el aéreo (Brouwer 1963), discutida precedentemente. Es necesario considerar tanto el enfoque trófico -intensidad de luz, la intercepción de luz y el ingreso de fotoasimilados- como el morfogenético - temperatura y demografía de órganos- en una metapoblación (Lemaire y Agnusdei 2000). Una planta es considerada una metapoblación compuesta por una población de individuos genéticamente idénticos, unidades estructurales o módulos; en contraposición a la idea de población, individuos genéticamente diversos (White 1979, Sugiyama 1995, Sattler y Rutishauser 1997). En relación al *enfoque trófico*, los patrones de crecimiento de las plantas difieren entre formas de vida. En particular se demostró que los patrones de partición del carbono difieren entre gramíneas anuales y perennes. En *Lolium temulentum*, una gramínea anual, la actividad meristemática estaba concentrada en su meristema apical mientras que en *Lolium perenne*, especie perenne, la actividad estuvo balanceada en los tres principales centros meristemáticos: región del meristema apical, meristemas axilares y meristemas radicales (Ryle 1970). Sin embargo, Robson et al. (1988) observaron una prioridad de partición hacia la producción de macollos hijos en detrimento de los ya existentes durante el crecimiento vegetativo en las gramíneas perennes respecto de las anuales, y una mayor proporción de biomasa particionada a vainas, aunque no a láminas y raíces (Garnier 1992). Los patrones de partición del

carbono entre gramíneas anuales y perennes fueron además, plásticos a la luz y las diferencias entre ambas se amplificaron con el aumento del tamaño de las plantas y con la disminución de la cantidad de luz. En plantas que crecían con poca luz, casi el 90% del carbono fue acumulado en el meristema apical y los meristemas de la hoja en especies anuales mientras que en especies perennes, la cantidad de carbono que se movía hacia los meristemas axilares y raíces era similar a la hallada en el meristema apical (Ryle 1970).

La partición de fotoasimilados es parte del *programa morfogénico* de la planta (Gautier et al. 1999) y sigue una jerarquía entre distintos destinos dentro de la planta: hojas en crecimiento, tallos, nuevos individuos y raíces, en orden decreciente de prioridad (Durand et al. 1991, Gastal y Durand 2000). La síntesis de estructuras aéreas y radicales depende del balance entre la demanda morfogénica de dichos destinos meristemáticos en competencia dentro de la planta (Chapman y Lemaire 1993, Lemaire y Chapman 1996, Lemaire y Millard 1999) y la disponibilidad de sustratos carbonados, aunque esta jerarquía podría alterarse por cambios en la intensidad estacional del destino, vinculado a la fenología, o en distintas formas de vida: anuales vs. perennes.

La *morfogénesis* (Figura 1.1.), el proceso de desarrollo de la parte aérea de la planta (Sugiyama 1995, Sattler y Rutishauser 1997), es un proceso dinámico que resulta de la tasa de aparición de órganos -organogénesis- y del balance entre el crecimiento y la senescencia de las estructuras de la planta (Cruz y Boval 2000). Representa la adquisición dinámica de la forma de la planta (Lemaire y Chapman 1996); está controlada básicamente por el genoma (Lemaire y Chapman 1996, Gastal y Durand 2000). Entre las variables morfogénicas se destacan la tasa de aparición foliar (**TAF**; inversa del filocrono; el tiempo que demanda la completa expansión de una hoja), la

tasa de elongación foliar (**TEF**), la longevidad de las hojas (vida media foliar=**VMF**; intervalo entre la aparición y el comienzo de la senescencia de la hoja) (Lemaire y Chapman 1996, Lemaire y Agnusdei 2000) y la tasa de aparición de macollos (**TAM**; Hirata y Pakiding 2002) (Figura 1.1), responsables del desarrollo del área foliar y de la radiación interceptada por las especies (Bélanger 1996). El proceso está regulado básicamente por la temperatura. Habitualmente se considera que la temperatura base de crecimiento en las gramíneas C_3 es de 3 a 5 grados (Lemaire y Agnusdei 2000, Mills 2007). En la mayoría de las especies C_3 , la respuesta de la **TAF** a la temperatura es lineal (Lemaire y Agnusdei 2000). Diversos estudios han mostrado una relación lineal entre la **TEF** y la temperatura entre los 2 y los 24° C (Williams y Biddiscombe 1965, Peacock 1975, Thomas y Norris 1981, Gastal et al. 1992, Berone et al. 2007) o exponencial entre los 5 y los 17° C (Lemaire y Agnusdei 2000).

La *morfogénesis* también se encuentra bajo la regulación de factores ambientales que afectan su expresión -plasticidad fenotípica-: la temperatura, el estatus hídrico y nitrogenado y el espectro de radiación, entre otros (Lemaire y Chapman 1996, Gastal y Durand 2000). La plasticidad fenotípica es la capacidad de un determinado genotipo de producir múltiples o diferentes fenotipos bajo diferentes condiciones ambientales (Bradshaw 1965, Valladares et al. 2007). Si bien los antecedentes permiten deducir grandes cambios morfogénéticos en respuesta a la competencia, existe muy poca información que lo demuestre.

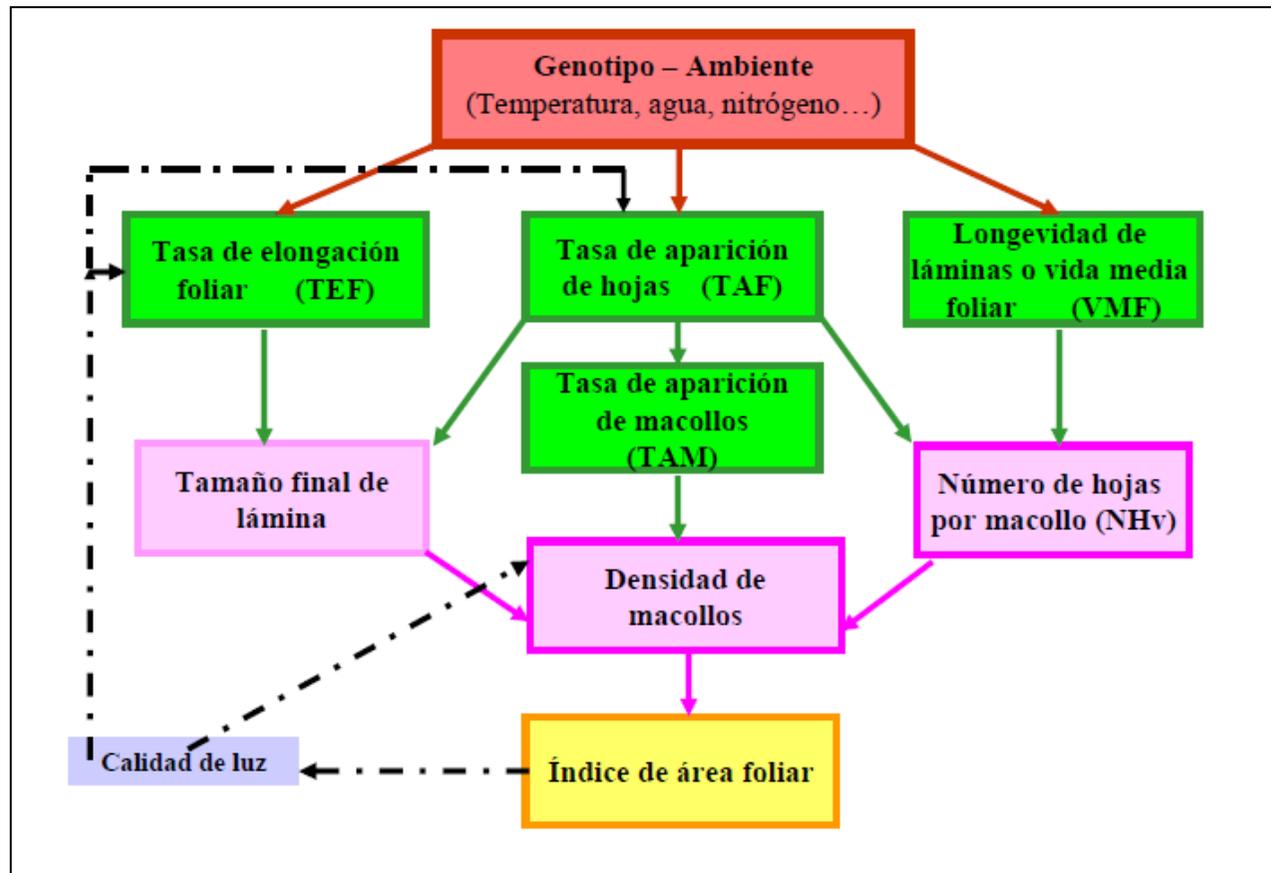
Una de las razones por las que no se han estudiado las variables morfogénicas en ensayos de competencia es que en general se las estudió a nivel de planta individual o incluso de macollo -unidad básica de crecimiento- en gramíneas, pese a que se acepta que en las pasturas las plantas no crecen como individuos aislados sino como miembros de una comunidad donde la competencia intra e interespecífica afecta severamente su

crecimiento y su fenología. Por lo tanto, mientras que la actividad morfogenética puede ser analizada a nivel de unidad de crecimiento, el cambio a nivel de canopeo requiere la comprensión de las interacciones competitivas y las respuestas a la remoción de hojas por la defoliación (Lemaire y Chapman 1996). Registrar estos caracteres morfogenéticos en ensayos que midan directamente la competencia permitiría evaluar no sólo el resultado de la misma entre genotipos, sino también explicar los mecanismos involucrados en dicho proceso. Cabe aclarar que en esta tesis se hablará de diferencias genotípicas asociadas a diferentes especies y no a diferentes genotipos dentro de una especie. En este sentido también resulta relevante separar –mediante ensayos factoriales- el efecto abiótico del estrés impuesto a las plantas por sus vecinas lo que permitiría determinar el rol del ambiente y de las interacciones entre especies en el control de la composición de pasturas (Peltzer y Wilson 2001).

La *morfogénesis* juega un rol importante en la determinación de la habilidad competitiva de las especies dentro de una comunidad (Lemaire y Millard 1999). Los rasgos morfogénicos deben ser tenidos en cuenta al comparar el crecimiento entre especies y a la hora de formular mezclas, dado que sólo el conocimiento de su fenología no resulta suficiente (Calviere y Duru 1995). Cuando mayores sean la **TAF**, **TEF**, **VMF** y **TAM** (Figura 1.1) mayor será la biomasa del macollo (Virkajärvi y Jäveranta 2001) y la tasa de crecimiento de la especie. Sin embargo, existen compromisos entre las variables morfogenéticas, asociadas a la existencia de restricciones estructurales: a) la **TAF** está inversamente relacionada con la **VMF** porque cada especie tiene un número de máximo de hojas vivas por macollo, b) la **TEF** no puede crecer indefinidamente porque cada especie tiene un tamaño potencial máximo de hoja, c) la **TAF** determina el límite de la **TAM** ya que cada hoja tiene en su axila una yema (Lemaire y Chapman 1996, Gautier et al. 1999, Bahmani et al. 2000, Lemaire y Agnusdei 2000, Nelson

2000). Estas restricciones son determinantes del compromiso en la asignación de asimilados entre el número y el tamaño de macollos en una planta (Sugiyama 1995). Cuando las plántulas crecen como si fueran plantas aisladas o cuando los canopeos son poco densos, tiende a incrementarse la densidad de macollos mientras que en canopeos sombreados, disturbados sólo con defoliaciones laxas o poco frecuentes, tiende a incrementarse el tamaño de los macollos (Virkajärvi y Jäveranta 2001).

Figura 1.1. Modelo conceptual general de la morfogénesis y del crecimiento de las gramíneas C_3 que relaciona las características morfológicas (en verde) y estructurales (en rosado) con las señales del ambiente (adaptado de Lemaire y Chapman 1996, Lemaire y Agnusdei 2000, Lemaire et al. 2009).



El tamaño del macollo (Figura 1.1) depende del máximo número de hojas vivas (**NH_v**) que puede sostener (Hume 1991a, Lemaire y Chapman 1996, Virkajärvi y Järvenranta 2001, Agnusdei y Colabelli 2007, Berone et al. 2007 a, b, Berone y Dreher 2007) y del tamaño final de sus hojas (Lemaire y Chapman 1996, Lemaire y Agnusdei 2000). Esta última variable estructural se relaciona básicamente con la **TEF** (Volontec y Nelson 1984, Nelson, 2000) y/o con la duración del período de elongación de cada hoja (Lemaire y Agnusdei 2000). El **NH_v** surge de la relación entre la vida media foliar (**VMF**) y del tiempo que demanda en aparecer dicha hoja, el filocrono, o su inversa la **TAF** ($\text{NH}_v \cdot \text{filocrono} = \text{VMF}$, Lemaire y Chapman 1996, Lemaire y Agnusdei 2000). La compensación entre tamaño y densidad de macollos tendría una fuerte componente genética (Bahmani et al. 2000) pero también podría estar regulada por las señales ambientales tanto directas como mediadas por el efecto de la identidad de los vecinos.

En situación de competencia por luz se reduce su cantidad, su intercepción y el ingreso de carbono a la planta -efecto directo- y también cambia la composición espectral de la misma, su calidad: disminución de la relación rojo: rojo lejano (**R:RL**), que promueve respuestas fotomorfogénicas plásticas de tolerancia o evasión al sombreado -efecto indirecto- (Gautier et al. 1999, Lemaire y Millard 1999). Estas respuestas morfológicas están relacionadas con estrategias de minimización de la reducción del ingreso de C en la planta y de optimización en el posicionamiento del área foliar en estratos menos sombreados, respectivamente (Lemaire 2001). Las plantas pueden percibir una reducción en la relación **R:RL** de la luz reflejada por la vegetación cercana, indicador de proximidad de vecinos, y responder antes que sean directamente sombreadas (Ballaré et al. 1987, 1990). Las respuestas de evasión al

sombreo implican cambios en el largo de los entrenudos, en la longitud del tallo, la disminución de la proporción de biomasa particionada a hojas y a raíz, el aumento del ángulo de inserción de las hojas (hojas más erectas), además de la disminución de la densidad de macollos (Deregibus et al. 1985, Casal et al. 1987, Ballaré et al. 1987, Aphalo et al. 1999, Zhu et al. 2014, entre otros). Este mecanismo, mediado por el fitocromo, es ventajoso porque le permite a las plantas evitar la competencia por luz en canopeos densos (Casal y Smith 1989). La disminución de la relación R: RL promueve la dominancia apical y provoca el aumento de asignación de recursos a la parte aérea - alargamiento de los órganos aéreos ya existentes: hojas y vainas- (Robin et al. 1994, Smith y Whitelam 1997, Briske 2007). La baja irradiancia también enlenteció el desarrollo ontogénico en *Triticum aestivum* (Bos y Neuteboom 1998) y en *Lolium perenne* (Gautier et al. 1999) que condujo a la disminución de la **TAF** (Varlet-Grancher et al. 1997); aunque en general la **TAF** es una respuesta menos plástica que la **TEF** y el macollaje (Nelson 2000). El acortamiento de la longevidad de las hojas (disminución de la **VMF**), otra de las respuestas plásticas, puede deberse a un compromiso entre particionar N a mantener la actividad fotosintética de las hojas existentes o construir nuevo tejido de hojas de manera de optimizar la economía de nitrógeno, la capacidad fotosintética y el balance de carbono de la planta (Chabot y Hicks 1982, Gastal y Lemaire 2002, Wingler et al. 2006). La senescencia se acelera debido a un decrecimiento en la relación R:RL (Rousseaux et al. 1996, Wingler et al. 2006).

La densidad de macollos es muy sensible al ambiente lumínico. El macollaje es importante durante el establecimiento del cultivo y en la regeneración de los canopeos luego que los ápices han sido removidos por la defoliación (Jewiss 1972) en canopeos reproductivos. Una baja densidad de macollos refleja una pobre

perennidad (Cooper y Saedd 1949, Hume 1991a). La densidad de macollos (Figura 1.1) depende de la **TAM** y ésta de la **TAF** (Davies 1974, Gautier et al. 1999, Nelson 2000, Bahmani et al. 2000). En plantas espaciadas, el macollaje depende principalmente del filocrono pero en canopeos densos, aumenta la competencia y con ella disminuye la luz PAR y la relación R:RL- dentro del canopeo (Davies y Thomas 1983, Deregibus et al. 1985, Casal et al. 1986, Gautier et al. 1999) que reduce el macollaje (Deregibus et al. 1985, Casal et al. 1987). Lateral et al. (1997) mostraron que en comunidades no pastoreadas, la estructura de plantas de *Paspalum dilatatum* y su dinámica de macollaje variaron de acuerdo a si el vecino era *Lolium multiflorum*, *Festuca arundinacea*, *Distichlis spicata* o *Stenotaphrum secundatum*. Entonces, no sólo la performance individual sino también la dinámica poblacional están determinadas por el vecindario (Watkinson y Gibson 1985, Lateral et al. 1997).

Así como los rasgos morfogenéticos son plásticos a luz, también lo son al nitrógeno. Muchos estudios han evaluado variables morfogénicas y estructurales en respuesta al nitrógeno en distintas especies forrajeras, aunque en general en plantas aisladas (Fustec et al. 2005) o sin especificar las condiciones de crecimiento que fueron utilizadas (por ejemplo la temperatura base utilizada; Lemaire y Agnusdei 2000). La nutrición nitrogenada opera principalmente a través de la dinámica del crecimiento de la hoja, la densidad de macollos y la expansión del índice de área foliar (IAF; Belanger et al. 1992, Marino et al. 1995). Dichos estudios han mostrado que el nitrógeno promueve la **TAF**, la **TEF**, la **VMF** y **TAM** en varias especies anuales y perennes dependiendo del IAF del canopeo (Lemaire y Salette 1982, Simon y Lemaire 1987, Belanger et al. 1992, Gastal et al. 1992, Gastal y Nelson 1994, Mazzanti et al. 1994, Marino et al. 1995, Lemaire y Chapman 1996, Lattanzi et al. 1996, 1997, Duru y Ducrocq 2000 a,b, Lemaire y Agnusdei 2000, Cruz y Boval

2000, Gastal y Durand 2000, Lawlor 2002) que permiten aumentar la cobertura del suelo e incrementar la radiación solar interceptada (Mazzanti et al. 1994). De hecho, la respuesta al nitrógeno está conducida por el cambio en la **TEF** más que en las otras variables morfogénicas. En pastos cespitosos el efecto del agregado de nitrógeno sobre la **TAF** es muy bajo pero puede provocar aumentos de la **TEF** de hasta 3 o 4 veces (Gastal et al. 1992, Lemaire y Agnusdei 2000, Cruz y Boval 2000, Gastal y Lemaire 2002). El efecto del N está más determinado por un aumento en el número de células, aunque sólo en un corto plazo, que por el incremento en la tasa de expansión de cada una (Volontec y Nelson 1983, Gastal y Durand 2000). El nitrógeno puede tener efectos muy distintos sobre la **VMF**, dependiendo del IAF del canopeo, ya que reduce la senescencia de hojas, extendiendo su vida efectiva (Lawlor 2002), pero cuando el IAF es alto puede contribuir a incrementar la cantidad de material senescente de hoja, debido al aceleramiento de la muerte de tejidos (disminución de la **VMF**) asociada al autosombreo dentro del canopeo (Calviere y Duru 1999). El efecto del nitrógeno sobre la **TAM** también depende del IAF (Lemaire y Salette 1982, Simon y Lemaire 1987). A bajo IAF, el macollaje se ve limitado por la oferta de carbono y a alto IAF, por la relación rojo:rojo lejano que inhibe la activación de yemas axilares (Deregibus et al. 1985, Casal et al. 1987). Aunque el conocimiento sobre la regulación de la senescencia de órganos en respuesta al N es aún limitada (Gastal y Durand 2000), la existencia de los compromisos descriptos pueden explicar las respuestas erráticas a la fertilización N encontradas en cultivos monoespecíficos. Por ejemplo, la fertilización nitrogenada realizada en un momento en el que el IAF es alto, puede causar una caída en la **TAM** que no pueda ser compensada por el incremento en la **TEF**, induciendo un efecto neto neutro sobre el crecimiento. Entonces, la compensación tamaño y densidad de

macollos tendría una fuerte componente genética pero también estaría regulada por las señales ambientales: luz y nutrientes.

Además de las relaciones y compromisos descritos, un aspecto importante y poco estudiado del problema es que las cuatro variables morfogénicas varían en las sucesivas cohortes de macollos y a lo largo de la vida de cada planta. Los macollos de mayor jerarquía muchas veces condicionan la respuesta de los macollos subordinados, de ubicación más basal y por ende sometidos a condiciones más extremas de sombreado, debido a la partición preferencial de carbono y N hacia el macollo principal. Esto corresponde a un cambio de una estructura predominantemente horizontal a una más vertical (Lemaire y Millard 1999). Pese a la importancia de la edad del macollo como condicionante de las respuestas morfogenéticas a los signos ambientales, la mayor parte de los estudios las caracterizan a partir de un promedio de macollos de diferentes edades (Gautier et al. 1999) o bien únicamente a partir de registros en el macollo principal (excepto Davies 1974, Hume 1991, Bos y Neuteboom 1998, Bahmani et al. 2000, Bultynck et al. 2004, Evers et al. 2005, Fustec et al. 2005).

La defoliación como disturbio regulador de la composición florística de las pasturas

El manejo de la defoliación tiene un rol central como modelador del crecimiento, la estructura y la composición florística de las pasturas. En comunidades, las interacciones planta- planta son perturbadas por eventos de defoliación que tienen un efecto directo en el funcionamiento de las plantas

defoliadas. Ese efecto está asociado a respuestas fisiológicas relacionadas con la reducción del ingreso de carbono como resultado de la pérdida de área foliar – limitación trófica- y en un plazo mayor, a cambios en su arquitectura –signo mecánico- (Gautier et al. 1999, Lemaire y Agnusdei 2000, Lemaire 2001, Cullen et al. 2006). También, se produce un efecto indirecto a partir de la modificación de las condiciones microambientales generadas por las plantas vecinas (Lemaire 2001). En este sentido, la defoliación es un disturbio que relaja temporalmente la competencia entre las plantas por liberación de recursos –luz, agua y nutrientes- y controla temporalmente su intensidad (Briske y Heischmidt 1991). La defoliación reduce la ventaja competitiva ganada por los genotipos que emergen antes y tienen atributos de altas tasas de crecimiento, macollaje, expansión del área foliar y exploración radicular y suelen tener alta estatura (Milthorpe 1961). La pauta de defoliación, las características de las especies –la velocidad de recuperación, el tamaño de cada genotipo y el contenido de reservas- y la forma en que la pauta de defoliación impacta sobre las características de las especies –respuesta plástica- regulan la dinámica de las interacciones competitivas por el espacio. Eso puede favorecer a ciertas especies y condicionar la persistencia de otras a más largo plazo (Duru y Delaby 2003, Belesky 2006), afectando la estructura y el funcionamiento de la comunidad.

La pauta de defoliación –frecuencia e intensidad- determina el área foliar remanente de las plantas. El área foliar remanente define qué especie/s en una mezcla interceptará/n inicialmente más luz que provea energía para el rebrote. Una menor frecuencia –mayor tiempo que media entre dos eventos sucesivos de defoliación-, no necesariamente conduce a una mayor productividad de los canopeos (Belesky 2006) sino que incluso puede producir la muerte de individuos y complicar la persistencia

de ciertas especies. En defoliaciones muy intensas se deja poco tejido remanente y se remueve una gran cantidad de meristemas. Sin embargo, bajo similar altura de defoliación, la proporción de biomasa removida por la defoliación es menor en macollos pequeños respecto de macollos de gran tamaño (Sugiyama y Nakashima 1995). La frecuencia e intensidad de la defoliación y la morfología de la especie condiciona la capacidad de recuperación de las plantas porque determina el tipo de tejido removido –meristemas intercalares de lámina y de vainas o sólo meristemas de vainas, durante el crecimiento vegetativo de las plantas (Richards 1993).

La habilidad competitiva está determinada, además de por el área foliar remanente, por la velocidad de recuperación del área foliar mediada por respuestas morfogénicas, la tasa de aparición de hojas –**TAF**-, tasa de elongación foliar –**TEF**- y tasa de aparición de macollos –**TAM**- propias de las especies o plásticas al evento de la defoliación. El pobre rebrote de *Festuca arundinacea* fue atribuido a su baja TAF (189- 230°C.día, Lemaire y Chapman 1996, Lemaire y Agnusdei 2000) cuando se realizaron defoliaciones intensas –remoción de todas las láminas totalmente expandidas –(Kemp et al. 2001). Sin embargo, la defoliación también actúa modificando ciertos rasgos morfogénicos. La defoliación disminuyó el filocrono – inversa de la **TAF**- sólo en poblaciones de hojas largas de *Lolium perenne* (Gautier et al. 1999). La iniciación de macollos fue el proceso más sensible a la defoliación (Donaghy y Fulkerson 1998, Gautier et al. 1999, Cullen et al. 2006). La producción de macollos se redujo drásticamente al aumentar la frecuencia de defoliación en *Lolium* ssp. aunque no se modificó en *Bromus willdinowii* (Hume 1991b). Sin embargo, podría existir un efecto especie- específico de las altas frecuencias de defoliación sobre la **TAF**, la **TEF** o la producción de macollos –**TAM**- que pueden

condicionar las interacciones competitivas entre especies coexistentes y su persistencia en el tapiz.

Además de la velocidad de recuperación del área foliar en la regulación del balance competitivo entre especies, importa el tamaño potencial de cada especie al final del período de rebrote. Existe una correlación negativa entre el tamaño del macollo y la habilidad de rebrote luego de la defoliación conducida por diferencias en rasgos morfogénicos de los macollos. La habilidad competitiva se incrementa con el tamaño del macollo, relacionado con la habilidad de competir por luz, pero el rebrote disminuye con él (Sugiyama y Nakashima 1995, Sugiyama 1999, Silvertown y Wilson 2000). El cultivar Hokuryo de *Festuca arundinacea*, de pocos macollos grandes –baja **TAF** pero alta **TEF**–, presentó baja habilidad de rebrote y mejor resultado competitivo respecto del cultivar Kentucky 31 (Sugiyama y Nakashima 1995) debido a que las plantas que tienen macollos grandes, tienen menor cantidad de meristemas disponibles para el rebrote y menor proporción de hojas y pseudotallos en los cuales los carbohidratos de reserva pueden ser almacenados (Sugiyama 1999). Los genotipos de alta **TAF** tienden a producir un alto número de hojas cortas –baja **TEF**– por macollo y una alta densidad de macollos, muchos macollos pequeños, conformando una estructura corta y densa y un hábito de crecimiento postrado que le permiten ser exitosos en tapices intensamente defoliados. Contrariamente, un genotipo de baja **TAF** producirá pocas hojas largas por macollo y una menor densidad de macollos, conformando una estructura potencialmente alta de las plantas; altamente competitiva bajo defoliaciones laxas y/o infrecuentes (Hazard y Ghesquière 1995, Sugiyama 1999, Lemaire y Agnusdei 2000). Por lo tanto, el tamaño del macollo puede tener efectos positivos o negativos en la dominancia competitiva (Sugiyama 1999) de acuerdo a las características de la defoliación.

La biomasa remanente parece ser más importante que el área foliar remanente como determinante del rebrote (Fulkerson 1994). La acumulación de carbohidratos de reserva (HCR) en el material remanente y en las raíces (Donaghy et al. 2008) y su movilización luego de una defoliación o un estrés, puede también conferir una ventaja competitiva sobre una planta con menor cantidad de reservas (Nurjaya y Tow 2001), por lo menos en el corto plazo. También una defoliación muy intensa condiciona severamente la capacidad de almacenamiento de HCR (Donaghy y Fulkerson 1998). Cuanto menos frecuente es la defoliación, mayor cantidad de HCR son almacenados y por lo tanto mayor peso de láminas y macollos durante el período de recuperación (Hume 1991b, Rawnsley et al. 2002; Turner et al. 2006a,b). Los HCR son importantes en gramíneas C_3 durante 3 a 6 días, luego de una defoliación (De Visser et al. 1997, Schnyder et al. 2000) luego de los cuales los fotosintatos provenientes de la fotosíntesis actual se transforman en la principal fuente de carbono para las plantas (Richards 1993, Cullen et al. 2006). Los HCR declinan a medida que son usados para el recrecimiento aéreo, el destino prioritario de asimilados que le permite a las plantas restablecer rápidamente su área foliar para captar luz y en consecuencia realizar un aporte de carbono para nuevo crecimiento (Richards 1993, Lemaire y Chapman 1996, Rawnsley et al. 2002, Turner et al. 2006c, Donaghy et al. 2008). La prioridad de partición del carbono cambia luego de la defoliación: hojas – raíces - iniciación de nuevos macollos (Cullen et al. 2006). Inmediatamente luego de una defoliación, el crecimiento de la raíz y su actividad disminuyen y hasta cesan (Richards 1993, Donaghy y Fulkerson 2001) y existe una demora en el recrecimiento de la raíz. La iniciación de nuevos macollos no comienza hasta que se reasume el crecimiento de la raíz (Cullen et al. 2006). Recién cuando una nueva hoja por macollo ha recrecido un 75%, la planta tiene adecuada capacidad

fotosintética para crecimiento y mantenimiento. Sólo después de este momento comienza la recuperación de los HCR y el crecimiento de la raíz (Donaghy y Fulkerson 2001, Rawnsley et al. 2002). La exportación de C hacia las yemas axilares comienza recién cuando la hoja ha alcanzado por lo menos el 80% de su largo final (Schnyder et al. 2000). Por lo tanto, la iniciación de macollos sería el proceso más sensible a la defoliación, el recrecimiento de raíces sería medianamente sensible y la refoliación sería insensible al contenido de HCR (Cullen et al. 2006). El impacto negativo del aumento de las frecuencias de defoliación, y por lo tanto en la reducción de los HCR, en la iniciación de macollos y en el incremento de la materia seca de raíces en *Lolium perenne* fue demostrado en varios estudios (Donaghy y Fulkerson 1998 y 2001). Cuanto más frecuentemente un pasto es defoliado, menos crece su raíz y esa planta es más vulnerable a condiciones ambientales adversas –períodos calurosos o secos- o estrés competitivo (Nurjaya y Tow 2001, Donaghy y Fulkerson 2001). Entonces, la cantidad de reservas almacenadas ha sido relacionada con la persistencia de las plantas en respuesta al estrés ambiental o a la competencia, debido a su efecto sobre el crecimiento radical que restringe la absorción de agua y nutrientes (Davidson y Milthorpe 1966), y puede tener consecuencias sobre el resto de la planta y sobre su habilidad competitiva respecto a otras plantas (Fulkerson y Donaghy 2001).

Sin embargo, el destino de los HCR puede variar entre especies así como el período de dependencia en los mismos. Los patrones de partición de los HCR pueden variar entre especies de acuerdo a su tolerancia a la defoliación. En *Festuca arundinacea*, especie de menor tolerancia a la defoliación respecto de *Lolium perenne* (Richards 1993, Dawson et al. 2000), el crecimiento de hojas y de raíces tuvieron una prioridad similar en la partición de HCR (Donaghy et al. 2008). La

menor TAF de *Festuca* en comparación con raigrás perenne es posiblemente la consecuencia de los patrones contrastantes en la partición de HCR (Donaghy et al. 2008). Asimismo, la corta dependencia descrita de los HCR puede incrementarse en situaciones de alta competencia –sombreo- (Donaghy y Fulkerson 2001).

Por lo tanto, las plantas pueden presentar respuestas a la defoliación relacionadas con rasgos morfogénicos y estructurales, que impactarán sobre su habilidad para competir. Dichas respuestas dependerán de la frecuencia e intensidad de defoliación a las que sean sometidas, por afectar diferencialmente la cantidad y tipo de tejidos meristemáticos remanentes, la velocidad de reestablecimiento del área foliar -capacidad de refoliación- y el nivel de hidratos de carbono de reserva (HCR) en el remanente y raíces.

La frecuencia parecería más importante que la intensidad de defoliación a la hora de regular el balance competitivo entre especies (Hume 1991b, Slack y Fulkerson 2000, Fulkerson y Donaghy 2001). La frecuencia de defoliación usualmente se basa en el número de días de descanso o los días necesarios para que el canopeo alcance una determinada altura o biomasa (Donaghy et al. 2008). Sin embargo, estos métodos no atienden las necesidades fisiológicas de las especies. Una frecuencia óptima de defoliación en un pasto se basa en el tiempo que demanda la completa expansión del número máximo de hojas vivas (NHV=VMF (vida media foliar)/filocrono; Lemaire y Agnusdei 2000) que puede sostener un macollo. Esta etapa ontogénica del macollo o edad de rebrote, coincide con el comienzo de la senescencia de la primera hoja producida después del último corte, la hoja más vieja del macollo -VMF- (Fulkerson y Slack 1994, Berone et al. 2008) y constituye el mínimo tiempo requerido para la recuperación de los HCR –básicamente fructosanos en gramíneas- (Fulkerson y Slack 1994, Fulkerson y Donaghy 2001). Un intervalo de

defoliación que se base en la edad de rebrote es un método superior en el manejo de la defoliación de las pasturas, ya que refleja la recuperación de la planta a la defoliación; permite maximizar las tasas de crecimiento, recuperar el nivel de reservas, reanudar el crecimiento de las raíces, incrementar el macollaje, mantener la calidad del forraje para los animales y mejorar la persistencia de las especies (Fulkerson y Slack 1994, Donaghy y Fulkerson 1997, Donaghy et al. 1997, Fulkerson y Donaghy 2001, Rawnsley et al. 2002, Turner et al. 2006a,b, Donaghy et al. 2008). Entonces, el mantenimiento de las frecuencias óptimas de defoliación permite mejorar el crecimiento, la habilidad competitiva y la persistencia de las especies (Fulkerson y Donaghy 2001).

Algunos estudios evaluaron el efecto de la frecuencia de defoliación basados en un criterio fisiológico en monoculturas de especies anuales y perennes (Fulkerson y Slack 1994, Rawnsley et al. 2002, Turner et al. 2006a,b,c, Donaghy et al. 2008). El momento óptimo de defoliación es diferente en cada especie (Fulkerson y Donaghy 2001): 3 hojas por macollo en *Lolium* spp. (Fulkerson y Donaghy 2001); 4 hojas/macollo en *Phalaris aquatica* cv. *Sirosa* y 2,5-3 en *Festuca arundinacea* (Nelson 2000, Lemaire y Agnusdei 2000, Watson et al. 2001, Donaghy et al. 2008). Sin embargo, en cultivos pluriespecíficos respetar la frecuencia fisiológica óptima de una especie puede impactar negativamente sobre el crecimiento y la persistencia de otra/s por imponerle una alta frecuencia de defoliación a la/s especie/s acompañante/s, sobre todo cuando se trata de mezclas de distintos ciclos de vida con diferentes óptimos.

La recuperación de la defoliación no sólo depende de la capacidad intrínseca de la planta y de las características de la defoliación, sino también del ambiente biótico y abiótico –luz, agua y nutrientes- de la planta (Richards 1993). La tasa de

absorción de nitratos disminuye por efectos de la defoliación, -el proceso requiere energía proveniente de fotoasimilados-, recuperándose gradualmente a medida que el índice de área foliar (IAF) y el aporte de carbono se van incrementando (Lemaire y Chapman 1996). El rebrote inicial está directamente determinado por el nivel de almacenamiento de nitrógeno (N) y su removilización (Ourry et al. 1994). La disponibilidad de N modifica el efecto de la defoliación; las plantas que crecen con altos niveles de N fueron afectadas más negativamente que aquellas a las que no se les suministró N adicional (Ferraro y Oosterheld 2002). Sin embargo, estas respuestas pueden variar según se trate de intensidad o de frecuencia de defoliación. Altas intensidades de defoliación sólo tuvieron un efecto negativo sobre la absorción de N en plantas de *Lolium perenne* que recibieron altos aportes de N; siendo la removilización de reservas el mecanismo que aportó el N a las hojas en crecimiento. Lo contrario ocurrió en aquellas plantas que crecieron con bajo N; mantuvieron la absorción de N siendo escasa su removilización debido a su bajo contenido de reservas. En cambio, la alta frecuencia de defoliación no modificó la absorción de N, su removilización y partición entre raíces, hojas adultas y hojas en crecimiento aunque sí la arquitectura de las plantas. Al incrementar el número de macollos por planta, la partición y movilización de N a las hojas en crecimiento disminuyó en los macollos individuales; siendo además menor la cantidad de N en situaciones de bajo aporte de N (Lestienne et al. 2006).

1.3. SISTEMA Y ESPECIES BAJO ESTUDIO

Las pasturas en Argentina

Las pasturas templadas de nuestro país tienen una estructura heterogénea y crecen durante todo el año, aunque se establecen relaciones de hasta 10 a 1 en

términos de productividad primaria neta aérea entre períodos de máximo (primavera) y mínimo crecimiento del forraje (invierno) (Mazzanti y Arosteguy 1985). Este patrón estacional de crecimiento es explicado por las fluctuaciones del ambiente ya que las bajas temperaturas del otoño- invierno restringen el crecimiento de las especies forrajeras (Deinum y Sibma 1980, Marino et al. 1995) y por el desarrollo fenológico de las especies integrantes del stand. A veces el patrón de crecimiento se ve modificado por las interacciones competitivas (Kemp y King 2001). Las bajas temperaturas también son responsables de las severas reducciones en la tasa de mineralización del nitrógeno del suelo (Vázquez y Barberis 1982, Powlson 1993). A fin de disminuir esa estacionalidad productiva intraanual, las pasturas mixtas templadas de la región pampeana se suelen fertilizar con nitrógeno en otoño y/o en invierno, debido al potencial de respuesta al nitrógeno de la población de las gramíneas anuales y su elevada tasa de crecimiento otoño- invernal.

En ambientes templado húmedos de nuestro país, heterogéneos en el tiempo y en el espacio, las mezclas utilizadas suelen incluir gramíneas C₃ anuales y perennes y leguminosas erectas y rastreras. *Bromus unioloides* H.B.K.=*Bromus willdenowii* Kunth=*Bromus catharticus* Vahl (cebadilla criolla=BW), gramínea anual o bianual - con presencia de macollos de ciclo anual o bianual- (Schneiter y Rimieri 2001) y *Dactylis glomerata* L. (pasto ovillo=DG), perenne, son habitualmente sembradas en un diseño de líneas alternas con leguminosas erectas, *Medicago sativa* L. (alfalfa) o *Trifolium pratense* L. (trébol rojo) en pasturas de rotación corta cuando la primera por razones edáficas no prospera (Scheneiter et al. 2008). Asimismo, la leguminosa rastrera, *Trifolium repens* L. (trébol blanco) es sembrada al voleo. Las dos gramíneas mencionadas pertenecen a la subfamilia de las *Festucoideas* y a la tribu *Festúceas*. BW es una especie nativa de Argentina (Berone et al. 2007b, Berone et al. 2008) y/o

de las planicies templadas del cono sur de América del Sur (Maddaloni y Ferrari 2001, Scheneiter y Rimieri 2001), alta, con hojas anchas y pocos macollos grandes (Hume 1991a). A la latitud de la provincia de Buenos Aires y con adecuada provisión de agua, *B. willdenowii* crece durante todo el año y tiene una acumulación máxima de forraje durante la primavera. Su floración ocurre desde principios de la primavera hasta fines del verano, apareciendo su inflorescencia principal entre octubre y noviembre (Schneiter y Rimieri 2001). Entre un 39 y un 59% de la densidad de macollos entran en estado reproductivo dentro del año de la siembra (Scheneiter y Rimieri 2001, Scheneiter et al. 2008), aunque existen grandes diferencias entre cultivares (Hume 1991a). Esta floración anticipada de la especie anual define un crecimiento más rápido y temprano que el de las especies perennes, en este caso *D. glomerata*, aunque con un período de crecimiento más corto (Pitelka 1977, Jackson y Roy 1986). El crecimiento de DG tiene una distribución bimodal (Sanderson et al. 2002) con un pico productivo máximo en primavera y uno segundo, más acotado, durante el otoño. Hill y Pearson (1985) consideraron que la baja capacidad de macollar de *B. willdenowii* era la mayor limitación que afectaba su desempeño en las pasturas. Esto es perjudicial para esta especie ya que la hará dependiente del mecanismo de la resiembra para poder perpetuarse dentro del tapiz.

Antecedentes vinculados al establecimiento de las especies estudiadas en la presente Tesis

Existen diversos estudios -con diferentes objetivos- que incluyen a *D. glomerata* (Davidson y Milthorpe 1965, van der Werf et al. 1993, Andrews et al. 1997, Duru y Ducrocq 2000 a,b, Scheneiter y Rimieri 2001, Duru y Ducrocq 2002, Rawnsley et al. 2002, Sanderson et al. 2002, Sanderson y Elwinger 2004, Sugiyama

2005 a, b, Belesky 2005 a, b, Cullen et al. 2006, Sinclair et al. 2006, Turner et al. 2006b,c, Peri et al. 2007,; entre otros), *B. willdenowii* ha sido menos estudiada en todo el mundo por ser una especie nativa de nuestro país. Dentro de los cultivares más estudiados de *D. glomerata* pueden incluirse a Wana, Dawn, Pennlate, Apanui y el Porto, entre otros, y el Martín Fierro, Matua, Primabel y Bellegarde, en *B. willdenowii*, pero en general se los estudió en cultivos puros o monoespecíficos o en mezcla con leguminosas (Bell y Richie 1989, Hume 1991 a, Scheneiter y Rimieri 2001, Scheneiter y Rosso 2005, Scheneiter et al. 2008). En el caso de *B. willdenowii* se han estudiado aquellos rasgos relacionados con sus raíces (Roumer et al. 2006) y la sobrevivencia de macollos en pasturas de Nueva Zelanda (Matthew et al. 2000). En la región Pampeana se ha evaluado su dinámica de la población de macollos y su estrategia de persistencia en stands puros fertilizados con diferentes niveles de nitrógeno (Scheneiter y Rimieri 2001), con una combinación de intensidades y frecuencias de corte definidas en función del número de cortes estacionales o a partir de una determinada altura del canopeo (Scheneiter et al. 2008) o en mezcla con *Medicago sativa* L. –alfalfa- (Scheneiter y Rosso 2005). *D. glomerata* es una especie tolerante al sombreado por lo que los sistemas silvopastoriles templados más productivos están basados en ella (Devkota y Kemp 1999, Belesky 2005 a,b, 2006, Peri et al. 2007).

Las dos especies difieren marcadamente en su velocidad de crecimiento inicial. Mott et al. (2000) encontraron que *D. glomerata* y *B. willdenowii* diferían en la temperatura base ($T_b = ^\circ\text{C}$) y en los requerimientos de tiempo térmico ($T_t = ^\circ\text{C}\text{día}$) de germinación. Los cultivares Apanui y Wana de *D. glomerata* presentaron 0°C de T_b en tanto *B. willdenowii* cv. Matua, un requerimiento mínimo de $1,2^\circ\text{C}$ para germinación. Sin embargo, los dos cultivares de *D. glomerata* mostraron un T_t que

casi duplicaba el de *B. willdenowii* (entre 208 y 319 en *D. glomerata* vs. 162 °Cdía en *B. willdenowii*). Adicionalmente, otros aspectos pueden influir en tasa de emergencia de las plántulas. Por ejemplo, el peso de las semillas está positivamente correlacionado con el porcentaje de emergencia y el tamaño de la plántulas (Andrews et al. 1997, Sanderson y Elwinger 2004). Las semillas de las gramíneas forrajeras templadas generalmente son pequeñas en comparación con las de los cereales. Las semillas de *D. glomerata* son mucho más pequeñas que las de *B. willdenowii*: *D. glomerata* tiene un peso de 1000 semillas de entre 0,8 y 1,1 gramos (g) y *B. willdenowii*, de entre 8 y 12 g. Otro aspecto que influye sobre la velocidad de crecimiento inicial de ambas especies es el tamaño del coleóptile y del mesocótile (Andrews et al. 1997), ya que no todas las gramíneas tienen la misma morfología de plántulas (Hoshikawa 1969). Durante la emergencia, *D. glomerata* elonga el mesocótile mientras que *B. willdenowii* no lo hace (Sanderson y Elwinger 2004). Como consecuencia *B. willdenowii* posee un coleóptile con mayor capacidad de elongación que *D. glomerata*. El menor tamaño de semilla y del coleóptile influyen negativamente la capacidad del *D. glomerata* de proteger su plúmula. Además de las diferencias entre especies vinculadas al proceso de germinación, existen diferencias entre especies en la tasa de establecimiento, independientes del peso de las semillas y del porcentaje de emergencia. El lento o pobre establecimiento de especies perennes como el *D. glomerata* las hace susceptibles a la competencia respecto a por ejemplo raigrás perenne (Robson et al. 1988, Andrews et al. 1997, Harris 2001) pero luego pueden desarrollar plantas más altas y de mayor área basal. En esta etapa las diferencias entre especies de gramíneas en las características y el tamaño de su sistema radicular son muy relevantes ya que les pueden brindar una capacidad competitiva diferencial (Nurjaya y Tow 2001). La baja habilidad

competitiva de las plántulas de *D. glomerata* fue atribuida a su lento crecimiento radical inicial ya que representa una desventaja competitiva temprana en la captura de nitrógeno (Nurjaya y Tow 2001). Entonces, características propias de *B. willdenowii* como germinación más rápida, mayor tamaño de semilla y de plántula y mayor velocidad de desarrollo aéreo y radical de las mismas, le permitirían ser un competidor superior respecto de *D. glomerata*, en tempranas etapas de crecimiento (Nurjaya y Tow 2001).

1.4. OBJETIVOS Y RELEVANCIA

El **objetivo general** de la presente Tesis fue analizar los mecanismos que determinan la dinámica de la competencia intra e interespecífica entre una gramínea C₃ anual/bianual y otra perenne y el efecto de diferentes frecuencias de defoliación y de la fertilización nitrogenada sobre la persistencia y la productividad de la gramínea perenne en las etapas iniciales de establecimiento e implantación de la pastura multiespecífica. El estudio contempló distintos niveles de organización. Se plantean en particular los siguientes objetivos específicos los que serán desarrollados en los distintos capítulos:

El **primer objetivo específico** fue describir la dinámica de los mecanismos morfogénicos regulatorios de la competencia de una gramínea C₃ anual/bianual y una perenne bajo distintos arreglos de siembra y prácticas de fertilización nitrogenada durante la etapa crítica de establecimiento de la pastura (**Capítulo 2**).

El **segundo objetivo específico** fue describir la dinámica de los mecanismos estructurales regulatorios de la competencia de las dos gramíneas en las condiciones descriptas (**Capítulo 3**).

El **tercer objetivo específico** fue analizar el efecto de la fertilización nitrogenada invernal y la frecuencia de defoliación sobre la productividad y la persistencia de la gramínea perenne en canopeos compuestos por una gramínea C₃ anual y otra perenne. El estudio evaluó los mecanismos morfogénicos, estructurales y funcionales responsables del crecimiento, la habilidad competitiva y la persistencia de la gramínea perenne durante la implantación de la pastura (mediano plazo) (**Capítulo 4**).

El **cuarto objetivo específico** fue discutir las relaciones entre los cambios morfogénicos, estructurales y funcionales de la pastura sometida a las prácticas descritas, con procesos de más largo plazo determinantes de la productividad y de la composición florística en estas comunidades multiespecíficas implantadas (**Capítulo 5**).

Relevancia

El marco teórico planteado permite retomar el problema que dio origen a esta Tesis: el mantenimiento de la composición florística en pasturas, con prevalencia de la especie perenne. Si los experimentos de esta Tesis apoyaran las hipótesis que serán propuestas en los capítulos subsiguientes, se podrían comprender los mecanismos morfogénicos y estructurales involucrados en la competencia temprana entre una especie gramínea C₃ anual y otra perenne, mediante una metodología novedosa, durante la etapa crítica de establecimiento de la pastura. Dado que un proceso productivo virtuoso se inicia desde la siembra, el conocimiento de dichos mecanismos habilitaría una mejora en la toma de decisiones respecto de la composición florística deseable dado que están asociados con el proceso de construcción del crecimiento, con la ocupación del espacio y con el desarrollo de

jerarquías entre plantas en el canopeo. Las respuestas morfológicas adaptativas de las plantas a la competencia en canopeos mixtos no han sido estudiados en detalle (Zhu et al. 2014). El método empleado para registrar dichas interacciones difiere de los tradicionales que infieren competencia sin medir directamente las interacciones entre las especies o de aquellos que midiendo competencia, la asumen como constante o fija a lo largo del tiempo. Asimismo, la presente Tesis pretende mejorar la comprensión del impacto de las frecuencias de defoliación sobre los mecanismos morfogénicos, estructurales y funcionales que condicionan el crecimiento, la habilidad competitiva y la persistencia de la especie perenne en el tapiz en el corto y mediano plazo –establecimiento e implantación del cultivo-. El método de defoliación empleado es usado regularmente en pasturas monofíticas pero el impacto en comunidades multiespecíficas templadas aún no ha sido evaluado.

