

**Variabilidad intraespecífica regional y continental en *Trichloris crinita*  
(Poaceae): aspectos de su nicho ecológico y diferenciación genética  
relevantes para la restauración de pastizales**

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

**Raúl Emiliano Quiroga**

Ingeniero Agrónomo - Universidad Nacional de Catamarca - 2002  
Magister, Área Recursos Naturales - EPG, Universidad de Buenos Aires - 2009

Lugar de trabajo: INTA - EEA Catamarca



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



## COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis

**Roberto Javier Fernández Aldúncin**

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)  
Magister, Área Recursos Naturales (Universidad de Buenos Aires)  
Ph.D., Biology (Duke University)

Co-directora

**Andrea Cecilia Premoli**

Licenciada en Ciencias Biológicas (Universidad de Buenos Aires)  
Ph.D., Biology (University of Colorado)

## JURADO DE TESIS

JURADO

**Exequiel Ezcurra**

Bachelor in Agricultural Sciences (University of Buenos Aires)  
M.Sc., Ecology (University College of North Wales)  
Ph.D. (University College of North Wales)

JURADO

**Liliana Monica Giussani**

Licenciada en Ciencias Biológicas (Universidad de Buenos Aires)  
Doctora en Ciencias Biológicas (Universidad de Buenos Aires)

JURADO

**Lidia Raquel Scrivanti**

Bióloga (Universidad Nacional de Córdoba)  
Doctora en Ciencia Biológicas (Universidad Nacional de Córdoba)

Fecha de defensa de la tesis: 19 de agosto de 2022

## AGRADECIMIENTOS

A Roberto Fernández y Andrea Premoli por sus enseñanzas, dedicación y guía

A los jurados por sus aportes

Al INTA y todo el personal que colaboró directa o indirectamente. Mención especial para Pedro R. Namur con quien coordinamos el ensayo de siembra, y para Edgardo Carloni y Karina Grunberg por su ayuda con los análisis de citometría de flujo

A Andres Cibils, Amy Ganguli y David Anderson por su ayuda en Las Cruces

A Paula Mathiasen, Paula Quiroga, Dayana Diaz (INIBIOMA-CONICET) por su ayuda con los análisis moleculares

A la Escuela para Graduados (FAUBA) y a la Universidad Nacional de Catamarca

¡A mi familia!

## 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.*

## PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS

Quiroga, R. E., Premoli, A. C., Fernández, R. J. (2021). Niche dynamics in amphitropical desert disjunct plants: Seeking for ecological and species-specific influences. *Global Ecology and Biogeography*, 30(2), 370-383.

Carlóni, E. J., Quiroga, R. E., Grunberg, K., Premoli, A. C. (2021). Nivel de ADN-Ploidía en poblaciones sudamericanas y norteamericanas de la gramínea nativa disyunta *Trichloris crinita* (Chloridoideae, Poaceae). *Revista FAVE Sección Ciencias Agrarias*, 20(1) 219-227.

Quiroga, R. E., Premoli, A. C., Fernandez, R. J. (2018). Climatic niche shift in the amphitropical disjunct grass *Trichloris crinita*. *PloS one*, 13(6), e0199811.

## ÍNDICE GENERAL

Agradecimientos	i
Declaración	ii
Publicaciones derivadas de la tesis	iii
Índice general	iv
Índice de cuadros	vii
Índice de figuras	xiii
Resumen	xviii
Abstract	xix
<b>Capítulo 1. Introducción general</b>	<b>1</b>
1.1. Introducción	1
1.1.1. El concepto de nicho	3
1.1.2. Características ‘de respuesta’ y ‘de efecto’ en plantas	4
1.1.3. Especie en estudio y alcance geográfico	5
1.2. Objetivos	7
1.2.1. Objetivo específico 1	8
1.2.2. Objetivo específico 2	9
1.2.3. Objetivo específico 3	10
1.2.4. Objetivo específico 4	11
1.2.5. Objetivo específico 5	11
1.3. Esquema de la tesis	12
1.4. Importancia de la investigación	13
<b>Capítulo 2. Caracterización y comparación del nicho realizado de <i>Trichloris crinita</i> y otras 25 especies disyuntas de regiones áridas y semiáridas de Sudamérica y Norteamérica</b>	<b>16</b>
2.1. Introducción	16
2.2. Materiales y métodos	19
2.2.1. Especies en estudio	19
2.2.2. Área de estudio	20
2.2.3. Datos de presencia	21
2.2.4. Variables climáticas	22
2.2.5. Caracterización y comparación del nicho realizado	23
2.2.6. Proyección geográfica del nicho realizado	26
2.3. Resultados	27
2.3.1. Caracterización y comparación del nicho realizado	27
2.3.1.a. Variables climáticas individuales en <i>T. crinita</i>	27
2.3.1.b. Análisis multivariado	31
2.3.2. Proyección geográfica del nicho realizado en <i>T. crinita</i>	35
2.3.2.a. Modelos recíprocos	35
2.3.2.b. Importancia de las variables	39

2.4. Discusión	40
<b>Capítulo 3. Requerimientos para la germinación y tolerancia a estrés en plántulas de poblaciones sudamericanas y norteamericanas de <i>Trichloris crinita</i></b>	46
3.1. Introducción	46
3.2. Materiales y métodos	49
3.2.1. Material vegetal	49
3.2.2. Experimentos de laboratorio	54
3.2.2.a. Pruebas de germinación a diferentes temperaturas	54
3.2.2.b. Pruebas de germinación a diferentes potenciales osmóticos	55
3.2.2.c. Shocks de temperaturas extremas y potencial osmótico en porciones de hojas	56
3.2.3. Análisis de los datos	58
3.3. Resultados	60
3.3.1. Caracterización en jardín común	60
3.3.2. Ensayos de laboratorio	62
3.3.2.a. Germinación a distintas temperaturas	62
3.3.2.b. Germinación a distintos potenciales osmóticos	64
3.3.2.c. Porceiones de hojas bajo condiciones extremas	65
3.3.2.d. Relación entre características de las poblaciones y clima de los sitios de origen	68
3.4. Discusión	69
<b>Capítulo 4. Estructura y diversidad genética en poblaciones de <i>Trichloris crinita</i> de Sudamérica y Norteamérica</b>	74
4.1. Introducción	74
4.2. Materiales y métodos	79
4.2.1. Material vegetal	79
4.2.2. ADN-ploidía	80
4.2.3. Marcadores moleculares	81
4.2.3.a. Secuencias de ADN	81
4.2.3.b. Microsatélites	82
4.2.4. Análisis estadístico	82
4.2.4.a. ADN-ploidía	82
4.2.4.b. Marcadores moleculares	83
4.3. Resultados	88
4.3.1. ADN-ploidía	88
4.3.2. Marcadores moleculares	88
4.4. Discusión	101
<b>Capítulo 5. Siembra de poblaciones de <i>Trichloris crinita</i> puras y en mezclas, en dos sitios del Chaco Árido con diferentes condiciones de precipitación</b>	109
5.1. Introducción	109

5.2. Materiales y métodos	113
5.3. Resultados	117
5.4. Discusión	130
<b>Capítulo 6. Variabilidad en caracteres de ‘respuesta’ y ‘efecto’ en las poblaciones de <i>Trichloris crinita</i> y discusión general de la tesis</b>	<b>136</b>
6.1. Análisis de los caracteres ‘de respuesta’ y ‘de efecto’ evaluados en plantas	136
6.2. Resultados más salientes de la tesis	141
6.3. Conclusiones	144
<b>Apéndice</b>	<b>149</b>
<b>Referencias bibliográficas</b>	<b>169</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

### Capítulo 1

Cuadro 1.1. Abordaje de los distintos capítulos de la tesis. 12

### Capítulo 2

Cuadro 2.1. Proporción de ocurrencias de cada subcontinente que corresponden al espacio de solapamiento entre nichos o que están por fuera del mismo y son exclusivas del nicho de cada subcontinente. Las estimaciones se hicieron en el espacio climático multivariado considerando cuatro maneras alternativas (a, b, c, d). 34

Cuadro 2.2. Resultados para 25 especies distribuidas disyuntamente entre regiones áridas y semiáridas cálidas de Norteamérica y Sudamérica del análisis de comparación de nichos, se muestran: el índice D de Schoener; los valores de P de los test de equivalencia (E) y Similitud (en la dirección Norteamérica a Sudamérica,  $S_{NA-SA}$ ; y viceversa,  $S_{SA-NA}$ ); la proporción de ocurrencias de cada subcontinente (NA: Norteamérica; SA: Sudamérica) que corresponden al espacio de solapamiento entre nichos o que son exclusivas del nicho de cada subcontinente, considerando todos los ambientes comunes (valores fuera de paréntesis, modo 'b' en Cuadro 2.1) y los ambientes comunes luego de eliminar el 25% de los climas más raros de cada subcontinente (valores entre paréntesis, modo 'd' en Cuadro 2.1). 37

### Capítulo 3

Cuadro 3.1. Sitios de colecta de las poblaciones de *T. crinita* en Norteamérica (NA) y Sudamérica (SA), junto a un detalle de la Provincia/Estado, País y Región ecológica de la ubicación (según Burkart et al. 1999 y Olson et al. 2001). 53

Cuadro 3.2. Esquema de la aplicación de los tratamientos de *shock* de temperatura y potencial osmótico sobre porciones de hojas, y de las mediciones realizadas. 58

Cuadro 3.3. Características evaluadas en plantas adultas de las poblaciones de Norteamérica (NA) y Sudamérica (SA) en el jardín común (valores promedio por población). Luego de la lista de poblaciones, se muestra en cursiva el nivel de significancia estadística ( $P > 0.05$ , n.s.;  $P < 0.05$ , \*;  $P < 0.01$  \*\*,  $P < 0.0001$ , \*\*\*) y la diferencia mínima significativa (*DMS*, de Fisher) correspondientes a la comparación entre poblaciones. En las tres últimas filas se muestran los valores promedio por subcontinente y el nivel de significancia estadística (*P*) de su comparación. 61

Cuadro 3.4. Porcentaje de germinación final de las poblaciones de Norteamérica (NA) y Sudamérica (SA), se muestran valores promedio por población y temperatura. Luego de la lista de poblaciones, se muestra en cursiva el nivel de significancia estadística ( $P > 0.05$ , n.s.;  $P < 0.05$ , \*;  $P < 0.01$  \*\*,  $P < 0.0001$ , \*\*\*) y la diferencia mínima significativa (*DMS*, de Fisher) correspondientes a la comparación entre poblaciones. En las tres últimas filas se

muestran los valores promedio por subcontinente y el nivel de significancia estadística ( $P$ ) de su comparación. 63

Cuadro 3.5. Temperaturas mínimas, óptimas y máximas estimadas para la germinación de semilla de las poblaciones de Norteamérica (NA) y Sudamérica (SA). Se muestran valores promedio por población. En las tres últimas filas se muestran en cursivas los valores promedio por subcontinente y el nivel de significancia estadística de su comparación ( $P > 0.05$ , n.s.). 64

Cuadro 3.6. Porcentaje de germinación final de las poblaciones de Norteamérica (NA) y Sudamérica (SA). Se muestran valores promedio por población y potencial osmótico. Luego de la lista de poblaciones, se muestra el nivel de significancia estadística ( $P > 0.05$ , n.s.;  $P < 0.05$ , \*;  $P < 0.01$  \*\*;  $P < 0.0001$ , \*\*\*) y la diferencia mínima significativa ( $DMS$ , de Fisher) correspondientes a la comparación entre poblaciones. En las tres últimas filas se muestran en cursiva los valores promedio por subcontinente y el nivel de significancia estadística ( $P$ ) de su comparación. 66

Cuadro 3.7. Índice de daño para los distintos tratamientos de *shock* (valores promedio por población) aplicados sobre porciones de hojas de plántulas de poblaciones de Norteamérica (NA) y Sudamérica (SA). Luego de la lista de poblaciones, se muestra en cursiva el nivel de significancia estadística ( $P > 0.05$ , n.s.;  $P < 0.05$ , \*;  $P < 0.01$  \*\*;  $P < 0.0001$ , \*\*\*) y la diferencia mínima significativa ( $DMS$ , de Fisher) correspondientes a la comparación entre poblaciones. En las tres últimas filas se muestran los valores promedio por subcontinente y el nivel de significancia estadística ( $P$ ) de su comparación. 67

Cuadro 3.8. Coeficientes de correlación de Pearson (y significancia estadística: \*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ ;  $P > 0.05$ , sin símbolo) entre (a) variables medidas en plantas del jardín común (últimas cinco filas), ensayos de germinación (filas intermedias) y con porciones de hojas de plántulas (primeras tres filas), y (b) variables climáticas (columnas, obtenidas de [www.gbif.org](http://www.gbif.org)). El análisis de correlación se realizó considerando las poblaciones de cada subcontinente por separado. 68

## Capítulo 4

Cuadro 4.1. Procedencia (Sudamérica -SA- o Norteamérica -NA-) y denominación de las 22 poblaciones de *T. crinita* (evaluadas también en Capítulo 3). Se muestra para cada población los valores obtenidos de contenido de ADN nuclear promedio (valor  $2C$ , en pg)  $\pm$  desvío estándar. 90

Cuadro 4.2. Patrones de diversidad genética poblacional obtenidos con GENALEX 6.503. Para las poblaciones de ambos subcontinentes (Sudamérica, SA; Norteamérica, NA) se muestran valores de los índices: cantidad de alelos diferentes ( $N_a$ ); cantidad de alelos efectivos ( $N_e$ ); índice de Shannon ( $I$ ); cantidad de alelos privados ( $N_{ap}$ ); heterocigosis esperada ( $H_e$ ); heterocigosis observada ( $H_o$ ); coeficiente de endogamia ( $CE$ ). 91

Cuadro 4.3. Porcentajes de variación obtenidos en los AMOVAs realizados sobre los marcadores moleculares (secuencias: *rpl32-trnL*, *ITS1-5.8S-ITS2*; microsátelites: *Mss8*, *Mss11*, *Mss93*, *MssTotal*). 91

Cuadro 4.4. Valores de Chi-cuadrado para las frecuencias alélicas según distintos agrupamientos de los datos de microsátelites, realizada en Biosys-1. 92

Cuadro 4.5. Valores de los índices *Fst* y *Rst* obtenidos sobre los datos de microsátelites usando GENALEX 6.503, y valores de *Qst* (con su intervalo de confianza del 95%) obtenidos para distintos caracteres morfológicos medidos en plantas de las poblaciones establecidas en jardín común (descrito en Capítulo 3), usando el paquete *Pstat* en *R*. Valores de *Qst* en negritas indican diferencias significativas respecto de la divergencia genética medida mediante microsátelites (*Fst* y *Rst*) y por lo tanto muestran el efecto de la selección natural para dichos caracteres cuantitativos. 96

Cuadro 4.6. Valores del índice *D* de Tajima para cada secuencia (*rpl32-trnL*, *ITS1-5.8S-ITS2*) y subcontinente (Norteamérica, Sudamérica), obtenidos en la prueba de neutralidad (programa ARLEQUIN 3.5.2.2). 96

## Capítulo 5

Cuadro 5.1. Procedencia (coordenadas, Provincia) y denominación de las 11 poblaciones argentinas de *T. crinita*. Para cada una se muestran los valores de índice de aridez (=PMA/[TMA+10], según De Martonne 1926, menores valores representan mayor aridez, los valores entre 10 – 20 corresponden a climas semiáridos) y características de presión de pastoreo y salinidad de suelo de sus sitios de origen. 115

Cuadro 5.2. Distancias morfológicas y genéticas entre pares de poblaciones que compusieron las tres mezclas evaluadas en las siembras de este Capítulo. Los valores representan el promedio de todas las distancias entre pares de poblaciones en cada mezcla. La distancia Euclidea entre poblaciones se obtuvo mediante análisis de componentes principales usando cuatro variables morfológicas medidas en jardín común con poblaciones en 2011 (Quiroga 2011). Los valores de *Fst* (una medida de distancia genética) entre pares de poblaciones se obtuvieron del análisis de tres microsátelites, descrito en Capítulo 4. 117

Cuadro 5.3. Resultados del análisis de modelos mixtos; se presentan los valores de *F* y *P* (probabilidad) de los factores de efecto fijo. Los factores de efecto aleatorio no se muestran, pero en las cuatro variables analizadas el efecto bloque anidado en el sitio no fue significativo ( $P > 0.05$ ), mientras que el efecto de la parcela anidada en el tratamiento si lo fue ( $P < 0.05$ ). 119

Cuadro 5.4. Estabilidad en cada sitio de siembra (media/DE; sin unidades) del conjunto de tratamientos de siembra de poblaciones de *T. crinita* ‘puras’ y en ‘mezclas’ en las cuatro

fechas de medición. Para las poblaciones puras, se presenta entre paréntesis los percentiles 10% y 90%, con el objetivo de tener una medida de comparación probabilística con el índice de estabilidad obtenido para las mezclas. Dichos percentiles se obtuvieron de la distribución del índice de estabilidad de todas las combinaciones posibles (n=990) de poblaciones puras tomadas de a 3 sin repetición. 127

Cuadro 5.5. Comparación de los índices de ‘adaptación a sequía’ (promedio Catamarca / promedio La Rioja) entre las siembras de poblaciones puras (n=11) y las mezclas (n=3) mediante la prueba t. Los índices se calcularon con los valores promedio de cobertura (A) y densidad (B) de *Trichloris crinita* en los tratamientos sembrados con esta especie en los dos sitios de ensayo, no se consideraron en la prueba estadística los tratamientos Testigo y siembra de *Cenchrus ciliaris*. 128

Cuadro 5.6. Análisis de correlación para las parcelas sembradas con poblaciones de *T. crinita* puras, considerando los valores de cobertura aérea (A) y densidad de plantas (B) de *T. crinita*. Los valores de p se muestran arriba de la diagonal ( $P < 0.05$  en negritas), mientras que los del coeficiente de correlación de Pearson se presentan debajo de la diagonal (significativamente positivos y negativos en azul o rojo, respectivamente). Detalle de las siglas usadas, al pie del cuadro. 129

## Capítulo 6

Cuadro 6.1. Caracteres de respuesta a estrés/disturbio y de efecto sobre servicios ecosistémicos evaluados en esta tesis (la segunda columna indica en qué parte de la tesis), categorizados según diversos autores (tercera a octava columna) y cómo se consideran aquí (novena columna). 137

Cuadro 6.2. Resultados encontrados en los caracteres de ‘respuesta’ y ‘efecto’ en relación a las predicciones (5.a y 5.b.) planteadas en función de la hipótesis 5 de esta tesis. Para cada resultado se señala el cuadro o figura donde se presenta el mismo, y si éste concuerda con la predicción (relación significativa, resaltado en verde) o no (en gris si no hubo relación significativa, o en amarillo si la relación fue opuesta a lo predicho). En la segunda columna se muestra si se había encontrado para cada variable diferencias entre poblaciones (EP) o subcontinentes de origen (ES), o no hubo diferencias según el origen (ND). La última fila muestra el conteo total de cada columna. 139

## Apéndice

Cuadro 7.1. Cantidad de ocurrencias con datos de coordenadas en *Trichloris crinita* y otras 31 especies disyuntas de regiones áridas y semiáridas de Sudamérica y Norteamérica (datos descargados de [www.gbif.org](http://www.gbif.org)). Para cada especie se menciona si fue incluida o

no en los análisis de este capítulo, y al pie se explicita el motivo en los casos de no inclusión. 149

Cuadro 7.2. Momento de colecta *in situ* de las poblaciones de *T. crinita* en Norteamérica y Sudamérica (colec.), y periodo durante el que se mantuvieron en los jardines comunes ubicados en INTA EEA La Rioja (LR) e INTA EEA Catamarca (CA y CAi). La línea vertical indica el momento de establecimiento de cada jardín común a partir de semilla obtenida de las colectas a campo o bien cosechada del último jardín vigente. Los jardines LR y CA son de 24 plantas por población (dispuestas en 3 bloques aleatorizados, cada uno con parcelas de 8 plantas y una distancia entre plantas = 0.5 m). El jardín CAi tiene 5 plantas de cada población (5 bloques aleatorizados, 1 planta de cada población por bloque, distancia entre plantas = 0.5 m). En la parte inferior (Nota) se describe el momento de cosecha de semilla y realización de las evaluaciones para el Capítulo 3. El inicio de cada nuevo jardín común (CA, CAi) no implicó la eliminación del jardín común antecesor. 155

Cuadro 7.3. Tasa media de germinación [ $d^{-1}$ ; estimada según Ranal y Santana (2006), Lozano-Isla et al. (2019)], promedio para cada población y temperatura. 156

Cuadro 7.4. Estimaciones no mostradas en Resultados, de temperatura máxima de germinación para cada población (obtenidas mediante ajuste de regresión bi-lineal, según Seepaul et al. 2011). En las tres últimas filas se muestran los valores promedio por subcontinente y el nivel de significancia estadística de su comparación ( $P > 0.05$ , n.s.). 157

Cuadro 7.5. Datos climáticos históricos de sitios de Norteamérica (A-C) y Sudamérica (D-G, próxima página). 158

Cuadro 7.6. Cantidad de individuos analizados por población según la técnica y tipo de marcador molecular. 160

Cuadro 7.7. Escenarios seleccionados en DIYABC, y valores de la mediana estimada para los distintos parámetros. Entre paréntesis se muestra el valor de RMAE (mediana relativa del error absoluto) de cada estimación, como indicador de su precisión. 166

Cuadro 7.8. Valores medios ( $\pm$  desvío estándar) para las variables climáticas temperatura media anual (TMA) y precipitación anual (PA) obtenidas para los sitios actualmente habitados por *Trichloris crinita* en Sudamérica y Norteamérica en los tiempos: presente, Holoceno Medio (-6000 años) y Último Máximo Glacial (-21000 años). Datos obtenidos de la base datos Worldclim 1.4 ([www.worldclim.com](http://www.worldclim.com)) para los sitios con presencia actual de la especie (coordenadas obtenidas de [www.gbif.org](http://www.gbif.org), empleadas antes en el Capítulo 2). 166

Cuadro 7.9. Coeficientes de correlación de Pearson y significancia estadística (\*,  $P < 0.05$ ; n.s., no significativa) entre variables mencionadas en el Cuadro 6.2 y variables climáticas de los sitios de origen de las poblaciones (TMA, temperatura media anual, TMaxMC, temperatura máxima del mes más cálido; TMinMF, temperatura mínima del mes más frío; PMA, precipitación media anual; IA, índice de aridez).

## ÍNDICE DE FIGURAS

### Capítulo 1

Figura 1.1 Distribución natural de *Trichloris crinita* en Sudamérica y Norteamérica (el mapa sólo llega hasta la latitud 49° N, por no encontrarse la especie al norte de la misma). Coordenadas de presencia de la especie (puntos rojos) obtenidos de [www.gbif.org](http://www.gbif.org). 7

### Capítulo 2

Figura 2.1. Densidad de ocurrencias de *T. crinita* (en gris) y de ambientes disponibles (en blanco) para cada una de las variables climáticas seleccionadas (en columnas: X1, X7, X10, X12, X18) para cada subcontinente (fila superior: Norteamérica, fila inferior: Sudamérica). Para cada variable se muestra el valor del índice D de Schoener, y la significancia ( $P < 0.05$ , \*;  $P > 0.05$ , n.s.) de los test de equivalencia (E) y Similitud ( $S_{NA-SA}$ : considerando nichos simulados en Norteamérica y nicho observado en Sudamérica;  $S_{SA-NA}$ : nichos simulados en Sudamérica y nicho observado en Norteamérica; detalles en Materiales y métodos). 30

Figura 2.2. [Izq.] Densidad de ocurrencias (área sombreada, sombreado más intenso indica mayor densidad) y de ambientes disponibles (línea llena = percentil 100%; línea de trazos = percentil 75%) en cada Subcontinente (Sudamérica, verde; Norteamérica, rojo; área de solapamiento de ambos nichos en color violeta) obtenidos mediante análisis de componentes principales (sensu Broennimann et al. 2012). Las flechas (de línea roja para ocurrencias, línea negra para disponibilidad de ambientes) muestran el cambio del centro de densidad en dirección Sudamérica - Norteamérica. Los ejes 1 y 2 (PC 1 y PC2) explicaron el 64% y 20% de la variabilidad de los datos, respectivamente. Se muestra el valor del índice D de Schoener, y la significancia ( $P < 0.05$ , \*;  $P > 0.05$ , n.s.) de los test de equivalencia (E) y Similitud ( $S_{NA-SA}$  y  $S_{SA-NA}$ ). [Der.] Círculo de correlación que muestra la contribución de las variables climáticas (X1, X7, X10, X12, X18) sobre cada eje. 32

Figura 2.3. Proyección geográfica del nicho realizado de *T. crinita* obtenida en base a modelación recíproca: modelo calibrado con coordenadas de Norteamérica (cuadrados blancos) y proyectado a Sudamérica (abajo); modelo calibrado con coordenadas de Sudamérica (cuadrados blancos), proyectado sobre Norteamérica (arriba). Se muestran en escala de grises los valores del índice de adecuación que van de 0 (áreas con condiciones climáticas no adecuadas) a 1 (áreas con máxima adecuación de las condiciones climáticas). 38

Figura 2.4. Valores de AUC (indicador de la habilidad predictiva de un modelo) obtenidos en la evaluación de la importancia de las variables empleadas para modelar la distribución de *T. crinita* en Norteamérica (arriba) y Sudamérica (abajo). Las barras azules señalan el valor de AUC alcanzado al emplear cada variable de manera individual. Las barras celestes muestran el valor de AUC obtenido para cada caso con el resto de las variables. La barra roja muestra el valor de AUC alcanzado al incluir todas las variables. Nótese que los ejes

horizontales de ambas figuras difieren. X1: temperatura media anual; X7: rango anual de temperatura; X10: temperatura promedio del trimestre más cálido; X12: precipitación anual; X18: precipitación del trimestre más cálido. 40

### Capítulo 3

Figura 3.1. a) Distribución natural de *Trichloris crinita* en Sudamérica y Norteamérica (coordenadas de presencia de la especie, triángulos azules, obtenidos de [www.gbif.org](http://www.gbif.org)). Además, se muestran los sitios de origen de las poblaciones evaluadas (círculos rojos, algunos con fotos mostrando el ambiente). b) Nicho climático realizado de las poblaciones de *T. crinita* aquí evaluadas (área sombreada) y ambientes disponibles (línea llena, percentil 100%; línea de trazos = percentil 75%) en cada subcontinente (Sudamérica, verde; Norteamérica, rojo; área de solapamiento de ambos nichos en color violeta). Se usó la misma metodología de análisis de componentes principales de Broennimann et al. (2012) utilizada en el Capítulo 2, sólo que aquí se estimó el nicho con las coordenadas de los sitios de colecta de las poblaciones evaluadas. Los ejes de CPs 1 y 2 explicaron el 64% y 20% de la variabilidad de los datos, respectivamente. Las flechas (de línea roja para ocurrencias, línea negra para disponibilidad de ambientes) muestran el cambio del centro de densidad en dirección Sudamérica – Norteamérica. El test de equivalencia señaló diferencia significativa entre ambos nichos ( $P < 0.05$ ). c) Círculo de correlación que muestra la contribución a cada eje de las variables climáticas (AMT, temperatura media anual; TAR, rango anual de temperatura; MTWQ, temperatura media del trimestre más cálido; AP, precipitación anual; PWQ, precipitación del trimestre más cálido). 52

### Capítulo 4

Figura 4.1. Aislamiento genético (eje y) en función de la distancia geográfica (eje x; expresada en grados,  $1^\circ = \sim 111$  km) para las poblaciones de Sudamérica (izquierda) y Norteamérica (derecha). Prueba de Mantel, considerando conjuntamente los tres microsatélites. 93

Figura 4.2. Árboles filogenéticos obtenidos con los métodos NJ (izquierda) y UPGMA (derecha), y datos de microsatélites. Subcontinente de origen de las poblaciones, en Cuadro 4.1. 94

Figura 4.3. Clasificación de los individuos de las distintas poblaciones según STRUCTURE versión 2.3.4, que resultó en 2 y 4 grupos genéticos ( $K=2$  y  $K=4$ ). Las 12 primeras poblaciones (de izquierda a derecha) provienen de Sudamérica, mientras que las 7 siguientes (a partir de Bowie) provienen de Norteamérica (detalles de procedencia en Cuadro 3.1, Capítulo 3). 94

Figura 4.4. Esquema de los seis escenarios evaluados en DIYABC. Para los escenarios seleccionados (Escenario 1 en *ITS1-5.8S-ITS2*, Escenario 4 en *rpl32-trnL*, Escenario 6 en microsatélites) se muestran los valores de probabilidad respecto del total de los seis escenarios evaluados, y los valores de mediana estimada para los distintos parámetros de

interés: tamaño poblacional efectivo actual en Sudamérica (SA), tamaño poblacional efectivo actual en Norteamérica (NA), tamaño poblacional efectivo de la población ancestral (PA), tiempo de divergencia entre las poblaciones de Sudamérica y Norteamérica, en cantidad de generaciones ( $t_1$ ). El eje vertical representa el tiempo en cantidad de generaciones (0 es el momento de muestreo de las poblaciones evaluadas). Además, otros parámetros considerados en el resto de los escenarios fueron: tamaño poblacional efectivo de la población de Sudamérica (SAb) y Norteamérica (NAb) luego de ‘cuello de botella’, y tiempo hasta el cual se prolongó el ‘cuello de botella’, estimado en cantidad de generaciones ( $t_b$ ).

98

Figura 4.5. Hábitats potenciales de la especie *Trichloris crinita* en el presente y el pasado (Holoceno Medio, -6000 años atrás; y Último Máximo Glacial, -21000 años atrás; escala de colores en los mapas: rojo, sitios con alta adecuación; rosa, adecuación media; rosa claro, adecuación baja; gris, no adecuado), modelados con los programas MAXENT y BIOCLIM, en cada subcontinente por separado (Norteamérica, paneles de arriba; Sudamérica, paneles en la próxima página). Los modelos fueron calibrados en base a las características climáticas presentes de los sitios habitados por la especie en la actualidad, y luego proyectados según las características climáticas estimadas para el Holoceno Medio y el Último Máximo Glacial. Las coordenadas de presencia de la especie en tiempos actuales fueron obtenidas de la base de datos GBIF, mientras que los datos climáticos de las distintas épocas fueron obtenidos de la base de datos WorldClim 1.4 ([www.worldclim.com](http://www.worldclim.com)).

99

## Capítulo 5

Figura 5.1. Precipitaciones durante los dos años de experimentación en Catamarca (arriba) y La Rioja (abajo). La flecha roja indica el momento de la siembra de cada ensayo, mientras que las flechas negras a trazos señalan los momentos en que se realizaron las mediciones de densidad y cobertura aérea en cada sitio (primera a cuarta medición). Para cada estación de crecimiento, se presenta en números el valor de precipitación acumulada.

118

Figura 5.2. Promedios de cobertura aérea (%) de *Trichloris crinita* en los distintos tratamientos de siembra durante cuatro fechas de muestreo (1: a 30 días de la siembra; 2: fin de la primera estación de crecimiento; 3: inicio de la segunda estación de crecimiento; 4: fin de la segunda estación de crecimiento). Las figuras corresponden a los sitios de siembra: Catamarca (arriba), La Rioja (abajo). Las barras de las poblaciones ‘puras’ están en azul, las de las ‘mezclas’ en verde, las del testigo sin siembra en negro, y las de parcelas sembradas con *Cenchrus ciliaris* en rojo. Diferencia mínima significativa (DMS) = 15.

122

Figura 5.3. Promedios de densidad de *Trichloris crinita* (individuos/m<sup>2</sup>) en los distintos tratamientos de siembra durante cuatro fechas de muestreo (1: a 30 días de la siembra; 2:

fin de la primera estación de crecimiento; 3: inicio de la segunda estación de crecimiento; 4: fin de la segunda estación de crecimiento). Las figuras corresponden a los sitios de siembra: Catamarca (arriba), La Rioja (abajo). Las barras de las poblaciones ‘puras’ están en azul, las de las ‘mezclas’ en verde, las del testigo sin siembra en negro, y las de parcelas sembradas con *Cenchrus ciliaris* en rojo. Diferencia mínima significativa (DMS) = 18. 123

Figura 5.4. Establecimiento de *T. crinita* en La Rioja (LR) y Catamarca (Cat) al final del segundo año (fecha 4), de poblaciones provenientes de sitios con distinta salinidad de suelo (no salinos: línea continua; salinos: línea de trazos; paneles ‘a’ y ‘b’) y presión de pastoreo (baja presión: línea continua; alta presión: línea de trazos; paneles ‘c’ y ‘d’). 124

Figura 5.5. Promedios de cobertura aérea (%) de *Cenchrus ciliaris* en los distintos tratamientos de siembra durante cuatro fechas de muestreo (1: a 30 días de la siembra; 2: fin de la primera estación de crecimiento; 3: inicio de la segunda estación de crecimiento; 4: fin de la segunda estación de crecimiento). Las figuras corresponden a los sitios de siembra: Catamarca (arriba), La Rioja (abajo). Las barras de los tratamientos sembrados con poblaciones de *T. crinita* ‘puras’ están en azul, las de las ‘mezclas’ en verde, las del testigo sin siembra en negro, y las de parcelas sembradas con *Cenchrus ciliaris* en rojo. Diferencia mínima significativa (DMS) = 11. 125

Figura 5.6. Promedios de densidad de plantas de *Cenchrus ciliaris* (individuos/m<sup>2</sup>) en los distintos tratamientos de siembra durante cuatro fechas de muestreo (1: a 30 días de la siembra; 2: fin de la primera estación de crecimiento; 3: inicio de la segunda estación de crecimiento; 4: fin de la segunda estación de crecimiento). Las figuras corresponden a los sitios de siembra: Catamarca (arriba), La Rioja (abajo). Las barras de los tratamientos sembrados con poblaciones de *T. crinita* ‘puras’ están en azul, las de las ‘mezclas’ en verde, las del testigo sin siembra en negro, y las de parcelas sembradas con *Cenchrus ciliaris* en rojo. Diferencia mínima significativa (DMS) = 18. 126

## Apéndice

Figura 7.1. Distribución de las 13 especies de gramíneas evaluadas. 150

Figura 7.2. Distribución de las 9 especies latifoliadas herbáceas evaluadas. 151

Figura 7.3. Distribución de las 3 especies latifoliadas leñosas evaluadas. 151

Figura 7.4. Densidad de ocurrencias de las 12 especies gramíneas (área sombreada, sombreado más intenso indica mayor densidad) y de ambientes disponibles (línea llena = percentil 100%; línea de trazos = percentil 75%) en cada subcontinente (Sudamérica, verde; Norteamérica, rojo; área de solapamiento de ambos nichos en color violeta) obtenidos

mediante análisis de componentes principales (sensu Broennimann et al. 2012). Las flechas (de línea llena para ocurrencias, línea de trazos para disponibilidad de ambientes) muestran el cambio del centro de densidad en dirección Sudamérica - Norteamérica. En todos los paneles, los ejes 1 y 2 (PC1 y PC2) explicaron el 64% y 20% de la variabilidad de los datos, respectivamente. La correlación de las variables climáticas con los ejes 1 y 2 se muestra en la Figura 2.2. 152

Figura 7.5. Densidad de ocurrencias de las 9 especies latifoliadas herbáceas (área sombreada, sombreado más intenso indica mayor densidad) y de ambientes disponibles (línea llena = percentil 100%; línea de trazos = percentil 75%) en cada subcontinente (Sudamérica, verde; Norteamérica, rojo; área de solapamiento de ambos nichos en color violeta) obtenidos mediante análisis de componentes principales (sensu Broennimann et al. 2012). Las flechas (de línea llena para ocurrencias, línea de trazos para disponibilidad de ambientes) muestran el cambio del centro de densidad en dirección Sudamérica - Norteamérica. En todos los paneles, los ejes 1 y 2 (PC1 y PC2) explicaron el 64% y 20% de la variabilidad de los datos, respectivamente. La correlación de las variables climáticas con los ejes 1 y 2 se muestra en la Figura 2.2. 153

Figura 7.6. Densidad de ocurrencias de las 3 especies latifoliadas leñosas (área sombreada, sombreado más intenso indica mayor densidad) y de ambientes disponibles (línea llena = percentil 100%; línea de trazos = percentil 75%) en cada subcontinente (Sudamérica, verde; Norteamérica, rojo; área de solapamiento de ambos nichos en color violeta) obtenidos mediante análisis de componentes principales (sensu Broennimann et al. 2012). Las flechas (de línea llena para ocurrencias, línea de trazos para disponibilidad de ambientes) muestran el cambio del centro de densidad en dirección Sudamérica - Norteamérica. En todos los paneles, los ejes 1 y 2 (PC1 y PC2) explicaron el 64% y 20% de la variabilidad de los datos, respectivamente. La correlación de las variables climáticas con los ejes 1 y 2 se muestra en la Figura 2.2. 154

Figura 7.7. Peso (arriba) y poder germinativo (% , centro) de la semilla de Catamarca; poder germinativo de la semilla de La Rioja (abajo). 167

Resumen - **Variabilidad intraespecífica regional y continental en *Trichloris crinita* (Poaceae): aspectos de su nicho ecológico y diferenciación genética relevantes para la restauración de pastizales**

*Trichloris crinita* es una gramínea perenne, con una distribución natural disyunta entre regiones áridas y semiáridas cálidas de Sudamérica y Norteamérica. La especie es promovida en ambos subcontinentes para la restauración de pastizales, aunque sin que se hayan investigado integralmente sus características en ambas regiones. El objetivo de la tesis es caracterizar y comparar los ambientes que *T. crinita* habita en toda su distribución, y evaluar la variabilidad existente entre poblaciones a escala regional y continental en caracteres relevantes para la restauración (p.ej. capacidad de establecimiento, adaptación a estrés, características genéticas). Los resultados señalaron que las poblaciones de *T. crinita* de Sudamérica y Norteamérica presentan diferencias en su nicho climático, ocupando la especie un nicho más restringido y en ambientes más áridos y cálidos en la segunda región que en la primera. Además, se constató que el patrón de diferenciación de nicho entre subcontinentes es la norma para el conjunto de especies disyuntas que habitan regiones áridas cálidas de ambos subcontinentes (25 especies además de *T. crinita*). Para nuestra especie foco, también se encontró diferenciación en el nicho fundamental de regeneración, i.e. requerimientos de temperatura y tolerancia al estrés osmótico durante la germinación y en plántulas. En general, la mayor parte de la diferenciación entre poblaciones ocurrió dentro de cada subcontinente, y en menor medida entre subcontinentes. Nuestros análisis genéticos de secuencias de ADN y microsatélites sugirieron que las poblaciones de Sudamérica y Norteamérica habrían divergido hace relativamente poco tiempo, luego del Último Máximo Glacial ocurrido hace ~21000 años. Por su parte, los ensayos de siembra a campo mostraron que el establecimiento de las poblaciones difirió según el ambiente de siembra, no presentando siempre las poblaciones ‘locales’ el mejor resultado. Las mezclas de poblaciones disminuyeron la variabilidad en el establecimiento de *T. crinita* a campo, comparado con las siembras de iguales cantidades de semilla de poblaciones individuales. Estos resultados permiten tener por primera vez una mirada a escala continental de los recursos genéticos de la especie, sentando parte de las bases necesarias para su uso en restauración.

**Palabras clave:** adaptación, ambientes áridos y semiáridos, distribución disyunta, estrés hídrico y osmótico, germoplasma, modelado, Norteamérica, siembra, Sudamérica, variabilidad genética.

Abstract – **Regional and continental intraspecific variation in *Trichloris crinita* (Poaceae): niche and genetic differences pertinent for rangeland restoration**

*Trichloris crinita* is a perennial grass with a disjunct natural distribution between hot arid and semi-arid regions of South America and North America. The species is promoted in both subcontinents for rangeland restoration, but its trait variation has not been fully evaluated yet. The objective of this thesis is to compare and contrast the environments that *T. crinita* inhabits throughout its distribution, and to evaluate the variability between populations at the regional and continental scales in aspects relevant to restoration (e.g. establishment capacity, adaptation to stress, genetic characteristics). Results showed that the populations of *T. crinita* present differences in their climatic niche, occupying a more restricted niche and in more arid and hotter environments in North America than in South America. It was also found that this pattern of niche differentiation is the norm for the entire set of disjunct species that inhabit hot arid regions of both subcontinents (25 species in addition to *T. crinita*). Differentiation was also found in the regeneration niche, i.e. temperature requirements and tolerance to osmotic stress during germination and when seedlings. In general, most of the differences between populations occurred within each subcontinent, and to a lesser extent between subcontinents. Microsatellite and DNA-sequence analyses suggest that the populations of South and North America would have diverged relatively recently, after the Last Glacial Maximum ~21,000 years ago. On the other hand, field-sowing trials showed that the establishment of the populations differed according to the sowing environment, with the 'local' populations not always presenting the best result. Population mixtures of *T. crinita* had a reduced variability (increased stability) in field establishment, compared to planting an equivalent total number of seeds from individual populations. Overall, these results contribute to a broader perspective at the genetic resources of the species on a continental scale, laying part of the necessary foundations for its use in restoration.

**Keywords:** adaptation, arid and semi-arid environments, disjunct distribution, genetic variability, germplasm, modeling, North America, planting, South America, water and osmotic stress.

## Capítulo 1

### Introducción general

#### **1.1. Introducción**

Los pastizales naturales (*rangelands*) ocupan más de un tercio de la superficie del planeta, en un rango que va desde climas áridos hasta sub-húmedos, y dan sustento a la mitad del ganado y la fauna silvestre del mundo. Un tercio de la población mundial vive en estos ambientes, por lo que su degradación representa un serio problema, con pérdidas económicas mundiales estimadas en US\$ 42 mil millones al año (MEA 2005). En condiciones de aridez los pastizales naturales son particularmente vulnerables a la forma de degradación conocida como desertificación (MEA 2005, Verón et al. 2006), la que tiene entre sus causas principales las variaciones en el clima en interacción con las actividades humanas (Reynolds et al. 2007).

En las últimas décadas se han incrementado los esfuerzos para recuperar la cobertura vegetal, biodiversidad y funcionamiento de los pastizales degradados. La revegetación de estos ecosistemas implica tener en cuenta los servicios ecosistémicos que se quiere reestablecer (p.ej. forraje para el ganado, hábitat para la fauna silvestre, control de la erosión, etc.) y la biología de las especies a utilizar. Las exigencias actuales para los materiales (especies, poblaciones) que se usan en restauración ecológica destacan que, además de poder establecerse, deben ser compatibles con el entorno biótico (p.ej. no ser invasores) y abiótico (p.ej. soportar condiciones climáticas extremas), restablecer los

servicios al ecosistema, y presentar un potencial evolutivo adecuado a las condiciones previstas de cambio climático (Breed et al. 2013, Ketterring et al. 2014).

Sin embargo, el enfoque de los estudios y trabajos de revegetación no ha sido siempre el mismo, presentando cambios a medida que el conocimiento avanza. Al comienzo, la revegetación se realizaba sin demasiada precaución sobre las especies utilizadas (Smith 2010). Luego, se reconoció la importancia de utilizar plantas nativas y, más tarde, se sugirió restaurar usando poblaciones locales (Jones 2003, McKay et al. 2005, Smith 2010). En los últimos tiempos, se viene debatiendo si el sólo uso de poblaciones locales es suficiente para restaurar ambientes que han sido profundamente modificados, donde las mismas poblaciones locales pueden haber sido ‘erosionadas genéticamente’ y por ende, restringidas en su potencial evolutivo (Broadhurst et al. 2008, Jones y Monaco 2009, Jones et al. 2010, Breed et al. 2013, Ketterring et al. 2014, Hoffmann et al. 2021).

A pesar de la importancia que tiene la restauración de pastizales áridos y semiáridos, el éxito de estos esfuerzos se ha alcanzado en menos del 5% de los casos (Sheley et al. 2011). Sumado a ello, recientemente se ha puesto de manifiesto otro gran inconveniente, que tiene que ver con lo errático que son los resultados de los trabajos de restauración, y se ha resaltado la importancia que tendría poder amortiguar dicha variabilidad (James et al. 2019, Hardegree et al. 2020, Pedrini et al. 2020). James et al. (2013a) indicaron que para incrementar la tasa de éxito es necesario conocer los procesos poblacionales que acontecen durante los primeros estadios de las plantas (germinación, supervivencia y establecimiento). Estudios realizados en pastizales áridos de Argentina también señalan la

importancia que tienen sobre el resultado de la restauración las primeras etapas del ciclo de vida de los pastos nativos reimplantados (p.ej. Quiroga et al. 2009a, Mora et al. 2013).

#### 1.1.1. El concepto de nicho

Hutchinson (1957) definió el ‘nicho ecológico’ de una especie como el conjunto de condiciones ambientales en las que una población se puede mantener viable. Dicho autor hizo a su vez la distinción entre el ‘nicho fundamental’ y el ‘nicho realizado’ (o efectivo) de una población o especie: mientras que el primero incluye al conjunto de condiciones abióticas, caracterizado por ejemplo mediante ensayos controlados (Kearney y Porter 2004), el segundo contempla además los entornos bióticos (p.ej. interacción con otras especies: competencia, facilitación, etc.), y es comúnmente determinado por las características ambientales de los sitios que el organismo habita en la naturaleza (Phillips et al. 2006). En este caso, cuando el nicho realizado se caracteriza mediante variables climáticas, suele ser denominado ‘nicho climático’ (Tingley et al. 2014, Vangansbeke et al. 2021). Actualmente, se usan ‘modelos de nicho ecológico’ (también denominados modelos de distribución de especies; Warren y Seifert 2011) para estimar la adecuación potencial de determinados ambientes para albergar una especie. Estos modelos tienen en cuenta las condiciones ambientales de los sitios donde una especie ha sido observada y, en base a extraer las variables ambientales donde ocurre, identifican áreas que le resultan favorables (Gallagher et al. 2010). El uso de estas herramientas, complementado con técnicas de análisis multivariado, permite comparar las condiciones ambientales a las que se encuentran adaptados distintos organismos (Broennimann et al. 2012, Brown y Carnaval 2019). Estos son aspectos que resultan de central importancia para estimar la

correspondencia genotipo-hábitat, y establecer pautas de utilización y manejo de especies (Martinez-Meyer et al. 2006, Kumar y Stohlgren 2009). Por su parte, haciendo énfasis en la importancia de los primeros estadios de las plantas, Grubb (1977) y Young et al. (2005) señalaron la importancia que presenta el ‘nicho de regeneración’ de un organismo (haciendo referencia con el mismo a las condiciones ambientales en que puede establecerse) en la determinación de su área de distribución.

#### 1.1.2. Características ‘de respuesta’ y ‘de efecto’ en plantas

Algunas características morfo-fisiológicas de las plantas se relacionan con su respuesta a cambios ambientales o disturbios (*‘response traits’*) y/o con el efecto que a su vez tienen sobre el funcionamiento del ecosistema (*‘effect traits’*) (Lavorel y Garnier 2002). Los atributos de respuesta pueden usarse para estimar la factibilidad de prosperar en sitios con limitaciones de recursos (p.ej. déficit hídrico: relación raíz/vástago) o sometidos a disturbios (p.ej. pastoreo: presencia de yemas basales). Por su parte, los atributos de efecto son útiles para prever el impacto sobre los componentes bióticos (p.ej. competencia: altura de planta) y abióticos (p.ej. ciclo de nutrientes: contenido de nitrógeno y otros elementos en hoja) del ecosistema. Díaz y Cabido (1997) señalaron que en comunidades del centro-oeste de Argentina, a medida que aumenta la aridez y se hacen notorios atributos que permiten a las plantas economizar agua, se espera que disminuya la magnitud o tasa de procesos ecosistémicos tales como la producción de biomasa, ciclado de nutrientes, etc. Actualmente, el análisis de este tipo de atributos cobra especial importancia debido a los cambios en el clima, al impacto humano y a la necesidad de restaurar el funcionamiento de los ecosistemas (Funk et al. 2008). Asimismo, aunque el

estudio de la variabilidad de estos atributos se inició y es más común en comparaciones entre especies, en los últimos tiempos se empezó a valorar el reconocimiento de la variabilidad intraespecífica (Bolnick et al. 2011) y su impacto sobre distintos procesos ecológicos (Westerband et al. 2021), más aún cuando la especie tiene relevancia en el ámbito aplicado (Kozub et al. 2018).

### 1.1.3. Especie en estudio y alcance geográfico

La ganadería en condiciones extensivas es la actividad agropecuaria que abarca más superficie en las regiones áridas y semiáridas del noroeste de Argentina. El consumo por parte del ganado se produce principalmente sobre especies nativas (Guevara et al. 2009). Actualmente, la productividad forrajera de estos ambientes se encuentra por debajo de su potencial debido al deterioro causado por el sobrepastoreo, que afecta en especial a las gramíneas (Anderson et al. 1980). A pesar de la importancia productiva y ecológica que representa este problema para el país, los estudios orientados a sentar las bases para recuperar la cobertura de especies nativas han sido relativamente pocos.

El foco de la tesis se centra en *Trichloris crinita*, una de las principales gramíneas forrajeras de los pastizales naturales del centro-noroeste de Argentina (Dalmaso 1994) que, como otras gramíneas, ha sufrido fuertemente el impacto del sobrepastoreo (Anderson et al. 1980). *Trichloris crinita* se distribuye de manera disyunta en ambientes áridos y semiáridos cálidos de Sudamérica y Norteamérica (Peterson et al. 2007) (Figura 1.1). Orians y Solbrig (1977) han discutido las semejanzas (bióticas y abióticas) que comparten ecosistemas áridos-cálidos de Sudamérica y Norteamérica. Entre las

principales diferencias se destaca la mayor continentalidad del clima en Norteamérica, con temperaturas estacionales más extremas que en Sudamérica (Neukom et al. 2014).

*T. crinita* es una gramínea nativa perenne, C4, de crecimiento estival (Nicora y Rúgolo de Agrasar 1987) y autógena (Gutiérrez et al. 2016, Kozub et al. 2017). Su hábito de crecimiento es cespitoso, su follaje alcanza entre 30 y 80 cm de altura, y sus láminas foliares poseen 15 a 25 cm de largo y 0.2 a 1.0 cm de ancho. La unidad de dispersión (diáspora; por simplicidad en adelante se le dirá semilla) de la especie es el antecio fértil constituido por el fruto (cariopse) y las glumelas (lemma y palea). Estas semillas se disponen en inflorescencias de forma de cono invertido de 5 a 18 cm de longitud. Cada inflorescencia se ubica en el extremo de una caña de 30 a 100 cm de alto (Nicora y Rúgolo de Agrasar 1987).

A pesar de que *T. crinita* es impulsada para su uso en restauración (USDA-NRCS 2020) y se conoce de la existencia de variabilidad intraespecífica tanto en Sudamérica (Cavagnaro et al. 2006, Quiroga et al. 2010, Zabala et al. 2011) como en Norteamérica (Pezzani et al. 2006), las implicancias que esa variación regional tiene para su manejo, han sido escasamente abordadas. Llamativamente, la variabilidad intraespecífica entre ambos subcontinentes de América no ha sido explorada, ni en esta especie ni en otras especies de distribución disyunta en las regiones áridas de ambos subcontinentes (Simpson et al. 2017) mencionadas como *amphitropical desert disjuncts* por Raven (1963). Los avances en el conocimiento que puedan lograrse para esta especie-modelo podrían ser potencialmente relevantes para las otras gramíneas (p.ej. entre ellas 5 especies promovidas para restauración de pastizales por el USDA; *Botriochloa laguroides*,

*Disakisperma dubium*, *Panicum urvilleanum*, *Pappophorum mucronulatum*, *Trichloris pluriflora*) y demás especies de plantas disyuntas en Sudamérica y Norteamérica (Raven 1963, Peterson et al. 2007).



Figura 1.1 Distribución natural de *Trichloris crinita* en Sudamérica y Norteamérica (el mapa sólo llega hasta la latitud 49° N, por no encontrarse la especie al norte de la misma). Coordenadas de presencia de la especie (puntos rojos) obtenidos de [www.gbif.org](http://www.gbif.org).

## 1.2. Objetivos

El trabajo de esta tesis contempla distintas escalas de análisis. Por un lado, se caracterizan ambientalmente las áreas de distribución de la especie y se realiza (hasta donde sabemos) el primer análisis comparativo entre poblaciones de Sudamérica y Norteamérica (modelación de nicho ecológico, ensayos en condiciones controladas y análisis genéticos con poblaciones de ambos subcontinentes). Por otra parte, se profundizan las

investigaciones realizadas previamente a nivel regional, evaluando poblaciones del centro-noroeste de Argentina (provenientes de sitios con diferentes características ambientales) en cuanto a: i) sus adaptaciones para establecerse a campo bajo condiciones de estrés, ii) las características de las plantas que [a] determinan la respuesta ante estrés-disturbio y [b] su efecto sobre el funcionamiento del ecosistema.

El **objetivo general** de la tesis es caracterizar y comparar los ambientes que habita *T. crinita* en toda su área de distribución, e investigar la variabilidad existente entre poblaciones a escala regional y continental en características relevantes para su uso en restauración de pastizales. Estas últimas incluyen la capacidad de establecimiento, adaptación al estrés, y características morfo-fisiológicas y genéticas.

Los objetivos específicos y sus correspondientes hipótesis y predicciones son:

#### 1.2.1. Objetivo específico 1:

Delimitar las áreas de distribución de la especie en Sudamérica y Norteamérica, comparando las características climáticas de los ambientes que habita en ambos subcontinentes. Además, para evaluar la generalidad de los resultados que se obtengan sobre *T. crinita*, se pretende investigar el grupo entero de especies de plantas (25 especies) con distribución disyunta en regiones áridas y semiáridas cálidas de ambos subcontinentes de América, listadas en Raven (1963) y Simpson et al. (2017).

#### Hipótesis 1:

*T. crinita* y las demás especies disyuntas estudiadas, presentan en Sudamérica y Norteamérica similar ‘nicho realizado’ (es decir, hay ‘conservadurismo de nicho’, *sensu* Guisan et al. 2014).

Predicción 1.a:

*T. crinita* y las demás especies disyuntas estudiadas habitan en ambos subcontinentes ambientes con características climáticas semejantes (regímenes de precipitación y temperatura).

Predicción 1.b:

Los modelos ajustados en base a la distribución de *T. crinita* en Sudamérica predicen su distribución en Norteamérica, y viceversa.

1.2.2. Objetivo específico 2:

Evaluar experimentalmente los requerimientos térmicos, la tolerancia a temperaturas extremas y estrés osmótico (nicho fundamental) de poblaciones de Sudamérica y Norteamérica, haciendo foco sobre las primeras etapas del ciclo de las plantas (germinación de semillas, supervivencia de plántulas).

Hipótesis 2:

El régimen de temperatura y de precipitación de los sitios de origen seleccionó diferentes requerimientos térmicos y tolerancias a temperaturas y potenciales osmóticos extremos en semillas y plántulas de poblaciones de *T. crinita*.

Predicción 2.a:

Las poblaciones de Norteamérica y de Sudamérica presentan requerimientos para la germinación y tolerancias a sequía, frío y altas temperaturas, consistentes con el nicho climático que presentan en cada subcontinente.

### Predicción 2.b:

En cada subcontinente, la temperatura de los sitios de origen de las poblaciones se relaciona positivamente con los requerimientos térmicos para la germinación y con la tolerancia al calor (y de manera negativa con la tolerancia frío) de las plántulas. Además, la precipitación de los sitios de origen de las poblaciones se relaciona negativamente con la tolerancia al potencial osmótico durante la geminación y en plántulas.

### 1.2.3. Objetivo específico 3:

Evaluar la variabilidad genética (diversidad dentro de los subcontinentes y poblaciones), estructura genética (diferenciación entre subcontinentes y poblaciones), inferir la historia biogeográfica (procesos históricos que dieron forma a esa estructura y diversidad genética), y comparar el contenido de ADN nuclear (indicador del nivel de ploidía) en individuos de *T. crinita* de distintas procedencias de Sudamérica y Norteamérica.

### Hipótesis 3:

Las características genéticas de las poblaciones de *T. crinita* están influenciadas por el patrón de distribución geográfica de la especie en ambos subcontinentes.

### Predicción 3.a:

Existe una marcada divergencia genética en base a marcadores neutrales y nivel de ploidía entre las poblaciones de cada subcontinente debido al aislamiento actual y la influencia de factores históricos analizados mediante modelos de nicho ecológico.

### Predicción 3.b:

Hay una acción diferencial de la selección natural en las poblaciones de cada subcontinente analizada en base a variación morfológica de plantas mantenidas en jardín común y por lo tanto de base genética.

#### 1.2.4. Objetivo específico 4:

Investigar la capacidad de establecimiento a campo, en sitios con diferente precipitación, de 11 poblaciones del centro-norte de Argentina, originarias de ambientes contrastantes (diferente aridez, salinidad de suelo y presión de pastoreo) -interesa tanto el comportamiento de las poblaciones sembradas de manera individual como en mezclas.

##### Hipótesis 4:

Las condiciones de estrés de los sitios de origen de las poblaciones dieron lugar a adaptaciones que favorecen el establecimiento de las plantas ante condiciones de sequía.

##### Predicción 4.a:

A mayor nivel de estrés ambiental en los sitios de origen de las poblaciones (aridez, salinidad, presión de pastoreo), menos afectado es su establecimiento por la escasez de agua.

##### Predicción 4.b:

La siembra de mezclas de poblaciones disminuye la variabilidad en el establecimiento de la especie, en comparación con la siembra de poblaciones puras.

#### 1.2.5. Objetivo específico 5:

Investigar la variación intraespecífica en caracteres indicadores de respuesta a estrés-disturbio y de efecto sobre el ecosistema en poblaciones de Sudamérica y Norteamérica, considerando variables medidas en las poblaciones en los Capítulos 3, 4 y 5.

##### Hipótesis 5:

Los caracteres 'de respuesta' y 'de efecto' de las poblaciones son seleccionados por las condiciones ambientales de los sitios de colecta de las poblaciones.

### Predicción 5.a:

A mayores restricciones climáticas en los sitios de origen de las poblaciones (aridez, temperatura), éstas presentan estrategias de uso más conservativo de los recursos, que se relacionan con tasas de procesos ecosistémicos más lentas.

### Predicción 5.b:

Las poblaciones de sitios con mayores restricciones climáticas presentan menor plasticidad en sus caracteres ‘de respuesta’ y ‘de efecto’ en diferentes ambientes o ante distintos tratamientos.

## 1.3. Esquema de la tesis

El Cuadro 1.1 presenta el esquema general de la tesis, donde se muestran los objetivos de cada capítulo. Los resultados obtenidos con los cinco objetivos específicos, al integrarse y evaluarse en conjunto con la bibliografía relevante de cada tema, contribuyen al objetivo general de enriquecer las bases ecológicas para el uso racional de *T. crinita* y otras especies nativas con fines de restauración de pastizales.

