

El rol de la retroalimentación planta-suelo en la persistencia de especies  
exóticas en pastizales pampeanos

*Tesis presentada para optar al título de Magister de la Universidad de Buenos Aires,  
Área Recursos Naturales*

**María del Rosario Lonardi**

Licenciada en Ciencias Ambientales - Universidad de Buenos Aires - 2021

Lugar de trabajo: IFEVA, Facultad de Agronomía, UBA



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



## COMITÉ CONSEJERO

Director de Tesis

**Laura Yahdjian**

Licenciada en Ciencias Biológicas (Universidad de Buenos Aires)

Doctora en Ciencias Agropecuarias (Universidad de Buenos Aires)

Co-director de Tesis

**Pedro M. Tognetti**

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)

Doctor en Ciencias Agropecuarias (Universidad de Buenos Aires)

## JURADO DE TESIS

JURADO

**Luis Ignacio Perez**

Licenciado en Ciencias Biológicas (Universidad de Buenos Aires)

Doctor en Ciencias Agropecuarias (Universidad de Buenos Aires)

JURADO

**Julieta Filloy**

Licenciada en Ciencias Biológicas (Universidad de Buenos Aires)

Doctora en Ciencias Biológicas (Universidad de Buenos Aires)

JURADO

**María Victoria Vaieretti**

Bióloga (Universidad Nacional de Córdoba)

Doctora en Ciencias Biológicas (Universidad Nacional de Córdoba)

Fecha de defensa de la tesis: 26 de diciembre de 2024

## AGRADECIMIENTOS

A Lau y Pedro por guiarme y acompañarme con cariño, paciencia y sabiduría. Gracias por todas las enseñanzas. Gracias por inspirarnos y por armar el mejor grupo de trabajo.

Gracias a Sofi, Mery, Yago y Brian por su apoyo, por estar ahí siempre. Gracias a todo el grupo de pastizales por cada reunión y viaje compartidos.

A Vicky G., Cyn, Pau, Marian, Mechi, Vicky S. por cada charla y consejo. A Ana F, Feli, Lauti, Luqui, Facu, Lucho, Ale, Leti, Manu, Nacho, Bruno, Pocho, Flor R, Majo y el piso de becarios por su compañía y apoyo.

A Pame y Celes por impulsarme en este camino. A Marina por inspirarme y aconsejarme.

A los docentes de Ecología por enseñarnos y motivarnos.

A la FAUBA por permitirme tener una formación de calidad y conocer personas increíbles. Gracias a San Claudio y su personal.

A mis amigas de la vida por acompañarme y bancarme siempre.

A Angelo por todo su amor y aguante.

A mi familia por acompañarme y festejar cada logro conmigo. En especial a mamá y papá por siempre creer en mí.

## DECLARACIÓN

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

María del Rosario Lonardi.

## ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	iii
DECLARACIÓN.....	iv
ÍNDICE GENERAL.....	v
ÍNDICE DE CUADROS.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vi
ABREVIATURAS.....	ix
RESUMEN.....	x
ABSTRACT.....	xi
Capítulo 1: Introducción general.....	1
1.1. Introducción.....	2
1.2. Antecedentes en los pastizales de la pampa interior.....	4
1.3. Objetivos del trabajo.....	7
Capítulo 2: La retroalimentación planta-suelo y su efecto en la competencia entre grupos de pastos nativos y exóticos.....	8
2.1.  Introducción.....	9
2.2.  Materiales y métodos.....	12
2.2.1.  Sitio de estudio.....	12
2.2.2.  Diseño experimental.....	14
2.2.3.  Variables de respuesta.....	16
2.2.4.  Análisis de datos.....	18
2.3.  Resultados.....	19
2.3.1.  Estado inicial de los pastizales.....	19
2.3.2.  Cobertura de especies implantadas en el corto plazo.....	21
2.3.3.  Cobertura de especies espontáneas.....	22
2.3.4.  Efectos de la Competencia.....	23
2.3.5.  Descripción de los sitios luego de doce años.....	25
2.4.  Discusión.....	27
2.4.1.  Cobertura de especies implantadas en el corto plazo.....	28
2.4.2.  Efectos de la competencia.....	29
Capítulo 3: La retroalimentación planta-suelo mediada por el legado biótico del suelo.....	32
3.1.  Introducción.....	33
3.2.  Materiales y métodos.....	37
3.2.1.  Diseño experimental.....	37
3.2.2.  Variables de respuesta.....	39
3.2.3.  Análisis estadístico.....	40
3.3.  Resultados.....	41

3.3.1.	Biomasa y retroalimentación planta-suelo.....	41
3.3.2.	Rasgos funcionales de las plántulas .....	43
3.3.3.	Colonización micorrícica radical.....	46
3.4.	Discusión .....	47
Capítulo 4: Discusión general.....		51
4.	Discusión general.....	52
5.	Bibliografía.....	57
Apéndice 1: Material suplementario del capítulo 2 .....		67
Apéndice 2: Material suplementario del capítulo 3 .....		72

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 2.1</b>	Lista de las 8 especies sembradas, su origen, metabolismo fotosintético C3 o C4, y su estación de crecimiento, I-P: invierno-primavera, P-V: primavera-verano.....	15
<b>Cuadro 2.2</b>	Propiedades físico-químicas del suelo de muestras tomadas a 20 cm de profundidad en sitios post-agrícolas invadidos y relictos de pastizal nativo previo a la instalación del experimento. ....	20
<b>Cuadro 2.3</b>	Propiedades del suelo de muestras tomadas a 20 cm de profundidad en sitios post-agrícolas y relictos, según el legado de <i>Festuca arundinacea</i> y <i>Paspalum quadrifarium</i> , luego de 12 años de instalado el experimento.....	26
<b>Cuadro 3.1</b>	Valores p del análisis de varianza para las variables respuesta medidas.....	45

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 2.1</b>	A) Mapa de la región pampeana y sus subregiones. La estrella roja indica la locación del sitio experimental (“Estancia San Claudio, UBA” y sus vecindades, Carlos Casares, Buenos Aires, Argentina). B) Ubicación de los sitios experimentales. Los marcadores circulares verdes indican los 5 sitios del pastizal relictos y los de color naranja los 5 sitios de pastizal post-agrícola. ....	13
<b>Figura 2.2</b>	Esquema de uno de los sitios del experimento a campo. Se establecieron 5 parcelas de pastizales relictuales (dominadas por plantas nativas) y 5 post-agrícolas (dominadas por plantas exóticas). En cada parcela (10 en total), se trasplantaron monoculturas de pastos nativos y exóticos (N y E) y la mezcla de ambas (NE). Las parcelas con mezcla se establecieron bajo niveles reducidos, naturales o aumentados de Nitrógeno: N- (marrón claro), N0 (blanco), N+ (marrón oscuro) respectivamente. ....	15
<b>Figura 2.3</b>	Escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) de la composición de especies de los 5 sitios de pastizal post-agrícola (naranja) y los 5 sitios de pastizal relictos (verde). Las elipses representan el intervalo de confianza del 95% alrededor de la media para cada grupo. ...	19
<b>Figura 2.4</b>	Nitrógeno inorgánico total y sus componentes (%) en función de la historia del sitio (post-agrícola o relictos) y el tratamiento para modificar el nitrógeno disponible aplicado en las parcelas mezcla. Las barras blancas representan el contenido de nitratos y las barras grises el contenido de amonio del suelo. Las barras muestran el valor medio $\pm$ 1 error estándar. Letras	

diferentes muestran diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) según test de Tukey; letras mayúsculas para Nitrógeno inorgánico total, letras minúsculas para Nitrato y letras itálicas para Amonio...21

**Figura 2.5** Cobertura de todas especies trasplantadas (A) y cobertura de las especies dominantes, la exótica *Festuca arundinacea* y la nativa *Paspalum quadrifarium* (B) según, la historia del sitio: Post-agrícola y Relicto. Las barras naranjas representan a las especies exóticas (A) o *F. arundinacea* (B) y las barras verdes a las nativas (A) y *P. quadrifarium* (B). Las barras indican el promedio de la cobertura en el año 2013  $\pm$  1 error estándar para  $n=5$ . .....22

**Figura 2.6** Cobertura de especies espontáneas (%), según la historia del sitio y las especies trasplantadas. Las barras naranjas representan a las especies espontáneas exóticas y las barras verdes a las nativas. Las barras indican el promedio de la cobertura  $\pm$  1 error estándar para  $n=5$ . .....23

**Figura 2.7** Índice de interacción entre plantas (RII) en función de la historia del sitio y el grupo de especies trasplantado. Los valores corresponden al valor medio del índice y su error estándar ( $n=5$ ). No hubo diferencias significativas entre los tratamientos ( $p>0,05$ ).....24

**Figura 2.8** Índice de abundancia relativa de especies nativas sobre exóticas en función del tipo de pastizal y del nivel de nitrógeno. Valores positivos del índice indican mayor éxito relativo de las especies nativas, en cambio, los valores negativos indican mayor éxito relativo de las especies exóticas. Las barras color marrón claro representan al agregado de carbono (reducciones de nitrógeno, N-), las barras blancas al control sin enmiendas, y las barras color marrón oscuro la fertilización con nitrógeno (N+). Las barras indican valores medios  $\pm$  1 error estándar ( $n=5$ ). Las diferencias significativas respecto al cero (prueba t) se indican con asteriscos (\*P, 0,05). .....25

**Figura 2.9** Cobertura de especies (%) previo a la instalación del experimento (2011) y luego de 12 años de finalizado el experimento (2023), según la historia del sitio: Post-agrícola y Relicto. Las barras naranjas representan a la especie exótica *Festuca arundinacea* y las barras verdes a la especie nativa *Paspalum quadrifarium*. .....27

**Figura 3.1** Diseño del experimento en invernáculo. El inóculo de suelo de cada maceta consistió en una mezcla de suelo con una historia de sitio (pastizal post-agrícola o relicto) y un legado (*F. arundinacea* o *P. quadrifarium*). A su vez, en cada tratamiento se trasplantaron 2 plántulas de cada especie (*F. arundinacea* o *P. quadrifarium*). .....38

**Figura 3.2** Experimento de macetas en invernáculo. Cada fila corresponde a un bloque (5 en total) y cada maceta corresponde a un tratamiento (Historia x Legado x Siembra), representado por 2 subréplicas (2 macetas) en cada bloque. Los tratamientos y subréplicas se ubicaron al azar dentro de cada bloque. ....39

**Figura 3.3** Biomasa aérea (paneles de arriba) y radical (paneles de abajo) de plántulas de *F. arundinacea* (paneles izquierda) y *P. quadrifarium* (paneles derecha) en función de la historia del sitio (Post-agrícola o Relicto) y el legado (“Con”: conespecífico, plantas de *F. arundinacea* o *P. quadrifarium* creciendo en suelo de esa misma especie y “Het”: heteroespecífico plantas de *F. arundinacea* o *P. quadrifarium* creciendo en suelo proveniente de plantas de la otra especie). .....42

**Figura 3.4** Efecto de la retroalimentación planta-suelo, ln (biomasa en suelo conespecífico/biomasa en suelo heteroespecífico), para *F. arundinacea* (panel izquierdo) y *P. quadrifarium* (panel derecho), según la historia del sitio. Las barras muestran la media  $\pm$  el error estándar. \* indica  $p < 0,05$  para prueba t de Student. ....43

**Figura 3.6** Número de hojas final según la historia del sitio (post-agrícola o relicto) y el legado del suelo (“Con”, de conespecífico y “Het” de heteroespecífico), para las dos especies de estudio, *F. arundinacea* en el panel izquierdo y *P. quadrifarium* en el panel derecho. Las barras

muestran la media  $\pm$  el error estándar. Letras diferentes muestran diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) según test de Tukey. Notar la diferencia en las escalas del eje Y. ....45

**Figura 3.7** Colonización micorrícica de la raíz (%) de plántulas de *F. arundinacea* (paneles izquierda) y *P. quadrifarium* (paneles derecha), según la historia del sitio (Post-agrícola o Relicto) y el legado del suelo (“Con”, de conespecífico y “Het” de heteroespecífico). Las barras muestran la media  $\pm$  el error estándar. Letras diferentes muestran diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) según test de Tukey. ....46

**Figura 3.8** Relación entre la colonización micorrícica radical y el efecto de retroalimentación planta suelo para plántulas de *F. arundinacea* (Izquierda) y *P. quadrifarium* (derecha), según el tipo de historia del suelo (Post-agrícola, en naranja, o Relicto, en verde).....47

## ABREVIATURAS

C: carbono

g: gramos

HMA: hongos formadores de micorrizas arbusculares

ln: logaritmo natural

m<sup>2</sup>: metros cuadrados

N: nitrógeno

NH<sub>4</sub>: amonio

NO<sub>3</sub>: nitrato

P: fósforo

RII: índice relativo de intensidad de la interacción entre plantas

SLA: Área foliar específica

SRL: Largo radical específico

## RESUMEN

Las invasiones de plantas exóticas, muchas veces favorecidas por las actividades agrícolas, alteran la estructura y función de las comunidades vegetales y representan una amenaza a la biodiversidad. En los pastizales pampeanos, el abandono de la agricultura da lugar a pastizales dominados por especies exóticas con escaso o nulo restablecimiento de especies vegetales nativas. El objetivo de este trabajo fue evaluar el rol de la retroalimentación planta-suelo en la persistencia de especies exóticas para comprender las restricciones a la restauración de pastizales pampeanos. Para ello, en pastizales post-agrícolas y en relictos de vegetación nativa establecimos un experimento plantando especies vegetales exóticas o nativas y una mezcla de ambos grupos, bajo tres niveles de nutrientes para evaluar la competencia. Analizamos la cobertura de las plantas luego de dos y de doce años, y realizamos un experimento en invernáculo con inóculo de suelo extraído de las parcelas experimentales para evaluar el efecto del legado biótico sobre las especies dominantes de cada pastizal. Encontramos que el tipo de pastizal determinó la cobertura de los grupos trasplantados, siendo mayor en los sitios post-agrícolas que en los relictos, independientemente de si las especies eran nativas o exóticas. En la condición natural, no encontramos efecto de competencia entre grupos de plantas, pero en los relictos con niveles crecientes de nitrógeno, se favoreció la cobertura de especies exóticas por sobre las nativas. Contrariamente a lo esperado, en el invernáculo, las especies nativas y exóticas crecieron más con el legado biótico de la otra especie que con el propio. Estos resultados sugieren que, ante un escenario de aumento en los niveles de nutrientes, se favorecería la expansión de especies exóticas en el pastizal nativo. Además, para restaurar los pastizales pampeanos, sería necesario remover la vegetación exótica y plantar a las especies nativas porque tienen bajo poder germinativo.

**Palabras claves:** Invasiones biológicas, pastizales, interacción planta-suelo, estados alternativos, legado biótico.

## ABSTRACT

Invasive exotic plants, often facilitated by agricultural activities, disrupt the structure and function of plant communities and constitute a threat to biodiversity. In the Pampean grasslands, the abandonment of agriculture leads to grasslands dominated by exotic species with little or no reestablishment of native plant species. The aim of this study was to assess the role of plant-soil feedbacks in the persistence of exotic species to understand the challenges to restoring Pampean grasslands. We conducted an experiment in post-agricultural grasslands and native vegetation remnants, planting exotic or native plant species, as well as a mix of both groups, under three nutrient levels to evaluate competition. We analyzed plant cover after two and twelve years and conducted a greenhouse experiment using soil inoculum collected from the experimental plots to assess the impact of biotic legacy on the dominant species of each grassland. We found that the type of grassland determined the cover of the transplanted groups, with higher cover in post-agricultural sites than in the remnants, regardless of whether the species were native or exotic. In natural conditions, we found no competition effect between plant groups, however, in the remnants with increasing nitrogen levels, exotic species cover was favored over native species. Contrary to expectations, in the greenhouse experiment, both native and exotic species grew more with the biotic legacy of the other species than with their own. These results suggest that an increase in nutrient levels would favor the expansion of exotic species in native grasslands. Additionally, to restore Pampean grasslands, it may be necessary to remove exotic vegetation and plant native species, as they have low germination potential.

## **Capítulo 1: Introducción general**

## 1.1. Introducción

Las actividades humanas han alterado los patrones de cobertura de la tierra a través de su transformación a tierras de cultivo y pasturas (Tilman et al. 2001), lo que afectó particularmente a los pastizales templados en todo el mundo (Hoekstra et al. 2005; Carbutt et al. 2017; Dinerstein et al. 2017; Baeza et al. 2022). Los paisajes agropecuarios comprenden un mosaico de lotes agrícolas y ganaderos con remanentes de vegetación natural, y vegetación espontánea en los lotes agrícolas abandonados llamados pastizales sucesionales que representan “ecosistemas novedosos” por su combinación de flora y fauna nativa y exótica (Hobbs et al. 2009, 2013, Tognetti 2013). Estos sistemas brindan una serie de servicios ecosistémicos a la actividad productiva, por ejemplo, el mantenimiento de poblaciones de polinizadores, control de inundaciones o almacenamiento de carbono (Sala et al. 2017; IPBES 2019). Sin embargo, las especies de plantas exóticas que dominan la sucesión secundaria pueden crear estados de vegetación persistentes, resistentes a la restauración de comunidades nativas (Suding et al. 2004; Cramer et al. 2008; Kulmatiski, 2018). Es importante conocer los atributos estructurales y funcionales de los remanentes de vegetación y los ecosistemas novedosos inmersos en paisajes agropecuarios con el fin de conocer los cambios en la provisión de servicios ecosistémicos y comprender el valor de la restauración (Tognetti et al. 2015; Duell et al. 2022).

Las comunidades vegetales y los organismos del suelo se encuentran íntimamente relacionados (Van der Putten et al. 2013). El material vegetal senescente provee carbono, energía y nutrientes a la comunidad de descomponedores y las raíces de las plantas hospedan una gran variedad de organismos del suelo. La biota del suelo, a su vez, provee nutrientes en formas disponibles para las plantas mediante el reciclado del material vegetal muerto, y afecta la productividad y la estructura de la comunidad vegetal mediante la acción de los microorganismos asociados a las raíces (Bardgett y Wardle 2010; De Long et al. 2018; Veen et al. 2019). Estas interacciones entre las plantas y el suelo dan origen a un proceso de retroalimentación planta-suelo o mecanismo de *feedback* (Bever et al. 1997; Kulmatiski et al. 2008; Van der Putten et al. 2013). La hipótesis de retroalimentación planta-suelo propone que el legado del crecimiento vegetal pasado, en forma de comunidades microbianas específicas o por cambios en la disponibilidad de nutrientes, puede proporcionar ventajas a una especie vegetal por sobre otra (Bever et al.

2003, Kulmatiski et al. 2006). Los resultados de la retroalimentación pueden estar mediados por factores abióticos, como la disponibilidad de nutrientes y/o por factores bióticos, como la composición de la comunidad microbiana de la rizosfera (Bezemer et al. 2006; Cavicchioli et al. 2019). La retroalimentación puede ser positiva promoviendo el crecimiento de las especies ya establecidas, como cuando aumenta el acceso a los recursos o los mutualistas se vuelven abundantes. Pero la retroalimentación también puede ser negativa, a través del agotamiento de los recursos, la excreción de compuestos tóxicos o la acumulación de enemigos naturales que reducen el crecimiento de las plantas establecidas (Kulmatiski et al. 2017; Smith-Ramesh y Reynolds, 2017; Bennett y Klironomos, 2019). Se cree que este mecanismo de retroalimentación negativa contribuye a mantener la diversidad de la comunidad vegetal (Klironomos, 2002).

Las invasiones de especies vegetales exóticas en pastizales son una de las principales amenazas para la biodiversidad ya que alteran la estructura y función de las comunidades vegetales (Bradley et al. 2010; Rai y Singh, 2020). Elucidar los mecanismos que controlan la invasibilidad de las comunidades es un objetivo central en la ecología de invasiones (Davis et al. 2000; Levine et al. 2003; Catford et al. 2019). Las especies exóticas suelen poseer diferente biomasa, productividad, composición química de los tejidos y morfología que las especies nativas, lo que puede a su vez alterar la dinámica de los nutrientes (Liao et al. 2008; Cavieres, 2020; Enders et al. 2020) y las interacciones de las plantas con los microorganismos del suelo (Klironomos 2002). El aumento en la disponibilidad de nutrientes por fertilización o deposiciones atmosféricas (Peñuelas et al. 2013, Stevens et al. 2015) podrían potenciar los procesos de retroalimentación planta-suelo que generan las especies exóticas (Kulmatiski et al. 2006 Huang et al. 2016; Bennett y Klironomos, 2018). Además, las plantas exóticas suelen modificar la comunidad de organismos del suelo y por lo tanto la relación entre éstos y las plantas (Suding et al. 2013, Zhang et al 2019). Por ejemplo, pueden promover comunidades del suelo que aumenten su adquisición de recursos, suprimir comunidades de simbiontes nativos, así como también promover comunidades de patógenos nativos (Suding et al. 2013; Dawson y Schrama 2016). Estas modificaciones pueden generar mecanismos de retroalimentación planta-suelo que favorecen el éxito de las especies invasoras, impidiendo el restablecimiento de las especies nativas y dificultando los esfuerzos de restauración (Klironomos 2002; Kulmatiski et al. 2008; Zhang et al 2019).

Los suelos agrícolas abandonados experimentan modificaciones en su biología, química y estructura como resultado de la sucesión secundaria (van der Wal et al. 2006; van de Voorde et al. 2011). Durante esta sucesión, la estructura de las comunidades biológicas, tanto por encima como por debajo del suelo, cambia a partir de las interacciones entre plantas, nutrientes y microorganismos, además de depender del régimen de disturbios (Bardgett y Wardle 2010; Smith-Ramesh y Reynolds 2017). A través de estas interacciones, el crecimiento de las plantas deja efectos de legado en el suelo, generando retroalimentación que influye en la sucesión de la comunidad y en los ecosistemas terrestres (Kardol et al. 2006; Smith, 2015; van der Putten et al. 2016). Comprender estos cambios dinámicos en las plantas y el suelo durante la sucesión secundaria resulta clave para desarrollar enfoques efectivos en la restauración de ecosistemas degradados (Qu et al. 2023). A pesar de la creciente evidencia sobre la importancia de las retroalimentaciones planta-suelo en la diversidad de plantas, la sucesión, las invasiones y el funcionamiento de los ecosistemas (Teste et al. 2017; Stein y Mangan 2020; Gundale y Kardol 2021; Forero et al. 2022), sigue siendo difícil predecir cuándo y cómo ocurren, en parte porque no entendemos del todo los mecanismos que las impulsan (van der Putten et al. 2016). Conocer en qué medida las especies exóticas generan mecanismos de retroalimentación, permitirá encontrar herramientas de manejo y restauración de ecosistemas disturbados, invadidos, o agroecosistemas que fueron expuestos a excesos de nutrientes (Suding et al. 2013, Hobbs et al. 2014; Mariotte et al. 2018).

## **1.2. Antecedentes en los pastizales de la pampa interior**

La sucesión post-agrícola en los campos de cultivo de la Pampa, Argentina, se caracteriza por la dominancia de diferentes grupos funcionales de plantas, la mayoría introducidos en forma accidental o deliberada con las actividades agropecuarias (Omacini et al. 1995; Chaneton et al. 2002). Estudios de largo plazo en la Pampa Interior muestran que luego de unos años del cese de la actividad productiva, la comunidad vegetal está dominada por especies perennes exóticas, y el restablecimiento del pastizal nativo no se produce espontáneamente (Tognetti et al. 2010). Durante los primeros dos años la comunidad está compuesta por especies dicotiledóneas, mayormente anuales exóticas, que son luego reemplazadas por pastos anuales y bianuales (Omacini et al. 2005, Tognetti

et al. 2010). Luego de 8-10 años de sucesión, el pastizal post-agrícola es dominado por unas pocas especies de pastos exóticos perennes, principalmente *Cynodon dactylon*, *Sorghum halepense* y *Festuca arundinacea*. En un experimento con comunidades ensambladas a partir de semillas realizado en este sistema, Tognetti y col. (2010) observaron que, si bien el establecimiento de pastos nativos se encontraba en parte limitado por la disponibilidad de propágulos, el estado del sistema dominado por la especie exótica *Festuca arundinacea* era estable. Esto se puso en evidencia porque aún frente a la adición de semillas de pastos nativos, no encontraron establecimiento de esas especies incluso en parches donde se había removido previamente la cubierta vegetal (Tognetti y Chaneton 2012). El legado que dejan las especies exóticas que crecieron previamente podría estar explicando la limitación al establecimiento de especies nativas. Este legado podría estar asociado a compuestos alelopáticos que persisten en el suelo, a cambios en la concentración de nutrientes, y/o a la composición de la comunidad microbiana donde la presencia o ausencia de determinados hongos endofíticos o micorrícicos podrían explicar las restricciones a la restauración (Wolfe y Klironomos 2005). Esto sugiere que las especies perennes exóticas estarían frenando la sucesión una vez que se establecen (Tognetti y Chaneton 2012), y podrían llevar al sistema a un estado alternativo, del que no se puede recuperar el pastizal natural (Chaneton et al. 2001, Omacini et al. 2005, Suding et al. 2004).