Se espera que los resultados provean conocimientos que contribuyan a diseñar y gestionar los momentos y la forma de intervenir en estas comunidades, buscando promover un equilibrio en la composición florística con menor variabilidad productiva intraanual.

1.5. ORGANIZACIÓN GENERAL DE LA TESIS

En la presente Tesis, el estudio del problema del mantenimiento de la composición florística en comunidades vegetales implantadas y la importancia de las decisiones culturales –arreglos y densidades de siembra, fertilizaciones y frecuencias de defoliación –sobre la misma será abordado a partir de dos ensayos manipulativos organizados en distintos niveles y escalas temporales. El mismo será descrito en varios capítulos en los que se pondrán a prueba predicciones de las hipótesis, que se

consignan en los capítulos respectivos. A continuación se consignan los aspectos más relevantes de la organización general de la presente Tesis:

Dado que las decisiones técnicas iniciales como el diseño y la densidad de siembra ponen a las especies en distintas situaciones de competencia inicial en la línea de siembra, se ha tratado de distinguir entre mecanismos regulatorios de la competencia y las respuestas plásticas de las especies durante el **establecimiento de la pastura** (en crecimiento no disturbado). En el **Capítulo 2** se analizará la dinámica del crecimiento en los niveles de organización de hojas y macollos -en cohortes de distinta edad- y en el corto plazo (aproximadamente 100 días), de una gramínea anual/bianual y otra perenne, creciendo en situaciones de competencia intra e interespecífica cuando se realiza fertilización nitrogenada durante el invierno. En el **Capítulo 3** se analizarán la dinámica del crecimiento y los patrones de distribución de la biomasa en los niveles de organización de macollos y plantas en las referidas situaciones de competencia y práctica de fertilización. Esto permitirá analizar el impacto de diferentes vecinos en la **competencia planta- planta** a partir de un enfoque **dinámico de las interacciones competitivas** entre gramíneas de distintas formas de vida, basándose en el estudio **de rasgos morfogénicos y estructurales**, responsables del proceso de construcción del crecimiento y determinantes de la ocupación inicial del espacio y de las jerarquías entre plantas en un canopeo; también, condicionantes de la composición florística futura de la comunidad.

Asimismo y dado que el control de la remoción del canopeo impacta sobre el crecimiento y la persistencia de las especies el **Capítulo 4** analizará el efecto de la frecuencia de defoliación en el mediano plazo (durante más de 250 días), y su interacción con la fertilización nitrogenada invernal. El mismo focalizará en la **escala poblacional** y analizará el efecto del ajuste de la frecuencia de defoliación de

acuerdo al óptimo fisiológico de la gramínea C₃ anual/bianual o de la perenne, y su interacción con la fertilización nitrogenada, sobre los mecanismos morfogénicos, estructurales y funcionales que condicionan la productividad y la persistencia de la gramínea C₃ perenne en el tapiz durante la implantación de la pastura. En el último Capítulo se discutirán las evidencias obtenidas para las hipótesis sobre las respuestas propias de los genotipos y plásticas de gramíneas C₃ anuales y perennes a diferentes situaciones de competencia, prácticas de fertilización nitrogenada y de defoliación durante el proceso de implantación de comunidades multiespecíficas de pasturas **(Capítulo 5)**.

Mecanismos morfogénicos de regulación de la competencia entre dos gramíneas C₃: influencia de los vecinos y del nitrógeno

Gatti M.L., Ayala Torales A.T., Cipriotti P.A. and Golluscio R.A. (2013) Leaf and tiller dynamics in two competing C3 grass species: influence of neighbours and nitrogen on morphogenetic traits. *Grass and Forage Science*, 68 (1), 151-164. doi: 10.1111/j.1365-2494.2012.00881.x.

2.1. INTRODUCCIÓN

La expansión de la agricultura en Sudamérica está conduciendo a la intensificación de la ganadería basada en pasturas cultivadas. Especial atención se debe presentar a aspectos relacionados con el manejo de la pastura, incluyendo la selección de genotipos, el diseño y la densidad de siembra, y estrategias de fertilización y defoliación, son requeridas a fin de optimizar la composición florística y alcanzar un estado en el que las leguminosas y las gramíneas perennes, más que las anuales, dominen el canopeo (Kemp et al. 2000, Kemp y King 2001, Laidlaw y Teuber 2001). Estas pasturas perennes tienen menor variabilidad productiva y mejor funcionamiento debido a que son más eficientes en el uso del agua, en la captura de nitratos y en la cobertura de la superficie del suelo (Kemp et al. 2000, Garden y Bolger 2001, Harris 2001, Sanderson et al. 2002). También, tienen un mayor resultado económico porque la inversión monetaria inicial da un retorno económico a más largo plazo.

A fin de obtener pasturas densas y duraderas, es necesario entender los mecanismos de regulación del crecimiento del canopeo usando el conocimiento de las interacciones competitivas entre especies y la influencia de las prácticas culturales sobre ellos (Fustec et al. 2005). El establecimiento es una etapa crítica en pasturas multiespecíficas (Skinner 2005), debido a que durante esta fase se define el espacio que cada especie ocupará en el canopeo (Ross y Harper 1972).

Las plántulas de especies de lento establecimiento, como la gramínea perenne *Dactylis glomerata* L. (DG = pasto ovillo), tienen baja habilidad competitiva debido a su lento crecimiento radical inicial; el que se relaciona con la captura de nitrógeno (Nurjaya y Tow 2001). Otras especies, como la anual (o bianual) *Bromus willdenowii* Kunth=*Bromus catharticus* Vahl (BW = cebadilla), pueden establecerse rápidamente y excluir a aquellas de lento establecimiento (Harris 2001, Sanderson et al. 2002). La

severa competencia ejercida por la gramínea anual aumenta la variabilidad productiva de la pastura a lo largo del año. Además, la fertilización nitrogenada otoñal o invernal realizada a fin de superar el déficit invernal de forraje puede tener consecuencias negativas sobre la composición florística de las pasturas debido a que las gramíneas perennes y las leguminosas (especies que sostienen simbiontes fijadores de nitrógeno) son más susceptibles de ser excluidas bajo condiciones fertilizadas (Suding et al. 2005).

En pasturas templadas, las plantas crecen como miembros de una comunidad en la que la competencia intra- e interespecífica afecta severamente el crecimiento (Lemaire y Chapman 1996). Cuando otras variables que afectan el éxito del establecimiento ya han tenido lugar, esto es el desarrollo de raíces adventicias de longitud y diámetro suficientes para asegurar el agua y los nutrientes necesarios a las superficies fotosintéticas (Ries y Svejcar 1991), la tasa a la cual el programa morfogenético de cada especie se desarrolla determina la tasa de crecimiento inicial. Así la dinámica morfogenética aérea de cada especie determina el éxito del establecimiento del canopy. Las variables morfogenéticas como la tasa de aparición de hojas (TAF), la tasa de elongación foliar (TEF), la longevidad de hojas (o vida media foliar=VMF) (Lemaire y Chapman 1996, Lemaire y Agnusdei 2000) y la tasa de aparición de macollos (TAM) (Hirata y Pakiding 2002) tienen consecuencias en las habilidades competitivas entre especies coexistentes (Tallowin et al. 1995) debido a que determinan el desarrollo del área foliar y con ello, la radiación interceptada (Belanger 1996). También, reflejan el patrón genético de partición de asimilados entre el número y el tamaño de macollos (Sugiyama 1995). Este proceso de desarrollo vegetativo aéreo (Sugiyama 1995) es influenciado por la heterogeneidad de recursos y por la identidad, número, tamaño y proximidad de vecinos (por ejemplo, Fowler 1982, Silvertown y Wilson 2000, Stoll y Weiner 2000, Sanderson y Elwinger 2002).

El proceso morfogenético muestra plasticidad en respuesta a señales ambientales como la luz o el aporte de nitrógeno. A menudo, estas respuestas están mediadas por los vecinos (Ballaré et al. 1987, Casal y Smith 1989, Casal et al. 1990) y varían entre cohortes de macollos (Lemaire y Millard 1999). La habilidad competitiva de especies C_3 anuales puede ser mejorada por la fertilización nitrogenada (Anten y Hirose 1998, Nurjaya y Tow 2001). Asimismo, a veces los macollos de mayor jerarquía limitan la respuesta de aquéllos subordinados debido a la partición preferencial de carbono y de nitrógeno a los meristemas del tallo principal; esto en detrimento del crecimiento de los macollos subordinados (Lemaire y Millard 1999). Como consecuencia, el macollaje disminuye o se inhibe en condiciones de sombreado (Casal et al. 1985, Deregibus et al. 1985, Casal et al. 1986, Gautier et al. 1999, Lemaire y Millard 1999). Estas respuestas morfológicas y plásticas juegan un rol importante en la determinación de la habilidad competitiva de los individuos dentro del canopeo (Tremmel y Bazzaz 1993, Lemaire y Millard 1999).

Los objetivos del presente Capítulo son describir la dinámica y distinguir el origen de los mecanismos morfogenéticos que determinan las interacciones competitivas entre una especie gramínea C_3 anual y otra perenne durante la etapa crítica de establecimiento de la pastura, cuando se lleva a cabo fertilización nitrogenada en invierno. Este Capítulo está focalizado en dos niveles de organización: hojas y macollos y analiza la dinámica de hojas de tres cohortes de macollos de plantas individuales (planta objetivo) de la especie anual y de la perenne, rodeadas por dos plantas individuales (plantas vecinas) de la especie anual y perenne coexistentes en la línea de siembra durante el crecimiento no disturbado (ausencia de defoliación). Este Capítulo también a) asocia dichos mecanismos con la ocupación inicial del espacio en el canopeo

y b) evalúa el compromiso entre diversos mecanismos morfogénicos regulatorios de la competencia.

Las hipótesis que guían este estudio son que:

Hipótesis 2.1. *Los vecinos C₃ anuales afectarán negativamente la ocupación inicial del espacio en el canopeo y el establecimiento de las especies a partir de la modificación de los mecanismos morfogénicos debido a la reducción de la llegada de luz a nivel del suelo.*

Predicción 2.1. *Debido a su mayor tasa de elongación foliar (TEF) y su mayor captura de luz, los vecinos anuales reducirán la tasa de aparición foliar (TAF) pero incrementarán la TEF de las plantas objetivo y por lo tanto mejorarán la ocupación aérea (vertical) del espacio. Asimismo, reducirán la tasa de aparición de macollos (TAM) y por lo tanto limitarán la ocupación horizontal del espacio dentro del canopeo.*

Hipótesis 2.2. *La magnitud de estos efectos será mayor por la aplicación de nitrógeno y se expresará en los macollos de aparición más temprana beneficiados en intercepción de luz.*

Predicción 2.2. *La aplicación de nitrógeno aumentará la TEF y la TAM y este efecto será mayor en los macollos más viejos respecto de los más jóvenes.*

2.2. MATERIALES Y MÉTODOS

Condiciones ambientales

El experimento se llevó a cabo en el campo experimental de la Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, (FAUBA; 34°35S, 58°29W). El análisis químico de los horizontes superiores del suelo (0-20 cm) indicaron un pH (1:2,5) de 5,85, conductividad eléctrica de 0,20 dS m⁻¹, contenido de carbono (Walkley Black) de 12,9 mg g⁻¹, contenido de nitrógeno (Kjeldhal) de 1,5 mg g⁻¹ y de nitratos (SNEDD) de

1,86 mg kg⁻¹. El contenido de fósforo extractable (Bray and Kurtz 1) mostró una distribución espacial en parches en los 20 cm superficiales del suelo, entre 5,26 y 10,93 mg kg⁻¹. El periodo experimental abarcó desde la siembra el 27 de Mayo de 2008 hasta el último registro (y cosecha final) el 13 de Septiembre de 2008; fue de 109 días. El deficit hídrico ocurrido durante el otoño de 2008 fue la causa de la siembra tardía realizada ese año. Los datos obtenidos en la estación meteorológica de la FAUBA mostraron que la temperatura promedio diaria fue de $11,77 \pm 2,78$ °C (temperaturas mínimas y máximas promedio diarias de 6,4 y 18,9 °C, respectivamente) durante el periodo experimental (Figura 2.1.).

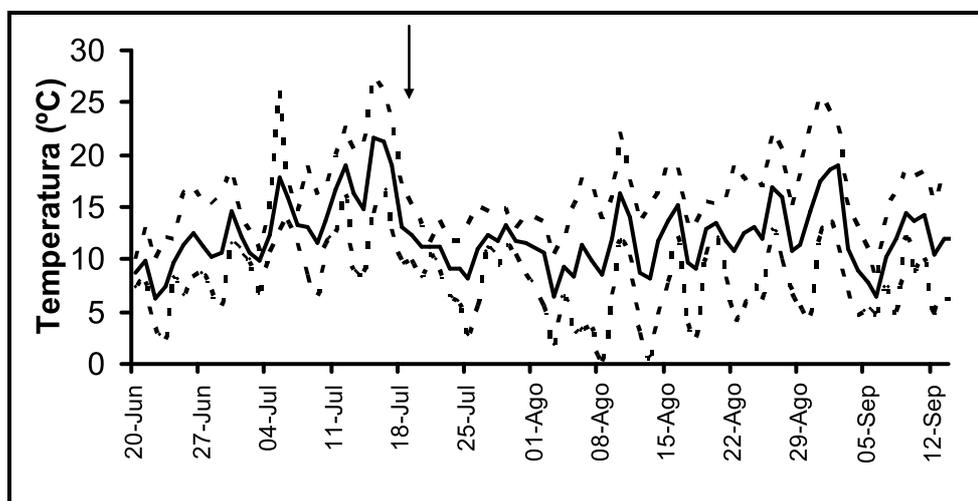


Figura 2.1. Temperatura media diaria del aire (línea llena), mínimas y máximas (líneas punteadas) (°C) registradas entre la emergencia de las plántulas y la cosecha final. La flecha indica el día de la fertilización (19 de Julio). Los datos de temperatura se obtuvieron en la estación climatológica de la Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires (FAUBA).

Las menores temperaturas del aire ocurrieron desde el 25 de Julio al 8 de Agosto, después se observó una tendencia levemente creciente de las mismas. La cantidad de lluvia caída fue de 142 mm, 35% menor al promedio histórico (período 1991-2000; Servicio Meteorológico Nacional). Se aplicaron riegos complementarios de aproximadamente 11 mm, estimando una evapotranspiración potencial y real de 128 y 117 mm, respectivamente (Cátedra de Climatología y Fenología, FAUBA). El

fotoperíodo se incrementó desde un mínimo de 9,66 horas de luz (h día^{-1}) a mediados de Junio hasta un máximo de 11,79 h día^{-1} al final del periodo experimental (los datos corresponden a 35° S). La radiación fotosintéticamente activa (RFA) fue registrada sobre y dentro del canopeo a nivel del suelo, 66 días después de la emergencia (66-dde) y al momento de la cosecha (85-dde), a las 12:00 hs (Sims et al. 2005), usando un radiómetro - barra de aluminio de 50 cm de longitud- (Flujo de fotones= $\mu\text{MOL.m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Al momento de la cosecha, la altura del canopeo varió entre los 20 y los 35 cm desde el nivel del suelo.

Material vegetal y diseño experimental

Veinticuatro unidades experimentales fueron sembradas como mini-canopeos de cinco líneas alternas de 0,18 m de largo, distanciadas 0,175 m entre líneas (aproximadamente 0,16 m^2). Tres líneas correspondieron a las gramíneas, *Bromus willdenowii* cv. Fortín Pergamino (BW= cebadilla; especie anual/ bianual) y *Dactylis glomerata* cv. Porto (DG= pasto ovillo; especie perenne), y dos líneas que correspondieron a *Trifolium pratense* cv. Redgold (TP= trébol rojo), a fin de similar la típica composición de una pastura. BW es una gramínea nativa de llanuras templadas sudamericanas (Maddaloni y Ferrari 2001). Es una especie anual o bianual (Scheneiter y Rimieri 2001), comúnmente distribuída en la Pampa Húmeda, donde se comporta como una especie anual debido a la pérdida neta de macollos durante el verano; no produce macollos de reemplazo después de su periodo reproductivo durante la primavera (Scheneiter y Rosso 2005). La mezcla en pasturas con DG está bien distribuida en la Pampa Húmeda. La gramínea anual fue elegida debido a su mayor producción de forraje durante el período de bajas temperaturas en comparación con la gramínea perenne de C_3 .

En cada mini-canopeo, las líneas de gramíneas fueron sembradas con una combinación de la especie anual (BW) y la perenne (DG). Esta combinación de especies correspondió a cuatro arreglos de siembra que involucraron situaciones de competencia intra e interespecífica (BW rodeada por BW denominada como BW Bw; DG rodeada por DG denominada como DG Dg; BW rodeada por DG denominada como BW Dg, y DG rodeada por BW denominada como DG Bw; Figura 2.2.).

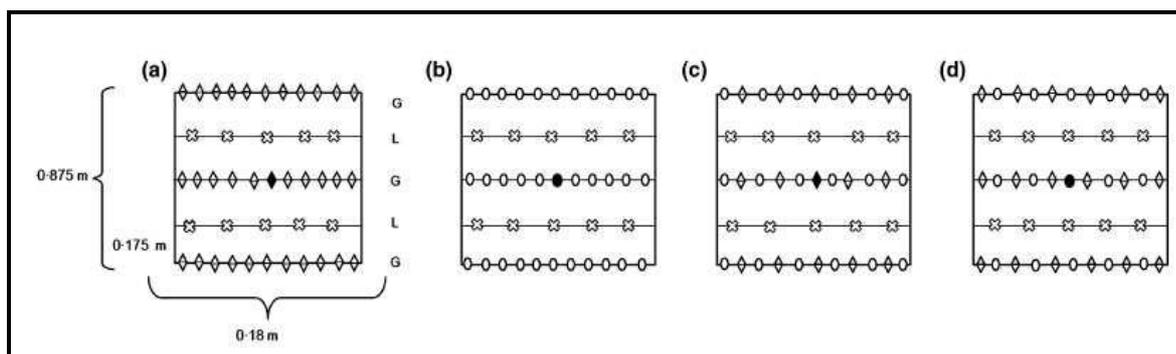


Figura 2.2. Diagrama del arreglo de siembra de los cuatro mini-canopeos: a) BW rodeado por BW (BW Bw), b) DG rodeada por DG (DG Dg), c) BW rodeada por DG (BW Dg) y d) DG rodeada por BW (DG Bw). Los símbolos oscuros identifican la planta objetivo: \blacklozenge BW y \bullet DG; \times TP; G línea de gramíneas y L línea de leguminosas.=TP

Después de la emergencia (20 de Junio, ~ 250 grados día centígrados desde la siembra), la densidad de plántulas fue reducida manualmente de manera de obtener aproximadamente 200 plántulas de gramíneas por m^2 , con 1,5 cm entre plantas. Esta distancia entre plántulas fue usada debido a que ese espaciamiento es el usualmente obtenido en pasturas en Argentina dos meses después de la siembra (Gatti et al. 2011). Los cuatro arreglos de siembra (combinación de dos especies objetivo \times dos especies vecinas) y los dos niveles de fertilización ($no=N^-$ / $si=N^+$) (la definición de planta objetivo se menciona más abajo en la sección titulada *Colección de datos*) constituyeron el arreglo factorial de $2 \times 2 \times 2$ en un diseño en bloques completos al azar con tres repeticiones. Los bloques controlaron dos fuentes de variación, posición topográfica y contenido inicial de fósforo (P) en el suelo. Debido a que las leguminosas tienen alta demanda de P, elevamos el contenido edáfico del mismo a 20 mg kg^{-1} , por lo que las

plantas fueron fertilizadas aplicando entre 42 y 68 kg P ha⁻¹ en los bloques con mayor y menor contenido inicial, respectivamente (Rubio et al. 2012).

El 19 de Julio, durante el invierno, 53 días luego de la siembra y 29 días después de la emergencia (dde), cada unidad experimental se fertilizó con urea con una dosis de 170 kg N ha⁻¹; dosis que usualmente permite una respuesta lineal en la mayor parte de las gramíneas C₃ en la Pampa Húmeda (Fernández Grecco et al. 1995). En ese momento, las plantas tenían uno a tres macollos y cinco a seis hojas en el macollo principal (ver las diferencias iniciales entre especies en la sección de Resultados); este tamaño corresponde al comienzo de la fase de establecimiento de las plantas (Ries y Svejcar 1991, Sanderson et al. 2002).

Colección de datos

Los datos fueron registrados después de la fertilización en la línea central de las gramíneas a fin de evitar el efecto de borde en la línea externa de las mismas, en la secuencia de las tres plantas centrales. La planta objetivo, en la cual se llevaron a cabo los registros, es aquella planta marcada y rodeada por dos gramíneas vecinas. No se esperó efecto de borde ejercido por las líneas de leguminosas debido a su muy lento crecimiento inicial y baja biomasa durante el periodo experimental con una baja temperatura media diaria de 11,77 ± 2,78 °C (Figura 2.1.). Las cohortes de macollos aparecidas fueron marcadas con anillos plásticos de colores y registradas semanalmente/quincenalmente (Matthew et al. 2000). La dinámica de hojas fue monitoreada semanalmente en tres de esas cohortes: el macollo principal y aquellos aparecidos 20 y 30 días después de la fertilización (macollos de 50-dde/20-ddf y 60-dde/30-ddf, respectivamente) debido a que el incremento en el número de células asociado a la mayor disponibilidad de nitrógeno (N), ocurre sólo durante un plazo corto

(Volontec y Nelson 1983, Gastal y Durand 2000). Los datos fueron registrados hasta el comienzo del periodo reproductivo de la gramínea anual (13 de Septiembre; 85 días desde la emergencia y 56 ddf), debido a que se considera que la competencia por recursos está directamente relacionada con el desarrollo vegetativo de las plantas (Lemaire y Millard 1999). Las variables bajo estudio fueron la longitud y la fecha de aparición de cada hoja (punta visible de la hoja), comienzo del envejecimiento (decrecimiento de la longitud verde de la lámina debido al proceso de senescencia) y muerte de cada hoja sucesiva (inicio de senescencia en la punta de la hoja). Las puntas de las nuevas hojas fueron cortadas a fin de identificar aquellas ya registradas (Duru y Ducrocq 2000 a,b). Entre ocho y cuatro intervalos de mediciones fueron estudiados para las hojas, de acuerdo a la edad del macollo.

Estimación de las variables morfogenéticas

La *tasa de aparición de hojas* (TAF= hojas macollo⁻¹ por día) se define como el número de hojas que aparecen por unidad de tiempo, fue calculada como la pendiente de la regresión lineal entre el número total de hojas aparecidas y el tiempo (Hume 1991a). El *filocrono* (grados días centígrados [GDC] por hoja), el tiempo térmico transcurrido hasta que la hoja aparece a través de la vaina de la hoja anterior, es usado para describir y comprender el desarrollo de los pastos (Wilhelm y McMaster 1995). Este parámetro fue calculado como la inversa de la pendiente de la regresión lineal entre el número de hojas y el tiempo térmico (Fustec et al. 2005), considerando una temperatura base de 4°C (Lemaire y Agnusdei 2000). La *longevidad de hojas* o *vida media foliar* (VMF = GDC hoja⁻¹) fue estimada como el tiempo térmico que transcurrió entre el comienzo de la emergencia de la lámina y el comienzo de su muerte. Debido a que varias hojas se expandieron simultáneamente dentro de cada macollo, la tasa de

elongación de láminas fue integrada en cada unidad de crecimiento. La *tasa de elongación foliar bruta* ($TEF_{bruta} = \text{mm macollo}^{-1}$ por día) y la *tasa de senescencia foliar* ($TSF = \text{mm macollo}^{-1}$ por día) por macollo fueron estimadas como el promedio diario de la suma de las diferencias positivas o negativas, respectivamente, de la longitud verde entre mediciones sucesivas. La *tasa de elongación foliar neta* ($TEF_{neta} = \text{mm macollo}^{-1}$ por día) fue calculada como la diferencia entre la TEF_{bruta} y la TSF ; las tasas fueron expresadas como los mm por macollo por día (Gastal et al. 1992, Mazzanti et al. 1994, Torres et al. 2000, Virkajärvi y Järvenranta 2001, Agnusdei et al. 2007, Berone et al. 2007 a,b, Berone et al. 2008). La *tasa de aparición de macollos* ($TAM = \text{macollos planta}^{-1}$ por día) fue calculada como la pendiente de la regresión lineal entre el número total de macollos y el tiempo (Hume 1991a). La *tasa relativa de aparición de macollos* ($TRM = \text{macollos macollo}^{-1}$ por día) fue estimada como la proporción entre la TAM promedio y el número de macollos en la fecha previa (Hirata y Pakiding 2002, Bultynck et al. 2004, Berone et al. 2008). La *tasa de llenado de sitios* ($L_s = \text{macollos hoja}^{-1}$) fue calculada como la pendiente de la regresión lineal entre el logaritmo del número de macollos y el número de hojas aparecidas en el macollo principal (Davies 1974, Neuteboom y Lantinga 1989, Bahmani et al. 2000); mide la tasa de desarrollo de yemas en macollos (Davies 1974). No ocurrió muerte de macollos durante el período experimental.

Análisis estadístico

Se realizaron análisis factoriales de varianza con un nivel de significación del 5% siguiendo un diseño en bloques completamente aleatorizado con tres factores: especies objetivo (dos niveles) \times especies vecinas (dos niveles) \times fertilización (dos niveles) ($n=3$; 24 mini-canopeos). La normalidad de los rasgos fue evaluada utilizando el test de

Shapiro-Wilk. Las diferencias entre cohortes de macollos fueron analizadas con un arreglo de parcela dividida (tres niveles). Como generalmente se presentaron interacciones que involucraron a las cohortes, el análisis se dividió para cada cohorte; se llevaron a cabo particiones por factor cuando subsistieron otras interacciones. Para realizar los análisis estadísticos se utilizó el paquete profesional de InfoStat version 1.1 (Di Rienzo et al. 2008)

2.3. RESULTADOS

Intercepción de la radiación fotosintéticamente activa (RFA) por los mini-canopeos

Al momento de la cosecha, la intercepción RFA fue significativamente afectada por la identidad del vecino (interacción especies \times vecino, $F= 8,14$; $P=0,0128$) y la fertilización nitrogenada ($F= 5,01$; $P=0,042$). La intercepción RFA de DG fue similar, independientemente de la identidad del vecino (92,8%) y de la fertilización. La intercepción RFA de BW fue un 9% mayor cuando estuvo rodeado por un vecino de la misma especie (92,7% cuando el vecino fue BW vs. 85,3% cuando el vecino fue DG) y un 7% mayor cuando fue fertilizado (85,7% N^- vs. 92,2% N^+)

Número de hojas en el macollo principal y número de macollos por planta al momento de la fertilización

Al momento de la fertilización, 53 días luego de la siembra y 29 días después de la emergencia (dde), BW tuvo un 81% más de macollos que la especie DG (BW: 3,17 vs. DG: 1,75; $F= 21,15$; $P=0,0002$) y 21% más hojas en el macollo principal (BW: 6,25 vs. DG: 5,17; $F= 14,21$; $P=0,0014$) (datos no mostrados). No existió un efecto significativo de la identidad del vecino en el número de hojas o de macollos por planta ($P =0,39$ y $P =0,79$, respectivamente).

VARIABLES MORFOGENÉTICAS

Filocrono y tasa de aparición de hojas

Durante el período post-fertilización, el macollo principal de las plantas objetivo de ambas gramíneas presentaron *filocronos* cortos y similares (56,9 y 60,5 GDC hoja⁻¹, respectivamente) ($P = 0,29$; Cuadro 2.1.; Figura 2.3a). El *filocrono* del macollo principal no fue afectado por la fertilización ($P = 0,77$), pero se incrementó como consecuencia de la vecindad de BW (62,5 y 54,9 GDC hoja⁻¹ cuando el vecino fue BW y DG, respectivamente; $F = 5,52$; $P = 0,03$). Las sucesivas cohortes de macollos presentaron un incremento en los *filocronos*; esta tendencia fue más marcada en *D. glomerata* (desde 56,9 hasta 108,9 GDC por hoja) respecto de *B. willdenowii* (desde 60,5 hasta 86,2 GDC por hoja). No existió efecto del vecino en el macollo de 60-dde/30-ddf ($P = 0,84$). La fertilización nitrogenada no afectó el *filocrono* ($P \geq 0,50$).

La *tasa de aparición foliar* (TAF) fue similar entre ambas especies ($P = 0,30$), no fue afectada por el agregado de nitrógeno ($P > 0,77$) y fue mayor cuando el vecino fue *D. glomerata* respecto de cuando fue BW. Nuevamente, el efecto del vecino fue registrado en los macollos más viejos, pero no en la cohorte 60-dde/30-ddf. Cada día, 0,14 hojas aparecieron en el macollo principal cuando el vecino fue DG y 0,13 cuando el vecino fue BW, y 0,18 y 0,15 hojas por día respectivamente en el macollo de 50-dde/20-ddf ($F = 4,97$; $P = 0,04$ y $F = 9,18$; $P = 0,009$, respectivamente; Cuadro 2.1.; Figura 2.3b). La TAF no disminuyó en el macollo más joven, en contraste con el incremento en el *filocrono* informado anteriormente ($P > 0,55$; Cuadro 2.1.; Figura 2.3a).

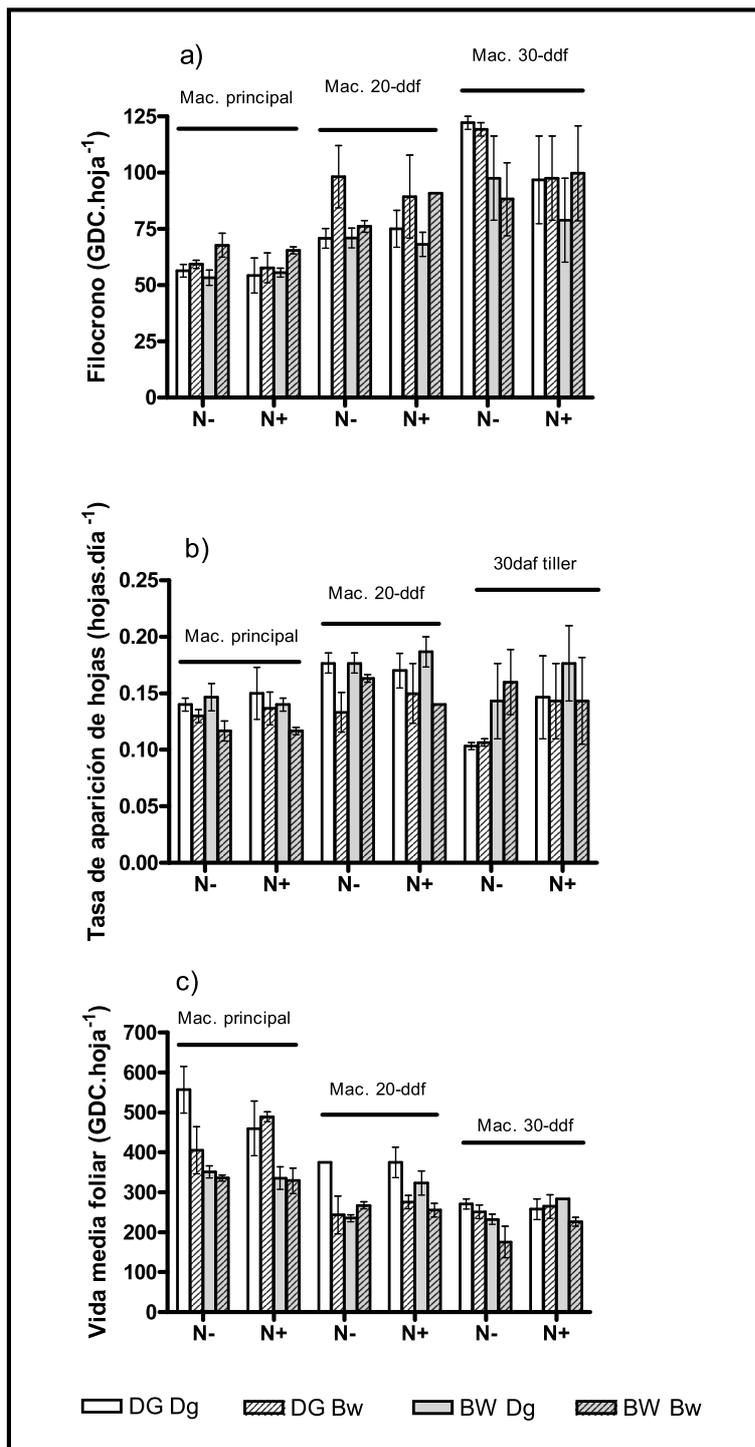


Figura 2.3. a) Filocrono (GDC. hoja⁻¹), b) tasa de aparición de hojas (TAF= hojas. día⁻¹) y c) longevidad o vida media foliar (VMF= GDC.hoja⁻¹) evaluadas en cuatro situaciones diferentes de competencia intra- e interespecífica de la gramínea perenne *Dactylis glomerata* (DG) y la anual *Bromus willdenowii* (BW) en los tratamientos no fertilizados (N⁻) y fertilizados (N⁺). Los datos corresponden a valores medios \pm error estándar de las tres cohortes de macollos (mac=macollo; macollo principal y aquellos marcados aparecidos 20 y 30 días después de la fertilización= ddf). La primera abreviatura: nombre de la especie objetivo; la segunda abreviatura: nombre de la especie vecina (por ejemplo: DG Dg). GDC=grados día centígrados.

Cuadro 2.1. Resultados del análisis de la varianza comparando el efecto de las especies (dos niveles: *Dactylis glomerata* [DG] y *Bromus willdenowii* [BW]), los vecinos (dos niveles: DG y BW), la fertilización invernal (dos niveles: sin=N⁻ y con=N⁺) y sus interacciones, sobre las variables morfológicas a escala de hojas (n=3). Los resultados presentados son los valores medios y los valores P: ** P< 0,01; * P< 0,05 y ns = efecto no significativo. GDC=grados día centígrados.

Variables	Unidad de crecimiento (cohorte de macollo)	Efecto de las especies		Efecto de los vecinos		Efecto de fertilización		Interacciones	Referencias
		Valores y P		Valores y P		Valores y P		Tipo y P	
Filocrono (GDC.hoja ⁻¹)	Macollo principal	DG= 56,9	ns	DG= 54,9	*	N ⁻ = 59,2	ns	ns	Fig. 2.3a
		BW= 60,5		BW= 62,5		N ⁺ = 58,2			
	Macollo 20-ddf	DG= 83,3	ns	DG= 71,2	*	N ⁻ = 79,0	ns	ns	
		BW= 76,5		BW= 88,6		N ⁺ = 80,8			
	Macollo 30-ddf	DG= 108,9	ns	DG= 98,8	ns	N ⁻ = 101,9	ns	ns	
		BW= 86,2		BW= 96,2		N ⁺ = 93,2			
TAF (hojas.macollo ⁻¹ .día ⁻¹)	Macollo principal	DG= 0,14	ns	DG= 0,14	*	N ⁻ = 0,13	ns	ns	Fig. 2.3b
		BW= 0,13		BW= 0,13		N ⁺ = 0,14			
	Macollo 20-ddf	DG= 0,16	ns	DG= 0,18	**	N ⁻ = 0,16	ns	ns	
		BW= 0,17		BW= 0,15		N ⁺ = 0,16			
	Macollo 30-ddf	DG= 0,13	ns	DG= 0,14	ns	N ⁻ = 0,15	ns	ns	
		BW= 0,18		BW= 0,16		N ⁺ = 0,15			
VMF (GDC.hoja ⁻¹)	Macollo principal	DG= 477,7	**	DG= 425,7	ns	N ⁻ = 412,2	ns	ns	Fig. 2.3c
		BW= 337,7		BW= 389,8		N ⁺ = 403,3			
	Macollo 20-ddf	DG= 316,8	*	DG= 326,9	**	N ⁻ = 279,8	ns	sp*vec *	
		BW= 270,2		BW= 260,0		N ⁺ = 307,2			
	Macollo 30-ddf	DG= 260,8	*	DG= 260,8	*	N ⁻ = 232,1	ns	ns	
		BW= 229,0		BW= 229,0		N ⁺ = 257,7			

Longevidad de láminas o vida media foliar

La *vida media foliar* (VMF) de *D. glomerata* fue mayor que la de la especie anual BW (macollo principal: DG: 477,7 vs. BW: 337,7 GDC por hoja; $F= 20,92$; $P=0,0004$) y decreció en los macollos más jóvenes en comparación al macollo principal. La fertilización no mostró efectos significativos ($P=0,77$). El macollo de 50-dde/20-ddf presentó una interacción entre los factores especies \times vecinos ($F= 6,34$; $P=0,025$; Cuadro 2.1.); la VMF de *D. glomerata* fue un 31% menor cuando las plantas estuvieron rodeadas por vecinos BW respecto de vecinos *D. glomerata* ($F= 10,27$; $P=0,018$), mientras que BW no fue significativamente afectada por la identidad de los vecinos ($P=0,39$). La VMF del macollo de 60-dde/30-ddf de ambas especies decreció un 12% cuando el vecino fue BW ($F= 4,70$; $P=0,047$; Figura 2.3c).

Tasa de elongación foliar por macollo

En todas las cohortes de macollos, la *tasa de elongación foliar bruta* a escala de macollo, TEF_{bruta} (el incremento diario en la longitud total de todas las hojas en crecimiento por macollo) de BW fue entre un 70-72% mayor que aquella de *D. glomerata* ($F>19,02$; $P\leq 0,0007$). La fertilización incrementó la TEF_{bruta} un 32% en el macollo principal y en el macollo de 50-dde/20-ddf ($F>9,93$; $P\leq 0,0071$), pero no en el macollo más joven ($P=0,79$). La identidad de las plantas vecinas no afectó la TEF_{bruta} en ninguna de las cohortes de macollos evaluadas ($P>0,85$; Cuadro 2.2.; Figura 2.4a).

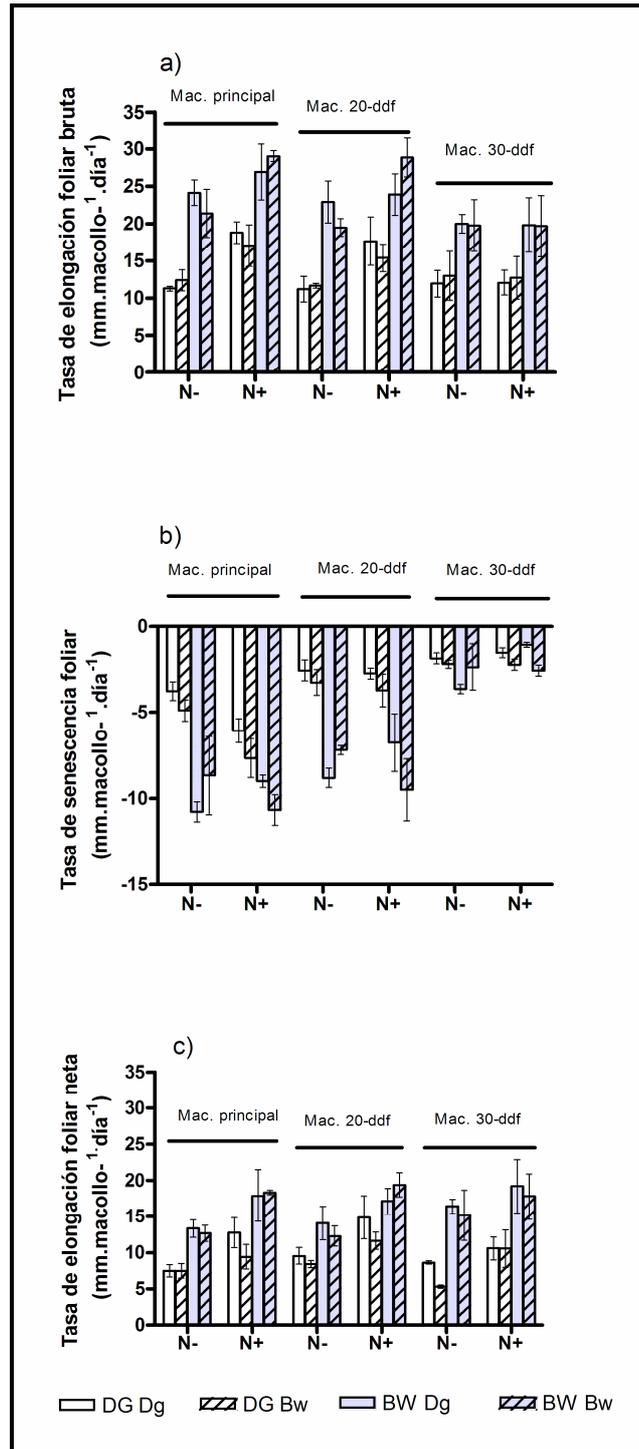


Figura 2.4. a) Tasa de elongación foliar bruta (TEF_{bruta}), b) tasa de senescencia foliar (TSF) y c) tasa de elongación foliar neta (TEF_{net}) por macollo (mm.macollo⁻¹.día⁻¹) evaluadas en cuatro situaciones diferentes de competencia intra- e interespecífica de la gramínea perenne *Dactylis glomerata* (DG) y la anual *Bromus willdenowii* (BW) en los tratamientos no fertilizados (N⁻) y fertilizados (N⁺). Los datos corresponden a valores medios \pm error estándar de las tres cohortes de macollos (mac=macollo; macollo principal y aquellos marcados aparecidos 20 y 30 días después de la fertilización= ddf). La primera abreviatura: nombre de la especie objetivo; la segunda abreviatura: nombre de la especie vecina (por ejemplo: DG Dg).

Cuadro 2.2. Resultados del análisis de la varianza comparando el efecto de las especies (dos niveles: *Dactylis glomerata* [DG] y *Bromus willdenowii* [BW]), los vecinos (dos niveles: DG y BW), la fertilización invernal (dos niveles: sin=N⁻ y con=N⁺) y sus interacciones, sobre las variables morfológicas a escala macollo y planta (n=3). Los resultados presentados son los valores medios y los valores P: ** P< 0,01; * P< 0,05 y ns = efecto no significativo.

Variables	Unidad de crecimiento (cohorte de macollos; planta)	Efecto de las especies		Efecto de los vecinos		Efecto de fertilización		Interacción	Referencias
		Valores y P		Valores y P		Valores y P		Tipo y P	
TEF_{bruta} (mm hoja.macollo ⁻¹ .día ⁻¹)	Macollo principal	DG= 14,9	**	DG= 20,3	ns	N ⁻ = 17,3	**	ns	Fig. 2.4a
		BW= 25,4		BW= 19,9		N ⁺ = 22,9			
	Macollo 20-ddf	DG= 13,9	**	DG= 18,9	ns	N ⁻ = 16,3	**	ns	
		BW= 23,8		BW= 18,8		N ⁺ = 21,5			
	Macollo 30-ddf	DG= 11,6	**	DG= 15,9	ns	N ⁻ = 15,6	ns	ns	
		BW= 19,9		BW= 15,7		N ⁺ = 16,7			
TSF (mm hoja.macollo ⁻¹ .día ⁻¹)	Macollo principal	DG= -5,6	**	DG= -7,4	ns	N ⁻ = -8,3	ns	ns	Fig. 2.4b
		BW= -9,8		BW= -7,9		N ⁺ = -7,0			
	Macollo 20-ddf	DG= -3,1	**	DG= -5,2	ns	N ⁻ = -5,5	ns	ns	
		BW= -8,1		BW= -5,9		N ⁺ = -5,7			
	Macollo 30-ddf	DG= -1,9	ns	DG= -2,0	ns	N ⁻ = -2,5	ns	ns	
		BW= -2,4		BW= -2,3		N ⁺ = -1,8			
TEF_{neta} (mm hoja.macollo ⁻¹ .día ⁻¹)	Macollo principal	DG= 9,3	**	DG= 12,9	ns	N ⁻ = 10,2	**	ns	Fig. 2.4c
		BW= 15,6		BW= 11,9		N ⁺ = 14,6			
	Macollo 20-ddf	DG= 9,6	**	DG= 12,4	ns	N ⁻ = 11,0	*	ns	
		BW= 15,7		BW= 12,9		N ⁺ = 14,2			
	Macollo 30-ddf	DG= 8,8	**	DG= 13,7	ns	N ⁻ = 11,3	ns	ns	
		BW= 17,1		BW= 12,1		N ⁺ = 14,5			
TAM (macollos.planta ⁻¹ .día ⁻¹)	Planta	DG= 0,24	ns	DG= 0,27	*	N ⁻ = 0,23	ns	ns	Fig. 2.5a
		BW= 0,21		BW= 0,17		N ⁺ = 0,21			
TRM (macollos.macollo ⁻¹ .día ⁻¹)	Planta	DG= 0,033	**	DG= 0,032	**	N ⁻ = 0,030	ns	ns	Fig. 2.5b
		BW= 0,026		BW= 0,027		N ⁺ = 0,029			
LI_s (macollos.hoja ⁻¹)	Planta	DG= 0,28	**	DG= 0,26	ns	N ⁻ = 0,25	ns	ns	Fig. 2.5c
		BW= 0,20		BW= 0,21		N ⁺ = 0,22			

La *tasa de senescencia foliar* (TSF) fue menor que la TEF_{bruta} y mayor en BW que en *D. glomerata* ($F>34,63$; $P<0,0001$). Además, BW presentó una tendencia creciente entre el 75 y el 162% en el macollo principal y el macollo 50-dde/20-ddf, respectivamente. La TSF no presentó efectos significativos asociados a la fertilización ($P>0,08$) o a la identidad de los vecinos en ninguna cohorte de macollos ($P>0,45$; Cuadro 2.2.; Figura 2.4b). Como consecuencia, la TEF_{neta} fue mayor en BW que en DG ($F>20,95$; $P<0,0004$), incrementándose desde el macollo más viejo al más joven (68 hasta 95%), y $\approx 35\%$ en los tratamientos fertilizados ($F<11,36$; $P>0,004$). Esta respuesta al nitrógeno fue significativa en el macollo principal ($F=23,51$; $P=0,0003$) y en la cohorte de 50-dde/20-ddf ($F=5,65$; $P=0,032$) pero no en el macollo de 60-dde/30-ddf ($P=0,10$; Cuadro 2.2.; Figura 2.4c).

Tasa de aparición de macollos

La *tasa de aparición de macollos* (TAM) fue similar en ambas especies ($P=0,36$), pero fue un 59% superior con vecinos *D. glomerata* que con vecinos BW (0,27 y 0,17 macollos planta⁻¹ por día, respectivamente) ($F=7,5$; $P<0,01$; Cuadro 2.2.; Figura 2.5a). La *tasa de aparición relativa de macollos* (TRM= macollos macollo⁻¹ .día⁻¹) fue mayor en *D. glomerata* que en BW ($F=16,9$; $P=0,0016$) y mayor en la vecindad de *D. glomerata* ($F=10,18$; $P=0,006$) respecto de la vecindad de BW (Cuadro 2.2.; Figura 2.5b). Mientras que la TAM presentó efectos asociados a la identidad del vecino y la TRM mostró efectos de las especies y de los vecinos, la *tasa de llenado de sitios* (Ll_s) presentó diferencias significativas sólo entre especies ($F=9,31$; $P=0,008$). Ll_s fue un 40% mayor en *D. glomerata* que en BW (DG: 0,28 vs. BW: 0,20 macollos por hoja) (Cuadro 2.2; Figura 2.5c). La fertilización no afectó significativamente la TAM, la TRM o la Ll_s ($P>0,25$; Cuadro 2.2.; Figura 2.5).