Cuadro 1.1. Abordaje de los distintos capítulos de la tesis.

Capítulo de la tesis	Abordaje
Capítulo 1	Introducción general. Presentación del objetivo general, objetivos específicos, hipótesis y predicciones. Esquema de la tesis. Relevancia del tema.
Capítulo 2	Objetivo específico 1: nicho climático.
Capítulo 3	Objetivo específico 2: tolerancia en germinación y plántulas.
Capítulo 4	Objetivo específico 3: características genéticas.
Capítulo 5	Objetivo específico 4: siembra a campo.
Capítulo 6	Objetivo específico 5: caracteres ‘de respuesta’ y ‘de efecto’.
	Discusión general de la tesis. Resultados más destacados. Conclusiones y principales aspectos de tipo aplicado que se desprenden de los resultados.

#### 1.4. Importancia de la investigación

Para evaluar la relevancia general y originalidad del estudio propuesto, en mayo de 2016 se realizó una búsqueda bibliográfica en *Google Académico* y *Scopus*, de trabajos que mencionaran los términos: “niche” + “disjunct distribution” + “disjunct population”. La búsqueda arrojó un total de 78 trabajos (64 en *Google Académico* y 14 adicionales en *Scopus*). De ellos, 27 investigaban especies distribuidas disyuntamente, mientras que de los 51 restantes algunos tomaban como objeto de estudio géneros o familias, o bien sólo hacían alguna mención esporádica de los términos de búsqueda (p.ej. en ‘Discusión’ o ‘Bibliografía’) sin tomarlos como temas de investigación. De los 27 trabajos mencionados, 16 correspondían a plantas y 11 a otros organismos (animales, microorganismos, etc.). En plantas, se observó que 10 estudios se enfocaron en alguno de los siguientes cuatro aspectos: distribución geográfica, nicho ambiental-ecológico, características-respuestas morfo-fisiológicas, características genéticas; cuatro trabajos estudiaron dos de dichos aspectos a la vez, mientras que sólo dos trabajos estudiaron tres de ellos integradamente. Para ningún reino se encontraron estudios que integren los cuatro aspectos de la ecología de una especie con distribución disyunta tal como se plantea en esta tesis.

El conservadurismo de nicho fue el patrón casi generalizado en un estudio sobre 31 especies de plantas nativas (no invasoras) distribuidas disyuntamente entre los Alpes europeos y Escandinavia, donde sólo una especie presentó diferencias en su nicho realizado entre ambas zonas (Wasof et al. 2015). También se encontró un predominio de nicho conservado en especies de plantas invasoras al comparar el nicho realizado en la región de origen con el de la región invadida (Petitpierre et al. 2012). El objetivo es investigar si el

nicho realizado de *T. crinita* en Sudamérica y Norteamérica presenta un patrón consistente con la hipótesis de conservadurismo de nicho. Se pretende evaluar la generalidad de los resultados investigando también el resto de las especies distribuidas disyuntamente entre regiones áridas y semiáridas cálidas en ambos subcontinentes (citadas por Raven 1963 y Simpson et al. 2017). Además, la realización de ensayos de tolerancia de las poblaciones disyuntas de *T. crinita* a factores abióticos, es una oportunidad valiosa para investigar el nicho fundamental de la especie en ambos subcontinentes. No se han encontrado antecedentes de estudios del nicho realizado a través del análisis de distribución geográfica que hayan sido complementados con ensayos experimentales para determinar el nicho fundamental de poblaciones de especies disyuntas (aunque sí uno para especies invasoras, Hill et al. 2013). Por otra parte, los escasos estudios genéticos sobre especies de distribución disyunta se enfocaron en aspectos biogeográficos relacionados con fuerzas neutrales como el aislamiento (Peterson y Morrone 1997, Amarilla et al. 2015, Johnson y Porter 2017). En esta tesis, se analizan mediante jardines comunes y experimentalmente potenciales respuestas adaptativas de base genética que pueden ser valiosas en restauración.

Esta tesis contribuye al avance del conocimiento en aspectos relacionados al nicho ecológico de *T. crinita* que resultan relevantes para el uso de la especie en restauración de pastizales -el tipo de conjunción entre lo básico y lo aplicado sugerida por Wiens y Graham (2005). Se trata de aspectos de importancia ecológica general (Young et al. 2005, Breed et al. 2013) que se abordan conjuntamente por primera vez en una especie distribuida disyuntamente entre regiones áridas cálidas de Sudamérica y Norteamérica (p.ej. nicho ecológico, adaptación a factores ambientales, estructura genética). Los resultados podrían

ser potencialmente relevantes para el todavía escasamente investigado conjunto de especies distribuidas disyuntamente (~2500 especies en el mundo; Thorne 1972).

## Capítulo 2

### Caracterización y comparación del nicho realizado de *Trichloris crinita* y otras 25 especies disyuntas de regiones áridas y semiáridas de Sudamérica y Norteamérica

#### **2.1. Introducción**

Las distribuciones disyuntas de plantas han acaparado el interés de botánicos y ecólogos por décadas (Thorne 1972, Winkworth et al. 2015). Un conjunto de casos interesante comprende varias disyunciones (de especies y géneros) entre Norteamérica y Sudamérica (Raven 1963, Solbrig 1972). En ese sentido, hay estudios que han encontrado una elevada similitud entre ecosistemas de los subcontinentes americanos en cuanto a sus características abióticas (geomorfología, clima) y bióticas (tipos de plantas, animales, insectos) (Johnston 1940, Orians y Solbrig 1977).

La influencia del clima sobre la distribución de las especies es un tema de investigación clásico en ecología, que se mantiene vigente aún hasta nuestros días (Guisan et al. 2014). Para los organismos distribuidos disyuntamente (Shipley et al. 2013), de manera similar que para las especies que invaden territorios distantes a su hábitat original (Petitpierre et al. 2012), una de las primeras preguntas a responder es si en distintas regiones la misma especie ocupa ambientes con similares características climáticas.

Se ha considerado que el enfoque de nicho resulta particularmente útil al estudiar una especie en distintas regiones (MacArthur 1968, Milesi y Lopez de Casenave 2005). En este

sentido, Hutchinson (1957) definió como ‘nicho’ al conjunto de condiciones ambientales en las que una especie puede persistir. Dicho autor propuso a su vez la distinción entre el ‘nicho fundamental’ y el ‘nicho realizado’ de una especie, acotando que el primero incluye al conjunto de condiciones abióticas, mientras que el segundo contempla, además de éstas, a las condiciones bióticas (p.ej. interacción con otras especies: competencia, facilitación, etc.) (Whittaker et al. 1973). Existen otras definiciones de ‘nicho’, pero en el presente estudio se consideran las planteadas por Hutchinson (1957) por ser las que mayor consenso han alcanzado y por resultar de utilidad a los fines de este trabajo (Wiens y Graham 2005).

Durante los últimos 20 años se ha producido un gran avance en las técnicas utilizadas para caracterizar y comparar los patrones de distribución y las condiciones ambientales que resultan adecuadas para las especies (Peterson y Soberón 2012). Un aspecto que ha contribuido a dicho crecimiento es la mayor disponibilidad de ‘datos de presencia’ de las especies (coordenadas donde se las ha encontrado) y de variables ambientales en bases de datos *online* de libre acceso. Ello favoreció el desarrollo de técnicas de modelado de la distribución de especies (Guillera-Arroita et al. 2015) y de métodos de análisis multivariado al efecto (Broennimann et al. 2012). Si bien ambos tipos de técnicas se basan en identificar las condiciones ambientales de los sitios de ocurrencia de las especies (o sea, su nicho realizado), las primeras técnicas realizan una proyección geográfica del nicho realizado permitiendo definir el área que presenta condiciones ambientales adecuadas para distintos taxones, mientras que las segundas permiten caracterizar y comparar en un espacio multivariado de variables ambientales su nicho realizado (Peterson y Soberón 2012). Un uso adicional de los modelos de distribución de especies es que permiten identificar el

grado de importancia que tienen distintas variables ambientales sobre la distribución de las especies (Broennimann et al. 2012).

Con el apoyo de esas técnicas, numerosos estudios han evaluado si el nicho de una especie se mantiene en regiones separadas geográficamente (denominado como ‘conservadurismo de nicho’, Guisan et al. 2014; en oposición al cambio del nicho: *shift*), dando lugar a un debate que sigue siendo actual (Peterson y Nakazawa 2008, Fitzpatrick et al. 2008, Qiao et al. 2017). Algo a destacar, es que gran parte de estos estudios fueron realizados sobre especies invasoras, comparando su región de origen con la región que invaden (Broennimann et al. 2007, Petitpierre et al. 2012, pero ver Wasof et al. 2015). Sin embargo, poner a prueba la hipótesis de conservadurismo de nicho en base a especies invasoras posee la debilidad de que éstas posiblemente aún se encuentren en etapa de expansión en el rango exótico, por lo que pueden no haber expresado todavía completamente su nicho en dicha región (Petitpierre et al. 2012, Peña-Gómez et al. 2014). Por eso, el empleo de especies distribuidas disyuntamente por un periodo más largo, involucrando cientos a miles de generaciones, resultaría más adecuado para evaluar la existencia de conservadurismo vs. cambio de nicho. El tema representa un aspecto central en la aplicación de modelos para predecir áreas de distribución de especies, debido a que dicha predicción se basa en el supuesto de conservadurismo: que el nicho de las especies se mantiene entre las distintas regiones que ocupan (Petitpierre et al. 2012, Tingley et al. 2014).

Conocer el rango de condiciones ambientales adecuadas para una especie y en qué lugares existen esas condiciones es importante tanto para entender su autoecología, y así aportar al conocimiento ecológico básico, como para establecer pautas de conservación (p.ej.

identificar poblaciones en ambientes marginales) y de manejo (p.ej. planificar la restauración de poblaciones) (Ewen et al. 2012). En este capítulo se investigó a la especie objeto de esta tesis, *Trichloris crinita*, pero además, para evaluar la generalidad de los resultados que se obtengan en *T. crinita*, se investigó el grupo entero de especies de plantas distribuidas disyuntamente entre regiones áridas y semiáridas cálidas en ambos subcontinentes de América, listadas en Raven (1963) y Simpson et al. (2017).

El objetivo (objetivo específico 1) es comparar las características climáticas de los sitios que *T. crinita*, y las otras especies de plantas disyuntas de zonas áridas y semiáridas (Raven 1963, Simpson et al. 2017), habitan en Sudamérica y Norteamérica. También, se busca delimitar las áreas que poseen condiciones ambientales adecuadas para *T. crinita* en ambos subcontinentes. Se pone a prueba la hipótesis (hipótesis 1) de que *T. crinita* y las demás especies disyuntas aquí estudiadas presentan en Sudamérica y Norteamérica el mismo ‘nicho realizado’. Las predicciones relacionadas a dicha hipótesis son: (1.a) *T. crinita* y cada una de las especies disyuntas aquí estudiadas habitan en ambos subcontinentes ambientes con características climáticas semejantes. (1.b) En *T. crinita*, los modelos ajustados en base a la distribución de la especie en Sudamérica predicen su distribución en Norteamérica, y viceversa.

## **2.2. Materiales y métodos**

### **2.2.1. Especies en estudio**

Una de las especies evaluadas en este capítulo es *T. crinita* (descripción en Capítulo 1). Un estudio previo ha encontrado que su distribución, así como la de otras gramíneas, es influenciada fuertemente por el régimen de precipitaciones y de temperatura (Cavagnaro 1988). El resto de las especies investigadas son las que fueron clasificadas por Raven (1963) y Simpson et al. (2017) como *amphitropical desert disjunct species*, dado que habitan disyuntamente regiones áridas y semiáridas cálidas de ambos subcontinentes de América. Al igual que *T. crinita*, todas las especies de este grupo se caracterizan por presentar su periodo de crecimiento en la estación cálida. En primera instancia se consideró un total de 31 especies, de las cuales 22 fueron originalmente mencionadas por Raven (1963) y otras 9 fueron más recientemente adicionadas al grupo por Simpson et al. (2017) (ver Cuadro 7.1, en el Apéndice). Del total inicial de 31 especies, se seleccionaron 25 especies (13 pastos, 9 latifoliadas herbáceas, 3 latifoliadas leñosas; Cuadro 7.1), dado que se debieron descartar del análisis 6 especies mencionadas por Raven (1963): una presentaba un patrón de disyunción entre Norteamérica y Sudáfrica, y las otras 5 presentaban menos de 5 coordenadas de presencia en alguno de los subcontinentes y por ende los análisis no serían robustos (van Proosdij et al., 2016; Warren et al., 2008) (Cuadro 7.1, Apéndice). Para las especies se usó en nombre científico ‘aceptado’ según la base de datos de libre acceso *Global biodiversity information facility* ([www.gbif.org](http://www.gbif.org)).

### 2.2.2. Área de estudio

Los análisis se desarrollaron para el continente americano e islas asociadas, considerando todo el subcontinente sudamericano y la porción del norteamericano ubicada al sur de los 49° de latitud norte (excluyendo entonces Alaska, Groenlandia y casi todo Canadá, por

tener climas demasiado fríos como para ser habitados por las especies evaluadas). Se consideró el límite entre Colombia y Panamá como límite natural entre ambos subcontinentes, y a las islas del Caribe como asociadas a Norteamérica. De esta manera se cumplió con la premisa de incluir, para ambos subcontinentes, toda el área accesible a la especie en una escala de tiempo relevante (Barve et al. 2011, Guisan et al. 2014).

### 2.2.3. Datos de presencia

Las coordenadas de presencia de las especies fueron obtenidas de la base de datos libre *Global biodiversity information facility* ([www.gbif.org](http://www.gbif.org) ; fechas de descarga: 2/11/2013 para *T. crinita*; entre el 1/4/2016 y el 31/9/2018 para las demás especies). Se realizó un control de calidad de los datos descargados siguiendo las recomendaciones de Scheldeman y van Zonneveld (2011), se eliminaron coordenadas con errores evidentes (p.ej. situadas en océanos, fuera del área de distribución posible) y se cotejó la ubicación geográfica con la información de la unidad administrativa –país, provincia, departamento. Aunque no se pudo hacer en todas las especies, para la especie foco de esta tesis (*T. crinita*) se corroboró la identidad de los ejemplares considerados que contaban con imagen digitalizada en la base de datos, encontrándose una correcta identificación en todos los casos (n=160). En *T. crinita* y todas las demás especies, se descartaron coordenadas para que la mínima distancia entre puntos de presencia fuese de 2.5 minutos sexagesimales (~5 km), de modo que la resolución espacial fuese igual a la de las variables climáticas (ver más abajo) y también minimizar posibles efectos de autocorrelación espacial y sesgo geográfico de los datos (Fourcade et al. 2014, Feng et al. 2019, Quiroga et al. 2018, 2021). La cantidad total de coordenadas de presencia descargadas inicialmente y la finalmente considerada para las

especies en cada subcontinente pueden verse en el Cuadro 7.1 (Apéndice), mientras que la ubicación geográfica de las ocurrencias consideradas puede verse en la Figura 2.4 (también en la Figura 1.1 del Capítulo 1) para *T. crinita* y en las Figuras 7.1-3 (Apéndice) para las otras 25 especies.

#### 2.2.4. Variables climáticas

La distribución de especies a escala continental está gobernada principalmente por las variables climáticas (Pearson y Dawson 2003). A su vez, una especie dada puede ser más influenciada por algunas variables climáticas que por otras, por ello Guisan y Thuiller (2005) recomendaron concentrarse en aquellas que resultan más relevantes para la biología de la especie a estudiar. Teniendo en cuenta ello, se descargaron para el área de estudio 19 variables ‘bioclimáticas’ de la base de datos de libre acceso WorldClim ([www.worldclim.org](http://www.worldclim.org); Hijmans et al. 2005), de las cuales se seleccionaron 5 que a priori se consideró que presentaban más importancia biológica para *T. crinita* y las demás especies, por relacionarse con la oferta de agua (variables X12, X18; numeración según WorldClim) y temperatura durante el periodo de crecimiento (X1, X10), y con el rango anual de temperatura que deben afrontar (X7):

- Temperatura media anual (X1)
- Rango anual de temperatura (X7, diferencia entre la temperatura máxima media del mes más cálido y la temperatura mínima media del mes más frío)
- Temperatura media del trimestre más cálido (X10)
- Precipitación anual (X12)
- Precipitación del trimestre más cálido (X18)

Estas variables fueron obtenidas por Hijmans et al. (2005) mediante interpolación de datos obtenidos de estaciones meteorológicas de todo el planeta para el periodo 1950-2000. La resolución espacial de los datos descargados fue de 2.5 minutos sexagesimales (tamaño de pixel = ~5 km x ~5 km en cercanías del ecuador).

Durante el proceso de selección se realizaron análisis de correlación entre los valores de las 19 variables del área de estudio usando ENMTools v1.4.4 (Warren et al. 2010). Para evitar información redundante, se seleccionaron sólo las variables que presentaron entre sí un coeficiente de correlación menor a 0.85 (Wei et al. 2017). Una de las variables seleccionadas (rango anual de temperaturas, X7), se relacionó de manera negativa y altamente significativa ( $r=0.93$ ;  $p<0.0001$ ) con otra variable considerada en principio de importancia, por lo que se excluyó esta última variable (temperatura mínima media del mes más frío, X6).

#### 2.2.5. Caracterización y comparación del nicho realizado

Se realizaron dos tipos de análisis, uno aplicado sólo a *T. crinita* que consideró cada una de las variables climáticas seleccionadas individualmente, y otro de tipo multivariado con las 5 variables climáticas a la vez aplicado a todas las especies (*T. crinita* inclusive). Los análisis se realizaron con *scripts* (secuencias de comandos) provistos por Broennimann et al. (2012), usando el *software* R versión 3.2.3 (R Development Core Team 2010). Se siguió la metodología descrita por Broennimann et al. (2012) por estar estandarizada y ser recomendada para este tipo de análisis (Guisan et al. 2014). La misma consta de 3 pasos:

- i) Cálculo de la densidad de puntos de presencia de la especie y de ambientes disponibles en Sudamérica y en Norteamérica, a través de ejes determinados por cada variable climática por separado (primer tipo de análisis) o bien en un espacio bidimensional determinado por los dos ejes más importantes de un análisis multivariado de componentes principales (segundo tipo de análisis). Para ello los ejes son divididos en celdas, y los valores de densidad ‘suavizados’ mediante una función de densidad *kernel* (Silverman 1986). Luego se calcula el grado de ocupación que hace la especie de los ambientes disponibles, en una escala que va de 0 (sin ocupación) a 1 (ocupación máxima).
- ii) Cálculo del solapamiento (superposición) de nicho considerando los valores de ocupación de la especie en ambos subcontinentes, corrigiendo el efecto de posibles diferencias en la disponibilidad de climas entre regiones. Ello se realiza a lo largo de los ejes de las variables individuales y en el espacio multivariado mencionados en el punto (i), calculando el índice D de Schoener (1968), cuyos valores van de 0 (nada de solapamiento) a 1 (solapamiento completo).
- iii) Realización de pruebas estadísticas de ‘equivalencia’ y ‘similitud’ entre nichos, considerando cada variable individual y luego el espacio multivariado. El test de equivalencia determina por permutación si dos nichos son idénticos o equivalentes, para lo cual compara el valor de D observado -en punto (ii)- con una distribución ‘nula’ de valores de D ( $n=100$ ), donde cada valor de D es calculado para dos muestras aleatorias, de igual tamaño que las originales, obtenidas de dividir en dos el *pool* de todas las coordenadas. Si el valor de D observado es menor al 95% de los valores de D de la distribución nula, se rechaza la hipótesis de que ambos nichos son idénticos o equivalentes. Por su parte, el test de similitud evalúa si el

solapamiento de dos nichos es más similar de lo que se esperaría al comparar el nicho de la especie en una región con nichos simulados aleatoriamente en la otra. Para ello se compara el índice D observado en (ii) con dos distribuciones nulas de dicho índice, cuyos valores se obtienen comparando nichos simulados (n=100) en una región mediante muestreos aleatorios de sus ambientes (p.ej. Norteamérica) con el nicho observado de la especie en la otra región (Sudamérica); el mismo proceso se repite en dirección opuesta (p.ej. nichos simulados en Sudamérica vs. nicho observado en Norteamérica) obteniendo así las dos distribuciones nulas. En cada caso, si el valor de D observado en (ii) es superior al 95% de los valores de la distribución nula, se rechaza la hipótesis de que el solapamiento observado es debido al azar.

Además, usando las densidades de presencia ‘suavizadas’ obtenidas en el espacio multivariado [punto (i)], se estimó para cada especie la proporción de sus ocurrencias en cada subcontinente que corresponden al espacio de solapamiento entre nichos y las que están por fuera del mismo -y por lo tanto son exclusivas del nicho de cada subcontinente. Según Petitpierre et al. (2012) una proporción de ocurrencias exclusivas a una región de 0.10 (porcentaje del 10%) o superior indica que el nicho es diferente en esa región respecto de la otra. Dado que el nicho realizado de una especie puede estar limitado en una región debido a que ciertas condiciones ambientales no están presentes, Guisan et al. (2014) recomendaron realizar la estimación de estos parámetros considerando todos los climas disponibles en ambas regiones, y del 100% al 75% de los climas más comunes que están presentes a la vez en ambas, para explorar el efecto que pueden presentar los climas menos frecuentes. Para tener el panorama completo para la especie focal de esta tesis, en *T. crinita* estas estimaciones se hicieron considerando: a) todos los ambientes de ambos

subcontinentes; b) todos los ambientes comunes entre ambos subcontinentes; c) los ambientes comunes entre ambos subcontinentes luego de eliminar el 12.5% de los climas más raros de cada uno; d) los ambientes comunes entre ambos subcontinentes luego de eliminar el 25% de los climas más raros de cada uno. Por su parte, en las otras 25 especies disyuntas las estimaciones se hicieron considerando sólo los casos (b) y (d).

#### 2.2.6. Proyección geográfica del nicho realizado

Para proyectar geográficamente el nicho realizado de *T. crinita* se utilizó el *software* MAXENT 3.3.0 (Phillips et al. 2006), que implementa un método de ‘aprendizaje automático’ (*machine-learning*) para estimar la distribución potencial (áreas con condiciones ambientales adecuadas) de una especie (Phillips et al. 2006). MAXENT ha mostrado mejor performance que otros programas de modelado de distribución de especies basados en datos de presencia, como los aquí empleados (Elith et al. 2006, Ortega-Huerta y Peterson 2008). Se aplicó la técnica de modelación recíproca (Fitzpatrick et al. 2007): con las coordenadas de presencia de la especie en Norteamérica se modeló la distribución potencial en ese territorio, y se usó dicha calibración para estimar la distribución potencial en Sudamérica. Esto fue repetido a la inversa, usando las coordenadas de presencia de Sudamérica para modelar la distribución en dicho subcontinente y luego realizar una proyección de ese modelo hacia Norteamérica. El proceso se realizó 10 veces, y los resultados se promediaron. Se usó la configuración *default* de MAXENT, excepto que para proyectar las calibraciones realizadas en un subcontinente sobre el otro, se optó por la opción *fade by clamping*, que limita la extrapolación a áreas con climas que están fuera del rango de los encontrados en el área de calibración (Sobek-Swant et al. 2012).

La validación de los modelos calibrados en cada subcontinente se realizó mediante la técnica de validación cruzada (10 repeticiones) y el cálculo de los siguientes indicadores: el área bajo la curva *ROC* (AUC; Elith et al. 2006, Tingley et al. 2014); la diferencia entre valores de AUC obtenidos con datos de calibración y de validación (AUCdiff; Warren y Seifert 2011); y el estadístico TSS (Allouche et al. 2006, Liu et al. 2013). El indicador AUC evalúa la habilidad de un modelo para discriminar las coordenadas con presencia respecto del resto de coordenadas del área considerada (AUC=1 indica predicción perfecta; AUC=0.5 indica predicción esperada por azar). AUCdiff estima el riesgo de sobreajuste de un modelo (valores cercanos a 0 indican menor riesgo). TSS compara el número de pronósticos correctos, menos los atribuibles al azar, con un conjunto hipotético de pronósticos perfectos (TSS = 1 indica predicción perfecta, TSS  $\leq$  0 indica que la predicción no es mejor que por azar) (Bosso et al. 2016). Además, se evaluó la importancia de cada una de las variables seleccionadas en cuanto a su aporte al poder predictivo del modelo en cada subcontinente (opción *do jackknife to measure variable importance*), ajustando modelos con cada variable individual y con cada variable como faltante (10 repeticiones), y estimando los correspondientes valores de AUC.

## **2.3. Resultados**

### 2.3.1. Caracterización y comparación del nicho realizado

#### 2.3.1.a. Variables climáticas individuales en *Trichloris crinita*

Los niveles de solapamiento en cada una de las variables analizadas correspondientes a las distribuciones de *T. crinita* en Norteamérica y Sudamérica fueron intermedios ( $D = 0.4$  a  $0.7$ ; Figura 2.1). En todos los casos el test de equivalencia señaló que el nicho realizado de la especie no es equivalente en ambos subcontinentes ( $P < 0.05$  en las 5 variables). Por su parte, el test de similitud señaló que sólo en 2 de las 5 variables (X7: rango anual de temperatura, y X10: temperatura promedio del trimestre más cálido) el solapamiento observado entre el nicho de *T. crinita* en Norteamérica y Sudamérica es mayor a lo esperado si se compara el nicho en Norteamérica con nichos simulados al azar en Sudamérica ( $P < 0.05$  en ambas variables). En el resto de los casos (variables y sentidos del test de similitud -norte a sur, o viceversa) no se observaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre el solapamiento observado y lo esperable al considerar nichos al azar (Figura 2.1). En resumen, *T. crinita* tiende a habitar ambientes con diferentes condiciones climáticas en ambos subcontinentes.

La especie habita en ambos subcontinentes en sitios con temperatura media anual (X1) menor a  $27-28^{\circ}\text{C}$  (Figura 2.1), pero se la encuentra de manera más frecuente en ambientes que presentan entre  $15$  y  $22^{\circ}\text{C}$ . La diferencia más notoria entre subcontinentes es que en Sudamérica está presente también en sitios con temperatura media anual menor a  $10^{\circ}\text{C}$ , algo que no ocurre en Norteamérica a pesar de presentar amplia disponibilidad de ambientes con esa temperatura.

Los sitios habitados por *T. crinita* en ambos subcontinentes presentan un rango anual de temperatura (X7) mayor a  $15^{\circ}\text{C}$ , siendo la especie más frecuente en sitios con un rango anual de temperatura cercano a  $30^{\circ}\text{C}$ . La principal diferencia entre las áreas de distribución

de la especie respecto de esta variable es que en Norteamérica hay una importante proporción de ocurrencias en sitios con valores comprendidos entre 35 y 42°C, mientras que en Sudamérica no existen ambientes con esa característica (Figura 2.1).

La especie es más frecuente en ambos subcontinentes en sitios con temperatura media del trimestre más cálido (X10) de 25-27°C (Figura 2.1), pero en Norteamérica llega a habitar sitios que superan los 31°C, algo que no ocurre en Sudamérica, donde no se observaron ambientes con esa característica. Por su parte, la especie está presente en Sudamérica en sitios con temperatura media del trimestre más cálido menor a 17°C, no así en Norteamérica, a pesar de la existencia de ambientes con esos valores de temperatura. En Norteamérica *T. crinita* habita más comúnmente sitios con 300-600 mm de precipitación anual (X12), y alcanza sitios alrededor de los 1000 mm. La especie no habita ambientes con más precipitación a pesar de que están disponibles. Por su parte, en Sudamérica la especie habita un rango de ambientes más variados, encontrándose más frecuentemente en sitios comprendidos entre 400 y 1000 mm, y llegando a habitar sitios con una precipitación anual cercana a los 1600 mm (Figura 2.1). En ambos subcontinentes la especie está presente en ambientes con menos de 300 mm de precipitación anual, aunque de manera menos frecuente.

Respecto de la precipitación del trimestre más cálido (X18), casi la totalidad de ocurrencias de *T. crinita* en Norteamérica se corresponden a sitios con valores menores de 300 mm (a pesar de la existencia de ambientes con más precipitación), siendo frecuente en sitios con 100-200 mm. Por su lado, la presencia de la especie en Sudamérica ocurre en sitios con hasta 500 mm, siendo más frecuente entre los 300 y 400 mm (Figura 2.1).

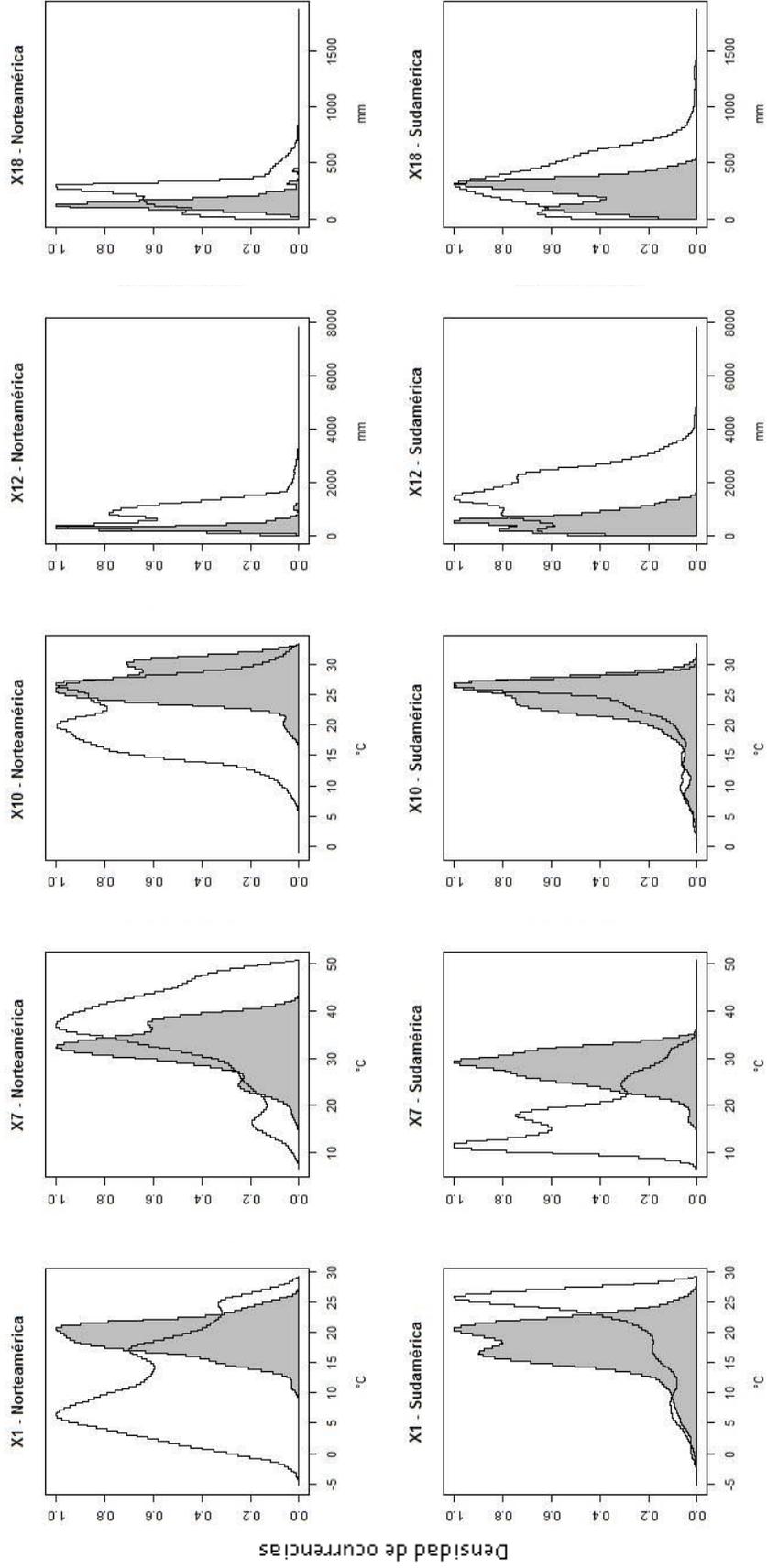


Figura 2.1. Densidad de ocurrencias de *T. crinita* (en gris) y de ambientes disponibles (en blanco) para cada una de las variables climáticas seleccionadas (en columnas: X1, X7, X10, X12, X18) para cada subcontinente (fila superior: Norteamérica, fila inferior: Sudamérica). Para cada variable se muestra el valor del índice D de Schoener, y la significancia ( $P < 0.05$ , \*;  $P > 0.05$ , n.s.) de los test de equivalencia (E) y Similitud ( $S_{NA-SA}$ : considerando nichos simulados en Norteamérica y nicho observado en Sudamérica;  $S_{SSA-NA}$ : nichos simulados en Sudamérica y nicho observado en Norteamérica; detalles en Materiales y métodos).

### 2.3.1.b. Análisis multivariado

Los dos primeros ejes del análisis de componentes principales explicaron el 64% (CP1) y 20% (CP2) de la variabilidad total de los datos climáticos (Figura 2.2 para *T. crinita*, Figuras 7.4-6 para las otras especies disyuntas, Apéndice). El CP1 se correlacionó fuertemente y de manera negativa con el rango anual de temperatura (X7), relacionándose a la vez de manera positiva con las restantes variables (Figuras 2.2 y 7.4-6). El CP2 se correlacionó positivamente con las variables de precipitación (X12, X18) y negativamente con las de temperatura (X1, X10).

#### *Trichloris crinita*

Se observó que *T. crinita* habita una mayor diversidad de ambientes en Sudamérica que en Norteamérica, encontrándose su distribución en Norteamérica restringida: desplazada principalmente hacia ambientes con menos precipitación, y en menor medida, a ambientes con mayor rango anual de temperatura (Figura 2.2).

En este espacio multivariado, el solapamiento de nicho de *T. crinita* entre Norteamérica y Sudamérica ( $D=0.35$ ; Figura 2.2) fue menor al detectado para las variables climáticas individuales (Figura 2.1). Se encontraron diferencias significativas entre los nichos en ambos subcontinentes ( $P<0.05$  en el test de equivalencia). No obstante, el test de similitud señaló que el solapamiento observado es mayor a lo esperado ( $P<0.05$ ) si se compara el nicho en Norteamérica con nichos simulados al azar en Sudamérica. En el sentido opuesto, no se encontraron diferencias significativas entre el solapamiento observado ( $P>0.05$ ) y los solapamientos simulados entre el nicho en Sudamérica y nichos simulados al azar en Norteamérica (Figura 2.2). En síntesis, se encontró una diferenciación significativa entre

los nichos de *T. crinita* en Sudamérica y Norteamérica a pesar de que, como era de esperar, presentaron cierta similitud debida a que corresponden a dos distribuciones de la misma especie.

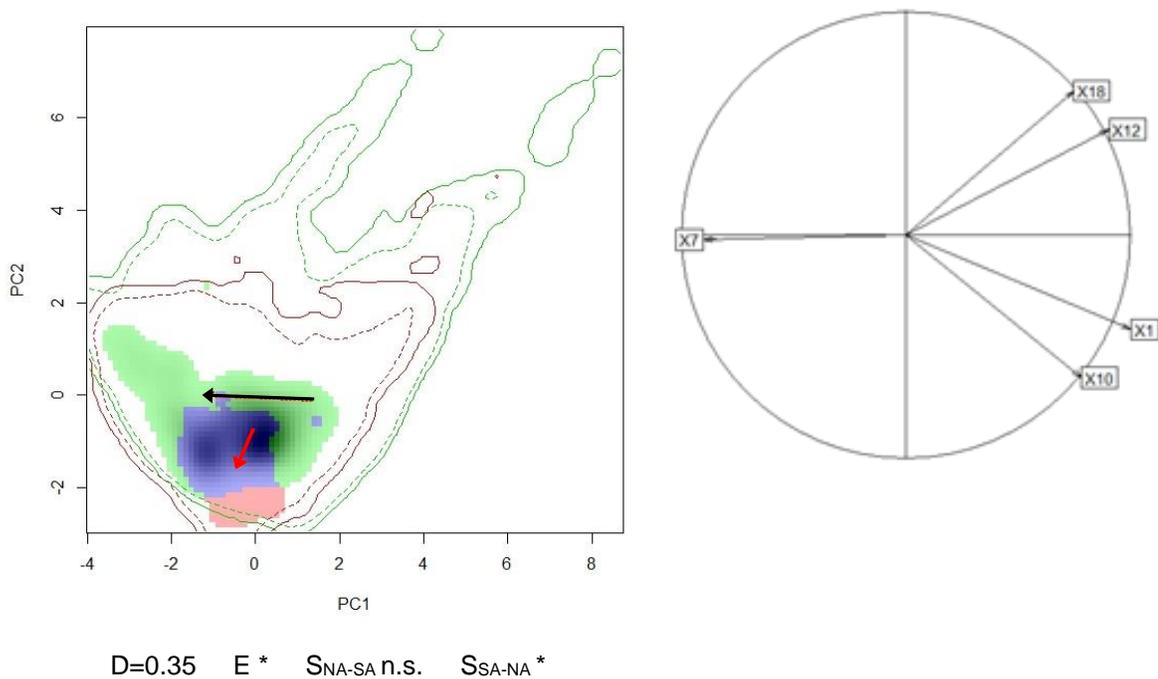


Figura 2.2. [Izq.] Densidad de ocurrencias (área sombreada, sombreado más intenso indica mayor densidad) y de ambientes disponibles (línea llena = percentil 100%; línea de trazos = percentil 75%) en cada Subcontinente (Sudamérica, verde; Norteamérica, rojo; área de solapamiento de ambos nichos en color violeta) obtenidos mediante análisis de componentes principales (sensu Broennimann et al. 2012). Las flechas (de línea roja para ocurrencias, línea negra para disponibilidad de ambientes) muestran el cambio del centro de densidad en dirección Sudamérica - Norteamérica. Los ejes 1 y 2 (PC1 y PC2) explicaron el 64% y 20% de la variabilidad de los datos, respectivamente. Se muestra el valor del índice D de Schoener, y la significancia ( $P < 0.05$ , \*;  $P > 0.05$ , n.s.) de los test de equivalencia (E) y Similitud ( $S_{NA-SA}$  y  $S_{SA-NA}$ ). [Der.] Circulo de correlación que muestra la contribución de las variables climáticas (X1, X7, X10, X12, X18) sobre cada eje.

Norteamérica y Sudamérica comparten en gran medida la disponibilidad de climas. Sin embargo, el área correspondiente a Sudamérica en el espacio multivariado es mayor (abarca más diversidad de climas), especialmente por contar con ambientes más lluviosos no

presentes en Norteamérica. Se observa una diferencia en la posición de los centroides correspondientes a los ambientes disponibles en ambos subcontinentes (flecha con línea de trazos en sentido negativo del CP1, Figura 2.2), presentando Norteamérica mayor frecuencia de climas secos y con alto rango anual de temperatura.

*T. crinita* presentó en Sudamérica un nicho realizado diferente al de Norteamérica, con porcentajes de ocurrencias en la porción de nicho exclusiva de Sudamérica entre 38% y 35% cuando se consideraron todos los climas de ambos subcontinentes o el 100%, 87.5% o 75% de los climas más comunes compartidos (Cuadro 2.1). Por su parte, la especie presentó en Norteamérica un nicho realizado diferente al de Sudamérica sólo cuando se consideraron todos los climas de ambos subcontinentes o el 100% de los climas compartidos, con porcentajes de ocurrencias en la porción de nicho exclusiva de Norteamérica del 22% en ambos casos. Cuando se consideraron el 87.5% o 75% de los climas más comunes compartidos entre subcontinentes las ocurrencias exclusivas de Norteamérica representaron sólo el 6% y 1%, respectivamente (Cuadro 2.1).

Excepto por una baja proporción de ocurrencias en Norteamérica, la distribución de la especie se encuentra prácticamente en su totalidad (~99%) en ambientes que se encuentran disponibles en ambos subcontinentes (visible en Figura 2.2). Se observa que los porcentajes de ocurrencias exclusivas de cada nicho y los que están en el área de solapamiento entre nichos se mantienen casi sin cambios al considerar todos los ambientes disponibles o el 100% de los ambientes compartidos entre subcontinentes (Cuadro 7.1). No obstante, los porcentajes de ocurrencias exclusivas o en el área de intersección entre nichos se reducen notoriamente en Norteamérica (no así en Sudamérica) si se elimina del análisis el 12.5 ó

25% de los climas menos frecuentes de cada subcontinente antes de considerar los ambientes compartidos, lo que señala que hay más proporción de ocurrencias en ambientes poco usuales de Norteamérica que de Sudamérica (Cuadro 2.1).

Cuadro 2.1. Proporción de ocurrencias de cada subcontinente que corresponden al espacio de solapamiento entre nichos o que están por fuera del mismo y son exclusivas del nicho de cada subcontinente. Las estimaciones se hicieron en el espacio climático multivariado considerando cuatro maneras alternativas (a, b, c, d).

	Norteamérica		Sudamérica	
	Ocurrencias exclusivas	Ocurrencias en solapamiento de nichos	Ocurrencias exclusivas	Ocurrencias en solapamiento de nichos
a) Todos los ambientes de ambos subcontinentes	0.22	0.78	0.38	0.62
b) Ambientes comunes entre ambos subcontinentes	0.22	0.78	0.38	0.62
c) Ambientes comunes entre ambos subcontinentes luego de eliminar el 12.5% de los climas menos frecuentes de cada uno	0.06	0.94	0.37	0.63
d) Ambientes comunes entre ambos subcontinentes luego de eliminar el 25% de los climas menos frecuentes de cada uno	0.01	0.99	0.35	0.65

#### Otras especies disyuntas

La distribución en Norteamérica de las otras 25 especies evaluadas estuvo en general desplazada hacia ambientes con menos precipitación y/o con mayor temperatura (Figuras

7.4-6) respecto de los ambientes que las mismas ocupan en Sudamérica. Estas especies presentaron diferencias en el nicho realizado entre subcontinentes (Cuadro 2.2), mostrando índices de solapamiento entre muy bajos a intermedios ( $D$  entre 0.01 y 0.52). En 18 de las 25 especies se rechazó la equivalencia de nichos ( $P < 0.05$ ), y sólo en 6 especies los nichos de ambos subcontinentes fueron más similares de lo esperado por azar ( $P < 0.05$ ). La mayoría de las especies (23 de 25) presentaron en Sudamérica proporciones de exclusividad de ocurrencias mayores a 0.10 (indicador de cambio de nicho realizado). Por su parte, en Norteamérica, las especies que presentaron una proporción de exclusividad de ocurrencias mayor a 0.10 fue la mitad (13 de 25). Estas proporciones no variaron significativamente cuando el análisis se hizo considerando todos los ambientes comunes entre ambos subcontinentes, o bien los ambientes comunes entre subcontinentes luego de eliminar el 25% de los climas más raros de cada uno (Cuadro 2.2).

### 2.3.2. Proyección geográfica del nicho realizado en *Trichloris crinita*

#### 2.3.2.a. Modelos recíprocos

Los modelos de distribución reflejaron adecuadamente la distribución de *T. crinita* en el subcontinente para el que habían sido calibrados (Figura 2.3), presentando en ambos casos altos valores de AUC (0.96 para el modelo calibrado en Norteamérica, 0.95 para el calibrado en Sudamérica; Figura 2.4). Sin embargo, las proyecciones hacia el otro Subcontinente no fueron igualmente precisas para predecir las coordenadas de presencia conocidas.

Al proyectarse geográficamente sobre Sudamérica el nicho realizado estimado en Norteamérica sólo predijo correctamente la ocurrencia de la especie en los sectores norte (Bolivia, Paraguay, Perú) y sudoeste (Argentina) del área de distribución actual en Sudamérica; además, no señaló como hábitat potencial todo el centro y el este de la distribución actual (Argentina), y sí predijo como hábitat potencial el este de Brasil y porciones del norte de Venezuela, donde no se registra su presencia (Figura 2.3). De esta manera, la proyección realizada sobre Sudamérica sólo coincide con el 25% de las ocurrencias (44 de 177) y 21% del área de distribución estimada en base a las coordenadas locales ( $0.35 \times 10^6 \text{ km}^2$  de  $1.64 \times 10^6 \text{ km}^2$ ).

Por su parte, la proyección del nicho realizado de Sudamérica hacia Norteamérica sobreestimó el área de distribución en todas las direcciones geográficas, incluso señalando como adecuada la península de Florida, región distante respecto de la distribución actual de la especie en ese subcontinente (Figura 2.3). La proyección incluyó correctamente el 97% de las coordenadas consideradas de la especie en Norteamérica (101 de 104, excepto 3 ocurrencias en el sur de México), pero señaló como hábitat potencial una superficie 164% mayor a la estimada en base a las coordenadas locales ( $2.06 \times 10^6 \text{ km}^2$  vs.  $0.78 \times 10^6 \text{ km}^2$ ).

Cuadro 2.2. Resultados para 25 especies distribuidas disyuntamente entre regiones áridas y semiáridas cálidas de Norteamérica y Sudamérica del análisis de comparación de nichos, se muestran: el índice D de Schoener; los valores de P de los test de equivalencia (E) y Similitud (en la dirección Norteamérica a Sudamérica,  $S_{NA-SA}$ ; y viceversa,  $S_{SA-NA}$ ); la proporción de ocurrencias de cada subcontinente (NA: Norteamérica; SA: Sudamérica) que corresponden al espacio de solapamiento entre nichos o que son exclusivas del nicho de cada subcontinente, considerando todos los ambientes comunes (valores fuera de paréntesis, modo 'b' en Cuadro 2.1) y los ambientes comunes luego de eliminar el 25% de los climas más raros de cada subcontinente (valores entre paréntesis, modo 'd' en Cuadro 2.1).

Especie	Índice D	Valor P (E)	Valor P ( $S_{NA-NA}$ )	Valor P ( $S_{SA-NA}$ )	Ocurr. exclusivas NA	Ocurr. solapam. NA	Ocurr. exclusivas SA	Ocurr. solapam. SA
<i>Bothriochloa exaristata</i> (G)	0.25	0.010	0.010	0.010	0.04 (0.04)	0.96 (0.96)	0.70 (0.70)	0.30 (0.30)
<i>Bothriochloa laguroides</i> (G)	0.23	0.005	0.055	0.065	0.53 (0.52)	0.47 (0.48)	0.00 (0.00)	1.00 (1.00)
<i>Chondrosum simplex</i> (G)	0.21	0.005	0.075	0.075	0.02 (0.02)	0.98 (0.98)	0.25 (0.22)	0.75 (0.78)
<i>Cottea pappophoroides</i> (G)	0.25	0.005	0.100	0.109	0.06 (0.05)	0.94 (0.95)	0.49 (0.49)	0.51 (0.51)
<i>Disakisperma dubium</i> (G)	0.31	0.005	0.109	0.109	0.08 (0.07)	0.92 (0.93)	0.31 (0.31)	0.69 (0.69)
<i>Dissanthelium calycinum</i> (G)	0.01	0.005	0.204	0.164	0.94 (0.94)	0.06 (0.06)	0.99 (0.99)	0.01 (0.01)
<i>Erioneuron avenaceum</i> (G)	0.06	0.005	0.169	0.149	0.56 (0.56)	0.44 (0.44)	0.83 (0.83)	0.17 (0.17)
<i>Lycurus phleoides</i> (G)	0.06	0.005	0.119	0.154	0.62 (0.62)	0.38 (0.38)	0.88 (0.86)	0.12 (0.14)
<i>Lycurus setosus</i> (G)	0.44	0.109	0.010	0.010	0.07 (0.07)	0.93 (0.93)	0.05 (0.05)	0.95 (0.95)
<i>Panicum urvilleanum</i> (G)	0.05	0.005	0.299	0.338	0.65 (0.59)	0.35 (0.41)	0.82 (0.82)	0.18 (0.18)
<i>Pappophorum mucronulatum</i> (G)	0.26	0.005	0.055	0.060	0.16 (0.16)	0.84 (0.84)	0.62 (0.62)	0.38 (0.38)
<i>Scleropogon brevifolius</i> (G)	0.05	0.005	0.174	0.189	0.15 (0.14)	0.85 (0.86)	0.72 (0.70)	0.28 (0.30)
<i>Trichloris pluriflora</i> (G)	0.29	0.005	0.070	0.055	0.07 (0.07)	0.93 (0.93)	0.31 (0.31)	0.69 (0.69)
<i>Cressa nudicaulis</i> (F)	0.01	0.005	0.159	0.100	0.00 (0.00)	1.00 (1.00)	0.96 (0.96)	0.04 (0.04)
<i>Cryptantha albida</i> (F)	0.01	0.005	0.214	0.209	0.98 (0.98)	0.02 (0.02)	0.80 (0.80)	0.20 (0.20)
<i>Cryptantha maritima</i> var. <i>pilosa</i> (F)	0.15	0.433	0.080	0.095	0.42 (0.24)	0.58 (0.76)	0.70 (0.70)	0.30 (0.30)
<i>Evolvulus arizonicus</i> (F)	0.19	0.005	0.075	0.095	0.61 (0.61)	0.39 (0.39)	0.57 (0.57)	0.43 (0.43)
<i>Hoffmannseggia glauca</i> (F)	0.39	0.075	0.020	0.035	0.08 (0.05)	0.92 (0.95)	0.28 (0.28)	0.72 (0.72)
<i>Mentzelia albescens</i> (F)	0.08	0.035	0.070	0.129	0.06 (0.06)	0.94 (0.94)	0.79 (0.78)	0.21 (0.22)
<i>Proboscidea althaeifolia</i> (F)	0.44	0.711	0.010	0.005	0.13 (0.14)	0.87 (0.86)	0.32 (0.31)	0.68 (0.69)
<i>Schkuhria multiflora</i> (F)	0.52	0.642	0.010	0.005	0.02 (0.02)	0.98 (0.98)	0.21 (0.22)	0.79 (0.78)
<i>Tiquilia nuttallii</i> (F)	0.17	0.025	0.109	0.119	0.25 (0.20)	0.75 (0.80)	0.12 (0.10)	0.88 (0.90)
<i>Acaciella angustissima</i> var. <i>angustissima</i> (W)	0.25	0.299	0.090	0.109	0.07 (0.04)	0.93 (0.96)	0.13 (0.12)	0.87 (0.88)
<i>Aloysia gratissima</i> (W)	0.41	0.254	0.010	0.010	0.02 (0.02)	0.98 (0.98)	0.66 (0.66)	0.34 (0.34)
<i>Capparis atamisquea</i> (W)	0.08	0.005	0.134	0.109	0.74 (0.71)	0.26 (0.29)	0.90 (0.90)	0.10 (0.10)

(G) gramíneas, (F) latifoliadas herbáceas, (W) latifoliadas leñosas.

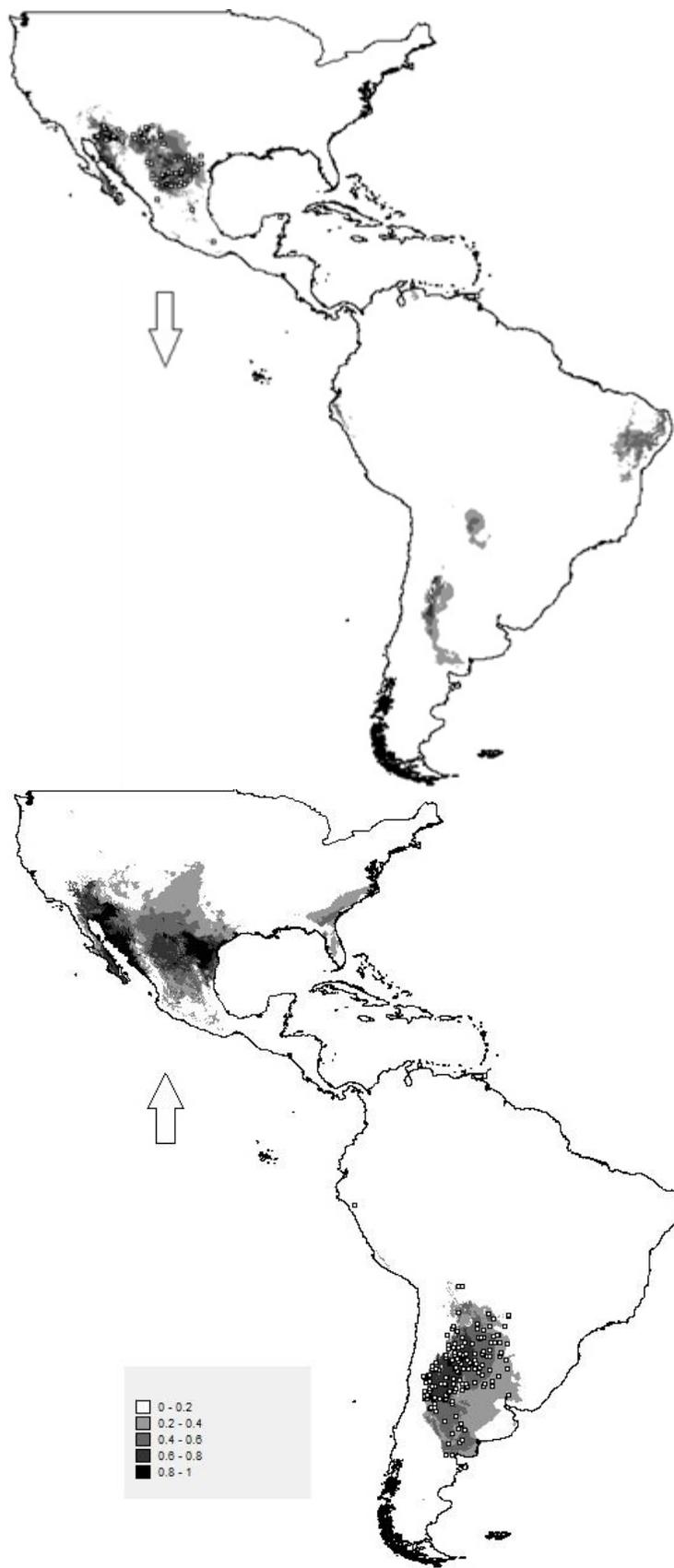


Figura 2.3. Proyección geográfica del nicho realizado de *T. crinita* obtenida en base a modelación recíproca: modelo calibrado con coordenadas de Norteamérica (cuadrados blancos) y proyectado a Sudamérica (abajo); modelo calibrado con coordenadas de Sudamérica (cuadrados blancos), proyectado sobre Norteamérica (arriba). Se muestran en escala de grises los valores del índice de adecuación que van de 0 (áreas con condiciones climáticas no adecuadas) a 1 (áreas con máxima adecuación de las condiciones climáticas).

### 2.3.2.b. Importancia de las variables

La variable que individualmente determinó una mayor habilidad predictiva del modelo de distribución ajustado para *T. crinita* en Norteamérica fue la temperatura media anual (X1; AUC=0.87). La temperatura media del trimestre más cálido (X10; AUC=0.86), la precipitación anual (X12; AUC=0.86) y la precipitación del trimestre más cálido (X18; AUC=0.85) también presentaron una alta aptitud predictiva (Figura 2.4). El rango anual de temperatura (X7; AUC=0.72) presentó el más bajo poder predictivo en este subcontinente.

Sin embargo, en Sudamérica, el rango anual de temperatura (X7; AUC=0.92) fue la variable que individualmente presentó la mayor habilidad predictiva del modelo de distribución (Figura 2.4). Por su parte, la temperatura media anual (X1; AUC=0.85) y la precipitación anual (X12; AUC=0.85), seguidas por la precipitación del trimestre más cálido (X18; AUC=0.74), presentaron un nivel menor de poder predictivo. En este subcontinente, la temperatura media del trimestre más cálido (X10; AUC=0.62) fue la variable que menor poder predictivo presentó sobre la distribución de la especie.

En cada subcontinente, la exclusión una por una de cada variable climática prácticamente no disminuyó el poder predictivo del modelo, obteniendo con las cuatro variables restantes valores de AUC entre 0.95-0.96 en Norteamérica y entre 0.94-0.95 en Sudamérica (Figura 2.4).

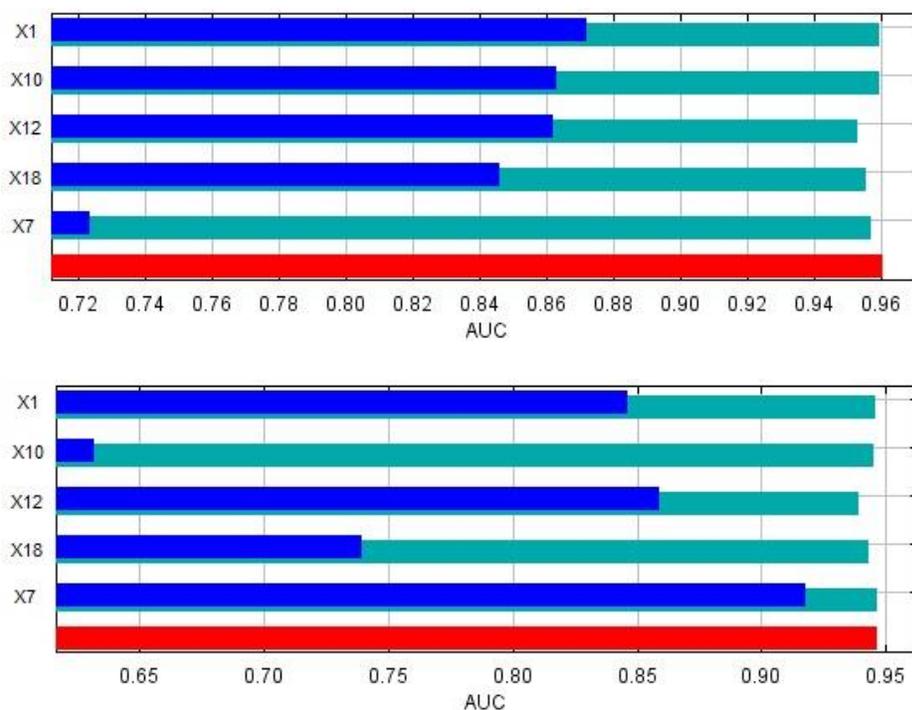


Figura 2.4. Valores de AUC (indicador de la habilidad predictiva de un modelo) obtenidos en la evaluación de la importancia de las variables empleadas para modelar la distribución de *T. crinita* en Norteamérica (arriba) y Sudamérica (abajo). Las barras azules señalan el valor de AUC alcanzado al emplear cada variable de manera individual. Las barras celestes muestran el valor de AUC obtenido para cada caso con el resto de las variables. La barra roja muestra el valor de AUC alcanzado al incluir todas las variables. Nótese que los ejes horizontales de ambas figuras difieren. X1: temperatura media anual; X7: rango anual de temperatura; X10: temperatura promedio del trimestre más cálido; X12: precipitación anual; X18: precipitación del trimestre más cálido.

