Solapamiento de zonas de influencia de raíces de pastos perennes. Controles en una estepa patagónica

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

Tesista: María Fernanda Reyes
Licenciada en Ciencias Biológicas - Centro Regional Universitario Bariloche (Universidad Nacional del Comahue) - 2009

Lugar de trabajo: IFEVA - CONICET - FAUBA

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

COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis
Martín Roberto Aguiar
Ingeniero Agrónomo, 1981 (Universidad de Buenos Aires)
Doctor of Philosophy in Ecology, 1995 (Colorado State University, EEUU)

Consejero de Estudios
María Semmartin
Ingeniera Agrónoma, 1993 (Universidad de Buenos Aires)
Doctora en Ciencias Agropecuarias, 2004 (EPG, Universidad de Buenos Aires)

JURADO DE TESIS

Director de tesis
Martín Roberto Aguiar
Ingeniero Agrónomo, 1981 (Universidad de Buenos Aires)
Doctor of Philosophy in Ecology, 1995 (Colorado State University, EEUU)

JURADO
Sandra Bucci
Licenciada en Biología (Universidad de Buenos Aires)
Dra. en Ciencias Biológicas

JURADO
Alejandro Bisigato
Ing. Agrónomo, 1994 (Universidad de Buenos Aires)
Dr. en Ciencias Agropecuarias, 2000 (EPG, Universidad de Buenos Aires)

JURADO
Roberto Distel
Ingeniero Agrónomo, 1979 (Universidad Nacional de La Pampa)
Magister en Producción Vegetal, 1987 (Universidad Nacional del Sur)
Doctor of Philosophy in Ecology, 1990 (Utah State University, EEUU)

Fecha de defensa de la tesis: 27 de 02 de 2015

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.

Dedicatoria

Dedico esta tesis a mi abuela Chola (Elena López) quien me apoyó en mi carrera desde el principio de mis estudios y me heredó sus manos de tierra.

¿Adónde te irás volando por esos cielos,
brasita negra que lustra la claridad?
Detrás de tu vuelo errante mis ojos gozan
¡la inmensidad...la inmensidad!

Fragmento de Las golondrinas, de Jaime Dávalos

Agradecimientos

A Martín Aguiar, por tener siempre la puerta abierta para compartir sus conocimientos e ideas, por haber sido un excelente director y colega.

A María Semmartin, por ser una gran consejera y maestra durante todo mi doctorado.

A Pamela Graff, Paula Leva, Laura Yahdjian, Gervasio Piñeiro, Amy Austin, Roberto Alvarez, Marina Omacini, por brindarme su tiempo y comentarios siempre con tan buena predisposición.

A Gastón, Lucho, Celeste, Vicky, Nacho R., Santiago, Rocío, por haber sido tan buenos compañeros y ayudantes en los viajes de campo.

A Walter, mi mejor compañero en el laboratorio sucio.

A Luciana, Marta, Tomás, Luis, Marina, Laura, Nacho H., Elena, Gonzalo G, Juan C, Daniela, Paula y demás mitocondrios, por la amistad, la ayuda y tantos momentos compartidos.

A FONCyT, CONICET, UBA, IFEVA e INTA por las becas, los subsidios y los lugares de trabajo otorgados durante los cinco años que duró mi doctorado.

Especialmente:

A Lucho, por tanto amor.

A mis papás, por brindarme sus herramientas y enseñarme a buscar las que ellos no tenían.

A mi hermano Manuel, por acompañarme siempre con su arte.

A mis amigos, por ser mi cable a tierra, mi familia elegida.

Sin dudas, y sin ninguna intención hay muchas personas que merecen estar en esta hoja y en este momento no recuerdo, cuando lo haga les haré llegar mis agradecimientos.

ÍNDICE GENERAL

Resumen xv
Abstract xvi
Capítulo I 1
Introducción General 1
1.1. MARCO CONCEPTUAL 1
1.2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS 3
1.3. SITIO DE ESTUDIO 4
1.3.1. Descripción del sistema 4
1.3.2. Atributos radicales de las especies estudiadas 6
1.3.3. Área de estudio y experimentos 7
1.4. ORGANIZACIÓN DE LA TESIS 7

Capítulo II 9
Colonización de zonas de influencia por especies vecinas 9
2.1. INTRODUCCIÓN 9
2.2. MÉTODOS 11
2.2.1. DISEÑO DEL EXPERIMENTO 11
2.2.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS 12
2.3. RESULTADOS 13
2.4. DISCUSIÓN 18

Capítulo III 21
Proliferación de raíces de pastos bajo suelo desnudo y con distinta disponibilidad de nitrógeno 21
3.1. INTRODUCCIÓN 21
3.2. MÉTODOS 22
3.2.1. DISEÑO DEL EXPERIMENTO 22
3.2.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS 23
3.3. RESULTADOS 23
3.4. DISCUSIÓN 27
Capítulo IV 29
Proliferación y descomposición de raíces de pastos en micrositios con distinta disponibilidad de nitrógeno 29
4.1. INTRODUCCIÓN 29
4.2. MÉTODOS 31

4.2.1. DISEÑO DEL EXPERIMENTO DE COLONIZACIÓN DE RAÍCES 31
4.2.2. DISEÑO DEL EXPERIMENTO DE DESCOMPOSICIÓN DE RAÍCES 32
4.2.3. Análisis estadístico 33
4.3. RESULTADOS 34
4.3.1. COLONIZACIÓN DE RAÍCES 34
4.3.2. DESCOMPOSICIÓN DE RAÍCES 39
4.3.3. COMPARACIÓN ENTRE COLONIZACIÓN Y DESCOMPOSICIÓN 39
4.4. DISCUSIÓN 40

Capítulo V 43
Absorción de nutrientes como indicador del uso del suelo de la zona de influencia de gramíneas perennes 43
5.1. INTRODUCCIÓN 43
5.2. MÉTODOS 44
5.2.1. Diseño experimental 44
5.2.2. Análisis de datos 46
5.3. RESULTADOS 47
5.4. DISCUSIÓN 52

Capítulo VI 56
Discusión general 56
6.1. MOTIVACIÓN, HIPÓTESIS Y RESULTADOS PRINCIPALES 56
6.2. CONTRIBUCIONES DE ESTA TESIS: RELEVANCIA PARA EL ESTADO ACTUAL DEL CONOCIMIENTO 59
6.2.1. LA LONGITUD RADICAL ESPECÍFICA COMO PREDICTORA DE LA INVASIÓN POR RAÍCES DE ESPECIES VECINAS 59
6.2.2. ¿CUÁN UTILES SON LOS ESTUDIOS EN CONDICIONES CONTROLADAS PARA INFERIR SOBRE LA EXTENSIÓN DE FORRAJEO EN EL CAMPO? 60
6.3. CONTRIBUCIONES DE ESTA TESIS: RELEVANCIA PARA LOS AGROECOSISTEMAS PATAGÓNICOS 62
6.4. PERSPECTIVAS 62
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 64

Apéndice 73
Prueba de la clave taxonómica de identificación de raíces 73

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 2.1. Matriz de proporciones de la biomasa de raíces, la riqueza, la diversidad y la producción de raíces en diferentes micrositios. Las especies foco, las profundidades y los parches de suelo desnudo, se muestran en las columnas. La proporción de raíces encontradas en las trampas se muestran en las filas. Los valores medios de biomasa total (g), la riqueza, la diversidad y la producción de raíces ± error estándar se muestran en las filas…..……..……...…15

Cuadro 2.2. Matriz de frecuencias de la presencia en la porción superficial de especies vecinas en relación a las especies foco (n= 20 por cada especie) y asociaciones entre la frecuencia de especies vecinas bajo las especies foco. Chi-cuadrado (χ^2) y valor de probabilidad (*P*). Las especies foco y vecinas son: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *C*sp, *Carex* sp. y *Ph*, *Pappostipa humilis*…....……..17

Cuadro 5.1. Cálculos del ^{15}N aplicado para cada unidad experimental…….……45

Cuadro A.1. Diferencias en la biomasa radical específica recuperada de las muestras (expresadas como % promedio ± error estándar. Los valores positivos indican una sobreestimación y los valores negativos una subestimación de la biomasa específica. Se muestran también los resultados del análisis de regresión para cada especie, la pendiente del modelo, el r^2 y el valor de probabilidad (*P*)……..…...…….….74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Foto del sitio de estudio. Clausura al ganado doméstico donde se realizaron los experimentos incluidos en la tesis……..……..……5

Figura 1.2. Fotos de las gramíneas dominantes de la Estepa Patagónica. Se muestran las especies mesofíticas, *Bromus pictus* y *Poa ligularis*, y las especies xerofíticas, *Pappostipa speciosa* y *Pappostipa humilis*..……..……6

Figura 2.1. Foto de una planta foco, en este caso *Poa ligularis,* y de la trampa de raíces que luego fue enterrada cerca de la planta foco. A más de 15 cm se encontraban las plantas vecinas, en este caso individuos de *Pappostipa speciosa*...……..……12

Figura 2.2. Producción de raíces en la zona de influencia estimada a partir de las trampas colocadas bajo cada una de las cinco especies foco y a dos profundidades distintas (valores medios ± error estándar, n= 10). Las especies foco son: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *C*sp, *Carex* sp. y *Ph*, *Pappostipa humilis*. Las profundidades son: Sup, superficial, de 5 cm a 11 cm de profundidad y Prof, profunda, de 15 cm a 21 cm de profundidad. La porción oscura de la barra corresponde a la producción de raíces de la especie foco y la porción clara a la producción de raíces de todas las especies vecinas reunidas en un único valor. Las diferencias significativas ($P < 0,05$) entre zonas de influencia están indicadas por las letras sobre las barras……..……14

Figura 2.3. Tasa de crecimiento relativo (TCR) de las raíces de los pastos de acuerdo a las especies foco en: (a) trampas superficiales (de 5 cm a 11 cm de profundidad) y (b) trampas profundas (de 15 cm a 21 cm de profundidad) (valores medios ± error estándar, n= 10). Las especies foco y las especies vecinas en las trampas son: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *Csp*, *Carex* sp. y *Ph*, *Pappostipa humilis*. Las barras representan los valores medios de TCR de cada especie y las líneas representan los errores estándares. Las letras minúsculas indican comparaciones entre las TCR de una misma especie bajo las distintas especies foco. Las letras mayúsculas indican comparaciones entre las especies en una misma especie foco ($P < 0,05$).....16

Figura 2.4. Relación entre la tasa de crecimiento relativo de raíces vecinas ($TCR_{vecinas}$) y las tasas de crecimiento relativas de especies foco (TCR_{foco}). La biomasa de raíces de especies vecinas se agrupó antes de hacer los cálculos. Las especies son: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *Csp*, *Carex* sp. y *Ph*, *Pappostipa humilis*. Cada punto representa el valor medio y las líneas los errores estándar de ambas variables (n= 20 por cada especie). La línea que conecta los puntos representa en Modelo Ajustado de los datos……..……..……18

Figura 3.1. Foto de un micrositio de suelo desnudo donde fue enterrada una de las trampas de raíces. En este caso el micrositio estaba rodeado por individuos de *Bromus pictus* y *Pappostipa speciosa.*……....……23

Figura 3.2. Riqueza (a) y diversidad (b) dentro de las trampas de raíces con agregado de distintos sustratos, a los 4 y 6 meses. Los sustratos son: C, suelo; N+, suelo + 4 $gN.m^{-2}$. Las barras indican valores medios y las líneas los errores estándar. Las letras minúsculas sobre las barras representan diferencias significativas entre los sustratos dentro de cada tiempo de cosecha. Las letras mayúsculas representan diferencias entre los tiempos de cosecha para un mismo sustrato..……...……...24

Figura 3.3. Producción de raíces dentro de las trampas de raíces con agregado de distintos sustratos, a los 4 y 6 meses. Los sustratos son: C, suelo; N+, suelo + 4 $gN.m^{-2}$. Las barras indican valores medios y las líneas los errores estándar. Las letras minúsculas sobre las barras representan diferencias significativas entre los sustratos dentro de cada tiempo de cosecha. Las letras mayúsculas representan diferencias entre los tiempos de cosecha para un mismo sustrato.....25

Figura 3.4. Tasas de crecimiento relativo (TCR) subterráneas de las especies encontradas dentro de las trampas de raíces con agregado de distintos sustratos, a los 4 y 6 meses. Las especies son: *Bromus pictus*, *Poa ligularis* y *Pappostipa speciosa*. Los sustratos son: C, suelo; N+, suelo + 4 $gN.m^{-2}$. Las barras indican valores medios y las líneas los errores estándar. Las letras minúsculas sobre las barras representan diferencias significativas entre los sustratos dentro de cada tiempo de cosecha. Las letras mayúsculas representan diferencias entre los tiempos de cosecha para un mismo sustrato…….26

Figura 4.1. Foto de un micrositio de suelo desnudo donde fue enterrada una de las bolsas de descomposición. En este caso la bolsa estaba rellena por raíces de *Bromus pictus* y se cosecho luego de 6 meses…….…….33

Figura 4.2. Riqueza (a) y diversidad de raíces (b) dentro de las trampas de raíces con agregado de distintos sustratos, a los 6, 12 y 18 meses. Los sustratos son: C, suelo; N+, suelo + 4 $gN.m^{-2}$. Las barras indican valores medios y las líneas los errores estándar. Las letras minúsculas sobre las barras representan diferencias significativas entre los sustratos dentro de cada tiempo de cosecha. Las letras mayúsculas representan diferencias entre los tiempos de cosecha para un mismo sustrato.……..……...35

Figura 4.3. Producción de raíces dentro de las trampas de raíces con agregado de distintos sustratos, a los 6, 12 y 18 meses. Los sustratos son: C, suelo; N+, suelo + 4 $gN.m^{-2}$. Las barras indican valores medios y las líneas los errores estándar. Las letras minúsculas sobre las barras representan diferencias significativas entre los sustratos dentro de cada tiempo de cosecha. Las letras mayúsculas representan diferencias entre los tiempos de cosecha para un mismo sustrato.…..……..……..35

Figura 4.4. Biomasa de raíces en el experimento de colonización, a los 6, 12 y 18 meses, de las especies encontradas en las trampas de raíces con el sustrato C. Se optó por mostrar el sustrato C porque en todos los sustratos se presentó el mismo patrón. a) Biomasa original y b) Biomasa corregida con pérdidas de biomasa del experimento de descomposición. Las barras correspondientes al mes 6 repiten los valores del panel "a" con el propósito de comparar más fácilmente los valores corregidos de los meses 12 y 18. Las especies son: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *Csp*, *Carex* sp.; *Ph*, *Pappostipa humilis*. Las barras indican valores medios y las líneas los errores estándar. Las letras minúsculas sobre las barras representan diferencias

significativas entre las especies dentro de cada tiempo de cosecha. Las letras mayúsculas representan diferencias entre los tiempos de cosecha para una misma especie. El valor 0 indica sin biomasa y ≈0 indica biomasa casi ausente……..….36

Figura 4.5. Tasas de crecimiento relativo (TCR) para las especies encontradas en las trampas de raíces con el sustrato C, a los 6, 12 y 18 meses. Se optó por mostrar el sustrato C porque en todos los sustratos se presentó el mismo patrón. Las especies son: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *Csp*, *Carex* sp.; *Ph*, *Pappostipa humilis*. Las barras indican valores medios y las líneas los errores estándar. Las letras minúsculas sobre las barras representan diferencias significativas entre las especies dentro de cada tiempo de cosecha. Las letras mayúsculas representan diferencias entre los tiempos de cosecha para una misma especie.……..……..37

Figura 4.6. Extensión de forrajeo en cuanto a la densidad de raíces (biomasa específica/volumen de suelo) en las trampas de raíces con sustrato N+ (suelo + 4 $gN.m^{-2}$), a los 6, 12 y 18 meses. Las especies son: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *Csp*, *Carex* sp.; *Ph*, *Pappostipa humilis*. Las barras indican valores medios y las líneas los errores estándar. Las letras minúsculas sobre las barras representan diferencias significativas entre las especies dentro de cada tiempo de cosecha. Las letras mayúsculas representan diferencias entre los tiempos de cosecha para una misma especie……..…...…….37

Figura 4.7. Precisión de forrajeo expresada como el cociente entre la biomasa específica de raíces creciendo en micrositios con muy alta disponibilidad de N (B N+) y la biomasa creciendo en micrositios control (B C), a los 6, 12 y 18 meses. Los sustratos son: N+, suelo + 4 $gN.m^{-2}$ y C, suelo. Las especies son: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *Csp*, *Carex* sp. y *Ph*, *Pappostipa humilis*. Las barras indican valores medios y las líneas los errores estándar. Las letras sobre las barras representan las diferencias significativas entre las especies en un mismo tiempo de cosecha. La línea punteada indica que la biomasa en N+ es igual a la biomasa en C……...38

Figura 4.8. Necromasa remanente en las bolsas de descomposición (%) a los 0 meses (instalación), 6 y 12 meses (cosechas). Los tratamientos consisten en bolsas rellenas con 0,75 g de necromasa de raíces de: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *Csp*, *Carex* sp.; *Ph*, *Pappostipa humilis*. Las líneas horizontales indican valores medios y las líneas verticales los errores estándar. Las letras junto a las líneas representan las diferencias significativas entre los tratamientos, dentro de cada cosecha…….39

Figura 4.9. Correlación lineal entre la pérdida de biomasa de raíces en bolsas de descomposición a los 12 meses y las tasas de crecimiento relativo a los 18 meses de las especies de pastos más frecuentes que crecieron en las trampas de raíces (valores medios± errores estándar, n= 10 para cada especie). Las especies son: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *Csp*, *Carex* sp. La línea que conecta los puntos representa el Modelo Ajustado de los datos…...…….……40

Figura 5.1. Foto de una de las plantas foco, en este caso *Poa ligularis*, a la que se le aplicó el ^{15}N de forma tópica a 4 cm de su base. Las plantas tratadas fueron cosechadas a los 6, 21 o 50 días después de la aplicación del fertilizante..……..…….……45

Figura 5.2. Porcentaje de a.e. de ^{15}N (a-d, % a.e. ^{15}N) en raíces y hojas verdes de *Bromus pictus* (a); *Poa ligularis* (b); *Pappostipa speciosa* (c) y *Pappostipa humilis* (d) en el tiempo (valores medios ± error estándar, n= 10). El valor del día 0 corresponde al ^{15}N en las plantas control. Las letras minúsculas sobre las líneas indican diferencias significativas entre las raíces y las hojas verdes en un mismo tiempo y las letras mayúsculas indican diferencias significativas en el tiempo para las raíces y para las hojas verdes (*P*< 0,05)……..……...48

Figura 5.3. Nitrógeno derivado del fertilizante (Nddf) en las raíces y las hojas verdes en *Bromus pictus* (a), *Poa ligularis* (b), *Pappostipa speciosa* (c) y *Pappostipa humilis* (d) en el tiempo (valores medios ± error estándar, n= 10). Las letras minúsculas sobre las líneas indican diferencias significativas entre las raíces y las hojas verdes en un mismo tiempo y las letras mayúsculas indican diferencias significativas en el tiempo para las raíces y para las hojas verdes (*P*< 0,05)……..…..….49

Figura 5.4. Biomasa seca de hojas verdes de los individuos en el tiempo (valores medios ± error estándar, n= 10). Las especies son: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *Ph*, *Pappostipa humilis*. Las letras minúsculas sobre las líneas representan diferencias significativas entre las especies para cada tiempo y las letras mayúsculas representan diferencias significativas en el tiempo para cada especie (*P*< 0,05)……..……...……..50

Figura 5.5. Contenido total de ^{15}N (natural + aplicado) en la biomasa seca de las hojas verdes de los individuos en el tiempo (valores medios ± error estándar, n= 10). Las especies son: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *Ph*, *Pappostipa humilis*. Las letras minúsculas sobre las líneas representan diferencias significativas entre las especies para cada tiempo y las letras mayúsculas representan diferencias significativas en el tiempo para cada especie (*P*< 0,05)……..……51

Figura 5.6. Contenido de humedad del suelo junto a los individuos de pastos donde se colocó el ^{15}N (valores medios ± error estándar, n= 10). Las especies de pastos son: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *Ph*, *Pappostipa humilis*. El tiempo 0 días corresponde al control, no tuvo agregado de agua ni ^{15}N Las letras minúsculas sobre las líneas representan diferencias significativas entre las especies para cada tiempo y las letras mayúsculas representan diferencias significativas en el tiempo para las especies (*P*< 0,05)……..……..51

Figura 6.1. Relación entre la tasa de crecimiento relativa de raíces foco (TCR_{foco}, n= 10), en condiciones de competencia (Capítulo II), y la longitud relativa específica (LRE), en condiciones de aislamiento (valores de Leva et al. 2009). Las especies son: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *Csp*, *Carex* sp; *Ph*, *Pappostipa humilis*. Cada punto representa el valor medio y las líneas los errores estándar de ambas variables. La línea que conecta los puntos representa el Modelo Ajustado de los datos……..60

Figura 6.2. Extensión de forrajeo en cuanto a la densidad de raíces (biomasa específica/volumen de suelo) en: trampas de raíces enterradas en el campo (con sustrato N+= suelo + 4 gN/m^2, n= 10), a los 6 meses de la fertilización; 3600 cm^3 de suelo en el campo (fertilización tópica N+= 4 gN/m^2, n= 10), a los 50 días de la fertilización; 3600

cm^3 de suelo en macetas en invernáculo (fertilización tópica N+= 4 gN/m^2, n= 5), a los 15 días de la fertilización (valores medios ± error estándar). Las especies son: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *Ph*, *Pappostipa humilis*. Las letras minúsculas sobre las barras representan diferencias significativas entre las especies dentro de cada experimento……...61

Figura A.1. Relación entre la biomasa de raíces inicial en el experimento ciego de identificación y la biomasa identificada, usando la clave de identificación de raíces propuesta por Leva et al. 2009. Se muestran en la figura la línea 1:1, el modelo de regresión lineal, los valores de r^2 y de probabilidad……...……74

ABREVIATURAS

^{15}N: isótopo del átomo de Nitrógeno con mayor peso molecular.
$^{15}NH_4{}^{15}NO_3$: nitrato de amonio enriquecido con ^{15}N
á.e.: átomos en exceso
ANOVA: análisis de la variancia
B: biomasa de raíces.
Bp: *Bromus pictus*.
Csp.: *Carex*
LRE: longitud radical específica
MANOVA: análisis de la variancia multivariada
N: Nitrógeno
Nddf: Nitrógeno derivado del fertilizante
P: valor de probabilidad
Pl: *Poa ligularis*
Ps: *Pappostipa speciosa*
Ph: *Pappostipa humilis*
R: correlación de Spearman
r^2: regresión simple
S: suelo
TCR: tasa de crecimiento relativo
χ^2: Chi-cuadrado

Resumen

Solapamiento de zonas de influencia de raíces de pastos perennes. Controles en una estepa patagónica

La zona de influencia de una planta es el volumen de su entorno alterado por su presencia. Su conformación subterránea está determinada por la extensión y proliferación de raíces y la absorción de nutrientes, que definen las interacciones entre las especies. El estudio de la dinámica de la biomasa subterránea específica y los controles del funcionamiento de los sistemas radicales en estepas es complicado pues las gramíneas son un grupo de especies con alta similitud topológica en sus raíces. El objetivo de esta tesis fue estudiar las zonas de influencia y caracterizar aspectos clave como el solapamiento y la proliferación de las raíces y la absorción de N en condiciones naturales y en función del tiempo de los sistemas radicales de 5 especies de graminoides. Para la clasificación de las raíces por especie se utilizó una clave de identificación basada en características morfológicas. Utilicé trampas de raíces de volumen conocido que me permitieron generar micrositios con agregado de nitrógeno cerca y lejos de la base aérea. Además para estudiar tasas de absorción de N apliqué ^{15}N al suelo. Las especies de crecimiento rápido (mesofíticas) tuvieron alta proliferación y dominancia de raíces bajo su base. Con el tiempo cambió la composición de especies, disminuyó la producción de raíces y aumentó la descomposición. Las especies dominantes del canopeo (una mesofítica y una xerofítica) extendieron sus raíces lejos de su base, mientras que las especies raras fueron más precisas en la proliferación de raíces. El agregado de N no afectó el solapamiento, encontrándose que coexisten raíces de 2 o 3 especies, pero incrementó la producción de raíces. Las cuatro especies estudiadas absorbieron ^{15}N a los 6 días de su aplicación y en general no difirieron en su absorción, excepto por la especie mesofítica dominante que absorbió más ^{15}N, lo que podría representar una alta habilidad competitiva. Mis resultados indicarían que la distribución de raíces de la comunidad no puede inferirse directamente por el canopeo, que en general es disperso y fragmentado. Las zonas de influencia subterránea de las especies se superponen. La proliferación de las raíces es distinta según la especie y la distancia a la base, siendo el tiempo un factor esencial en su estudio.

Palabras clave: Absorción de nitrógeno, diversidad y riqueza de raíces, distribución de raíces, especies mesofíticas y xerofíticas, interacciones entre especies, proliferación de raíces, tasas relativas de crecimiento.

Abstract

Overlapping zone of influence of perennial grasses roots. Controls in a Patagonian steppe

The zone of influence of an individual plant is the volume of its environment, changed by its presence. Its belowground formation is determined by its roots scale and proliferation, and nutrients absorption ability, which define interactions among species. The similarity among grasses roots in steppes renders the study of their controls and functioning difficult. The aim of this thesis was to determine roots overlap, proliferation and N uptake of perennial graminoids along time, under natural conditions. For roots classification by species, an identification key by root morphological characteristics was used. In a semi-arid steppe in SW Chubut, microsites were generated with different nitrogen addition in two points of the grasses zone of influence, near and far from aboveground portions. ^{15}N was applied to the soil to study its absorption rate. Fast-growing species (mesophytics) had high proliferation and dominance of roots under their base. Along time root composition changed, production decreased and decomposition increased. Aboveground dominant species (one mesophytic and one xerophytic) widely spread their roots away from their base, while rare species were proliferated more roots in N-rich microsites, in the long term. Fertilisation did not affect belowground overlapping. The community was composed by roots of 2 or 3 species, but fertilisation increased roots production. The four studied species absorbed ^{15}N after few days of its application and in general they did not differ in its absorption, except for the dominant mesophytic species, which absorbed more ^{15}N, representing a higher competitive ability. My results highlight that roots distribution cannot be inferred from canopy distribution. Belowground zones of influence of different species overlap. Roots proliferation is different depending on species and distance from aboveground portion, being time an essential factor in their study.

Key words: Nitrogen absorption, root diversity and richness, interactions between species, mesophytic and xerophytic species, roots distribution, roots proliferation, relative growth rates.

Capítulo I
Introducción General

1.1. MARCO CONCEPTUAL

La competencia entre las plantas puede ocurrir tanto por los recursos que se encuentran por encima (luz) como por debajo de la superficie del suelo (agua y nutrientes). Las características climáticas y edáficas de un ecosistema determinan cuál de los dos tipos de competencia será la más intensa (Tilman 1989, Goldberg 1990, Wilson y Tilman 1991, Lauenroth y Coffin 1992). En los ecosistemas productivos, con alta cobertura vegetal, la competencia por luz es probablemente la más importante, controlando el crecimiento de las poblaciones (otros factores podrían ser los polinizadores o los agentes dispersores de semillas). Mientras que en los ecosistemas de baja productividad, con baja cobertura vegetal, como los ecosistemas áridos y semiáridos, la competencia por los recursos del suelo es la más intensa (Fowler 1986, Wilson 1988, Tilman 1989, Lauenroth y Coffin 1992), pudiendo reducir la tasa de crecimiento de una población más que la competencia aérea (Eissenstat y Yanai 1997).

El área en la cual la planta adquiere recursos, libera exudados químicos, produce sombra, deposita necromasa, o altera el espacio de alguna otra manera, es considerada como su "zona de influencia" ([Uranov 1965, Bonan 1993, Stohlgren 1993], citado en Casper et al. 2003). Su caracterización, tanto aérea como subterránea, permite determinar la disponibilidad de recursos para un individuo y su influencia sobre el microambiente de las plantas vecinas. La superposición, o solapamiento, de las zonas de influencia es necesaria para que las plantas vecinas interactúen compitiendo o facilitándose de manera efectiva (Czaran y Bartha 1992). Se supone que la conformación de las zonas de influencia subterráneas está controlada por la velocidad de colonización del suelo que determina el volumen de suelo explorado. Sin embargo, este no es el único factor relevante para entender las interacciones entre las plantas. Las tasas de absorción de nutrientes y de producción de biomasa también determinan la zona de influencia de una planta (Aerts 1999, Carrera et al. 2003).

Los ecosistemas que están fuertemente limitados por agua también lo están por nutrientes, por tener bajos contenidos de materia orgánica en el suelo que co-determinan la estructura y la productividad del sistema (Fornara y Tilman 2009, Austin 2011). Numerosos experimentos con adición de nitrógeno realizados en estos sistemas resultaron en un aumento significativo de la productividad primaria neta (p.e. Yahdjian et al. 2011). Las diferencias específicas observadas en el uso del nitrógeno, en cuanto a los patrones de su adquisición, asignación y conservación interna del recurso (McKane et al. 1990, McKane et al. 2002), sugieren que la partición del ambiente subterráneo (i.e. zona de influencia subterránea) por diferenciación espacial o temporal de nichos puede ser una forma eficiente o "hábil" de competir por los nutrientes limitantes. La coexistencia de las especies puede estar explicada por la división espacial de los recursos subterráneos, ya sea en profundidad o en el plano horizontal, o bien por estar las especies limitadas por diferentes combinaciones de nutrientes (Gebauer y Ehleringer 2000, Harpole y Tilman 2007). La habilidad competitiva subterránea está determinada por la estructura de los sistemas radicales (Fitter 2009) y la manera en la que utilizan los recursos del suelo (Casper et al. 2003). La extensión de un sistema radical (Cahill y Casper 2000), su capacidad de absorción de nutrientes (Caldwell et al. 1985) y sus interacciones con los microorganismos (de Kroon et al. 2012) también determinan la

habilidad competitiva y permiten comprender la coexistencia en una comunidad de raíces (Aerts 1999). Sin embargo, mucha de la información con que contamos ha sido obtenida en macetas, ya que el estudio a campo es mucho más complejo y sobre todo por la dificultad de describir la comunidad vegetal en el suelo.

Las plantas individuales pueden ocupar el volumen del suelo de dos formas. Una es segregando sus raíces de las raíces de las plantas vecinas, territorialidad, lo que determina un uso exclusivo del recurso, por partición espacial y/o temporal del espacio (Casper y Jackson 1997, Schenk et al. 1999). Mecanismos como la secreción de productos secundarios, toxinas o algún otro tipo de señal promoverían la segregación espacial de las raíces activas al inhibir la absorción de recursos por las plantas vecinas (Tilman 1990, Mahall y Callaway 1992, Schwinning y Weiner 1998). De no existir estos mecanismos el suelo se compartiría entre plantas cercanas, a través del solapamiento de los sistemas radicales de las plantas vecinas en el mismo volumen de suelo, lo que disminuye la disponibilidad de recursos edáficos para cada una de ellas (Schenk 2006) e incrementa la riqueza y la diversidad de raíces en el suelo. En relación a la porción aérea es posible hacer las mismas consideraciones. En general, las respuestas de las plantas tienden a maximizar el uso exclusivo del recurso evitando la superposición de canopeos o asegurando el sombreado de las plantas vecinas con crecimiento en altura (Aphalo y Ballaré 1995). De la misma manera se ha propuesto que las plantas maximizan el uso exclusivo de un volumen de suelo (Schenk 2006).

A diferencia de lo que ocurre con la porción aérea de las plantas, el estudio de los sistemas radicales *in situ* presenta muchos problemas metodológicos (Böhm 1979, Schenk et al. 1999). Algunos de estos problemas se han resuelto mediante experimentos con plantas aisladas o en macetas (Hutchings y de Kroon 1994, Robinson et al. 1999, Fransen et al. 2001), lo que restringe las inferencias acerca de lo que ocurre en condiciones de competencia. Además, son pocos los estudios en los que se ha resuelto de manera confiable la dificultad de identificar las especies por sus raíces (Pecháčková et al. 1999, Leva et al. 2009). Recientemente, se ha recurrido a marcadores moleculares (ADN) para identificar la presencia de raíces de diferentes especies en muestras con más de una especie (de Kroon y Mommer 2006, Mommer et al. 2008, de Kroon et al. 2012). Otra estrategia consiste en desenterrar las raíces, manteniéndolas conectadas a su porción aérea (Cahill y Casper 2000, Rodríguez et al. 2007). Alternativamente se puede suponer que la cercanía a la parte aérea es un indicador de pertenencia a la especie (Soriano et al. 1987, Saint Pierre et al. 2002). En ambos casos se dificulta la posibilidad de organizar un muestreo estadísticamente apropiado (verdaderas muestras, abundantes, al azar y no sesgadas).

