

**Aislamiento de los efectos del arbusto *Acanthostyles buniifolius* sobre
la heterogeneidad de la vegetación herbácea de pastizales naturales en
distintos niveles de organización**

Lic. (Mag.) Gastón Fernández Píriz (gfernandez@cure.edu.uy)

Orientadora de tesis: Dra. Claudia Rodríguez (claudia@fcien.edu.uy)

**Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas
Área Biología (sub-área Ecología)
PEDECIBA, UDELAR**

2019



Tribunal:

Presidente: Dra. Lina Betucci

Vocal: Dra. Alice Altesor

Vocal: Dra. Pamela Graff

Agradecimientos

A Claudia Rodríguez, mi tutora, por haberme apoyado e impulsado con la realización de esta tesis. A la familia Quiñones Dellepiane por haber permitido la realización de este estudio en su establecimiento. A mis compañeros del Grupo de Ecología de Pastizales: Anaclara Guido, Andrea Geymonat, Beatriz Costa, Cecilia Ríos, Elsa Leoni, Felipe Lezama, Luis López, Manuel Ferrón y Silvina García que me ayudaron con la instalación de los experimentos y los muestreos de campo. A Amparo Quiñones, Bruno Bazzoni, Luciana Gillman y María Ruiz que colaboraron con los muestreos de vegetación. Al PEDECIBA por el apoyo institucional y a la ANII por el apoyo económico. Al tribunal que evaluó esta tesis, cuyos aportes y comentarios mejoraron el resultado final del trabajo.

A Leticia y Pedro, por su cariño, compañía y apoyo incondicional.

Resumen

La competencia y la facilitación son procesos clave que afectan la riqueza y la cobertura de especies en las comunidades vegetales. Si bien el rol de la competencia entre plantas ha sido bien establecido, desde las últimas décadas el papel de la facilitación se ha destacado como otro proceso que afecta la riqueza, la composición y la dinámica de las comunidades vegetales. Las plantas establecidas pueden facilitar a sus vecinos a través de la mejora de las condiciones microclimáticas (efectos abióticos) o de la protección frente a la herbivoría (efectos bióticos). Los efectos abióticos incluyen la reducción de la radiación solar, de la temperatura del aire y de la velocidad del viento y el aumento de la humedad del suelo, en comparación con las áreas abiertas circundantes. Por otra parte, las plantas pueden facilitar el establecimiento y crecimiento de sus vecinos mediante la protección frente a los herbívoros a través de espinas o toxinas o del ocultamiento visual. Determinar el papel que tienen las interacciones entre plantas sobre la estructura y la dinámica de las comunidades, es uno de los objetivos centrales de la ecología vegetal.

En esta tesis se analizó el efecto del arbusto *Acanthostyles buniifolius* sobre la riqueza y cobertura de especies herbáceas en pastizales de la región este de Uruguay. Para ello, se realizaron tres experimentos manipulativos, cuyos resultados fueron analizados en tres capítulos por separado.

El primer experimento tuvo como objetivo separar el efecto biótico del arbusto (protección frente a los herbívoros) del efecto abiótico (mejoramiento de las condiciones microclimáticas) sobre la comunidad herbácea. Para ello se evaluó el efecto del arbusto sobre cuatro tipos funcionales de plantas (TFP) y sobre especies individuales, en dos áreas adyacentes, una pastoreada y la otra excluida al pastoreo durante tres años. Se encontró que el arbusto protege a las gramíneas de los herbívoros, pero también beneficia a las gramíneas C₃ por mejoramiento del microhábitat. Por el contrario, los cambios microclimáticos generados bajo el dosel del arbusto perjudicaron a las gramíneas C₄ y a los gramínoideos (monocotiledóneas no-gramíneas). Las hierbas no mostraron un comportamiento claro. Estos resultados indican que el metabolismo fotosintético de las especies es un atributo clave para analizar la interacción entre arbustos y gramíneas en estos pastizales.

El segundo experimento tuvo como objetivo determinar si el microhábitat generado por el arbusto beneficiaba o perjudicaba a las especies debido a efectos aéreos o subterráneos. El experimento se realizó únicamente en la zona excluida al pastoreo, determinando la composición florística y la cobertura de especies debajo de arbustos con el dosel atado y las raíces intactas (efecto subterráneo) y debajo de un dosel artificial (efecto aéreo). Se encontró que el tratamiento aéreo perjudicaba a las gramíneas C₄ y a los graminoides, mientras que las gramíneas C₃ eran beneficiadas en el tratamiento subterráneo. Esto sugiere que el arbusto facilita a las gramíneas C₃ posiblemente a través del aumento de la humedad del suelo y que perjudica a las gramíneas C₄ y a los graminoides por el sombreado.

El tercer experimento tuvo como objetivo determinar el efecto del arbusto y del pastoreo sobre los primeros estadíos de vida de las especies herbáceas. Para ello, en un experimento factorial donde se usaron parcelas de 1 m², con el pastoreo y la presencia del arbusto como efectos fijos, se analizó la emergencia, mortalidad y longevidad de plántulas a lo largo de dos años. Además, en el último año se cuantificó la riqueza de morfoespecies. Se encontró que la abundancia y riqueza de plántulas de dicotiledóneas fueron afectadas negativamente por el arbusto y positivamente por el pastoreo. No se encontraron efectos de estos factores sobre las monocotiledóneas. La diferencia en abundancia entre los tratamientos se explica por variaciones en la emergencia de las plántulas, pero no por variaciones en su mortalidad. A diferencia de la emergencia, la longevidad de las plántulas fue mayor debajo del arbusto. Los resultados de este capítulo indican que el arbusto afecta negativamente la emergencia de dicotiledóneas (posiblemente por la reducción de la radiación solar), pero que las condiciones microclimáticas menos extremas generadas debajo de su dosel tendrían un efecto positivo en la longevidad de las plántulas. Por su parte, la generación de claros y el aumento de la radiación incidente y la temperatura del suelo en pastoreo, favorecerían la germinación de las semillas.

Esta tesis representa un avance en el conocimiento de la importancia relativa de la competencia y la facilitación entre arbustos y plantas herbáceas en pastizales de Uruguay. Los resultados obtenidos apoyan la idea que la facilitación también es un proceso ubicuo en sistemas méxicos, mediado por el

metabolismo fotosintético en el caso de estos pastizales. Estos resultados son relevantes ya que los arbustos como *A. buniifolius* son indeseados y generalmente son eliminados del sistema para aumentar el área efectiva de pastoreo. Sin embargo pueden tener un papel relevante en el mantenimiento de la riqueza y diversidad de estas comunidades, en un contexto local y regional de pérdida de pastizales por las altas tasas de cambios en el uso del suelo.

Índice general

Índice de figuras	8
Índice de tablas.....	11
Abreviaturas.....	14
Capítulo 1: Introducción general.....	15
1.1. Factores abióticos determinantes de la estructura de la vegetación	16
1.2. Factores bióticos determinantes de la estructura de la vegetación	17
1.3. Pastizales	19
1.4. Objetivos y organización de la tesis	21
Capítulo 2: Efectos del arbusto <i>Acanthostyles buniifolius</i> sobre la riqueza y cobertura de especies herbáceas de un pastizal de la región este de Uruguay	23
2.1. Introducción	24
2.2. Materiales y métodos	29
2.3. Resultados	32
2.4. Discusión.....	40
Capítulo 3: Efecto aéreo y subterráneo del arbusto <i>Acanthostyles buniifolius</i> sobre la estructura de la comunidad herbácea de un pastizal de la región este de Uruguay	52
3.1. Introducción	53
3.2. Materiales y métodos	58
3.3. Resultados	61
3.4. Discusión.....	69
Capítulo 4: Efectos del pastoreo y del arbusto <i>Acanthostyles buniifolius</i> sobre la emergencia y el establecimiento de plántulas de un pastizal de la región este de Uruguay	80
4.1. Introducción	81
4.2. Materiales y métodos	85
4.3. Resultados	87
4.4. Discusión.....	100
Capítulo 5: Discusión general.....	106
Conclusiones	117
Bibliografía.....	118

Índice de figuras

Figura 2.1. Promedio (\pm E. E.) de la riqueza total de especies herbáceas creciendo en sitios abiertos y debajo del arbusto *Acanthostyles buniifolius* en clausura y en pastoreo. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$) **33**

Figura 2.2. Promedio (\pm E. E.) de la riqueza de especies de los Tipos Funcionales de Plantas en sitios abiertos y debajo del arbusto *Acanthostyles buniifolius* en clausura y en pastoreo. Diferentes letras indican diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,05$) **34**

Figura 2.3. Promedio (\pm E. E.) del Índice Relativo de la Interacción (RII) para el efecto del arbusto *Acanthostyles buniifolius* sobre la cobertura de los Tipos Funcionales de Plantas en condiciones de clausura y de pastoreo. Los valores positivos indican facilitación, los valores cercanos a cero indican neutralidad y los negativos competencia. Los asteriscos muestran efectos significativos del arbusto ($p < 0,05$) **35**

Figura 2.4. Promedio (\pm E. E.) del Índice Relativo de la Interacción (RII) para especies de gramíneas C₃; gramíneas C₄ y hierbas en condiciones de clausura y pastoreo. Se muestran solo especies presentes en al menos tres parcelas pareadas. El asterisco muestra los valores distintos de cero ($p < 0,05$) **37**

Figura 2.5. Promedio (\pm E. E.) de la riqueza total de especies y por TFP (Gramíneas C₃; Gramíneas C₄; Hierbas y Graminoides) a lo largo del tiempo. Los asteriscos muestran diferencias significativas en la cobertura de los TFP entre los micrositios ($p < 0,05$) **48**

Figura 2.6. Promedio (\pm E. E.) de la cobertura de los TFP (Gramíneas C₃; Gramíneas C₄; Hierbas y Graminoides) a lo largo de los cuatro años de muestreo. Los asteriscos muestran diferencias significativas en la cobertura de los TFP entre los micrositios ($p < 0,05$) **50**

Figura 3.1. Diseño experimental realizado para determinar el efecto neto, aéreo y subterráneo del arbusto *Acanthostyles buniifolius* sobre la comunidad herbácea. A⁺S⁻: presencia de dosel (artificial) y ausencia de raíces del arbusto; A⁻S⁺: ausencia de dosel (atado) y presencia de raíces; A⁻S⁻: ausencia de dosel y de raíces. El efecto del arbusto se calculó a través del RII (Relative Interaction Index) (ver análisis estadístico). También se muestra el tratamiento A⁺S⁺: con presencia de dosel y raíces (arbusto intacto) **59**

Figura 3.2. Trayectorias temporales (2013-2016) de las comunidades herbáceas desarrolladas debajo del dosel del arbusto *Acanthostyles buniifolius*, bajo tres tratamientos: arbusto intacto (A^+S^+), dosel atado (A^-S^+) y dosel artificial (A^+S^-). Se muestra el promedio y los errores estándares de los scores derivados del escalamiento multidimensional no métrico con la distancia de Bray-Curtis como medida de disimilitud..... **62**

Figura 3.3. Riqueza total de especies y por Tipos Funcionales de Plantas (Gramíneas C_3 , Gramíneas C_4 y Hierbas) en los tres tratamientos: Control, sin arbusto (A^-S^-); Dosel artificial (A^+S^-) y Dosel atado (A^-S^+). A los efectos comparativos también se muestra la riqueza de especies debajo del arbusto intacto (A^+S^+), calculada en el Capítulo 2. Se muestran los valores promedio ($n= 5$) y el error estándar. Las diferentes letras muestran diferencias significativas entre los tratamientos (pos hoc LSD, $p < 0,05$). Los ejes tienen distintas escalas. **63**

Figura 3.4. Efecto neto, aéreo y subterráneo del arbusto *Acanthostyles buniifolius* sobre la cobertura de los Tipos Funcionales de Plantas (Gramíneas C_3 ; Gramíneas C_4 ; Hierbas y Graminoides) en el último año de muestreo. Se muestran los valores promedio ($n= 5$) y el error estándar del RII. El asterisco muestra que los valores difieren de cero (Test t de Student, $p < 0,05$) **64**

Figura 3.5. Promedio (\pm E. E.) del RII del efecto neto, aéreo y subterráneo de *Acanthostyles buniifolius* en la cobertura de gramíneas C_3 (*Danthonia rhizomata*, *Dichantherium sabulorum*, *Melica brasiliana* y *Piptochaetium montevidense*); gramíneas C_4 (*Aristida murina*, *Aristida venustula*, *Bothriochloa laguroides*, *Paspalum notatum*, *Paspalum plicatulum*, *Schizachyrium microstachyum*, *Steinchisma hians* y *Erianthus angustifolius*) y hierbas (*Galactia marginalis* y *Richardia humistrata*). Los asteriscos muestran los valores distintos de cero (test t de Student, $*p < 0,1$; $**p < 0,05$) **66**

Figura 3.6. Modo alternativo para el cálculo del efecto neto, aéreo y subterráneo del arbusto, usando al arbusto intacto como control. **76**

Figura 3.7. Efecto aéreo y subterráneo del arbusto *Acanthostyles buniifolius* sobre la cobertura de los Tipos Funcionales de Plantas (Gramíneas C_3 ; Gramíneas C_4 ; Hierbas y Graminoides), usando al arbusto intacto como control. Se muestran los valores promedio ($n= 5$) y el error estándar del RII. Los asteriscos muestran que los valores difieren de cero (Test t de Student, $*p < 0,1$; $**p < 0,05$) **77**

Figura 4.1. Número acumulado de plántulas de dicotiledóneas y de monocotiledóneas emergidas durante dos años en los diferentes tratamientos (Promedio \pm E.E.). Las distintas letras indican diferencias significativas entre los tratamientos derivadas del ANOVA de dos vías (LSD Fisher; $p < 0,05$) **88**

Figura 4.2. Dinámica estacional de la abundancia de plántulas de dicotiledóneas y monocotiledóneas (Promedio \pm E.E.) censadas en las parcelas con arbusto (rombos negros) y abiertas (círculos grises) en pastoreo y clausura. Los censos se realizaron desde inicios de la primavera de 2015 (p15) hasta finales del invierno de 2017 (i17) **90**

Figura 4.3. Dinámica estacional de la emergencia (círculos grises) y la mortalidad (círculos negros) de plántulas de dicotiledóneas (Promedio \pm E.E.) en parcelas con arbusto y abiertas en pastoreo y clausura a lo largo de dos años. Los censos se realizaron desde inicios de la primavera de 2015 (p15) hasta finales del invierno de 2017 (i17). La mortalidad se expresa como la fracción de individuos muertos en el tiempo t con relación al número de individuos censados en el tiempo t-1. **92**

Figura 4.4. Dinámica estacional de la emergencia (círculos grises) y la mortalidad (círculos negros) de plántulas de monocotiledóneas (Promedio \pm E.E.) en parcelas con arbusto y abiertas en pastoreo y clausura a lo largo de dos años. Los censos se realizaron desde inicios de la primavera de 2015 (p15) hasta finales del invierno de 2017 (i17). La mortalidad se expresa como la fracción de individuos muertos en el tiempo t con relación al número de individuos censados en el tiempo t-1 **94**

Figura 4.5. Longevidad (Promedio \pm E.E.) de las dicotiledóneas y monocotiledóneas emergidas durante el primer año de estudio debajo del arbusto *Acanthostyles buniifolius* o en sitios abiertos en pastoreo y clausura **96**

Figura 4.6. Promedio (\pm E.E.) de la riqueza de morfoespecies de dicotiledóneas y monocotiledóneas debajo del arbusto *Acanthostyles buniifolius* y en parcelas abiertas en pastoreo y clausura. La riqueza fue comparada con ANOVA de dos vías y las diferencias significativas entre los tratamientos se indican con diferentes letras (Post hoc LSD; $p < 0,05$).. **97**

Índice de tablas

Tabla 2.1. Efecto de los tratamientos sobre la riqueza total de especies y por Tipos Funcionales de Plantas (Gramíneas C₃; Gramíneas C₄; Hierbas; Graminoides) en pastizales de las Sierras del Este. Se muestran los valores de F y *p* derivados del ANOVA de una vía. En negrita se muestran los valores con (*p*< 0,05) **34**