## 2.4. Discusión

No se cumplió la predicción de que *T. crinita* y las otras especies disyuntas habitan en ambos subcontinentes ambientes con las mismas condiciones climáticas (Figuras 2.1, 2.2 y 7.4-6; Cuadros 2.1 y 2.2). Tampoco se cumplió que la distribución geográfica de *T. crinita* modelada usando las coordenadas de presencia de la especie en Norteamérica permitiría predecir la distribución en Sudamérica, y viceversa (Figura 2.3). Estos resultados son consistentes entre sí, y conducen a rechazar la hipótesis de que el nicho realizado de las

especies no difiere entre subcontinentes: hubo modificación, y no conservadurismo. Sin embargo, esto contrasta con lo obtenido en un estudio realizado sobre 31 especies de plantas nativas (no invasoras) distribuidas disyuntamente entre los Alpes europeos y Escandinavia, donde el conservadurismo de nicho fue el patrón casi generalizado (sólo 1 especie presentó diferencias en su nicho realizado entre ambas zonas; Wasof et al. 2015). La menor diferenciación del nicho realizado encontrada para dichas especies ocurre en el contexto de un relativamente reciente proceso de recolonización ocurrido en Escandinavia luego del Último Máximo Glacial (hace 23000-18000 años un manto de hielo cubrió la región) a partir de poblaciones que tuvieron su refugio en los Alpes (Wasof et al. 2015). Esto se contrapone a la diferenciación de nicho aquí hallada entre poblaciones de *T. crinita* de Sudamérica y Norteamérica, a pesar que tanto la divergencia en esta especie (se verá en Capítulo 4) como la recolonización mencionada por Wasof et al. (2015) parecen haber ocurrido hace un similar periodo de tiempo.

Estudios realizados sobre especies invasoras han obtenido por su parte resultados tanto a favor del conservadurismo como del cambio de nicho realizado. Petitpierre et al. (2012) encontraron predominio del conservadurismo de nicho en 43 de 50 especies (86%) de plantas invasoras al comparar el nicho realizado en la región de origen con el de la región invadida. Por su parte, Early y Sax (2014) encontraron cambio de nicho en 30 de 51 especies (60%) cuya área de origen es Europa y se naturalizaron en Norteamérica. Estudios realizados sobre especies invasoras individuales de distintos reinos y grupos (*Centaurea stoebe* -planta- y *Solenopsis invicta* -hormiga- [Broennimman et al. 2012], *Rhinella marina* -sapo- [Tingley et al. 2014]) también han detectado cambios en el nicho realizado durante la invasión de nuevas regiones. Como fuera sugerido por Peña-Gómez et al. (2014) y

Petitpierre et al. (2012), en los casos que el nicho en la región invadida no ocupa diferentes ambientes que en la región de origen, existe la posibilidad (mencionada más arriba) de que las especies invasoras probablemente aún se encuentran en etapa de expansión en la nueva región, por lo que pueden no haber expresado todavía completamente su nicho en dicha área.

Siguiendo la nomenclatura de Gallagher et al. (2010), la mayoría de las especies aquí evaluadas (*T. crinita* y 23 de las otras especies disyuntas) presentaron un patrón de solapamiento parcial entre nichos en ambos subcontinentes (Figuras 2.2 y 7.4-6). Respecto de las 2 especies que no presentaron solapamiento parcial, en *Cressa nudicaulis* el nicho de Norteamérica estuvo totalmente incluido en el de Sudamérica, mientras que en *Bothriochloa laguroides* el nicho de Sudamérica estuvo totalmente incluido en el de Norteamérica. En general, el centroide del nicho de las especies en Norteamérica estuvo desplazado hacia ambientes con mayores temperaturas y/o menores precipitaciones respecto del de Sudamérica; este patrón de desplazamiento de nichos ocurrió incluso en un sentido distinto al de las diferencias ambientales predominantes entre Norteamérica y Sudamérica (Figuras 2.2 y 7.4-6). En un estudio pionero en la comparación de nichos climáticos entre Norteamérica y Sudamérica, García et al. (1960) obtuvieron resultados en cierto modo similares a los nuestros para dos especies del género *Larrea* muy afines entre sí (hasta llegaron a considerarse la misma especie), dado que *L. divaricata* tendió a extenderse hacia ambientes más húmedos en Sudamérica de los que llega a habitar *L. tridentata* en Norteamérica.

Los resultados aquí presentados sobre especies naturalmente disyuntas (que llevan un tiempo mayor en cada área de distribución que especies invasoras) brindan evidencia sólida acerca del cambio de nicho realizado que pueden presentar las especies en distintas regiones. Además, sugieren que no es preciso extrapolar (o se debe hacer con precauciones) el nicho de una especie de una región a otra (p.ej. cuando se intenta predecir áreas a ser invadidas), ni de un momento a otro (p.ej. al intentar predecir distribuciones futuras según escenarios de cambio climático).

Los cambios en el nicho realizado de una especie pueden deberse a cambios de origen genético (i.e. la especie modifica su tolerancia ambiental o su capacidad de dispersión, existe un efecto fundador, etc.) o a la influencia de factores bióticos que interactúan con el organismo (i.e. la presencia de especies competidoras o un enemigo natural puede limitar – así como la de un simbiote o un organismo dispersor puede facilitar- la distribución de una especie) (Smith et al. 2019). Existe evidencia de que ambas vías de modificación del nicho realizado operan en *T. crinita*. Se encontraron diferencias de origen genético (Cavagnaro et al. 2006) que confieren a las poblaciones adaptaciones particulares ante los distintos ambientes que ocupan (Greco y Cavagnaro 2003; Quiroga et al. 2010, 2013). A su vez, el sobrepastoreo del ganado puede limitar su distribución (Anderson et al. 1980), mientras que la presencia de ciertos hongos micorrízicos arbusculares en el suelo pueden favorecerla (Pezzani et al. 2006). Por su parte, para el grupo de las otras 25 especies disyuntas, análisis complementarios a los realizados para este capítulo señalaron que la competencia de especies arbóreas podría estar limitando la distribución y el nicho efectivo de dichas plantas adaptadas a ambientes áridos -y por ende con una relativamente baja tolerancia al sombreo-, tanto en Sudamérica donde los bosques y selvas cubren gran parte de los ambientes

tropicales y subtropicales, como en Norteamérica donde los bosques cubren gran parte de los ambientes templados (Quiroga et al. 2021).

Raven (1963) sugirió que la mayor parte del grupo de especies disyuntas entre zonas cálidas-áridas de Norteamérica y Sudamérica podría ser originarias de Sudamérica. En este estudio no fue posible discernir áreas de origen, aunque podemos visualizar que en *T. crinita* (Figura 2.2) y 16 de las otras especies, las poblaciones abarcan más diversidad de climas en Sudamérica que en Norteamérica (*Bothriochloa exaristata*, *Chondrosum simplex*, *Cottea pappophoroides*, *Disakisperma dubium*, *Dissanthelium calycinum*, *Lycurus phleoides*, *Pappophorum mucronulatum*, *Scleropogon brevifolius*, *Trichloris pluriflora*, *Cressa nudicaulis*, *Cryptantha marítima* var. *pilosa*, *Hoffmannseggia glauca*, *Mentzelia albescens*, *Schkuhria multiflora*, *Alloysia gratissima*, *Capparis atamisquea*). Sólo cinco especies presentaron un patrón opuesto (mayor diversidad climática en Norteamérica que en Sudamérica, *Bothriochloa laguroides*, *Erioneuron avenaceum*, *Lycurus setosus*, *Cryptantha albida*, *Tiquilia nuttallii*), mientras que en las cuatro especies restantes la diversidad climática abarcada fue similar en ambos subcontinentes (*Panicum urvilleanum*, *Evolvulus arizonicus*, *Proboscidea althaeifolia*, *Acaciella angustissima* var. *angustissima*) (Figuras 7.4-6). Si bien la diversidad de poblaciones-especies en un área puede ser indicador de centros de diversificación, no brinda evidencia concluyente sobre su área de origen, ya que un taxón puede estar más distribuido en áreas colonizadas que en la de origen (Walter y Eppenson 2001) o incluso desaparecer en esta última (p.ej. los camélidos migraron hacia Sudamérica y se extinguieron en Norteamérica; Wheeler et al. 2006).

Cavagnaro (1988) y Cabido et al. (1997) señalaron la importancia que la temperatura y la precipitación presentan para la distribución de gramíneas C4 (entre ellas *T. crinita*) y C3 en gradientes altitudinales de Argentina. Lo que se concluye de este estudio realizado a una escala espacial más amplia es que la importancia de las variables climáticas difiere entre los modelos de distribución de *T. crinita* construidos con coordenadas de cada subcontinente (Figura 2.4). El rango anual de temperatura (X7) fue la variable con más importancia para el modelo ajustado en Sudamérica, pero fue la que menos importancia presentó para el modelo ajustado en Norteamérica. Este resultado puede deberse a que en Sudamérica, predominan los ambientes tropicales húmedos con un relativamente bajo rango anual de temperatura (a diferencia de Norteamérica, con una mayor proporción de su superficie a mayores latitudes), por lo que la disponibilidad de ambientes con alto rango anual de temperatura (como el que caracteriza a los sitios habitados por *T. crinita*: 20-40 grados C; Figura 2.1) podría ser un factor determinante en la distribución de la especie en Sudamérica y no en Norteamérica.

## Capítulo 3

### Requerimientos para la germinación y tolerancia a estrés en plántulas de poblaciones sudamericanas y norteamericanas de *Trichloris crinita*

#### **3.1. Introducción**

La degradación de los ambientes áridos y semiáridos es un problema global. Para Argentina se estima que la degradación afecta aproximadamente al 80% de las tierras secas y al 40% del territorio continental nacional (LADA/FAO 2011, Michelena 2011, Therburg et al. 2019). A pesar de la importancia que tiene la restauración ecológica de los ambientes áridos y semiáridos, el éxito de estos esfuerzos se ha alcanzado en menos del 5% de los casos a nivel mundial (Sheley et al. 2011). James et al. (2013a) señalaron que para aumentar la tasa de éxito es indispensable investigar lo que ocurre en los primeros estadios de las plantas. Estudios realizados en regiones áridas de Argentina lo han confirmado para la reimplantación de algunas de nuestras especies nativas (p.ej. Aguiar et al. 1992, Quiroga et al. 2009a, Mora et al. 2013).

De acuerdo a Leva (2010), hay dos aspectos principales a considerar al evaluar la regeneración de gramíneas nativas de amplio rango de distribución: la escala geográfica y la variabilidad intraespecífica. Por un lado, se debe contemplar la extensión del área de interés, que por ejemplo en el caso de *Trichloris crinita* estaría circunscripta a ambos subcontinentes americanos, donde la especie es promovida en planes de restauración de pastizales degradados por sobrepastoreo u otro uso antrópico (Kozub et al. 2018, USDA-

NRCS 2020). Mientras que por otro lado, se debe investigar si existe variabilidad asociada a los sitios de origen y sus características ambientales (Gaston 2003). En este sentido, Grubb (1977) y Young et al. (2005) definieron al conjunto de condiciones ambientales en que una especie puede establecerse como su ‘nicho de regeneración’. Contar con este tipo de información resulta clave para plantear estrategias de uso de especies de plantas nativas en la recuperación de ambientes degradados. La elección de los ecotipos adecuados para restaurar un ambiente determinado aumenta la posibilidad de éxito ecológico, al no sólo considerar el establecimiento de las plantas sino también el correcto funcionamiento de la comunidad resultante (McKay et al. 2005, Breed et al. 2013).

La germinación y los primeros estadios de la planta dependen, además de las condiciones ambientales, de las adaptaciones que posee cada genotipo y de la variabilidad que pueden presentar dentro y entre poblaciones. Los principales factores ambientales que controlan el proceso de germinación y el crecimiento son la disponibilidad de agua y la temperatura (Bradford 2002). En general, la germinación se dispara ante las condiciones que generan un ambiente favorable para el crecimiento inmediato de la plántula –su estado de mayor ‘fragilidad’ en el ciclo de vida (Young et al. 2005)-, lo que otorga al individuo mayor probabilidad de éxito en su implantación (Smith et al. 2000, Leva 2010). Si bien muchos estudios evalúan la respuesta de la germinación a factores ambientales, la mayoría no considera la respuesta en los primeros estadios del individuo. Es de esperar que ambientes con climas diferentes seleccionen diferentes adaptaciones tanto para la germinación de semillas como en las plántulas. En general, las estrategias germinativas en ambientes áridos han sido más estudiadas en plantas anuales (Gremer y Venable 2014) y, a pesar de su importancia, se conoce menos acerca de las estrategias de especies perennes (Leva 2010).

En el Capítulo 2 se mostraron diferencias en el nicho realizado dentro de *T. crinita*, encontrándose el mismo desplazado hacia ambientes con mayor temperatura media anual (+1.5°C) y menor precipitación anual (-200 mm) en Norteamérica que en Sudamérica, dos de los factores ambientales de mayor importancia para las plantas (Woodward y Williams 1987). Como se señaló, el nicho realizado de una especie es influenciado por su tolerancia climática, capacidad de dispersión y por las interacciones con otras especies (Soberón y Nakamura 2009). Se encontraron evidencias en el grupo de especies disjuntas de regiones áridas americanas (Capítulo 2) que las interacciones bióticas y factores que actúan a gran escala (p.ej. formas de los subcontinentes, distribución latitudinal de sus masas y los biomas) pueden influenciar de manera significativa el nicho realizado de las especies. Pero hasta el momento se desconoce el rol que juega la tolerancia a factores abióticos –i.e. nicho fundamental; Soberón y Peterson (2005)- en la diferenciación del nicho realizado de *T. crinita* entre subcontinentes. Una de las formas para determinar el nicho fundamental en una especie es evaluar su respuesta a factores abióticos de manera controlada, por ejemplo en ensayos de laboratorio (Kearney y Porter 2004). Por lo dicho, para poblaciones de especies de regiones secas, conocer el nicho fundamental (Soberón y Peterson 2005) y de regeneración (James et al. 2013a) resulta clave desde los puntos de vista ecológico y aplicado.

El objetivo para este capítulo (objetivo específico 2) es evaluar experimentalmente los requerimientos térmicos, la tolerancia a temperaturas extremas y estrés osmótico (nicho fundamental) de poblaciones de *T. crinita* de Sudamérica y Norteamérica, haciendo foco sobre las primeras etapas del ciclo de las plantas (germinación de semillas, supervivencia

de plántulas). La hipótesis (hipótesis 2) es que el régimen de temperatura y de precipitación de los sitios de origen seleccionó diferentes requerimientos térmicos y tolerancias a temperaturas y potenciales osmóticos extremos en semillas y plántulas de poblaciones de *T. crinita*. Así es que, de acuerdo a las características del nicho climático encontradas para la especie en Norteamérica y Sudamérica (ambientes más áridos y cálidos en la primera, Capítulo 2), se plantean las siguientes predicciones: (2.a) Las poblaciones de Norteamérica requieren más temperatura para la germinación, tienen más tolerancia a sequía y altas temperaturas, y menos tolerancia a frío, que las poblaciones de Sudamérica. (2.b) En cada subcontinente, la temperatura de los sitios de origen de las poblaciones se relaciona positivamente con los requerimientos térmicos para la germinación y con la tolerancia a calor (y de manera negativa con la tolerancia frío) en láminas foliares de plántulas. Además, la precipitación de los sitios de origen de las poblaciones se relaciona negativamente con la tolerancia al estrés osmótico durante la germinación y en plántulas.

## **3.2. Materiales y métodos**

### **3.2.1. Material vegetal**

Se realizó la colecta de poblaciones disjuntas de *T. crinita* en el centro-noroeste de Argentina (15 poblaciones) y sudoeste de EEUU (7 poblaciones), abarcando un área que representa aproximadamente el 25% de la distribución de la especie tanto en Sudamérica como en Norteamérica (Cuadro 3.1). Considerando que el nicho realizado de la especie difiere entre subcontinentes (Capítulo 2), el muestreo de poblaciones respetó las diferencias

entre los ambientes habitados por la especie en cada región (Figura 3.1). En cada población se recolectaron semillas de ~20 plantas madre, salvo en la población ‘Knox’ que era demasiado pequeña por lo que se pudieron obtener solamente semillas de 5 plantas. Luego se hizo un único conjunto (*pool*) de semillas de cada población. Las poblaciones ‘Chamical’ y ‘Kinney’ constituyen materiales vegetales registrados por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria de Argentina (INTA, <https://inta.gob.ar/variedades/chamical-inta>) y el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA-NRCS 2020). Las colectas de semilla se hicieron entre 2005 y 2014 en Argentina, y en 2014 en EEUU. Debido a que la semilla colectada en distintos sitios puede estar influenciada por las condiciones ambientales vividas por la planta madre (Sultan 1996, Baskin y Baskin 2014), para obtener las semillas y plántulas a ser evaluadas en este capítulo, primero las semillas de las poblaciones se germinaron e implantaron en condiciones ambientales homogéneas (jardines comunes). Debido a que las poblaciones se recolectaron en tres momentos (2005, 2010, 2014), las que se recolectaron primero, se implantaron en 2006 en un jardín común en INTA La Rioja (Lat. -30°30’31”, Long. -66°07’12”, 409 m.s.n.m.; 24 plantas por población). Luego, éstas se replicaron a partir de semilla en 2011 a un jardín común en INTA Catamarca (Lat. -28°28’27”, Long. -65°43’54”, 513 m.s.n.m.), donde se agregaron a la colección primero las poblaciones colectadas en 2010, y luego las colectadas en 2014 (se agregaron en 2015). Las semillas usadas en este capítulo se obtuvieron en 2016 y 2017 de las plantas establecidas en este último jardín común. Para ello, se cosechó semilla de todas las plantas del jardín común y se hizo un *pool* por cada población. Es importante mencionar que trabajar con semilla cosechada en un jardín común, no representa en este caso un inconveniente, dado que *T. crinita* es una especie altamente autógama (Gutiérrez et al. 2016, Kozub et al. 2017,

Marinoni et al. 2018). Finalmente, para tener una caracterización del tamaño y productividad vegetativa y reproductiva de las poblaciones sobre plantas de una misma edad, en 2018 se estableció un segundo jardín común en INTA Catamarca a partir de semilla del jardín común anterior. La evaluación de estas plantas se hizo cuando terminaron el primer ciclo de crecimiento y alcanzaron el estado adulto. Las mediciones se hicieron en 5 plantas por población y constaron de: altura de follaje –a la hoja más alta-, altura de inflorescencias –a la inflorescencia más alta-, cantidad de macollos, cantidad de inflorescencias y peso de semilla. En el Cuadro 7.2 (Apéndice), puede verse el detalle de las fechas de colecta de semilla de las poblaciones *in situ*, implantación en cada jardín común, cosecha de semilla y uso en evaluaciones de este capítulo, y medición de plantas adultas.

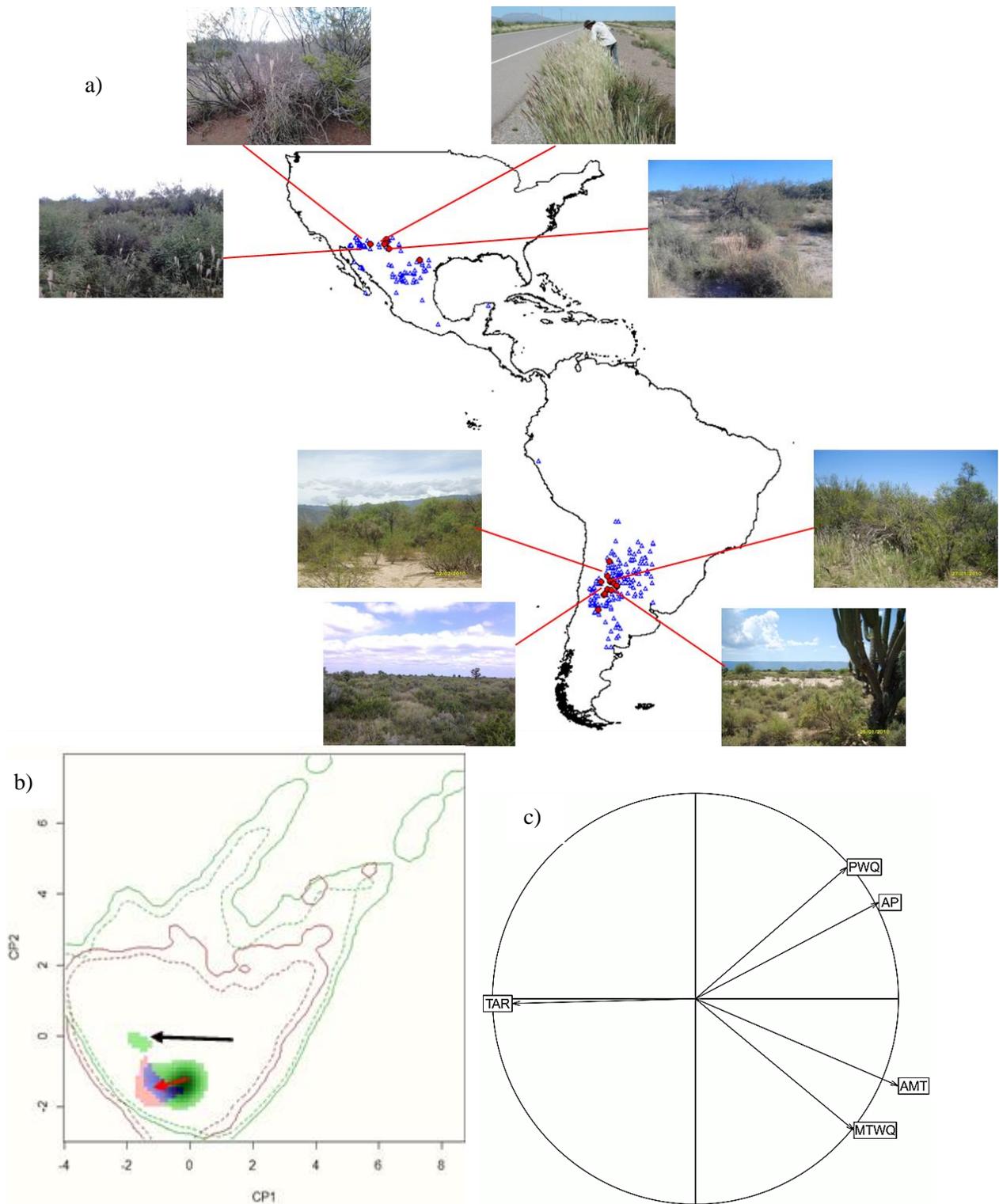


Figura 3.1. a) Distribución natural de *Trichloris crinita* en Sudamérica y Norteamérica (coordenadas de presencia de la especie, triángulos azules, obtenidos de [www.gbif.org](http://www.gbif.org)). Además, se muestran los sitios de origen de las poblaciones evaluadas (círculos rojos, algunos con fotos mostrando el ambiente). (la leyenda continúa en la próxima página)

b) Nicho climático realizado de las poblaciones de *T. crinita* aquí evaluadas (área sombreada) y ambientes disponibles (línea llena, percentil 100%; línea de trazos = percentil 75%) en cada subcontinente (Sudamérica, verde; Norteamérica, rojo; área de solapamiento de ambos nichos en color violeta). Se usó la misma metodología de análisis de componentes principales de Broennimann et al. (2012) utilizada en el Capítulo 2, sólo que aquí se estimó el nicho con las coordenadas de los sitios de colecta de las poblaciones evaluadas. Los ejes de CPs 1 y 2 explicaron el 64% y 20% de la variabilidad de los datos, respectivamente. Las flechas (de línea roja para ocurrencias, línea negra para disponibilidad de ambientes) muestran el cambio del centro de densidad en dirección Sudamérica – Norteamérica. El test de equivalencia señaló diferencia significativa entre ambos nichos ( $P < 0.05$ ). c) Círculo de correlación que muestra la contribución a cada eje de las variables climáticas (AMT, temperatura media anual; TAR, rango anual de temperatura; MTWQ, temperatura media del trimestre más cálido; AP, precipitación anual; PWQ, precipitación del trimestre más cálido).

Cuadro 3.1. Sitios de colecta de las poblaciones de *T. crinita* en Norteamérica (NA) y Sudamérica (SA), junto a un detalle de la Provincia/Estado, País y Región ecológica de la ubicación (según Burkart et al. 1999 y Olson et al. 2001).

Subcontinente	Población	Latitud	Longitud	Provincia/Estado, País	Región ecológica
NA	Bowie	32.28	-109.29	Arizona, EEUU	Desierto de Chihuahua
NA	Kinney	29.32	-100.43	Texas, EEUU	Mezquital Tamaulipano
NA	Knox	32.28	-106.76	New Mexico, EEUU	Desierto de Chihuahua
NA	Lucero	33.10	-106.53	New Mexico, EEUU	Desierto de Chihuahua
NA	San Simon	32.28	-109.27	Arizona, EEUU	Desierto de Chihuahua
NA	Tornillo	31.40	-106.01	Texas, EEUU	Desierto de Chihuahua
NA	White Sands	32.47	-106.41	New Mexico, EEUU	Desierto de Chihuahua
SA	Amblayo	-25.46	-65.83	Salta, ARG	Monte de Valles y Bolsones
SA	Chamical	-30.51	-66.14	La Rioja, ARG	Chaco Seco
SA	Colpes	-28.06	-66.22	Catamarca, ARG	Monte de Valles y Bolsones
SA	HC	-29.96	-63.48	Córdoba, ARG	Chaco Seco
SA	HL	-29.89	-64.46	Córdoba, ARG	Chaco Seco
SA	RCH Ancha	-34.26	-67.90	Mendoza, ARG	Monte de Llanuras y Mesetas
SA	RCH Fina	-34.26	-67.90	Mendoza, ARG	Monte de Llanuras y Mesetas
SA	Recreo	-29.31	-65.14	Catamarca, ARG	Chaco Seco
SA	Recreo Salinas	-29.52	-64.97	Catamarca, ARG	Chaco Seco
SA	Salinas Grandes	-30.60	-65.60	La Rioja, ARG	Chaco Seco
SA	San Martín	-29.21	-65.77	Catamarca, ARG	Chaco Seco
SA	SC	-31.40	-66.77	La Rioja, ARG	Chaco Seco
SA	SL	-31.52	-66.81	La Rioja, ARG	Chaco Seco
SA	Tilimuqui	-29.14	-67.43	La Rioja, ARG	Monte de Valles y Bolsones
SA	El Tipán	-28.99	-65.76	Catamarca, ARG	Chaco Seco

### 3.2.2. Experimentos de laboratorio

Se analizaron las respuestas al estrés térmico y osmótico en ensayos controlados de laboratorio. Se realizaron: a) ensayos de germinación bajo un rango de temperaturas entre 16 y 51°C; b) ensayos de germinación bajo un rango de potenciales osmóticos entre 0 MPa y -0.8 MPa; c) ensayos con porciones de hojas sometidas a tratamientos de corta duración que simulan condiciones ambientales extremas (*shocks* de calor, frío y bajo potencial osmótico), tras lo cual se calcula el daño a membranas celulares. A continuación, se brindan los detalles:

#### *3.2.2.a. Pruebas de germinación a diferentes temperaturas*

Se realizaron pruebas de germinación sobre semillas seleccionadas al azar del *pool* de cada población. Las semillas de cada población fueron sometida a un rango de temperaturas comprendido en entre los 16 y 51°C, con intervalos de 7°C; excepto que debido a que a 51°C no se registró germinación de ninguna población, se decidió agregar una temperatura más de evaluación a 47.5°C (intermedia entre 44 y 51°C). Cada combinación de población y tratamiento tuvo 4 repeticiones. Cada repetición consistió de 25 semillas colocadas a germinar en una caja de Petri con dos discos de papel de filtro para uso de laboratorio (Quanty JP-3002-7), y el agregado de 4 ml de agua destilada. Las pruebas se realizaron en cámara a temperatura constante y en condiciones de oscuridad (Zabala et al. 2011). Debido a que se contaba con una sola cámara, las pruebas de germinación para cada temperatura se hicieron de manera secuencial, sorteando el orden, salvo para la temperatura de 47.5°C que se hizo una vez finalizado el resto. En cada prueba de germinación se realizó el conteo de semillas germinadas (i.e. con protrusión de radícula) 3-4 veces por semana; dichas semillas

se fueron retirando de la caja de Petri hasta que la germinación cesó (tiempo de evaluación entre 15 y 20 días según el tratamiento de temperatura). Considerando las semillas germinadas a lo largo de la prueba, para cada repetición (caja de Petri) se calcularon: el porcentaje final de semillas germinadas (= poder germinativo) y la tasa media de germinación ( $d^{-1}$ ) –inversa del tiempo medio de germinación (*germinability* y *mean germination rate*, de acuerdo con Ranal y Santana 2006, Baskin y Baskin 2014, Lozano-Isla et al. 2019). Como se explica más abajo, la tasa media de germinación se utilizó para estimar las temperaturas cardinales -mínima, óptima y máxima- de germinación (Al-Ahmadi y Kafi 2007, Seepaul et al. 2011).

#### *3.2.2.b. Pruebas de germinación a diferentes potenciales osmóticos*

Se realizaron pruebas de germinación sobre semillas seleccionadas al azar del pool de cada población. Las semillas de cada población fueron sometidas a cuatro niveles de potencial osmótico: 0, -0.27, -0.53 y -0.80 MPa (Di Giambatista et al. 2010, Kloster et al. 2016). Los potenciales osmóticos se obtuvieron mediante soluciones de agua destilada y polietilenglicol de alto peso molecular (PEG 6000, para evitar el efecto tóxico de sustancias que pueden atravesar membranas celulares; Michel y Kaufmann 1973). Las soluciones se prepararon según Mitchel y Kaufmann (1973). Las pruebas a distintos potenciales osmóticos se realizaron simultáneamente, en una cámara, a temperatura constante de 30°C y en oscuridad. Cada combinación de población y tratamiento tuvo 4 repeticiones. Cada repetición consistió de 25 semillas colocadas a germinar en una caja de Petri con dos discos de papel de filtro, y el agregado de 4 ml de agua destilada o solución PEG (según correspondía). El conteo de semillas germinadas se realizó 3-4 veces por semana; dichas semillas se retiraron de la caja de Petri, y se continuó hasta que la germinación cesó (~20

días). Con las semillas germinadas en cada caja de Petri se calculó el porcentaje de germinación final (poder germinativo).

### *3.2.2.c. Shocks de temperaturas extremas y potencial osmótico en porciones de hojas*

Porciones de láminas foliares de plántulas de cada población fueron sometidas a diferentes tratamientos de *shock* térmico (50°C y -8°C, sumergidas en agua destilada) y osmótico (solución de PEG 6000 al 40%, a 21°C); además, hubo un tratamiento a temperatura ambiente (21°C) con agua destilada que sirvió como testigo (Premachandra y Shimada 1987, Gavuzzi et al. 1997, Gurvich et al. 2002).

Cada combinación de población y tratamiento tuvo 4 repeticiones. Cada repetición consistió de un tubo Eppendorf con 2 ml de agua destilada o solución de PEG según correspondía, en el que se incluyeron cuatro porciones de hoja (cada una de ~1 cm de largo). Las porciones de hoja se obtuvieron de la parte media de la última lámina foliar totalmente expandida en 2 macollos por plántula, en 8 plántulas por población; se trabajaron en *pool*, enjuagándolas en agua destilada para eliminar partículas adheridas y asignándolas al azar a los distintos tratamientos y repeticiones. Las plántulas usadas para obtener las porciones de hojas fueron obtenidas a partir de la semilla cosechada en jardín común (ver Cuadro 7.2; Apéndice), y criadas por 3 meses en invernadero (temperatura 30/20°C día/noche, luz natural y contenido de humedad edáfica próximo a capacidad de campo). El Cuadro 3.2 muestra un esquema de cómo fue la implementación de los distintos tratamientos y de las mediciones realizadas. Luego de los tratamientos, y de 24 h de post-tratamiento en el que los tubos Eppendorf se mantuvieron a temperatura ambiente (21°C),

se estimó la estabilidad de membranas celulares midiendo la cantidad de electrolitos liberados a la solución a través de su conductividad eléctrica (conductímetro Benchtop Meter 860032; Sper Scientific, Scottsdale, Arizona, EEUU). Una vez terminada esta medición, las porciones de hojas fueron otra vez colocadas en 2 ml de agua destilada y puestas a hervir (100°C) durante 2 h para asegurar la ruptura total de membranas celulares; luego se dejaron a temperatura ambiente (21°C) 24 h más, y se volvió a medir la conductividad eléctrica de la solución. A continuación, se calculó el daño producido por cada tratamiento de *shock* en cada población siguiendo la ecuación [3.1] propuesta por Gavuzzi et al. (1997):

$$\text{Índice de daño}_{ij} = [ 1 - \{ ( 1 - S1_{ij} / S2_{ij} ) / ( 1 - T1_j / T2_j ) \} ] \times 100 \quad [3.1]$$

Donde  $S1_{ij}$  y  $S2_{ij}$  son los valores de conductividad eléctrica de la primera y segunda medición del tratamiento de *shock* en cuestión ( $i$ : calor, frío, PEG),  $j$ -ésima repetición ( $j$ : 1, 2, 3, 4); mientras que  $T1_j$  y  $T2_j$  son los valores de conductividad eléctrica de la primera y segunda medición del testigo,  $j$ -ésima repetición ( $j$ : 1, 2, 3, 4).

Cuadro 3.2. Esquema de la aplicación de los tratamientos de *shock* de temperatura y potencial osmótico sobre porciones de hojas, y de las mediciones realizadas.

Tratamiento	Muestras	Tratamientos <sup>(0)</sup>	Post-tratamiento	1ra medición	Desnaturalización de membranas <sup>(0)</sup>	Post-desnaturalización	2da medición
Testigo	Se colocaron 4 porciones de hoja por tubo Eppendorf (unidad experimental). Los tubos luego se sometieron a los tratamientos	Sin tratar	21°C por 24 h (en agua destilada) <sup>(1)</sup>	Se midió la conductividad eléctrica de la solución	Se puso nueva agua destilada en los tubos con porciones de hoja. Éstos se sometieron a 100°C por 2 h a fin de desnaturalizar totalmente las membranas <sup>(2)</sup>	21°C por 24 h <sup>(1)</sup>	Se midió la conductividad eléctrica de la solución
Calor		50°C por 3 h (en agua destilada) <sup>(2)</sup>	21°C por 24 h				
Frío		-8°C por 15 h (en agua destilada) <sup>(3)</sup>	21°C por 24 h				
Sequía		Solución al 40% de PEG 6000 <sup>(4)</sup> , a 21°C por 24 h	Se quita la solución de PEG, y se coloca agua destilada, a 21°C por 24 h				

<sup>(0)</sup> Los tubos con las porciones de hojas y el líquido se taparon para la aplicación de los tratamientos y la inmersión a 100°C, pero antes se le hizo una punción en la tapa para que se libere exceso de presión sin pérdida de líquido desde el interior.

<sup>(1)</sup> temperatura ambiente mantenida con aire acondicionado.

<sup>(2)</sup> temperatura obtenida en baño de inmersión.

<sup>(3)</sup> temperatura obtenida en *freezer*.

<sup>(4)</sup> Solución de 40 g PEG 6000 en 100 ml de solución con agua destilada (Gavuzzi et al. 1997), potencial osmótico estimado -1.8 MPa (Premachandra y Shimada 1987).

### 3.2.3. Análisis de los datos

Los datos de las variables medidas sobre plantas adultas en el jardín común, así como de los índices de daño a membranas celulares obtenidos para cada uno de los tratamientos de *shock* (calor, frío y osmótico), se analizaron mediante análisis de varianza. Se consideraron como factores de efecto fijo al subcontinente de origen y a las poblaciones anidadas en cada subcontinente ( $\alpha=0.05$ ; prueba de comparación de medias de Fisher; programa INFOSTAT; Di Rienzo et al. 2012).

Por su parte, los datos de porcentaje final de semillas germinadas obtenidos en los ensayos bajo condiciones controladas se analizaron en dos análisis de varianza separados: uno para el ensayo de temperaturas y otro para el ensayo de potenciales osmóticos. Se consideraron como factores de efecto fijo al subcontinente de origen, las poblaciones anidadas en cada subcontinente, los tratamientos (de temperatura o potencial osmótico) y las interacciones ‘subcontinente x tratamiento’, ‘población (subcontinente) x tratamiento’ ( $\alpha=0.05$ ; comparación de medias de Fisher; INFOSTAT).

Con los datos de tasa media de germinación a distintas temperaturas (ver Cuadro 7.3 en Apéndice) se estimaron las temperaturas cardinales -mínima, óptima y máxima- para la germinación de cada población, mediante análisis de regresión lineal de dos tramos: uno de pendiente positiva desde las temperaturas más bajas hasta la temperatura óptima, y otro de pendiente negativa desde la temperatura óptima a temperaturas mayores (INFOSTAT; según Al-Ahmadi y Kafi 2007, Seepaul et al. 2011); se consideraron las 4 repeticiones por temperatura, hasta la primera temperatura en que la germinación de cada población fue nula (i.e. 47.5°C en casi todas las poblaciones, excepto en ‘Amblayo’ para la que fue a 44°C). Con esta metodología, las estimaciones obtenidas de temperaturas mínimas y óptimas para la germinación de las poblaciones mostraron un ajuste adecuado a los datos; no así las obtenidas para temperaturas máximas de germinación que dieron valores entre 47.1°C y 54.6°C (ver Cuadro 7.4, Apéndice), siendo que ninguna de las poblaciones había germinado a 47.5 y 51°C (Cuadro 7.3, Apéndice). Por esa razón la estimación de la temperatura máxima de la germinación se realizó de una manera alternativa: considerando el valor intermedio entre la mayor temperatura en que se registró germinación y la siguiente en la que ya no la hubo. Los requerimientos de temperatura para la germinación de las

poblaciones de ambos subcontinentes se compararon mediante prueba T ( $\alpha=0.05$ ; INFOSTAT).

Finalmente, se realizaron análisis de correlación de Pearson (INFOSTAT) entre variables medidas en el jardín común, las obtenidas de los ensayos de germinación y con porciones de hojas, y variables que caracterizan el clima de los sitios de origen de las poblaciones (temperatura máxima promedio del mes más cálido, TMaxMC; temperatura mínima promedio del mes más frío, TMinMF; y precipitación media anual, PMA; las tres obtenidas de <https://www.worldclim.org>). Entre las variables se incluyó una estimación de la respuesta de las poblaciones a la sequía en la etapa de germinación, calculada como el cociente entre la germinación a -0.53 MPa y el testigo (0 MPa). Dado que en varias de las variables analizadas se encontraron diferencias entre subcontinentes, los análisis de correlación se hicieron por separado para las poblaciones de Norteamérica y Sudamérica.

### **3.3. Resultados**

#### **3.3.1. Caracterización en jardín común**

Las plantas adultas en el jardín común mostraron efectos significativos tanto del subcontinente de origen como de las poblaciones dentro de cada subcontinente (Cuadro 3.3). Las poblaciones de Sudamérica presentaron en promedio 66% más producción de inflorescencias (indicador de producción de semilla; Quiroga et al. 2009b), 19% más macollos, una altura de inflorescencias un 17% mayor, y semillas 33% más pesadas que las de Norteamérica. La altura de follaje no se diferenció entre subcontinentes. Dentro de cada

subcontinente, también hubo diferencias significativas entre poblaciones en la altura de inflorescencias y de follaje, y en el peso de semillas. Por su parte, la cantidad de inflorescencias varió significativamente entre las poblaciones de Sudamérica, no así entre las de Norteamérica. El número de macollos por planta no difirió entre las poblaciones de ninguno de los dos subcontinentes (Cuadro 3.3).

Cuadro 3.3. Características evaluadas en plantas adultas de las poblaciones de Norteamérica (NA) y Sudamérica (SA) en el jardín común (valores promedio por población). Luego de la lista de poblaciones, se muestra en cursiva el nivel de significancia estadística ( $P > 0.05$ , n.s.;  $P < 0.05$ , \*;  $P < 0.01$  \*\*,  $P < 0.0001$ , \*\*\*) y la diferencia mínima significativa (DMS, de Fisher) correspondientes a la comparación entre poblaciones. En las tres últimas filas se muestran los valores promedio por subcontinente y el nivel de significancia estadística ( $P$ ) de su comparación.

Subcontinente	Población	Número de infloresc.	Número de macollos	Altura de infloresc. (cm)	Altura de follaje (cm)	Peso 1000 semillas (g)
NA	Bowie	10.8	32.4	81	37	0.17
NA	Kinney	12.6	39.0	82	47	0.19
NA	Knox	10.6	24.8	66	39	0.15
NA	Lucero	10.3	30.3	60	35	0.08
NA	San Simon	9.4	25.4	65	33	0.19
NA	Tornillo	9.2	29.0	63	37	0.15
NA	White Sands	10.0	26.4	77	41	0.13
SA	Amblayo	16.6	37.4	83	40	0.18
SA	Chamical	16.2	32.2	82	41	0.20
SA	Colpes	11.8	32.8	82	39	0.19
SA	HC	16.8	35.4	87	38	0.26
SA	HL	11.8	27.8	75	38	0.18
SA	RCH Ancha	13.0	35.6	84	40	0.25
SA	RCH Fina	12.8	29.8	82	39	0.20
SA	Recreo	27.5	49.3	89	45	0.20
SA	Recreo Salinas	21.8	45.8	89	43	0.25
SA	Salinas Grandes	13.2	30.8	74	39	0.21
SA	San Martín	27.2	37.6	87	41	0.18
SA	SC	17.4	35.0	80	38	0.15
SA	SL	8.0	26.5	82	35	0.22
SA	Tilimuqui	25.6	32.4	78	37	0.17
SA	El Tipán	19.0	38.8	89	46	0.19
<i>DMS y valor P entre poblaciones</i>		<i>7.5***</i>	<i>n.s.</i>	<i>14*</i>	<i>6***</i>	<i>0.06***</i>
NA	(promedio)	10.4	29.6	71	39	0.15
SA	(promedio)	17.3	35.2	83	40	0.20
<i>Valor P entre subcontinentes</i>		<i>**</i>	<i>*</i>	<i>***</i>	<i>n.s.</i>	<i>**</i>

### 3.3.2. Ensayos de laboratorio

#### *3.3.2.a. Germinación a distintas temperaturas*

Las semillas de Sudamérica presentaron en general mayor porcentaje de germinación final que las de Norteamérica ( $P < 0.0001$ ); sin embargo, las diferencias entre subcontinentes y entre poblaciones dentro de cada subcontinente variaron con la temperatura (interacciones significativas para ‘subcontinente x temperatura’ y ‘población (subcontinente) x temperatura’,  $P < 0.0001$  en ambos casos). Si bien las poblaciones de Norteamérica no germinaron a  $16^{\circ}\text{C}$ , un tercio de las de Sudamérica (aunque en baja cantidad) sí lo hicieron (Cuadro 3.4). A  $47.5^{\circ}\text{C}$  y  $51^{\circ}\text{C}$  no se observó germinación de ninguna población. En promedio las poblaciones presentaron mayor porcentaje de germinación final a  $30^{\circ}\text{C}$  en Norteamérica y a  $37^{\circ}\text{C}$  en Sudamérica. Hubo diferencias significativas entre poblaciones para ambos subcontinentes a  $23^{\circ}\text{C}$ ,  $30^{\circ}\text{C}$  y  $44^{\circ}\text{C}$ ; no así a  $16^{\circ}\text{C}$  y  $37^{\circ}\text{C}$  donde sólo se encontraron diferencias entre las poblaciones de Sudamérica (Cuadro 3.4).

Las temperaturas cardinales (mínima, óptima y máxima) para la germinación no difirieron significativamente entre subcontinentes (Cuadro 3.5). Aunque sí se apreció cierta variabilidad en las temperaturas óptima y mínima (ésta última principalmente en Sudamérica) para la germinación entre las poblaciones de cada subcontinente. Llamativamente, una población presentó temperaturas cardinales de germinación más bajas que todas las demás (Amblayo; Cuadro 3.5).

Cuadro 3.4. Porcentaje de germinación final de las poblaciones de Norteamérica (NA) y Sudamérica (SA), se muestran valores promedio por población y temperatura. Luego de la lista de poblaciones, se muestra en cursiva el nivel de significancia estadística ( $P > 0.05$ , n.s.;  $P < 0.05$ , \*;  $P < 0.01$  \*\*,  $P < 0.0001$ , \*\*\*) y la diferencia mínima significativa (DMS, de Fisher) correspondientes a la comparación entre poblaciones. En las tres últimas filas se muestran los valores promedio por subcontinente y el nivel de significancia estadística ( $P$ ) de su comparación.

Subcontinente	Población	16 °C	23 °C	30 °C	37 °C	44 °C	47.5 °C	51 °C
NA	Bowie	0.0	34.2	7.9	23.7	18.4	0.0	0.0
NA	Kinney	0.0	10.6	25.5	25.5	25.5	0.0	0.0
NA	Knox	0.0	35.5	83.9	38.7	22.6	0.0	0.0
NA	Lucero	0.0	4.9	24.4	19.5	9.8	0.0	0.0
NA	San Simon	0.0	14.5	43.6	32.7	40.0	0.0	0.0
NA	Tornillo	0.0	3.3	46.7	30.0	30.0	0.0	0.0
NA	White Sands	0.0	21.8	29.1	18.2	10.9	0.0	0.0
SA	Amblayo	21.4	32.1	3.6	7.1	0.0	0.0	0.0
SA	Chamical	0.0	69.0	42.9	97.6	54.8	0.0	0.0
SA	Colpes	0.0	25.5	59.6	94.8	63.8	0.0	0.0
SA	HC	0.0	14.3	57.1	45.7	31.4	0.0	0.0
SA	HL	5.1	75.9	73.4	55.7	45.6	0.0	0.0
SA	RCH Ancha	2.4	41.0	53.0	50.6	53.0	0.0	0.0
SA	RC Fina	0.0	30.8	49.2	61.5	33.8	0.0	0.0
SA	Recreo	0.0	16.2	45.9	40.5	27.0	0.0	0.0
SA	Recreo Salinas	0.0	24.2	69.7	57.6	60.6	0.0	0.0
SA	Salinas Grandes	3.4	22.2	34.2	41.0	65.0	0.0	0.0
SA	San Martín	0.0	3.6	32.7	21.8	21.8	0.0	0.0
SA	SC	6.7	71.9	53.9	65.2	56.2	0.0	0.0
SA	SL	0.0	62.5	70.0	92.5	77.5	0.0	0.0
SA	Tilimuqui	0.0	5.7	37.1	60.0	22.9	0.0	0.0
SA	El Tipán	0.0	11.4	63.6	70.5	47.7	0.0	0.0
<i>DMS y valor P entre poblaciones</i>		5.8***	22.2***	31.5***	32.3***	25.2***	-	-
NA	<i>(promedio)</i>	0.0	17.8	37.3	26.9	22.5	0.0	0.0
SA	<i>(promedio)</i>	2.8	35.4	48.7	56.6	43.8	0.0	0.0
<i>Valor P entre subcontinentes</i>		n.s.	*	*	**	*	-	-

Cuadro 3.5. Temperaturas mínimas, óptimas y máximas estimadas para la germinación de semilla de las poblaciones de Norteamérica (NA) y Sudamérica (SA). Se muestran valores promedio por población. En las tres últimas filas se muestran en cursivas los valores promedio por subcontinente y el nivel de significancia estadística de su comparación ( $P>0.05$ , n.s.).

Subcontinente	Población	Temperatura mínima	Temperatura óptima	Temperatura máxima
NA	Bowie	15.8	39.3	45.8
NA	Kinney	17.6	35.0	45.8
NA	Knox	15.6	37.5	45.8
NA	Lucero	18.1	37.0	45.8
NA	San Simon	17.4	31.5	45.8
NA	Tornillo	17.0	42.2	45.8
NA	White Sands	16.8	37.0	45.8
SA	Amblayo	3.5	30.2	40.5
SA	Chamical	16.4	36.0	45.8
SA	Colpes	16.6	34.6	45.8
SA	HC	16.6	35.8	45.8
SA	HL	15.3	38.9	45.8
SA	RCH Ancha	13.8	41.5	45.8
SA	RCH Fina	16.0	32.3	45.8
SA	Recreo	15.4	35.3	45.8
SA	Recreo Salinas	16.3	41.6	45.8
SA	Salinas Grandes	13.7	41.8	45.8
SA	San Martín	17.5	42.4	45.8
SA	SC	14.2	33.5	45.8
SA	SL	16.2	32.6	45.8
SA	Tilimuqui	17.0	34.9	45.8
SA	El Tipán	16.8	34.0	45.8
NA	<i>(promedio)</i>	<i>16.9</i>	<i>37.1</i>	<i>45.8</i>
SA	<i>(promedio)</i>	<i>14.9</i>	<i>36.5</i>	<i>45.4</i>
<i>Valor P entre subcontinentes</i>		<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>

### 3.3.2.b. Germinación bajo distintos potenciales osmóticos

La respuesta a los potenciales osmóticos bajos varió significativamente entre subcontinentes (interacción ‘subcontinente x potencial osmótico’,  $P<0.0001$ ) y entre poblaciones dentro de cada subcontinente [‘población (subcontinente) x potencial osmótico’,  $P<0.0001$ ]. En agua destilada (0 MPa) las poblaciones de Sudamérica

presentaron en promedio un porcentaje de germinación mayor que las de Norteamérica. No obstante, a medida que el estrés osmótico se hizo más marcado, las primeras presentaron igual (a -0.27 MPa) o menor porcentaje de germinación (a -0.53 MPa) que las de Norteamérica (Cuadro 3.6). Para el potencial osmótico más negativo, las poblaciones de Sudamérica también presentaron un promedio de germinación más bajo que las de Norteamérica, aunque en este caso no hubo diferencias significativas entre subcontinentes (Cuadro 3.6). Para todos los niveles de potencial osmótico (0 a -0.80 MPa) se observaron diferencias significativas entre las poblaciones de cada subcontinente.

### *3.3.2.c. Porciones de hojas bajo condiciones extremas*

El daño producido en porciones de hojas varió entre los tratamientos de *shock* térmico, observándose niveles de daño más elevados en el tratamiento de baja temperatura (-8°C); sin embargo, para este tratamiento no se encontraron diferencias significativas entre poblaciones ni entre los subcontinentes de origen (Cuadro 3.7). En cambio, con el tratamiento de alta temperatura (50°C), se encontró variación significativa entre poblaciones, pero no así entre los subcontinentes de origen (Cuadro 3.7). En el tratamiento de estrés osmótico (-1.8 MPa) se encontró que, en promedio, las poblaciones de Norteamérica presentaron un menor daño que las de Sudamérica, pero no se encontró variación significativa entre las poblaciones dentro de los subcontinentes (Cuadro 3.7).

Cuadro 3.6. Porcentaje de germinación final de las poblaciones de Norteamérica (NA) y Sudamérica (SA). Se muestran valores promedio por población y potencial osmótico. Luego de la lista de poblaciones, se muestra el nivel de significancia estadística ( $P > 0.05$ , n.s.;  $P < 0.05$ , \*;  $P < 0.01$  \*\*,  $P < 0.0001$ , \*\*\*) y la diferencia mínima significativa (DMS, de Fisher) correspondientes a la comparación entre poblaciones. En las tres últimas filas se muestran en cursiva los valores promedio por subcontinente y el nivel de significancia estadística ( $P$ ) de su comparación.

Subcontinente	Población	0 MPa	-0.27 MPa	-0.53 MPa	-0.80 MPa
NA	Bowie	50.4	48.0	38.0	1.1
NA	Kinney	33.1	29.0	44.0	2.1
NA	Knox	62.7	51.0	54.0	17.2
NA	Lucero	56.8	49.0	43.0	4.5
NA	San Simon	45.1	45.0	34.0	0.0
NA	Tornillo	42.2	33.0	17.0	0.0
NA	White Sands	56.1	54.0	66.0	1.0
SA	Amblayo	31.6	25.0	20.0	11.9
SA	Chamical	85.6	73.0	20.0	0.0
SA	Colpes	70.6	52.0	17.0	0.0
SA	HC	83.3	56.0	58.0	2.1
SA	HL	68.9	65.0	59.0	4.2
SA	RCH Ancha	62.7	49.0	42.0	3.1
SA	RCH Fina	62.5	11.0	2.0	0.0
SA	Recreo	78.1	41.0	25.0	0.0
SA	Recreo Salinas	64.0	39.0	19.0	0.0
SA	Salinas Grandes	37.9	11.0	5.0	0.0
SA	San Martín	72.1	24.0	15.0	0.0
SA	SC	69.0	49.0	43.0	0.0
SA	SL	82.7	63.0	55.0	1.0
SA	Tilimuqui	56.4	37.0	43.0	0.0
SA	El Tipán	72.4	60.0	45.0	0.0
<i>DMS y valor P entre poblaciones</i>		<i>17.1***</i>	<i>15.5***</i>	<i>16.3***</i>	<i>6.5***</i>
NA	<i>(promedio)</i>	<i>49.5</i>	<i>44.1</i>	<i>42.3</i>	<i>3.7</i>
SA	<i>(promedio)</i>	<i>66.5</i>	<i>43.7</i>	<i>31.2</i>	<i>1.5</i>
<i>Valor P entre subcontinentes</i>		<i>*</i>	<i>n.s.</i>	<i>*</i>	<i>n.s.</i>

Cuadro 3.7. Índice de daño para los distintos tratamientos de *shock* (valores promedio por población) aplicados sobre porciones de hojas de plántulas de poblaciones de Norteamérica (NA) y Sudamérica (SA). Luego de la lista de poblaciones, se muestra en cursiva el nivel de significancia estadística ( $P > 0.05$ , n.s.;  $P < 0.05$ , \*;  $P < 0.01$  \*\*,  $P < 0.0001$ , \*\*\*) y la diferencia mínima significativa (DMS, de Fisher) correspondientes a la comparación entre poblaciones. En las tres últimas filas se muestran los valores promedio por subcontinente y el nivel de significancia estadística ( $P$ ) de su comparación.

Subcontinente	Población	Índice de daño, alta temperatura	Índice de daño, baja temperatura	Índice de daño, estrés osmótico
NA	Bowie	8.3	66.4	16.1
NA	Kinney	4.5	51.5	18.4
NA	Knox	3.2	40.5	15.6
NA	Lucero	8.0	64.4	7.6
NA	San Simon	12.7	48.8	21.1
NA	Tornillo	17.2	68.1	19.7
NA	White Sands	13.4	66.9	17.6
SA	Amblayo	9.7	64.0	17.3
SA	Chamical	6.7	68.5	27.0
SA	Colpes	9.0	22.0	20.7
SA	HC	10.8	48.4	24.8
SA	HL	17.4	87.9	21.4
SA	RCH Ancha	17.8	30.4	27.1
SA	RCH Fina	10.5	73.8	24.9
SA	Recreo	18.6	48.5	28.0
SA	Recreo Salinas	9.7	66.6	21.0
SA	Salinas Grandes	0.8	91.0	8.6
SA	San Martín	11.5	22.7	21.0
SA	SC	21.9	16.3	23.4
SA	SL	12.1	87.7	18.5
SA	Tilimuqui	6.1	64.0	17.5
SA	El Tipán	13.8	27.6	24.8
<i>DMS y valor P entre poblaciones</i>		9.6**	n.s.	n.s.
NA	<i>(promedio)</i>	9.6	58.1	16.6
SA	<i>(promedio)</i>	11.8	54.6	21.7
<i>Valor P entre subcontinentes</i>		n.s.	n.s.	*

3.3.2.d. *Relación entre características de las poblaciones y clima de los sitios de origen*

Para las poblaciones de Norteamérica, se observó asociación positiva entre el número de macollos y de inflorescencias por planta, por un lado, y la precipitación media anual (PMA) de los sitios de origen de las poblaciones por el otro, así como entre el número de macollos por planta y la temperatura mínima promedio del mes más frío (Cuadro 3.8). Por su parte, para las poblaciones de Sudamérica se observó asociación positiva entre la temperatura mínima requerida por las poblaciones para germinar y las temperaturas máxima y mínima promedio de los meses más cálido y frío, respectivamente (Cuadro 3.8).

Cuadro 3.8. Coeficientes de correlación de Pearson (y significancia estadística: \*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ ;  $P > 0.05$ , sin símbolo) entre (a) variables medidas en plantas del jardín común (últimas cinco filas), ensayos de germinación (filas intermedias) y con porciones de hojas de plántulas (primeras tres filas), y (b) variables climáticas (columnas, obtenidas de [www.gbif.org](http://www.gbif.org)). El análisis de correlación se realizó considerando las poblaciones de cada subcontinente por separado.

	Norteamérica			Sudamérica		
	TmaxMC	TminMF	PMA	TmaxMC	TminMF	PMA
Índ. daño por alta temperatura	0.75	-0.35	-0.45	0.06	-0.06	0.09
Índ. daño por baja temperatura	0.45	-0.32	-0.29	-0.13	0.14	0.14
Índ. daño por estrés osmótico	0.51	0.45	0.24	0.16	-0.05	0.13
Tolerancia a sequía, germinac.	-0.70	0.51	0.68	-0.20	-0.15	-0.05
Temperatura mínima, germinac.	-0.03	0.14	0.29	0.94**	0.56*	0.46
Temperatura óptima, germinac.	0.31	-0.26	-0.39	0.47	0.45	0.46
Núm. de inflorescencias	-0.55	0.75	0.85*	0.20	0.17	-0.05
Núm. de macollos	-0.06	0.77*	0.83*	0.05	0.13	0.09
Altura de inflorescencias	-0.12	0.60	0.63	0.09	0.02	0.04
Altura de follaje	-0.48	0.72	0.75	0.14	0.17	0.13
Peso 1000 semillas	0.34	0.72	0.55	0.13	0.14	0.34

### 3.4. Discusión

Se encontraron diferencias en el nicho fundamental de regeneración entre poblaciones de *T. crinita* de Sudamérica y Norteamérica. Esa diferenciación fue en general leve o moderada - algo esperable dada la comparación de índole intraespecífica- y se observó con significancia estadística en 6 de 12 variables relacionadas con la germinación (Cuadros 3.4 y 3.6) y en 1 de 3 variables relacionadas con la tolerancia al estrés de plántulas (Cuadros 3.7). Además, se encontraron diferencias entre subcontinentes en 4 de 5 variables medidas en el jardín común que caracterizaron el tamaño y productividad de plantas adultas: las plantas de poblaciones sudamericanas presentaron mayor número y altura de inflorescencias, número de macollos, y peso de semillas que las norteamericanas (Cuadro 3.3). Estas características podrían representar adaptaciones a los ambientes con diferente balance hídrico que la especie habita en ambos subcontinentes (en general, menos estresantes en Sudamérica que en Norteamérica, Figura 3.1, ver también Capítulo 2). Por su parte, dentro de cada subcontinente, se encontró variabilidad entre poblaciones: más pronunciada entre poblaciones de Sudamérica que de Norteamérica. Se podría pensar que esto es resultado del menor número de poblaciones muestreado en Norteamérica en comparación con Sudamérica; sin embargo, hay al menos tres aspectos relevantes que sugieren que estos resultados representan diferencias efectivas entre poblaciones de ambos subcontinentes: i) los resultados concuerdan con los hallazgos del Capítulo 2, donde la especie mostró diferencias moderadas-leves de nicho climático entre subcontinentes, y un nicho más amplio en Sudamérica que en Norteamérica; ii) la colecta de poblaciones abarcó en los dos subcontinentes una proporción de área similar -aproximadamente el 25%- de la de distribución de la especie; iii) el nicho climático de los sitios de recolección de las

poblaciones reflejó las condiciones ambientales en que se encuentra la especie en cada subcontinente, así como también la diferencia de nicho de la especie entre subcontinentes – ver sección Material vegetal, Materiales y métodos; y comparar la Figura 3.1 de este capítulo con la Figura 2.2 del Capítulo 2. Estos tres motivos apuntan a que las poblaciones evaluadas para este capítulo representan adecuadamente la variabilidad de ambientes efectivamente ocupados por la especie en el campo.