Por otro lado, existen aún en el paisaje de la Pampa Interior pequeños fragmentos de pastizal dominados por especies nativas, que representarían relictos o parches remanentes del ecosistema original que pueden ser utilizados como punto de referencia (Burkart et al. 2011, Tognetti y Chaneton 2015, Spirito et al. 2014). Estos relictos parecen constituir comunidades más o menos estables resistentes a la invasión y podrían representar otro estado alternativo del sistema actual (Yahdjian et al. 2017). En un experimento en el cual se instalaron fragmentos de un relicto de pastizal nativo en una matriz de campo agrícola recién cosechado y clausurado al pastoreo y a la agricultura, Trebino (2007) encontró que luego de 5 años, aún en los fragmentos donde se removió toda la vegetación, la sucesión fue diferente de la observada en la matriz de campo abandonado. Los fragmentos estaban compuestos por bloques de vegetación y suelo, con diferentes niveles de remoción de la comunidad aérea. Ese estudio documentó un alto grado de recuperación de la comunidad nativa, incluso frente la adición de semillas de especies exóticas. A su vez, la sucesión ocurrida en la matriz post-agrícola siguió el patrón

típico de la sucesión descrita para la región, no viéndose modificada por la presencia de propágulos de las especies nativas (Trebino 2007). Estos resultados sugieren que la relación planta-suelo podría ser importante en este sistema. Sin embargo, poco sabemos sobre la estabilidad de estos estados alternativos del pastizal y cuáles son los mecanismos que los mantienen.

Estudios posteriores en la misma zona de la Pampa Interior mostraron diferencias en los procesos del suelo en las comunidades de pastos nativos y exóticos representativas de los dos estados alternativos del pastizal (Spirito et al. 2014; Yahdjian et al. 2017). En particular, las tasas de descomposición del material vegetal y la tasa de respiración del suelo se vieron aceleradas con la presencia de pastos exóticos, lo cual pone de manifiesto el impacto que las especies invasoras pueden tener sobre algunos procesos claves del ecosistema (Spirito et al. 2014). Este aumento en las tasas de descomposición puede deberse a cambios en la calidad del material vegetal y a cambios en el ambiente de los descomponedores (Spirito et al. 2014; López Zieher et al. 2020). En relación con el material vegetal, *F. arundinacea*, dominante en los sitios invadidos, es una especie C3 invernal, mientras que *Paspalum quadrifarium*, dominante en la comunidad nativa, es una especie C4 estival. La broza de *P. quadrifarium* posee una relación C:N un 40 % mayor que la de *F. arundinacea* (Spirito et al. 2014), y estas diferencias en la calidad de la broza se asociaron a las diferencias en las tasas de descomposición entre especies nativas y exóticas de estos pastizales (Yahdjian et al. 2017). A su vez, el aumento de la tasa de descomposición podría llevar a aumentos en la disponibilidad de nutrientes del suelo, lo que podría acelerar el proceso de invasión, dificultando la restauración del pastizal nativo. Por lo tanto, una implicancia de estos cambios funcionales puede ser el desarrollo de mecanismos de retroalimentación positiva que permitan la persistencia de pastos exóticos en campos abandonados (Suding et al. 2004). De hecho, el mecanismo de retroalimentación planta-suelo podría explicar también la baja invasibilidad de los relictos en la Pampa Interior, así como la persistente dominancia de los pastos exóticos en la sucesión post-agrícola (Yahdjian et al. 2017) y su baja diversidad (Tognetti et al. 2010). Sin embargo, faltan evidencias que demuestren que son estos atributos del suelo los que modulan la competencia entre pastos nativos y exóticos en pastizales sucesionales (Spirito et al. 2014). Aquí se propone profundizar en el estudio de la retroalimentación planta-suelo como mecanismo que explica el mantenimiento de estados estables alternativos. Consecuentemente, los resultados de este estudio ayudarán a delinear

paisajes agrícolas diversos que mantengan los servicios ecosistémicos del campo agrícola al mismo tiempo que representen un reservorio de biodiversidad.

### **1.3. Objetivos del trabajo**

El objetivo general de este trabajo es analizar la contribución de la retroalimentación planta-suelo en la restauración de pastizales pampeanos luego del cese de la actividad agrícola y comprender las consecuencias de la invasión con especies exóticas en el funcionamiento del ecosistema. De este modo se pretende brindar herramientas para el diseño de paisajes agrícolas diversos que incorporen la vegetación natural y mantengan los servicios ecosistémicos que proveen.

- Objetivo específico 1: Evaluar la retroalimentación a través de cambios en el balance competitivo entre pastos nativos y exóticos en dos estados alternativos del pastizal pampeano, y bajo distinta disponibilidad de nutrientes. En particular, aquí buscamos determinar tanto la resistencia de los relictos de pastizal nativo a la invasión por especies exóticas, como la capacidad de restablecimiento de las especies nativas en pastizales post-agrícolas.
- Objetivo específico 2: Evaluar los mecanismos de retroalimentación planta-suelo mediados por microorganismos del suelo que mantienen la persistencia de especies exóticas o nativas en los estados alternativos del pastizal.

El objetivo específico 1 se aborda en el capítulo 2 “La retroalimentación planta-suelo y su efecto en la competencia entre grupos de pastos nativos y exóticos”, a partir de un experimento a campo, y el objetivo específico 2 se aborda en el capítulo 3 “La retroalimentación planta-suelo mediada por el legado biótico del suelo”, a partir de un experimento en invernáculo. Por último, en el capítulo 4 se discuten los resultados principales y perspectivas futuras de esta línea de investigación.

**Capítulo 2: La retroalimentación planta-suelo y su efecto en la competencia  
entre grupos de pastos nativos y exóticos**

## 2.1. Introducción

Las plantas alteran las propiedades del suelo, lo que incide sobre el establecimiento y crecimiento posterior de otras especies de plantas o de individuos de la misma especie, proceso conocido como retroalimentación planta-suelo (Brinkman et al. 2010; Kulmatiski, 2008). Este proceso, impulsado por el legado del crecimiento vegetal pasado a través de comunidades microbianas específicas o de cambios en la disponibilidad de nutrientes, puede conferir ventajas a ciertas especies de plantas sobre otras (Bever et al. 1996; Zhang et al. 2019; Gundale y Kardol, 2021). La retroalimentación puede ser tanto positiva, cuando los cambios que una especie produce en el suelo mejoran el acceso a recursos y promueven interacciones mutualistas que terminan estimulando el reclutamiento de nuevos individuos de esa misma especie, como negativa, si se agotan recursos o aumenta la susceptibilidad a enemigos naturales (Kulmatiski et al. 2017; Smith-Ramesh y Reynolds, 2017; Bennett y Klironomos, 2019). En este último caso, el reclutamiento de nuevos individuos de la misma especie suele ser menor que el de otras especies vegetales.

Las invasiones biológicas son un problema global con impactos negativos en los ecosistemas. Se ha demostrado que las alteraciones causadas por especies de plantas exóticas en la zona radical del suelo influyen en la biota edáfica y en las propiedades abióticas, desempeñando un papel crucial en el éxito de la invasión de especies exóticas (Gundale y Kardol, 2021; Chen et al. 2023). Las plantas exóticas, con sus diferencias de rasgos en comparación con las especies nativas residentes que influyen en la biomasa, productividad y composición de tejidos, pueden perturbar la dinámica de nutrientes (Liao et al. 2008; Cavieres, 2020), al mismo tiempo que modifican las comunidades de organismos del suelo. Estos cambios pueden favorecer potencialmente su propio reclutamiento en desmedro de las especies nativas (Suding et al. 2013; Zhang et al. 2019). Comprender el alcance de estos mecanismos de retroalimentación planta-suelo es esencial para desarrollar estrategias efectivas de manejo y restauración de ecosistemas impactados por especies exóticas invasoras (Mariotte et al. 2018; Zhang et al. 2019; De Long et al. 2019).

Los experimentos de retroalimentación planta-suelo evalúan cómo responden las plantas a cambios en las propiedades del suelo resultantes de la presencia previa de individuos de la misma especie o de diferentes especies (Gundale y Kardol, 2020). Así,

estos estudios suelen comparar el crecimiento de las plantas en suelos condicionados por la misma especie con suelos condicionados por otras especies (Kardol et al. 2007; van der Putten et al. 2013; Bever et al. 1997). Muchos experimentos de retroalimentación planta-suelo se realizan en invernáculos, lo que permite evaluar los mecanismos involucrados, como por ejemplo, separar el efecto de los nutrientes y el efecto de los microorganismos (Forero et al. 2019). Sin embargo, los mecanismos evaluados en invernáculo pueden diferir de los mecanismos en la naturaleza, donde las condiciones ambientales y los procesos ecológicos y evolutivos ocurren a gran escala (van der Putten et al. 2016; Florianová y Münzbergová, 2018; Forero et al. 2019). Además, la duración de la fase de respuesta, es decir, la edad de la planta y su etapa ontológica, pueden influir en la fuerza de la retroalimentación planta-suelo (Bezemer et al. 2018; Kardol et al. 2013). En un análisis de 300 estudios de retroalimentación planta-suelo, se encontró que la mayoría de los estudios se hicieron en invernáculos, mientras que solo el 9% se hicieron a campo, y se encontraron discrepancias entre los resultados de invernadero y campo (Beals et al. 2020). Este análisis comparativo pone de manifiesto que todas las evidencias de retroalimentación o *feedback* que conocemos se estudiaron en tiempos cortos y escalas reducidas, muy diferentes a las condiciones de los sistemas naturales. Es importante contar con más experimentos a campo que pongan a prueba estos mecanismos de retroalimentación en las condiciones naturales.

Los efectos de legado en el suelo debidos a la retroalimentación planta-suelo pueden determinar los cambios en la abundancia de especies de plantas durante la sucesión ecológica (Bauer et al. 2015; Qu et al. 2023). Estudios de largo plazo después del abandono agrícola en pastizales en la Pampa Interior, Argentina, muestran que la comunidad vegetal sigue una sucesión secundaria que termina dominada por especies perennes exóticas (Omacini et al. 1995). El restablecimiento del pastizal nativo no se produce espontáneamente (Omacini et al. 1995; Tognetti et al. 2010). Es necesaria la introducción de propágulos de especies nativas, pero además éstos no se establecen en forma similar bajo parches dominados por diferentes especies exóticas (Tognetti y Chaneton 2012). Por otro lado, en el paisaje de la Pampa Interior existen pequeños fragmentos de pastizal dominados por especies nativas que representan relictos o remanentes del ecosistema original que pueden ser utilizados como punto de referencia en iniciativas de restauración (Burkart et al. 2011, Tognetti y Chaneton 2015, Spirito et al. 2014). Se ha demostrado que hay diferencias en los procesos del suelo en las

comunidades de pastos exóticos y nativos representativos de estos dos estados alternativos del pastizal, el sucesional post-agrícola y el relicto de vegetación nativa (Spirito et al. 2014; Yahdjian et al. 2017). El legado que dejan las especies exóticas que crecieron previamente podría estar explicando en parte la limitación al establecimiento de especies vegetales nativas (Suding et al. 2004; Tognetti y Chaneton 2012; Slesak et al. 2022). Este legado podría asociarse a compuestos alelopáticos que persisten en el suelo, a cambios en la concentración de nutrientes, y/o a cambios en la composición de la comunidad microbiana donde la presencia o ausencia de hongos endofíticos o micorrícicos explicarían las restricciones a la restauración (van der Putten et al. 2013). Mas allá del avance en esta área, faltan evidencias a campo de cómo la retroalimentación planta-suelo modula la competencia entre comunidades de pastos exóticos y nativos en sistemas naturales (De long et al. 2023). Los escasos experimentos de campo que ponen a prueba la retroalimentación planta-suelo permitieron comprender la influencia del legado en la conformación de las comunidades vegetales (Beals et al. 2020). Pero aún resta entender el grado de generalización de estos procesos.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la retroalimentación planta-suelo y su influencia en el corto y mediano plazo sobre el balance competitivo entre pastos nativos y exóticos en dos estados alternativos del pastizal pampeano. Además, se evaluó en qué medida la retroalimentación podría verse modificada por la disponibilidad de nutrientes del suelo. En particular, buscamos determinar tanto la resistencia de los relictos de pastizal nativo a la invasión por especies exóticas, como la capacidad de restablecimiento de las especies nativas en pastizales post-agrícolas. Las hipótesis que proponemos son: 1) los estados alternativos del pastizal se mantienen a través de mecanismos de retroalimentación planta-suelo positiva. Esto implica que las especies establecidas (nativas o exóticas) modifican las condiciones del ambiente edáfico de modo que favorecen su propio reclutamiento, y limitan el establecimiento de los otros grupos de especies. Las comunidades vegetales nativas o exóticas tendrían una ventaja cuando crecen en un sitio condicionado por especies de la misma comunidad, comparada con sitios condicionados por especies de las otras comunidades. 2) la disponibilidad de nitrógeno (N) en el suelo potencia el efecto de retroalimentación de los estados alternativos del pastizal con resultados opuestos para aumentos o disminuciones de este nutriente. Esperamos que la fertilización con N favorezca la competencia ejercida por los pastos exóticos, más adaptados a altas condiciones de ese nutriente, mientras que el

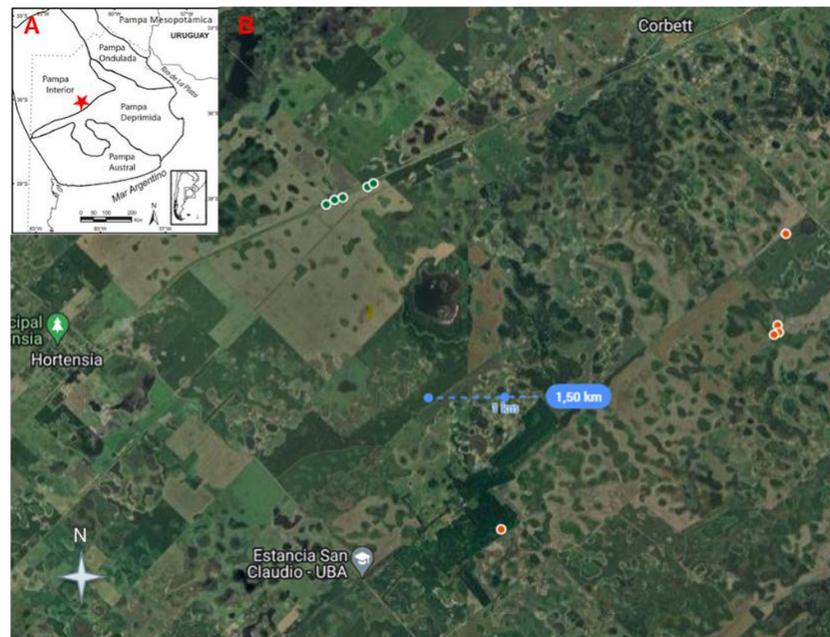
agregado de carbono que estimula la inmovilización de N de los microorganismos favorece a los pastos nativos, que evolucionaron en ambientes pobres en nutrientes.

Para poner a prueba estas hipótesis, realizamos un experimento a campo de trasplante recíproco de especies vegetales nativas y exóticas en los dos tipos de pastizales, pastizales post-agrícolas y relictos de vegetación nativa, que coexisten en el paisaje de la Pampa Interior. Los trasplantes fueron por grupo (nativas y exóticas) y mezclas de ambos grupos, estas últimas en un gradiente de nitrógeno (niveles reducidos, control y aumentado de nitrógeno) para evaluar la competencia. Medimos la cobertura de las plantas establecidas a los dos años (corto plazo) y luego de transcurridos 12 años del inicio del experimento (mediano plazo).

## **2.2. Materiales y métodos**

### **2.2.1. Sitio de estudio**

El estudio se llevó a cabo en la Estancia San Claudio, un campo de la Universidad de Buenos Aires, situado en el partido de Carlos Casares, provincia de Buenos Aires, Argentina (35° 53' 57'' S; 61° 12' 07'' W) (Figura 2.1A). El sitio es representativo de la Pampa Interior Oriental, una subunidad de los Pastizales del Río de La Plata (Soriano 1991). El clima es templado subhúmedo, con una precipitación media anual de 1022 mm durante los últimos 25 años. Las temperaturas medias mensuales varían de 8,2 °C en julio a 23,8 °C en enero. Los suelos dominantes son franco-arenosos, hapludoles típicos, con un horizonte A profundo y bien drenado, y un contenido de materia orgánica en los primeros 10 cm de 3% (Soriano 1992). El paisaje es un mosaico de campos de cultivo (soja, maíz y trigo), intercalados con pastos sembrados y pastizales seminaturales manejados para el pastoreo de ganado vacuno (Baldi, Gerschman y Paruelo 2006).



**Figura 2.1** A) Mapa de la región pampeana y sus subregiones. La estrella roja indica la locación del sitio experimental (“Estancia San Claudio, UBA” y sus vecindades, Carlos Casares, Buenos Aires, Argentina). B) Ubicación de los sitios experimentales. Los marcadores circulares verdes indican los 5 sitios del pastizal relictos y los de color naranja los 5 sitios de pastizal post-agrícola.

Para este estudio, se utilizaron dos condiciones del pastizal de la Pampa Interior Oriental consideradas estados alternativos (Tognetti et al. 2010, Spirito 2018, Yahdjian 2017; Figura 2.1b). Por un lado, los sitios post-agrícolas fueron abandonados hace más de 20 años; se encuentran dominados por especies de pastos exóticos, principalmente *Festuca arundinacea*, y en algunos casos co-dominados por *Cynodon dactylon*, *Sorghum halepense* y *Dactylis glomerata* (Yahdjian y Piñeiro 2014, Tognetti et al. 2010). Los pastizales post-agrícolas están mayormente dominados por especies exóticas, presentando una menor diversidad de especies vegetales y una eficiencia reducida en el almacenamiento de carbono en comparación con los relictos (Yahdjian y Piñeiro 2014). Por otro lado, los remanentes de pastizal natural están dominados por la especie nativa *Paspalum quadrifarium*, con presencia de pastos perennes nativos C3 (*Stipa spp.*, *Piptochaetium spp.*, *Melica brasiliana*, *Briza subaristata*), C4 (*Schizachyrium spicatum*, *Bothriochlora laguroides*) y dicotiledóneas (por ejemplo, *Conyza bonariensis*, *Eryngium spp.*) (Tognetti y Chaneton, 2015). Al establecer el experimento, las especies exóticas estaban presentes en el entorno de los relictos, pero con baja abundancia. Estudios previos mostraron que los relictos de pastizal natural son áreas de mayor riqueza de especies

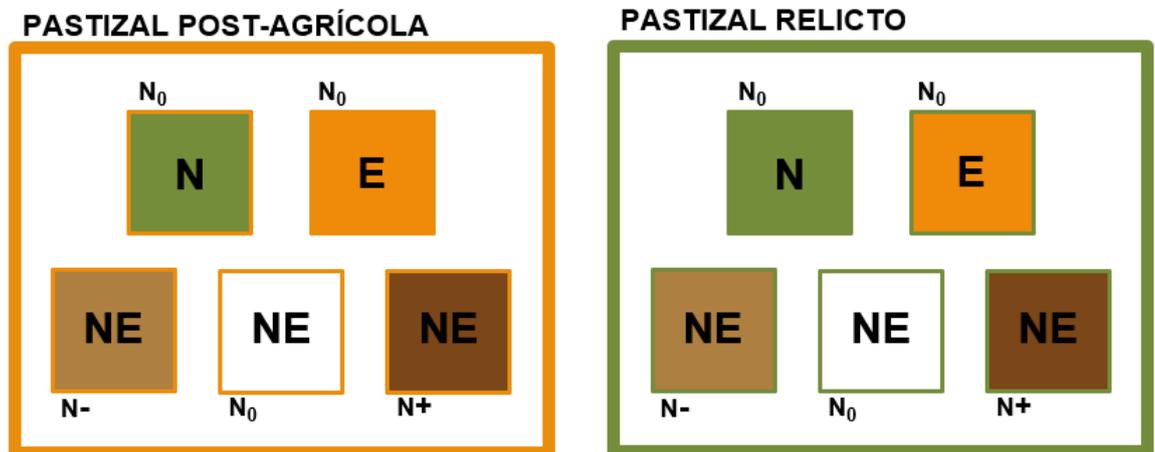
vegetales, mayor productividad primaria neta y mayor capacidad de almacenamiento de carbono que los pastizales post-agrícolas (Yahdjian y Piñeiro 2014).

### 2.2.2. Diseño experimental

El experimento manipulativo se realizó considerando la historia previa del pastizal, con dominancia de especies vegetales nativas o exóticas, y la composición-trasplante de plantas nativas o exóticas bajo disponibilidad de N del suelo contrastante. Para el factor historia se seleccionaron 10 sitios de pastizal, cinco de cada condición o historia (Fig 2.1). Se contó entonces con cinco parcelas de pastizal post-agrícola sucesional dominadas por especies exóticas, y cinco del pastizal natural remanente dominadas por especies nativas de aproximadamente 35m<sup>2</sup>. Debido a la disposición de los pastizales en el paisaje, el diseño no tuvo bloques, si no parcelas independientes en cada tipo de pastizal. En cada parcela experimental, se estableció un experimento de trasplante recíproco de especies de las dos comunidades, nativas y exóticas, bajo distinta disponibilidad de nitrógeno. Previo a la instalación de las plántulas, de mayo a octubre 2011 se removió la vegetación de toda la parcela y se delimitaron subparcelas contiguas de 1m<sup>2</sup> que se asignaron al azar a los tratamientos que provienen de la combinación del factor “trasplante” y “disponibilidad de nitrógeno”. Por un lado, se trasplantaron individuos de pastos exóticos (total 4 especies: *Festuca arundinacea*, *Cynodon dactylon*, *Sorghum halepense* y *Dactylis glomerata*), individuos de pastos nativos (total 4 especies: *P. quadrifarium*, *Bothriochloa laguroides*, *Nassella neesiana* y *Briza subaristata*) y mezclas de ambos grupos (Figura 2.2, Cuadro 2.1). En todas las subparcelas experimentales se plantaron en total 16 plántulas, pero de diferentes especies; En las “mezclas” fueron 2 plántulas de cada especie (4 especies nativas y 4 especies exóticas) mientras que los tratamientos “nativas” o “exóticas” fueron 4 plántulas de cada especie del grupo correspondiente. Al momento del trasplante, en noviembre 2011, todas las plántulas tenían el mismo tamaño, por lo que la biomasa inicial fue similar en todos los tratamientos. Las plántulas fueron generadas en invernáculo a partir de semillas colectadas en el sitio de estudio, germinadas en bandejas germinadoras, con arena como sustrato.

Por otro lado, para la condición mezcla, se incluyó el factor disponibilidad de nitrógeno con 3 niveles: con agregado de N (20 g N m<sup>-2</sup> año<sup>-1</sup> como NO<sub>3</sub>NH<sub>4</sub>), un control

sin enmiendas y con agregado de carbono lábil ( $200 \text{ g C m}^{-2} \text{ año}^{-1}$ , aproximadamente 500 g de azúcar). El agregado de carbono se utiliza para disminuir la disponibilidad de nitrógeno del suelo porque los microorganismos, cuya proliferación se ve normalmente limitada por C, inmovilizan el N disponible en presencia de C lábil (Perry et al. 2010). Estos tratamientos se iniciaron un mes antes de los trasplantes y se repitieron en 3 momentos del año durante 2 años (octubre, diciembre y marzo). A su vez, en todas las parcelas, las especies espontáneas que crecían fueron removidas cada 3 meses durante el primer año y luego cada 6 meses el segundo año. Los factores incluidos en el experimento, historia, trasplante y nutrientes permiten evaluar la importancia de procesos de retroalimentación a partir de la historia de uso y disponibilidad de nutrientes y su influencia sobre el balance competitivo entre pastos nativos y exóticos.