En el estudio de los pastizales áridos y semiáridos siempre se ha dedicado atención a la organización de las raíces, por ser los recursos del suelo los principales controles del desarrollo de las plantas. Particularmente se ha avanzado en aquellos casos en los que se podían diferenciar las raíces por especie. Por ejemplo, se siguió el crecimiento de raíces de plantas individuales (e.g. Ares 1976, estudio con ventanas) y se diferenciaron las distribuciones verticales de pastos y arbustos (e.g. Bertiller et al. 1991, Golluscio y Sala 1993). En las estepas graminosas-arbustivas en general, y en las estepas patagónicas en particular, los pastos ocupan los primeros 30 cm del perfil, desarrollándose más bien horizontalmente, mientras que los arbustos exploran fundamentalmente porciones más profundas (Soriano y Sala 1983, Fernández y Paruelo 1988, Sala et al. 1989). En cuanto a las gramíneas, se encontró que a distancias crecientes de la corona la biomasa de raíces disminuye y alcanza un mínimo en los parches de suelo desnudo. Sin embargo, el supuesto detrás de estos resultados era que el uso de la porción subterránea de las gramíneas era exclusivo de una especie y copiaba la

distribución de la estructura aérea (Soriano et al. 1987, Aguiar et al. 1992, Aguiar y Sala 1994, ver Saint Pierre et al. 2002 para un ejemplo de la pampa subhúmeda). Es decir, que se asumía que las raíces muestreadas en las cercanías del individuo foco correspondían únicamente a ese individuo.

La utilización de una metodología confiable de identificación taxonómica de raíces dilucidó que la segregación espacial de raíces no ocurría en la estepa patagónica (Leva 2005, Leva et al. 2009). Sin embargo, estos estudios no permitieron entender si la ocurrencia conjunta de raíces correspondía a raíces activas de distintas especies o si algunas podrían estar muertas y en descomposición. Aún así, estos resultados modifican nuestra comprensión de la estructura subterránea de las comunidades vegetales en los ecosistemas áridos y semiáridos. Fundamentalmente, porque los estudios de la estructura subterránea a nivel de especie dentro de una comunidad a campo son escasos y relativamente recientes (Cahill 2003, Malamy 2005, Leva et al. 2009). En este mismo sentido el solapamiento plantea nuevas preguntas relacionadas con los procesos formadores del patrón de superposición interespecífico de raíces y con la competencia interespecífica en ambientes fuertemente limitados por los recursos del suelo. El conocimiento acerca de cómo las raíces detectan y responden a microambientes con diferente concentración de recursos representa un bache en la conceptualización de la estructura y el funcionamiento de los sistemas áridos y semiáridos (Hutchings y John 2004).

Mi tesis contribuye a responder las preguntas relacionadas con la segregación y el solapamiento de las raíces de especies dominantes en estepas áridas. En particular, contribuye al conocimiento de la estructura, la distribución y el funcionamiento de sistemas radicales de graminoides bajo la base de plantas individuales (centro de sus zonas de influencia, o zona de influencia máxima) y bajo parches de suelo desnudo (zonas de influencia mínimas), en una estepa de semidesierto. Mi sitio de estudio es la estepa patagónica del SO de Chubut. Sin embargo, propongo que los resultados de la tesis pueden aplicarse a estepas graminoso-arbustivas y ecosistemas semiáridos con características similares. En este sentido, los objetivos de mi tesis ponen a prueba el arquetipo vigente que propone que las plantas segregan sus raíces y ocupan porciones de suelo relativamente libres de otras raíces, dicho de otro modo, que son territoriales en la ocupación del suelo (Schenk et al. 1999).

1.2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

Mi tesis doctoral tiene tres objetivos específicos a los que les corresponden hipótesis que fueron evaluadas en estudios de campo. Los primeros dos objetivos hacen referencia a los mecanismos que ensamblan los sistemas radicales de la comunidad esteparia. El primero indaga en la distribución espacial de las raíces utilizando el concepto de zona de influencia mientras que el segundo investiga en más detalle el fenómeno del solapamiento radical. El tercer objetivo explora la absorción específica de nutrientes para terminar de definir las consecuencias del solapamiento sobre la habilidad competitiva de las especies (capacidad para asegurar la obtención de los recursos en las zonas de influencia).

Objetivo 1. Determinar en qué magnitud el centro de la zona de influencia (< 10 cm de la base de una planta) puede ser invadido por raíces de plantas vecinas y evaluar la existencia de diferencias específicas en la habilidad de mantener su uso exclusivo para

predecir la coexistencia entre especies. Propuse dos hipótesis alternativas. La **primera hipótesis** establece que las especies son territoriales y tienen un uso exclusivo del centro de su zona de influencia. La **segunda hipótesis** propone que las especies difieren en su territorialidad de acuerdo a sus tasas de crecimiento, determinando la ocupación preventiva del espacio y la exclusión de las especies con bajas tasas de crecimiento.

Objetivo 2. Explorar los mecanismos de solapamiento y proliferación de raíces ante la variabilidad temporal de nutrientes. En este objetivo planteé hipótesis que relacionan el solapamiento con la heterogeneidad microambiental, la estrategia de explotación del suelo por diferentes especies y la pérdida de biomasa radical, que controla el tiempo de permanencia de las raíces muertas en un micrositio determinado. Así, la **tercera hipótesis** propone que el solapamiento está explicado por la alta disponibilidad de nutrientes. Por lo tanto, en micrositios con alta disponibilidad de nutrientes aumenta el solapamiento de raíces. La **cuarta hipótesis** plantea que las especies de crecimiento rápido son precisas en la proliferación de raíces por acumular más raíces en micrositios ricos en nutrientes (heterogeneidad microambiental), mientras que las de crecimiento lento tienen una gran extensión de forrajeo. En cambio las especies de crecimiento lento, que no son precisas. Finalmente, la **quinta hipótesis** sostiene que las raíces de las especies de crecimiento rápido se descomponen más rápido que las especies de crecimiento lento.

Objetivo 3. Determinar las diferencias en las tasas de absorción y de utilización de nitrógeno y de producción de biomasa verde en respuesta a la fertilización, entre las especies de gramínoides dominantes en un ecosistema semiárido. La **sexta hipótesis** propone que las especies con altas tasas de crecimiento subterráneo y de producción de biomasa (mesofíticas), tienen altas tasas de absorción de N y distinto uso del N en relación a las especies de bajas tasas de crecimiento (xerofíticas). Estas últimas tienen altas tasas de conservación de N en tejidos maduros y menor tasa de producción de hojas nuevas.

1.3. SITIO DE ESTUDIO

1.3.1. Descripción del sistema

La Estepa Patagónica es un ecosistema semiárido caracterizado por una vegetación de baja densidad de plantas y diversidad de especies (Figura 1.1). Está dominada por pastos y arbustos que se distribuyen en dos tipos de parches: arbustos rodeados por un anillo denso de pastos y parches de pastos aislados en una matriz de suelo desnudo (Soriano et al. 1994). Esta estructura podría ser el resultado de las interacciones entre los pastos y los arbustos (Sala y Aguiar 1996, Aguiar y Sala 1999). La ganadería ovina es el uso más común de la vegetación y tiene un efecto directo sobre su estructura aérea por disminuir la riqueza y la diversidad de la comunidad (Soriano 1956, Cipriotti y Aguiar 2005a y b, Oñatibia et al. 2010). Este efecto pone en riesgo la estructura y el funcionamiento del ecosistema entero (Soriano 1982, Aguiar y Sala 1998, Cipriotti 2006).

Figura 1.1. Foto del sitio de estudio. Clausura al ganado doméstico donde se realizaron los experimentos incluidos en la tesis.

Las especies de graminoides dominantes de la Estepa Patagónica del SO de Chubut se pueden dividir en mesofíticas y xerofíticas (Figura 1.2). El primer grupo incluye a *Poa ligularis* Nees ex Steud, *Bromus setifolius* J. Presl *pictus* (Hook. f.) Skottsb, *Bromus setifolius* J. Presl *setifolius* (Hook. f.) Skottsb y *Hordeum comosum* J. Presl. El segundo incluye a *Pappostipa speciosa* (Trin. & Rupr.) Romasch, *Pappostipa humilis* (Cav.) Romasch, *Festuca argentina* (Speg.) Parodi y *Carex* sp. (Leva et al. 2009). Las especies mesofíticas, de hojas más anchas y membranosas, son poco tolerantes a la sequía, su crecimiento se ve afectado por efecto del estrés hídrico (Couso y Fernández 2012). Se ha propuesto que ante la presencia de un espacio disponible en el suelo desnudo o cubierto por material muerto, estas especies tienen la capacidad de ocuparlo y de consumir los recursos asociados a él, debido a sus altas tasas de crecimiento relativo (Couso 2011). Los rasgos morfológicos de las especies mesofíticas probablemente les confieren una captura de nutrientes más eficiente (Ryser y Eek 2000) y una mayor habilidad competitiva (Aerts 1999). *Bromus setifolius* (var.) *pictus* (de aquí en adelante: *Bromus*) es la especie menos abundante y competitivamente superior en condiciones de mayor disponibilidad de agua (micrositios y años húmedos). *Poa ligularis* (de aquí en adelante: *Poa*) es la especie dominante de la porción aérea en la comunidad y al igual que *Bromus* produce semillas todos los años (Couso 2011).

Las especies xerofíticas, de hojas delgadas y en general duras, se identifican como especies menos palatables para el ganado y/o más resistentes al pastoreo en relación a las mesofíticas (Soriano 1956). A lo largo de un gradiente de menor a mayor intensidad de pastoreo las especies mesofíticas son reemplazadas por especies xerofíticas (Perelman et al. 1997). Las especies xerofíticas se han caracterizado por ser tolerantes a la sequía y por hacer un uso más conservador de la humedad del suelo. A diferencia de las especies mesofíticas, *Pappostipa speciosa* (que co-domina la comunidad junto con *Poa*) no produce semillas todos los años. Aparentemente, *Pappostipa speciosa* logra la persistencia de la población gracias a su alta longevidad

asociada al bajo y casi nulo efecto del estrés hídrico sobre su supervivencia (Couso y Fernández 2012).

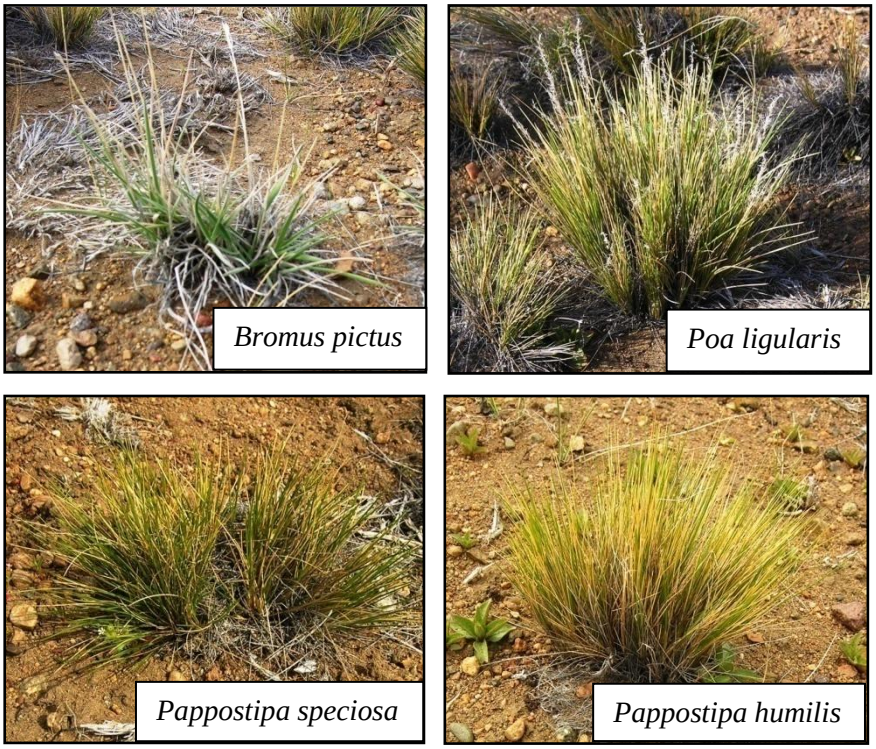

Figura 1.2. Fotos de las gramíneas dominantes de la Estepa Patagónica. Se muestran las especies mesofíticas, *Bromus pictus* y *Poa ligularis*, y las especies xerofíticas, *Pappostipa speciosa* y *Pappostipa humilis*.

La selectividad dietaria del ganado disminuye la densidad de las especies más palatables modificando su balance competitivo con las no palatables (Graff 2009, Graff et al. 2007). En este sentido se ha observado que en presencia de herbívoros domésticos aumenta la facilitación, inferida a partir de la mayor agregación entre plantas de especies de distinta palatabilidad. Las especies palatables reciben protección contra el pastoreo de ovejas cuando crecen cerca de las especies no palatables (interacción indirecta) (Graff et al. 2007, Oesterheld y Oyarzabal 2004).

1.3.2. Atributos radicales de las especies estudiadas

Debido a las restricciones impuestas por la baja disponibilidad de agua y nutrientes en estepas áridas, los atributos radicales específicos permiten caracterizar a las gramíneas dominantes de la Estepa Patagónica en un gradiente de especies más mesofíticas a más xerofíticas. *Bromus* por sus altas tasas de crecimiento relativo radical y escasas ramificaciones (en condiciones de invernáculo) y por su alta resistencia a la rotura y su bajo diámetro radical (en condiciones naturales), se ha considerado la especie más mesofítica del sistema (Leva et al. 2009). *Poa*, que también se ha considerado una especies mesofítica, presenta las tasas de crecimiento relativo más altas a campo, alta longitud radical específica en invernáculo, la mayor resistencia a la rotura y el menor

diámetro radical (en condiciones naturales) (Leva et al. 2009). *Pappostipa speciosa* y *Pappostipa humilis* (de aquí en adelante: *P. speciosa* y *P. humilis*, respectivamente) son comúnmente determinadas como xerofíticas, y a pesar de que *P. humilis* es considerada como más resistente al pastoreo, se asemeja más a *Poa* que a *P. speciosa* en su resistencia a la rotura y en el diámetro de sus raíces (en condiciones naturales) y a la longitud radical específica (en condiciones de invernáculo). Sin embargo, ambas especies de *Pappostipa* tienen tasas de crecimiento relativo similares (Leva et al. 2009) y sus raíces presentan mayor concentración de lignina y se descomponen más lento que las de *P*oa y *Bromus* (Semmartin et al. 2004).

1.3.3. Área de estudio y experimentos

Los estudios de mi tesis fueron realizados en una estepa de semidesierto, en un área de 4 ha. clausurada al pastoreo doméstico por 30 años, en el Campo Experimental INTA Río Mayo. Los bloques de los diferentes estudios (100 m^2) se distribuyeron de manera dispersa dentro de esta superficie de manera de capturar la heterogeneidad ambiental a la escala de estudio. El Campo Experimental se encuentra en la Región Patagónica (Chubut, Argentina 45º 25'S, 70° 20'W), dentro del Distrito Occidental de la Provincia Fitogeográfica Patagónica. La temperatura media diaria es de 7,8°C (Soriano y Sala 1983) y la precipitación media anual es de 130 mm, concentrada en el invierno y a principios de la primavera (Paruelo et al. 1998). Los vientos (15 km/h media anual) soplan predominantemente del oeste (Beltrán 1997).

Los pastos perennes dominan la comunidad vegetal, mientras que los arbustos ocupan el 18% de la cobertura del suelo. Los pastos tienen la mayoría de sus raíces creciendo en la capa superficial del suelo, desarrollándose horizontalmente. En promedio, el 70% de la biomasa de las raíces de las especies de pastos dominantes ocupan los primeros 15 cm del suelo (Soriano et al. 1987). Los pastos tienen una distribución dispersa en la matriz de suelo desnudo. Esta distribución permite trabajar con individuos aislados sin perturbar la distribución natural del sistema, ni tener que enterrar barreras ni macetas para aislar a los individuos. La textura del suelo es arenosa, lo cual permite extraer las muestras de suelo y separar las raíces de forma simple y sin tener pérdidas significativas del material (Leva et al. 2009). El contenido natural de nitrógeno los primeros 10 cm de suelo del sitio de estudio es de 0,05%. La tasa de mineralización anual del nitrógeno es en promedio de 2 $gN.m^{-2}$ (Austin et al. 2006).

1.4. ORGANIZACIÓN DE LA TESIS

La tesis se organizó a partir de los objetivos y de las hipótesis relacionadas. Establece el estado actual del conocimiento y especifica los objetivos específicos e hipótesis generales de la tesis (Capítulo I). En primer lugar, se presentan los resultados del estudio de la colonización por raíces en el núcleo de la zona de influencia de las especies dominantes de la estepa estudiada (Capítulo II). En segundo lugar, se presenta el estudio de los mecanismos de solapamiento de las raíces de pastos (Capítulo III) y de proliferación de raíces, en cuanto a la extensión y a la precisión de los sistemas radicales en el tiempo (Capítulo IV). Ambos mecanismos fueron estudiados mediante la generación de condiciones con distinta disponibilidad de nutrientes, bajo parches de suelo desnudo donde la influencia aérea de los individuos es mínima. En tercer lugar, se

caracterizó la absorción de nitrógeno en el tiempo por las especies dominantes, mediante el uso de un isótopo estable, ^{15}N (Capítulo V). Por último, en el capítulo VI se presentan las conclusiones de la tesis, organizando los resultados en un único marco conceptual que se refiere a los avances que esta tesis representa para el conocimiento actual de la estructura y del funcionamiento de los sistemas radicales en la comunidad dominante en el SO del Chubut, y su impacto sobre el entendimiento de otros ecosistemas áridos y semiáridos similares.

En particular, en el Capítulo II se estudia en qué magnitud el centro de la zona de influencia puede ser invadido por raíces vecinas y se evalúa si las especies difieren en su habilidad para mantener el uso exclusivo del espacio (puesta a prueba de las hipótesis 1 y 2). En el Capítulo III se explora el solapamiento y cómo la diferente disponibilidad de ambiental de recursos lo controla (puesta a prueba de la hipótesis 3). Estos dos primeros capítulos involucraron experimentos de 4 a 6 meses de duración, pues se pretendió caracterizar la colonización por raíces finas, que es un componente importante de la biomasa (Carrera y Bertiller 2010). En el Capítulo IV se presentan resultados obtenidos a lo largo de 18 meses, orientados al estudio de la influencia de la heterogeneidad microambiental de nutrientes sobre la proliferación de las raíces. Este capítulo incluye también el estudio de la descomposición de raíces en condiciones de competencia multiespecífica. Esto permite inferir la importancia relativa de la desaparición de raíces cuando se considera una ventana temporal más extensa que la utilizada en los Capítulos II y III. En el Capítulo V se determinan las tasas de absorción del nitrógeno aplicado y su movilización a las hojas en las especies dominantes en el sistema de estudio. De esta manera me propongo tener una idea más acabada de cómo se relacionan la estructura y los procesos subterráneos con la coexistencia en la estepa.

Cada uno de los capítulos experimentales (II al V) incluye secciones propias de introducción, métodos, resultados y discusión. De esta manera cada capítulo desarrolla, en profundidad, los marcos conceptuales y los detalles metodológicos y análisis estadísticos particulares de cada estudio. A su vez, los capítulos refieren y discuten resultados de los capítulos precedentes de manera que se avanza progresivamente hacia una síntesis final. El Capítulo VI contiene una discusión integradora y general de los resultados más relevantes de los capítulos experimentales, e incluye una visión integral de la organización y el funcionamiento subterráneo de la comunidad. También se discute sobre la contribución de esta tesis al conocimiento y sobre perspectivas a futuras investigaciones.

Capítulo II
Colonización de zonas de influencia por especies vecinas

2.1. INTRODUCCIÓN

La zona de influencia de una planta individual es el área de su entorno alterada por su presencia (Casper et al. 2003). Las plantas que desarrollan una zona de influencia amplia se aseguran una mayor dotación de los recursos de su entorno (como luz y nutrientes), incrementándose su crecimiento y, en algunos casos, reduciéndose la invasión por sus vecinos (McConnaughay y Bazzaz 1992). En general, es mucho más lo que se sabe (en cuanto a conceptos y datos) de la estructura y los procesos aéreos que de los subterráneos, probablemente porque el estudio de la porción subterránea en condiciones naturales es mucho más complejo que el de la porción aérea. Igualmente, las investigaciones en sistemas multiespecíficos son cada vez más frecuentes (de Kroon y Mommer 2006, Frank et al. 2010, de Kroon et al. 2012). Casper et al. (2003) propusieron un modelo conceptual de las zonas de influencia donde la incidencia de una planta foco sobre el suelo es máxima dentro de los 10 cm de distancia a la base de la planta y luego decrece exponencialmente, aunque el modelo no especifica cuán exclusivo es el uso de los recursos a lo largo de este gradiente de influencia. Un experimento reciente, realizado en macetas, sugiere que la presencia de vecinas (a una distancia menor a 10 cm) tiene efectos sobre la zona de influencia de la planta foco, que se evidencian por cambios en su crecimiento y en la distribución de sus raíces (Cahill et al. 2010). El experimento utilizaba una especie dicotiledónea anual de crecimiento rápido y fue realizado en condiciones controladas. Los estudios de las zonas de influencia en condiciones de campo representan un gran desafío, pero su realización permite entender los sistemas multiespecíficos (Chapin et al. 1987, Robinson 1994, Hodge 2004, Hodge 2009, Kembel y Cahill 2005).

Las plantas dependen de las raíces finas para obtener el agua y los nutrientes del suelo (Gordon y Jackson 2000). En los ecosistemas áridos y semiáridos las plantas están fuertemente limitadas por los recursos edáficos (Hooper y Johnson 1999) y su adquisición requiere de una mayor partición de fotosintatos hacia la biomasa subterránea que a la aérea (Sun et al. 1997). Por estas razones, la distribución horizontal y vertical de las raíces finas juega un papel esencial en el funcionamiento de la comunidad y el ecosistema. El mecanismo de segregación espacial de raíces ha sido el foco de diversos estudios sobre la estructura de la biomasa subterránea, que en general sugieren que los pastos son territoriales y segregan sus raíces en el espacio (Schenk et al. 1999), por ende la distribución espacial subterránea mayormente copiaría a la distribución aérea. El supuesto detrás de este argumento es que, bajo una planta foco, el uso de la porción subterránea es máxima y exclusiva (Soriano et al. 1987, Hook et al. 1994, Armas y Pugnaire 2011a y b). En los pastizales áridos esta idea está respaldada por resultados como los de Milchunas y Lauenroth (1989) que indican que la heterogeneidad espacial de la biomasa aérea y subterránea están positivamente correlacionadas (Mahall y Callaway 1991, Schenk et al. 1999).

Más recientemente se ha demostrado que en los pastizales los sistemas radicales de distintas especies herbáceas se solapan en el mismo volumen de suelo (de Kroon y Mommer 2006, Frank et al. 2010, de Kroon et al. 2012) y que la segregación horizontal o vertical de las raíces parece ser la excepción más que la regla de la distribución de

raíces (de Kroon et al. 2003). Estos estudios utilizaban técnicas moleculares para identificar especies por lo que solo aportaban una estimación de presencia-ausencia, lo que limitaba la robustez de las inferencias. Por ejemplo, con este tipo de datos Frank et al. (2010) sugirieron que la segregación de raíces probablemente juega un papel menor en el mantenimiento de la coexistencia de especies en los pastizales, aunque esta idea no ha sido explorada con profundidad. Los suelos son medios físicos complejos en los que probablemente la organización subterránea de la comunidad está afectada por las interacciones entre la heterogeneidad espacial de los recursos edáficos y la distribución espacial de las raíces (Schenk 2006). Además, las raíces pueden interactuar con su ambiente biótico y abiótico mediante varios mecanismos que van más allá de la visión tradicional de que las plantas interactúan principalmente por la competencia por nutrientes (Armas y Pugnaire 2011b).

Se dispone de pocas evidencias sobre cómo es la distribución de raíces finas de pastos en el centro de su zona de influencia en condiciones de campo. Si la estructura subterránea copia a la estructura aérea, entonces se espera que cerca de la planta foco sólo se encuentren sus raíces y que las raíces de las plantas vecinas fueran escasas o estuvieran ausentes. Este conocimiento es clave para descifrar el funcionamiento de las zonas de influencia, porque la mayoría de los estudios que han detectado el solapamiento de raíces no han estudiado cómo es el uso del suelo por los pastos perennes en condiciones de competencia multiespecífica. Muchos de los trabajos más influyentes sobre este tema han estudiado los mecanismos de coexistencia con dicotiledóneas y en condiciones controladas, en macetas o a través de la generación de comunidades artificiales (ver por ejemplo, Mahall y Callaway 1991, Cahill y Casper 2000, Mommer et al. 2008, Cahill et al. 2010, Armas y Pugnaire 2011a).

El objetivo de este estudio fue determinar en qué magnitud el centro de la zona de influencia (< 10 cm de la base de una planta) puede ser invadido por raíces de especies vecinas y evaluar si hay diferencias específicas en la habilidad de mantener su uso exclusivo. Propuse dos hipótesis alternativas. La primera establece que las especies son territoriales y tienen un uso exclusivo del centro de su zona de influencia. Espero que cerca de la planta foco solo sus raíces colonicen el suelo. La segunda hipótesis propone que el grado de territorialidad de una especie depende de sus tasas de crecimiento intrínsecas. Las especies con altas tasas de crecimiento son más territoriales que las especies con bajas tasas, que además no llegan a invadir las zonas de influencia de las primeras. Espero que las especies foco con altas tasas de crecimiento dominen el suelo en el centro de su zona de influencia. Adicionalmente, las raíces de estas especies serían capaces de invadir las zonas de influencia de las especies con bajas tasas de crecimiento. La primera hipótesis se basa en los numerosos estudios que hacen referencia a que las plantas detectan la presencia de raíces heteroespecíficas y cambian su dirección de crecimiento (Schenk et al. 1999, Cahill et al. 2010). La segunda no permite dilucidar si hay una detección de vecinos, ya que no se midieron (por ejemplo) los exudados radicales solubles ni los compuestos volátiles orgánicos (Pierik et al. 2012), pero subestima su relevancia en la ocupación de la zona de influencia. Para poner a prueba ambas hipótesis, conduje un experimento con trampas de raíces en una estepa semiárida durante cuatro meses, de manera de incluir solamente raíces finas y vivas de pastos.

2.2. MÉTODOS

2.2.1. DISEÑO DEL EXPERIMENTO

En la clausura al pastoreo se seleccionaron plantas de las especies dominantes de pastos (especies foco) y de distinta tasa de crecimiento potencial que crecían relativamente aisladas de otras plantas (vecinas). En todos los casos, las plantas se encontraban alejadas de arbustos a más de 1 m. Había una distancia de 1 m o más entre dos áreas seleccionadas para enterrar trampas de raíces. Las plantas vecinas de graminoides más cercanas se encontraban a más de 15 cm de distancia de la planta foco. Se enterraron trampas para cuantificar el crecimiento de raíces (ver descripción más abajo) a 5 cm de distancia de la base de cada planta foco, para generar un volumen de suelo libre de raíces lo más cerca posible de la planta (Figura 2.1). Esta posición permitió muestrear los procesos en el centro de la zona de influencia sin realizar un gran daño al sistema radical de la planta foco. Se incluyeron las cinco especies dominantes de la comunidad de graminoides, las que pueden ordenarse de modo decreciente de acuerdo a sus tasas de crecimiento relativo (TCR) subterráneo del siguiente modo: *Bromus*, *Poa*, *Carex* sp. (de aquí en adelante: *Carex*), *P. speciosa* y *P. humilis* (Leva et al. 2009).

Las trampas de raíces se colocaron a dos rangos de profundidades para detectar las posibles diferencias en la distribución específica de raíces: superficial (5-11 cm) y profundo (15-21 cm). Cada una de las trampas fue enterrada junto una planta foco y a una profundidad distinta, por lo que representan (en sentido estadístico) muestras independientes. En síntesis, cada trampa fue ubicada en un vecindario distinto. El experimento tuvo un diseño factorial con dos factores: especie foco y profundidad, y cada tratamiento (la combinación de los factores) tuvo 10 repeticiones. Las trampas se enterraron a principios del invierno (junio 2011) y se extrajeron a principios de la primavera (septiembre 2011), para capturar solo raíces finas o nuevas. En esta estepa y en ecosistemas similares se detectó que las tasas de crecimiento de raíces finas de pastos en junio-julio están limitadas por el contenido de agua en el suelo y en menor medida por las bajas temperaturas. Hacia fin de septiembre la temperatura no es limitante y en cambio el contenido de agua pasa a ser el principal limitante del crecimiento (Soriano et al. 1987, Rodríguez et al. 2007). Colectar las raíces que crecieron de junio a septiembre me permitió trabajar desde el inicio del crecimiento de las raíces de graminoides (Kantolic comunicación personal). Se registró la identidad de las plantas vecinas que crecían hasta a 30 cm de distancia de la trampa, para analizar en qué medida las diferencias entre las zonas de influencia se correlacionaban con la presencia u ausencia de los vecinos en la porción aérea.

Se realizaron perforaciones en el suelo para colocar verticalmente un tubo de PVC hasta la profundidad determinada por el tratamiento y dentro del tubo fue deslizada la trampa de raíces. Las trampas consistían en un tubo cilíndrico de material plástico con perforaciones de 10 mm^2 (Figura 2.1), a lo largo de todo el tubo (4 cm de diámetro y 6 cm de altura), que permitieron la colonización del interior de los tubos por raíces (Leva et al. 2009). Cada una contuvo un volumen de suelo de 75,4 cm^3, y permitía alojar las raíces que la colonizaban. Se rellenó el tubo de PVC con tierra del lugar tamizada (libre de piedras y raíces) y luego se lo retiró cuidadosamente dejando la trampa de raíces ubicada en el rango correspondiente. A cada trampa se le colocó una estaca para localizarla en el momento de su recolección, en septiembre. Una vez extraída a los 4 meses, cada trampa funcionó como una muestra discreta de suelo con raíces.

Figura 2.1. Foto de planta foco, en este caso *Poa ligularis*, y de la trampa de raíces que luego fue enterrada cerca de la planta foco. A más de 15 cm se encontraban las plantas vecinas, en este caso eran individuos de *Pappostipa speciosa*.

La separación de las raíces del suelo se realizó mediante el tamizado de las muestras con un tamiz con perforaciones de 1,25 mm de diámetro. Dicha separación fue efectiva ya que el suelo del sitio de estudio tiene un alto contenido de arena y grava, con lo que no se necesitó el empleo de agua ni de productos químicos (Leva 2005). Las raíces se separaron por especie con la clave de identificación por características morfológicas (Leva et al. 2009). La clasificación fue precisa en todas las especies (r^2> 0,9, *P*> 0,001), excepto la identificación de *Bromus pictus* y *B. setifolius* (r^2< 0,5, *P*> 0,05, Apéndice A). Por esta razón las raíces de ambas especies se trataron de forma conjunta bajo el género *Bromus* en este y en los siguientes capítulos experimentales. Las raíces se secaron en estufa a 70ºC durante 48 horas y se pesaron. Se caracterizó el efecto de la especie foco y de la profundidad sobre la riqueza, la diversidad (según el Índice de Simpson) y la biomasa radical total y por especie a partir de las raíces encontradas en cada trampa. Las TCR subterráneas se estimaron como ($lnB_1 – lnB_0$)/ T, donde B_1: peso de la biomasa al final del experimento (g/m^2)+ 0,5; B_0: peso inicial de la biomasa de raíces (0 g)+ 0,5; T: 120 días. Se transformaron B_1 y B_0 sumándoles 0,5 a ambos pesos para calcular lnB_0 que representaba a las trampas que al inicio del experimento estaban libres de raíces.

Durante el mismo período de tiempo, y con una metodología similar, se enterraron trampas de raíces en el centro de parches de suelo desnudo para generar controles de la zona de influencia. De esta forma, se pudo comparar la distribución de raíces en el centro de la zona de influencia de cada especie dominante con la de áreas en las que, de acuerdo con la porción aérea, no existiría una influencia clara de ninguna especie. Las trampas control (n= 10) estaban enterradas en el rango superficial (5-11 cm), bajo un parche de suelo desnudo donde la planta más próxima se encontraba a más de 15 cm de distancia.

2.2.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Realicé análisis de varianza para evaluar los efectos de las especies foco y de las profundidades sobre la biomasa total de raíces (expresada como producción de raíces), la riqueza y la diversidad en las zonas de influencia. A los efectos de las especies foco y

de las profundidades sobre la biomasa específica (expresada como TCR), los evalué con MANOVA, ya que la presencia de las especies dentro de las trampas no fue independiente. Antes de realizar estos análisis, se probaron los supuestos de homogeneidad de varianzas y de normalidad de los residuales. Las variables fueron transformadas como $X' = X^2$ o $X' = X^{1/2}$ cuando no se cumplía el supuesto de homogeneidad. Se realizaron pruebas no paramétricas (Kruskal Wallis) cuando los residuales no se distribuían normalmente. Se consideró una probabilidad de 0,05 como una diferencia significativa entre los tratamientos. Se usó una prueba a posteriori (Tukey) para identificar los grupos homogéneos cuando había diferencias significativas entre los tratamientos de una variable respuesta.

Para mayor robustez de las inferencias se controló que las diferencias obtenidas en las trampas no se debieran a diferencias en las vecindades sino a la influencia de las especies en su zona de influencia. Para ello se construyó una matriz de frecuencias con la presencia aérea de las especies vecinas en relación a las plantas foco (n= 20 porque, al no detectar diferencias significativas en las identidades de las raíces dentro de las trampas enterradas a distintas profundidades, se juntaron ambas profundidades). Se realizaron asociaciones entre los vecindarios aéreos de las distintas especies foco, usando pruebas de Chi-cuadrado (χ^2). También evalué las relaciones entre la biomasa de raíces de especies foco y de especies vecinas mediante correlaciones no paramétricas (Spearman), ya que los residuales no tuvieron una distribución normal (n= 20). Se realizó una regresión simple (con valores medios) entre TCR de especies foco y de especies vecinas, para analizar el efecto del crecimiento de la especie foco sobre el de vecinas, en la comunidad de raíces (n= 5). Finalmente, se hicieron análisis de varianza para evaluar las diferencias entre la producción de raíces, la riqueza y la diversidad en el centro de la zona de influencia y bajo el suelo desnudo. Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el programa Statistica versión 7.0 (Stat Soft Inc., Tulsa, Oklahoma, USA).