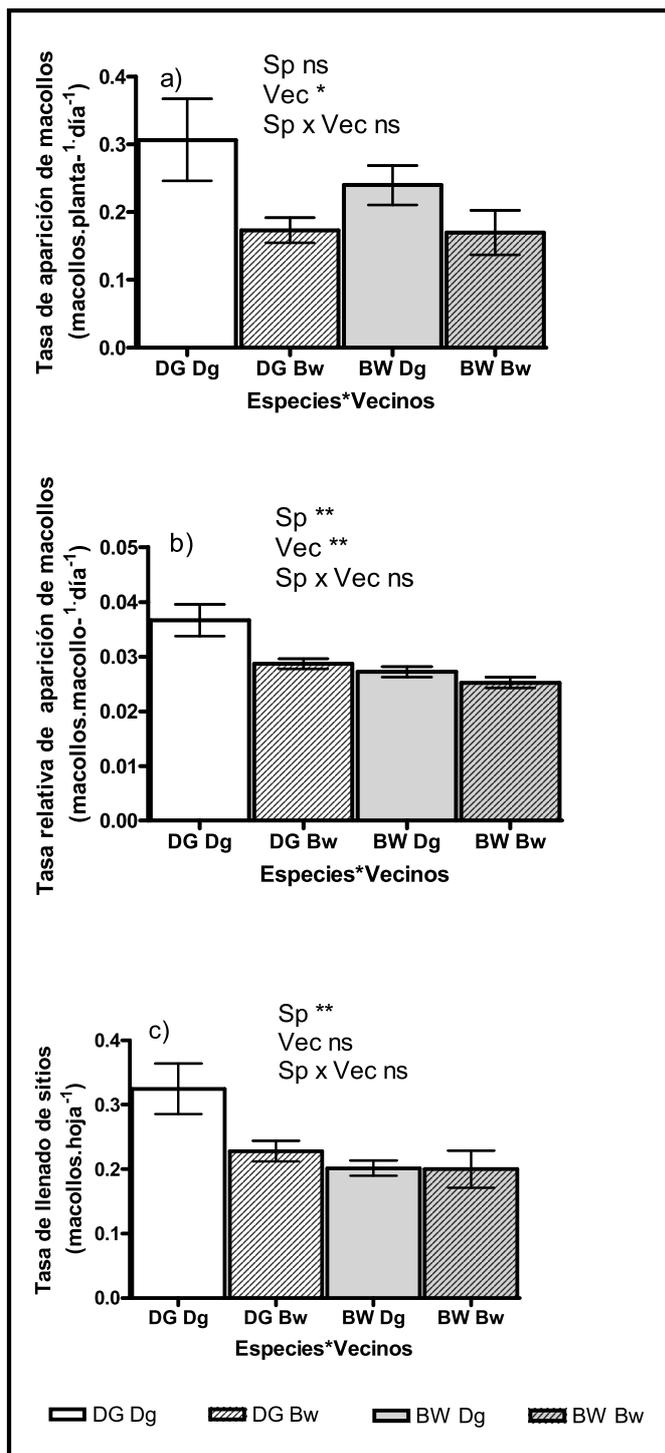


Figura 2.5. a) Tasa de aparición de macollos (TAM= macollos.planta⁻¹.día⁻¹), b) tasa relativa de aparición de macollos (TRM= macollos.macollo⁻¹.día⁻¹) y c) tasa de llenado de sitios (LLs= macollos.hoja⁻¹) comparando sólo el efecto de las cuatro situaciones diferentes de competencia intra- e interespecífica de la gramínea perenne *Dactylis glomerata* (DG) y la anual *Bromus willdenowii* (BW). El efecto de la fertilización nitrogenada fue $\geq 0,05$ (Ver Cuadro 2.2. para un mayor grado de detalles). Los datos corresponden a valores medios \pm error standard. La primera abreviatura: nombre de la especie objetivo; la segunda abreviatura: nombre de la especie vecina (por ejemplo: DG Dg).

2.4. DISCUSIÓN

Efecto de las especies sobre las variables morfológicas en el macollo principal

Se encontraron diferencias morfológicas relacionadas con características de crecimiento diferenciales de las especies. La especie perenne *D. glomerata* tuvo menor *tasa de elongación foliar* (TEF_{bruta} y TEF_{neta} = Figuras 2.4a y c) y mayor *vida media foliar* (VMF= Figura 2.3c) respecto de la especie anual BW. Sin embargo, las dos especies presentaron similar *tasa de aparición foliar* (TAF= Figura 2.3b) e, inesperadamente, similar *tasa de aparición de macollos* (TAM= Figura 2.5a).

En este estudio, que involucra la fase de establecimiento de la pastura, la TAF de las plantas jóvenes (Figura 2.3b) de ambas especies fue más rápida que aquellas previamente registradas en plantas adultas (*filocronos* de ≈ 60 GDC por hoja en este experimento vs. 91 y hasta 204 GDC por hoja; por ejemplo, Hume 1991a, Calviere y Duru 1995, Duru y Ducrocq 2000a, Rawnsley et al. 2002). Este patrón es compatible con una ocupación rápida del espacio vertical y horizontal por parte de las plantas jóvenes, lo que permite una mayor intercepción de luz (Hume 1991a).

La ocupación vertical del espacio está relacionada con dos mecanismos morfológicos: la TAF y la TEF. Puesto que tanto el *filocrono* (Figura 2.3a) como la TAF (Figura 2.3b) fueron similares en ambas especies, sólo la mayor TEF_{neta} le permitió a la especie anual una mejor ocupación del espacio y una más eficiente captura de luz, afectando probablemente el perfil vertical de luz en comparación con la especie perenne *D. glomerata*.

La colonización horizontal del espacio está generalmente asociada al proceso de macollaje (Lemaire y Millard 1999). Similares *filocronos* y TAF impusieron el mismo límite superior al macollaje a ambas especies (Davies 1974, Bahmani et al. 2000, Matthew et al. 2000, Nelson 2000). Sin embargo, el macollaje no sólo depende de la

TAF sino también de la *tasa de llenado de sitios* ($L_s = \text{macollos hoja}^{-1}$; Figura 2.5c) (Davies 1974, Gautier et al. 1999, Bahmani et al. 2000). La mayor L_s de la especie perenne reflejó un incremento significativo en la TRM (Figura 2.5b) pero, inesperadamente, no se incrementó significativamente la TAM (Figura 2.5a) o la densidad final de macollos (Ver Capítulo 3). Este patrón pudo estar asociado al hecho que BW compensó su menor L_s con un más rápido desarrollo del área foliar, que condujo a una mayor densidad inicial de macollos 29 días después de la emergencia de las plantas (momento de la fertilización) con un 81% más de macollos en BW. Este patrón condujo a una similar ocupación horizontal del espacio (similar densidad final de macollos; Capítulo 3) pero con diferencias en la dinámica del macollaje entre ambas especies (mecanismo morfogenético de control de la densidad de macollos; sin embargo ver el mecanismo estructural alternativo en Capítulo 3). Estos hallazgos acuerdan con lo reportado por Gautier et al. (1999), quienes encontraron que poblaciones de hojas largas de *Lolium perenne* L. produjeron su primer macollo en una etapa de desarrollo anterior a las poblaciones de hojas cortas. La especie anual, entonces, tuvo una mejor ocupación vertical (mayor TEF) y una más rápida colonización horizontal del espacio respecto de la especie perenne *D. glomerata*.

Diversos compromisos fueron detectados entre rasgos morfogenéticos. Las diferencias interespecíficas entre las variables morfogénicas TEF_{bruta} y TEF_{neta} (Figuras 2.4a y 2.4c) y VMF (Figura 2.3c) fueron las principales determinantes de la mayor L_s de la especie perenne en comparación con la anual. En el presente estudio se encontró una relación negativa entre TEF y el L_s también hallada por Berone et al. (2007 a). DG presentó menor TEF_{neta} y mayor L_s que BW (Figuras 2.4c y 2.5c), que confirma hallazgos anteriores (Hume 1991a, Bahmani et al. 2000, Nelson 2000). Esta relación negativa TEF- L_s pudo deberse a la correlación negativa entre el crecimiento de la

lámina y del macollo y/o a un efecto sobre la iniciación del macollo y por lo tanto, sobre la Lls, mediado por la luz. Ambas correlaciones pueden reflejar la existencia de competencia por el carbono (C) disponible, entre macollos hijos y los meristemas intercalares de la lámina (Bahmani et al. 2000). También encontramos una relación positiva entre VMF y el Lls; ambos fueron mayores en la especie perenne respecto de la anual (Figuras 2.3c y 2.5c). Este patrón está probablemente mediado por una correlación negativa entre ambas variables con la TEF y también puede estar relacionada con a) un solapamiento entre los períodos de producción y pérdida de tejidos de lámina y con una reducción en la tasa de fijación de CO₂, y b) un incremento en el tiempo de residencia de los nutrientes y persistencia del área foliar en la planta (Chabot y Hicks 1982, Aerts 1999, Reich et al. 1999, Mediavilla y Escudero 2003, Navas et al. 2003) en la especie perenne en comparación con la anual. Por lo tanto, la especie perenne *D. glomerata*, con mayor VMF que la anual BW, tendrá menos C disponible y mayor prioridad potencial de partición de ese C de satisfacer la demanda de yemas axilares (mayor Lls), pero menor para crecimiento del macollo, esto es menor TEF. Estos patrones acuerdan con lo encontrado en diferentes especies de *Lolium*. La especie perenne *L. perenne* tuvo una prioridad de partición del C a macollos hijos durante el crecimiento vegetativo (Robson et al. 1988), mientras que la anual *Lolium temulentum* presentó una actividad meristemática concentrada en el meristema apical (Ryle 1970). En este experimento, existió una relación genotípica negativa entre la TEF y la Lls y entre la VMF y la TEF, y una relación positiva entre la VMF y la Lls, durante las etapa de establecimiento temprano y tardío del canopeo.

Efecto de los vecinos sobre las variables morfogenéticas en el macollo principal

Los rasgos específicos de cada vecino y no sólo la *biomasa de las plantas* vecinas, determinan el desempeño o performance de la planta objetivo debido a que diferentes vecinos implican series de diferentes rasgos y habilidades competitivas (Tremmel y Bazzaz 1993). Cuando los vecinos fueron de BW tuvieron mayores TEF_{bruta} y TEF_{neta} (Figuras 2.4a y 2.4c) y, por lo tanto, mayor tamaño de macollos (Capítulo 3), los cuales indujeron cambios en las variables morfogenéticas como la TAF, la TAM y la TRM de ambas especies.

Estudios previos han mostrado que los vecinos anuales afectan la ontogenia, la morfología y la ocupación vertical del espacio de las plantas objetivo debido a un incremento en el *filocrono* (Bos y Neuteboom 1998, Gautier et al. 1999, Lemaire y Millard 1999, Nelson 2000) (Figura 2.3a) y un decrecimiento en la TAF (Figura 2.3b), probablemente debido a cambios en la luz (Gautier et al. 1999, Bahmani et al. 2000, Lemaire 2001). La TAF juega un rol estratégico (Lemaire 2001) debido a que es la variable clave en la morfogénesis, teniendo influencia directa en los otros componentes de la planta y de la estructura del canopeo (Lemaire y Agnusdei 2000). Debido a que la TAF controla la producción de yemas axilares (Davies 1974, Bahmani et al. 2000, Matthew et al. 2000, Nelson 2000), un vecino BW produjo una menor cantidad de sitios para el macollaje y por lo tanto, el decrecimiento de la TAM (Figura 2.5a) (probablemente también asociado a los bajos LIs $<0,26$, Capítulo 5), de la TRM (Figura 2.5b) y la densidad final de macollos (Ver Capítulo 3). Este decrecimiento de la TAF es el mecanismo morfogenético de control de la densidad de macollos; sin embargo ver el mecanismo estructural simultáneo en Capítulo 3.

A pesar del efecto sobre la luz, la identidad del vecino no afectó la TEF_{bruta} ni TEF_{neta} (Figuras 2.4a y 2.4c) de las plantas objetivo. Entonces existiría una mayor

sensibilidad de la TAF en respuesta a cambios en la luz, siendo la TEF menos sensible a la misma. Estos resultados son opuestos a los hallados por Nelson (2000) que consideran a la TAF una respuesta menos plástica que la TEF o el macollaje. Esta falta de respuesta en la TEF_{bruta} o TEF_{neta} tendría dos posibles explicaciones relacionadas con la competencia por luz y/o con la edad de las plantas. La primera explicación es que durante los primeros 85 días de emergidas las plantas no detectaron señales anticipatorias de competencia cuando la intercepción del canopeo fue $\leq 93\%$. El segundo mecanismo que podría explicar la carencia del efecto del vecino sobre el crecimiento de la lámina está relacionado con la edad de las plantas. La edad y/o la etapa fenológica puede modificar la expresión de la respuesta de evasión al sombreado, que generalmente implica una respuesta combinada: mejora en el crecimiento de la hoja y supresión del desarrollo de macollos (Mónaco y Briske 2000). Plantas jóvenes de rápido crecimiento de *Schizachyrium scoparium* (≈ 60 días de vida) mejoraron el crecimiento de sus hojas en respuesta a una baja relación rojo:rojo lejano pero no suprimieron la iniciación de macollos, mientras que plantas de mayor edad (≈ 120 días de vida) suprimieron la iniciación de macollos pero no mejoraron el crecimiento de sus láminas. Nuestros resultados en plantas C_3 de edad intermedia (85 días de vida) acuerdan con lo hallado en plantas de mayor edad.

Por lo tanto, durante el establecimiento de la pastura, la TAF, la TAM y la TRM controlaron la dinámica de hojas y de macollos y la colonización vertical y horizontal del espacio, por medio de un efecto mediado por la luz ejercido por vecinos anuales de arquitectura más alta y erectófila. Sin embargo, los vecinos anuales no modificaron la TEF_{bruta} o TEF_{neta} (Figuras 2.3a y 2.3c) o la *tasa de llenado de sitios* –Lls- de las especies (Figura 2.4c), probablemente porque durante el período experimental no se

podieron cumplir todas las etapas en el proceso de competencia por luz y/o la edad de las plantas pudo haber cambiado las respuestas de las plantas al sombreado.

Efecto de la fertilización sobre las variables morfogénicas en el macollo principal

De acuerdo a lo esperado, la fertilización nitrogenada incrementó tanto la TEF_{bruta} como la TEF_{neta} (Figuras 2.4a y 2.4c) en el macollo principal aunque no afectó la TAF (Figura 2.3b), la TAM (Figura 2.5a), la tasa de senescencia de hoja (TSF = Figura 2.4b) o la VMF (Figura 2.3c). El efecto de la fertilización pudo haber resultado en un incremento inmediato en el número de células de los macollos presentes al momento de la fertilización; esto es, en los macollos más viejos (Volontec y Nelson 1983, Gastal y Durand 2000), sin efectos residuales en las cohortes más jóvenes. La carencia de respuesta a la fertilización de la TAF acuerda con lo reportado por Cruz y Boval (2000), pero no con los resultados obtenidos por Lattanzi et al. (1996) en la especie anual *Lolium multiflorum* cv. Grasslands Tama, quienes encontraron que el filocrono decreció con la adición de nitrógeno.

Cambios en los efectos de las especies, la identidad de los vecinos y la fertilización nitrogenada entre cohortes de macollos

Todas las variables morfogénicas a escala de hoja difirieron entre las tres cohortes de macollos evaluadas. El *filocrono* (Figura 2.3a) se incrementó con la aparición de las sucesivas cohortes de macollos debido a la expansión del área foliar y al cierre del canopeo, especialmente en el caso de plantas vecinas anuales (Cuadro 2.1). Hume (1991a) también encontró *filocronos* mayores en los macollos más jóvenes de BW cuando hubo alta disponibilidad de biomasa. A pesar del incremento del *filocrono* en los macollos más jóvenes, la falta de cambio en la TAF pudo ser debida a un

incremento en las temperaturas del aire después de la fertilización. La temperatura media del aire se incrementó desde 12,5 a 12,9 °C en el periodo bajo estudio (Figura 2.1; Figura 2.3b). Los cambios en la longitud del día no pudieron haber afectado los rasgos morfogenéticos debido a que sólo hubo una hora de diferencia entre las fechas de aparición de las tres cohortes de macollos evaluadas (entre el 19 de Julio [9,66 hs día⁻¹] y el 23 de Agosto [10,68 hs día⁻¹]. Sato (1980) encontró hojas de mayor longitud pero menor densidad de macollos por planta cuando la longitud del día fue de 14 hs día⁻¹ en comparación con 9 hs día⁻¹ (Figuras 2.3a y 2.3c).

A pesar del incremento en el filocrono, la VMF decreció desde los macollos más viejos a los más jóvenes (Figura 2.3c), esta respuesta es opuesta a la relación positiva entre el *filocrono* y la VMF propuesta por Duru y Ducrocq (2000a). La relación inversa entre el *filocrono* y la VMF pudo deberse a un retraso ontogénico y a una senescencia temprana de hojas en los macollos más jóvenes, sometidos a señales lumínicas más limitantes. El momento de la senescencia es acelerado debido a un decrecimiento en la relación rojo: rojo lejano (Rousseaux et al. 2000, Wingler et al. 2006), lo que representa un sistema temprano de alarma (Ballaré et al. 1987, 1990) conducido por los vecinos anuales inicialmente sobre las plantas de DG (Figura 2.3c, Cuadro 2.1). Estos cambios ocurren bastante antes del decrecimiento en la intercepción RFA del canopeo y de que la competencia intensa por luz dé comienzo (Casal et al. 1986, Ballaré et al. 1987, Gautier et al. 1999). A pesar de que la intercepción RFA del canopeo fue de alrededor del 93% de la radiación incidente, el crecimiento de los macollos más jóvenes (macollos subordinados) ocurrió bajo la percepción de un gran decrecimiento en la calidad de luz debido a su ubicación basal, como lo demuestra su menor VMF. Ese acortamiento en la longevidad de las láminas pudo deberse al compromiso entre particionar nitrógeno a fin de mantener la actividad fotosintética de las hojas existentes o construir nuevas hojas

localizadas en estratos mejor iluminados de manera de optimizar la capacidad fotosintética y el balance de carbono de toda la planta (Chabot y Hicks 1982, Gastal y Lemaire 2002, Wingler et al. 2006). En el mismo sentido, el efecto del nitrógeno sobre la TEF_{bruta} y TEF_{neta} (Figuras 2.4a y 2.4c) fue sólo evidente en los macollos más viejos, macollo principal y en la cohorte de 50-dde/20-ddf. El nitrógeno adicionado debió haber sido incorporado a los tejidos mejor iluminados de la planta, no estando disponible para la cohorte de 60-dde/30-ddf. Ambos cambios en los patrones de partición, con la edad del macollo, corresponden a un cambio en la estrategia de crecimiento de una predominantemente horizontal a una más vertical (Lemaire y Millard 1999). Esto también coincide con la falta de incremento en la TAM por efecto del N (Figura 2.5.a)

2.5. CONCLUSIONES

Las plantas vecinas anuales con mayor TEF, causaron un retraso en la TAF de los macollos más viejos de las plantas objetivo. Este retraso limitó el número potencial de macollos y la TAM de las plantas, asociados a la luz percibida en la base del canopeo. También, disminuyeron la VMF de los macollos más jóvenes que crecían bajo calidades de luz reducidas debido a su posición basal. El nitrógeno afectó positivamente la TEF aunque este efecto fue sólo evidente en aquellos macollos de ambas especies que estaban creciendo activamente al momento de la fertilización.

Este daño temprano e irreversible impuesto por los vecinos anuales sobre la TAF y la TAM, ambos asociados a la dinámica de hojas y macollos, limitó la ocupación horizontal y vertical durante la etapa crítica del establecimiento. La persistencia de la gramínea perenne C_3 es de mayor importancia en comparación con la anual C_3 debido a que puede afectar severamente la estabilidad productiva de la pastura. La especie anual

puede persistir en la pastura por re-establecimiento a partir de semillas; en los años siguientes este proceso puede ser afectado por las prácticas de defoliación.

El acortamiento de la longevidad de las láminas (reducción de la VMF) en las cohortes más jóvenes de macollos inducido por los vecinos anuales y el incremento en la TEF, evidente sólo en los macollos más viejos presentes alrededor del momento de la fertilización, fueron dos mecanismos asociados con la optimización del uso del nitrógeno y del balance del carbono en la planta, y con un cambio hacia una estrategia de crecimiento más vertical, usualmente registrada bajo condiciones de restricción lumínica.

Este trabajo ha permitido clarificar algunos mecanismos morfogénéticos involucrados en las interacciones competitivas tempranas entre gramíneas anuales y perennes en pasturas templadas.

Mecanismos estructurales de regulación de la competencia entre dos gramíneas C₃: influencia de los vecinos y del nitrógeno

Gatti M.L., Ayala Torales A.T., Cipriotti P.A. and Golluscio R.A. (2015) Dynamics of structural traits in two competing C₃ grass species: influence of neighbours and nitrogen. *Grass and Forage Science*, 70 (1), 102-115. doi: 10.1111/gfs.12099.

3.1. INTRODUCCIÓN

La optimización de la composición florística demanda la comprensión de los mecanismos regulatorios del crecimiento y de la competencia entre especies coexistentes. La variabilidad interespecífica en los rasgos morfogenéticos (Capítulo 2) son los componentes principales de los rasgos estructurales, tamaño del macollo (Virkajärvi y Järvenranta 2001) y densidad de macollos (Sugiyama 1995), y juegan un rol importante en la determinación de la habilidad competitiva de las especies dentro de una comunidad (Lemaire y Millard 1999). El tamaño de macollo es proporcional al tamaño final de láminas, número de hojas vivas por macollo (NHv) y tamaño del pseudotallo (Hume 1991a, Lemaire y Chapman 1996, Lemaire y Agnusdei 2000, Virkajärvi y Järvenranta 2001, Berone y Dreher 2007, Berone et al. 2007a,b). La densidad de macollos depende de la tasa de aparición foliar (TAF), la que determina la máxima tasa de aparición de macollos, pero también de la tasa de llenado de sitios (Davies 1974, Gautier et al. 1999, Bahmani et al. 2000). Además, todos estos rasgos muestran variaciones plásticas debido a que son regulados por los factores ambientales (Lemaire y Chapman 1996, Gastal y Durand 2000). El conocimiento de los rasgos morfogenéticos (Capítulo 2) y de la plasticidad morfológica y estructural, constituye la base de la comprensión de los mecanismos que afectan el crecimiento y la persistencia de las especies debido a que son predictores apropiados del desempeño competitivo de las mismas (Islam y Hirata 2005).

El tamaño de macollos está asociado a la habilidad competitiva por luz (Hazard y Ghesquiére 1995, Nurjaya y Tow 2001) y a la productividad potencial (Sugiyama 1995,1999), mientras que la densidad de macollos está asociada con la ocupación horizontal del espacio y con la persistencia de las especies (Hume 1991a). La forma de vida de las especies coexistentes puede condicionar estos mecanismos estructurales

debido a que están relacionados con diferentes patrones de partición de carbono (C) entre tamaño y densidad de macollos (Sugiyama 1995). Durante el crecimiento vegetativo, plantas de *Lolium perenne* presentaron una actividad balanceada en cada uno de los tres principales centros de crecimiento meristemático: la región del meristema terminal (meristema apical y varias hojas en expansión o primordios de hojas), los meristemas laterales (yemas axilares) y los meristemas de raíz. En cambio, *Lolium temulentum*, una gramínea anual, presentó una actividad meristemática concentrada en el meristema apical; estas diferencias entre especies perennes y anuales se incrementó con la edad de las plantas (Ryle 1970). Además, Robson et al. (1988) demostraron que las gramíneas perennes presentan usualmente una mayor prioridad de partición del C hacia macollos hijos, comparado con las especies anuales, una mayor proporción de la biomasa particionada hacia pseudotallos y menor a láminas y raíces (Garnier 1992). Sin embargo, todavía no está claro si existe una partición de biomasa diferencial entre tamaño y densidad de macollos en plántulas de gramíneas C₃ anuales y perennes.

Además, ambos rasgos estructurales –tamaño y densidad de macollos- pueden ser regulados por señales directas e indirectas mediadas por plantas vecinas (Bahmani et al. 2000) y/o con el aporte de nitrógeno. Este patrón diferencial de partición de carbono entre especies coexistentes puede ser causado por diferencias jerárquicas en la adquisición de luz dentro del canopy, más que a diferencias genotípicas intrínsecas entre formas de vida (Lemaire y Millard 1999, Lemaire 2001). Estas jerarquías desarrolladas bajo competencia por luz, conducen la competencia por recursos edáficos y pueden ocurrir durante fases iniciales del crecimiento, debido a que están relacionadas con la percepción de las plantas sobre la existencia de vecinos (Lemaire y Millard 1999). Además, la edad del macollo, otro importante factor que interfiere con las

características estructurales, puede influenciar las respuestas de las plantas al modificar la estructura del canopeo (Paiva et al. 2012). En resumen, los mecanismos estructurales son todavía poco conocidos y pueden ser determinantes de las jerarquías tempranas en especies anuales y perennes coexistentes dentro de la comunidad.

Hemos previamente evaluado los rasgos morfogenéticos en mini-canopeos compuestos por la gramínea perenne *Dactylis glomerata* (pasto ovillo=DG) y por otra anual/bianual *Bromus willdenowii* (cebadilla= BW). Ésta es una mezcla común de gramíneas utilizada en los sistemas pastoriles templados húmedos de la Argentina. *Dactylis glomerata* es una especie de lento establecimiento con plántulas de baja habilidad competitiva (Nurjaya y Tow 2001). *Bromus willdenowii* es una especie nativa de las planicies templadas de América del Sur (Maddaloni y Ferrari 2001) que se comporta más como una planta anual debido a que no produce macollos de reemplazo después de su período reproductivo (Scheneiter y Rosso 2005). Debido a que BW presenta altas tasas de crecimiento en el período de bajas temperaturas comparado con la gramínea perenne, BW puede establecerse rápidamente y excluir a DG (Harris 2001, Sanderson et al. 2002), especialmente cuando se suplementa con una aplicación de nitrógeno (Sudding et al. 2005). Durante la fase de establecimiento temprano, etapa crítica en pasturas multiespecíficas (Skinner 2005), los vecinos anuales de mayor TEF, causaron un retraso en la TAF en los macollos más viejos de las plantas de ambas especies. Este retraso redujo la TAM de las plantas debido a una restricción a la llegada de luz a la base del canopeo (Capítulo 2). Sin embargo, no está claro cómo estos mecanismos están asociados con la dinámica de los cambios estructurales entre cohortes de macollos en presencia de diferentes vecinos y con prácticas de fertilización nitrogenada. Y además, ¿cuáles son los otros mecanismos estructurales involucrados en las interacciones tempranas entre especies anuales y perennes?; ¿están involucrados en

las jerarquías tempranas entre gramíneas C_3 anuales y perennes en establecimiento, y por lo tanto en la persistencia de las especies y en la composición de la pastura?

Los objetivos del presente Capítulo son describir la dinámica y distinguir el origen de los mecanismos estructurales y funcionales que determinan las interacciones competitivas entre una especie gramínea C_3 anual y otra perenne durante la etapa crítica de establecimiento de la pastura, cuando se lleva a cabo fertilización nitrogenada en invierno. Este Capítulo está focalizado en dos niveles de organización: macollos y plantas y analiza la dinámica y la producción primaria de tres cohortes de macollos de plantas individuales (planta objetivo) de la especie anual y de la perenne, rodeadas por dos plantas individuales (plantas vecinas) de la especie anual y perenne coexistentes en la línea de siembra durante el crecimiento no disturbado (ausencia de defoliación). Este Capítulo también asocia dichos mecanismos estructurales con las habilidades competitivas y jerarquías tempranas entre plantas dentro del canopeo.

Las hipótesis que guían este estudio son que:

Hipótesis 3.1. *Los vecinos C_3 anuales afectarán negativamente los mecanismos estructurales del canopeo que facilitan la ocupación inicial del espacio y el establecimiento de las especies de la pastura, debido a la modificación en la llegada de luz a nivel del suelo.*

Predicción 3.1. *Los vecinos anuales determinarán incrementos en el tamaño del macollo via incrementos en la longitud de la lámina pero decrementos en el número de hojas vivas (NHv) por macollo, principalmente en aquellos más jóvenes limitados en la captura de luz. Los vecinos anuales también limitarán la ocupación horizontal del espacio via una reducción en la densidad de macollos y en la biomasa de las plantas durante el establecimiento de la pastura.*

Hipótesis 3.2. *La magnitud de estos efectos será mayor por la aplicación de nitrógeno y se expresará en los macollos de aparición más temprana beneficiados en intercepción de luz.*

Predicción 3.2. *La aplicación de nitrógeno aumentará el tamaño de los macollos y será mayor en los macollos más viejos respecto de los más jóvenes. Concomitantemente se incrementará la densidad de macollos.*

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

Condiciones ambientales y Material vegetal y diseño experimental; Ver detalles en el Capítulo 2 de la presente Tesis.

Colección de datos

Los datos fueron registrados después de la fertilización en las tres plantas centrales – la planta central objetivo (Capítulo 2) y sus dos vecinas-, en la línea central de las gramíneas de cada mini-canopeo, a fin de evitar el efecto de borde en la línea externa de las mismas. No se esperó efecto de borde ejercido por las líneas de leguminosas debido a su muy lento crecimiento inicial y baja biomasa durante el periodo experimental con una baja temperatura media diaria de $11,77 \pm 2,78$ °C (Figura 2.1.). Las cohortes de macollos aparecidas fueron marcadas con anillos plásticos de diferentes colores, y la longitud del pseudotallo y el número total de macollos por planta fueron registrados. El número y la longitud de las hojas expandidas y en expansión por macollo fueron semanalmente monitoreadas en tres cohortes de macollos: el macollo principal y aquellos más grandes aparecidos 20 y 30 días después de la fertilización (macollos de 20-ddf and 30-ddf, respectivamente), esto es 50 y 60 días desde la emergencia (50-dde y 60-dde, respectivamente). Los datos fueron registrados hasta el

comienzo del periodo reproductivo de la gramínea anual (13 de Septiembre; 85-dde y 56-ddf), debido a que se considera que la competencia por recursos está directamente relacionada con el desarrollo vegetativo de las plantas (Lemaire y Millard 1999).

Al final del período experimental se cosecharon plantas enteras, manteniendo la identidad de los macollos marcados. El sistema radical de las plantas fue excavado manualmente; el suelo que lo rodeaba fue quitado cuidadosamente y luego la raíz fue enjuagada con agua (Fang et al. 2012). El material cosechado fue separado en radical y aéreo: vivo y muerto; la fracción aérea viva fue separada en láminas y pseudotallos o vainas. Se seleccionaron submuestras del material verde de láminas –la hoja más joven totalmente expandida de cada macollo- y se determinó el área foliar a partir de imágenes digitales obtenidas con escaner y posterior procesamiento con software Scion Image (O'Neal et al. 2002). El material de raíz –vivo+ muerto- y las fracciones aéreas fueron secados en estufa a 65 ° C hasta peso constante, y luego pesados.

Estimación de las variables estructurales en los macollos y en las plantas objetivo

El *número de hojas vivas por macollo* ($NH_v = \text{hojas} \cdot \text{macollo}^{-1}$), que representa el total de hojas verdes de cada macollo, fue estimado como el cociente entre la VMF y la TAF (Lemaire y Chapman 1996, Lemaire y Agnusdei 2000; Capítulo 2) y cotejado respecto de los propios registros semanales. El NH_v estuvo compuesto por *hojas expandidas* ($NH_e = \text{hojas} \cdot \text{macollo}^{-1}$; aquellas que presentaron la lígula visible) y *hojas en crecimiento o expansión simultánea* ($NH_c = \text{hojas} \cdot \text{macollo}^{-1}$; aquellas cuya lígula aún no estaba visible). La *proporción de hojas en crecimiento por macollo* fue calculada como $NH_c \cdot NH_v^{-1}$. La *longitud total de láminas verdes* ($LL_v = \text{cm} \cdot \text{macollo}^{-1}$), un estimador del tamaño del macollo (en longitud) (Berone et al. a,b, 2007, Berone y Dreher 2007, Berone et al. 2008), fue el promedio semanal del largo verde de láminas por macollo

que incluyó hojas expandidas y en expansión (Virkajärvi y Järvenranta 2001, Agnusdei y Colabelli 2007, Berone et al. a,b, 2007, Berone y Dreher 2007). La *longitud del pseudotallo* ($\text{cm} \cdot \text{macollo}^{-1}$) fue la distancia entre la lígula visible más elevada y la superficie del suelo (Virkajärvi y Järvenranta 2001). La *densidad de macollos* ($\text{macollos} \cdot \text{planta}^{-1}$) fue el número de macollos en la planta objetivo en la cosecha final (109 dds, 85 dde y 56 ddf). El *área foliar* de las cohortes de macollos marcadas y de las plantas objetivo ($\text{AF}_m = \text{cm}^2 \cdot \text{macollo}^{-1}$ y el $\text{AF}_p = \text{cm}^2 \cdot \text{planta}^{-1}$) fueron estimadas en el material cosechado de láminas verdes.

Variabes asociadas con el crecimiento de los macollos y de las plantas objetivo

A la cosecha, la *biomasa viva* (biomasa verde; $\text{g} \cdot \text{macollo}^{-1}$) estuvo compuesta por la *biomasa de láminas* y la *biomasa del pseudotallo por macollo* ($\text{g} \cdot \text{macollo}^{-1}$); la *biomasa muerta del macollo* ($\text{g} \cdot \text{macollo}^{-1}$) fue el material muerto y senescente; la *biomasa aérea bruta del macollo* ($\text{g} \cdot \text{macollo}^{-1}$) fue la suma del material verde y muerto de cada una de las tres cohortes de macollos evaluadas. Estas variables registradas en los macollos marcados, fueron estimadas de manera similar a escala planta. La *biomasa aérea bruta* y la *biomasa de raíz* ($\text{g} \cdot \text{planta}^{-1}$) integraron la *biomasa total de la planta objetivo* ($\text{g} \cdot \text{planta}^{-1}$). La *partición de biomasa* en torno de la biomasa aérea y radical fueron la biomasa aérea bruta y la biomasa de raíz por unidad de biomasa total de la planta objetivo, respectivamente. Además, un *índice de competencia relativa* (ICR; Grace 1995, Weigelt y Jolliffe 2003) fue calculado como:

$$\text{ICR}_{\text{DG}} = (\text{DG}_{\text{mono}} - \text{DG}_{\text{mezcla}}) / \text{DG}_{\text{mono}} * 100$$

$$\text{ICR}_{\text{BW}} = (\text{BW}_{\text{mono}} - \text{BW}_{\text{mezcla}}) / \text{BW}_{\text{mono}} * 100$$

En donde:

DG_{mono} = Biomasa aérea bruta de DG en la monocultura; BW_{mono} = biomasa aérea bruta de BW en la monocultura y DG_{mezcla} ó BW_{mezcla} = biomasa aérea bruta de la especie DG ó BW en la mezcla.

Análisis estadístico

Se realizaron análisis factoriales de varianza con un nivel de significación del 5% siguiendo un diseño en bloques completamente aleatorizado con tres factores: especies objetivo (dos niveles) × especies vecinas (dos niveles) × fertilización (dos niveles) (n=3; 24 mini-canopeos). La normalidad de los datos fue evaluada utilizando el test de Shapiro-Wilk. Las diferencias entre cohortes de macollos fueron analizadas con un arreglo de parcela dividida (tres niveles). Como generalmente se presentaron interacciones que involucraron a las cohortes, el análisis se dividió para cada cohorte; dentro de cada cohorte, se llevaron a cabo particiones por factor cuando subsistieron otras interacciones. Para realizar los análisis estadísticos se utilizó el paquete profesional de InfoStat version 1.1 (Di Rienzo et al. 2008).

3.3. RESULTADOS

Intercepción de la radiación fotosintéticamente activa (RFA) por los mini-canopeos

Sesenta y seis días desde la emergencia (66-dde y 36 días después de la fertilización-ddf; el 25 de Agosto), la RFA interceptada no fue afectada por la especie ($P=0,68$) o la práctica de fertilización ($P=0,09$). Sin embargo, la intercepción de la RFA de las plantas objetivo con un vecino BW fue un 21% mayor que con un vecino DG (70% cuando el vecino fue BW vs. 58% cuando el vecino fue DG; $F=17,38$; $P=0,0009$). La radiación RFA transmitida al suelo fue un 26% menor cuando el vecino fue BW que cuando fue DG ($102 \mu\text{MOL}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ con un vecino BW vs. $138 \mu\text{MOL}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ con un

vecino DG; la RFA incidente durante el invierno fue de $341 \mu\text{MOL.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$). Este momento coincide aproximadamente con la aparición y el anillado del macollo 50-dde/20-ddf (9 de Agosto; 50-dde).

Al momento de la cosecha (el 13 de Septiembre; 85-dde y 56-ddf; a la salida del invierno), la intercepción de la RFA de cada especie fue diferencialmente afectada por la identidad del vecino (interacción especie*vecino, $F=8,75$; $P=0,0104$) y la fertilización nitrogenada ($F=4,89$; $P=0,0441$). La intercepción de la RFA del vecino BW (92,4%) no fue afectada por la especie ni la fertilización nitrogenada. Sin embargo, la intercepción de la RFA del vecino DG fue un 9% mayor cuando creció con su misma especie (93,4% con plantas objetivo de DG vs. 85,3% con plantas objetivo de BW) y también un 7% mayor cuando se realizó fertilización nitrogenada (86,2% N- vs. 92,6% N+) (Capítulo 2). La radiación RFA transmitida al suelo bajo vecinos BW no fue afectada por la identidad de la planta objetivo ($120 \mu\text{MOL.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), mientras que la radiación transmitida al suelo bajo vecinos de DG fue un 56% mayor con plantas objetivo de BW ($234 \mu\text{MOL.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ cuando la especie objetivo fue BW vs. $103 \mu\text{MOL.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ con especie objetivo DG; la RFA incidente durante el inicio de la primavera fue de $1606 \mu\text{MOL.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$). También, la fertilización disminuyó un 45% la radiación transmitida ($119 \mu\text{MOL.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ en N+ vs. $217 \mu\text{MOL.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ en N-).

Variables estructurales del macollo

Hojas por macollo

Durante el período post-fertilización, el *número de hojas en crecimiento* (NHc; Figura 3.1a) y de *hojas expandidas* (NHe; Figura 3.1b), que integraron el *número de hojas vivas por macollo* (NHv; Figura 3.1c), decrecieron desde los macollos más viejos a los más jóvenes en ambas especies.

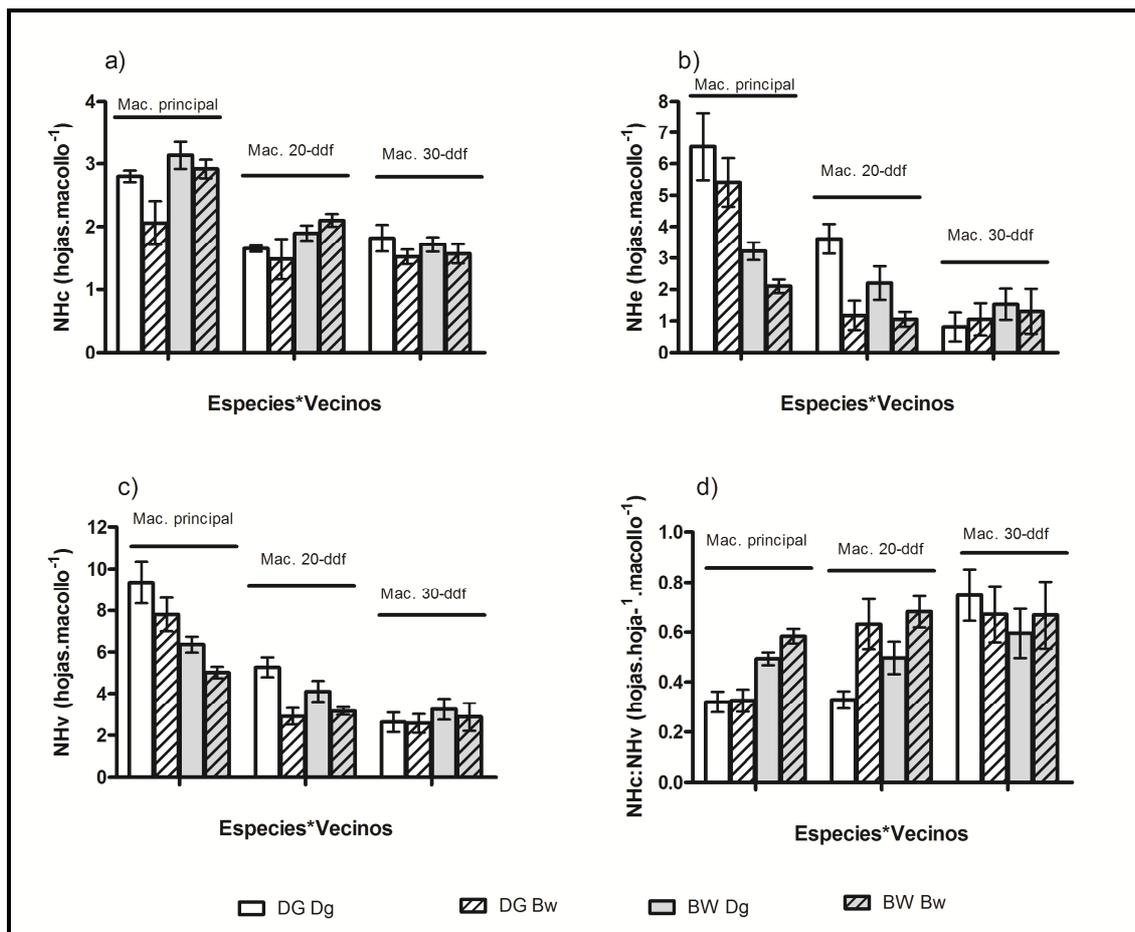


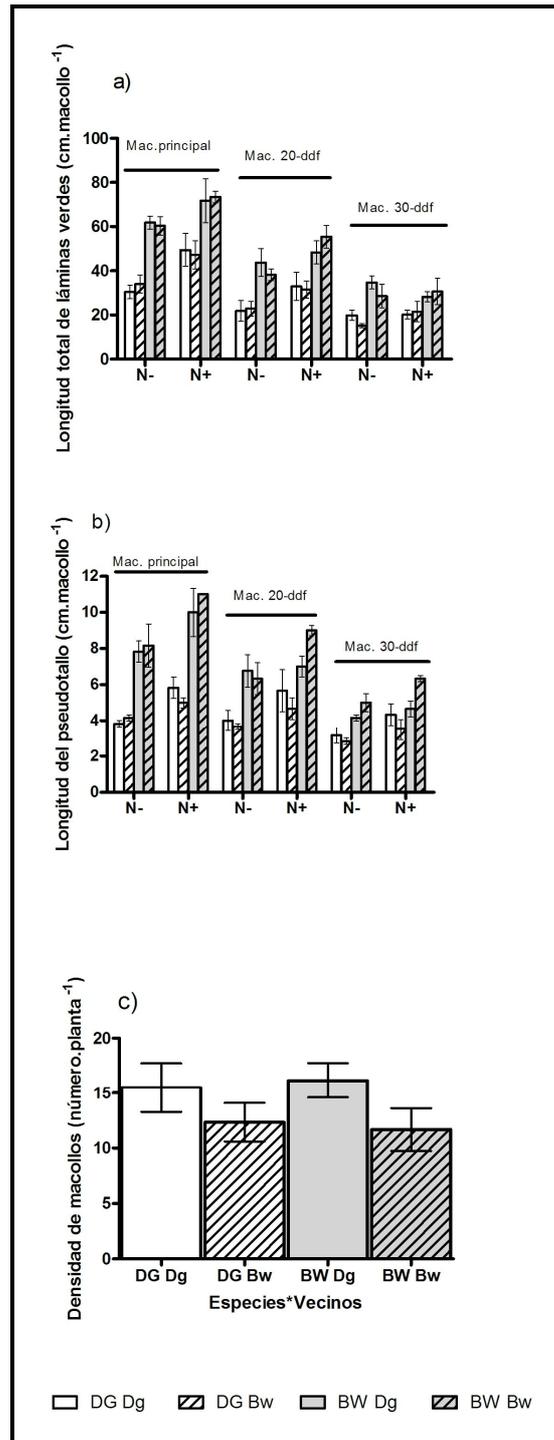
Figura 3.1. a) Número de hojas en expansión simultánea (número de hojas en crecimiento= NHc =hojas.macollo⁻¹), b) número de hojas expandidas (NHe =hojas.macollo⁻¹), c) número de hojas vivas (NHv =hojas.macollo⁻¹) y d) proporción de $NHc:NHv^{-1}$ (hojas.hoja⁻¹.macollo⁻¹), comparando sólo el efecto de las cuatro diferentes situaciones de competencia intra- e interespecifica de la gramínea perenne *Dactylis glomerata* (DG) y la anual *Bromus willdenowii* (BW). El efecto de la fertilización fue ≥ 0.05 (ver Cuadro 3.1. para mayor detalle). Los datos corresponden a valores medios \pm error estándar de las tres cohortes de macollos (mac=macollo; macollo principal y aquellos marcados aparecidos 20 y 30 días después de la fertilización= ddf). La primera abreviatura: nombre de la especie objetivo; la segunda abreviatura: nombre de la especie vecina (por ejemplo: DG Dg).

En el macollo principal, NHv y NHe de BW fueron menores que aquellos de DG (5,7 vs. 8,6 hojas vivas.macollo⁻¹; $F=15,43$; $P=0,0015$, y 2,7 vs. 5,9 hojas expandidas.macollo⁻¹; $F=20,93$; $P=0,0004$, en BW y DG, respectivamente) (Cuadro 3.1.). Mientras BW presentó menor NHe y NHv que DG (Figura 3.1b y 3.1c; Cuadro 3.1), el número de hojas en crecimiento (NHc) presentó el patrón opuesto; BW expandió simultáneamente más hojas que DG (BW: 3,0 vs. DG: 2,6 NHc hojas.

macollo⁻¹ en el macollo principal; $F=5,68$; $P=0,031$) (Figura 3.1b; Cuadro 3.1.). Como consecuencia, la proporción entre ambas variables ($NH_c.NH_v^{-1}$) fue mayor en la especie anual (BW: 0,54 vs. DG: 0,32; $F=35,25$; $P<0,0001$) (Figura 3.1d; Cuadro 3.1.). Dicha proporción se incrementó desde el macollo principal hasta la cohorte de 60-dde/30-ddf (0,32 hasta 0,71 hojas.hoja⁻¹) en DG, pero permaneció sin cambios entre cohortes en BW (un valor medio de 0,58 hojas.hoja⁻¹, Figura 3.1d). No se detectó efecto de los vecinos, con excepción de la cohorte de 50-dde/20-ddf, en la que ambas especies presentaron un 160% más de NH_e (1,1 cuando el vecino fue BW vs. 2,9 NH_e cuando el vecino fue DG; $F=16,41$; $P=0,0012$) (Figura 3.1b; Cuadro 3.1.) y también un 54% más de $NH_v.macollo^{-1}$ cuando crecieron con vecinos DG respecto de cuando lo hicieron con vecinos BW (3,0 con vecinos BW vs. 4,7 $NH_v.macollo^{-1}$ con vecinos DG, $F=16,12$; $P=0,0013$) (Figura 3.1c; Cuadro 3.1.). Como consecuencia, en esta cohorte, la proporción entre el $NH_c.NH_v^{-1}$ fue un 61% mayor con vecinos BW que con vecinos DG (0,7 vs. 0,4 hojas.hoja⁻¹, respectivamente; $F=14,89$; $P=0,0017$) (Figura 3.1d; Cuadro 3.1.). En el macollo más joven no se observaron efectos significativos para ningún factor ($P>0,05$; Figura 3.1d, Cuadro 3.1.). El nitrógeno no afectó significativamente el número de hojas por macollo ($P>0,05$).

Cuadro 3.1. Resultados del análisis de la varianza comparando el efecto de las especies (dos niveles: *Dactylis glomerata* [DG] y *Bromus willdenowii* [BW]), los vecinos (dos niveles: DG y BW), la fertilización invernal (dos niveles: sin=N⁻ y con=N⁺) y sus interacciones, sobre las variables estructurales a escala macollo (n=3). Los resultados presentados son los valores medios y los valores P: ** P< 0,01; * P< 0,05 y ns= efecto no significativo.