**Figura 2.2** Esquema de uno de los sitios del experimento a campo. Se establecieron 5 parcelas de pastizales relictuales (dominadas por plantas nativas) y 5 post-agrícolas (dominadas por plantas exóticas). En cada parcela (10 en total), se trasplantaron monoculturas de pastos nativos y exóticos (N y E) y la mezcla de ambas (NE). Las parcelas con mezcla se establecieron bajo niveles reducidos, naturales o aumentados de Nitrógeno: N- (marrón claro), N<sub>0</sub> (blanco), N+ (marrón oscuro) respectivamente.

**Cuadro 2.1** Lista de las 8 especies sembradas, su origen, metabolismo fotosintético C3 o C4, y su estación de crecimiento, I-P: invierno-primavera, P-V: primavera-verano.

Especie	Origen	Metabolismo de carbono	Estación de crecimiento
<i>Festuca arundinacea</i>	Exótica	C3	I-P
<i>Dactylis glomerata</i>	Exótica	C3	I-P
<i>Cynodon dactylon</i>	Exótica	C4	P-V
<i>Sorghum halepense</i>	Exótica	C4	P-V
<i>Paspalum quadrifarium</i>	Nativa	C4	P-V
<i>Bothriochloa laguroides</i>	Nativa	C4	P-V

<i>Nassella neesiana</i>	Nativa	C3	I-P
<i>Briza subaristata</i>	Nativa	C3	I-P

### 2.2.3. Variables de respuesta

#### Variables edáficas

Para caracterizar diferentes aspectos de los dos estados alternativos de la Pampa Interior y evaluar la efectividad de los tratamientos, se midieron variables edáficas en tres momentos diferentes. Por un lado, en noviembre de 2010, previo a la instalación del experimento, se tomaron 3 muestras de suelo de 5 cm de diámetro y 20 cm de profundidad en cada una de las en las cinco parcelas del pastizal post-agrícola y del pastizal remanente que se homogenizaron para tener una muestra compuesta en cada parcela. Una pequeña porción de cada muestra (menos de 5%) se utilizó para calcular el contenido hídrico y la densidad aparente. Luego, las muestras se mantuvieron refrigeradas a 4°C durante 20 días hasta enviar al laboratorio. En cada muestra compuesta de suelo, se analizaron las siguientes características edáficas: pH, conductividad eléctrica, contenido de C total por el método de Walkley-Black, contenido de N total por el método de Kjeldahl, contenido de fósforo por el método de Kurtz y Bray 1, capacidad de intercambio catiónico y contenido de los cationes  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  del suelo. Los análisis de suelo fueron realizados en el Instituto de Geocronología y Geología Isotópica (INGEIS).

Para evaluar la efectividad de los tratamientos de niveles contrastantes de nutrientes mediante fertilización con nitrógeno y agregado de carbono, en febrero 2012 se tomaron muestras de suelo de 5 cm de diámetro y 20 cm de profundidad en las 3 subparcelas mezcla de cada parcela y se analizó carbono total (Walkley-Black), nitrógeno total (Kjeldahl), amonio (extracción con cloruro de potasio y microdestilación) y nitrato (sulfato de cobre). Al igual que los anteriores, estos análisis fueron realizados en el Instituto de Geocronología y Geología Isotópica (INGEIS).

Por último, para evaluar el efecto de legado del crecimiento de plantas nativas y exóticas en el mediano plazo, en diciembre 2022 se volvieron a relevar las parcelas experimentales luego de 12 años de establecido el experimento. Si bien los tratamientos de nitrógeno no se mantuvieron durante esos años, las parcelas seguían delimitadas y dominadas por una mezcla de plantas de las especies *P. quadrifarium* y *F. arundinacea* sembradas. Por lo tanto, se tomaron muestras de suelo debajo de cada mata de estas dos

especies en cada una de las parcelas, para evaluar los efectos de mediano plazo en las condiciones edáficas. Los análisis fueron realizados por el “Laboratorio Escuela de Análisis de Suelos, Aguas y Vegetales” de la Cátedra de Edafología, Facultad de Agronomía, UBA.

### **Cobertura de la vegetación**

En diciembre del 2013, luego de dos años de la instalación del experimento (noviembre del 2011), se midió la cobertura relativa de todas las especies vegetales en todas las subparcelas de las 10 parcelas experimentales. La cobertura por especies de las especies trasplantadas se estimó visualmente en cada subparcela de 1 m<sup>2</sup>. Además, se registró la cobertura de especies espontáneas dentro de cada subparcela, antes de ser removidas (cada tres meses el primer año y cada seis meses el segundo año). Para evaluar si cada grupo de especies nativas o exóticas crecía mejor en sitios condicionados por sus mismas especies o en sitios condicionados por el otro grupo de especies, se utilizaron los datos de cobertura en las parcelas con trasplante de nativas o de exóticas respectivamente (“monoculturas”; Figura 2.2). Por otro lado, para evaluar la competencia entre grupos en las subparcelas mezclas, se utilizó el índice relativo de intensidad de la interacción entre plantas (RII). Este índice permite determinar el signo y la magnitud del efecto de la competencia en los tratamientos considerando los dos grupos de especies (Armas et al. 2004). Para construir el índice se utilizó la cobertura en las parcelas mezcla (sin agregado de nitrógeno) versus la cobertura de las “monoculturas”, con trasplante de especies nativas o de exóticas, según esta fórmula:

$$RII = \frac{\text{Grupo foco en mezclas} - \text{Grupo foco en monocultivo}}{\text{Grupo foco en mezclas} + \text{Grupo foco en monocultivo}}$$

Donde “grupo foco” se refiere a las exóticas o las nativas. El RII es simétrico alrededor de 0 y varía de +1 a -1. Los valores positivos indican facilitación entre especies nativas y exóticas, los valores negativos indican competencia y los valores no significativamente diferentes de cero indican efectos neutrales / nulos (Armas et al. 2004).

Por último, para comparar la intensidad de la competencia entre grupos bajo distinta disponibilidad de nitrógeno, se utilizaron los datos de cobertura de las parcelas mezclas con las que se construyó un índice de abundancia relativa de especies nativas y exóticas en cada nivel de nitrógeno:

$$\text{índice de abundancia relativa} = \frac{\text{Cobertura nativas} - \text{Cobertura exóticas}}{\text{Cobertura nativas} + \text{Cobertura exóticas}}$$

En diciembre de 2022, tras 10 años de la última medición de cobertura del experimento original, se relevaron las parcelas nuevamente para evaluar el efecto del legado en el largo plazo. El relevamiento se realizó a partir de mediciones la cobertura por especie en cada parcela, usando el mismo método que el empleado anteriormente. A diferencia de las mediciones a corto plazo, se midió la cobertura únicamente de *P. quadrifarium* y *F. arundinacea* ya que las demás especies de las comunidades ensambladas en las parcelas experimentales se encontraron en muy baja o nula cobertura.

#### 2.2.4. Análisis de datos

Para evaluar diferencias en las variables del suelo se realizaron análisis de varianza, comparando cada una de las variables del suelo entre los dos sitios con un análisis de varianza (ANOVA) de una vía. Para comparar cada variable de suelo entre los dos sitios y legados (a mediano plazo) se utilizó un ANOVA de dos vías.

Para describir la composición de especies de los sitios previo a la instalación del experimento manipulativo, se utilizó un análisis de Escalamiento multidimensional no métrico (NMDS). Este método se basa en una matriz de disimilitud y permite visualizar diferencias en la composición de especies entre los sitios (Perelman y Puhl, 2023).

Para evaluar el cambio en la cobertura de especies, se estimó el efecto de la historia del sitio, el trasplante de especies y/o la adición de nutrientes y sus interacciones. Se utilizaron modelos lineales mixtos (a partir del paquete NLME de R; Pinheiro et al. 2019), con un arreglo factorial en parcelas divididas (Perelman et al. 2021). La parcela principal corresponde a la historia del sitio (relictos o post-agrícola) y la subparcela al factor composición y/o nivel de nutrientes.

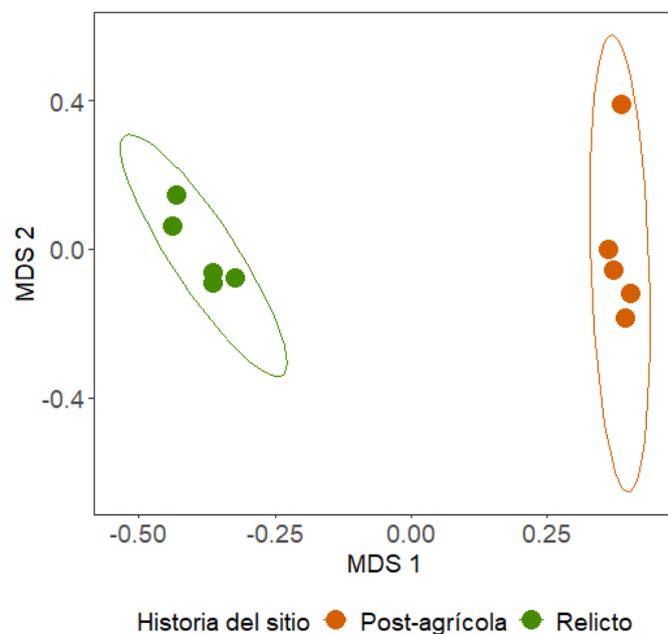
En el caso de los índices de interacción entre plantas y de abundancia relativa, se puso a prueba si los valores eran significativamente distintos de cero usando una prueba *t* para medias únicas, con pruebas bilaterales. Además, con un ANOVA de dos vías se evaluó si los tratamientos (sitio y trasplante) hicieron variar los índices. La validación de

los modelos siguió las recomendaciones de Zuur et al. (2010). Todos los análisis estadísticos se hicieron con R Studio (versión 3.6.2)

## 2.3. Resultados

### 2.3.1. Estado inicial de los pastizales

Al momento de establecer los tratamientos, los pastizales post-agrícolas y relictos presentaron una composición de especies de plantas muy contrastante como puede evaluarse en el análisis multivariado (Figura 2.3). En cada tipo de pastizal la composición de especies resultó homogénea, considerando el primer eje del análisis multivariado (Figura 2.3).



**Figura 2.3** Escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) de la composición de especies de los 5 sitios de pastizal post-agrícola (naranja) y los 5 sitios de pastizal relicto (verde). Las elipses representan el intervalo de confianza del 95% alrededor de la media para cada grupo.

Al momento de establecer el experimento, el suelo en los pastizales relictuales presentó diferencias significativas en algunas propiedades físico-químicas del suelo respecto de los sitios post-agrícolas. El contenido hídrico fue 36,96% mayor, mientras que la concentración de potasio y se nitrógeno fue, respectivamente, un 26,32% y 17,54% menor en los pastizales relictos en comparación a los post-agrícolas (Cuadro 2.2). Para el

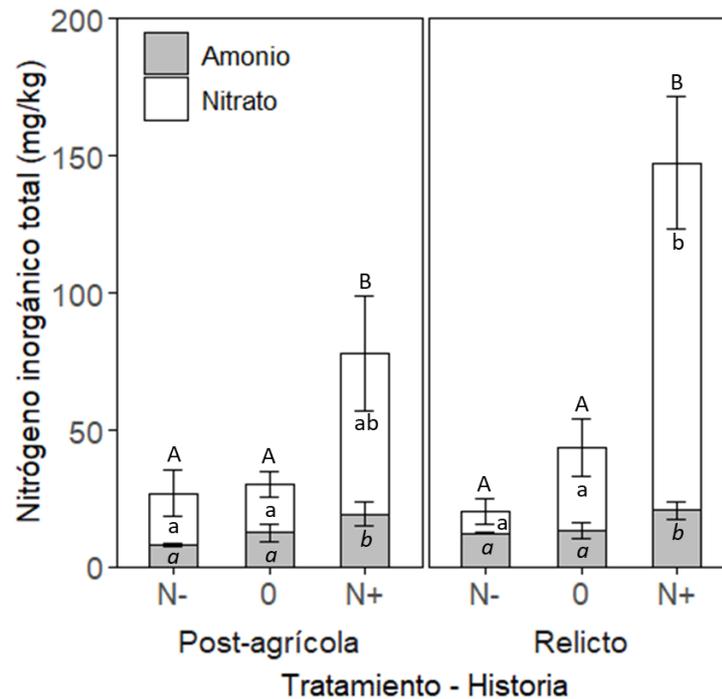
resto de las variables edáficas analizadas, no se encontraron diferencias significativas entre los dos tipos de pastizal.

**Cuadro 2.2** Propiedades físico-químicas del suelo de muestras tomadas a 20 cm de profundidad en sitios post-agrícolas invadidos y relictos de pastizal nativo previo a la instalación del experimento.

Variable	Post-agrícola	Relicto	Valor p
Densidad aparente (g/cm <sup>3</sup> )	1.76 ± 0.1	1.65 ± 0.1	0.86
Arena %	48.12 ± 3.6	41.2 ± 6.3	0.37
Limo %	35.54 ± 3.6	40.74 ± 5.1	0.42
Arcilla %	16.38 ± 0.5	18.12 ± 1.4	0.26
Contenido hídrico (%)	14.89 ± 1.7	20.84 ± 1.4	<b>0.02*</b>
pH	5.88 ± 0.1	5.82 ± 0.1	0.54
Carbono total (g/kg)	19.52 ± 1	19.36 ± 0.7	0.92
Nitrógeno total (g/kg)	1.71 ± 0.3	1.41 ± 0.3	<b>0.06.</b>
Fósforo (mg/kg)	8.28 ± 1.7	12.77 ± 1.9	0.12
C.I.C (cmol/kg)	21.78 ± 1.4	19.68 ± 1.3	0.31
C.E (dS/m)	0.43 ± 0.04	0.57 ± 0.1	0.14
Calcio (cmol/kg)	7.84 ± 0.1	8.16 ± 0.2	0.29
Magnesio (cmol/kg)	2.32 ± 0.1	2.6 ± 0.1	0.32
Potasio (cmol/kg)	1.9 ± 0.2	1.4 ± 0.1	<b>0.03*</b>
Sodio (cmol/kg)	0.14 ± 0.04	0.55 ± 0.4	0.42

Los valores corresponden al valor medio y error estándar (n=5). El \* indica  $p < 0,05$  para ANOVA de una vía.

Independiente del sitio, con el agregado de nitrógeno (N+), la concentración de nitrógeno inorgánico aumentó en 2,5 veces respecto de las parcelas control (Figura 2.4,  $p < 0.01$ , Cuadro S2.2, Apéndice 1) El agregado de carbono que tenía como objetivo la reducción de nitrógeno (N-), no alteró significativamente la concentración de N respecto a las parcelas control (Figura 2.4,  $p > 0,05$ , Cuadro S2.2, Apéndice 1). La concentración de amonio resultó 1,4 veces más alta en parcelas fertilizadas en comparación a las parcelas control, pero no varió entre sitios, mientras que la concentración de nitrato fue 2,72 veces mayor en sitios relictos fertilizados, en comparación a sitios post-agrícolas sin agregado de enmiendas (Figura 2.4).



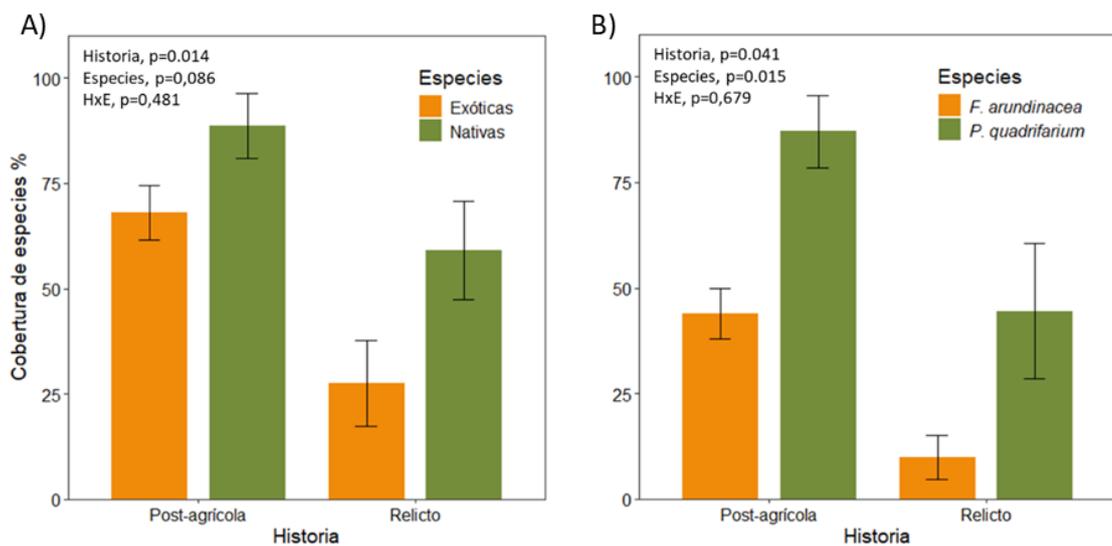
**Figura 2.4** Nitrógeno inorgánico total y sus componentes (%) en función de la historia del sitio (post-agrícola o relicto) y el tratamiento para modificar el nitrógeno disponible aplicado en las parcelas mezcla. Las barras blancas representan el contenido de nitratos y las barras grises el contenido de amonio del suelo. Las barras muestran el valor medio  $\pm$  1 error estándar. Letras diferentes muestran diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) según test de Tukey; letras mayúsculas para Nitrógeno inorgánico total, letras minúsculas para Nitrato y letras itálicas para Amonio

### 2.3.2. Cobertura de especies implantadas en el corto plazo

Luego de dos años de establecido el experimento, la diferencia de cobertura de los grupos de especies plantados estuvo dada principalmente por el tipo de pastizal, post-agrícola o relicto, y en menor medida por la identidad de las especies trasplantadas. La cobertura de especies total fue un 80,93% más alta en sitios post-agrícolas, en comparación a los relictos (Figura 2.5; Historia del sitio,  $p=0,014$ , Cuadro S2.3, Apéndice 1). La cobertura de nativas fue marginalmente mayor que la de exóticas (Figura 2.5.A). Sin embargo, no encontramos un efecto de retroalimentación planta-suelo ya que la interacción de los dos factores no fue significativa (Historia x Especies  $p>0,05$ , Cuadro S2.3, Apéndice 1).

En particular, dentro del grupo de especies plantadas, evaluamos la cobertura de las especies dominantes *F. arundinacea* y *P. quadrifarium* de los pastizales post agrícolas y los relictos respectivamente (Figura 2.5.B). Encontramos que la cobertura de ambas

especies fue 2,4 veces más en sitios post-agrícolas en comparación a los relictos (Historia del sitio,  $p=0.041$ , Cuadro S2.3, Apéndice 1). En general, la cobertura de *P. quadrifarium* resultó un 140% más alta que la de *F. arundinacea* (Especie,  $p=0.015$ , Cuadro S2.3, Apéndice 1). Al analizar la cobertura de las especies exóticas y nativas trasplantadas sin contar a las dos especies dominantes (*F. arundinacea* y *P. quadrifarium*), observamos que no hay un cambio en la cobertura de especies debido a la historia del sitio, sino que la cobertura de exóticas es mayor a la de nativas en ambos sitios (Figura S2.1, Apéndice 1).

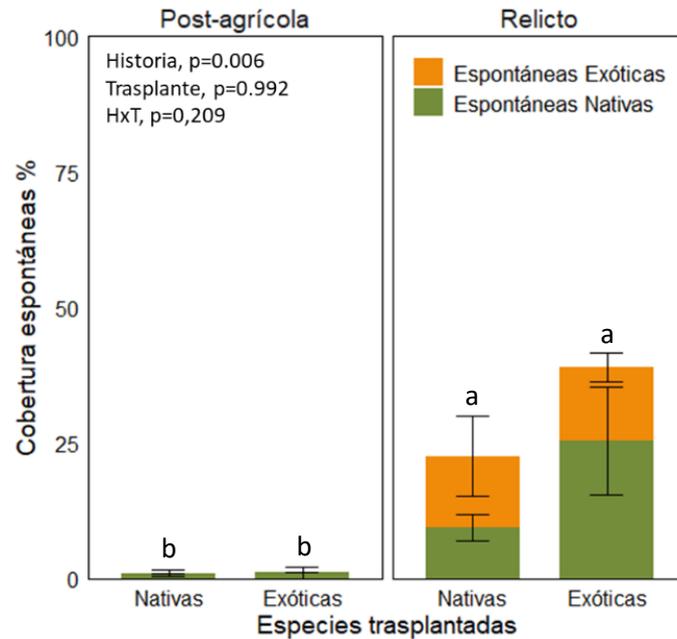


**Figura 2.5** Cobertura de todas especies trasplantadas (A) y cobertura de las especies dominantes, la exótica *Festuca arundinacea* y la nativa *Paspalum quadrifarium* (B) según, la historia del sitio: Post-agrícola y Relicto. Las barras naranjas representan a las especies exóticas (A) o *F. arundinacea* (B) y las barras verdes a las nativas (A) y *P. quadrifarium* (B). Las barras indican el promedio de la cobertura en el año 2013  $\pm$  1 error estándar para  $n=5$ .

### 2.3.3. Cobertura de especies espontáneas

La cobertura de especies espontáneas, tanto exóticas como nativas, fue significativamente mayor en los relictos que en el pastizal post-agrícola (Historia,  $p=0.006$ , Figura 2.6). Sin embargo, la cobertura de especies espontáneas no varió entre parcelas trasplantadas de especies exóticas y nativas (Figura 2.6). La cobertura de especies espontáneas nativas fue aproximadamente 16.5 veces mayor en pastizales relictos en comparación a los post-agrícolas, mientras que la cobertura de especies

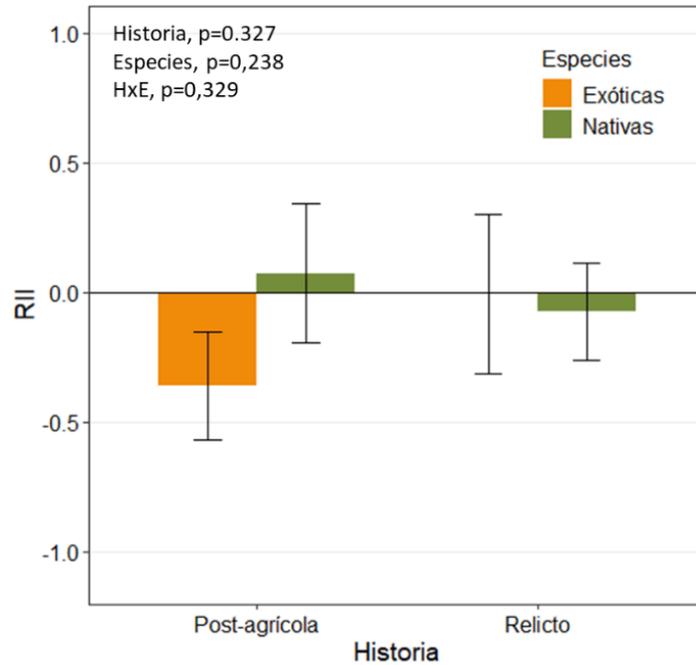
espontáneas exóticas fue un 0% en los pastizales post-agrícolas y 13% en los relictos (Cuadro S2.4, Apéndice 1).



**Figura 2.6** Cobertura de especies espontáneas (%), según la historia del sitio y las especies trasplantadas. Las barras naranjas representan a las especies espontáneas exóticas y las barras verdes a las nativas. Las barras indican el promedio de la cobertura  $\pm 1$  error estándar para  $n=5$ .