Tabla 2.2. RII de las especies registradas en pastoreo y clausura con valores que no difieren estadísticamente de cero (efecto neutro), así como aquellas registradas en una sola de las situaciones. Los asteriscos en las especies registradas únicamente en clausura o pastoreo, indican que el valor difirió significativamente de cero en un test de *t* (*p*< 0,05) **38**

Tabla 2.3. Promedio (± E. E.) de la disponibilidad de luz, la temperatura del suelo y el contenido de agua del suelo debajo de arbustos y en sitios abiertos en clausura y pastoreo y los valores F y *p* derivados del ANOVA. Diferentes letras muestran diferencias significativas entre los tratamientos para las variables. En negrita valores de F y *p* significativos **39**

Tabla 2.4. Frecuencia absoluta (n= 5) de los diferentes taxones identificados en los sitios abiertos (Abi) y debajo del arbusto (Arb) *Acanthostyles buniifolius* a lo largo de los cuatro años de estudio. Se detectaron 53 taxones en la familia Poaceae (Poa); 15 en Asteraceae (Ast); cinco en Rubiaceae (Rub); cuatro en Fabaceae (Fab); tres en Iridaceae (Iri) y Juncaceae (Jun); dos en Apiaceae (Api), Convolvulaceae (Con), Cyperaceae (Cyp), Orobanchaceae (Oro) y Plantaginaceae (Pla); uno en Acanthaceae (Aca), Amaranthaceae (Ama), Hypoxidaceae (Hyp), Linaceae (Lin), Lythraceae (Lyt), Malvaceae (Mal), Orchidaceae (Orc) y en Oxalidaceae (Oxa) **45**

Tabla 2.5. Variación temporal en la riqueza total de especies y en los Tipos Funcionales de Plantas (Gramíneas C₃; Gramíneas C₄; Hierbas; Graminoides) creciendo debajo del arbusto *Acanthostyles buniifolius* y en sitios abiertos de clausura y pastoreo en pastizales de las Sierras del Este. Se muestran los valores F y *p* derivados del ANOVA de medidas repetidas. En negrita los valores con (*p*< 0,05) **49**

Tabla 2.6. Variación temporal de la cobertura de los TFP (Gramíneas C₃; Gramíneas C₄; Hierbas y Graminoides). Se muestran los valores F y *p* derivados del ANOVA de medidas repetidas. Los valores en negrita muestran diferencias significativas en la cobertura de los TFP entre los tratamientos (*p*< 0,05) **51**

Tabla 3.1. Efecto de los tratamientos sobre la riqueza total de especies y por Tipos Funcionales de Plantas (Gramíneas C₃; Gramíneas C₄; Hierbas) en pastizales de las Sierras del Este. Se

muestran los valores de F y p derivados del ANOVA de una vía. En negrita se muestran los valores significativos ($p < 0,05$)..... 63

Tabla 3.2. Efecto de los tratamientos sobre la cobertura de los Tipos Funcionales de Plantas (Gramíneas C₃; Gramíneas C₄; Hierbas y Graminoides) en pastizales de las Sierras del Este. Se muestran los valores de T y p derivados del test t de Student. En negrita se muestran los valores con ($p < 0,05$)..... 64

Tabla 3.3. Promedios de RII de los efectos aéreos y subterráneos del arbusto *Acanthostyles buniifolius* en la cobertura de especies que no difieren estadísticamente de cero (efecto neutro) 67

Tabla 3.4. Valores promedio de la disponibilidad de luz, la temperatura del suelo y el contenido de agua del suelo en parcelas abiertas (Control), en parcelas con el dosel del arbusto atado (Subterráneo) y debajo del dosel artificial (Aéreo). En negrita valores de T y p significativos derivados del test t de Student..... 68

Tabla 3.5. Frecuencia promedio ($n = 5$) de los 81 taxones identificados en los tres tratamientos: control (A⁻S⁻); aéreo (A⁺S⁻; dosel artificial) y subterráneo (A⁻S⁺, arbusto atado) a lo largo de los cuatro muestreos. Se detectaron 49 taxones en la familia Poaceae (Poa); 10 en Asteraceae (Ast); cuatro en Rubiaceae (Rub); dos en Apiaceae (Api); Convolvulaceae (Con), Cyperaceae (Cyp), Orobanchaceae (Oro) y en Plantaginaceae (Pla); uno en Amaranthaceae (Ama), Fabaceae (Fab), Hypoxidaceae (Hyp), Juncaceae (Jun), Labiatae (Lab), Lythraceae (Lyt), Moraceae (Mor) y en Oxalidaceae (Oxa) 78

Tabla 4.1. Efectos del arbusto *Acanthostyles buniifolius* y el pastoreo en el número acumulado de plántulas emergidas durante dos años en un pastizal de la región este de Uruguay. Se muestran los valores de F y p derivados del ANOVA de dos vías. En negrita se muestran los valores significativos ($p < 0,05$)..... 89

Tabla 4.2. Efectos del arbusto *Acanthostyles buniifolius*, del pastoreo y de la estación de muestreo en la abundancia de plántulas en un pastizal de la región este de Uruguay. Se muestran los valores de F y p derivados del ANOVA de medidas repetidas. En negrita se muestran los valores significativos ($p < 0,05$) 91

Tabla 4.3. Resultados del ANOVA de medidas repetidas para el efecto del arbusto *Acanthostyles buniifolius* y el pastoreo sobre la dinámica estacional de la emergencia y mortalidad de plántulas de dicotiledóneas. Se resaltan en negrita los valores F y p significativos ($p < 0,05$) 93

Tabla 4.4. Resultados del ANOVA de medidas repetidas para el efecto del arbusto *Acanthostyles buniifolius* y el pastoreo sobre la emergencia y mortalidad de plántulas de monocotiledóneas. Se resaltan en negrita los valores F y *p* significativos ($p < 0,05$) **95**

Tabla 4.5. Resultados del ANOVA de dos vías para el efecto del arbusto *Acanthostyles buniifolius* y el pastoreo sobre la longevidad de las plántulas de dicotiledóneas y monocotiledóneas. Se resaltan en negrita los valores F y *p* significativos ($p < 0,05$) **96**

Tabla 4.6. Resultados del ANOVA de dos vía para el efecto del arbusto *Acanthostyles buniifolius*, el pastoreo y la interacción arbusto x pastoreo sobre la riqueza de morfoespecies de dicotiledóneas y monocotiledóneas. Se resaltan en negrita los valores significativos ($p < 0,05$) **98**

Tabla 4.7. Promedio (\pm E. E.) de la disponibilidad de luz, la temperatura del suelo y el contenido de agua del suelo debajo de arbustos y en sitios abiertos en clausura y pastoreo y los valores H y *p* derivados del Kruskal-Wallis. Diferentes letras muestran diferencias significativas entre los tratamientos. En negrita valores de H y *p* significativos..... **99**

Abreviaturas

aC	antes de Cristo
°C	grados Celsius
pH	potencial de hidrógeno
SGH	Stress Gradient Hypothesis
mm	milímetro
PRP	Pastizales del Río de la Plata
Km	Kilómetro
MGAP	Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca
DIEA	Dirección de estadísticas agropecuarias
TFP	Tipos Funcionales de Plantas
GPWG II	Grass Phylogeny Working Group II
ha	hectárea
m	metro
cm	centímetro
ANOVA	Análisis de varianza
LSD	Least Square Difference
RII	Relative Interaction Index
RuBisCO	Ribulosa 1,5 bisfosfato carboxilasa oxigenasa
CO ₂	dióxido de carbono
O ₂	oxígeno
NMDS	Non-metric multidimensional scaling
NAD-ME	Enzima malica dependiente de NAD
ATP	Adenosín trifosfato

Capítulo 1: Introducción general

La estructura de la vegetación de un sitio particular depende de la acción de diferentes factores, abióticos y bióticos, que actúan como un filtro para el establecimiento de las especies presentes en el conjunto regional de especies (Cadotte *et al.*, 2010). Muchas especies son eliminadas de la comunidad vegetal debido a que la temperatura, la radiación, las condiciones físico-químicas del suelo o la disponibilidad de agua o nutrientes no son las adecuadas para satisfacer sus requerimientos. Las interacciones con otras plantas vecinas, la presencia de herbívoros, agentes patógenos o promotores del crecimiento también afectan la presencia o abundancia de una especie en la comunidad (Lortie *et al.*, 2004). La importancia de estos factores en el control de la estructura de la vegetación varía en el tiempo y en el espacio. Identificar y comprender el mecanismo de acción de dichos controles, es fundamental para explicar la coexistencia de las especies y los patrones de diversidad de las comunidades vegetales (Greig-Smith, 1983; Crawley, 1987).

1.1 Factores abióticos determinantes de la estructura de la vegetación

El clima es el principal determinante de la estructura y la distribución espacial de la vegetación a escalas globales (Hoffmann & Jackson, 2000). La asociación entre el clima y la vegetación ha sido reconocida desde la época de Teofrasto en el siglo IV aC (Terradas, 2001). El clima afecta fundamentalmente la germinación y el reclutamiento de los individuos, lo que a su vez limita los rangos de distribución de las especies (Walck *et al.*, 2011). La influencia del clima puede observarse en la formación de tipos de vegetación fisonómicamente parecidos en regiones del planeta con climas similares. De esta forma la distribución geográfica de los biomas (desiertos, pastizales, sabanas y bosques), puede ser determinada de manera muy precisa con la información climática de temperatura y precipitación de las distintas regiones del planeta (Woodward *et al.*, 2004).

Los gradientes globales de temperatura y precipitación también afectan la distribución de las gramíneas de acuerdo a su metabolismo fotosintético. Las especies C₄ se distribuyen de manera preferencial en regiones con mayor temperatura y menor precipitación que las especies C₃, debido a que suprimen la fotorrespiración y exhiben mayor eficiencia en el uso del agua (Edwards *et al.*, 2010). Las especies C₄ dominan en regiones cálidas (latitudes bajas) y

zonas bajas y son desplazadas por las C₃ que dominan las regiones frías (latitudes altas) y zonas elevadas (Still *et al.*, 2003). La transición o “cross-over” entre el dominio de las gramíneas C₃ y el de las C₄ ocurre en regiones en donde la temperatura de la estación de crecimiento oscila entre los 20 y 25°C de temperatura (Ehleringer, 2005; Bremond *et al.*, 2012).

A escalas locales, las variaciones climáticas estacionales o eventos extremos puntuales como olas de calor, sequías o inundaciones, pueden tener efectos importantes en el desarrollo de la vegetación (Klanderud *et al.*, 2015). También otros factores, como la frecuencia (Collins, 2000) e intensidad (Wilson & Tilman, 2002) del régimen de disturbios tienen un importante rol. El tipo de suelo, pH, salinidad, la topografía e incluso pequeñas variaciones en la altura de los sitios, determinan la composición local de especies (Chaneton *et al.*, 2005). Muchas especies tolerantes a las condiciones ambientales locales estarán en la comunidad y otras no, dependiendo de la presencia y de las interacciones que establezcan con otras especies.

1.2 Factores bióticos determinantes de la estructura de la vegetación

Muchas comunidades vegetales tienen un fuerte control ejercido por los herbívoros (Maron & Crone, 2006). Los controles ejercidos por los herbívoros (de tipo “top down”) son importantes tanto en comunidades terrestres como acuáticas aunque generan efectos distintos. En comunidades terrestres tienden a incrementar la riqueza de especies mientras que en las acuáticas la disminuyen (Hillebrand *et al.*, 2007). Los herbívoros generan cambios a través de la remoción de biomasa, del consumo selectivo de algunas especies, del transporte de semillas y propágulos y de las perturbaciones que realizan (Huntly, 1991). Los efectos generados por los herbívoros pueden ser tan importantes como los generados por el clima. Esto se ha visto en los cambios inducidos en la vegetación luego de la extinción de la megafauna del Cuaternario hace 10000 años (Rule *et al.*, 2012; Bakker *et al.*, 2016).

Al igual que la herbivoría, las interacciones entre plantas también han sido identificadas como un factor estructurador de las comunidades vegetales (Brooker, 2006). Las plantas consumen los mismos recursos para su crecimiento (luz, agua y nutrientes del suelo), lo que disminuye su disponibilidad para el resto de las plantas (Craine & Dybzinski, 2013). La

limitación de recursos promueve la competencia entre los individuos, afectando la capacidad de las plantas de establecerse y crecer en ese sitio (Stoll & Weiner, 2000). La competencia por recursos puede disminuir el crecimiento y/o la inversión en reproducción de los individuos y en casos extremos puede eliminar de la comunidad a la especie competitivamente subordinada (Rajaniemi, 2002).

Además de competir, las plantas pueden tener efectos beneficiosos sobre sus vecinos al modificar las condiciones abióticas y bióticas y generar un microambiente más propicio para el establecimiento de algunas plantas intolerantes a las condiciones ambientales locales (Michalet & Pugnaire, 2016). Algunas especies son capaces de amortiguar los cambios bruscos de temperatura, disminuir la alta radiación incidente y la velocidad del viento o aumentar la humedad del suelo en su entorno (Bonanomi *et al.*, 2011). Estos cambios facilitan el establecimiento de algunas especies que, de lo contrario, no podrían establecerse en esa comunidad (Michalet & Pugnaire, 2016). Un ejemplo clásico de facilitación es el de las plantas “nodrizas” de los sitios semiáridos. En estos ambientes, el reclutamiento de individuos está casi restringido al microambiente generado debajo de estas plantas. Este efecto positivo se debe a que debajo de una planta nodriza las plántulas experimentan condiciones ambientales menos extremas que en los espacios abiertos, lo que aumenta su sobrevivencia (Schiffers & Tielbörger, 2006).

La protección frente a la herbivoría es otro mecanismo de facilitación que opera en las comunidades vegetales (Howard *et al.*, 2012). La presencia de plantas con defensas físicas (espinas) o químicas (toxinas) o baja palatabilidad, genera un refugio biótico en el cual las especies palatables pueden prosperar al no ser accesibles para los herbívoros (Smit *et al.*, 2009). La presencia de plantas protectoras afecta no solo la sobrevivencia de los individuos, sino que afecta la distribución espacial de los mismos (Graff & Aguiar, 2011). Además, aumentan la riqueza y la diversidad ya que las especies palatables alcanzan la etapa reproductiva en estos sitios y generan un efecto de masa que evita la extinción local de las mismas (Oesterheld & Oyarzabal, 2004).

Hasta la mitad de la década de 1990, la competencia entre plantas fue la interacción más estudiada por los ecólogos vegetales (Michalet & Pugnaire,

2016). Sin embargo, debido a la creciente evidencia de interacciones positivas en las comunidades, Bertness y Callaway (1994) propusieron la “hipótesis del gradiente de estrés” (SGH) que sugiere que la facilitación y la competencia actuarían simultáneamente sobre los individuos y que la importancia relativa de la facilitación aumentaría con el aumento del estrés ambiental. El reconocimiento explícito del rol de la facilitación en la organización de las comunidades ha tenido un fuerte impacto en la teoría ecológica (Bruno *et al.*, 2003). A lo largo de los años, la SGH ha tenido un fuerte valor heurístico y ha recibido mucho apoyo empírico (He *et al.*, 2013). Sin embargo, en los últimos años sus predicciones han sido cuestionadas. Varios autores argumentan que la facilitación a menudo colapsa en los ambientes más extremos del gradiente de estrés y que prevalecería sobre la competencia en condiciones más moderadas que las planteadas inicialmente (Smit *et al.*, 2007; Holmgren & Scheffer, 2010; Michalet *et al.*, 2014). Además del estrés ambiental, los cambios en la importancia relativa de la competencia y la facilitación podrían deberse al tipo y magnitud del gradiente de estrés (Holzapfel, 2006; Maestre *et al.*, 2009), los rasgos funcionales de las especies que interactúan (Callaway, 2007) o su estado ontogénico (Miriti, 2006; Nuñez *et al.*, 2009).