Las poblaciones de Norteamérica mostraron ser más tolerantes al estrés osmótico que las de Sudamérica, tanto en cuanto a su capacidad de germinación como en la tolerancia de las láminas foliares de sus plántulas. Dichos resultados son consistentes con la primera predicción de este capítulo (predicción 2.a). En concordancia con los resultados de Di Giambatista et al. (2010) y Kloster et al. (2016) sobre la misma especie, aquí también se encontró una marcada disminución del porcentaje de germinación (poder germinativo) de todas las poblaciones en el potencial osmótico de -0.8 MPa. Por su parte, las diferencias entre poblaciones de ambos subcontinentes en la respuesta a temperaturas fueron menores y se dieron principalmente en el porcentaje de germinación final, que tendió a tener su máximo hacia mayores temperaturas y a presentar más variabilidad inter-poblacional en Sudamérica que en Norteamérica (Cuadro 3.4). Las diferencias mencionadas en porcentaje de germinación final ante distintas temperaturas tal vez puedan explicarse por diferencias entre las épocas de lluvias de los sitios habitados por *T. crinita* en los dos subcontinentes. En Sudamérica la estación de lluvias tiende a iniciarse a fines de primavera o inicio del verano, llega a su máximo en los meses de mayor temperatura y finaliza a principio o mediados de otoño (4-6 meses de duración). Por su parte, en Norteamérica la estación de lluvias en general comienza a inicios-mediados de verano, tiene su máximo a mediados-

finis de dicha estación y finaliza a principios de otoño (3-4 meses de duración; ver datos climáticos en Cuadros 7.5.A-G de Apéndice). Este análisis sugiere entonces que las poblaciones de Sudamérica podrían estar adaptadas a germinar en un rango más amplio de temperaturas, incluso en los meses más cálidos del año; mientras que las poblaciones de Norteamérica estarían adaptadas a germinar una vez que pasó la época de mayor temperatura y se generalizaron las lluvias.

Los resultados son parcialmente consistentes con la segunda predicción de este capítulo (predicción 2.b). Como se esperaba, la temperatura mínima requerida para la germinación de las poblaciones en Sudamérica estuvo asociada positivamente con las temperaturas máxima y mínima de los meses más cálido ( $T_{maxMC}$ ) y frío ( $T_{minMF}$ ) de los sitios de origen. Sin embargo, dicha relación no se repitió en las poblaciones de Norteamérica (Cuadro 3.8), para las que se encontró un patrón distinto: la precipitación media anual (PMA) y la  $T_{minMF}$  de los sitios de origen se asoció positivamente con la producción de inflorescencia y macollos de las plantas en el jardín común. Los resultados sugieren que la temperatura mínima para la germinación sería un factor bajo selección ambiental en Sudamérica, que con climas relativamente más fríos que Norteamérica (Figura 3.1, y Capítulo 2) favorecería semillas que puedan germinar a menores temperaturas –un ejemplo de ello sería la población ‘Amblayo’ con bajos requerimientos térmicos para la germinación y que proviene de un sitio a 2400 msnm. Por su parte, la productividad de macollos e inflorescencias de los individuos de distintas poblaciones de Norteamérica sería seleccionada por las condiciones de temperatura, y especialmente de precipitación. En ese sentido, la mayor aridez de los sitios habitados por la especie en Norteamérica respecto de Sudamérica (Figura 3.1, y Capítulo 2) podría ser una fuerza selectiva que contribuye a las

diferencias halladas en el tamaño y productividad de las plantas de los dos subcontinentes (Cuadro 3.3).

En una examinación más detallada sobre las poblaciones de Sudamérica, se encontró que las provenientes de sitios con suelos salinos-sódicos ('Salinas Grandes', 'Recreo Salinas', 'San Martín'; promedio de conductividad eléctrica ~60 dS/m, y de relación de absorción de sodio ~65) presentaron temperaturas óptimas de germinación mayores que las de sitios con suelos no salinos (en promedio 42.0 vs. 35.1°C;  $P=0.0001$ , prueba t; ver Cuadro 3.5). Esta comparación se hizo con poblaciones de sitios con temperaturas medias anuales similares (entre 18.4 y 20.7°C), por lo que no se incluyó en el último grupo a las poblaciones de sitios no salinos con climas relativamente más fríos ('Amblayo', 'RCH Ancha', 'RCH Fina'; temperaturas medias anuales 12.6, 16.2 y 16.2°C, respectivamente). El resultado es consistente con observaciones de Zabala et al. (2011), acerca de que poblaciones de *T. crinita* provenientes de sitios salinos tendieron a presentar un rango de temperaturas de germinación más acotado y a requerir temperaturas mayores para la germinación que poblaciones de sitios no salinos. Ello podría ser una estrategia adaptativa (Flowers et al. 1986) que hace coincidir la germinación con la época más cálida, de más precipitaciones y mayor dilución de sales en el suelo, favoreciendo la supervivencia de las plántulas (Zabala et al. 2011).

En el presente capítulo se evaluó el nicho fundamental de poblaciones provenientes de las dos regiones disyuntas de *T. crinita*, para las cuales previamente se habían encontrado diferencias en el nicho realizado (Capítulo 2). Los estudios que engloban ambos aspectos del nicho no son abundantes en la literatura (Soberón y Arroyo-Peña 2017), quizás por lo

laborioso de realizar determinaciones del nicho fundamental (Kearney y Porter 2004). Particularmente, no se han encontrado evaluaciones de este tipo en especies disyuntas. Como ya se señaló, trabajos teóricos indican que el nicho realizado de un taxón está determinado tanto por su tolerancia a factores abióticos (nicho fundamental), como por su capacidad de dispersión y por la interacción biótica con otras especies (Soberón y Nakamura 2009). Los resultados del Capítulo 2 presentaron evidencia de que, efectivamente, las interacciones bióticas pueden influenciar de manera significativa el cambio de nicho realizado de las especies. A ello, se suma ahora evidencia de este capítulo de que también los cambios en el nicho fundamental de *T. crinita* podrían contribuir a la diferenciación de su nicho realizado entre Norteamérica y Sudamérica. Los resultados obtenidos bajo condiciones similares indican diferencias de base genética; por lo tanto, poblaciones disyuntas de *T. crinita* presentarían características adaptativas divergentes que les permiten ajustarse a distintas condiciones ambientales. La diferenciación entre subcontinentes fue acompañada de variación entre poblaciones dentro de ambos subcontinentes. Estos resultados destacan la importancia y la necesidad de tener en cuenta la variabilidad intraespecífica en los planes de manejo y restauración.

## Capítulo 4

### Estructura y diversidad genética en poblaciones de *Trichloris crinita* de Sudamérica y Norteamérica

#### **4.1. Introducción**

Las especies de amplia distribución pueden consistir de poblaciones con gran plasticidad fenotípica que les permiten subsistir en diferentes ambientes, o presentar una alta variabilidad genética con genotipos diferencialmente adaptados, o una combinación de ambos (Premoli y Mathiasen 2011, Kelly 2019). Esto es particularmente relevante en especies disyuntas como *T. crinita*, que habita sitios con variadas condiciones ambientales tanto en Sudamérica como en Norteamérica (Capítulo 2). Las especies de amplio rango cuyas poblaciones poseen disyunciones geográficas pueden presentar limitaciones al flujo génico, lo que con el paso del tiempo aumenta progresivamente el grado de divergencia entre los individuos que habitan distintas regiones (Millar y Libby 1991). Asimismo, las disyunciones geográficas pueden ser el resultado de procesos de dispersión a distancia o fragmentación por vicarianza de una distribución otrora continua (Simpson et al. 2017). Por lo tanto, estas especies pueden estar constituidas por poblaciones genéticamente diferentes debido a los efectos combinados de la selección natural y fuerzas neutrales como la deriva génica y el aislamiento. En este sentido, diversos autores señalaron la posibilidad de que oscilaciones climáticas acontecidas en escalas de tiempo geológico hayan influenciado cambios en la distribución de géneros y especies a lo largo de ambos subcontinentes americanos (García et al. 1960, Raven 1963, Donoghue 2011, Villaverde et al. 2015).

Conocer la estructura y diversidad genética de las poblaciones de una especie resulta importante para su conservación, y también para su manejo en caso de aquellas que son aprovechadas por actividades antrópicas. Ello reviste particular importancia en *T. crinita*, por ser una especie con valor forrajero, y que además es promovida para la restauración de ambientes degradados en ambas regiones de su distribución disyunta (Gonzalez y Latigo 1981, Passera et al. 1992, Quiroga et al. 2009a, Pawelek et al. 2015). Estudios previos han investigado la variabilidad genética de poblaciones argentinas de la especie mediante marcadores *AFLP* (*amplified fragment length polymorphism*) en relación con su aptitud forrajera (Cavagnaro et al. 2006), pero no así con variables de tipo geográfico. Tampoco han sido exploradas aún la estructura y diversidad genética de las poblaciones de ambos subcontinentes, ni su relación con caracteres cuantitativos medidos en jardín común y por lo tanto posiblemente influenciados por la selección natural. Asimismo, no se conocen aspectos básicos de su historia biogeográfica y filogeografía, como ser el grado de diferenciación o el modo y tiempo de divergencia entre las poblaciones de Sudamérica y Norteamérica.

Una pregunta básica en la ecología de poblaciones de plantas es si existe variabilidad intraespecífica en caracteres de base genética como el nivel de ploidía (Lučanová, 2019). Conocer el grado de variación en el nivel de ploidía tiene relevancia ecológica y aplicada, dado que en general diferencias en este sentido traen aparejada la adaptación diferencial ante distintas condiciones ambientales (Husband et al. 2013, Lučanová 2019). Recientemente, estudios citogenéticos realizados en 20 poblaciones sudamericanas de *T. crinita* han demostrado un nivel de ploidía uniforme ( $2n = 4x = 40$ ) (Kozub et al. 2019). No

obstante, se conoce la existencia de variación intraespecífica en el nivel de ploidía en otras especies de la misma subfamilia, i.e. Chloridoideae (Nakagawa et al. 1987, De Silva y Snaydon 1995). Teniendo en cuenta lo mencionado, surge la necesidad de evaluar si poblaciones de áreas geográficas disyuntas presentan el mismo nivel de ploidía. En particular, existen numerosos interrogantes acerca de si los diploides y poliploides cercanamente relacionados se adaptan a condiciones ambientales diferentes, y sobre la posible influencia en su divergencia de factores históricos como el aislamiento y la deriva génica (Ramsey y Ramsey 2014).

En la práctica de la restauración ecológica se ha discutido ampliamente si los materiales vegetales elegidos deberían ser de base genética amplia o bien restringirse a aquellos de origen local (McKay et al. 2005, Bucharova et al. 2017). Si bien la introducción de germoplasma no local puede aumentar la variación genética, dicha variación podría ser inapropiada. Entre los distintos efectos negativos podrían mencionarse la mala adaptación a las condiciones locales y la depresión por exogamia que podrían resultar en una menor aptitud ecológica (Johnson et al 2010). Pero también se analiza que a medida que se acelera el cambio ambiental, tanto a nivel mundial como local, pueden aumentar las excepciones al principio de ‘lo mejor es lo local’ (Jones 2013). Las características genéticas y fenotípicas de las poblaciones de cada especie de interés, así como su procedencia (i.e. ambiente de origen) pueden influir sobre las estrategias elegidas de restauración. Esto puede ser relevante para definir poblaciones-fuente de semilla, como así también incrementar la variabilidad genética y potencial evolutivo de poblaciones que han sido ‘erosionadas genéticamente’ (Mijangos et al. 2015), y así optimizar su aptitud a largo plazo (Kettenring et al. 2014). Los mencionados son también aspectos importantes de conocer a la hora de

implementar planes de manejo y conservación (Frankham 2003, Escudero et al. 2003, Goncalves et al. 2019). Además, se ha sugerido que genotipos más distantes pueden contribuir a mantener o restaurar mejor ciertas funciones del ecosistema a través de la diferenciación de rasgos y la complementariedad en su adaptación (Stachowicz et al. 2013), algo análogo a la importancia de la diversidad de especies (Cadotte et al. 2011, Srivastava et al. 2012). Por otro lado, y de manera no excluyente, se ha propuesto que genotipos estrechamente relacionados pueden mejorar funciones ecosistémicas particulares debido a la afinidad entre semejantes (Stachowicz et al. 2013). Dado que estos mecanismos pueden llevar a resultados contrapuestos, las características genéticas y el grado de relación entre genotipos y poblaciones son aspectos que no deben ser dejados de lado en las decisiones sobre restauración ecológica (Kettenring et al. 2014).

El uso de marcadores moleculares para estimar el grado y distribución de la diversidad genética de una especie puede proveer información importante que puede ser difícil de obtener mediante otros métodos. Por ejemplo, puede permitir estimar el grado de parentesco entre poblaciones, o los sucesos demográficos pasados que influyeron en los patrones genéticos que se observan actualmente (Mijangos et al. 2015). Para este capítulo se utilizan microsatélites, que son marcadores moleculares ampliamente usados para estudiar la variabilidad genética intraespecífica neutral en poblaciones de plantas. Asimismo, se usan secuencias relativamente conservadas de ADN nuclear y plastidial para analizar el potencial efecto del aislamiento histórico de las poblaciones. Los microsatélites son secuencias repetidas de bases consideradas por muchos autores como selectivamente neutrales, que están distribuidas de manera aleatoria o casi aleatoria en el genoma (Li et al., 2002), y permiten detectar cambios debidos al aislamiento y la deriva genética

relativamente más recientes. Por otro lado, las secuencias de ADN plastidial y nuclear, poseen menores tasas de mutación y realizan un valioso aporte en la reconstrucción filogenética y biogeográfica (Avice 2004).

También se explora la influencia de la selección natural sobre el grado de divergencia de las poblaciones, comparando los resultados de los marcadores moleculares neutrales (mediante los índices  $F_{st}$  y  $R_{st}$ ) con los de los caracteres cuantitativos medidos en jardín común y presentados en el Capítulo 3 (utilizando el parámetro  $Q_{st}$ ), considerando que estos últimos muestran la acción de la selección natural y tienen también una base genética por haberse cuantificado bajo condiciones ambientales homogéneas (Wu y Jain 1978, Merilä y Crnokrak 2001). Así, cuando el índice de diferenciación genética en un marcador neutral ( $F_{st}$  y  $R_{st}$ ) es igual al índice de diferenciación genética en un carácter cuantitativo influenciado por la selección ( $Q_{st}$ ), no hay evidencia de que la selección esté actuando sobre el carácter evaluado ( $F_{st}$  y  $R_{st} = Q_{st}$ ). En cambio, cuando el segundo índice es mayor que el primero ( $F_{st}$  y  $R_{st} < Q_{st}$ ) significa que la selección favoreció la divergencia del carácter entre las poblaciones; finalmente, cuando el primero es mayor que el segundo ( $F_{st}$  y  $R_{st} > Q_{st}$ ) indica que hubo selección estabilizadora sobre el carácter (Merilä y Crnokrak 2001, McKay y Latta 2002). Por su parte, para estimar el nivel de ploidía de los individuos de las distintas poblaciones se usa la técnica de citometría de flujo (Greilhuber et al. 2005, Doležel et al. 2007), que permite cuantificar el contenido de ADN nuclear de una planta y a partir de ello inferir el nivel de ploidía. Cabe aclarar que cuando el nivel de ploidía es inferido mediante citometría de flujo, los resultados deben distinguirse de los estudios citológicos, por lo cual se utiliza el término ploidía del ADN (ADN-ploidía; Suda et al. 2006).

El objetivo (objetivo específico 3) es evaluar la variabilidad genética (diversidad dentro de los subcontinentes y poblaciones), estructura genética (diferenciación entre subcontinentes y poblaciones), inferir la historia biogeográfica (procesos históricos que dieron forma a esa estructura y diversidad genética), y comparar el contenido de ADN nuclear (indicador del nivel de ploidía) en individuos de *T. crinita* de distintas procedencias de Sudamérica y Norteamérica. La hipótesis (hipótesis 3) es que las características genéticas de las poblaciones de *T. crinita* están influenciadas por el patrón de distribución geográfica de la especie en ambos subcontinentes. Las predicciones derivadas son: (3.a) Existe una marcada divergencia genética en base a marcadores neutrales y nivel de ploidía entre las poblaciones de cada subcontinente debido al aislamiento actual y la influencia de factores históricos analizado mediante modelos de nicho ecológico. (3.b) Considerando las diferencias encontradas entre los ambientes habitados por la especie en Sudamérica y Norteamérica (Capítulo 2), se espera encontrar evidencias de una acción diferencial de la selección natural en las poblaciones de cada subcontinente analizadas en base a variación morfológica de plantas mantenidas en jardín común y por lo tanto de base genética.

## **4.2. Materiales y métodos**

### **4.2.1. Material vegetal**

Se evaluaron poblaciones existentes en la colección de *T. crinita* cultivadas en condiciones de jardín común en el INTA EEA Catamarca (primer jardín común, mencionado en

Capítulo 3). Esta colección cuenta con materiales provenientes de 22 poblaciones naturales de la especie, 15 de Sudamérica y 7 de Norteamérica (Cuadro 3.1; ver también Cuadro 7.2 en Apéndice). Todas las poblaciones pudieron ser evaluadas mediante citometría de flujo para comparar su nivel de ADN-ploidía. Sin embargo, para los marcadores moleculares, algunas poblaciones no se pudieron evaluar por inconvenientes para extraer su ADN o realizar las determinaciones en laboratorio. En el Cuadro 7.6 (Apéndice), se puede observar el detalle de las poblaciones y el número de individuos que finalmente se pudieron analizar con cada técnica/marcador.

#### 4.2.2. ADN-ploidía

Los análisis de citometría de flujo se realizaron en noviembre de 2017 a partir de hojas frescas. Las muestras se procesaron utilizando el protocolo de Doležel et al. (2007) con pequeñas modificaciones (Carloni et al. 2021). Segmentos de hojas de 4 - 6 cm<sup>2</sup> de *T. crinita* y del estándar de referencia [*Glycine max* cv. Polanka ( $2n = 40$ ,  $2C = 2.5$  pg ADN)] (Doležel et al. 1994) fueron homogeneizados en forma conjunta en 1 ml de solución amortiguadora Otto I (0.1 M ácido cítrico monohidratado, 0.5% Tween 20) (Otto 1990). Luego de filtrar las muestras por una malla de 30  $\mu$ m, se centrifugaron a 1500 rpm por 5 minutos y el sobrenadante fue eliminado teniendo la precaución de dejar 100  $\mu$ l en cada tubo de 1.5 ml. Las muestras se re-suspendieron en 100  $\mu$ l de solución amortiguadora Otto I con agitación suave y se incubaron en cámara fría (4°C) durante 24 h. Posteriormente, se agregaron 1 ml de solución amortiguadora Otto II (0.4 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 12H<sub>2</sub>O), 50  $\mu$ g/ml de yoduro de propidio (IP) (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, EEUU), y 50  $\mu$ g/ml de ARNasa (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, EEUU). El IP y la ARNasa se utilizaron para

marcar el ADN nuclear y evitar fluorescencia del ARN de doble cadena, respectivamente. Las muestras se fueron incubadas durante 10 minutos a temperatura ambiente, y luego analizadas en un citómetro de flujo BD Accuri™ C6 (BD Biosciences, San Jose, California, EEUU). Los histogramas de intensidad de fluorescencia relativa (FR) fueron evaluados con el *software* BD Accuri™ C6. Considerando la región que incluía los núcleos en los histogramas de FR en fase lineal, se evaluaron los picos de la fase G0/G1 del estándar y de la muestra. Se analizaron de 2 a 3 individuos de cada población. El contenido de ADN nuclear relativo de las plantas se expresó mediante un índice de fluorescencia (IF) teniendo en cuenta al estándar de referencia ( $IF = \text{media del pico G0/G1 de la muestra} / \text{media del pico G0/G1 del estándar}$ ). El tamaño del genoma de cada individuo, expresado en picogramos (pg), fue estimado multiplicando los valores de IF por 2.5 (contenido de ADN nuclear del estándar).

#### 4.2.3. Marcadores moleculares

##### 4.2.3.a. Secuencias de ADN

Se evaluaron mediante secuencias de ADN utilizando marcadores universales de las regiones *ITS1-5.8S-ITS2* (con los *primers* ITS1 y ITS4; Wright et al. 2006) y *rpl32-trnL* (*primers*  $\text{trnL}^{(\text{UAG})}$  y rpl32-F; Shaw et al. 2007), referidas a porciones de ADN nuclear y plastidial, respectivamente. En un principio se probaron un total de seis marcadores, pero luego se continuó con dos: *ITS1-5.8S-ITS2* y *rpl32-trnL*, que fueron los que amplificaron adecuadamente en nuestro caso (en cambio, no funcionaron consistentemente: *trnL-trnF*, Taberlet et al. 1991; *ccsA*, Scarcelli et al. 2011; *rps16* y *ndhC*, Shaw et al. 2007). Se aplicó un protocolo de extracción de ADN adaptado de Doyle y Doyle (1990) sobre muestras de

láminas foliares obtenidas del jardín común en enero de 2016 sobre un individuo de cada población. El protocolo de extracción de ADN y las condiciones de PCR empleadas se presentan en el Apéndice (Protocolo 7.1; Paula Mathiasen y Paula Quiroga, comunicación personal). Los productos amplificados de PCR se enviaron a Macrogen (Corea) para su secuenciación.

#### *4.2.3.b. Microsatélites*

Los análisis se hicieron sobre muestras de láminas foliares obtenidas del jardín común, en enero de 2018, de 2-5 individuos al azar de cada población. Se extrajo ADN y se realizó la amplificación mediante PCR. El protocolo de extracción de ADN fue el mismo descrito arriba para las secuencias de ADN. En un principio se probaron un total de seis microsatélites desarrollados por Kozub et al. (2017), pero luego se continuó sólo con tres de ellos, los microsatélites *Mss8*, *Mss11* y *Mss93* que amplificaron adecuadamente (no amplificaron consistentemente: *Mss72*, *Mss77*, *Mss90*). Las condiciones de PCR para los microsatélites se presentan en el Apéndice (Protocolo 7.1; Paula Mathiasen y Paula Quiroga, comunicación personal). Los productos amplificados de PCR se enviaron a analizar al servicio de análisis de fragmentos de Macrogen (Corea). Los genotipos se identificaron mediante el programa PEAK SCANNER v1.0 (Applied Biosystems), asignando a cada alelo el tamaño del fragmento amplificado comparado con un marcador de tamaño molecular estándar (GS500 LIZ, Applied Biosystems).

#### 4.2.4. Análisis estadístico

##### *4.2.4.a. ADN-ploidía*

Los datos de contenido de ADN nuclear (2C) se analizaron mediante análisis de varianza ( $\alpha=0.05$ ), considerando al subcontinente de origen como factor de efecto fijo y a las poblaciones anidadas dentro de cada subcontinente como factor de efecto aleatorio. Se usó el programa estadístico INFOSTAT (Di Rienzo et al. 2012).

#### *4.2.4.b. Marcadores moleculares*

##### *-Diversidad genética de las poblaciones*

Los datos de los microsatélites se analizaron con el programa GENALEX 6.503 (Peakall y Smouse 2006, 2012), para estimar en cada población los siguientes indicadores de diversidad genética: cantidad de alelos diferentes ( $N_a$ ); cantidad de alelos efectivos ( $N_e$ ); índice de Shannon ( $I$ ); cantidad de alelos exclusivos o ‘privados’ ( $N_{ap}$ ); heterocigosis esperada ( $H_e$ ); y heterocigosis observada ( $H_o$ ). Empleando los dos últimos índices, se calculó para cada población el coeficiente de endogamia [ $CE=(H_e-H_o)/H_e$ ]. Los valores de cada indicador se compararon entre poblaciones de Sudamérica y Norteamérica mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis ( $\alpha=0.05$ ; programa INFOSTAT).

##### *-Estructura genética de las poblaciones*

Mediante análisis de varianza molecular (AMOVA) que cuantifica la diversidad genética a distintos niveles jerárquicos, se analizaron los datos obtenidos de las secuencias y microsatélites para cada marcador por separado, y en el caso de los microsatélites se analizaron también en conjunto. Para las secuencias, donde se evaluó un individuo por población, se analizó la variación entre subcontinentes (Sudamérica, Norteamérica) y dentro de los subcontinentes ( $\alpha=0.05$ , programa ARLEQUIN 3.5.2.2; Excoffier y Lischer 2010). Para los microsatélites, con los que se evaluaron de 2 a 5 individuos por población,

se analizó la variación entre subcontinentes, entre poblaciones dentro de cada subcontinente, y dentro de las poblaciones ( $\alpha=0.05$ , programa GENALEX 6.503).

Con la prueba de Chi-cuadrado (programa BIOSYS-1; Swofford y Selander 1981) se compararon las frecuencias alélicas entre distintos agrupamientos de los datos de microsatélites, considerando: i) los dos subcontinentes como poblaciones en sentido amplio (Sudamérica y Norteamérica); ii) todas las poblaciones juntas; y luego por separado: iii) las poblaciones de Sudamérica, iv) las poblaciones de Norteamérica.

Empleando los datos de los 3 microsatélites conjuntamente, se evaluó si existe aislamiento genético entre las poblaciones relacionado con la distancia geográfica que las separa, usando la prueba de Mantel (programa GENALEX 6.503). Además, se estimó la distancia genética entre las poblaciones (distancia-cuerda, Cavalli-Sforza y Edwards 1967) y se la utilizó para realizar árboles filogenéticos mediante los métodos de ‘unión de vecinos’ (*neighbor joining*, NJ) y de ‘agrupamiento jerárquico aglomerativo simple’ (*unweighted pair group method with arithmetic mean*, UPGMA) (programa POPULATIONS 1.2.32, <http://bioinformatics.org/populations/>).

Además, se examinó la posible existencia de estructuración genética en el conjunto del total de individuos analizados mediante microsatélites, para lo cual se usó el programa STRUCTURE versión 2.3.4 (Pritchard et al. 2000, Hubisz et al. 2009). Este programa usa inferencia bayesiana para asignar los individuos de la muestra a distintos grupos internamente homogéneos desde el punto de vista genético. En este análisis se evaluó la existencia de una cantidad K de grupos, de 1 a 10. Para cada valor de K, se realizaron 10 corridas de 300000 iteraciones cada una, con un tramo de descarte de 50000 iteraciones. Se

supuso correlación en las frecuencias alélicas entre las probables poblaciones y un modelo de mezcla (*'admixture model'*), por ser esta opción razonablemente flexible para el caso de poblaciones naturales (Pritchard et al. 2000, Hubisz et al. 2009). El gráfico resumen de las 10 corridas para cada valor de K se realizó mediante el programa CLUMPAK (Kopelman et al. 2015). Para determinar la cantidad de grupos genéticos más adecuada se siguió el método de Evanno et al. (2005) implementado en STRUCTURE HARVESTER (Earl y VonHoldt 2012).

#### -Diferenciación genética vs. morfológica entre poblaciones

Utilizando los datos de los microsatélites se estimaron los índices de divergencia entre poblaciones utilizando los índices  $F_{st}$  y  $R_{st}$ , considerando los mismos agrupamientos (i, ii, iii, iv) definidos en el párrafo anterior (se usó el programa GENALEX 6.503). A su vez, se estimó el índice  $Q_{st}$  usando las variables morfológicas medidas en plantas del jardín común (presentado en el Capítulo 3) y bajo los mismos agrupamientos de los datos (se usó el paquete *Pstat* en R; Da Silva y Da Silva 2018). Los índices  $F_{st}$  y  $R_{st}$  reflejan la diferenciación genética en marcadores neutrales –siendo el segundo más específico para microsatélites (Goodman 1997), mientras que el índice  $Q_{st}$  estima el grado de diferenciación genética en caracteres cuantitativos influenciados por la selección (Spitze 1993). La comparación de los valores de  $F_{st}$  y  $R_{st}$  con los de  $Q_{st}$  se hizo considerando el intervalo de confianza del 95% obtenido para este último.

#### -Historia de las poblaciones

Usando los datos de las secuencias, se estimó el índice D de Tajima (Tajima 1989) considerando a los individuos de las poblaciones de Sudamérica y de Norteamérica por

separado, con el fin de hacer inferencias sobre su demografía. El índice se obtiene comparando el número total de sitios polimórficos en la muestra de secuencias y la proporción de diferencias nucleotídicas entre las secuencias (Perfectti et al. 2009). Ambos valores deben ser iguales, lo que resulta en un valor del índice cercano a 0, bajo una situación de evolución neutral (en ausencia de selección, recombinación, subdivisión poblacional y sin cambios en el tamaño poblacional). Por su parte, valores significativamente mayores a 0 indican selección estabilizadora y/o contracción demográfica repentina –i.e. ‘cuello de botella’, mientras que valores significativamente menores de 0 señalan selección a favor de nuevas mutaciones y/o expansión demográfica reciente. Se utilizó el programa ARLEQUIN 3.5.2.2 (Excoffier y Lischer 2010).

Para reconstruir cómo y cuándo habría ocurrido la separación entre las poblaciones de *T. crinita* de Sudamérica y Norteamérica, se usó la técnica de análisis bayesiano basado en coalescencia implementado en el programa DIYABC (Cornuet et al. 2014), el que mediante la evaluación de distintos escenarios de divergencia permite establecer un ranking de acuerdo a su probabilidad. El análisis se realizó con los datos de las secuencias y los microsatélites por separado. Dado el objetivo de este análisis y que el número de escenarios crece exponencialmente con el número de poblaciones, se consideraron dos poblaciones en sentido amplio, agrupando por un lado todos los individuos de Sudamérica y por otro todos los individuos de Norteamérica. Se compararon seis escenarios (ver Figura 4.4 en Resultados), que evaluaron distintos modos de separación entre poblaciones: vicarianza de una población ancestral común (de tamaño similar a la suma de las poblaciones de Sudamérica y Norteamérica, Escenario 1; o bien, de otro tamaño desconocido, Escenario 6), dispersión de Sudamérica a Norteamérica (con y sin cuello de botella en la población que se inició en Norteamérica, Escenarios 2 y 4, respectivamente), dispersión de Norte a

Sudamérica (con y sin cuello de botella en la población que se inició en Sudamérica, Escenarios 3 y 5, respectivamente). El valor mínimo de los parámetros iniciales en los distintos escenarios fue fijado en 10, mientras que el máximo fue fijado en 100000, salvo en el marcador *ITS1-5.8S-ITS2* para el cual se fijó en 10000. En cada escenario y para cada parámetro se obtuvieron estimaciones de la mediana y del error absoluto relativo (RMAE, *relative median of the absolute error*; valores  $>0.3$  indicarían baja precisión de la estimación). La probabilidad posterior de cada escenario fue calculada utilizando un análisis discriminante con enfoque logístico (Cornuet et al. 2014).

#### -Hábitats adecuados en el pasado

Para estimar la distribución de hábitats adecuados para la especie en el pasado, se utilizaron dos programas: MAXENT (Phillips 2005) y BIOCLIM (Booth 2018). Trabajos previos señalaron que el uso de MAXENT para extrapolar en el tiempo o en el espacio no siempre da resultados precisos (Varela et al. 2011, Quiroga et al. 2018; ver también los resultados de la proyección entre subcontinentes del Capítulo 2). Por ello se ha sugerido el uso de programas como BIOCLIM, que no hacen inferencias basadas en ausencias o pseudo-ausencias (como sí hace MAXENT, que usa los datos de presencia y hace estimaciones de pseudo-ausencia; Varela et al. 2011).

Con ambos programas, se utilizaron los datos de coordenadas de presencia de la especie y climáticos actuales de Sudamérica y Norteamérica (los mismos datos y variables climáticas usadas en el Capítulo 2) para modelar la distribución potencial en el presente para cada subcontinente por separado ya que las proyecciones de un subcontinente a otro no dieron resultados equivalentes (Capítulo 2). Dichos modelos fueron luego usados para estimar los

hábitats adecuados para la especie en el pasado, proyectándolos según datos climáticos del Holoceno Medio (hace 6000 años) y Último Máximo Glacial (hace ~21000 años). Al igual que los del presente, estos datos fueron obtenidos de la base de datos de libre acceso Worldclim 1.4, [www.worldclim.com](http://www.worldclim.com). Se usó la configuración *default* de Bioclim (implementada en el programa DIVA-GIS, Hijmans et al. 2001) y de MAXENT, excepto que para este último se usó la opción *fade by clamping* para limitar la extrapolación a áreas con climas que están fuera del rango de los usados en la calibración (al igual que se hizo en el Capítulo 2, Quiroga et al. 2018).

### **4.3. Resultados**

#### 4.3.1. ADN-ploidía

No se encontraron diferencias significativas de contenido de ADN nuclear (indicador del nivel de ploidía) entre las poblaciones de Sudamérica y Norteamérica ( $P=0.955$ , promedio en ambos subcontinentes = 1.97 pg), y tampoco entre poblaciones dentro de cada subcontinente ( $P=0.097$ ; Cuadro 4.1). Se observó en general una escasa variación, de alrededor del 5%, en el contenido de ADN nuclear entre poblaciones (Cuadro 4.1). Estos resultados indican que todas las poblaciones evaluadas presentan el mismo nivel de ploidía.

#### 4.3.2. Marcadores moleculares

-Diversidad genética de las poblaciones

Los resultados mostraron que las poblaciones de Sudamérica y Norteamérica tienen niveles similares de diversidad genética (Cuadro 4.2). En promedio, las poblaciones de Sudamérica y Norteamérica presentaron respectivamente valores comparables para distintos parámetros de diversidad genética poblacional: número promedio de alelos por locus ( $N_a$ ) de 1.39 vs. 1.38; cantidad de alelos efectivos ( $N_e$ ) de 1.28 vs. 1.28; índice de Shannon ( $I$ ) de 0.24 vs. 0.28; cantidad de alelos privados ( $N_{ap}$ ) de 0.083 vs. 0.095; heterocigosis esperada ( $H_e$ ) de 0.16 vs. 0.19; heterocigosis observada ( $H_o$ ) de 0.25 vs. 0.25;  $P > 0.4$  en todos los índices). Por su parte, para el coeficiente de endogamia (CE) tampoco se observaron diferencias entre subcontinentes: CE promedio entre poblaciones de Sudamérica y Norteamérica de -0.55 vs. -0.37, respectivamente ( $P = 0.67$ ). El CE presentó valores negativos indicando exceso de heterocigosis en la mayoría de las poblaciones de Sudamérica (91%) y Norteamérica (86%) (Cuadro 4.2).

#### -Estructura genética de las poblaciones

En los análisis de varianza molecular (AMOVAs), las secuencias no presentaron estructuración genética entre subcontinentes ( $P > 0.05$ ). La variación en los marcadores explicada por el subcontinente de origen de las muestras fue de 6% en *rpl32-trnL* y 0% en *ITS1-5.8S-ITS2*. Así, la mayor parte de la variabilidad genética en dichos marcadores se encontró dentro de los continentes (94% y 100%, respectivamente; Cuadro 4.3). Sin embargo, en los microsatélites sí se encontró variabilidad genética significativa entre subcontinentes ( $P < 0.05$ ) en *Mss11* (5%) y en *MssTotal* (2%). En los microsatélites también se observó un significativo porcentaje de la variabilidad genética (entre 10% y 82%) asociado a las diferencias entre poblaciones dentro de cada subcontinente ( $P < 0.05$ ; Cuadro 4.3).

Cuadro 4.1. Procedencia (Sudamérica -SA- o Norteamérica -NA-) y denominación de las 22 poblaciones de *T. crinita* (evaluadas también en Capítulo 3). Se muestra para cada población los valores obtenidos de contenido de ADN nuclear promedio (valor 2C, en pg)  $\pm$  desvío estándar.

Subcontinente	Población	2C	$\pm$ D.E.
SA	Amblayo	2.00	0.053
SA	Chamical *	2.01	0.025
SA	Colpes	2.01	0.002
SA	El Tipán	1.96	0.002
SA	HC	1.95	0.002
SA	HL	1.99	0.007
SA	RCH Ancha	1.96	0.023
SA	RCH Fina	1.94	0.036
SA	Recreo	1.99	0.042
SA	Recreo Salinas	1.98	0.008
SA	San Martín	1.93	0.001
SA	Salinas Grandes	1.95	0.041
SA	SC	1.97	0.015
SA	SL	1.97	0.044
SA	Tilimuqui	1.94	0.013
NA	Bowie	1.96	0.015
NA	Kinney *	1.97	0.013
NA	Knox	1.99	0.033
NA	Lucero	1.99	0.008
NA	San Simon	1.98	0.009
NA	Tornillo	1.98	0.047
NA	White Sands	1.90	0.078

\* Las poblaciones ‘Chamical’ y ‘Kinney’ son materiales vegetales registrados por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria de Argentina (INTA, <https://inta.gob.ar/variedades/chamical-inta>) y el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA-NRCS 2020), respectivamente.

Cuadro 4.2. Patrones de diversidad genética poblacional obtenidos con GENALEX 6.503. Para las poblaciones de ambos subcontinentes (Sudamérica, SA; Norteamérica, NA) se muestran valores de los índices: cantidad de alelos diferentes (Na); cantidad de alelos efectivos (Ne); índice de Shannon (I); cantidad de alelos privados (Nap); heterocigosis esperada (He); heterocigosis observada (Ho); coeficiente de endogamia (CE).

Subcon- tinente	Población	Na	Ne	I	Nap	He	Ho	CE
SA	Amblayo	1.67	1.56	0.35	0.33*	0.21	0.33	-0.60
SA	Chamical	1.33	1.33	0.23	0.00	0.17	0.33	-1.00
SA	Colpes	1.33	1.31	0.22	0.00	0.16	0.27	-0.67
SA	El Tipán	1.67	1.36	0.35	0.00	0.23	0.13	0.42
SA	HC	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	---
SA	RCH Fina	1.33	1.33	0.23	0.33*	0.17	0.33	-1.00
SA	Recreo	1.00	0.76	0.13	0.00	0.07	0.08	-0.14
SA	Recreo Salinas	1.67	1.37	0.33	0.00	0.22	0.32	-0.46
SA	Salinas Grandes	1.33	1.33	0.23	0.00	0.17	0.33	-1.00
SA	San Martín	1.33	1.33	0.23	0.33*	0.17	0.33	-1.00
SA	SL	1.33	1.24	0.20	0.00	0.14	0.20	-0.43
SA	Tilimuqui	1.67	1.49	0.40	0.00	0.27	0.33	-0.22
NA	Bowie	1.67	1.49	0.40	0.00	0.27	0.33	-0.22
NA	Kinney	1.33	1.22	0.35	0.67*	0.21	0.00	1.00
NA	Knox	1.00	0.76	0.13	0.00	0.07	0.08	-0.14
NA	Lucero	1.33	1.33	0.23	0.00	0.17	0.33	-1.00
NA	San Simon	1.33	1.33	0.23	0.00	0.17	0.33	-1.00
NA	Tornillo	1.33	1.33	0.23	0.00	0.17	0.33	-1.00
NA	White Sands	1.67	1.49	0.40	0.00	0.27	0.33	-0.22

\*Los alelos privados fueron: 135, 153 y 149 en *Mss11* para Amblayo, RCH Fina y San Martín, respectivamente en Sudamérica (SA); 170 y 176 en *Mss93* para Kinney en Norteamérica (NA).

Cuadro 4.3. Porcentajes de variación obtenidos en los AMOVAs realizados sobre los marcadores moleculares (secuencias: *rpl32-trnL*, *ITS1-5.8S-ITS2*; microsatélites: *Mss8*, *Mss11*, *Mss93*, *MssTotal*).

Fuente de variación	<i>rpl32-trnL</i>	<i>ITS1-5.8S-ITS2</i>	<i>Mss8</i>	<i>Mss93</i>	<i>Mss11</i>	<i>MssTotal</i>
Entre subcontinentes	6	0	0	0	5*	2*
Dentro de subcontinentes	94	100	-	-	-	-
Entre poblaciones	-	-	82**	10*	44**	55**
Dentro de poblaciones	-	-	18	90	51	43

Valores de  $P < 0.05$ , \*;  $< 0.01$  \*\*,  $< 0.001$ , \*\*\*

Además, se observó variación significativa ( $P < 0.05$ ) entre las frecuencias alélicas según distintos agrupamientos de los datos de microsatélites (Cuadro 4.4). Relativamente, hubo menor diferenciación de las frecuencias alélicas entre subcontinentes (sólo significativa en *Mss93*) que entre poblaciones. La diferenciación entre poblaciones se observó tanto en Sudamérica (en *Mss8*, *Mss11*, *MssTotal*) como en Norteamérica (*Mss93*, *Mss11*, *MssTotal*), y fue más notoria cuando se consideraron todas las poblaciones juntas (en todos los microsatélites; Cuadro 4.4).

Cuadro 4.4. Valores de Chi-cuadrado para las frecuencias alélicas según distintos agrupamientos de los datos de microsatélites, realizada en Biosys-1.

Agrupamiento	<i>Mss8</i>	<i>Mss93</i>	<i>Mss11</i>	<i>MssTotal</i>
Dos poblaciones en sentido amplio (NA vs. SA)	3.2 <sup>(*)</sup>	8.6*	5.0 n.s.	16.9 n.s.
Todas las poblaciones juntas (las de NA y SA)	106.1***	114.0***	465.6***	685.7***
Sólo las poblaciones de SA	82.3***	16.1 n.s.	289.3***	387.7***
Sólo las poblaciones de NA	6.9 n.s.	30.9**	66.6***	104.4***

Valores de  $P < 0.1$ , <sup>(\*)</sup>;  $< 0.05$ , \*;  $< 0.01$  \*\*,  $< 0.001$ , \*\*\*;  $> 0.05$ , n.s.

Considerando los 3 microsatélites en conjunto, no se observó aislamiento genético por distancia geográfica en las poblaciones de Sudamérica ( $P=0.16$ ; Prueba de Mantel), pero sí en las de Norteamérica ( $P=0.01$ ). En ambos subcontinentes la distancia geográfica máxima

entre las poblaciones evaluadas fue cercana a los 9 grados, es decir aproximadamente 1000 km (Figura 4.1). Los árboles filogenéticos no mostraron una separación de las poblaciones según el subcontinente de origen. No obstante, ambos métodos (NJ y UPGMA) presentaron patrones de agrupamiento similares entre poblaciones (Figura 4.2). A su vez, en el análisis de afinidad genética de los individuos mediante STRUCTURE, se encontraron 2 ó 4 grupos genéticos internamente homogéneos que estuvieron compuestos por individuos de diferentes poblaciones y de ambos subcontinentes (Figura 4.3). Se observó cierta consistencia entre los árboles filogenéticos y los grupos genéticos; por ejemplo, las poblaciones Recreo-El Tipán-Kinney-Knox, Salinas Grandes-Tilimuqui, Bowie-White Sands, se relacionaron en ambos árboles y en los agrupamientos K=2 y K=4 (Figuras 4.2 y 4.3).

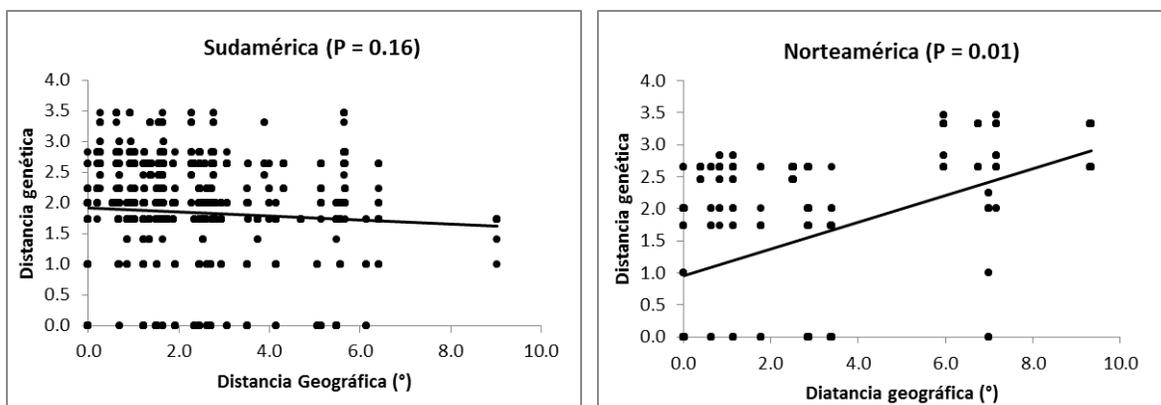


Figura 4.1. Aislamiento genético (eje y) en función de la distancia geográfica (eje x; expresada en grados,  $1^\circ = \sim 111$  km) para las poblaciones de Sudamérica (izquierda) y Norteamérica (derecha). Prueba de Mantel, considerando conjuntamente los tres microsatélites.

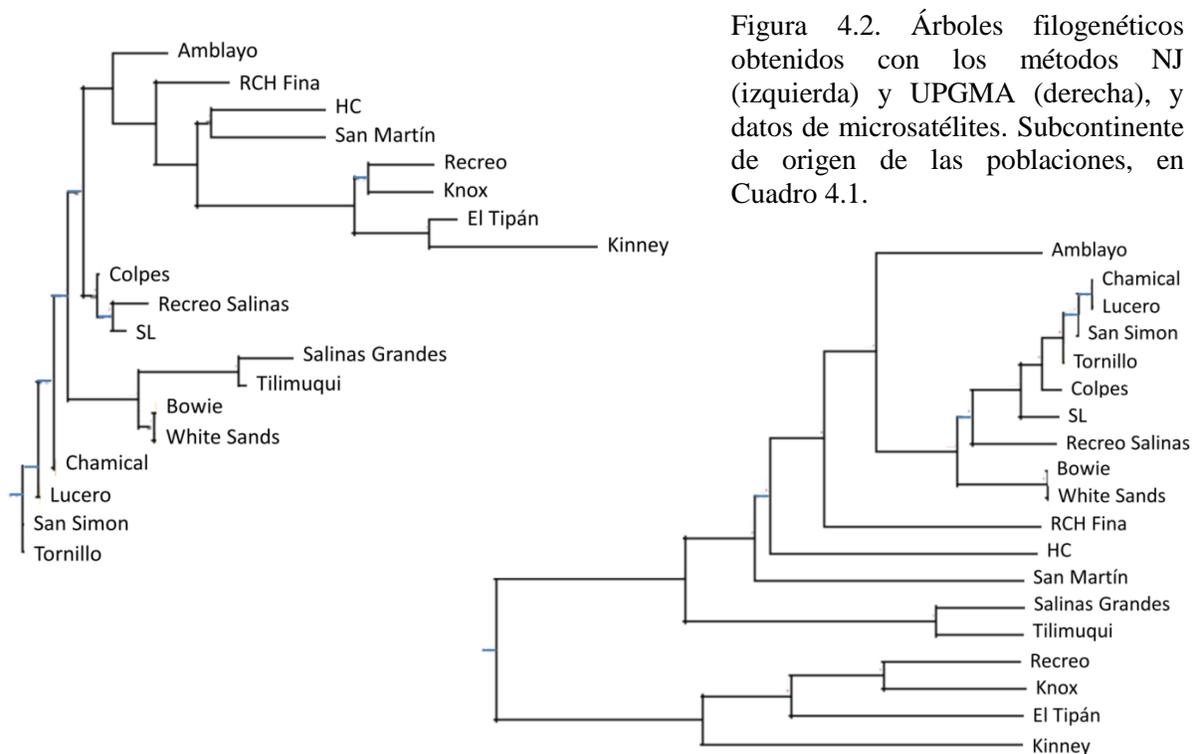


Figura 4.2. Árboles filogenéticos obtenidos con los métodos NJ (izquierda) y UPGMA (derecha), y datos de microsatélites. Subcontinente de origen de las poblaciones, en Cuadro 4.1.

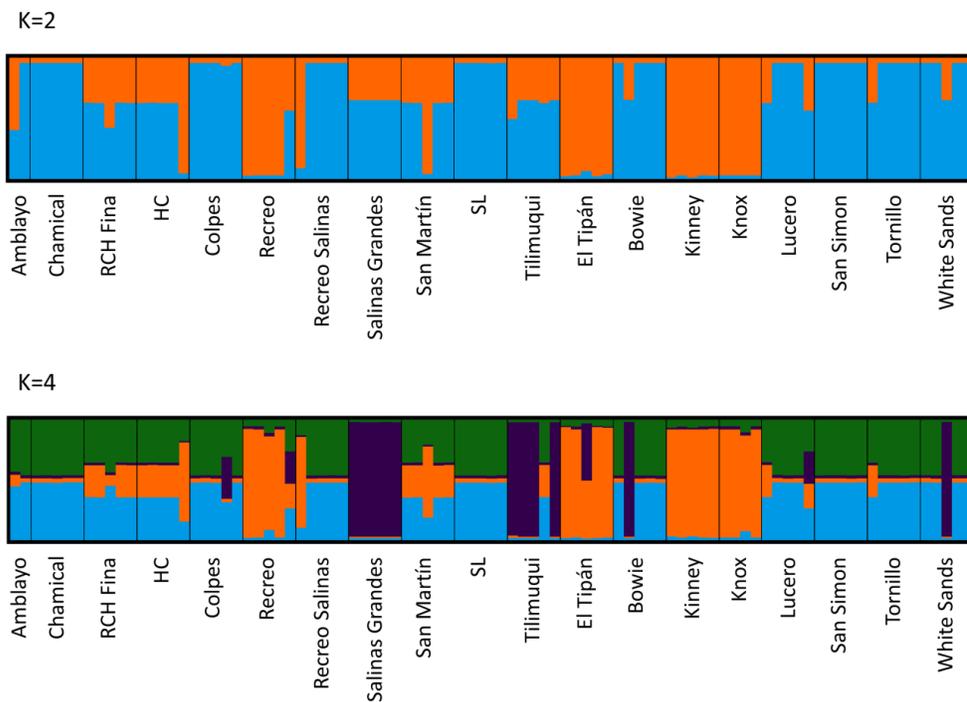


Figura 4.3. Clasificación de los individuos de las distintas poblaciones según STRUCTURE versión 2.3.4, que resultó en 2 y 4 grupos genéticos (K=2 y K=4). Las 12 primeras poblaciones (de izquierda a derecha) provienen de Sudamérica, mientras que las 7 siguientes (a partir de Bowie) provienen de Norteamérica (detalles de procedencia en Cuadro 3.1, Capítulo 3).

#### -Diferenciación genética vs. morfológica entre poblaciones

Los valores de los índices  $F_{st}$  y  $R_{st}$  entre poblaciones basados en microsatélites fueron elevados (0.49-0.60) sin importar si se consideró las de cada subcontinente por separado o juntas, lo que indica marcada diferenciación genética entre poblaciones en cuanto a los datos de microsatélites. No obstante, la diferenciación genética fue baja cuando se compararon Sudamérica vs. Norteamérica como grupos en sentido amplio ( $F_{st}=0.02$ ,  $R_{st}=0.07$ ; Cuadro 4.5). Algunos valores de  $Q_{st}$  de caracteres morfológicos superaron los valores de  $F_{st}$  y  $R_{st}$  (quedaron fuera del intervalo de confianza del 95%; 6 de 16 comparaciones si consideramos los 4 caracteres morfológicos x las 4 formas de agrupar las poblaciones; Cuadro 4.5), lo que señala que la variación entre poblaciones en dichos caracteres morfológicos supera a la encontrada en marcadores neutrales (microsatélites). Por otra parte, para la mayoría de las comparaciones (10 de 16), los valores de  $Q_{st}$  de los caracteres morfológicos y sus intervalos de confianza incluyeron a los valores de  $F_{st}$  y  $R_{st}$ , lo que indica ausencia de selección en dichos caracteres (Cuadro 4.5).

#### -Historia de las poblaciones

Los valores del estadístico  $D$  de Tajima obtenidos en la prueba de neutralidad mostraron valores no significativamente diferentes a 0, es decir estabilidad de los tamaños poblacionales en tiempos recientes. No obstante, para *ITS1-5.8S-ITS2* se obtuvo un valor negativo marginalmente significativo en Sudamérica, lo que podría indicar cierto grado de expansión poblacional reciente allí (Cuadro 4.6).

Cuadro 4.5. Valores de los índices *Fst* y *Rst* obtenidos sobre los datos de microsatélites usando GENALEX 6.503, y valores de *Qst* (con su intervalo de confianza del 95%) obtenidos para distintos caracteres morfológicos medidos en plantas de las poblaciones establecidas en jardín común (descrito en Capítulo 3), usando el paquete *Pstat* en *R*. Valores de *Qst* en negritas indican diferencias significativas respecto de la divergencia genética medida mediante microsatélites (*Fst* y *Rst*) y por lo tanto muestran el efecto de la selección natural para dichos caracteres cuantitativos.

Agrupamiento	<i>Fst</i>	<i>Rst</i>	<i>Qst</i> (nro. inflorescencias)	<i>Qst</i> (nro. macollos)	<i>Qst</i> (altura inflorescencias)	<i>Qst</i> (altura follaje)
Dos poblaciones en sentido amplio (NA vs. SA)	0.02	0.07	<b>0.92</b> <b>(0.82-0.96)</b>	0.72 (0.04-0.91)	<b>0.93</b> <b>(0.81-0.97)</b>	0.45 (0.01-0.86)
Todas las poblaciones juntas (las de NA y SA)	0.50	0.56	<b>0.71</b> <b>(0.68-0.85)</b>	0.41 (0.40-0.72)	<b>0.61</b> <b>(0.58-0.81)</b>	<b>0.60</b> <b>(0.57-0.81)</b>
Sólo las poblaciones de SA	0.51	0.54	<b>0.71</b> <b>(0.67-0.86)</b>	0.47 (0.41-0.77)	0.37 (0.34-0.75)	0.55 (0.51-0.81)
Sólo las poblaciones de NA	0.49	0.60	0.11 (0.08-0.67)	0.23 (0.18-0.71)	0.56 (0.42-0.83)	0.66 (0.55-0.86)

Cuadro 4.6. Valores del índice *D* de Tajima para cada secuencia (*rpl32-trnL*, *ITS1-5.8S-ITS2*) y subcontinente (Norteamérica, Sudamérica), obtenidos en la prueba de neutralidad (programa ARLEQUIN 3.5.2.2).

Subcontinente	<i>rpl32-trnL</i>	<i>ITS1-5.8S-ITS2</i>
Norteamérica	1.34	0.0 -sin polimorfismos-
Sudamérica	-0.89	-1.53 <sup>(*)</sup>

Valor de  $P = 0.056$  (\*)

De los seis escenarios evaluados [vicarianza (Escenarios 1 y 6) y dispersión con (Escenarios 2 y 3) y sin cuello de botella en el arribo al ‘nuevo’ subcontinente (Escenarios 4 y 5) (Figura 4.4)], los resultados de DIYABC mostraron como más probable a los Escenarios 4 (en *rpl32-trnL*), 1 (*ITS1-5.8S-ITS2*) y 6 (microsatélites). Para estos escenarios más probables, los tiempos estimados de divergencia entre las poblaciones de Sudamérica y

Norteamérica fueron de 3330, 2240 y 462 generaciones, respectivamente (Figura 4.4 y Cuadro 7.7 en Apéndice). La mayoría de los parámetros estimados en los escenarios más probables presentaron niveles de error aceptables (14 de 16 parámetros con valores de RMAE no superior a 0.3; ver Cuadro 7.7).

#### -Hábitats adecuados en el pasado

En ambos programas de modelado (MAXENT y BIOCLIM) se obtuvo similar distribución potencial para *T. crinita* en el presente, con extensas áreas adecuadas para la especie tanto en Norteamérica como en Sudamérica (Figura 4.5). Sin embargo, ambos estimaron una menor (BIOCLIM) o nula (MAXENT) área adecuada para la especie en Norteamérica para el Holoceno Medio, y especialmente durante el Último Máximo Glacial; no así en Sudamérica, donde ambos programas estimaron para dichos momentos una amplia disponibilidad de sitios con condiciones adecuadas para la especie (Figura 4.5).