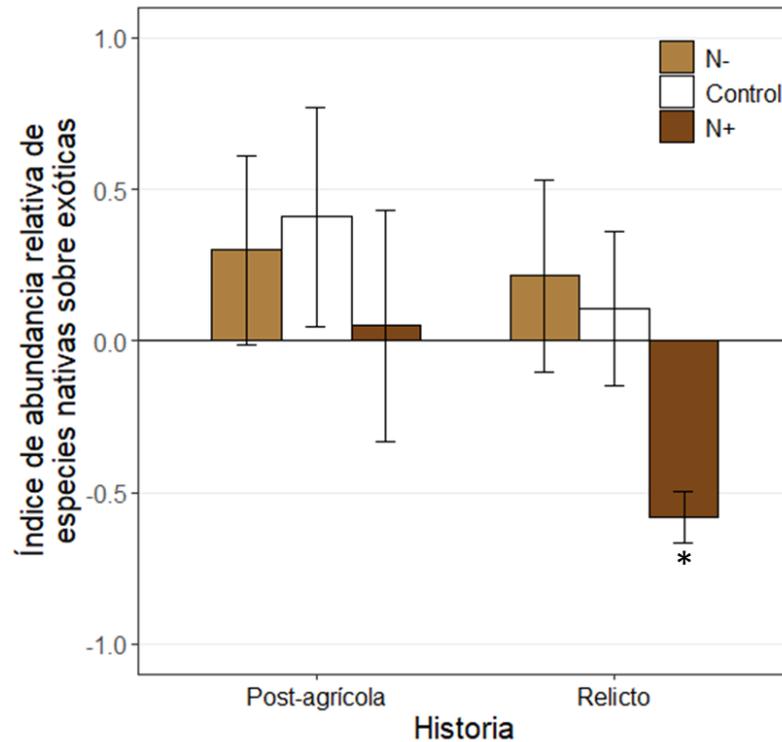
#### 2.3.4. Efectos de la Competencia

Al comparar la cobertura de especies que crecieron en las mezclas versus su cobertura en las monoculturas a través del índice de intensidad de la interacción entre plantas (RII), obtuvimos que no hubo un efecto de la historia del sitio y de las especies trasplantadas sobre la interacción entre grupos. Es decir, no se evidenciaron efectos negativos ni positivos significativos de la presencia de un grupo de especies sobre el desempeño del otro grupo en ninguno de los dos tipos de pastizal (Figura 2.7,  $p>0,05$ , Cuadro S2.5, Apéndice 1).



**Figura 2.7** Índice de interacción entre plantas (RII) en función de la historia del sitio y el grupo de especies trasplantado. Los valores corresponden al valor medio del índice y su error estándar (n=5). No hubo diferencias significativas entre los tratamientos ( $p > 0,05$ ).

El agregado de nitrógeno favoreció a las especies exóticas por sobre las nativas en los relictos. La cobertura de especies exóticas fue un 276% mayor que la de nativas con el agregado de N en pastizales relictuales (Figura 2.8,  $p < 0,05$ , Cuadro S2.6, Apéndice 1). En cambio, en los sitios post-agrícolas, ningún tratamiento de disponibilidad de nitrógeno modificó significativamente el éxito relativo de los grupos de especies exóticas y nativas (Figura 2.8).



**Figura 2.8** Índice de abundancia relativa de especies nativas sobre exóticas en función del tipo de pastizal y del nivel de nitrógeno. Valores positivos del índice indican mayor éxito relativo de las especies nativas, en cambio, los valores negativos indican mayor éxito relativo de las especies exóticas. Las barras color marrón claro representan al agregado de carbono (reducciones de nitrógeno, N-), las barras blancas al control sin enmiendas, y las barras color marrón oscuro la fertilización con nitrógeno (N+). Las barras indican valores medios  $\pm$  1 error estándar (n=5). Las diferencias significativas respecto al cero (prueba t) se indican con asteriscos (\*P, 0,05).

### 2.3.5. Descripción de los sitios luego de doce años

Doce años después de la instalación del experimento y diez de la última medición, las parcelas estaban dominadas por una mezcla de *F. arundinacea* y *P. quadrifarium*. Las variables del suelo fueron medidas según el legado de estas dos especies y la historia del sitio, pastizal post-agrícola o relicto de pastizal nativo.

Independientemente de la historia del sitio, la concentración de potasio (K) en el suelo resultó un 14.3% más alta debajo de las matas de *F. arundinacea* en comparación a *P. quadrifarium* (Cuadro 2.3, Legado,  $p=0.04$ , Cuadro S2.7, Apéndice 1). Además, el fósforo aumentó aproximadamente 146% en pastizales relictos bajo matas de *P. quadrifarium*, en comparación a sitios post-agrícolas bajo matas de *F. arundinacea* (Cuadro 2.3, Historia x Legado,  $p=0.01$ , Cuadro S2.7, Apéndice 1). Para el resto de las

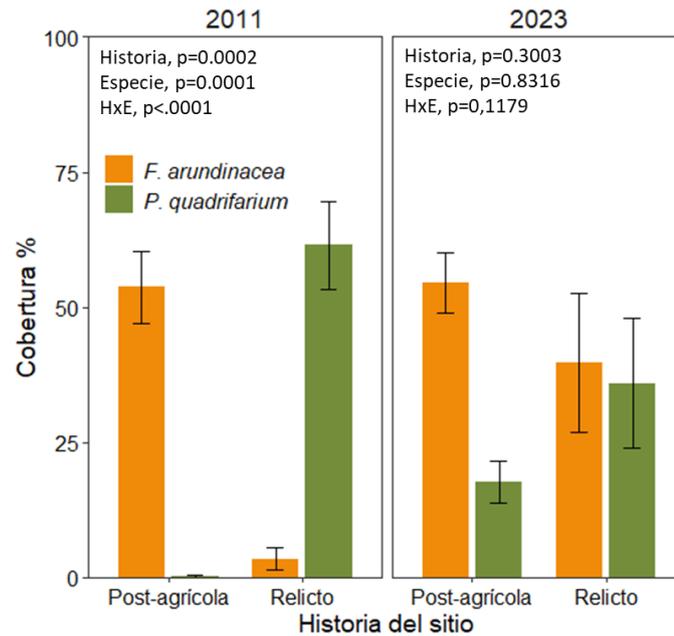
variables edáficas evaluadas no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 2.3).

**Cuadro 2.3** Propiedades del suelo de muestras tomadas a 20 cm de profundidad en sitios post-agrícolas y relictos, según el legado de *Festuca arundinacea* y *Paspalum quadrifarium*, luego de 12 años de instalado el experimento

	Historia del sitio			
	Post-agrícola		Relicto	
	Legado			
	<i>F.arundinacea</i>	<i>P. quadrifarium</i>	<i>F. arundinacea</i>	<i>P. quadrifarium</i>
pH (1:2,5)	6,02 ± 0,09	5,89 ± 0,09	6,13 ± 0,03	6,09 ± 0,09
CE (dS/m)	0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,003
COT (%)	1,74 ± 0,08	1,95 ± 0,19	1,81 ± 0,18	1,72 ± 0,17
MO (%)	3,00 ± 0,14	3,36 ± 0,32	3,12 ± 0,31	2,97 ± 0,29
Nt (%)	0,16 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,174 ± 0,01	0,50 ± 0,34
Ca (cmolc/Kg)	7,43 ± 1,09	7,23 ± 0,98	8,64 ± 1,14	8,60 ± 1,02
Mg (cmolc/Kg)	2,21 ± 0,51	2,42 ± 0,55	2,84 ± 0,63	3,05 ± 0,73
Na (cmolc/Kg)	0,27 ± 0,07	0,33 ± 0,08	0,22 ± 0,03	0,22 ± 0,03
K (cmolc/Kg)	1,98 ± 0,06 <b>a</b>	1,73 ± 0,20 <b>b</b>	1,80 ± 0,09 <b>a</b>	1,57 ± 0,11 <b>b</b>
CIC (cmolc/Kg)	14,54 ± 1,04	15,01 ± 1,17	17,35 ± 1,55	15,46 ± 0,38
P (mg/kg)	6,66 ± 0,90 <b>a</b>	10,16 ± 0,57 <b>b</b>	11,20 ± 0,69 <b>b</b>	16,36 ± 0,57 <b>c</b>

Los valores corresponden al valor medio y error estándar (n=5). Letras diferentes muestran diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) según test de Tukey.

Al comparar la cobertura de *F. arundinacea* y *P. quadrifarium* en las parcelas experimentales antes de la instalación del experimento (año 2011) y luego de diez años de finalizado el mismo (2023), observamos diferencias en la abundancia de ambas especies según el año. En el 2011, la cobertura de *F. arundinacea* fue 15 veces mayor en pastizales post-agrícolas en comparación a los relictos, mientras que la cobertura de *P. quadrifarium* fue 300 veces más alta en pastizales relictos en comparación a los post-agrícolas (Figura 2.9, Cuadro S2.8, Apéndice 1). Sin embargo, luego de 10 años de la última medición del experimento original, no se encontraron diferencias significativas en la cobertura de *F. arundinacea* y *P. quadrifarium* para ambos tipos de pastizal (Figura 2.9, Cuadro S2.8, Apéndice 1).



**Figura 2.9** Cobertura de especies (%) previo a la instalación del experimento (2011) y luego de 12 años de finalizado el experimento (2023), según la historia del sitio: Post-agrícola y Relicto. Las barras naranjas representan a la especie exótica *Festuca arundinacea* y las barras verdes a la especie nativa *Paspalum quadrifarium*.

## 2.4. Discusión

Con un estudio a campo evaluado a corto y mediano plazo se estudió la interacción planta-suelo en función de la historia de uso y la disponibilidad de nutrientes. Se analizó la abundancia de plantas nativas y exóticas y el balance competitivo entre ellas en estados alternativos del pastizal dominados por pastos nativos y exóticos y en condiciones contratantes de nitrógeno en el suelo. En contra de la hipótesis de retroalimentación planta-suelo, la historia de uso del pastizal determinó la cobertura de ambos grupos de especies. La abundancia de ambos grupos de plantas fue mayor en sitios post-agrícolas que en relictos. No encontramos un efecto de competencia entre grupos, aunque niveles crecientes de nitrógeno favorecieron la cobertura de especies exóticas por sobre las nativas, principalmente en los pastizales relictos. Además, la mayor cobertura de especies espontáneas en los relictos podría indicar una menor resistencia de los mismos a ser invadidos. La falta de propágulos o alguna condición del ambiente podría explicar la baja cobertura de especies espontáneas en los pastizales post-agrícolas. Estos resultados explican las dificultades de restauración de pastizales post-agrícolas.

#### 2.4.1. Cobertura de especies implantadas en el corto plazo

Los resultados de nuestro trabajo muestran que el desempeño diferencial de los grupos de especies exóticas y nativas podría estar explicado principalmente por el tipo de pastizal, y no por la identidad de las especies. No encontramos un efecto de retroalimentación, ya que ambos grupos tuvieron mayor éxito en los pastizales post-agrícolas. En un metaanálisis de 52 trabajos que comparan retroalimentación entre especies nativas y exóticas, Suding y colaboradores (2013), observaron que, en la mayoría de los estudios, las especies nativas crecen mejor en suelos acondicionados por otras especies nativas. Sin embargo, el crecimiento de las especies exóticas no presentó una relación consistente con el efecto de condicionamiento del suelo (Suding et al. 2013). Esto demuestra una ventaja de las especies nativas de locales que no encontramos en este trabajo. Por otro lado, en otro metaanálisis, Jiang y colaboradores (2024) mostraron que, en comparación a las especies nativas, las especies exóticas crecen mejor en suelos condicionados por ellas mismas. Estos autores proponen que la ausencia de ciertos microorganismos en el suelo cultivado por exóticas podría contribuir al éxito de la invasión de especies exóticas (Jiang et al. 2024). En pastizales diversos, como es el caso de los estudiados en esta tesis, puede dificultarse la detección de mecanismos de retroalimentación planta-suelo debido a la complejidad de estos sistemas (Mariotte et al. 2018; Kutáková et al. 2023).

El éxito de ambos grupos de especies, nativas y exóticas, en el pastizal post-agrícola podría deberse a una mayor disponibilidad de nutrientes en comparación al pastizal relicto. Muchas veces las prácticas agrícolas pueden remover más nutrientes de los que se aportan a través de la fertilización durante su manejo (Kulmatiski et al. 2006, Mariotte et al. 2018). Sin embargo, si, tras abandonar la actividad agrícola, la comunidad vegetal queda dominada por especies exóticas, estas pueden aumentar el nivel de nutrientes, por su cantidad y calidad de tejido vegetal (Cramer et al. 2008; Spirito et al. 2014; Yahdjian et al. 2017). Si bien no encontramos un efecto de retroalimentación planta-suelo en la cobertura de especies exóticas, la mayor disponibilidad de nutrientes en los pastizales post-agrícolas podría deberse al legado de las especies exóticas dominantes. La broza de *F. arundinacea*, dominante en pastizales post-agrícolas, posee una relación C:N en sus tejidos vegetales 40% menor que la de *P. quadrifarium*, dominante del pastizal nativo (Spirito et al. 2014). Estas diferencias podrían explicar la diferencia en la disponibilidad de nutrientes de ambos pastizales. Sin embargo, la

retroalimentación puede depender de muchos otros factores (Rutten y Allan, 2023). Por ejemplo, Kuřáková y col. (2023) mostraron que en una comunidad dominada por *F. arundinacea*, la retroalimentación planta-suelo puede cambiar con la profundidad del suelo dentro de la misma comunidad vegetal. Todavía falta información para poder sacar una conclusión general sobre cómo puede cambiar la fuerza y dirección de la retroalimentación planta-suelo para cada comunidad y tipo de ambiente (Gundale y Kardol, 2021).

#### **2.4.2. Efectos de la competencia**

Contrariamente a lo hipotetizado, no encontramos diferencias en la intensidad de la competencia entre los grupos de especies en ninguna de las comunidades ensambladas. Esperábamos que las especies de las comunidades locales (nativas en relictos y exóticas en los post-agrícolas) ejercieran mayor competencia sobre las especies visitantes, en comparación con la competencia ejercida entre las especies pertenecientes a la misma comunidad local. En contraste, Beals y colaboradores (2020) demostraron que cuando una especie foco crece en suelo cultivado por otras especies, la competencia sobre la especie foco aumenta. Esto podría deberse a que la competencia interespecífica intensifica los efectos perjudiciales de la biota del suelo no específica de la planta, o bien disminuye los beneficios que esta biota podría tener en el crecimiento de las plantas (Beals et al. 2020). Es importante destacar que la competencia podría tener efectos directos e interactivos con otros factores bióticos y determinar cómo se desarrollan los mecanismos de retroalimentación en diferentes contextos ambientales y cómo afectan a la diversidad de las comunidades (Gundale y Kardol, 2021, Rutten y Allan, 2023).

Tal como hipotetizamos, la fertilización favoreció a las exóticas por sobre las nativas, aunque esto sólo se evidenció en el pastizal relicto originalmente dominado por especies nativas. Curiosamente, este patrón no se replicó en el pastizal post-agrícola. Una posible explicación podría ser que la diferencia de los niveles de nitrógeno disponible en las parcelas fertilizadas fue más alta en los sitios relictos que en los post-agrícolas (Figura 2.4 y Cuadro S2.2). En sintonía con esto, Larios y Suding (2014) observaron que el aumento en los niveles de nitrógeno eliminó los efectos de retroalimentación positiva ejercidos por una especie nativa y redujo la competitividad de esta especie mediada por la biota del suelo contra una especie invasora (Shivega y Aldrich-Wolfe 2017, Lekberg

et al. 2018). En ese mismo trabajo, encontraron que la reducción de nitrógeno en el suelo disminuyó los efectos negativos que genera un suelo con microbiota asociada a una especie exótica sobre el crecimiento de una especie nativa. Sin embargo, los análisis de suelo de nuestro estudio muestran que el agregado de carbono no disminuyó significativamente el nitrógeno disponible para las plantas y por lo tanto no podemos hacer inferencias respecto al tratamiento de reducción de nitrógeno. Igualmente, es importante destacar que el agregado de carbono lábil puede haber reducido los niveles de nitrógeno durante un corto período y haber tenido efecto en el establecimiento de las plántulas, pero no haberse visto reflejado en los análisis de suelo. Asimismo, el agregado de azúcar podría tener un efecto directo o indirecto sobre microorganismos del suelo y sería interesante evaluar como estos cambios influyen en el proceso de retroalimentación (Perry et al. 2010). En un contexto de aumento global en los niveles de nutrientes, es esencial comprender la variación en el impacto del legado en el suelo y la dinámica competitiva entre distintas especies frente a las alteraciones en la disponibilidad de nutrientes.

### **2.4.3. Estado de los sitios luego de diez años**

Antes de la instalación del experimento, los sitios seleccionados en el pastizal relicto se encontraban dominados por especies nativas, principalmente *P. quadrifarium*, mientras que los pastizales post-agrícolas se encontraban dominados por especies exóticas, principalmente *F. arundinacea* (Figura 3 y 11). Sin embargo, tras 10 años de la última medición, ambas especies mantienen su cobertura donde se trasplantaron, incluso en sitios donde antes no estaban representadas, o en los que se hallaban en muy baja proporción. Por un lado, los relictos de pastizal nativo no mostraron resistencia a la invasión por especies exóticas en el largo plazo, ya que la cobertura de *F. arundinacea* resultó muy similar a la de *P. quadrifarium*. La expansión de especies exóticas podría representar una amenaza a la estabilidad de los relictos de pastizal nativo, sobre todo en escenario de aumento en las deposiciones de nitrógeno. Nuestros resultados muestran que un aumento en la disponibilidad de nutrientes en estos sitios aumenta el éxito relativo de especies exóticas. Sin embargo, *F. arundinacea* no pareciera cambiar significativamente las propiedades del suelo, al menos en el período de 12 años. Por otro lado, *P. quadrifarium* pudo establecerse y persistir en el tiempo en el pastizal post-agrícola, en

sitios donde la vegetación fue removida y donde fue trasplantada como plántula, es decir el legado de comunidades exóticas no impidió su establecimiento y crecimiento. Por lo tanto, la baja capacidad de restablecimiento de especies nativas en pastizales post-agrícolas puede estar determinada, principalmente, por la baja disponibilidad de propágulos o el establecimiento desde semillas (D'Angela et al. 1998; Omacini et al. 1995; Tognetti y Chaneton, 2012). Esta limitación puede observarse en la abundancia de especies espontáneas, donde su cobertura es muy baja en pastizales post-agrícolas en comparación a los relictos (Figura 2.6). Igualmente, en los pastizales post-agrícolas, la cobertura de *P. quadrifarium* tiende a ser notablemente menor que la de *F. arundinacea* en el largo plazo. Esto podría indicar que los efectos de legado llevan tiempo y quizás sean necesarios estudios de más largo plazo a campo que evalúen con detalle los mecanismos detrás del proceso de retroalimentación (Kardol et al. 2013; Cheng et al. 2024).

La evaluación de procesos de retroalimentación a campo es un desafío desde diferentes puntos de vista (Gundale y Kardol, 2021). Abarcar la heterogeneidad natural en sistemas relicto puede dificultarse principalmente por su escasez en los paisajes modernos. En nuestro caso, los relictos a los que accedimos representaron pequeños fragmentos ubicados en corredores ferroviarios abandonados, lo que limita la extrapolación de los resultados. En este sentido, sería interesante extender el estudio a otros pastizales relictos de la región para conocer la generalidad de los procesos estudiados. Además, si bien el condicionamiento del suelo generado por la retroalimentación planta-suelo a campo puede estar sujeto a factores confundidos, permite abarcar escalas temporales experimentales y sucesionales más realistas (Gundale y Kardol, 2021). Dado que las plantas pueden dejar legados en el suelo que persisten mucho más allá de su ciclo de vida, los mecanismos de retroalimentación planta-suelo en ecosistemas naturales son más complejos y menos predecibles de lo que sugieren los experimentos de invernáculo (Heinen et al. 2020).

**Capítulo 3: La retroalimentación planta-suelo mediada por el legado  
biótico del suelo**

### 3.1. Introducción

La retroalimentación planta-suelo ocurre cuando las plantas modifican las propiedades bióticas y abióticas del suelo, y esto a su vez afecta el establecimiento y crecimiento de las plantas sucesivas, sean éstas de la misma especie o de otra (Bever, 1994; Ehrenfeld et al. 2005; van der Putten et al. 2013; Hannula et al. 2021). Las plantas durante su ciclo de vida producen cambios en el suelo, por ejemplo, a partir de la explotación de nutrientes durante el crecimiento, la acumulación de patógenos o de organismos mutualistas, o en la descomposición del material vegetal (Kulmatiski et al. 2017; Bennett y Klironomos, 2019). Estos cambios en el ambiente que generan las plantas pueden permanecer en forma de legado en el suelo una vez que las plantas hayan desaparecido, lo que a su vez puede afectar a futuras plantas que crezcan en el mismo suelo (Kulmatiski et al. 2008; Van der Putten et al. 2013; Teste et al. 2017; Heinen et al. 2020). Cuando las plantas crecen mejor en suelos que fueron condicionados por su propia especie, es decir en suelo conoespecífico, en comparación con suelo heteroespecífico (condicionado por otra/s especie/s), la retroalimentación planta-suelo es positiva. En cambio, cuando las plantas crecen mejor en suelos heteroespecíficos, la retroalimentación es negativa (Bever, 2003). Generalmente, el efecto de retroalimentación positiva se asocia con la presencia de organismos mutualistas, mientras que los patógenos suelen generar retroalimentaciones negativas al afectar más a los conspecíficos que a los heteroespecíficos, debido a su relación particular con la planta focal (Bennett y Klironomos, 2019).

Los rasgos funcionales de las plantas, como la forma de las hojas y las raíces, tienen un rol importante en la retroalimentación planta-suelo, ya que pueden determinar la composición de las comunidades microbianas del suelo y los ciclos de nutrientes (Semchenko et al. 2018; Spitzer et al. 2021). Esto se debe en gran parte a que las características de las plantas determinan la calidad y cantidad de recursos que ingresan al suelo, lo que a su vez influye en la composición y actividad de las comunidades microbianas (Bardgett y Wardle, 2010). Por ejemplo, el material vegetal de distintas especies vegetales se descompone a tasas distintas, determinando una mayor o menor liberación de nutrientes al suelo (Spirito et al. 2014; Yahdjian et al. 2017). De hecho, los rasgos funcionales de las plantas no solo influyen en el impacto de éstas sobre la comunidad del suelo, sino también en cómo la planta responde a dicha comunidad (Bardgett, 2017; Delgado-Baquerizo et al. 2018). Por ejemplo, especies de rápido

crecimiento, con rasgos como alta área foliar específica (SLA por su sigla en inglés), contenido de N y longitud específica de la raíz (SRL por su sigla en inglés), tienden a experimentar retroalimentaciones más negativas, debido a su alta capacidad de adquisición de nutrientes, pero baja defensa contra enemigos naturales (Teste et al. 2017; Xi et al. 2021). Mientras que especies de crecimiento más lento, con rasgos como un alto contenido de materia seca o un diámetro promedio de la raíz, tienden a experimentar retroalimentaciones neutras o positivas (Cortois et al. 2016). Dado que los rasgos de las plantas influyen directamente en los procesos que ocurren en el suelo, es esperable que también tengan un impacto considerable en la intensidad de las retroalimentaciones planta-suelo (Münzbergová y Šurinová, 2015; Xi et al. 2021; Rutten y Allan, 2023).

Más allá de los rasgos de las plantas, se ha demostrado que los legados bióticos del suelo pueden influir en la composición y diversidad de las comunidades vegetales en condiciones naturales (Wubs et al. 2019, Heinen et al. 2020). A medida que se desarrollan comunidades específicas de organismos del suelo alrededor de las raíces de las plantas, los legados en el suelo pueden intensificarse con el tiempo (Diez et al. 2010). El legado de las especies exóticas en el suelo puede generar interacciones planta-suelo que favorecen su persistencia y expansión, impidiendo el restablecimiento de comunidades nativas (Reinhart y Callaway 2006, Zhang et al. 2019; Gundale y Kardol, 2021). Las plantas invasoras pueden alterar las comunidades microbianas del suelo, acumulando patógenos y seleccionando simbiosis específicos que perjudican a las especies nativas (Zhang et al. 2010; Meinhardt y Gehring, 2012). Estudios recientes confirman que la perturbación de estas comunidades microbianas perjudica el crecimiento y establecimiento de las plantas nativas (Kozioł y Bever, 2016; Honnay et al. 2017). Sin embargo, la restauración de estos microbios puede ser clave para resolver las dificultades que enfrenta el establecimiento de plantas en pastizales. (Crawford et al. 2019; Duell et al. 2022). Por lo tanto, es probable que la biota del suelo sea un componente indispensable para explicar cómo las comunidades nativas resisten la invasión de plantas exóticas (Liao et al. 2015).

Heinen y colaboradores (2020) demostraron que los efectos de condicionamiento de las comunidades vegetales sobre la biota del suelo son más influyentes que los factores abióticos en la generación de legados en el suelo. Los autores encontraron que tanto las bacterias como los hongos del suelo responden a los efectos de las comunidades de plantas que los condicionan (Heinen et al. 2020). Sin embargo, los efectos sobre las

comunidades de hongos son más duraderos que sobre las bacterias y tienen una mayor influencia en las comunidades de plantas que crecen posteriormente (Kardol et al. 2006; Heinen et al. 2020). Estos legados en comunidades vegetales naturales son impulsados por la composición de la comunidad fúngica del suelo en su totalidad, más que por un solo taxón (Semchenko et al. 2018; Bennett y Klironomos 2018; Heinen et al. 2020).