2.3. RESULTADOS

Durante los cuatro meses evaluados, las raíces finas de los pastos colonizaron el 99% de las trampas. La producción de raíces en las zonas de influencia varió de acuerdo a la especie foco ($P < 0,001$, Cuadro 2.1), pero fue similar entre profundidades ($P = 0,08$). No hubo interacción entre los factores ($P > 0,05$). La zona de influencia de *Poa* tuvo mayor producción de raíces que la de *P. speciosa*, *Carex* y *P. humilis*. En la de *Bromus* la producción fue intermedia (Figura 2.2). En la zona de influencia de *Bromus* y de *Poa*, la biomasa radical de cada especie foco dominaba las trampas y sus raíces representaron (en promedio) el 67% y el 94%, respectivamente, del total de raíces encontradas en las trampas. En el otro extremo, en las trampas en la zona de influencia de *Carex* solo el 7% de la biomasa de raíces correspondía a esa especie (Cuadro 2.1). La producción de raíces encontrada en las trampas fue similar entre las distintas zonas de influencia y bajo el suelo desnudo ($P > 0,05$, Cuadro 2.1).

En general las zonas de influencia fueron colonizadas hasta por cuatro especies. La riqueza media fue de 1,6 especies por trampa y no hubo diferencias entre las cinco especies ($P = 0,32$) ni entre las dos profundidades ($P = 0,28$, Cuadro 2.1). La riqueza dentro de las trampas colocadas en el centro de las zonas de influencia fue similar a la de las trampas colocadas bajo el suelo desnudo ($P > 0,05$, Cuadro 2.1). La diversidad fue similar en todas las zonas de influencia, tanto bajo distintas especies foco ($P = 0,28$),

como en las dos profundidades (P= 0,74, Cuadro 2.1). La diversidad también fue similar entre zonas de influencia y bajo suelo desnudo (P> 0,05), excepto para la zona de influencia de *P. humilis* que fue menos diversa que bajo suelo desnudo (P= 0,02).

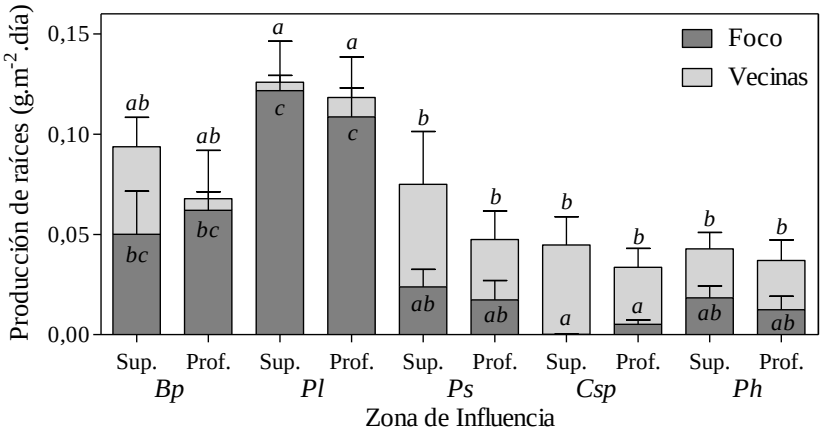

Figura 2.2. Producción de raíces en la zona de influencia estimada a partir de las trampas colocadas bajo cada una de las cinco especies foco y a dos profundidades distintas (valores medios ± error estándar, n= 10). Las especies foco son: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *C*sp, *Carex* sp. y *Ph*, *Pappostipa humilis*. Las profundidades son: Sup, superficial, de 5 cm a 11 cm de profundidad y Prof, profunda, de 15 cm a 21 cm de profundidad. La porción oscura de la barra corresponde a la producción de raíces de la especie foco y la porción clara a la producción de raíces de todas las especies vecinas reunidas en un único valor. Las diferencias significativas (P< 0,05) entre zonas de influencia están indicadas por las letras sobre las barras.

Las TCR variaron de acuerdo a la especie foco y a la profundidad (Figuras 2.3a y b). En las trampas superficiales, por un lado, al comparar cada especie creciendo bajo las distintas especies foco, se detectó que las raíces de *Bromus*, *Poa* y *P. humilis* tuvieron mayores tasas de crecimiento relativo en sus propias zonas de influencia que en las de otras especies (letras minúsculas, Figura 2.3a). Por otro lado, al comparar entre las raíces que crecieron bajo una misma zona de influencia, se detectó que las raíces de la especie foco tuvieron mayores tasas de crecimiento que las raíces de especies vecinas, excepto en la zona de influencia de *Carex* donde todas las especies crecieron de forma similar. En la zona de influencia de *Poa* se detectaron las TCR más altas (P< 0,001), seguidas por *Bromus*, *P. speciosa* y *P. humilis* (letras mayúsculas, Figura 2.3a). En las trampas profundas, *Bromus* y *Poa* tuvieron mayores TCR en el centro de sus propias zonas de influencia que en las de las otras especies (letras minúsculas, Figura 2.3b) y en sus zonas de influencia sus TCR fueron mayores que las TCR de las demás especies (letras mayúsculas). *P. speciosa*, *Carex* y *P. humilis* crecieron a la misma tasa que especies vecinas en todas las zonas de influencia (P> *0,05*).

Cuadro 2.1. Matriz de proporciones de la biomasa, la riqueza, la diversidad y la producción de raíces en diferentes micrositios. Las especies foco, las profundidades y los parches de suelo desnudo, se muestran en las columnas. La proporción de raíces encontradas en las trampas se muestran en las filas. Los valores medios de biomasa total (g), la riqueza, la diversidad y la producción de raíces ± error estándar se muestran en las filas.

	Micrositios en el centro de la zona de influencia												Micrositios Control	
	Especies foco												Parches de suelo desnudo	
	Superficial (5 cm a 11 cm)						Profundo (15 cm a 21 cm)							
En trampas	*Bp*	*Pl*	*Ps*	*Csp*	*Ph*	Biomasa total media (g)	*Bp*	*Pl*	*Ps*	*Csp*	*Ph*	Biomasa total media (g)	Proporción	Biomasa total media (g)
Bp	45,04	6,66	13,26	24,23	18,83	0,012 ± 0,003	84,97	10,61	0,00	0,00	15,67	0,009 ± 0,003	0,21	<0,001 ± <0,001
Pl	21,05	90,27	15,78	59,39	46,28	0,031 ± 0,007	9,42	83,68	25,66	39,17	18,50	0,021 ± 0,006	84,24	0,009 ± 0,002
Ps	14,50	3,07	42,04	11,03	24,31	0,008 ± 0,002	5,61	5,71	42,31	34,84	30,03	0,008 ± 0,003	15,44	0,001 ± <0,001
Csp	2,67	0,00	0,00	0,37	5,09	0,001 ±<0,001	0,00	0,00	0,00	13,84	3,27	0,001 ±<0,001	0,11	<0,001 ± <0,001
Ph	16,73	0,00	28,93	4,98	5,50	0,005 ± 0,002	0,00	0,00	32,03	12,15	32,53	0,004 ± 0,002	0,00	0,000 ± 0,000
Biomasa total media(g)	0,014 ±0,003	0,019 ±0,003	0,011 ±0,003	0,007 ±0,002	0,006 ±0,001	0,011 ± 0,003	0,010 ±0,004	0,018 ±0,004	0,007 ±0,002	0,005 ±0,002	0,006 ±0,002	0,009 ± 0,003	-	0,0021 ± 0,002
Riqueza (Nº de especies)	1,9 ±0,2	1,5 ±0,2	1,4 ±0,2	2,0 ±0,2	1,2 ±0,1	-	1,4 ±0,2	1,8 ±0,4	1,6 ±0,3	1,7 ±0,3	1,5 ±0,2	-	1,7 ± 0,2	
Diversidad (Nº de especies^{-1})	0,71 ±0,2	0,87 ±0,2	0,83 ±0,2	0,68 ±0,2	0,96 ±0,1	-	0,82 ±0,2	0,71 ±0,4	0,86 ±0,3	0,63 ±0,3	0,75 ±0,2	-	0,90 ± 0,04	
Producción (g.m^{-1}.día)	0,094 ±0,018	0,126 ±0,023	0,075 ±0,023	0,045 ±0,014	0,042 ±0,007		0,068 ±0,030	0,118 ±0,027	0,048 ±0,015	0,034 ±0,011	0,037 ±0,010		0,069 ± 0,014	

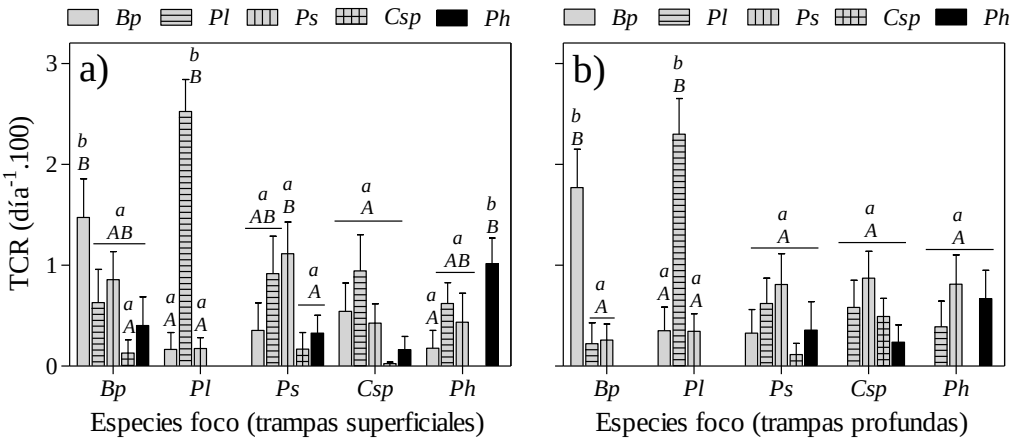

Figura 2.3. Tasa de crecimiento relativo (TCR) de las raíces de los pastos de acuerdo a las especies foco en: (a) trampas superficiales (de 5 cm a 11 cm de profundidad) y (b) trampas profundas (de 15 cm a 21 cm de profundidad) (valores medios ± error estándar, n= 10). Las especies foco y las especies vecinas en las trampas son: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *Csp*, *Carex* sp. y *Ph*, *Pappostipa humilis*. Las barras representan los valores medios de TCR de cada especie y las líneas representan los errores estándares. Las letras minúsculas indican comparaciones entre las TCR de una misma especie bajo las distintas especies foco. Las letras mayúsculas indican comparaciones entre las especies en una misma especie foco (P< 0,05).

En la porción aérea de la comunidad de graminoides, los vecindarios de cada especie foco fueron similares entre sí (Cuadro 2.2). En las zonas de influencia de *Bromus* y *Poa*, la biomasa de raíces de la especie foco estuvo negativamente correlacionada con la biomasa de especies vecinas dentro de las mismas trampas (R= -0,68, P< 0,001 y R= -0,69, P< 0,001, respectivamente). En las zonas de influencia de las demás especies, la biomasa de la especie foco y de las especies vecinas fueron independientes (R≈ 0). La regresión simple entre los valores medios de las raíces foco y de las raíces vecinas indicó que estos estaban fuerte y negativamente relacionados (r^2= 0,86, F= 18,6, P= 0,02, Figura 2.4).

Cuadro 2.2. Matriz de frecuencias de la presencia en la porción superficial de especies vecinas en relación a las especies foco (n= 20 por cada especie) y asociaciones entre la frecuencia de especies vecinas bajo las especies foco. Chi-cuadrado (χ^2) y valor de probabilidad (*P*). Las especies foco y las vecinas son: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *C*sp, *Carex* sp. y *Ph*, *Pappostipa humilis*.

	Frecuencia de especies vecinas					Asociaciones entre la frecuencia de las especies vecinas			
Especies foco	*Bp*	*Pl*	*Ps*	*Csp*	*Ph*	*Bp*	*Pl*	*Ps*	*Csp*
Bp	0,20	0,45	0,85	0,05	0,10	-	-	-	-
Pl	0,10	0,45	0,50	0,15	0,15	$\chi^2 = 0,43$ $P < 0,98$	-	-	-
Ps	0,00	0,18	0,45	0,00	0,15	$\chi^2 = 0,80$ $P < 0,94$	$\chi^2 = 0,43$ $P < 0,98$	-	-
Csp	0,10	0,35	0,73	0,10	0,10	$\chi^2 = 0,18$ $P < 0,99$	$\chi^2 = 0,15$ $P < 0,99$	$\chi^2 = 0,42$ $P < 0,98$	-
Ph	0,05	0,20	0,45	0,00	0,25	$\chi^2 = 1,21$ $P < 0,88$	$\chi^2 = 0,41$ $P < 0,98$	$\chi^2 = 0,09$ $P < 0,99$	$\chi^2 = 0,42$ $P < 0,98$

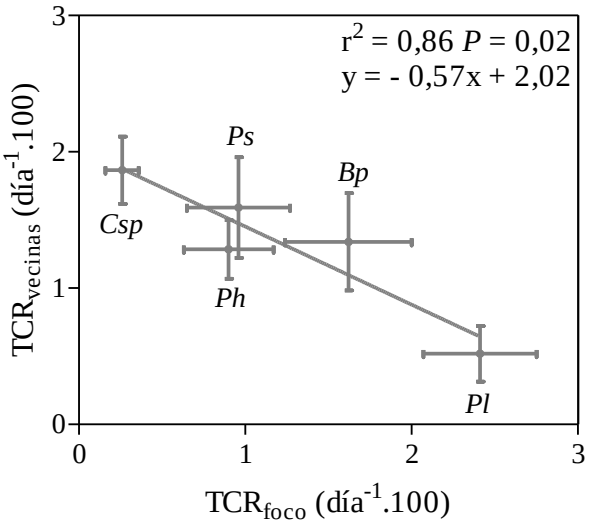

Figura 2.4. Relación entre la tasa de crecimiento relativo de raíces vecinas ($TCR_{vecinas}$) y las tasas de crecimiento relativas de especies foco (TCR_{foco}). La biomasa de raíces de especies vecinas se agrupó antes de hacer los cálculos. Las especies son: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *Csp*, *Carex* sp. y *Ph*, *Pappostipa humilis*. Cada punto representa el valor medio y las líneas los errores estándar de ambas variables (n= 20 por cada especie). La línea que conecta los puntos representa el Modelo Ajustado de los datos.

2.4. DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio aportan evidencias que sustentan la segunda hipótesis propuesta. Los individuos de distintas especies no tienen un uso exclusivo del centro de su zona de influencia y tienen distinta capacidad de invadir la zona de influencia de sus vecinos. En general, durante el período estudiado la zona de influencia fue colonizada por las raíces finas de las especies vecinas (entre 1 y 3 especies, además de la especie foco). La especie que tuvo la mayor producción de raíces fue *Poa*, seguida por *Bromus*. Ambas especies fueron descriptas como mesofíticas por su crecimiento rápido (Leva et al. 2009, Couso y Fernández 2012). En la zona de influencia de ambas especies, el número y la biomasa de especies vecinas fueron bajos. Especialmente en el caso de *Poa*, donde las especies vecinas explicaban sólo el 10% y el 16% de la biomasa en sus trampas superficiales y profundas, respectivamente. La zona de influencia de *Carex* representa el otro extremo, ya que el 93% de la biomasa que contuvieron las trampas correspondía a especies vecinas. Mis resultados representan un aporte al conocimiento de cómo es la estructura de la zona de influencia de las especies de ecosistemas semiáridos en condiciones realistas de campo.

La riqueza y la diversidad fueron similares en el centro de la zona de influencia de las cinco especies estudiadas y en las dos profundidades. La presencia de raíces de varias especies en el mismo volumen de suelo sugiere que el solapamiento de raíces juega un papel fundamental en la coexistencia de las especies de pastos en esta estepa. Frank et al. (2010) llegaron a las mismas conclusiones en un pastizal de Norte América, pero usando la riqueza como indicador ya que no pudieron calcular la biomasa específica mediante la técnica molecular que usaron como método para identificar especies. La identificación de las especies por las características de sus raíces es una

forma rápida y precisa para superar el obstáculo que representa identificar raíces, con una precisión similar a la de métodos moleculares y con la posibilidad de estimar la biomasa de las especies (ver Apéndice).

El patrón de solapamiento cambia nuestra perspectiva sobre la estructura subterránea de los pastizales de semidesiertos y representa evidencias en contra del arquetipo de territorialidad (Mahall y Callaway 1991, Schenk et al. 1999, Armas y Pugnaire 2011a). A pesar del conocimiento general de que a medida que crece la distancia a una planta foco la probabilidad del uso exclusivo del suelo disminuye (Casper et al. 2003), mis resultados representan evidencias de que incluso bajo la planta foco no hay una ocupación exclusiva del espacio. Además, la riqueza y la diversidad de raíces nuevas fueron similares en el centro de las zonas de influencia y bajo áreas de suelo desnudo, a más de 15 cm de distancia del próximo individuo. Esto podría indicar una falta de correlación entre la estructura aérea y la subterránea de las especies graminoides (Oñatibia 2013). La ausencia de segregación de los sistemas radicales plantea nuevas preguntas sobre el solapamiento en el tiempo y sobre la competencia entre especies fuertemente limitadas por los recursos del suelo.

A pesar de que no hubo diferencias en la riqueza y la diversidad en las zonas de influencia de las distintas especies, la producción de raíces y las TCR estimadas para las especies estudiadas fueron distintas. *Poa*, la especie mesofítica con las mayores TCR subterráneas detectadas en este experimento, fue la que tuvo la mayor ocupación de suelo bajo su canopeo y la menor colonización por raíces de vecinos. Es decir que presentó mayor territorialidad. *Bromus*, también mesofítica, mostró un nivel de territorialidad menor al de *Poa*. Las altas tasas de crecimiento de raíces de las especies mesofíticas y la baja invasión por raíces de las especies vecinas podrían ser la causa de la mayor habilidad competitiva estimada para estas dos especies (Graff 2009). Aunque al ser defoliadas esta habilidad se equipara con la de las otras especies xerofíticas, menos preferidas por el ganado (Graff y Aguiar 2011). Tilman (1990) sugiere que los compromisos en la asignación de recursos en una especie determinan que tanto una alta TCR radical o la utilización eficiente de nutrientes resulten en una alta habilidad competitiva por los nutrientes. Estos resultados indican que los pastos perennes de la Patagonia colonizan el suelo libre de raíces, tanto en la zona de influencia máxima de un individuo o bajo un parche de suelo desnudo. Incluso las raíces finas de diversas especies pueden crecer en la zona de influencia de una especie con alta TCR (como *Poa*) aunque en menor medida que en la zona de influencia de especies con baja TCR, como las especies xerofíticas (Capítulo I). Mis resultados apoyan la idea de que los mecanismos de detección de vecinos (i.e. los exudados radicales solubles, los compuestos volátiles orgánicos) no son tan importantes en esta estepa como fue sugerido en una revisión global reciente (Pierik et al. 2012).

La dominancia aérea y subterránea de *P. speciosa* en el sitio de estudio no se reflejaron en este estudio. En general, esta especie es dominante en el canopeo de las estepas clausuradas como en las que son pastoreadas, duplicando la biomasa y la cobertura aéreas de *Poa*. En un estudio realizado en el mismo sitio de estudio, en los primeros 20 cm de profundidad en estepas pastoreadas y no pastoreadas, se detectó más biomasa radical de *P. speciosa* que de *Poa* (43 $g.m^{-2}$ *vs* 24 $g.m^{-2}$ respectivamente) y fue la especie dominante en todas las muestras (Oñatibia 2013). Posiblemente, esta dominancia no fue capturada por el estudio debido a las bajas TCR de la especie xerofítica y a que este experimento duró solo 4 meses. Además, los muestreos de suelo realizados por Oñatibia (2013) con barrenos probablemente incluyan raíces nuevas y viejas de varios años en un mismo volumen de suelo. Adicionalmente, el pastoreo se considera como un disturbio común en las estepas y que puede cambiar la composición

y la diversidad de las zonas de influencia. Los individuos de especies mesofíticas (como *Bromus* y *Poa*) son pastoreados selectivamente, con lo que se reduce su crecimiento y su habilidad competitiva (Graff et al. 2007, Graff y Aguiar 2011). De este modo, bajo pastoreo, las TCR serán significativamente mayores y el grado de ocupación de sus zonas de influencia serán reducidas. En otras palabras, esperaría que la comunidad pastoreada tenga un patrón diferente de composición de la biomasa de raíces finas en las zonas de influencia de las especies (experimento no realizado).

La correlación negativa entre la biomasa radical de especies con altas TCR y la de especies vecinas podría indicar en qué medida una especie usó su zona de influencia. Dicho de otra forma, la TCR radical de una especie es un buen predictor del grado de invasión por vecinos. Sin embargo, sin la posibilidad de identificar a las raíces por sus especies, esta variable es difícil de estimar. Probablemente la dificultad de reconocer a las especies por sus raíces es la causa por la cual muchos experimentos que estudian la distribución y la colonización de raíces fueron realizados en macetas (de Kroon et al. 2012). A pesar de eso, muchos de ellos representan una gran contribución al conocimiento (McConnaughay y Bazzaz 1991, McConnaughay y Bazzaz 1992, Fransen et al. 2001, Cahill et al. 2010, Armas y Pugnaire 2011a, Pierik et al. 2012). Sin embargo, debe considerarse que los resultados de los experimentos realizados en macetas están muy influenciados por el tamaño de las macetas y que usar macetas pequeñas, por ejemplo, puede cambiar la aproximación a los mecanismos estudiados (Poorter et al. 2012). Por su parte, los experimentos desarrollados en condiciones naturales y de campo nos permiten alcanzar un mejor entendimiento de cómo funciona realmente el mecanismo de colonización por raíces (Hodge 2004). El presente estudio da sustento y brinda evidencia para complementar el modelo exponencial negativo de zonas de influencia de Casper et al. (2003), obtenido con nutrientes marcados. La probabilidad de que un punto en el espacio esté localizado dentro del área donde una planta obtiene sus recursos, no solo depende de la distancia a la base aérea de la planta y de la biomasa de las raíces que colonizan el suelo, sino también de la relación entre las tasas de crecimiento de las especies foco y de las especies vecinas.

Recientemente, las investigaciones sobre la ecología de las raíces han estado orientadas a entender los procesos, en lugar de identificar los patrones, fundamentalmente debido a la dificultad de identificar las raíces. El concepto de zonas de influencia es una pieza clave para entender el funcionamiento de la comunidad subterránea e incluye a ambos componentes, patrones y procesos. Bajo el supuesto de que las plantas son territoriales, expandir el estudio de las zonas de influencia mediante el uso de marcadores isotópicos proporcionará un mayor conocimiento de las interacciones entre las plantas en la comunidad de las estepas semiáridas. A pesar de eso, en un escenario de superposición de raíces, es necesario complementar los estudios isotópicos con el conocimiento de la distribución específica de la biomasa de raíces ante distinta disponibilidad de nutrientes. Mi trabajo no descarta la existencia de mecanismos de detección de vecinos, pero indica que los pastos solapan sus raíces incluso en el centro de las zonas de influencia. Estos resultados arrojan nueva luz sobre cómo la coexistencia podría ser explicada por la respuesta a la presencia de nutrientes y su absorción, más que por los mecanismos de detección de vecinos.

Capítulo III

Proliferación de raíces de pastos bajo suelo desnudo y con distinta disponibilidad de nitrógeno

3.1. INTRODUCCIÓN

En un ambiente natural, las plantas foco y sus vecinas interaccionan por encima y por debajo de la superficie, comparten el espacio e influyen unas sobre otras en la ocupación del suelo y en la utilización de los recursos (Caldwell et al. 1987, McConnaughay y Bazzaz 1992, Cahill et al. 2010). La influencia bajo el dosel de una planta foco (zona de influencia máxima) estaría determinada por las tasas de crecimiento, las habilidades competitivas de las especies y también por la disponibilidad de recursos, entre otros factores. Mis resultados presentados en el capítulo anterior indican que las raíces de diferentes especies pueden ocupar un parche de suelo desnudo, donde ningún individuo pareciera influir sobre la porción superficial (zona de influencia mínima). En general no queda claro cuáles son los mecanismos que determinan la distribución de las raíces. Aún cuando la influencia aérea de los vecinos sea mínima, las raíces de los distintos individuos continúan influyendo unas sobre otras (Casper et al. 2003), ya que aparentemente en la porción subterránea no presentan el mismo aislamiento que en la superficie. Se ha propuesto que las raíces de distintas especies se solapan gracias a que sus raíces se extienden más ampliamente de forma lateral que lo que se extiende su canopeo en la superficie, como en el caso de las hierbas y los pastos (Pecháčková et al. 1999, Schenk y Jackson 2002, Casper et al. 2003).

Las raíces representan estructuras dinámicas que se desarrollan en un ambiente también dinámico en cuanto a la distribución y la disponibilidad de recursos. Tanto el agua como los nutrientes se distribuyen heterogéneamente en el suelo y las raíces al mismo tiempo exploran el suelo en su búsqueda (Hutchings y de Kroon 1994, Hodge 2004). Se ha propuesto que el solapamiento de las raíces de diferentes especies se incrementa en aquellos micrositios que tienen una mayor disponibilidad de nutrientes (Casper et al. 2003, de Kroon et al. 2003) ya que la mayor disponibilidad reduciría la intensidad de la competencia y diferentes especies podrían ocupar el mismo volumen de suelo (Pecháčková et al. 2004, von Felten et al. 2009). Es decir que el contenido de recursos de un micrositio particular determina la riqueza específica que se encuentra en él. Algunos estudios recientes (como el del Capítulo II) han propuesto que el solapamiento de los sistemas radicales parece ser el patrón de distribución de raíces de herbáceas en condiciones naturales (de Kroon y Mommer 2006, Frank et al. 2010, de Kroon et al. 2012), pero aún no se ha relacionado ese patrón con la diversidad subterránea, por las limitaciones de su técnica de identificación de las raíces por su especie (presencia-ausencia).

Mommer et al. (2012) detectaron que las respuestas a la distribución de nutrientes en un ambiente competitivo (dos individuos creciendo en una maceta) dependen de cuán competitiva sea cada especie. En condiciones naturales y multiespecíficas, las raíces están expuestas a múltiples señales del ambiente, además de la distribución heterogénea de los nutrientes en el suelo y de la presencia de raíces de plantas vecinas (Cahill et al. 2010). En el Capítulo II demostré que, en estas condiciones, cuanto más alta es la tasa de crecimiento radical de una especie menor va a ser la invasión de su zona de influencia por especies vecinas bajo su canopeo. No

obstante, se desconoce cómo responderán las raíces de especies con distintas tasas de crecimiento a la presencia de un parche rico en nutrientes en condiciones multiespecíficas y en una zona de influencia mínima (parche de suelo sin cobertura). La falta de información sobre la distribución espacial de la biomasa de raíces es consecuencia de la dificultad de distinguir raíces por especie y conduce a inferir que la presencia aérea de una especie es un indicador de su presencia subterránea (de Kroon et al. 2012). Esta inferencia puede llevar a cometer errores como el de subestimar la diversidad de una comunidad de raíces que se disponen bajo un parche de suelo desnudo donde las especies vecinas se encuentran más o menos alejadas. Las inferencias podrían ser más erróneas aún cuando en el suelo hay una distribución heterogénea de recursos.

El objetivo de este capítulo fue explorar los mecanismos de solapamiento y de colonización de raíces en condiciones de competencia multiespecífica, en zonas de influencia mínima y ante la heterogeneidad microambiental de nutrientes. Se planteó la hipótesis de que el solapamiento de raíces de pastos está explicado por una alta disponibilidad de nutrientes que permitiría la coexistencia de un mayor número de especies. El resultado previsto es que en los micrositios con agregado de nitrógeno haya una mayor riqueza y diversidad de raíces que en los micrositios sin agregado. Para contrastar la hipótesis se realizó un experimento a campo que permitió determinar la respuesta de la comunidad de raíces al agregado de nitrógeno en una estepa semiárida.

3.2. MÉTODOS

3.2.1. DISEÑO DEL EXPERIMENTO

En la clausura al pastoreo se estudió el control que ejerce la fertilidad de los micrositios (o micro volumen de suelo) sobre la colonización de las raíces de pastos. Se utilizaron trampas de raíces al igual que en el capítulo anterior. Las trampas de raíces fueron enterradas en áreas de suelo desnudo rodeadas por individuos de al menos tres especies de graminoides, *Bromus*, *Poa*, *P. speciosa*, *Carex* y/o *P. humilis*, que se encontraban a más de 15 cm de distancia (Figura 3.1). Las áreas donde se enterraron las trampas estaban separadas al menos por 1 m de distancia entre sí. Se realizó un diseño en bloques al azar para que la proliferación y la composición de raíces en las trampas no estén determinadas por las posibles diferencias de la vecindad aérea y para que reflejen fehacientemente el efecto de los sustratos sobre las tasas de crecimiento. Los sustratos con los que se rellenaron las trampas fueron: suelo del lugar tamizado, libre de piedras y raíces (control, C) y suelo tamizado con 4 $gN.m^{-2}$ (N+). El nitrógeno se agregó en forma de nitrato de amonio granulado y en una concentración que representa el doble del N que se mineraliza anualmente en el sitio de estudio, en promedio (Austin et al. 2006). Se realizó un diseño factorial, con dos factores, sustrato y tiempo de colonización y 10 repeticiones. Los tiempos de colonización fueron 4 y 6 meses desde el enterrado de las trampas (junio de 2011). El experimento terminó en diciembre.

Las trampas de raíces se colocaron con el mismo procedimiento que el explicado en el Capítulo II y se enterraron en el rango de profundidad de 5 cm a 11 cm. Las raíces se separaron por especie en el laboratorio con la clave de identificación por características morfológicas (Leva et al. 2009), se secaron en estufa a 70ºC durante 48 horas y se pesaron en una balanza de precisión. Se caracterizó el efecto del sustrato y del tiempo de colonización sobre la riqueza, la diversidad (1/Índice de Simpson) y la

biomasa total y específica de los pastos a partir de las raíces encontradas en cada trampa. Los tiempos de cosecha fueron a los 120 y 180 días, para abarcar los periodos en los que las raíces tienen un crecimiento bajo y comienzan a aumentar las tasas de crecimiento (de junio a septiembre) y el periodo en el que el crecimiento de las raíces es máximo (de octubre a diciembre), luego de ese período tiende a disminuir por la decreciente disponibilidad de agua en el suelo (de enero a mayo). Se calcularon las tasas de crecimiento relativas (TCR) de las raíces encontradas dentro de las trampas (ver Capítulo II).

Figura 3.1. Foto de un micrositio de suelo desnudo donde fue enterrada una de las trampas de raíces. En este caso el micrositio estaba rodeado por individuos de *Bromus pictus* y *Pappostipa speciosa* que se encontraban a más de 15 cm de distancia.

3.2.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Se comparó el efecto de los bloques y de los factores, sustrato y tiempo de colonización, sobre la comunidad de raíces mediante ANOVA, usando riqueza, diversidad y biomasa total (expresada como producción de raíces) como variables respuesta. El efecto de los factores sobre las especies se comparó mediante MANOVA (porque la presencia de las especies dentro de las trampas no era independiente), usando la biomasa específica (expresada como TCR) como variable respuesta. Previamente se probaron los supuestos de homogeneidad de varianzas y normalidad de los residuales. Las variables fueron transformadas como $X` = Log\ (X + 1)$ o $X' = X^{1/2}$ cuando no se cumplieron los supuestos de homogeneidad. Se usó un test no paramétrico (Kruskal Wallis) cuando la distribución de los residuales no fue normal. Cuando el efecto del tratamiento fue significativo ($P < 0,05$), se aplicó un test a posteriori (Tukey) para identificar los grupos homogéneos.

3.3. RESULTADOS

Las raíces finas de pastos colonizaron el 100% de las trampas en ambas cosechas. No hubo efecto de los bloques sobre ninguna de las variables respuesta. No hubo interacción entre factores (sustrato y tiempo) para la variable riqueza ($P = 0,11$), pero fue

significativa y positiva para las variables diversidad y producción de raíces (ambas *P*= 0,01). Luego de 4 meses de colonización, la riqueza y la diversidad fueron mayores en las trampas N+ que en las trampas C (ambas *P*< 0,01, letras minúsculas, Figura 3.2a). A los 6 meses, la riqueza y la diversidad fueron similares en los distintos sustratos estudiados (*P*= 0,34 y *P* = 0,83, respectivamente). En las trampas C, la riqueza y la diversidad fueron mayores a los 6 meses que a los 4 meses (ambos *P*< 0,01, letras mayúsculas, Figura 3.2b), mientras que en las trampas N+ la riqueza y la diversidad fueron similares en ambas cosechas (*P*= 0,48 *y P*= 0,36). Esto puso en evidencia un retraso de la proliferación de raíces en las trampas C en relación a las trampas N+.