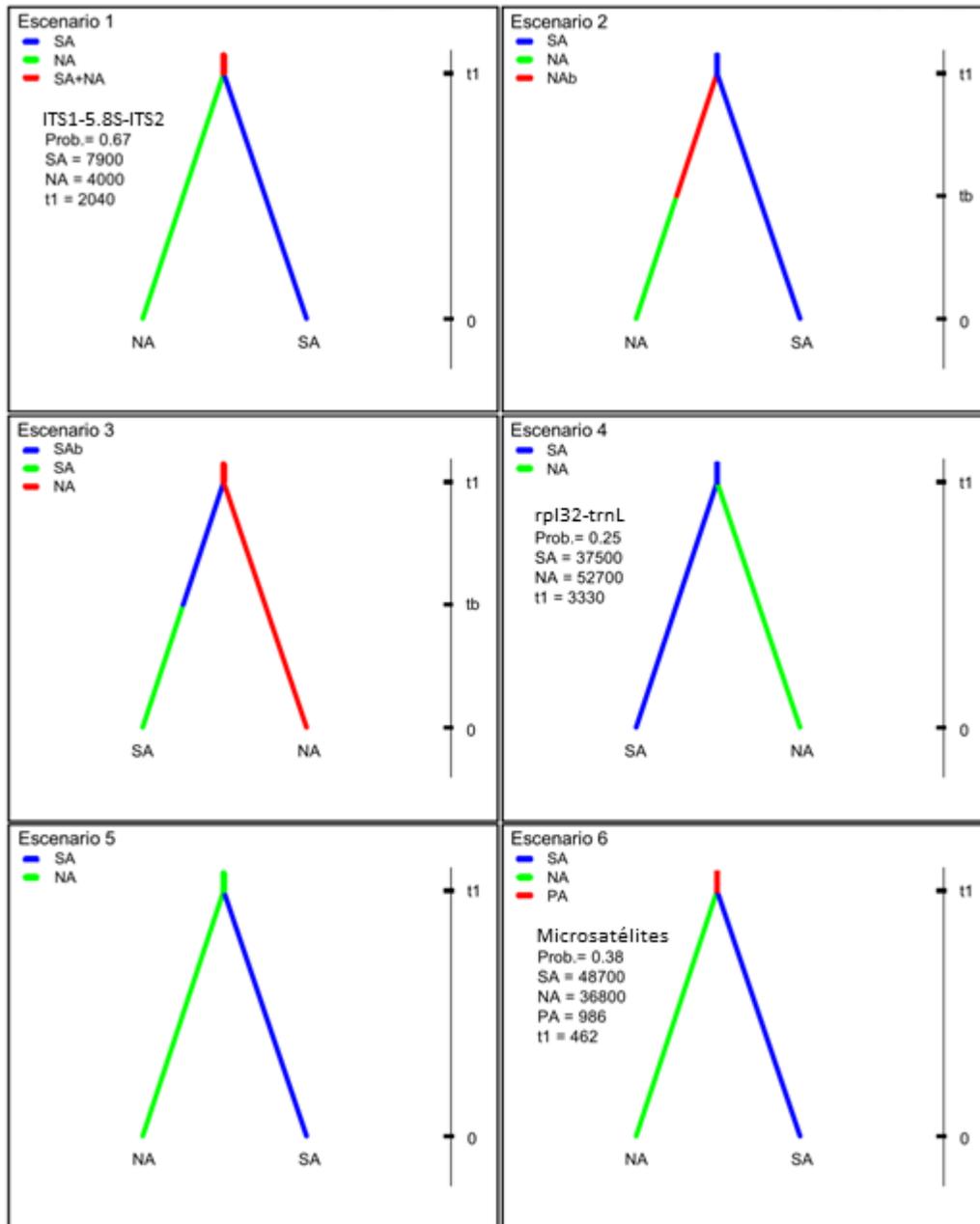
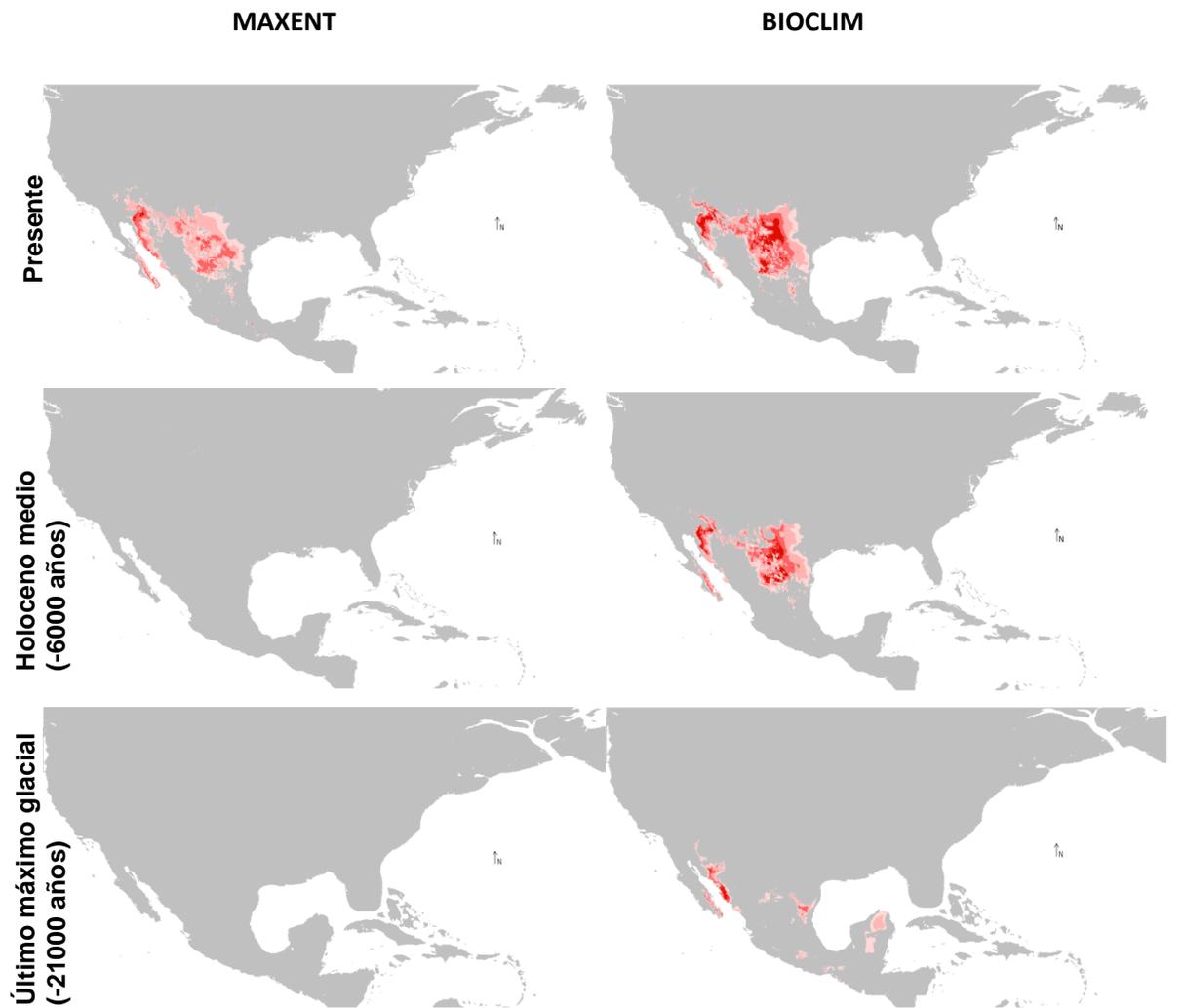
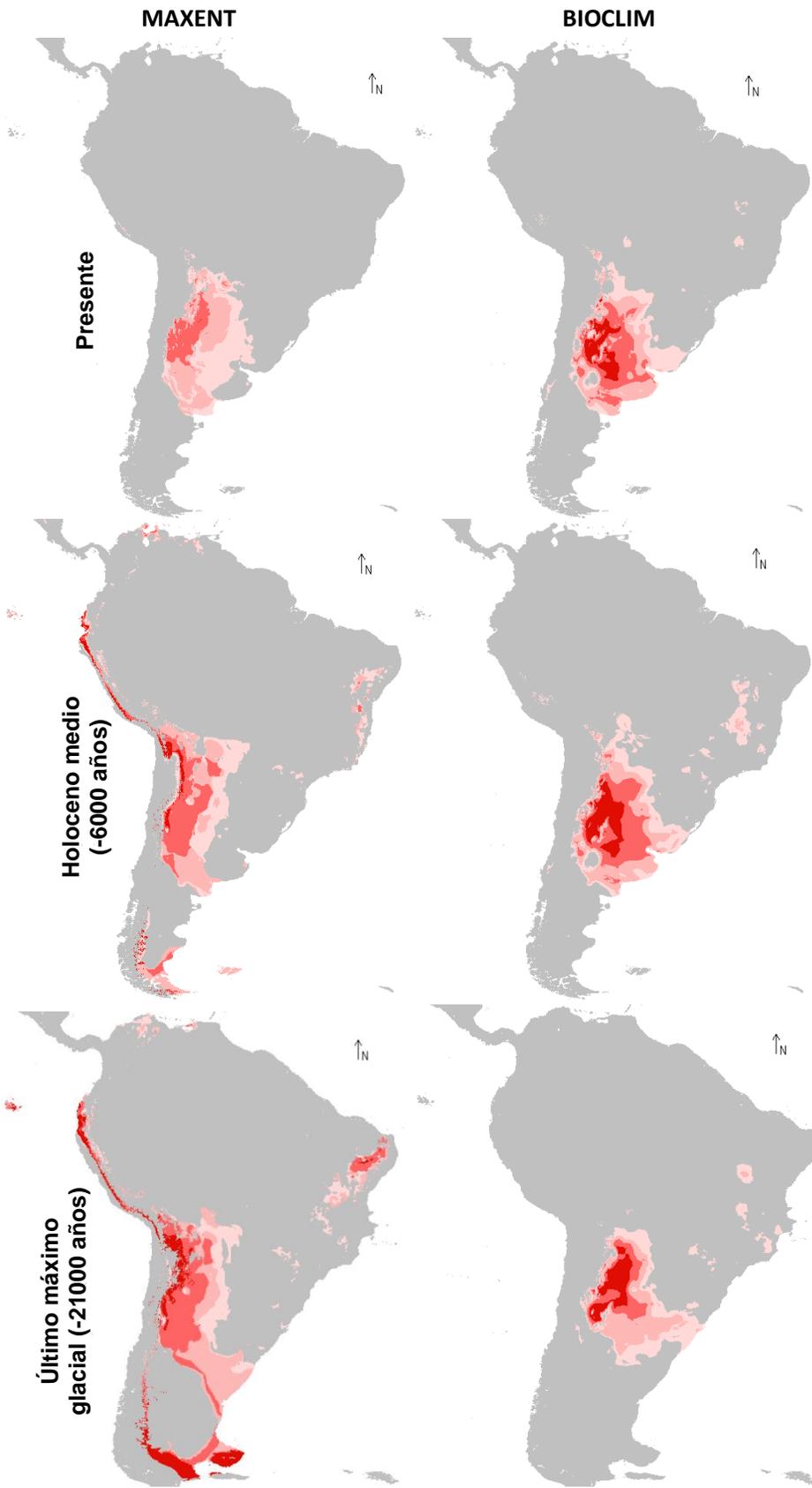


Figura 4.4. Esquema de los seis escenarios evaluados en DIYABC. Para los escenarios seleccionados (Escenario 1 en *ITS1-5.8S-ITS2*, Escenario 4 en *rpl32-trnL*, Escenario 6 en microsatélites) se muestran los valores de probabilidad respecto del total de los seis escenarios evaluados, y los valores de mediana estimada para los distintos parámetros de interés: tamaño poblacional efectivo actual en Sudamérica (SA), tamaño poblacional efectivo actual en Norteamérica (NA), tamaño poblacional efectivo de la población ancestral (PA), tiempo de divergencia entre las poblaciones de Sudamérica y Norteamérica, en cantidad de generaciones ( $t_1$ ). El eje vertical representa el tiempo en cantidad de generaciones (0 es el momento de muestreo de las poblaciones evaluadas). Además, otros parámetros considerados en el resto de los escenarios fueron: tamaño poblacional efectivo de la población de Sudamérica (SAb) y Norteamérica (NAb) luego de ‘cuello de botella’, y tiempo hasta el cual se prolongó el ‘cuello de botella’, estimado en cantidad de generaciones ( $t_b$ ).



(la figura continúa en la próxima página)

Figura 4.5. Hábitats potenciales de la especie *Trichloris crinita* en el presente y el pasado (Holoceno Medio, -6000 años atrás; y Último Máximo Glacial, -21000 años atrás; escala de colores en los mapas: rojo, sitios con alta adecuación; rosa, adecuación media; rosa claro, adecuación baja; gris, no adecuado), modelados con los programas MAXENT y BIOCLIM, en cada subcontinente por separado (Norteamérica, paneles de arriba; Sudamérica, paneles en la próxima página). Los modelos fueron calibrados en base a las características climáticas presentes de los sitios habitados por la especie en la actualidad, y luego proyectados según las características climáticas estimadas para el Holoceno Medio y el Último Máximo Glacial. Las coordenadas de presencia de la especie en tiempos actuales fueron obtenidas de la base de datos GBIF, mientras que los datos climáticos de las distintas épocas fueron obtenidos de la base de datos WorldClim 1.4 ([www.worldclim.com](http://www.worldclim.com)).



#### 4.4. Discusión

Las predicciones planteadas se cumplieron en forma parcial. Respecto de la predicción 3.a, si bien hubo diferenciación significativa entre poblaciones de Sudamérica y Norteamérica en base a marcadores neutrales, ésta fue de baja magnitud, detectándose con el uso de los microsátélites pero no de las secuencias (Cuadros 4.3 y 4.4). Contrastando con lo que se esperaba en función del aislamiento geográfico existente entre poblaciones de ambos subcontinentes, la diferenciación entre subcontinentes fue menor que la diferenciación dentro de cada uno de ellos (Cuadros 4.3 y 4.4). Incluso, no se encontró variación entre ni dentro de los subcontinentes en el nivel de ploidía de las poblaciones de *T. crinita* evaluadas (Cuadro 4.1), algo que no concuerda con lo predicho pero que tampoco puede considerarse llamativo dado que sólo un 12–13% de las especies de plantas angiospermas presentan variación intraespecífica en su ploidía (Wood et al. 2009). Analizando dentro de cada subcontinente, en Norteamérica se encontró una creciente diferenciación genética entre poblaciones a medida que aumenta la distancia geográfica, no así en Sudamérica (Figura 4.1). Por su parte, el modelado de los hábitats potenciales para la especie en el Último Máximo Glacial sugirió para Norteamérica la ausencia de sitios propicios (MAXENT) o bien una mucho menor disponibilidad de los mismos (BIOCLIM) respecto de la actualidad (Figura 4.5). En cambio, para Sudamérica, los hábitats potenciales modelados para la especie durante el Último Máximo Glacial no presentaron una reducción en su extensión, mostrando inclusive un patrón de mayor dispersión a través del subcontinente que en la actualidad (Figura 4.5). Consistentemente con la predicción 3.b, se encontró que la selección natural parece haber influenciado de modo diferente a las

poblaciones de Sudamérica y Norteamérica. En las primeras, la producción de inflorescencias -y por ende de semillas- mostró evidencia de ser moldeada por la selección natural ( $Q_{st} > F_{st}$  y  $R_{st}$ ); mientras que en las segundas, no se observó influencia de la selección natural en ninguna de las variables evaluadas (Cuadro 4.5).

Los resultados sugieren que las características morfológicas de *T. crinita* han sido modeladas diferencialmente en cada subcontinente, posiblemente como resultado de respuestas adaptativas y de base genética a distintas condiciones ambientales e historias biogeográficas. Las especies de regiones áridas y semiáridas con distribución disyunta anfitropical se encuentran en general desplazadas en Sudamérica hacia áreas relativamente más frías que en Norteamérica, posiblemente como resultado de la competencia que ejercen en Sudamérica las comunidades dominadas por árboles que cubren el 60% del territorio (mientras que en Norteamérica sólo cubren el 15%; Capítulo 2, Quiroga et al. 2021). Además, dentro de cada subcontinente, una permanencia más prolongada en Sudamérica (Figura 4.5), posiblemente habría dado lugar a una más alta divergencia adaptativa que en Norteamérica (Capítulo 3).

Entre los escenarios seleccionados por el análisis de inferencia bayesiana (DIYABC), el Escenario 4 de dispersión (para *rpl32-trnL*) señala que las poblaciones de Norteamérica se separaron a partir de las de Sudamérica hace ca. 3300 generaciones, mientras que los Escenarios 1 (*ITS1-5.8S-ITS2*) y 6 (microsatélites) señalan que las poblaciones disyuntas actuales divergieron por vicarianza de una población ancestral entre ca. 2200 y ca. 500 generaciones atrás, respectivamente (Figura 4.4). Trabajos previos sobre otros géneros y especies de plantas disyuntas anfitropicales americanas coincidieron en señalar que dichas

disyunciones se habrían originado en los últimos 8 millones de años (i.e. desde el Mioceno Tardío, y con mayor frecuencia en el Cuaternario), a través de eventos de dispersión a larga distancia de un subcontinente a otro; esto incluyó casos donde el subcontinente de origen habría sido Sudamérica y casos donde habría sido Norteamérica (Raven 1963, Peterson y Columbus 1997, Peterson y Morrone 1997, Wen y Ickert-Bond 2009, Amarilla et al. 2015). Aquí se encontró sustento parcial tanto a favor de la dispersión de Sudamérica a Norteamérica (Escenario 4), como de un proceso de vicarianza (Escenarios 1 y 6); por lo tanto, nuestros resultados respecto al modo y origen de la divergencia de *T. crinita* no son concluyentes. Sí encontramos cierta consistencia en el momento de la divergencia entre poblaciones de Sudamérica y Norteamérica, pero para convertir los tiempos estimados de número de generaciones a años, es necesario conocer el tiempo generacional promedio de la especie. Si bien no hay trabajos que hayan determinado directamente el tiempo promedio entre generaciones en *T. crinita*, a los fines de este capítulo se estimó un valor promedio de 6 años en base a dos líneas de razonamiento. En la primera consideramos: i) una observación personal del tiempo de sobrevivencia de plantas de *T. crinita* en jardín común (~15 años); ii) datos publicados sobre el tiempo que sobreviven otras gramíneas en ambientes áridos y semiáridos (~14 años, Canfield 1957; ~7 años, West et al. 1979); iii) estimación en base a (i y ii) de un tiempo promedio de supervivencia de 12 años  $[(15+14+7)/3]$ ; iv) sabiendo que las gramíneas en general pueden dejar descendencia del primer hasta el último año de vida, entonces se puede estimar el tiempo promedio entre generaciones siguiendo la fórmula de Charlesworth (1994) que divide la edad reproductiva promedio (6 años) por la cantidad de descendencia promedio (~1, asumiendo poblaciones relativamente estables). Por su parte, en la segunda línea de razonamiento consideramos que en general el reclutamiento de individuos en regiones áridas y semiáridas ocurre en

años lluviosos (Holmgren y Scheffer 2001). Entonces se calculó, a partir de trabajos publicados para regiones áridas y semiáridas, la frecuencia de: años lluviosos y años con condiciones ‘El Niño’ (asociado a mayores precipitaciones en regiones habitadas por *T. crinita* en Sudamérica y Norteamérica, Holmgren et al 2001), encontrándose una recurrencia promedio de un año favorable para el reclutamiento de cada 6 (Gray 1984, Quiroga et al. 2009c, Woodhouse et al. 2010, Machado et al. 2011). Así, estas estimaciones sugieren que el tiempo de divergencia entre poblaciones de Sudamérica y Norteamérica habría ocurrido hace entre ca. 3000 (Escenario 6) y ca. 20000 años (Escenario 4), es decir entre el Último Máximo Glacial y el Holoceno Tardío. La estimación de una divergencia reciente en tiempos geológicos-evolutivos, es consistente tanto con la relativamente baja diferenciación encontrada entre Sudamérica y Norteamérica en cuanto a los marcadores moleculares evaluados (Cuadro 4.3), como con el modelado de los hábitats adecuados para especie en el pasado (Figura 4.5). Las oscilaciones climáticas desde el Plioceno (últimos ~5 millones de años) en Norteamérica y Sudamérica representaron importantes fuerzas de cambio para la distribución de géneros, especies y poblaciones en ambos subcontinentes; de hecho, Amarilla et al. (2015) demostraron que el género actualmente disyunto *Munroa* (Poaceae) que presenta diferentes especies en regiones áridas y semiáridas de ambos subcontinentes, atravesó cambios distribucionales y de especiación durante el mismo lapso. En ese sentido, que aquí se haya inferido una divergencia reciente entre poblaciones de *T. crinita* de Sudamérica y Norteamérica, no quita la posibilidad de que en ciclos climáticos anteriores (i.e. glaciaciones e interglaciaciones) no puedan haber ocurrido otros eventos de separación y conjunción, por ejemplo por dispersión a distancia o desplazamientos latitudinales y altitudinales de las poblaciones en ambos subcontinentes (Jackson y Overpeck 2000, Hewitt 2011). La clasificación de los individuos de las distintas

poblaciones obtenida con el *software* STRUCTURE es consistente con esta posibilidad, ya que sugiere la existencia de 2 ó 4 grupos genéticos afines (Figura 4.3) y un considerable grado de mezcla (*admixture*), i.e. cada grupo posee representantes de ambos subcontinentes. Los resultados son consistentes con que *T. crinita* posee un acervo genético común con baja divergencia entre subcontinentes ya que el tiempo transcurrido desde la disyunción habría posibilitado solamente la acumulación de un número reducido de mutaciones con diferentes alelos privados en cada subcontinente (Cuadro 4.2).

Dentro de cada subcontinente, el resultado de una amplia diferenciación entre poblaciones es consistente con lo esperado para la especie según su modo de reproducción (autogamia), su amplia distribución (Loveless y Hamrick 1984), forma de vida herbácea, y área climática de distribución subtropical (Gamba y Muchhala 2020). Sin embargo, la disyunción geográfica que presenta la especie no es acompañada por una diferenciación genética de magnitud semejante entre subcontinentes. En este sentido, Loveless y Hamrick (1984) encontraron que el rango geográfico de las especies es en general un predictor pobre de la estructura genética, y que en conjunto otros factores de la ecología de las especies -como los recién mencionados- pueden interactuar de forma compleja moldeando los patrones genéticos. Sumado a ello, estos autores también señalaron que los procesos históricos de las especies jugarían un rol muy importante. Consistentemente, el resultado de una divergencia demasiado reciente entre poblaciones de *T. crinita* de Sudamérica y Norteamérica podría pensarse como una de las principales causas de la escasa estructuración genética entre subcontinentes.

No se detectaron cuellos de botella genéticos en las poblaciones de Sudamérica y Norteamérica luego de su divergencia, según los análisis de inferencia bayesiana (Figura 4.4). Por su parte, el test de neutralidad reflejó valores no significativamente distintos de 0 del  $D$  de Tajima, reflejando cierta estabilidad de los tamaños poblacionales en tiempos recientes, aunque se observó una tendencia a valores negativos para Sudamérica (indicador de expansión) (Cuadro 4.6). Consistente con esta tendencia, observaciones realizadas *in situ* sobre las poblaciones al momento de la colecta de semilla para esta tesis evidenciaron diferencias entre las poblaciones de ambos subcontinentes, dado que en general las poblaciones de Norteamérica mostraban menor tamaño, eran menos frecuentes y estaban más aisladas que las de Sudamérica. Estas características de las poblaciones de Norteamérica se ven reflejadas también en el ajuste significativo al modelo de aislamiento por distancia analizado mediante el test de Mantel en base a microsatélites (Figura 4.1) que indicaría un menor flujo génico a medida que las poblaciones se encuentran más distantes.

El coeficiente de endogamia estimado mediante microsatélites presentó valores negativos (i.e. exceso de heterocigosis) en casi todos los casos evaluados: 10 de 11 poblaciones de Sudamérica, y 6 de 7 de Norteamérica (Cuadro 4.2). Una causa posible de estos valores podría ser la ocurrencia de cuellos de botella evolutivos, que reducen el número medio de alelos por locus, y se produce principalmente porque la deriva genética aleatoria elimina muchos alelos de baja frecuencia, haciendo que la diversidad alélica (asociada a la heterocigosis esperada) se reduzca más rápido que la heterocigosis observada. Por su parte, los resultados obtenidos en el test de neutralidad sobre las secuencias de ADN no fueron del todo consistentes con esta explicación, ya que las poblaciones de Sudamérica mostraron una leve señal de expansión poblacional; sin embargo, para hacer un análisis más robusto

quizás haría falta evaluar otras secuencias para un mayor número de marcadores y de muestras. Por otro lado, la elevada heterocigosis observada podría deberse a los efectos de la selección natural. Si bien los microsatélites son marcadores neutrales, la acción de la selección sobre loci cercanos en los cromosomas podría resultar en un ‘barrido’ selectivo, aumentando la frecuencia de ciertos genotipos (Nielsen et al. 2006). Otra explicación podría basarse en lo descrito por Loveless y Hamrick (1984), quienes señalaron que las especies autóгамas (como *T. crinita*) en general presentan una reducida heterocigosis observada y baja diversidad intra-familiar, pero que la diversidad entre familias dentro de una población es en general alta. Por ende, es probable que cuando se realizó la colecta de las poblaciones de *T. crinita* en los distintos sitios de origen, se hayan muestreado plantas correspondientes a distintas familias (i.e. plantas hijas de distintas madres), lo que también podría explicar la relativamente elevada heterocigosis observada y coeficientes de endogamia negativos.

El modelado de los hábitats adecuados para la especie en el pasado mostró que, a diferencia de Sudamérica, Norteamérica no tenía (MAXENT) o tenía pocos (BIOCLIM) ambientes con condiciones climáticas similares a las que actualmente habita la especie en cada subcontinente (Figura 4.5). Diversos autores mostraron que el descenso de temperatura en el Último Máximo Glacial fue más significativo en Norteamérica que en Sudamérica (Otto-Bliesner et al. 2006, Schneider von Deimling et al. 2006, Ehlers y Gibbard 2007). Ello podría llegar a explicar una disyunción relativamente reciente -i.e. posterior al Último Máximo Glacial- tal como lo sugieren nuestros análisis de inferencia bayesiana (Figura 4.4). En este sentido, los datos de las variables climáticas usadas en el modelado mostraron que los sitios que actualmente tienen presencia de *T. crinita* en Norteamérica eran en

promedio 6°C y 1°C más fríos (temperatura media anual) durante el Último Máximo Glacial y Holoceno Medio que en el presente; mientras que en Sudamérica eran respectivamente sólo 3°C y 0.5°C más fríos que en la actualidad. Por su parte, las precipitaciones en cada subcontinente no tuvieron gran variación durante estos periodos, aunque se mantuvieron en niveles más restrictivos para la especie en Norteamérica que en Sudamérica (Cuadro 7.8, Apéndice). Se sabe que algunas especies adaptadas a ambientes áridos y semiáridos cálidos de Norteamérica migraron latitudinalmente durante esos lapsos fríos, mientras que otras, favorecidas por la orografía de la región, pudieron persistir en ‘refugios’ con condiciones ambientales favorables (Brown y Makings 2014, Sánchez-del Pino 2020). Dicho contexto es consistente con la modelada baja disponibilidad de ambientes propicios para *T. crinita* en Norteamérica en el pasado (Figura 4.5).

## **Capítulo 5**

### **Siembra de poblaciones de *Trichloris crinita* puras y en mezclas, en dos sitios del Chaco Árido con diferentes condiciones de precipitación**

#### **5.1. Introducción**

Las regiones áridas y semiáridas son altamente susceptibles a la degradación, que puede ser causada por diferentes factores de origen humano o natural (Reynolds et al. 2007). En algunos casos las comunidades vegetales degradadas pueden recuperarse si las condiciones que las llevaron a ese punto se revierten. Pero, en otros casos, la falta de plantas que produzcan propágulos y la ausencia de un banco de semillas en el suelo pueden determinar un muy bajo potencial de autorregeneración (Stampfli y Zeiter 1999; Seabloom y van der Valk 2003, Young et al. 2005, Evans et al. 2022). La limitación en la disponibilidad de semillas es un fenómeno frecuente en comunidades vegetales (Turnbull et al. 2000). La siembra de propágulos de las especies deseadas puede revertir esa limitante y ser una manera de acelerar la recuperación de la vegetación (Palmer et al. 1997, Young et al. 2005). Es la estrategia de restauración ecológica más ampliamente usada (Merritt y Dixon 2011), quizás debido a que es una acción directa para recomponer comunidades que es posible de realizar en áreas relativamente extensas (Kildisheva et al. 2016). Sin embargo, aunque difundida, la siembra para restauración es en general una práctica costosa y propensa a fallar (Epanchin-Niell et al. 2009), en especial en regiones áridas y semiáridas que presentan precipitaciones bajas y muy variables (James et al. 2011, Larson et al. 2015). Por

ende, es necesario investigar estrategias de restauración que reduzcan el riesgo de fallas en la implantación de las especies deseables.

La restauración ecológica se define como el proceso de “ayudar al restablecimiento de un ecosistema que fue degradado, dañado o destruido para favorecer su recuperación, integridad y sustentabilidad” (Gann et al. 2019). En nuestro país, en los últimos años se viene prestando cada vez más atención a este tema, e incluso se ha conformado la Red de Restauración Ecológica de la Argentina (REA), una iniciativa que amalgama a investigadores y aplicadores de prácticas de restauración ecológica (Zuleta et al. 2015, Pérez et al. 2018). Sin embargo, comparativamente con otras regiones del mundo, la información disponible sobre trabajos de restauración ecológica en Sudamérica es aun relativamente escasa (Shackelford et al. 2021).

Un aspecto relevante para la restauración ecológica es la fuente del material vegetal a utilizar (Nevill et al. 2018). En sus principios, los esfuerzos de revegetación se realizaban sin demasiado cuidado de qué especies o poblaciones se usaba, lo que en ocasiones llevó a que se introdujeran especies que luego resultaban invasoras, o nocivas para el ambiente de otros modos (Smith 2010). Con el tiempo, se reconoció la importancia de utilizar especies nativas y, más tarde, de restaurar usando poblaciones locales de esas especies (Jones 2003, McKay et al. 2005, Smith 2010). Actualmente, además se debate si el sólo uso de poblaciones locales es suficiente para restaurar ambientes que han sido profundamente modificados por el uso antrópico, donde las mismas poblaciones locales pueden estar restringidas en su potencial evolutivo (Broadhurst et al. 2008, Jones y Monaco 2009, Breed et al. 2013, Kettenring et al. 2014). Asimismo, hay incertidumbre sobre si las variantes

genéticas locales están adaptadas a largo plazo según los escenarios previstos de cambio climático (Breed et al. 2013, Marinoni et al. 2021). Más recientemente, se han propuesto distintas estrategias de uso de materiales genéticos para su uso en trabajos de restauración; por ejemplo, mezclas para enriquecer la variabilidad genética y el potencial adaptativo, o uso de materiales de ambientes actualmente más cálidos como previsión ante cambios climáticos esperados en el área a restaurar (Prober et al. 2015, Bucharova et al. 2019). Por otro lado, aún faltan estudios que conecten estas recientes recomendaciones del ámbito de la restauración y la ecología-genética de poblaciones, con los conocimientos obtenidos en las últimas décadas sobre el efecto de la biodiversidad sobre el funcionamiento de los ecosistemas (p.ej. estabilidad, productividad; Tilman y Downing 1994, Loreau y Hector 2001, Hooper et al. 2005, Tilman et al. 2014).

La recuperación de comunidades vegetales degradadas puede ser inhibida por diversos factores, ya sean abióticos (p.ej. sequía, salinidad de suelo) o bióticos (competencia de especies exóticas, ausencia de simbioses o especies facilitadoras, sobrepastoreo) (DiVittorio et al. 2007, James et al. 2013b). Además, debe tenerse en cuenta que los requerimientos ambientales son mucho más restrictivos durante las fases de germinación, emergencia y establecimiento –i.e. nicho de regeneración más estrecho- que para plantas adultas (Call y Roundy 1991, Peters 2000, Hardegree et al. 2003, James et al. 2011). Se ha señalado que distintos tipos de estrés (aridez, salinidad o baja disponibilidad de nutrientes en suelo) seleccionan adaptaciones en común para las plantas (Chapin 1980). Por su parte, se sabe que la aridez y el pastoreo constituyen presiones de selección que convergen en determinar simultáneamente tanto mayor resistencia a sequía como al pastoreo (Coughenour 1985, Milchunas et al. 1988). Las adaptaciones señaladas incluyen la

resistencia física y química ('defensas'), asignación de recursos a reservas, baja altura de planta y alta relación raíz:vástago, etc. (Coughenour 1985, Milchunas et al. 1988, Chapin et al. 1993). Una experiencia previa en la especie motivo de esta tesis, en la que se sometieron plantas adultas a tratamientos de defoliación y sequía, encontró evidencia a favor de la convergencia adaptativa a causa de la aridez y pastoreo (Quiroga 2009b, Quiroga et al., 2010). Sin embargo, no se encontraron trabajos que hayan evaluado la existencia de adaptaciones convergentes en los primeros estadios de las plantas (i.e. semilla, plántula, juvenil). Dado que las fuerzas selectivas actúan 'favoreciendo' los genotipos que muestran el mayor ajuste ecológico (Lewontin 1970, Endler 1986), es de esperar que las plantas nativas hayan desarrollado para los ambientes que habitan estrategias adaptativas, que les resulten útiles en los distintos estadios de vida. Pero, ¿son las adaptaciones que evolucionaron en sistemas naturales adecuadas para sobrevivir en ambientes modificados por el hombre o en ambientes que cambian su clima a ritmos sin precedentes? (Chapin et al. 1993). Una manera de responder esta pregunta es investigar la variabilidad de adaptaciones y respuestas que presentan las especies, y las poblaciones dentro de las especies, considerando que éstas han atravesado procesos de selección natural diferencial en sitios con condiciones ambientales contrastantes (Endler 1986).

En la región del Chaco Árido, ubicada en el noroeste de la Argentina, la ganadería de cría bovina y caprina es la actividad agropecuaria más difundida, e involucra a unos diez mil productores (Diez et al. 1991; Blanco et al. 2005). La dieta del ganado se basa casi exclusivamente en los recursos forrajeros de la vegetación nativa (Anderson et al. 1980). Actualmente, la productividad forrajera de estos ambientes se encuentra por debajo de su potencial debido al deterioro de la vegetación a causa del sobrepastoreo (Biurrun 1988),

que afecta en especial a las gramíneas nativas (Anderson et al. 1980). A pesar de la relevancia productiva y ecológica del problema, y de que existen experiencias de restauración con plantas nativas (por ejemplo: Passera et al. 1992, Quiroga et al. 2009a, Pérez et al. 2018), faltan estudios que evalúen los resultados e implicancias que puede tener usar distintas fuentes de semilla o poblaciones de una especie.

Se plantea como objetivo (objetivo específico 4) investigar la capacidad de establecimiento a campo, en sitios con diferente precipitación, de 11 poblaciones de *T. crinita* del centro-norte de Argentina, originarias de ambientes contrastantes (diferente aridez, salinidad de suelo y presión de pastoreo), tanto sembradas de manera individual como en mezclas. La hipótesis (hipótesis 4) es que las condiciones de estrés de los sitios de origen de las poblaciones dieron lugar a adaptaciones que favorecen el establecimiento de las plantas ante condiciones de sequía. Las predicciones asociadas son: (4.a) A mayor nivel de estrés ambiental en los sitios de origen de las poblaciones (aridez, salinidad, presión de pastoreo), menos afectado es su establecimiento por la escasez de agua. (4.b) La siembra de mezclas de poblaciones presenta mayor estabilidad en el establecimiento de la especie, en comparación con la siembra de poblaciones puras.

## **5.2. Materiales y métodos**

Las poblaciones de 11 procedencias del centro-norte de Argentina, originarias de sitios con diferente precipitación anual, salinidad de suelo y presión de pastoreo (Cuadro 5.1; las mismas que se evaluaron en Capítulo 3), se implantaron en dos sitios que presentaron diferente precipitación el año de su siembra (202 mm en Catamarca, temporada 2012-2013;

561 mm en La Rioja, 2013-2014; Figura 5.1), lo que se aprovechó para investigar la respuesta a la sequía durante el establecimiento. La siembra se hizo en sitios previamente desmontados y rastrados, sin plantas de *T. crinita* preexistentes. En cada sitio se evaluaron en total 16 tratamientos de siembra, dispuestos en 3 bloques completos aleatorizados (tamaño de parcelas: 1 m<sup>2</sup> en Catamarca, 0.75 m<sup>2</sup> en La Rioja). Los tratamientos consistieron en la siembra de las 11 poblaciones de *T. crinita* ‘puras’, siembra de 3 tipos de ‘mezclas’ (mezcla de las 11 poblaciones, mezcla de las 6 poblaciones más diferentes morfológicamente y genéticamente, y mezcla de las 5 poblaciones menos diferentes morfológicamente y genéticamente) (Cuadro 5.2). Los dos tratamientos restantes correspondieron al ‘testigo’ sin siembra (para estimar la posible emergencia de plántulas a partir del banco de semillas del suelo o por volado de semilla de parcelas vecinas) y la siembra de una pastura perenne exótica de conocida alta capacidad de establecimiento en la región (*Cenchrus ciliaris* cv. Texas 4464). En todos los tratamientos, la densidad de siembra fue de 500 semillas por m<sup>2</sup>, salvo en el testigo en el que no se sembró nada. Las semillas de *T. crinita* empleadas se cosecharon un año antes de cada siembra en respectivos jardines comunes en Catamarca y La Rioja donde las poblaciones se encontraban previamente implantadas (Quiroga et al. 2015). Se midió el peso (sólo en la semilla de Catamarca) y poder germinativo (para ambos sitios) de la semilla de *T. crinita* empleada en las siembras (Figura 7.7, Apéndice). La semilla de *C. ciliaris* fue obtenida de un lote semillero existente en INTA EEA La Rioja (Namur P. R., comunicación personal). Luego de la aplicación de los tratamientos de siembra, se midió la densidad de plantas y cobertura aérea en cuatro fechas: a 20 días de la siembra (fecha 1), fin del primer ciclo de crecimiento (fecha 2), e inicio y fin del segundo ciclo de crecimiento (fechas 3 y 4, respectivamente).

Cuadro 5.1. Procedencia (coordinadas, Provincia) y denominación de las 11 poblaciones argentinas de *T. crinita*. Para cada una se muestran los valores de índice de aridez (=PMA/[TMA+10], según De Martonne 1926, menores valores representan mayor aridez, los valores entre 10 – 20 corresponden a climas semiáridos) y características de presión de pastoreo y salinidad de suelo de sus sitios de origen.

Población	Latitud	Longitud	Provincia	Índice de aridez	Presión de Pastoreo	Suelo salino
Chamical *	-30.51	-66.14	La Rioja	14.5	-.**	-
Colpes	-28.06	-66.22	Catamarca	12.9	-	No
El Tipán	-28.99	-65.76	Catamarca	12.7	-	No
HC	-29.96	-63.48	Córdoba	18.4	Alta	-
HL	-29.89	-64.46	Córdoba	18.5	Baja	-
Recreo	-29.31	-65.14	Catamarca	14.5	-	No
Recreo Salinas	-29.52	-64.97	Catamarca	15.1	-	Si
San Martín	-29.21	-65.77	Catamarca	14.9	-	Si
Salinas Grandes	-30.60	-65.60	Catamarca	12.6	-	Si
SC	-31.40	-66.77	La Rioja	12.6	Alta	-
SL	-31.52	-66.81	La Rioja	12.1	Baja	-

\* La población ‘Chamical’ se registró en como cultivar (cv. Chamical-INTA) en el Instituto Nacional de Semillas (INASE). \*\*El guión (-) indica característica no cuantificada/desconocida para el sitio de colección (origen).

Los datos se sometieron a análisis de modelos mixtos con medidas repetidas en el tiempo, evaluando el efecto de los distintos tratamientos, sitios de siembra, el tiempo y las correspondientes interacciones (programa estadístico SAS, SAS Institute 1995;  $\alpha=0.05$ ). La significancia de la interacción ‘tratamiento x sitio de siembra’ se tomó como indicio de la respuesta diferencial de los tratamientos (poblaciones de *T. crinita* puras, o en mezclas, *C. ciliaris*) a la sequía durante el establecimiento (Catamarca = año de siembra seco, La Rioja = año de siembra lluvioso; Figura 5.1). El efecto sobre la capacidad de establecimiento de las condiciones de salinidad de suelo y presión de pastoreo de los sitios de origen de las poblaciones se evaluó mediante comparaciones de medias (DMS de Fisher;  $\alpha=0.05$ ). Para el análisis de modelos mixtos los datos fueron transformados mediante  $\ln(x+1)$  para mejorar su distribución normal; sin embargo, en los resultados se presentan los datos sin

transformar para facilitar su interpretación. Para cada sitio y fecha de siembra se estimó la estabilidad de los tratamientos de siembra de las poblaciones puras de *T. crinita* y la estabilidad de las mezclas de poblaciones, tanto con los valores de densidad de plantas como de cobertura aérea. La estabilidad se calculó como el cociente entre el promedio y el desvío estándar (Lehman y Tilman 2000, Isbell et al. 2009) de ambos tipos de tratamientos (11 poblaciones puras vs. 3 mezclas de poblaciones). Con el objetivo de tener un parámetro para la comparación probabilística del índice de estabilidad obtenido de los 3 tratamientos de mezcla, se determinó la distribución del índice de estabilidad para los tratamientos de siembra de poblaciones puras calculando todas las combinaciones posibles de poblaciones de a 3 sin repetición (990 combinaciones). Se consideró que la mezcla de poblaciones tuvo un efecto ‘estabilizador’ o bien ‘desestabilizador’ del resultado de la siembra, cuando el índice de estabilidad fue mayor o menor que los percentiles del 90% - 10% (respectivamente) de la distribución obtenida para las poblaciones puras. Además, para cada tratamiento y fecha de muestreo se calculó entre sitios de siembra (considerando tanto la densidad de plantas como la cobertura aérea) un índice de adaptación a la sequía (i.e. ‘establecimiento en Catamarca con bajas precipitaciones en año de siembra’ / ‘establecimiento en La Rioja con altas precipitaciones el año de siembra’), y se comparó los valores de adaptación a sequía de los tratamientos de siembra de poblaciones puras con las mezclas mediante la prueba t. Finalmente, se evaluó la relación entre las variables medidas en los ensayos, el índice de adaptación a sequía, y las condiciones ambientales (variables bioclimáticas relevantes tomadas de [www.worldclim.org](http://www.worldclim.org)) de los sitios de origen de las poblaciones mediante análisis de correlación (programa INFOSTAT).

Cuadro 5.2. Distancias morfológicas y genéticas entre pares de poblaciones que compusieron las tres mezclas evaluadas en las siembras de este Capítulo. Los valores representan el promedio de todas las distancias entre pares de poblaciones en cada mezcla. La distancia Euclídea entre poblaciones se obtuvo mediante análisis de componentes principales usando cuatro variables morfológicas medidas en jardín común con poblaciones en 2011 (Quiroga 2011). Los valores de  $F_{st}$  (una medida de distancia genética) entre pares de poblaciones se obtuvieron del análisis de tres microsatélites, descrito en Capítulo 4.

Mezcla	Poblaciones incluidas	Distancia Euclídea promedio en caracteres morfológicos	Fst promedio según microsatélites
Todas las poblaciones (MT)	<u>11 poblaciones:</u> Chamical, Colpes, El Tipán, HC, HL, Recreo, Recreo Salinas, Salinas Grandes, San Martín, SC, SL	2.6 ab*	0.42 ab
Poblaciones más diferentes morfológica y genéticamente (MD)	<u>6 poblaciones:</u> Colpes, HL, Recreo, Salinas Grandes, San Martín, SC	3.1 a	0.62 a
Poblaciones más similares morfológica y genéticamente (MR)	<u>5 poblaciones:</u> Chamical, El Tipán, HC, Recreo Salinas, SL	2.2 b	0.30 b

\*Letras distintas en la columna indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) obtenidas mediante Prueba T entre las medias tomas de a pares.

### 5.3. Resultados

Todos los factores evaluados en los análisis de modelos mixtos mostraron un efecto significativo ( $P < 0.05$ ) sobre las variables cobertura aérea y densidad de plantas de *T. crinita* y *C. ciliaris*, a excepción de la interacción ‘tratamiento x fecha’ que tuvo un efecto marginalmente significativo ( $p < 0.10$ ) sobre la densidad de *T. crinita* (Cuadro 5.3).

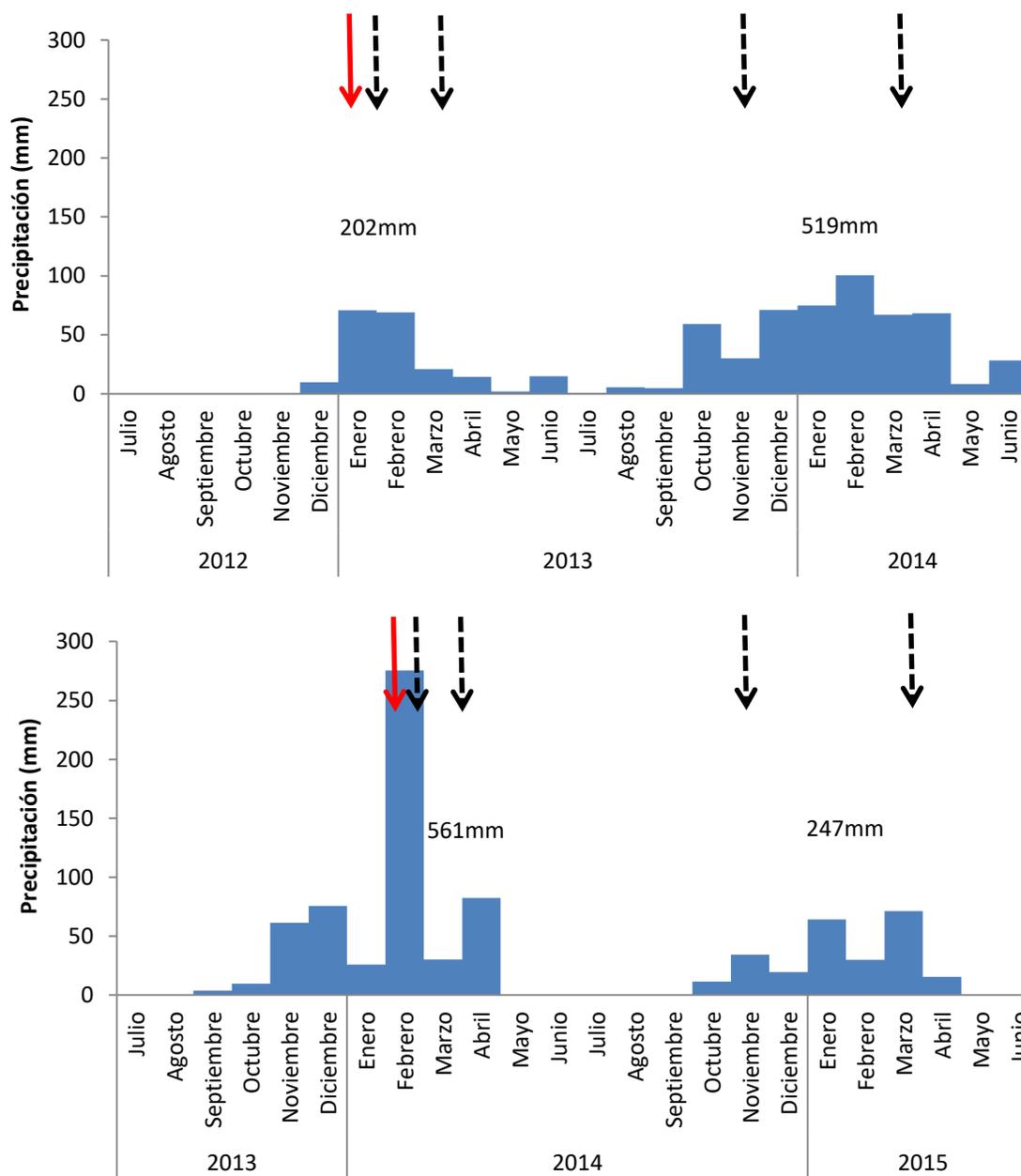


Figura 5.1. Precipitaciones durante los dos años de experimentación en Catamarca (arriba) y La Rioja (abajo). La flecha roja indica el momento de la siembra de cada ensayo, mientras que las flechas negras a trazos señalan los momentos en que se realizaron las mediciones de densidad y cobertura aérea en cada sitio (primera a cuarta medición). Para cada estación de crecimiento, se presenta en números el valor de precipitación acumulada.

Cuadro 5.3. Resultados del análisis de modelos mixtos; se presentan los valores de  $F$  y  $P$  (probabilidad) de los factores de efecto fijo. Los factores de efecto aleatorio no se muestran, pero en las cuatro variables analizadas el efecto bloque anidado en el sitio no fue significativo ( $P>0.05$ ), mientras que el efecto de la parcela anidada en el tratamiento si lo fue ( $P<0.05$ ).

Factor	ln(densidad+1) <i>T. crinita</i>		ln(cobertura+1) <i>T. crinita</i>		ln(densidad+1) <i>C. ciliaris</i>		ln(cobertura+1) <i>C. ciliaris</i>	
	$F$	$P$	$F$	$P$	$F$	$P$	$F$	$P$
Sitio	173.07	<.0001	77.35	0.0001	14.67	0.0087	29.49	0.0016
Tratamiento	15.25	<.0001	12.02	<.0001	45.75	<.0001	23.12	<.0001
Fecha	60.81	<.0001	338.58	<.0001	3.2	0.0237	78.02	<.0001
S x T	5.58	<.0001	3.4	0.0001	4.5	<.0001	3.42	0.0001
S x F	27.82	<.0001	25.7	<.0001	7.19	0.0001	73.07	<.0001
T x F	1.36	0.0716	3.5	<.0001	3.59	<.0001	2.61	<.0001
S x T x F	1.81	0.0022	2.57	<.0001	6.74	<.0001	2.27	<.0001

Coincidente con las mayores precipitaciones en el año de siembra en La Rioja, la cobertura aérea y densidad de *T. crinita* en este sitio fue entre 2 y 16 veces superior que en Catamarca a lo largo de las cuatro fechas de evaluación (Figuras 5.2 y 5.3). Esto no se modificó al invertirse los niveles de precipitación entre los sitios en el segundo año (Figura 5.1). Los resultados señalan que el sitio de Catamarca se comportó en este estudio como un ambiente mucho más restrictivo que el de La Rioja desde el punto de vista de la disponibilidad de agua para el establecimiento de plantas de *T. crinita*. En ambos sitios, la cobertura aérea tendió a incrementarse con el tiempo conforme los individuos establecidos se desarrollaban (Figura 5.2), mientras que la densidad de plantas siguió un patrón opuesto debido a la muerte de individuos (auto-raleo) (Figura 5.3).

En La Rioja, todas las parcelas sembradas con *T. crinita* presentaron una elevada implantación (i.e. poblaciones individuales y mezclas: cobertura aérea >50%, densidad de plantas >10 individuos/m<sup>2</sup> al final del segundo año), mientras que las parcelas no

sembradas con esta especie o sembradas con *C. ciliaris* presentaron significativamente menor establecimiento de *T. crinita*. No obstante, aún algunas parcelas no sembradas con *T. crinita* presentaron establecimiento de esta especie, posiblemente por la llegada de semilla desde parcelas vecinas (Figuras 5.2 y 5.3). Por el contrario, en Catamarca, 6 de las 11 poblaciones sembradas individualmente presentaron una muy baja implantación al cabo de los dos años del experimento (cobertura aérea < 10%). Las otras 5 poblaciones presentaron una relativamente buena implantación dadas las condiciones de sequía (40% a 75% de cobertura aérea, 3 a 5 individuos/m<sup>2</sup>). Las mezclas de poblaciones presentaron una cobertura entre 10 y 50%, y densidades de entre 1 y 5 individuos/m<sup>2</sup> al cabo de los dos años de evaluación. Las poblaciones y mezclas que presentaron mayor establecimiento en Catamarca evidenciaron por ende mejor adaptación a la sequía. Los valores promedio del índice de adaptación a sequía entre las siembras correspondientes a poblaciones puras y mezclas no difirieron significativamente en ninguna de las fechas de evaluación (Cuadro 5.5). En las parcelas en que no se sembró *T. crinita* prácticamente no hubo establecimiento de la especie (Figuras 5.2 y 5.3).

No se observó diferente respuesta a la sequía de poblaciones provenientes de sitios con diferentes condiciones de salinidad de suelo (Figura 5.4a y b), pero sí de sitios con distinta presión de pastoreo ya que poblaciones originarias de lugares cercanos a aguadas redujeron en menor medida la cantidad de plantas establecidas bajo sequía que poblaciones de sitios lejanos a la aguada (Figura 5.4d); aunque esa diferenciación, sin embargo, no se replicó de forma similar en la cobertura aérea (Figura 5.4c). Por su parte, la precipitación e índice de aridez de los sitios de origen de las poblaciones, no se relacionó con la adaptación a sequía de las mismas durante el establecimiento. En cambio, sí se encontró que la temperatura de

los sitios de origen de las poblaciones individuales se relacionó negativamente con la adaptación a sequía durante el establecimiento (Cuadro 5.6). Más aún, la temperatura de los sitios de origen se relacionó negativamente con el establecimiento en ambos sitios de siembra. El poder germinativo de la semilla usada para la siembra y la densidad y cobertura aérea alcanzadas por las distintas poblaciones individuales se relacionó positiva y significativamente entre sitios de siembra (Cuadro 5.6), lo que indica la influencia del *background* genético de las poblaciones sobre la capacidad germinativa y de establecimiento de la especie. El peso de las semillas de cada población, en cambio, no se relacionó con su poder germinativo, pero sí con una mayor adaptación a sequía cuando ésta se estimó en función de la densidad de plantas (Cuadro 5.6).

En ambos sitios de siembra, el promedio de cobertura aérea y densidad de plantas de los tratamientos sembrados con mezclas fue similar al de la siembra de poblaciones puras; sin embargo, la variabilidad que hubo entre estos últimos tratamientos fue mayor (Figuras 5.2 y 5.3, Cuadro 5.4). Ello determinó que, en La Rioja y especialmente en Catamarca, la estabilidad de las mezclas supere a la de las siembras puras en varias fechas del seguimiento realizado a lo largo del ensayo (Cuadro 5.4). Dentro de los tratamientos de mezcla, la siembra conjunta de poblaciones similares morfológica y genéticamente (MR) presentó más densidad y cobertura aérea que la mezcla de poblaciones diferentes (MD) en el sitio de siembra con condiciones climáticas más restrictivas (Catamarca), mientras que ambas mezclas presentaron un resultado similar en el sitio de relativamente menor restricción climática (La Rioja). Por su parte, la mezcla de todas las poblaciones (MT) presentó en ambos sitios resultados en general intermedios a los de las otras dos mezclas antes mencionadas (Figuras 5.2 y 5.3).

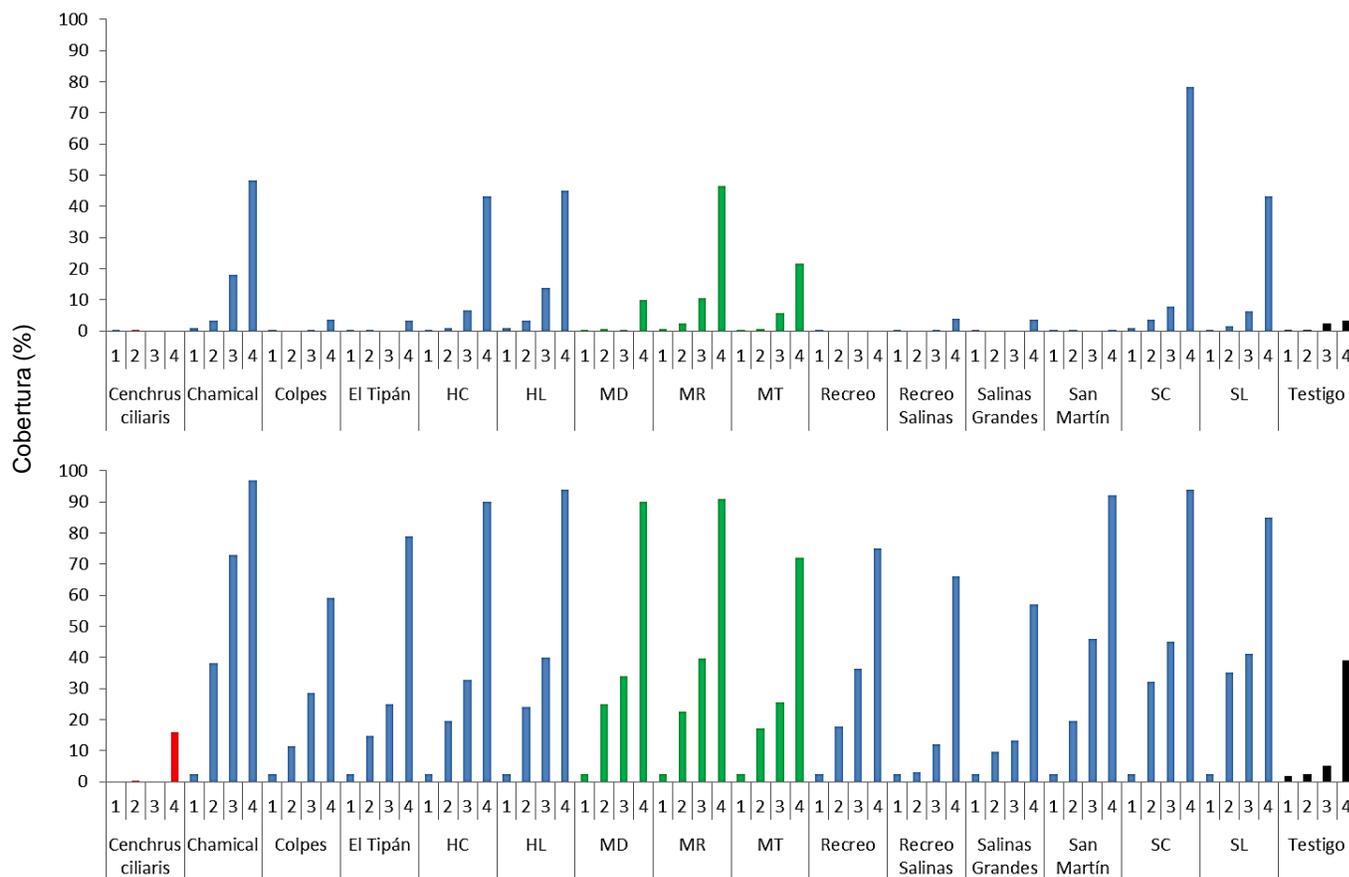


Figura 5.2. Promedios de cobertura aérea (%) de *Trichloris crinita* en los distintos tratamientos de siembra durante cuatro fechas de muestreo (1: a 30 días de la siembra; 2: fin de la primera estación de crecimiento; 3: inicio de la segunda estación de crecimiento; 4: fin de la segunda estación de crecimiento). Las figuras corresponden a los sitios de siembra: Catamarca (arriba), La Rioja (abajo). Las barras de las poblaciones ‘puras’ están en azul, las de las ‘mezclas’ en verde, las del testigo sin siembra en negro, y las de parcelas sembradas con *Cenchrus ciliaris* en rojo. Diferencia mínima significativa (DMS) = 15.