Aproximadamente el 80% de las plantas vasculares están colonizadas por hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA), los cuales ayudan en la absorción de nutrientes por las plantas, la protección contra patógenos y otros procesos, a cambio de carbono (van der Heijden et al. 1998). Al ser simbioses obligados, Los HMA proporcionan a las plantas diversos beneficios a cambio de carbono obtenido de la fotosíntesis (Newsham et al. 1995). Esta asociación influye en procesos ecosistémicos como la productividad, la movilización de nutrientes y el ciclo del carbono (Rillig, 2004), así como en las interacciones bióticas relacionadas con la dinámica de las comunidades (van der Heijden et al. 1998; Urcelay y Battistella 2007). Las diferencias en la respuesta de las especies vegetales a los hongos micorrízicos resultan claves para la estructuración de las comunidades vegetales por parte de estos (van der Heijden, 2002; Hoeksema et al. 2010). Si bien se viene estudiando la diferencia entre la asociación de HMA en plantas nativas y exóticas, no está claro cómo los HMA influyen en la trayectoria de las invasiones (Bunn et al. 2015).

Como se mencionó en los capítulos anteriores, la sucesión post-agrícola en los pastizales pampeanos se caracteriza por la dominancia de especies exóticas, en particular *Festuca arundinacea*, una gramínea introducida como forrajera invernal por su metabolismo del carbono del tipo "C3", que se ha naturalizado en estos pastizales y presenta altos niveles de asociación simbiótica con el hongo endófito del género *Epichloe* (Gundel et al. 2009). Si bien todavía no hay consenso acerca del efecto de los endófitos en la colonización de HMA, se ha documentado que las asociaciones con endófito pueden disminuir la simbiosis de plantas y HMA (Clay y Holah, 1999; Omacini et al. 2006). Esto puede deberse a la competencia entre simbioses por los fotosintatos de la planta y la acumulación de compuestos secundarios producidos por el endófito (Omacini et al. 2006). Además, se ha encontrado que las especies C3 responden menos a la inoculación con HMA que las especies con metabolismo de carbono del tipo "C4" (Wilson y Hartnett, 1998; Hoeksema et al. 2010). Por lo tanto, las invasiones con especies de plantas exóticas

con metabolismo C3 y menor colonización y beneficio de los HMA, podrían reducir la abundancia de estos hongos en el suelo (Bunn et al. 2015).

Por otro lado, en los pastizales pampeanos, los relictos de pastizal nativo están dominados principalmente por *P. quadrifarum*, una especie estival C4. Estudios previos han mostrado diferencias en el funcionamiento del ecosistema entre estos dos estados alternativos del pastizal, dominados por exóticas o nativas (Yahdjian y Piñeiro, 2014; Spirito et al. 2014; Yahdjian et al. 2017; López Zieher et al. 2020). Los cambios que genera *F. arundinacea* en las condiciones bióticas y abióticas del suelo podría estar explicando la limitación al establecimiento de especies nativas en los pastizales post-agrícolas (Suding et al. 2014). Por ejemplo, el legado de *F. arundinacea* podría estar generando cambios en las comunidades microbianas los cuales desfavorezcan el establecimiento de especies nativas. La retroalimentación planta-suelo podría ser importante en este sistema, sin embargo, poco sabemos sobre la estabilidad de estos estados alternativos del pastizal y cuáles son los mecanismos que los mantienen. El legado biótico del suelo puede tardar varios años en acumularse, por lo tanto, estudios que utilicen suelo condicionados a campo en el largo plazo pueden ser esenciales para capturar plenamente sus efectos (Kulmatiski y Beard, 2011; in 't Zandt et al. 2020).

El objetivo de este capítulo es evaluar los mecanismos de retroalimentación planta-suelo mediados por microorganismos del suelo que mantienen la persistencia de especies exóticas o nativas en los estados alternativos del pastizal. Buscamos explorar si las especies de plantas dominantes de los estados alternativos del pastizal generan un legado biótico en el suelo del sitio donde dominan que tiene repercusiones en el crecimiento posterior de la otra especie.

Se pusieron a prueba las siguientes hipótesis:

Hipótesis 1: Las especies dominantes de cada estado alternativo del pastizal generan cambios bióticos en el suelo que favorecen su propio crecimiento. Incluso en suelos donde no dominan, pueden generar un legado que prevalezca sobre la historia del sitio.

- Predicción: Se espera encontrar características morfológicas relacionadas con un mayor crecimiento (ejemplo: mayor biomasa, mayor número de hojas, etc) en plantas que crecieron bajo el legado de su misma especie (conespecífico) en

comparación a suelo con legado heteroespecífico, y más aún en suelos con una historia de dominancia de esta especie en el sitio.

Hipótesis 2: La presencia en el suelo de organismos mutualistas especializados, tales como los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) explica la persistencia de especies nativas en pastizales relictos.

- Se espera encontrar un mayor porcentaje de colonización micorrícica en raíces de plántulas que crecen en suelos con legado de *Paspalum quadrifarium*, una especie nativa C4, en comparación a plántulas que crecen en suelo con legado de *Festuca arundinacea*, especie exótica C3. Además, se espera encontrar una relación positiva entre el porcentaje de colonización micorrícica radical y el crecimiento de la especie nativa.

## **3.2. Materiales y métodos**

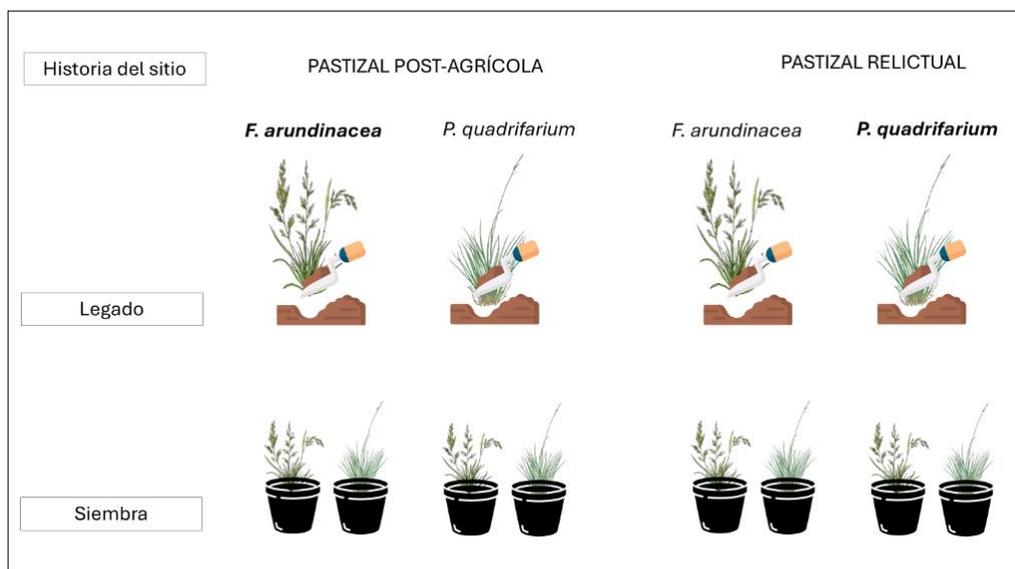
### **3.2.1. Diseño experimental**

Para poner a prueba el efecto de los legados de las pantas en el crecimiento posterior de plantas de la misma especie o de otra especie, se realizó un experimento en macetas en un invernáculo de IFEVA, Facultad de Agronomía, UBA. Doce años después de instalado el experimento a campo (Capítulo 2), se recolectó suelo de los dos estados alternativos del pastizal, el post-agrícola y los relictos de pastizal natural, en la estancia San Claudio, Partido de Carlos Casares, Pcia. De Buenos Aires. Específicamente se recolectó suelo debajo de las matas de las dos especies dominantes de cada sitio, *Paspalum quadrifarium* y *Festuca Arundinacea*, que habían sido plantadas en estos sitios en 2012 (Figura 2.2, capítulo 2). El suelo fue recolectado con barreno a 15 cm de profundidad justo debajo de cada mata.

Dado que el suelo fue condicionado por estas especies en el campo durante 12 años, cada muestra de suelo extraída fue clasificada según el legado de la especie (*F. arundinacea* o *P. quadrifarium*) y en función de la historia del sitio (post-agrícola o relicto). Las macetas se armaron usando 50 gr de suelo que se mezcló con 450 gr de suelo inerte (arena). El volumen de inóculo de suelo utilizado fue pensado para que la respuesta de las plántulas se vea influenciada principalmente por las propiedades bióticas, en lugar de las abióticas (Teste et al. 2017). en cada maceta rellena con esta mezcla, se sembraron dos plántulas de cada una de las especies dominantes, *F. arundinacea* o *P.*

*quadrifarium*. Se respetaron los bloques del experimento a campo, usando en total cinco repeticiones de cada tratamiento y se incluyó también una subréplica. El número total de macetas fue 80 (2 especies sembradas x 2 tipos de sitios x 2 legados x 5 réplicas x 2 subréplicas) (Figura 3.1). Las subréplicas se pensaron para compensar posibles pérdidas de unidades experimentales por mortandad de plántulas. A su vez, en cada maceta se sembraron 2 plántulas de la misma especie (Figura 3.2).

Las plántulas sembradas en las macetas fueron obtenidas de semillas de ambas especies recolectadas en el campo y germinadas en cajas de Petri antes de ser trasplantadas a las macetas. Las semillas de *P. quadrifarium* requirieron 24 h de un pulso de luz y luego entre 4 y 6 días de oscuridad en una cámara de cultivo a 25°C, y dado que su poder germinativo fue del 5% se pusieron a germinar una gran cantidad de semillas. En cambio, las semillas de *F. arundinacea* tuvieron un poder germinativo del 100% en cajas de Petri con luz natural entre 3 y 4 días. Dentro del período de aclimatación que duró las dos primeras semanas, se reemplazaron las plántulas muertas para asegurar que todas las macetas estuvieran en la misma etapa ontogénica. El experimento se instaló en mayo de 2023 y se cosechó en octubre del mismo año.



**Figura 3.1** Diseño del experimento en invernáculo. El inóculo de suelo de cada maceta consistió en una mezcla de suelo con una historia de sitio (pastizal post-agrícola o relictivo) y un legado (*F. arundinacea* o *P. quadrifarium*). A su vez, en cada tratamiento se trasplantaron 2 plántulas de cada especie (*F. arundinacea* o *P. quadrifarium*).



**Figura 3.2** Experimento de macetas en invernáculo. Cada fila corresponde a un bloque (5 en total) y cada maceta corresponde a un tratamiento (Historia x Legado x Siembra), representado por 2 subréplicas (2 macetas) en cada bloque. Los tratamientos y subréplicas se ubicaron al azar dentro de cada bloque.

### 3.2.2. Variables de respuesta

Las plántulas permanecieron en el invernáculo en condiciones de luz y humedad controladas, y cada 15 días se registró la altura máxima y el número de hojas de cada plántula. Luego de 5 meses, las plántulas fueron cosechadas para medir las siguientes variables: número de hojas, altura máxima (cm), biomasa seca aérea y subterránea (gr), área foliar específica ( $\text{cm}^2/\text{gr}$ ), largo radical específico ( $\text{cm}/\text{gr}$ ) y porcentaje de micorrización.

Para determinar la biomasa seca, la parte aérea y subterránea de cada plántula se llevó a la estufa a  $60^\circ\text{C}$  durante 72 horas, excepto la hoja utilizada para medir el área foliar específica (SLA) y una porción de raíces para la determinación de colonización micorrícica radical. Por un lado, la primera hoja expandida de cada plántula se cosechó aparte para determinar su peso fresco y fotografiarla en una hoja milimetrada para medir su área foliar con el programa “ImageJ” (<https://imagej.net/ij/>). Por otro lado, las raíces

separadas para medir la colonización de micorrizas fueron pesadas en fresco para poder calcular el total de biomasa radical seca, y luego conservadas en FAA (formaldehído, alcohol y ácido acético) hasta el momento de su tinción para poder observarlas en el microscopio. Para determinar el largo radical específico (SRL) se midió el largo radical máximo con una regla en centímetros y se dividió por la biomasa seca radical (gr).

Para la determinación del porcentaje de colonización micorrícica, las raíces se lavaron con agua corriente y se aclararon con KOH al 2,5% durante 24 horas a temperatura ambiente. Luego, se colocaron en HCl al 0,1% durante 1 minuto y se tiñeron con Azul de Tripano en una solución de ácido láctico-glicerol al 0,05% durante 24 horas a temperatura ambiente (Phillips y Hayman, 1970). Aproximadamente diez fragmentos de raíz (de 1 cm de largo) de cada par de plantas (cada par correspondiente a una maceta) se montaron en portaobjetos con una solución de ácido láctico-glicerol. Las raíces se examinaron bajo un microscopio óptico con una magnificación de 200× (Phillips y Hayman, 1970), y el porcentaje de colonización se cuantificó a partir de la observación de hifas, arbusculos y vesículas (McGonigle et al. 1990).

### 3.2.3. Análisis estadístico

Para evaluar el cambio en las variables respuesta, se estimó el efecto de la historia, el legado y su interacción. Se utilizaron modelos lineales mixtos (a partir del paquete NLME de R; Pinheiro et al. 2019), con un arreglo factorial en parcelas divididas (Perelman et al. 2021). El porcentaje de colonización total de las raíces por HMA tiene una distribución binomial y fue analizado con un modelo lineal generalizado mixto (GLMM) con la función glmer del paquete lme4. La estructura aleatoria de los modelos incluyó a la maceta anidada dentro del legado, anidado dentro del sitio, anidado dentro del bloque.

El efecto de retroalimentación se calculó a partir del siguiente índice (Brinkman et al. 2010):

$$\text{índice de retroalimentación planta-suelo} = \ln\left(\frac{\text{Biomasa aérea en suelo conoespecífico}}{\text{Biomasa aérea en suelo heteroespecífico}}\right)$$

Donde el numerador es la biomasa aérea de plántulas de *F. arundinacea* o *P. quadrifarium* creciendo en suelo “conoespecífico” es decir, suelo con legado de plantas

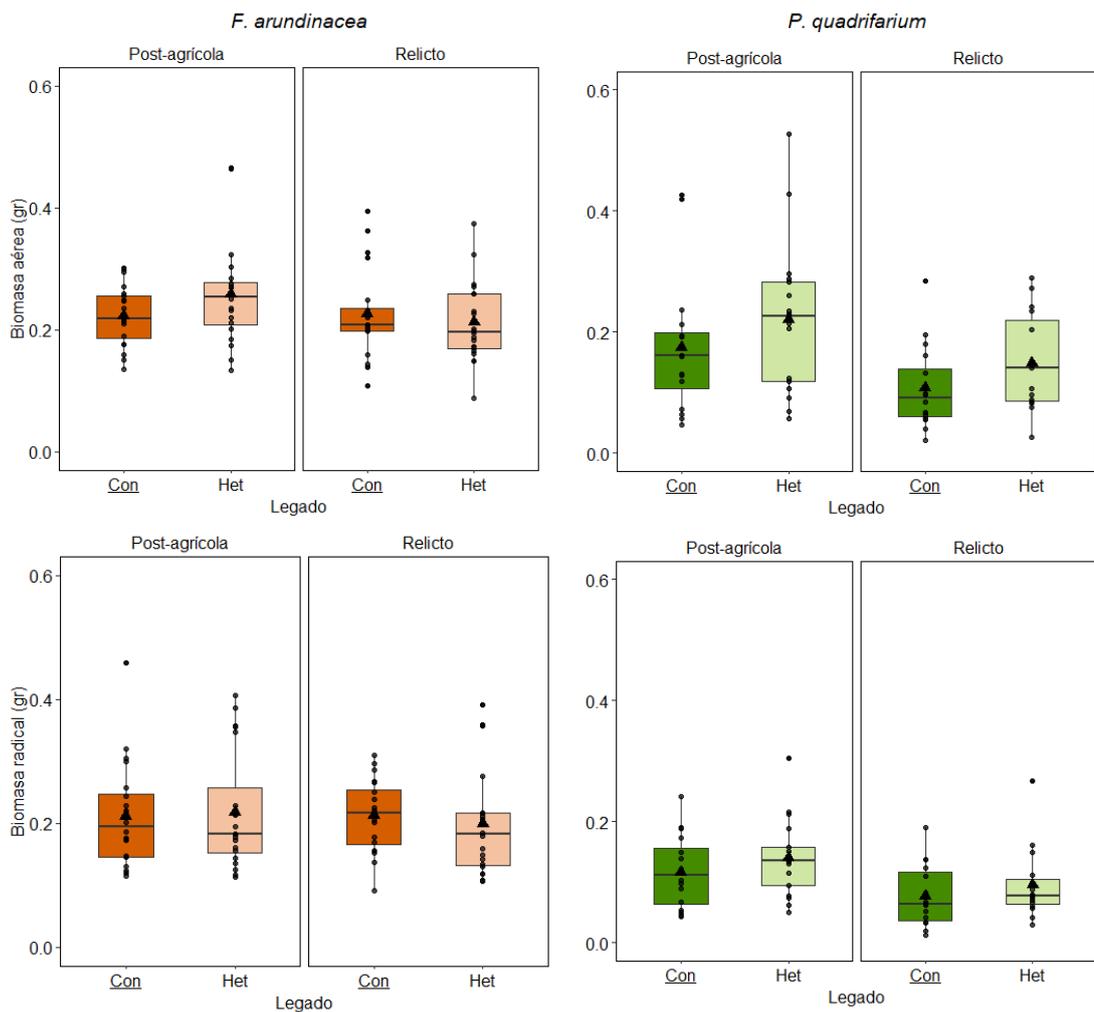
esa misma especie, mientras que el denominador es la biomasa aérea de plántulas de *F. arundinacea* o *P. quadrifarium* creciendo en suelo “heteroespecífico” es decir, suelo con legado de plantas de la otra especie. Valores de retroalimentación positiva indican mayor éxito en suelo conespecífico mientras que valores negativos indican mayor éxito en suelos heteroespecífico. Los valores no significativamente diferentes de cero indican efectos nulos de retroalimentación. Para este índice se puso a prueba si los valores eran significativamente distintos de cero usando una prueba t para medias únicas, con pruebas bilaterales. Además, con un ANOVA de una vía se evaluó si la historia del sitio tuvo efecto sobre el índice. La validación de los modelos siguió las recomendaciones de Zuur et al. (2010). Todos los análisis estadísticos se hicieron con R Studio (ver. 3.6.2).

### 3.3. Resultados

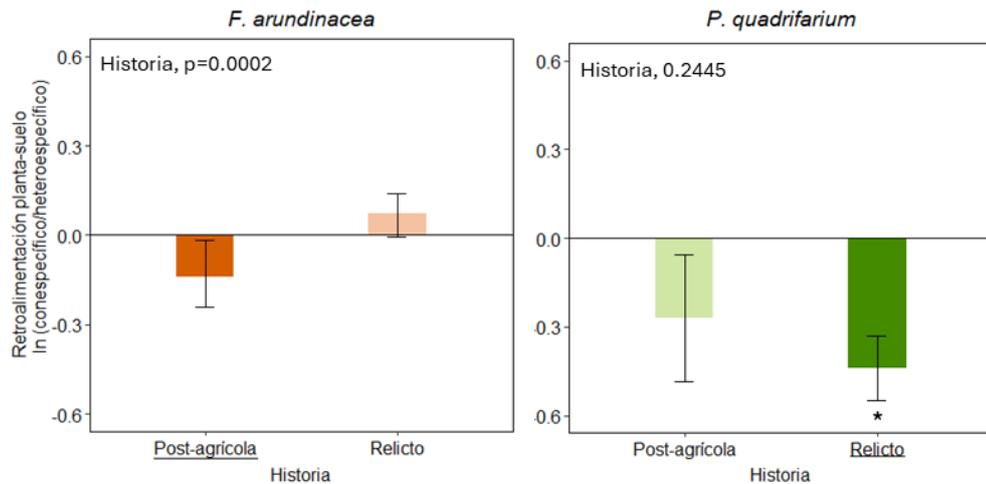
#### 3.3.1. Biomasa y retroalimentación planta-suelo

La biomasa aérea y radical de *F. arundinacea* y *P. quadrifarium* al final del experimento no variaron con la historia del sitio ni con el legado del suelo condicionado por el crecimiento de plantas de estas especies durante los 12 años de experimento de campo (Figura 3.3, Cuadro 3.1). El legado “conespecífico”, es decir plántulas de *F. arundinacea* creciendo en suelo proveniente de plantas de *F. arundinacea*, mostró valores de biomasa similares que en suelo proveniente de plantas de *P. quadrifarium* (legado “heteroespecífico”), y lo mismo se vio con las plántulas de *P. quadrifarium* (Figura 3.3). Sin embargo, al relativizar la biomasa aérea con el índice de retroalimentación planta-suelo, observamos diferencias en la respuesta de cada especie. Por un lado, *F. arundinacea* mostró una respuesta de retroalimentación planta-suelo distinta según la historia del sitio. Las plántulas de *F. arundinacea*, en suelo de relictos, mostraron una retroalimentación planta-suelo más positiva, es decir un mayor crecimiento relativo en suelo con legado conespecífico. En cambio, en suelo post-agrícola, mostraron una retroalimentación más negativa, es decir, un mayor crecimiento relativo en suelo con legado heteroespecífico (Figura 3.4, Historia,  $p=0.0002$ , Cuadro S3.1, Apéndice 2). Si bien *F. arundinacea* mostró diferencias de retroalimentación según la historia, solo en los sitios post-agrícolas la retroalimentación fue marginalmente distinta de 0 (Cuadro S3.1, Apéndice 2).

Por el otro lado, *P. quadrifarium* mostró un crecimiento relativo similar para las dos historias del sitio (Figura 3.4, Historia,  $p=0.2445$ , Cuadro S3.1, Apéndice 2). Tanto en suelos provenientes de relictos como de los pastizales post-agrícolas, las plántulas tuvieron una retroalimentación negativa, es decir un mayor crecimiento relativo con legado heteroespecífico en comparación al legado conespecífica (Figura 3.4). Sin embargo, únicamente en suelos provenientes de relictos este efecto de retroalimentación fue significativamente distinto de 0 (Relicto,  $p=0.01$ , Cuadro S3.1, Apéndice 2).



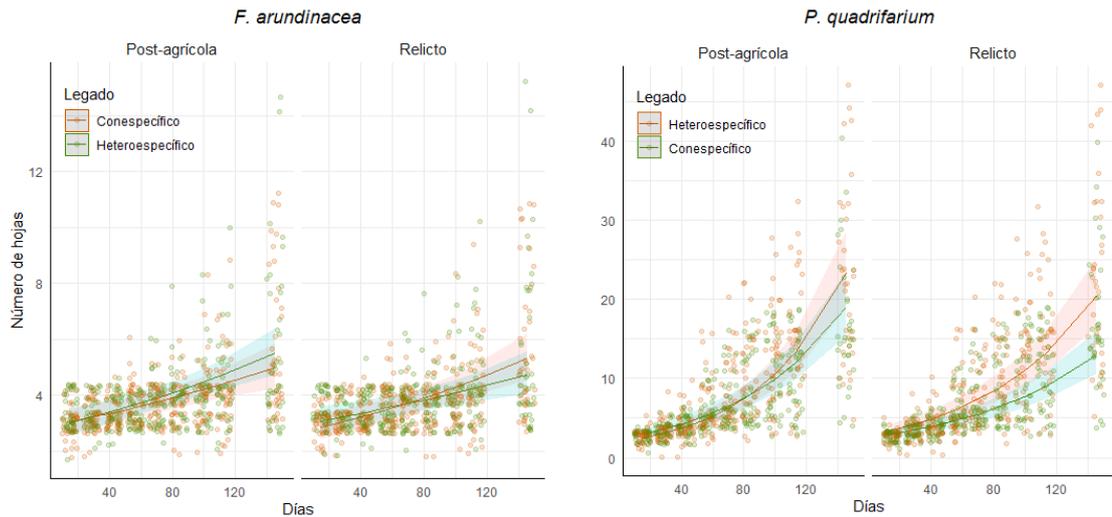
**Figura 3.3** Biomasa aérea (paneles de arriba) y radical (paneles de abajo) de plántulas de *F. arundinacea* (paneles izquierda) y *P. quadrifarium* (paneles derecha) en función de la historia del sitio (Post-agrícola o Relicto) y el legado (“Con”: conespecífico, plantas de *F. arundinacea* o *P. quadrifarium* creciendo en suelo de esa misma especie y “Het”: heteroespecífico plantas de *F. arundinacea* o *P. quadrifarium* creciendo en suelo proveniente de plantas de la otra especie).