	Variables	Unidad de crecimiento (cohorte de macollo)	Efecto de las especies		Efecto de los vecinos		Efecto de fertilización		Interacciones	Referencias
			Valores y P		Valores y P		Valores y P		Tipo y P	
Estructurales del macollo	NHc (hojas.macollo ⁻¹)	Macollo principal	DG= 2,6	*	DG= 2,9	ns	N ⁻ = 2,8	ns	ns	Fig. 3.1.a.
			BW= 3,0		BW= 2,7		N ⁺ = 2,8			
		Macollo 20-ddf	DG= 1,7	ns	DG= 1,8	ns	N ⁻ = 1,8	ns	ns	
			BW= 2,0		BW= 1,9		N ⁺ = 1,9			
		Macollo 30-ddf	DG= 1,7	ns	DG= 1,8	ns	N ⁻ = 1,7	ns	ns	
			BW= 1,6		BW= 1,5		N ⁺ = 1,6			
	NHe (hojas.macollo ⁻¹)	Macollo principal	DG= 5,9	**	DG= 4,9	ns	N ⁻ = 4,3	ns	ns	Fig. 3.1.b.
			BW= 2,7		BW= 3,8		N ⁺ = 4,3			
		Macollo 20-ddf	DG= 2,4	ns	DG= 2,9	**	N ⁻ = 1,8	ns	ns	
			BW= 1,6		BW= 1,1		N ⁺ = 2,2			
		Macollo 30-ddf	DG= 0,9	ns	DG= 1,2	ns	N ⁻ = 0,8	ns	ns	
			BW= 1,4		BW= 1,2		N ⁺ = 1,6			
	NHv (hojas.macollo ⁻¹)	Macollo principal	DG= 8,6	**	DG= 7,8	ns	N ⁻ = 7,1	ns	ns	Fig. 3.1.c.
			BW= 5,7		BW= 6,4		N ⁺ = 7,1			
		Macollo 20-ddf	DG= 4,0	ns	DG= 4,7	**	N ⁻ = 3,6	ns	ns	
			BW= 3,6		BW= 3,0		N ⁺ = 4,0			
Macollo 30-ddf		DG= 2,6	ns	DG= 2,9	ns	N ⁻ = 2,5	ns	ns		
		BW= 3,0		BW= 2,7		N ⁺ = 3,1				
NHc:NHv ⁻¹ (hojas.hoja ⁻¹)	Macollo principal	DG= 0,3	**	DG= 0,4	ns	N ⁻ = 0,4	ns	ns	Fig. 3.1.d.	
		BW= 0,5		BW= 0,4		N ⁺ = 0,4				
	Macollo 20-ddf	DG= 0,5	ns	DG= 0,4	**	N ⁻ = 0,6	ns	ns		
		BW= 0,6		BW= 0,7		N ⁺ = 0,5				
	Macollo 30-ddf	DG= 0,7	ns	DG= 0,7	ns	N ⁻ = 0,8	ns	ns		
		BW= 0,6		BW= 0,7		N ⁺ = 0,6				



1

2 Figura 3.2. a) Longitud total de láminas verdes por macollo (LLv=cm.macollo⁻¹), b)
 3 longitud del pseudotallo (cm.macollo⁻¹) y c) densidad de macollos (número.planta⁻¹)
 4 evaluadas en cuatro situaciones diferentes de competencia intra- e interespecífica de la
 5 gramínea perenne *Dactylis glomerata* (DG) y la anual *Bromus willdenowii* (BW) en los
 6 tratamientos no fertilizados (N-) y fertilizados (N+). En a) y b) los datos corresponden a
 7 valores medios \pm error estándar de las tres cohortes de macollos (mac=macollo;
 8 macollo principal y aquellos marcados aparecidos 20 y 30 días después de la
 9 fertilización= ddf) y en c) de la planta (efecto de la fertilización $\geq 0,05$; Ver Cuadro
 10 3.2.). La primera abreviatura: nombre de la especie objetivo; la segunda abreviatura:
 11 nombre de la especie vecina (por ejemplo: DG Dg).

Cuadro 3.2. Resultados del análisis de la varianza comparando el efecto de las especies (dos niveles: *Dactylis glomerata* [DG] y *Bromus willdenowii* [BW]), los vecinos (dos niveles: DG y BW), la fertilización invernal (dos niveles: sin=N⁻ y con=N⁺) y sus interacciones, sobre algunas variables estructurales clave a escala macollo y planta (n=3). Los resultados presentados son los valores medios y los valores P: ** P< 0,01; * P< 0,05 y ns= efecto no significativo.

	Variables	Unidad de crecimiento (cohorte de macollo/planta)	Efecto de las especies		Efecto de los vecinos		Efecto de fertilización		Interacciones	Referencias
			Valores y P		Valores y P		Valores y P		Tipo y P	
Estructural del macollo	LLv (cm.macollo ⁻¹)	Macollo principal	DG= 40,3	**	DG= 53,4	ns	N ⁻ = 46,6	**	ns	Fig. 3.2.a.
			BW= 66,8		BW= 53,7		N ⁺ = 60,5			
		Macollo 20-ddf	DG= 27,2	**	DG= 36,7	ns	N ⁻ = 31,6	*	ns	
		BW= 46,4		BW= 36,9		N ⁺ = 42,0				
	Macollo 30-ddf	DG= 19,1	**	DG= 25,7	ns	N ⁻ = 24,5	ns	ns		
		BW= 30,5		BW= 23,9		N ⁺ = 25,1				
Estructural de la planta	Longitud del pseudotallo (cm.macollo ⁻¹)	Macollo principal	DG= 4,7	**	DG= 6,9	ns	N ⁻ = 6,0	**	ns	Fig. 3.2.b.
			BW= 9,2		BW= 7,1		N ⁺ = 7,9			
		Macollo 20-ddf	DG= 4,5	**	DG= 5,9	ns	N ⁻ = 5,2	**	ns	
		BW= 7,3		BW= 5,9		N ⁺ = 6,6				
	Macollo 30-ddf	DG= 3,5	**	DG= 4,1	ns	N ⁻ = 3,8	*	Sp. Vec *		
		BW= 5,0		BW= 4,4		N ⁺ = 4,7				
Estructural de la planta	Densidad de macollos (macollos.planta ⁻¹)	Planta entera	DG= 15,3	ns	DG= 17,2	*	N ⁻ = 14,6	ns	ns	Fig. 3.2.c.
			BW= 13,9		BW= 12,0		N ⁺ = 14,7			
Estructural de la planta	Área foliar (cm ² .planta ⁻¹)	Planta entera	DG= 140	*	DG= 194	ns	N ⁻ = 174	ns	ns	-----
			BW= 252		BW= 198		N ⁺ = 218			

Longitud total de láminas verde por macollo

BW presentó un 65% más de *longitud total de láminas verdes por macollo* (LLv) que la especie DG, en las tres cohortes de macollos (por ejemplo 66,8 vs. 40,2 cm.macollo⁻¹ en el macollo principal; F=43,95; P<0,0001; Figura 3.2a; Cuadro 3.2.). No se evidenció efecto de los vecinos sobre la LLv de las especies (P>0,05). El LLv se incrementó alrededor del 30% en respuesta a la fertilización en el macollo principal (46,6 vs. 60,4 en N- y N+, respectivamente; F=11,94; P=0,004) y en el macollo de 50-dde/20-ddf (31,6 vs. 42,0 en N- y N+, respectivamente; F=8,62; P=0,01; Figura 3.2a; Cuadro 3.2.), pero no en la cohorte de 60-dde/30-ddf.

Longitud del pseudotallo

La *longitud del pseudotallo* fue un 96% mayor en BW que en DG (9,2 vs. 4,7 cm.macollo⁻¹; F=73,15; P<0,0001; Cuadro 3.2.) y presentó una tendencia decreciente con el incremento de la edad del macollo (Figura 3.2b.). En la cohorte más joven de macollos, la *longitud del pseudotallo* de las plantas de BW rodeadas por vecinos BW (5,7 cm.macollo⁻¹) fue un 25% mayor que aquellas rodeadas por vecinos DG (4,4 cm.macollo⁻¹), pero no se evidenció efecto de los vecinos en el *largo del pseudotallo* de las plantas de DG (3,5 cm.macollo⁻¹) (interacción especies*vecinos; F=8,49; P=0,01; Cuadro 3.2.). La fertilización nitrogenada incrementó el *largo del pseudotallo* en alrededor del 28% en todas las cohortes de macollos (F>8,49; P≤0,01).

Área foliar de los macollos individuales

El *área foliar* (AF_m) del macollo principal fue un 102% mayor en BW que en DG (64,0 vs. 31,7 cm².macollo⁻¹, respectivamente; F=36,96; P<0,0001) y presentó un incremento del 43% en respuesta a la fertilización (N-: 39,3 vs. N+: 56,4 cm².macollo⁻¹;

F=10,35; $P=0,0062$). Se encontró similar respuesta en la cohorte de 50-dde/20-ddf (efecto de la especie, BW: 36,9 vs. DG: 17,7 cm.macollo⁻¹, respectivamente; F=34,4; $P<0,0001$ y efecto de la fertilización, N-: 22,2 vs. N+: 32,4 cm.macollo⁻¹; F=9,66; $P=0,0077$). No hubo efecto en la cohorte más joven de macollos, 60-dde/30-ddf ($P>0,05$). No se detectó efecto significativo de los vecinos en el AF_m en ninguna cohorte de macollos ($P\geq 0,56$).

Variables asociadas con el crecimiento de los macollos

Biomasa de los macollos

La *biomasa aérea bruta del macollo* (biomasas muertas + vivas) de BW fue un 140 % mayor que la de DG en las tres cohortes evaluadas (por ejemplo: BW: 0,74 vs. DG: 0,25 g.macollo⁻¹; F>13,57; $P<0,0025$; Cuadro 3.3.) y se incrementó alrededor del 36% por efecto de la fertilización nitrogenada en el macollo principal (N-: 0,42 vs. N+: 0,57 g.macollo⁻¹; F=4,93; $P=0,043$; Figura 3.3a). La *biomasa muerta* que BW acumuló en el macollo principal y en la cohorte de 50-dde/20-ddf fue un 200% y un 150% mayor respectivamente (0,09 y 0,05 g.macollo⁻¹, respectivamente), que aquella de DG (0,03 g.macollo⁻¹ en ambas cohortes; F>12,2; $P<0,0036$). Los macollos de BW también presentaron una mayor *biomasa viva* que aquéllos de DG, y estas diferencias disminuyeron con la edad del macollo, 195% en el macollo principal (BW: 0,6 vs. DG: 0,2 g.macollo⁻¹; F=42,95; $P<0,0001$; Cuadro 3.3.) hasta el 86% en el macollo de 60-dde/30-ddf (BW: 0,1 vs. DG: 0,07 g.macollo⁻¹; F=15,35; $P=0,0015$). La *biomasa viva* estuvo compuesta por *láminas* y *pseudotallos* (Figura 3.3b y 3.3c.; Cuadro 3.3.); fueron 132 y 175% respectivamente mayores en los macollos de BW que en los de DG (láminas de BW: 0,4 vs. láminas de DG: 0,1 g.macollo⁻¹; pseudotallos de BW: 0,3 vs.

pseudotallos de DG: $0,08 \text{ g.macollo}^{-1}$ en el macollo principal; $F>9,32$; $P<0,0086$; Cuadro 3.3.); esas diferencias decrecieron desde el macollo más viejo al más joven.

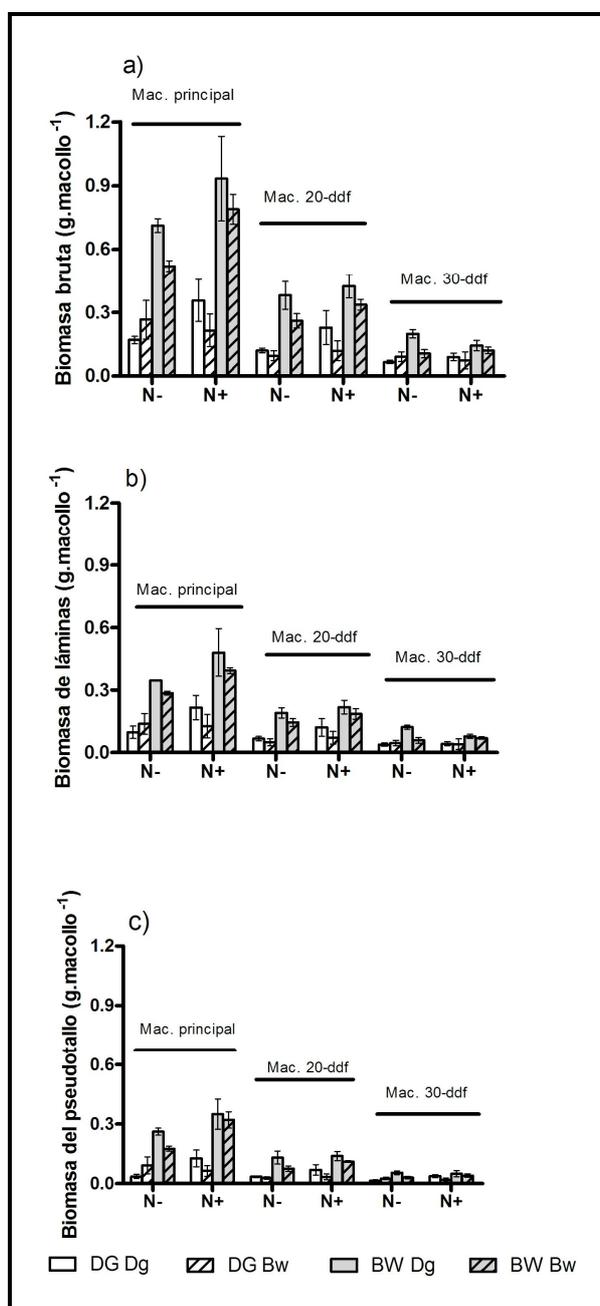


Figura 3.3. a) Biomasa aérea bruta y componentes de la biomasa viva del macollo (g.macollo^{-1}); b) biomasa de láminas y c) biomasa del pseudotallo en la cosecha final (13 de Septiembre) en cuatro situaciones diferentes de competencia intra- e interespecífica de la gramínea perenne *Dactylis glomerata* (DG) y la anual *Bromus willdenowii* (BW) en los tratamientos no fertilizados (N-) y fertilizados (N+). Los datos corresponden a valores medios \pm error estándar de las tres cohortes de macollos (mac=macollo; macollo principal y aquellos marcados aparecidos 20 y 30 días después de la fertilización= ddf). La primera abreviatura: nombre de la especie objetivo; la segunda abreviatura: nombre de la especie vecina (por ejemplo: DG Dg).

Cuadro 3.3. Resultados del análisis de la varianza comparando el efecto de las especies (dos niveles: *Dactylis glomerata* [DG] y *Bromus willdenowii* [BW]), los vecinos (dos niveles: DG y BW), la fertilización invernal (dos niveles: sin=N⁻ y con=N⁺) y sus interacciones, sobre variables asociadas al crecimiento de los macollos (n=3). Los resultados presentados son los valores medios y los valores P: ** P< 0,01; * P< 0,05 y ns= efecto no significativo.

	Variables	Unidad de crecimiento (cohorte de macollo)	Efecto de las especies		Efecto de los vecinos		Efecto de fertilización		Interacciones	Referencias
			Valores y P		Valores y P		Valores y P		Tipo y P	
Variables asociadas al crecimiento de los macollos	Biomasa aérea bruta (g.macollo ⁻¹)	Macollo principal	DG= 0,25	**	DG= 0,54	ns	N ⁻ = 0,42	*	ns	Fig. 3.3.a.
			BW= 0,74		BW= 0,45		N ⁺ = 0,57			
		Macollo 20-ddf	DG= 0,14	**	DG= 0,29	*	N ⁻ = 0,21	ns	ns	
			BW= 0,35		BW= 0,20		N ⁺ = 0,28			
		Macollo 30-ddf	DG= 0,08	**	DG= 0,12	ns	N ⁻ = 0,12	ns	ns	
			BW= 0,14		BW= 0,10		N ⁺ = 0,11			
	Biomasa aérea viva (g.macollo ⁻¹)	Macollo principal	DG= 0,22	**	DG= 0,48	ns	N ⁻ = 0,36	*	ns	-----
			BW= 0,65		BW= 0,40		N ⁺ = 0,52			
		Macollo 20-ddf	DG= 0,12	**	DG= 0,24	ns	N ⁻ = 0,18	ns	ns	
			BW= 0,30		BW= 0,18		N ⁺ = 0,24			
		Macollo 30-ddf	DG= 0,07	**	DG= 0,11	ns	N ⁻ = 0,10	ns	ns	
			BW= 0,13		BW= 0,08		N ⁺ = 0,09			
	Biomasa de láminas (g.macollo ⁻¹)	Macollo principal	DG= 0,14	**	DG= 0,28	ns	N ⁻ = 0,22	*	ns	Fig. 3.3.b.
			BW= 0,38		BW= 0,24		N ⁺ = 0,30			
		Macollo 20-ddf	DG= 0,08	**	DG= 0,15	ns	N ⁻ = 0,11	ns	ns	
			BW= 0,18		BW= 0,11		N ⁺ = 0,15			
		Macollo 30-ddf	DG= 0,04	**	DG= 0,07	ns	N ⁻ = 0,07	ns	ns	
			BW= 0,08		BW= 0,05		N ⁺ = 0,06			
	Biomasa del pseudotallo (g.macollo ⁻¹)	Macollo principal	DG= 0,08	**	DG= 0,19	ns	N ⁻ = 0,14	*	ns	Fig. 3.3.c.
			BW= 0,28		BW= 0,16		N ⁺ = 0,22			
Macollo 20-ddf		DG= 0,04	**	DG= 0,09	*	N ⁻ = 0,07	ns	ns		
		BW= 0,11		BW= 0,06		N ⁺ = 0,09				
Macollo 30-ddf		DG= 0,02	*	DG= 0,04	ns	N ⁻ = 0,03	ns	ns		
		BW= 0,04		BW= 0,03		N ⁺ = 0,04				

La *biomasa aérea bruta y muerta* de la cohorte de 50-dde/20-ddf de ambas especies fue más del 45% mayor cuando estuvieron rodeadas por plantas vecinas de DG respecto de vecinas de BW (0,2 vs. 0,3 g de biomasa aérea bruta por macollo cuando el vecino fue BW y DG, respectivamente; $F>12,2$; $P<0,04$; Cuadro 3.3.). La *biomasa de los pseudotallos* de la cohorte 50-dae/20-ddf de ambas especies se incrementó un 50% cuando las plantas vecinas fueron de DG comparada con plantas vecinas BW (0,06 vs. 0,09 g.macollo⁻¹ cuando el vecino fue BW y DG, respectivamente; $F=4,87$; $P=0,044$). La *biomasa de láminas* no presentó efectos de vecinos ($P>0,05$). En cambio, la *biomasa aérea bruta y viva* sólo del macollo principal se incrementó por efecto de la fertilización, alrededor del 44% de la *biomasa viva del macollo* (0,4 vs. 0,6 g de biomasa viva por macollo en N- y N+, respectivamente; $F=6,15$; $P=0,026$) asociado a incrementos de alrededor del 36% en la *biomasa de las láminas* (N-: 0,2 vs. N+ 0,3 g.macollo⁻¹; $F=5,25$; $P=0,038$; Cuadro 3.3.) y del 57% en el *pseudotallo* (N-: 0,1 vs. N+: 0,32 g.macollo⁻¹; $F=6,45$; $P=0,024$) (Figura 3.3b y 3.3c.; Cuadro 3.3.).

Variables estructurales de las plantas objetivo

Densidad final de macollos de las plantas

La *densidad de macollos* al momento de la cosecha final fue similar en ambas especies (14,63 macollos.planta⁻¹; $P=0,53$), pero fue un 44% mayor con vecinos DG que con vecinos BW (17,2 vs. 12 macollos.planta⁻¹, respectivamente; $F=5,74$; $P=0,03$). No se encontraron efectos de la fertilización ($P=0,97$; Figura 3.2c; Cuadro 3.2.).

Área foliar de las plantas

De igual forma a lo ocurrido en los macollos individuales, el *área foliar* de las plantas objetivo (AF_p) fue un 79% mayor en BW que el área foliar de DG (252 vs. 141

cm².planta⁻¹, respectivamente; F=8,70; P=0,01; Cuadro 3.2.). No se detectaron efectos de los vecinos (P=0,92) y, a pesar del incremento del AF_m de los macollos más viejos por acción del nitrógeno, éste no ejerció ningún efecto a escala planta (N-: 174 vs. N+: 218 cm².planta⁻¹; P=0,26).

Variables asociadas con el crecimiento de las plantas

Biomasa aérea de las plantas

De acuerdo al patrón observado a escala macollo, la *biomasa aérea bruta de las plantas* objetivo de BW fue un 180% mayor que las plantas de DG (3,30 vs. 1,17 g.planta⁻¹; F=26,81; P=0,0001), y los vecinos DG incrementaron un 55% la *biomasa bruta* de ambas especies comparado con vecinos BW (2,72 vs. 1,76 g.planta⁻¹, respectivamente, F=5,59; P=0,0331; Figura 3.4a; Cuadro 3.4.). La *biomasa muerta y viva de las plantas* de BW fueron un 200% y 177% mayores que aquéllas de DG, respectivamente (muerta BW: 0,4 vs. muerta DG: 0,1 g.planta⁻¹; F=25,11; P=0,0002 y viva BW: 2,9 vs. viva DG: 1,0 g.planta⁻¹; F=27,86; P=0,0001). La *biomasa de láminas y de pseudotallos* de la especie anual fueron un 167% (BW: 1,7 vs. DG: 0,6 g de láminas.planta⁻¹; F=23,96; P=0,0002) y un 195% (BW: 1,1 vs. DG: 0,4 g de pseudotallos.planta⁻¹; F=24,57; P=0,0002) mayores que aquéllas de la especie perenne, respectivamente (Figura 3.4b y 3.4c; Cuadro 3.4.).

La *biomasa viva y muerta de las plantas* objetivo fueron un 53% mayores cuando los vecinos fueron DG comparados con vecinos BW (vecinos BW: 1,5 vs. vecinos DG: 2,4 g.planta⁻¹; F=5,49; P=0,033 y vecinos BW: 0,2 vs. vecinos DG: 0,3 g.planta⁻¹; F=7,40; P=0,016, respectivamente). Como consecuencia, la *biomasa aérea bruta de las plantas* fue un 55% mayor con vecinos DG que con vecinos BW (vecinos BW: 1,8 vs. vecinos DG: 2,7 g.planta⁻¹; F=5,59; P=0,033; Figura 3.4a). Los vecinos DG

incrementaron un 54% la *biomasa de láminas* y un 55% la *biomasa del pseudotallo* de las plantas objetivo comparados con vecinos BW ($F=4,9$; $P=0,044$ y $F=4,6$; $P=0,049$, respectivamente; Figuras 3.4b y 3.4c; Cuadro 3.4.).

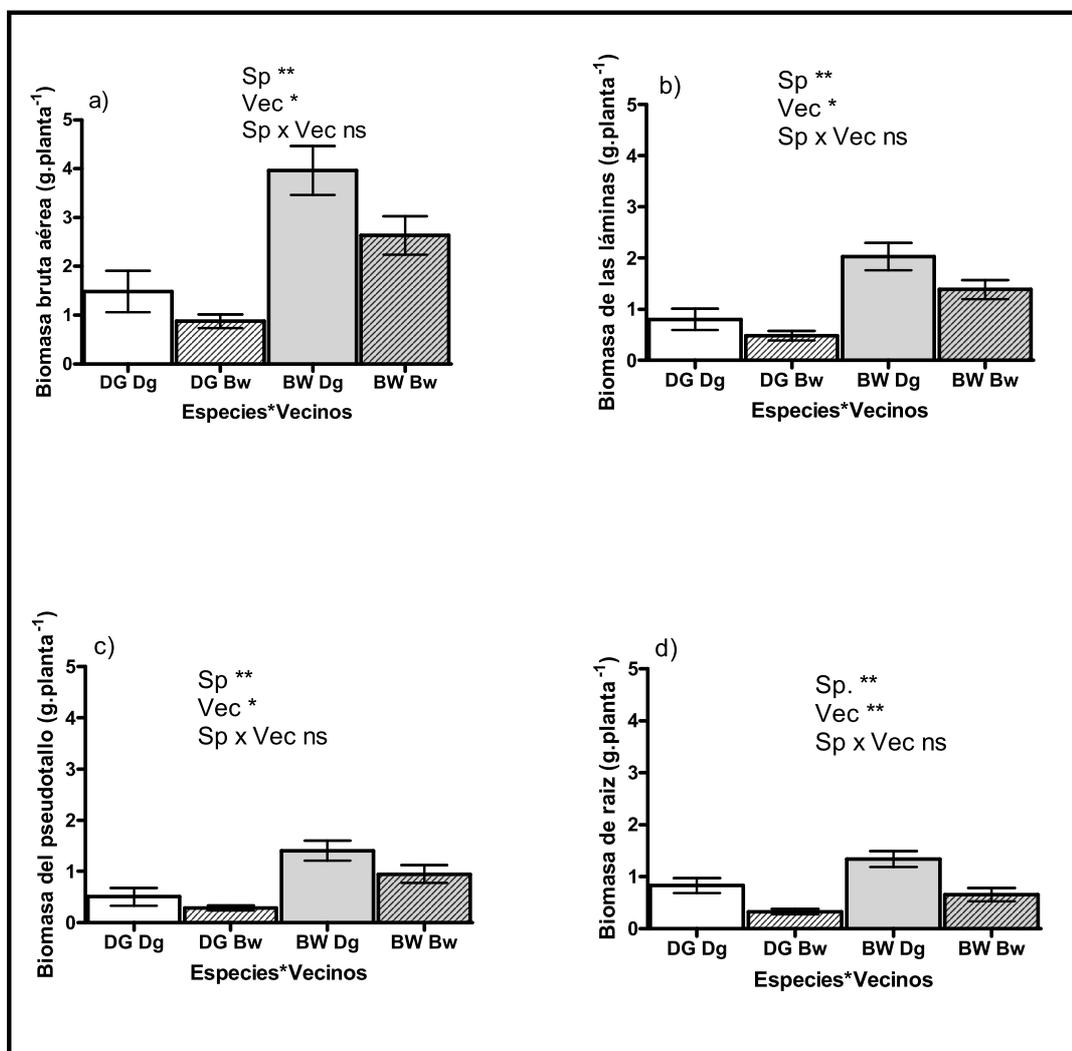


Figura 3.4. a) Biomasa aérea bruta y componentes de la biomasa viva de las plantas ($g \cdot planta^{-1}$): b) biomasa de láminas y c) biomasa del pseudotallo, y d) biomasa de raíz ($g \cdot planta^{-1}$) de las plantas objetivo en la cosecha final (13 de Septiembre) en cuatro situaciones diferentes de competencia intra- e interespecífica de la gramínea perenne *Dactylis glomerata* (DG) y la anual *Bromus willdenowii* (BW) en los tratamientos no fertilizados (N-) y fertilizados (N+). Los datos corresponden a valores medios \pm error estándar. El efecto de la fertilización $\geq 0,05$ (Ver Cuadro 3.3.). La primera abreviatura: nombre de la especie objetivo; la segunda abreviatura: nombre de la especie vecina (por ejemplo: DG Dg). Sp= efecto de la especie; Vec= efecto del vecino.

Cuadro 3.4. Resultados del análisis de la varianza comparando el efecto de las especies (dos niveles: *Dactylis glomerata* [DG] y *Bromus willdenowii* [BW]), los vecinos (dos niveles: DG y BW), la fertilización invernal (dos niveles: sin=N⁻ y con=N⁺) y sus interacciones, sobre variables asociadas al crecimiento de las plantas objetivo (n=3). Los resultados presentados son los valores medios y los valores P: ** P< 0,01; * P< 0,05 y ns= efecto no significativo.

	<i>Variables</i>	<i>Unidad de crecimiento</i>	<i>Efecto de las especies</i>		<i>Efecto de los vecinos</i>		<i>Efecto de fertilización</i>		<i>Interacciones</i>	<i>Referencias</i>
			Valores y P		Valores y P		Valores y P		Tipo y P	
<i>Variables asociadas al crecimiento de las plantas</i>	Biomasa aérea bruta (g.planta ⁻¹)	Planta entera	DG= 1,17	**	DG= 2,72	*	N ⁻ = 1,94	ns	ns	Fig. 3.4.a.
			BW= 3,30		BW= 1,76		N ⁺ = 2,54			
	Biomasa viva mass (g.planta ⁻¹)	Planta entera	DG= 1,04	**	DG= 2,37	*	N ⁻ = 1,68	ns	ns	-----
			BW= 2,88		BW= 1,55		N ⁺ = 2,24			
	Biomasa de láminas (g.planta ⁻¹)	Planta entera	DG= 0,64	**	DG= 0,93	*	N ⁻ = 1,03	ns	ns	Fig. 3.4.b.
			BW= 1,71		BW= 1,41		N ⁺ = 1,32			
	Biomasa del pseudotallo (g.planta ⁻¹)	Planta entera	DG= 0,40	**	DG= 0,96	*	N ⁻ = 0,65	ns	ns	Fig. 3.4.c
			BW= 1,18		BW= 0,62		N ⁺ = 0,92			
	Biomasa de raíz (g.planta ⁻¹)	Planta entera	DG= 0,58	**	DG= 1,08	**	N ⁻ = 0,81	ns	ns	Fig. 3.4.d.
			BW= 1,00		BW= 0,49		N ⁺ = 0,76			

A pesar de que ambas especies mostraron similar densidad final de macollos y la fertilización incrementó la *biomasa de las láminas* y de los *pseudotallos* en el macollo principal (Figuras 3.3b y 3.3c.), no se detectó efecto de la fertilización en la *biomasa aérea bruta* ni en la *viva de las plantas* objetivo ($P > 0,05$).

Biomasa de raíz de las plantas

La *biomasa de raíz* fue significativamente afectada por la especie y los vecinos. Fue un 72% mayor en plantas de BW que en el plantas de DG (1,00 vs 0,6 g.planta⁻¹, respectivamente; $F=9,28$; $P=0,0087$; Figura 3.4d) y un 55% menor en presencia de vecinos BW respecto de vecinos DG (0,5 vs. 1,08 g.planta⁻¹, respectivamente; $F=18,49$; $P=0,0007$). La fertilización no afectó la *biomasa de raíces* ($P=0,70$).

Biomasa total de las plantas y partición de la biomasa

De acuerdo a la *biomasa aérea bruta* y a la *biomasa de raíz*, la *biomasa total de las plantas objetivo* (sumatoria de las dos previas) fue un 191% mayor en las plantas de BW (4,3 vs 1,5 g.planta⁻¹; $F=53,09$; $P < 0,0001$) y un 36% menor con vecinos BW que con vecinos DG (2,2 vs 3,5 g.planta⁻¹, respectivamente; $F=10,86$; $P=0,0053$). Como consecuencia, la *partición* en torno de la *biomasa aérea* fue un 15% mayor en plantas de BW (0,77 vs. 0,67 en plantas de BW y DG, respectivamente; $F=7,15$; $P=0,018$) y un 27% mayor con vecinos BW (0,76 vs. 0,68 con vecinos BW y DG, respectivamente; $F=5,36$; $P=0,0363$). La respuesta inversa fue obtenida en torno a la *partición hacia la raíz*. La misma fue un 42% menor en plantas objetivo de BW respecto de plantas de DG (0,22 vs. 0,33, respectivamente; $F=15,68$; $P=0,014$). La fertilización no ejerció efecto sobre la *biomasa total de la planta objetivo* o en la *partición de biomasa* ($P > 0,05$).

Índice de competencia relativa

DG parece ser un competidor menos agresivo que BW porque el *índice de competencia relativa* (ICR) fue positivo (32%) para la primera especie y negativo (-61%) para la segunda ($F=12,17$; $P=0,01$). Estos resultados sugieren que la competencia interespecífica es más fuerte que la intraespecífica en DG; lo contrario ocurre con la especie anual/bianual BW que se beneficia con un competidores menos agresivo -DG-. El ICR se incrementó levemente con la fertilización nitrogenada pero su efecto no fue estadísticamente significativo ($P=0,13$).

3.4. DISCUSIÓN

Efecto de las especies

BW presentó mayor tamaño de macollos (mayor LL_v; Figura 3.2a; Cuadro 3.2) respecto de DG en todas las cohortes evaluadas debido a su mayor tamaño final de láminas (hasta un 85% superior; datos no presentados) y un aproximadamente 70% mayor *largo del pseudotallo* (Figura 3.2b). Ambos mecanismos sugieren que BW presenta una mayor competitividad por luz respecto de DG. Además de hojas y pseudotallos más largos, el tamaño del macollo está compuesto por un mayor NH_v (Hume 1991a). Sin embargo, BW presentó menor NHe y NH_v con respecto a DG (BW=5,7 vs. DG= 8,6 NH_v.macollo⁻¹; Figuras 3.1b y 3.1c; Cuadro 3.1) pero sólo en el macollo principal. Estos valores de DG son similares a aquéllos hallados por Duru y Ducrocq (2000 a); (entre 4,8 y 7,0 en diferentes períodos de crecimiento), pero mayores a aquéllos encontrados por otros investigadores (entre 4 y 5 NH_v por macollo en diferentes cultivares de DG y de BW) (Rawnsley et al. 2002, Turner et al. a,b, 2006, Berone y Dreher 2007). BW tuvo mayor AF_m, mayor *biomasa de láminas* (Figura

3.3b), mayor *biomasa de pseudotallos* (Figura 3.3c), *biomasa viva y bruta aérea de macollos* (Figura 3.3a) respecto de DG en las tres cohortes de macollos evaluadas.

A pesar de su menor tamaño de macollos, DG no presentó mayor densidad final de macollos (Figura 3.2c; Cuadro 3.2) que BW debido a un incremento dinámico en la proporción de hojas en activo crecimiento ($NH_c:NH_v^{-1}$; Figura 3.1c; Cuadro 3.1) en los macollos más jóvenes. Dicho cambio estructural fue determinante de una menor cantidad de carbono exportable a llenado de sitios (LIs; Capítulo 2) (Berone et al. 2007a) y a macollaje, debido a que la zona de crecimiento de la hoja es un destino fuerte con prioridad en el uso y la acumulación de los propios carbohidratos producidos (Volontec y Nelson 1984, Gautier et al. 1999, Nelson 2000, Schnyder et al. 2000). Este mecanismo estructural de control de la *densidad de macollos* sería alternativo a aquél morfogénico discutido en el Capítulo 2 de la presente Tesis; ambos mecanismos de control serán tratados en el Capítulo 5.

Efecto de los vecinos

Se observaron efectos diferenciales de los vecinos sobre la *densidad de macollos* y la biomasa de las plantas. Los vecinos anuales restringieron un 30% la *densidad de macollos* (Figura 3.2 c, Cuadro 3.2) asociada a un menor NH_e y NH_v y una mayor proporción $NH_c:NH_v^{-1}$ en el macollo 50-dde/20-ddf (Figuras 3.1b, 3.1c y 3.1d, Cuadro 3.1). Esto pudo haber constituido una restricción en la partición de carbono hacia los meristemas axilares y por lo tanto hacia el incremento en la *densidad de macollos*, ya que las hojas comienzan a atender la demanda de carbono de las yemas axilares recién cuando han alcanzado el 80% de su largo final (Schnyder et al. 2000). Este ajuste temprano en el NH_e y en el NH_v en macollos de edad intermedia actuó como un mecanismo regulatorio que disminuyó el macollaje en plantas rodeadas por vecinos

anuales. Esta disminución en el NHe representó una estrategia que promovió la muerte temprana de hojas expandidas (asociada a una menor longevidad de las hojas= menor VMF, Capítulo 2), y no de aquéllas en activo crecimiento (menor NHe pero similar NHc) que pueden vegetar en estratos mejor iluminados del canopeo. Tal como fuera demostrado en otros experimentos que involucran gramíneas C₃ (Bahmani et al. 2000, Nelson 2000), no se observó efecto de los vecinos sobre el NHc (Figura 3.1 a). Este mecanismo estructural de control de la *densidad de macollos* sería simultáneo a aquél morfogénico discutido en el Capítulo 2 de la presente Tesis; ambos mecanismos de control serán tratados en el Capítulo 5. Este mecanismo estructural regulatorio estuvo asociado con un temprano decrecimiento (66-dde) en la RFA transmitida al suelo del 26%, causado por los vecinos anuales (102 $\mu\text{MOL}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ con vecinos BW vs. 138 $\mu\text{MOL}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ con vecinos DG). Entonces, esta restricción temprana en la ocupación horizontal del espacio conducida por los vecinos anuales resulta de gran importancia durante el establecimiento de la pastura y/o cuando los canopeos son poco densos (Virkajärvi y Järvenranta 2001). En este sentido, el macollaje representa una respuesta de explotación u oportunística (Nelson 2000) y también está asociado con la persistencia de las especies (Hume 1991a). Obviamente, esto puede condicionar la composición florística futura de la comunidad (Ross y Harper 1972, Eagles et al. 1982).

Sin embargo, los vecinos anuales no incrementaron la LLv (Figura 3.2a; Cuadro 3.2) o la *longitud de los pseudotallos* (similar tamaño del macollo; excepto en el macollo más joven; Figura 3.2b) durante los primeros 85 días de emergidas las plantas no detectaron señales anticipatorias de competencia cuando la intercepción del canopeo fue $\leq 93\%$. Las respuestas de evasión al sombreado ocurren antes que las plantas sean directamente sombreadas (efecto indirecto y directo del sombreado, respectivamente (Lemaire y Millard 1999). Sin embargo, no siempre son esperables incrementos en la

TEF o en la LLv; esta respuesta puede ocurrir (Casal et al. 1985), depender del orden de aparición del fitómero (Zhu et al. 2014), depender de la zona de la hoja que reciba el estímulo lumínico; lámina o pseudotallo (Skinner y Simmons 1993) o puede no ocurrir (Monaco y Briske 2000). A pesar de esto, la longitud del pseudotallo de las plantas de BW rodeadas por vecinos de su misma especie fue un 25% mayor que aquéllas rodeadas por vecinos DG (Figura 3.2b) en el macollo más joven (60-dde/30-ddf). Esto estuvo asociado con limitaciones lumínicas hacia el final del período experimental. Esta respuesta de evasión al sombreado ocurre antes que las plantas perciban una reducción en la relación rojo: rojo lejano y antes que sean directamente sombreadas, representando una señal de proximidad de vecinos (Ballaré et al. 1987, 1990).

Mientras los vecinos anuales no incrementaron el tamaño de macollo (similar altura de macollo), promovieron el decrecimiento de la *biomasa aérea bruta del macollo* (tamaño del macollo en biomasa ver después en Jerarquías entre cohortes y entre plantas en el canopeo) asociado principalmente a una menor *biomasa del pseudotallo* (Figuras 3.3a y 3.3c) en la cohorte 50-dde/20 ddf. Probablemente esto se haya debido a un efecto de dilución de la materia seca del pseudotallo ($<g.cm^{-1}$). No se pudieron detectar otros efectos significativos en el macollo de 60-dde/30-ddf probablemente debido a su corto período de evaluación (21 días previos a la cosecha final).

Por lo tanto, las plantas de ambas especies crecieron más cuando estuvieron rodeadas de vecinos perennes al ser la competencia intraespecífica más intensa en BW y la interespecífica, en DG; el ICR (*índice de competencia relativa*) fue de signo negativo para BW y positivo para DG y que el signo de esta relación sorprendentemente no se modificara por efecto del nitrógeno. Esto estuvo asociado a la menor *densidad de macollos* por planta inducida por el vecino anual que restringió la *biomasa de láminas* y

de *pseudotallos* de las plantas (Figura 3.4. b y c). Además, los vecinos anuales decrecieron la *biomasa de raíz* (Figura 3.4d) y la partición de biomasa hacia la misma (reducida al 34% vs. el vecino perenne: 59%). Estos resultados sugieren que durante el establecimiento de la pastura, los vecinos anuales no mejorarían la competencia por luz de las plantas pero limitarían la colonización horizontal del espacio y la habilidad para adquirir eficientemente nutrientes del suelo; esto es importante en el resultado competitivo bajo condiciones de alta disponibilidad de nutrientes (Sugiyama 1999). Este efecto de los vecinos es especialmente relevante en especies de lento establecimiento, como lo es la gramínea perenne DG, cuyas plántulas tienen baja habilidad competitiva asociada a su lento crecimiento subterráneo inicial (Nurjaya y Tow 2001). Este crecimiento inicial puede condicionar su desempeño posterior debido a que la habilidad competitiva de DG se correlaciona positivamente con el peso de sus raíces durante el segundo año luego del establecimiento (Sugiyama y Nakashima 1994).

Efecto de la fertilización nitrogenada

Debido a que la fertilización nitrogenada promovió la tasa de elongación foliar (TEF; Capítulo 2), ésta estuvo también asociada con ciertas variables estructurales, principalmente a la *longitud total de láminas verdes* (Figura 3.2a; Cuadro 3.2) y a la *longitud del pseudotallo* (Figura 3.2b, Cuadro 3.1). Este incremento en la longitud del pseudotallo causado por el nitrógeno acuerda con lo hallado por Duru y Ducrocq (2000b) y con Duru et al. (2000). Esta inversión en *longitud de láminas* y de *pseudotallos* explica el incremento en el AF_m (Cuadro 3.1) que puede ser posicionado en horizontes superiores del canopeo. En los macollos principales, este balance de carbono y biomasa positivos permitió el incremento en la *biomasa aérea bruta* (Figura 3.3a) y *biomasa viva del macollo* vía incrementos en la *biomasa de láminas* (Figura

3.3b) y en la *biomasa de pseudotallos* (Figura 3.3.c) sólo en los macollos principales. Este incremento en la *biomasa de pseudotallos* acuerda con lo reportado por Calvière y Duru (1999) y con Duru et al. (2000). El efecto de la fertilización resulta en un incremento inmediato del número de células de los macollos presentes al momento de la fertilización (Volontec y Nelson 1983, Gastal y Durand 2000), esto es, en los macollos más viejos y mejor iluminados; asociado con el gradiente vertical de distribución de nitrógeno en las hojas paralelo a la distribución vertical de luz dentro del canopeo (Löttscher et al. 2003).

La fertilización nitrogenada afectó las longitudes (largos frescos) más que los pesos (materia seca) de los macollos evaluados. Este efecto parece diluirse desde los macollos más viejos a los más jóvenes debido a que sólo la respuesta en *longitud de los pseudotallos* permaneció significativa hasta el macollo de 60-dde/30-ddf. En los macollos más jóvenes, los incrementos en la LLv y en la *longitud de los pseudotallos* no fueron acompañados por cambios en la *biomasa de láminas* o en la *biomasa de pseudotallos* (Figuras 3.3b y 3.3c), probablemente debido a reducciones en el peso por unidad de longitud (datos no presentados). Esto podría representar un mecanismo de conservación de la material seca en etapas tempranas de la siembra, relacionado con una expansión volumétrica de los tejidos (Schnyder et al. 2000).

La fertilización nitrogenada no afectó el *número de hojas vivas por macollo* (NHv; Figura 3.1c) debido a que no afectó la TAF (tasa de aparición foliar) o la VMF (vida media foliar; Capítulo 2). El nitrógeno no afectó la *densidad de macollos* o las biomásas ($P > 0.05$) a escala planta.

Jerarquías entre cohortes y entre plantas en el canopeo

Durante el establecimiento de la pastura (esto es durante los 85-dde) se establecieron jerarquías de plantas dominantes dentro del canopeo determinadas por características genéticas de las especies: las plantas de BW fueron más altas y erectófilas ($> LLv$ y $> longitud\ de\ pseudotallos$) (Figuras 3.2a y 3.2b) respecto de las plantas de DG. Esta jerarquía genética en la habilidad para capturar luz se impone tempranamente durante la etapa de establecimiento de la pastura (desde el macollo principal) en canopeos compuestos por gramíneas C_3 anuales y perennes.

Mientras tanto, la falta de incremento en el tamaño del macollo -LLv- (esto es una respuesta de evasión al sombreado; Figura 3.2a) por efecto de los vecinos se debe a que el incremento en el tamaño del macollo sólo se observa en canopeos sombreados (Casal et al. 1987, Virkajärvi y Järvenranta 2001). Éste no es el caso durante la fase de establecimiento de la pastura debido a que durante este período no ha sido posible completar las etapas del proceso de competencia por luz (Lemaire 2001) cuando la intercepción del canopeo fue $\leq 93\%$ de la radiación incidente. La jerarquía ambiental entre plantas dentro del canopeo se desarrollaría en etapas posteriores a la fase de establecimiento (> 85 dde y 100 dds en este tipo de mezclas). Sin embargo, un signo de jerarquía plástica conducida por los vecinos anuales fue observada: en el macollo más joven (60-dde/30-ddf), la *longitud del pseudotallo* de las plantas de BW rodeadas por vecinos de su misma especie fue mayor que aquéllas rodeadas por vecinos DG (Figura 3.2b). Esto estuvo asociado con limitaciones lumínicas hacia el final del período experimental. Esta respuesta de evasión al sombreado ocurre antes que las plantas perciban una reducción en la relación rojo: rojo lejano y antes que sean directamente sombreadas, representando una señal de proximidad de vecinos (Ballaré et al. 1987, 1990), y en este caso, antes que el LLv cambie (Figura 3.2a, Cuadro 3.1).

Los vecinos condujeron la ocupación aérea y la colonización subterránea. El menor NHe de macollos de edad intermedia de plantas rodeadas por vecinos BW probablemente indujeron un decrecimiento de la *densidad de macollos* (Figura 3.4a y Cuadro 3.3). Esta restricción temprana en la ocupación horizontal del espacio conducida por los vecinos anuales es de gran importancia durante el establecimiento de la pastura y/o cuando los canopeos son poco densos (Virrkajärvi y Järvenranta 2001). En este sentido, el macollaje representa una respuesta de explotación u oportunística (Nelson 2000). Obviamente, esto puede condicionar la composición florística futura de la comunidad (Ross y Harper 1972, Eagles et al. 1982).

Los vecinos anuales decrecieron la *biomasa de raíz* (Cuadro 3.3) y la partición de biomasa hacia la misma. Esto sugiere que durante el establecimiento de la pastura, los vecinos anuales no mejoran la competencia por luz de las plantas o la colonización horizontal del espacio pero limitan la habilidad para adquirir eficientemente nutrientes del suelo; esto es importante en el resultado competitivo bajo condiciones de alta disponibilidad de nutrientes (Sugiyama 1999). Este efecto de los vecinos es especialmente relevante en especies de lento establecimiento, como lo es la gramínea perenne DG, cuyas plántulas tienen baja habilidad competitiva asociada a su lento crecimiento subterráneo inicial (Nurjaya y Tow 2001). Este crecimiento inicial puede determinar su desempeño posterior debido a que la habilidad competitiva de DG se correlaciona positivamente con el peso de sus raíces durante el segundo año luego del establecimiento (Sugiyama y Nakashima 1994). Por lo tanto, los vecinos anuales limitaron la jerarquía en la colonización subterránea de las plantas, lo que está relacionado con la captura de agua y de nitrógeno en el corto plazo y con su futura habilidad competitiva por luz y por nutrientes (Lemaire 2001).

Se observó también una jerarquía entre cohortes de macollos; aquéllas menos iluminadas tuvieron una jerarquía dominada dentro de la estructura de la planta, presentando menores LLv (Figura 3.2a, Cuadro 3.1) y *longitudes de pseudotallos* (Figura 3.2b, Cuadro 3.1), mientras que aquéllas mejor iluminadas presentaron un patrón opuesto. Las relaciones entre macollos en desarrollo puede ser crítica para el éxito de la planta en su conjunto debido a que es esencial particionar recursos hacia aquéllos con mayor probabilidad de tener alto rendimiento de por vida (Novoplansky 2003). En plantas jóvenes de gramíneas, el macollo más grande es al mismo tiempo el de mejor desempeño presente y futuro; esto es, con una jerarquía dominante dentro de la estructura de la planta. En este mismo sentido, los efectos del nitrógeno sobre la LLv (Figura 3.2a) fueron evidentes sólo en los macollos más viejos (macollo principal y cohorte de 50-dde/20-ddf) debido a que el nitrógeno debe haber sido incorporado a los tejidos mejor iluminados de la planta, no estando disponible para la cohorte más juvenil (60-dde/30-ddf). Ambos cambios en los patrones de partición con la edad del macollo, corresponden al cambio de una estrategia de crecimiento de la planta predominantemente horizontal a uno más vertical (Lemaire y Millard 1999).

3.5. CONCLUSIONES

En comunidades multiespecíficas templadas compuestas por gramíneas C_3 anuales/bianuales y perennes (DG+BW), se registraron cambios en rasgos estructurales, de orígenes tanto genéticos como plásticos durante la etapa crítica de establecimiento y en ausencia de defoliación. Los mayores LLv y *longitudes de pseudotallos* de todas las cohortes de macollos evaluadas de la especie anual BW, en comparación con la especie perenne DG, sugieren una mayor jerarquía y habilidad competitiva en la captura de luz de las plantas de BW. A pesar de su menor tamaño de macollo, DG no presentó un

incremento en la *densidad de macollos por planta*, y entonces en la ocupación horizontal temprana del espacio, probablemente debido al incremento en la proporción de hojas en crecimiento ($NH_c.NH_v^{-1}$) registrada en los macollos más jóvenes. Esta baja habilidad de ocupación horizontal del espacio puede impactar negativamente en la habilidad de la gramínea perenne para persistir dentro de la comunidad. Sin embargo, no pudo establecerse una jerarquía ambiental en la captura de luz –incrementos en la longitud de lámina verde por macollo o en el largo de los pseudotallos- ya que el incremento en el tamaño de los macollos sólo puede ser observado en canopeos sombreados, lo que no es el caso durante la fase de establecimiento.