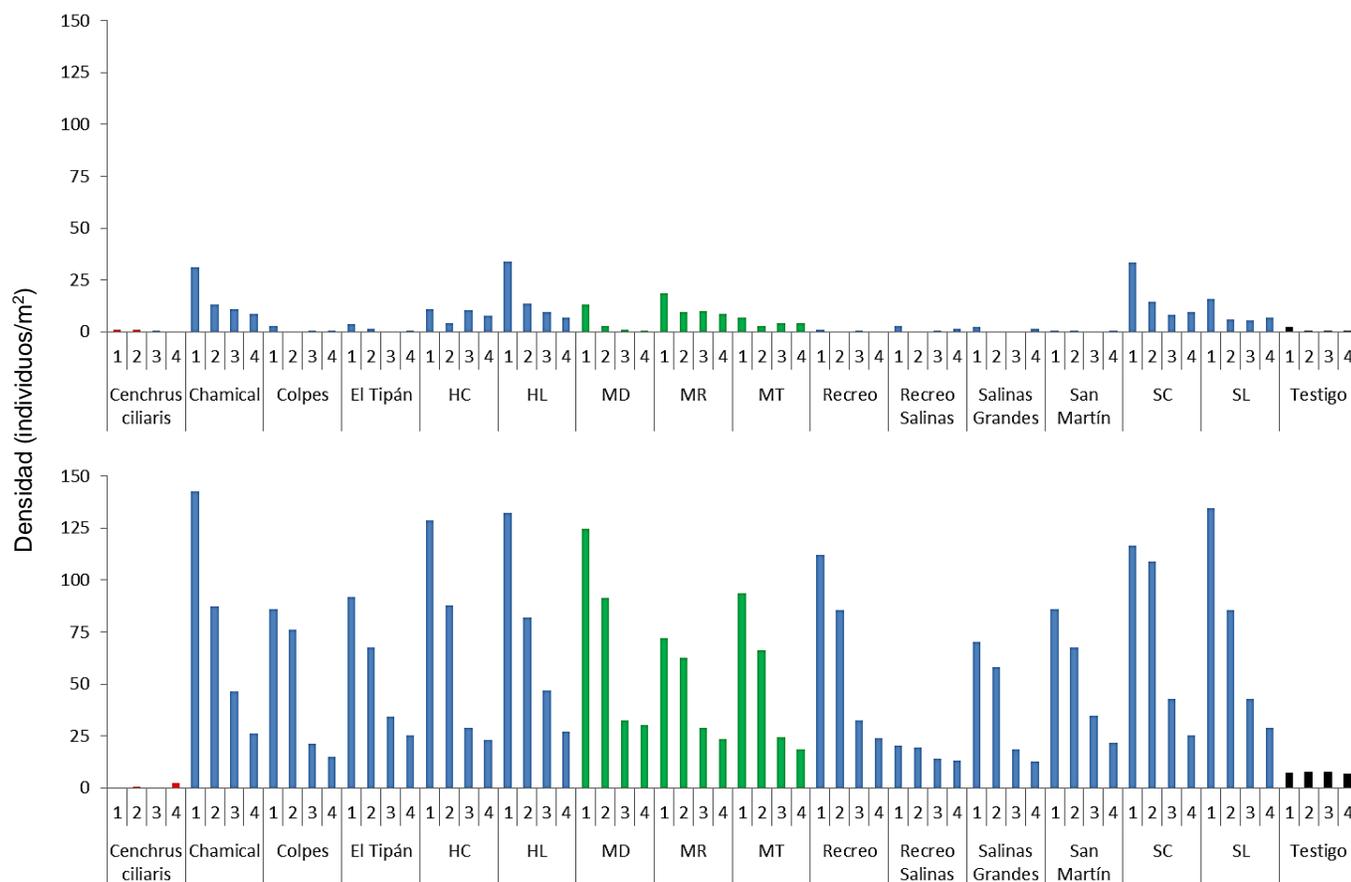


Figura 5.3. Promedios de densidad de *Trichloris crinita* (individuos/m<sup>2</sup>) en los distintos tratamientos de siembra durante cuatro fechas de muestreo (1: a 30 días de la siembra; 2: fin de la primera estación de crecimiento; 3: inicio de la segunda estación de crecimiento; 4: fin de la segunda estación de crecimiento). Las figuras corresponden a los sitios de siembra: Catamarca (arriba), La Rioja (abajo). Las barras de las poblaciones ‘puras’ están en azul, las de las ‘mezclas’ en verde, las del testigo sin siembra en negro, y las de parcelas sembradas con *Cenchrus ciliaris* en rojo. Diferencia mínima significativa (DMS) = 18.

No siempre la población ‘más local’ por proximidad geográfica o similitud ambiental fue la que presentó el mejor establecimiento en los sitios de siembra. La población ‘El Tipán’ originaria del sitio más cercano y similar ambientalmente al sitio de siembra Catamarca, no fue la que allí presentó mayor establecimiento, sino que por el contrario presentó una muy baja densidad de plantas y cobertura aérea. Por su parte, la población ‘Chemical’, originaria del sitio más cercano y similar ambientalmente al lugar de siembra La Rioja, sí presentó allí

un buen establecimiento. Sin embargo, dadas las condiciones de precipitación más favorables acontecidas en La Rioja, todas las poblaciones y mezclas de poblaciones de *T. crinita* presentaron una buena implantación (Figuras 5.2 y 5.3).

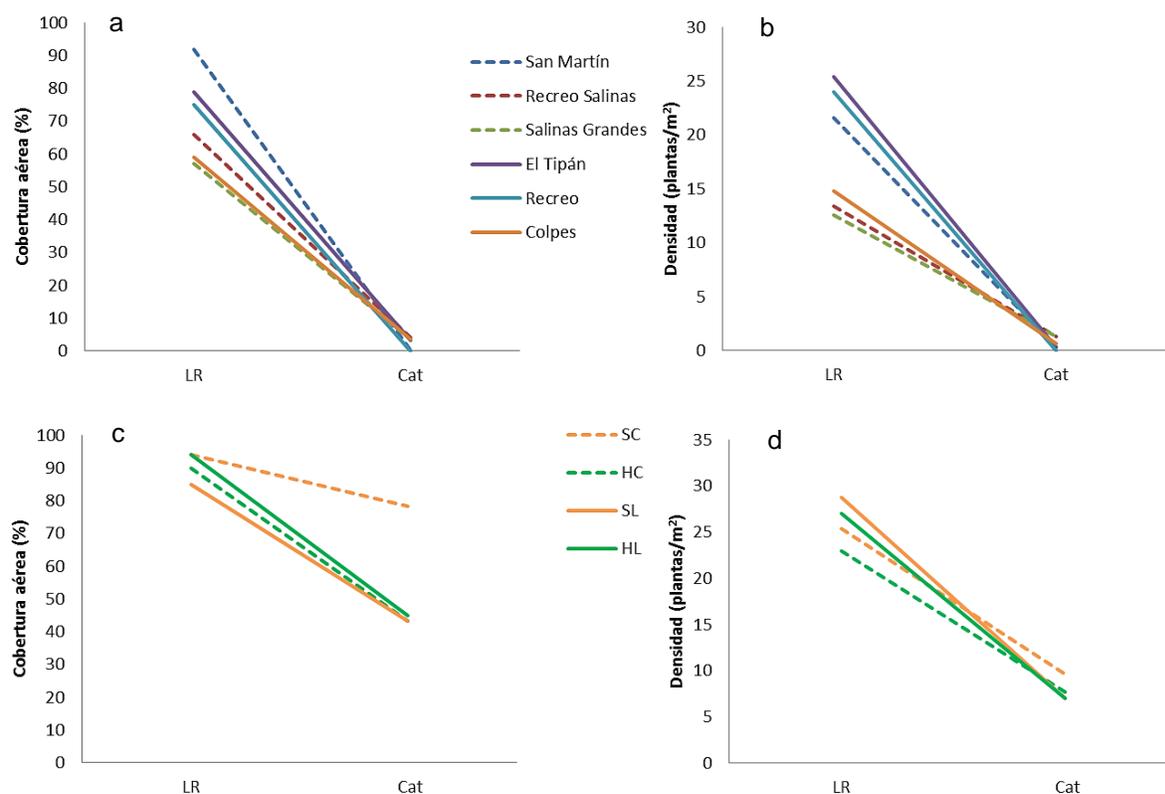


Figura 5.4. Establecimiento de *T. crinita* en La Rioja (LR) y Catamarca (Cat) al final del segundo año (fecha 4), de poblaciones provenientes de sitios con distinta salinidad de suelo (no salinos: línea continua; salinos: línea de trazos; paneles 'a' y 'b') y presión de pastoreo (baja presión: línea continua; alta presión: línea de trazos; paneles 'c' y 'd').

El establecimiento de *C. ciliaris* al cabo del segundo año de experimentación fue mayor en Catamarca (90% de cobertura aérea, aprox. 10 individuos/m<sup>2</sup>) que en la Rioja (35% de cobertura, <5 individuos/m<sup>2</sup>), a pesar que en el final del año de siembra presentaba mayor establecimiento en la Rioja (90% de cobertura y 95 individuos/m<sup>2</sup>, dadas las mayores precipitaciones acontecidas en este sitio) que en Catamarca (15% y 10 individuos/m<sup>2</sup>). A diferencia de lo ocurrido en *T. crinita*, en las parcelas sembradas con *C. ciliaris* la reversión

de las precipitaciones en el segundo año (Figura 5.1) invirtieron el patrón de establecimiento que se había producido durante el primer año. En Catamarca, algunas parcelas que se habían sembrado con *T. crinita* presentaron implantación de *C. ciliaris* (Figuras 5.5 y 5.6), cuya semilla pudo haber sido trasladada por el viento.

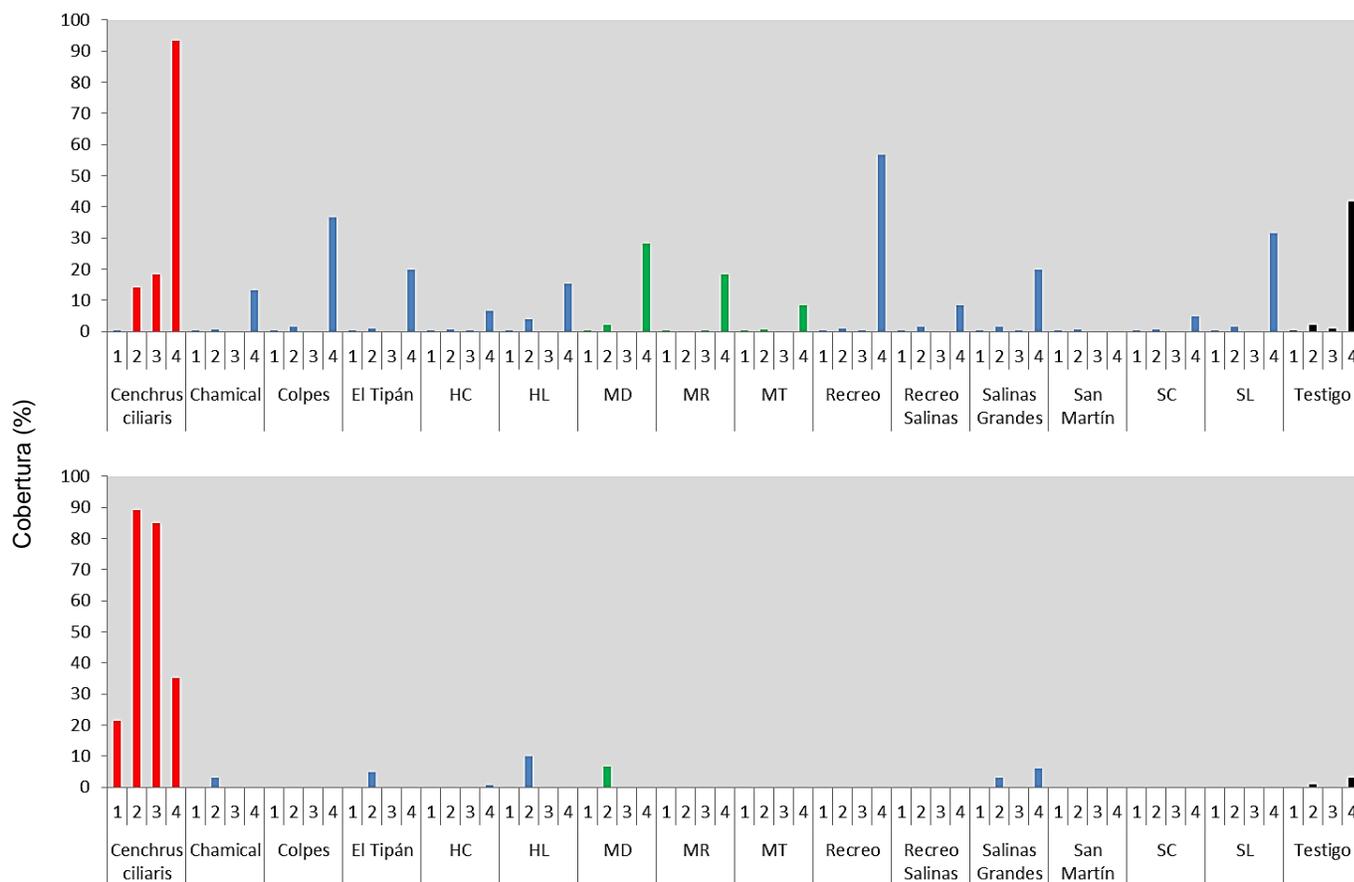


Figura 5.5. Promedios de cobertura aérea (%) de *Cenchrus ciliaris* en los distintos tratamientos de siembra durante cuatro fechas de muestreo (1: a 30 días de la siembra; 2: fin de la primera estación de crecimiento; 3: inicio de la segunda estación de crecimiento; 4: fin de la segunda estación de crecimiento). Las figuras corresponden a los sitios de siembra: Catamarca (arriba), La Rioja (abajo). Las barras de los tratamientos sembrados con poblaciones de *T. crinita* 'puras' están en azul, las de las 'mezclas' en verde, las del testigo sin siembra en negro, y las de parcelas sembradas con *Cenchrus ciliaris* en rojo. Diferencia mínima significativa (DMS) = 11.

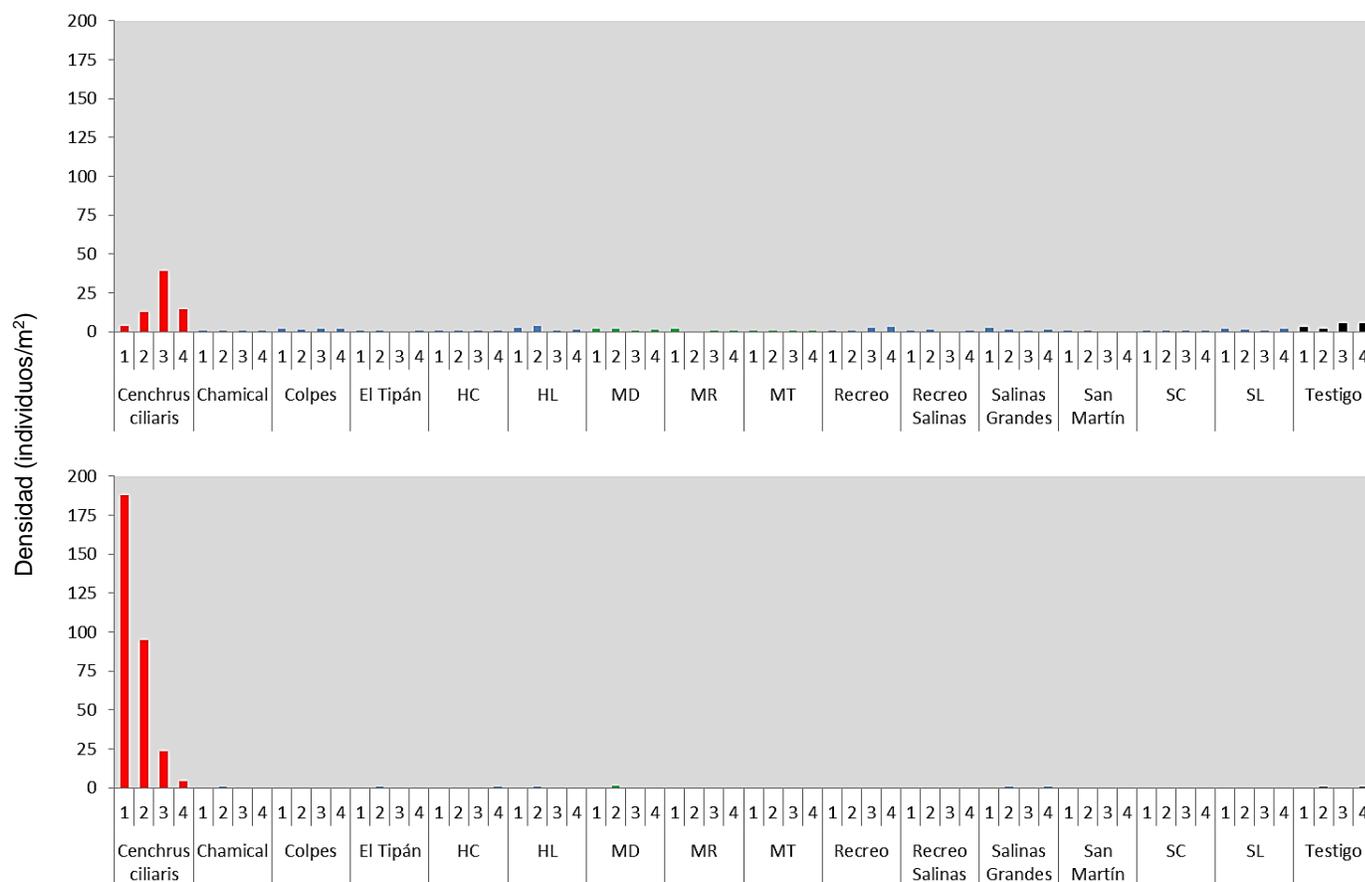


Figura 5.6. Promedios de densidad de plantas de *Cenchrus ciliaris* (individuos/m<sup>2</sup>) en los distintos tratamientos de siembra durante cuatro fechas de muestreo (1: a 30 días de la siembra; 2: fin de la primera estación de crecimiento; 3: inicio de la segunda estación de crecimiento; 4: fin de la segunda estación de crecimiento). Las figuras corresponden a los sitios de siembra: Catamarca (arriba), La Rioja (abajo). Las barras de los tratamientos sembrados con poblaciones de *T. crinita* 'puras' están en azul, las de las 'mezclas' en verde, las del testigo sin siembra en negro, y las de parcelas sembradas con *Cenchrus ciliaris* en rojo. Diferencia mínima significativa (DMS) = 18.

Cuadro 5.4. Estabilidad en cada sitio de siembra (media/DE; sin unidades) del conjunto de tratamientos de siembra de poblaciones de *T. crinita* ‘puras’ y en ‘mezclas’ en las cuatro fechas de medición. Para las poblaciones puras, se presenta entre paréntesis los percentiles 10% y 90%, con el objetivo de tener una medida de comparación probabilística con el índice de estabilidad obtenido para las mezclas. Dichos percentiles se obtuvieron de la distribución del índice de estabilidad de todas las combinaciones posibles (n=990) de poblaciones puras tomadas de a 3 sin repetición.

A) Catamarca		Promedio		Desvío estándar		Estabilidad	
Variable	Fecha	Puras	Mezclas	Puras	Mezclas	Puras	Mezclas
Cobertura	1	0.36	0.37	0.40	0.17	0.91 (0.68 - 1.84)	2.14
Cobertura	2	1.21	1.31	1.50	0.96	0.81 (0.58 - 1.20)	1.36
Cobertura	3	4.85	5.56	6.31	5.01	0.77 (0.58 - 1.17)	1.11
Cobertura	4	24.85	26.11	27.41	18.73	0.91 (0.64 - 1.33)	1.39
Densidad	1	12.58	12.89	13.78	6.01	0.91 (0.68 - 1.82)	2.14
Densidad	2	4.85	5.22	6.00	3.85	0.81 (0.58 - 1.20)	1.36
Densidad	3	4.18	5.00	4.71	4.58	0.89 (0.58 - 1.26)	1.09
Densidad	4	4.00	4.44	3.92	4.02	1.02 (0.66 - 1.53)	1.11
B) La Rioja		Promedio		Desvío estándar		Estabilidad	
Variable	Fecha	Puras	Mezclas	Puras	Mezclas	Puras	Mezclas
Cobertura	1	2.50	2.50	0.90	0.66	2.78 (1.44 - 10.24)	3.78
Cobertura	2	20.46	21.60	10.95	3.93	1.87 (1.23 - 4.02)	5.50
Cobertura	3	35.69	33.07	16.96	7.05	2.10 (1.42 - 5.98)	4.69
Cobertura	4	80.73	84.33	14.62	10.69	5.52 (3.89 - 15.83)	7.89
Densidad	1	102.01	96.76	35.96	26.45	2.84 (1.45 - 9.92)	3.66
Densidad	2	75.13	73.42	22.85	15.75	3.29 (1.66 - 13.10)	4.66
Densidad	3	32.99	28.62	11.44	4.00	2.88 (1.90 - 6.61)	7.15
Densidad	4	22.04	24.09	5.77	5.76	3.82 (2.59 - 15.33)	4.18

Cuadro 5.5. Comparación de los índices de ‘adaptación a sequía’ (promedio Catamarca / promedio La Rioja) entre las siembras de poblaciones puras (n=11) y las mezclas (n=3) mediante la prueba t. Los índices se calcularon con los valores promedio de cobertura (A) y densidad (B) de *Trichloris crinita* en los tratamientos sembrados con esta especie en los dos sitios de ensayo, no se consideraron en la prueba estadística los tratamientos Testigo y siembra de *Cenchrus ciliaris*.

A) Cobertura

Variable	Fecha	<i>T. crinita</i> ‘Puras’	<i>T. crinita</i> ‘Mezclas’	P-valor
Adaptación a sequía	1	0.15	0.15	0.9711
Adaptación a sequía	2	0.04	0.06	0.6021
Adaptación a sequía	3	0.11	0.17	0.4670
Adaptación a sequía	4	0.28	0.31	0.8600

B) Densidad

Variable	Fecha	<i>T. crinita</i> ‘Puras’	<i>T. crinita</i> ‘Mezclas’	P-valor
Adaptación a sequía	1	0.11	0.15	0.5992
Adaptación a sequía	2	0.05	0.08	0.5935
Adaptación a sequía	3	0.11	0.18	0.4141
Adaptación a sequía	4	0.17	0.20	0.7194

Cuadro 5.6. Análisis de correlación para las parcelas sembradas con poblaciones de *T. crinita* puras, considerando los valores de cobertura aérea (A) y densidad de plantas (B) de *T. crinita*. Los valores de p se muestran arriba de la diagonal ( $P < 0.05$  en negritas), mientras que los del coeficiente de correlación de Pearson se presentan debajo de la diagonal (significativamente positivos y negativos en azul o rojo, respectivamente). Detalle de las siglas usadas, al pie del cuadro.

A) Cobertura	Cat.2	LR.2	Cat.4	LR.4	Adap.Seq.2	Adap.Seq.4	X1	X5	X6	X12	IA	PMS.Cat	PG.Cat	PG.LR
Cat.2	1	<b>0.0043</b>	<b>0.0001</b>	<b>0.0091</b>	<b>0.0000</b>	<b>0.0002</b>	0.071	<b>0.0202</b>	0.8249	0.698	0.5211	0.3773	0.1063	0.1311
LR.2	<b>0.78</b>	1	<b>0.0047</b>	<b>0.0041</b>	<b>0.0246</b>	<b>0.0055</b>	0.0842	0.1526	0.9987	0.5124	0.6651	0.7281	<b>0.0368</b>	0.1691
Cat.4	<b>0.91</b>	0.78	1	<b>0.0177</b>	<b>0.0006</b>	<b>0.0000</b>	<b>0.0161</b>	<b>0.0106</b>	0.9849	0.8508	0.6271	0.1632	0.1063	0.0913
LR.4	<b>0.74</b>	<b>0.79</b>	<b>0.69</b>	1	<b>0.0095</b>	<b>0.0241</b>	0.4777	0.3344	0.7567	0.7518	0.6571	0.1606	<b>0.0147</b>	0.0767
Adap.Seq.2	<b>0.96</b>	<b>0.67</b>	<b>0.86</b>	<b>0.74</b>	1	<b>0.0010</b>	0.1009	<b>0.0163</b>	0.8381	0.3660	0.2403	0.2586	0.0989	0.1025
Adap.Seq.4	<b>0.89</b>	<b>0.77</b>	<b>1.00</b>	<b>0.67</b>	<b>0.85</b>	1	<b>0.0122</b>	<b>0.0100</b>	0.9459	0.8737	0.6435	0.1592	0.1125	0.0899
X1	-0.56	-0.54	<b>-0.70</b>	-0.24	-0.52	<b>-0.72</b>	1	<b>0.0065</b>	0.0514	0.4658	0.7424	0.9230	0.1201	<b>0.0351</b>
X5	<b>-0.68</b>	-0.46	<b>-0.73</b>	-0.32	<b>-0.70</b>	<b>-0.73</b>	<b>0.76</b>	1	0.7915	0.2514	0.1220	0.2548	0.3126	0.1373
X6	0.08	0.00	-0.01	0.11	0.07	-0.02	0.60	0.09	1	0.0682	0.1203	0.2574	0.1942	<b>0.0500</b>
X12	0.13	-0.22	0.06	0.11	0.30	0.05	0.25	-0.38	0.57	1	<b>0.0000</b>	0.0642	0.7883	0.8185
IA	0.22	-0.15	0.17	0.15	0.39	0.16	0.11	-0.49	0.50	<b>0.99</b>	1	0.0532	0.9546	0.9681
PMS.Cat	0.30	0.12	0.45	0.45	0.37	0.46	-0.03	-0.38	0.37	0.58	0.60	1	0.9272	0.5462
PG.Cat	0.51	<b>0.63</b>	0.51	<b>0.71</b>	0.52	0.51	-0.50	-0.34	-0.42	-0.09	-0.02	0.03	1	<b>0.0012</b>
PG.LR	0.48	0.45	0.53	0.55	0.52	0.54	<b>-0.64</b>	-0.48	<b>-0.60</b>	-0.08	0.01	0.20	<b>0.84</b>	1

B) Densidad	Cat.2	LR.2	Cat.4	LR.4	Adap.Seq.2	Adap.Seq.4	X1	X5	X6	X12	IA	PMS.Cat	PG.Cat	PG.LR
Cat.2	1	<b>0.0443</b>	<b>0.0002</b>	<b>0.0335</b>	<b>0.0000</b>	<b>0.0010</b>	0.0798	<b>0.0202</b>	0.8249	0.698	0.5153	0.3773	0.1063	0.1311
LR.2	<b>0.61</b>	1	<b>0.0433</b>	<b>0.0161</b>	0.0647	0.0850	<b>0.0384</b>	0.0782	0.5649	0.6752	0.8887	0.9874	0.0737	0.2529
Cat.4	<b>0.89</b>	<b>0.62</b>	1	0.0587	<b>0.0006</b>	<b>0.0000</b>	<b>0.0306</b>	<b>0.0047</b>	0.7791	0.6040	0.4059	0.0902	0.1222	0.0953
LR.4	<b>0.64</b>	<b>0.70</b>	0.59	1	<b>0.0256</b>	0.1571	0.3692	0.4701	0.9371	0.8530	0.9796	0.8528	<b>0.0032</b>	0.0881
Adap.Seq.2	<b>0.99</b>	0.57	<b>0.87</b>	<b>0.66</b>	1	<b>0.0023</b>	0.1111	<b>0.0197</b>	0.7525	0.5516	0.3948	0.3847	0.0943	0.1222
Adap.Seq.4	<b>0.85</b>	0.54	<b>0.99</b>	0.46	<b>0.81</b>	1	<b>0.0410</b>	<b>0.0033</b>	0.6635	0.4730	0.3048	<b>0.0466</b>	0.2509	0.1502
X1	-0.55	<b>-0.63</b>	<b>-0.65</b>	-0.30	-0.51	<b>-0.62</b>	1	<b>0.0057</b>	0.0503	0.5042	0.7901	0.8959	0.1307	<b>0.0347</b>
X5	<b>-0.68</b>	-0.55	<b>-0.78</b>	-0.24	<b>-0.69</b>	<b>-0.80</b>	<b>0.77</b>	1	0.7915	0.2514	0.1210	0.2548	0.3126	0.1373
X6	0.08	-0.20	0.10	-0.03	0.11	0.15	0.60	0.09	1	0.0682	0.1181	0.2574	0.1942	<b>0.0500</b>
X12	0.13	-0.14	0.18	-0.06	0.20	0.24	0.23	-0.38	0.57	1	<b>0.0000</b>	0.0642	0.7883	0.8185
IA	0.22	-0.05	0.28	-0.01	0.29	0.34	0.09	-0.50	0.50	<b>0.99</b>	1	0.0512	0.9681	0.9618
PMS.Cat	0.30	0.01	0.53	0.06	0.29	<b>0.61</b>	-0.04	-0.38	0.37	0.58	0.60	1	0.9272	0.5462
PG.Cat	0.51	0.56	0.49	<b>0.80</b>	0.53	0.38	-0.48	-0.34	-0.42	-0.09	-0.01	0.03	1	<b>0.0012</b>
PG.LR	0.48	0.38	0.53	0.54	0.49	0.46	<b>-0.64</b>	-0.48	<b>-0.60</b>	-0.08	0.02	0.20	<b>0.84</b>	1

Siglas en el cuadro: Cat.2 y Cat.4, Catamarca fechas 2 y 4; LR.2 y LR.4, La Rioja fechas 2 y 4; Adap.Seq.2 y Adap.Seq.4, índice de adaptación a sequía en fechas 2 y 4; X1 = temperatura media anual; X5 = temperatura máxima del mes más cálido; X6 = temperatura mínima del mes más frío; X12 = precipitación anual; PMS.Cat, peso de mil semillas en Catamarca; PG.Cat, poder germinativo en Catamarca; PG.LR, poder germinativo en La Rioja.

#### 5.4. Discusión

Los resultados muestran la existencia de variabilidad entre poblaciones de *T. crinita* en la capacidad de establecimiento en cada sitio de evaluación, observándose además diferente respuesta de las poblaciones a las condiciones contrastantes de precipitación ocurridas en ambos sitios (interacción significativa ‘tratamiento x sitio de siembra’, Cuadro 5.3). Sin embargo, la predicción de que “a mayor nivel de estrés ambiental en los sitios de origen de las poblaciones (aridez, salinidad, presión de pastoreo) menos afectado es su establecimiento por la escasez de agua” sólo se cumplió parcialmente, dado que no se observó influencia de la aridez ni la salinidad de suelo en ese sentido. Por otro lado, sí se observó efecto significativo de la presión de pastoreo de los sitios de origen de las poblaciones, dado que las provenientes de sitios cercanos a la aguada fueron menos afectadas por las condiciones de sequía que las de sitios alejados a la aguada (Figura 5.4). También se encontró una relación negativa significativa entre la temperatura de los sitios de origen de las poblaciones y la adaptación a la sequía durante la implantación (evaluada como la relación entre el establecimiento en sitio más restrictivo –Catamarca en este caso- vs. el establecimiento en sitio relativamente menos restrictivo –La Rioja-). Por un lado, estos resultados contrastan con lo encontrado en trabajos previos sobre plantas adultas (Quiroga 2009b, Quiroga et al. 2010), dado que poblaciones de sitios áridos presentaron más resistencia a sequía que plantas de sitios relativamente más húmedos; aunque por otro lado, son consistentes con que la presión de pastoreo de los sitios de origen seleccionó a favor de una mejor respuesta a la sequía (Quiroga 2009b, Quiroga et al. 2010). Considerando los resultados aquí obtenidos y la información de dichos trabajos previos, es posible pensar que fuerzas selectivas pueden tender a favorecer ciertas adaptaciones en

algunos estadios de las plantas y no en otros. La imprevisibilidad climática que presentan ‘las tierras secas’ (*drylands*), pueden determinar que una estrategia factible para las semillas en el banco del suelo, ya sea luego de siembras o de la dispersión natural, sea poseer mecanismos que les permitan esperar buenas condiciones de humedad de suelo (i.e. la ocurrencia de un año lluvioso; Holmgren et al. 2006) para germinar y emerger, lo que puede influir en que no exista una asociación consistente entre la aridez de los sitios de origen y la capacidad de establecimiento en condiciones de sequía. Esto además sugeriría que, para evaluar adaptaciones a la sequía en las etapas tempranas de las plantas, no se podría hacer inferencias desde el estudio de plantas adultas, y resaltaría la dificultad de usar las condiciones climáticas de los sitios de origen como predictor del establecimiento o éxito a corto plazo en planes de restauración en ambientes áridos.

Por otro lado, sí se cumplió la predicción de que “la siembra de mezclas de poblaciones disminuye la variabilidad en el establecimiento de la especie”. Que las mezclas hayan servido para amortiguar en ambos sitios de siembra la variabilidad en el establecimiento mostrada por las poblaciones puras (Cuadro 5.5) es un resultado relevante dado que: i) es difícil predecir cuál será la respuesta de las poblaciones usadas en una siembra (por ejemplo: las poblaciones ‘locales’ no presentaron el mejor establecimiento en los dos sitios -resultado consistente con el meta-análisis de Leimu y Fischer 2008), ii) no siempre se pueden realizar pruebas preliminares del comportamiento de distintas poblaciones en distintos ambientes, iii) hay incertidumbre de cómo se presentará climáticamente el año de siembra. La importancia de amortiguar la variabilidad de resultados en trabajos de restauración es una necesidad generalizada y que actualmente se ha puesto claramente de manifiesto (James et al. 2019, Hardegree et al. 2020, Pedrinni et al. 2020). Métodos de

*provenancing* o *sourcing* planteados en los últimos años sugieren utilizar mezclas de poblaciones para aumentar la diversidad genética de las siembras e incrementar el potencial evolutivo, presentando esta alternativa distintas variantes: mezclas de distintas poblaciones sin restringir por su procedencia (*admixture provenancing*; cita), mezclas de poblaciones de la misma región objetivo (*regional admixture provenancing*; Bucharova et al. 2019), o mezclas predictivas del clima (*climate adjusted provenancing*; Prober et al. 2015). Sin embargo, hasta ahora no se ha puesto, en general, énfasis en la relevancia de usar mezclas como estrategia para amortiguar la variabilidad e incertidumbre en los resultados de las siembras. Las mezclas de poblaciones usadas en la presente experiencia, al provenir de una región relativamente homogénea (10 poblaciones de la región del Chaco Árido y 1 población de la región del Monte: ‘Colpes’, de un sitio con características similares a Chaco Árido; Cuadro 5.1), puede decirse que encuadran en la estrategia de mezclas regionales sugerida por Bucharova et al. (2019). Más aún, en este trabajo se profundizó en dicha estrategia, ya que se indagó acerca del efecto de distintas formas de combinar poblaciones de una región. En este sentido, la mezcla de poblaciones similares morfológica y genéticamente (MR) presentó mejor establecimiento que la mezcla de poblaciones diferentes (MD) en condiciones de sequía, mientras que la mezcla de todas las poblaciones (MT) presentó resultados intermedios a las anteriores (Figuras 5.2 y 5.3). El resultado de mejor performance MR que de MD es consistente a lo encontrado en el alga *Zoostera marina*; según dichos autores el resultado es en cierto modo contra-intuitivo dado que se puede esperar una mejor respuesta de genotipos complementarios, pero para su caso sugirieron que podría explicarse por una especie de efecto de ‘reconocimiento’ o de ‘cooperación’ entre los individuos más similares (Stachowicz et al. 2013), algo para lo que dichos autores no presentan un mecanismo y que no podemos aseverar en nuestro estudio.

Los resultados que encontramos acerca de la mayor estabilidad de las mezclas que de las poblaciones individuales pueden explicarse por las diversas características y comportamiento que presentan las distintas poblaciones puras, y que al combinarse en mezclas se traduciría en un resultado más estable del conjunto. Loreau et al. (2021) reconocieron a este mecanismo como ‘efecto estabilizador’ de la biodiversidad, y lo incluyeron en la teoría del ‘seguro biológico’. Esta teoría contempla también otra manera en que la biodiversidad podría influir en resultados biológicos-ecológicos, a través del ‘efecto mejora del rendimiento’. Es importante notar entonces que, en el presente estudio los resultados de las siembras son consistentes con un efecto estabilizador de la biodiversidad (i.e. desvío estándar fue menor e índice de estabilidad mayor para las mezclas que para las poblaciones puras, Cuadro 5.4) pero no con un efecto mejora del rendimiento (el promedio de establecimiento de las poblaciones puras y las mezclas fue similar, Cuadro 5.4). Loreau et al. (2021) realizaron a la vez una revisión de diferentes términos empleados en ecología para referir a estos efectos, estableciendo similitudes y diferencias con otras disciplinas (p.ej. ‘efecto estabilizador’ en ecología, ‘efecto portfolio’ en economía). El efecto estabilizador de la biodiversidad sobre ecosistemas multiespecíficos ha sido ampliamente abordado en las últimas dos décadas (Doak et al. 1998, Tilman et al. 1998, Lhomme y Winkel 2002, Schindler et al. 2015). Por su parte, algunos autores han señalado también la importancia que dicho efecto estabilizador puede presentar a nivel intraespecífico (Bolnick et al. 2011, Schindler et al. 2010). Los resultados aquí presentados aportan evidencia en dicho sentido, y resultan además importantes desde el punto de vista de la restauración, ya que muestran el efecto estabilizador de la mezcla de poblaciones de una especie sobre el establecimiento de la misma en siembras a campo.

Se considera que otro hallazgo importante es que a similar precipitación promedio en los sitios de siembra (i.e. en los dos años de Catamarca vs. los dos años de La Rioja), el orden de los años secos/húmedos altera el resultado de implantación, y esto fue general para todos los tratamientos de siembra con *T. crinita*. El resultado obtenido señala que un año de siembra seco seguido de un año lluvioso (como sucedió en Catamarca) fue notablemente peor para el establecimiento de esta gramínea nativa que un primer año lluvioso seguido de un año seco (sucedido en La Rioja). Todas las poblaciones individuales y mezclas presentaron un buen establecimiento en la segunda configuración de lluvias (La Rioja), mientras que en el primer arreglo de precipitaciones (Catamarca) sólo algunas poblaciones y mezclas pudieron presentar aceptables niveles de establecimiento. Estos resultados contrastan con lo encontrado en un análisis de ensayos de restauración pastizales áridos fríos de Estados Unidos, donde las condiciones de precipitación o déficit hídrico en el año de siembra no afectaron en establecimiento de las gramíneas sembradas, aunque sí lo hizo el déficit hídrico del segundo año que redujo notoriamente la supervivencia de plantas (James et al. 2019). Es interesante que, sin importar las contingencias en la ocurrencia de precipitaciones, en ambos sitios de siembra las mezclas de poblaciones tendieron a tener una mayor estabilidad que las siembras de poblaciones puras, siendo esa diferencia significativa en una mayor cantidad de fechas en el sitio que presentó condiciones de precipitación más restrictivas (Catamarca: fechas 1, 2, 3 y 4; vs. La Rioja: fechas 2 y 3 en; Cuadro 5.4).

*C. ciliaris*, la especie exótica que se comercializa para pasturas, a diferencia de *T. crinita*, copió lo que sucedió con la precipitación anual (Figura 5.1), presentó un mayor

establecimiento en La Rioja que en Catamarca en el primer año, pero revirtió a una mayor densidad y cobertura de plantas en Catamarca que en La Rioja en el segundo año (Figuras 5.5 y 5.6). Un punto importante que se observó, es que *C. ciliaris* acusó en el segundo año en el sitio de siembra La Rioja el efecto de las bajas precipitaciones ocurridas (~200mm) mediante mortandad de plantas y descenso de la cobertura aérea (Figuras 5.5 y 5.6), algo que no sucedió en *T. crinita*. El establecimiento fue más vigoroso en *C. ciliaris* que en *T. crinita*, especie nativa que no ha sido sometida a un proceso de mejoramiento genético. Esta diferenciación entre ambas especies puede ser una ventaja a la hora de usar a *T. crinita* en la restauración de pastizales naturales, dado que no se busca implantar especies con potencial invasivo que tiendan a desplazar al resto de especies nativas, defecto que ha sido señalado para *C. ciliaris* en diversas regiones del mundo (Marshall et al. 2012). No obstante, desde otro enfoque, podría ser una limitante si el objetivo fuera emplear *T. crinita* como pastura cultivada netamente con fines productivos forrajeros, dado que no presenta el mismo vigor de establecimiento y crecimiento inicial que *C. ciliaris*, posiblemente llevando el periodo de implantación para uso pastoril el doble de tiempo en la especie nativa que en la exótica mejorada (~2-4 años vs. ~1-2 años). Esto resalta la importancia de definir claramente el fin que se persigue en cada proyecto de investigación o de uso de estas especies (i.e. restauración ecológica, mejoramiento genético, etc.) (Pensiero y Zabala 2017, Kozub et al. 2018).

## **Capítulo 6**

### **Variabilidad en caracteres de ‘respuesta’ y ‘efecto’ en las poblaciones de *Trichloris crinita* y discusión general de la tesis**

En este capítulo final se realiza la discusión general de la tesis, usando como punto de partida el último objetivo específico (el número 5) tal como se mencionó en el Capítulo 1. Luego, se analizan las principales contribuciones al conocimiento realizadas en torno a *T. crinita* (principalmente) y otras especies disjuntas entre Sudamérica y Norteamérica. El capítulo y la tesis cierran con una sección de conclusiones, en la que además se abordan las implicancias de índole aplicado más importantes.

#### **6.1. Análisis de los caracteres ‘de respuesta’ y ‘de efecto’ evaluados en las plantas**

Para alcanzar el objetivo específico 5, el de investigar la variación intraespecífica en caracteres indicadores de respuesta a estrés-disturbio y de efecto sobre el ecosistema en poblaciones de *T. crinita* de Sudamérica y Norteamérica, se consideraron los caracteres evaluados en los Capítulos 3, 4 y 5, y se tomaron los resultados de los análisis estadísticos ya presentados en dichos capítulos. Sin embargo, para algunos caracteres se debieron realizar análisis estadísticos complementarios (Cuadro 7.9, Apéndice).

La revisión de la bibliografía señala que los distintos caracteres evaluados presentan en general importancia tanto para la respuesta de las plantas ante estrés/disturbio como por su efecto potencial sobre el ecosistema (Cuadro 6.1). Dicha dualidad se relaciona con que

existen caracteres que les permiten a las plantas tanto responder a disturbios o estrés (por ejemplo, si consideramos el tamaño de hoja, se asocia con la respuesta a sequía...) como actuar en procesos que influyen a las comunidades que habitan (...y el mismo carácter se asocia también a la competencia por luz). Esta función dual de ciertos caracteres ya ha sido señalada por diversos autores (citas en Cuadro 6.1).

Cuadro 6.1. Caracteres de respuesta a estrés/disturbio y de efecto sobre servicios ecosistémicos evaluados en esta tesis (la segunda columna indica en qué parte de la tesis), categorizados según diversos autores (tercera a octava columna) y cómo se consideran aquí (novena columna).

Carácter	Capítulo o Apéndice	Lavorel y Garnier 2002	Pakeman 2011	Pérez-Harguindeguy et al. 2013 *	Sterk et al. 2013	Kettenring et al. 2014	Gaba et al. 2017	Síntesis para esta tesis
Altura de planta (vegetativa, cm)	Capítulo 3	R / E	R / E	R / E	R		R / E	R / E
Altura de planta (reproductiva, cm)	Capítulo 3						R / E	R / E
Número de macollos	Capítulo 3		R		E			R / E
Número de varas florales	Capítulo 3							R / E
Tamaño hoja (mm)	Capítulo 3 y Apéndice	R / E	R / E	R / E	R			R / E
Estabilidad de membranas en hojas	Capítulo 3			R				R
Peso de 1000 semillas	Capítulos 3, 5 y Apéndice	R		R / E	E		R / E	R / E
Poder germinativo (%)	Capítulo 3 y Apéndice	R					R / E	R / E
Temperatura de germinación (°C)	Capítulo 3 y Apéndice	R					R	R
Diversidad genética	Capítulo 4 y Apéndice					R / E		R / E

\*Interpretación personal en base al texto del artículo citado.

Los resultados presentaron en general una escasa correspondencia con la hipótesis 5, la cual expresa: “los caracteres ‘de respuesta’ y ‘de efecto’ de las poblaciones son seleccionados por las condiciones ambientales de los sitios de origen de las poblaciones” (Capítulo 1). Si bien, había diferencias significativas entre las poblaciones y/o entre subcontinentes de origen en la mayoría de los caracteres considerados, como se muestra en el Cuadro 6.2, se encontró parcial y/o nulo sustento para sus predicciones 5.a y 5.b, respectivamente. Sólo el 40% de los caracteres evaluados presentó una asociación con el clima de manera consistente con la predicción 5.a (4 de 10), mientras que 50% de los caracteres no presentó relación con el clima (5 de 10) y 10% tuvo una relación inversa a la esperada (1 de 10) (Cuadro 6.2). Por otro lado, ninguno de los 4 caracteres de ‘respuesta’ y/o ‘efecto’ considerados mostró un patrón consistente con la predicción 5.b: en 2 de ellos no hubo relación entre la plasticidad en los caracteres y el clima de los sitios de origen de las poblaciones, mientras que en los otros 2 hubo una relación opuesta a lo esperado (Cuadro 6.2).

Cuadro 6.2. Resultados encontrados en los caracteres de ‘respuesta’ y ‘efecto’ en relación a las predicciones (5.a y 5.b.) planteadas en función de la hipótesis 5 de esta tesis. Para cada resultado se señala el cuadro o figura donde se presenta el mismo, y si éste concuerda con la predicción (relación significativa, resaltado en verde) o no (en gris si no hubo relación significativa, o en amarillo si la relación fue opuesta a lo predicho). En la segunda columna se muestra si se había encontrado para cada variable diferencias entre poblaciones (EP) o subcontinentes de origen (ES), o no hubo diferencias según el origen (ND). La última fila muestra el conteo total de cada columna.

Carácter	Se encontró diferencias entre poblaciones (EP), entre subcontinentes (ES), o no hubo diferencias según el origen (ND).	Predicción 5.a: “A mayores restricciones climáticas en los sitios de origen de las poblaciones (aridez, temperatura), éstas presentan estrategias de uso más conservativo de los recursos, que se relacionan con tasas de procesos ecosistémicos más lentas.”	Predicción 5.b: “Las poblaciones de sitios con mayores restricciones climáticas presentan menor plasticidad en sus caracteres ‘de respuesta’ y ‘de efecto’ en diferentes ambientes o ante distintos tratamientos.”
Altura de planta (vegetativa, cm)	EP	Cuadro 3.8. Las variables climáticas no explicaron las diferencias en altura vegetativa de plantas de las poblaciones. (No concuerda con la predicción, sin relación)	-
Altura de planta (reproductiva, cm)	EP, ES	Cuadro 3.8. Las variables climáticas no explicaron las diferencias en altura reproductiva de plantas de las poblaciones. (No concuerda con la predicción, sin relación)	-
Número de macollos	ES	Cuadro 3.8. Temperaturas más frías y menores precipitaciones en los sitios de origen de las poblaciones norteamericanas se asociaron a menor número de macollos de las plantas. (Consistente con la predicción)	-
Número de varas florales	EP, ES	Cuadro 3.8. Menores precipitaciones en los sitios de origen de las poblaciones norteamericanas se asociaron a menor número de varas florales de las plantas. (Consistente con la predicción)	-
Tamaño de hoja (ancho, mm)	EP	Cuadro 7.9 (Apéndice). En las poblaciones de Sudamérica, el ancho de hoja aumentó significativamente hacia sitios de menor índice de aridez, menor precipitación y menor temperatura. (Se opone a predicción)	-
Estabilidad de membranas en hojas	EP (índice de daño por alta temperatura), ES (índice de daño por estrés osmótico)	Cuadro 3.8. Ninguna variable climática explicó significativamente los índices de daño a membranas por estrés osmótico, alta o baja temperatura. (No concuerda con la predicción, sin relación)	-

(continúa en la próxima página)

Peso de 1000 semillas	EP, ES	<p>Cuadro 3.8. No hubo efecto del clima de los sitios de origen de las poblaciones de Norteamérica y Sudamérica en el peso de 1000 semillas. (No concuerda con la predicción, sin relación)</p> <p>Cuadro 5.6. El peso de 1000 semillas se relacionó positivamente con el índice de aridez (i.e. sitios más húmedos tendieron a tener semilla más pesada) en poblaciones de Sudamérica. <b>(Consistente con la predicción)</b></p>	<p>Cuadro 7.9 (Apéndice). No hubo relación entre la variación temporal del peso de 1000 semillas de las poblaciones (cosechada en temporada 2018, Capítulo 3, vs. cosechada en temporada 2012, Capítulo 5) y el clima de los sitios de origen. Esta evaluación sólo se pudo hacer para las poblaciones de Sudamérica. (No concuerda con la predicción, sin relación)</p>
Poder germinativo (%)	EP, ES	<p>Cuadro 7.9 (Apéndice). El poder germinativo de las poblaciones de Sudamérica se incrementó con el índice de aridez (más humedad) y la temperatura de los sitios de origen. <b>(Consistente con la predicción)</b></p>	<p>Cuadro 7.9 (Apéndice). Ninguna variable climática se relacionó con la plasticidad en el poder germinativo de las poblaciones de Sudamérica entre semilla cosechada en Catamarca y La Rioja. Esta evaluación sólo se pudo hacer para las poblaciones de Sudamérica. (No concuerda con la predicción, sin relación)</p>
Temperatura de germinación (°C)	EP	<p>Cuadro 7.9 (Apéndice). La temperatura óptima de germinación de las poblaciones no varió según el clima de los sitios de origen, para ninguno de los subcontinentes. (No concuerda con la predicción, sin relación)</p>	<p>Cuadro 3.8. Poblaciones de Sudamérica de climas más fríos presentaron más plasticidad en la temperatura de germinación, ya que germinaron a temperaturas más frías, sin que la temperatura media de germinación variase entre poblaciones. <b>(Se opone a predicción)</b></p>
Diversidad genética	ND	-	<p>Cuadro 7.9 (Apéndice). La diversidad genética (que se asocia a la capacidad de presentar diferentes respuestas ante tipos de estrés/disturbio, y diferentes efectos sobre el ecosistema; Kettenring et al. 2014) disminuyó con la precipitación media anual e índice de aridez de los sitios de origen de las poblaciones de Sudamérica. <b>(Se opone a predicción)</b></p>
Resumen-Conteo	EP=9 ES=4 ND=1	<p><b>Concuerda, con relación significativa = 4</b> No concuerda, sin relación = 5 <b>No concuerda, se opone = 1</b></p>	<p><b>Concuerda, con relación significativa = 0</b> No concuerda, sin relación = 2 <b>No concuerda, se opone = 2</b></p>

## 6.2. Resultados más destacados de la tesis

El nicho climático realizado, o efectivo, de *T. crinita* difiere entre los subcontinentes americanos: la especie presenta un nicho más restringido y caracterizado por ambientes relativamente más áridos (menos lluviosos y más cálidos) en Norteamérica que en Sudamérica (Capítulo 2, Quiroga et al 2018). Este resultado se pudo generalizar viendo que el cambio de nicho realizado es la norma para el grupo de especies disyuntas de regiones áridas y semiáridas que habitan ambos subcontinentes (Capítulo 2, Quiroga et al. 2021). Los hallazgos obtenidos a lo largo de la tesis sugieren que la modificación del nicho de las especies disyuntas entre subcontinentes podría asociarse tanto a diferencias genéticas (Capítulos 3 y 4) como a la influencia del entorno biótico (Capítulo 2, Quiroga et al. 2021).

Se encontraron diferencias significativas en el nicho fundamental de regeneración entre poblaciones de Sudamérica y Norteamérica, i.e. requerimientos de temperatura para la germinación y tolerancia al estrés osmótico en germinación y plántulas. Esa diferenciación fue en general leve a moderada, algo esperable dada la comparación de índole intraespecífica (Capítulo 3). Analizando el panorama general de los resultados obtenidos, el patrón que emerge es que la mayor parte de la diferenciación intraespecífica (genética - Capítulo 4-, en adaptaciones para la regeneración -Capítulo 3- y caracteres de respuesta a estrés/disturbio y/o efecto en los ecosistemas –más arriba en este Capítulo 6-) ocurre entre las poblaciones dentro de cada subcontinente, mientras que la diferenciación debida al subcontinente de origen, aunque significativa estadísticamente, fue en general menor. Analizando ya dentro de cada subcontinente, se encontró variación más pronunciada en las adaptaciones a la regeneración entre poblaciones de Sudamérica que de Norteamérica

(Cuadro 3.4, Capítulo 3). Esto fue consistente con que la especie mostró diferencias entre moderadas y leves de nicho climático entre subcontinentes y un nicho más amplio en Sudamérica que en Norteamérica (Capítulo 2).

Otro resultado importante, sobre algo aparentemente no explorado hasta el momento en *T. crinita*, es que las poblaciones de Sudamérica y Norteamérica, a pesar de encontrarse en distintos subcontinentes y separadas por una distancia de más de 4000 km, parecen haber divergido recientemente (entre 3300 y 500 generaciones atrás [estimativamente, unos 20000-30000 años]; Capítulo 4), es decir luego del Último Máximo Glacial ocurrido hace ~21000 años. Este resultado es consistente con que la mayoría de las especies anfitropicales disyuntas estudiadas hasta el momento habrían divergido recientemente en términos geológicos y evolutivos (< 1-2 millones de años; Wen y Ickert-Bond 2009). Además, los resultados del análisis bayesiano (Capítulo 4) sugirieron tres escenarios más probables que pudieron dar origen a la distribución disyunta actual de *T. crinita*: dispersión de la especie desde Sudamérica a Norteamérica (Escenario 4), o vicarianza a partir de una ‘población ancestral’ de amplia distribución (Escenarios 1 y 6). En las únicas referencias bibliográficas encontradas sobre la filogenia de gramíneas que incluyen a *T. crinita*, Peterson et al. (2012, 2022) señala que la especie está emparentada con gramíneas como *Leptochloa spp.* y *Afrothichloris spp.*, que en su mayoría parecen tener su origen en áreas continentales del hemisferio sur. En este sentido, los resultados de esta tesis no son concluyentes respecto al área de origen de *T. crinita*, aunque serían en general más sugerentes de un origen sudamericano que norteamericano. Incluso, Peterson et al. (2012) sugirieron la modificación del nombre *Trichloris crinita* por el de *Leptochloa crinita*. En los análisis moleculares de dicho trabajo, se usó sólo un ejemplar de *T. crinita* de Bolivia, por lo que en

la filogenia no se evaluó la monofilia de la especie con ejemplares de ambos subcontinentes. Estudios futuros podrían incluir tanto secuencias de individuos de Sudamérica como de Norteamérica para evaluar la existencia de monofilia. Respecto al nombre científico de la especie, a los fines de esta tesis y tomando en cuenta que un cambio de nombre no invalida los resultados ni conclusiones obtenidas, se decidió emplear el nombre tradicional. La última revisión realizada en julio de 2022 en la base de datos GBIF ([www.gbif.org](http://www.gbif.org)) mostró a *T. crinita* como nombre aceptado para la especie y a *L. crinita* como sinónimo del anterior.

Los análisis del Capítulo 5 señalaron una interacción entre poblaciones y sitios de siembra. Es decir, hubo cambios significativos en la capacidad de establecimiento de las poblaciones según el ambiente donde fueron sembradas. Todas las poblaciones puras se implantaron relativamente bien en el sitio que presentó mejores condiciones de precipitación (La Rioja), no así en el que presentó condiciones más restrictivas (Catamarca). La siembra de mezclas de poblaciones disminuyó en ambos sitios la variabilidad en el establecimiento que presentaron las poblaciones puras, lo que resulta particularmente importante si se considera: i) lo errático que son las precipitaciones en regiones áridas y semiáridas, ii) lo impredecible del resultado de la siembra (en especial en años secos), y iii) que las poblaciones ‘locales’ no siempre se implantan adecuadamente (Capítulo 5). Que las mezclas hayan disminuido la variabilidad de los resultados de las siembras es un aspecto clave, dado que diversos autores han señalado la importancia de reducir la incertidumbre que existe tras un procedimiento de siembra de restauración (Rinella et al. 2016, Shriver et al. 2018, Copeland et al. 2021).

La investigación de los aspectos evolutivos, adaptativos y ecológicos de las poblaciones de *T. crinita* de ambas regiones de su distribución disyunta permite por primera vez tener una mirada general de los recursos genéticos de la especie en el continente americano. Ello sienta parte de las bases necesarias para poder proponer estrategias de restauración considerando la especie en su conjunto.

### **6.3. Conclusiones**

*La diferenciación del nicho de especies disyuntas entre Sudamérica y Norteamérica arroja luz sobre el modelado de distribuciones de especies*

Un resultado a resaltar desde el punto de vista del modelado del nicho de especies y su proyección geográfica, es que nuestros hallazgos se obtuvieron sobre especies de distribución natural -no para invasoras recientes, que son las que dominan la literatura sobre conservadurismo vs. cambio de nicho de especies entre regiones. Dado que los resultados obtenidos para *T. crinita* y el grupo evaluado de especies disyuntas muestran un cambio de nicho entre Sudamérica y Norteamérica, no sería adecuado extrapolar el nicho de una especie en una región dada a otra región distante (Capítulo 2). Esto tiene implicancias importantes no sólo para las especies evaluadas en esta tesis, sino también para el escasamente investigado conjunto de todas las especies disyuntas entre distintas regiones del mundo (~2500 especies; Thorne 1972) y además para el modelado de la dinámica de especies invasoras. Estos resultados llevaron al planteo temprano en esta tesis (Capítulo 2; Quiroga et al. 2018) acerca de las precauciones necesarias al planificar prácticas de restauración y/o traslocación de genotipos/poblaciones entre regiones, considerando que los requerimientos ambientales de las poblaciones ‘a restaurar’ y ‘fuente de semilla’ pueden ser

diferentes. Por ello es que se sugirió que antes de avanzar en este tipo de actividades, debían evaluarse aspectos genéticos, morfológicos y fisiológicos de las poblaciones, como lo realizado en los Capítulos 3-5 de la tesis.