1.3 Pastizales

Los pastizales son ecosistemas que se caracterizan por la dominancia de vegetación herbácea, principalmente gramíneas, y en algunas zonas la presencia de un componente leñoso (Sala *et al.*, 1996). Ocupan un 25% de la superficie terrestre y su distribución está determinada por factores abióticos, principalmente temperatura y precipitación. Se desarrollan de manera natural en regiones del planeta que tienen una precipitación anual acumulada que se encuentra entre los 150 y 1200 mm y una temperatura media anual entre 0 y 25°C (Sala *et al.*, 2001).

En Sudamérica se encuentran los pastizales del Río de la Plata (PRP), una de las unidades biogeográficas más extensas de pastizales templados. Ocupan un área de 700.000 km² de superficie que se extiende desde el centro-este de Argentina a través del territorio uruguayo hasta el sur de Brasil (Soriano, 1991). La riqueza supera las 4800 especies vegetales, de las cuales más de 400 son endémicas de la región (Andrade *et al.*, 2018). En Uruguay, los

pastizales cubren 105.000 km², lo que representa algo más del 64% del territorio (MGAP, DIEA, 2011). Por su ubicación latitudinal, corresponden a una zona de transición en la dominancia de las gramíneas C₃ y C₄, por lo que en Uruguay coexisten especies con ambos tipos de metabolismo fotosintético.

A escala local, buena parte de la investigación en los PRP ha estado enfocada en evaluar los efectos del pastoreo por ganado doméstico sobre la estructura y el funcionamiento de la comunidad. Estos trabajos han permitido determinar el fuerte control que ejerce el pastoreo sobre la riqueza y cobertura de especies, su dinámica sucesional, la productividad primaria neta aérea y subterránea y el ciclado de nutrientes entre otros aspectos (Oesterheld & Sala, 1990; Rusch & Oesterheld, 1997; Rodríguez *et al.*, 2003; Altesor *et al.*, 2006; Piñeiro *et al.*, 2009; López-Mársico *et al.*, 2015; Fedrigo *et al.*, 2018). Por el contrario, se ha generado escasa información sobre el posible papel facilitador de algunas plantas en la comunidad vegetal. En este sentido se ha evaluado el rol de la especie *Eryngium horridum* como refugio biótico (Fidelis *et al.*, 2009; Nöell-Estapé *et al.*, 2013) y del arbusto *Acanthostyles buniifolius* en la distribución espacial (Fernández *et al.*, 2014) y el crecimiento (Fernández & Altesor, 2019) de gramíneas C₃ y C₄. En este último estudio, se observó que la presencia de *A. buniifolius* tuvo efectos negativos para dos gramíneas C₄ (*Axonopus fissifolius* y *Coelorachis selloana*) y neutro para una gramínea C₃ (*Bromus auleticus*). Sin embargo, como este trabajo fue realizado solo con tres especies, es muy difícil generalizar acerca del efecto del arbusto sobre la comunidad del pastizal. Además, en los pastizales conviven otras especies herbáceas no gramíneas, por lo que habría que incluir al resto de los grupos de especies presentes. Tampoco se pudo determinar un posible efecto de protección frente al pastoreo ya que el trabajo se realizó en un sitio clausurado al ganado.

Determinar el efecto de *A. buniifolius* sobre el estrato herbáceo es un aspecto importante para entender mejor los mecanismos que promueven cambios en la riqueza y composición de especies. Este conocimiento tiene incidencia tanto desde el punto de vista teórico como aplicado. Desde el punto de vista teórico, aborda un aspecto muy importante pero poco explorado en nuestro país, como es el papel de las interacciones entre plantas en la estructura de la vegetación. Desde el punto de vista aplicado su importancia

radica en el hecho de que *A. buniifolius* es el arbusto dominante de los pastizales uruguayos (Baeza, 2016) y se ha destinado un gran esfuerzo en evaluar técnicas para su erradicación (Alemán & Gómez, 1989; Barrios & Noguez, 1999) ya que, en general, se considera que su presencia es negativa para las gramíneas y por lo tanto afecta la disponibilidad de forraje para el ganado (Sarroca & Strauch, 1994). Conocer los efectos que ejerce el arbusto en la comunidad en su conjunto y sobre los diversos grupos que conforman el pastizal, su interacción con el pastoreo, y su efecto durante desarrollo ontogenético de las plantas a las cuales afecta, permitiría diseñar planes de manejo sustentados sobre bases científicas sólidas y predecir posibles escenarios en un contexto de intensificación de las perturbaciones y de cambio climático.

1.4. *Objetivos y organización de la tesis*

Esta tesis está organizada en cinco capítulos. El primer y el quinto capítulo corresponden a una introducción general (este capítulo) y a una discusión general, respectivamente. Los capítulos 2, 3 y 4 abordan diferentes aspectos relativos al efecto del arbusto *A. buniifolius* sobre la estructura de la vegetación herbácea del pastizal. Los trabajos fueron realizados en una zona alta y plana, de suelos poco profundos y con una cobertura de arbustos cercana al 30% del área.

Capítulo 2: Efectos del arbusto *Acanthostyles buniifolius* sobre la riqueza y cobertura de especies herbáceas de un pastizal de la región este de Uruguay

El objetivo principal de este capítulo fue separar y evaluar el efecto abiótico del arbusto (mejoramiento de las condiciones del microhábitat) del efecto biótico (protección frente al pastoreo) sobre la riqueza de especies de la comunidad herbácea, la cobertura de TFP (gramíneas C₃, gramíneas C₄, hierbas y gramínoideas) y la cobertura de especies.

Capítulo 3: Efecto aéreo y subterráneo del arbusto *Acanthostyles buniifolius* sobre la estructura de la comunidad herbácea de un pastizal de la región este de Uruguay

El objetivo principal de este capítulo fue evaluar el efecto abiótico del arbusto, separando el efecto aéreo del efecto subterráneo, sobre la riqueza de especies de la comunidad herbácea, la cobertura de TFP (gramíneas C₃, gramíneas C₄, hierbas y graminoides) y la cobertura de especies.

Capítulo 4: Efectos del pastoreo y del arbusto *Acanthostyles buniifolius* sobre la emergencia y el establecimiento de plántulas de un pastizal de la región este de Uruguay

El objetivo principal de este capítulo fue evaluar el efecto del pastoreo y del arbusto sobre la abundancia, la emergencia, la mortalidad, la longevidad y la riqueza de morfoespecies de plántulas de dicotiledóneas y monocotiledóneas.

Capítulo 2: Efectos del arbusto *Acanthostyles buniifolius* sobre la riqueza y cobertura de especies herbáceas de un pastizal de la región este de Uruguay

Los principales resultados de este capítulo fueron publicados en:

Fernández, G.; Lezama, F. & Rodríguez, C. (2019). Decoupling facilitative effects in a temperate sub-humid grassland: photosynthetic metabolism matters. *Plant Ecology & Diversity*. doi: [10.1080/17550874.2019.1572246](https://doi.org/10.1080/17550874.2019.1572246)

(Se anexa al final del documento).

2.1 Introducción

Las interacciones entre plantas juegan un rol clave en la determinación de la estructura y el funcionamiento de las comunidades vegetales (Callaway & Pennings, 2000). Las plantas pueden ejercer efectos negativos o positivos sobre sus vecinos, a través de un equilibrio complejo y dinámico en el que están involucradas la competencia y la facilitación respectivamente (Bertness y Callaway, 1994; Bruno *et al.*, 2003; McIntire & Fajardo, 2014). Históricamente, la mayoría de los estudios empíricos y modelos teóricos han señalado a la competencia como la principal fuerza estructuradora de las comunidades vegetales (Hairston *et al.*, 1960; Schoener, 1983; Craine & Dybzinski, 2013). Sin embargo, desde las últimas décadas, un creciente volumen de evidencia descriptiva y experimental destaca el papel de la facilitación como otro proceso importante y general que afecta la riqueza, la composición y la dinámica de la comunidad vegetal (Hunter & Aarssen, 1988; Stachowicz, 2001; Le Bagousse-Pinguet *et al.*, 2014).

La facilitación es el efecto positivo de una planta sobre el crecimiento o la reproducción de otra u otras especies de la comunidad vegetal (Holmgren *et al.*, 1997). La presencia de una planta, conocida como “planta nodriza” o “benefactora”, genera efectos positivos a través del mejoramiento de las condiciones microclimáticas debajo de su dosel (efectos abióticos de micrositios) y/o a través de la protección contra los herbívoros (efectos de refugio biótico). Los efectos abióticos incluyen la reducción de la radiación solar, de la temperatura del aire y de la velocidad del viento en comparación con las áreas abiertas circundantes (Xu *et al.*, 2010; Fernández *et al.*, 2014; Mihoč *et al.*, 2016). Estos cambios reducen la fotoinhibición y el estrés hídrico al que algunas especies pueden estar sometidas (Holmgren *et al.*, 1997). También el suelo sufre cambios como el aumento de la humedad, de los nutrientes y la materia orgánica o la estabilización de sus propiedades (Flores & Jurado, 2003; Bonanomi *et al.*, 2011). Los efectos de refugio incluyen la protección contra el daño y el pisoteo de grandes herbívoros a través de defensas físicas (espinas) o químicas (toxinas) o reduciendo la accesibilidad o la probabilidad de que los individuos sean localizados (Barbosa *et al.*, 2009; Louthan *et al.*, 2014). Aunque una planta benefactora puede ejercer ambos

efectos positivos simultáneamente, el efecto interactivo de la mejora microclimática y el refugio contra los herbívoros ha sido escasamente evaluado (Callaway *et al.*, 2005; Soliveres *et al.*, 2012).

En la literatura científica, es posible encontrar ejemplos diversos de plantas benefactoras en distintos ambientes (Bonanomi *et al.*, 2011). Los ejemplos van desde especies herbáceas como gramíneas, hasta especies leñosas como arbustos y árboles. Sin embargo, las especies leñosas en general y las arbustivas en particular se encuentran entre las principales plantas benefactoras utilizadas como modelo de estudio (Filazzola & Lortie, 2014). Por su parte, las especies beneficiarias son en general especies herbáceas, aunque también se ha estudiado el efecto de la facilitación sobre los primeros estadios de vida de especies leñosas (Gómez-Aparicio *et al.*, 2005). Algunos autores plantean que la facilitación tiende a ocurrir entre especies distantes filogenéticamente, debido a que sus nichos de regeneración son complementarios, mientras que la competencia ocurre entre especies emparentadas ya que tienen nichos de regeneración similares (Verdú & Valiente-Banuet, 2011).

La Hipótesis del Gradiente de Estrés (SGH por sus siglas en inglés “Stress Gradient Hypothesis”) propuesta por Bertness y Callaway (1994) plantea que la frecuencia relativa de la facilitación aumenta de manera lineal con el aumento del estrés abiótico y la presión de consumo. Como resultado, el papel de las plantas benefactoras ha sido comúnmente evaluado en ambientes “estresantes” como los ecosistemas áridos, semiáridos, subalpinos y salinos y ha sido ignorado en gran medida en ambientes más productivos (Michalet & Pugnaire, 2016). Sin embargo esta visión ha sido cuestionada, ya que el estrés es una condición experimentada por las especies y no por una comunidad en sí misma (Körner, 2003). Además, en los últimos años varios autores han argumentado que la facilitación no aumentaría linealmente con el estrés abiótico sino que colapsaría en las condiciones más extremas y dominaría en las condiciones más moderadas de un gradiente abiótico (Holmgren & Scheffer, 2010; Michalet *et al.*, 2014).

La importancia relativa de la facilitación también depende de la historia de vida de la especie beneficiaria (Liancourt *et al.*, 2005) y en consecuencia, una especie benefactora puede afectar de forma diferencial a otras especies

que coexisten pero que tienen diferentes requerimientos abióticos (Yang *et al.*, 2010). Por este motivo, los efectos de la facilitación han recibido más atención y se comprenden mejor a nivel individual y a nivel poblacional, aunque también se sabe que tienen consecuencias a nivel comunitario (Cavieres & Badano, 2009). Este hecho ha disminuido la generalidad y la capacidad predictiva de la SGH ya que resulta difícil extrapolar las consecuencias individuales o poblacionales de las interacciones entre pares de especies a toda una comunidad, debido a la variedad de respuestas que se pueden encontrar en un conjunto de múltiples especies (Soliveres & Maestre, 2014). Una forma alternativa de evaluar el papel de la facilitación a nivel comunitario es agrupar las especies en tipos funcionales de plantas (TFP). Los TFP son definidos como grupos de especies no relacionadas filogenéticamente, que comparten algún atributo biológico que les permite tener un comportamiento similar en un ambiente determinado (Lavorel *et al.*, 1997). Los tipos y atributos funcionales han sido ampliamente utilizados para evaluar la respuesta de las plantas a diferentes factores incluyendo el pastoreo (Díaz *et al.*, 2007), los cambios ambientales (Chapin *et al.*, 1996) y las interacciones entre plantas (Xu *et al.*, 2010).

La facilitación entre plantas ha sido escasamente evaluada en pastizales templados (Flores & Jurado, 2003). Este hecho podría deberse a que no se esperan efectos positivos en estos ambientes, lo que desalienta su búsqueda. Además, algunos trabajos sugieren que la competencia por luz sería la principal interacción entre arbustos y gramíneas (Briggs *et al.*, 2005). En este sentido se observó que la reducción de la radiación debajo del arbusto *Cornus drummondii*, que se ha expandido en pastizales méxicos del centro de Estados Unidos debido a la ausencia de fuego recurrente, afecta negativamente el crecimiento de las gramíneas (Lett & Knapp, 2003). Sin embargo, en pastizales de Brasil y Uruguay se observó que la hierba arrosetada *Eryngium horridum* (cardilla) constituye un refugio biótico frente al pastoreo para algunas especies, incrementando la riqueza local y la cobertura de las especies más palatables (Fidelis *et al.*, 2009; Nöell-Estapé *et al.*, 2013). También Bernardi *et al.* (2016), registraron una mayor biomasa de gramíneas C₃ debajo del dosel de árboles nativos (principalmente *Acacia caven*) que crecen aisladamente en pastizales uruguayos en comparación con sitios abiertos.

Nuestro país está ubicado en una zona de transición en lo que refiere a los límites de distribución de las gramíneas, por lo que nuestros pastizales son una mezcla de gramíneas con metabolismo C₃ y C₄ (Epstein *et al.*, 2002). El metabolismo C₄ es una modificación de la vía ancestral C₃ originada en varios eventos independientes dentro de la familia Poaceae (GPWG II, 2012). El éxito ecológico de las especies C₄ está asociado con la expansión de biomas abiertos, dominados por plantas herbáceas, como sabanas y pastizales (Christin *et al.*, 2008; Edwards & Smith, 2010). Las plantas C₄ generalmente toleran temperaturas y radiación solar más altas, condiciones más secas, mayor estacionalidad y menores niveles de CO₂ en la atmósfera que las especies C₃ y rara vez colonizan los hábitats boscosos donde prevalece una menor luminosidad y las temperaturas son más bajas (Sage, 1999). Si bien las gramíneas C₃ y C₄ tienen diferentes requerimientos ambientales para su crecimiento y desarrollo, el efecto de los arbustos sobre gramíneas con distinto metabolismo fotosintético ha sido escasamente explorado en nuestro país y en la región.

En los pastizales del Río de la Plata (PRP) se ha señalado al pastoreo como una perturbación clave que determina su estructura, su dinámica sucesional y su funcionamiento (Rusch & Oesterheld, 1997; Rodríguez *et al.*, 2003; Altesor *et al.*, 2005, Lezama *et al.*, 2014; Fedrigo *et al.*, 2018). El pastoreo modifica la composición de especies, la riqueza y el perfil vertical de la vegetación, entre otros atributos (Cayssials & Rodríguez, 2018). Los cambios en la composición de especies y en la estructura de la vegetación generados por el pastoreo, han sido estudiados en sitios pareados clausura-pastoreo. Una vez clausurado un sitio, los cambios más importantes en el recambio de especies y en la estructura de la vegetación ocurren en los dos primeros años (Rodríguez *et al.*, 2003). Bajo pastoreo la vegetación tiene dos estratos: un estrato bajo y denso formado por plantas herbáceas, principalmente gramíneas, y un estrato alto dominado por sufrútices y arbustos (Soriano, 1991). En Uruguay el arbusto dominante en condiciones de pastoreo es *Acanthostyles buniifolius* (Hook. & Arn.) R.M. King & H. Rob. (Chebataroff, 1960; Soriano, 1991; Altesor *et al.*, 2005).