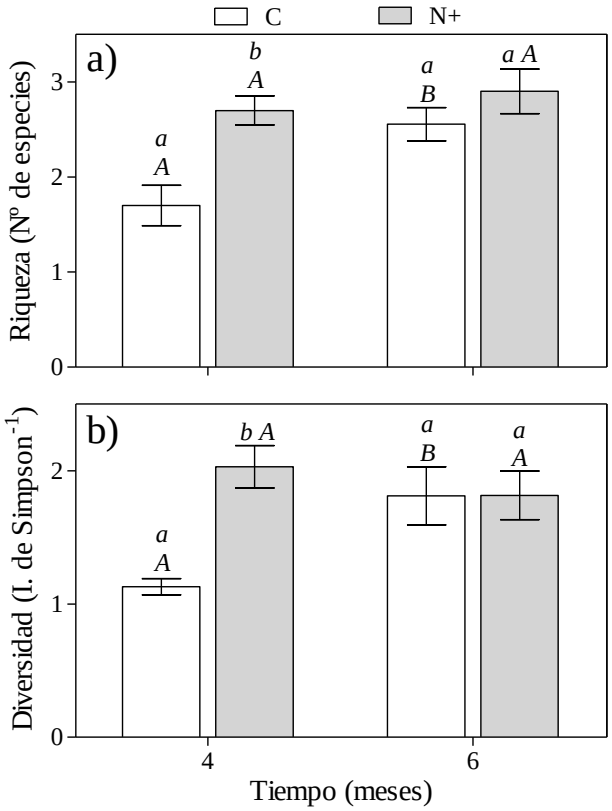

Figura 3.2. Riqueza (a) y diversidad (b) dentro de las trampas de raíces con agregado de distintos sustratos, a los 4 y 6 meses. Los sustratos son: C, suelo; N+, suelo + 4 $gN.m^{-2}$. Las barras indican valores medios y las líneas los errores estándar. Las letras minúsculas sobre las barras representan diferencias significativas entre los sustratos dentro de cada tiempo de cosecha. Las letras mayúsculas representan diferencias entre los tiempos de cosecha para un mismo sustrato.

La producción de raíces dentro de las trampas fue distinta en los sustratos y en el tiempo. A los 4 meses, la producción de raíces fue similar en las trampas C y N+ (*P*= 0,27, letras minúsculas, Figura 3.3). A los 6 meses, la producción de raíces fue mayor en las trampas N+ (*P*= 0,02). En las trampas N+ la producción fue mayor a los 6 meses que a los 4 meses (*P*< 0,001, letras minúsculas, Figura 3.3) y fue similar en las trampas C (*P*= 0,06).

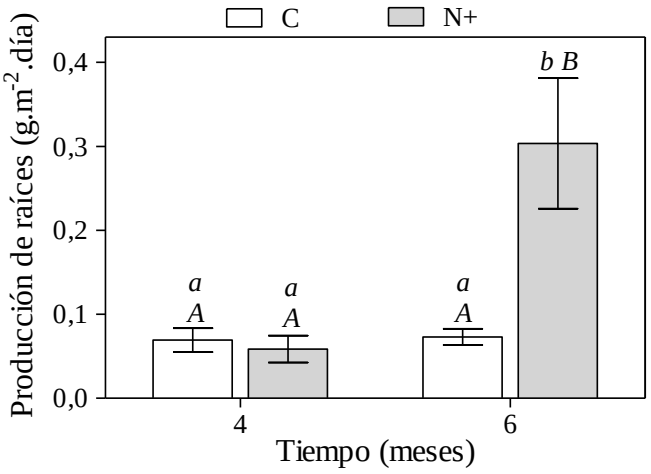

Figura 3.3. Producción de raíces dentro de las trampas de raíces con agregado de distintos sustratos, a los 4 y 6 meses. Los sustratos son: C, suelo; N+, suelo + 4 $gN.m^{-2}$. Las barras indican valores medios y las líneas los errores estándar. Las letras minúsculas sobre las barras representan diferencias significativas entre los sustratos dentro de cada tiempo de cosecha. Las letras mayúsculas representan diferencias entre los tiempos de cosecha para un mismo sustrato.

La biomasa específica de los pastos que colonizaron las trampas fue distinta según el sustrato ($P< 0,05$). *Bromus*, *Poa* y *P. speciosa* fueron las especies más frecuentes en las trampas y en general tuvieron las TCR más altas de la comunidad de pastos, mientras que *Carex* y *P. humilis* fueron raras o ausentes, en ambas cosechas. Las TCR de *Bromus* eran mayores en las trampas con N+, a los 4 meses ($P< 0,01$, letras minúsculas, Figura 3.4), mientras que eran similares a los 6 meses ($P= 0,22$). Las TCR de *Poa* eran mayores en las trampas control que en las trampas N+, a los 4 meses ($P< 0,001$, letras minúsculas, Figura 3.4), mientras que eran similares a los 6 meses ($P= 0,99$). Las TCR de *P. speciosa* fueron más altas en las trampas N+ que en las control a los 4 y 6 meses (ambos $P< 0,01$). Solo *Bromus* tuvo TCR diferentes en el tiempo. En las trampas C, *Bromus* presentó TCR más altas a los 6 meses que a los 4 meses ($P< 0,001$, letras mayúsculas, Figura 3.4).

Al comparar las TCR entre especies para cada sustrato no se detectaron diferencias entre las tasas de las tres especies más frecuentes ($P> 0,05$). Excepto en las trampas C, donde las tasas de *Bromus* fueron menores a las de *P. speciosa* y las tasas de *Poa* eran intermedias tanto a los 4 como a los 6 meses ($P< 0,001$ y $P= 0,01$, respectivamente).

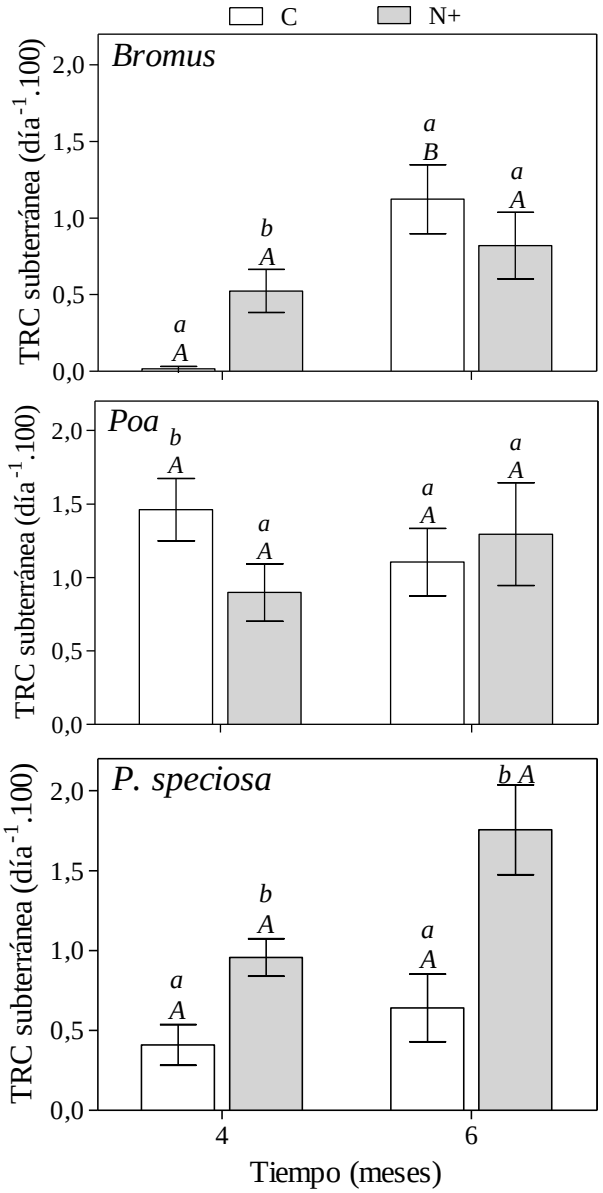

Figura 3.4. Tasas de crecimiento relativo (TCR) subterráneas de las especies encontradas dentro de las trampas de raíces con agregado de distintos sustratos, a los 4 y 6 meses. Las especies son: *Bromus pictus*, *Poa ligularis* y *Pappostipa speciosa*. Los sustratos son: C, suelo; N+, suelo + 4 $gN.m^{-2}$. Las barras indican valores medios y las líneas los errores estándar. Las letras minúsculas sobre las barras representan diferencias significativas entre los sustratos dentro de cada tiempo de cosecha. Las letras mayúsculas representan diferencias entre los tiempos de cosecha para un mismo sustrato.

3.4. DISCUSIÓN

Distintos autores, basados en estudios en condiciones controladas, propusieron que la competencia entre especies (y algunos mencionaron también el solapamiento de las raíces) aumenta en presencia de parches ricos en nutrientes (Hutchings y de Kroon 1994, Robinson et al. 1999, Fransen et al. 2001, Casper et al. 2003, Cahill et al. 2010, Rajaniemi 2011). El objetivo general de este capítulo fue poner a prueba esta idea para las condiciones naturales de una comunidad esteparia. Pero además me interesaba explorar si las diferencias específicas en las estrategias de crecimiento, de las principales graminoides de esta comunidad patagónica, diferían en la proliferación de sus raíces ante la heterogeneidad de nutrientes en el suelo. Los resultados del experimento sugieren que la respuesta de la comunidad de pastos y de las especies al agregado de N no fue constante en el tiempo (de los 4 a los 6 meses). Es decir, que no hay sustento experimental para aceptar la hipótesis que proponía que el solapamiento de raíces de pastos (mayor riqueza y diversidad) aumenta con una alta disponibilidad de nutrientes en un micrositio. Tanto en los micrositios control como en los micrositios fertilizados con agregado de N hubo crecimiento concurrente de distintas especies. La respuesta de las especies al agregado de N en cuanto a la riqueza y la diversidad no siguió un patrón claro y, en general, las diferencias encontradas entre sustratos presentes a los 4 meses ya no se detectaron a los 6 meses.

El estudio de las vecindades aéreas presentado en el capítulo anterior indica que la vecindad aérea y la composición subterránea son independientes. Incluso, el hecho de que no hubiera efecto bloque sobre las variables radicales de la comunidad ni en los parámetros específicos, podría indicar que las posibles diferencias en la vecindad aérea no influyen en el solapamiento de raíces. Por esta razón interpreto que las diferencias significativas de la riqueza y la diversidad detectadas en el corto plazo (primera cosecha) ocurrieron en respuesta al agregado de N. Sin embargo, dichas diferencias no se mantuvieron en el tiempo (segunda cosecha). En cuanto a la producción de raíces, la respuesta fue diferente. La producción de raíces fue de 5 a 10 veces más alta en los sustratos con N en la segunda cosecha que en la primera indicando que el crecimiento de las raíces está limitado por N. Si bien hubo un aumento de la producción de raíces, la riqueza y la diversidad fueron similares en los sustratos en la segunda cosecha, por lo que no puede aceptarse que hubo un aumento del solapamiento.

El aumento de la producción de raíces en trampas con agregado de N a los 6 meses aparentemente estuvo explicado por el aumento de las TCR de *P. speciosa*. Probablemente también hubo un efecto de la biomasa de las demás especies sobre la producción en esas trampas, aunque las TCR de las especies más frecuentes fueron similares entre sustratos, en esa cosecha. Se ha propuesto que no todas las especies responden del mismo modo ante la presencia de un micrositio rico en nutrientes (Hutchings y de Kroon 1994, Hodge 2009, Mommer et al. 2011). En el sitio de estudio *P. speciosa* es la especie dominante de la porción aérea, sin embargo en las trampas control su dominancia subterránea no se evidenció en ninguna de las cosechas, ni tampoco en las trampas con agregado de N. Este resultado puede relacionarse con las bajas tasas de crecimiento descriptas para la especie (Leva et al. 2009) y el tiempo relativamente corto que duró el experimento. Los resultados de algunos estudios sugieren que en ambientes limitados por los recursos del suelo, las especies con tasas de crecimiento bajas utilizan mayores proporciones de recursos ante un pulso corto e impredecible de nutrientes, en relación a especies de crecimiento rápido, probablemente porque las especies de crecimiento lento son más conservativas en el uso de nutrientes (Hutchings y de Kroon 1994).

En estepas patagónicas del NE de Chubut, Rodríguez et al. (2007) detectaron que las tasas de crecimiento de las raíces finas de pastos se incrementan durante los meses de invierno y primavera (de junio a diciembre), que coinciden con los meses en los que estuvieron enterradas las trampas. Se puede suponer que durante esos meses predominó la producción de raíces y no la mortalidad y que por lo tanto la descomposición fue baja. Este supuesto queda respaldado por la producción de raíces que es similar a los 4 y los 6 meses en el tratamiento control, aunque aumenta a los 6 meses en el tratamiento con agregado de N. Esto indicaría que mientras la disponibilidad de agua no ha sido limitante sí lo fue el N. Explorar el mecanismo de proliferación de raíces en plazos que exceden los 6 meses podría incluir el efecto de la mortalidad y por lo tanto la descomposición dentro de las trampas. Esto fue explorado en el estudio de mayor plazo presentado en el capítulo siguiente.

El experimento presentado en este capítulo avanza en la comprensión de los mecanismos y controles de la organización de la comunidad de raíces en el suelo. El estudio permitió detectar la respuesta de la comunidad natural de pastos en condiciones de competencia frente a la aparición de un parche de fertilidad. Estos pulsos locales podrían derivar de las heces de un herbívoro o la muerte de una planta y su sucesiva descomposición. Este estudio de campo indica que las raíces de las especies que conforman la comunidad de pastos de la estepa estudiada se solapan en el mismo micro-volumen de suelo, independientemente de la disponibilidad de N. Estos resultados concuerdan con la independencia entre la proliferación de raíces y la alta disponibilidad de nutrientes que proponen de Kroon et al. (2012) en su revisión sobre las respuestas de las raíces a los nutrientes y la biota del suelo. La disponibilidad de nutrientes parece tener un papel menor en el solapamiento de las raíces del sitio de estudio. Algunos estudios demostraron que las raíces de las especies que coexisten tienden a agregarse donde los recursos son más abundantes (Hutchings y de Kroon 1994, Rajaniemi 2011, García-Palacios et al. 2013). Sin embargo, los resultados del presente estudio mostraron que la agregación de especies no se ve reflejada de forma constante en el tiempo y solo se evidenció una mayor producción de raíces. En el siguiente capítulo se presenta la dinámica de mayor plazo en la que coexisten los procesos de crecimiento y descomposición de raíces.

Capítulo IV

Estrategias de crecimiento y explotación del suelo. Precisión y extensión de forrajeo de nutrientes

4.1. INTRODUCCIÓN

Este capítulo amplía la escala temporal de uso del suelo por las raíces a más de un año. La proliferación de raíces es un proceso que contribuye a la exploración del suelo y por lo tanto resulta en un aumento de la superficie de absorción de nutrientes (Hutchings y de Kroon 1994, White et al. 2013). Un elevado número de especies proliferan sus raíces en parches con alta disponibilidad de nutrientes (Robinson et al. 1999, Hodge 2004, Kembel y Cahill 2005), hecho que probablemente les permite incrementar su absorción y, por consiguiente, su crecimiento. Se ha propuesto que para competir por un parche efímero de nutrientes sería beneficiosa una exploración diferencial del mismo. Mediante la proliferación densa o rápida de raíces en puntos ricos en nutrientes, una especie podría adelantarse a otras y asegurarse la utilización plena de los mismos (de Kroon et al. 2003). Las especies con este síndrome poseerían mayor habilidad competitiva subterránea (Hodge 2004) en relación a las especies que no responden de manera diferencial a la heterogeneidad de nutrientes o que presentan un crecimiento lento, independientemente de la presencia de un punto rico en recursos (McNaughton et al. 1998, Schwinning y Weiner 1998, Fransen et al. 1999, Robinson et al. 1999, de Kroon et al. 2003). Este proceso de exploración y utilización del suelo por las raíces también se ha denominado forrajeo (Bray 1954).

En un ecosistema caracterizado por la competencia por los recursos del suelo las estrategias que favorecen el forrajeo de una especie son: i. la extensión espacial sobre la cual las plantas forrajean, ii. la disposición selectiva de raíces en los parches de nutrientes (precisión), y iii. las tasas de crecimiento (de Kroon y Mommer 2006). Por un lado, la extensión (Cahill y Casper 2000), originalmente llamada “scale” por Campbell et al. (1991), representa la densidad radical total de un individuo o más precisamente la superficie de raíces que desarrolla en respuesta a un punto rico en nutrientes. Por otro lado, a la precisión, originalmente llamada “precision” (Campbell et al. 1991), se la define a partir de la relación entre la biomasa que desarrolla un individuo en un micrositio con alta concentración de N (u otro nutriente esencial) en relación a la que desarrolla en un micrositio pobre (Campbell et al. 1991, Fransen et al. 1998, Einsmann et al. 1999, Farley & Fitter 1999, Robinson et al. 1999). En cambio, las tasas de crecimiento se miden tanto en condiciones naturales, sin agregado de nutrientes, como en parches fertilizados y representan un atributo que puede predecir la capacidad de una especie de responder ante un pulso de nutrientes (Rajaniemi y Reynolds 2004). Una de las hipótesis más influyentes para explicar la variación específica en el forrajeo por raíces es la propuesta por Campbell et al. (1991), que establece que hay un compromiso entre la extensión del sistema radical con el cual las especies forrajean recursos y la precisión con la que son capaces de proliferar en aquellos puntos con una disponibilidad más alta de recursos. En general, las especies dominantes tenderían a maximizar la extensión de sus sistemas radicales y a capturar gran parte de los recursos del suelo. Por su parte, las especies raras maximizarían la precisión de la superficie radical en los parches ricos en nutrientes que se encuentran en los intersticios entre las zonas de agotamiento generadas por las especies dominantes. Esta diferenciación contribuye a

mantener una alta diversidad en la comunidad (Campbell et al. 1991). Sin embargo, el apoyo empírico para esta hipótesis de compromiso entre las dos estrategias ha sido diverso. Se ha reportado que la extensión y la precisión están fuertemente correlacionadas, tanto positiva (Farley y Fitter 1999, Rajaniemi y Reynolds 2004) como negativamente (Wijesinghe et al. 2001, Campbell et al. 1991), e incluso que están débilmente correlacionadas o que son independientes (Einsmann et al. 1999, Johnson y Biondini 2001, Bliss et al. 2002, Grime y Mackey 2002).

La evidencia empírica contradictoria podría deberse a que numerosos estudios han estimado la extensión y la precisión a partir de distintos caracteres morfológicos, usando diferente número de especies y de diversas formas de vida, aplicando diferentes condiciones experimentales y métodos para estimar ambas estrategias (Kembel et al. 2008). Por ejemplo, Campbell et al. (1991) originalmente usaron la dominancia específica en las comunidades artificiales como una medida de la extensión de forrajeo. En estudios posteriores como el de Grime y Mackey (2002) definieron extensión como el tamaño o la biomasa del sistema radical. La variación en la proliferación radical (extensión y precisión) entre especies podría explicarse por las tasas de crecimiento y por los atributos ecofisiológicos radicales y foliares relacionados (Fransen et al. 1999, Tjoelker et al. 2005, Kembel et al. 2008), en lugar de explicarse la extensión y la precisión una a través de la otra.

La tasa de crecimiento también cumple un papel relevante, pues las especies de crecimiento rápido podrían ocupar los parches con alta disponibilidad de nutrientes más velozmente que las especies de crecimiento lento (Berendse et al. 2007). Por ende, la mayor fuente de variación de la precisión de forrajeo se debería a las diferencias en las tasas de crecimiento (Kembel et al. 2008). Fransen et al. (1999) detectó que las especies más precisas en el forrajeo de nutrientes son las especies de crecimiento rápido. Comprender cuál es el patrón de respuesta de la comunidad de raíces ante los parches ricos en nutrientes constituye un tema de creciente interés para los ecólogos. Sin embargo, la mayoría de los trabajos estudiaron este patrón evaluando la respuesta de un individuo ante un parche rico generado en una maceta, en lugar de estudiar la respuesta de una comunidad natural en condiciones de competencia entre varias especies (Bliss et al. 2002). Los estudios en macetas maximizan el control de las variables activas pero en condiciones poco realistas, no solo porque no trabajan en condiciones de campo sino que también porque son de cortísima duración (unos pocos meses). Los estudios en plazos prolongados permiten caracterizar otros procesos que determinan la fertilidad local, tales como la colonización de especies con diversas tasas de crecimiento y la descomposición de raíces. Estas limitaciones determinan que, en la actualidad, nuestra comprensión de la forma en que se ve afectada la estructura de la comunidad por los mecanismos de forrajeo se mantiene en una etapa especulativa (Kembel et al. 2008).

Estudiar la dinámica subterránea de la comunidad implica ampliar los plazos de estudio de manera de poder incluir estimaciones de la producción, la senescencia y la descomposición de raíces de las diferentes especies. En sistemas limitados por agua todos estos procesos son clave para comprender la dinámica del C y el N en los ecosistemas ([Van Vuuren et al. 1993, Brevedan et al. 1996] en van der Krift y Berendse 2002). La longevidad de las raíces está fuertemente determinada por una serie de factores, incluyendo la estacionalidad, la asignación de recursos y la disponibilidad de nutrientes en el suelo (Eissenstat y Yanai 1997). Hay evidencias que sugieren que la longevidad de las raíces finas es baja cuanto más bajos son los diámetros radicales (Gordon y Jackson 2000, van der Krift y Berendse 2002) y que disminuye a medida que aumenta el contenido de N en las raíces (Hendricks et al. 1993). Probablemente, la disminución en el diámetro de las raíces con el tiempo es una consecuencia de la muerte

de las células de la corteza radical, que podría determinar una pérdida de nutrientes en la planta (van der Krift y Berendse 2002) y una disminución en el peso de sus raíces. La respuesta a la heterogeneidad espacial y temporal en el suministro de nutrientes podría estar explicada por el mantenimiento de un sistema radical lábil, en el cual las raíces proliferan continuamente en áreas con alta disponibilidad de nutrientes y luego mueren (Fitter 2009). Las especies con altas tasas de crecimiento probablemente pierdan más biomasa que especies con bajas tasas (Aerts y Berendse 1989, Vázquez de Aldana et al. 1996). Así mismo, no existe suficiente información sobre los mecanismos de forrajeo en el tiempo y ante distinta disponibilidad de N. Los capítulos anteriores estudiaron la colonización de suelos libres de raíces en el corto plazo (hasta 6 meses). En este capítulo extenderé el plazo de estudio dando cuenta de las dinámicas de plazo intermedio ante pulsos de fertilidad.

El objetivo específico de este capítulo fue explorar los mecanismos de forrajeo ante la heterogeneidad microambiental de nutrientes y las dinámicas de colonización y descomposición de raíces en condiciones de competencia multiespecífica. Propuse y puse a prueba dos hipótesis que tratan sobre los procesos clave en el largo plazo, la producción y la descomposición de raíces. En relación a la producción, y teniendo en cuenta los antecedentes referidos precedentemente, mi primera hipótesis propone que las especies de crecimiento rápido son precisas, mientras que las de crecimiento lento tienen una gran extensión de forrajeo. El resultado previsto es que las especies con tasas de crecimiento altas sean las más precisas en la proliferación de raíces en parches con mayor disponibilidad de N. En relación a la descomposición de raíces, la segunda hipótesis plantea que las raíces de las especies de crecimiento rápido se descomponen relativamente rápido. Las especies de crecimiento lento tienen altas concentraciones de lignina en sus tejidos y permanecen en el suelo después de haberse agotado el recurso. Se espera que las tasas de crecimiento estén positivamente correlacionadas con la pérdida de biomasa de raíces. Para poner a prueba estas dos hipótesis se realizaron experimentos a campo que permitieron determinar la respuesta al tiempo de cosecha, la heterogeneidad en la disponibilidad de nitrógeno y las condiciones ambientales de las especies de la comunidad de pastos de una estepa semiárida.

4.2. MÉTODOS

4.2.1. DISEÑO DEL EXPERIMENTO DE COLONIZACIÓN DE RAÍCES

Se realizó un experimento a campo con trampas de raíces cuyo diseño fue similar al experimento descripto en el Capítulo III. Los sustratos con los que se rellenaron las trampas fueron: suelo del lugar tamizado, libre de piedras y raíces (control, C) y suelo tamizado con 4 $gN.m^{-2}$ (N+). El nitrógeno se agregó en forma de nitrato de amonio granulado. Se realizó un diseño factorial en bloques, con dos factores, sustrato y tiempo de cosecha, con 10 bloques distribuidos en las 4 ha. de la clausura. El área de suelo desnudo donde fue enterrada cada trampa distaba al menos a 1 m de la próxima. El diseño en bloques permitió que la proliferación de raíces dentro de las trampas no estén determinadas por las posibles diferencias de la vecindad aérea y que reflejen lo más fehacientemente posible el efecto de los sustratos sobre las tasas de crecimiento y el forrajeo de nutrientes. Los tiempos de colonización fueron 6, 12 y 18 meses desde el enterrado de las trampas (junio de 2010) (180, 360 o 540 días, respectivamente).

Las trampas fueron cosechadas cuidadosamente y su contenido clasificado. A partir de las raíces contenidas en las trampas se caracterizó el efecto del sustrato y del tiempo de cosecha sobre la riqueza, la diversidad (1/Índice de Simpson) y la biomasa total y específica de pastos a partir de las raíces encontradas en cada trampa. La biomasa específica se expresó como tasas de crecimiento relativas (TCR, ver Capítulo II). Para cada tiempo de cosecha se calcularon la extensión y la precisión de acuerdo a las fórmulas propuestas por Einsmann et al. (1999). La extensión se calculó como $\delta_{raíces}$= biomasa en sustrato N+/volumen de suelo en la trampa, se consideró que el agregado de 4 $gN.m^{-2}$ representa un pulso rico en N (Grime y Mackey 2002, Kembel y Cahill 2005) por duplicar la mineralización anual del sitio de estudio. La precisión de forrajeo como Precisión= biomasa en sustrato N+/biomasa en sustrato C (comparando las muestras independientes dentro de cada bloque), de cada especie de pastos encontrada. La relación entre la biomasa radical específica en el sustrato con agregado de N y el sustrato C podría indicar si la especie es precisa en el forrajeo de N. Las especies precisas proliferarán mayor biomasa en el sustrato N+ que en el C por lo que dicha relación sería mayor a uno.

4.2.2. DISEÑO DEL EXPERIMENTO DE DESCOMPOSICIÓN DE RAÍCES

Se realizó un experimento de campo con bolsas de descomposición para evaluar la pérdida de necromasa de raíces en el tiempo siguiendo un protocolo propuesto y probado para el sitio de estudio (Austin et al. 2009). A partir de plantas vivas colectadas en el campo se seleccionaron las raíces con ramificaciones secundarias y terciarias en el laboratorio y se descartaron las raíces con signos de deterioro por descomposición (Moretto et al. 2013). Las raíces seleccionadas fueron secadas al aire. El rango de recolección incluyó el rango al que fueron enterradas las bolsas de descomposición. Se prepararon y colocaron en el campo bolsas con 0,75 g de raíces muertas de cada una de las cinco gramonoides dominantes del sitio. Las bolsas eran de 12 cm x 12 cm construidas con malla de fibra de vidrio, de 2 mm^2. Las bolsas fueron enterradas a 5 cm de profundidad, en parches de suelo desnudo (Figura 4.1). Hubo cinco tratamientos (uno por especie) y cinco repeticiones para cada una de las dos fechas de cosecha. La instalación del experimento se realizó los primeros días de enero de 2011 y las cosechas se realizaron a los 6 y 12 meses.

Se hicieron pruebas de pérdida de material de cada tratamiento para distinguir las pérdidas relacionadas por la rotura física de las raíces por manipulación, enterrado, traslado y desenterrado de las bolsas, de las pérdidas por descomposición. Las necromasa perdida en las bolsas de prueba se promediaron por especie y se restaron a la necromasa inicial colocada en las bolsas con el objetivo de no sobreestimar la descomposición de las raíces. El material contenido en las bolsas fue secado en estufa a 70 °C por 48 horas, para detener la descomposición. Luego fue limpiado, secado nuevamente y pesado para cuantificar la necromasa final o remanente.

Figura 4.1. Foto de un micrositio de suelo desnudo donde fue enterrada una de las bolsas de descomposición. En este caso la bolsa estaba rellena por raíces de *Bromus pictus* y se cosechó luego de 6 meses.

4.2.3. Análisis estadístico

Se comparó el efecto de los bloques y de los factores, sustrato y tiempo de colonización, sobre la comunidad de raíces mediante ANOVA, usando riqueza, diversidad y biomasa total (expresada como producción de raíces) como variables respuesta. El efecto de los factores sobre las especies se comparó mediante MANOVA (porque la presencia de las especies dentro de las trampas no fue independiente), usando la biomasa específica (expresada como TCR), la extensión y la precisión como variables respuesta. Previamente se probaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. Las variables fueron transformadas como $X` = Log\ (X+1)$ o $X' = X^{1/2}$ cuando no se cumplieron los supuestos de homogeneidad. Se usó un test no paramétrico (Kruskal Wallis) cuando la distribución de los residuales no fue normal. Cuando el efecto del tratamiento fue significativo ($P < 0,05$), se aplicó un test a posteriori (Tukey) para identificar grupos homogéneos. Por ser el tiempo una variable continua, se realizaron regresiones simples para cada una de las variables respuesta con el tiempo como predictora (datos no mostrados). En todos los casos, el r^2 de la regresión fue cercano a cero, indicando que el tiempo no es un predictor lineal de estas variables. Los análisis de varianzas permitieron detectar diferencias entre los sustratos, los tiempos de cosecha y las especies, resultados que me permitieron una mejor aproximación a las pruebas de hipótesis propuestas en este capítulo.

Se realizaron pruebas de Chi-cuadrado (de observados *vs* esperados) para evaluar la precisión de las especies en el sustrato N+ en relación al sustrato C, donde los valores observados correspondían a la relación biomasa de raíces en N+/ biomasa de raíces en C y los esperados consistían en una columna con el valor 1. El valor 1 indica que la biomasa creciendo en N+ es similar a la biomasa creciendo en C. Si observados y esperados son similares ($P > 0,05$), entonces la especie no es precisa en el forrajeo de N.
En el experimento de descomposición las pérdidas de necromasa de las distintas especies se compararon con ANOVA. Para probar si existe alguna relación entre el crecimiento de las especies y la pérdida de necromasa, se correlacionó el experimento de colonización de raíces con el de descomposición, usando las TCR en los tiempos de

cosecha a los 12 y 18 meses (n= 10) y la pérdida de biomasa en la primera y segunda cosecha (n= 5), ambos cosechados en junio y diciembre 2011, respectivamente.

De acuerdo con los resultados de los capítulos anteriores se consideró que la biomasa encontrada en las trampas a los 6 meses solo estaba explicada por la colonización, mientras que la biomasa encontrada a los 12 y 18 meses fue considerada biomasa remanente ya que también estaba explicada por la descomposición. Por eso, a partir de las pérdidas de biomasa específica en las bolsas se estimó la biomasa perdida por especie en trampas C a los 12 y 18 meses, usando la biomasa específica a los 6 meses como biomasa inicial. A la pérdida estimada se le sumó la biomasa remanente de las trampas y de ese modo se estimó la biomasa corregida por descomposición. Luego se comparó la biomasa encontrada a los 12 y 18 meses con la biomasa corregida mediante Chi-cuadrado, de observados (biomasa remanente) *vs* esperados (biomasa corregida). Estos cálculos asumen que las tasas de descomposición de una especie son similares cuando las raíces de una especie están solas o están acompañadas por las raíces de otras especies, es decir que asume aditividad.

4.3. RESULTADOS

4.3.1. COLONIZACIÓN DE RAÍCES

La totalidad de las trampas de raíces contuvieron raíces de pastos en el momento en que fueron cosechadas. No hubo efecto bloque ni interacción entre los factores tratamiento y tiempo en ninguna de las variables respuesta ($P> 0,05$). A los 6 meses, la riqueza fue mayor en las trampas con sustrato N+ que en las trampas con sustrato C, 3,6± 0,2 *vs* 2,8± 0,1 especies, respectivamente ($P= 0,01$, letras minúsculas, Figura 4.2a). A los 12 y 18 meses, la riqueza fue similar en ambos sustratos ($P= 0,34$ y $P= 0,12$, respectivamente). En promedio, la riqueza fue mayor a los 6 meses que a los 12 y 18 meses, cuando el sustrato fue N+ ($P= 0,01$, letras mayúsculas, Figura 4.2a), lo que determinó una reducción de 3,6 a 2,6 especies, mientras que la riqueza fue similar en las tres cosechas en el sustrato C ($P> 0,01$). La diversidad de raíces dentro de las trampas fue similar con los distintos sustratos y en el tiempo ($P> 0,05$, letras minúsculas, Figura 4.2b). La diversidad media de la comunidad de raíces fue 1,54± 0,06 especies^{-1}.

La producción de raíces dentro de las trampas fue similar en ambos sustratos aunque fue diferente según el tiempo de cosecha. A los 6, 12 y 18 meses, la producción fue similar en los sustratos N+ y C ($P= 0,14$, $P= 0,55$ y $P= 0,98$, respectivamente, letras minúsculas, Figura 4.3). La producción de raíces fue mayor a los 6 meses que a los 12 y 18 meses en ambos sustratos ($P< 0,01$, letras mayúsculas, Figura 4.3).