**Figura 3.4** Efecto de la retroalimentación planta-suelo,  $\ln$  (biomasa en suelo conespecífico/biomasa en suelo heteroespecífico), para *F. arundinacea* (panel izquierdo) y *P. quadrifarium* (panel derecho), según la historia del sitio. Las barras muestran la media  $\pm$  el error estándar. \* indica  $p < 0,05$  para prueba t de Student.

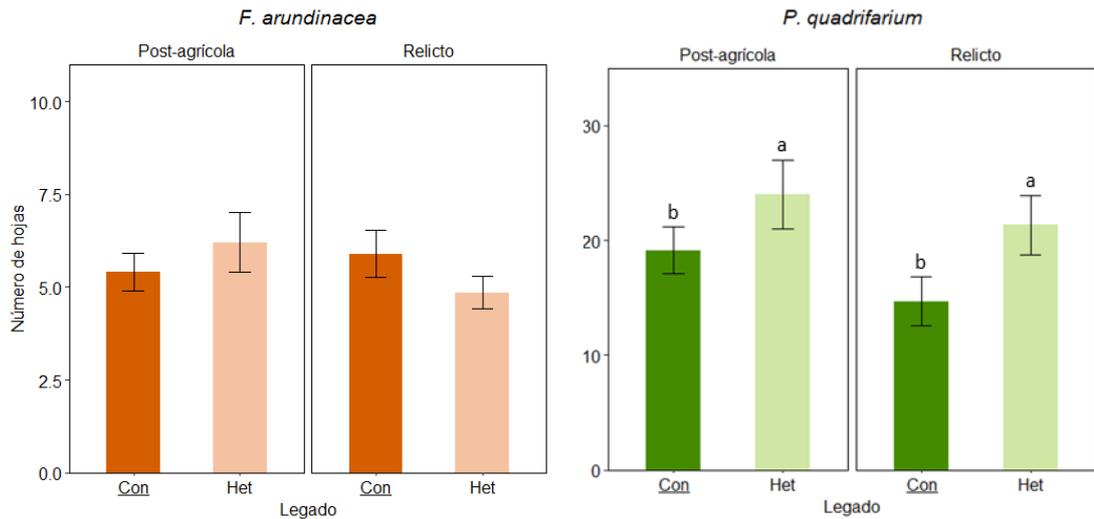
### 3.3.2. Rasgos funcionales de las plántulas

Durante el período de estudio, el número de hojas de *F. arundinacea* se incrementó a una tasa de aproximadamente 0.38% por día, mientras que el número de hojas de *P. quadrifarium* aumentó a una tasa de 1.77% por día (Figura 3.5). En el caso de *F. arundinacea* este aumento no varió con la historia del sitio ni con el legado. En cambio, las plántulas de *P. quadrifarium* aumentaron el número de hojas de manera diferencial según la historia del sitio y el tipo de legado. Las plántulas que crecieron en suelo con legado heteroespecífico tuvieron una tasa de desarrollo de número de hojas de 0.0033 hojas/día mayor que las plántulas que crecieron en suelo con legado conespecífico (Días x Legado,  $\chi^2 = 15.54$ ,  $p = 8.08e-05$ , Cuadro S3.2, Apéndice 2). Esta aumentó marginalmente en suelos de relictos (Historia x Legado,  $\chi^2 = 3.08$ ,  $p = 0.0793$ , Cuadro S3.2, Apéndice 2).



**Figura 3.5** Número de hojas en función del tiempo (días), según la historia del sitio (post-agrícola o relicto) y el legado del suelo (“Conespecífico” o “Heteroespecífico”), para las dos especies de estudio (*F. arundinacea* paneles de la izquierda y *P. quadrifarium* los de la derecha). Notar la diferencia en las escalas del eje Y entre ambos paneles.

El número final de hojas de *F. arundinacea* fue un 27.84% con legado heteroespecífico en sitios post-agrícolas en comparación a relictos (Figura 3.6, Historia x Legado,  $p= 0.077$ , Cuadro 3.1). *P. quadrifarium* mostró una cantidad de hojas final 34,57% mayor en el legado heteroespecífico que en el conespecífico, independientemente de la historia del sitio (Figura 3.6, Legado,  $p = 0.012$ , Cuadro 3.1), en coincidencia con los resultados de retroalimentación planta-suelo (Figura 3.4).



**Figura 3.6** Número de hojas final según la historia del sitio (post-agrícola o relicto) y el legado del suelo (“Con”, de conespecífico y “Het” de heteroespecífico), para las dos especies de estudio, *F. arundinacea* en el panel izquierdo y *P. quadrifarium* en el panel derecho. Las barras muestran la media  $\pm$  el error estándar. Letras diferentes muestran diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) según test de Tukey. Notar la diferencia en las escalas del eje Y.

La altura final de *F. arundinacea* y de *P. quadrifarium* no cambió con la historia ni tampoco con el legado (Cuadro 3.1). El largo radical de *F. arundinacea* no varió con los tratamientos. En cambio, el largo de raíces de *P. quadrifarium* fue aproximadamente 2 cm mayor en suelo con historia post-agrícola respecto de los relictos (Historia,  $p=0.034$ , Cuadro 3.1).

El área foliar específica (SLA) de las plántulas de *F. arundinacea* fue un 13% mayor en suelos con historia post-agrícola y legado conespecífico en comparación a plántulas que crecieron en suelos con legado heteroespecífico (SLA, Historia x Legado  $p=0.044$ , Cuadro 3.1). En cambio, las plántulas de *P. quadrifarium* no presentaron variación en su SLA según la historia y el legado (Cuadro 3.1). El largo radical específico (SRL) de ambas especies no se modificó con la historia y el legado del suelo (Cuadro 3.1).

**Cuadro 3.1** Valores p del análisis de varianza para las variables respuesta medidas.

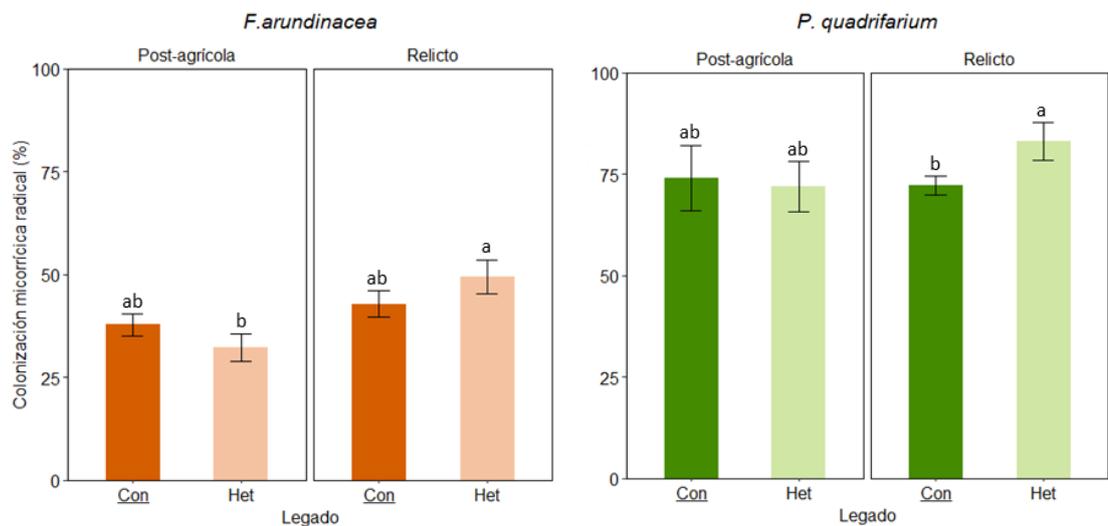
	df	<i>F. arundinacea</i>			<i>P. quadrifarium</i>		
		Historia	Legado	H x L	Historia	Legado	H x L
Biomasa aérea	1	0.901	0.103	0.105	0.114	0.203	0.896
Biomasa radical	1	0.997	0.778	0.563	0.115	0.333	0.977
Número de hojas	1	0.601	0.815	<b>0.077</b>	0.138	<b>0.014*</b>	0.397

Altura	1	0.809	0.269	0.782	0.160	0.999	0.595
Largo radical	1	0.209	0.990	0.355	<b>0.035*</b>	0.383	0.112
SLA	1	0.336	<b>0.021*</b>	<b>0.045*</b>	0.601	0.703	<b>0.071</b>
SRL	1	0.865	0.692	0.793	0.143	0.445	0.414

Los valores de df corresponden a los grados de libertad de la prueba chi cuadrado ( $\chi^2$ ). El \* indica  $p < 0,05$ .

### 3.3.3. Colonización micorrícica radical

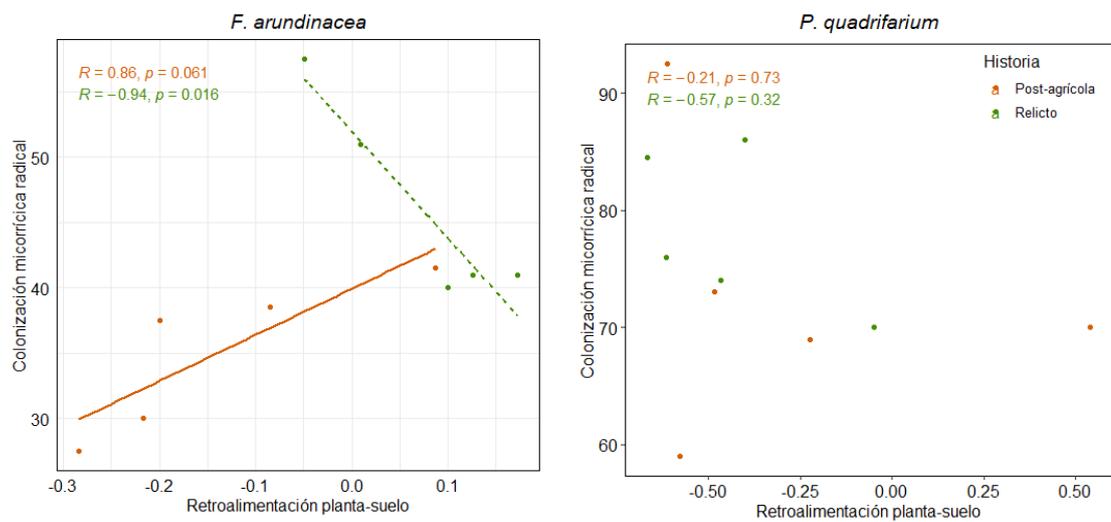
*P. quadrifarium* mostró mayor colonización micorrícica radical que *F. arundinacea* (Figura 3.7). La colonización de raíces de *F. arundinacea* fue 53,42% mayor bajo el legado heteroespecífico en relictos respecto del post-agrícola (Figura 3.7, Historia x Legado,  $\chi^2 = 7.85$ ,  $p = 0.005$ , Cuadro S3.2, Apéndice 2). En raíces de *P. quadrifarium*, la colonización fue un 15% mayor en relictos con legado heteroespecífico en comparación al legado conespecífico (Figura 3.7, Historia x Legado,  $\chi^2 = 8.49$ ,  $p = 0.003$ , Cuadro S3.2, Apéndice 2).



**Figura 3.7** Colonización micorrícica de la raíz (%) de plántulas de *F. arundinacea* (paneles izquierda) y *P. quadrifarium* (paneles derecha), según la historia del sitio (Post-agrícola o Relicto) y el legado del suelo (“Con”, de conespecífico y “Het” de heteroespecífico). Las barras muestran la media  $\pm$  el error estándar. Letras diferentes muestran diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) según test de Tukey.

*F. arundinacea*, pero no *P. quadrifarium*, mostró una correlación entre la colonización micorrícica radical con el efecto de retroalimentación planta-suelo de la biomasa aérea (Figura 3.8). La colonización micorrícica radical de *F. arundinacea* se relacionó positivamente con la retroalimentación planta-suelo cuando las plántulas crecieron en suelo de relictos ( $r = 0.83$ ,  $p = 0.081$ ). En cambio, cuando crecieron en suelo

post-agrícola, la colonización micorrícica se correlacionó negativamente con la retroalimentación planta-suelo ( $r=-0.95$ ,  $p=0.012$ ). Es decir, Las plántulas de *F. arundinacea* creciendo en suelos relictos que tenían más colonización micorrícica radical, fueron las que mostraron efectos de retroalimentación negativos, es decir que crecieron más en suelos heteroespecíficos (Figura 3.8). Contrariamente, en el caso de plántulas de *F. arundinacea* creciendo en suelos post-agrícola, la correlación fue opuesta, si bien ésta fue marginalmente significativa (Figura 3.8).



**Figura 3.8** Relación entre la colonización micorrícica radical y el efecto de retroalimentación planta suelo para plántulas de *F. arundinacea* (Izquierda) y *P. quadrifarium* (derecha), según el tipo de historia del suelo (Post-agrícola, en naranja, o Relicto, en verde).

### 3.4. Discusión

A partir de un experimento en invernáculo se evaluó el efecto de retroalimentación planta-suelo, sobre especies dominantes de los estados alternativos del pastizal utilizando inóculo de suelo condicionado por estas especies a campo. En contra de lo esperado, ambas especies respondieron relativamente mejor al suelo con legado heteroespecífico y con historia coincidente con dominancia de estas especies, aunque este efecto fue más marcado en *P. quadrifarium*. Si bien *P. quadrifarium* tuvo mayor colonización micorrícica radical, no encontramos una relación con su crecimiento. Además, no

observamos que la comunidad microbiana del suelo influya en el éxito de *F. arundinacea*, al menos en la etapa de establecimiento.

De existir una retroalimentación positiva, las especies debieron tener mayor éxito en suelos con legado conespecífico, y más aún si esos suelos tenían una historia de dominancia de esa especie en el sitio. Por un lado, contrario a lo esperado, encontramos que *F. arundinacea* mostró una retroalimentación más negativa en suelos post-agrícolas en comparación a los relictos. Es decir, en sitios donde domina, el legado biótico del suelo de *P. quadrifarium* favoreció el crecimiento de *F. arundinacea* en comparación a su propio legado. Que *F. arundinacea* haya crecido menos en suelo con su historia de dominancia y legado, en comparación al legado heteroespecífico podría deberse a una mayor acumulación de antagonistas. Al utilizar un inóculo de suelo tuvimos en cuenta la biota del suelo en conjunto, por lo tanto, los efectos de retroalimentación negativa pueden indicar un mayor rol de los patógenos que de los mutualistas (Bever, 2003; Semchenko et al. 2022; Cheng et al. 2024). Se ha demostrado que la dirección de la retroalimentación puede variar según la etapa de vida de la planta, donde la etapa de plántula puede ser más susceptible a patógenos (Kardol et al. 2013). Por lo tanto, al haber evaluado el efecto de retroalimentación en el estadio de plántula es posible que los resultados reflejen un efecto más negativo. O bien, la persistencia de *F. arundinacea* en los pastizales post-agrícolas podría estar más explicada por la disponibilidad de nutrientes que por la biota del suelo (In 't Zandt et al. 2020).

Por otro lado, *P. quadrifarium* también creció más en suelo con legado heteroespecífico en comparación a su propio legado. Si bien la retroalimentación planta-suelo fue negativa en suelos provenientes de ambos sitios, este efecto fue significativo únicamente en suelos de los relictos. Al igual que lo discutido para *F. arundinacea*, los organismos patógenos podrían estar teniendo un rol más importante en esta retroalimentación que los organismos mutualistas. Varios estudios demostraron que la retroalimentación tiende a ser más negativa cuando se considera la biota completa del suelo en experimentos de invernáculo, probablemente debido a la prevalencia de patógenos o nemátodos que se alimentan de raíces, sobre mutualistas y descomponedores (Kulmatiski et al. 2008; Crawford et al. 2019; Cheng et al. 2024). Una posible explicación sería que, en suelos con su propia historia de dominancia y su propio legado, se hayan acumulado antagonistas específicos microbianos alrededor de sus raíces, a los cuales *P. quadrifarium* es más susceptible en su etapa de crecimiento de plántula (Bever, 2003;

Kardol et al. 2013; Meisner et al. 2014). Si bien algunos estudios han mostrado que las especies exóticas pueden inhibir el crecimiento de especies nativas a través de la acumulación de patógenos locales o por compuestos alelopáticos (Mangla et al. 2008, Stinson et al. 2006), nuestros resultados no respaldan que las especies exóticas inhiban a las nativas mediante interacciones planta-suelo. Serían necesarios estudios que examinen con mayor detalle aspectos específicos de las condiciones del suelo, como la abundancia relativa de patógenos, herbívoros subterráneos y simbioses especializadas (Meisner et al. 2014, Cheng et al. 2024).

En general, para las variables medidas asociadas al crecimiento, *F. arundinacea* no se vio afectada por el tipo de historia o legado del suelo. Únicamente el número de hojas y el área foliar específica (SLA) aumentaron en suelos provenientes de los sitios post-agrícolas donde domina, pero la respuesta varió según el legado. Por un lado, el número de hojas final de *F. arundinacea* aumentó bajo el legado de *P. quadrifarium*, al igual que su crecimiento en biomasa aérea relativa. Por otro lado, la SLA de *P. quadrifarium* fue mayor en suelos con su propia historia y legado. El SLA se utiliza comúnmente como un indicador de la tasa de crecimiento de las plantas (Granier et al. 2001), sin embargo, esto no se tradujo en una mayor biomasa. En el caso de *P. quadrifarium* el número de hojas aumentó con el legado de *F. arundinacea*, lo cual coincide con su crecimiento relativo en biomasa. Tal como se discutió con la biomasa relativa, que ambas especies hayan tenido un mayor número de hojas en legado heteroespecífico podría deberse a una respuesta a los patógenos en suelo propio o conoespecífico (Kulmatiski et al. 2008). Sin embargo, más allá del legado, en general (excepto por el largo radical de *P. quadrifarium*), cuando las especies respondieron al tipo de suelo, ambas tuvieron mayor éxito en suelos provenientes de los sitios donde dominan. Beals y colaboradores (2020) hacen referencia a este tipo de problemas a la hora de inferir las respuestas a inóculos extraídos del campo. Las plántulas medidas respondieron a microbios asociados con las plantas que condicionaron el suelo en el campo, pero además a microbios asociados a la historia del sitio (Beals et al. 2020). Por lo tanto, en estas respuestas pueden estar mediando efectos interactivos entre la historia del sitio y el legado de las plantas difíciles de descifrar (Ramesh y Reynolds, 2017). Esto resalta la necesidad de evaluar de manera integrada los efectos históricos y recientes que pueden interactuar e influir en la retroalimentación planta-suelo.

En cuanto a la colonización micorrícica, en línea con nuestra hipótesis, la colonización radical fue mayor en *P. quadrifarium* y en suelos provenientes de los relictos, aunque esta varió según el tipo de legado. Para *F. arundinacea* la colonización radical de HMA fue mayor en sitios relictos y bajo el legado de *P. quadrifarium*, si bien no medimos las esporas del suelo, es donde esperábamos mayor abundancia de HMA. La micorrización de *F. arundinacea* en suelos post-agrícolas se correlacionó positivamente con el efecto de retroalimentación planta-suelo, mientras que en sitios relictos se correlacionó negativamente. Es decir que, en suelo post-agrícola, cuando *F. arundinacea*, tuvo un crecimiento relativo mayor en suelo heteroespecífico, se encontró menor colonización radical. En cambio, en suelo relictual, cuando *F. arundinacea* tuvo un crecimiento relativo mayor en suelo conoespecífico, la colonización radical fue menor. Estos resultados podrían indicar que el éxito relativo de *F. arundinacea* no se debió al efecto positivo de los mutualistas en el suelo heteroespecífico, si no que podría deberse al “escape” a los patógenos específicos (Kulmatiski et al. 2008; Cortois et al. 2016). En contraste con este resultado, en un estudio a campo en el mismo pastizal, Lopez Zieher y colaboradoras (2020) encontraron una fuerte relación entre la composición de las comunidades de planta y bacterias del suelo, y la persistencia de especies exóticas. Esto sugiere que, en el largo plazo, el proceso de retroalimentación planta-microorganismos podría regular el ensamblaje de las comunidades en pastizales post-agrícolas (Lopez Zieher et al. 2020).

Tal como esperábamos, *P. quadrifarium* tuvo mayor colonización radical en suelos provenientes de los relictos, sin embargo, esta aumentó aún más en suelos con legado de *F. arundinacea* en comparación a su propio legado. Bunn y colaboradores (2015) mostraron que la colonización radical de HMA en plantas nativas disminuyó con el legado de especies exóticas, debido a que estas últimas eran especies no-micorrícicas. En relación con esto, sí encontramos menor micorrización en suelos con historia de dominancia de especies exóticas, pero en sitios relictos hubo una mayor colonización bajo el legado de *F. arundinacea*, que micorriza menos que la especie nativa. Estos resultados evidencian la interacción entre historia del sitio y el legado, muestran que aunque el legado más reciente pueda ser más fuerte, el condicionamiento anterior, en este caso la historia del sitio, persiste en el suelo y puede interactuar con el reciente (Kuřáková et al. 2022). Además, esperábamos que la presencia de organismos mutualistas, como los HMA, se correlacionaran con un mayor crecimiento de *P. quadrifarium*. Si bien

encontramos mayor colonización en plántulas que crecieron en suelo heteroespecífico, donde el crecimiento relativo fue mayor que en suelo conoespecífico, el efecto de la retroalimentación y la colonización radical no se correlacionaron. Esto contrasta con un metaanálisis reciente de Cheng y colaboradores (2024), que encontraron efectos de retroalimentación más positivos con la presencia o aumento de mutualistas, principalmente micorrizas. La interacción entre la historia del sitio y el legado especie-específico resalta la complejidad de las relaciones planta-suelo y su impacto en la colonización micorrícica.

Los resultados de este estudio resaltan la complejidad de las interacciones entre las plantas y el suelo. Al recolectar suelo con diferente historia y legado condicionado en el campo podemos capturar interacciones entre las plantas y la biota del suelo local más precisas (Beals et al. 2020; Gundale y Kardol, 2021). Este abordaje es especialmente relevante cuando se investigan especies perennes, como *F. arundinacea* *P. quadrifarium*, ya que representa mejor el efecto de las plantas sobre la biota del suelo durante su vida (Gundale y Kardol, 2021). Sin embargo, las respuestas de retroalimentación planta-suelo no pudieron relacionarse directamente con los microorganismos asociados en el proceso. Sería importante contar con estudios que manipulen simultáneamente los factores que pueden influir en el proceso de retroalimentación, por ejemplo, abordar efectos más sutiles como la abundancia de patógenos y simbioses especialistas (Meisner et al. 2014; Gundale y Kardol, 2021; Cheng et al. 2024). A pesar de la amplia evidencia sobre la importancia del proceso de retroalimentación planta-suelo en las comunidades vegetales, aún tenemos una comprensión limitada de los mecanismos que las impulsan, lo que dificulta predecir cuándo y cómo operan (Bennett et al. 2019; Cheng et al. 2024).



## **Capítulo 4: Discusión general**

#### 4. Discusión general

Este trabajo buscó comprender el rol de la retroalimentación planta-suelo en la persistencia de especies exóticas en pastizales post-agrícolas, como así también evaluar si explica la resistencia a la invasión de los relictos de pastizal nativo en la Pampa Interior, Argentina. En el capítulo 2 se presentaron los resultados de la evaluación del efecto de la retroalimentación planta-suelo en el balance competitivo de pastos nativos y exóticos en los dos estados alternativos del pastizal pampeano, los post-agrícolas y los relictos, y bajo distinta disponibilidad de nutrientes. En el capítulo 3 se presentaron los resultados de la evaluación de la retroalimentación planta-suelo mediada por los microorganismos del suelo, a partir del efecto del legado biótico de las especies dominantes de cada estado alternativo del pastizal. A través de un abordaje complementario que incluyó un experimento a campo y uno en invernáculo, pudimos poner a prueba los efectos de los procesos de retroalimentación planta-suelo en la conformación del paisaje actual de la Pampa Interior en el que coexisten ecosistemas nóveles con remanentes del pastizal original. El abordaje considerado nos permitió por un lado contar con resultados realistas que pueden explicar lo que observamos en la naturaleza de manera directa y por otro, poner a prueba los mecanismos involucrados que explican los patrones observados a campo. A continuación, haremos una síntesis de los principales resultados observados, discutiremos de manera integrada todos los resultados obtenidos y haremos algunas recomendaciones de y líneas de investigación futuras que surgen a partir de nuestros resultados.