En nuestro país se han realizado algunos trabajos para evaluar el efecto del arbusto *A. buniifolius* sobre el estrato herbáceo. En un estudio de remoción

del arbusto, Rossado (2011) encontró que la remoción promovía el aumento de la cobertura de *Paspalum dilatatum* (gramínea C₄) y la disminución de *Piptochaetium stipoides* (gramínea C₃). En un estudio de distribución espacial a pequeña escala, realizado en pastizales pastoreados, Fernández *et al.* (2014) observaron que el arbusto se asociaba negativamente con dos gramíneas C₄ y positivamente con dos gramíneas C₃. Estos resultados opuestos podrían ser consecuencia de las diferentes condiciones abióticas que las gramíneas C₃ y C₄ requieren para su crecimiento. La agregación de las especies C₃ con el arbusto podría deberse a la reducción de la temperatura y de la velocidad del viento debajo del arbusto que disminuyen la fotorrespiración y la pérdida de agua por transpiración. En relación a las gramíneas C₄, la repulsión podría explicarse por la reducción de radiación solar y la competencia subterránea que disminuyen la biomasa vegetativa y reproductiva de estas gramíneas (Fernández & Altesor, 2019). Además de los efectos abióticos mencionados, el arbusto ejercería sobre todas las especies un efecto positivo debido a la protección frente al ganado. Por lo tanto, el efecto neto sobre los distintos TFP dependería del balance entre los efectos negativos y positivos que éste ejerza sobre las especies en presencia y en ausencia de ganado.

Objetivo general

El objetivo general de este trabajo fue evaluar el efecto del arbusto *Acanthostyles buniifolius* sobre la estructura de la comunidad herbácea de un pastizal de Uruguay.

Objetivos específicos

- 1) separar y cuantificar los efectos del mejoramiento microclimático de los efectos de protección frente al pastoreo sobre la riqueza de especies de la comunidad herbácea, la cobertura de TFP (gramíneas C₃, gramíneas C₄, hierbas y graminoides) y la cobertura de especies.
- 2) determinar el efecto del arbusto sobre la radiación incidente, la temperatura superficial del suelo y la humedad del suelo.

Hipótesis

Debido a que las especies pertenecientes a diferentes TFP deberían diferir en el tiempo, fuente y eficiencia del uso de los recursos, se plantea la hipótesis de que la intensidad de la facilitación variará entre los cuatro tipos funcionales definidos para comunidades de pastizales templados: gramíneas C_3 (invernales), gramíneas C_4 (estivales), hierbas y graminoides (monocotiledóneas no-gramíneas) (Altesor *et al.*, 2006; Lezama *et al.*, 2014). Se espera observar un mayor efecto positivo del arbusto en condiciones de pastoreo que en la clausura, ya que ambos mecanismos de facilitación (mejoramiento microclimático y refugio biótico) estarían operando con la presencia del ganado. Además, se predice que las plantas con metabolismo C_3 serían el grupo más beneficiado por la presencia del arbusto, ya que el mejoramiento de las condiciones microclimáticas debajo de su dosel reduciría su actividad fotorrespiratoria.

2.2 Materiales y métodos

Sitio de estudio

El estudio se realizó en un establecimiento privado de ~1000 ha., dedicado a la ganadería extensiva sobre pastizal. Dicho establecimiento está ubicado en la región geomorfológica Sierras del Este (33° 11'S, 54° 33'O) en el Departamento de Treinta y Tres, Uruguay. Esta región abarca un área de 2.500.000 ha., de las cuales el 66% están cubiertas por pastizales (Baeza *et al.*, 2019). En general predominan los suelos superficiales y muy superficiales con pedregosidad y/o rocosidad en un relieve enérgico. Desde el punto de vista fitogeográfico, la región pertenece a los Campos del Sur de los Pastizales del Río de la Plata (Soriano, 1991). El sitio de estudio corresponde a la comunidad de pastizales densos de *Eryngium horridum*-*Juncus capillaceus* definidos por Lezama *et al.* (2019). Las especies dominantes son *Piptochaetium montevidense*, *Richardia humistrata*, *Chevreulia sarmentosa*, *Dichondra sericea* y *Paspalum notatum* (Lezama *et al.*, 2011). Para el período 1991-2016, la precipitación media anual fue de 1400 mm y la temperatura media anual fue de

17 °C (<http://www.inia.uy/gras/Clima/Banco-datos-agroclimatico>, último acceso el 1° de junio de 2018).

Especie benefactora

Acanthostyles buniifolius (Compositae), conocido como chirca o chilca, es un arbusto perenne de altura media (1-2 m de altura) nativo de Argentina, Uruguay, Brasil, Paraguay y Bolivia (Grossi *et al.*, 2011). Su ciclo de vida no excede los 20 años, generalmente florece durante el verano y produce grandes cantidades de aquenios que se dispersan libremente por el viento (Galíndez *et al.*, 2013). Es un arbusto que tiene la capacidad de rebrotar después de un incendio o daño físico a través de un xylopodio leñoso (Biganzoli *et al.*, 2009). Por lo general, es muy ramificado, con un follaje laxo en la parte superior de las ramas. Aunque la especie carece de espinas o toxinas, tiene un valor nutricional bajo o nulo (Ríos, 2007), por lo que apenas es consumida por el ganado cuando es adulto.

Diseño experimental

A finales de diciembre del año 2013, se realizó una clausura de 2500 m² (50 m x 50 m) en un potrero de 100 ha. sometido a un pastoreo moderado (~0,5 animales/ ha.). En la clausura y en el área bajo pastoreo continuo, se seleccionaron 5 arbustos (cubierta del dosel ~1 m² y una altura de 1,5 m) y 5 sitios abiertos (sin arbustos) localizados lo más próximo posible al arbusto. En cada uno de estos 20 micrositios se instaló una parcela permanente de 1 m² (10 dentro y 10 fuera de la clausura) con el arbusto en el centro, para realizar el seguimiento temporal de la vegetación y de las condiciones abióticas. Inmediatamente después de instalada la clausura, se determinó la composición florística inicial y las condiciones microclimáticas de las 20 parcelas. La vegetación fue relevada en este momento del año ya que la mayoría de las especies tienen estructuras reproductivas, lo que facilita su identificación. La composición florística se determinó a través del “punto de intercepción” (Greig-Smith, 1983). Este método se basa en la posibilidad de registrar las plantas presentes sobre un punto del suelo (Matteucci & Colma, 1982). Para esto se utilizó un marco de metal de 1 m² del cual bajaban 81 agujas verticales (separadas 10 cm) desde una altura de 50 cm. Todas las especies que eran

tocadas por una aguja fueron registradas. Los muestreos de vegetación se repitieron en las mismas parcelas y con la misma metodología en diciembre de 2014, 2015 y 2016.

Durante tres años se midió de manera estacional la cantidad de luz incidente, la temperatura del suelo y la humedad del suelo en las 20 parcelas. Todas las variables abióticas se midieron alrededor del mediodía. La luz incidente se midió al nivel del suelo (10 cm de altura) utilizando un luxómetro digital (Tondaj LX1010B). La temperatura de la superficie del suelo se midió usando un termómetro infrarrojo (Nicety ST530) y la humedad del suelo se midió a una profundidad de 10 cm con un sensor de humedad (Extech MO750).

Cálculo de riqueza y cobertura de especies y de TFP

Las especies censadas fueron clasificadas en cuatro tipos funcionales de plantas (TFP): gramíneas C₃, gramíneas C₄, hierbas y graminoides (monocotiledóneas no-gramíneas).

Para cada tratamiento y para cada año de muestreo se calculó la riqueza (total y por TFP) y la cobertura por especies y por TFP.

La cobertura de cada especie se calculó como: Y_x/n ; donde Y es el número de agujas que tocan a la especie X y n es el número total de agujas (Damgaard *et al.*, 2011). La cobertura de los TFPs (gramíneas C₃, gramíneas C₄, hierbas y graminoides) se calculó como la suma de la cobertura de todas las especies individuales que pertenecían a cada TFP.

Comparación de los tratamientos luego de 3 años de clausura

Los análisis para evaluar el efecto del arbusto sobre la comunidad herbácea, se realizaron exclusivamente comparando los tratamientos con los datos de 2016. De acuerdo con los antecedentes, luego de tres años de clausura al ganado ya se establecen los principales cambios florísticos en la comunidad (Rodríguez *et al.*, 2003). Por lo tanto se asumió que en 2016, en el área clausurada solo estaría operando el efecto facilitador del arbusto debido al mejoramiento de las condiciones microclimáticas debajo de su dosel, mientras que en la zona pastoreada estarían operando tanto el efecto de mejoramiento microclimático, como el efecto de protección ante los herbívoros.

Análisis de datos

Las diferencias entre tratamientos en la riqueza de especies (total y por TFP) se analizaron mediante ANOVA de una vía. Se realizaron pruebas LSD de Fisher para comparaciones “a posteriori” cuando fue necesario. Previo a los análisis, se chequeó que los datos cumplieran con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza.

Para evaluar el efecto del arbusto en la cobertura de especies y de TFP se calculó el Índice relativo de interacción entre plantas (RII, del inglés “Relative Interaction Index”) de acuerdo a Armas *et al.*, (2004):

$$RII = (X_A^+ - X_A^-) / (X_A^+ + X_A^-)$$

donde X_A^+ y X_A^- son la cobertura de la especie objetivo o TFP en presencia y ausencia del arbusto, respectivamente. El índice es simétrico alrededor de cero (efecto neutro) y oscila entre +1 (facilitación) y -1 (competencia). Para determinar si una desviación era significativamente distinta de cero, se usó el test *t* de Student. Solo se consideraron las especies que se encontraron en al menos tres parcelas pareadas.

Los valores de luz incidente, temperatura y humedad del suelo fueron promediados por estación. El efecto del arbusto sobre la luz incidente, la temperatura del suelo y la humedad del suelo se analizó utilizando ANOVA de una vía, luego de verificar que cumplieran con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza. Todos los análisis estadísticos se realizaron con InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2017).

2.3 Resultados

A lo largo de los cuatro años de estudio se detectaron 102 taxones (20 gramíneas C₃; 33 gramíneas C₄; 39 hierbas y 10 gramínoideas), de los cuales 77 fueron identificados a nivel de especie (Anexo 2.1).

En términos generales, el efecto del arbusto a lo largo de los años fue positivo para las gramíneas C₃ y neutro o negativo para el resto de los tipos funcionales, tanto en términos de riqueza como de cobertura (Anexo 2.2).

Comparación de los tratamientos luego de 3 años de clausura: riqueza total de especies y por TFP

La presencia de *A. buniifolius* afectó la riqueza total de especies pero solamente en el área pastoreada, siendo 13,6% mayor debajo del arbusto en comparación con los micrositios abiertos (Figura 2.1, Tabla 2.1). Cuando la riqueza de especies se analizó por TFP, solamente las gramíneas tuvieron una respuesta significativa a la presencia del arbusto y la misma varió dependiendo de su metabolismo fotosintético. La riqueza de gramíneas C₃ fue 70% mayor debajo del arbusto en el área bajo pastoreo. Por otro lado, la riqueza de gramíneas C₄ fue 22% menor debajo del arbusto en el área clausurada (Figura 2.2, Tabla 2.1).

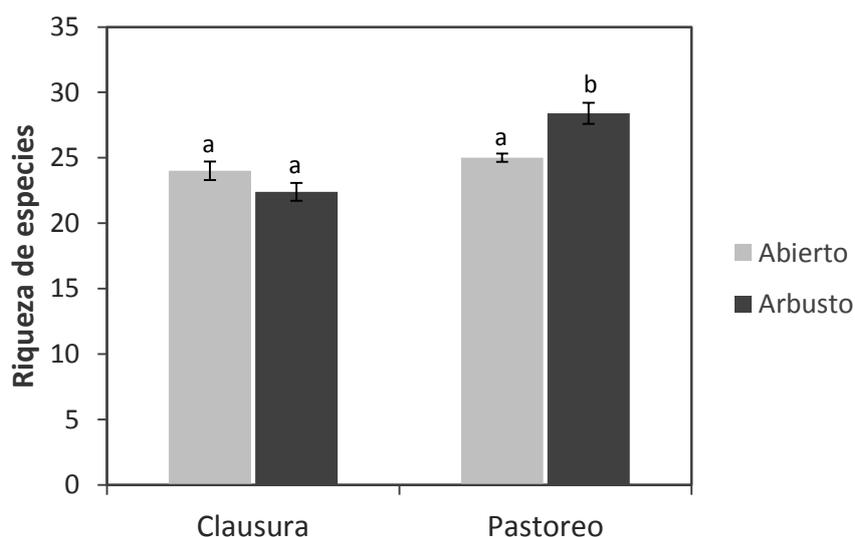


Figura 2.1. Promedio (\pm E. E.) de la riqueza total de especies herbáceas creciendo en sitios abiertos y debajo del arbusto *Acanthostyles buniifolius* en clausura y en pastoreo. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$).

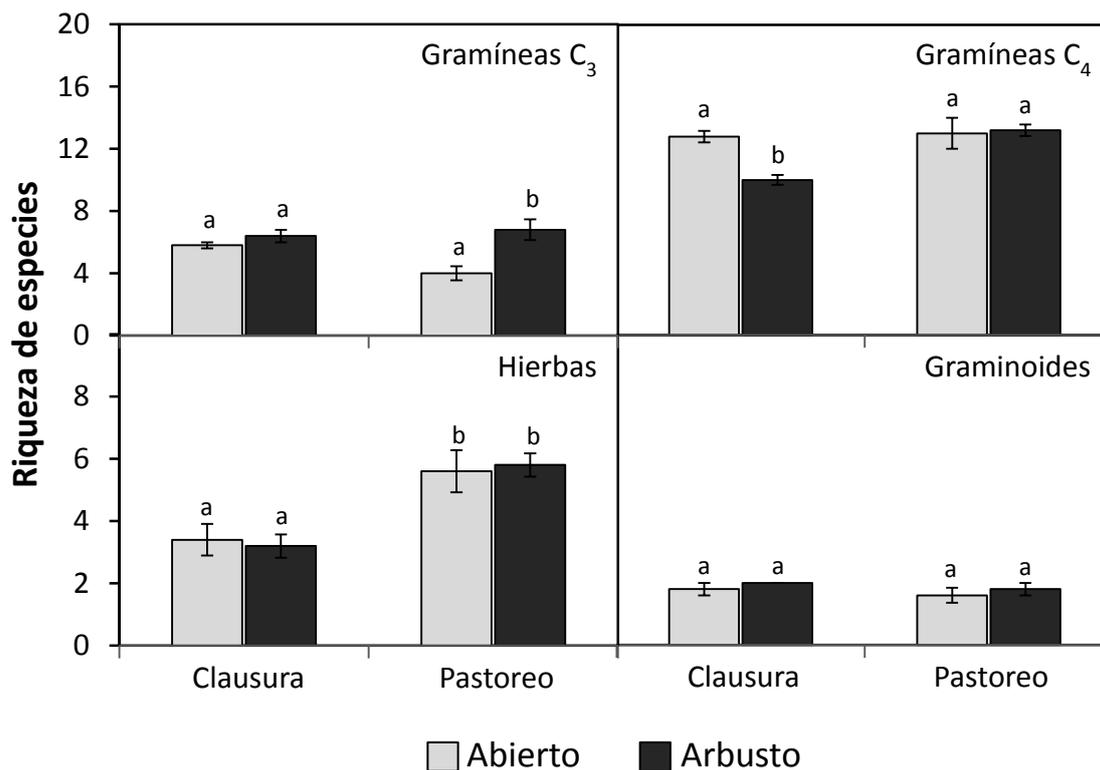


Figura 2.2. Promedio (\pm E. E.) de la riqueza de especies de los Tipos Funcionales de Plantas en sitios abiertos y debajo del arbusto *Acanthostyles buniifolius* en clausura y en pastoreo. Diferentes letras indican diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,05$).