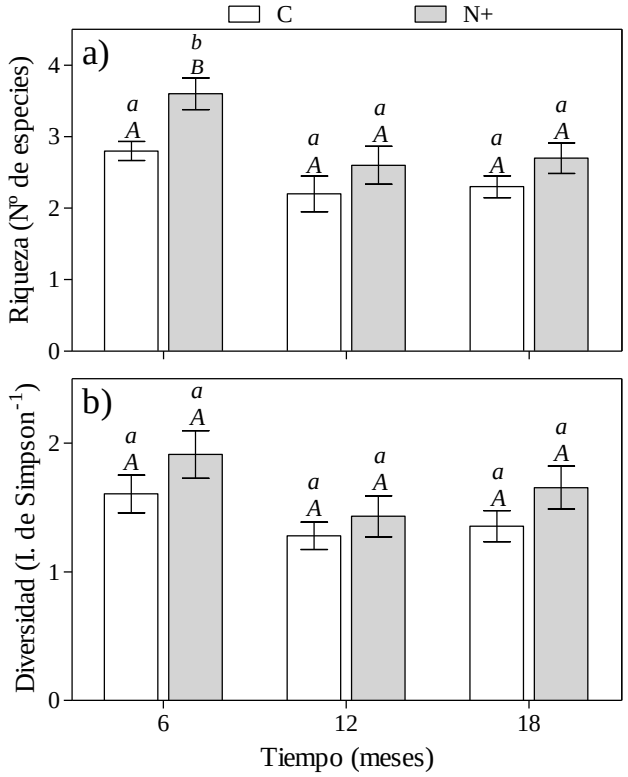

Figura 4.2. Riqueza (a) y diversidad de raíces (b) dentro de las trampas de raíces con agregado de distintos sustratos, a los 6, 12 y 18 meses. Los sustratos son: C, suelo; N+, suelo + 4 $gN.m^{-2}$. Las barras indican valores medios y las líneas los errores estándar. Las letras minúsculas sobre las barras representan diferencias significativas entre los sustratos dentro de cada tiempo de cosecha. Las letras mayúsculas representan diferencias entre los tiempos de cosecha para un mismo sustrato.

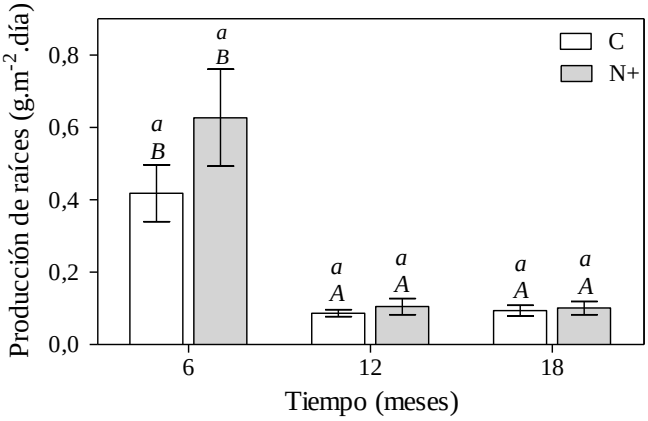

Figura 4.3. Producción de raíces dentro de las trampas de raíces con agregado de distintos sustratos, a los 6, 12 y 18 meses. Los sustratos son: C, suelo; N+, suelo + 4 $gN.m^{-2}$. Las barras indican valores medios y las líneas los errores estándar. Las letras minúsculas sobre las barras representan diferencias significativas entre los sustratos dentro de cada tiempo de cosecha. Las letras mayúsculas representan diferencias entre los tiempos de cosecha para un mismo sustrato.

La biomasa específica de los pastos que colonizaron las trampas fue similar en ambos sustratos, en los tres tiempos de cosecha (P> 0,05, sustrato C en Figura 4.4a). *Poa* y *P. speciosa* fueron las especies más frecuentes (ambas aparecieron en el 90% de las trampas) y en general tuvieron mayor biomasa (abundancia) que las demás especies (Figura 4.4a). Las TCR subterráneas de ambas especies fueron similares en las trampas con distintos sustratos, a los 6, 12 y 18 meses (*Poa*: P= 0,91, P= 0,55, P= 0,21 y *P. speciosa*: P= 0,28, P= 0,51, P= 0,90, respectivamente). *Bromus* apareció en el 35% de las trampas y tuvo baja abundancia en ambos sustratos por igual, a lo largo del experimento (P= 0,11, P= 0,15, P= 0,28, a los 6, 12 y 18 meses, respectivamente). *P. humilis* fue muy frecuente en la cosecha a los 6 meses (80% de las trampas) y rara a los 12 y 18 meses (12% de las trampas en ambas cosechas) mientras que *Carex* fue rara en todas las cosechas (15% de las trampas). En la cosecha a los 6 meses, las TCR de *P. humilis* fueron similares en los distintos sustratos (P= 0,93).

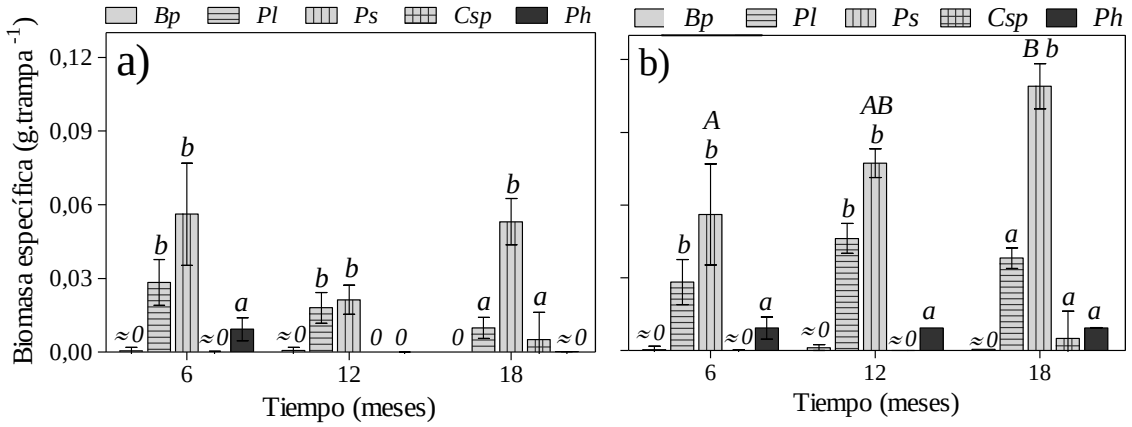

Figura 4.4. Biomasa de raíces en el experimento de colonización, a los 6, 12 y 18 meses, de las especies encontradas en las trampas de raíces con el sustrato C. Se optó por mostrar el sustrato C porque en todos los sustratos se presentó el mismo patrón. a) Biomasa original y b) Biomasa corregida con pérdidas de biomasa del experimento de descomposición. Las barras correspondientes al mes 6 repiten los valores del panel "a" con el propósito de comparar más fácilmente los valores corregidos de los meses 12 y 18. Las especies son: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *Csp*, *Carex* sp.; *Ph*, *Pappostipa humilis*. Las barras indican valores medios y las líneas los errores estándar. Las letras minúsculas sobre las barras representan diferencias significativas entre las especies dentro de cada tiempo de cosecha. Las letras mayúsculas representan diferencias entre los tiempos de cosecha para una misma especie. El valor 0 indica sin biomasa y ≈0 indica biomasa casi ausente.

A los 6 meses y en todos los sustratos, *Poa* y *P. speciosa* tuvieron TCR similares y mayores que las TCR de *P. humilis* (sustrato C: P= 0,04, letras minúsculas, Figura 4.5), mientras que *Bromus* y *Carex* tuvieron las TCR más bajas, cercanas a cero. A los 12 meses, se detectó un patrón similar, *Poa* y *P. speciosa* tuvieron las TCR más altas que *Bromus* (P= 0,01), mientras que las TCR de *P. humilis* fueron cercanas a cero. A los 18 meses, *P. speciosa* tuvo las mayores tasas de crecimiento, seguida por *Poa*, *Carex* y *P. humilis* (P> 0,001). En todos los sustratos, *Poa*, *P. speciosa* y *P. humilis*, tuvieron mayores TCR a los 6 meses que en las demás cosechas (sustrato C: P< 0,01, letras mayúsculas, Figura 4.5), mientras que *Bromus* y *Carex* tuvieron TCR similares y bajas en las tres cosechas (P> 0,05).

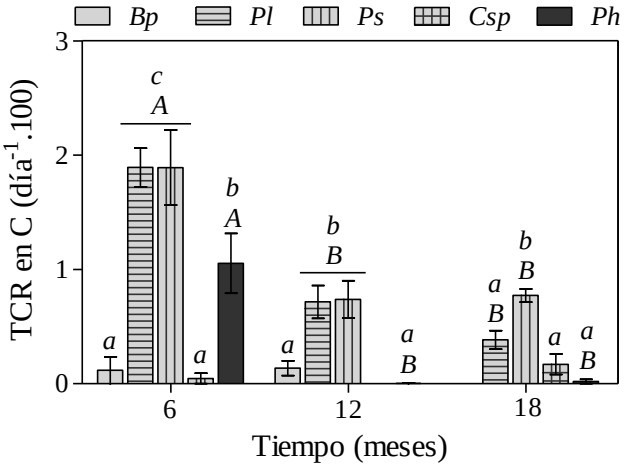

Figura 4.5. Tasas de crecimiento relativo (TCR) para las especies encontradas en las trampas de raíces con el sustrato C, a los 6, 12 y 18 meses. Se optó por mostrar el sustrato C porque en todos los sustratos se presentó el mismo patrón. Las especies son: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *Csp*, *Carex* sp.; *Ph*, *Pappostipa humilis*. Las barras indican valores medios y las líneas los errores estándar. Las letras minúsculas sobre las barras representan diferencias significativas entre las especies dentro de cada tiempo de cosecha. Las letras mayúsculas representan diferencias entre los tiempos de cosecha para una misma especie.

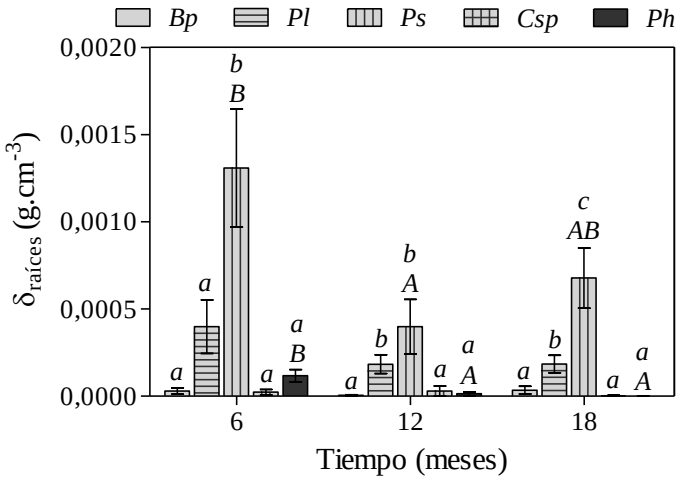

Figura 4.6. Extensión de forrajeo en cuanto a la densidad de raíces (biomasa específica/volumen de suelo) en las trampas de raíces con sustrato N+ (suelo + 4 $gN.m^{-2}$), a los 6, 12 y 18 meses. Las especies son: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *Csp*, *Carex* sp.; *Ph*, *Pappostipa humilis*. Las barras indican valores medios y las líneas los errores estándar. Las letras minúsculas sobre las barras representan diferencias significativas entre las especies dentro de cada tiempo de cosecha. Las letras mayúsculas representan diferencias entre los tiempos de cosecha para una misma especie.

La extensión de forrajeo (densidad específica en trampas con sustrato N+), a los 6 meses fue diferente entre especies. *P. speciosa* tuvo mayor extensión que las demás especies ($P< 0,001$, letras minúsculas, Figura 4.6). A los 12 meses, *P. speciosa* y *Poa* tuvieron similar extensión y mayor al resto de las especies ($P= 0,05$). A los 18 meses, *P. speciosa* tuvo mayor extensión que *Poa* y ambas tuvieron mayor extensión que el resto de las especies ($P< 0,001$). Las dos especies de *Pappostipa* tuvieron distinta extensión en el tiempo, *P. speciosa* tuvo mayor extensión a los 6 meses que a los 12 meses ($P= 0,03$) y *P. humilis* tuvo mayor extensión a los 6 meses y casi no apareció en las demás cosechas ($P< 0,001$, letras mayúsculas, Figura 4.6).

La precisión de forrajeo de N en las cinco especies de gramonoides encontradas en las trampas fue alta y similar a lo largo del tiempo (biomasa en N+/ biomasa en C> 1, $P> 0,05$, Figura 4.7). Excepto a los 18 meses cuando *P. humilis* y *Carex* no presentaron valores altos de precisión. Estas especies en esta fecha no desarrollaron más biomasa en el sustrato N+ que en el sustrato C y su precisión fue ≤ 1 ($\chi^2= 9,17$, $P= 0,42$ y $\chi^2= 9,87$, $P= 0,36$, respectivamente). En ese tiempo, la precisión de *Bromus* tendió a ser más alta que la de *P. speciosa*, *Poa* presentó valores intermedios, aunque esas diferencias no fueron significativas ($P= 0,06$).

Las variables extensión y precisión en las cinco especies dominantes de pastos estuvieron positivamente correlacionadas a los 6 y 12 meses (R= 0,34, $P= 0,02$, R= 0,40, $P< 0,01$, respectivamente) y, en cambio, fueron independientes a los 18 meses (R= 0,16, $P= 0,26$). Las variables extensión y TCR estuvieron fuerte y positivamente correlacionadas (R= 0,58, R= 0,54, R= 0,76, $P< 0,001$, a los 6, 12 y 18 meses, respectivamente). La precisión y la TCR estuvieron negativamente correlacionadas (R= -0,50, R= -0,46, R= -0,46, $P< 0,001$, a los 6, 12 y 18 meses, respectivamente).

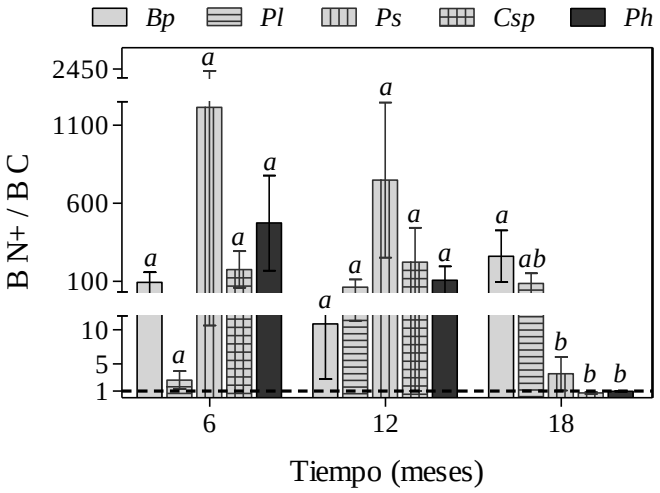

Figura 4.7. Precisión de forrajeo expresada como el cociente entre la biomasa específica de raíces creciendo en micrositios con muy alta disponibilidad de N (B N+) y la biomasa creciendo en micrositios control (B C), a los 6, 12 y 18 meses. Los sustratos son: N+, suelo + 4 $gN.m^{-2}$ y C, suelo. Las especies son: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *Csp*, *Carex* sp. y *Ph*, *Pappostipa humilis*. Las barras indican valores medios y las líneas los errores estándar. Las letras sobre las barras representan las diferencias significativas entre las especies en un mismo tiempo de cosecha. La línea punteada indica que la biomasa en N+ es igual a la biomasa en C.

4.3.2. DESCOMPOSICIÓN DE RAÍCES

A los 6 meses de comenzado el experimento, ya hubo pérdida de biomasa y las especies estudiadas tuvieron cantidades similares de necromasa remanente en las bolsas (*P*= 0,07, Figura 4.8). La necromasa remanente fue 88,2± 2,1%. En la segunda cosecha, a los 12 meses, las bolsas con raíces de *P. speciosa* tuvieron menor necromasa remanente que las bolsas con raíces de *Carex*, en promedio tenían 70,8± 7,8% *vs* 95,8± 1,2%. En el resto de los tratamientos la pérdida fue intermedia (*P*< 0,01).

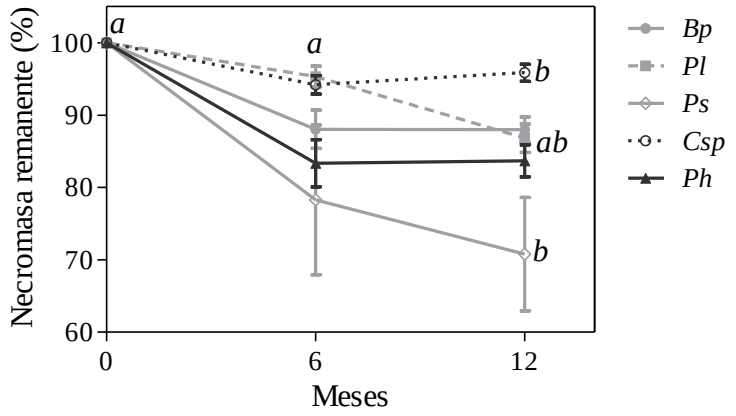

Figura 4.8. Necromasa remanente en las bolsas de descomposición (%) a los 0 meses (instalación), 6 y 12 meses (cosechas). Los tratamientos consisten en bolsas rellenas con 0,75 g de necromasa de raíces de: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *Csp*, *Carex* sp.; *Ph*, *Pappostipa humilis*. Las líneas horizontales indican valores medios y las líneas verticales los errores estándar. Las letras junto a las líneas representan las diferencias significativas entre los tratamientos, dentro de cada cosecha.

4.3.3. COMPARACIÓN ENTRE COLONIZACIÓN Y DESCOMPOSICIÓN

Las TCR en el sustrato C al cabo de 12 meses fueron independientes de la pérdida de necromasa en la primera cosecha de bolsas de descomposición, en las cinco especies para las que se estudió la descomposición (R≈ 0, *P*> 0,05). Las TCR en el sustrato C al cabo de 18 meses y la pérdida de necromasa en la segunda cosecha de bolsas de descomposición estuvieron positivamente correlacionadas, sin incluir a *P. humilis* que casi no apareció en las trampas de los 18 meses (R= 0,56, *P*= 0,01, Figura 4.9). Sin embargo, si no se incluye *P. speciosa* en el análisis, la correlación entre las mismas variables es cercana a cero y no significativa (R= 0,07, *P*= 0,80).

La biomasa de las especies más frecuentes, en los meses 12 y 18, corregida por descomposición (Figura 4.4b), fue similar a la biomasa encontrada en las trampas en los mismos tiempos (χ^2= 0,42, χ^2= 0,74, χ^2= 0,18, *P*< 0,99, *Poa*, *P. speciosa* y *P. humilis*, respectivamente, Figura 4.4a). La biomasa corregida de *Poa* y *P. humilis* no cambió en el tiempo (*P*= 0,20 en *Poa* y no se pudo calcular para *P. humilis* porque la biomasa corregida no tuvo variabilidad a los 12 y 18 meses). La biomasa corregida de *P. speciosa* fue mayor a los 18 meses que a los 6 meses e intermedia a los 12 meses (*P*= 0,04, letras mayúsculas, Figura 4.4b).

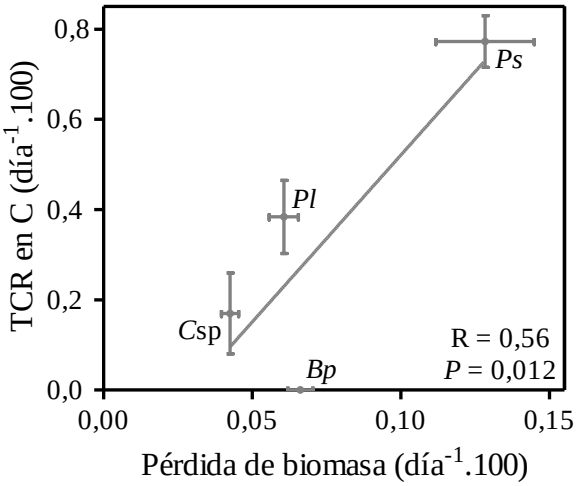

Figura 4.9. Correlación lineal entre la pérdida de biomasa de raíces en bolsas de descomposición a los 12 meses y las tasas de crecimiento relativo a los 18 meses de las especies de pastos más frecuentes que crecieron en las trampas de raíces (valores medios± errores estándar, n= 10 para cada especie). Las especies son: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *C*sp, *Carex* sp. La línea que conecta los puntos representa el Modelo Ajustado de los datos.

4.4. DISCUSIÓN

El objetivo general en este capítulo fue explorar si las graminoides perennes más frecuentes de la comunidad estudiada diferían en sus estrategias de exploración de la heterogeneidad del suelo. Además, me interesaba estudiar plazos mayores a los estudios previos y que son usuales en los estudios realizados por otros investigadores. Para ello calculé los índices de extensión y precisión de forrajeo (Campbell et al. 1991, Grime y Mackey 2002, Kembel y Cahill 2005) y trabajé con cosechas a los 6, 12 y 18 meses desde el entierro de las trampas con y sin fertilización. La respuesta de la comunidad de pastos al agregado de N, en relación a la riqueza, la diversidad y la biomasa total, no fue constante en el tiempo. *P. speciosa* fue descripta como una especie de crecimiento lento en invernáculo, creciendo individualmente (Leva et al. 2009), y en el centro de la zona de influencia en el campo (Capítulo II, Figura 2.3). *Poa* y *Bromus* en las mismas condiciones tuvieron las TCR más altas de la comunidad de raíces (Leva et al. 2009, Capítulo II, Figura 2.3). Sin embargo, en micrositios alejados de la zona de influencia máxima las TCR de *P. speciosa* fueron altas y similares a las de *Poa*, mientras que *Bromus* casi no creció. La alta frecuencia de los individuos de *Poa* y *P. speciosa* en el sitio de estudio (Oñatibia 2013) podría explicar que las tasas de crecimiento de las raíces hayan sido tan altas y, en el caso de *P. speciosa*, tan diferentes a las registradas con plantas aisladas en condiciones de invernáculo (Leva et al. 2009). Este mismo patrón ya había sido registrado en el corto plazo en el Capítulo III (Figura 3.4). En los próximos párrafos se discuten estos y otros hallazgos.

Las especies más frecuentes o dominantes de la comunidad mostraron diferentes estrategias de forrajeo radical. La gramínea más frecuente de la comunidad por su biomasa aérea, *P. speciosa*, tuvo la mayor extensión de forrajeo en parches ricos, seguida por *Poa*. Las dos especies de *Bromus,* que en este trabajo se agruparon, y que

pueden considerarse especies raras o de menor cobertura en la comunidad, presentaron baja extensión y alta precisión en el forrajeo a lo largo del experimento. *Poa* y las dos especies de *Pappostipa* presentaron alta precisión en el forrajeo en la mayoría de las cosechas. Sin embargo, las tasas de crecimiento de cada especie fueron similares en los sustratos con distinta disponibilidad de nutrientes. Una conclusión general sería que no habría efectos muy significativos de la heterogeneidad espacial puntual (o grano pequeño) en la fertilidad sobre el crecimiento de las raíces de especies de la comunidad estudiada.

Los resultados no sustentan la primera hipótesis que proponía que las especies con mayor precisión en el forrajeo de nutrientes son de crecimiento rápido (Fransen et al. 1999). Las tasas de crecimiento (con y sin agregado de N) y la precisión en parches ricos en N de las cinco especies de graminoides encontradas estuvieron negativamente relacionadas en el tiempo. Esto podría estar asociado al consumo y desaparición del pulso de fertilidad del suelo luego de los 6 meses. Sin embargo, hubo una fuerte relación positiva entre las tasas de crecimiento y la extensión de forrajeo. Aunque, como se mencionó anteriormente, las tasas de crecimiento de las especies más frecuentes fueron diferentes a las descriptas en el Capítulo II. *Bromus* que fue descripta como una especie de crecimiento subterráneo rápido en el centro de su zona de influencia (Capítulo II, Figura 2.3), en este experimento presentó tasas de crecimiento bajas y mayor precisión en el largo plazo (18 meses) que *P. speciosa*, en su zona mínima de influencia. Esta última, fue la especie más dominante de la comunidad, tanto en la porción aérea como en la porción subterránea bajo parches de suelo desnudo, donde presentó una extensa biomasa de raíces. Bajo parches de suelo desnudo, raíces de las distintas especies podrían coexistir en el largo plazo porque las especies más dominantes de la comunidad tienen mayor extensión de raíces y las especies raras son precisas en el forrajeo de nutrientes (Campbell et al. 1991).

Los resultados apoyan la segunda hipótesis que planteaba que las especies con crecimiento rápido de raíces se descomponen relativamente rápido (Aerts y Berendse 1989, Vázquez de Aldana et al. 1996), mientras que las especies de crecimiento lento permanecen en el suelo después de haberse agotado el recurso. *P. speciosa*, la especie con las TCR medidas en este ensayo más altas, fue la que perdió más necromasa en el tiempo. Cabe agregar que de manera general las cuatro especies que frecuentemente aparecieron en las trampas tuvieron una correlación fuertemente positiva entre ambas variables. Sin embargo, al calcular la correlación entre TCR y pérdida de biomasa por descomposición sin incluir a *P. speciosa* las variables fueron independientes entre sí, lo que hace referencia a que se trata de la especie dominante de la comunidad.

La aparición errática de las raíces de las especies raras podría estar explicada por la heterogeneidad espacial a una escala menor que la escala a la que fueron definidos los bloques. En parches de suelo desnudo, las raíces de especies raras son *Bromus* y *P. humilis*. En el caso de *Bromus*, las bajas TCR de sus raíces podrían estar explicadas por la baja frecuencia de aparición de los individuos en la porción aérea (Oñatibia 2013). Sin embargo, en el caso de *P. humilis* esto no pareciera ser así y parece estar explicado por la descomposición de sus raíces. Las raíces de *P. humilis* que tuvieron una frecuencia de aparición del 80% en la cosecha de los 6 meses, tuvieron una frecuencia del 13% en promedio a los 12 y 18 meses. Esta reducción y ausencia, en muchas de las trampas, indicaría una pérdida de biomasa e incluso una desaparición total de las raíces de esa especie por descomposición y al mismo tiempo la incapacidad de esta especie de volver a colonizar la trampa. Si bien en el estudio de colonización de raíces no se registraron las vecindades aéreas (al igual que en el Capítulo III), asumo que la disminución de *P. humilis* a los 12 y 18 meses no estaría explicada por su ausencia en la

vecindad aérea. En el Capítulo II se registró una independencia entre la vecindad aérea y la composición de raíces en la porción subterránea, en el mismo sitio de estudio. Además, así como fue mencionado en el Capítulo III, el hecho de que no hubiera efecto bloque en los parámetros de la comunidad y ni en los específicos podría indicar que no hay heterogeneidad espacial en el área de estudio en la escala a la que se definieron los bloques. Así también podría indicar que las posibles diferencias en la vecindad aérea no influyen en ellos. Otros estudios de descomposición de raíces en mesocosmos ya habían registrado que la descomposición subterránea de la comunidad de pastos del sitio de estudio varía significativamente según el tipo de broza, aérea o subterránea (Austin et al. 2009) y según la identidad de las raíces (Semmartin et al. 2004). Además, otros trabajos en ecosistemas similares registraron la dinámica del N en hojas y raíces y su reabsorción en raíces muertas (Carrera et al. 2008, Carrera y Bertiller 2010, Moretto et al. 2013). Sin embargo, más allá de estas comparaciones es difícil relacionar mis resultados con otros estudios pues en mi conocimiento no existen estudios manipulativos equivalentes (i.e. estudios a escala de comunidad y a nivel especie, a campo y de duración extensa).

Hubo un fuerte efecto del tiempo en la respuesta de la comunidad y de varias especies. En el experimento de colonización, la extensión de forrajeo disminuyó en el tiempo. En particular, hubo una caída muy fuerte en la biomasa en la cosecha a los 12 meses, en relación a la cosecha de los 6 meses. La caída puede explicarse por la estacionalidad ambiental que condiciona las tasas crecimiento radical y la descomposición. En comunidades similares, Rodríguez y colaboradores (2007) detectaron que las tasas de crecimiento de raíces finas de pastos se incrementan durante los meses de invierno y primavera (de junio a diciembre), que coincide con los meses en los que estuvieron enterradas las trampas hasta la primera cosecha, a los 6 meses. Se puede suponer que durante esos meses, la descomposición es baja y no se evidenció en el experimento. Este supuesto queda respaldado por el experimento de colonización presentado en el Capítulo III, en el cual la biomasa de raíces aumentó de los 4 a los 6 meses (Figura 3.3). El experimento de descomposición también respalda el supuesto de que desde los 6 a los 12 meses la reducción en la biomasa de raíces estaría explicada por la descomposición del material dentro de las trampas, mientras que desde los 6 a los 18 meses, ocurrió descomposición y una nueva colonización por raíces.

Distintos investigadores estudiaron la proliferación de las raíces para explicar la respuesta subterránea de las plantas a los parches ricos en nutrientes y predecir la captación de los mismos (Robinson 1994, Wijesinghe et al. 2001, Rajaniemi 2011, Mommer et al. 2012). Sin embargo, la proliferación podría no ser un buen predictor de la capacidad de adquirir estos recursos en parches y convertirlos en crecimiento de las plantas (Kembel et al. 2008). Tanto la proliferación de las raíces (en el centro de la zona de influencia o en los parches de suelo desnudo) como el forrajeo en respuesta a la heterogeneidad de nutrientes pueden determinar la ocupación preventiva del suelo y representar una ventaja competitiva en la obtención de nutrientes. Sin embargo, el estudio de la absorción y utilización de nutrientes es necesario como un paso siguiente en el entendimiento de la coexistencia de la comunidad de pastos en condiciones de competencia.

Capítulo V

Absorción de nutrientes como indicador del uso del suelo de la zona de influencia de gramíneas perennes

5.1. INTRODUCCIÓN

La conformación de la zona de influencia subterránea de una planta está determinada por la proliferación de raíces nuevas (cerca o lejos de la porción aérea de la planta), por la habilidad para captar nutrientes y producir biomasa verde (Aerts 1999, Carrera et al. 2003) y por la presencia de vecinos (Casper et al. 2003). De encontrarse presente una raíz (ocupación preventiva), un pulso de nutrientes será rápidamente interceptado y agotado (Chapin et al. 1987). La presencia de raíces de las plantas vecinas incrementará la tasa de consumo y el agotamiento de nutrientes (Campbell et al. 1991). Mis estudios previos indican que esta presencia es la norma más que la excepción. Por lo que definir las diferencias en las tasas de absorción es un aspecto que permitiría definir mejor la influencia subterránea de las plantas.

Numerosos estudios indican la relevancia de definir las zonas de influencia específicas (Caldwell et al. 1996, Casper et al. 2003, de Kroon 2007, Armas y Pugnaire 2011a) así como la disposición selectiva de raíces en parches con alta disponibilidad de nutrientes (Fitter 2009, de Kroon et al. 2003, Mommer et al. 2012). Sin embargo, se sabe mucho menos sobre cuál es la proporción y el origen espacial de los nutrientes que efectivamente son absorbidos (Tilman 1989, McKane et al. 1990, Hutchings y de Kroon 1994, McKane et al. 2002, Casper et al. 2003). Por un lado, a pesar de que se ha propuesto una relación directa entre la ocupación preventiva del espacio subterráneo y la absorción de nutrientes, no siempre los dos procesos están relacionados (Hutchings y de Kroon 1994, Mommer et al. 2012). Por otro lado, la proliferación de raíces en parches ricos frecuentemente no resulta en un incremento en la absorción de N (Jackson y Caldwell 1996, Fransen et al. 1998, Hodge et al. 1998). A partir de estas evidencias, resulta necesario estudiar la captura y la asignación de nutrientes para aproximarnos a la determinación de las habilidades competitivas de las especies que coexisten en la misma comunidad vegetal. La aplicación de isótopos estables representa una herramienta útil para determinar la absorción y el destino del nutriente aplicado (Caldwell y Eissenstat 1987, Robinson 2001, McKane et al. 2002, Miller y Cramer 2004).

Probablemente, las especies que coexisten en una comunidad comparten los recursos subterráneos de alguna manera. Se ha propuesto que las especies coexisten en la medida que están limitadas por distintas combinaciones de nutrientes (Harpole y Tilman 2007), o por la forma química, la profundidad o el momento de la absorción de nitrógeno (N) o de otros nutrientes tales como el fósforo (McKane et al. 1990, McKane et al. 2002). La forma de ocupar y usar sus zonas de influencia o de responder a un pulso de nutrientes puede establecer diferencias entre especies. Las diferencias específicas en la forma de utilizar el N, como la asignación rápida del N a la porción aérea o subterránea de la planta, pueden representar diferencias en la habilidad competitiva por nutrientes limitantes (Aerts et al. 1991, Schwinning y Weiner 1998, Aerts 1999, de Kroon et al. 2003). Sin embargo, muchos de los estudios en los que se han caracterizado estas diferencias fueron realizados con especies que corresponden a formas de vida muy diferentes, para poder identificar las especies por sus raíces o, alternativamente, en condiciones de aislamiento. Aún se sabe muy poco sobre cuáles

son las características específicas que permiten la coexistencia entre especies de un mismo gremio o grupo funcional, y menos aún en condiciones multiespecíficas.

Las interacciones entre las especies que conforman una comunidad vegetal están determinadas por sus características foliares y radicales, que determinan las habilidades competitivas de las especies (Hutchings y de Kroon 1994, Kembel y Cahill 2005, Kembel et al. 2008, White et al. 2013). Lo más difundido es clasificar a las especies por sus características foliares, sus tasas de crecimiento relativas (TCR) aéreas y su vulnerabilidad ante disturbios como la herbivoría (Perelman et al. 1997, Aerts 1999, Ryser y Eek 2000). Sin embargo, la absorción y la utilización de los nutrientes finalmente están determinadas por características funcionales relacionadas con el crecimiento rápido de las raíces (McNaughton et al. 1998). Las TCR subterráneas parecen ser buenas indicadoras del uso del espacio subterráneo, en relación a la ocupación del suelo y a la invasión por especies vecinas (Figura 2.4, Capítulo II). Las TCR también podrían ser mejores indicadoras de la habilidad para obtener nutrientes en el centro de la zona de influencia que las TCR aéreas. Mis estudios también indican que en el corto plazo, las especies con TCR subterráneas altas desarrollan mayor biomasa que las especies con TCR bajas (Figura 3.4, Capítulo III). Probablemente esto se deba a su mayor capacidad de absorber recursos del suelo más que a la disposición de raíces en sectores o micrositios de suelo ricos (Hutchings y de Kroon 1994). Las trampas de raíces indicaron que en general un mismo volumen de suelo es compartido por varias especies, es decir que no hay uso exclusivo. El uso de nutrientes marcados en el centro de la zona de influencia, podría definir la mayor influencia de una planta foco sobre el espacio subterráneo en cuanto a la absorción efectiva y la conservación de nutrientes, aún cuando este espacio también esté ocupado por raíces de especies vecinas.