Sin embargo, los vecinos condujeron la ocupación aérea horizontal y la colonización subterránea. El ajuste temprano en *el número de hojas expandidas y vivas* (NH_e y NH_v) en macollos de edad intermedia (macollo de 20-ddf/50-dde), actuó como un mecanismo regulatorio que produjo la disminución en la *densidad de macollos* de las plantas rodeadas por vecinos anuales. También, los vecinos anuales limitaron la colonización subterránea (menor *biomasa de raíz* de las plantas) y la habilidad competitiva por los recursos del suelo. Esto es especialmente relevante en especies de lento establecimiento como es el caso de la perenne DG, que presenta lento crecimiento subterráneo inicial y captura de nitrógeno. Esto puede condicionar el desempeño posterior de la gramínea perenne en la pastura. La fertilización nitrogenada invernal mejoró la altura de los macollos en todas las cohortes evaluadas, y la captura de luz, pero no la biomasa de los macollos o la densidad de macollos por planta; por lo tanto, su efecto no resultó significativo a escala planta.

La jerarquía en la captura de luz estaría relacionada con los genotipos elegidos, mientras que las jerarquías en la ocupación horizontal y colonización subterránea del espacio son claramente controlados por los vecinos, y por lo tanto de origen ambiental o

plástico. Estos hallazgos han permitido clarificar algunos mecanismos estructurales involucrados en las interacciones competitivas tempranas entre gramíneas anuales y perennes en la línea de siembra y enfatizan la importancia de las decisiones culturales al momento de planificar comunidades multiespecíficas templadas. Sin embargo, estas respuestas deberían ser evaluadas en etapas posteriores del cultivo.

Capítulo 4

Efectos de la defoliación y la fertilización nitrogenada sobre la productividad y persistencia de gramíneas C₃ perennes en pasturas multiespecíficas

4.1. INTRODUCCIÓN

Quienes diseñan y manejan pasturas suelen buscar aquella composición florística que asegure obtener pasturas densas y longevas (Kemp y King 2001). La composición florística óptima es aquella en la que las gramíneas perennes y las leguminosas dominan sobre las gramíneas anuales (Kemp et al. 2000, Kemp y King 2001, Laidlaw y Teuber 2001). El funcionamiento de estas pasturas perennes longevas presenta ventajas respecto de las de vida más corta ya que hacen un uso más eficiente del agua, capturan mejor los nitratos y proporcionan una mayor cobertura del suelo, lo que reduce la invasión de malezas (Kemp et al. 2000, Harris 2001, Garden y Bolger 2001, Sanderson et al. 2002). Asimismo, los tapices dominados por especies perennes presentan menor variabilidad productiva a lo largo del año que los dominados por anuales (Kemp et al. 2000, Lazenby y Tow 2001). Las decisiones culturales pueden inducir pérdida de especies –cambios en la composición florística- que conduzcan a incrementar la variabilidad intra e interanual de la productividad en las pasturas. Entre las decisiones culturales posteriores a la siembra, que deben procurar mantener aquella composición florística óptima, se encuentran las estrategias de fertilización y de defoliación.

En ambientes templado-húmedos de Argentina, heterogéneos en el tiempo y en el espacio, las mezclas utilizadas suelen incluir gramíneas C₃ anuales y perennes y leguminosas erectas y rastreras. Aunque estas comunidades multiespecíficas crecen durante todo el año, se establecen relaciones de hasta 10 a 1 en términos de productividad primaria neta aérea entre períodos de máximo (primavera) y mínimo crecimiento del forraje (invierno) (Mazzanti y Arosteguy 1985). A fin de disminuir esa estacionalidad productiva intraanual, las pasturas suelen ser fertilizadas con nitrógeno (N) en otoño y/o en invierno.

La siembra de gramíneas C₃ anuales suplementadas con la aplicación de N provee una gran cantidad de forraje verde hacia el final del invierno, lo que permite maximizar la productividad de las pasturas y atenuar la variabilidad productiva intraanual (Kemp y King 2001). Sin embargo, el aumento de productividad esperado en respuesta al agregado de N podría ser simultáneo con el desplazamiento de ciertos grupos funcionales o especies inicialmente poco abundantes. Entre ellos se destacan las gramíneas perennes, afectadas por la competencia ejercida por las anuales, y las leguminosas, que sostienen simbioses fijadoras cuya actividad se inhibe cuando la disponibilidad de N mineral edáfico es elevada (Suding et al. 2005).

Por otra parte, dado que durante el período crítico de escasez de forraje resulta complicado hacer ajustes estacionales en la carga animal y el uso de reservas forrajeras es escaso (Berone et al. 2008), las gramíneas suelen tener períodos de descanso insuficientes debido a que la demanda nutricional del ganado y la disponibilidad del forraje conducen a reiteraciones de las defoliaciones antes de que las plantas se encuentren en su estado fisiológico óptimo. Los patrones de defoliación pueden afectar significativamente la persistencia y la productividad de las especies (Madakadze et al. 1999). La defoliación tiene un efecto directo en el funcionamiento de las plantas defoliadas, asociado con la reducción del ingreso de carbono (Gautier et al. 1999, Lemaire y Agnusdei 2000, Lemaire 2001, Cullen et al. 2006), y también, un efecto indirecto a partir de la modificación de las condiciones microambientales generadas por las plantas vecinas (Lemaire 2001). En este sentido, la defoliación es un disturbio que controla la intensidad de la competencia y la relaja temporalmente por la liberación de recursos –luz, agua y nutrientes- que provoca (Briske y Heismidt 1991).

La extensión del período entre defoliaciones es capaz de cambiar la dinámica de la competencia por el espacio en canopeos gramíneos (Belesky 2006). La definición de la frecuencia óptima de defoliación en una gramínea se basa en parámetros morfogenéticos. Se recomienda que entre dos defoliaciones sucesivas transcurra el tiempo que demanda la completa expansión del número máximo de hojas vivas por macollo (Lemaire y Agnusdei 2000, Fulkerson y Donaghy 2001). Esta etapa ontogénica del macollo, o edad de rebrote, coincide con el comienzo de la senescencia de la primera hoja producida después de la última defoliación, la hoja más vieja del macollo. Este período está representado por la vida media foliar (VMF; Fulkerson y Slack 1994, Berone et al. 2008). La aplicación de esta aproximación de "óptimo fisiológico" para orientar el manejo de la defoliación, permite maximizar las tasas de crecimiento, recuperar el nivel de reservas, reanudar el crecimiento de las raíces, incrementar el macollaje, mantener la calidad del forraje para los animales y mejorar la persistencia de las especies (Fulkerson y Slack 1994, Donaghy y Fulkerson 1997, Donaghy et al. 1997, Fulkerson y Donaghy 2001, Rawnsley et al. 2002, Turner et al. 2006 a, Donaghy et al. 2008). Entonces, las altas frecuencias de defoliación (superiores al óptimo de tolerancia de cada especie) típicas del período otoño-invernal podrían impactar negativamente sobre el crecimiento, la habilidad competitiva y la persistencia de las especies (Fulkerson y Donaghy 2001). Como consecuencia, las defoliaciones realizadas durante el período crítico de establecimiento-implantación de la pastura (primer año de vida) son decisivas para el éxito de la pastura a largo plazo.

Numerosos estudios evaluaron el efecto de la frecuencia de defoliación establecida con un criterio fisiológico en monoculturas (Fulkerson y Slack 1994, Nelson 2000, Lemaire y Agnusdei 2000, Rawnsley et al. 2002, Fulkerson y Donaghy 2001, Watson et al. 2001, Turner et al. 2006 a,c, Donaghy et al. 2008). La frecuencia de defoliación puede tener

efectos contrapuestos sobre las variables morfogénicas de las especies. Por ejemplo, altas frecuencias de defoliación no modificaron la *tasa de aparición foliar* (TAF), el *filocrono* o la *tasa de elongación foliar por macollo* (TEF) aunque sí la *tasa de aparición de macollos* (TAM) en *Lolium perenne* (Poff et al. 2011). En otros estudios las altas frecuencias de defoliación afectaron simultáneamente el rebrote de láminas, asociado a la TAF y la TEF, el macollaje y el crecimiento de las raíces (Donaghy y Fulkerson 1997, Rawnsley et al. 2002).

La aproximación del "óptimo fisiológico" ha sido, en cambio, muy poco evaluada en cultivos pluriespecíficos, en los que respetar la frecuencia fisiológica óptima de una especie puede impactar negativamente sobre el crecimiento y la persistencia de las especies acompañantes, por imponerles una frecuencia excesiva de defoliación. Éste podría ser el caso de mezclas de formas de vida anuales y perennes, lo que colocaría a la gramínea perenne, con hojas de mayor VMF (Capítulo 2), en una situación de extrema vulnerabilidad frente a las anuales, altamente competitivas. Por otro lado, la recuperación de las especies luego de la defoliación no sólo depende de la capacidad intrínseca de cada una y de las características de la defoliación, sino también del ambiente biótico y abiótico –luz, agua y nutrientes- en el que crece la planta (Richards 1993). El impacto negativo de la defoliación en el desempeño de la planta suele ser mayor en condiciones estresantes que en condiciones favorables (Sugiyama y Nakashima 1995). El aporte de nitrógeno no sólo afecta a la competencia de las especies sino también a sus respuestas relativas a la defoliación (Remison y Snaydon 1980). Sin embargo, pocos trabajos han evaluado con esta aproximación fisiológica, la capacidad de recuperación de las especies defoliadas reiteradamente con frecuencias excesivas (excepto por ejemplo Turner et al. 2006 c). En este marco, a la hora de aplicar una defoliación a una pastura pluriespecífica es clave

determinar cuál de las especies se tomará como referencia –especie guía- y con qué frecuencia se la defoliará –número de hojas por macollo-.

El objetivo del presente Capítulo es analizar los efectos de la fertilización nitrogenada invernal y la frecuencia de defoliación sobre la productividad y la persistencia de la gramínea perenne en canopeos compuestos por gramíneas C_3 anuales y perennes. Este Capítulo está enfocado en el nivel de organización poblacional y analiza los mecanismos morfogénicos, estructurales y funcionales de la gramínea perenne, así como las consecuencias de los dos factores sobre su capacidad de crecer y persistir, durante el período crítico de implantación de la pastura (mediano plazo).

Las hipótesis que guían este estudio son que:

Hipótesis 4.1. *Frecuencias de defoliación superiores al óptimo fisiológico de la gramínea C_3 perenne, aplicadas durante el período otoño-invierno, afectarán negativamente su crecimiento, su cobertura relativa y su persistencia en la pastura. Estos efectos negativos no podrán ser revertidos por una adecuación posterior de la frecuencia de defoliación (primavera-verano).*

Predicciones 4.1. *Las altas frecuencias de defoliación disminuirán permanentemente el rebrote de láminas, la densidad de macollos, el nivel de hidratos de carbono de reserva y el crecimiento radical, aunque no la TAF o el filocrono de la especie perenne de la pastura, respecto de la frecuencia óptima de defoliación. Estos efectos serán independientes de la adecuación posterior en la frecuencia de defoliación.*

Hipótesis 4.2. *El efecto negativo de las altas frecuencias de defoliación sobre la gramínea C_3 perenne será mayor en pasturas no fertilizadas que en las fertilizadas, debido a la mayor limitación por nitrógeno de las primeras.*

Predicción 4.2. *La escasez de N magnificará los efectos de las altas frecuencias de defoliación sobre las mencionadas variables de respuesta respecto de las pasturas fertilizadas.*

4.2. MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y diseño experimental

El 8 de Abril de 2010 se sembraron veinticuatro unidades experimentales (mini-canopeos) de cinco líneas alternas de 0,24 m de longitud, distanciadas 0,175 m entre sí (aproximadamente 0,21 m²). Todas las unidades experimentales tuvieron la misma composición florística inicial: tres líneas correspondieron a las gramíneas, *Bromus willdenowii* cv. Fortín Pergamino (BW= cebadilla; especie anual/ bianual) y *Dactylis glomerata* cv. Porto (DG= pasto ovillo; especie perenne), mientras que las otras dos líneas fueron sembradas con *Trifolium pratense* cv. Redgold (TP= trébol rojo), a fin de simular la típica composición de una pastura templado-húmeda. Cada línea de gramíneas tuvo 15 plantas, 10 de DG y 5 de BW (aproximadamente 35% de DG+15% de BW; 50% de gramíneas; 214 plantas de gramíneas.m⁻²), sembradas manualmente en una secuencia que involucró todas las posibles combinaciones de competencia intra e interespecífica que pueden establecerse entre ambas especies en una siembra a chorrillo en la línea. Las dos líneas de TP tuvieron 7 plantas (50% de leguminosas; 67 plantas.m⁻²). El arreglo de siembra de los mini-canopeos se puede observar en la Figura 4.1. Los mismos fueron desmalezados y regados manualmente para evitar déficits hídricos.

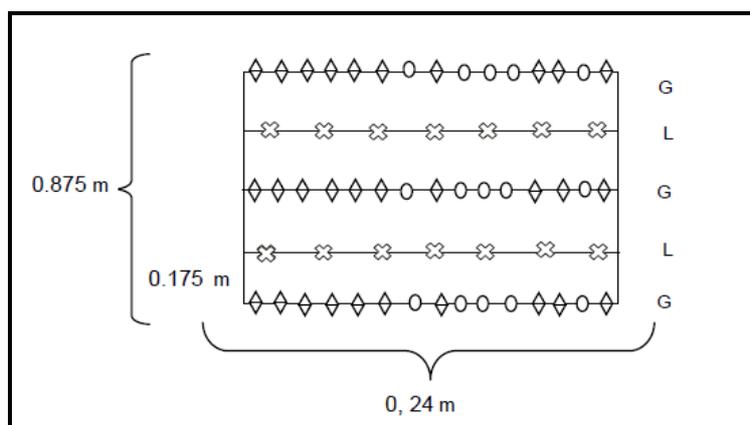


Figura 4.1. Diagrama del arreglo de siembra de los mini-canopeos idénticos en su composición florística inicial en los que se respetaron frecuencias altas y óptimas de defoliación para cada una de las especies guía: *Dactylis glomerata* [DG] y *Bromus willdenowii* [BW]). ♦ DG y • BW; × *Trifolium pratense* [TP]; G línea de gramíneas y L línea de leguminosas (TP).

Después de la emergencia, la densidad fue reducida manualmente para obtener aproximadamente 200 plántulas de gramíneas por m^2 , con 1,5 cm entre plantas. Este espaciamiento entre plántulas es usualmente obtenido en pasturas en Argentina dos meses después de la siembra (Gatti et al. 2011). A los mini-canopeos se le aplicaron aleatoriamente los tratamientos, en un arreglo factorial con 2 niveles de fertilización (no= N^- /si= N^+ = fertilización con $170 \text{ kgN} \cdot \text{ha}^{-1}$ aplicados en invierno) y 4 tipos de defoliación, resultantes de la combinación de especie guía (BW ó DG) y frecuencia de defoliación o número de hojas de rebrote por macollo (cada vez que la especie guía alcanzó 4 Hojas: [4H] ó 2 Hojas: [2H] de rebrote por macollo; BW 2H, DG 2H, BW 4H y DG 4H [tratamiento testigo]), formando un diseño en bloques completos aleatorizado con tres repeticiones. Los bloques controlaron dos fuentes de variación: la posición topográfica y el contenido inicial de fósforo. Debido a la alta demanda del nutriente de las leguminosas, elevamos el contenido edáfico a 20 ppm de forma tal que las plantas recibieron a la siembra entre 59 y 95 kg de P/ha, respectivamente, de acuerdo a Rubio et al. (2012).

Determinación del estado de rebrote requerido

Para establecer los niveles de frecuencia de defoliación arriba mencionados (2 o 4 hojas) se consideró que el intervalo óptimo entre defoliaciones o período de descanso óptimo, recíprocas de la frecuencia de defoliación (Lemaire et al. 2009), para cada especie fue el tiempo que demandó la completa expansión del número máximo de hojas vivas por macollo (NHv) luego del corte. DG mantiene alrededor de cuatro a cinco hojas vivas por macollo (Fulkerson y Donaghy 2001, Rawnsley et al. 2002, Turner et al. 2006 a,c). BW mantiene entre cuatro y seis hojas vivas por macollo (Hume 1991a, Duru y Ducrocq 2000a, Fulkerson et al. 2000, Turner et al. 2006 a,b, Berone y Dreher 2007). Estos valores resultan similares al promedio de los obtenidos y comunicados en el Capítulo 3: 5,09 y 4,13 NHv en DG y BW, respectivamente (promedio entre situaciones de competencia, prácticas de fertilización y cohortes de edades de macollos). Por lo tanto, en este ensayo se asumió un estado fisiológico óptimo para el corte de cuatro hojas por macollo, común para ambas especies (ver Colección de datos). Debido a que BW presenta una tasa de aparición foliar (inversa del filocrono) más rápida que DG (filocrono de BW entre 103- 123 vs. filocrono de DG entre 160-204 °C-día; Hume 1991a, Lemaire y Agnusdei 2000, Rawnsley et al. 2002, Turner et al. 2006a, Berone y Dreher 2007), la aparición y elongación de cuatro hojas nuevas por macollo requirió de intervalos diferentes entre defoliaciones para ambas especies guía.

Período experimental

El período experimental fue subdividido en tres subperíodos: (1) inicial, emergencia-primer corte, (2) entrenamiento y (3) recuperación, de acuerdo a Berone et al. (2008). Las observaciones abarcaron los dos últimos subperíodos (Ver Cuadro 4.1). Durante el

subperíodo inicial (1), el 8 de Julio (89 días desde la siembra (dds) y 67 días desde la emergencia (dde) y ≈ 1000 grados centígrados día (GDC), se consideró que ambas especies se encontraban plenamente establecidas, se realizó un corte general de los mini-canopeos y se iniciaron las observaciones. Se adoptó este criterio debido a que las plántulas de especies forrajeras se consideran establecidas cuando aparecieron 4 ó 5 hojas y por lo menos 2 macollos y 2 raíces adventicias, aproximadamente entre 40 y 50 días desde emergencia (dde; Ries y Svejcar 1991, Sanderson et al. 2002). Al momento del corte inicial, DG tuvo en promedio $3,75 \text{ hojas} \cdot \text{macollo}^{-1}$ y $7 \text{ macollos} \cdot \text{planta}^{-1}$ y BW, $4,44 \text{ hojas} \cdot \text{macollo}^{-1}$ y $13 \text{ macollos} \cdot \text{planta}^{-1}$). Eso hizo un total aproximado de 1625 macollos de gramíneas por m^{-2} en cada mini-canopeo (repartidos prácticamente en partes iguales entre DG y BW, 816 y 809 macollos. m^{-2} , respectivamente). En ese momento la radiación interceptada por los mini-canopeos fue de $69,39 \pm 6,09$ % de la radiación incidente.

Durante el subperíodo de entrenamiento (2) se aplicaron los diferentes tratamientos de fertilización y de defoliación. La fertilización nitrogenada se realizó el 16 de Julio (97 dds, 75 dde y 8 días después del corte inicial), en pleno invierno. En ese momento el contenido edáfico de NO_3^- era de $31,6 \text{ mg kg}^{-1}$. Los tratamientos que se anticiparon a las frecuencias consideradas óptimas de las especies guía fueron definidos para la mitad del número de hojas vivas óptimo por macollo (2 hojas: [2H]). Así, durante este subperíodo, se realizaron 2 cortes en cada mini-canopeo que debió alcanzar 2 hojas nuevas por macollo (tratamientos que anticiparon y reiteraron defoliaciones) y uno solo, en aquéllos que se defoliaron cada vez que las plantas de la especie guía alcanzaban 4 hojas (tratamientos que no reiteraron defoliaciones) (Figura 4.2).

Durante el subperíodo de entrenamiento (2), la fecha de defoliación considerada óptima para la especie guía DG (DG 4H –tratamiento testigo-; en 4 hojas nuevas del rebrote

en DG) fue el 4 de Octubre en los dos niveles de fertilización, ochenta y ocho días después del corte inicial ocurrido el 8 de Julio. La anticipación máxima de defoliación (tratamiento BW 2H); defoliación cada vez que BW tuvo dos hojas por macollo, reiteración de defoliaciones respecto de la defoliación en DG 4H fue de aproximadamente 33 y 39 días en N⁻ y N⁺, respectivamente, ocurrida entre 55 y 49 días luego del corte inicial. En este momento la especie perenne DG presentaba <2 hojas por macollo. La anticipación intermedia ocurrió en los tratamientos de DG 2H; 24 y 28 días antes que DG 4H y 64 y 60 días desde el corte inicial en N⁻ y N⁺, respectivamente. La anticipación mínima ocurrió en los tratamientos defoliados cuando BW tuvo 4 hojas (BW 4H), 14 y 19 días previos al corte de DG 4H y con descansos de 58 y 63 días desde el corte inicial, en N⁻ y N⁺, respectivamente. En ese momento la especie perenne DG presentaba aproximadamente 3 hojas por macollo. La reiteración de defoliaciones durante el subperíodo de entrenamiento (2H) incrementó el filocrono promedio de las especies guía (Ver en Sección de Resultados, Figura 4.4) y esto condicionó las fechas posteriores de defoliación y la duración del período experimental de cada tratamiento (Figura 4.2; Cuadro 4.1).

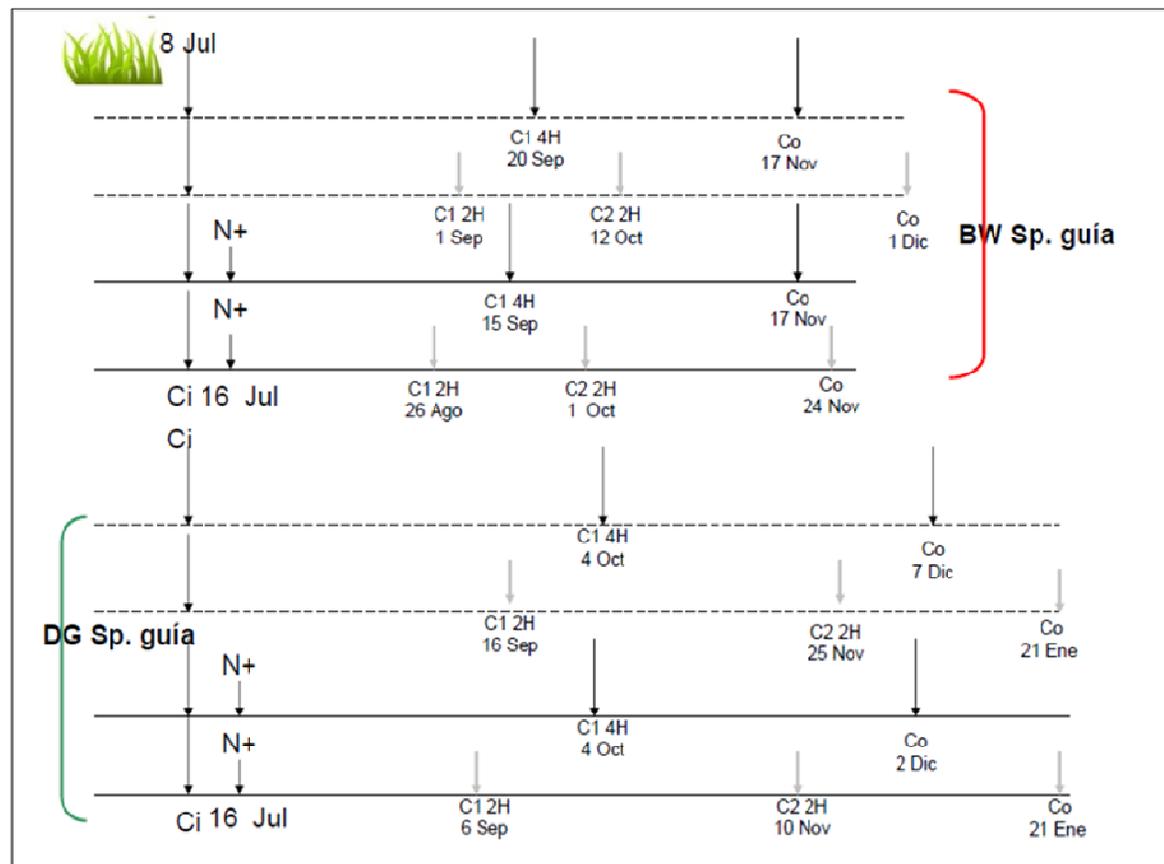


Figura 4.2. Líneas temporales en las que se indica las fechas de cortes y cosechas de la especie perenne *Dactylis glomerata* [DG] para cada uno de los ocho tratamientos: 2 niveles de fertilización (no=N⁻, líneas punteada ó si=N⁺= fertilización con 170 kgN. ha⁻¹ aplicados en invierno, líneas continuas) y 4 tipos de defoliación (resultante de la combinación de especie guía (BW ó DG) y frecuencia de defoliación o número de hojas de rebrote por macollo: 4 Hojas: [4H] ó 2 Hojas: [2H]). El subperíodo de entrenamiento finaliza luego del corte (C) 1 en los tratamientos de 4H y luego del C 2 en 2H. El subperíodo de recuperación finaliza en la cosecha final (Co). Ci=corte inicial.

Fertilización		N ⁻				N ⁺			
Hojas/mac + Sp. guía		2H		4H		2H		4H	
		BW	DG	BW	DG	BW	DG	BW	DG
Entrenamiento (a)	Fecha/s	1/9 y 12/10	10/9 y 25/11	20/9	4/10	26/8 y 1/10	6/9 y 10/11	15/9	4/10
	IE (Días)	55+33= 88	64+70= 134	74	88	49+36= 85	60+56= 116	69	88
	IE (GDC)	483+515= 998	599+1188= 1787	728	924	413+466= 879	536+893= 1429	660	924
	% Rinterc.	≈ 80 y 96	91 y 96	95	98	88 y 95	97 y 95	97	98
	N° hojas en DG	< 2	2	≈ 3	4	< 2	2	≈ 3	4
Recuperación (b)	Fecha	1/12	21/1	17/11	7/12	24/11	21/1	17/11	2/12
	IE (Días)	49	57	58	64	53	72	63	59
	IE (GDC)	946	1384	954	1213	957	1692	1022	1096

Cuadro 4.1. a) Fechas de defoliación, intervalos entre defoliaciones o descansos (IE) y duración del subperíodo de entrenamiento. Los registros obtenidos en las altas frecuencias de defoliación corresponden a los cortes 1 y 2 (anticipación y reiteración de defoliaciones). b) Fechas, intervalos entre defoliaciones y duración del subperíodo de recuperación. % de la radiación interceptada antes de la defoliación (% Rinterc.) y número de hojas por macollo en la especie perenne (n° hojas en DG). Los valores de IE están expresados en días y en grados centígrados día (GDC) contados a partir del corte inicial (8 de Julio) durante el subperíodo de entrenamiento y desde la fecha del último corte durante el subperíodo de recuperación. Efecto del tipo de defoliación (combinación de especie (sp.) guía+frecuencia con cuatro niveles: guía *Dactylis glomerata* [DG] ó guía *Bromus willdenowii* [BW]) + número de hojas del rebrote por macollo cuando se efectuó la defoliación: 2H= defoliación con 2 hojas ó 4H= defoliación) y el efecto de la fertilización nitrogenada invernal (con dos niveles: sin (N⁻) y con 170 kg N. ha⁻¹ (N⁺)).

Durante el subperíodo de recuperación (3), se les permitió a las plantas guía de BW o de DG alcanzar nuevamente 4 hojas nuevas de rebrote por macollo y luego se procedió a la cosecha de la población de la gramínea C_3 perenne *Dactylis glomerata*. La cosecha final de las plantas de DG de la micro-parcela ocurrió en distintas fechas en cada tratamiento (Ver Cuadro 4.1).

Colección de datos

Los momentos de defoliación fueron definidos a partir del registro del número de hojas completamente expandidas en 6 macollos de la especie guía, identificados con anillos de distintos colores en cada micro-parcela. Se eligieron macollos de distintas edades al azar en plantas ubicadas dentro de la línea central de cada mini-canopeo. Se procedió al corte de todas las plantas de los mini-canopeos cuando por lo menos el 50% de los macollos marcados alcanzó el número de hojas por macollo (Berone et al. 2008). Las plantas fueron cortadas manualmente -con tijera escolar- a la altura de la lígula de cada hoja a fin de remover todo el tejido de láminas (Davidson y Milthorpe 1966), lo que significó una defoliación intensa para las plantas (Hirata y Pakiding 2002, Cullen et al. 2006, Lestienne et al. 2006). Las láminas de DG cosechadas en cada fecha fueron secadas en estufa a 65 ° C hasta peso constante, y luego pesadas. La altura mínima de las vainas remanentes fue de 39,2 mm para DG, siendo un 55% más altas en los tratamientos N^+ que en los N^- . Esto permitió: a) separar el efecto de la frecuencia del de la intensidad de defoliación, eliminando el efecto del área foliar remanente, b) basar la respuesta de la especie perenne DG a la frecuencia de defoliación sólo en su capacidad de incremento del índice de área foliar (Nassiri y Elgersma 1998, Nurjaya y Tow 2001), excluyendo eventuales efectos de removilización de hidratos de carbono, debido a que las vainas suelen hacer escaso aporte

de fotosintatos (Parsons et al. 1983, Cullen et al. 2006), c) no afectar el contenido de hidratos de carbono solubles de reserva (HCR) en el rastrojo remanente de la especie ya que la altura de defoliación aceptable fue definida en 30 mm para DG (Turner et al. 2007) y d) obligar a las plantas en el inicio del rebrote a generar nuevos tejidos fotosintéticos a partir de la utilización de los HCR almacenados (Fulkerson y Donaghy 2001).

Durante ambos subperíodos (2 y 3) se registró semanalmente la *aparición de las hojas* por macollo (Duru y Ducrocq 2000a,b) en 3 de los macollos marcados por micro-parcela. Las plantas fueron cosechadas enteras 3 horas después de la salida del sol a fin de evitar el efecto confundido de la fluctuación diaria en la concentración de los *hidratos de carbono solubles de reserva* (HCR; Fulkerson y Slack 1994, Turner et al. 2006b, Berone et al. 2008). El sistema radical de las plantas fue excavado manualmente hasta > de 20 cm de profundidad; el suelo que lo rodeaba fue quitado cuidadosamente y luego la raíz fue enjuagada con agua (Fang et al. 2012). El material cosechado al final del período experimental fue separado en sus distintos componentes: radical y aéreo, este último subdividido a su vez en material de láminas y de pseudotallos (vainas de hojas más hojas en elongación envueltas en la base; Lee et al. 2010). Todo el material fue secado en estufa (65° C) hasta peso constante y pesado de manera de estimar el *peso seco de láminas, pseudotallos y raíces*. El contenido de hidratos de carbono de reserva (HCR) – fructosanos- (Fulkerson y Slack 1994) en los pseudotallos, lugar preferencial de acumulación y reserva de las gramíneas (Fulkerson y Slack 1994, Fulkerson y Donaghy 2001, Berone et al. 2008), se determinó en el laboratorio del Centro de Investigación y Servicios en Nutrición Animal (CISNA) de la Facultad de Agronomía (UBA).

Condiciones ambientales

El experimento se llevó a cabo en el campo experimental de la Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, (FAUBA; 34°35S, 58°29W). El análisis químico de los horizontes superiores del suelo (0-20 cm) indicó un pH (1:2,5) de 5,85, conductividad eléctrica de 0,20 dS m⁻¹, contenido de carbono (Walkley Black) de 12,9 mg g⁻¹ y de nitratos (SNEDD) de 31,6 mg kg⁻¹. El contenido de fósforo extractable (Bray and Kurtz 1) mostró una distribución espacial en parches en los 20 cm superficiales del suelo, entre 5,3 y 10,9 mg kg⁻¹. El período experimental desde la siembra –8 de Abril de 2010- hasta el último de los registros – 21 de Enero de 2011- fue de 288 días (Cuadro 4.1). La temperatura promedio del aire, registrada con un data-logger, fue de 15,9 ± 6,1 °C durante el período experimental y varió de 14,6, a 13,2 y a 24,3 °C durante los tres sucesivos subperíodos. Las lluvias fueron de 796 mm; 279,1, 327,8 y 189,1 mm durante los sucesivos subperíodos.

Durante el subperíodo de entrenamiento (2) y previo a cada fecha de corte, se tomaron registros de la radiación fotosintéticamente activa (RFA_i=μMOL.m⁻².s⁻¹) sobre el canopeo y dentro de él a nivel del suelo a las 12:00 hs (Sims et al. 2005), usando un radiómetro de barra de aluminio de 50 cm de longitud (Flujo de fotones= μMOL.m⁻².s⁻¹; Figura 4.2). La radiación interceptada por el canopeo previo al primer corte varió entre el 80 y el 91% cuando se defolió anticipadamente (2H) en N⁻ y entre 88 y 97% en N⁺ (Figura 4.3b y c). La radiación interceptada registró una caída sustancial luego del corte 1 sobre todo en los tratamientos N⁺ (N⁻: ≈ 40% vs. N⁺: ≈ 26%). Los canopeos defoliados en 4H interceptaban entre el 95 y el 97% de la radiación incidente al momento del corte en BW 4H N⁻ y N⁺, respectivamente. Los canopeos defoliados en DG 4H interceptaban el 98% de

la radiación incidente al momento de la defoliación tanto en N^- como en N^+ (4 de Octubre; Figura 4.3a).

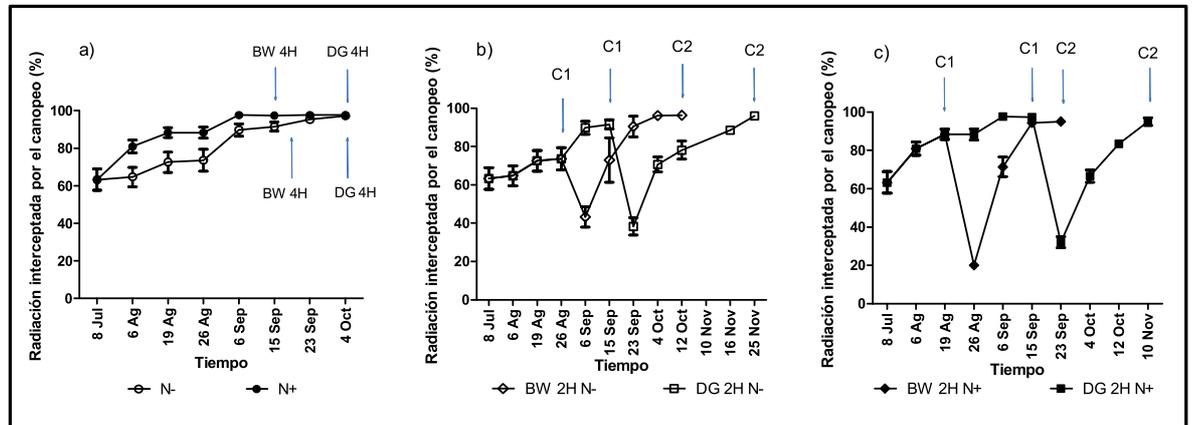


Figura 4.3. Radiación fotosintéticamente activa interceptada por el canopeo (%) durante el subperíodo de entrenamiento a) defoliaciones realizadas en 4 hojas de rebrote por macollo (4H), b) defoliaciones realizadas en 2 hojas (2H) en el tratamiento no fertilizado (N^-) y c) defoliaciones realizadas en 2H en los tratamientos fertilizados (N^+). Las flechas indican las fechas de cortes. C1= corte 1 y C2= corte 2 en los tratamientos que reiteraron defoliaciones en 2H.

Variables de respuesta

Las variables de respuesta fueron estimadas para cada subperíodo (2 ó 3) y/o para el período observacional total. Todas las tasas fueron relativizadas a unidades de tiempo térmico (grados centígrados día=GDC) a fin de eliminar el efecto diferencial de la temperatura ocurrida en las distintas fechas de cosecha (Cuadro 4.1). El *filocrono* y el *rebrote de láminas* se midieron en ambos subperíodos. En los tratamientos que reiteraron defoliaciones, el valor de la variable fue el promedio ponderado (según el tiempo térmico) de los registros obtenidos en ambos cortes.

El *filocrono* ($\text{GDC} \cdot \text{hoja}^{-1}$ a escala de macollo) representa el tiempo térmico hasta que la hoja aparece a través de la vaina de la hoja anterior y es habitualmente usado para describir y entender el desarrollo de las gramíneas (Wilhelm y McMaster 1995). Fue

estimado para cada subperíodo como la inversa de la pendiente de la regresión lineal entre el número de hojas y el tiempo térmico, con una temperatura base de 0 °C (Fustec et al. 2005, Bartholomew y Williams 2005). El *rebrote de láminas* de las especies ($\text{mg.GDC}^{-1}.\text{m}^{-2}$) fue la diferencia en la biomasa bruta (verde+muerta) de las láminas entre eventos de corte; la biomasa inicial de láminas siempre fue de 0 mg.m^{-2} debido a la metodología de defoliación (defoliación intensa). No se contabilizó la biomasa reproductiva (inflorescencias+varas florales).

La *biomasa aérea*, la *biomasa radical*, la *densidad de macollos* y el *contenido de hidratos de carbono de reserva* se midieron al momento de la cosecha final. La *tasa de acumulación de la biomasa aérea* (o productividad; $\text{mg.GDC}^{-1}.\text{m}^{-2}$) fue la sumatoria de los rebrotes de láminas y la biomasa de pseudotallos (vivos y muertos) obtenidos en cada minicanopeo en cada evento de corte a lo largo del período experimental –entre el 8 de Julio y el corte y cosecha final- (Poff et al. 2011), expresado por unidad de tiempo térmico y de superficie ($\text{mg.GDC}^{-1}.\text{m}^{-2}$). La *tasa de acumulación de la biomasa radical* se calculó como el peso seco de la raíz presente relativo al tiempo térmico transcurrido de la cosecha final ($\text{mg.GDC}^{-1}.\text{m}^{-2}$); se distinguió entre la biomasa radical presente hasta los 15 cm y aquella registrada a una profundidad > a los 15 cm. Previo al corte inicial y a la cosecha final se midió la densidad de macollos recontando en cada micro-parcela el *número total de individuos* presentes de DG, asumiendo que un macollo es un individuo y la planta es una metapoblación (White 1979), y se discriminó entre *macollos vegetativos* y *reproductivos* (Scheneiter et al. 2008). La *tasa de acumulación neta de macollos* fue la diferencia entre el número de macollos hijos que aparecieron durante el período experimental una vez, descontados aquéllos presentes al momento del corte inicial, y fue expresada por unidad de tiempo térmico y de superficie ($\text{macollos.GDC}^{-1}.\text{m}^{-2}$). La determinación de los hidratos de

carbono solubles de reserva se realizó en el material seco de pseudotallos de la gramínea perenne de cada mini-canopeos debido a su mayor concentración respecto de las raíces (Fulkerson y Slack 1994, Turner et al. 2006a,c, Berone et al. 2008). El método de determinación se basó en separar los carbohidratos solubles de los fructosanos mediante un lavado con etanol 80% (Faichney y White 1983). En estas condiciones los azúcares de bajo peso molecular se solubilizaron mientras que los azúcares de reserva resultaron insolubles. Luego se procedió a la gelatinización de los fructosanos mediante un tratamiento a 100°C en agua y posterior hidrólisis en medio ácido (Hall 2003). Los carbohidratos de reserva separados y solubilizados se determinaron a través de colorimetría por el método de antrona (Yemm y Willis 1954). Se los expresó por individuo o macollo dado que es una forma más confiable que la concentración de energía (% de MS; Turner et al. 2006 c), para evaluar los niveles de energía de reserva. Como consecuencia *la tasa de acumulación de HCR* fue expresada en $\text{mg.macollo}^{-1}.\text{GDC}^{-1}.\text{m}^{-2}$.

Análisis estadístico

Los resultados se analizaron mediante análisis de varianza con medidas repetidas con un enfoque multivariado (ya que permite considerar las correlaciones existentes entre observaciones realizadas sobre las mismas unidades experimentales), con un nivel de significación del 5%, siguiendo un diseño en bloques completos aleatorizados de acuerdo a un arreglo factorial con dos factores fijos: tipo de defoliación (cuatro niveles: combinación de dos especies guía [BW o DG] × dos posibles número de hojas del rebrote por macollo [2 o 4] a la defoliación) × fertilización (dos niveles: sin= N⁻ y con= N⁺; fertilización con 170 kgN.ha⁻¹ aplicados en invierno) con un total de 24 mini-canopeos (n=3) y la variable de respuesta asociada al período como medida repetida (dos niveles: entrenamiento y

recuperación). El análisis de varianza para el período total sólo consideró dos factores: tipo de defoliación (4 niveles) y fertilización (2 niveles). La normalidad de los datos fue evaluada utilizando el test de Shapiro-Wilks y la homogeneidad de las varianzas mediante la prueba de Levene. Se realizó comparación de medias mediante la prueba de Tukey con un $\alpha= 0,05$. Para realizar los análisis estadísticos se utilizó el paquete profesional de InfoStat version 1.1 (Di Rienzo et al. 2008).

4.3. RESULTADOS

Subperíodos de entrenamiento y de recuperación

Filocrono de las especies guía

El *filocrono* de las especies guía fue diferencialmente afectado por el tipo de defoliación ($F= 52,37$; $P< 0,0001$) y por la interacción entre la fertilización nitrogenada y el período ($F= 9,84$; $P= 0,0073$) (Figura 4.4). El anticipo de la defoliación de 4H a 2H incrementó el *filocrono* de las especies guía de manera similar en ambos subperíodos ($P= 0,99$); un 24% en BW (BW 2H: 210,4 vs. BW 4H: 169,6 GDC.hoja⁻¹) y un 54% en DG (DG 2H: 388,2 vs. DG 4H: 251,6 GDC.hoja⁻¹) (Figura 4.4a). En cambio, la fertilización nitrogenada tuvo efectos diferenciales en ambos subperíodos; no afectó el *filocrono* de las especies guía durante el entrenamiento (N^- y N^+ : 214 GDC.hoja⁻¹) pero lo aumentó un 28% durante la recuperación (N^- : 259,2 vs. N^+ : 332,7 GDC.hoja⁻¹) (Figura 4.4b).

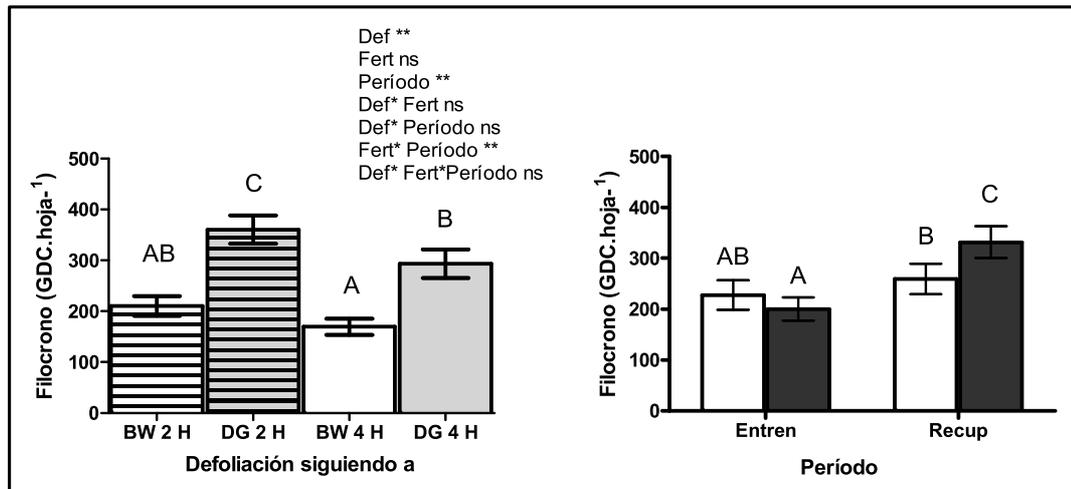


Figura 4.4. Filocrono (grados día centígrados por hoja=GDC.hoja⁻¹) de *Bromus willdenowii* (BW) y de *Dactylis glomerata* (DG) durante los subperíodos de entrenamiento y de recuperación en los tratamientos no fertilizados (N⁻) y fertilizados (N⁺). En a) se grafica el efecto de la defoliación; barras lisas corresponden a defoliaciones efectuadas con 4 hojas (4 H) y las rayadas, a aquéllas con 2 hojas de rebrote por macollo (2 H). En b), la interacción significativa ($P < 0,05$) Fertilización (Fert)* Período; barras blancas representan el tratamiento N⁻ y las negras, el de N⁺. Los datos corresponden a valores medios \pm error estándar y los valores P : ** $P < 0,01$; * $P < 0,05$ y ns = efecto no significativo. Temperatura base= 0° C.

Rebrote de láminas

El rebrote de láminas de la especie perenne DG fue afectado por la defoliación ($F = 16,28$; $P = 0,0001$) y la fertilización nitrogenada ($F = 5,17$; $P = 0,04$), fue similar entre ambos subperíodos y no presentó interacción de los otros factores con el tiempo ($P > 0,05$) (Figura 4.5). El anticipo de la defoliación de 4H a sólo 2 H de rebrote redujo el rebrote de láminas de DG un 69% cuando BW presentó 2H, y un 39% cuando DG tuvo 2H (39,8 BW 2H y 79,2 DG 2H respecto de 4H: 129,55 mg.GDC⁻¹.m⁻²) (Figura 4.5a). La fertilización nitrogenada invernal aumentó un 30% el rebrote de láminas de DG (N⁻: 82,1 vs. N⁺: 106,9 mg.GDC⁻¹.m⁻²) (Figura 4.5b).

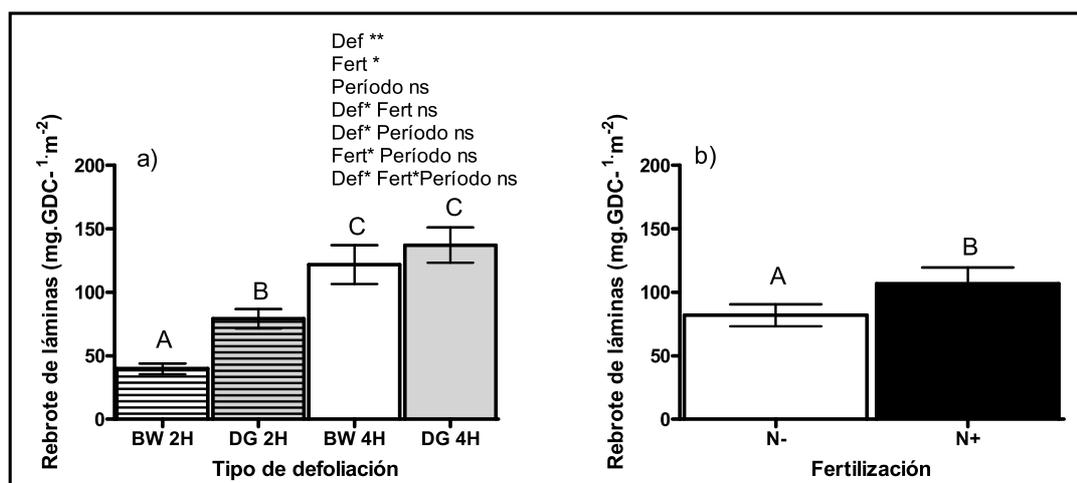


Figura 4.5. Rebrote de láminas de la población de *Dactylis glomerata* en los tratamientos no fertilizados (N⁻) y fertilizados (N⁺) durante los subperíodos de entrenamiento y de recuperación. Sin embargo, el efecto del tiempo fue no significativo ($P < 0,05$). En a) se grafica el efecto de la defoliación; barras lisas corresponden a defoliaciones efectuadas con 4 hojas (4 H) y las rayadas, a aquéllas con 2 hojas de rebrote por macollo (2 H). En b), el efecto de la fertilización (Fert); barras blancas representan el tratamiento N⁻ y las negras, el de N⁺. En el tipo de defoliación: la primera abreviatura: nombre de la especie guía de la defoliación (BW ó DG); segunda abreviatura: número de hojas de rebrote por macollo cuando se efectuó la defoliación (en 4 hojas=4 H ó en 2 hojas= 2 H; por ejemplo: DG 4H). Los datos corresponden a valores medios \pm error estándar. GDC= grados día centígrados.