Tabla 2.1. Efecto de los tratamientos sobre la riqueza total de especies y por Tipos Funcionales de Plantas (Gramíneas C₃; Gramíneas C₄; Hierbas; Graminoides) en pastizales de las Sierras del Este. Se muestran los valores de F y p derivados del ANOVA de una vía. En negrita se muestran los valores con $p < 0,05$.

Efecto (G.L.)		Riqueza de especies				
		Total	GramC ₃	GramC ₄	Hierbas	Gramin.
Tratamiento (3)	F	15	7,3	6,6	7,73	0,75
	p	0,00007	0,003	0,004	0,002	0,54

Comparación de los tratamientos luego de 3 años de clausura: cobertura de especies y de TFP

El RII, evaluado a través de la cobertura de las especies, fue siempre mayor en el área bajo pastoreo en comparación con la clausura para todos los TFP. Las gramíneas C₃ fueron el único grupo funcional que mostró valores positivos de RII en ambas situaciones de pastoreo, pero el efecto del arbusto se duplicó en el área bajo pastoreo. Las gramíneas C₄ y los graminoides mostraron valores negativos de RII dentro de la clausura pero valores neutros bajo pastoreo. Las hierbas fueron indiferentes a la presencia del arbusto, mostrando valores que no difirieron de cero en ambas situaciones de pastoreo (Figura 2.3).

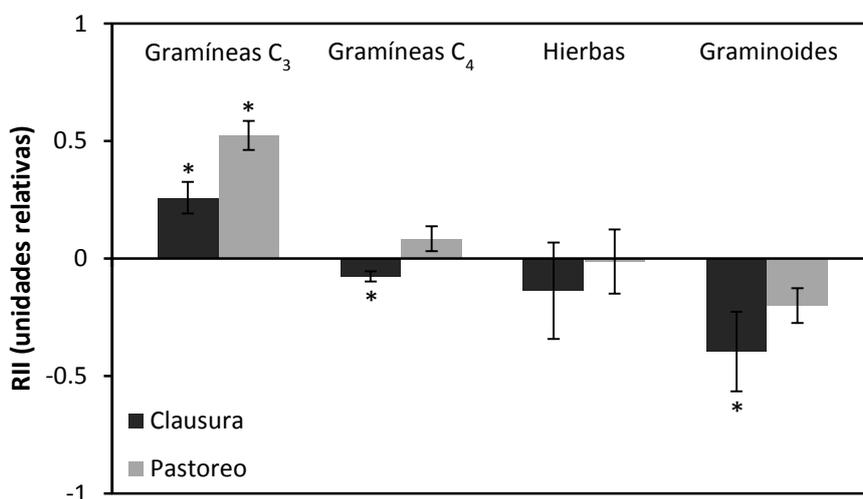


Figura 2.3. Promedio (\pm E. E.) del Índice Relativo de la Interacción (RII) para el efecto del arbusto *Acanthostyles buniifolius* sobre la cobertura de los Tipos Funcionales de Plantas en condiciones de clausura y de pastoreo. Los valores positivos indican facilitación, los valores cercanos a cero indican neutralidad y los negativos competencia. Los asteriscos muestran efectos significativos del arbusto ($p < 0,05$).

El efecto positivo de *A. buniifolius* en la cobertura de gramíneas C₃ fue más evidente cuando las especies fueron analizadas individualmente. Aproximadamente el 70% de las gramíneas C₃ fueron registradas en ambas situaciones de pastoreo. En el área pastoreada, todas las especies aumentaron su cobertura en presencia del arbusto. Dentro de la clausura, más de la mitad mostró una tendencia positiva en el RII, aunque solo *Danthonia montevidensis* registró valores significativamente diferentes de cero. Por otro lado, *Danthonia rhizomata* fue la única especie registrada con valores negativos (Figura 2.4). De las 16 especies de gramíneas C₄ analizadas, solo 6 (37,5%) se registraron en ambas situaciones de pastoreo y mostraron una tendencia significativa en el RII en al menos una de ellas. Esencialmente, el efecto del arbusto en las gramíneas C₄ fue neutro o positivo bajo pastoreo pero negativo dentro de la clausura. Tres especies (*Paspalum notatum*, *Coelorachis selloana* y *Paspalum plicatulum*) cambiaron de valores neutros bajo pastoreo a negativos dentro de la clausura. Las especies restantes mostraron valores positivos bajo pastoreo y valores positivos (*Schizachyrium tenerum*), negativos (*Eragrostis bahiensis*) y neutros (*Aristida murina*) dentro de la clausura (Figura 2.4). Las hierbas no mostraron tendencias claras. Solo se registraron tres especies en ambas situaciones de pastoreo con valores significativos de RII en al menos uno de ellos (Figura 2.4).

La mayoría de los graminoides fueron especies que solo estuvieron presentes en menos de tres parcelas, por lo que no se analizaron individualmente. La lista de especies registradas con valores de RII que no difieren significativamente de cero (efecto neutro), así como aquellas registradas en solo uno de los tratamientos de pastoreo, se muestran en la Tabla 2.2. No se muestran especies presentes en menos de tres parcelas.

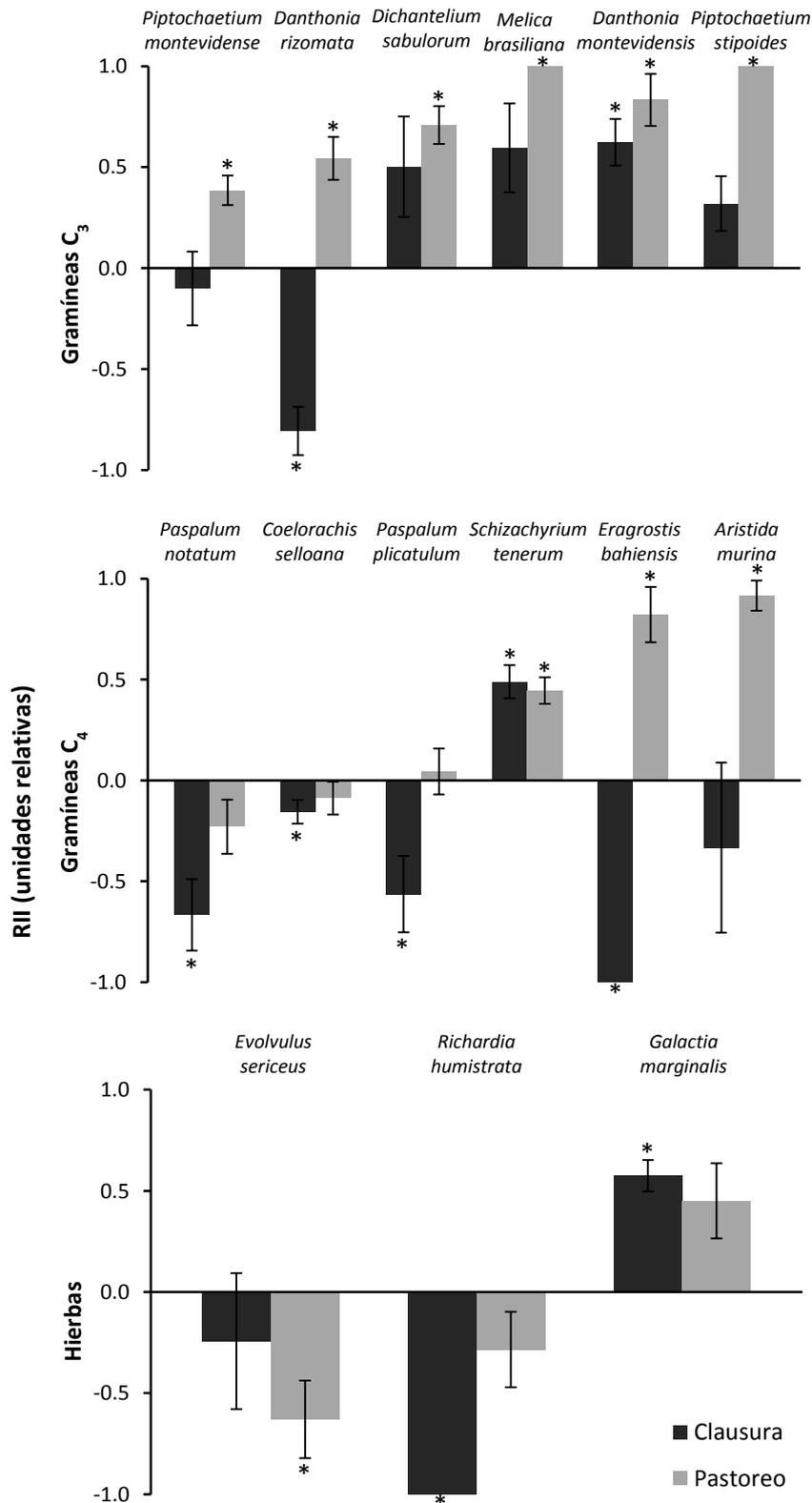


Figura 2.4. Promedio (\pm E. E.) del Índice Relativo de la Interacción (RII) para especies de gramíneas C₃, gramíneas C₄ y hierbas, en condiciones de clausura y de pastoreo. Se muestran solo especies presentes en al menos tres parcelas pareadas. El asterisco muestra los valores distintos de cero ($p < 0,05$).

Tabla 2.2. RII de las especies registradas en pastoreo y clausura con valores que no difieren estadísticamente de cero (efecto neutro), así como aquellas registradas en una sola de las situaciones. Los asteriscos en las especies registradas únicamente en clausura o pastoreo, indican que el valor difirió significativamente de cero en un test de t ($p < 0,05$).

TFP	Especies	Pastoreo	Clausura
Gramíneas C₃	<i>Agrostis montevidensis</i>	1.00*	--
	<i>Briza subaristata</i>	--	-0.35
	<i>Stipa pauciciliata</i>	0.33	--
Gramíneas C₄	<i>Axonopus argentinus</i>	0.24	0.55
	<i>Axonopus fissifolius</i>	0.17	-0.51
	<i>Andropogon ternatus</i>	0.43	-0.16
	<i>Aristida venustula</i>	0.30	-0.04
	<i>Bothriochloa laguroides</i>	0.07	-0.43
	<i>Erianthus angustifolius</i>	--	1.00*
	<i>Paspalum dilatatum</i>	-1.00*	--
	<i>Schizachyrium microstachyum</i>	0.31	-0.23
	<i>Setaria geniculata</i>	--	-0.28
	<i>Steinchisma hians</i>	0.16	-0.43
	Hierbas	<i>Chevreulia sarmentosa</i>	-0.62
<i>Cuphea glutinosa</i>		--	0.67
<i>Richadia stellaris</i>		0.22	--
<i>Sommerfeltia spinulosa</i>		--	0.33
Graminoides	<i>Hypoxis decumbens</i>	0.41	0.07

Variables abióticas

La disponibilidad de luz disminuyó cerca de un 50% debajo del dosel de *A. buniifolius* en comparación con el área abierta circundante en ambas situaciones de pastoreo. También la temperatura del suelo fue menor bajo los arbustos aunque en los meses de verano. Por el contrario, no hubo diferencias significativas en la humedad del suelo debajo del arbusto y en las parcelas abiertas (Tabla 2.3).

Tabla 2.3. Promedio (\pm E. E.) de la disponibilidad de luz, la temperatura del suelo y el contenido de agua del suelo debajo de arbustos y en sitios abiertos en clausura y pastoreo y los valores F y *p* derivados del ANOVA. Diferentes letras muestran diferencias significativas entre los tratamientos para las variables. En negrita valores de F y *p* significativos.

Variable	Estación	Clausura		Pastoreo		F	<i>p</i>
		Abierto	Arbusto	Abierto	Arbusto		
Disponibilidad de luz (luxes)	verano	841 ^a	342 ^b	932 ^a	438 ^b	146,9	<0,0001
	otoño	537 ^a	285 ^b	538 ^a	345 ^b	26,4	<0,0001
	invierno	448 ^a	275 ^b	395 ^a	293 ^b	123,7	<0,0001
	primavera	743 ^a	318 ^b	750 ^a	386 ^b	33,75	<0,0001
Temperatura (°C)	verano	36 ^a	28,2 ^c	35,3 ^a	30,5 ^b	57,2	<0,0001
	otoño	16,5 ^a	14,8 ^{ab}	14,9 ^{ab}	13,9 ^b	5,9	0,0065
	invierno	12,1 ^a	11,8 ^a	11,4 ^a	11,9 ^a	0,28	0,83
	primavera	25 ^b	23,5 ^b	28,4 ^a	25,2 ^b	18,2	<0,0001
Humedad del suelo (%)	verano	5,9	6,3	6,5	6,1	2,9	0,06
	otoño	10,2	10,1	10,5	10,2	0,18	0,9
	invierno	9,5	10,1	8,9	9,6	1,0	0,4
	primavera	9,8	10,2	10	10,3	1,47	0,26

2.4 Discusión

Contrariamente a la percepción generalizada de que las interacciones negativas dominan en ambientes productivos, se encontró una fuerte evidencia de efectos positivos del arbusto *Acanthostyles buniifolius* sobre la riqueza y la cobertura de la forma de vida dominante (gramíneas) en un pastizal templado subhúmedo. De acuerdo con la hipótesis del gradiente de estrés (SGH), la frecuencia de las interacciones positivas sería más común y dominaría en condiciones de alto estrés abiótico y/o alta presión de herbivoría (Bertness & Callaway, 1994). En los pastizales de la región, las especies no estarían expuestas a condiciones críticas de estrés abiótico, aunque existe déficit hídrico en los meses de verano (Cruz *et al.*, 2014). Por otra parte, desde la introducción del ganado por los colonos europeos, hace unos 400 años, la vegetación ha estado sometida de forma casi continua a una intensidad de pastoreo moderada o alta. La práctica continua de la ganadería tiene efectos importantes sobre la estructura de la vegetación y sobre todo genera la pérdida de especies de alto valor forrajero (Altesor *et al.*, 1998). De acuerdo con las expectativas planteadas, se observó que las gramíneas aumentaron su cobertura debajo del arbusto en pastoreo lo que reflejaría un mecanismo de protección contra el ganado. Sin embargo, también se observó que las gramíneas C₃ se vieron favorecidas por la presencia del arbusto dentro de la clausura, lo que sugiere una mejora de las condiciones abióticas para este grupo funcional. Estos resultados apoyan la idea de que en ambientes subhúmedos las interacciones positivas pueden ser más comunes de lo que se pensaba anteriormente (Holmgren & Scheffer, 2010).