El objetivo de este capítulo fue determinar las diferencias en las tasas de absorción y de utilización de nitrógeno y de producción de biomasa verde en respuesta a la fertilización, entre las especies de gramíneas perennes dominantes en un ecosistema semiárido. La hipótesis de este estudio propone que las especies con altas tasas de crecimiento subterráneo y de producción de biomasa (mesofíticas), tienen altas tasas de absorción de nutrientes y distinto uso del N, la menor conservación del N absorbido en tejidos maduros y el transporte rápido a tejidos nuevos, en relación a las especies de bajas tasas de crecimiento (xerofíticas). Mi trabajo corroboró que en el corto plazo (4 meses), las especies mesofíticas tienen un mayor uso del espacio en el centro de la zona de influencia que especies xerofíticas, que son más invadidas por raíces vecinas (Figura 2.4, Capítulo II). A partir de esas evidencias, se espera que ante un pulso de nutrientes en el centro de la zonas de influencia las especies mesofíticas absorban mayores proporciones de nutrientes que las especies xerofíticas.

5.2. MÉTODOS

5.2.1. Diseño experimental

Se realizó un experimento a campo para estudiar la respuesta de los individuos de gramíneas ante la aplicación de un fertilizante marcado, en cuanto a la absorción, la redistribución de nutrientes y la producción de biomasa aérea, en condiciones de competencia. Se seleccionaron 40 plantas de las cuatro especies de gramíneas dominantes del sitio de estudio: *Bromus*, *Poa*, *P. speciosa* y *P. humilis*. Dentro de cada especie las plantas tenían morfología aérea similar (circunferencia basal, altura,

proporción de la copa aérea viva). A 30 plantas, elegidas al azar, se las fertilizó con nitrógeno marcado (^{15}N) en el mes de octubre, al comienzo de la estación de crecimiento (Figura 5.1). McKane et al. (1990) detectaron que gramíneas perennes similares a las incluidas en este estudio absorben la mayor cantidad de ^{15}N en esa época del año. A las 10 restantes se las cosechó enteras para obtener valores de biomasa y de contenido inicial de ^{15}N en las plantas. Estas plantas representan el control temporal que se utilizó para seguir la marcha de absorción y utilización de nutrientes. A los 6, 21 y 50 días después de la fertilización, se cosecharon 10 plantas de cada especie por cada fecha (McKane et al. 1990, McKane et al. 2002), y el suelo junto a cada planta con un tubo de 8 cm de profundidad y 8 cm de diámetro. Se estableció así un diseño factorial de dos factores, especie y tiempo, con cuatro niveles de cada factor y 10 repeticiones por tratamiento.

Figura 5.1. Foto de una de las plantas foco, en este caso *Poa ligularis*, a la que se le aplicó el ^{15}N de forma tópica a 4 cm de su base. Las plantas tratadas fueron cosechadas a los 6, 21 o 50 días después de la aplicación del fertilizante.

La aplicación de ^{15}N se realizó en forma tópica con nitrato de amonio marcado ($^{15}NH_4{}^{15}NO_3$), con un valor de átomos en exceso (de aquí en adelante a.e.) del 10%. El % de a.e. se obtiene del % total de átomos de ^{15}N en el fertilizante o las muestras menos la abundancia natural de ^{15}N (0,3663% átomos de ^{15}N) (Fiedler y Proksch 1975). La aplicación se realizó con una jeringa que inyectaba el fertilizante a 4 cm de la base de la planta foco y a 2 cm de profundidad, diluido en 180 ml de agua. La dosis fue calculada a partir de 4 g ^{15}N por m^2 (concentración usada en los Capítulos III y IV) y equivale a 0,28 g de $^{15}NH_4{}^{15}NO_3$, por planta foco, considerando que la planta foco se encontraba dentro de un área de influencia máxima de 15 cm de diámetro (Cuadro 5.1).

Cuadro 5.1. Cálculos del ^{15}N aplicado en el suelo junto cada planta foco.

	g ^{15}N aplicados por m^2	g ^{15}N aplicados por planta foco	Equivalente en $^{15}NH_4{}^{15}NO_3$ *
Planta foco (0,025 m^2)	4	0,10	0,28

*: Se calcula a partir de la relación: 28,016 g de N en 80,048 g de NH_4NO_3; 4 g de N es igual a 11,43 g de NH_4NO_3.

Las plantas cosechadas fueron embolsadas, refrigeradas y llevadas al laboratorio dónde se las separó en porción aérea y subterránea. La porción aérea se separó en: hojas verdes (que fueron pesadas luego de llevarlas a una estufa por 48 horas), hojas amarillas y varas florales (que fueron excluidas de los análisis). En la porción subterránea se separaron las raíces jóvenes de las raíces viejas (sin ramificaciones y lignificadas). Estas últimas fueron separadas por color y textura (Bohm 1979), para descartar las raíces que presentaban signos de deterioro por descomposición (Moretto et al. 2013). Luego las hojas verdes y las raíces remanentes fueron secadas, pesadas y molidas convenientemente para enviarlas a un laboratorio externo (SIF, California EEUU) para el análisis de la concentración de ^{15}N por Espectrometría de Masas, usando un analizador elemental PDZ Europa ANCA-GSL conectado a un espectrómetro de masas PDZ Europa 20-20 (Sercon Ltd., Cheshire, UK). Se enviaron muestras ciegas para evaluar el proceso de análisis del laboratorio, generando dos repeticiones a partir de una misma muestra. Luego se compararon los resultados con Chi-cuadrado de observados *vs* esperados, en todos los casos las muestras ciegas fueron similares a las identificadas (P> 0,05). Para calcular el contenido total de ^{15}N por individuo (natural + aplicado), se multiplicó el % de ^{15}N por la biomasa seca de hojas verdes.

Se calculó para cada muestra enriquecida con ^{15}N la fracción de N derivado del fertilizante (%Nddf) (Fiedler y Proksch 1975) utilizando la fórmula:

$$\%Nddf = \frac{\%\ a.e.\ ^{15}N\ (raíces\ u\ hojas\ verdes)}{\%\ a.e.\ ^{15}N\ en\ el\ fertilizante} \times 100$$

El %Nddf se calculó para las raíces y para las hojas verdes, para cada tiempo de cosecha (t_1= 6, t_2= 21 y t_3= 50 días), para cuantificar la conservación del Nddf en ambos órganos.

En cada fecha se extrajeron alrededor de 200 g de suelo junto a cada individuo para determinar el contenido hídrico en una profundidad similar a la que fue realizada la aplicación de ^{15}N. El contenido de agua se midió como la diferencia entre el peso del suelo antes y después de llevarlo a estufa por 48 horas a 70°C, dividida por el peso seco.

5.2.2. Análisis de datos

Por un lado, se comparó el efecto del tiempo sobre las cuatro especies incluidas en el experimento mediante ANOVA, la concentración del ^{15}N (natural + aplicado) y el porcentaje de N derivado del fertilizante (%Nddf), en raíces y hojas como variables respuesta. También se hicieron ANOVA para evaluar el efecto del tiempo en cuanto al peso seco de hojas verdes y al contenido total de ^{15}N en los individuos, y al contenido de humedad en el suelo relacionado a los individuos. Por otro lado, se evaluaron las diferencias entre las especies para cada una de las variables mencionadas anteriormente también con ANOVA. Previamente se probaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. Las variables fueron transformadas como $X` = Log\ (X+ 1)$ o $X' = X^{1/2}$ cuando no se cumplieron los supuestos de homogeneidad. Se usó un test no paramétrico (Kruskal Wallis) cuando la distribución de los residuales no fue normal. Cuando el efecto del tratamiento fue significativo (P< 0,05), se aplicó un test a posteriori (Tukey) para identificar los grupos homogéneos. Por ser el tiempo una variable continua, se realizaron regresiones simples para cada una de las variables

respuesta con el tiempo como predictora (datos no mostrados). En todos los casos, el r^2 de la regresión fue bajo o cercano a cero, indicando que el tiempo no es un predictor lineal de estas variables. Los análisis de varianzas permitieron detectar diferencias entre los tiempos de cosecha y las especies, resultados que me permitieron una mejor aproximación a las pruebas de hipótesis propuestas en este capítulo.

Se realizaron correlaciones (Pearson) entre el %Nddf en raíces y en hojas para las cuatro especies. Se hicieron análisis de covarianzas incluyendo la biomasa seca de hojas verdes y el contenido hídrico del suelo como covariables (predictoras continuas), el tiempo de cosecha como variable predictora discontinua y los porcentajes de ^{15}N y de Nddf en las raíces como variables respuestas, para cada especie.

5.3. RESULTADOS

Los porcentajes (%) de a.e. de ^{15}N en las raíces y en las hojas verdes fueron distintas en el tiempo para la mayoría de las especies (Figura 5.2a-d). El % inicial o control de ^{15}N en las raíces fue similar en las cuatro especies (P= 0,21). En cambio en las hojas verdes el % inicial de ^{15}N fue mayor en *Poa* que en *P. speciosa*, e intermedio en *Bromus* y en *P. humilis* (P< 0,001). Solamente *P. speciosa* tuvo mayor % de ^{15}N en las raíces que en las hojas verdes (P= 0,01). En el resto de las especies, el % de ^{15}N fue similar en las raíces y las hojas verdes (P> 0,05).

Las dinámicas del ^{15}N en las porciones subterránea y aérea de las especies estudiadas evidenciaron patrones diferentes. Seis días después de la aplicación de ^{15}N, las raíces de *Bromus* tuvieron % de ^{15}N máximos y diferentes al inicial (P= 0,04, letras mayúsculas, Figura 5.2a). Los % de ^{15}N en las hojas verdes fueron mayores al inicial en todo el experimento (P< 0,001). El % de ^{15}N en las raíces fue similar al de las hojas verdes en las primeras tres cosechas (P= 0,49, P= 0,76 y P= 0,15, respectivamente) y fue menor en la última cosecha, a los 50 días (P= 0,04). En cambio en *Poa*, el % de ^{15}N en las raíces fue similar al de las hojas verdes en las primeras dos cosechas (P= 0,28 y P= 0,09) y fue menor al de las hojas verdes en las dos cosechas siguientes (P< 0,001, P< 0,001, letras minúsculas, Figura 5.2b). En las raíces y en las hojas verdes el % de ^{15}N fue máximo a los 21 días (P= 0,03 y P= 0,04, respectivamente, letras mayúsculas). Las raíces de *P. speciosa* tuvieron el mismo % de ^{15}N a lo largo de todo el experimento (P= 0,19, letras mayúsculas, Figura 5.2c) y similar a las hojas verdes en los últimos tres tiempos de cosecha (P= 0,41, P= 0,78 y P= 0,89, respectivamente). El % de ^{15}N en las hojas verdes fue menor al inicio del experimento que en las demás cosechas (P= 0,01). El % de ^{15}N en *P. humilis* fue similar entre raíces y hojas verdes en las cuatro cosechas (P= 0,39, P= 0,23, P= 0,89 y P= 0,21, respectivamente, Figura 5.2d), fue mínimo al inicio y máximo a los 6 y 21 días, en las raíces (P< 0,001) o a los 21 días en las hojas verdes (P< 0,01).

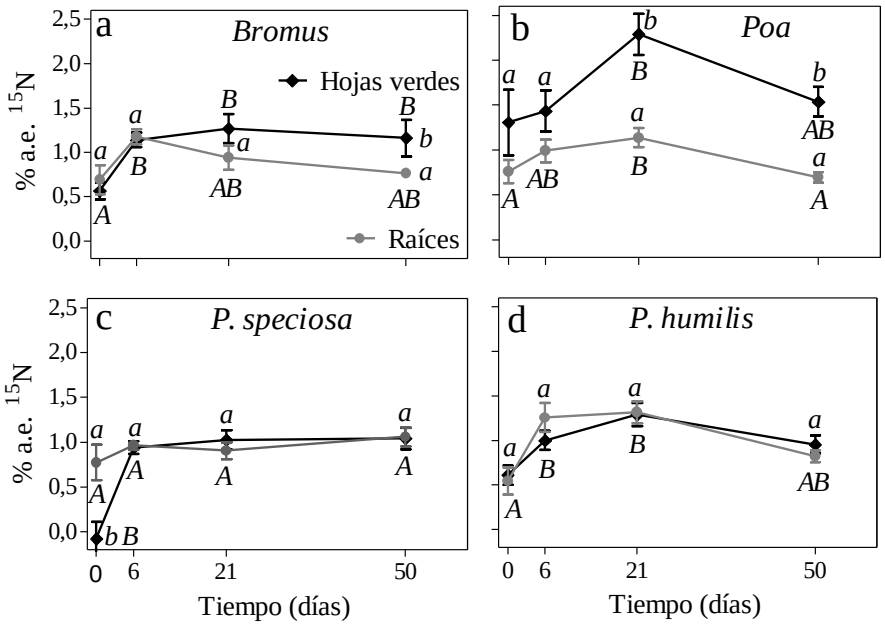

Figura 5.2. Porcentaje de a.e. de ^{15}N (a-d, % a.e. ^{15}N) en raíces y hojas verdes de *Bromus pictus* (a); *Poa ligularis* (b); *Pappostipa speciosa* (c) y *Pappostipa humilis* (d) en el tiempo (valores medios ± error estándar, n= 10). El valor del día 0 corresponde al ^{15}N en las plantas control. Las letras minúsculas sobre las líneas indican diferencias significativas entre las raíces y las hojas verdes en un mismo tiempo y las letras mayúsculas indican diferencias significativas en el tiempo para las raíces y para las hojas verdes ($P< 0,05$).

Hubo interacción entre los factores tiempo y especie para la variable respuesta % de Nddf en las raíces ($P< 0,01$, Figura 5.3). No hubo interacción entre los factores tiempo y especie para la variable Nddf en las hojas verdes ($P= 0,23$). Los porcentajes de Nddf en las raíces de *Bromus*, *Poa* y *P. humilis* disminuyeron en el tiempo ($P\leq 0,01$, letras mayúsculas, Figura 5.3). Solamente las raíces de *P. speciosa* mantuvieron el mismo % de Nddf a lo largo de todo el experimento ($P= 0,45$, letras mayúsculas, Figura 5.3c), que fue similar en raíces y hojas verdes ($P= 0,90$, $P= 0,37$ y $P= 0,85$, a los 6, 21 y 50 días, respectivamente). En las hojas verdes el Nddf de *Bromus* fue similar en el tiempo ($P= 0,83$, letras mayúsculas, Figura 5.3a), similar al Nddf en las raíces a los 6 y 21 días ($P= 0,74$ y $P= 0,30$) y mayor a los 50 días ($P= 0,04$, letras minúsculas). El % de Nddf en las hojas verdes de *Poa* fue mayor a los 21 días que a los 6 y 50 días ($P= 0,02$, letras mayúsculas, Figura 5.3b). El % de Nddf en las hojas verdes solamente fue similar al Nddf en las raíces a los 6 días ($P= 0,09$) y fue mayor que en las raíces a los 21 y 50 días (ambos $P< 0,001$, letras minúsculas, Figura 5.3b). El % de Nddf en las hojas verdes de *P. humilis* disminuyó a los 50 días ($P= 0,01$) y fue similar al % en las raíces a los 6, 21 y 50 días ($P= 0,23$, $P= 0,82$ y $P= 0,27$, respectivamente).

Al comparar entre las cuatro especies, se detectó que el % de Nddf en las raíces fue similar entre ellas, a los 6 y 21 días ($P= 0,16$ y $P= 0,05$, respectivamente) y distinto a los 50 días. En ese tiempo, las raíces de *P. speciosa* tuvieron un mayor % de Nddf que las raíces de las demás especies ($P< 0,001$). A los 21 días el % de Nddf en las hojas verdes de *Poa* fue mayor que en las demás especies ($P< 0,001$), mientras que a los 6 y a

los 50 días fue similar (*P*= 0,08, *P*= 0,07). El % de Nddf en las raíces y en las hojas verdes de individuos de *Poa* y de *P. humilis* estuvieron fuerte y positivamente correlacionados (R= 0,67, *P*= 0,04 y R= 0, 73, *P*< 0,001, respectivamente). En cambio en los individuos de *Bromus* y *P. speciosa* ambas variables fueron independientes (R= 0,32, *P*= 0,08 y R= 0,26, *P*= 0,18, respectivamente).

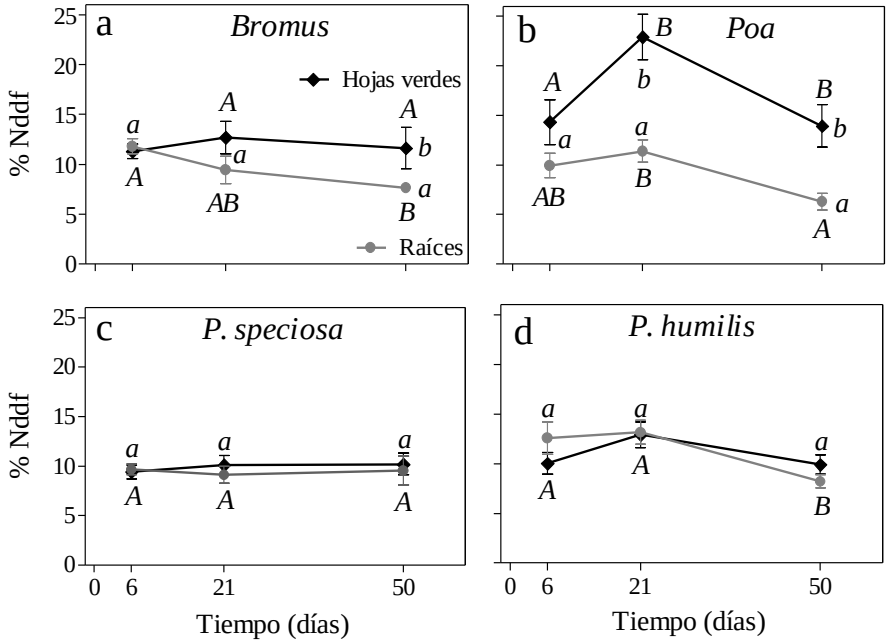

Figura 5.3. Nitrógeno derivado del fertilizante (Nddf) en las raíces y las hojas verdes en *Bromus pictus* (a), *Poa ligularis* (b), *Pappostipa speciosa* (c) y *Pappostipa humilis* (d) en el tiempo (valores medios ± error estándar, n= 10). Las letras minúsculas sobre las líneas indican diferencias significativas entre las raíces y las hojas verdes en un mismo tiempo y las letras mayúsculas indican diferencias significativas en el tiempo para las raíces y para las hojas verdes (*P*< 0,05).

La biomasa seca de hojas verdes (biomasa verde) fue distinta en el tiempo y entre las especies (tiempo x especie: *P*< 0,01, Figura 5.4). Al inicio del experimento, *Bromus* tuvo menor biomasa que las demás especies (*P*< 0,001, letras minúsculas, Figura 5.4). *Bromus* fue la única especie que tuvo similar biomasa verde a lo largo del experimento (*P*= 0,37, letras mayúsculas, Figura 5.4). Después de la segunda cosecha, la biomasa verde de *P. humilis* aumentó en el tiempo (*P*< 0,001). A los 6 días, *Poa* y *P. speciosa* tuvieron más biomasa verde que las otras dos especies (*P*< 0,001). Los individuos de *Poa* y de *P. speciosa* tuvieron más biomasa verde en las últimas dos cosechas que en las primeras (*P*< 0,001). A los 21 días *P. speciosa* tuvo mayor biomasa verde que *Poa* y *P. humilis* y las tres especies tuvieron más biomasa verde que *Bromus* (*P*< 0,001). Al final del experimento, *Poa* y las dos especies de *Pappostipa* tuvieron mayor biomasa verde que *Bromus* (*P*< 0,001).

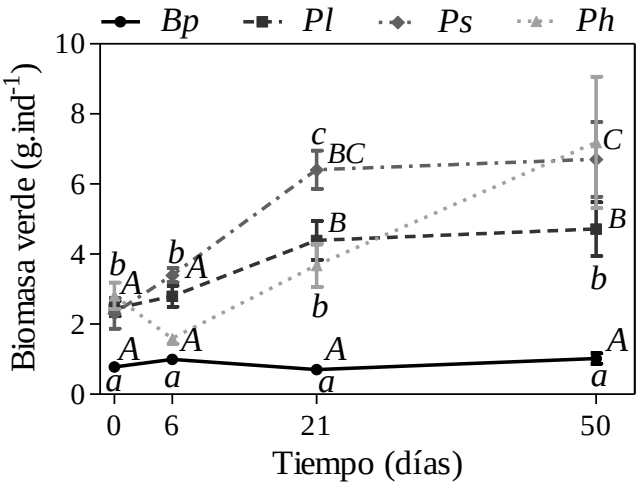

Figura 5.4. Biomasa seca de hojas verdes de los individuos en el tiempo (valores medios ± error estándar, n= 10). Las especies son: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *Ph*, *Pappostipa humilis*. Las letras minúsculas sobre las líneas representan diferencias significativas entre las especies para cada tiempo y las letras mayúsculas representan diferencias significativas en el tiempo para cada especie ($P< 0,05$).

El ^{15}N total contenido en la biomasa verde de los individuos fue distinto en el tiempo y entre especies (tiempo x especie: $P< 0,001$, Figura 5.5). *Bromus* presentó un mayor contenido de ^{15}N a los 50 días que en la fecha inicial, mientras que el contenido fue intermedio a los 6 y 21 días ($P= 0,04$, letras mayúsculas, Figura 5.5). Los individuos de *Poa* tuvieron mayor contenido de ^{15}N a los 21 días que a los 6 días, a los 50 días los valores fueron intermedios y mínimos en el inicio del experimento ($P< 0,001$). En las dos especies de *Pappostipa* el contenido total de ^{15}N en las hojas verdes fue similar (en *P. humilis*) o menor (en *P. speciosa*) en el control que a los 6 días y fue mayor a los 21 y 50 días en ambas ($P< 0,001$). Al inicio del experimento *P. speciosa* tuvo el menor contenido de ^{15}N y *Poa* el mayor ($P< 0,001$, letras minúsculas, Figura 5.5). A los 6 días, *Poa* y *P. speciosa* tuvieron mayor contenido de ^{15}N que las otras dos especies ($P< 0,001$). A los 21 días *Poa* tuvo el mayor contenido de ^{15}N y *Bromus* el menor ($P< 0,001$). Al final del experimento, *Poa* y las dos especies de *Pappostipa* tuvieron mayor contenido de ^{15}N que *Bromus* ($P< 0,001$).

Hubo diferencias en el contenido de humedad en el suelo según el tiempo en el que fue retirada la muestra de suelo y la identidad del individuo foco (tiempo x especie $P< 0,01$, Figura 5.6). Junto a los individuos de las cuatro especies el contenido de humedad en el suelo disminuyó desde la segunda cosecha hasta la última, de un 3,6± 0,7% a un 1,1± 0,03% ($P= 0,001$, letras mayúsculas, Figura 5.6). Al inicio del experimento, el suelo junto a *P. speciosa* contuvo más humedad que el suelo junto *Poa* ($P< 0,01$, letras minúsculas, Figura 5.6). A los 6 días, el suelo próximo a *P. speciosa* contuvo más humedad que el suelo junto *P. humilis* ($P= 0,01$). A los 21 días, el suelo junto a *P. speciosa* contuvo más humedad que el suelo junto *Bromus* y *Poa*, mientras que junto *P. humilis* la humedad del suelo fue intermedia ($P< 0,01$). Al final de experimento, el suelo junto las cuatro especies tuvieron el mismo contenido de humedad ($P= 0,13$).

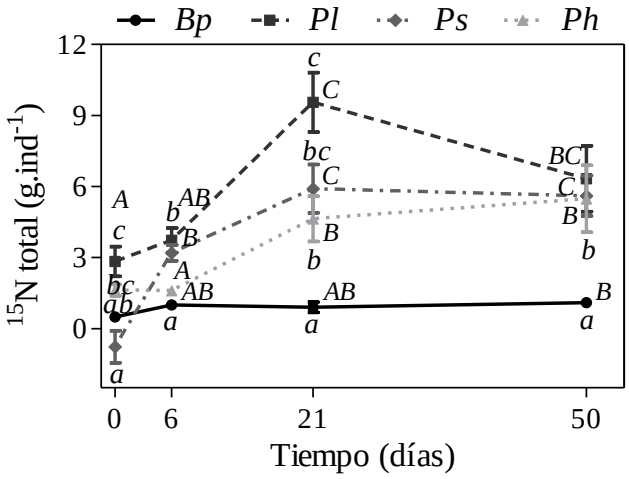

Figura 5.5. Contenido total de ^{15}N (natural + aplicado) en la biomasa seca de las hojas verdes de los individuos en el tiempo (valores medios ± error estándar, n= 10). Las especies son: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *Ph*, *Pappostipa humilis*. Las letras minúsculas sobre las líneas representan diferencias significativas entre las especies para cada tiempo y las letras mayúsculas representan diferencias significativas en el tiempo para cada especie (P< 0,05).

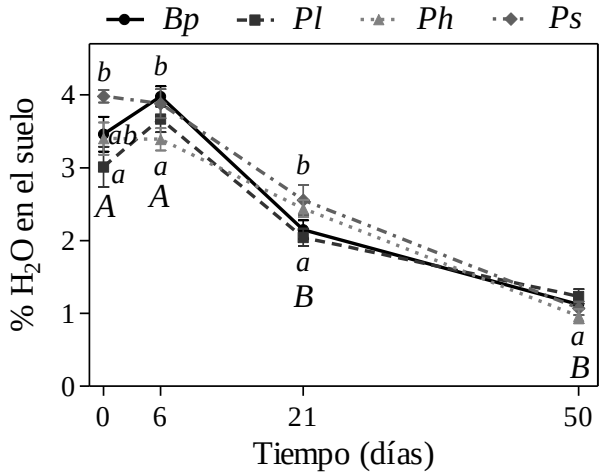

Figura 5.6. Contenido de humedad del suelo junto a los individuos de pastos donde se colocó el ^{15}N (valores medios ± error estándar, n= 10). Las especies de pastos son: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *Ph*, *Pappostipa humilis*. El tiempo 0 días corresponde al control, no tuvo agregado de agua ni ^{15}N Las letras minúsculas sobre las líneas representan diferencias significativas entre las especies para cada tiempo y las letras mayúsculas representan diferencias significativas en el tiempo para las especies (P< 0,05).

La variación en el contenido de humedad, como covariable, solamente tuvo una relación positiva con el % de ^{15}N en las raíces de *Poa* (P< 0,01) y no tuvo relación con sus hojas verdes (P= 0,07). En el resto de las especies no hubo relación (P> 0,05). El contenido de humedad tampoco tuvo relación con el % de Nddf en las raíces ni en las hojas verdes para ninguna de las especies (P> 0,05). El contenido de humedad fue

independiente al % de Nddf de las raíces de *Poa* y de *P. speciosa* (R= 0,11, *P*= 0,59 y R= -0,18, *P*= 0,35, respectivamente). Las mismas variables estuvieron positivamente correlacionadas en las raíces de *Bromus* y de *P. humilis* (R= 0,48, *P*< 0,01 y R= 0,44, *P*= 0,02, respectivamente). El contenido de humedad y el % de Nddf de las hojas verdes fueron independientes en las cuatro especies (R= 0,01, *P*= 0,98 y R= -0,14, *P*= 0,45, R= -0,12, *P*= 0,52 y R= 0,08, *P*= 0,68, en *Bromus*, *Poa*, *P. speciosa* y *P. humilis*, respectivamente).

5.4. DISCUSIÓN

El objetivo de este experimento fue estudiar la absorción de nutrientes, uno de los determinantes de las zonas de influencia y la producción de biomasa en especies mesofíticas (*Bromus* y *Poa*) y xerofíticas (*P. speciosa* y *P. humilis*) en la estepa patagónica. El resultado más relevante del experimento fue que luego de un pulso de N, todas las especies tuvieron una absorción similar del nutriente a los pocos días y una redistribución hacia las hojas verdes. El uso de ^{15}N me permitió distinguir el N nuevo, derivado del fertilizante, del N con otro origen. Si bien la hipótesis propuesta plantea que las especies mesofíticas tienen mayores tasas de absorción de nutrientes (Aerts 1999, Ryser y Eek 2000) y de producción de biomasa verde que las especies xerofíticas, esas diferencias no se observaron de forma generalizada en las especies estudiadas.

Antes de la aplicación del fertilizante, el contenido de ^{15}N natural en las raíces fue similar entre especies, mientras que la concentración en las hojas verdes fue mayor en *Poa* que en *P. speciosa*. Este resultado evidencia algún grado de discriminación en *Poa* para el que actualmente no existe explicación, además no hubo diferencias entre el contenido del ^{15}N natural en las hojas y las raíces. Pocos días después de aplicado el fertilizante marcado, las cuatro especies tuvieron concentraciones de ^{15}N (natural + aplicado) más altas en las hojas verdes y en las raíces. En general, esta respuesta estaría dentro del rango de respuesta observado en diferentes especies herbáceas (McKane et al. 1990, McKane et al. 2002). *P. speciosa* fue la única especie en la que no se detectó cambios en la concentración de ^{15}N en sus raíces a lo largo de todo el experimento. En las hojas verdes de *Poa* se detectó la mayor concentración del N agregado a los 21 días. Esto determinó una dinámica de uso del N aplicado diferente a la de las demás especies, que en esa fecha tuvieron la misma concentración de ^{15}N en sus hojas verdes que en la cosecha anterior. Las hojas verdes de *Bromus* y de *P. speciosa* continuaron teniendo altas concentraciones de ^{15}N en la última cosecha del experimento, casi dos meses después de aplicado el fertilizante. Bajo condiciones de baja disponibilidad de nutrientes, la retención prolongada de los nutrientes adquiridos representa una ventaja competitiva para las especies vegetales (Berendse y Aerts 1987). Sin embargo, en ecosistemas similares, se registró para otra especie mesofítica (*Poa ligularis*) una alta reabsorción de N en hojas antes de senescer, podría esperarse que *Bromus* también tenga una alta eficiencia de reabsorción de N en hojas verdes (Carrera et al. 2000).

En general, los estudios realizados con ^{15}N se conducen en macetas, en condiciones de invernáculo y, en muchos casos, en monocultivo (Li et al. 1992, Danso et al.1993, Vázquez de Aldana y Berendse 1997). En estas condiciones, la concentración de ^{15}N absorbido por gramíneas llegó al 90% (Vázquez de Aldana y Berendse 1997). En este estudio, realizado en el campo y en condiciones de competencia, el % de ^{15}N absorbido (natural y aplicado) por las plantas fue mucho más bajo, aproximadamente el 10% y sólo en el caso de las hojas verdes de *Poa* llegó al

25%. Las especies patagónicas, por tratarse de especies de una estepa semiárida, tienen tasas de crecimiento relativo menores a las utilizadas en el estudio referido, que incluye especies de estepas templadas mésicas. Sin embargo, mis resultados anteriores (Capítulo II) permiten proponer una explicación alternativa. Las zonas de influencia de las gramíneas patagónicas muestran un grado significativo de invasión de especies vecinas, lo que podría explicar este bajo % de absorción. Llamativamente *Poa* tuvo la concentración más alta y fue la especie que mostró la mayor proporción del uso de su zona de influencia (Capítulo II). El uso compartido del suelo por distintas especies está explicado por el solapamiento de raíces que, en general, no ha sido tenido en cuenta. Por ejemplo, Soriano et al. (1987) infirieron la distribución de raíces de las gramíneas dominantes de la estepa patagónica considerando que toda la biomasa de raíces que se encontraba bajo un individuo era del mismo individuo. Este tipo de inferencias subestima la funcionalidad de las especies vecinas en el suelo y sus efectos en la zona de influencia máxima de un individuo foco (ver Schenk et al. 1999 para un caso más general).

El % de Nddf en las raíces en las primeras cosechas fue similar en las 4 especies estudiadas y en general decreció en el tiempo. Sin embargo, el Nddf en las raíces de *P. speciosa* fue constante en el tiempo y fue la única de las cuatro especies en la que no hubo una reducción de su concentración (Figura 5.3c). En la última cosecha *P. speciosa* tuvo un mayor % del Nddf que las demás especies. Esto podría explicar el mantenimiento de una alta concentración de ^{15}N en sus hojas verdes. Por un lado, este patrón indica que ante la presencia de un pulso de nutrientes, *P. speciosa* podría superar a las demás especies en la obtención de nutrientes en el largo plazo. Por otro lado, esta especie se registró con una baja eficiencia de reabsorción de N de hojas verdes a otros órganos, por lo que podría perder el N de las hojas verdes cuando senescen (Carrera et al. 2000). El hecho de no haber analizado el contenido de ^{15}N en las hojas amarillas de los individuos a los que se les agregó ^{15}N representa una limitación en la interpretación de los resultados de este experimento.