*Ahora entendemos mejor por qué combinar poblaciones/genotipos  
es una alternativa para la restauración*

Los resultados obtenidos en el Capítulo 5 de la tesis apoyan la sugerencia de Bucharova et al. (2019) acerca de que sería una buena opción usar mezclas de poblaciones de la región para restaurar pastizales degradados. Para llevar adelante esta estrategia se podrían usar ‘zonas ambientalmente homogéneas para extracción de semilla’ (*seed zones*) ya desarrolladas en nuestro país para la especie (Marinoni et al. 2021). Por otro lado, para las especies sobre las que no se dispone de dicha información se podrían usar por ejemplo mapas de ecorregiones o de regiones fitogeográficas (p.ej. Cabrera 1976, Burkart et al. 1999, Oyarzabal et al. 2018) para orientar la colecta de germoplasma. Dado el efecto estabilizador de la biodiversidad (Loreau et al. 2021), por el cual el uso combinado de distintas poblaciones habría dado mayor estabilidad a los resultados de las siembras (Capítulo 5), se sugiere que la estrategia de sembrar mezclas de semillas podría ser también útil con otras especies en ambientes áridos y semiáridos, con el fin de reducir el riesgo de fracaso de las restauraciones. Otro aspecto a considerar, es que los planes de restauración son frecuentemente llevados adelante en regiones donde la vegetación nativa ha sido previamente diezmada, haciendo que la misma sea susceptible al impacto que podrían implicar colectas masivas de semilla para dichos fines (Nevill et al. 2018), motivo por el cual las mezclas regionales también podrían ser una forma de aliviar la presión sobre poblaciones particulares. Estas mezclas regionales podrían contribuir a mantener la

variabilidad genética, e incluso aumentar el potencial evolutivo de las poblaciones restauradas ya que, como se vió, la mayor parte de la variabilidad genética se da entre poblaciones dentro de cada subcontinente, y en menor medida entre subcontinentes (Capítulo 4). Una variante para elegir las mezclas regionales podría ser también considerar el clima que tendrá el área a restaurar a futuro y usar semilla de poblaciones de una región que actualmente se corresponde con el clima esperado, como ya fue sugerido para *T. crinita* por Marinoni et al. (2021). Sea cual sea la estrategia elegida, se debería tener la precaución de no instalar para la especie en cuestión una ‘población restaurada’ con un potencial competitivo superior a la del resto de las especies de la comunidad, a los efectos de alterar lo menos posible el balance entre especies.

*Convendría promover la conformación de áreas de producción de semillas, tanto para mejorar la provisión para restauración como para conservar las poblaciones*

Teniendo en cuenta que los planteos actuales sugieren el aprovisionamiento de semilla a partir de lotes o áreas de producción establecidos para tal fin con materiales genéticos considerados adecuados (Nevill et al. 2018, Pedrini et al. 2020), las mezclas de poblaciones de *T. crinita* (y quizás de otras especies) podrían formularse estratégicamente en base a cosechas sobre las ya arriba nombradas ‘áreas de producción de semilla’ implantadas con distintas poblaciones que sean de interés ecológico. Esta estrategia se plantea como una manera sustentable y práctica de abastecer la demanda creciente a nivel mundial de semilla para restauración (Nevill et al. 2018). Zinnen et al. (2021) abordaron sus posibles ventajas (p.ej. proteger poblaciones naturales de la ‘sobrecosecha’, permite más restauración, conservación *ex situ* de poblaciones que están en riesgo *in situ*) y desventajas (p.ej. las prácticas de producción pueden alterar las características adaptativas y diversidad genética

de las poblaciones –selección no intencional-, las poblaciones ‘modificadas sin intención’ pueden desplazar a las silvestres), destacando a la vez que se pueden realizar prácticas de colecta y manejo para minimizar los aspectos negativos y favorecer los positivos de las áreas de producción de semilla (p.ej. usar diversas especies, promover la diversidad genética intraespecífica, recolectar múltiples poblaciones en lo posible de gran tamaño, variar la época de colecta y las condiciones de establecimiento, limitar las prácticas de cultivo). Zinnen et al. (2021) además señalaron que no hay una sola forma de llevar adelante este tipo de iniciativas, dado que su implementación puede variar según los objetivos de la restauración. En Argentina, si bien la demanda de semilla para restauración aún no alcanza los niveles observados en otros países, aumentó en los últimos años de la mano de una creciente conciencia ambiental y leyes que fomentan este tipo de prácticas (p.ej. Ley de Ordenamiento Territorial de Bosques Nativos, Nro. 26631), y se prevé que seguirá en aumento (Nevill et al. 2018, Pedrini et al. 2020).

*La traslocación de poblaciones/genotipos entre subcontinentes parece factible*

La relativamente escasa diferenciación genética y corto tiempo estimado de divergencia entre poblaciones de *T. crinita* de Norteamérica y Sudamérica, sumado a que las diferencias morfo-fisiológicas y adaptativas entre poblaciones de ambos subcontinentes fueron leves o moderadas, hacen que la posibilidad de traslocación de genotipos/poblaciones entre subcontinentes sea una alternativa a considerar. Según lo evaluado en esta tesis, y siguiendo el esquema de Weeks et al. (2011) para la toma de decisiones según las características de la especie a usarse y el objetivo de restauración, la mezcla de poblaciones de *T. crinita* sería una opción viable para la restauración de pastizales, así como la traslocación de

genotipos/poblaciones. Considerando también los resultados presentados en el Capítulo 5 y siguiendo los conceptos y resultados de Bucharova et al. (2019) y Höfner et al. (2021), en primera instancia sería recomendable restaurar con poblaciones o mezclas de poblaciones de la región (i.e. del propio subcontinente), y sólo si fuera necesario usar genotipos/poblaciones de ambientes acordes del otro subcontinente. En todo caso, siempre es importante realizar primero un análisis exhaustivo de los rangos de distribución actuales e históricos de las especies en cuestión, así como de sus características adaptativas y genéticas (Weeks et al. 2011, Bailey et al. 2021) para poder tomar las mejores decisiones.

*Es primordial el manejo y uso sustentable de las especies de plantas nativas*

En el caso de especies forrajeras nativas como *T. crinita*, es importante destacar que la restauración de ambientes degradados es una práctica *a posteriori*, siendo lo ideal no llegar a esa situación, para lo cual es primordial realizar un manejo adecuado de los sistemas ganaderos basados en la vegetación nativa (Anderson et al. 1980; Golluscio et al. 1998). Incluso luego de una práctica de restauración, el manejo sostenible debe seguir siendo un requisito fundamental (Papanastasis 2009). Sin dudas, es un tema que se debe pensar integralmente, considerando también el conjunto de especies de las comunidades a restaurar, para evitar inconvenientes. Por ejemplo, en campos ganaderos es posible que se deba sembrar el conjunto de especies que han sido afectadas por el sobrepastoreo. En este sentido, los hallazgos y conceptos surgidos de estudiar *T. crinita* como una especie modelo pueden ser de utilidad para planear el uso de otras especies nativas, y servir como referencia para el estudio de dichas especies con fines de restauración.

### Apéndice

Cuadro 7.1. Cantidad de ocurrencias con datos de coordenadas en *Trichloris crinita* y otras 31 especies disyuntas de regiones áridas y semiáridas de Sudamérica y Norteamérica (datos descargados de [www.gbif.org](http://www.gbif.org)). Para cada especie se menciona si fue incluida o no en los análisis de este capítulo, y al pie se explicita el motivo en los casos de no inclusión.

Especies	Ocurrencias totales, en Norte y Sudamérica	Ocurrencias en Norteamérica (raleadas a más de 5 km)	Ocurrencias en Sudamérica (raleadas a más de 5 km)	Inclusión o no en este capítulo
<i>Trichloris crinita</i> (G)	306	104	177	Incluida
<i>Bothriochloa exaristata</i> (G)*	45	9	27	Incluida
<i>Bothriochloa laguroides</i> (G)**	520	265	84	Incluida
<i>Chondrosium simplex</i> (G)*	576	290	103	Incluida
<i>Cottea pappophoroides</i> (G)*	305	118	75	Incluida
<i>Disakisperma dubium</i> (G)*	997	564	51	Incluida
<i>Dissanthelium calycinum</i> (G)*	32	5	22	Incluida
<i>Erioneuron avenaceum</i> (G)**	708	315	10	Incluida
<i>Lycurus phleoides</i> (G)*	678	405	15	Incluida
<i>Lycurus setosus</i> (G) ** (i)	306	19	218	Incluida
<i>Panicum urvilleanum</i> (G)***	252	39	53	Incluida
<i>Pappophorum mucronulatum</i> (G)*	399	97	116	Incluida
<i>Scleropogon brevifolius</i> (G)*	330	196	10	Incluida
<i>Trichloris pluriflora</i> (G)*	150	30	70	Incluida
<i>Cressa nudicaulis</i> (F)*	22	5	6	Incluida
<i>Cryptantha albida</i> (H)*	71	45	12	Incluida
<i>Cryptantha maritima var. pilosa</i> (F)**	105	72	5	Incluida
<i>Evolvulus arizonicus</i> (F)*	193	101	32	Incluida
<i>Hoffmannseggia glauca</i> (F)**	656	322	35	Incluida
<i>Mentzelia albescens</i> (F)**	30	7	15	Incluida
<i>Proboscidea althaeifolia</i> (F)*	106	70	5	Incluida
<i>Schkuhria multiflora</i> (F)*	103	38	35	Incluida
<i>Tiquilia nuttallii</i> (F)**	322	177	21	Incluida
<i>Acaciella angustissima var. angustissima</i> (W)**	141	94	11	Incluida
<i>Aloysia gratissima</i> (W)**	311	15	145	Incluida
<i>Capparis atamisquea</i> (W)*	78	20	24	Incluida
<i>Willkommia texana</i> (G)***	3	2	1	No incluida
<i>Enneapogon desvauxii</i> (G)***	630	295	20	No incluida (ii)
<i>Desmanthus tathuhyensis var. brevipes</i> (F)***	15	1	13	No incluida
<i>Polygonum brasiliense</i> (F)***	39	1	21	No incluida
<i>Prosopidastrum globosum</i> (W)***	44	3	20	No incluida
<i>Koerberlinia spinosa</i> (W)***	390	201	2	No incluida

(G) gramínea, (F) latifoliada herbácea, (W) latifoliada leñosa. \*Listada en Raven (1963) y Simpson et al. (2017); \*\*sólo listada en Simpson et al. (2017); \*\*\*sólo listada en Raven (1963); (i) ex *Muhlebergia aloperculoides*; (ii) disyunta entre Norteamérica y Sudáfrica.

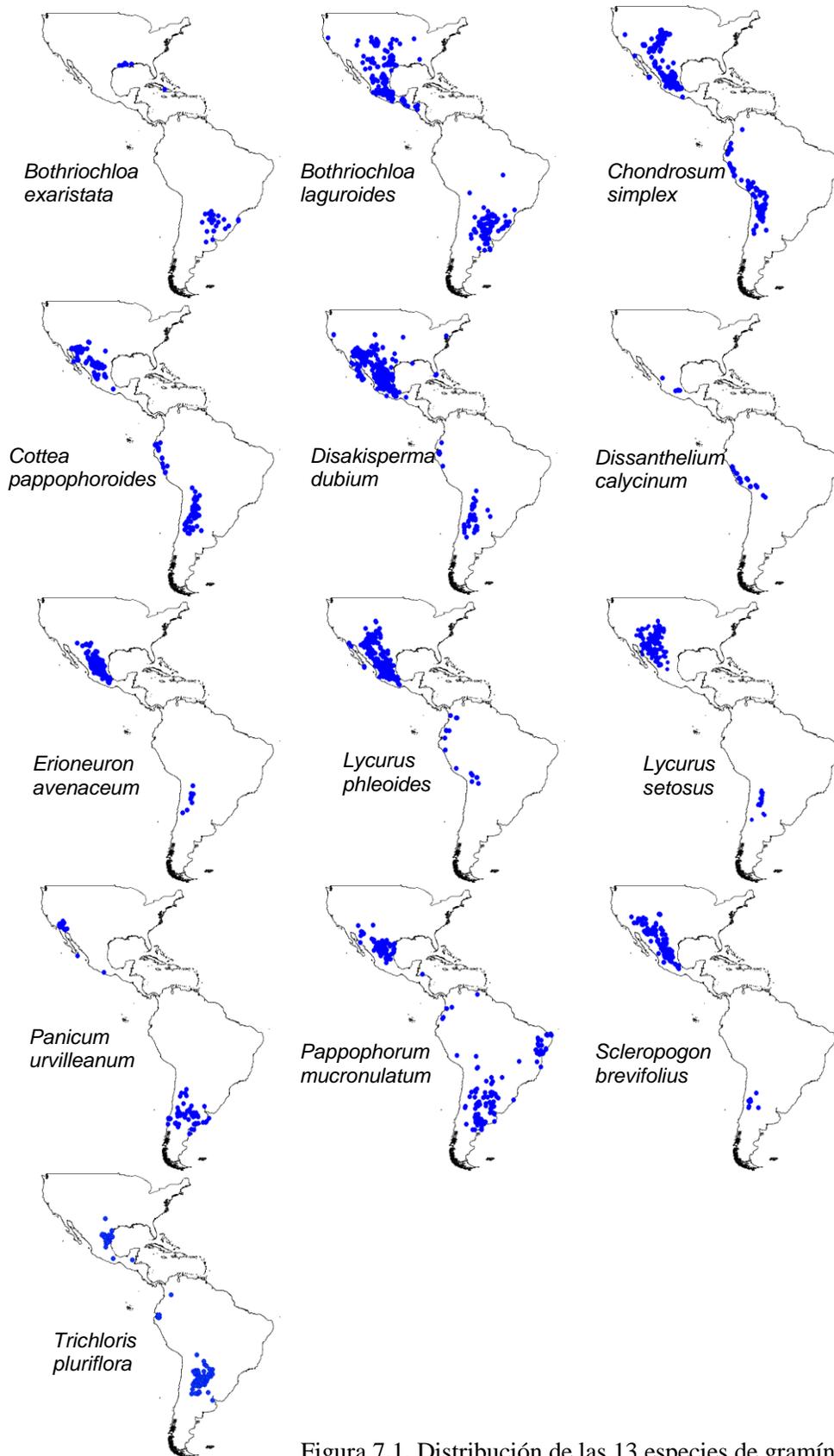


Figura 7.1. Distribución de las 13 especies de gramíneas evaluadas.

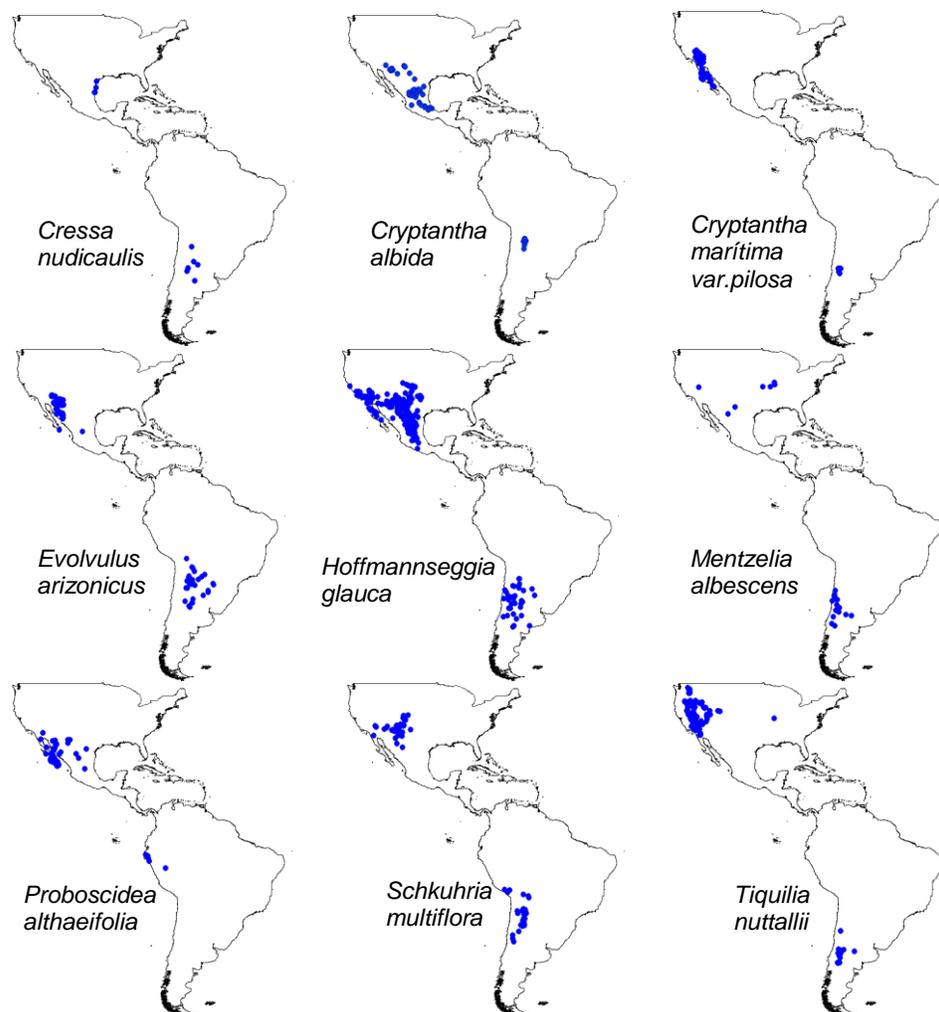


Figura 7.2. Distribución de las 9 especies latifoliadas herbáceas evaluadas.

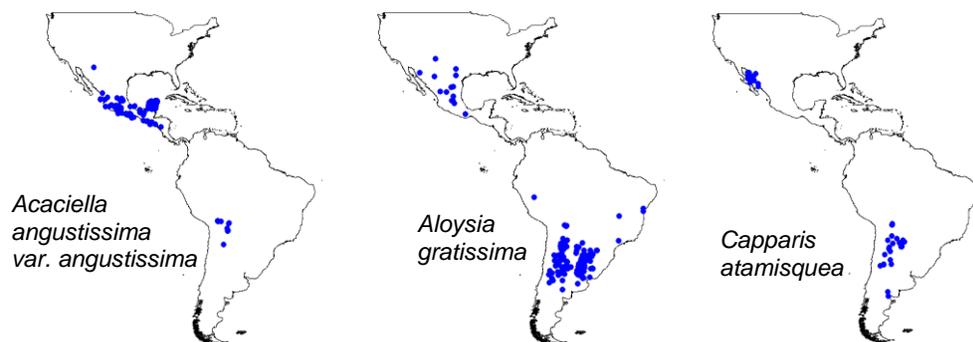


Figura 7.3. Distribución de las 3 especies latifoliadas leñosas evaluadas.

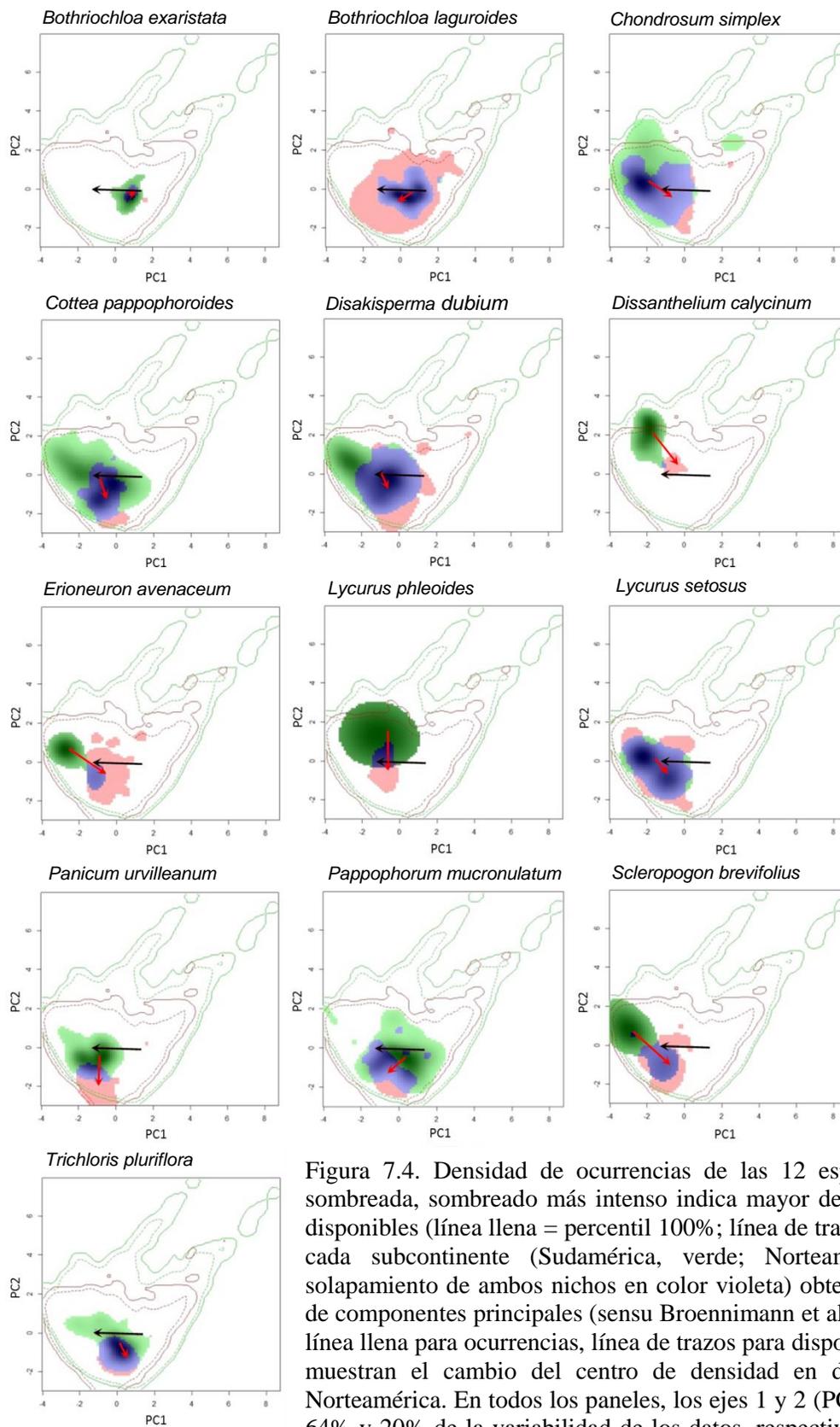


Figura 7.4. Densidad de ocurrencias de las 12 especies gramíneas (área sombreada, sombreado más intenso indica mayor densidad) y de ambientes disponibles (línea llena = percentil 100%; línea de trazos = percentil 75%) en cada subcontinente (Sudamérica, verde; Norteamérica, rojo; área de solapamiento de ambos nichos en color violeta) obtenidos mediante análisis de componentes principales (sensu Broennimann et al. 2012). Las flechas (de línea llena para ocurrencias, línea de trazos para disponibilidad de ambientes) muestran el cambio del centro de densidad en dirección Sudamérica - Norteamérica. En todos los paneles, los ejes 1 y 2 (PC1 y PC2) explicaron el 64% y 20% de la variabilidad de los datos, respectivamente. La correlación de las variables climáticas con los ejes 1 y 2 se muestra en la Figura 2.2.

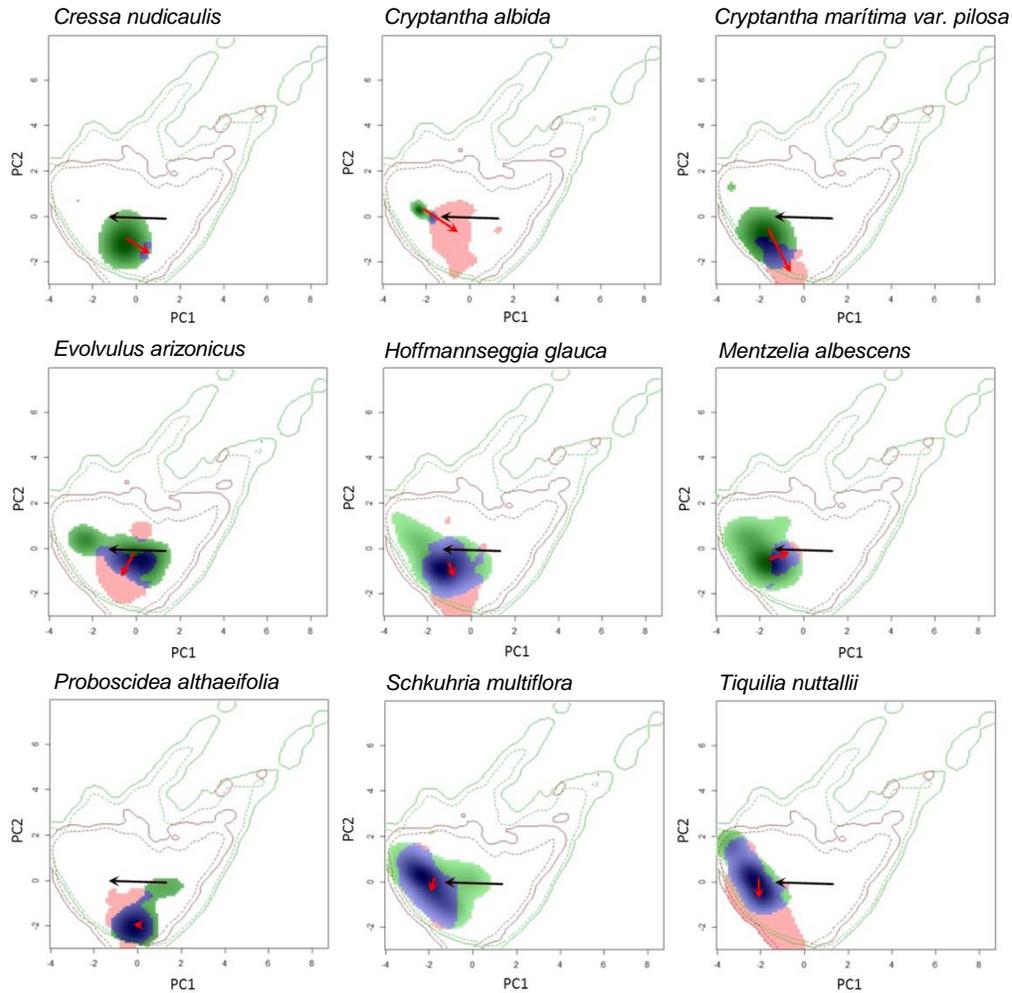


Figura 7.5. Densidad de ocurrencias de las 9 especies latifoliadas herbáceas (área sombreada, sombreado más intenso indica mayor densidad) y de ambientes disponibles (línea llena = percentil 100%; línea de trazos = percentil 75%) en cada subcontinente (Sudamérica, verde; Norteamérica, rojo; área de solapamiento de ambos nichos en color violeta) obtenidos mediante análisis de componentes principales (sensu Broennimann et al. 2012). Las flechas (de línea llena para ocurrencias, línea de trazos para disponibilidad de ambientes) muestran el cambio del centro de densidad en dirección Sudamérica - Norteamérica. En todos los paneles, los ejes 1 y 2 (PC1 y PC2) explicaron el 64% y 20% de la variabilidad de los datos, respectivamente. La correlación de las variables climáticas con los ejes 1 y 2 se muestra en la Figura 2.2.

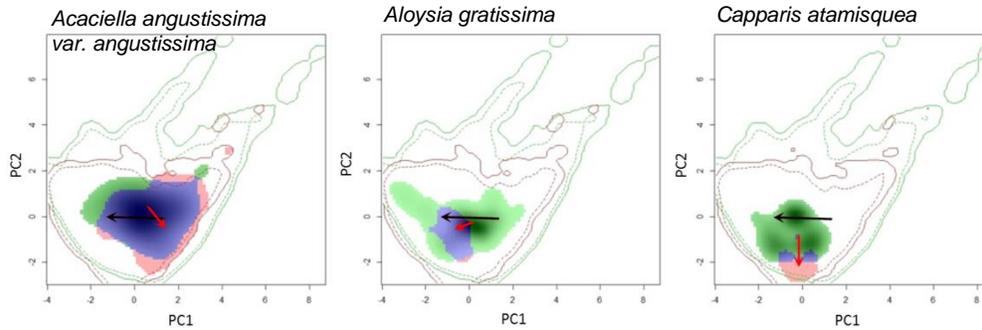


Figura 7.6. Densidad de ocurrencias de las 3 especies latifoliadas leñosas (área sombreada, sombreado más intenso indica mayor densidad) y de ambientes disponibles (línea llena = percentil 100%; línea de trazos = percentil 75%) en cada subcontinente (Sudamérica, verde; Norteamérica, rojo; área de solapamiento de ambos nichos en color violeta) obtenidos mediante análisis de componentes principales (sensu Broennimann et al. 2012). Las flechas (de línea llena para ocurrencias, línea de trazos para disponibilidad de ambientes) muestran el cambio del centro de densidad en dirección Sudamérica - Norteamérica. En todos los paneles, los ejes 1 y 2 (PC1 y PC2) explicaron el 64% y 20% de la variabilidad de los datos, respectivamente. La correlación de las variables climáticas con los ejes 1 y 2 se muestra en la Figura 2.2.

Cuadro 7.2. Momento de colecta *in situ* de las poblaciones de *T. crinita* en Norteamérica y Sudamérica (colec.), y periodo durante el que se mantuvieron en los jardines comunes ubicados en INTA EEA La Rioja (LR) e INTA EEA Catamarca (CA y CAi). La línea vertical indica el momento de establecimiento de cada jardín común a partir de semilla obtenida de las colectas a campo o bien cosechada del último jardín vigente. Los jardines LR y CA son de 24 plantas por población (dispuestas en 3 bloques aleatorizados, cada uno con parcelas de 8 plantas y una distancia entre plantas = 0.5 m). El jardín CAi tiene 5 plantas de cada población (5 bloques aleatorizados, 1 planta de cada población por bloque, distancia entre plantas = 0.5 m). En la parte inferior (Nota) se describe el momento de cosecha de semilla y realización de las evaluaciones para el Capítulo 3. El inicio de cada nuevo jardín común (CA, CAi) no implicó la eliminación del jardín común antecesor.

Población	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Bowie										colec.	CA	CA	CA	CAi
Kinney**										colec.	CA	CA	CA	CAi
Knox										colec.	CA	CA	CA	CAi
Lucero										colec.	CA	CA	CA	CAi
San Simon										colec.	CA	CA	CA	CAi
Tornillo										colec.	CA	CA	CA	CAi
White Sands										colec.	CA	CA	CA	CAi
Amblayo										colec.	CA	CA	CA	CAi
Chamical**						colec.	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CAi
Colpes						colec.	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CAi
HC	colec.	LR	LR	LR	LR	LR	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CAi
HL	colec.	LR	LR	LR	LR	LR	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CAi
RCH Ancha						colec.	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CAi
RCH Fina						colec.	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CAi
Recreo						colec.	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CAi
Recreo Salinas						colec.	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CAi
Salinas Grandes						colec.	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CAi
San Martín						colec.	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CAi
SC	colec.	LR	LR	LR	LR	LR	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CAi
SL	colec.	LR	LR	LR	LR	LR	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CAi
Tilimuqui										colec.	CA	CA	CA	CAi
ElTipán						colec.	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CAi

Nota: momentos de cosecha de semilla [s] y de realización de las evaluaciones (\*) para el Capítulo 3.

\*Ensayos de germinación a distintas temperaturas [g], y con plántulas [p] (laboratorio):

s g p

\*Ensayo de germinación a distintos potenciales osmóticos [g] (laboratorio):

s g

\*Medición de caracteres en plantas de igual edad [m] (jardín común CAi):

m

\*\* Las poblaciones ‘Chamical’ y ‘Kinney’ son materiales vegetales registrados por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria de Argentina (INTA, <https://inta.gob.ar/variedades/chamical-inta>) y el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA-NRCS, 2020), respectivamente. Se consideró como fecha de colección cuando la semilla fue provista por dichos organismos.

Cuadro 7.3. Tasa media de germinación [ $d^{-1}$ ; estimada según Ranal y Santana (2006), Lozano-Isla et al. (2019)], promedio para cada población y temperatura.

Subconti- nente	Población	16 °C	23 °C	30 °C	37 °C	44 °C	47.5 °C	51 °C
NA	Bowie	0.00	0.14	0.26	0.40	0.19	0.00	0.00
NA	Kinney	0.00	0.03	0.22	0.20	0.28	0.00	0.00
NA	Knox	0.00	0.17	0.33	0.47	0.17	0.00	0.00
NA	Lucero	0.00	0.02	0.17	0.25	0.06	0.00	0.00
NA	San Simon	0.00	0.08	0.36	0.23	0.23	0.00	0.00
NA	Tornillo	0.00	0.05	0.30	0.33	0.30	0.00	0.00
NA	White Sands	0.00	0.08	0.20	0.38	0.11	0.00	0.00
SA	Amblayo	0.09	0.15	0.13	0.25	0.00	0.00	0.00
SA	Chamical	0.00	0.14	0.32	0.41	0.20	0.00	0.00
SA	Colpes	0.00	0.12	0.31	0.30	0.23	0.00	0.00
SA	HC	0.00	0.10	0.28	0.31	0.27	0.00	0.00
SA	HL	0.02	0.15	0.34	0.47	0.21	0.00	0.00
SA	RCH Ancha	0.02	0.13	0.26	0.31	0.23	0.00	0.00
SA	RCH Fina	0.00	0.10	0.21	0.16	0.14	0.00	0.00
SA	Recreo	0.00	0.09	0.13	0.14	0.21	0.00	0.00
SA	Recreo Salinas	0.00	0.08	0.21	0.30	0.22	0.00	0.00
SA	Salinas Grandes	0.05	0.10	0.23	0.32	0.24	0.00	0.00
SA	San Martín	0.00	0.04	0.16	0.24	0.21	0.00	0.00
SA	SC	0.06	0.17	0.40	0.34	0.20	0.00	0.00
SA	SL	0.00	0.16	0.36	0.28	0.35	0.00	0.00
SA	Tilimuqui	0.00	0.07	0.23	0.23	0.17	0.00	0.00
SA	El Tipán	0.00	0.10	0.30	0.28	0.21	0.00	0.00
NA	<i>(promedio)</i>	<i>0.000</i>	<i>0.081</i>	<i>0.263</i>	<i>0.323</i>	<i>0.191</i>	<i>0.000</i>	<i>0.000</i>
SA	<i>(promedio)</i>	<i>0.017</i>	<i>0.114</i>	<i>0.255</i>	<i>0.290</i>	<i>0.206</i>	<i>0.000</i>	<i>0.000</i>

Cuadro 7.4. Estimaciones no mostradas en Resultados, de temperatura máxima (T.max.) de germinación para cada población (obtenidas mediante ajuste de regresión bi-lineal, según Seepaul et al. 2011). En las tres últimas filas se muestran los valores promedio por subcontinente y el nivel de significancia estadística de su comparación ( $P>0.05$ , n.s.).

Subcontinente	Población	T.max.
NA	Bowie	47.5
NA	Kinney	54.2
NA	Knox	47.5
NA	Lucero	47.1
NA	San Simon	51.0
NA	Tornillo	47.5
NA	White Sands	47.7
SA	Amblayo	50.5
SA	Chamical	48.2
SA	Colpes	49.6
SA	HC	50.3
SA	HL	47.5
SA	RCH Ancha	47.5
SA	RCH Fina	50.4
SA	Recreo	54.6
SA	Recreo Salinas	47.5
SA	Salinas Grandes	47.5
SA	San Martín	47.5
SA	SC	48.8
SA	SL	52.7
SA	Tilimuqui	49.4
SA	El Tipán	49.6
NA	<i>(promedio)</i>	48.9
SA	<i>(promedio)</i>	49.4
<i>Diferencia entre subcontinentes</i>		<i>n.s.</i>

Cuadro 7.5. Datos climáticos históricos de sitios de Norteamérica (A-C) y Sudamérica (D-G, próxima página).

Cuadro 7.5.A. Datos climáticos históricos de Las Cruces (NM, EEUU).

Fuente: <https://es.climate-data.org/>

	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic
Temperatura media (°C)	5.8	8.2	11.3	15.7	20.2	25.2	27	25.6	22.5	16.5	9.9	5.8
Temperatura mínima media	-3	-1	1.8	5.9	10.3	15.5	18.9	17.7	14	7	0.5	-2.9
Temperatura máxima media	14.7	17.5	20.9	25.5	30.2	35	35.1	33.5	31	26.1	19.4	14.6
Precipitación (mm)	11	9	7	4	7	16	41	51	34	24	11	17

Cuadro 7.5.B. Datos climáticos históricos de El Paso (TX, EEUU).

Fuente: <https://es.climate-data.org/>

	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic
Temperatura media (°C)	6.5	9.1	12.5	17.6	22.1	26.8	27.9	26.9	23.6	18	11.1	7.3
Temperatura mínima media	-1.3	0.7	3.8	8.7	13	17.8	20.2	19.4	15.9	9.5	2.6	-0.7
Temperatura máxima media	14.4	17.6	21.2	26.6	31.3	35.8	35.7	34.5	31.4	26.5	19.6	15.3
Precipitación (mm)	10	11	8	5	6	16	41	41	34	20	10	15

Cuadro 7.5.C. Datos climáticos históricos de Bowie (AZ, EEUU).

Fuente: <https://www.usclimatedata.com/climate/bowie/arizona/united-states/usaz0021>

	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic
Temperatura media (°C)	7.9	10.3	13.2	16.9	21.5	26.6	28.1	26.8	24.1	18.1	11.7	7.8
Temperatura mínima media	-0.1	1.7	4.1	7.1	11.7	16.8	20	18.9	15.7	9.5	3.1	-0.2
Temperatura máxima media	15.8	18.8	22.2	26.6	31.2	36.3	36.2	34.6	32.4	26.7	20.3	15.7
Precipitación (mm)	26	21	17	7	10	12	51	56	26	34	19	32

Cuadro 7.5.D. Datos climáticos históricos de San Fernando del Valle de Catamarca (Argentina).

Fuente: <https://es.climate-data.org/>

	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic
Temperatura media (°C)	27.4	25.7	23.8	19.5	15.7	11.6	11.6	14.6	18.2	21.9	24.6	27.1
Temperatura mínima media	20.8	19.4	17.5	12.8	8.9	4.8	3.7	6.6	10.9	14.8	17.8	20.3
Temperatura máxima media	34	32.1	30.1	26.2	22.6	18.4	19.5	22.6	25.6	29	31.4	34
Precipitación (mm)	79	74	56	19	10	6	5	6	9	27	47	53

Cuadro 7.5.E. Datos climáticos históricos de La Rioja (Argentina).

Fuente: <https://es.climate-data.org/>

	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic
Temperatura media (°C)	28	26.6	24	19	14.8	11.4	10.9	13.8	17.5	21.3	25	27.3
Temperatura mínima media	20.6	19.4	17.4	12	8	4.8	2.9	5.3	9.4	13.8	17.6	19.9
Temperatura máxima media	35.5	33.9	30.7	26.1	21.7	18.1	19	22.4	25.7	28.9	32.5	34.7
Precipitación (mm)	71	58	54	18	10	3	4	5	6	20	30	51

Cuadro 7.5.F. Datos climáticos históricos de San Rafael (Mendoza, Argentina).

Fuente: <https://es.climate-data.org/>

	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic
Temperatura media (°C)	23	22.5	19.3	13.7	10.1	7	7.3	8.8	11.9	15.3	19.4	21.6
Temperatura mínima media	15	14.1	11.6	5.3	2.5	-0.5	-0.4	0.5	3.9	7.5	11.4	13.4
Temperatura máxima media	31.1	31	27.1	22.2	17.8	14.6	15	17.1	20	23.1	27.5	29.8
Precipitación (mm)	49	40	36	23	11	9	11	13	24	29	38	45

Cuadro 7.5.G. Datos climáticos históricos de Dean Funes (Córdoba, Argentina).

Fuente: <https://es.climate-data.org/>

	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic
Temperatura media (°C)	22.7	21.6	18.9	16.1	13.3	10.7	10.2	11.9	14.7	17.3	19.5	22.3
Temperatura mínima media	15.6	14.7	12.4	9.4	6.7	4.3	2.9	3.9	7	10.2	12.2	15.1
Temperatura máxima media	29.8	28.6	25.4	22.9	20	17.1	17.5	19.9	22.4	24.5	26.9	29.5
Precipitación (mm)	100	97	84	42	27	9	10	7	20	54	81	97

Cuadro 7.6. Cantidad de individuos analizados por población según la técnica y tipo de marcador molecular.

Subcontinente	Población	<i>ITS1-5.8S-ITS2</i>	<i>rpl32-trnL</i>	<i>Mss8</i>	<i>Mss11</i>	<i>Mss93</i>	ADN-ploidía
SA	Amblayo	0	1	2	2	2	2
SA	Chamical	1	1	5	5	5	2
SA	Colpes	1	1	4	5	5	2
SA	El Tipán	1	1	5	5	4	2
SA	HC	1	0	5	1	5	2
SA	HL	1	1	0	0	0	2
SA	RCH Ancha	0	1	0	0	0	2
SA	RCH Fina	1	1	5	1	5	3
SA	Recreo	1	1	0	4	4	2
SA	Recreo Salinas	1	1	5	4	5	2
SA	Salinas Grandes	1	1	5	5	5	3
SA	San Martín	0	1	5	1	5	2
SA	SC	1	1	0	0	0	2
SA	SL	1	0	5	5	5	2
SA	Tilimuqui	1	1	5	3	5	2
NA	Bowie	0	1	5	5	5	2
NA	Kinney	1	1	0	5	4	2
NA	Knox	1	1	0	4	4	2
NA	Lucero	1	1	4	3	5	3
NA	San Simon	1	1	5	5	5	2
NA	Tornillo	1	1	5	4	5	2
NA	White Sands	0	1	5	5	5	2

**Protocolo 7.1 (Paula Mathiasen y Paula Quiroga, comunicación personal)****Extracción de ADN (adaptado de Doyle y Doyle 1990)**

TA: temperatura ambiente; H: heladera; F: *freezer*.

1. Agregar 7.5 mg de DTT (H) y 0.01 g de PVP 40000 (TA) por cada 1 ml de buffer de extracción. Calentar el buffer de extracción a 55°C.
2. Colocar 40 mg de material seco (o 100 mg de material fresco) en un tubo Eppendorf de 1.5 ml y sumergir el tubo en nitrógeno líquido y moler hasta obtener un polvo fino.
3. Agregar 1 ml de buffer de extracción en cada tubo y mezclar bien.
4. Incubar en baño a 55° C durante 1 hora. Homogeneizar por inversión del tubo cada 15 min.
5. Sacar los tubos del baño y dejarlos 10 min para que se enfríen.
6. Agregar 400 µl de diclorometano (TA) y mezclar suavemente hasta obtener una emulsión.
7. Centrifugar 10 min a 13000 rpm. Pasar el sobrenadante a un tubo nuevo cuidando de no pipetear la interfase.
8. Repetir pasos 6 y 7.
9. Agregar 400 µl (2/3 del volumen) de isopropanol (F) y mezclar suavemente. Si el pellet de ADN no aparece, colocar los tubos en *freezer* a -20°C durante 30 min (se puede dejar toda la noche).
10. Centrifugar 15 min a 13000 rpm. Remover el isopropanol cuidando de no perder el pellet y secar los tubos durante 1 hora sobre papel de filtro a TA.

11. Agregar 300  $\mu$ l de TE o Ae (con ARNasa, 0.2  $\mu$ l/ml) y 200  $\mu$ l (2/3 vol.) de NaCl 5 M. Mezclar bien suavemente hasta que el pellet se disuelva.
12. Agregar 1 ml (2 vol.) de etanol 100% (H), mezclar suavemente. Colocar a -20° C al menos 1 hora (se puede dejar toda la noche o varios días).
13. Centrifugar 15 min a 13000 rpm. Remover el sobrenadante cuidadosamente y secar los tubos durante 1 hora sobre papel de filtro.
14. Agregar 50-100  $\mu$ l de buffer TE 1X (TA) o buffer Ae (TA) con ARNasa (0.2  $\mu$ l/ml de solución stock: 100 mg/ml). Colocar en baño a 55° C durante 10 min.

**Buffer de extracción de ADN**

ATMAB (Alkyltrimethyl Ammonium Bromide) – Sigma M7635 20 g

\*EDTA 0.5 M pH 8 40 ml

\*Tris HCl 1 M pH 8 100 ml

\*NaCl 5 M 280 ml

H<sup>2</sup>O destilada llevar a 1000 ml

\* Autoclavar antes de preparar el buffer. Disolver el ATMAB en baño a 55°C. Autoclavar el buffer de extracción una vez preparado.

**Buffer TE 10X (Solución stock)**

Tris 100 mM 12.11 g

EDTA 10 mM 3.72 g

H<sup>2</sup>O destilada 1000 ml

Agregar 20 mg/ml de ARNasa

**Solución NaCl 5 M (para preparar 1000 ml)**

NaCl 292.2 g

H<sup>2</sup>O destilada 1000 ml

## Condiciones de PCR de las secuencias de ADN

### Mezcla de PCR

H <sub>2</sub> O	13.72 $\mu$ l
Buffer 10X	2 $\mu$ l
DNTPs	0.4 $\mu$ l (2.5 mM de cada uno)
Magnesio	1.6 $\mu$ l (50 mg)
Primer F	0.6 $\mu$ L (5 $\mu$ M)
Primer R	0.6 $\mu$ L (5 $\mu$ M)
TAQ (Genbiotech)	0.08 $\mu$ L (5 U/ $\mu$ L)
ADN	0.8 $\mu$ L (30 ng/ $\mu$ L)
Volumen total 20 $\mu$ L	

### Condiciones de PCR

Desnaturalización inicial	94°C	
30 ciclos de:	Desnaturalización	94°C
	Temperatura de anclaje (varía según primer)	30 s
	Extensión	1:30 min
Extensión final		10 min

## Condiciones de PCR de los microsatélites

### Mezcla de PCR

H <sup>2</sup> O	6.3 µl
Buffer 10X	1 µl
DNTPs	0.8 µl (2.5 mM de cada uno)
Primer F	0.25 µl (5 µM)
Primer R	0.25 µl (5 µM)
TAQ (Genbiotech)	0.15 µl (5 U/µl)
ADN	1.25 uL (30 ng/µl)
Volumen total 10 µl	

### Condiciones de PCR

Desnaturalización inicial	94°C	30 s
40 ciclos de:		
Desnaturalización	94°C	45 s
Temperatura de anclaje		30 s
Extensión	72°C	1:30 min
Extensión final	72°C	10 min

Microsatélite	Temperatura de anclaje	Tamaño esperado	Fluorocromo
<i>Mss8</i>	50°C	130 pb	NED
<i>Mss11</i>	54°C	150 pb	VIC
<i>Mss93</i>	54°C	180 pb	PET
<i>Mss72</i>	57°C	400 pb	VIC
<i>Mss77</i>	59°C	650 pb	NED
<i>Mss90</i>	57°C	200 pb	6-FAM

Cuadro 7.7. Escenarios seleccionados en DIYABC, y valores de la mediana estimada para los distintos parámetros. Entre paréntesis se muestra el valor de RMAE (mediana relativa del error absoluto) de cada estimación, como indicador de su precisión.

	<b>Escenario más probable</b> [probabilidad aproximación logística]	<b>SA</b>	<b>NA</b>	<b>t1</b>	<b>useq</b>	<b>k1seq</b>	<b>PA</b>	<b>μmic</b>	<b>pmic</b>	<b>snimic</b>
<i>rpl32-trnL</i>	4 [0.25, 0.23-0.28]	37500 (0.24)*	52700 (0.26)	3330 (0.22)	4.1 x 10 <sup>-8</sup> (0.20)	7.9 (0.05)	-	-	-	-
<i>ITS1-5.8S-ITS2</i>	1 [0.67, 0.57-0.77]	7930 (0.24)	4000 (0.30)	2040 (0.21)	6.9 x 10 <sup>-8</sup> (0.32)	5.4 (0.14)	-	-	-	-
<b>Microsa télites</b>	6 [0.38, 0.36-0.39]	48700 (0.24)	36800 (0.25)	462 (0.27)	-	-	986 (0.12)	1.8 x 10 <sup>-4</sup> (0.22)	2.4 x 10 <sup>-1</sup> (0.06)	6.4 x 10 <sup>-8</sup> (0.61)

**SA** y **NA** son los tamaños efectivos poblacionales para Sudamérica y Norteamérica, respectivamente.

**t1** es el tiempo desde la divergencia o separación de las poblaciones de Sudamérica y Norteamérica, definido en cantidad de generaciones. Para *Trichloris crinita* se estima un tiempo entre generaciones de 6 años.

**PA** es el tamaño efectivo de la población ancestral.

**useq** es la tasa de mutación de la secuencia.

**k1seq** es el número de haplotipos.

**μmic** es la tasa de mutación de microsatélite.

**pmic** es la proporción de mutaciones mayor que a *one step*.

**snimic** es la tasa de mutación no estándar.

Cuadro 7.8. Valores medios (± desvío estándar) para las variables climáticas temperatura media anual (TMA) y precipitación anual (PA) obtenidas para los sitios actualmente habitados por *Trichloris crinita* en Sudamérica y Norteamérica en los tiempos: presente, Holoceno Medio (-6000 años) y Último Máximo Glacial (-21000 años). Datos obtenidos de la base datos Worldclim 1.4 ([www.worldclim.com](http://www.worldclim.com)) para los sitios con presencia actual de la especie (coordenadas obtenidas de [www.gbif.org](http://www.gbif.org), empleadas antes en el Capítulo 2).

Subcontinente	Presente		Holoceno Medio		Último Máximo Glacial	
	TMA (°C)	PA (mm)	TMA (°C)	PA (mm)	TMA (°C)	PA (mm)
Sudamérica	18.4 (3.3)	558 (307)	17.9 (3.3)	510 (286)	15.1 (3.3)	481 (322)
Norteamérica	19.9 (2.6)	321 (136)	18.8 (2.6)	347 (139)	13.9 (3.4)	341 (108)

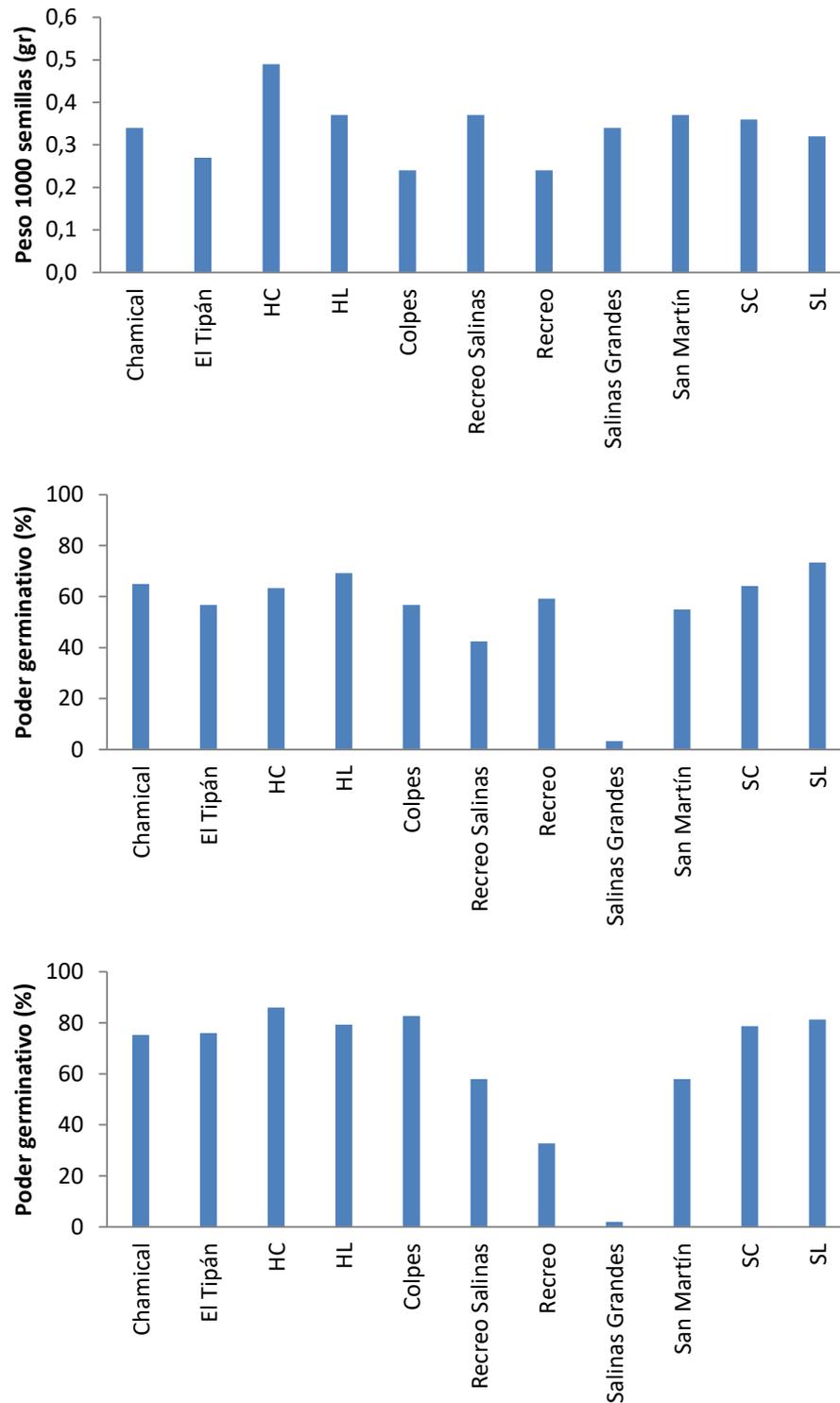


Figura 7.7. Peso (arriba) y poder germinativo (% , centro) de la semilla de Catamarca; poder germinativo de la semilla de La Rioja (abajo).

Cuadro 7.9. Coeficientes de correlación de Pearson y significancia estadística (\*,  $P < 0.05$ ; n.s., no significativa) entre variables mencionadas en el Cuadro 6.2 y variables climáticas de los sitios de origen de las poblaciones (TMA, temperatura media anual, TMaxMC, temperatura máxima del mes más cálido; TMinMF, temperatura mínima del mes más frío; PMA, precipitación media anual; IA, índice de aridez).

	TMA	TMaxMC	TMinMF	PMA	IA
Dif. P1000 sem. (2012-2018; SA 11)	-0.17 ns	-0.42 ns	0.45 ns	0.21 ns	0.17 ns
Dif. poder germin. (LR-Cat; SA 11)	-0.49 ns	-0.42 ns	-0.53 ns	-0.02 ns	0.05 ns
Ancho lámina foliar (NA 7)	-0.62 ns	-0.40 ns	-0.63 ns	-0.38 ns	-0.34 ns
Ancho lámina foliar (SA 15)	<b>-0.58 *</b>	<b>-0.63 *</b>	<b>-0.54 *</b>	<b>-0.66 *</b>	<b>-0.65 *</b>
Poder germinativo (a 30°C; NA 7)	-0.17 ns	-0.24 ns	-0.17 ns	-0.30 ns	-0.33 ns
Poder germinativo (a 30°C; SA 15)	<b>0.54 *</b>	<b>0.65 *</b>	0.44 ns	<b>0.57 *</b>	<b>0.55 *</b>
Temp. óptima germinación (NA 7)	-0.13 ns	0.31 ns	-0.25 ns	-0.38 ns	-0.43 ns
Temp. óptima germinación (SA 15)	0.47 ns	0.47 ns	0.44 ns	0.45 ns	0.41 ns
Diversidad genética (índice I; NA 7)	0.28 ns	0.11 ns	0.29 ns	0.37 ns	0.39 ns
Diversidad genética (índice I; SA 12)	-0.31 ns	-0.24 ns	-0.41 ns	<b>-0.68 *</b>	<b>-0.75 *</b>

Nota: Las correlaciones significativas del ancho de lámina foliar y poder germinativo a 30°C para las poblaciones de Sudamérica dejaron de ser significativas al remover la población 'Amblayo' (proveniente de un sitio notoriamente más alto y frío que el resto, 2500 m.s.n.m. y TMA=12.6°C) del análisis, no sucedió lo mismo con correlaciones significativas observadas para diversidad genética que se mantuvieron como estadísticamente significativas.

### Referencias bibliográficas

- Aguiar, M. R., Soriano, A., Sala, O. E. (1992). Competition and facilitation in the recruitment of seedlings in Patagonian steppe. *Functional Ecology*, 6, 66-70.
- Al-Ahmadi, M. J., Kafi, M. (2007). Cardinal temperatures for germination of *Kochia scoparia* (L.). *Journal of Arid Environments*, 68(2), 308-314.
- Allouche, O., Tsoar, A., Kadmon, R. (2006). Assessing the accuracy of species distribution models: prevalence, kappa and the true skill statistic (TSS). *Journal of Applied Ecology*, 43, 1223-1232.
- Amarilla, L. D., Chiapella, J. O., Sosa, V., Moreno, N. C., Anton, A. M. (2015). A tale of North and South America: Time and mode of dispersal of the amphitropical genus *Munroa* (Poaceae, Chloridoideae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 179(1), 110-125.
- Anderson, D. L., Del Aguila, J. A., Marchi, A., Vera, J. C., Oriente, E. L. (1980). Manejo del pastizal natural y producción ganadera. Parte 1. Páginas 1-61. Editorial INTA. Buenos Aires, Argentina.
- Avise, J. C. (2004). *Molecular markers, natural history and evolution* 2nd edn. Sunderland: Sinauer.
- Bailey, T. G., Harrison, P. A., Davidson, N. J., Weller-Wong, A., Tilyard, P., Steane, D. A., ... Potts, B. M. (2021). Embedding genetics experiments in restoration to guide plant choice for a degraded landscape with a changing climate. *Ecological Management & Restoration*, 22, 92-105.
- Barve, N., Barve, V., Jiménez-Valverde, A., Lira-Noriega, A., Maher, S. P., Peterson, A. T., Soberón, J., Villalobos, F. (2011). The crucial role of the accessible area in ecological niche modeling and species distribution modeling. *Ecological Modelling*, 222(11), 1810-1819.
- Baskin, C. C., Baskin, J. M. (2014). *Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination*. 2nd edn. Academic Press: San Diego, CA, USA.
- Biurrun, F. N. (1988). *La Región de Los Llanos. El deterioro del Ambiente en la Argentina*. Fundación para la Educación, la Ciencia y la Cultura. Buenos Aires, Argentina.
- Blanco, L., Biurrun, F., Ferrando, C. (2005). Niveles de degradación de la vegetación del Chaco Árido: una aproximación cuantitativa a partir de imágenes satelitales. Serie de publicaciones del Área de Investigación del INTA EEA La Rioja. 11p.
- Bolnick, D. I., Amarasekare, P., Araújo, M. S., Bürger, R., Levine, J. M., Novak, M., Rudolf, V. H., Schreiber, S. J., Urban, M. C., Vasseur, D. A. (2011). Why intraspecific trait variation matters in community ecology. *Trends in Ecology and Evolution*, 26(4), 183-192.
- Booth, T. H. (2018). Why understanding the pioneering and continuing contributions of BIOCLIM to species distribution modelling is important. *Austral ecology*, 43(8), 852-860.
- Bosso, L., Russo, D., Di Febbraro, M., Cristinzio, G., Zoina, A. (2016). Potential distribution of *Xylella fastidiosa* in Italy: a maximum entropy model. *Phytopathologia Mediterranea*, 55, 62-72.