Período observacional total

Tasa de acumulación de la biomasa aérea

La productividad aérea (láminas+ vainas) de DG fue reducida entre un 37 y un 49% por las altas frecuencias con reiteración de defoliaciones respecto de la defoliación de la especie perenne en 4H (DG 2H: 184 y BW 2H: 150 vs. DG 4H: 293 mg.GDC⁻¹.m⁻²; $F=8.90$; $P= 0.0015$). Sin embargo, la defoliación realizada cuando la especie guía BW alcanzó las 4 hojas no redujo sustancialmente la productividad respecto a la realizada con DG como guía en idéntico estado de rebrote por macollo (BW 4H: 263 vs. DG 4H: 293 mg.GDC⁻¹.m⁻²). La fertilización nitrogenada no afectó la tasa de acumulación de la

biomasa aérea ($P > 0,05$) aunque existió una tendencia de aumento en N^+ ($F=3,79$; $P=0,07$) (Figura 4.6a).

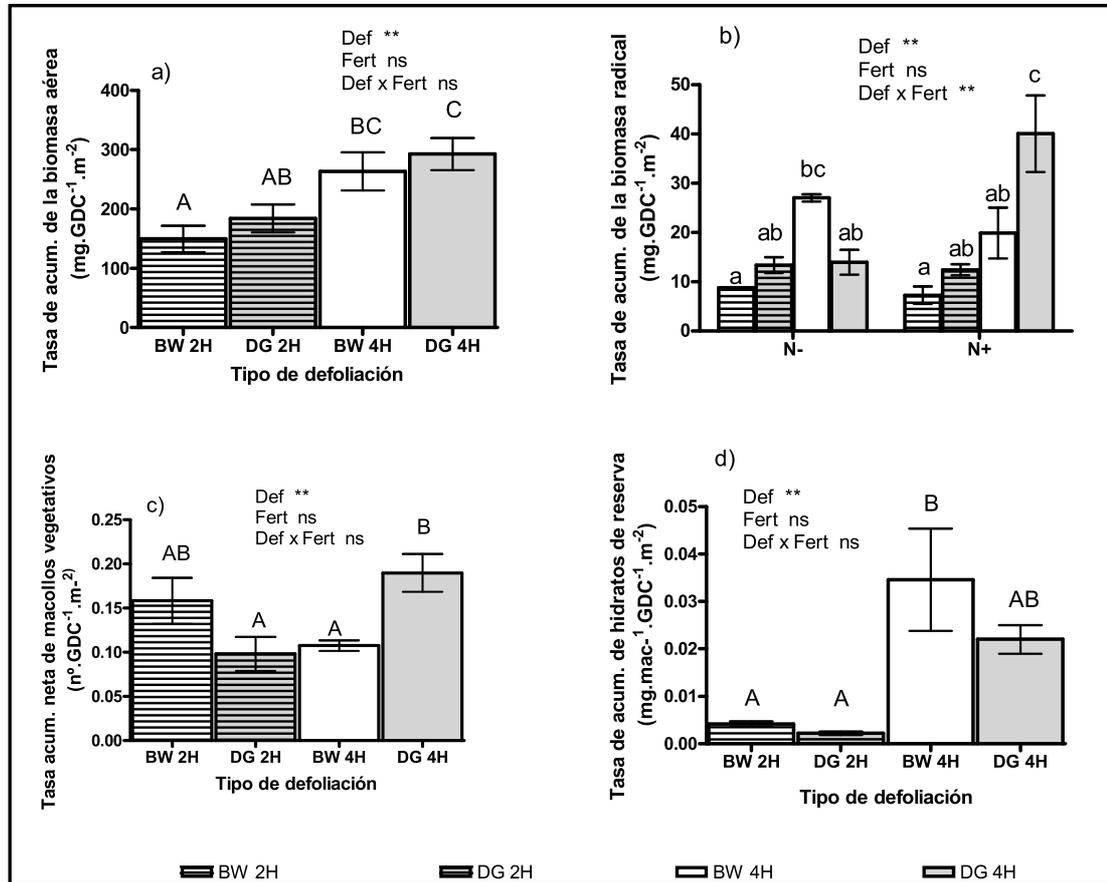


Figura 4.6. Variables asociadas a la productividad y ecológicas durante el período observacional total en la población de *Dactylis glomerata*. Tasa de acumulación a) de la biomasa aérea (mg.GDC⁻¹.m⁻²), incluye material de láminas y pseudotallos vivos y muertos (sólo biomasa vegetativa), b) de la biomasa de raíz (mg.GDC⁻¹.m⁻²), c) neta de macollos vegetativos (macollos.GDC⁻¹.m⁻²) y d) hidratos de carbono de reserva (HCR= mg.macollo⁻¹.GDC⁻¹.m⁻²) en los tratamientos no fertilizados (N⁻) y fertilizados (N⁺). En a), c) y d) el efecto de la fertilización nitrogenada no resultó significativo ($P > 0,05$) y en b) la interacción tipo de defoliación*fertilización resultó significativa ($P < 0,05$). En el tipo de defoliación: la primera abreviatura: nombre de la especie guía de la defoliación (BW ó DG); segunda abreviatura: número de hojas de rebrote por macollo cuando se efectuó la defoliación (en 4 hojas=4 H ó en 2 hojas= 2 H; por ejemplo: DG 4H). Los datos corresponden a valores medios \pm error estándar y los valores P : ** $P < 0,01$; * $P < 0,05$ y ns = efecto no significativo. GDC= grados día centígrados.

Tasa de acumulación de la biomasa radical

La *tasa de acumulación de la biomasa radical* total fue diferencialmente afectada por la defoliación bajo los dos niveles de fertilización nitrogenada evaluados (interacción tipo de defoliación*fertilización; $F= 12,31$; $P= 0,0003$). Con ambos niveles de fertilización nitrogenada, la anticipación máxima de defoliación con reiteración de defoliaciones (BW 2H) disminuyó extremadamente la *tasa de acumulación de la biomasa radical* de la especie perenne (Figura 4.6b). En N^- , defoliar de acuerdo a DG 4H no afectó mayormente la *tasa de acumulación de la biomasa de raíz*. En cambio, en N^+ defoliar de acuerdo a BW 4H redujo un 58 % la biomasa de raíz respecto de DG 4H (BW 4H: 17 vs. DG 4H: 40 $\text{mg.GDC}^{-1}.\text{m}^{-2}$). La biomasa radical hasta los 15 cm siguió un patrón idéntico al descrito para la biomasa radical total. Sin embargo, la profundización radical (biomasa > 15 cm) fue muy superior (incremento del 650%) en el tratamiento BW 4H, independientemente de la realización de fertilización nitrogenada, respecto del resto de los tratamientos de defoliación (BW 4H: 1,20 vs. Resto: 0,16 $\text{mg.GDC}^{-1}.\text{m}^{-2}$; $F= 14,17$; $P= 0,0002$).

Tasa de acumulación de la biomasa total (aérea+radical)

La *tasa de acumulación de la biomasa total* mostró un patrón similar al de la aérea, debido a su predominio con respecto a la subterránea. La biomasa total fue mayor cuando se defolió con DG como especie guía en 4H (320 $\text{mg.GDC}^{-1}.\text{m}^{-2}$). Se redujo en un 11, 38 y 51% en los tratamientos de anticipación (BW 4H= 285 $\text{mg.GDC}^{-1}.\text{m}^{-2}$) y de anticipación con reiteración de defoliaciones, respectivamente (DG 2H= 197 $\text{mg.GDC}^{-1}.\text{m}^{-2}$ y BW 2H=158 $\text{mg.GDC}^{-1}.\text{m}^{-2}$) ($F=9,77$; $P=0,0010$). La fertilización nitrogenada no afectó la *tasa de acumulación de la biomasa total* ($P>0,05$).

Tasa de acumulación neta de macollos

La *tasa de acumulación de macollos vegetativos* de DG disminuyó al aplicar frecuencias de defoliación superiores al óptimo de la especie (DG 4H: 0,19 macollos.GDC⁻¹.m⁻²) (Figura 4.6c). Bajo defoliación óptima (DG 4H) también se incrementó la densidad de macollos reproductivos de DG un 84% respecto de los otros tratamientos (datos no mostrados). Sin embargo, la *acumulación de macollos* observada en el tratamiento de frecuencia máxima (BW 2H) fue similar a lo registrado bajo frecuencia óptima. Llamativamente, la fertilización nitrogenada no afectó la densidad final de macollos ($P>0,05$).

Tasa de acumulación de los hidratos de carbono de reserva (HCR)

Los tratamientos que anticiparon y reiteraron defoliaciones mostraron niveles de acumulación de HCR mucho más bajos y no lograron compensar el nivel de DG 4H (BW 2H/ DG 2H: 0,0032 mg.macollo⁻¹.GDC⁻¹). El nivel de *acumulación hidratos de carbono de reserva* de DG aumentó un 57% cuando se siguió a BW 4H respecto al tratamiento de DG 4H (BW 4H: 0,035 vs. DG 4H: 0,022 mg.macollo⁻¹.GDC⁻¹; $F= 6,28$; $P= 0,0063$). No se registró influencia de la fertilización nitrogenada sobre el nivel de HCR ($P>0,05$) (Figura 4.5d)

4.4. DISCUSIÓN

Efecto de las altas frecuencias y la reiteración de defoliaciones

En concordancia con lo postulado inicialmente las altas frecuencias de defoliación con reiteración de las mismas (cuando los macollos alcanzaron 2 hojas de rebrote) afectaron permanente y negativamente a las variables de respuesta de la especie perenne,

independientemente de si la frecuencia se definió según la especie guía anual o la perenne. El efecto de estas altas frecuencias de defoliación se mantuvo aún cuando se pasó a defoliar con frecuencias óptimas durante el subperíodo siguiente de recuperación. En cambio, la defoliación realizada con una frecuencia sólo levemente mayor (BW 4H) no llegó a afectar significativamente el crecimiento de la especie perenne DG.

Las reiteraciones de defoliaciones con anticipaciones altas (BW 2H: anticipación de 33 o 39 días en N⁻ y N⁺, respectivamente) ó medias (DG 2H; 24 o 28 días en N⁻ y N⁺, respectivamente) respecto de DG 4H (Cuadro 4.1), siempre con una alta intensidad (remanente sólo vainas, Ver materiales y métodos), se realizaron cuando el índice de área foliar del canopeo (IAF) se encontraba por debajo de su valor óptimo ó crítico (Figura 4.3b y c; Cuadro 4.1), es decir aquél que intercepta el 95% de la radiación incidente y maximiza el crecimiento (Brougham 1956). Esto afectó negativamente *la tasa de acumulación de los HCR* (Figura 4.6.d). Las plantas sólo pueden compensar un nivel bajo inicial de HCR si se le brinda posteriormente el tiempo adecuado de descanso y recuperación (Donaghy y Fulkerson 2001), ya que tienen una prioridad inferior a la de destinos como las hojas y las raíces luego de una defoliación (aunque similar a la iniciación de macollos; Donaghy y Fulkerson 1998, Turner et al. 2006 c, Cullen et al. 2006). Sin embargo, en plantas en las que se anticiparon y reiteraron defoliaciones el daño resultó permanente ya que no compensaron los valores de acumulación de HCR de aquéllas defoliadas siempre en el momento oportuno.

Probablemente los bajos niveles de HCR hayan sido responsables del alargamiento del *filocrono* de las especies guía sometidas a altas frecuencias de defoliación (Figura 4.4a). Esta disminución en la *tasa de aparición de hojas* –TAF- podría deberse a un enlentecimiento en la elongación de la lámina a través del pseudotallo de la hoja anterior,

asociado a la escasez de carbono o de HCR (Skinner y Nelson 1995, Zhu et al. 2014). Este cambio negativo en la TAF concuerda con lo reportado por Davies (1974), Hume (1991b) y Gautier et al. (1999) aunque difiere de los hallazgos de Wilhelm y MacMaster (1995), Donaghy y Fulkerson (1998), Gautier et al. (1999) y Berone et al. (2008). Además, de reducir la TAF, el bajo nivel de HCR debió haber disminuído la tasa de elongación de las láminas una vez que se encontraban fuera del envoltorio de vainas (Hazard y Ghesquière 1995, Berone et al. 2008) por lo que se afectó muy negativamente el rebrote de láminas (Figura 4.5a) y la *tasa de acumulación de la biomasa aérea* de la especie perenne (Figura 4.6a). Sin embargo, aunque con similar *tasa de acumulación de la biomasa aérea*, la defoliación realizada en DG 2H redujo más la tasa de acumulación de macollos vegetativos respecto de aquella realizada en BW 2H (Figura 4.6.c.). Esta mayor *tasa de macollaje* en BW 2H se asociaría con un menor peso individual de los macollos (Davies 1988) en contraposición a lo que ocurriría en DG 2H. Las defoliaciones reiteradas en 2H también se asociaron con disminuciones en la *tasa de acumulación de la biomasa radical* (Figura 4.6b) debido a que cuando aumenta la severidad de la defoliación, se incrementa la prioridad de partición de biomasa hacia el crecimiento aéreo en detrimento del radical (Fulkerson y Donaghy 2001).

La *tasa de acumulación de macollos* mostró un resultado relativamente sorprendente, ya que fue similar en las plantas de DG sometidas a la mayor y a la menor frecuencia de defoliación, BW 2H y DG 4H, respectivamente. Dicha tasa de acumulación de macollos en BW 2H ocurrió a pesar del incremento en el *filocrono* generado por las altas frecuencias de corte (Figura 4.4) y la consecuente limitación en el número de hojas producidas que portan una yema capaz de iniciar un nuevo individuo (Davies 1974, Gautier et al. 1999, Bahmani et al. 2000, Nelson 2000). En un canopeo sometido a defoliación, el

carbono y la energía necesarias para el macollaje provienen de la fotosíntesis actual realizada por el área foliar remanente mientras que con una defoliación infrecuente –como es el caso de DG 4H- provienen de los HCR (Deregibus et al. 1985, Casal et al. 1986, Gautier et al. 1999, Fulkerson y Donaghy 2001). A pesar de que la dependencia de los HCR es sólo temporal (los primeros 3 a 6 días luego de la defoliación, Schnyder et al. 2000, Donaghy y Fulkerson 2001), el rebrote potencial es influido por la concentración de HCR inmediatamente luego de la defoliación (Fulkerson y Donaghy 2001, Turner et al. 2006c). En el caso de DG, tras una defoliación los HCR comienzan a acumularse luego que el macollo tiene 2 H y recién a partir de las 3,5 H son usados para producir nuevos macollos (Turner et al. 2006c). Entonces, el macollaje en BW 2H (Figura 4.5c) se beneficiaría por la alta iluminación, consecuencia de la alta frecuencia de defoliación, en tanto en DG 4H el macollaje se beneficiaría por el uso de los HCR acumulados (Figura 4.6d).

Efecto del nitrógeno

Los efectos de las altas frecuencias de defoliación fueron similares en N^- y N^+ , contrariamente a lo propuesto en la Hipótesis 2. El agregado de N no modificó el *filocrono* de ambas especies guía durante el entrenamiento (Figura 4.4b). Esto coincide con los resultados del trabajo de Cruz y Boval (2000) aunque difiere con el 30% de disminución del *filocrono* detectado en *Lolium multiflorum* fertilizado con 150 kg de N /ha (Lattanzi et al. 1997). Este efecto del fertilizante sobre el *filocrono* cambia durante el subperíodo de recuperación en el cual se alarga el *filocrono* en respuesta a la fertilización (Figura 4.4b). Este efecto estaría asociado a un incremento paulatino en el largo del pseudotallo de las especies guía por efecto del N (Duru y Ducrocq 2000b, Duru et al. 2000). Cabe aclarar que además del efecto del N, durante el subperíodo de recuperación la mayor temperatura

registrada desde finales del mes de noviembre incrementó el *filocrono* (Wilheim y Mac Master 1995; Figura 4.4b).

El incremento provocado por la fertilización sobre la tasa de *rebrote de láminas* (Figura 4.5a) probablemente se explica por los aumentos en la tasa de elongación y el largo final de las láminas reportadas reiteradamente en respuesta a la fertilización N (Gastal et al. 1992, Lemaire y Agnusdei 2000, Cruz y Boval 2000, Gastal y Lemaire 2002, esta Tesis Capítulos 2 y 3). Estos efectos quedan evidenciados por la brusca caída en el % de radiación interceptada por el canopeo (hasta aproximadamente un 26% en N⁺ vs. ≈ 40% en N⁻; Figura 4.3b y c) al defoliar las plantas y cosechar sólo las láminas (Ver Materiales y Métodos). Sin embargo, el agregado de 170 kg N/ha no tuvo un efecto significativo ($P=0,07$) sobre la *tasa de acumulación de la biomasa aérea* (Figura 4.6a), debido a la falta de efecto sobre la biomasa de los pseudotallos (datos no mostrados), el peso individual de los macollos y/o el número de macollos por planta (Donaghy y Fulkerson 1998). Esta falta de incremento en la *biomasa aérea acumulada* acuerda con lo hallado por Poff et al. (2011) en *Lolium perenne* con dosis de hasta 75 kg N/ha (dosis medias a bajas). El N tampoco influyó en la *biomasa de la raíz* (Figura 4.6b) en los tratamientos defoliados en 2H (Ver en Efecto de las altas frecuencias y la reiteración de defoliaciones) o en BW 4H. Estos resultados difieren de lo hallado tempranamente por Sprague y Sullivan (1950) quienes encontraron mayor *biomasa radical* en N⁻ respecto de N⁺ realizando defoliaciones periódicas en *Dactylis glomerata*. Sin embargo, el N⁺ mejoró la *acumulación de biomasa de raíz* cuando se defolió en su momento oportuno, DG 4H (Ver en Efecto de la anticipación sin reiteración de defoliaciones).

La fertilización nitrogenada no afectó el nivel de HCR (Figura 4.6d). El efecto del N sobre los HCR es complicado y variable (White 1973). Puede variar de acuerdo a la dosis

de fertilizante utilizada y/o ser sólo un efecto temporal. Generalmente el N aplicado a tasas bajas a moderadas (como la usada en el presente ensayo $170 \text{ kg N}\cdot\text{ha}^{-1}$) incrementa las reservas pero el exceso de N las disminuye, ya que los carbohidratos de reserva son usados como esqueletos carbonados para la síntesis de proteínas (White 1973). La adición de N, al promover el crecimiento, inicialmente disminuye la concentración de HCR. Sin embargo, debido a que el N promueve el crecimiento general, sólo incrementa el contenido total de HCR en el largo plazo (Fulkerson y Donaghy 2001).

Efecto de la anticipación sin reiteración de defoliaciones en N^- y N^+ . Relevancia ecológica de los resultados

Sin dudas la anticipación excesiva de la defoliación tiene efectos negativos sobre la especie perenne estudiada (*Dactylis glomerata*). En cambio, anticipar la defoliación sólo 14 días en N^- o 19 días en N^+ (BW 4H; Figura 4.2, Cuadro 4.1) no afectó el rebrote respecto de DG 4H (intercepción $\geq 95\%$ de la radiación incidente; Figura 4.5a) por lo que la productividad (Figura 4.6a) fue indiferente al manejo de la defoliación dentro del rango de frecuencias evaluadas (BW 4H \approx DG 4H) tanto en N^- como en N^+ . Además, en N^- el mayor descanso (menor frecuencia de defoliación en DG 4H) no mejoró *la tasa de acumulación de la biomasa de raíz* (Figura 4.6b), o su profundización $> 15 \text{ cm}$, respecto de BW 4H. Entonces, esperar a que DG presente 4H podría enfrentar a las plantas de DG a condiciones lumínicas muy limitantes por la presencia del vecino anual reproductivo (durante la primavera tardía; Cuadro 4.1).

En N^+ , al estar respetando la frecuencia óptima de defoliación para DG, las plantas obtienen un mayor ingreso de fotoasimilados asociado a incrementos del área foliar.

Conjuntamente se les brinda el tiempo adecuado para particionar biomasa a los múltiples destinos: aéreo, radical y a macollaje durante el período de rebrote; DG lograría así un crecimiento armónico o equilibrado. El momento óptimo de defoliación de DG en 4H en N^+ impacta fuerte y positivamente sobre la *tasa de acumulación de la biomasa de raíz* (Figura 4.6b). Esto resulta positivo ya que cualquier factor que mejore el desarrollo de la raíz tiene un efecto sobre el crecimiento del resto de la planta, debido a la mejora en la absorción de agua y nutrientes y de la capacidad competitiva respecto de otras especies (Fulkerson y Donaghy 2001). De manera similar a lo que ocurre con *Lolium perenne*, en DG, el buen desarrollo de la raíz parece estar directamente relacionado con una mejora en la supervivencia de las plantas durante el verano y con su persistencia en el tapiz (Fulkerson y Donaghy 2001). Por lo tanto, sólo en N^+ la frecuencia de defoliación DG 4H maximizaría la productividad aérea (Figura 4.6a) y optimizaría los parámetros ecológicos asociados a la mejora en la cobertura relativa y a la persistencia de la población de la gramínea C_3 perenne en la comunidad. Sin embargo, la extrapolabilidad de las respuestas obtenidas pueden presentar algunas limitaciones asociadas principalmente a los diferentes períodos de tiempo analizados en los tratamientos y a efectos confundidos de la nutrición nitrogenada y el ambiente lumínico.

4.5. CONCLUSIONES

Las altas frecuencias de defoliación aplicadas durante el período otoño-invierno-inicio de primavera afectaron permanente y negativamente a la población de la gramínea C_3 perenne *Dactylis glomerata*, independientemente de si la frecuencia se definió según el número de hojas alcanzado por la especie guía anual o por la perenne, aunque el efecto fue menos significativo cuando se defolió con una frecuencia sólo levemente mayor (BW 4H).

La desventaja de la anticipación con reiteración de defoliaciones se reflejó en incrementos del *filocrono* y en disminuciones del *rebrote de láminas*, de las *tasas de acumulación de la biomasa aérea, radical* y en el contenido de HCR en la base de los macollos. Sin embargo, los efectos fueron similares en presencia o ausencia de fertilización nitrogenada. En cambio, el agregado de N^+ modificó el *filocrono* e incrementó el *rebrote de láminas* aunque sólo modificó marginalmente la *acumulación de la biomasa aérea*.

Cuando no se reiteraron defoliaciones (defoliaciones realizadas en BW 4H y DG 4H), la frecuencia de defoliación mostró una interferencia diferencial entre plantas fertilizadas y no fertilizadas. En términos de la biomasa radical, la recomendación clásica de defoliar DG en sus 4H, utilizada en canopeos mono-específicos, sólo resultó superior a defoliarla cuando BW alcanzó sus 4H en N^+ . Por el contrario, anticipar la defoliación sólo 14 días en N^- (BW 4H) no afectaría el *rebrote de láminas*, la productividad aérea ni radical respecto de DG 4H (intercepción $\geq 95\%$ de la radiación incidente) por lo que el manejo de la defoliación sería más indiferente en N^- respecto de N^+ , dentro del rango de frecuencias evaluadas (BW 4H \approx DG 4H). Estos resultados relacionados a estrategias de fertilización y de defoliación contribuyen a diseñar y gestionar eficientemente los momentos y la forma de intervenir de forma tal de mantener la densidad, la longevidad y alcanzar la composición florística deseable u óptima por lo menos durante el período crítico de establecimiento-implantación en comunidades multiespecíficas de pasturas templadas. Estas respuestas deberían ser evaluadas en etapas posteriores del ciclo de vida de la planta.

Capítulo 5
Discusión general

Esta Tesis representa un avance en el conocimiento de los mecanismos de regulación involucrados en las relaciones de competencia intra e interespecífica entre dos gramíneas C_3 , una anual/bianual y la otra perenne, en las etapas iniciales del cultivo de pasturas templado- húmedas (establecimiento- implantación) y sus consecuencias en distintos niveles de organización. La metodología utilizada es novedosa ya que el estudio de la dinámica de la competencia basada en el análisis de rasgos morfogénicos y estructurales permitió la distinción entre la capacidad competitiva intrínseca de una especie y su respuesta plástica. Los resultados presentaron permitieron demostrar grandes cambios morfogenéticos, estructurales y funcionales en respuesta a la competencia y al agregado de nitrógeno. Por otra parte, y dado que las respuestas morfológicas adaptativas de las plantas en canopeos mixtos no han sido estudiadas en detalle (Zhu et al. 2014), se adaptó una aproximación utilizada habitualmente en estudios de defoliación de canopeosmonoespecíficos. Los resultados permitieron encontrar similitudes y diferencias en los mecanismos involucrados en la respuesta a la defoliación y a la fertilización nitrogenada entre canopeosmono y multiespecíficos.

El presente Capítulo tiene por objetivo relacionar los cambios morfogénicos, estructurales y funcionales, asociados a la competencia intra e interespecífica, al agregado de nitrógeno y a la frecuencia de defoliación, con procesos de más largo plazo capaces de controlar la dinámica de la competencia, la cobertura relativa, la productividad y la composición florística en comunidades multiespecíficas implantadas. A tal efecto, en la Sección 5.1. se analizan los principales hallazgos en cuanto a los efectos de la competencia y la fertilización nitrogenada, asociados a los Capítulos 2 y 3, a la luz de un nuevo modelo conceptual que integrará los resultados sobre las respuestas plásticas de gramíneas anuales y perennes a diferentes situaciones competitivas en diferentes niveles de organización:

hojas, macollos y planta durante la fase de establecimiento de la pastura. Cabe destacar que no ha sido posible incluir en dicho modelo las respuestas a la defoliación (Capítulo 4) por haber sido evaluadas principalmente a escala poblacional. En la Sección 5.2. se analizan las aproximaciones metodológicas utilizadas en relación a (a) los efectos de las interacciones competitivas y (b) los de la frecuencia de defoliación. En la sección 5.3. (a) se resumen los principales resultados obtenidos en relación a las hipótesis planteadas y (b), se analizan los principales resultados en forma integrada y se los relaciona con los de otros trabajos. Posteriormente, en la Sección 5.4. se analiza la relevancia aplicada de los resultados obtenidos y el impacto de las decisiones culturales sobre la dinámica de la competencia entre las especies, la cobertura relativa, la composición florística futura y el funcionamiento de la comunidad a más largo plazo. Finalmente, en la Sección 5.5. se enumeran las perspectivas de investigación que abre esta Tesis en relación al mantenimiento de la composición florística en pasturas templadas y en la Sección 5.6. se detallan las Conclusiones Generales de la presente Tesis.

5.1. Competencia entre gramíneas anuales y perennes durante la fase de establecimiento de la pastura- Nuevo modelo conceptual

La construcción del crecimiento y la regulación del área foliar del canopeo depende de tres procesos simultáneos: la formación de las hojas, la formación de los macollos y la formación de las raíces (Matthew et al. 2000; esta última no analizada en la presente Tesis). La construcción del crecimiento aéreo depende de la dinámica de hojas y macollos de las especies, ambas asociadas a las respuestas de una gramínea C_3 anual y de otra perenne a diferentes situaciones competitivas durante el establecimiento de la pastura.

La Figura 5.1 integra aquel modelo conceptual general de la morfogénesis y del crecimiento de las gramíneas C_3 , propuesto originalmente por Lemaire y Chapman (1996) y luego modificado por Lemaire y Agnusdei (2000), Bahmani et al. (2000) y Lemaire et al. (2009), que relaciona las características morfogénicas y estructurales con las señales del ambiente (Figura 1.1). Asimismo, incorpora la división de variables morfogénicas y estructurales en compartimentos separados de hojas y macollos propuesta por Hirata y Pakiding (2002), modelo que también refiere a atributos de biomasa aunque sin asociarlos con señales ambientales. Sin embargo, ninguno de los dos modelos expuestos distinguen entre el origen de los mecanismos ni entre el tipo y la función del número de hojas vivas (NHv). El NHv está compuesto por hojas totalmente expandidas, aquellas hojas maduras que presentan su lígula expuesta (NH_e), y hojas en crecimiento o en expansión simultánea (NH_c), cuya lígula no se ha expuesto. Esta distinción es importante ya que ambas categorías de hojas son funcionalmente diferentes: el carbono (C) producido por el tejido fotosintéticamente activo de las NH_c es exportado a su propia zona de crecimiento por ser un destino fuerte con prioridad en el uso y la acumulación de los propios carbohidratos producidos (Volontec y Nelson 1984, Gautier et al. 1999, Nelson 2000, Schnyder et al. 2000), en tanto las hojas totalmente expandidas exportan todo el C producido a otros destinos (Schnyder et al. 2000).

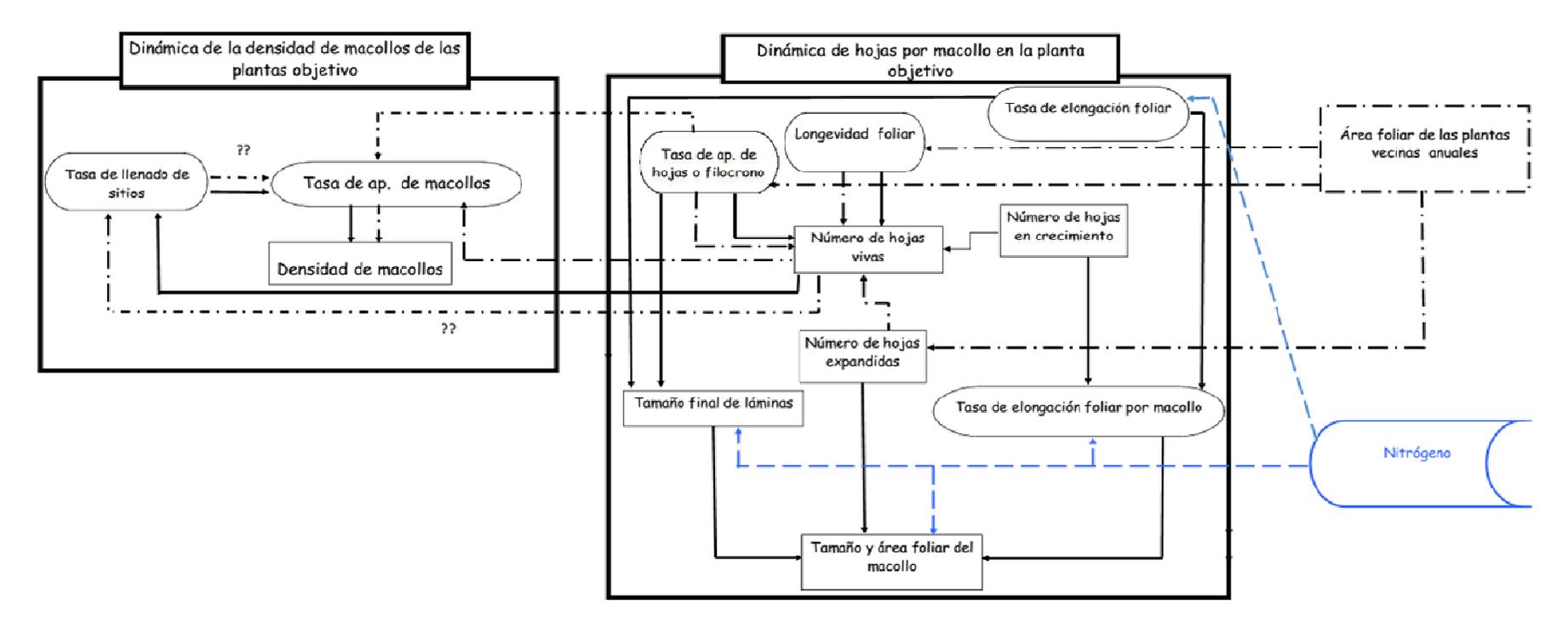


Figura 5.1. Relaciones entre variables morfológicas \circ y estructurales \square componentes del crecimiento de las plantas objetivo (adaptado de Lemaire y Chapman 1996, Bahmani et al. 2000, Lemaire y Agnusdei 2000, Hirata y Pakiding 2002, Lemaire et al. 2009) asociadas a las respuestas de gramíneas C_3 anuales y perennes a diferentes situaciones competitivas. Las líneas llenas conectan rasgos morfológicos y estructurales de origen genético. Las líneas quebradas, las de origen plásticas asociadas a las plantas vecinas. En azul se representan los efectos plásticos del agregado de nitrógeno.

La Figura 5.1 representa un nuevo modelo conceptual general que integra otros submodelos más detallados, que serán presentados en el presente Capítulo. Dichos submodelos se refieren a los cambios dinámicos en los mecanismos morfogénicos y estructurales de origen genético (Figuras 5.2 y 5.3) y plástico, asociados a las señales ambientales mediadas por las plantas vecinas (Figura 5.4). Dichos mecanismos son responsables del proceso de construcción del crecimiento de gramíneas C_3 en situaciones de competencia y determinan la ocupación inicial del espacio y de las jerarquías entre plantas durante la fase de establecimiento de pasturas templado- húmedas.

El papel de la fertilización nitrogenada no requirió la generación de submodelos conceptuales más detallados ya que no afectó la densidad de macollos ni el número de hojas vivas por macollo (NHv; Figura 3.1c) al no alterar el filocrono, la tasa de aparición foliar (TAF) o la longevidad foliar o vida media foliar (VMF). Sin embargo, incrementó la tasa de elongación foliar, los largos de las láminas y de los pseudotallos y sólo el tamaño de los macollos más viejos, los únicos activos al momento de la fertilización (Figura 5.1).

Si bien no es del interés de la presente Tesis incluir en el modelo las respuestas en producción de biomasa, las mismas estuvieron relacionadas principalmente con diferencias en la TEF y en la TAM más que con otras variables morfogenéticas como TAF o VMF y siempre fueron más favorables para la gramínea C_3 anual que para la perenne y para las plantas rodeadas por un vecino perenne que para aquellas acompañadas por un vecino anual/bianual.

5.2. Análisis de las aproximaciones metodológicas utilizadas

a) Efectos de las interacciones competitivas

Uno de los aspectos más originales de esta Tesis es el de haber medido directamente las interacciones competitivas entre genotipos de distintas formas de vida, en distintos niveles de organización: hojas, macollos y plantas, asumiendo que cada macollo es un individuo y la planta, una metapoblación (White 1979). El estudio se hizo durante la etapa de establecimiento de una pastura, etapa clave porque en ella se define la jerarquía y el espacio que cada genotipo ocupará luego en el canopeo, afectando así marcadamente la composición futura de la comunidad (Ross y Harper 1972, Eagles et al. 1982).

Hasta el presente, en el diseño de experimentos de competencia existen dos grandes enfoques principales: a) experimentos directos, que manipulan la competencia entre plantas individuales o entre poblaciones, y b) inferencia de la habilidad competitiva de distintas poblaciones a partir de caracteres de las plantas relacionados con sus estrategias (Kemp y King 2001). En general estas aproximaciones no permiten entender el proceso de construcción del crecimiento ni los mecanismos responsables del mismo. Por otra parte, muchos estudios han evaluado variables morfogénicas y estructurales en distintas especies forrajeras, aunque en general en plantas aisladas (Fustec et al. 2005) o sin especificar las condiciones de crecimiento que fueron utilizadas, por ejemplo la temperatura base utilizada (Lemaire y Agnusdei, 2000), la eventual influencia de los vecinos, etc.

Asimismo, sólo habían sido documentadas las tasas de expansión del tallo principal de genotipos individuales, siendo muy escasos los estudios que incluían la comparación de genotipos de especies forrajeras y macollos de distintas edades (Bultynck et al. 2004). Esta información es muy importante ya que las variables morfogénicas varían a lo largo de la vida de cada planta y la edad del macollo puede influenciar las respuestas de las plantas al

modificar la estructura del canopeo (Paiva et al. 2012). Pese a la importancia de la edad del macollo como condicionante de las respuestas morfogénicas y estructurales al agregado de nitrógeno, por ejemplo, los estudios existentes las caracterizan como promedio de un submuestreo de macollos aparecidos e identificados (aunque existen excepciones en genotipos de *Triticum* spp.; Bultynck et al. 2004, Everset et al. 2005). A mi leal saber y entender, la presente tesis es la primera que evalúa por separado distintas cohortes de macollos pertenecientes, además, a distintas historias de vida.

Hasta esta Tesis, no se había estudiado el efecto de la competencia sobre las distintas variables morfogénicas que conducen a la generación de la biomasa de las distintas especies: tasa de aparición de hojas, tasa de elongación foliar, longevidad de las hojas y tasa de aparición de macollos, responsables del proceso de construcción del crecimiento en macollos de distintas edades. En esta Tesis se utilizó una medición directa de la interferencia entre plantas mediante una aproximación dinámica, teniendo en cuenta el cuestionamiento que conlleva el establecimiento de jerarquías competitivas estáticas dentro de las pasturas (Lemaire 2001). Asimismo, la metodología utilizada ha permitido separar – mediante ensayos factoriales- el estrés abiótico (nitrógeno, luz) del estrés biótico impuesto a las plantas por sus vecinas. Esto permitió analizar separadamente el rol del ambiente y el de las interacciones entre especies en el control de la composición florística de pasturas (Peltzer y Wilson 2001). Esta aproximación dinámica ha permitido una distinción entre la capacidad competitiva intrínseca de una especie y su respuesta plástica a la intensidad de la misma dentro de un canopeo (Lemaire 2001). Los resultados obtenidos apoyan la idea de que el conocimiento de los rasgos morfogénicos (Capítulo 2) y de la plasticidad morfológica y estructural (Capítulos 2 y 3), que explican la dinámica del crecimiento de

hojas y de macollos de cada especie, son predictores apropiados del desempeño competitivo de las gramíneas durante el establecimiento de la pastura.

b) Efectos de la frecuencia de defoliación

Otro aspecto original de esta Tesis es el de haber adaptado una metodología de defoliación, de base fisiológica, utilizada ampliamente en canopeo smonoespecíficos a cultivos pluriespecíficos. La aplicación de la aproximación de "óptimo fisiológico" para orientar el manejo de la defoliación, y con ello la dinámica de la competencia entre especies coexistentes, permite maximizar las tasas de crecimiento, recuperar el nivel de reservas, reasumir el crecimiento de las raíces, incrementar el macollaje, mantener la calidad del forraje para los animales y mejorar la persistencia de distintas gramíneas forrajeras (Fulkerson y Slack 1994, Donaghy y Fulkerson 1997, Donaghy et al. 1997, Fulkerson y Donaghy 2001, Rawnsley et al. 2002, Turner et al. 2006 a, Donaghy et al. 2008). Rawnsley et al. (2002) y Turner et al. (2006 a) utilizaron esta metodología evaluando cosechas sucesivas de *Dactylis glomerata* en monoculturas. Sin embargo, si bien existe evidencia de que la respuesta de las gramíneas a la defoliación puede ser modificada por la competencia (Thornton y Millard 1996), esto aún ha sido escasamente documentado. En efecto, existen pocos trabajos que evalúan las respuestas morfológicas adaptativas de las plantas en canopeos mixtos (Zhu et al. 2014) y menos aún, trabajos que realicen este análisis bajo frecuencias de defoliación diferenciales. Asimismo, en el caso de *Dactylis glomerata*, pocos trabajos han evaluado con esta aproximación fisiológica la capacidad de recuperación posterior de las plantas defoliadas reiteradamente con frecuencias excesivas (por ejemplo Turner et al. (2006c) evaluaron la recuperación de *Dactylis glomerata* pero hasta que alcanzaron sus 3,5 hojas por macollo).

Por lo tanto, a mi leal saber y entender, la evaluación de frecuencias de defoliaciones superiores al óptimo fisiológico y la capacidad posterior de recuperación de la población de la gramínea perenne, constituye otro aporte original de esta Tesis. Los resultados obtenidos en el Capítulo 4 de la presente Tesis permiten demostrar grandes cambios morfogénicos, estructurales y funcionales asociados a las altas frecuencias de defoliación y afirmar que durante la implantación de pasturas multiespecíficas, la recomendación clásica de defoliar *Dactylis glomerata* cuando sus macollos alcanzan las 4 hojas utilizada en canopeos monoespecíficos (Fulkerson y Donaghy 2001, Rawnsley et al. 2002, Turner et al. 2006a), no siempre resulta conveniente cuando la especie perenne se encuentra creciendo en mezcla con una especie anual altamente competitiva.

5.3. Análisis integrado de los resultados obtenidos respecto a las hipótesis planteadas

a) Resumen de hipótesis y principales resultados

a.1.) Interacciones competitivas y fertilización nitrogenada

Las hipótesis que guiaron este estudio fueron que:

Los vecinos C₃ anuales/bianuales afectarán negativamente los mecanismos morfogénicos y estructurales asociados a la ocupación inicial del espacio en el canopeo y al establecimiento de las especies debido a la reducción de la llegada de luz a nivel del suelo y la magnitud de estos efectos será modificada por la aplicación de nitrógeno y será diferencial entre cohortes de macollos.

El Capítulo 2 estuvo focalizado en el estudio de los mecanismos morfogénicos en dos niveles de organización: hojas y macollos y analizó la dinámica de hojas de tres cohortes de macollos de plantas individuales (planta objetivo) de la especie anual y de la perenne, rodeadas por dos plantas individuales (plantas vecinas) de especies anuales y

perennes coexistentes en la línea de siembra en ausencia de defoliación. Los vecinos anuales, de mayor tasa de elongación foliar (TEF) que los perennes, produjeron un retraso en la tasa de aparición foliar (TAF) en el macollo principal y en el aparecido a los 50 días desde la emergencia ó 20 días desde la fertilización, y en la tasa de aparición de macollos (TAM) de ambas especies. Sin embargo, no produjeron aumentos en la TEF, probablemente debido a que en estadíos tempranos del establecimiento, la competencia por luz no alcanza intensidades extremas (en este caso la intercepción del canopeo fue de $\leq 93\%$). Por lo tanto, los vecinos anuales controlaron la dinámica de hojas y de macollos, y en consecuencia limitaron la ocupación vertical y horizontal, respectivamente, del espacio de las plantas objetivo. La TEF de los macollos más viejos fue la única variable favorecida por la adición de nitrógeno, probablemente por ser los únicos que estaban desarrollados al momento de la fertilización.

El Capítulo 3 estuvo focalizado en el estudio de los mecanismos estructurales y funcionales en los niveles de organización de macollos y de plantas y analizó la dinámica y la producción primaria de tres cohortes de macollos de plantas individuales (planta objetivo) de la especie anual y de la perenne, rodeadas por dos plantas individuales (plantas vecinas) de especies anuales y perennes coexistentes en la línea de siembra en ausencia de defoliación. Los vecinos anuales disminuyeron el número de hojas vivas (NHv) y el de hojas expandidas (NHe) como mecanismo estructural regulatorio, en macollos de edad intermedia (los aparecidos a los 50 días desde la emergencia ó 20 días desde la fertilización) de ambas especies. Como consecuencia, se observó una disminución en la densidad de macollos por planta, lo cual restringió el desarrollo de la ocupación horizontal del espacio. El vecino anual no causó incrementos en el tamaño del macollo, medido a partir de la longitud total de láminas verdes (LLv) o la del pseudotallo. Por lo tanto, durante el período

de establecimiento del cultivo, no existió un compromiso entre el número y el tamaño de los macollos asociado a la presencia de vecinos anuales. Sin embargo, los vecinos anuales provocaron una disminución en la biomasa de raíz y en la partición de biomasa hacia la misma. Esto sugiere que durante el establecimiento de la pastura, los vecinos anuales no mejoran la competencia por luz de las plantas o la colonización horizontal del espacio y además limitan la habilidad para adquirir eficientemente nutrientes del suelo. La fertilización nitrogenada invernal afectó el tamaño de todas las cohortes de macollos evaluadas pero no la densidad de macollos.

a.2.) Defoliación y fertilización nitrogenada

El objetivo del Capítulo 4 fue analizar los efectos de la fertilización nitrogenada invernal y la frecuencia de defoliación sobre la productividad y la persistencia de la gramínea perenne en canopeos compuestos por gramíneas C_3 anuales y perennes. Este Capítulo estuvo enfocado en el nivel de organización poblacional y analizó los mecanismos morfogénicos, estructurales y funcionales de la gramínea perenne, así como las consecuencias de los dos factores sobre su capacidad de crecer y persistir, durante el período crítico de implantación de la pastura (mediano plazo).

Las hipótesis que guiaron este estudio fueron que:

Frecuencias de defoliación superiores al óptimo fisiológico de la gramínea C_3 perenne, aplicadas durante el período otoño-invierno, afectarán negativamente su crecimiento, su cobertura relativa y su persistencia en la pastura. Estos efectos negativos no podrán ser revertidos por una adecuación posterior de la frecuencia de defoliación (primavera-verano) y que esos efectos negativos de las altas frecuencias de defoliación

serán mayores en pasturas no fertilizadas que en las fertilizadas, debido a la mayor limitación por nitrógeno de las primeras.

De acuerdo con lo postulado inicialmente, las altas frecuencias de defoliación con reiteración de las mismas (cuando los macollos alcanzaron sólo 2 hojas de rebrote) durante el período otoño-invierno afectaron permanente y negativamente a las variables de respuesta de la especie perenne, independientemente de si la frecuencia se definió según el número de hojas alcanzado por la especie guía anual o por la perenne. El efecto de estas altas frecuencias de defoliación se mantuvo aún cuando se pasó a defoliar con frecuencias óptimas durante el subperíodo siguiente de recuperación. Defoliar con frecuencias superiores a la óptima fisiológica de la especie perenne *Dactylis glomerata*, aumentó sensiblemente el filocrono (Figura 4.4) y redujo el rebrote de láminas (Figura 4.5). Esta desventaja de las altas frecuencias de defoliación también se reflejó en las tasas de acumulación de biomasa aérea (Figura 4.6a) y radical (Figura 4.6c) y en el contenido de HCR en la base de los macollos (Figura 4.6d). La defoliación realizada con una frecuencia sólo levemente mayor a la óptima para la especie perenne, es decir la realizada cuando la especie anual *Bromus willdenowii* alcanzó las 4 hojas por macollo (BW 4H), no llegó a afectar significativamente el crecimiento de la especie perenne *Dactylis glomerata*. En N⁻, esperar a que *Dactylis glomerata* presente 4 hojas por macollo podría enfrentarla a condiciones lumínicas más limitantes, por la presencia del vecino anual reproductivo (durante la primavera tardía; Tabla 4.1), respecto de la defoliación realizada cuando la especie anual alcanza las 4 hojas por macollo. Sin embargo, tal situación sólo se registró en la biomasa radical. En ese caso, la recomendación clásica de defoliar *Dactylis glomerata* cuando alcanza sus 4 hojas por macollo utilizada en canopeos monoespecíficos, puede

resultar menos conveniente que defoliarla antes cuando la especie anual *Bromus willdenowii* alcance sus 4 hojas por macollo.

Contrariamente a lo propuesto, los efectos de las altas frecuencias de defoliación no se vieron afectadas por la fertilización nitrogenada que no llegó a compensar los efectos de las altas frecuencias de defoliación. En cambio, la fertilización nitrogenada provocó algunos efectos específicos. Por un lado aumentó el rebrote foliar (Figura 4.5b) y modificó marginalmente ($P= 0,07$) la acumulación de la biomasa aérea de la especie perenne *Dactylis glomerata* (Figura 4.6a) durante la implantación de la pastura, pero por otro lado también alargó el filocrono en el subperíodo de recuperación (Figura 4.4b).

b) Análisis integrado de los resultados y avances en la teoría

b.1.) Diferencias morfogénicas y estructurales de origen genotípico entre gramíneas C₃ anuales y perennes

En las dos especies evaluadas, existió una vinculación entre las variables morfogénicas y estructurales y la capacidad de fijación y uso del carbono, asociada al compromiso, en términos de la partición de biomasa, entre la producción de nuevos macollos y el crecimiento de los existentes (Sugiyama 1995). Estos cambios en los rasgos, de origen tanto genético como plástico, determinan las habilidades competitivas y conducen las jerarquías tempranas entre plantas dentro de comunidades multiespecíficas compuestas por gramíneas C₃ anuales/bianuales y perennes (*Bromus willdenowii* + *Dactylis glomerata*), durante la etapa crítica de establecimiento del canopeo en ausencia de defoliación.

La habilidad para capturar luz se asocia con la ocupación vertical del espacio. Ésta está relacionada con dos mecanismos morfogénicos: la TAF y la TEF. La TAF fue rápida

(Figura 2.3b; Tabla 2.1) y el filocrono fue corto y similar entre gramíneas ($\sim 60 \text{ GDC hoja}^{-1}$ en el macollo principal de ambas gramíneas; Figura 2.3a; Tabla 2.1). Tales características permiten ocupar el espacio e interceptar luz rápidamente en etapas tempranas del establecimiento de las plantas (Hume 1991a). Sin embargo, y puesto que tanto el filocrono (Figura 2.3a; Tabla 2.1) como la TAF (Figura 2.3b; Tabla 2.1) fueron similares en ambas especies, sólo la mayor $\text{TEF}_{\text{bruta}}$ y neta (Figuras 2.4a y c; Tabla 2.2) le permitió a la especie anual una mejor ocupación del espacio y una más eficiente captura de luz, afectando probablemente el perfil vertical de luz en comparación con la especie perenne *D. glomerata* (Figura 5.2). La mayor $\text{TEF}_{\text{bruta}}$ por macollo de la especie anual estuvo relacionada con una mayor actividad de un mayor número de meristemas intercalares activos, asociados a una mayor número de hojas en crecimiento (NHc ; Figura 3.1a; Tabla 3.1) (Berone et al. 2007a), por lo que *Bromus willdenowii* presentó mayor relación $\text{NHc} \cdot \text{NHv}^{-1}$ (Figura 3.1d; Tabla 3.1) en el macollo principal (líneas llenas en Figura 5.1 y Figura 5.2).