Las altas TCR de raíces de *Poa* en el centro de su zona de influencia y la baja invasión por raíces vecinas (Figura 2.4, Capítulo II), podrían determinar una gran influencia de sus raíces en la ocupación del suelo bajo su dosel. La alta concentración de Nddf en las hojas verdes de *Poa* probablemente es una evidencia de la alta influencia de la especie sobre los nutrientes en el centro de su zona de influencia (Figura 5.2b). En general, las hojas verdes resultaron un destino para el ^{15}N más importante que las raíces. Las tasas de crecimiento dependen de las tasas de fotosíntesis y de la absorción de nutrientes, ambas están relacionadas positivamente con la concentración de N en las hojas verdes (Chapin et al. 1993) y negativamente con el diámetro promedio de las raíces. Generalmente cuando las plantas tienen un bajo diámetro promedio radical tienen una alta longitud radical específica (Boot y Mensink 1990), como es el caso de *Poa* en particular y de las especies mesofíticas en general (Leva et al. 2009). Estos atributos radicales específicos favorecen la absorción de nutrientes por las raíces (Ryser y Eek 2000) y aumentan la habilidad competitiva de los individuos (Aerts et al. 1991). En condiciones de monocultivo, luego de crecer 9 días en hidroponía con agregado de N, se detectó que *Poa* tuvo mayor absorción de N que las dos especies de *Pappostipa* (Gherardi et al. 2013).

La especie considerada como la más mesofítica, *Bromus*, tuvo similar biomasa de hojas verdes a lo largo de todo el experimento. La biomasa de las demás especies, *Poa*, también considerada mesofítica y las dos especies de *Pappostipa*, consideradas xerofíticas, aumentó en el tiempo. Graff (2009) propone que en condiciones de baja presión de herbivoría, como la clausura donde se realizó este experimento, la

competencia de las especies xerofíticas puede actuar restringiendo la acumulación de la biomasa de especies mesofíticas, como sería el caso de *Bromus*. Esto ocurre porque cambia el balance de facilitación y competencia de las especies mesofíticas y xerofíticas ante una distinta presión de pastoreo (Graff et al. 2007). Además, en estas condiciones, el intenso efecto de la presencia de vecinas sobre los individuos se evidencia por la reducción de la biomasa acumulada (Graff 2009). La relación entre la concentración de ^{15}N total y la biomasa de hojas verdes por individuo representa un valor que integra el tiempo y la absorción total del ^{15}N aplicado por cada especie (Mommer et al. 2012). A pesar de que los individuos de *Poa* tuvieron valores de biomasa verde similares a los individuos de las dos especies de *Pappostipa*, la absorción total del ^{15}N aplicado por individuos de *Poa* superó a ambas especies. En el mismo área donde se realizó este experimento se detectó que los individuos de *Poa* tienen ocho veces más biomasa verde que los individuos de *Bromus* y cuatro veces más que los individuos de las dos especies de *Pappostipa* (g biomasa verde.m^{-2} de suelo). En condiciones naturales, estas diferencias posicionan a *Poa* como la especie por la que circula la mayor parte del N en la comunidad y por ende que más N aporta a la superficie del suelo a través de su hojarasca, en comparación a las otras tres especies estudiadas (Oñatibia 2013).

La proliferación de raíces así como la dinámica de utilización de los nutrientes por las especies vegetales están determinadas por el tiempo y la estacionalidad de la temperatura y la disponibilidad de agua (Robinson et al. 2003, Dybzinski y Tilman 2007, Rodríguez y Bertiller 2014). La disponibilidad de agua en el suelo ha sido propuesta como un determinante de la absorción de nutrientes por ser el agua el medio por el que se difunden desde el suelo y fluyen hacia y dentro de la planta (Chapin 1980, Escudero 1992, Aerts 1996). La captación del N puede ser acelerada por un incremento en la transpiración relacionada con la demanda del ambiente y con la cantidad de biomasa de la planta (Garnett et al. 2009, White et al. 2013, White y Greenwood 2013). Antes de aplicarse el ^{15}N, hubo diferencias significativas en el contenido de humedad en el suelo según la identidad del individuo más cercano. El suelo en el centro de la zona de influencia de *Poa* contuvo menor humedad que el suelo junto *P. speciosa*. La última, por ser una especie xerofítica, se caracteriza por tener una economía del agua más bien conservativa (Couso 2011). Además este resultado podría ser una evidencia del mayor uso del centro de la zona de influencia por *Poa*, que se explica por las altas TCR de *Poa* y las bajas TCR de *P. speciosa* en ese punto (Capítulo II).

Probablemente, la dinámica general de reducción del contenido hídrico del suelo en el tiempo fue consecuencia de la creciente demanda hídrica del ambiente. En el sitio de estudio, el pico de las pérdidas de agua del suelo por transpiración ocurre durante los meses de la primavera y del principio del verano, cuando la disponibilidad hídrica es alta (Paruelo et al. 1998). Esos fueron los meses que abarcó el experimento. En este experimento el contenido hídrico del suelo junto a los individuos donde se había aplicado el ^{15}N no tuvo un efecto significativo como covariable del % del Nddf que absorbieron las especies. Es decir que la caída del contenido de agua no habría afectado la difusión o el flujo de N hacia la planta, probablemente por la intensa exploración del suelo. Sin embargo, el contenido hídrico se correlacionó positivamente con el Nddf de raíces de *Bromus* y *P. humilis*. En capítulos anteriores se encontró que el crecimiento de las raíces de ambas especies fue muy bajo en su zona de influencia mínima, independientemente del agregado de N (Figura 4.5, Capítulo IV). Probablemente *Bromus* y *P. humilis* tengan una baja influencia sobre el espacio subterráneo lejos de su porción aérea. Ambas especies mayormente ocupan el suelo bajo su base y posiblemente, ante la disminución de los recursos bajo su base, no podrían obtener recursos a distancia de su parte aérea. *Poa* y *P. speciosa*, que tuvieron altas TCR y

extensión de forrajeo lejos de su porción aérea (Figura 4.5 y 4.6, Capítulo IV), presentaron independencia entre el contenido hídrico del suelo y el Nddf de sus raíces.

La disminución en el contenido del Nddf en las raíces en el tiempo no estuvo totalmente explicada por la redistribución a las hojas verdes, ya que cuando hubo relación entre las proporciones del Nddf de las raíces y de las hojas verdes esta fue positiva. La disminución del Nddf en las raíces podría estar explicada en parte por la redistribución a las varas florales (no medida) (Imsande y Touraine 1994) y por la muerte y la descomposición de las raíces finas (Espeleta y Donovan 2002, van der Krift y Berendse 2002, Carrera et al. 2008). La actividad de los descomponedores probablemente también reduce la disponibilidad del N aplicado en el suelo (Chapin et al. 1986). Los atributos morfológicos de las plantas no son los únicos determinantes de la explotación de parches ricos en nutrientes, factores externos como la biomasa y la identidad de la biota del suelo afectan la absorción de N por las plantas (Hodge et al. 1998). En ese sentido, de Kroon et al. (2012) proponen que los patógenos relacionados con las raíces son los que determinan la coexistencia entre las especies vegetales en una comunidad.

Berendse et al. (1992) proponen que la adaptación de las especies vegetales a la baja disponibilidad de recursos edáficos puede seguir dos caminos: el de maximizar la asimilación de nutrientes o el de minimizar su pérdida. En este estudio, por un lado, una de las especies con características mesofíticas maximizó (*Poa*) la asimilación del nutriente derivado del fertilizante en hojas verdes. Probablemente, en condiciones de alta disponibilidad de nutrientes, el rápido crecimiento radical de las especies mesofíticas maximiza la absorción de recursos (Espeleta y Donovan 2002). Por otro lado, una de las especies con características xerofíticas (*P. speciosa*) mantuvo en el tiempo la concentración del nutriente derivado del fertilizante en sus raíces. Las otras dos especies incluidas en el estudio, *Bromus* y *P. humilis*, no tuvieron una respuesta tan clara. Las bajas tasas de crecimiento de las especies xerofíticas detectadas en el centro de su zona de influencia (Figura 2.3, Capítulo II) y posiblemente la longevidad de raíces (Capítulo IV), pueden explicar este patrón.

La reabsorción de nutrientes en las raíces cobra particular importancia en los ecosistemas de regiones áridas y semiáridas, donde una proporción elevada de la biomasa total está representada por la biomasa radical. Carrera y Bertiller (2010) propusieron en un ecosistema similar que la cantidad de materia orgánica que entra al suelo a través de la proliferación, muerte y descomposición de las raíces podría ser el mayor control sobre la fertilidad del suelo. Las diferencias específicas en la eficiencia de reabsorción de N podrían tener consecuencias sobre las tasas de descomposición y mineralización del N (Moretto et al. 2013). Las diferencias en el uso de los distintos puntos de la zona de influencia podrían ser las principales determinantes de las diferencias en la abundancia relativa de las especies. Las especies dominantes de la comunidad, *Poa* y *P. speciosa*, maximizan la extensión de sus sistemas radicales (Figura 4.6, Capítulo IV) y capturarían gran parte de los recursos del suelo cerca y lejos de su base (respectivamente). El capítulo siguiente, el último de la tesis, contiene una discusión integradora y general de los resultados más relevantes de este capítulo y de los anteriores. Además incluye una visión integral de la organización y el funcionamiento subterráneo de la comunidad y posibles aplicaciones sobre otras comunidades.

Capítulo VI
Discusión general

En este capítulo presento las conclusiones de mi tesis mediante el punteo de los resultados más relevantes de los capítulos experimentales y su relación con los objetivos e hipótesis puestos a prueba en los estudios. También discuto de qué manera mi trabajo puede representar un avance para el conocimiento actual de la estructura y del funcionamiento de sistemas radicales en comunidades esteparias. Haré referencia a la relevancia de haber realizado los estudios en condiciones naturales para el conocimiento ecológico general y de su aporte al entendimiento de los controles en la estepa estudiada, que podrían aplicarse a otros sistemas áridos y semiáridos similares. El capítulo finaliza con una lista de las perspectivas de próximas investigaciones con las cuales seguir, que se desprenden de los resultados obtenidos y de las nuevas hipótesis propuestas.

6.1. MOTIVACIÓN, HIPÓTESIS Y RESULTADOS PRINCIPALES

El estudio de la estructura subterránea en sistemas naturales está cada vez más difundido y valorado (Robinson 1994, Caldwell et al. 1996, Hodge 2009, de Kroon et al. 2012). La utilización de la clave de identificación de raíces desarrollada por Leva et al. (2009) me permitió describir, en condiciones naturales, el uso del espacio subterráneo por los pastos dominantes en una estepa patagónica. El primer objetivo de mi tesis fue determinar en qué medida el centro de la zona de influencia es invadido por especies vecinas (Capítulo II). De las dos hipótesis alternativas propuestas, rechacé la primera, que establece el uso exclusivo del espacio subterráneo en la zona de influencia máxima de un individuo (hipótesis respaldada por Soriano et al. 1987 en el sitio de estudio y por varias revisiones internacionales referidas en capítulos anteriores). El espacio subterráneo es usado por raíces de 2 a 4 especies. Sin embargo, las tasas de crecimiento de la especies foco determina cómo será el uso del suelo (segunda hipótesis propuesta). Las especies de crecimiento rápido (mesofíticas) tienen mayor uso del espacio bajo su porción aérea y menor invasión por raíces vecinas que las especies de crecimiento lento (xerofíticas). A pesar de que aún en clausuras (como en la que se realizaron los experimentos) las especies xerofíticas dominan la porción aérea, en general, no dominan el espacio bajo su porción aérea, que es ocupado por raíces vecinas tanto como por sus propias raíces. Debido a esto, las especies descriptas como mesofíticas (Capítulo I) fueron más territoriales que las xerofíticas. Es importante señalar que debido a la corta duración de este primer ensayo las raíces que encontré en la zona de influencia máxima eran mayoritariamente activas y por lo tanto compartían el uso de ese volumen de suelo.

El segundo objetivo de mi tesis fue indagar en los mecanismos de solapamiento y proliferación de raíces bajo parches de suelo desnudo. Bajo suelo desnudo se estima que la influencia de los individuos es mínima aunque no nula (Casper et al. 2003). Para cumplir este objetivo desarrollé dos estudios de diferente duración, en los que generé trampas de raíces con distinto agregado de N y C (Capítulos III y IV). En el Capítulo III exploré la influencia de las distintas especies de la comunidad sobre los parches de suelo desnudo. Se había propuesto que el solapamiento de las raíces en el mismo

volumen de suelo podría estar explicado por la alta concentración de nutrientes (tercera hipótesis propuesta). Sin embargo, mis resultados son una evidencia de la escasa o ausente respuesta al agregado de nutrientes, en cuanto a la riqueza de la comunidad de raíces. Raíces de 2 a 4 especies colonizaron las trampas aún en el lapso más corto estudiado, que incluía meses con bajas temperaturas pero máxima disponibilidad de agua, independientemente de la disponibilidad de N en el sustrato que contenían. A partir de estas evidencias propongo una independencia entre el solapamiento de las raíces de las distintas especies y la concentración de nutrientes. Ante el agregado de N solamente aumentó la producción de raíces. Aparentemente esa diferencia estuvo explicada por un incremento en la TCR de la especie xerofítica que domina la porción aérea (*Pappostipa speciosa*). En otros estudios, en condiciones controladas, esta misma especie fue la única que mostró un aumento en la biomasa radical en respuesta a la sequía (Couso 2011). A partir de la combinación de estos resultados, propongo que, en la comunidad estudiada, la especie xerofítica dominante es la más propensa a responder ante cambios en el ambiente subterráneo. Probablemente dicha respuesta podría relacionarse más con el tamaño relativamente grande de sus individuos (Schwinning y Weiner 1998) que con su crecimiento lento.

En el Capítulo IV investigué el mecanismo de forrajeo de los nutrientes por las raíces en el tiempo, desde plazos cortos (como en los primeros estudios) hasta plazos intermedios en los que seguramente se incluye la muerte de raíces. La generación de sustratos con distinto agregado de nutrientes me permitió profundizar el estudio del funcionamiento de las distintas especies, en cuanto al uso del suelo. Describí en el tiempo, cómo se extienden las raíces en un volumen de suelo con agregado de N y cuánto más proliferan las raíces en dicho volumen que en suelo sin agregados. El debate de la relación entre la extensión ("scale") y la precisión de forrajeo ha sido importante en la ecología durante las últimas décadas (Campbell et al. 1991, Hutchings y de Kroon 1994, Fransen et al. 1999, Hodge et al. 1999, Kembel y Cahill 2005, de Kroon y Mommer 2006, Kembel et al. 2008, Tian y Doerner 2013). Sin embargo, no se ha encontrado un patrón general probablemente porque la mayoría de los experimentos presentados en las publicaciones toman casos puntuales en lugar de establecer jerarquías entre las especies estudiadas (Mommer et al. 2012). En mi estudio establecí una jerarquía entre las especies (de más mesofíticas a más xerofíticas) que se relaciona con las TCR y además trabajé en condiciones naturales, que es algo poco común. Detecté que ambas variables se relacionaban positivamente cuando las raíces estaban activas y cuando empezaban a morir y a descomponerse (primeras dos cosechas). En cambio, la extensión y la precisión fueron independientes en el plazo más largo del experimento (última cosecha, que asume, además de la muerta y descomposición, una recolonización por raíces). La incorporación del tiempo fue original y clave en el estudio de los mecanismos de forrajeo, ya que permitió incorporar tres aspectos claves y hasta ahora no tratados individualmente: las especies de crecimiento lento, la descomposición y la nueva colonización por raíces.

Detecté una correlación negativa entre la precisión y las TCR bajo suelo desnudo, en contra de lo propuesto en la cuarta hipótesis (Fransen et al. 1999), que fue rechazada, y una correlación fuerte y positiva entre la extensión de forrajeo y las TCR. Las especies dominantes de la comunidad fueron las que tuvieron mayor influencia bajo suelo desnudo (amplia extensión y alto crecimiento). No hubo una concordancia exacta entre las especies de crecimiento rápido y lento (i. e. mesofíticas y xerofíticas) con sus TCR bajo parches de suelo desnudo. Las especies dominantes (una mesofítica y una xerofítica) tuvieron una gran extensión de sus raíces, mientras que una de las especies raras (mesofítica) tuvo mayor precisión en el largo plazo. Estos resultados apoyan lo

propuesto por Campbell et al. (1991). Las especies dominantes de la comunidad, maximizan la extensión de sus sistemas radicales y capturarían gran parte de los recursos del suelo. Las especies raras maximizan la precisión aumentando la superficie radical en los parches ricos en nutrientes que se encuentran en los intersticios entre las zonas de agotamiento generadas por las especies dominantes. Se ha propuesto que esta diferenciación contribuye a la coexistencia entre las especies de una comunidad (Campbell et al. 1991, Grime y Mackey 2002, Kembel y Cahill 2005).

Las especies con TCR más altas fueron las que más biomasa muerta perdieron por descomposición en el tiempo estudiado, por lo que acepté la quinta hipótesis propuesta. La disminución de la producción de raíces en las cosechas sugiere que ocurre una pérdida de biomasa así como una reducción del crecimiento de raíces dentro de las trampas. La colonización por raíces parece estar explicada por la época del año. En otro estudio detectaron que el crecimiento inverno-primaveral de raíces finas de especies similares es alta (Rodríguez et al. 2007). La reducción de la biomasa de raíces luego de ese periodo parece estar explicada por la pérdida de biomasa por descomposición (Goebel et al. 2011). Haber trabajado con más de un tamaño de trampas de raíces podría haber permitido dilucidar si hubo una saturación de raíces dentro de las trampas. Luego de un segundo periodo inverno-estival, las raíces de las especies son capaces de volver a proliferar en un volumen de suelo ocupado por raíces (Capítulo IV).

El tercer objetivo fue determinar las diferencias específicas de la absorción de nutrientes. Este atributo de las especies es otro determinante de la influencia de las especies en el suelo, además de la proliferación de raíces. Mis datos corroboraron que no hubo diferencias contundentes entre las especies mesofíticas y xerofíticas en cuanto a la absorción y al uso de N (sexta hipótesis, que fue rechazada). En el centro de la zona de influencia, la absorción de ^{15}N fue distinta al uso del espacio (Capítulo II), las especies no se comportaron según su crecimiento rápido o lento. Solo una de las especies mesofíticas (la dominante en la estepa patagónica, *Poa*) absorbió más ^{15}N que las demás, aunque al final del experimento (dos meses después de la aplicación) la concentración de ^{15}N fue similar en las cuatro especies estudiadas. Ambas especies xerofíticas conservaron las altas concentraciones del ^{15}N derivado del fertilizante en las hojas verdes en el tiempo, lo que hace referencia a la longevidad de sus hojas verdes y una estrategia conservativa del N. Sin embargo, se registraron distintas longevidades de las hojas verdes según la especie, siendo *P. speciosa* la especie con hojas más longevas (190 días), en relación a *Poa* (121 días) (Campanella y Bertiller 2011). La especie xerofítica dominante presentó una mayor concentración del ^{15}N en las raíces que las demás especies en el final del experimento. Se ha propuesto que las gramíneas xerofíticas tienen tejidos longevos que contribuyen a aumentar el tiempo de residencia de los nutrientes en la planta y posiblemente la eficiencia en su uso como así también una baja eficiencia en la reabsorción de N en hojas verdes antes de su senescencia (Eissenstat y Yanai 1997, Vázquez de Adana y Berendse 1997, Carrera et al. 2000, Bertiller et al. 2005). En esta tesis no se midió el contenido de ^{15}N en hojas senescentes y tampoco se cuantificó el ^{15}N absorbido por las raíces de las especies vecinas, que posiblemente expliquen una alta proporción del ^{15}N aplicado, no hallado en las plantas foco. Ambos representan una limitación en la interpretación de los resultados al igual que la ausencia de controles verdaderos del experimento (plantas foco sin agregado de ^{15}N ni agua, solo agregado de ^{15}N o solo agregado de agua). Sin embargo, trabajos muy influyente, como los de McKane et al. (1990 y 2002), también carecen de controles sin agregado de ^{15}N.

A partir de los resultados más relevantes de mi tesis, considero que la descripción de la zona de influencia en cuanto a la ocupación del espacio subterráneo es

un buen indicador de su uso, por representar la ocupación preventiva del suelo libre de raíces (Casper et al.2003, de Kroon 2007). El estudio de los mecanismos de forrajeo representó una aproximación interesante de los resultados de mi experimento (Capítulo IV), por relacionar el funcionamiento de las raíces con el agregado de nutrientes. Además, considero que representa un aporte sustancial al debate establecido, ya que todos los experimentos se realizaron en el campo y con muestras independientes. Los trabajos citados exploran los mecanismos de forrajeo comparando raíces de un mismo individuo que crece en condiciones con y sin agregado de nutrientes en una misma maceta. Además considero fundamental el estudio de distintos puntos de la zona de influencia y la incorporación del factor tiempo para entender la dinámica (Casper et al.2003, Kembel y Cahill 2005). Los mecanismos de solapamiento y proliferación de raíces precisan ser complementados por los mecanismos de descomposición de raíces y de absorción de nutrientes para dilucidar su funcionamiento (Hodge et al. 1998, de Kroon 2007, Goebel et al. 2011).

6.2. CONTRIBUCIONES DE ESTA TESIS: RELEVANCIA PARA EL ESTADO ACTUAL DEL CONOCIMIENTO

En mi tesis, por un lado, profundicé el conocimiento de los controles de la proliferación de raíces y del solapamiento de las zonas de influencia subterránea de los pastos dominantes de una estepa patagónica. Por otro lado, aumenté la comprensión de la coexistencia subterránea de las especies vegetales, mediante el estudio de la extensión y la precisión de forrajeo y de la absorción y el uso de N, en cuanto al transporte a las raíces y las hojas y a la producción de hojas nuevas. En las próximas secciones se proponen aplicaciones de algunos de los resultados de esta tesis.

6.2.1. LA LONGITUD RADICAL ESPECÍFICA COMO PREDICTORA DE LA INVASIÓN POR RAÍCES DE ESPECIES VECINAS

A lo largo de esta tesis, se demostró que la identificación de especies por las características morfológicas de sus raíces es una forma precisa de estudiar la organización de los sistemas radicales en condiciones naturales. Sin embargo, la mayoría de los sistemas constan de numerosas especies que conformar un mismo grupo funcional cuyas raíces no son fáciles de distinguir. Ante el objetivo de explorar las interacciones subterráneas entre las especies que coexisten en una comunidad vegetal, propongo que las TCR subterráneas representan un buen predictor del grado de invasión por vecinos (Capítulo II). Sin embargo, sin la posibilidad de identificar a las especies por sus raíces, esta variable es difícil de estimar. Por esa razón, correlacioné las TCR de las plantas foco obtenidas en el campo en condiciones de comunidad, presentadas en el Capítulo II, con distintas variables radicales obtenidas por Leva et al. (2009) para las mismas especies pero en condiciones controladas y de aislamiento.

Encontré que había una alta relación entre las TCR de mi estudio y la longitud radical específica (LRE) del estudio de Leva et al. (2009) (r^2= 0,76, F= 9,52, *P*= 0,05, Figura 6.1). Esto sugiere que la LRE en condiciones de aislamiento (relativamente sencilla de estimar) podría ser un buen predictor de la composición de la zona de influencia de las especies (grado de vulnerabilidad al crecimiento de especies vecinas) en condiciones de competencia. La LRE es la relación entre la longitud potencial de las

raíces y la biomasa radical y refleja la superficie de absorción por unidad de biomasa radical (Nicotra et al. 2002). Las TCR y la LRE son atributos funcionales asociados con la habilidad de absorber nutrientes y agua y explican algunas de las diferencias observadas en la habilidad competitiva entre las especies (Saint Pierre et al. 2002). En un experimento con dos especies creciendo bajo distinta disponibilidad de N, Mommer et al. (2012) detectaron que las especies que tenían los LRE más altos también tenían las mayores TCR. Las altas TCR pueden facilitar la ocupación preventiva del suelo lo que le permitirá al individuo que ocupe primero un volumen de suelo absorber los recursos edáficos antes que otras especies (de Kroon et al. 2003, Mommer et al. 2012) y tener una mayor habilidad competitiva (Hodge 2004) en relación a especies con TCR bajas.

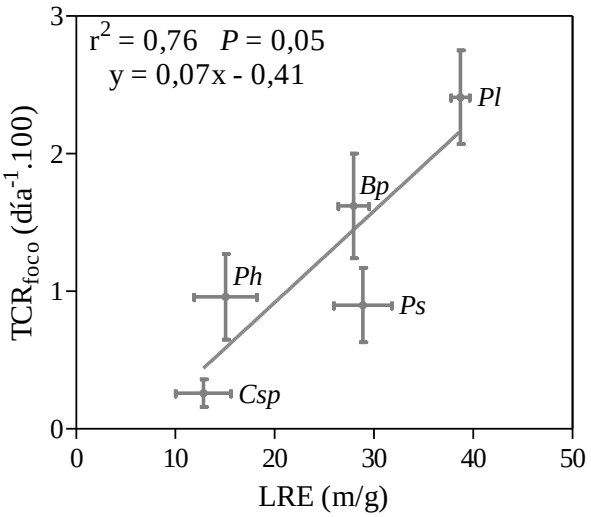

Figura 6.1. Relación entre la tasa de crecimiento relativa de raíces foco (TCR_{foco}, n= 10), en condiciones de competencia (Capítulo II), y la longitud relativa específica (LRE), en condiciones de aislamiento (valores de Leva et al. 2009). Las especies son: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*, *Pappostipa speciosa*; *Csp*, *Carex* sp; *Ph*, *Pappostipa humilis*. Cada punto representa el valor medio y las líneas los errores estándar de ambas variables. La línea que conecta los puntos representa el Modelo Ajustado de los datos.

6.2.2. ¿CUÁN UTILES SON LOS ESTUDIOS EN CONDICIONES CONTROLADAS PARA INFERIR SOBRE LA EXTENSIÓN DE FORRAJEO EN EL CAMPO?

El conocimiento de la densidad o extensión que ocupan las raíces podría ser un buen indicador de la zona de influencia de las especies. Muchos estudios han medido la extensión de los sistemas radicales de plantas creciendo en macetas (Einsmann et al. 1999, Farley y Fitter 1999, Wijesinghe et al. 2001, Rajaniemi y Reynolds 2004), probablemente por la sencillez del trabajo. Sin embargo, su medición en el campo tiene la dificultad de extraer y separar las raíces del suelo y de clasificarlas por especie. La utilización de dispositivos o trampas de raíces permitió generar micro-volúmenes conocidos de suelo con alto agregado de N lo que representó una herramienta eficaz

para el estudio de la densidad de raíces de distintas especies que conforman la comunidad estudiada.

Con el objetivo de contrastar la densidad de raíces en el campo y en macetas realicé un análisis en el que se incorporó la extensión de forrajeo (expresada como densidad específica de raíces en trampas N+), a los 6 meses de la fertilización (Capítulo III). Además se incorporaron al análisis otras dos condiciones, densidad de raíces de plantas creciendo relativamente aisladas en el campo (Capítulo V, resultados no mostrados) y de plantas creciendo en monocultivo en macetas (experimento no incluido en la tesis). En ambas condiciones, el agregado de N fue similar al de las trampas (4 gN/m^2) pero de forma tópica (metodología de aplicación de ^{15}N desarrollada en el Capítulo V). La densidad radical fue calculada a partir del sistema radical extraído de 3600 cm^3, mediante la perforación de un hueco con ese volumen en el campo o por el volumen total de suelo contenido en la maceta, respectivamente. En ambas mediciones a campo, el suelo recibió un acumulado de 63± 1 mm de precipitaciones en los últimos 6 meses.

La extensión de forrajeo medida en las trampas de raíces fue similar a la medida en el sistema radical completo en el campo (Figura 6.2). En ambos casos, las especies difirieron en la extensión. Las especies dominantes de la porción aérea, *Poa* y *P. speciosa*, presentaron la mayor extensión en ambas condiciones (P= 0,02 y P< 0,001, respectivamente). La extensión de forrajeo medida en los sistemas radicales completos de las plantas creciendo en maceta fue similar entre especies (P= 0,20). La extensión medida en las trampas parece ser un buen estimador de la densidad radical de las especies, mientras que las mediciones en monocultivo podrían subestimar las diferencias entre especies. Para avanzar con el conocimiento de la funcionalidad de las raíces es necesario ir más allá del estudio con plantas aisladas y centrarse en el estudio de las comunidades naturales y multiespecíficas (Pregitzer et al. 2002, Hodge 2004, Kembel y Cahill 2005, Goebel et al. 2011).

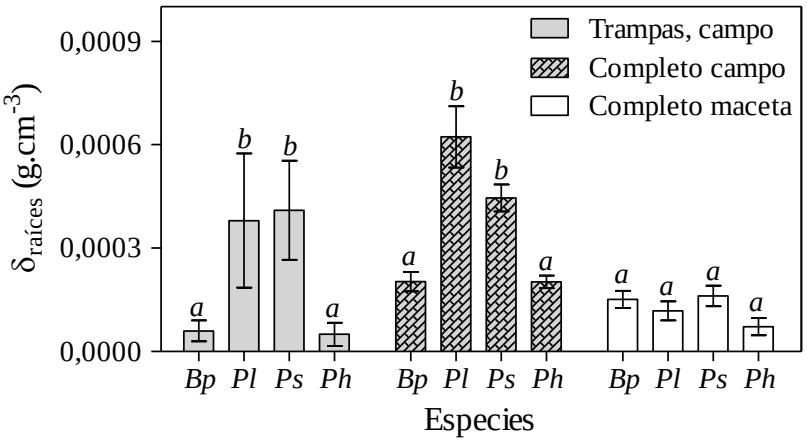

Figura 6.2. Extensión de forrajeo en cuanto a la densidad de raíces (biomasa específica/volumen de suelo) en: trampas de raíces enterradas en el campo (con sustrato N+= suelo + 4 gN/m^2, n= 10), a los 6 meses de la fertilización; 3600 cm^3 de suelo en el campo (fertilización tópica N+= 4 gN/m^2, n= 10), a los 50 días de la fertilización; 3600 cm^3 de suelo en macetas en invernáculo (fertilización tópica N+= 4 gN/m^2, n= 5), a los 15 días de la fertilización (valores medios ± error estándar). Las especies son: *Bp*, *Bromus pictus*; *Pl*, *Poa ligularis*; *Ps*,

Pappostipa speciosa; *Ph*, *Pappostipa humilis*. Las letras minúsculas sobre las barras representan diferencias significativas entre las especies dentro de cada experimento.

6.3. CONTRIBUCIONES DE ESTA TESIS: RELEVANCIA PARA LOS AGROECOSISTEMAS PATAGÓNICOS

A lo largo de mi tesis caractericé los controles y el funcionamiento de la porción subterránea de la comunidad de pastos de la estepa patagónica, donde el pastoreo por herbívoros domésticos es el uso principal. Sin embargo, todos los estudios incluidos se realizaron en ausencia de herbívoros, lo que ayuda a entender los mecanismos subterráneos sin la presión del pastoreo, que es sin dudas el control más fuerte del sistema (Graff 2009, Graff y Aguiar 2011, Oñatibia 2013). En condiciones de pastoreo, hay una tendencia a la agregación entre individuos de especies con distinta palatabilidad, en la que las palatables (mesofíticas) reciben protección contra el pastoreo de ovejas cuando crecen cerca de las no palatables (xerofíticas), facilitando su instalación (Graff et al. 2007). Propongo que el solapamiento interespecífico es el mecanismo que permite la agregación de distintas especies en el mismo volumen de suelo. Las especies mesofíticas serían capaces de crecer junto a las xerofíticas porque las últimas no son territoriales en el uso del espacio subterráneo cerca de su porción aérea. Aparentemente no hay ninguna inhibición del crecimiento de raíces nuevas por la presencia previa de raíces. Esto permite la facilitación entre especies palatables y no palatables. El uso compartido del espacio subterráneo cerca y lejos de la porción aérea de los pastos es la norma en la estepa patagónica estudiada.

6.4. PERSPECTIVAS

El suelo es un medio complejo que incluye interacciones con microorganismos relacionados con la rizósfera además de las interacciones entre las raíces vecinas (McConnaughay y Bazzaz 1991, 1992, Hodge 2009, Croft et al. 2012). Los atributos morfológicos y las tasas de crecimiento de las plantas no son los únicos determinantes de la explotación de parches ricos en nutrientes, el agua es un factor básico en las interacciones entre las raíces y entre las raíces y el suelo. En particular, operativamente resulta más complicado mantener por algún tiempo una señal de mayor disponibilidad de agua que de nitrógeno. En esta tesis se ha explorado extensamente el efecto del agregado de N en la proliferación de raíces, aunque no se incorporó el agregado de agua como un tratamiento ni en la interpretación de muchos de los resultados. Dicha incorporación, a nivel micrositio, representa una contribución al entendimiento de la proliferación de raíces en el sistema estudiado. Otros factores como la biomasa e identidad de la biota del suelo afectan la absorción de N por las plantas (Hodge et al. 1998). de Kroon et al. (2012) proponen, en su revisión de estudios de campo, que los patógenos relacionados con las raíces son los que determinan la coexistencia entre las especies vegetales en una comunidad (conformada por especies más mesofíticas que las incluidas en esta tesis). En otros estudios, se demostró que ante un agregado de N las plantas detectan y absorben una mayor proporción del N agregado del que es inmovilizado en la biomasa microbiana, mientras que ante la baja disponibilidad de N el patrón es contrario (Hodge et al. 2000).