Dentro de la clausura (donde solo estaría operando el efecto de mejoramiento microclimático), los efectos positivos del arbusto se asociaron principalmente con la cobertura de las gramíneas C₃. El metabolismo fotosintético de las gramíneas y las funciones de carboxilación y oxigenación de la enzima fotosintética RuBisCO (encargada de la carboxilación de la ribulosa 1,5 bisfosfato en el Ciclo de Calvin) se vuelven atributos clave para comprender de qué manera ocurren las interacciones positivas en este pastizal templado. En comparación con las gramíneas C₄, las hojas de las gramíneas C₃ carecen de mecanismos bioquímicos de concentración de CO₂. A altas

temperaturas y bajos niveles de CO₂ atmosférico (baja relación CO₂/O₂) se favorece la actividad oxigenasa de la RuBisCO por sobre la actividad carboxilasa (Ehleringer, 2005). La oxigenación de la ribulosa (sustrato de la RuBisCO) conduce a la pérdida de carbono fijado previamente por fotorrespiración (Edwards *et al.*, 2010). Cuantitativamente, la fotorrespiración puede disminuir la fotosíntesis hasta un 30% bajo las concentraciones atmosféricas actuales de CO₂ y O₂ e incluso más a temperaturas más elevadas (Sage, 2004; Zhu *et al.*, 2004). Con el fin de reducir la fotorrespiración, las plantas C₃ pueden aumentar la concentración interna de CO₂ de la hoja simplemente abriendo los estomas (Sage, 1999). Sin embargo, esto plantea un problema en términos de pérdida de agua para las plantas que crecen en sitios abiertos, como los pastizales, en donde las especies están expuestas a altas cargas de radiación y temperatura. La alta conductancia estomática tiene un alto costo en términos de transpiración y las plantas corren el riesgo de marchitamiento severo e incluso la muerte (Sage, 1999, Gurevitch *et al.*, 2006). Vivir en un microambiente con menos radiación solar y temperatura, como el que se encuentra bajo el dosel de *A. buniifolius*, puede beneficiar a las gramíneas C₃ reduciendo la actividad fotorrespiratoria. La mejora de las condiciones ambientales y la disminución del estrés abiótico constituyen el mecanismo central que subyace a la SGH (Bertness & Callaway, 1994; Holmgren *et al.*, 1997; Bruno *et al.*, 2003) y aunque ha sido ampliamente documentado en ambientes secos (Cavieres & Badano, 2009; Filazzola & Lortie, 2014), nuestros resultados indican que las gramíneas C₃ de los pastizales subhúmedos también se benefician con este mecanismo. Un incremento en la abundancia de especies C₃ también se observó bajo especies leñosas de fynbos (Cowling, 1983), sabanas (Scholes & Archer, 1997), pastizales artificialmente forestados (Nordenstahl *et al.*, 2011) y pastizales (Bernardi *et al.*, 2016; Fernández *et al.*, 2014).

La mayoría de las gramíneas C₄ se vieron afectadas negativamente por la presencia del arbusto dentro de la clausura. Contrariamente a las especies C₃ que pueden aclimatarse a la sombra a través de cambios estructurales, bioquímicos y fisiológicos de las hojas (Sage & McKown, 2006), las especies C₄ no prosperan bien en ambientes con poca luz (Ehleringer, 1978). Aunque las plantas C₄ tienen potencial sustancial de aclimatación, ciertas

características exclusivas de la fotosíntesis C_4 (por ejemplo, el complejo vaina-mesófilo y las características estructurales y fisiológicas asociadas) deben mantenerse para funcionar de manera eficiente, reduciendo el potencial de aclimatación fotosintética a la sombra (Sage & McKown, 2006). Nuestros resultados son consistentes con hallazgos para determinadas especies de gramíneas C_4 , tanto en sistemas naturales (Lett & Knapp, 2003) como en experimentos de invernadero (Altesor *et al.*, 2017), en donde la reducción de radiación ha sido identificada como el factor que más limita el crecimiento de las gramíneas C_4 .

A pesar de los efectos opuestos del arbusto sobre las gramíneas C_3 y C_4 dentro de la clausura, ambos tipos funcionales respondieron en la misma dirección bajo pastoreo. La protección frente a los herbívoros es un mecanismo bien conocido que promueve interacciones facilitadoras (Barbosa *et al.*, 2009; Smit *et al.*, 2009; Filazzola & Lortie, 2014) y varios estudios han demostrado que las plantas no palatables pueden reducir la presión de pastoreo sobre sus vecinos más palatables (Oesterheld & Oyarzabal, 2004; Bossuyt *et al.*, 2005; Callaway *et al.*, 2005; Graff *et al.*, 2007; Nöell-Estapé *et al.*, 2013). El papel protector de *A. buniifolius* podría deberse a la diferencia de palatabilidad con las gramíneas (Graff *et al.*, 2007) o a que los individuos quedan ocultos de la vista de los herbívoros, ya que el arbusto carece de espinas o toxicidad (Louthan *et al.*, 2014). Después de tres años, es posible que la protección frente al pastoreo sea insignificante o inexistente dentro de la clausura y solo actúe el mejoramiento abiótico. Sin embargo, la protección frente al pastoreo parece actuar simultáneamente con la mejora abiótica bajo pastoreo. Los dos mecanismos (mejoramiento abiótico y protección frente al pastoreo) convergerían en el caso de las gramíneas C_3 , conduciendo al aumento de los efectos positivos observados en pastoreo. Esto puede explicar que la intensidad de la facilitación para este grupo sea el doble en el área pastoreada en relación a la clausurada. Por el contrario, los dos mecanismos parecen divergir en el caso de las gramíneas C_4 . El efecto negativo del arbusto dentro de la clausura cambió a neutral en el área bajo pastoreo. En este último caso, el efecto positivo del arbusto mediado por la protección contra el pastoreo podría compensar el efecto negativo inducido por el sombreado, generando un efecto neto neutro.

En el caso de las hierbas, el efecto del arbusto fue neutro en ambas situaciones de pastoreo. Cuando las especies se analizaron individualmente, la respuesta no fue consistente. El metabolismo fotosintético no puede explicar esta heterogeneidad de respuestas, ya que todas las especies registradas poseen metabolismo C_3 . La fotosíntesis C_4 es relativamente poco común en plantas dicotiledóneas y ocurre solo en familias avanzadas (Ehleringer *et al.*, 1997). En pastizales de Uruguay, las hierbas son un grupo filogenéticamente heterogéneo de especies que ocupan espacios intersticiales dejados por las gramíneas formadoras de la matriz vegetal (Rodríguez *et al.*, 2003; Lezama & Paruelo, 2016). Las hierbas censadas son mayormente plantas perennes de hojas pequeñas, y excepto *Sommerfeltia spinulosa* y *Cuphea glutinosa* que pueden crecer hasta 40 cm, concentran la biomasa cerca del suelo. Tener hojas pequeñas postradas ofrecería una doble ventaja en este sistema: 1) las especies pueden evitar ser consumidas por los herbívoros (Díaz *et al.*, 1992) y 2) las hojas pequeñas tienen una capa límite (capa de aire inmóvil alrededor de la hoja) más delgada, lo que les permite un mayor enfriamiento convectivo, generalmente con una reducción neta de la pérdida de agua por evapotranspiración (Vogel, 1968; Givnish, 1979; Cunningham *et al.*, 1999). Es probable que las hierbas no dependan del beneficio de asociarse con los arbustos para hacer frente al pastoreo y a un ambiente con más radiación y temperatura, y su respuesta esté mediada por otros mecanismos no considerados en este estudio.

Tomados en conjunto, los gramínoideos disminuyeron su cobertura bajo el dosel arbustivo. Este grupo funcional incluye la familia de las ciperáceas (Cyperaceae), que es la segunda familia más rica en especies C_4 (~1330 especies, 27% del total de especies en la familia) luego de las gramíneas (Sage, 2004). Por lo tanto, la familia de las ciperáceas es un buen sistema para evaluar interacciones facilitadoras mediadas por el metabolismo fotosintético. Sin embargo, en nuestro estudio la mayoría de las especies de este grupo funcional fueron raras, presentes en menos de tres parcelas, y por lo tanto fueron descartadas del análisis individual. Se necesitarían más datos para discutir la facilitación dentro de este grupo funcional.

Este trabajo también resalta la conveniencia de realizar estudios a distintos niveles de organización (individuo y comunidad) como análisis

complementarios con el fin de explorar los efectos de la facilitación en comunidades muy diversas. La agrupación de especies con atributos funcionales similares, permitió la detección de aquellos grupos más sensibles a la presencia del arbusto, y la importancia del metabolismo fotosintético para definir la dirección de la respuesta. Por otro lado, el análisis por especies reveló un comportamiento heterogéneo dentro del grupo de las hierbas, lo que sugiere que la agrupación de múltiples linajes en un solo tipo funcional puede ocultar variaciones en otros rasgos que podrían ser importantes para explicar las diversas respuestas a la presencia del arbusto.

En resumen, este estudio contribuye al conocimiento sobre interacciones facilitadoras en ambientes sub-húmedos. Se pudo observar que los arbustos de un pastizal sub-húmedo templado pueden proteger a las gramíneas del ganado y que también pueden beneficiar a las gramíneas C₃ mediante el mejoramiento de las condiciones climáticas bajo su dosel. Los arbustos como *A. buniifolius* son indeseados y usualmente son eliminados por los ganaderos para aumentar el área efectiva de pastoreo. Sin embargo, los arbustos pueden jugar un papel importante en el mantenimiento de la riqueza y abundancia de especies de este pastizal, especialmente de aquellas más apreciadas por el ganado. Aunque no se midió la producción de inflorescencias, también es posible que las gramíneas que crecen bajo el dosel arbustivo tengan mayor éxito reproductivo, como ya fue observado por otros autores (Bossuyt *et al.*, 2005). Por lo tanto, los arbustos pueden proporcionar resiliencia a esta comunidad herbácea altamente diversa frente a las perturbaciones naturales y antropogénicas.

Anexo 2.1

Tabla 2.4. Frecuencia absoluta (n= 5) de los diferentes taxones identificados en los sitios abiertos (Abi) y debajo del arbusto (Arb) *Acanthostyles buniifolius* a lo largo de los cuatro años de estudio. Se detectaron 53 taxones en la familia Poaceae (Poa); 15 en Asteraceae (Ast); cinco en Rubiaceae (Rub); cuatro en Fabaceae (Fab); tres en Iridaceae (Iri) y Juncaceae (Jun); dos en Apiaceae (Api), Convolvulaceae (Con), Cyperaceae (Cyp), Orobanchaceae (Oro) y Plantaginaceae (Pla); uno en Acanthaceae (Aca), Amaranthaceae (Ama), Hypoxidaceae (Hyp), Linaceae (Lin), Lythraceae (Lyt), Malvaceae (Mal), Orchidaceae (Orc) y en Oxalidaceae (Oxa).

Especie	Familia	Frecuencia															
		2013				2014				2015				2016			
		Clausura		Pastoreo		Clausura		Pastoreo		Clausura		Pastoreo		Clausura		Pastoreo	
Abi	Arb	Abi	Arb	Abi	Arb	Abi	Arb	Abi	Arb	Abi	Arb	Abi	Arb	Abi	Arb		
<i>Agrostis montevidensis</i>	Poa	0	0	0	0,8	0,2	1	0	0,2	0	0	0,2	0	0	0	0	2,2
<i>Briza subaristata</i>	Poa	0	0,2	0	0,8	2,2	2,8	0,4	0,6	4,2	6,4	0,8	1,2	2,2	0,8	1,8	2
<i>Briza sp.</i>	Poa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,4	0	0	0	0,2
<i>Calamagrostis alba</i>	Poa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,2	0	0	0	1,2	0	0
<i>Calamagrostis montevidensis</i>	Poa	0	0	0	0	0,6	0	0	0	0	0,4	0	0	0	0,2	0	0
<i>Calamagrostis sp.</i>	Poa	0	0	0	0	0	1,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Danthonia cirrata</i>	Poa	0,2	1	0,2	0	0	0	0	0	0,2	0,6	0	0,6	0	0	0	0
<i>Danthonia montevidensis</i>	Poa	0	0	0	0	0	0,6	0	0	0	0	0	0	2,6	7,6	0,6	3,4
<i>Danthonia rizomata</i>	Poa	4,6	6	1,8	18,4	4,4	5,4	6,4	16,4	4,6	3,8	11,6	24,4	2,4	0,2	7,2	21,6
<i>Danthonia sp.</i>	Poa	0	0	0	0	0,4	1,6	0,6	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Dichanthelium sabulorum</i>	Poa	0	3,8	0,8	7,6	1,8	10,2	2,6	7	1	8	1,8	4,4	4,2	10,4	1	6,2
<i>Melica brasiliana</i>	Poa	0	1,4	0	1	0,2	0,6	0,2	1,4	0	5	0	0	0,4	1,6	0	0,4
<i>Microbriza poaemorpha</i>	Poa	0	0	0	0	0	0	0	0,2	0	0	0,6	0	0	0	0	0
<i>Nassella charruana</i>	Poa	0	0	0	0	0	0	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0
<i>Nassella megapotamia</i>	Poa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,4
<i>Nassella neesiana</i>	Poa	0	0	0	0,6	0	0,4	0	0,4	0	0,6	0	1	0	1	0,2	0,6
<i>Nassella pauciciliata</i>	Poa	0	0	0,2	0	0	0	0	0,6	0	0	0,4	1,6	0	0	0	0
<i>Piptochaetium montevidense</i>	Poa	7	17	9,8	14,2	18,6	23	6,8	14,8	16	29,8	10,6	19,4	14	10,2	7,8	15,4
<i>Piptochaetium stipoides</i>	Poa	2,2	2,8	1,8	0,8	6,2	4,2	0,4	0	8,8	9,6	0,4	0	8,4	12,6	0	2,2
No identificada	Poa	0	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gramíneas C₄																	
<i>Andropogon ternatus</i>	Poa	1	8	1,4	4,6	5,2	9,6	1	4,6	6,6	9,2	3,6	6,6	8	4,4	2,2	6,8
<i>Aristida murina</i>	Poa	5,6	3,2	1,4	2,2	3	0,4	0,4	0,4	3,8	2	0,2	2,6	1,8	0,4	0,2	2,6
<i>Aristida uruguayensis</i>	Poa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,4	0	0	0
<i>Aristida sp.</i>	Poa	0	0	0	0	2,6	2,2	0,6	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Aristida venustula</i>	Poa	13,6	9,6	2,4	3	6,6	2,4	3	3	12,4	3,2	5	7,6	8,8	3,6	1,4	2
<i>Axonopus argentinus</i>	Poa	1,2	6	9,8	17,4	5	12,6	19,4	12	5,2	13	31	27,4	4,8	11,4	17,6	21
<i>Axonopus fissifolius</i>	Poa	4	5,8	7,2	9,8	8,6	9,4	20,8	24	7,2	7,8	16,6	19,4	6,8	2,4	15,2	16,6
<i>Bothriochloa laguroides</i>	Poa	4,8	6,4	6,2	4,2	6,8	3,4	5,2	3,8	3,2	4,2	10,8	10,6	1,6	1,4	7	6,4
<i>Coelorachis selloana</i>	Poa	10,6	8,6	6,4	7	25	18,4	13,6	7,4	29,8	18,6	12,2	7,6	29,8	17	11,4	10
<i>Cynodon dactylon</i>	Poa	0,2	0	0,4	1,6	1,4	0,2	0,4	0,8	0,2	0	0,2	0,6	0,8	0,2	0,2	2,6
<i>Eragrostis bahiensis</i>	Poa	0	0	0	0	0	0	0	0,8	0,6	0	0,8	0,6	0,8	0	0,2	2,2
<i>Eragrostis lugens</i>	Poa	0	1	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0,4	0,6	0	0	0	0