A partir del experimento de trasplantes recíprocos de comunidades ensambladas a campo, encontramos que contrariamente a lo esperado, no fueron los procesos de retroalimentación planta-suelo los que explicaron el establecimiento y crecimiento de las especies nativas y exóticas de la región pampeana, sino que fue el tipo de pastizal el que determinó el efecto principal. La abundancia de los grupos de plantas nativas y exóticas luego de 2 años de instalado el experimento fue mayor en pastizales post-agrícolas que en los relictos independientemente de la procedencia de las especies vegetales utilizadas. Si bien esperábamos un efecto de retroalimentación planta-suelo, dado por un mayor crecimiento de especies exóticas en los post-agrícolas y de nativas en los relictos, fue la historia del sitio la que explicó el éxito de las comunidades ensambladas estudiadas. Al ser un experimento a campo, las plantas respondieron a un sistema complejo (Mariotte et

al. 2018), pero que a ambos grupos les haya ido mejor en sitios post-agrícolas podría estar explicado en parte por una mayor disponibilidad de nutrientes en este sitio. La especie nativa *P. quadrifarium* pudo crecer y persistir en el tiempo en el pastizal post-agrícola en micrositios donde la vegetación había sido removida y donde las plántulas fueron trasplantadas. Es decir, el legado de las comunidades exóticas que crecieron allí durante los últimos años no impidió su crecimiento. Sin embargo, tanto en el experimento a campo como en invernáculo, *P. quadrifarium* fue germinada en cámaras de cultivo donde pudimos observar su bajo poder germinativo, y fue trasplantada como plántula de varios centímetros de altura y días de desarrollo. Sería interesante evaluar la germinación de esta especie en ambos tipos de suelo. Igualmente, luego de 12 años de la instalación del experimento a campo encontramos que la cobertura relativa de *P. quadrifarium* disminuyó notablemente en sitios post-agrícolas, en comparación a su cobertura al segundo año en estos sitios. Esto podría indicar que los efectos de legado llevan tiempo y quizás sean necesarios estudios de más largo plazo a campo que evalúen con detalle los mecanismos detrás del proceso de retroalimentación (Kardol et al. 2013; Cheng et al. 2024).

Dado que se ha estudiado que las comunidades de plantas generan comunidades de microorganismos de suelo únicas (Bezemer et al. 2010; Heinen et al. 2018), esperábamos que los microorganismos tuvieran un efecto diferencial en las comunidades ensambladas (Kardol et al. 2006). Si bien no encontramos un efecto de retroalimentación a campo, al evaluar el efecto del legado biótico de las especies dominantes de cada estado alternativo del pastizal sobre su crecimiento en invernáculo, encontramos que ambas especies, la nativa y la exótica dominante de cada tipo de pastizal, respondieron con una retroalimentación negativa en el suelo donde dominan. *F. arundinacea* tuvo un crecimiento relativo mayor con el legado de *P. quadrifarium* en comparación al propio y viceversa, pero este efecto se dio sólo en suelos post-agrícolas para la exótica y en relictos para la nativa. Además, este efecto fue más fuerte en plántulas de *P. quadrifarium*. Este resultado coincide con un metaanálisis reciente en el que recopilando estudios que tuvieron en cuenta a la biota completa del suelo, encontraron que los efectos de retroalimentación planta-suelo resultaron más negativos en especies nativas que en especies exóticas (Cheng et al. 2024). Al utilizar un inóculo de suelo, tuvimos en cuenta la biota del suelo en conjunto, por lo tanto, los efectos de retroalimentación negativa pueden indicar un mayor rol de los patógenos que de los mutualistas (Bever, 2003;

Semchenko et al. 2022; Cheng et al. 2024). Por lo tanto, las plántulas de ambas especies pueden haber sido más susceptibles a antagonistas específicos de su propio legado (Bever, 2003; Meisner et al. 2014). Nuestros hallazgos indican que, en contra de lo esperado, la retroalimentación positiva planta-microorganismos no sería el mecanismo que explica la persistencia de las especies en los estados alternativos del pastizal, al menos en la etapa de establecimiento.

Si bien encontramos mayor colonización micorrícica radical en plántulas de la especie nativa *P. quadrifarium* en suelo con su historia de dominancia, esta fue mayor bajo el legado de *F. arundinacea*, y no estuvo relacionada con un mayor crecimiento relativo de las plántulas. Esperábamos que una mayor colonización por hongos formadores de micorrizas Arbusculares (HMA) determinaría retroalimentaciones más positivas en especies que se benefician más de las asociaciones micorrícicas como *P. quadrifarium*. Sería importante contar con experimentos que estudien los grupos de microorganismos por separado para entender su rol en el éxito de las especies dominantes. Por ejemplo, estudios de restauración demostraron la importancia de la adición de los HMA nativos en el suelo para el establecimiento de especies nativas y para su resistencia a la invasión por especies exóticas, específicamente HMA asociados a especies nativas de sucesión tardía (Cheeke et al. 2019; Koziol et al. 2023). Sin embargo, este efecto depende en gran medida de la identidad de los HMA, ya que no todas las especies de hongos confieren los mismos beneficios a las plantas (Cheeke et al. 2019).

Mientras que para plántulas de *P. quadrifarium* no hubo correlación, las plántulas de *F. arundinacea* tuvieron menor micorrización en suelos donde su crecimiento relativo fue mayor. Igualmente, en sitios post-agrícolas el porcentaje de colonización micorrícica no fue significativamente distinta según el legado, por lo tanto, este resultado podría estar enmascarando la identidad de los HMA. La menor diversidad de especies vegetales en los pastizales post agrícolas podría determinar una menor diversidad de HMA, en comparación con lo esperable en los relictos que tiene una comunidad de plantas más diversa. Sería interesante contar con un análisis molecular para evaluar la diversidad de HMA. También hubiese sido interesante analizar las propiedades del suelo luego de la cosecha, para tener una mejor idea de la respuesta. Por ejemplo, relacionar la concentración de fósforo con el porcentaje de colonización. Sin embargo, las propiedades del suelo fueron analizadas previo al armado de las macetas (Cuadro 2, Capítulo 2),

mientras que el porcentaje de colonización micorrícica fue medido una vez cosechadas las plántulas del experimento.

No encontramos un efecto de competencia entre grupos de especies vegetales nativas y exóticas, aunque con niveles crecientes de nitrógeno en el suelo se favoreció la cobertura de especies exóticas por sobre las nativas, principalmente en los pastizales relictos. Estos resultados sugieren que la expansión de especies exóticas podría representar una amenaza a la estabilidad de los relictos de pastizal nativo, sobre todo en escenario de aumento en las deposiciones de nitrógeno. Los análisis de suelo de nuestro estudio muestran que el agregado de carbono no disminuyó significativamente el nitrógeno disponible para las plantas. Sin embargo, las muestras de suelo fueron tomada varios meses después de la aplicación del tratamiento por lo cual, puede haber tenido algún efecto sobre el establecimiento de las plántulas, a pesar de no haber sido reflejada en el análisis de nitrógeno del suelo. Esperábamos que las especies de plantas nativas superen a las exóticas con la reducción de nitrógeno en el suelo. Sin embargo, no encontramos diferencias en la cobertura de las comunidades ensambladas nativas y exóticas bajo ese tratamiento. Estudios previos encontraron que, a largo plazo, las especies invasoras podrían no incrementar su abundancia en comparación con las nativas cuando el suelo tiene bajo contenido de nutrientes (Huang et al. 2016; Wang et al. 2020). En este trabajo medimos la competencia de ambas comunidades ensambladas a campo, en condiciones naturales, pero sería interesante poder medirla también en condiciones controladas de invernáculo para evaluar el rol de la biota en estas interacciones. Por ejemplo, se ha demostrado que el efecto de retroalimentación negativa mediado por la biota se puede incrementar cuando las plantas crecen en mezclas de especies, ya que se reducen los recursos disponibles para el crecimiento y defensa (Lekberg et al. 2018; Xue et al. 2018; Cheng et al. 2024). Además, evaluar si en suelos de distinto contenido de nutrientes las comunidades microbianas de raíces varían entre especies (in't Zandt et al. 2019). La competencia puede interactuar con otros factores bióticos, y de esta manera influir en los mecanismos de retroalimentación en distintos contextos ambientales y en cómo estos afectan la diversidad de las comunidades vegetales (Gundale y Kardol, 2021; Rutten y Allan, 2023).

Si bien la mayoría de los trabajos que evalúan los mecanismos de retroalimentación planta-suelo se han llevado a cabo en condiciones controladas de invernáculo donde los efectos tienden a ser más fuertes (Forero et al. 2019; Beals et al.

2020), es importante reconocer que estas condiciones no siempre reflejan la dinámica real en ecosistemas naturales. A su vez, algunos procesos de retroalimentación presentes en condiciones naturales no pueden ser detectados en experimentos más controlados. Por lo tanto, utilizar un abordaje multidimensional puede contribuir a aumentar el realismo de los resultados (Florianová y Münzbergová, 2018). A pesar de la amplia evidencia sobre la importancia del proceso de retroalimentación planta-suelo en las comunidades vegetales, aún tenemos una comprensión limitada de los mecanismos que las impulsan, lo que dificulta predecir cuándo y cómo operan (Bennett et al. 2019; Cheng et al. 2024). Nuestros resultados reflejan que para entender los procesos detrás de la persistencia de comunidades nativas y exóticas en pastizales relictuales y post-agrícolas, respectivamente, necesitamos evaluar mecanismos más sutiles. Sería interesante, por ejemplo, evaluar qué especies de organismos del suelo tienen roles fundamentales en la dinámica de las comunidades vegetales en sistemas naturales. Contar con estudios que manipulen simultáneamente los factores que pueden influir en el proceso de retroalimentación, por ejemplo, abordar efectos más sutiles como la abundancia de patógenos, herbívoros subterráneos y simbiosistas especialistas (Meisner et al. 2014; Gundale y Kardol, 2021; Cheng et al. 2024).

Dado que son pocos los remanentes de pastizal natural, una mayor dedicación a la conservación de estos sistemas sería beneficiosa para contar con una reserva de biodiversidad y un sistema de referencia sobre el cual poder estimar los cambios inducidos por el uso humano (Yahdjian & Piñeiro, 2014). En este sentido, la restauración de pastizales se presenta como una alternativa para la conservación. Encontramos que las condiciones del suelo no parecieran impedir el establecimiento y persistencia de las especies nativas en pastizales post-agrícolas. Sin embargo, su capacidad de establecerse espontáneamente puede verse reducida por factores como la disponibilidad de propágulos y su bajo poder germinativo. Esto explicaría las dificultades de restauración de pastizales post-agrícolas. A su vez, que en los pastizales relictos las especies exóticas tengan un mayor éxito relativo ante un aumento en la disponibilidad de nutrientes y que además estos presenten una mayor cobertura de especies espontáneas, podría indicar una baja resistencia de los pastizales relictos a la invasión. Los resultados de este trabajo sugieren que, para garantizar el éxito de la restauración de pastizales pampeanos, sería necesario remover la vegetación exótica y plantar a las especies nativas dado que tienen bajo poder germinativo.

## 5. Bibliografía

- Armas, C., Ordiales, R., & Pugnaire, F. I. (2004). Measuring plant interactions: a new comparative index. *Ecology*, 85(10), 2682-2686.
- Baeza, S., Vélez-Martin, E., De Abelleira, D., Banchemo, S., Gallego, F., Schirmbeck, J., ... & Hasenack, H. (2022). Two decades of land cover mapping in the Río de la Plata grassland region: The MapBiomass Pampa initiative. *Remote Sensing Applications: Society and Environment*, 28, 100834.
- Bardgett, R. D., & Wardle, D. A. (2010). *Aboveground-belowground linkages: biotic interactions, ecosystem processes, and global change*. Oxford University Press.
- Bardgett, R. D. (2018). Plant trait-based approaches for interrogating belowground function. In *Biology and Environment: Proceedings of the Royal Irish Academy* (Vol. 118, No. 4). Royal Irish Academy.
- Bauer, J. T., Mack, K. M., & Bever, J. D. (2015). Plant-soil feedbacks as drivers of succession: evidence from remnant and restored tallgrass prairies. *Ecosphere*, 6(9), 1-12.
- Beals, K. K., Moore, J. A., Kivlin, S. N., Bayliss, S. L., Lumibao, C. Y., Moorhead, L. C., ... & Schweitzer, J. A. (2020). Predicting plant-soil feedback in the field: Meta-analysis reveals that competition and environmental stress differentially influence PSF. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 8, 191.
- Bennett, J. A., & Klironomos, J. (2019). Mechanisms of plant–soil feedback: interactions among biotic and abiotic drivers. *New Phytologist*, 222(1), 91-96.
- Bever, J. D. (1994). Feedback between plants and their soil communities in an old field community. *Ecology*, 75(7), 1965-1977.
- Bever, J. D., Westover, K. M., & Antonovics, J. (1997). Incorporating the soil community into plant population dynamics: the utility of the feedback approach. *Journal of Ecology*, 561-573.
- Bever, J. D. (2003). Soil community feedback and the coexistence of competitors: conceptual frameworks and empirical tests. *New phytologist*, 157(3), 465-473.
- Bezemer, T. M., Lawson, C. S., Hedlund, K., Edwards, A. R., Brook, A. J., Igual, J. M., Mortimer, S. R., & Van der Putten, W. H. (2006). Plant species and functional group effects on abiotic and microbial soil properties and plant-soil feedback responses in two grasslands. *Journal of Ecology*, 94, 893-904.
- Bezemer, T. M., Fountain, M. T., Barea, J. M., Christensen, S., Dekker, S. C., Duyts, H., ... & van der Putten, W. H. (2010). Divergent composition but similar function of soil food webs of individual plants: plant species and community effects. *Ecology*, 91(10), 3027-3036.

- Bezemer, T. M., Jing, J., Bakx-Schotman, J. T., & Bijleveld, E. J. (2018). Plant competition alters the temporal dynamics of plant-soil feedbacks. *Journal of Ecology*, *106*(6), 2287-2300.
- Bradley, B. A., Wilcove, D. S., & Oppenheimer, M. (2010). Climate change increases risk of plant invasion in the Eastern United States. *Biological Invasions*, *12*, 1855-1872.
- Pernilla Brinkman, E., Van der Putten, W. H., Bakker, E. J., & Verhoeven, K. J. (2010). Plant–soil feedback: experimental approaches, statistical analyses and ecological interpretations. *Journal of Ecology*, *98*(5), 1063-1073.
- Burkart, S. E., León, R. J., Conde, M. C., & Perelman, S. B. (2011). Plant species diversity in remnant grasslands on arable soils in the cropping Pampa. *Plant Ecology*, *212*, 1009-1024.
- Bunn, R. A., Ramsey, P. W., & Lekberg, Y. (2015). Do native and invasive plants differ in their interactions with arbuscular mycorrhizal fungi? A meta-analysis. *Journal of Ecology*, *103*(6), 1547-1556.
- Carbutt, C., Henwood, W. D., & Gilfedder, L. A. (2017). Global plight of native temperate grasslands: going, going, gone?. *Biodiversity and Conservation*, *26*(12), 2911-2932.
- Catford, J. A., Smith, A. L., Wragg, P. D., Clark, A. T., Kosmala, M., Cavender-Bares, J., ... & Tilman, D. (2019). Traits linked with species invasiveness and community invasibility vary with time, stage and indicator of invasion in a long-term grassland experiment. *Ecology Letters*, *22*(4), 593-604.
- Cavicchioli, V., Gannon, J. E., Macdonald, S. E., & Henry, H. A. (2019). Plant-soil feedbacks promote negative frequency dependence in the coexistence of two alpine plant species. *Journal of Ecology*, *107*(2), 818-830.
- Cavieres, L. A. (2021). Facilitation and the invasibility of plant communities. *Journal of Ecology*, *109*(5), 2019-2028.
- Cramer, V. A., Hobbs, R. J., & Standish, R. J. (2008). What's new about old fields? Land abandonment and ecosystem assembly. *Trends in Ecology & Evolution*, *23*(2), 104-112.
- Chaneton, E. J., Omacini, M., Trebino, H. J., & León, R. J. C. (2001). Disturbances, dominance and diversity of native and exotic species in humid pampean grasslands.
- Chaneton, E. J., Perelman, S. B., Omacini, M., & León, R. J. (2002). Grazing, environmental heterogeneity, and alien plant invasions in temperate Pampa grasslands. *Biological Invasions*, *4*, 7-24.
- Chen, D., van Kleunen, M., Wang, Y. J., & Yu, F. H. (2024). Invasive and native plants show different root responses to feedback-mediated soil heterogeneity. *Plant and Soil*, *494*(1), 497-508.

- Cheng, C., Gundale, M. J., Li, B., & Wu, J. (2024). Deciphering the drivers of plant-soil feedbacks and their context-dependence: A meta-analysis. *Plant and Soil*, 1-15.
- Clay K, Holah J. 1999. Fungal endophyte symbiosis and plant diversity in successional fields. *Science* 285: 1742–1744
- Cortois, R., Schröder-Georgi, T., Weigelt, A., van der Putten, W. H., & De Deyn, G. B. (2016). Plant–soil feedbacks: role of plant functional group and plant traits. *Journal of Ecology*, 104(6), 1608-1617.
- Crawford, K. M., Bauer, J. T., Comita, L. S., Eppinga, M. B., Johnson, D. J., Mangan, S. A., ... & Bever, J. D. (2019). When and where plant-soil feedback may promote plant coexistence: a meta-analysis. *Ecology Letters*, 22(8), 1274-1284.
- Cramer, V. A., Hobbs, R. J., & Standish, R. J. (2008). What's new about old fields? Land abandonment and ecosystem assembly. *Trends in ecology & evolution*, 23(2), 104-112.
- D'Angela, E., Facelli, J.M. & Jacobo, E. 1988. The role of the permanent soil seed bank in early stages of a post-agricultural succession in the Inland Pampa. *Vegetatio* 74: 39-45
- Davis, M. A., Grime, J. P., & Thompson, K. (2000). Fluctuating resources in plant communities: a general theory of invasibility. *Journal of ecology*, 88(3), 528-534.
- Dawson, W., & Schrama, M. (2016). Identifying the role of soil microbes in plant invasions. *Journal of Ecology*, 104(5), 1211-1218.
- Delgado-Baquerizo, M., Reith, F., Dennis, P. G., Hamonts, K., Powell, J. R., Young, A., ... & Bissett, A. (2018). Ecological drivers of soil microbial diversity and soil biological networks in the Southern Hemisphere. *Ecology*, 99(3), 583-596.
- De Long, J. R., Fry, E. L., Veen, G. F., & Kardol, P. (2018). Why are plant-soil feedbacks so unpredictable, and what to do about it? *Functional Ecology*, 33, 118–128.
- Diez, J.M., Dickie, I., Edwards, G., Hulme, P.E., Sullivan, J.J. & Duncan, R.P. (2010). Negative soil feedbacks accumulate over time for non-native plant species. *Ecol. Lett.*, 13, 803–809.
- Dinerstein, E., Olson, D., Joshi, A., Vynne, C., Burgess, N. D., Wikramanayake, E., ... & Saleem, M. (2017). An ecoregion-based approach to protecting half the terrestrial realm. *BioScience*, 67(6), 534-545.
- Duell, E. B., Hickman, K. R., & Wilson, G. W. (2022). Inoculation with native grassland soils improves native plant species germination in highly disturbed soil. *Grassland Research*, 1(2), 75-83.
- Ehrenfeld, J. G., Ravit, B., & Elgersma, K. (2005). Feedback in the plant-soil system. *Annu. Rev. Environ. Resour.*, 30(1), 75-115.

- Enders, M., Havemann, F., Ruland, F., Bernard-Verdier, M., Catford, J. A., Gómez-Aparicio, L., ... & Jeschke, J. M. (2020). A conceptual map of invasion biology: Integrating hypotheses into a consensus network. *Global Ecology and Biogeography*, 29(6), 978-991.
- Forero, L. E., Kulmatiski, A., Grenzer, J., & Norton, J. (2022). Plant–soil feedbacks help explain plant community productivity. *Ecology*, 103(9), e3736.
- Garnier, E., Shipley, B., Roumet, C., & Laurent, G. (2001). A standardized protocol for the determination of specific leaf area and leaf dry matter content. *Functional ecology*, 688-695.
- Gundale, M., & Kardol, P. (2021). Multi-dimensionality as a path forward in plant-soil feedback research. *Journal of Ecology*, 109(10), 3446-3465.
- Gundel, P. E., Rudgers, J. A., & Ghersa, C. M. (2011). Incorporating the process of vertical transmission into understanding of host–symbiont dynamics. *Oikos*, 120(8), 1121-1128.
- Hannula, S. E., Heinen, R., Huberty, M., Steinauer, K., De Long, J. R., Jongen, R., & Bezemer, T. M. (2021). Persistence of plant-mediated microbial soil legacy effects in soil and inside roots. *Nature communications*, 12(1), 5686.
- Heinen, R., Hannula, S. E., De Long, J. R., Huberty, M., Jongen, R., Kielak, A., ... & Bezemer, T. M. (2020). Plant community composition steers grassland vegetation via soil legacy effects. *Ecology Letters*, 23(6), 973-982.
- Hobbs, R. J., Higgs, E. S., & Harris, J. A. (2009). Novel ecosystems: implications for conservation and restoration. *Trends in Ecology & Evolution*, 24(11), 599-605.
- Hobbs, R. J., Higgs, E., Hall, C. M., Bridgewater, P., Chapin, F. S., Tognetti, P. M., Yakob, L., & Yung, L. (2014). Managing the whole landscape: Historical, hybrid, and novel ecosystems. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 12.
- Hoeksema, J. D., Chaudhary, V. B., Gehring, C. A., Johnson, N. C., Karst, J., Koide, R. T., ... & Umbanhowar, J. (2010). A meta-analysis of context-dependency in plant response to inoculation with mycorrhizal fungi. *Ecology letters*, 13(3), 394-407.
- Hoekstra, J. M., Boucher, T. M., Ricketts, T. H., & Roberts, C. (2005). Confronting a biome crisis: global disparities of habitat loss and protection. *Ecology letters*, 8(1), 23-29
- Honnay, O., Helsen, K., & Van Geel, M. (2017). Plant community reassembly on restored semi-natural grasslands lags behind the assembly of the arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Biological Conservation*, 212, 196-208.
- Huang, Q. Q., Shen, Y. D., Li, X. X., Li, S. L., & Fan, Z. W. (2016). Invasive *Eupatorium catarium* and *Ageratum conyzoides* benefit more than does a common native plant from nutrient addition in both competitive and non-competitive environments. *Ecological research*, 31, 145-152.

- in't Zandt, D., Herben, T., van den Brink, A., Visser, E. J., & de Kroon, H. (2021). Species abundance fluctuations over 31 years are associated with plant–soil feedback in a species-rich mountain meadow. *Journal of Ecology*, *109*(3), 1511-1523.
- IPBES (2019). Global Assessment Report on Biodiversity and Ecosystem Services. Secretariat of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services.
- Kardol, P., Martijn Bezemer, T., & Van Der Putten, W. H. (2006). Temporal variation in plant–soil feedback controls succession. *Ecology letters*, *9*(9), 1080-1088.
- Kardol, P., De Deyn, G. B., Laliberté, E., Mariotte, P., & Hawkes, C. V. (2013). Biotic plant–soil feedbacks across temporal scales. *Journal of Ecology*, *101*(2), 309-315.
- Klironomos, J. N. (2002). Feedback with soil biota contributes to plant rarity and invasiveness in communities. *Nature*, *417*(6884), 67-70.
- Kozioł, L., & Bever, J. D. (2016). AMF, phylogeny, and succession: specificity of response to mycorrhizal fungi increases for late-successional plants. *Ecosphere*, *7*(11), e01555.
- Kučáková, E., Mészárošová, L., Baldrian, P., Münzbergová, Z., & Herben, T. (2023). Plant–soil feedbacks in a diverse grassland: Soil remembers, but not too much. *Journal of Ecology*.
- Kulmatiski, A., Beard, K. H., & Stark, J. M. (2006). Soil history as a primary control on plant invasion in abandoned agricultural fields. *Journal of Applied ecology*, *43*(5), 868-876.
- Kulmatiski, A., Beard, K. H., Stevens, J. R., & Cobbold, S. M. (2008). Plant–soil feedbacks: a meta-analytical review. *Ecology letters*, *11*(9), 980-992.
- Kulmatiski, A., & Beard, K. H. (2011). Long-term plant growth legacies overwhelm short-term plant growth effects on soil microbial community structure. *Soil Biology and Biochemistry*, *43*(4), 823-830.
- Kulmatiski, A., Beard, K. H., Norton, J. M., Heavilin, J. E., Forero, L. E., & Grenzer, J. (2017). Live long and prosper: plant–soil feedback, lifespan, and landscape abundance covary. *Ecology*, *98*(12), 3063-3073.
- Kulmatiski, A. (2018). Community-level plant–soil feedbacks explain landscape distribution of native and non-native plants. *Ecology and Evolution*, *8*(4), 2041-2049.
- Lekberg, Y., Bever, J. D., Bunn, R. A., Callaway, R. M., Hart, M. M., Kivlin, S. N., ... & Van der Putten, W. H. (2018). Relative importance of competition and plant–soil feedback, their synergy, context dependency and implications for coexistence. *Ecology letters*, *21*(8), 1268-1281.
- Levine, J. M., Vilà, M., Antonio, C. M. D., Dukes, J. S., Grigulis, K., & Lavorel, S. (2003). Mechanisms underlying the impacts of exotic plant invasions.

*Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1517), 775-781.

- Levine, J. M., Pachepsky, E., Kendall, B. E., Yelenik, S. G., & Lambers, J. H. R. (2006). Plant–soil feedbacks and invasive spread. *Ecology letters*, 9(9), 1005-1014.
- Liao, C., Peng, R., Luo, Y., Zhou, X., Wu, X., Fang, C., ... & Li, B. (2008). Altered ecosystem carbon and nitrogen cycles by plant invasion: a meta-analysis. *New phytologist*, 177(3), 706-714.
- Liao, H., Luo, W., Peng, S., & Callaway, R. M. (2015). Plant diversity, soil biota and resistance to exotic invasion. *Diversity and Distributions*, 21(7), 826-835.
- López Zieher, X. M., Vivanco, L., & Yahdjian, L. (2020). Soil bacterial communities remain altered after 30 years of agriculture abandonment in Pampa grasslands. *Oecologia*, 193(4), 959-968.
- Mangla, S., Inderjit, & Callaway, R. M. (2008). Exotic invasive plant accumulates native soil pathogens which inhibit native plants. *Journal of Ecology*, 96(1), 58-67.
- Mariotte, P., Mehrabi, Z., Bezemer, T. M., De Deyn, G. B., Kulmatiski, A., Drigo, B., ... & Kardol, P. (2018). Plant–soil feedback: bridging natural and agricultural sciences. *Trends in Ecology & Evolution*, 33(2), 129-142.
- McGonigle, T. P., Miller, M. H., Evans, D. G., Fairchild, G. L., & Swan, J. A. (1990). A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular—arbuscular mycorrhizal fungi. *New phytologist*, 115(3), 495-501.
- Meinhardt, K. A., & Gehring, C. A. (2012). Disrupting mycorrhizal mutualisms: a potential mechanism by which exotic tamarisk outcompetes native cottonwoods. *Ecological Applications*, 22(2), 532-549.
- Meisner, A., Gera Hol, W. H., de Boer, W., Krumins, J. A., Wardle, D. A., & van der Putten, W. H. (2014). Plant–soil feedbacks of exotic plant species across life forms: a meta-analysis. *Biological Invasions*, 16, 2551-2561.
- Münzbergová, Z., & Šurinová, M. (2015). The importance of species phylogenetic relationships and species traits for the intensity of plant-soil feedback. *Ecosphere*, 6(11), 1-16.
- Newsham KK, Fitter AH, Watkinson AR. 1995. Multi-functionality and biodiversity in arbuscular mycorrhizas. *Trends in Ecology and Evolution* 10: 407–411.
- Omacini, M., Chaneton, E. J., León, R. J. C., & Batista, W. B. (1995). Old-field successional dynamics on the Inland Pampa, Argentina. *Journal of Vegetation Science*, 6(3), 309-316.
- Omacini M, Tognetti P, Trebino H, Chaneton EJ (2005) Sucesión postagrícola en la Pampa Interior: invasión y dominancia de plantas exóticas durante los primeros 20 años. In: Oosterheld M, Aguiar MR, Ghersa CM, Paruelo JM (eds) *La*

*heterogeneidad de la vegetación de los agroecosistemas. Un homenaje a Rolando León.* Editorial Facultad de Agronomía. UBA pp 215-234

- Omacini, M., Eggers, T., Bonkowski, M., Gange, A. C., & Jones, T. H. (2006). Leaf endophytes affect mycorrhizal status and growth of co-infected and neighbouring plants. *Functional Ecology*, 226-232.
- Peñuelas, J., Poulter, B., Sardans, J., Ciais, P., Van Der Velde, M., Bopp, L., ... & Janssens, I. A. (2013). Human-induced nitrogen–phosphorus imbalances alter natural and managed ecosystems across the globe. *Nature communications*, 4(1), 2934.
- Perelman, S. B., Garibaldi, L. A., & Tognetti, P. M. (2021). Experimentación y modelos Estadísticos.
- Perelman, S. B., & Puhl, L. E. (2023). Artículo invitado. Abordaje multivariado en estudios botánicos y ecológicos. *Darwiniana*, nueva serie, 11(1), 391-426.
- Perry, L. G., Blumenthal, D. M., Monaco, T. A., Paschke, M. W., & Redente, E. F. (2010). Immobilizing nitrogen to control plant invasion. *Oecologia*, 163(1), 13-24.
- Phillips JM, Hayman DS (1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans Br Mycol Soc* 55(1):158–IN18
- Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, Sarkar D and R Core Team 2019 nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-141, <https://CRAN.R-project.org/package=nlm>
- Qu, Q., Xu, H., Liu, G., & Xue, S. (2023). Soil legacy effects and plant—soil feedback contribution to secondary succession processes. *Soil Ecology Letters*, 5(2), 220131.
- Rai, P. K., & Singh, J. S. (2020). Invasive alien plant species: Their impact on environment, ecosystem services and human health. *Ecological indicators*, 111, 106020.
- Reinhart, K. O., & Callaway, R. M. (2006). Soil biota inhibit native plant success in the face of exotic plant invasion. *Journal of Ecology*, 94(4), 1020-1027.
- Rillig, M. C. (2004). Arbuscular mycorrhizae and terrestrial ecosystem processes. *Ecology letters*, 7(8), 740-754.
- Sala, O. E., Chapin III, F. S., Armesto, J. J., Berlow, E., Bloomfield, J., Dirzo, R., ... & Wall, D. H. (2017). Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science*, 287(5459), 1770-1774.

- Semchenko, M., Lepik, A., Abakumova, M., & Zobel, K. (2018). Different sets of belowground traits predict the ability of plant species to suppress and tolerate their competitors. *Plant and Soil*, 424, 157-169.
- Semchenko, M., Barry, K. E., de Vries, F. T., Mommer, L., Moora, M., & Maciá-Vicente, J. G. (2022). Deciphering the role of specialist and generalist plant–microbial interactions as drivers of plant–soil feedback. *New Phytologist*, 234(6), 1929-1944.
- Shivega, W. G., & Aldrich-Wolfe, L. (2017). Native plants fare better against an introduced competitor with native microbes and lower nitrogen availability. *AOB Plants*, 9(1), plx004.
- Smith-Ramesh, L. M., & Reynolds, H. L. (2017). The next frontier of plant–soil feedback research: unraveling context dependence across biotic and abiotic gradients. *Journal of Vegetation Science*, 28(3), 484-494.
- Smith, R. G. (2015). A succession-energy framework for reducing non-target impacts of annual crop production. *Agricultural Systems*, 133, 14-21.
- Spirito, F., Yahdjian, L., Tognetti, P. M., & Chaneton, E. J. (2014). Soil ecosystem function under native and exotic plant assemblages as alternative states of successional grasslands. *Acta Oecologica*, 54, 4-12.
- Spitzer CM, Lindahl B, Wardle DA, Sundqvist MK, Gundale MJ, Fanin N, Kardol P. 2021. Root trait–microbial relationships across tundra plant species. *New Phytologist* 229: 1508–1520
- Stinson, K. A., Campbell, S. A., Powell, J. R., Wolfe, B. E., Callaway, R. M., Thelen, G. C., ... & Klironomos, J. N. (2006). Invasive plant suppresses the growth of native tree seedlings by disrupting belowground mutualisms. *PLoS biology*, 4(5), e140.
- Stevens, C. J., Lind, E. M., Hautier, Y., Harpole, W. S., Borer, E. T., Hobbie, S., ... & Wragg, P. D. (2015). Anthropogenic nitrogen deposition predicts local grassland primary production worldwide. *Ecology*, 96(6), 1459-1465.
- Suding, K. N., Gross, K. L., & Houseman, G. R. (2004). Alternative states and positive feedbacks in restoration ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, 19(1), 46-53.
- Suding, K. N., Stanley Harpole, W., Fukami, T., Kulmatiski, A., MacDougall, A. S., Stein, C., & van der Putten, W. H. (2013). Consequences of plant–soil feedbacks in invasion. *Journal of Ecology*, 101(2), 298-308.
- Teste, F. P., Kardol, P., Turner, B. L., Wardle, D. A., Zemunik, G., Renton, M., & Laliberté, E. (2017). Plant-soil feedback and the maintenance of diversity in Mediterranean-climate shrublands. *Science*, 355(6321), 173-176.

- Tilman, D., Fargione, J., Wolff, B., D'antonio, C., Dobson, A., Howarth, R., ... & Swackhamer, D. (2001). Forecasting agriculturally driven global environmental change. *science*, 292(5515), 281-284.
- Tognetti, P.M. (2010). Mecanismos de sucesión en pastizales: dispersión, disponibilidad de recursos y competencia. Tesis Doctoral. Escuela para graduados, Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires. 77pp.
- Tognetti, P.M, Chaneton EJ, Omacini M, Trebino HJ, León RJC. (2010). Exotic vs. native species dominance over 20 years of modern plant succession on set-aside farmland. *Biological Conservation*.
- Tognetti, P. M. & Chaneton E. J. (2012). Invasive exotic grasses and seed arrival limit native species establishment in an old-field grassland succession. *Biological Invasions* 14:2531–2544.
- Tognetti, P. M. (2013). Case Study: Novelty Measurement in Pampean Grasslands. Page Novel Ecosystems: Intervening in the New Ecological World Order
- Tognetti, P. M., & Chaneton, E. J. (2015). Community disassembly and invasion of remnant native grasslands under fluctuating resource supply. *Journal of Applied Ecology*, 52(1), 119-128.
- Trebino HJ, (2007). Sucesión postagrícola a partir de microcosmos de pastizal de distinta complejidad. Tesis Doctoral. Escuela para graduados, Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires. 78pp
- Urcelay, C., & Battistella, R. (2007). Colonización micorrícica en distintos tipos funcionales de plantas herbáceas del centro de Argentina. *Ecología austral*, 17(2), 179-188.
- van de Voorde, T. F., van der Putten, W. H., & Martijn Bezemer, T. (2011). Intra-and interspecific plant–soil interactions, soil legacies and priority effects during old-field succession. *Journal of Ecology*, 99(4), 945-953.
- Van Der Heijden, M. G., Klironomos, J. N., Ursic, M., Moutoglis, P., Streitwolf-Engel, R., Boller, T., ... & Sanders, I. R. (1998). Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, 396(6706), 69-72.
- Van der Putten, W. H., Bardgett, R. D., Bever, J. D., Bezemer, T. M., Casper, B. B., Fukami, T., ... & Wardle, D. A. (2013). Plant–soil feedbacks: the past, the present and future challenges. *Journal of Ecology*, 101(2), 265-276.
- van der Putten, W. H., Bradford, M. A., Pernilla Brinkman, E., van de Voorde, T. F., & Veen, G. F. (2016). Where, when and how plant–soil feedback matters in a changing world. *Functional Ecology*, 30(7), 1109-1121.

- van der Wal, A., van Veen, J. A., Smant, W., Boschker, H. T., Bloem, J., Kardol, P., ... & de Boer, W. (2006). Fungal biomass development in a chronosequence of land abandonment. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(1), 51-60.
- Veen, G. F., Fry, E. L., Ten Hooven, F. C., Kardol, P., Morriën, E., & De Long, J. R. (2019). The role of plant litter in driving plant-soil feedbacks. *Frontiers in Environmental Science*, 168.
- Wilson, G. W., & Hartnett, D. C. (1998). Interspecific variation in plant responses to mycorrhizal colonization in tallgrass prairie. *American journal of botany*, 85(12), 1732-1738.
- Wolfe, B. E., & Klironomos, J. N. (2005). Breaking new ground: soil communities and exotic plant invasion. *Bioscience*, 55(6), 477-487.
- Wubs, E. J., van Der Putten, W. H., Mortimer, S. R., Korthals, G. W., Duyts, H., Wagenaar, R., & Bezemer, T. M. (2019). Single introductions of soil biota and plants generate long-term legacies in soil and plant community assembly. *Ecology Letters*, 22(7), 1145-1151.
- Xi, N., Adler, P. B., Chen, D., Wu, H., Catford, J. A., van Bodegom, P. M., ... & Chu, C. (2021). Relationships between plant–soil feedbacks and functional traits. *Journal of Ecology*, 109(9), 3411-3423.
- Yahdjian, L., Piñeiro, G. (2014). Balance de Carbono en pastizales pampeanos. Capítulo 24 In: *Suelos, producción agropecuaria y cambio climático: avances en la Argentina. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca de la Nación.*
- Yahdjian, L., Tognetti, P. M., & Chaneton, E. J. (2017). Plant functional composition affects soil processes in novel successional grasslands. *Functional Ecology*, 31(9), 1813-1823.
- Zhang, Q., Yang, R., Tang, J., Yang, H., Hu, S., & Chen, X. (2010). Positive feedback between mycorrhizal fungi and plants influences plant invasion success and resistance to invasion. *PLoS one*, 5(8), e12380.
- Zhang, P., Li, B., Wu, J., & Hu, S. (2019). Invasive plants differentially affect soil biota through litter and rhizosphere pathways: a meta-analysis. *Ecology Letters*, 22(1), 200-210.
- Zuur, A. F., Ieno, E. N., & Elphick, C. S. (2010). A protocol for data exploration to avoid common statistical problems. *Methods in ecology and evolution*, 1(1), 3-14.

## Apéndice 1: Material suplementario del capítulo 2

**Cuadro S2.1** Lista de especies, su origen y cobertura promedio para los 5 sitios post-agrícolas y 5 sitios relictos previo a la instalación del experimento manipulativo.

Especies	Origen	Historia del sitio	
		Post-agrícola	Relicto
<i>Aster squamatus</i>	Nativa	0	0,1
<i>Briza subaristata</i>	Nativa	0	0,9
<i>Dichondra repens</i>	Nativa	0	0,1
<i>Eryngium elegans</i>	Nativa	0	0,5
<i>Eryngium spp.</i>	Nativa	0	0,4
<i>Panicum bergii</i>	Nativa	0	1,91
<i>Paspalum quadrifarium</i>	Nativa	0,2	61,5
<i>Setaria geniculata</i>	Nativa	0	0,016
<i>Solidago chilensis</i>	Nativa	0	0,4
<i>Stipa filiculmis</i>	Nativa	0	1,1
<i>Stipa neesiana</i>	Nativa	0	1,81
<i>Verbena intermedia</i>	Nativa	0	0,1
<i>Carduus acanthoides</i>	Exótica	0,4	0,2
<i>Cirsium vulgare</i>	Exótica	0,22	0
<i>Cynodon dactylon</i>	Exótica	11,91	0
<i>Dipsacus fullonum</i>	Exótica	1,01	0
<i>Festuca arundinacea</i>	Exótica	53,7	3,5
<i>Hirschfeldia incana</i>	Exótica	0	0,6
<i>Medicago lupulina</i>	Exótica	0	0,03
<i>Sorghum halepensis</i>	Exótica	0,8	0

**Cuadro S2.2** ANOVA para el efecto de la historia del sitio, la disponibilidad de N y su interacción sobre el contenido de Nitrato, Amonio y Nitrógeno inorgánico total del suelo.

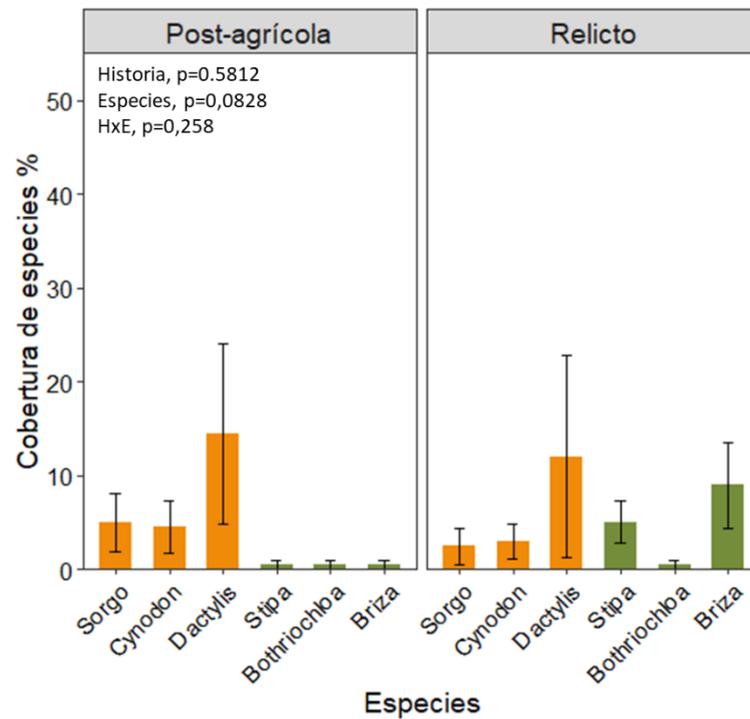
	df	Nitrato		Amonio		Nitrógeno inorgánico total	
		F-value	p-value	F-value	p-value	F-value	p-value
Historia del sitio	1	1.4094	0.2581	1.4888	0.2458	2.1646	0.1670
Disponibilidad de N	2	25.808	<.0001***	7.8748	0.0023**	24.9562	<.0001***
Historia x Disponibilidad de N	2	4.9493	0.0159*	0.4865	0.620	2.9572	0.0711

\*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001

**Cuadro S2.3** ANOVA para el efecto de la historia del sitio, el trasplante de grupos y su interacción sobre la cobertura de comunidades exóticas y nativas, y la cobertura de *P. quadrifarium* y *F. arundinacea* en particular.

	Exóticas y nativas			<i>P. quadrifarium</i> y <i>F. arundinacea</i>		
	df	F-value	P-value	df	F-value	P-value
Historia del sitio	1	18.2817	0.014*	8	5.8867	0.0414*
Especies trasplantadas	1	2.0773	0.087	8	9.4156	0.0154*
Historia x Especies	1	1.0057	0.481	8	0.1839	0.6793

\*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001



**Figura S2.1.** Cobertura de las especies trasplantadas sin *F. arundinacea* y *P. quadrifarium* según, la historia del sitio: Post-agrícola y Relicto. Las barras naranjas representan a las especies exóticas y las barras verdes a las nativas. Las barras indican el promedio de la cobertura en el año  $2013 \pm 1$  error estándar para  $n=5$ .

**Cuadro S2.4** ANOVA para el efecto de la historia del sitio, las especies trasplantadas y su interacción sobre la cobertura de especies espontáneas nativas y exóticas.

	df	Espontáneas nativas		Espontáneas exóticas		Espontáneas totales	
		F-value	p-value	F-value	p-value	F-value	p-value
Historia del sitio	8	11.365	0.009**	5.993	0.040*	13.598	0.006**
Especies trasplantadas	8	0.009	0.926	0.000	1	0	0.993
Historia x Especies	8	2.463	0.155	0.004	0.947	1.866	0.209

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$

**Cuadro S2.5** ANOVA para el efecto de la historia del sitio, las especies trasplantadas y su interacción sobre el índice de intensidad de la interacción entre plantas (RII).

	df	F-value	p-value
Historia del sitio	12	1.0409	0.3277

Especies trasplantadas	12	1.5387	0.2385
Historia x Especies	12	1.0332	0.3295

\*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001

**Cuadro S2.6** Efecto de los niveles de nitrógeno y la historia del sitio sobre el índice de abundancia relativa. Valores del índice mayores a 0 indican mayor éxito de nativas y valores menores a 0 mayor éxito de nativas. El \* indica  $p < 0,05$  para prueba t Student.

	N-	NO	N+
Post-agrícola	0.2996	0.4096	0.0494
Relictos	0.2141	0.1047	-0.5817*

**Cuadro S2.7** ANOVA de dos vías para los efectos de la historia del sitio, del legado del suelo y su interacción sobre cada variable del suelo.

	Historia del sitio		Legado		Historia x Legado	
	F-value	p-value	F-value	p-value	F-value	p-value
pH (1:2,5)	2.557	0.1471	1.801	0.2164	0.398	0.5459
CE(dS/m)	0.5765	0.4695	0.2878	0.6062	0.1683	0.6924
COT (%)	0.1668	0.6937	0.3079	0.5942	0.7220	0.2258
MO (%)	0.1635	0.6966	0.3201	0.5871	1.7610	0.2211
Nt (%)	1.29993	0.2872	0.82805	0.3894	1.06446	0.332
Ca (cmolc/Kg)	0.78704	0.4009	0.09866	0.7615	0.04196	0.8428
Mg (cmolc/Kg)	0.56402	0.4742	0.93910	0.3609	0.00051	0.9826
Na (cmolc/Kg)	0.95008	0.3582	1.38462	0.2731	1.38462	0.2731
K (cmolc/Kg)	1.2430	0.2973	5.8947	0.0413*	0.0017	0.9682
CIC (cmolc/Kg)	1.6523	0.2346	0.5649	0.4738	1.5763	0.2447
P (mg/kg)	31.8441	0.0005**	256.172	<.0001**	9.3222	0.0157*

**Cuadro S2.8** ANOVA para el efecto de la historia del sitio, el origen de las especies (exóticas o nativas) y su interacción, sobre la cobertura de *P. quadrifarium* y *F. arundinacea*.

	2011		2023		
	df	F-value	p-value	F-value	p-value
Historia del sitio	8	43.7963	0.0002**	1.2265	0.3003

Especies	8	58.4636	0.0001**	0.0482	0.8316
Historia x Especies	8	108.0314	<.0001***	3.0691	0.1179

---

\*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001

## Apéndice 2: Material suplementario del capítulo 3

**Cuadro S3.1** ANOVA para los efectos de la historia del sitio sobre el índice de retroalimentación planta suelo para *F. arundinacea* y *P. quadrifarium* y de la prueba t de Student.

Prueba	Factor	<i>F. arundinacea</i>			<i>P. quadrifarium</i>		
		Df	Estadístico	Valor p	df	Estadístico	Valor p
ANOVA	Historia	1	$\chi^2=3.9453$	0.0002***	1	1.3544	0.2445
Prueba t	Historia						
	Post-agrícola	4	t=-2.1448	0.0985.	4	t=-1.2708	0.2726
	Relicto	4	t=1.7847	0.1488	4	t=-4.0477	0.0155*

**Cuadro S3.2** ANOVA para los efectos del tiempo (días), historia del sitio y legado del suelo, y su interacción sobre el número de hojas de *P. quadrifarium* y *F. arundinacea*

	<i>F. arundinacea</i>			<i>P. quadrifarium</i>		
	df	$\chi^2$	p-value	df	$\chi^2$	p-value
Historia del sitio	1	0.644	0.422	1	0.571	0.450
Legado	1	0.141	0.701	1	4.072	0.043*
Días	1	77.08	<2e-16 ***	1	1729.6	< 2.2e-16 ***
Historia x Legado	1	0.483	0.486	1	3.078	0.079.
Historia x Días	1	0.024	0.875	1	24.71	6.659e-07 ***
Legado x Días	1	0.117	0.732	1	15.54	8.076e-05 ***
Historia x Legado x Días	1	1.606	0.205	1	0.600	0.438

**Cuadro S3.3** ANOVA para los efectos de la historia del sitio y legado del suelo, y su interacción sobre la colonización micorrícica radical de *P. quadrifarium* y *F. arundinacea*

	<i>F. arundinacea</i>			<i>P. quadrifarium</i>		
	df	$\chi^2$	p-value	df	$\chi^2$	p-value
Historia del sitio	1	7.8506	0.0051**	1	4.2325	0.0396*
Legado	1	0.0528	0.8181	1	0.7613	0.3829

---

Historia x Legado	1	7.8546	0.0051**	1	8.4994	0.0035**
-------------------	---	--------	----------	---	--------	----------

---