A partir de los avances alcanzados en mi tesis, la realización de experimentos que combinan especies de pastos que difieren en el uso del suelo y de los recursos podría indicar cuán importante es la actividad de los microorganismos en relación a la diferenciación de nicho y a la coexistencia de los pastos (de Kroon et al. 2012, Hodge y Fitter 2013). El objetivo principal de estos experimentos sería explorar las interacciones entre las diferentes especies de los pastos y los microorganismos del suelo, en condiciones naturales. Mediante la generación de parcelas que incluyan parches de vegetación y de suelo desnudo, podría determinarse la respuesta de las raíces a nivel comunidad, al agregado de carbono lábil, limitante para los microorganismos del suelo, y al nitrógeno, limitante para ambos. En las mismas parcelas, podría determinarse la respuesta de los microorganismos al agregado de carbono y nitrógeno, en cuanto a la liberación de CO_2 (como indicador de su actividad) y a la biomasa microbiana. El estudio de la descomposición específica de raíces bajo parches con biomasa vegetal concentrada *vs* dispersa podría completar los estudios anteriores, por aislar el efecto de las especies sobre la actividad de los microorganismos descomponedores y el control ambiental que ejerce el mosaico de vegetación sobre la descomposición.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aerts R, Berendse F (1989) Above-ground nutrient turn-over and net primary production of an evergreen and a deciduous species in a heathland ecosystem. Journal of Ecology 77: 343-356.

Aerts R, Boot RGA, van der Aart PJM (1991) The relation between above- and belowground biomass allocation patterns and competitive ability Oecologia 87: 551-559.

Aerts R (1996) Nutrient resorption from senescing leaves of perennials are there general patterns? Journal of Ecology 84: 597-608.

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

Aguiar MR, Soriano A, Sala OE (1992) Competition and facilitation in the recruitment of seedlings in Patagonian steppe. Functional Ecology 6: 66-70.

Aguiar MR, Sala OE (1994) Competition, facilitation, seed distribution, and the origin of patches in a Patagonian steppe. Oikos 70: 26-34.

Aguiar MR, Sala OE (1998) Interactions among grasses, shrubs and herbivores in Patagonia grass shrubs steppes. Ecología Austral 8: 201-210.

Aguiar MR, Sala OE (1999) Patch structure, dynamics and implications for the functioning of arid ecosystems. Trends of Ecology and Evolution 14: 273-277.

Aphalo PJ, Ballaré CL (1995) On the Importance of Information- Acquiring Systems in Plant-Plant Interactions. Functional Ecology 9: 5-14.

Ares J (1976) Dynamics of the root system of blue grama. Journal of Range Management 29: 208-213.

Armas C, Pugnaire FI (2011a) Belowground zone of influence in a tussock grass species. Acta Oecologica 37: 284-289.

Armas C, Pugnaire FI (2011b) Plant neighbour identity matters to belowground interactions under controlled conditions. PLoSONE 6: e27791.

Austin AT, Sala OE, Jackson RB (2006) Inhibition of Nitrification Alters Carbon Turnover in the Patagonian Steppe Ecosystems 9: 1257-1265.

Austin AT, Araujo PI, Leva PE (2009) Interaction of position, litter type, and water pulses on decomposition of grasses from the semiarid Patagonian steppe. Ecology 90: 2642-2647.

Austin AT (2011) Has water limited our imagination for arid land biogeochemistry? Trends in Ecology and Evolution 5: 229-235.

Beltrán A (1997) Caracterización microclimática del Distrito Occidental de la estepa Patagónica. Tesis de Maestría. Escuela para Graduados Alberto Soriano, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires.

Berendse F, Aerts R (1987) Nitrogen-use-efficiency: A biologically meaningful definition? Functional Ecology 1: 293-296.

Berendse F, Oudhof H, Bol J (1987) A comparative study on nutrient cycling in wet heath land ecosystems. Litter production and nutrient losses from the plant. Oecologia 74: 174-184.

Berendse F, Elberse WT, Geerts RHME (1992) Competition and nitrogen loss from plants in grassland ecosystems. Ecology 73: 46-53.

Berendse F, de Kroon H, Braakhekke WG (2007) Acquisition, use and loss of nutrients. En: Pugnaire FI, Valladares F. (eds.) Functional plant ecology. CRC Press.

Bertiller MB, Beeskow AM, Coronato F (1991) Seasonal environment variation and plant phenology in arid Patagonia (Argentina). Journal of Arid Environments 21: 1-11.

Bertiller MB, Sain CL, Carrera AL, Vargas DN (2005) Patterns of nitrogen and phosphorus conservation in dominant perennial grasses and shrubs across an aridity gradient in Patagonia, Argentina. Journal of arid environments 62: 209-223.

Bliss KM, Jones RH, Mitchell RJ, Mou PP (2002) Are competitive interactions influenced by spatial nutrient heterogeneity and root foraging behavior? New Phytologist 154: 409-417.

Böhm W (1979) Methods of studying root systems. Springer Verlag, Berlin.

Boot RG, Mensink M (1990) Size and morphology of root systems of perennial grasses from contrasting habitats as affected by nitrogen supply. Plant & Soil 129: 291-299.

Bray RH (1954) A nutrient mobility concept of soil-plant relationships. Soil Science 67: 8-11.

Cahill JF, Casper BB (2000) Investigating the relationship between neighbor root biomass and belowground competition: field evidence for symmetric competition belowground. Oikos 90: 311-320.

Cahill JF (2003) Lack of relationship between below-ground competition and allocation to roots in 10 grassland species. Journal of Ecology 91: 532-540.

Cahill JF, McNickle GG, Haag JJ, Lamb EG, Nyanumba SM, St.Clair CC (2010) Plants integrate information about nutrients and neighbors. Science 328: 1657.

Caldwell MM, Eissenstat DM, Richards JH, Allen MF (1985) Competition for phosphorus: differential uptake from dual-isotope-labeled interspaces between shrub and grass. Science 229: 384-386.

Caldwell MM, Richards JH, Manwaring JH, Eissenstat DM (1987) Rapid shifts in phosphate acquisition show direct competition between neighbouring plants. Nature 327: 615-616.

Caldwell MM, Eissenstat DM (1987) Coping with variability: examples of tracer use in root function studies. En: Tenhunen JD, Catarino FM, Lange OL, Oechel WC (eds.). Plant response to stress- Functional analysis in Mediterranean Ecosystems. Springer Verlag, Berlin.

Caldwell MM, Manwaring JH, Durham SL (1996) Species interactions at the level of fine roots in the field: influence of soil nutrient heterogeneity and plant size. Oecologia 106: 440-447.

Campanella MV, Bertiller MB (2011) Is N-resorption efficiency related to secondary compounds and leaf longevity in coexisting plant species of the arid Patagonian Monte, Argentina. Austral Ecology 36: 395-402.

Campbell BD, Grime JP, Mackey JML (1991) A trade-off between scale and precision in resource foraging. Oecologia 87: 532-538.

Carrera AL, Sain CL, Bertiller MB (2000) Patterns of nitrogen conservation in shrubs and grasses in the Patagonian Monte, Argentina. Plant & Soil 224: 185-193.

Carrera AL, Bertiller MB, Sain CL, Mazzarino MJ (2003) Relationship between plant nitrogen conservation strategies and the dynamics of soil nitrogen in the arid Patagonian Monte, Argentina. Plant & Soil 255: 595-604.

Carrera AL, Bertiller MB, Larreguy C (2008) Leaf litterfall, fine-root production, and decomposition in shrublands with different canopy structure induced by grazing in the Patagonian Monte, Argentina. Plant & Soil 311: 39-50.

Carrera AL, Bertiller MB (2010) Relationships among plant litter, fine roots, and soil organic C and N across an aridity gradient in northern Patagonia, Argentina. Ecoscience 17: 276-286.

Casper BB, Jackson RB (1997) Plant competition underground. Annual Review of Ecology and Systems 28: 545-570.

Casper BB, Schenk HJ, Jackson RB (2003) Defining a plant's belowground zone of influence. Ecology 84: 2313-2321.

Chapin III FS (1980) The mineral nutrition of wild plants. Annual Review of Ecology and Systematics 11: 233-260.

Chapin III FS, Vitousek PM, van Cleve K (1986) The nature of nutrient limitation in plant communities. The American Naturalist 127: 48-58.

Chapin III FS, Bloom AJ, Field CB, Waring RH (1987) Plant responses to multiple environmental factors. BioScience 37: 49-57.

Chapin ES, Moilanen L, Kielland K (1993) Preferential use of organic nitrogen for growth by a non-mycor-rhizal arctic sedge. Nature 361: 150-153.

Cipriotti PA, Aguiar MR (2005a) Effect of grazing on patch structure in a semi-arid two-phase vegetation mosaic. Journal of Vegetation Science 16: 57-66.

Cipriotti PA, Aguiar MR (2005b) Interspecific competition interacts with the spatial distribution of a palatable grass to reduce its recruitment. Rangeland Ecology & Management 58: 393-399.

Cipriotti PA (2006) La dinámica de los parches de vegetación en la estepa Patagónica. Tesis de Doctorado. Escuela para Graduados Alberto Soriano, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires.

Couso LL (2011) Mecanismos de tolerancia a sequía y sus efectos sobre la habilidad competitiva de pastos de la estepa patagónica. Tesis de Doctorado. Escuela para Graduados Alberto Soriano, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires.

Couso LL, Fernández RJ (2012) Phenotypic plasticity as an index of drought tolerance in three Patagonian steppe grasses. Annals of Botany 110: 849-857.

Croft SA, Hodge A, Pitchford JW (2012) Optimal root proliferation strategies: the roles of nutrient heterogeneity, competition and mycorrhizal networks. Plant & Soil 351: 191-206.

Czaran T, Bartha S (1992) Spatiotemporal dynamic models of plant populations and communities. Trends in Ecology and Evolution 7: 38-42.

Danso SKA, Hardarson G, Zapata F (1993) Misconceptions and practical problems in the use of soil enrichment techniques for estimating N_2 fixation. Plant & Soil 152: 25-52.

Dybzinski R, Tilman D (2007) Resource use patterns predict long-term outcomes of plant competition for nutrients and light. The American Naturalist 170: 305-318.

Eissenstat DM, Yanai RD (1997) The ecology of root lifespan. Advances in Ecological Research 27: 1-60.

Einsmann JC, Jones RH, Pu M, Mitchell RJ (1999) Nutrient foraging traits in 10 co-occurring plant species of contrasting life forms. Journal of Ecology 87: 609-619.

Escudero A, del Arco JM, Sanz IC, Ayala J (1992) Effects of leaf longevity and retranslocation efficiency on the retention time of nutrients in the leaf biomass of different woody species. Oecologia 90: 80-87.

Espeleta JF, Donovan LA (2002) Fine root demography and morphology in response to soil resources availability among xeric and mesic sandhill tree species. Functional Ecology 16: 113-121.

Farley RA, Fitter AH (1999) The responses of seven co-occurring woodland herbaceous perennials to localized nutrient-rich patches. Journal of Ecology 87: 849-859.

von Felten S, Hector A, Buchmann N, Niklaus PA, Schmid B, Scherer-Lorenzen M (2009) Belowground nitrogen partitioning in experimental grassland plant communities of varying species richness. Ecology 90: 1389-1399.

Fernández RJ, Paruelo MJ (1988) Root systems of two Patagonian shrubs: a quantitative description using a geometrical method. Journal of Range Management 41: 220-223.

Fiedler R, Proksch G (1975) The determination of nitrogen-15 by emission and mass spectrometry in biochemical analysis: a review. Analytica Chimica Acta 78: 1-62.

Fitter A (2009) Nutrient acquisition. En: Crawley MJ (ed.). Plant Ecology, Second Edition. Blackwell Publishing Ltd., Oxford.

Fornara DA, Tilman D (2009) Ecological mechanisms associated with the positive diversity-productivity relationship in an N-limited grassland. Ecology 90: 408-418.

Fowler NL (1986) The role of competition in plant communities in arid and semiarid regions. Annual Review of Ecology Systems 17: 89-110.

Frank DA, Pontes AW, Maine EM, Caruana J, Raina R, Raina S, Fridley JD (2010) Grassland root communities: species distributions and how they are linked to aboveground abundance. Ecology 91: 3201-3209.

Fransen B, de Kroon H, Berendse F (1998) Root morphological plasticity and nutrient acquisition of perennial grass species from habitats of different nutrient availability. Oecologia 115: 351-358.

Fransen B, de Kroon H, de Kovel CG, van den Bosch F (1999) Disentangling the effects of selective root placement and inherent growth rate on plant biomass accumulation in heterogeneous environments: a modelling study. Annals of Botany 84: 305-311.

Fransen B, de Kroon H, Berendse F (2001) Soil nutrient heterogeneity alters competition between two perennial grass species. Ecology 82: 2534-2546.

García-Palacios P, Maestre FT, Milla R (2013) Community-aggregated plant traits interact with soil nutrient heterogeneity to determine ecosystem functioning Plant & Soil 364:119-129.

Garnett T, Conn V, Kaiser BN (2009) Root based approaches to improving nitrogen use efficiency in plants. Plant Cell and Environment 32: 1272-1283.

Gebauer RLE, Ehleringer JR (2000) Water and nitrogen uptake patterns following moisture pulses in a cold desert community. Ecology 81: 1415-1424.

Gherardi LA, Sala OE, Yahdjian L (2013) Preference for different inorganic nitrogen forms among plant functional types and species of the Patagonian steppe. Oecologia 173: 1075-1081.

Goebel M, Hobbie SE, Bulaj B, Zadworny M, Archibald DD, Oleksyn J, Reich PB, Eissenstat DM (2011) Decomposition of the finest root branching orders: linking belowground dynamics to fine-root function and structure. Ecological Monographs 81: 89-102.

Goldberg D (1990) Components of resource competition in plant communities. En: Grace J, Timan D (eds.). Perspective on plant competition. The Blackburn press, New Jersey.

Golluscio RA, OE Sala (1993) Plant functional types and ecological strategies in Patagonian forbs. Journal of Vegetation Science 4: 839-846.

Gordon WS, Jackson RB (2000) Nutrient concentrations in fine roots. Ecology 81: 275-280.

Graff P, Aguiar MR, Chaneton EJ (2007) Shifts in positive and negative plant interactions along a grazing intensity gradient. Ecology 88: 188-199.

Graff P (2009) Efecto de la competencia, la facilitación y el pastoreo sobre la estructura espacial y dinámica de la estepa patagónica. Tesis de Doctorado. Escuela para Graduados Alberto Soriano, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires.

Graff P, Aguiar MR (2011) Testing the role of biotic stress in the stress gradient hypothesis. Processes and patterns in arid rangelands. Oikos 120: 1023-1030.

Grime JP, Mackey JML (2002) The role of plasticity in resource capture in plants. Evolutionary Ecology 16: 299-307.

Harpole WS, Tilman D (2007) Grassland species loss resulting from reduced niche dimension. Nature 446: 791-793.

Hendricks JJ, Nadelhoffer KJ, Aber JD (1993) Assessing the role of fine roots in carbon and nutrient cy-cling. Trends in Ecology and Evolution 8: 174-178.

Hodge A, Stewart J, Robinson D, Griffiths BS, Fitter AH (1998) Root proliferation, soil fauna and plant nitrogen capture from nutrient-rich patches in soil. New Phytologist 139: 479-494.

Hodge A, Robinson D, Griffiths BS, Fitter AH (1999) Nitrogen capture by plants grown in N-rich organic patches of contrasting size and strength. Journal of Experimental Botany 50: 1243-1252.

Hodge A, Stewart J, Robinson D, Griffiths BS, Fitter AH (2000) Competition between roots and soil micro-organisms for nutrients from nitrogen-rich patches of varying complexity. Journal of Ecology 88: 150-164.

Hodge A (2004) The plastic plant: root responses to heterogeneous supplies of nutrients. New Phytologist 162: 9-24.

Hodge A (2009) Root decisions. Plant, Cell and Environment 32: 628-640.

Hodge A, Fitter AH (2013) Mechanisms of plant competition: Microbial mediation of plant competition and community structure. Functional Ecology 27: 865-875.

Hook PB, Lauenroth WK, Burke IC (1994) Spatial patterns of roots in a semiarid grassland: Abundance of canopy openings and regeneration. Journal of Ecology 82: 485-494.

Hooper DU, Johnson L (1999) Nitrogen limitation in dryland ecosystems: Responses to geographical and temporal variation in precipitation. Biochemestry 46: 247-293.

Hutchings MJ, de Kroon H (1994) Foraging in plants: The role of morphological plasticity in resource acquisition. Advances in Ecological Research 25: 159-238.

Hutchings MJ, John EA (2004) The effects of environmental heterogeneity on root growth and root/shoot partitioning. Annals of Botany 94: 1-8.

Imsande J, Touraine B (1994) N demand and the regulation of nitrate uptake. Plant Physiology 105: 3-7.

Jackson RB, Caldwell MM (1996) Integrating resource heterogeneity and plant plasticity: modelling nitrate and phosphate uptake in a patchy soil environment. Journal of Ecology 84: 891-903.

Johnson HA, Biondini ME (2001) Root morphological plasticity and nitrogen uptake of 59 plant species from the Great Plains grasslands, U.S.A. Basic and Applied Ecology 2: 127-143.

Kembel SW, Cahill JF (2005) Plant phenotypic plasticity belowground: a phylogenetic perspective on root foraging trade-offs. American Naturalist 166: 216-230.

Kembel SW, de Kroon H, Cahill JF, Mommer L (2008) Improving the scale and precision of hypotheses to explain root foraging ability. Annals of Botany 101: 1295-1301.

van der Krift TAJ, Berendse F (2002) Root life spans of four grass species from habitats differing in nutrient availability. Functional Ecology 16: 198-203.

de Kroon H, Mommer L, Nishiwaki A (2003) Root Competition: towards a mechanistic understanding. En: de Kroon H, Visser EJW (eds.). Root Ecology. Springer, Berlin.

de Kroon H, Mommer L (2006) Root foraging theory put to the test. Trends in Ecology & Evolution 21: 113-116.

de Kroon H (2007) How Do Roots Interact? Science 318: 1562-1563.

de Kroon, H, Hendriks M, van Ruijven J, Ravenek J, Padilla FM, Jongejans E, Visser EJW y Mommer L. 2012. Root responses to nutrients and soil biota: drivers of species coexistence and ecosystem productivity. Journal of Ecology 100: 6-15.

Lauenroth, WK, Coffin DP (1992) Belowground processes and the recovery of semiarid grasslands from disturbance. En: Wali MK (ed.). Ecosystem Rehabilitation 2, Ecosystem analysis and synthesis 131-150. SPB Academic Publishing, The Hague.

Leva PE (2005) Morfología, función y distribución de las raíces de pastos de una estepa patagónica con diferente uso pastoril. Trabajo de intensificación para optar al grado de Ingeniera Agrónoma. Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires.

Leva PE, Aguiar MR, Oesterheld M (2009) Underground ecology in a Patagonian steppe: Root traits permit identification of graminoid species and classification into functional types. Journal of Arid Environments 73: 428-434.

Li YS, Redmann RE, van Kessel C (1992) Nitrogen budget and ^{15}N translocation in a perennial wheatgrass. Functional Ecology 6: 221-225.

Mahall BE, Callaway RM (1991) Root communication among desert shrubs. Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America 88: 874-876.

Mahall BE, Callaway RM (1992) Root communication mechanisms and intracommunity distributions of two Mojave Desert shrubs. Ecology 73: 2145-2151.

Malamy JE (2005) Intrinsic and environmental response pathways that regulate root system architecture. Plant Cell and Environment 28: 67-77.

McConnaughay M, Bazzaz FA (1991) Is physical space a soil resource? Ecology 72: 94-103.

McConnaughay M, Bazzaz FA (1992) The occupation and fragmentation of space: consequences of neighbouring roots. Functional Ecology 6: 704-710.

McKane RB, Grigal DF, Russelle MP (1990) Spatiotemporal differences in ^{15}N uptake and the organization of an old-field plant community. Ecology 71: 1126-1132.

McKane RB, Johnson LC, Shaver GR, Nadelhoffer KJ, Rastetter EB, Fry B, Giblin AE, Kiellandk K, Kwiatkowski BL, Laundre JA, Murray G (2002) Resource-based niches provide a basis for plant species diversity and dominance in arctic tundra. Nature 415: 68-71.

McNaughton SJ, Banyikwa FF, McNaughton MM (1998) Root biomass and productivity in a grazing ecosystem: the Serengeti. Ecology 79: 587-592.

Milchunas DG, Lauenroth WK (1989) Three-dimensional distribution of plant biomass in relation to grazing and topography in the shortgrass steppe. Oikos 55: 82-86.

Miller AJ, Cramer MD (2004) Root nitrogen acquisition and assimilation. Plant & Soil 274: 1-36.

Mommer LC, Wagemaker AM, de Kroon H, Ouborg NJ (2008) Unravelling below-ground plant distributions: a real-time polymerase chain reaction method for quantifying species proportions in mixed root samples. Molecular Ecology Resources 8: 947-953.

Mommer L, Visser EJW, van Ruijven J, de Caluwe H, Pierik R, de Kroon H (2011) Contrasting root behavior in two grass species: a test of functionality in dynamic heterogeneous conditions. Plant & Soil 344: 347-360.

Mommer L, van Ruijven J, Jansen C, van de Steeg HM, de Kroon H (2012) Interactive effects of nutrient heterogeneity and competition: implications for root foraging theory? Functional Ecology 26: 66-73.

Moretto AS, Didoné NG, Distel RA (2013) Reabsorción de nitrógeno en gramíneas perennes de diferente palatabilidad, nativas del Caldenal. Ecología Austral 23: 1-7.

Nicotra AB, Babicka N, Westoby M (2002) Seedling root anatomy and morphology: an examination of ecological differentiation with rainfall using phylogenetically independent contrasts. Oecologia 130: 136-145.

Oesterheld M, Oyarzábal M (2004) Grass-to-grass protection from grazing in a semi-arid steppe. Facilitation, competition, and mass effect. Oikos 107: 576-582.

Oñatibia GR, Aguiar MR, Cipriotti PA, Troiano F (2010) Biomasa individual y poblacional de arbustos dominantes en estepas patagónicas pastoreadas. Ecología Austral 20: 269-279.

Oñatibia GR (2013) Efectos y respuestas al pastoreo selectivo doméstico sobre plantas, poblaciones y ecosistemas pastoriles áridos. Tesis de Maestría. Escuela para Graduados Alberto Soriano, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires.

Paruelo, JM, Beltrán AB, Jobbagy EG, Sala OE, Golluscio RA (1998) The climate of Patagonia: general patterns and controls on biotic processes. Ecología Austral 8: 85-101.

Pecháčková S, During HJ, Rydlová V, Herben T (1999) Species-specific pattern of below-ground plant parts in a montane grassland community. Journal of Ecology 87: 569-582.

Pecháčková SA, Hadincová M, František VK, Tomáš H (2004) Horizontal and vertical distribution of root absorption zones of four common grass species in a mountain grassland. New Phytologist 161: 303-312.

Perelman SB, León RJC, Bussacca JP (1997) Floristic changes related to grazing intensity in a Patagonian shrub steppe. Ecography 20: 400-406.

Pierik R, Mommer L, Voesenek L (2012) Mechanisms of plant competition. Molecular mechanisms of plant competition: neighbour detection and response strategies. Functional Ecology 27: 841-853.

Pregitzer KS, DeForest JL, Burton AJ, Allen MF, Ruess RW, Hendrick RL (2002) Fine root architecture of nine North American trees. Ecological Monographs 72: 293-309.

Rajaniemi TK, Reynolds HL (2004) Root foraging for patchy resources in eight herbaceous plant species. Oecologia 141: 519-525.

Rajaniemi TK (2011) Competition for patchy soil resources reduces community evenness. Oecologia 165: 169-174.

Robinson D (1994) The responses of plants to non-uniform supplies of nutrients. New Phytologist 127: 635-674.

Robinson D, Hodge A, Griffiths BS, Fitter A (1999) Plant root proliferation in nitrogen-rich patches confers competitive advantage. Proceedings of the Royal Society of London 266: 431- 435.

Robinson D (2001) $\delta\ ^{15}N$ as an integrator of the nitrogen cycle. Trends in Ecology and Evolution 16: 153-162.

Robinson D, Hodge A, Fitter A (2003) Constraints on the form and function of root systems. En: de Kroon H, Visser EJW (eds.). Root Ecology. Springer, Berlin.

Rodríguez MV, Bertiller MB, Bisigato A (2007) Are fine roots of both shrubs and perennial grasses able to occupy the upper soil layer? A case study in the arid Patagonian Monte with non-seasonal precipitation. Plant & Soil 300: 281-288.

Rodríguez MV, Bertiller MB (2014) Temporal asynchrony in fine-root biomass may contribute to shrub and grass coexistence in mixed patches. Austral Ecology 39: 501-510.

Ryser P, Eek L (2000) Consequences of phenotypic plasticity *vs*. inter-specific differences in leaf and root traits for acquisition of aboveground and belowground resources. American Journal of Botany 87: 402-411.

Saint Pierre C, Busso CA, Montenegro OA, Rodríguez GD, Giorgetti HD, Montani T, Bravo OA (2002) Root proliferation in perennial grasses of low and high palatability. Plant Ecology 165: 161-167.

Sala OE, Golluscio RA, Lauenroth WK, Soriano A (1989) Resource partitioning between shrubs and grasses in the Patagonian steppe. Oecología 81: 501-505.

Sala OE, Aguiar MR (1996) Origin, maintenance, and ecosystem effect of vegetation patches in arid lands. Rangelands in a sustainable biosphere 2: 29-32.

Schenk HJ, Callaway RM, Mahall BE (1999) Spatial root segregation: are plants territorial? Advances in Ecological Research 28: 145-180.

Schenk HJ, Jackson RB (2002) Rooting depths, lateral root spreads and below-ground/above-ground allometries of plants in water-limited ecosystems. Journal of Ecology 90: 480-494.

Schenk HJ (2006) Root competition: beyond resource depletion. Journal of Ecology 94: 725-739.

Schwinning S, Weiner J (1998) Mechanisms determining the degree of size asymmetry in competition among plants. Oecologia 113: 447-455.

Semmartin M, Aguiar MR, Distel RA, Moretto AS, Ghersa CM (2004) Litter quality and nutrient cycling affected by grazing-induced species replacements along a precipitation gradient. Oikos 107: 148-160.

Soriano A (1956) Aspectos ecológicos y pastoriles de la vegetación Patagónica relacionados con su estado y capacidad de recuperación. Revista de Investigaciones Agrícolas 10: 349-372.

Soriano A (1982) La adaptación de las plantas a la sequía. Anales de la Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales 34: 95-110.

Soriano A, Sala OE (1983) Ecological strategies in a Patagonian arid steppe. Vegetatio 56: 9-15.

Soriano A, Golluscio RA, Satorre E (1987) Spatial heterogeneity of the root system of grasses in the Patagonian arid steppe. Bulletin of Torrey Botanical Club 114: 103-108.

Soriano A, Sala OE, Perelman SB (1994) Patch structure and dynamics in a Patagonian arid steppe. Vegetatio 111: 127-135.

Sun G, Coffin DP, Lauenroth WK (1997) Comparison of root distributions of species in North American grasslands using GIS. Journal of Vegetation Science 8: 587-596.

Tian X, Doerner PD (2013) Root resource foraging: does it matter? Frontiers in Plants Science 4: 1-4.

Tilman D (1989) Plant strategies and the dynamics and structure of plant communities. Princeton University Press, New Jersey.

Tilman D (1990) Mechanism of plant competition for nutrients: the elements of a predictive theory of competition. En: Grace J, Timan D (eds.). Perspective on plant competition. The Blackburn press, New Jersey.

Tjoelker MG, Craine JM, Wedin D, Reich PB, Tilman D (2005) Linking leaf and root trait syndromes among 39 grassland and savannah species. New Phytologist 167: 493-508.

Vázquez de Aldana BR, Berendse F (1997) Nitrogen-Use Efficiency in Six Perennial Grasses from Contrasting Habitats. Functional Ecology 11: 619-626.

White PJ, George TS, Dupuy LX, Karley AJ, Valentine TA, Wiesel L, Wishart J (2013) Root traits for infertile soils. Frontiers in Plant Science 4: 1-7.

White PJ, Greenwood DJ (2013) Properties and management of cationic elements for crop growth. En: Gregory P J, Nortcliff S (eds.). Russell's Soil Conditions and Plant Growth. Wiley-Blackwell, Oxford.

Wijesinghe DK, John EA, Beurskens S, Hutchings MJ (2001) Root system size and precision in nutrient foraging: responses to spatial pattern of nutrient supply in six herbaceous species. Journal of Ecology 89: 972-983.

Wilson JB (1988) Shoot competition and root competition. Journal of Applied Ecology 25: 279-96.

Wilson S, Tilman D (1991) Components of plant competition along an experimental gradient of nitrogen availability. Ecology 72: 1050-1065.

Yahdjian L, Gherardi L, Sala OE (2011) Nitrogen limitation in arid-subhumid ecosystems. Journal of Arid Environments 75: 675-680.

Apéndice

Prueba de la clave taxonómica de identificación de raíces

Debido a que mi tesis se basa en la identificación de raíces por sus atributos morfológicos (Leva et al. 2009) evalué la precisión de esta identificación. En el sitio de estudio se recolectaron plantas completas de las ocho especies de pastos dominantes descriptas en el Capítulo I. Las raíces que no estaban unidas a la porción aérea de un individuo identificado fueron descartadas. Los individuos se identificaron y agruparon por especie. Se separaron las porciones aéreas de las subterráneas y un colaborador preparó 20 mezclas multiespecíficas (0,1 g) con una composición y biomasa de raíces conocida (de 2 a 5 especies). La composición y la biomasa de cada muestra simularon la abundancia relativa de las especies en el sitio de estudio.

Procesé cada una de las muestras en forma 'ciega' (sin conocer su composición) mediante la clave taxonómica de identificación desarrollada por Leva et al. (2009). Luego de la clasificación, las raíces fueron pesadas y se calculó la diferencia relativa entre la biomasa específica inicial y la biomasa recuperada después de su identificación. Las diferencias se expresaron como porcentaje y se realizó un análisis de regresión para la biomasa específica, la riqueza y la diversidad (según el Índice de Simpson). Cuanto más cercana era la relación a la línea 1:1, más precisa era la identificación de las especies.

Después de la clasificación por especie, se detectó que las diferencias en la biomasa específica de raíces variaron entre 2,84% y -1,7% (Cuadro A.1). La clasificación fue precisa en todas las especies ($r^2 > 0,9$, $P > 0,001$), a excepción de la identificación de *Bromus pictus* y *B. setifolius* ($r^2 < 0,5$, $P > 0,05$). Por esta razón ambas especies se trataron de forma conjunta bajo el género *Bromus* en los capítulos experimentales. *Festuca argentina* no mostró un buen ajuste ($P = 0,09$). Para *Hordeum comosum* no pudo realizarse análisis de regresión porque la frecuencia en las muestras, al igual que en el campo, fue demasiado baja. Aunque mediante una prueba de chi-cuadrado, en donde se comparó la biomasa original con la biomasa identificada, se obtuvo en una alta precisión ($\chi^2 < 0,01$, $P = 0,95$). Al juntar todas las especies en un análisis simple de regresión, se encontró un alto grado de precisión ($r^2 = 0,95$, $P < 0,001$, Figura A.1). Los coeficientes de regresión para la riqueza y la diversidad de las muestras fueron también altos ($r^2 = 0,84$ y $r^2 = 0,88$, $P = < 0,001$, respectivamente).

Cuadro A.1. Diferencias en la biomasa radical específica recuperada de las muestras (expresadas como % promedio ± error estándar). Los valores positivos indican una sobreestimación y los valores negativos una subestimación de la biomasa específica. Se muestran también los resultados del análisis de regresión para cada especie, la pendiente del modelo, el r^2 y el valor de probabilidad (*P*).

Species	n	Diferencia media (%)	Error estándar	Pendiente	r^2	*P*
Bromus sp.	11	0,26	1,13	0,87±0,09	0,90	< 0,001
Poa ligularis	12	-1,30	0,46	0,91±0,04	0,93	< 0,001
Pappostipa speciosa	13	1,38	0,46	0,93±0,03	0,99	< 0,001
Carex sp.	7	-1,70	0,90	0,90±0,11	0,93	< 0,001
Pappostipa humilis	16	0,34	0,90	1,09±0,06	0,94	< 0,001
Festuca argentina	3	2,84	2,45	1,10±0,15	0,98	0,09
Hordeum comosum	2	1,37	1,56	-	-	-

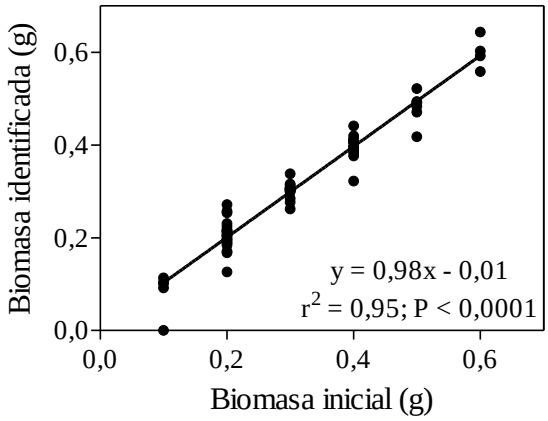

Figura A.1. Relación entre la biomasa de raíces inicial en el experimento ciego de identificación y la biomasa identificada, usando la clave de identificación de raíces propuesta por Leva et al. 2009. Se muestran en la figura la línea 1:1, el modelo de regresión lineal, los valores de r^2 y de probabilidad.