Tener más hojas en activo crecimiento (NHc) y con una TEF individual de hoja potencial mayor (datos no mostrados), implica tener muchas hojas que usan más carbono para su propio crecimiento. El tamaño del macollo está compuesto por un mayor NHv y hojas y vainas más largas (Hume 1991a). *Bromus willdenowii* tuvo macollos más grandes y erectos debido a su mayor $\text{TEF}_{\text{bruta}}$ (Figura 2.4a; Tabla 2.2) y una mayor longitud total de láminas verdes por macollo ($\text{LLv} = \text{cm} \cdot \text{macollo}^{-1}$; Figura 3.2a; Tabla 3.2) y longitud del pseudotallo (Figura 3.2b; Tabla 3.2) y área foliar (AF_m), a pesar de su menor NHv , respecto a *D. glomerata* (líneas llenas en Figura 5.1). Dichos mecanismos estructurales sugieren que *Bromus willdenowii* presentó una mayor competitividad por luz respecto de *Dactylis glomerata* (Figura 5.2).

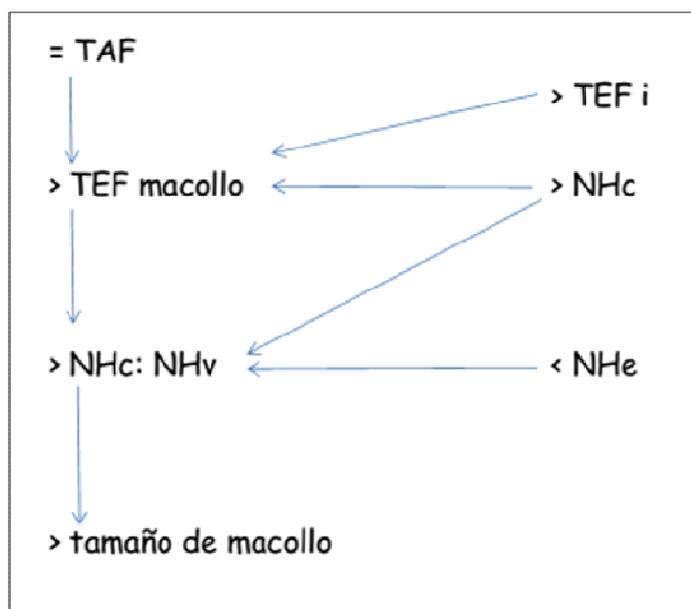


Figura 5.2. Integración de los principales mecanismos morfogénicos y estructurales de origen genético determinantes del mayor tamaño del macollo, de la ocupación vertical del espacio y de la competitividad por luz favorables a la especie anual/bianual *Bromus willdenowii*(BW) en pasturas templadas durante la etapa crítica de establecimiento. TEF_i representa la tasa de elongación de hojas individuales. Los signos (=, >, <) comparan cada mecanismo de BW con el correspondiente de *Dactylis glomerata*.

Por otra parte, la habilidad para ocupar el espacio horizontal en el canopeo fue similar entre ambas gramíneas al final del período experimental. Dicha ocupación, determinada por el macollaje, aparentemente pasó por tres etapas diferenciales (Figura 5.3). Previo al inicio de los registros (es decir al momento de la fertilización, 53 días luego de la siembra y 29 días después de la emergencia), *Bromus willdenowii* tenía un 81% más de macollos que la especie de *Dactylis glomerata* (BW: 3,17 vs. DG: 1,75; Capítulo 2). Este más rápido desarrollo del área foliar representó una mayor velocidad de ocupación horizontal del espacio de la especie anual (mecanismo morfogénico alternativo de control de la densidad de macollos). Luego comenzaría un período en el que *D. glomerata* incrementaría el macollaje. La tasa de aparición de macollos (TAM; Figura 2.5a; Tabla 2.2) y el macollaje, no sólo dependen de la TAF (Figura 2.3b; Tabla 2.1) sino también de la tasa

de llenado de sitios ($L_s = \text{macollos} \cdot \text{hoja}^{-1}$; Figura 2.5c; Tabla 2.2) (Davies 1974, Neuteboom y Lantinga 1989, Bahmani et al. 2000).

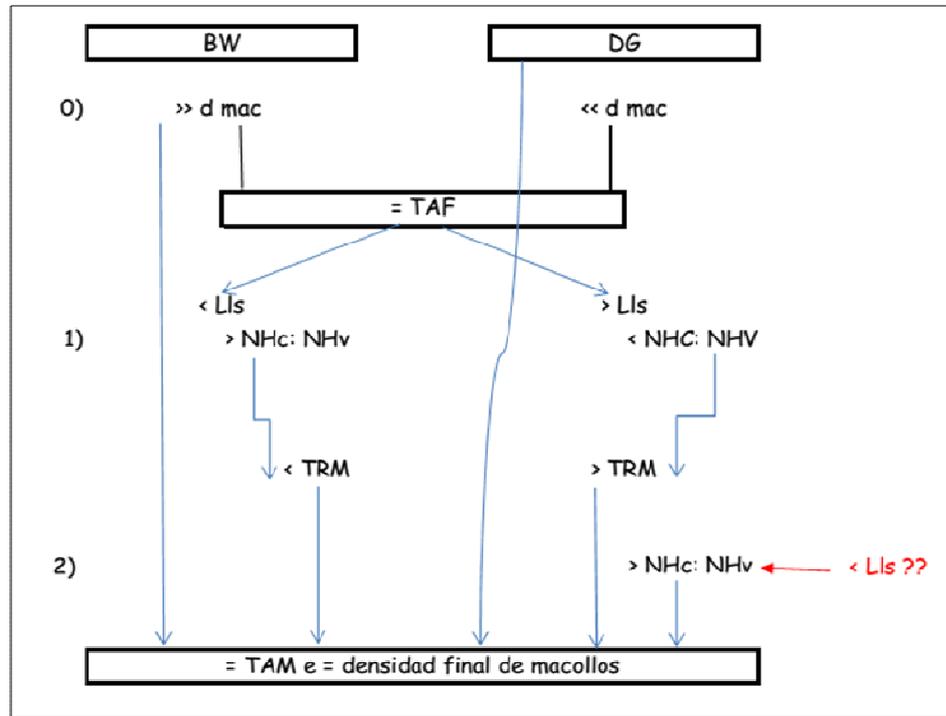


Figura 5.3. Integración de los principales mecanismos morfológicos y estructurales de origen genético determinantes de la similar densidad de macollos y ocupación horizontal del espacio de las gramíneas en pasturas templadas durante la etapa crítica de establecimiento. Los números representan las tres aparentes etapas: (0) mayor velocidad inicial de ocupación de la especie anual (previo al inicio de los registros), 1) de recuperación y 2) de estabilización del macollaje de la especie perenne, en las que se definió la tasa de aparición (TAM) y la densidad de macollos al final del período experimental. TRM = tasa de aparición relativa de macollos. Los signos ($=$, $>$, $<$) comparan cada mecanismo de *Bromus willdenowii* (BW) con el correspondiente de *Dactylis glomerata*. En rojo figura aquel mecanismo que no pudo ser corroborado en esta Tesis.

Ambas especies no difirieron en la tasa de aparición foliar (TAF, variable morfológica que fija el límite superior de la tasa de aparición de macollos (TAM) entre formas de vida) constituye el principal mecanismo morfológico de control de la densidad de macollos. Sin embargo, *Dactylis glomerata* tuvo mayor tasa de llenado de sitios (L_s) que *Bromus willdenowii*, por lo que presentó mayor partición de carbono hacia yemas

axilares. Esta prioridad en la partición se asociaría con la relación negativa existente entre la Lls y la TEF (Hume 1991a, Bahmani et al. 2000, Nelson 2000); relación mediada por la asociación negativa entre la Lls y el $NH_c:NH_v^{-1}$ (Figura 3.1d; Tabla 3.1) (Berone et al. 2007a). En el presente estudio dicha relación negativa estuvo también vinculada estrechamente a la variable morfogénica vida media foliar (VMF; Figura 2.3c; Tabla 2.1), por lo que también se registró una relación directa entre VMF y Lls en ambas especies. Entonces en esta segunda etapa, la especie perenne tuvo una mayor predisposición genética a "llenar macollos", mayor Lls ($0,28 \text{ macollos.hoja}^{-1}$) asociada a la menor relación $NH_c:NH_v^{-1}$ en el macollo principal. Esto produjo un incremento significativo en la tasa relativa de macollaje (TRM) de *D. glomerata* (Figura 2.5b; Tabla 2.2). Por otra parte, en *Bromus willdenowii* una mayor TEF_{neta} , una menor VMF, un mayor NH_c , un menor NH_v y por lo tanto mayor relación $NH_c:NH_v^{-1}$, fueron determinantes de una menor cantidad de carbono exportable a macollaje, debido a que la zona de crecimiento de la hoja es un destino fuerte con prioridad en el uso y la acumulación de los propios carbohidratos producidos (Volontec y Nelson 1984, Gautier et al. 1999, Nelson 2000, Schnyder et al. 2000.). Luego en *Dactylis glomerata*, seguiría un período de estabilización del macollaje asociado a un incremento dinámico en la proporción de hojas en activo crecimiento ($NH_c:NH_v^{-1}$; Figura 3.1c; Tabla 3.1) en los macollos más jóvenes (mecanismo estructural alternativo de control de la densidad de macollos). Esta menor disponibilidad de carbono limitó la TAM (Figura 2.5a; Tabla 2.2) por lo que la densidad final de macollos (Figura 3.2c; Tabla 3.2) resultó similar entre formas de vida al final del período experimental (líneas llenas en Figura 5.1). Por lo tanto, aquellos mecanismos definidos como morfogénicos y estructurales alternativos descritos en los Capítulos 2 y 3 respectivamente, serían en realidad mecanismos secuenciales o compensatorios de control

de la densidad de macollos (Figura 5.3). Sin embargo, en la presente Tesis no ha sido posible determinar si este cambio estructural dinámico en la relación $NH_c:NH_v^{-1}$ entre cohortes de macollos de *Dactylis glomerata* estuvo mediado por disminuciones en el llenado de sitios (L_s) en macollos juveniles.

Entonces, tempranamente (desde el macollo principal) se establecieron jerarquías genéticas en la habilidad para capturar luz dentro del canopeo por lo cual existieron plantas dominantes, las plantas de *Bromus willdenowii*, y plantas dominadas, aquéllas perennes de genotipo *D. glomerata* durante el establecimiento de la pastura (esto es durante los 85-dde; Figura 5.2). A pesar de su menor tamaño de macollo *Dactylis glomerata* no presentó un incremento en la densidad de macollos por planta (Figura 3.2c; Tabla 3.2; Figura 5.3). Esta baja habilidad temprana de ocupación del espacio podría impactar negativamente en la habilidad de la gramínea perenne para persistir dentro de la comunidad.

b.2.)Diferencias morfológicas, estructurales y funcionales asociadas al efecto de los vecinos

Las hojas más largas y erectófilas del vecino anual *Bromus willdenowii*, la especie de mayor TEF_{bruta} (Figura 2.4a; Tabla 2.2), mayor LL_v (Figura 3.2a; Tabla 3.2) y mayor largo del pseudotallo (Figura 3.2b; Tabla 3.2), indujeron modificaciones en variables morfológicas y estructurales de las plantas de cualquiera de las dos especies objetivo (Figura 5.4). Una de las respuestas más importantes fue la disminución en la densidad de macollos, operada a partir del decrecimiento en la TAM (Figura 2.5a; Tabla 2.2), vinculada a un incremento temprano de hasta el 28% en el filocrono (Figura 2.3a; Tabla 2.1) y una reducción de igual magnitud en la TAF (Figura 2.3b; Tabla 2.1) en los macollos más viejos de ambas especies (Figura 5.4). Hume (1991a) halló en los macollos nuevos de *B.*

willdenowii, de ubicación más basal y sometidos a condiciones más limitantes de iluminación, ocurre una disminución de la TAF. El temprano decrecimiento (66-dde) del 26% en la RFA a nivel del suelo dentro del canopeo inducido por los vecinos anuales ($102 \mu\text{MOL}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ con vecinos *Bromus willdenowii* vs. $138 \mu\text{MOL}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ con vecinos *Dactylis glomerata*) (Figura 3.2b; Tabla 3.2), debió haber modificado la tasa de iniciación de las hojas en el meristema apical ya que no se registraron cambios en el largo de los pseudotallos capaces de demorar la aparición de las láminas (Skinner y Nelson 1995, Zhu et al. 2014). Esta respuesta plástica negativa, inducida por un vecino anual, fue el mecanismo morfogénico de mayor importancia en el control de la TAM y de la densidad de macollos, ya que la TAF es la variable clave de control en la morfogénesis por tener influencia directa sobre los otros componentes de la estructura de la planta y del canopeo (Lemaire y Agusdei 2000; Figura 1.1) (líneas quebradas en Figura 5.1 y Figura 5.4).

En la presente Tesis, la densidad de macollos también fue condicionada por un mecanismo estructural, simultáneo al cambio morfogénico en la TAF, asociado a una partición diferencial de carbono entre destinos dentro de la planta. La reducción en el NHv (Figura 3.1c) y específicamente la reducción en el NHe (Figura 3.1b) en presencia del vecino anual, constituyó un mecanismo regulatorio operado en macollos de edad intermedia y durante etapas intermedias del cultivo (Figura 3.1; Tabla 3.1). Esta disminución en el NHe estuvo asociada a la disminución simultánea en la tasa de la aparición de las hojas – menor TAF (Figura 2.3b)- y en su longevidad -menor VMF (Figura 2.3c)- respecto a las registradas en plantas de cualquiera de las dos especies acompañadas por un vecino perenne. La estrategia promueve la muerte de las hojas expandidas y no de aquéllas en crecimiento (menor NHe pero igual NHc; Figuras 3.1a y b), que pueden vegetar en estratos mejor iluminados. Esta falta de plasticidad en el NHc (Figura 3.1a) en gramíneas C_3 acuerda

con lo reportado por Nelson (2000) y Bahmani et al. (2000). Este ajuste temprano en el NHe y en el NHv generó una mayor proporción de hojas en crecimiento ($NHc:NHv^{-1}$; Figura 3.1d) que fue determinante de una menor cantidad de carbono exportable a los meristemas axilares (Bahmani et al. 2000, Berone et al. 2007a); y por lo tanto redujo la TAM (Figura 2.5a) y la densidad de macollos (Figura 3.2c) (líneas quebradas en Figura 5.1 y Figura 5.4). Esta disminución de la densidad de macollos es de gran importancia durante el establecimiento de la pastura y/o cuando los canopeos son poco densos (Virkajärvi y Järvenranta 2001).

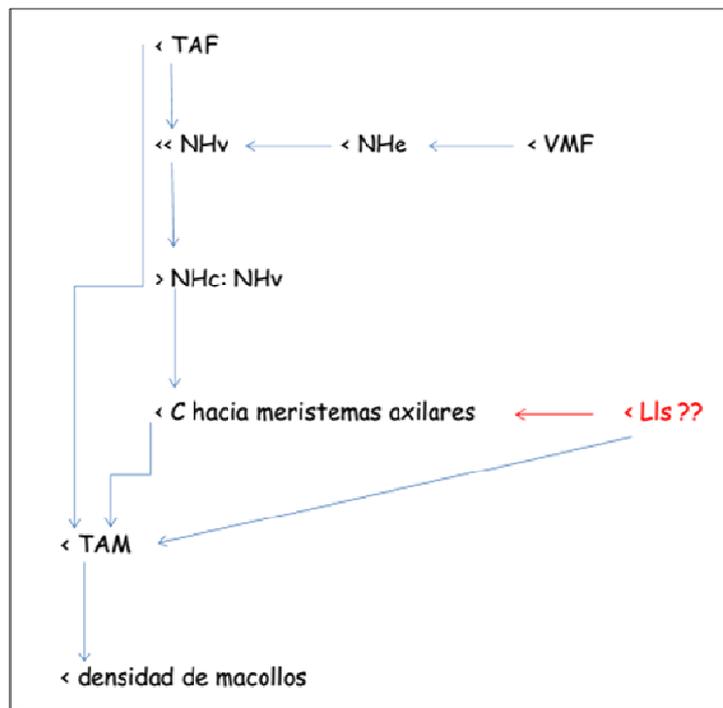


Figura 5.4. Integración de los dos mecanismos morfogénicos y estructurales simultáneos de origen ambiental o plástico, determinantes de la menor densidad de macollos y de la menor ocupación horizontal del espacio asociados al vecino anual/bianual *Bromus willdenowii*(BW) en pasturas templadas durante la etapa crítica de establecimiento. Los signos (<, =, >) comparan los valores alcanzados por cualquiera de las dos especies cuando estuvieron acompañadas por BW contra cuando su vecino fue *Dactylis glomerata*. En rojo figura aquel mecanismo que no pudo ser corroborado en esta Tesis.

Esta baja habilidad de ocupación horizontal temprana del espacio puede impactar negativamente en la habilidad de la gramínea perenne para persistir dentro de la comunidad y puede condicionar la composición florística futura de la comunidad (Ross y Harper 1972, Eagles et al. 1982). Es probable que este mecanismo estructural regulatorio haya estado asociado a una disminución en la Lls.

Sin embargo, esta disminución en la proporción de hojas en crecimiento y del LL_s no estuvo asociada a cambios en la TEF como los reportados en *Bromus stamineus* y *Lolium perenne* (Berone et al. 2007a). La falta de incremento en el tamaño del macollo –TEF_{bruto} o neta, LL_v y largo del pseudotallo- (esto es falta de respuesta de evasión al sombreado; Figura 2.4a y b, Figura 3.2a y b; Tablas 2.2 y 3.2) puede tener varias explicaciones. Esta respuesta puede ocurrir (Casal et al. 1985), depender del orden de aparición del fitómero (Zhu et al. 2004), depender de la zona de la hoja que reciba el estímulo lumínico; lámina o pseudotallo (Skinner y Simmons 1993) o puede no ocurrir (Monaco y Briske 2000). También la edad de las plantas puede condicionar la expresión de la respuesta de evasión al sombreado. Existieron limitaciones lumínicas, aunque la competencia por luz no alcanzó intensidades extremas cuando la intercepción del canopeo fue $\leq 93\%$ de la radiación incidente. Sin embargo, es posible que haya disminuído la Lls y en etapas posteriores a los 85 días del cultivo, se hayan producido incrementos en la TEF de macollos de edad intermedia. El decrecimiento de la TAF fue el único mecanismo de regulación del macollaje verificado. En la presente Tesis, no fue posible corroborar las siguientes tres etapas en el proceso de competencia por luz: reducción de la Lls, el verdadero indicador de plasticidad (como el uso de sitios: Huber et al., 1999), respuestas fotomorfogénicas (sólo en el macollo los aparecido a los 60 días desde la emergencia ó 30 días desde la fertilización) y ley del auto-raleo (Skinner y Nelson 1992, Lemaire y Millard 1999, Nelson 2000, Lemaire 2001, entre

otros). Durante la etapa de establecimiento (85 días del cultivo), el cambio inducido por los vecinos anuales en la TAF (y posiblemente en la Lls, mecanismos morfogénicos simultáneos), conjuntamente con el cambio en la proporción de NHc y NHV en macollos de edad intermedia (mecanismo estructural simultáneo; Figura 3.1d; Tabla 3.1) (líneas quebradas en Figura 5.1) son los que limitan la cantidad de carbono exportable a incrementar la densidad de macollos. Por lo tanto, las plantas vecinas de *Bromus willdenowii* resultaron al mismo tiempo el factor biótico y el principal factor ambiental modificante de las respuestas (Valladares et al. 2007).

Los vecinos anuales también decrecieron la biomasa de raíz (Figura 3.4d) y la partición de biomasa hacia la misma. Este efecto de los vecinos es especialmente relevante en especies de lento establecimiento, como lo es la gramínea perenne *D. glomerata*, cuyas plántulas tienen baja habilidad competitiva asociada a su lento crecimiento subterráneo inicial (Nurjayay Tow 2001). Este crecimiento inicial puede condicionar su desempeño posterior debido a que la habilidad competitiva de *D. glomerata* se correlaciona positivamente con el peso de sus raíces durante el segundo año luego del establecimiento (Sugiyamay Nakashima 1994). Esto sugiere que durante el establecimiento de la pastura, los vecinos anuales no mejoran la competencia por luz de las plantas o la colonización horizontal del espacio pero limitan la jerarquía en la colonización subterránea de las plantas, lo que está relacionado con la habilidad para adquirir eficientemente agua y nutrientes del suelo, importante en el resultado competitivo bajo condiciones de alta disponibilidad de nutrientes (Sugiyama 1999), en el corto plazo y con su futura habilidad competitiva por luz y por nutrientes (Lemaire 2001). De esta forma, las primeras etapas de la vida de las plantas resultan altamente sensibles a los efectos de los vecinos y al ambiente en comparación con plantas adultas establecidas (Peltzer y Wilson 2001).

b.3.)Diferencias morfológicas y estructurales asociadas al efecto del nitrógeno

La fertilización nitrogenada no afectó el número de hojas vivas por macollo (NHv; Figura 3.1c) debido a que no afectó el filocrono, la TAF (tasa de aparición foliar) o la VMF (vida media foliar; Capítulo 2). Los efectos del nitrógeno sobre la TEF (Figura 2.4a y c; Tabla 2.2), la LLv (Figura 3.2a; Tabla 3.2) y el área foliar por macollo (AF_m; Tabla 3.2) (líneas quebradas azules en Figura 5.1) fueron evidentes sólo en los macollos más viejos, macollo principal y cohorte aparecida a los 50 días desde la emergencia ó 20 días desde la fertilización debido a que el nitrógeno adicionado debe haber sido incorporado a los tejidos mejor iluminados de la planta, no estando disponible para la cohorte aparecida a los 60 días desde la emergencia ó 30 días desde la fertilización. Esto corresponde al cambio de una estrategia de crecimiento de la planta predominantemente horizontal a uno más vertical (Lemairey Millard 1999); por lo que tampoco se observó efecto del nitrógeno sobre los rasgos morfológicos o estructurales asociados al macollaje (TAF o el filocrono, TAM, LI_s, proporción de hojas en crecimiento respecto de hojas vivas o densidad de macollos). La fertilización nitrogenada tampoco mejoró la biomasa de los macollos juveniles (Figura 3.3) o la densidad de macollos por planta (Figura 3.2c.; Tabla 3.2), por lo cual su efecto no resultó significativo a escala planta (Figura 3.4a, b y c). Por lo tanto, el agregado de N⁺ incrementó esas desigualdades genéticas de tamaño: mayor TEF, mayor LLv y longitud de pseudotallo y mayor AF_m (Figuras 2.4a y b; Tabla 2.2 y Figura 3.2a y b; Tabla 3.2), incrementando la habilidad para capturar luz sólo de los macollos más viejos de las plantas de la especie anual *Bromus willdenowii* respecto de la perenne *Dactylis glomerata*.

b.4.) Defoliación y fertilización nitrogenada

Sin dudas la anticipación excesiva de la defoliación tiene efectos negativos sobre la especie perenne estudiada (*Dactylis glomerata*). Defoliar con frecuencias superiores a la óptima fisiológica de la especie perenne *D. glomerata* (cuando las especies guía tuvieron sólo 2 hojas por macollo) durante el período otoño-invierno aumentó sensiblemente el filocrono (Figura 4.4). Este cambio plástico en el filocrono representa el principal mecanismo morfogénico de regulación del crecimiento determinado en la presente Tesis. Sin embargo, estos cambios estuvieron asociados a diferentes etapas del cultivo; establecimiento vs. implantación. Sólo en etapas posteriores al establecimiento-implantación se presentaron diferencias interespecíficas en el filocrono asociadas al efecto de las frecuencias de defoliación, del período de tiempo y de la fertilización nitrogenada (Capítulo 4). El filocrono de las especies guía, *B. willdenowii* y *D. glomerata*, fue diferencialmente afectado por el tipo de defoliación (Figura 4.4a.). El filocrono de las especies guía se incrementó cuando se anticipó la defoliación de 4 hojas a 2 hojas por macollo sobre todo en *D. glomerata*. Aumentó un 24% en la especie *Bromus willdenowii* (BW 2H: 210,4 vs. BW 4H: 169,6 GDC.hoja⁻¹) y un 54% en *D. glomerata* (DG 2H: 388,2 vs. DG 4H: 251,6 GDC.hoja⁻¹) (Figura 4.4a). Este aumento del filocrono (Figura 4.4a) o disminución en la tasa de aparición de hojas –TAF- podría deberse a un enlentecimiento en la elongación de la lámina a través del pseudotallo de la hoja anterior, asociado a la escasez de HCR (Skinner y Nelson 1995, Zhu et al. 2014). Sin embargo, ¿esta disminución de la TAF, aumentos en el filocrono, conllevaría a una simultánea reducción en la VMF de las láminas? Es decir, ¿se produciría una relación negativa entre TAF y VMF capaz de mantener constante el NHv del macollo?

Además, de reducir la TAF, el bajo nivel de HCR debió haber disminuído la tasa de elongación de las láminas una vez que se encontraban fuera del envoltorio de vainas (Hazard y Ghesquiére 1995, Berone et al. 2008) por lo que se afectó muy negativamente el rebrote de láminas (Figura 4.5a) y la tasa de acumulación de la biomasa aérea de la especie perenne (Figura 4.6a) (Figura 5.5). Sin embargo, aunque con similar tasa de acumulación de la biomasa aérea (Figura 4.6a), la defoliación realizada en *D. glomerata* cuando alcanzó las 2 hojas por macollo redujo más la tasa de acumulación de macollos vegetativos respecto de aquella realizada cuando la especie guía *Bromus willdenowii* alcanzó las 2 hojas por macollo (Figura 4.6c). Esta mayor tasa de macollaje en *Bromus willdenowii* con 2 hojas por macollo se asociaría con un menor peso individual de los macollos (Davies 1988) en contraposición a lo que ocurriría en *D. glomerata* con 2 hojas por macollo.

Las altas frecuencias con reiteración de defoliaciones también estuvieron asociadas con disminuciones en la tasa de acumulación de la biomasa radical (Figura 4.6b.; Figura 5.5) debido a que cuando aumenta la severidad de frecuencia de la defoliación, se incrementa la prioridad de partición de biomasa hacia el crecimiento aéreo en detrimento del radical (Fulkerson y Donaghy 2001).

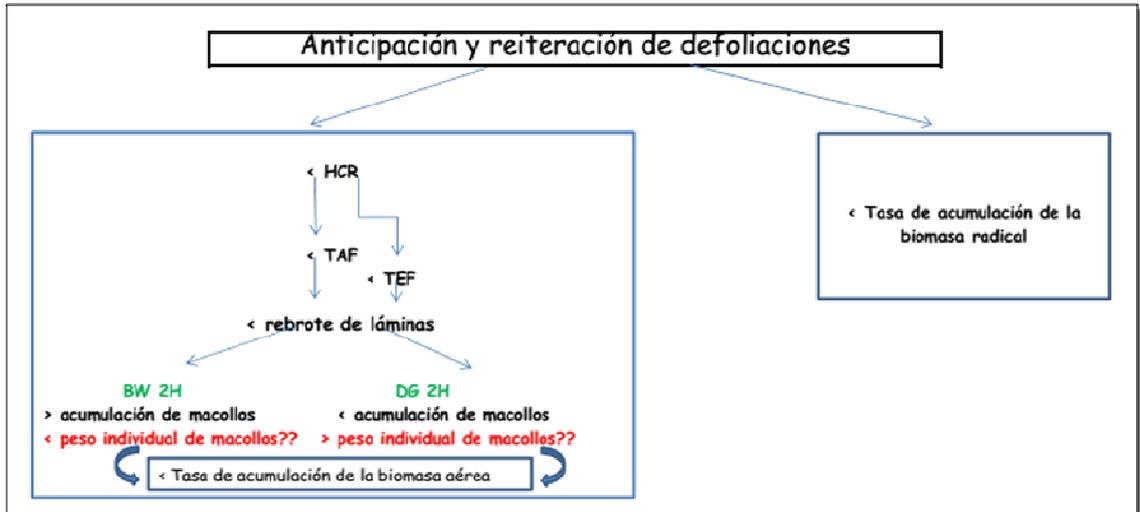


Figura 5.5. Integración de los mecanismos morfogénicos y estructurales determinantes de la menor productividad aérea y radical de la población de la gramínea C_3 perenne *Dactylis glomerata* en respuesta a la anticipación con reiteración de defoliaciones en pasturas templadas con la gramínea anual/bianual *Bromus willdenowii* (BW) durante la etapa crítica de implantación del cultivo.

La fertilización nitrogenada tuvo efectos diferenciales sobre el filocrono y la TAF en ambos subperíodos de evaluación (Figura 2.3a; Tabla 2.1); la fertilización no afectó inicialmente el filocrono de las especies guía ($214 \text{ GDC.hoja}^{-1}$), sin embargo lo aumentó un 28% durante la recuperación ($N^-: 259,2$ vs. $N^+: 332,7 \text{ GDC.hoja}^{-1}$; Figura 4.4b.), asociado a un incremento paulatino en el largo del pseudotallo de las especies guía por efecto del N (en todas las cohortes de macollos evaluadas, en Figura 3.2b). Estos efectos diferenciales del N sobre el filocrono entre subperíodos permitirían explicar los resultados contradictorios mostrados en la bibliografía (Wilheim y Mc Master 1995, Lattanzi et al. 1997, Cruz y Boval 2000).

El incremento provocado por la fertilización sobre la tasa de rebrote de láminas (Figura 4.5a) se explica por los aumentos en la tasa de elongación y el largo final de las láminas reportadas reiteradamente en respuesta a la fertilización N (a escala hoja en los

macollos más viejos, también en Figuras 2.4 y 3.2 y Tabla 2.2 de esta Tesis). Sin embargo, el agregado de 170 kg N.ha^{-1} no tuvo efecto significativo ($P= 0,07$) sobre la tasa de acumulación de la biomasa aérea (Figura 4.6a), debido a la falta de efecto sobre la biomasa de los pseudotallos (datos no mostrados), el peso individual de los macollos y/o el número de macollos por planta (Donaghy y Fulkerson 1998). Estos resultados de *D. glomerata* obtenidos a escala poblacional, en los que no se registra efecto del N, se componen de aquellos registrados a escala planta: densidad de macollos (Figura 3.2c y Tabla 3.2) y la biomasa aérea y sus compartimentos; láminas y pseudotallos (Figuras 3.4a, b y c) y a escala macollo: el peso de los macollos juveniles más limitados en la captura de luz (Figuras 3.3a, b y c) en los que no se registra efecto del N. Resta preguntarse, ¿deberá incrementarse levemente el agregado de N a fin de sumar respuestas en los macollos más jóvenes y otros a escala planta para que el mismo sea percibido a escala poblacional?

5.4. Relevancia de los resultados

a) Interacciones competitivas y fertilización nitrogenada

Las decisiones culturales iniciales concernientes a la elección de formas de vida, especies y/o cultivares, el diseño y arreglo de siembra y las densidades relativas de siembra de gramíneas C_3 anuales y perennes, enfrentan a las especies a distintas situaciones de competencia inicial en la línea de siembra que dan lugar a diferencias en la estructura, la productividad y la composición florística de las pasturas. Conocer los patrones de crecimiento es útil para elegir las situaciones de competencia más favorables. De acuerdo a los resultados presentados en la presente Tesis, la jerarquía en la captura de luz estaría relacionada directamente con los genotipos elegidos para ser mezclados, mientras que la jerarquía en la ocupación horizontal y la colonización subterránea del espacio son

claramente controlados por los vecinos, y por lo tanto, de origen ambiental o plástico en pasturas templado-húmedas. Los resultados sugieren que *D. glomerata* es un competidor menos agresivo que la especie anual/bianual y que para esta especie la competencia interespecífica es más fuerte que la intraespecífica. Lo contrario ocurre con *Bromus willdenowii*. En este sentido, los resultados refuerzan la necesidad de disminuir la densidad de siembra de la gramínea C₃ anual/bianual a fin de compensar los efectos morfogénicos, estructurales y funcionales negativos del competidor-vecino *Bromus willdenowii*. En estas circunstancias, una mayor densidad de siembra de la especie perenne respecto de la anual, permitiría establecer una mayor frecuencia de situaciones favorables de competencia en la línea de siembra lo que permitiría mejorar la densidad de la pastura, reducir la invasión futura de malezas y optimizar la composición florística de la pastura. La persistencia de la gramínea perenne dentro del tapiz es más importante que la de la gramínea anual porque puede restringir severamente la estabilidad productiva y florística de la pastura. Las especies anuales pueden persistir en la pastura mediante el mecanismo de re-establecimiento por semilla en años posteriores; sin embargo ciertas prácticas de manejo de la defoliación podrían afectar este re-establecimiento. Por lo tanto, dado que un proceso productivo virtuoso se inicia desde la siembra y que las decisiones culturales deben tender a optimizar más que a maximizar la productividad de las especies más deseables dentro de la comunidad, la gramínea C₃ perenne (Kemp y King 2000, Kemp et al. 2000), la misma debería sembrarse con una mayor densidad relativa. El agregado de 170 kg de N.ha⁻¹ durante el invierno no incrementaría sustancialmente las desigualdades genéticas de tamaño debido a que sólo mejora la habilidad para capturar luz de los macollos más viejos de las plantas de la especie anual *B. willdenowii* respecto de la perenne *D. glomerata*.

Durante el establecimiento temprano de la pastura, la capacidad de cada planta individual de adquirir rápidamente recursos del suelo determinó su propio crecimiento y su futura habilidad para capturar luz antes que el punto de intercepción plena de luz fuera alcanzado ($\geq 95\%$ de intercepción lumínica). Ya se ha mencionado que en la presente Tesis, que no fue posible corroborar ciertas etapas en el proceso de competencia por luz cuando la intercepción del canopy fue $\leq 93\%$ de la radiación incidente. De haber continuado el período experimental probablemente las plantas que fueran sombreadas por sus vecinas llevarían adelante una intensa reprogramación de su desarrollo morfológico (Ballaré 1999). Cuando toda la energía incidente es interceptada, las plantas tienen que competir por la luz y entonces las plantas dominadas por sus vecinos serán limitadas en su futura capacidad para adquirir nutrientes y aquellas que tienen una posición dominante en el canopy seguirán teniendo un mayor acceso a los recursos del suelo, lo que refuerza su competitividad. Esta dependencia del sistema radical de la energía capturada por las hojas, impone una fuerte jerarquía entre la competencia por luz y por los recursos del suelo entre plantas coexistentes; el éxito en un tipo de competencia refuerza la posibilidad de éxito en el otro. Por esto cuando una planta domina a sus vecinas su ventaja competitiva se incrementa y la brecha entre plantas dominantes y dominadas continúa incrementándose (Lemaire 2001). Por lo tanto, y de acuerdo a Grime (1977, 1979) y Grime et al. (1988), es la necesidad de compartir los recursos del suelo lo que conduce la competencia por luz. Estas jerarquías desarrolladas bajo competencia por luz, conducen la competencia por recursos edáficos y ocurren durante las fases iniciales del crecimiento, debido a que están relacionadas con la percepción temprana de las plantas de la existencia de vecinos (Lemaire y Millard 1999). Por lo tanto, la brecha competitiva entre plantas dominantes (aquellas de genotipo *Bromus willdenowii* y con vecinos *D. glomerata*) y dominadas (aquellas de

genotipo *D. glomerata* con vecinos *Bromus willdenowii*) se iría incrementando en la medida que aumentara la competencia por luz en el canopeo hasta que se alcanzara un punto en el que comenzaría el autoraleo y la muerte de plantas dominadas; lo que aumentaría más la dominancia de la especie anual/bianual por sobre la perenne. Por lo tanto, la defoliación oportuna impondría el límite capaz de mantener la densidad de plantas atenuando el impacto de las jerarquías en la captura de luz y nutrientes. Esta decisión cultural oportuna permitirá compatibilizar el equilibrio en la composición florística (dominancia relativa de la especie perenne) con menor variabilidad productiva intraanual (sostenimiento de la productividad de la especie perenne) de comunidades multispecíficas implantadas a más largo plazo.

b) Defoliación y fertilización nitrogenada

Las altas frecuencias de defoliación aplicadas durante el período otoño-invierno-inicio de primavera afectaron permanente y negativamente a la población de la gramínea C_3 perenne *Dactylis glomerata*, aunque el efecto fue menos significativo cuando se defolió con una frecuencia sólo levemente mayor (cuando la especie guía *Bromus willdenowii* alcanzó las 4 hojas por macollo). Estos efectos fueron similares en presencia o ausencia de fertilización nitrogenada.

Por otra parte, en ambientes fertilizados cuando se respeta la frecuencia óptima de defoliación para *D. glomerata* (en sus 4 hojas), las plantas obtienen un mayor ingreso de fotoasimilados asociado a incrementos del área foliar. Conjuntamente se les brinda el tiempo adecuado para particionar biomasa a los múltiples destinos: aéreo, radical y a macollaje durante el período de rebrote; *D. glomerata* lograría así un crecimiento armónico o equilibrado. Por lo tanto, en N^+ , la frecuencia de defoliación *D. glomerata* en sus 4 hojas

por macollo (defoliación oportuna) maximizaría la productividad aérea (Figura 4.6a) y optimizaría los parámetros ecológicos asociados a la mejora en la cobertura relativa y a la persistencia de la población de la gramínea C_3 perenne en la comunidad.

En cambio, en las plantas no fertilizadas, la defoliación realizada cuando la especie perenne *D. glomerata* alcanza sus 4 hojas por macollo no mejora el crecimiento de la raíz sino que por el contrario podría enfrentar a las plantas a condiciones lumínicas más limitantes por la presencia del vecino anual reproductivo (durante la primavera tardía; Tabla 4.1) respecto de la defoliación realizada cuando la especie anual alcanza las 4 hojas por macollo. El crecimiento radical es especialmente relevante en especies que tienen baja habilidad competitiva asociada a su lento crecimiento subterráneo inicial como es el caso de la población de *D. glomerata*. Además, la defoliación realizada cuando BW 4H no afectaría el rebrote de láminas (Figura 4.5), la acumulación de la biomasa aérea (Figura 4.6a) o la acumulación de hidratos de carbono de reserva (Figura 4.6d). En ese caso, la recomendación clásica de defoliar *Dactylis glomerata* cuando alcanza sus 4 hojas por macollo utilizada en canopeos monoespecíficos, puede resultar menos conveniente que defoliarla antes cuando la especie anual *Bromus willdenowii* alcance sus 4 hojas por macollo. A la luz de los presentes resultados no sería indicado hablar de frecuencia óptima, aquella que optimiza el crecimiento, la cobertura relativa y la persistencia de la especie, en general sin considerar el ambiente y la compañía en la que crece la población de la gramínea perenne.

De acuerdo a los resultados presentados en la presente Tesis podría decirse que aquellos estudios que analizan la competencia entre especies o los efectos de la defoliación evaluando solamente la biomasa de las especies involucradas, no serían capaces de detectar los pequeños mecanismos involucrados en el proceso de construcción de dicha biomasa,

mecanismos que muchas veces pueden ser compensados por el crecimiento en escalas distintas.

5.5. Perspectivas futuras

A partir del trabajo realizado se pueden determinar tres ejes emergentes principales asociados a la presencia de vecinos y a la defoliación:

a) Etapa germinación- emergencia- establecimiento temprano de las especies:

Dado que la presencia de vecinos podría modificar el crecimiento y la habilidad competitiva de las plántulas se deberían registrar, mediante ensayos manipulativos, cambios en las temperaturas base o el tiempo térmico a germinación y emergencia, el crecimiento plástico del coleóptile y/o del mesocótile y de la raíz asociados a distintas densidades relativas de siembra de la gramínea anual y de la perenne durante etapas muy tempranas del cultivo. En la actualidad existen algunos trabajos que evalúan estas características en especies gramíneas forrajeras (Andrews et al. 1997, Mott et al. 2000, Sanderson y Elwinger 2004) pero que no consideran la presencia de distintos vecinos (excepto Skinner 2005). Asimismo, el complejo e intrincado proceso de macollaje ha dejado algunos interrogantes abiertos en la presente Tesis por lo que debería evaluarse el modelo inicial de macollaje de cada una de las especies siguiendo la metodología descrita por Fustec et al. (2005).

b) Etapa de establecimiento- implantación de leguminosas erectas:

Existen pocos trabajos que asocian las variables morfogénicas con la dinámica de acumulación de hidratos de carbono de reserva en leguminosas forrajeras de morfología erecta como *Medicago sativa* (alfalfa) o *Trifolium pratense* (trébol rojo), componentes fundamentales de pasturas templadas, durante su crecimiento vegetativo y también su asociación con el desarrollo reproductivo de las mismas.

c) Etapa de implantación- post-implantación de pasturas templado- húmedas:

Con la metodología de defoliación propuesta se podrían relevar los balances competitivos entre gramíneas C₃ anuales y perennes. Para ello debería diseñarse un ensayo factorial en el que se impongan los tratamientos de frecuencias de defoliación de manera independiente en ambas gramíneas (especie observada y especie vecina; Remison y Snaydon 1980, Thornton y Millard 1996) combinado con diferentes intensidades de defoliación de acuerdo a la metodología propuesta por ejemplo por Lestienne et al. (2006). Asimismo restaría evaluar la demografía de la población de macollos en estos canopeos mixtos sometidos a defoliación, lo que brindaría información referida a las estrategias de persistencia de las especies a más largo plazo; nacimiento y muerte de individuos asociados a la estación del año y a la defoliación. Esto considera también la evaluación de la supervivencia de diferentes cohortes de macollos (Latterra et al. 1997, Matthew et al. 2000, Hirata y Pakiding 2002). Este conocimiento sería relevante ya que el estado reproductivo de la especie anual/bianual durante la primavera y la supervivencia de los macollos de ambas gramíneas durante el verano podrían modificar la composición florística de la comunidad, por lo que estas respuestas deberían ser evaluadas en etapas posteriores del cultivo. Estos ejes también podrían considerarse para su evaluación en leguminosas forrajeras.

5.6. CONCLUSIONES GENERALES

Los resultados de la presente Tesis permiten afirmar que existen cuatro mecanismos principales de regulación o control del crecimiento y la habilidad competitiva con impacto en la persistencia, la cobertura relativa y la composición florística durante las etapas iniciales de pasturas multiespecíficas.

1) El cambio en **el filocrono o en la tasa de aparición foliar** (TAF) es el principal mecanismo involucrado porque tiene influencia directa sobre los otros componentes de la estructura de la planta y del canopeo. Estos cambios estuvieron también asociados a diferentes etapas del cultivo; establecimiento e implantación. Durante el establecimiento, los valores de filocrono hallados en el macollo principal de las especies fueron muy cortos y los de la TAF, muy rápidos, pero similares entre formas de vida, compatibles con etapas en las que resulta necesario ocupar el espacio de manera de interceptar luz rápidamente. Como la TAF fija siempre el límite superior de la TAM y de la densidad de macollos máxima, la falta de diferencia en la TAF fija la densidad de macollos entre formas de vida, aunque se modifique la Lls. Por lo tanto, la TAF determinó la ocupación temprana del espacio sobre todo aquélla horizontal y en menor medida, la vertical.

El filocrono también se incrementó como consecuencia de la vecindad del vecino anual *Bromus willdenowii*. Con respecto al cambio inducido por los vecinos anuales, éste cambio en la TAF, conjuntamente con el **2) cambio en la proporción de NHc y NHv en macollos de edad intermedia**, limitan la cantidad de carbono asignado a incrementar la densidad de macollos. Esta baja habilidad de ocupación horizontal temprana del espacio puede impactar negativamente en la habilidad de la gramínea perenne *Dactylis glomerata* para persistir dentro de la comunidad. La fertilización nitrogenada no afectó el filocrono.

En etapas posteriores al establecimiento-implantación se presentaron diferencias interespecíficas en el filocrono asociadas al efecto de las altas frecuencias de defoliación, del período de tiempo y de la fertilización nitrogenada. El filocrono de la especie anual *Bromus willdenowii* y de la perenne *Dactylis glomerata* fueron diferencialmente afectados por el tipo de defoliación. El filocrono de las especies guía se incrementó cuando se

anticipó la defoliación de 4 a 2 hojas por macollo sobre todo en *D. glomerata* debido a un enlentecimiento en la tasa de desarrollo de los primordios de hojas y/o a la escasez de carbono o de HCR que permitieran acelerar la elongación de la lámina a través del pseudotallo de la hoja anterior. El filocrono también fue afectado por la interacción entre la fertilización nitrogenada y el período de evaluación. El agregado de N no modificó el filocrono de ambas especies guía. Sin embargo, el fertilizante incrementó el filocrono durante el subperíodo de recuperación asociado a un incremento paulatino en el largo del pseudotallo de las especies guía.

Durante el establecimiento, sólo la **3) mayor TEF**, puesto que tanto el filocrono como la TAF fueron similares en ambas especies, le permitió a la especie anual *Bromus willdenowii* una mejor ocupación vertical del espacio y una más eficiente captura de luz, afectando probablemente el perfil vertical de luz en comparación con la especie perenne *D. glomerata*. Esta mayor TEF_{neta} estuvo asociada a un mayor tamaño de macollos (mayor LLv) y mayores longitudes de los pseudotallos (Figura 3.2b) en comparación con la especie perenne *D. glomerata*. Todos estos mecanismos morfogénicos y estructurales sugieren que *Bromus willdenowii* tiene una mayor jerarquía y mayor competitividad por luz respecto de *D. glomerata*. Las jerarquías en la captura de luz se acrecientan con el agregado de N^+ . El fertilizante nitrogenado potencia las desigualdades genéticas de tamaño: mayor TEF, mayor LLv y longitud de pseudotallo y mayor AF_m , sobre todo en los macollos más viejos, incrementando la habilidad para capturar luz especialmente de la especie anual *Bromus willdenowii*.

Durante el establecimiento y la implantación de la pastura, el **4) cambio en la biomasa radical** es el mecanismo de mayor importancia en especies perennes de lenta implantación como lo es *D. glomerata*. La presencia de un vecino perenne y la anticipación

del momento de la defoliación en N^- (defoliación en *D.glomerata* en sus 3 hojas por macollo (es decir cuando *Bromus willdenowii* presenta 4 hojas por macollo) respecto del considerado óptimo en N^+ (*D. glomerata* en sus 4 hojas), mejoraría la ocupación del espacio subterráneo de la gramínea perenne. Esto le permitiría a *D.glomerata* desarrollar mejor su sistema radical, mejorando su tolerancia al estrés nutricional y al déficit hídrico estival, lo que le brindaría una mayor supervivencia y capacidad competitiva respecto de otras especies durante la implantación de la pastura. Esto es especialmente relevante en especies de lento establecimiento como es el caso de la perenne *Dactylis glomerata* lo que puede condicionar el desempeño posterior de la gramínea perenne en la pastura.

La jerarquía en la captura de luz estaría relacionada directamente con los genotipos elegidos para ser mezclados, mientras que la jerarquía en la ocupación horizontal y la colonización subterránea del espacio son claramente controlados por los vecinos, y por lo tanto, de origen ambiental o plástico durante el establecimiento en pasturas templado-húmedas. Por lo tanto, las decisiones culturales apropiadas deberían buscar balancear la competencia y la producción potencial entre las especies sembradas. Por otra parte, no sería indicado hablar de frecuencia óptima de defoliación, aquella que optimiza el crecimiento, la cobertura relativa y la persistencia durante la implantación de la especie perenne, en general sin considerar el ambiente y la compañía en la que crece de la población de *Dactylis glomerata*. El conocimiento de estos mecanismos morfogénicos, estructurales y funcionales involucrados en las interacciones competitivas tempranas entre gramíneas anuales y perennes en la línea de siembra y en su respuesta a la defoliación contribuyen a diseñar y gestionar los momentos y la forma de intervenir en estas comunidades multiespecíficas templadas y enfatizan la importancia de las decisiones culturales que busquen promover un equilibrio en la composición florística con menor variabilidad productiva intraanual.

Bibliografía

Aerts R. (1999) Interspecific competition in natural plant communities: mechanisms, trade-offs and plant- soil feedbacks. *Journal of Experimental Botany* 50 (330), 29- 37.