- Bradford, K. J. (2002). Applications of hydrothermal time to quantifying and modeling seed germination and dormancy. *Weed Science*, 50(2), 248-260.
- Breed, M. F., Stead, M. G., Ottewell, K. M., Gardner, M. G., Lowe, A. J. (2013). Which provenance and where? Seed sourcing strategies for revegetation in a changing environment. *Conservation Genetics*, 14(1), 1-10.
- Broadhurst, L. M., Lowe, A., Coates, D. J., Cunningham, S. A., McDonald, M., Vesk, P. A., Yates, C. (2008). Seed supply for broadscale restoration: maximizing evolutionary potential. *Evolutionary Applications*, 1(4), 587-597.
- Broennimann, O., Fitzpatrick, M. C., Pearman, P. B., Petitpierre, B., Pellissier, L., Yoccoz, N. G., Thuiller, W., Fortin, M.J., Randin, C., Zimmermann, N. E., Graham, C. H., Guisan, A. (2012). Measuring ecological niche overlap from occurrence and spatial environmental data. *Global Ecology and Biogeography*, 21(4), 481-497.
- Broennimann, O., Treier, U. A., Müller-Schärer, H., Thuiller, W., Peterson, A. T., Guisan, A. (2007). Evidence of climatic niche shift during biological invasion. *Ecology Letters*, 10(8), 701-709.
- Brown, D. E., Makings, E. (2014). A guide to North American grasslands. *Desert Plants*, 29, 1399-160.
- Brown, J. L., Carnaval, A. C. (2019). A tale of two niches: methods, concepts, and evolution. *Frontiers of Biogeography*, 11(4), 1-27.
- Bucharova, A., Bossdorf, O., Hölzel, N., Kollmann, J., Prasse, R., Durka, W. (2019). Mix and match: regional admixture provenancing strikes a balance among different seed-sourcing strategies for ecological restoration. *Conservation Genetics*, 20(1), 7-17.
- Bucharova, A., Durka, W., Hölzel, N., Kollmann, J., Michalski, S., Bossdorf, O. (2017). Are local plants the best for ecosystem restoration? It depends on how you analyze the data. *Ecology and Evolution*, 7(24), 10683-10689.
- Burkart, R., Bárbaro, N., Sánchez, R. O., Gómez, D. A. (1999). Ecorregiones de la Argentina, APN, PRODIA. Pp. 43.
- Cabido, M., Ateca, N., Astegiano, M., Anton, A. (1997). Distribution of C3 and C4 grasses along an altitudinal gradient in Central Argentina. *Journal of Biogeography*, 24(2), 197-204.
- Cabrera, A. L. (1976). Regiones fitogeográficas argentinas. Pp. 1-85 en W. F. Kugler (ed.). *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*. 2da edición. Acme, Buenos Aires, Argentina.
- Cadotte, M. W., Carscadden, K., Mirotnick, N. (2011). Beyond species: functional diversity and the maintenance of ecological processes and services. *Journal of Applied Ecology*, 48(5), 1079-1087.
- Call, C. A., Roundy, B. A. (1991). Perspectives and processes in revegetation of arid and semiarid rangelands. *Journal of Range Management*, 44, 543- 549.

- Canfield, R. H. (1957). Reproduction and life span of some perennial grasses of southern Arizona. *Journal of Range Management*, 10(5), 199-203.
- Carloni, E. J., Quiroga, R. E., Grunberg, K., Premoli, A. C. (2021). Nivel de ADN-Ploidía en poblaciones sudamericanas y norteamericanas de la gramínea nativa disyunta *Trichloris crinita* (Chloridoideae, Poaceae). *Revista FAVE Ciencias Agrarias*, 20, 220-227.
- Cavagnaro, J. B. (1988). Distribution of C3 and C4 grasses at different altitudes in a temperate arid region of Argentina. *Oecologia*, 76(2), 273-277.
- Cavagnaro, P. F., Cavagnaro, J. B., Lemes, J. L., Masuelli, R. W., Passera, C. B. (2006). Genetic diversity among varieties of the native forage grass *Trichloris crinita* based on AFLP markers, morphological characters, and quantitative agronomic traits. *Genome*, 49(8), 906-918.
- Cavalli-Sforza, L. L., Edwards, A. W. (1967). Phylogenetic analysis. Models and estimation procedures. *American Journal of Human Genetics*, 19(3), 233-257.
- Chapin III, F. S. (1980). The mineral nutrition of wild plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 11(1), 233-260.
- Chapin III, F. S., Autumn, K., Pugnaire, F. (1993). Evolution of suites of traits in response to environmental stress. *The American Naturalist*, 142, S78-S92.
- Charlesworth, B. (1994). *Evolution in age-structured populations* (Vol. 2). Cambridge: Cambridge University Press.
- Copeland, S. M., Baughman, O. W., Boyd, C. S., Davies, K. W., Kerby, J., Kildisheva, O. A., Svejcar, T. (2021). Improving restoration success through a precision restoration framework. *Restoration Ecology*, 29(2), e13348.
- Cornuet, J. M., Pudlo, P., Veyssier, J., Dehne-García, A., Gautier, M., Leblois, R., Marin, J., Estoup, A. (2014). DIYABC v2. 0: a software to make approximate Bayesian computation inferences about population history using single nucleotide polymorphism, DNA sequence and microsatellite data. *Bioinformatics*, 30(8), 1187-1189.
- Coughenour, M. B. (1985). Graminoid responses to grazing by large herbivores: adaptations, exaptations, and interacting processes. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 72, 852-863.
- Da Silva, S. B., Da Silva, A. (2018). Pstat: An R package to assess population differentiation in phenotypic traits. *The R Journal*, 10(1), 447-454.
- Dalmasso, A. D. (1994). Fenología de cinco gramíneas de interés forrajero: *Pappophorum caespitosum*, *Trichloris crinita*, *Setaria leucopila*, *Digitaria californica*, *Diplachne dubia*. *Multequina*, 3, 9-34.
- De Martonne, E. (1926). Aerisme, et índices d'aridite. *Comptesrendus de L'Academie des Sciences*, 182, 1395-1398.
- De Silva, P. H. A. U., Snaydon, R. W. (1995). Chromosome number in *Cynodon dactylon* in relation to ecological conditions. *Annals of Botany*, 76(5), 535-537.

- Di Giambattista, G., Garbero, M., Ruiz, M., Giulietti, A., Pedranzani, H. (2010). Germinación de *Trichloris crinita* y *Digitaria eriantha* en condiciones de estrés abiótico. *Pastos y Forrajes*, 33(4), 1-10.
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., Robledo, C. W. (2012). InfoStat versión 2012. Grupo InfoStat, FCA. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.
- Díaz, S., Cabido, M. (1997). Plant functional types and ecosystem function in relation to global change. *Journal of Vegetation Science*, 8, 463-474.
- Diez, H. A., Calella, H. F., Perez, J. C., Pignata, G., Bronstein, G., Heredia, H., Bruno, V., Santa Cruz, R., Corso, R., Sánchez Cantero, M., Corvalan, S., Ferrari, C., Piedrabuena, C. (1991). Acuerdo federal para el desarrollo rural del Chaco Árido. Consejo Federal de Inversiones, Gobierno de la Nación Argentina.
- DiVittorio, C. T., Corbin, J. D., D'Antonio, C. M. (2007). Spatial and temporal patterns of seed dispersal: an important determinant of grassland invasion. *Ecological Applications*, 17(2), 311-316.
- Doak, D. F., Bigger, D., Harding, E. K., Marvier, M. A., O'Malley, R. E., Thomson, D. (1998). The statistical inevitability of stability-diversity relationships in community ecology. *The American Naturalist*, 151, 264– 276.
- Doležel, J., Dolezelová, M., Novák, F. J. (1994). Flow cytometric estimation of nuclear DNA amount in diploid bananas (*Musa acuminata* and *M. balbisiana*). *Biologia Plantarum*, 36, 351–357.
- Doležel, J., Greilhuber, J., Suda, J. (2007). Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. *Nature Protocols*, 2(9), 2233.
- Donoghue, M. J. (2011). Bipolar biogeography. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(16), 6341-6342.
- Doyle, J. J., Doyle, J. L. (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12, 13-15.
- Earl, D. A., VonHoldt, B. M. (2012). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, 4(2), 359-361.
- Early, R., Sax, D. F. (2014). Climatic niche shifts between species' native and naturalized ranges raise concern for ecological forecasts during invasions and climate change. *Global Ecology and Biogeography*, 23, 1356-1365.
- Ehlers, J., Gibbard, P. L. (2007). The extent and chronology of Cenozoic global glaciation. *Quaternary International*, 164, 6-20.
- Elith, J., Graham, C. H., Anderson, R. P., Dudík, M., Ferrier, S., Guisan, A., Hijmans, R. J., Huettmann, F., Leathwick, J. R., Lehmann, A., Li, J., Lohmann, L. G., Loiselle, B. A., Manion, G., Moritz, C., Nakamura, M., Nakazawa, Y., McC. Overton, J., Peterson, A. T., Phillips, S. J., Richardson, K., Scachetti-Pereira, R., Schapire, R. E., Soberón, J., Williams, S., Wisz, M. S.,

- Zimmermann, N. E. (2006). Novel methods improve prediction of species' distributions from occurrence data. *Ecography*, 29, 129-151.
- Endler, J. A. (1986). *Natural Selection in the Wild*. Princeton University Press.
- Epanchin-Niell, R., Englin, J., Nalle, D. (2009). Investing in rangeland restoration in the arid west, USA: countering the effects of an invasive weed on the long-term fire cycle. *Journal of Environmental Management*, 91, 370-379.
- Escudero, A., Iriondo, J. M., Torres, M. E. (2003). Spatial analysis of genetic diversity as a tool for plant conservation. *Biological Conservation*, 113(3), 351-365.
- Evanno, G., Regnaut, S., Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular ecology*, 14(8), 2611-2620.
- Evans, A.E., Zimova, M., Giery, S.T., Golden, H.E., Pastore, A.L., Nadeau, C.P., Urban, M.C. (2022), An eco-evolutionary perspective on the humpty-dumpty effect and community restoration. *Oikos* e08978.
- Ewen, J. G., Armstrong, D. P., Parker, K. A. (Eds.). (2012). *Reintroduction biology: integrating science and management* (No. 9). John Wiley & Sons.
- Excoffier, L., Lischer, H. E. L. (2010). Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10, 564-567.
- Feng, X., Park, D. S., Walker, C., Peterson, A. T., Merow, C., Papeş, M. (2019). A checklist for maximizing reproducibility of ecological niche models. *Nature Ecology & Evolution*, 3, 1382–1395.
- Fitzpatrick, M. C., Dunn, R. R., Sanders, N. J. (2008). Data sets matter, but so do evolution and ecology. *Global Ecology and Biogeography*, 17(4), 562-565.
- Fitzpatrick, M. C., Weltzin, J. F., Sanders, N. J., Dunn, R. R. (2007). The biogeography of prediction error: why does the introduced range of the fire ant over-predict its native range? *Global Ecology and Biogeography*, 16(1), 24-33.
- Flowers, T.J., Hagibaguari, M.A., Clipson, N.J. (1986). Halophytes. *The Quarterly Review of Biology*, 61, 313-337.
- Fourcade, Y., Engler, J. O., Rodder, D., Secondi, J. (2014). Mapping species distributions with MAXENT using a geographically biased sample of presence data: A performance assessment of methods for correcting sampling bias. *PLoS ONE*, 9, e97122.
- Frankham, R. (2003). Genetics and conservation biology. *Comptes Rendus Biologies*, 326, 22-29.
- Funk, J. L., Cleland, E. E., Suding, K. N., Zavaleta, E. S. (2008). Restoration through reassembly: plant traits and invasion resistance. *Trends in Ecology and Evolution*, 23, 695-703.
- Gaba, S., Perronne, R., Fried, G., Gardarin, A., Bretagnolle, F., Biju-Duval, L., Colbach, N., Cordeau, S., Fernández-Aparicio, M., Gauvrit, C., Gibot-Leclerc, S., Guillemin, J., Moreau, D.,

- Munier-Jolain, N., Strbik, F., Reboud, X. (2017). Response and effect traits of arable weeds in agro-ecosystems: a review of current knowledge. *Weed Research*, 57(3), 123-147.
- Gallagher, R. V., Beaumont, L. J., Hughes, L., Leishman, M. R. (2010). Evidence for climatic niche and biome shifts between native and novel ranges in plant species introduced to Australia. *Journal of Ecology*, 98(4), 790-799.
- Gamba, D., Muchhala, N. (2020). Global patterns of population genetic differentiation in seed plants. *Molecular Ecology*, 29(18), 3413-3428.
- Gann, G. D., McDonald, T., Walder, B., Aronson, J., Nelson, C. R., Jonson, J., Hallett, J. G., Eisenberg, C., Guariguata, M. R., Liu, J., Hua, F., Echeverría, C., Gonzales, E., Shaw, N., Decler, K., Dixon, K. W. (2019) International principles and standards for the practice of ecological restoration. Second edition. *Restoration Ecology*, 27, 1-46.
- García, E., C. Soto, F. Miranda. (1960). *Larrea* y clima. *Anales del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México* 31:133-171.
- Gaston, K.J. (2003). The structure and dynamics of geographic ranges. p. 266. In: P.H. Harvey y R.M. May (eds). *Oxford Series in Ecology and Evolution*. Oxford University Press.
- Gavuzzi, P., Rizza, F., Palumbo, M., Campanile, R. G., Ricciardi, G. L., Borghi, B. (1997). Evaluation of field and laboratory predictors of drought and heat tolerance in winter cereals. *Canadian Journal of Plant Science*, 77(4), 523-531.
- Golluscio, R. A., Deregibus, V. A., Paruelo, J. M. (1998). Sustainability and range management in the Patagonian steppes. *Ecología Austral*, 8(02), 265-284.
- Goncalves, A.L., García, M.V., Heuertz, M., González-Martínez, S. (2019). Demographic history and spatial genetic structure in a remnant population of the subtropical tree *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb.) Altschul (Fabaceae). *Annals of Forest Science* 76, 18 (2019).
- Gonzalez, C. L., Latigo, G. V. (1981). Rootplowing, front-end stacking, and seeding effects on herbaceous plant species composition. *Journal of Range Management*, 34(6), 460-465.
- Goodman, S. J. (1997). RST Calc: a collection of computer programs for calculating estimates of genetic differentiation from microsatellite data and determining their significance. *Molecular Ecology*, 6(9), 881-885.
- Gray, W. M. (1984). Atlantic seasonal hurricane frequency. Part I: El Niño and 30 mb quasi-biennial oscillation influences. *Monthly Weather Review*, 112(9), 1649-1668.
- Greco, S. A., Cavagnaro, J. B. (2003). Effects of drought in biomass production and allocation in three varieties of *Trichloris crinita* P.(Poaceae) a forage grass from the arid Monte region of Argentina. *Plant Ecology*, 164(1), 125-135.
- Greilhuber, J., Doležel, J., Lysak, M. A., Bennett, M. D. (2005). The origin, evolution and proposed stabilization of the terms 'genome size' and 'C-value' to describe nuclear DNA contents. *Annals of Botany*, 95(1), 255-260.

- Gremer, J. R., Venable, D. L. (2014). Bet hedging in desert winter annual plants: optimal germination strategies in a variable environment. *Ecology Letters*, 17(3), 380-387.
- Grubb, P. J. (1977). The maintenance of species-richness in plant communities: the importance of the regeneration niche. *Biological Reviews*, 52, 107-145.
- Guevara, J. C., Grunwaldt, E. G., Estevez, O. R., Bisigato, A. J., Blanco, L. J., Biurrun, F. N., Ferrando, C. A., Chirino, C. C., Morici, E., Fernandez, B., Allegretti, L. I., Passera, C. B. (2009). Rangeland livestock production in the Monte Desert, Argentina. *Journal of Arid Environments*, 73, 228-237.
- Guillera-Arroita, G., Lahoz-Monfort, J. J., Elith, J., Gordon, A., Kujala, H., Lentini, P. E., McCarthy, M. A., Tingley, R., Wintle, B. A. (2015). Is my species distribution model fit for purpose? Matching data and models to applications. *Global Ecology and Biogeography*, 24(3), 276-292.
- Guisan, A., Petitpierre, B., Broennimann, O., Daehler, C., Kueffer, C. (2014). Unifying niche shift studies: insights from biological invasions. *Trends in Ecology and Evolution*, 29, 260-269.
- Guisan, A., Thuiller, W. (2005). Predicting species distribution: offering more than simple habitat models. *Ecology Letters*, 8(9), 993-1009.
- Gurvich, D. E., Diaz, S., Falczuk, V., Hanguindeguy, N. P., Cabido, M., Thorpe, P. C. (2002). Foliar resistance to simulated extreme temperature events in contrasting plant functional and chorological types. *Global Change Biology*, 8(11), 1139-1145.
- Gutiérrez, H. F., Richard, G. A., Cerino, M. C., Pensiero, J. F. (2016). Sistema reproductivo de *Trichloris* (Poaceae, Chloridoideae, Chlorideae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 51(1), 111-122.
- Hardegree, S. P., Flerchinger, G. N., Van Vactor, S. S. (2003). Hydrothermal germination response and the development of probabilistic germination profiles. *Ecological Modelling*, 167(3), 305-322.
- Hardegree, S. P., Sheley, R. L., James, J. J., Reeves, P. A., Richards, C. M., Walters, C. T., Boydg, C. S., Moffeth, C. A., Flerchinger, G. N. (2020). Germination syndromes and their relevance to rangeland seeding strategies in the intermountain Western United States. *Rangeland Ecology and Management*, 73(2), 334-341.
- Hewitt, G. M. (2011). Quaternary phylogeography: the roots of hybrid zones. *Genetica*, 139(5), 617-638.
- Hijmans, R. J., Guarino, L., Cruz, M., Rojas, E. (2001). Computer tools for spatial analysis of plant genetic resources data: 1. DIVA-GIS. *Plant Genetic Resources Newsletter*, 2001, 127, 15 - 19.
- Hijmans, R.J., Cameron, S.E., Parra, J.L., Jones, P.G., Jarvis, A. (2005). Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*, 25, 1965-1978.

- Hill, M. P., Chown, S. L., Hoffmann, A. A. (2013). A predicted niche shift corresponds with increased thermal resistance in an invasive mite, *Halotydeus destructor*. *Global Ecology and Biogeography*, 22, 942-951.
- Hoffmann, A. A., Miller, A. D., Weeks, A. R. (2021). Genetic mixing for population management: From genetic rescue to provenancing. *Evolutionary Applications*, 14(3), 634-652.
- Höfner, J., Klein-Raufhake, T., Lampei, C., Mudrak, O., Bucharova, A., Durka, W. (2021). Populations restored using regional seed are genetically diverse and similar to natural populations in the region. *Journal of Applied Ecology*, 00, 1-11.
- Holmgren, M., Scheffer, M. (2001). El Niño as a window of opportunity for the restoration of degraded arid ecosystems. *Ecosystems*, 4(2), 151-159.
- Holmgren, M., Scheffer, M., Ezcurra, E., Gutiérrez, J. R., Mohren, G. M. (2001). El Niño effects on the dynamics of terrestrial ecosystems. *Trends in Ecology and Evolution*, 16(2), 89-94.
- Holmgren, M., Stapp, P., Dickman, C. R., Gracia, C., Graham, S., Gutiérrez, J. R., Hice, C., Jaksic, F., Kelt, D. A., Letnic, M., Lima, M., López, B. C., Meserve, P. L., Milstead, W. B., Polis, G. A., Previtalli, M. A., Richter, M., Sabaté, S., Squeo, F. A. (2006). Extreme climatic events shape arid and semiarid ecosystems. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 4(2), 87-95.
- Hooper, D. U., Chapin Iii, F. S., Ewel, J. J., Hector, A., Inchausti, P., Lavorel, S., Lawton, J. H., Lodge, D. M., Loreau, M., Naeem, S., Schmid, B., Setälä, H., Symstad, A. J., Vandermeer, J., Wardle, D. A. (2005). Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecological Monographs*, 75(1), 3-35.
- Hubisz, M. J., Falush, D., Stephens, M., Pritchard, J. K. (2009). Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular Ecology Resources*, 9(5), 1322-1332.
- Husband, B. C., Baldwin, S. J., Suda, J. (2013). The incidence of polyploidy in natural plant populations: major patterns and evolutionary processes. In *Plant Genome Diversity Volume 2* (pp. 255-276). Springer, Vienna.
- Hutchinson, G. E. (1957). Concluding remarks. *Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology*, 22, 415-427.
- Isbell, F. I., Polley, H. W., Wilsey, B. J. (2009). Biodiversity, productivity and the temporal stability of productivity: patterns and processes. *Ecology letters*, 12(5), 443-451.
- Jackson, S. T., Overpeck, J. T. (2000). Responses of plant populations and communities to environmental changes of the late Quaternary. *Paleobiology*, 26, 194-220.
- James J. J., Boyd C. S., Svejcar T. (2013a). Seed and Seedling Ecology Research to Enhance Restoration Outcomes. *Rangeland Ecology and Management*, 66, 115-116.
- James, J. J., Sheley, R. L., Erickson, T., Rollins, K. S., Taylor, M. H., Dixon, K. W. (2013b). A systems approach to restoring degraded drylands. *Journal of Applied Ecology*, 50(3), 730-739.

- James, J. J., Sheley, R. L., Leger, E. A., Adler, P. B., Hardegree, S. P., Gornish, E. S., Rinella, M. J. (2019). Increased soil temperature and decreased precipitation during early life stages constrain grass seedling recruitment in cold desert restoration. *Journal of Applied Ecology*, 56(12), 2609-2619.
- James, J. J., Svejcar, T. J., Rinella, M. J. (2011). Demographic processes limiting seedling recruitment in arid grassland restoration. *Journal of Applied Ecology*, 48(4), 961-969.
- Johnson, L. A., Porter, J. M. (2017). Fates of angiosperm species following long-distance dispersal: Examples from American amphitropical Polemoniaceae. *American Journal of Botany*, 104(11), 1729-1744.
- Johnson, R., Stritch, L., Olwell, P., Lambert, S., Horning, M. E., Cronn, R. (2010). What are the best seed sources for ecosystem restoration on BLM and USFS lands? *Native Plants Journal*, 11, 117-131.
- Johnston, I. M. (1940). The floristic significance of shrubs common to North and South American deserts. *Journal of the Arnold Arboretum*, 21(3), 356-363.
- Jones, T. A. (2003). The restoration gene pool concept: beyond the native versus non-native debate. *Restoration Ecology*, 11, 281-290.
- Jones, T. A., Monaco, T. A. (2009). A role for assisted evolution in designing native plant materials for domesticated landscapes. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 7, 541-547.
- Jones, T. A., Monaco T. A., James J. J. (2010). Launching the counterattack: interdisciplinary deployment of native-plant functional traits for repair of rangelands dominated by invasive annual grasses. *Rangelands*, 32, 38-42.
- Jones, T. A. (2013). When local isn't best. *Evolutionary Applications*, 6(7), 1109-1118.
- Kearney, M., Porter, W. P. (2004). Mapping the fundamental niche: physiology, climate, and the distribution of a nocturnal lizard. *Ecology*, 85(11), 3119-3131.
- Kelly, M. (2019). Adaptation to climate change through genetic accommodation and assimilation of plastic phenotypes. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 374(1768), 20180176.
- Kettenring, K. M., Mercer, K. L., Reinhardt Adams, C., Hines, J. (2014). Application of genetic diversity-ecosystem function research to ecological restoration. *Journal of Applied Ecology*, 51(2), 339-348.
- Kildisheva, O. A., Erickson, T. E., Merritt, D. J., Dixon, K. W. (2016). Setting the scene for dryland recovery: an overview and key findings from a workshop targeting seed-based restoration. *Restoration Ecology*, 24, 36-42.
- Kloster, D. Y., de los Angeles Ruíz, M., Ernst, R. D. (2016). Germinación y crecimiento inicial de poblaciones de *Trichloris crinita* (LAG.) Parodi ante condiciones de estrés hídrico. *Semiárida*, 26(2), 39-53.

- Kopelman, N. M., Mayzel, J., Jakobsson, M., Rosenberg, N. A., Mayrose, I. (2015). Clumpak: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. *Molecular Ecology Resources*, 15(5), 1179-1191.
- Kozub, P. C., Barboza, K., Galdeano, F., Quarin, C. L., Cavagnaro, J. B., Cavagnaro, P. F. (2017). Reproductive biology of the native forage grass *Trichloris crinita* (Poaceae, Chloridoideae). *Plant Biology*, 19(3), 444-453.
- Kozub, P. C., Cavagnaro, J. B., Cavagnaro, P. F. (2018). Exploiting genetic and physiological variation of the native forage grass *Trichloris crinita* for revegetation in arid and semi-arid regions: An integrative review. *Grass and Forage Science*, 73(2), 257-271.
- Kozub, P. C., Peñas, M. L., Novo P. E., Cavagnaro, P. F. (2019). Molecular cytogenetic characterization of the native forage grass *Trichloris crinita*. *Crop Science*, 59, 1–13.
- Kumar, S., Stohlgren, T. J. (2009). Maxent modeling for predicting suitable habitat for threatened and endangered tree *Canacomyrica monticola* in New Caledonia. *Journal of Ecology and Natural Environment*, 1, 94-98.
- LADA/FAO (2011). Evaluación de la Desertificación en Argentina. Resultados del Proyecto LADA/FAO.- Gráfica Latina, Buenos Aires, Argentina.
- Larson, J. E., Sheley, R. L., Hardegree, S. P., Doescher, P. S., James, J. J. (2015). Seed and seedling traits affecting critical life stage transitions and recruitment outcomes in dryland grasses. *Journal of Applied Ecology*, 52(1), 199-209.
- Lavorel, S., Garnier, E. (2002). Predicting changes in community composition and ecosystem functioning from plant traits: revisiting the Holy Grail. *Functional Ecology*, 16(5), 545-556.
- Lehman, C. L., Tilman, D. (2000). Biodiversity, stability, and productivity in competitive communities. *The American Naturalist*, 156, 534–552.
- Leimu, R., Fischer, M. (2008). A meta-analysis of local adaptation in plants. *PLoS One*, 3(12), e4010.
- Leva, P. E. (2010). Variación regional de las características agroecológicas y genéticas de *Bromus pictus* y *Poa ligularis* en estepas patagónicas. Tesis de Doctorado en Ciencias Agropecuarias. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. Escuela para Graduados.
- Lewontin, R. C. (1970). The units of selection. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1, 1-18.
- Lhomme, J. P., Winkel, T. (2002). Diversity–stability relationships in community ecology: re-examination of the portfolio effect. *Theoretical Population Biology*, 62(3), 271-279.
- Li, Y. C., Korol, A. B., Fahima, T., Beiles, A., Nevo, E. (2002). Microsatellites: genomic distribution, putative functions, and mutational mechanisms: a review. *Molecular Ecology*, 11, 2453– 2465.
- Liu, C., White, M., Newell, G. (2013). Selecting thresholds for the prediction of species occurrence with presence only data. *Journal of Biogeography*, 40, 778-789.

- Loreau, M., Hector, A. (2001). Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. *Nature*, 412(6842), 72-76.
- Loreau, M., Barbier, M., Filotas, E., Gravel, D., Isbell, F., Miller, S. J., Montoya, J. M., Wang, S., Aussenac, R., Germain, R., Thompson, P. L., Gonzalez, A., Dee, L. E. (2021). Biodiversity as insurance: from concept to measurement and application. *Biological Reviews*, 96, 2333-2354.
- Loveless, M. D., Hamrick, J. L. (1984). Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 15(1), 65-95.
- Lozano-Isla, F., Benites-Alfaro, O. E., Pompelli, M. F. (2019). GerminaR: An R package for germination analysis with the interactive web application “GerminaQuant for R”. *Ecological Research*, 34(2), 339-346.
- Lučanová, M. (2019). Genome size studies in plants - from intraspecific variation to ecological consequences. Praha. Rigorózní práce. Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Katedra botaniky. <https://dspace.cuni.cz/handle/20.500.11956/113977> (fecha de acceso: 21/03/2020)
- MacArthur, R. (1968). The theory of the niche. In: Lewontin, R.C. (Ed.), *Population Biology and Evolution*. Syracuse University Press, Syracuse, NY, pp. 159–176.
- Machado, M. J., Benito, G., Barriendos, M., Rodrigo, F. S. (2011). 500 years of rainfall variability and extreme hydrological events in southeastern Spain drylands. *Journal of Arid Environments*, 75(12), 1244-1253.
- Marinoni, L., Parra Quijano, M., Zabala, J. M., Pensiero, J. F., Iriondo, J. M. (2021). Spatiotemporal seed transfer zones as an efficient restoration strategy in response to climate change. *Ecosphere*, 12(5), e03462.
- Marinoni, L., Zabala, J.M., Parra-Quijano, M., Fernández, R.J., Pensiero, J.F. (2018). Genetic and environmental variation of seed weight in *Trichloris* species (Chloridoideae, Poaceae) and its association with seedling stress tolerance. *Plant Ecology and Diversity*, 11(2), 173-184.
- Marshall, V. M., Lewis, M. M., Ostendorf, B. (2012). Buffel grass (*Cenchrus ciliaris*) as an invader and threat to biodiversity in arid environments: a review. *Journal of Arid Environments*, 78, 1-12.
- Martinez-Meyer, E., Peterson, A. T., Servín, J. I., Kiff, L. F. (2006). Ecological niche modelling and prioritizing areas for species reintroductions. *Oryx*, 40, 411-418.
- McKay, J. K., Latta, R. G. (2002). Adaptive population divergence: markers, QTL and traits. *Trends in Ecology and Evolution*, 17(6), 285-291.
- McKay, J. K., Christian, C. E., Harrison, S., Rice, K. J. (2005). “How local is local?”—a review of practical and conceptual issues in the genetics of restoration. *Restoration Ecology*, 13(3), 432-440.
- MEA. (2005). Millenium Ecosystem Assesment. <http://www.unep.org/maweb>

- Merilä, J., Crnokrak, P. (2001). Comparison of genetic differentiation at marker loci and quantitative traits. *Journal of Evolutionary Biology*, 14(6), 892-903.
- Merritt, D. J., Dixon, K. W. (2011). Restoration seed banks—a matter of scale. *Science*, 332(6028), 424-425.
- Michel, B. E., Kaufmann, M. R. (1973). The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiology*, 51(5), 914-916.
- Michelena, R. (2011). “Degradación de tierras en la Argentina”. Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria (ANAV) Anales de la ANAV Tomo LXV.
- Mijangos, J. L., Pacioni, C., Spencer, P. B., Craig, M. D. (2015). Contribution of genetics to ecological restoration. *Molecular Ecology*, 24(1), 22-37.
- Milchunas, D. G., Sala, O. E., Lauenroth, W. K. (1988). A generalized model of the effects of grazing by large herbivores on grassland community structure. *The American Naturalist*, 132(1), 87-106.
- Milesi, F. A., Lopez de Casenave, J. (2005). El concepto de nicho en Ecología aplicada: del nicho al hecho hay mucho trecho. *Ecología Austral*, 15(2), 131-148.
- Millar, C. I., Libby, W. J. (1991). Strategies for conserving clinal, ecotypic, and disjunct population diversity in widespread species. *Genetics and Conservation of Rare Plants*, 149, 170.
- Mora, S., Cabral, D., Rosales, I. (2013). Establecimiento de pasto plumerito (*Trichloris crinita* PARODI) en el año de siembra. *Revista de la Facultad de Agronomía UNLPam*, 22, 219-222.
- Nakagawa, H., Shimizu, N., Sato, H. (1987). Chromosome number, reproductive method and morphological characteristics of *Chloris* species. *Japanese Journal of Grassland Science*, 33(3), 191-205.
- Neukom R., Gergis J., Karoly D. J., Wanner H., Curran M., Elbert J., González-Rouco, F., Linsley, B. K., Moy, A. D., Mundo, I., Raible, C. C., Steig, E. J., van Ommen, T., Vance, T., Villalba, R., Zinke, J., Frank, D. (2014). Inter-hemispheric temperature variability over the past millennium. *Nature Climate Change*, 4, 362-367.
- Nevill, P. G., Cross, A. T., Dixon, K. W. (2018). Ethical seed sourcing is a key issue in meeting global restoration targets. *Current Biology*, 28(24), 1378-1379.
- Nicora, E. G., y Z. E. Rúgolo de Agrasar. 1987. Los géneros de gramíneas de América austral. 611 páginas. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina.
- Nielsen, E. E., Hansen, M. M., Meldrup, D. (2006). Evidence of microsatellite hitch-hiking selection in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.): implications for inferring population structure in nonmodel organisms. *Molecular Ecology*, 15(11), 3219-3229.
- Olson, D. M., Dinerstein, E., Wikramanayake, E. D., Burgess, N. D., Powell, G. V., Underwood, E. C., D'Amico, J. A., Itoua, I., Strand, H. E., Morrison, J. C., Loucks, C. L., Allnutt, T. F., Ricketts, T. H., Kura, Y., Lamoreux, J. F., Wettengel, W. W., Hedao, P., Kassem, K. R. (2001). *Terrestrial Ecoregions of the World: A New Map of Life on Earth*. A new global map of

terrestrial ecoregions provides an innovative tool for conserving biodiversity. *BioScience*, 51(11), 933-938.

Orians, G. H., Solbrig, O. T. (1977). Convergent evolution in warm deserts. An examination of strategies and patterns in deserts of Argentina and the United States. *US/IBP Synthesis Series (USA)*. v. 3.

Ortega-Huerta, M. A., Peterson, A. T. (2008). Modeling ecological niches and predicting geographic distributions: a test of six presence-only methods. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 79(1), 205-216.

Otto, F. (1990). DAPI staining of fixed cells for high-resolution flow cytometry of nuclear DNA. In: *Methods in cell biology*. Crissman HA, Darzynkiewicz Z (eds). Academic Press Inc. New York, pp. 105-110.

Otto-Bliesner, B. L., Brady, E. C., Clauzet, G., Tomas, R., Levis, S., Kothavala, Z. (2006). Last glacial maximum and Holocene climate in CCSM3. *Journal of Climate*, 19(11), 2526-2544.

Oyarzabal, M., Clavijo, J. R., Oakley, L. J., Biganzoli, F., Tognetti, P. M., Barberis, I. M., Maturo, H. M., Aragón, R., Campanello, P. I., Prado, D., Oesterheld, M., Leon, R. J. C. (2018). Unidades de vegetación de la Argentina. *Ecología Austral*, 28, 40-63.

Pakeman, R. J. (2011). Multivariate identification of plant functional response and effect traits in an agricultural landscape. *Ecology*, 92(6), 1353-1365.

Palmer, M. A., Ambrose, R. F., Poff, N. L. (1997). Ecological theory and community restoration ecology. *Restoration Ecology*, 5(4), 291-300.

Papanastasis, V. P. (2009). Restoration of degraded grazing lands through grazing management: can it work? *Restoration Ecology*, 17(4), 441-445.

Passera, C. B., Borsetto, O., Candia, R. J., Stasi, C. R. (1992). Shrub control and seeding influences on grazing capacity in Argentina. *Journal of Range Management*, 45(5), 480-482.

Pawelek, K. A., Smith, F. S., Falk, A. D., Clayton, M. K., Haby, K. W., Rankin, D. W. (2015). Comparing three common seeding techniques for pipeline vegetation restoration: a case study in South Texas. *Rangelands*, 37(3), 99-105.

Peakall, R. O. D., Smouse, P. E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6(1), 288-295.

Peakall, R., Smouse, P. E. (2012). GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*, 28, 2537-2539.

Pearson, R. G., Dawson, T. P. (2003). Predicting the impacts of climate change on the distribution of species: are bioclimate envelope models useful?. *Global Ecology and Biogeography*, 12(5), 361-371.

Pedrini, S., Balestrazzi, A., Madsen, M. D., Bhalsing, K., Hardegree, S. P., Dixon, K. W., Kildisheva, O. A. (2020). Seed enhancement: getting seeds restoration-ready. *Restoration Ecology*, 28, 266-275.

- Pensiero, J. F., Zabala, J. M. (2017). Recursos fitogenéticos forrajeros nativos y naturalizados para los bajos submeridionales: prospección y priorización de especies para planes de introducción a cultivo. *Revista FAVE Ciencias Agrarias*, 16, 67-98.
- Peña-Gómez, F. T., Guerrero, P. C., Bizama, G., Duarte, M., Bustamante, R. O. (2014). Climatic niche conservatism and biogeographical non-equilibrium in *Eschscholzia californica* (Papaveraceae), an invasive plant in the Chilean Mediterranean region. *PLoS One*, 9(8), e105025.
- Pérez, D., Meli, P., Renison, D., Barri, F., Beider, A., Burgueño, G., Dalmaso, A., Dardanelli, S., de Paz, M., Farinaccio, F., Papazian, G., Sirombra, M., Torres, R. (2018). La Red de Restauración Ecológica de la Argentina (REA): Avances, vacíos y rumbo a seguir. *Ecología Austral*, 28(2), 353-360.
- Pérez-Harguindeguy, N., Díaz, S., Garnier, E., Jaureguiberry, P., Poorter, L., ter Steege, H., Cornelissen, J. H. C. (2013). New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany*, 61(3), 167-234.
- Perfectti, F., Picó, F. X., Gómez, J. M. (2009). La huella genética de la selección natural. *Revista Ecosistemas*, 18(1), 10-16.
- Peters, D. P. (2000). Climatic variation and simulated patterns in seedling establishment of two dominant grasses at a semi-arid-arid grassland ecotone. *Journal of Vegetation Science*, 11(4), 493-504.
- Peterson, P. M., Romaschenko, K., Snow, N., Johnson, G. (2012). A molecular phylogeny and classification of *Leptochloa* (Poaceae: Chloridoideae: Chlorideae) sensu lato and related genera. *Annals of Botany*, 109, 1317–1329.
- Peterson, A. T., Nakazawa, Y. (2008). Environmental data sets matter in ecological niche modelling: an example with *Solenopsis invicta* and *Solenopsis richteri*. *Global Ecology and Biogeography*, 17(1), 135-144.
- Peterson, A. T., Soberón, J. (2012). Integrating fundamental concepts of ecology, biogeography, and sampling into effective ecological niche modeling and species distribution modeling. *Plant Biosystems*, 146(4), 789-796.
- Peterson, P. M., Columbus, J. T. (1997). Allelic variation in the amphitropical disjunct *Scleropogon brevifolius* (Poaceae: Eragrostideae). *Biollania*, 6, 473-490.
- Peterson, P. M., Morrone, O. (1997). Allelic variation in the amphitropical disjunct *Lycurus setosus* (Poaceae: Muhlenbergiinae). *Madroño*, 334-346.
- Peterson, P. M., Columbus, J. T., Pennington, S. J. (2007). Classification and biogeography of New World grasses: Chloridoideae. *Aliso: A Journal of Systematic and Evolutionary Botany*, 23(1), 580-594.
- Peterson, P.M., Romaschenko, K., Herrera Arrieta, Y., Vorontsova, M.S. (2022). Phylogeny, classification, and biogeography of *Afrotrichloris*, *Apochiton*, *Coelachyrum*, *Dinebra*, *Eleusine*, *Leptochloa*, *Schoenefeldia*, and a new genus, *Schoenefeldiella* (Poaceae: Chloridoideae: Cynodonteae: Eleusininae). *Journal of Systematics and Evolution*, 00, 1-10.

Petitpierre, B., Kueffer, C., Broennimann, O., Randin, C., Daehler, C., Guisan, A. (2012). Climatic niche shifts are rare among terrestrial plant invaders. *Science*, 335(6074), 1344-1348.

Pezzani, F., Montaña, C., Guevara, R. (2006). Associations between arbuscular mycorrhizal fungi and grasses in the successional context of a two-phase mosaic in the Chihuahuan Desert. *Mycorrhiza*, 16(4), 285-295.

Phillips, S. J. (2005). A brief tutorial on Maxent. *AT&T Research*, 190(4), 231-259.

Phillips, S. J., Anderson, R. P., Schapire, R. E. (2006). Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*, 190(3), 231-259.

Phillips, S. J., Anderson, R. P., Schapire, R. E. (2006). Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*, 190(3-4), 231-259.

Premachandra, G. S., Shimada, T. (1987). The measurement of cell membrane stability using polyethylene glycol as a drought tolerance test in wheat. *Japanese Journal of Crop Science*, 56(1), 92-98.

Premoli, A. C., Mathiasen, P. (2011). Respuestas ecofisiológicas adaptativas y plásticas en ambientes secos de montaña: *Nothofagus pumilio*, el árbol que acaparó los Andes australes. *Ecología Austral*, 21(3), 251-269.

Pritchard, J. K., Stephens, M., Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945-959.

Prober, S. M., Byrne, M., McLean, E. H., Steane, D. A., Potts, B. M., Vaillancourt, R. E., Stock, W. D. (2015). Climate-adjusted provenancing: a strategy for climate-resilient ecological restoration. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 3, 65.

Qiao, H., Escobar, L. E., Peterson, A. T. (2017). Accessible areas in ecological niche comparisons of invasive species: Recognized but still overlooked. *Scientific Reports*, 7, 1-9.

Quiroga, E., Blanco, L., Oriente, E. (2009a). Evaluación de estrategias de rehabilitación de pastizales áridos. *Ecología Austral*, 19(2), 107-117.

Quiroga, R. E. (2009b). Resistencia a la sequía y al pastoreo en plantas de *Trichoris crinita* con distinta historia de aridez y presión de pastoreo. Tesis de Maestría. Escuela para Graduados. Universidad de Buenos Aires.

Quiroga, R. E., Blanco, L. J., Ferrando, C. A. (2009c). A case study evaluating economic implications of two grazing strategies for cattle ranches in northwest Argentina. *Rangeland Ecology and Management*, 62(5), 435-444.

Quiroga, R. E., Golluscio, R. A., Blanco, L. J., Fernández, R. J. (2010). Aridity and grazing as convergent selective forces: an experiment with an Arid Chaco bunchgrass. *Ecological Applications*, 20(7), 1876-1889.

Quiroga, R. E. (2011). Variación morfológica en once poblaciones del pasto nativo *Trichloris crinita*. In Congreso Argentino de Producción Animal. 34. Joint Meeting ASAS-AAPA. Mar del Plata, Buenos Aires. Argentina.

- Quiroga, R. E., Fernández, R. J., Golluscio, R. A., Blanco, L. J. (2013). Differential water-use strategies and drought resistance in *Trichloris crinita* plants from contrasting aridity origins. *Plant Ecology*, 214, 1027-1035.
- Quiroga, E., Namur, P.R., Ruiz M.A. (2015). Forage production of 11 *Trichloris crinita* populations in common gardens at Center-NW Argentina. 5th International Symposium of Forage Breeding – Buenos Aires, Argentina.
- Quiroga, R. E., Premoli, A. C., Fernandez, R. J. (2018). Climatic niche shift in the amphitropical disjunct grass *Trichloris crinita*. *PLoS One*, 13(6), e0199811.
- Quiroga, R. E., Premoli, A. C., Fernandez, R. J. (2021). Niche dynamics in amphitropical desert disjunct plants: Seeking for ecological and species-specific influences. *Global Ecology and Biogeography*, 30(2), 370-383.
- R Development Core Team. (2010). R: A language and environment for statistical computing. Dalgaard, Peter (Producer).
- Ramsey, J., Ramsey, T. S. (2014). Ecological studies of polyploidy in the 100 years following its discovery. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 369(1648), 20130352.
- Ranal, M. A., Santana, D. G. D. (2006). How and why to measure the germination process? *Brazilian Journal of Botany*, 29(1), 1-11.
- Raven, P. H. (1963). Amphitropical relationships in the floras of North and South America. *The Quarterly Review of Biology*, 38(2), 151-177.
- Reynolds, J. F., Stafford Smith, D. M., Lambin E., Turner II, B. L., Mortimore, M., Batterbury, S. P. J., Downing, T. E., Dowlatabadi, H., Fernández, R. J., Herrick J., Huber-Sannvald, E., Leemans, R., Lynam, T., Maestre, F., Ayarza, M., Walker, B. (2007). Global desertification: building a science for dryland development. *Science*, 316, 847-851.
- Rinella, M. J., Espeland, E. K., Moffatt, B. J. (2016). Studying long-term, large-scale grassland restoration outcomes to improve seeding methods and reveal knowledge gaps. *Journal of Applied Ecology*, 53(5), 1565-1574.
- Sánchez-del Pino, I., Alfaro, A., Andueza-Noh, R. H., Mora-Olivo, A., Chávez-Pesqueira, M., Ibarra-Morales, A., Moore, M. Flores-Olvera, H. (2020). High phylogeographic and genetic diversity of *Tidestromia lanuginosa* supports full-glacial refugia for arid-adapted plants in southern and central Coahuila, Mexico. *American Journal of Botany*, 107(9), 1296-1308.
- SAS Institute. (1995). SAS/STAT software: changes and enhancements through Release 6.11. SAS Institute, Cary, North Carolina, USA.
- Scarcelli, N., Barnaud, A., Eiserhardt, W., Treier, U. A., Seveno, M., d'Anfray, A., Vigouroux, Y., Pintaud, J. C. (2011). A set of 100 chloroplast DNA primer pairs to study population genetics and phylogeny in monocotyledons. *PLoS One*, 6(5), e19954.

- Scheldeman, X., van Zonneveld, M. (2011). Manual de capacitación en análisis especial de diversidad y distribución de plantas. Biodiversity International, Roma, Italia. 186 pp. ISBN 978-92-9043-908-0
- Schindler, D. E., Armstrong, J. B., Reed, T. E. (2015). The portfolio concept in ecology and evolution. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 13(5), 257-263.
- Schindler, D. E., Hilborn, R., Chasco, B., Boatright, C. P., Quinn, T. P., Rogers, L. A., Webster, M. S. (2010). Population diversity and the portfolio effect in an exploited species. *Nature*, 465, 609-612.
- Schneider von Deimling, T., Ganopolski, A., Held, H., Rahmstorf, S. (2006). How cold was the last glacial maximum?. *Geophysical Research Letters*, 33(14), 1-5.
- Schoener, T. W. (1968). The Anolis lizards of Bimini: resource partitioning in a complex fauna. *Ecology*, 49, 704-726.
- Seabloom, E. W., van der Valk, A. G. (2003). Plant diversity, composition, and invasion of restored and natural prairie pothole wetlands: implications for restoration. *Wetlands*, 23(1), 1-12.
- Seepaul, R., Macoon, B., Reddy, K. R., Baldwin, B. (2011). Switchgrass (*Panicum virgatum* L.) intraspecific variation and thermotolerance classification using in vitro seed germination assay. *American Journal of Plant Sciences*, 2, 134-147.
- Shackelford, N., Paterno, G. B., Winkler, D. E., Erickson, T. E., Leger, E. A., Svejcar, L. N., ... Suding, K. L. (2021). Drivers of seedling establishment success in dryland restoration efforts. *Nature Ecology & Evolution*, 5(9), 1283-1290.
- Shaw, J., Lickey, E. B., Schilling, E. E., Small, R. L. (2007). Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. *American Journal of Botany*, 94(3), 275-288.
- Sheley, R. L., James, J. J., Rinella, M. J., Blumenthal, D. M., Ditomasso, J. M. (2011). A scientific assessment of invasive plant management on anticipated conservation benefits. In: D. D. Briske [ED.]. *Conservation benefits of rangeland practices: assessment, recommendations, and knowledge gaps*. Lawrence, KS, USA: Allen Press. p. 291-335.
- Shipley, J. R., Contina, A., Batbayar, N., Bridge, E. S., Peterson, A. T., Kelly, J. F. (2013). Niche conservatism and disjunct populations: a case study with Painted Buntings (*Passerina ciris*). *The Auk*, 130(3), 476-486.
- Shriver, R. K., Andrews, C. M., Pilliod, D. S., Arkle, R. S., Welty, J. L., Germino, M. J., Duniway, M. C., Pyke, D. A., Bradford, J. B. (2018). Adapting management to a changing world: Warm temperatures, dry soil, and interannual variability limit restoration success of a dominant woody shrub in temperate drylands. *Global Change Biology*, 24(10), 4972-4982.
- Silverman, B.W. (1986) *Density estimation for statistics and data analysis*. Chapman and Hall, London.

- Simpson, M. G., Johnson, L. A., Villaverde, T., Williams, C. M. (2017). American amphitropical disjuncts: Perspectives from vascular plant analyses and prospects for future research. *American Journal of Botany*, 104(11), 1600-1650.
- Smith, A. B., Godsoe, W., Rodríguez-Sánchez, F., Wang, H. H., Warren, D. (2019). Niche estimation above and below the species level. *Trends in Ecology and Evolution*, 34(3), 260-273.
- Smith, F. S. (2010). Texas today: a sea of the wrong grasses. *Ecological Restoration*, 28(2), 112-117.
- Smith, S. E., Riley, E., Tiss, J. L., Fendenheim, D. M. (2000). Geographical variation in predictive seedling emergence in a perennial desert grass. *Journal of Ecology*, 88(1), 139-149.
- Sobek-Swant, S., Kluza, D. A., Cuddington, K., Lyons, D. B. (2012). Potential distribution of emerald ash borer: What can we learn from ecological niche models using Maxent and GARP? *Forest Ecology and Management*, 281, 23-31.
- Soberón, J., Arroyo-Peña, B. (2017). Are fundamental niches larger than the realized? Testing a 50-year-old prediction by Hutchinson. *PLoS One*, 12(4), e0175138.
- Soberón, J., Nakamura, M. (2009). Niches and distributional areas: concepts, methods, and assumptions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106, 19644-19650.
- Soberón, J., Peterson, A. T. (2005). Interpretation of models of fundamental ecological niches and species' distributional areas. *Biodiversity Informatics*, 2, 1-10.
- Solbrig, O. T. (1972). The Floristic Disjunctions Between the "Monte" in Argentina and the "Sonoran Desert" in Mexico and the United States. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 59(2), 218-223.
- Spitze, K. (1993). Population structure in *Daphnia obtusa*: quantitative genetic and allozymic variation. *Genetics*, 135(2), 367-374.
- Srivastava, D. S., Cadotte, M. W., MacDonald, A. A. M., Marushia, R. G., Mirotnick, N. (2012). Phylogenetic diversity and the functioning of ecosystems. *Ecology Letters*, 15(7), 637-648.
- Stachowicz, J. J., Kamel, S. J., Hughes, A. R., Grosberg, R. K. (2013). Genetic relatedness influences plant biomass accumulation in eelgrass (*Zostera marina*). *The American Naturalist*, 181(5), 715-724.
- Stampfli, A., Zeiter, M. (1999). Plant species decline due to abandonment of meadows cannot easily be reversed by mowing. A case study from the southern Alps. *Journal of Vegetation Science*, 10(2), 151-164.
- Sterk, M., Gort, G., Klimkowska, A., Van Ruijven, J., Van Teeffelen, A. J. A., Wamelink, G. W. W. (2013). Assess ecosystem resilience: Linking response and effect traits to environmental variability. *Ecological Indicators*, 30, 21-27.
- Suda, J., Krahulcová, A., Trávníček, P., Krahulec, F. (2006). Ploidy level versus DNA ploidy level: an appeal for consistent terminology. *Taxon*, 55(2), 447-450.

- Sultan, S. (1996). Phenotypic plasticity for offspring traits in *Polygonum persicaria*. *Ecology*, 77(6), 1791-1807.
- Swofford, D. L., Selander, R. B. (1981). BIOSYS-1: a FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics. *Journal of Heredity*, 72(4), 281-283.
- Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G., Bouvet, J. (1991). Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology*, 17(5), 1105-1109.
- Tajima, F. (1989). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123, 585-95.
- Therburg, A., Corso, M. L., Stamati, M., Bottero, C., Lizana, P., Pietragalla, V. (editores). (2019). *Síntesis de resultados de la evaluación de la degradación de tierras: 2012-2017*. 1a ed. - Mendoza: IADIZA.
- Thorne, R. F. (1972). Major disjunctions in the geographic ranges of seed plants. *The Quarterly Review of Biology*, 47(4), 365-411.
- Tilman, D., Downing, J. (1994). Biodiversity and stability in grasslands. *Nature* 367, 363-365
- Tilman, D., Lehman, C. L., Bristow, C. E. (1998). Diversity-stability relationships: statistical inevitability or ecological consequence? *The American Naturalist*, 151(3), 277-282.
- Tilman, D., Isbell, F., Cowles, J. M. (2014). Biodiversity and ecosystem functioning. *Annual review of ecology, evolution, and systematics*, 45, 471-493.
- Tingley, R., Vallinoto, M., Sequeira, F., Kearney, M. R. (2014). Realized niche shift during a global biological invasion. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(28), 10233-10238.
- USDA-NRCS. (2020). Release Brochure for Kinney Germplasm false Rhodes grass [*Trichloris crinita* (Lag.) Parodi]. USDA-Natural Resources Conservation Service, E. “Kika” de la Garza Plant Materials Center, Kingsville, Texas 78363. [https://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE\\_PLANTMATERIALS/publications/stpmcrb13709.pdf](https://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE_PLANTMATERIALS/publications/stpmcrb13709.pdf)
- van Proosdij, A. S., Sosef, M. S., Wieringa, J. J., Raes, N. (2016). Minimum required number of specimen records to develop accurate species distribution models. *Ecography*, 39, 542-552.
- Vangansbeke, P., Máliš, F., Hédli, R., Chudomelová, M., Vild, O., Wulf, M., U., Welk, E., Rodríguez-Sánchez, F., De Frenne, P. (2021). ClimPlant: realized climatic niches of vascular plants in European forest understoreys. *Global Ecology and Biogeography*, 30(6), 1183-1190.
- Varela, S., Lobo, J. M., Hortal, J. (2011). Using species distribution models in paleobiogeography: a matter of data, predictors and concepts. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 310(3-4), 451-463.
- Verón, S. R., Paruelo, J. M., Oesterheld, M. (2006). Assessing desertification. *Journal of Arid Environments*, 66, 751-763.

- Villaverde, T., Escudero, M., Luceño, M., Martín-Bravo, S. (2015). Long-distance dispersal during the middle–late Pleistocene explains the bipolar disjunction of *Carex maritima* (Cyperaceae). *Journal of Biogeography*, 42(10), 1820-1831.
- Walter, R., Epperson, B. K. (2001). Geographic pattern of genetic variation in *Pinus resinosa*: area of greatest diversity is not the origin of postglacial populations. *Molecular Ecology*, 10(1), 103-111.
- Warren, D. L., Seifert, S. N. (2011). Environmental niche modeling in Maxent: the importance of model complexity and the performance of model selection criteria. *Ecological Applications*, 21, 335-381.
- Warren, D. L., Glor, R. E., Turelli, M. (2008). Environmental niche equivalency versus conservatism: Quantitative approaches to niche evolution. *Evolution*, 62, 2868–2883.
- Warren, D. L., Glor, R. E., Turelli, M. (2010). ENMTools: a toolbox for comparative studies of environmental niche models. *Ecography*, 33(3), 607-611.
- Wasof, S., Lenoir, J., Aarrestad, P. A., Alsos, I. G., Armbruster, W. S., Austrheim, G., ... Brunet, J. (2015). Disjunct populations of European vascular plant species keep the same climatic niches. *Global Ecology and Biogeography*, 24(12), 1401-1412.
- Weeks, A. R., Sgro, C. M., Young, A. G., Frankham, R., Mitchell, N. J., Miller, K. A., ... Hoffmann, A. A. (2011). Assessing the benefits and risks of translocations in changing environments: a genetic perspective. *Evolutionary Applications*, 4(6), 709-725.
- Wei, J., Zhang, H., Zhao, W., Zhao, Q. (2017). Niche shifts and the potential distribution of *Phenacoccus solenopsis* (Hemiptera: Pseudococcidae) under climate change. *PLoS One*, 12, e0180913.
- Wen, J., Ickert-Bond, S. M. (2009). Evolution of the Madrean–Tethyan disjunctions and the North and South American amphitropical disjunctions in plants. *Journal of Systematics and Evolution*, 47(5), 331-348.
- West, N. E., Rea, K. H., Harniss, R. O. (1979). Plant demographic studies in sagebrush-grass communities of southeastern Idaho. *Ecology*, 60(2), 376-388.
- Westerband, A. C., Funk, J. L., Barton, K. E. (2021). Intraspecific trait variation in plants: a renewed focus on its role in ecological processes. *Annals of Botany*, 127(4), 397-410.
- Wheeler, J. C., Chikhi, L., Bruford, M. W. (2006). Genetic analysis of the origins of domestic South American Camelids. En 'Documenting domestication: new genetic and archaeological paradigms' (Ed. MA Zeder.) pp. 329-341.
- Whittaker, R. H., Levin, S. A., Root, R. B. (1973). Niche, habitat, and ecotope. *The American Naturalist*, 107(955), 321-338.
- Wiens, J. J., Graham, C. H. (2005). Niche conservatism: integrating evolution, ecology, and conservation biology. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 36, 519-539.

- Winkworth, R. C., Hennion, F., Prinzing, A., Wagstaff, S. J. (2015). Explaining the disjunct distributions of austral plants: the roles of Antarctic and direct dispersal routes. *Journal of Biogeography*, 42(7), 1197-1209.
- Wood, T. E., Takebayashi, N., Barker, M. S., Mayrose, I., Greenspoon, P. B., Rieseberg, L. H. (2009). The frequency of polyploid speciation in vascular plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106, 13875–13879.
- Woodhouse, C. A., Meko, D. M., MacDonald, G. M., Stahle, D. W., Cook, E. R. (2010). A 1,200-year perspective of 21st century drought in southwestern North America. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(50), 21283-21288.
- Woodward, F. I., Williams, B. G. (1987). Climate and plant distribution at global and local scales. *Vegetatio*, 69(1-3), 189-197.
- Wright, S., Keeling, J., Gillman, L. (2006). The road from Santa Rosalia: a faster tempo of evolution in tropical climates. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103, 7718–7722.
- Wu, K. K., S. K. Jain. (1978). Genetic and plastic responses in geographic differentiation of *Bromus rubens* populations. *Canadian Journal of Botany*, 56, 873-879.
- Young, T. P., Petersen, D. A., Clary, J. J. (2005). The ecology of restoration: historical links, emerging issues and unexplored realms. *Ecology Letters*, 8, 662-673.
- Zabala, J. M., Widenhorn, P., Pensiero, J. F. (2011). Germination patterns of species of the genus *Trichloris* in arid and semiarid environments. *Seed Science and Technology*, 39(2), 338-353.
- Zinnen, J., Broadhurst, L. M., Gibson-Roy, P., Jones, T. A., Matthews, J. W. (2021). Seed production areas are crucial to conservation outcomes: benefits and risks of an emerging restoration tool. *Biodiversity and Conservation*, 30, 1233–1256.
- Zuleta, G., Rovere, A. E., Pérez, D., Campanello, P. I., Guida Johnson, B., Escartín, C., Dalmasso, A., Renison, D., Ciano, N., Aronson, J. (2015). Establishing the ecological restoration network in Argentina: from Rio1992 to SIACRE 2015. *Restoration Ecology*, 23(2), 95-103.