<i>Eragrostis neesii</i>	Poa	3,6	0	1,2	1,4	0,4	0	0,8	0	0	0	0,6	0	0	0	0,6	0,2
<i>Eragrostis retinens</i>	Poa	0	0	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eragrostis sp.</i>	Poa	0,6	0	0	0	0	0	0,2	0,2	0,2	0	0	0	0,4	0	0	0
<i>Gymnopogon sp.</i>	Poa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0
<i>Leptocoryphium lanatum</i>	Poa	0	0,2	0	0,2	0	0	0	0,2	0	0	0,4	2	0	0	0,6	0,2
<i>Paspalum dilatatum</i>	Poa	0,8	0	3	0,6	1,4	0	5	0,4	0	0	3,4	0	0	0	3	0
<i>Paspalum notatum</i>	Poa	25,8	12,8	27,8	12,2	35,4	9,8	37	16	21,8	6	33	15,6	14,4	1	29,6	17
<i>Paspalum plicatulum</i>	Poa	10,4	10,2	16	14,6	28,6	19	12,6	11,6	20,6	18,4	20,6	16,4	21	4,8	14,6	18,4
<i>Paspalum pumilum</i>	Poa	0	0	0	0,8	0	0	0	0	0	0	0	2,4	0	0	0	0
<i>Saccharum angustifolium</i>	Poa	0	0	0	0	0	0,2	0	3	0	1,6	0	1	0	2,8	0	0
<i>Schizachyrium microstachyum</i>	Poa	0,4	1,4	1,6	3,4	7,8	11	3,2	9,4	11,4	16,6	8	13,6	9,8	5,6	3	6,8
<i>Schizachyrium spicatum</i>	Poa	0,2	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Schizachyrium tenerum</i>	Poa	2,2	5,8	3,4	8,2	4,6	12,4	6,6	16,6	9,2	32	6,4	14,4	15,8	34	4,6	11,4
<i>Setaria geniculata</i>	Poa	1,2	0,6	0,2	0,8	0	0	0,2	0,2	0	0,8	0	0	1,4	0,2	0	0,2
<i>Setaria vaginata</i>	Poa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,6	0	0	0	0,2
<i>Setaria sp.</i>	Poa	0	0,2	0	0	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0	1,4	0,2
<i>Sporobolus indicus</i>	Poa	0	0,4	0	0	0	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sporobolus platensis</i>	Poa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,2	0	0	0	0	0
<i>Steinchisma hians</i>	Poa	2,6	6,2	3,2	3,6	9,6	6,2	5	8	7,8	5,8	7,6	4,6	8	3,4	4,6	5,4
<i>Tridens brasiliensis</i>	Poa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0
No identificada	Poa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,2	0	0	0	0,2	0
Hierbas																	
<i>Agalinis communis</i>	Oro	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Baccharis ochracea</i>	Ast	1	0	0	0	0	2	0	0	0	1,2	0	0,4	0	1,6	0	0
<i>Baccharis trimera</i>	Ast	0	0	0	4,6	0	0,6	0,4	6,8	0,2	0,6	0,4	2	1,2	3,8	0,8	3,6
<i>Buchnera integrifolia</i>	Oro	0	0	0	0	0	0	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chaptalia exscapa</i>	Ast	0	0,4	0	0,8	0,2	0	0	0,2	0	0	0,8	0,4	0	0	0	0,6
<i>Chaptalia piloselloides</i>	Ast	0,2	0	0	0	0,2	0	0	0,2	0,4	0	1	0	1	0	0	0,4
<i>Chaptalia sp.</i>	Ast	0	0	0	0	0	0	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chevreulia sarmentosa</i>	Ast	3,6	1,8	1,4	1,6	0,4	0,2	1,6	0,6	0	0	0,6	0,4	0	0	1	0,8
<i>Chevreulia sp.</i>	Ast	0	0	0	0	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0,2	0,2
<i>Cliococca selaginoides</i>	Lin	0	0	0	0	0	0	0	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Conyza chilensis</i>	Ast	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,2
<i>Conyza sp.</i>	Ast	0	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0,4	0,6	0	0	0	0
<i>Cuphea glutinosa</i>	Lyt	0,2	0,4	0	0,4	0,4	0,6	0	0,6	0,4	0,2	0	0,4	0,2	0,4	0	0,2
<i>Dichondra sericea</i>	Con	0,2	0,6	0	0,2	0	0	0	0,2	0	0	0,6	0,4	0,2	0	0	0,2
<i>Eryngium nudicaule</i>	Api	0,2	0,4	0,4	0	0	0	0,4	0	0	0	0,6	0	0	0	0,4	0
<i>Evolvulus sericeus</i>	Con	11,6	5,6	3,6	2,2	14,2	3,2	4,6	1,2	13,4	3,8	7,8	1,6	16,6	3,4	3,8	1,4
<i>Galactia marginalis</i>	Fab	0,4	2,2	1	0,8	0,8	2,2	1	1,4	1,2	4,4	1,8	2	1,4	4,2	0,8	0
<i>Galianthe fastigiata</i>	Rub	0	0,4	0	0,2	0	0,2	0	0,2	0	0,2	0	0,4	0	0,4	0	0,2
<i>Galium richardianum</i>	Rub	0	0	0	0,2	0,2	0	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0
<i>Galium sp.</i>	Rub	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,4
<i>Gamochaeta sp.</i>	Ast	0	0	0,4	0	0,2	0,2	0,6	0	0	0	1	0,4	0	0	0,6	0
<i>Gamochaeta spicata</i>	Ast	0	0	0	0	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hidrocotyle bonariensis</i>	Api	0	0,2	0	0,4	0	0	0,2	0,6	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hypochaeris radicata</i>	Ast	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Mecardonia tenella</i>	Pla	0	0,2	0	0,2	0	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0,2	0,2

<i>Oxalis sp.</i>	Oxa	0	0	0	0	0	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pfaffia sp.</i>	Ama	0	0	0,2	0	0	0	0,2	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pterocaulon sp.</i>	Ast	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,6	0	0	0	0,2	
<i>Richardia humistrata</i>	Rub	1,2	4	7,2	8,6	0,6	1,6	7,8	7,6	1,2	0,2	11,2	8	0,8	0	11,4	7,2
<i>Richardia stellaris</i>	Rub	1,6	1,4	1,6	1,2	0,4	0	2,6	1	0	0	3,2	2,6	0	0	3	2,6
<i>Sommerfeltia spinulosa</i>	Ast	0,6	2,2	0,2	0,2	0,8	1,8	0	0,2	1,2	2,6	0,2	0,6	0,8	0,2	0,2	0,2
<i>Scoparia montevidensis</i>	Pla	0,6	0	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Stenachaenium campestre</i>	Ast	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,6	0	0	0	0,4	0
<i>Stenandrium sp.</i>	Aca	0,4	0	0,2	0	0	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Stylosanthes leiocarpa</i>	Fab	0	0	0	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Stylosanthes montevidensis</i>	Fab	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,4	0	0	0	0	0,4
<i>Stylosanthes sp.</i>	Fab	0	0	0	0	0	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Tragia sp.</i>	Mal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,4
No identificada	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,4	0	0	0,2	0	0
Graminoides																	
<i>Cyperus sp.</i>	Cyp	24,2	18	11,2	20,8	40	28,6	37,4	34,6	14,4	3,4	36,6	22,4	9,6	2,4	23,6	16,4
<i>Eleocharis sp.</i>	Cyp	2,4	1,6	0	0,2	1,6	0,2	0,6	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0,2
<i>Habenaria sp.</i>	Orc	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,4	0	0	0	0
<i>Herbertia lahue</i>	Iri	0	0	0	0	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0,2	0
<i>Herbertia pulchella</i>	Iri	0	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0,4	0	0	0	0,2
<i>Hypoxis decumbens</i>	Hyp	0	0,4	0,2	2,6	0,2	0	1	2,2	1,4	2	0,6	2,4	1,8	1,4	1	3,4
<i>Juncus capillaceus</i>	Jun	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Juncus dombeyanus</i>	Jun	0	0,2	0	0	0	0	0,2	0	0	0	0,2	0	0	0	0	0
<i>Juncus sp.</i>	Jun	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,2	0,4	0	0	0	0
<i>Sysirinchium sp.</i>	Iri	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0,4	0	0	0	0

Anexo 2.2

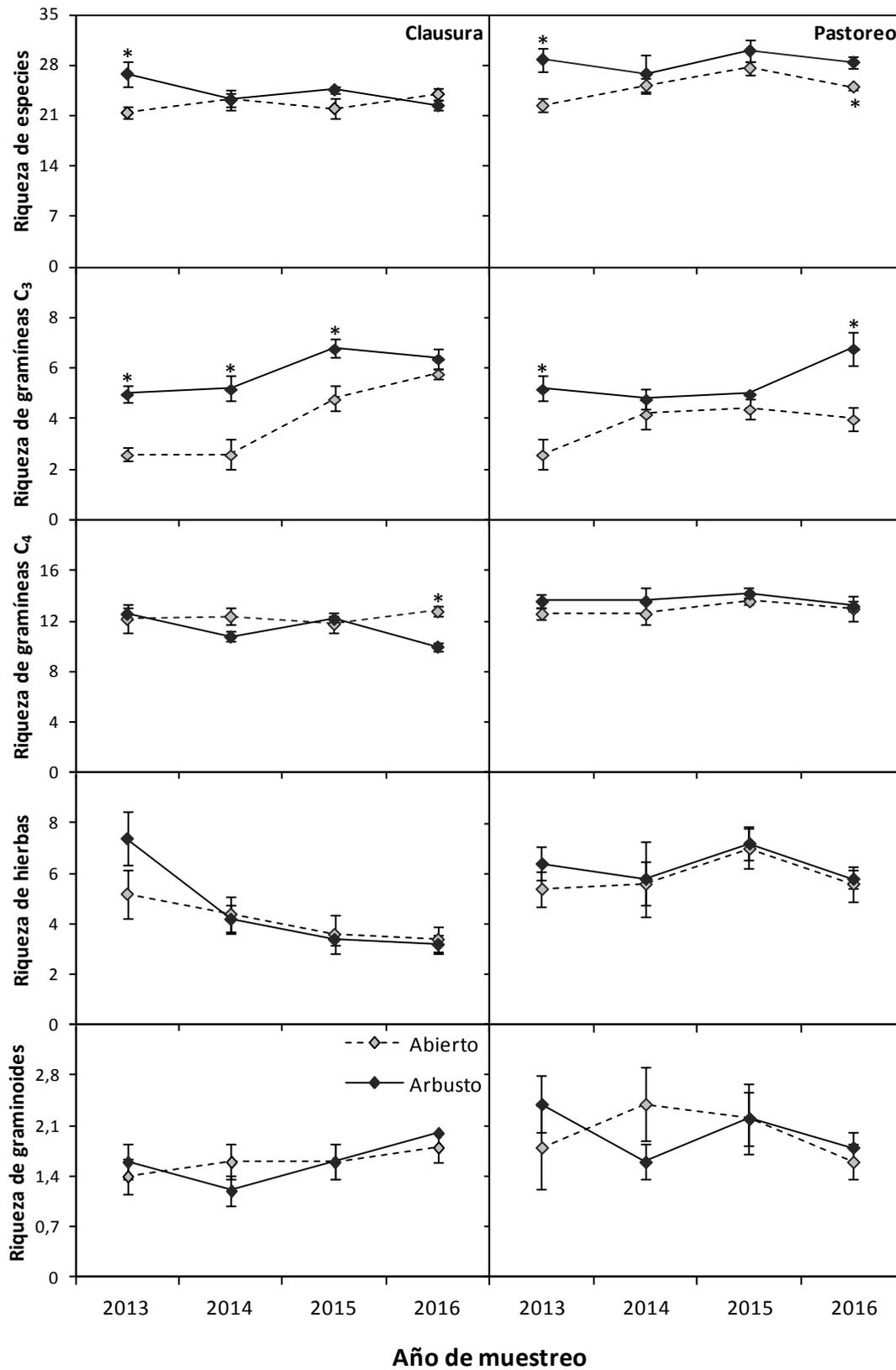


Figura 2.5. Promedio (\pm E. E.) de la riqueza total de especies y por TFP (Gramíneas C₃; Gramíneas C₄; Hierbas y Graminoides) a lo largo del tiempo. Los asteriscos muestran diferencias significativas en la cobertura de los TFP entre los micrositios ($p < 0,05$).

Tabla 2.5. Variación temporal en la riqueza total de especies y en los Tipos Funcionales de Plantas (Gramíneas C₃; Gramíneas C₄; Hierbas; Graminoides) creciendo debajo del arbusto *Acanthostyles buniifolius* y en sitios abiertos de clausura y pastoreo en pastizales de las Sierras del Este. Se muestran los valores F y *p* derivados del ANOVA de medidas repetidas. En negrita los valores con *p* < 0,05.

Sitio	Efecto (G.L.)	Variable	Riqueza de especies				
			Total	GramC ₃	GramC ₄	Hierbas	Gramin
Clausura	Micrositio (1)	F	1,62	17,36	2,12	0,33	0,0000
		p	0,24	0,003	0,18	0,58	1,0000
	Tiempo (3)	F	0,72	13,7	1,48	11,88	2,49
		p	0,55	0,00002	0,24	0,00006	0,08
	Micrositio x Tiempo (3)	F	8,86	1,98	4,69	2,28	1,07
		p	0,0004	0,14	0,01	0,1	0,38
Pastoreo	Micrositio (1)	F	7,43	55,85	1,28	0,19	0,0000
		p	0,026	0,00007	0,29	0,67	1,0000
	Tiempo (3)	F	2,97	2,72	0,85	2,41	0,59
		p	0,05	0,06	0,48	0,09	0,63
	Micrositio x Tiempo (3)	F	1,62	2,63	0,19	0,21	1,09
		p	0,21	0,07	0,89	0,88	0,37

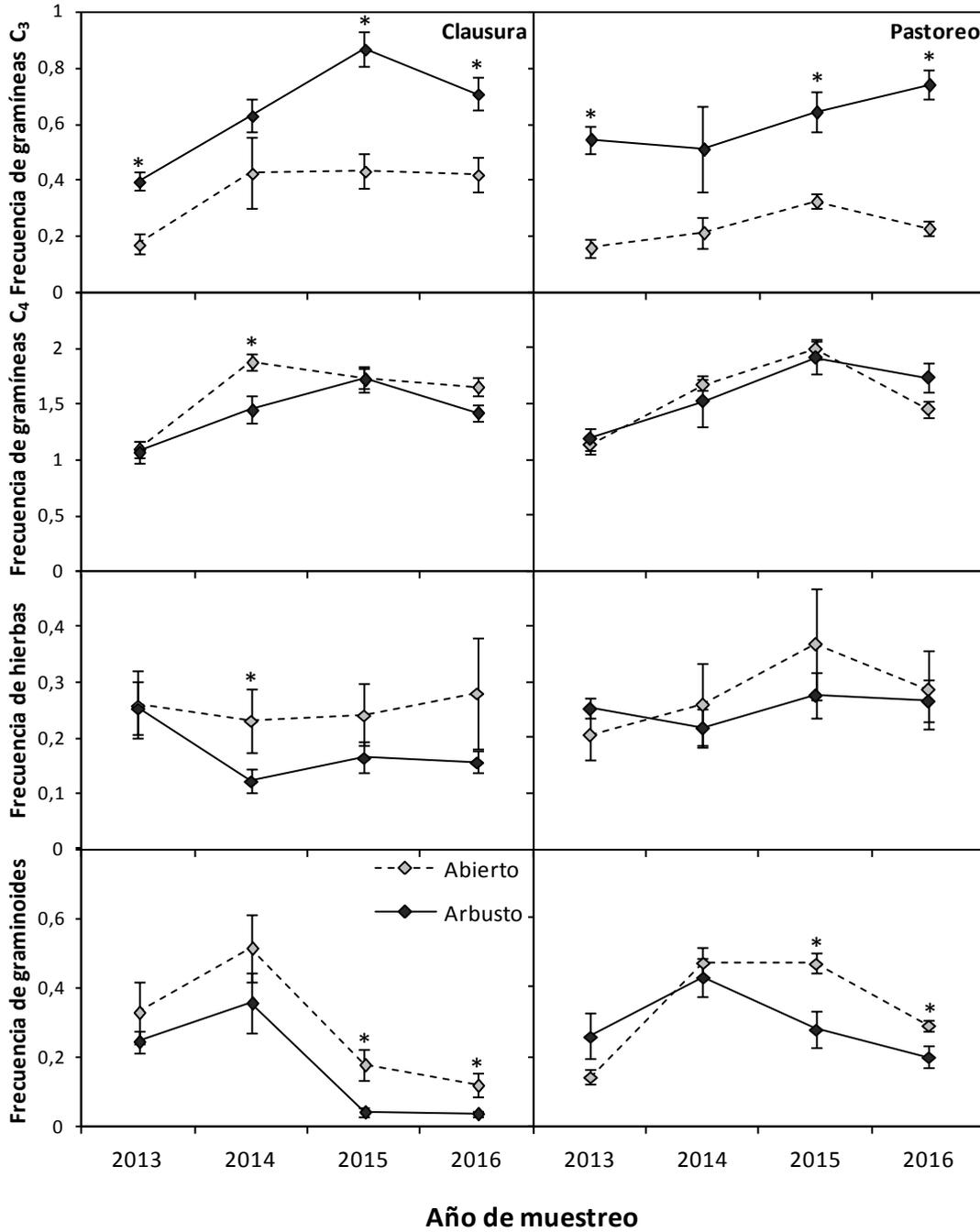


Figura 2.6. Promedio (\pm E. E.) de la cobertura de los TFP (Gramíneas C₃; Gramíneas C₄; Hierbas y Graminoides) a lo largo de los cuatro años de muestreo. Los asteriscos muestran diferencias significativas en la cobertura de los TFP entre los micrositios ($p < 0,05$).