Agnusdei M.G., Assuero S.G., Fernández Greco R.C., Cordero J.J. y Burghi V.H. (2007) Influence of sward condition on leaf tissue turnover in tall fescue and tall wheatgrass swards under continuous grazing. *Grass and Forage Science* 62, 55- 65.

Agnusdei M.G. y Colabelli M.R. (2007) Morfogénesis foliar aplicada a la defoliación en pastizales de la Pampa Deprimida. *Revista Argentina de Producción Animal* 27 (1): 136-137.

Andrews M., Douglas A., Jones A.V., Milburn C.E., Porter D. y Mc Kenzie B.A. (1997) Emergence of temperate pasture grasses from different sowing depths: importance of seed weight, coleoptile plus mesocotyl length and shoot strength. *Ann. Appl. Biology* 130, 549-560.

Anten N.P.R. y Hirose T. (1998) Biomass allocation and light partitioning among dominant and subordinate individuals of *Xanthium canadense* stands. *Annals of Botany* 82, 665- 673.

Aphalo P.J., Ballaré C.L. y Scopel A.L. (1999) Plant- plant signalling, the shade-avoidance response and competition. *Journal of Experimental Botany* 50, 1629- 1634,

Bahmani I., Hazard L., Varlet-Grancher C., Betin M., Lemaire G., Matthew C. y Thom E.R. (2000) Differences in tillering of long and short leaved perennial ryegrass genetic lines under full light and shade treatments. *Crop Sci.* 40, 1095- 1102.

Bahmani I., Thom E.R., Matthew C., Hooper R.J. y Lemaire G. (2003) Tiller dynamics of perennial ryegrass cultivars derived from different New Zealand ecotypes: effects of cultivar, season, nitrogen fertiliser and irrigation. *Australian Journal of Agricultural Research* 54, 803- 817.

Ballaré (1999) Keeping up with the neighbours: phytochrome sensing and other signalling mechanisms. *Trends Plant Sci* 4, 97-102

Ballaré C.L., Sánchez R.A., Scopel A.L., Casal J.J. y Ghera C.M. (1987) Early detection of neighbour plants by phytochrome perception of spectral changes in reflected sunlight. *Plant Cell and Environment* 10, 551- 557.

Ballaré C.L., Scopel A.L. y Sánchez R.A. (1990) Far-red reflected from adjacent leaves: an early signal of competition in plant canopies. *Science* 247, 329-332.

Bartholomew P.W. y Williams R.D. (2005) Cool-season grass development response to accumulated under a range of temperature regimes. *Crop Sci.* 45, 529- 534.

- Begon M. y Harper L. (1996) Ecology: individuals, populations and communities. 3rd Edition. BlackWell Science. 876 pp.
- Bélangier G. (1996) Morphogenetic and structural characteristics of field- grown Timothy cultivars differing in maturity. Canadian Journal of Plant Science 76, 277- 282.
- Belanger G., Gastal F. y Lemaire G. (1992) Growth analysis of a tall fescue sward fertilized with different rates of nitrogen. Crop. Sci. 32, 1371- 1376.
- Belesky D.P. (2005a) Growth of *Dactylis glomerata* along a light gradient in the central Appalachian region of the eastern USA: I) Dry matter production and partitioning. Agroforestry System 65, 81- 90.
- Belesky D.P. (2005b) Growth of *Dactylis glomerata* along a light gradient in the central Appalachian region of the eastern USA: II) Mechanims of dry matter production. Agroforestry System 65, 91- 98.
- Belesky D.P. (2006) Regrowth interval influences productivity, botanical composition, and nutritive value of old world bluestem and perennial ryegrass swards. Agron. J. 98, 270- 279.
- Bell C.C. y Richie J.M. (1989) The effect of frequency and height of defoliation on the production and persistence of 'Grasslands Matua' prairie grass. Grass and Forage Science, 44: 245–248.
- Benner B.L. y Bazzaz F.A. (1987) Effects of timing of nutrient addition on competition within and between two annual plant species. Journal of Ecology 75, 229: 245.
- Berendse F. y Aerts R. (1984) Competititon between *Erica tetralis* L. and *Molinia caerulea* (L.) Moench as affected by the availability of nutrients. Acta Oecologica 5 (19), N° 1, 3-14.
- Berendse F. (1994) Competition between plant population at low and high nutrient supplies. Oikos 71, 253- 260.
- Berendse F. y Elberse W.T. (1990) Competition and nutrient availability in heathland and grassland ecosystem. In: Grace J.B. and Tilman D., eds. *Perspectives on plant competition*. Academic Press, San Diego, USA, pp. 93- 116.
- Berone G. D y Dreher N. (2007) Elongación y vida media foliar de gramíneas templadas perennes a inicios de primavera en el centro-oeste santafecino. Revista Argentina de Producción Animal 27 (1), 201- 202.
- Berone G.D., Lattanzi F.A., Colabelli M. y Agnusdei M. (2007a) Análisis del crecimiento por macollo en dos cultivares de *Bromus stamineus* y dos de *Lolium perenne*. Revista Argentina de Producción Animal Vol. 27, Supl. 1, 203-204.

- Berone G.D., Lattanzi F.A., Colabelli M. y Agnusdei M. (2007b) A comparative analysis of temperature response of leaf elongation in *Bromus stamineus* and *Lolium perenne* plants in the field. Intrinsic and size-mediated effects. *Annals of Botany* 100, 813- 820.
- Berone G.D., Lattanzi F.A., Agnusdei M.G. y Bertolotti N. (2008) Growth of individual tillers and tillering rate of *Lolium perenne* and *Bromus stamineus* subjected to two defoliation frequencies in winter in Argentina. *Grass and Forage Science* 63, 504- 512.
- Black A.D., Moot D.J. y Lucas R. J. (2006) Development and growth characteristics of Caucasian and white clover seedlings compared with perennial ryegrass. *Grass Forage Sci.* 61, 442-453.
- Bos H.J. y Neuteboom J.H. (1998) Morphological analysis of leaf and tiller number dynamics of wheat (*Triticum aestivum* L.): responses to temperature and light intensity. *Annals of Botany* 81, 131-139.
- Briske D.D. y Heischmidt R.K. (1991) *An Ecological Perspective in Grazing Management*. Edited by R.K. Heischmidt and J. Stuth (eds.). Timberland Press Inc., Oregon, USA. Timber Press. pp. 11-26.
- Briske D.D. (2007) Plant interactions in pastures. In *Forages II: The Science of grassland Agriculture* 6 th ed. Barnes RF, Moore KJ, Nelson CJ and Collins M. (eds). Iowa Academic Press, Ames IO, pp. 105- 122.
- Brougham R.W. (1956) Effect of intensity of defoliation on regrowth of pasture. *Australia J. Agr. Research* 7, 377- 387.
- Brouwer R. (1962) Distribution of dry matter in the plant. *Netherlands Journal of Agricultural Science* 10, 361- 376.
- Bullock J.M. (1996) Plant competition population dynamics. In *The ecology and management of grazing systems*. Ed. J. Hodgson and A.W. Illius. Cab International.
- Bultynck L., Ter Steege M.W., Schortemeyer M., Poot P. y Lambers H. (2004) From individual leaf elongation to whole shoot leaf area expansion: a comparison of three *Aegilops* and two *Triticum* species. *Annals of Botany* 94, 99- 108.
- Calviere I. y Duru M. (1995) Leaf appearance and senescence patterns of some pasture species. *Grass and Forage Science* 50, 447- 451.
- Calvière I. y Duru M. (1999) The effect of P and N fertilizer application and botanical composition of the leaf/stem ratio patterns in spring in Pyrenean meadows. *Grass and Forage Science* 54, 255- 266.
- Casal J.J., Sánchez R.A. y Deregibus V.A. (1986) The effect of plant density on tillering: The involvement of red/far red ratio and the proportion of radiation intercepted per plant. *Environmental and Experimental Botany* 26, 365- 371

- Casal J.J. y Smith H. (1989) The function, action and adaptative significance of phytochrome in light- grown plants. *Plant, cell and environment* 12, 855- 862.
- Casal J.J., Deregibus V.A. y Sánchez R.A. (1985) Variations in tiller dynamics and morphology in *Lolium multiflorum* Lam. Vegetative and reproductive plants as affected by differences in R/FR irradiation. *Annals of Botany* 56, 553-559.
- Casal J.J., Sánchez R.A. y Deregibus V.A. (1987) The effect of light quality on the shoot extension growth in three species of grasses. *Annals of Botany* 59, 1-7.
- Casal J.J., Sánchez R.A. y Gibson D. (1990) The significance of changes in the red/far red ratio, associated with either neighbour plants or twilight, for tillering in *Lolium multiflorum* Lam. *New Phytologist*, 116, 565- 572.
- Chabot B.F. y Hicks D.J. (1982) The ecology of leaf life spans. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 13, 229- 259.
- Chapman D.F. y Lemaire G. (1993) Morphogenetic and structural determinants of plant regrowth after defoliation. In: Baker M.J. (ed). *Grasslands for our world*. SIR Publishing. Wellington. Pp. 55-64.
- Clark E.A. (2001) Diversity and stability in humid temperate pastures. In *Competition and succession in pastures*. Ed. P. Tow and A. Lazenby. CAB International, pp. 103- 118.
- Cooper J.P. y Saeed S.W. (1949) Studies on growth and developmente in *Lolium*. 1. Relation of the annual habit to head production under varios systems of cutting. *Journal of Ecology* 37: 233- 259.
- Cruz P. y Boval M. (2000) Effect of nitrogen on some morphogenetic traits of temperate and tropical perennial forage grasses. In *Grassland Ecophysiology and Grazing Ecology*. Ed. G.Lemaire, J. Hodgson, A. de Moraes, C.Nabinger and P.C. de F. Carvalho. CAB International, pp. 151- 167.
- Cullen B.R., Chapman D.F. y Quigley P.E. (2006) Comparative defoliation tolerance of temperate perennial grasses. *Grass and Forage Science* 61, 405- 412.
- Davidson J.L. y Milthorpe F.L. (1965). The effect of temperature on the growth of cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.). *Annals of Botany* 29 (115), 407- 417.
- Davidson J.L. y Milthorpe F.L. (1966) Leaf growth of *Dactylis glomerata* L. following defoliation. *Annals of Botany* 30, 173- 184.
- Davies A. (1974) Leaf tissue remaining after cutting and regrowth in perennial ryegrass. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 82, 175- 172.
- Davies A. (1988) The regrowth of grass swards. In *The grass crop. The physiological basis*

of production. Ed. Jones MB and Lazanby A.

Davies A. y Thomas H. (1983) Rates of leaf and tiller production in young spaced perennial ryegrass plants in relation to soil temperature and solar radiation. *Annals of Botany* 57: 591-597.

Dawson L.A., Grayston S.J. y Paterson E. (2000) Effect of grazing on the roots and rhizosphere of grasses. In *Grassland Ecophysiology and Grazing Ecology*. Ed. G.Lemaire, J. Hodgson, A. de Moraes, C.Nabinger and P.C. de F. Carvalho. CAB International, pp. 61-84.

Deinum B. y Sibma L. (1980) Nitrate contenido of herbage in relation to nitrógeno fertilization and Management. In: The role of nitrogen in intensive grassland production. W.H. Prins & G.H. Arnold (eds). Proc. Int. Symp. Eur. Grasld. Fed. Wageningen, Pudoc, The Netherlands, pp. 95- 102.

Deregibus V.A., Sánchez R.A., Casal J.J. y Trlica M.J. (1985) Tillering responses to enrichment of red light beneath the canopy in a humid natural grassland. *J. Appl. Ecol.* 22, 199- 206.

De Visser R., Vianden H. y Schnyder H. (1997) Kinetics and relative significance of remobilized and current C and N incorporation in leaf and root growth zones of *Lolium perenne* after defoliation: assessment by ¹³C y ¹⁵N steady-state labelling. *Plant, cell and environment* 20, 37- 46.

Devkota N.R. y Kemp P.D. (1999) Morphological aspects of pasture species in the shade in relation to various managements practices under silvopastoral systems. *J.Inst. Agric. Anim. Sci.* 19- 20, 1-26.

Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzales L., Tablada M. y Robledo C.W. (2008) *InfoStat*, version 2008, Grupo InfStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Di Tommaso A. y Aarssen L.W. (1991) Effect of nutrient level on competition intensity in the field for three coexisting grass species. *Journal of Vegetation Science* 2, 513- 522.

Donaghy D.J. y Fulkerson W.J. (1997) The importance of water soluble carbohydrate reserves on regrowth and root growth of *Lolium perenne* L. *Grass and Forage Science* 52, 401-407.

Donaghy D.J. y Fulkerson W.J. (1998) Priority for allocation of water soluble carbohydrate reserves during regrowth of *Lolium perenne* L. *Grass and Forage Science* 53, 211- 218.

Donaghy D.J. y Fulkerson B. (2001). Principles for developing an effective grazing management system for ryegrass-based pastures. Tasmanian Institute of Agricultural Research, Burnie, Tasmania. 10 pp.

- Donaghy D.J., Scott J.M., Fulkerson W.J. (1997) The effect of defoliation frequency and summer irrigation on survival of perennial (*Lolium perenne*) and biennial (*Lolium multiflorum*) ryegrass in subtropics. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 37: 537- 545.
- Donaghy D.J., Turner L.R. y Adamczewski K.A. (2008) Effect of defoliation management on water –soluble carbohydrate energy reserves, dry matter yields, and herbage quality of Tall Fescue. *Agronomy Journal* 100 (1), 122- 127.
- Durand J.L., Varlet-Grancher C., Lemaire G., Gastal F. y Moulia B. (1991) Carbon partitioning in forage crops. *Acta Biotheoretica* 29, 213- 224.
- Duralia T.E. y Reader R.J. (1993) Does abundance reflect competitive ability?: A field test with three prairie grasses. *Oikos* 68, 82- 90.
- Duru M. y Delaby L. (2003) The use of herbage nitrogen status to optimize herbage composition and intake and to minimize nitrogen excretion: an assessment of grazing management flexibility for dairy cows. *Grass and Forage Science* 58, 350- 361
- Duru M., Delprat V., Fabre C. y Feuillerac E. (2000) Effect of nitrogen fertiliser supply and winter cutting on morphological composition and herbage digestibility of a *Dactylis glomerata* L. sward in spring. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80, 33- 42.
- Duru M. y Ducrocq H. (2000a) Growth and senescence of the successive grass leaves on a tiller. Ontogenic development and effect of temperature. *Annals of Botany* 85, 635- 643.
- Duru M. y Ducrocq H. (2000b) Growth and senescence of a cooksfoot tiller. Effect of nitrogen and cutting regime. *Annals of Botany* 85, 645- 653.
- Duru M. y Ducrocq H. (2002) A model of lamina digestibility of orchardgrass as influenced by nitrogen and defoliation. *Crop Sci.* 42, 214- 223.
- Eagles C.F., Williams D.H. y Toler R.J. (1982) Seasonal changes in competitive ability of contrasting populations of *Dactylis glomerata*. *Journal of Applied Ecology* 19, 555- 561.
- Evers J.B., Vos J., Fournier C., Andrieu B., Chelle M. y Struik P. (2005) Towards a generic architectural model of tillering in *Gramineae*, as exemplified by spring wheat (*Triticum aestivum*). *New Phytologist* 166, 801- 812.
- Faichney G.F. y White (1983). Methods for the analysis of feeds eaten by ruminants. CSIRO, Melbourne: Division of Animal Production, Ian Clunies Ross Animal Research Laboratory, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Australia. Pp. 36.
- Fang S., Clark R. y Liao H. (2012) 3D Quantification of Plant Root Architecture. In Situ. In: Mancuso S. (ed). *Measuring Roots An Updated Approach*, pp. 135- 148. London- New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Fernández Greco R.C., Mazzanti A. y Echeverría H.E. (1995). Efecto de la fertilización nitrogenada sobre el crecimiento de forraje de un pastizal natural de la Pampa Deprimida bonaerense (Argentina). Memorias XIV Reunión ALPA – 19 ° Congreso AAPA. Vol 2, 173 – 179.

Ferraro D.O. y Oosterheld M. (2002) Effect of defoliation on grass growth. A quantitative review. *Oikos* 98, 125- 133.

Fowler N. (1982) Competition and coexistence in a North Carolina Grassland. III: Mixtures of component species. *Journal of Ecology* 70, 77-92.

Fulkerson W.J. (1994) Effect of redefoliation on the regrowth and water-soluble carbohydrate content of *Lolium perenne*. *Australian J. Agr. Research* 45: 1809- 1815.

Fulkerson W.J. y Donaghy D.J. (2001) Plant-soluble carbohydrate reserves and senescence. Key criteria for developing an effective grazing management system for ryegrass-based pastures: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 41, 261- 275.

Fulkerson W.J., Fennell J.F.M. y Slack K. (2000) Production and forage quality of prairie grass (*Bromus willdenowii*) in comparison to perennial ryegrass (*Lolium perenne*) and tall fescue (*Festuca arundinacea*) in subtropical dairy pastures. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 40 (8), 1059 – 1068.

Fulkerson W.J. y Slack K. (1994) Leaf number as a criterion for determining defoliation time for *Lolium perenne*. 1. Effect of water-soluble carbohydrates and senescence. *Grass and Forage Science* 49, 373- 377.

Fustec J., Guilleux J., Le Corff J. y Maitre J.P. (2005) Comparison of early development of three grasses : *Lolium perenne*, *Agrostis stolonifera* and *Poa pratensis*. *Annals of Botany* 96, 269- 278.

Garden D.L. y Bolger T.P. (2001) Interaction of competition and management in regulating composition and sustainability of native pasture. In: Tow PG, Lazenby A, eds. *Competition and succession in pastures*. CAB International Publishing, pp. 213- 232.

Garnier E. (1992) Growth analysis of congeneric annual and perennial grass species. *Journal of Ecology* 80, 665- 675.

Garnier F. y Vancaeyzseele S. (1994) Carbon and nitrogen content of congeneric annual and perennial grass species: relationships with growth. *Plant, Cell and Environment* 17: 399- 407.

Gastal F., Belanger G. y Lemaire G. (1992) A model of the leaf extension rate of Tall Fescue in response to nitrogen and temperature. *Annals of Botany* 70, 437: 442.

Gastal F. y Durand J.L. (2000) Effects of nitrogen and water supply on N and C fluxes and partitioning in defoliated swards. In: Lemaire G, Hodgson J, de Moraes A, Nabinger C, de

- F. Carvalho PC, eds. *Grassland ecophysiology and grazing ecology*. CAB International Publishing, pp. 15- 39.
- Gastal F. y Lemaire G. (2002) N uptake and distribution in crops: an agronomical and ecophysiological perspective. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 53, N° 370, Inorganic Nitrogen Assimilation Special Issue, 789- 799.
- Gastal F. y Nelson C. J. (1994) Nitrogen use within the growing leaf blade of tall fescue. *Plant Physiology*, 105:191- 197.
- Gatti M.L., Ayala Torales A.T., Cipriotti P.A. y Golluscio R.A. (2011) Establishment and implantation efficiencies of temperate pastures. *Revista Argentina de Producción Animal* Vol. 31, Supl. 1, 441.
- Gautier H., Varlet- Grancher C. y Hazard L. (1999) Tillering responses to the light environment and to defoliation in populations of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) selected for contrasting leaf length. *Annals of Botany* 83, 423- 429.
- Goldberg D. (1987) Neighborhood competition in an old- field plant community. *Ecology* 68 (5), 1211- 1223.
- Goldberg D. (1990) Components of resource competition in plant communities. In: Grace, J.B. & Tilman, D. (eds.) *Perspectives of plant competition*, pp. 27-49. Academic Press, New York, NY.
- Grace J.B. (1995) On the measurement of plant competition intensity. *Ecology* 76 (1), 305- 308.
- Grime J.P. (1977) Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. *The American Naturalist* 111, 982, 1169- 1194.
- Grime J.P. (1979) *Plant strategies and vegetation processes*. Willey and Sons (eds) Chichester, UK.
- Grime J.P., Hodgson J.G., y Hunt R. (1988) *Comparative plant ecology: A functional approach to common British species*. Unwin Hyman, London, UK.
- Hall M.B. (2003) Challenges with nonfiber carbohydrate methods. *J. Anim. Sci.* 81, 3226- 3232.
- Harper J.L. (1977) *Population biology of plants*. Academic Press. London, UK.
- Harris W. (2001) Formulation of pasture seed mixtures with reference to competition and succession in pastures. In: Tow PG, Lazenby A, eds. *Competition and succession in pastures*. CAB International Publishing, 149- 174.

- Hazard L. y Ghesqui re M. (1995) Evidence from the use of isozyme markers of competition in swards between short-leaved and long-leaved perennial ryegrass. *Grass and Forage Science* 50, 241- 248.
- Hill M.J. y Pearson C.J. (1985) Primary growth and regrowth responses of temperate grasses to different temperatures and cutting frequencies. *Australian Journal of Agricultural Research* 36, 25- 34.
- Hirata M. y Pakiding W. (2002) Dynamics in tiller weight and its association with herbage mass and tiller density in a bahia grass (*Paspalum notatum*) pasture under cattle grazing. *Tropical Grasslands Vol.* 36, 24- 32.
- Hoshikawa K. (1969) Underground organs of the seedlings and the systematics of Gramineae. *Bot. Gaz.* 130(3), 192-203.
- Huber H., Luk acs S. y Watson M.S. (1999) Spatial structure of stoloniferous herbs: an interplay between structural blueprint, ontogeny and phenotypic plasticity. *Plant Ecology*, 141, 107- 115.
- Hume D.E. (1991a) Leaf and tiller production of prairie grass (*Bromus willdenowii*) Kunth and two Ryegrass (*Lolium*) species. *Annals of Botany* 67, 111- 121.
- Hume D.E. (1991b) Effect of cutting on production and tillering in Prairie Grass (*Bromus willdenowii* Kunth) compared with two Ryegrass (*Lolium*) Species. 1. Vegetative plants. *Annals of Botany* 67, 533- 541.
- Islam M.A. y Hirata M. (2005) Leaf appearance, death and detachment, and tillering in centipedegrass (*Eremochloa ophiuroides* (Munro) Hack.) in comparison with bahiagrass (*Paspalum notatum* Fl gge): A study at a small sod scale. *Japanese Society of Grassland Science* 51, 121- 127.
- Jackson L.E. y Roy J. (1986) Growth-patterns of Mediterranean annual and perennial grasses under simulated rainfall regimes of Southern France and California. *Acta Oecologica- Oecologia Plantarum* 7,191-212.
- Jewiss O.R. (1972) Tillering in grasses-its significance and control. *Journal of the British Grassland Society* 27: 65-82.
- Jorgensen M. (1994) Competition between Meadow Fescue (*Festuca pratensis* Huds.) and Timothy (*Phleum pratense* L.): effects of competition on growth and development under various growth conditions. Thesis. Holt Research Station. University of Troms . Pp.93.
- Kemp D.R. y King W. McG. (2001) Plant competition in pastures- Implications for management. In: Tow PG, Lazenby A, eds. *Competition and succession in pastures*. CAB International Publishing, 85- 102.
- Kemp D.R., Micha lk D.L. y Virgona J.M. (2000) Towards more sustainable pastures:

lessons learnt. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 40, 343-356.

Kemp P.D., Tavakoli H. y Hodgson J. (2001) Physiological and morphological responses of Tall Fescue and Perennial Ryegrass to leaf defoliation. In: *Science and technology: delivering results from agriculture*. Rowe B., Donaghy D. and Mendham N. (eds.) Proceedings of the 10 th Australian Agronomy Conference, Tasmania.

Laidlaw A.S. y Teuber N. (2001) Temperate forage grass- legume mixtures: advances and perspectives. Proceedings of the XIX International Grassland Congress, pp. 85- 92.

Lambers H. y Poorter H. (1992) Inherent variation in growth rate between higher plants: a search for physiological causes and ecological consequences. In: Begon M. and Fitter A.H. *Advances in ecological research Vol. 23*, pp. 187- 257. Academic Press Limited.

Lattera P., Maceira N.O. y Deregibus V.A. (1997) Neighbour influence on the tiller demography of two perennial pampa grasses. *Journal of Vegetation Science* 8, 361- 368.

Lattanzi F., Marino M.A. y Mazzanti A. (1996) Efecto de la fertilización nitrogenada sobre la morfogénesis de raigrás anual cv. Grassland Tama. *Revista Argentina de Producción Animal Vol. 16, Supl. 1*, 240- 241.

Lattanzi F., Marino M.A. y Mazzanti A. (1997) Fertilizer nitrogen and morphogenetic responses in *Avena sativa* and *Lolium multiflorum*. Proceedings of the XVIII International Grassland Congress, pp. 7.3-4.

Lawlor D.W. (2002) Carbon and nitrogen assimilation in relation to yield: mechanisms are the key to understanding production systems. *Journal of Experimental Botany* 53 (370): 773- 787.

Lazenby A. y Tow P. (2001) Some concluding comments. In: Tow PG, Lazenby A, eds. *Competition and succession in pastures*. CAB International Publishing, 305- 314.

Lee J.M., Donaghy D.J., Sathish P. and Roche J.R. (2010) Perennial ryegrass regrowth after defoliation- physiological and molecular changes. Proceedings of the New Zealand Grassland Association 72, 127- 134.

Lemaire G. (2001) Ecophysiology of grasslands: dynamics aspects of forage plant populations in grazed swards. Proceedings of the International XIX Grassland Congress, Brazil, 29- 37.

Lemaire G. y Agnusdei M. (2000) Leaf tissue turnover and efficiency of herbage utilization. In *Grassland Ecophysiology and Grazing Ecology*. Ed. G.Lemaire, J. Hodgson, A. de Moraes, C.Nabinger and P.C. de F. Carvalho. CAB International, pp. 265- 287.

Lemaire G. y Chapman D. (1996) Tissue flows in grazed plant communities. Hodgson J., Illius A.W. (eds). *The ecology and management of grazing systems*. Cab International. pp. 3 – 36.

Lemaire G., Da Silva S.C., Agnusdei M., Wade M. y Hodgson J. (2009) Interactions between leaf lifespan and defoliation frequency in temperate and tropical pastures: a review. *Grass and Forage Science* 64, 341- 353.

Lemaire G. y Millard P. (1999) An ecophysiological approach to modelling resource fluxes in competing plants. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 50, N° 330, 15-28.

Lemaire G. y Salette J. (1984) Relation entre dynamique de croissance et dynamique de prélèvement d'azote pour un peuplement de graminées fourragères. I. Etude de l'effet du milieu. *Agronomie* 4 (423-430).

Lestienne F., Thornton B. y Gastal F. (2006) Impact of defoliation intensity and frequency on N uptake and mobilization in *Lolium perenne*. *Journal of Experimental Botany* 57 (4), 997- 1006.

Linhart Y.B. (1976) Density dependent seed germination strategies in colonizing versus non-colonizing plant species. *Ecology* 64, 375–380.

Lötscher M. Stroh K. y Schynder H. (2003) Vertical leaf nitrogen distribution in relation to nitrogen status in grasslands plants. *Annals of Botany* 92, 679- 688.

Lowe P.N, Lauenroth W.K. y Burke I.C. (2003) Effects of nitrogen availability on competition between *Bromus tectorum* and *Bouteloua gracilis*. *Plant ecology* 167, 247-254.

Madakadze I.C., Stewart K.A., Peterson P.R., Coulman B.E. y Smith D.L. (1999) Cutting frequency and nitrogen fertilization effects on yield and nitrogen concentration of switchgrass in a short season area. *Crop Science* 39, 552- 557.

Maddaloni J. y Ferrari L. (2001) Cebadilla criolla. En forrajeras y pasturas del ecosistema templado húmedo de la Argentina. Facultad de Cs. Agrarias de Lomas de Zamora e INTA. pp, 520.

Marino M.A., Mazzanti A. y Echeverría H.E. (1995) Fertilización nitrogenada de cultivos forrajeros anuales de invierno en el sudeste bonaerense. *Memorias XIV Reunión ALPA – 19 ° Congreso AAPA*. Vol12, 179 – 182.

Matthew C., Assuero S.G., Black C.K. y Sackville Hamilton N.R. (2000) Tiller dynamics of grazed swards. In *Grassland Ecophysiology and Grazing Ecology*. Ed. G.Lemaire, J. Hodgson, A. de Moraes, C.Nabinger and P.C. de F. Carvalho. CAB International, pp. 127-150.

Mazzanti A. y Arosteguy J.C. (1985) Comparación del rendimiento estacional de forraje de cultivares de *Festuca arundinacea*. *Rev. Arg. Prod. An.* 5 (3-4), 157-165.

- Mazzanti A., Lemaire G. y Gastal F. (1994) The effect of nitrogen fertilization upon the herbage production of tall fescue swards continuously grazed with sheep. 1 – Herbage growth dynamics. *Grass and forage Science* 49, 111- 120.
- McGraw J.B. y Stuart III Chapin F. (1989) Competitive ability and adaptation to fertile and infertile soils in two *Eriophorum* species. *Ecology* 70 (3), 736- 749.
- Mediavilla S. y Escudero A. (2003) Photosynthetic capacity, integrated over the lifetime of a leaf, is predicted to be independent of leaf longevity in some tree species. *New Phytologist*, 159, 203- 211.
- Miller T.E. y Werner P.A. (1987) Competitive effects and responses between plant species in a first year old- field community. *Ecology* 68(5), 1201- 1210.
- Milthorpe F.L. (1961) The nature and analysis of competition between plants of different species. In: Milthorpe FL (ed) *Mechanisms in biological competition*. *Soc Exp Biol* 15:330-355.
- Mónaco T.A. y Briske D.D. (2000). Does resource availability modulate shade avoidance responses to the ratio of red to far-red irradiation? An assessment of radiation quantity and soil volume. *New Phytologist* 146, 37- 46.
- Mott D.J., Scott W.R. y Nicholls A.C. (2000) Base temperature and thermal time requirements for germination and emergence of temperate pasture species. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 43, 15- 25.
- Murphy J.S. y Briske D.D. (1992) Regulation of tillering by apical dominance: chronology, interpretative value, and current perspectives. *Journal of Range Management* 45, 419-429.
- Nassiri M. y Elgersma A. (1998) Competition in perennial ryegrass-white clover mixtures under cutting. 2. Leaf characteristics, light interception and dry-matter production during regrowth. *Forage Science* 53, 367- 379.
- Navas M.L., Ducout B., Roumet C., Richarte J., Garnier J. y Garnier E. (2003) Leaf life span, dynamics and construction cost of species from Mediterranean old-fields differing in successional status. *New Phytologist* 159, 213- 228.
- Nelson C.J. (2000) Shoot morphological plasticity of grasses: leaf growth vs. tillering. In *Grassland Ecophysiology and Grazing Ecology*. Ed. G.Lemaire, J. Hodgson, A. de Moraes, C.Nabinger and P.C. de F. Carvalho. CAB International, pp. 101- 126.
- Neuteboom J.H. y Lantinga E.A. (1989) Tillering potential and relationship between leaf and tiller production in perennial Ryegrass. *Annals of Botany* 63, 265- 270.
- Novoplansky A. (2003) Ecological implications of the determination of branch hierarchies. *New Phytologist* 160, 111- 118.
- Noy-Meir I., Gutman M. y Kaplan Y. (1989) Responses of Mediterranean grassland plants

to grazing and protection. *Journal of Ecology* 77, 290- 310:

Nurjaya I.G.M.O. y Tow P.G. (2001) Genotype and environmental adaptation as regulators of competitiveness. In: Tow P.G., Lazenby A., eds. *Competition and succession in pastures*. CAB International Publishing, pp. 43-62.

O' Neal M.E., Landis D.A y Isaacs R. (2002) An inexpensive, accurate method for measuring leaf area and defoliation through digital image analysis. *Journal of economic entomology* Vol. 95 (6), 1190- 1194.

Ourry A., Hwan Kim T. y Boucaud J. (1994) Nitrogen reserve mobilization during regrowth of *Medicago sativa* 1. Relationships between availability and regrowth yield. *Plant Physiol.* 105, 831- 837.

Parsons A.J., Leafé E.L., Collett B., Penning P.D. y Lewis J. (1983) The physiology of grass production under grazing. 2. Photosynthesis, crop growth and animal intake of continuously grazed swards. *Journal of Applied Ecology* 20, 127- 139.

Paiva A. J., da Silva S. C., Techio Pereira L. E., Del'Álamo Guarda V., de Mesquita Pereira P. y Caminha F. O. (2012) Structural characteristics of tiller age categories o continuously stocked marandu palisade grass swards fertilized with nitrogen. *Revista Brasileira de Zootecnia* 41 (1), 24- 29.

Peltzer D.A. y Wilson S.D. (2001) Competition and environmental stress in temperate grasslands. In: Tow P.G., Lazenby A., eds. *Competition and succession in pastures*. CAB International Publishing, pp. 193- 212.

Peri P.L., Lucas R.J. y Moot D.J. (2007) Dry matter production, morphology and nutritive value of *Dactylis glomerata* growing under different light regimes. *Agroforest Syst* 70, 63- 79.

Pitelka L.F. (1977) Energy allocation in annual and perennial lupines (*Lupinus*: Leguminosae). *Ecology* 58, 1055-1065.

Poff J.A., Balocchi O.A. and López I.F. (2011) Sward and tiller growth dynamics of *Lolium perenne* L. as affected by defoliation frequency during autumn. *Crop & Pasture Science* 62, 346- 354.

Poorter H. (1989) Interspecific variation in relative growth rate: on ecological causes and physiological consequences. In: Lambers H., Cambridge M.L., Koinings H. and Pons T.L. (eds) *Causes and consequences of variation in growth rate and productivi of higher plants*, pp. 45- 68. The Hague, The Netherlands: SPB Academic Publishing.

Powlson D.S. (1993) Understanding the soil nitrogen cycle. *Soil use and management* Vol. 9 N° 3, 86- 94.

Rajaniemi T.K. (2002) Why does fertilization reduce plant species diversity? Testing three

competition- based hypotheses. *Journal of Ecology* 90, 316- 324.

Rawnsley R.P., Donaghy D.J., Fulkerson W.J. y Lane P.A. (2002) Changes in the physiology and feed quality of cooksfoot (*Dactylis glomerata*) during regrowth. *Grass and Forage Science* 57 (3), 203-207.

Reich P.B., Ellsworth D.S., Walters M.B., Vose J.M., Gresham C.H., Volin J.C. y Bowman W.D. (1999). Generality of leaf trait relationships: a test across six biomes. *Ecology* 80, 1955- 1969.

Remison S.U. y Snaydon R.W. (1980) Effects of defoliation and fertilizers on root competition between *Dactylis glomerata* and *Lolium perenne*. *Grass and Forage Science* 35, 81- 93.

Richards J.H. (1993) Physiology of plants recovering from defoliation. *Proceedings of the XVII International Grassland Congress*, pp. 85- 94.

Ries R.E. y Svejcar T.J. (1991) The grass seedling: When is it established? *Journal of Range Management* 44(6), 574- 576.

Robin Ch., Hay M.J.M., Newton P.C.D. y Greer D.H. (1994) Effect of light quality (red: far red ratio) at the apical bud of the main stolon on morphogenesis of *Trifolium repens* L. *Annals of Botany* 74, 119-123.

Robson M.J., Ryle G.J.A. y Woledge J. (1988) The grass plant – its form and function. In: Jones MB, Lazenby A. (eds). *The grass crop. The physiological basis for production*. London: Chapman and Hall, pp. 22- 83.

Ross M.A. y Harper J.L. (1972) Occupation of biological space during seedling establishment. *The journal of Ecology* Vol. 60, N° 1, 77-88.

Roumer C., Urcelay C. y Díaz S. (2006) Suits of root traits differ between annual and perennial species growing in the field. *New Phytologist* 170, 357- 368.

Rousseaux M.C., Hall A.J. y Sánchez R.A. (2000) Basal leaf senescence in sunflower (*Helianthus annuus*) canopy: responses to increased R:FR ratio. *Physiologia Plantarum* 110, 477- 482.

Rubio G., Micucci F. y García F. (2012) Ciclado de nutrientes y fertilización de ras [*Cycling of nutrients and ras fertilization*]. In: Álvarez R., Prystupa P., Rodríguez M. and Álvarez C. (eds). *Fertilización de cultivos y pasturas. Diagnóstico y recomendación en la Región Pampeana. [Fertilization of crops and pastures. Diagnosis and recommendation in the Pampas Region]*, pp. 275-297. Buenos Aires, Argentina: Editorial Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.

Ryle G.J.A. (1970) Partition of assimilates in an annual and a perennial grass. *Journal of Applied Ecology* Vol. 7 N°2, 217- 227.

Sackville Hamilton N.R. (2001) Measurement of competition and competition effects in pastures. In: Tow PG, Lazenby A, eds. *Competition and succession in pastures*. CAB International Publishing, 15- 42.

Sanderson M.A. y Elwinger G.F. (2002) Plant density and environmental effects on Orchardgrass- White clover mixtures. *Crop Science* 42, 2055- 2063.

Sanderson M.A. y Elwinger G. (2004) Emergence and seedling structure of temperate grasses at different planting depths. *Agronomy Journal* 96, 685- 691.

Sanderson M.A., Skinner R.H. y Elwinger G.F. (2002) Seedling development and field performance of Prairiegrass, grazing Bromegrass and Orchardgrass. *Crop Science* 42, 224-230.

Sato K. (1980) Growth responses of some gramineous forage crops to daylength and temperature. *J. Japan Grassl. Sci.* 25, 311- 318.

Sattler R. y Rutishauser R. (1997) The fundamental relevance of morphology and morphogenesis to plant research. *Annals of Botany* 80, 571- 582.

Scheneiter O., Matthew C. y Rimieri P. (2008) The effect of defoliation management on tiller dynamics of prairie grass. *Revista Argentina de Producción Animal* 28 (1), 7- 20.

Scheneiter O. y Rimieri P. (2001) Herbage accumulation, tiller population density and sward components of prairie grass under different nitrogen levels. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 44, 13- 22.

Scheneiter O. y Rosso B. (2005) Acumulación de forraje y dinámica del macollaje de germonplasma de Cebadilla criolla (*Bromus catharticus* Vhal) en mezcla con alfalfa (*Medicago sativa* L.). [Forage accumulation and tiller dynamics of germoplasm of prairie grass (*Bromus catharticus* Vhal) in a mixture with alfalfa]. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 34, 109-121.

Schnyder H., Schäufele R., Ries de Visser y Nelson C.J. (2000) An integrated view of C and N uses in leaf growth zones of defoliated grasses. In: Lemaire G., Hodgson J., de Moraes A., Nabinger C. and de F. Carvalho P.C. (eds) *Grassland ecophysiology and grazing ecology*, pp. 41- 60. Wallingford, UK: CAB International.

Silvertown J. y Wilson J.B. (2000) Spatial interactions among grassland plant populations. In: Dieckmann U, Law R, Metz JAJ, eds. *The geometry of ecological interactions. Simplifying spatial complexity*. Cambridge University Press, pp. 28- 47.

Simon J.C. y Lemaire G. (1987) Tillering and leaf area index in grasses in the vegetative phase. *Grass Forage Sci.* 42, 373-380

Sims D.A., Rahman A.F., Cordova V.D., Baldocchi D.D., Flanagan L.B., Goldstein A.H.,

- Hollinger D.Y., Misson L., Monson R.K., Schmid H.P., Wofsy S.C. y Xu L. (2005) Midday values of gross CO₂ flux and light use efficiency during satellite overpasses can be used to directly estimate eight-day mean flux. *Agricultural and Forest Meteorology* 131, 1-12.
- Sinclair K., Gulkerson W.J. y Morris S.G. (2006) Influence of regrowth time on forage quality of prairie grass, perennial ryegrass and tall fescue under non-limiting soil nutrients and moisture conditions. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 46, 45- 51.
- Skinner R.H. (2005) Emergence and survival of pasture species sown in monocultures or mixtures. *Agronomy Journal* 97, 799- 805.
- Skinner R.H. y Nelson C.J. (1992) Estimation of potential tiller production and site usage during Tall Fescue canopy development. *Annals of Botany* 70, 493- 499.
- Skinner R.H. y Nelson C.J. (1995) Elongation of the grass leaf and its relationship to the phyllochron. *Crop Science* 35, 4-10.
- Skinner R.H. y Simmons S.R. (1993) Modulation of leaf elongation, tiller appearance and tiller senescence in spring barley by far-redlight. *Plant, Cell and Environment* 16, 555-562.
- Slack K. y Fulkerson, W.J. (2000) Regrowth of prairie grass (*Bromus willdenowii* Kunth.) and perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) in response to temperature and defoliation. *Aust. Agric. Res.* 51: 555- 562.
- Smith H. y Whitelam G. C. (1997) The shade avoidance syndrome: multiple responses mediated by multiple phyto-chromes. *Pl. Cell Environ.* 20, 840-844.
- Sprague V.G. y Sullivan J.T. (1950) Reserve carbohydrates in orchard grass clipped periodically. *Plant Physiology* 25 (1), 92- 102.
- Stoll P. y Weiner J. (2000) A neighborhood view of interactions among individual plants. In: Dieckmann U, Law R, Metz JAJ, eds. *The geometry of ecological interactions. Simplifying spatial complexity*. Cambridge University Press, pp. 11- 27.
- Suding K.N., Collins S.L., Gough L., Clark C., Cleland E.E., Gross K.L., Milchunas D.G. y Pennings S. (2005) Functional- and abundance- based mechanisms explain diversity loss due to N fertilization. *Proceeding of the national academy of Sciences of the United States of America* Vol. 102 N°12, 4387- 4392.
- Sugiyama S. (1995) The relationship between growth and development of vegetative shoots in genotypes of tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) *Annals of Botany* 76, 553- 558. *Ecosystem Science*. Springer Verlag. New York, pp. 31- 43.
- Sugiyama S. (1999) Genetic variation in the relative dominance of mixed swards: potential influence and its mechanism. *Grassland Science* 44 (4), 303- 309.

Sugiyama S. (2005a) Developmental basis of interespecific differences in leaf size and specific leaf area among C₃ grass species. *Functional Ecology* 19, 916- 924.

Sugiyama S. (2005b). Relative contribution of meristems activities and leaf specific leaf area to relative shoot relative growth rate of C₃ grass species. *Functional Ecology* 19, 925-931.

Sugiyama S. y Nakashima H. (1994) Cultivarietal differences in competitive ability and associated traits in orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.). *J. Japan. Grassl. Sci.* 40 (2), 179-189.

Sugiyama S. y Nakashima H. (1995) Mechanisms responsible for the changes in competitive outcome between two cultivars of Tall Fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) *Grassland Science* 41 (2), 93- 98.

Tallowin J.R.B., Brookman S.K.E. y Santos G.L. (1995) Leaf growth and utilization in four grass species under steady state continuous grazing. *Journal of Agricultural Science* 124, 403- 417.

Thornton B. y Millard P. (1996) Effects of severity of defoliation on root functioning in grasses. *J. Range Manage.* 49, 443- 447.

Tilman D. (1982) *Resource competition and community structure*. Princeton University Press. New York, USA.

Tilman D. (1987) Secondary succession and the pattern of plant dominance along experimental nitrogen gradients. *Ecological Monographs* 57, 189- 214.

Tilman D. (1990) Constrains and trade offs towards a predictive theory of competition and succession. *Oikos* 58, 3-15.

Torres M.S., Colabelli M.N. y Peretti A. (2000) Evaluación agronómica de *Lolium perenne* L. libre e infectado por *Neotyphodium lolii* en screen-house. *Revista Argentina de Producción Animal* Vol. 20 Supl.1, 164- 165.

Tremmel D.C. y Bazzaz F.A. (1993) How neighbor canopy architecture affects target plant performance. *Ecology* 74(7), 2114- 2124.

Turner L.R., Donaghy D.J., Lane P.A. y Rawnsley R.P. (2006a) Effect of defoliation management, based on leaf stage, on perennial ryegrass (*Lolium perenne*), prairie grass (*Bromus willdenowii*) and cocksfoot (*Dactylis glomerata*) under dryland conditions. 1) Regrowth, tillering and water soluble carbohydrate concentration. *Grass and Forage Science* 61 Issue 2, 164- 174.

Turner L.R., Donaghy D.J., Lane P.A. y Rawnsley R.P. (2006b) Changes in physiology and feed quality of Prairie Grass during regrowth. *Agronomy Journal* 98, 1326- 1332.

- Turner L.R., Donaghy D.J., Lane P.A. y Rawnsley R.P. (2006c) Effect of defoliation interval on water-soluble carbohydrate and nitrogen energy reserves, regrowth of leaves and roots, and tiller number of cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.) plants. *Australian Journal of Agricultural Research*, 57: 243- 249.
- Turner L.R., Donaghy D.J., Lane P.A. y Rawnsley R.P. (2007) Patterns of leaf and root regrowth, and allocation of water-soluble carbohydrate reserves following defoliation of plants of prairie grass (*Bromus willdenowii* Kunth.). *Grass and Forage Science* 62 (4), 497- 506.
- van der Werf A., van Neunen M., Visser A.J. y Lambers H. (1993) Contribution of physiological and morphological plant traits to a species' competitive ability at high and low nitrogen supply. *Oecologia* 94, 434- 440.
- Valladares F., Gianoli E. y Gómez J.M. (2007) Ecological limits to plant phenotypic plasticity. *New Phytologist* 176, 749- 763.
- Varlet-Grancher C., Moulia B., Jacques R. (1997) Phytochrome mediated effects on white clover morphogenesis. *Proceedings 18th Int. Grassland COngress*, Canada.
- Vásquez M.E. y Barberis L.A. (1982) Variación estacional de la concentración de nitratos en el suelo. *Rev. Arg. de Inv. Agrop. Inta Vol XVII* (1), 13-22.
- Virkajärvi P. y Järvenranta K. (2001) Leaf dynamics of timothy and meadow fescue under Nordic contions. *Grass and Forage Science* 56, 294- 304.
- Volontec J.J. y Nelson C.J. (1983) Responses of tall fescue leaf meristems to N fertilization and harvest frequency. *Crop Sci* 23, 720- 724.
- Volontec J.J. y Nelson C.J. (1984) Carbohydrate metabolism in leaf meristems of tall fescue. II Relationship to leaf elongation modified by nitrogen fertilization. *Plant Physiology* 74, 595- 600.
- Watkinson A.R. y Gibson C.G. (1985) Life history variation and the demography of plant populations. In: Haeck, J. and Woldendorp, J.W. (eds.) *Structure and functioning of plant populations*, North- Holland Publ. Co., Amsterdam. pp. 105- 114.
- Watson D.J., Avery A., Mitchell G.J. y Chinner S.R. (2001) Grazing management to increase utilization of phalaris-based pasture in dryland dairy systems. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 41 (1), 29- 36.
- Weigelt A. y Jolliffe P. (2003) Indices of plant competition. *J. Ecol.* 91,707-720.
- White (1973) Carbohydrate reserves of grasses: A review. *Journal of Range Management* 26 (1), 13- 18.

White J. (1979) The plant as a metapopulation. *Annual Review of Ecology and Systematics* Vol. 10, 109-145.

Wilhelm W.W. y McMaster G.S. (1995) Importance of the phyllochron in studying of development and growth in grasses. *Crop Science* 35, 1- 3.

Wilson S.D. y Shay J.M. (1990) Competition, fire, and nutrients in a mixed prairie. *Ecology* 71, 1959-1967.

Wilson J.B. y Gitay H. (1995) Limitations to species coexistence: evidence for competition from field observations, using a patch model. *Journal of Vegetation Science* 6, 369- 376.

Wilson S.D. y Tilman D. (1991) Components of plant competition along an experimental gradient of nitrogen availability. *Ecology* 72, 1050-1075.

Wilson S.D y Tilman D. (1993) Plant competition and resource availability in response to disturbance and fertilization. *Ecology* 74 (2), 599- 611.

Wingler A., Purdy S., Mac Lean J.A. y Pourtau N. (2006) The role of sugars in integrating environmental signals during the regulation of leaf senescence. *Journal of Experimental Botany* 57 (2), 391- 399.

Wolfe E.C. y Dear B.S. (2001) The population dynamics of pastures, with particular reference to Southern Australia. In: Tow PG, Lazenby A, eds. *Competition and succession in pastures*. CAB International Publishing, pp. 119- 148.

Yemm E.W. y Willis A.J. (1954) The estimation of carbohydrates in plants extracts by Antrone. *Biochem. J.* 57, 508- 514.

Zhai T., Mohtar R.H., Karsten H.D. y Carlassare M. (2004) Modeling growth and competition of a multi-species pasture system. *Transactions of the ASAE* 47 (2), 617- 622.

Zhu J., Vos J., van der Werf W., van der Putten P.E. y Evers J.B. (2014) Early competition shapes maize whole- plant development in mixed stands. *Journal of Experimental Botany* 65, 641- 653.