Tabla 2.6. Variación temporal de la cobertura de los TFP (Gramíneas C₃; Gramíneas C₄; Hierbas y Graminoides). Se muestran los valores F y *p* derivados del ANOVA de medidas repetidas. Los valores en negrita muestran diferencias significativas en la cobertura de los TFP entre los tratamientos (*p* < 0,05).

Sitio	Efecto (G.L.)	Variable	Cobertura de especies			
			GramC ₃	GramC ₄	Hierbas	Gramin
Clausura	Micrositio (1)	F	32,2	3,92	1,3	8,89
		<i>p</i>	0,0005	0,08	0,28	0,018
	Tiempo (3)	F	10,9	25,35	2,72	23,0
		<i>p</i>	0,0001	0,0000	0,06	0,0000
	Micrositio x Tiempo (3)	F	1,19	3,0	1,74	0,72
		<i>p</i>	0,33	0,049	0,18	0,55
Pastoreo	Micrositio (1)	F	21,4	0,26	0,15	1,0
		<i>p</i>	0,0017	0,62	0,7	0,34
	Tiempo (3)	F	5,5	11,0	3,0	33,8
		<i>p</i>	0,005	0,0001	0,049	0,0000
	Micrositio x Tiempo (3)	F	2,4	0,92	1,34	10,4
		<i>p</i>	0,1	0,44	0,27	0,0001

Capítulo 3: Efecto aéreo y subterráneo del arbusto *Acanthostyles buniifolius* sobre la estructura de la comunidad herbácea de un pastizal de la región este de Uruguay

3.1 Introducción

La organización y la dinámica de las comunidades vegetales están determinadas por diferentes controles, tanto abióticos como bióticos, que operan a distinta escala espacial (Auerbach & Shmida, 1987). A escala de micrositio, la importancia de las interacciones entre plantas ha sido resaltada como un factor determinante de la riqueza y la composición de especies en las comunidades (Kopp & Cleland, 2018). Las interacciones se generan cuando los individuos de una especie modifican las condiciones abióticas y la disponibilidad de recursos para otras especies con las que coexisten espacial y temporalmente (Stoll & Weiner, 2000). Los cambios generados por una planta pueden afectar de manera negativa o positiva la supervivencia, el crecimiento y el éxito reproductivo de sus vecinos, a través de un balance complejo y dinámico en el que están involucradas la competencia y la facilitación respectivamente (Bertness & Callaway, 1994; Bruno *et al.*, 2003; McIntire & Fajardo, 2014). La importancia relativa de estas interacciones puede variar dependiendo de las condiciones ambientales (Holmgren & Scheffer, 2010), de la identidad de las especies (Xu *et al.*, 2010) y del estadio de desarrollo de los individuos (Miriti, 2006) entre otros factores.

A medida que una planta crece y se desarrolla, consume los recursos disponibles y modifica las condiciones aéreas y subterráneas en su entorno (Song *et al.*, 2006). Uno de los efectos aéreos más notorios es el sombreado que genera debajo de su dosel, debido al uso de radiación solar durante la fotosíntesis y a la reflexión de las hojas (Gräff *et al.*, 2015). La menor disponibilidad de radiación genera aumentos en los costos respiratorios y de mantenimiento en las plantas que crecen debajo del dosel, disminuyendo su capacidad fotosintética (Craine & Dybzinski, 2013). En general existe mucha variación en la capacidad fotosintética entre diferentes especies de la comunidad, entre diferentes individuos de la misma especie y entre diferentes hojas de un mismo individuo (Ninemets & Valladares, 2004). Por lo tanto, en una comunidad habrá especies limitadas por la disponibilidad de radiación y otras que no lo estarán. Por ejemplo, las gramíneas con metabolismo fotosintético C_4 tienen alta capacidad fotosintética y están adaptadas a ambientes abiertos con alta radiación solar, mientras que las gramíneas C_3

tienen menor capacidad fotosintética y toleran condiciones de menor radiación (Ehleringer *et al.*, 1997; Sage & Mckown, 2006). De esta manera, muchas especies C_3 se benefician de los ambientes sombreados, ya que encuentran protección frente a la fotoinhibición causada por una alta intensidad lumínica (Wayne & Van Auken, 2018).

Otros cambios generados debajo del dosel de las plantas son la reducción de la temperatura del aire y de la velocidad del viento, en comparación con las áreas abiertas circundantes (Xu *et al.*, 2010; Fernández *et al.*, 2014; Mihoč *et al.*, 2016). Estas modificaciones tienen gran importancia en la disminución de la transpiración y en la mejora del balance hídrico de las plantas (Gregory, 1995; Lin, 2010). La transpiración de una hoja es un proceso que depende de la diferencia de concentración de vapor de agua entre la hoja y la atmósfera y de la resistencia de la hoja a la salida de agua. La demanda hídrica atmosférica, y por lo tanto la transpiración de las plantas, aumenta con el aumento de la temperatura ya que la atmósfera se vuelve más deficiente en vapor de agua (Rawson *et al.*, 1977; Fletcher *et al.*, 2007). La disminución de la temperatura debajo del dosel de una planta, reduce la demanda hídrica atmosférica, lo que protege a las plantas frente al estrés hídrico y la desecación (Pridmore & Facelli, 2004). Por otra parte, la velocidad del viento modifica la transpiración de las hojas al regular el espesor de la capa límite. La capa límite es una película de aire quieto adyacente a la hoja, que reduce la difusión de las moléculas de agua desde la hoja a la atmósfera. La resistencia de la capa límite al pasaje de agua es directamente proporcional a su espesor (Schuepp, 1993). Los vientos calmos favorecen que aumente el espesor de esta capa y por consiguiente su resistencia al pasaje de agua (Wunderle *et al.*, 2015). El espesor de la capa límite también depende de factores intrínsecos de la planta como el tamaño de la hoja, la rugosidad de la epidermis o la presencia de pelos.

En cuanto a los efectos subterráneos, son ampliamente conocidos los efectos competitivos entre las raíces de las plantas (Wright *et al.*, 2014). Sin embargo, las plantas también pueden modificar las condiciones físicas y químicas del suelo (Eldridge *et al.*, 2011), tornando más apropiado el microambiente para sus vecinos. Las raíces pueden mover diferentes minerales y transportarlos a la superficie del suelo, lo que resulta en la

acumulación de estos elementos en zonas superficiales (Jobbágy & Jackson, 2000). Algunas especies modifican la disponibilidad de nutrientes (Dong *et al.*, 2009) por la acumulación y descomposición de hojarasca o el movimiento de nutrientes a través de las raíces (Flores & Jurado, 2003). Además las leguminosas y otras especies tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico a través de la asociación con rizobios, lo que aumenta localmente el nitrógeno del suelo. En ecosistemas áridos y semiáridos, la acumulación de minerales y de materia orgánica lleva a la formación de sitios muy importantes para el reclutamiento de individuos denominados “islas de fertilidad” (Burke *et al.*, 1998; Flores & Jurado, 2003).

La humedad del suelo también puede variar debajo de las plantas establecidas en comparación con los espacios abiertos (Bonanomi *et al.*, 2011). El sombreado y la disminución de la temperatura debajo de las plantas pueden reducir la evaporación y por lo tanto aumentar la humedad del suelo (Breshears *et al.*, 1998; Prider & Facelli, 2004). Además, las especies con raíces profundas pueden mover vertical y horizontalmente el agua entre las distintas capas del suelo a través de la redistribución hidráulica (Prieto *et al.*, 2012). Este efecto consiste en el transporte de agua por medio de las raíces desde las zonas más húmedas del suelo hasta las más secas, sin que esto suponga un gasto de energía metabólica para la planta (Burgess & Bleby, 2006). Por este mecanismo, no solo se beneficia la especie con raíces profundas, sino también sus vecinas de raíces más superficiales, que usan el agua del suelo liberada por la primera. La redistribución hidráulica se ha observado más comúnmente en ambientes áridos o semi-áridos, aunque también ha sido detectado en ambientes más húmedos sujetos a déficit hídricos periódicos (Dawson, 1993). Sin embargo, la humedad del suelo puede disminuir debido a que el follaje puede interceptar y redistribuir parte del agua de lluvia (Návar & Bryan, 1990).

Si bien las plantas modifican las condiciones y la disponibilidad de recursos aéreos y subterráneos, pocos trabajos han separado ambos efectos (Michalet *et al.*, 2015). La mayor parte de los trabajos evalúan el efecto neto de una especie sobre la comunidad vecina a través de su remoción o comparando contra sitios en donde la especie no esté presente (Michalet, 2007). Sin embargo, esta aproximación puede generar errores al interpretar los resultados ya que la remoción de una planta puede tener un efecto neto neutro sobre la

comunidad, si los efectos aéreos y subterráneos que genera son de la misma magnitud y signo opuesto (Callaway, 1995). Por otro lado, si la remoción genera un efecto neto positivo o negativo sobre sus vecinos, sería difícil discernir si éste es consecuencia de los efectos aéreos, de los subterráneos o de ambos. Por lo tanto, la separación de los efectos aéreos y subterráneos puede ser relevante para comprender los mecanismos que subyacen a los patrones observados.

Los Pastizales del Río de la Plata (PRP), se caracterizan por la mezcla de gramíneas C₃ y C₄ (Paruelo *et al.*, 1998; Epstein *et al.*, 2002) y la presencia de un componente arbustivo que varía en cobertura pero que en algunos sitios puede ser dominante (Paruelo *et al.*, 2007). La presencia de arbustos no es exclusiva de los PRP, ya que se encuentran formando parte del elenco de especies de pastizales de distintas regiones del mundo (Veldman *et al.*, 2015). La presencia de este tipo de vegetación genera cambios en las condiciones abióticas, que afectan la estructura y el funcionamiento de la comunidad herbácea (Eldridge *et al.*, 2011). En Uruguay, el arbusto dominante en condiciones de pastoreo es *Acanthostyles buniifolius* (Chebataroff, 1960; Soriano, 1991; Altesor *et al.*, 2005).

Se ha observado que la presencia del arbusto *A. buniifolius* modifica la riqueza, la composición y la distribución espacial de especies de la comunidad herbácea. En la región Centro-sur, Fernández *et al.* (2014) observaron que la distribución espacial de las gramíneas C₃ y C₄ era afectada de manera diferente por la presencia del arbusto. Mientras que las especies C₃ crecían asociadas al arbusto, las gramíneas C₄ crecían alejadas del mismo. A nivel de la comunidad, en un sitio clausurado al pastoreo se observó un efecto positivo del arbusto sobre la cobertura de gramíneas C₃ y un efecto negativo sobre las gramíneas C₄ y graminoides. Debido a que el arbusto tiene efectos positivos mayormente sobre las gramíneas C₃ y negativos sobre las C₄, se ha hipotetizado que las diferencias podrían deberse a las diferentes condiciones abióticas que las gramíneas C₃ y C₄ requieren para su crecimiento. En el caso de las hierbas no se detectó ningún efecto claro y la respuesta de este grupo funcional fue neutral a la presencia del arbusto (Capítulo 2; Fernández *et al.*, 2019). Sin embargo, hasta el momento ningún estudio ha separado los efectos

aéreos de los subterráneos, por lo que aún se desconocen los mecanismos por los cuales el arbusto genera los patrones observados en el Capítulo 2.

Objetivo general

El objetivo general de este capítulo fue evaluar el efecto aéreo y subterráneo del arbusto *Acanthostyles buniifolius* sobre la estructura de la comunidad herbácea de un pastizal de Uruguay.

Objetivos específicos

- 1) cuantificar el efecto aéreo y subterráneo del arbusto sobre la riqueza de especies de la comunidad herbácea, la cobertura de TFP (gramíneas C₃, gramíneas C₄, hierbas y graminoides) y la cobertura de especies.
- 2) cuantificar el efecto aéreo y subterráneo del arbusto sobre la radiación incidente, la temperatura superficial del suelo y la humedad del suelo.

Hipótesis

En el Capítulo 2 se observó que en una exclusión al ganado de 3 años de antigüedad (donde asumimos que solo estaría operando el efecto de modificación de las condiciones abióticas), el efecto neto del arbusto fue, en términos generales, positivo para las gramíneas C₃ y negativo para las gramíneas C₄ y los graminoides, no observándose tendencias claras para las hierbas. La hipótesis de trabajo para este capítulo es que el arbusto afecta de forma diferencial a las especies debido principalmente al sombreado generado por el dosel del arbusto (efecto aéreo), favoreciendo el crecimiento de las gramíneas C₃ (por reducción de su actividad fotorrespiratoria) y perjudicando el de las gramíneas C₄ y los graminoides (por no aclimatación a las condiciones de sombreado). Se espera que para las hierbas, tomadas en conjunto, el efecto aéreo sea neutro. Por otra parte, debido a la intensa competencia subterránea

reportada para pastizales, se predice que el efecto subterráneo será negativo para todos los TFP.

3.2 Materiales y métodos

Sitio de estudio

Las características del sitio de estudio y de la especie *A. buniifolius* se describen en detalle en el Capítulo 2 de esta tesis.

Diseño experimental

A finales de diciembre del año 2013, se excluyó al ganado, mediante alambrado, un área de 2500 m² (50 m x 50 m). Dentro de la exclusión se seleccionaron 5 pares de arbustos de 1,5 m de altura y una cobertura del dosel ~1 m². Los arbustos fueron asignados de manera aleatoria a uno de los siguientes tratamientos (n= 5): a) remoción de la parte aérea y subterránea del arbusto y colocación de un dosel artificial simulando el efecto aéreo (A⁺S⁻); y b) parte aérea atada para minimizar el efecto aéreo y evaluar solo el efecto subterráneo (A⁻S⁺). La remoción de la parte aérea se llevó a cabo con la ayuda de una tijera de podar, cortando todos los vástagos desde la base del arbusto. Posteriormente se eliminó cuidadosamente, con un cuchillo, parte de la zona radicular del arbusto evitando generar una alteración grande en la parcela. El dosel artificial del tratamiento A⁺S⁻ consistió en un árbol artificial (árbol de navidad), de dimensiones similares al dosel del arbusto, que se colocó en el lugar donde se había removido el arbusto. Las condiciones generadas debajo del dosel artificial fueron similares a las generadas debajo del arbusto intacto (capítulo 2), tanto en la radiación incidente (t= 0,93; p= 0,37) como en la temperatura del suelo (t= 0,1; p= 0,93). Para minimizar el efecto aéreo en el tratamiento A⁻S⁺, se ató el dosel del arbusto con cuatro o cinco precintos plásticos de manera de no quebrar las ramas ni romper las hojas. Al lado de cada par de arbustos (distancia máxima 2 m) se delimitó un área de 1 m² en donde no había arbustos (A⁻S⁻), que fue usada como tratamiento “sin interacción” (Figura 3.1). En cada una de estos 15 micrositios, se instaló una parcela permanente de 1 m² con el arbusto en el centro en el caso de los

tratamientos que incluían la presencia del arbusto. Inmediatamente después de realizada la exclusión, se determinó la composición florística inicial mediante el “punto de intercepción” (Greig-Smith, 1983). Este método se basa en la posibilidad de registrar las plantas presentes sobre un punto del suelo (Mateucci & Colma, 1982). Para esto se utilizó un marco de metal de 1 m² del cual bajaban 81 agujas verticales (separadas 10 cm) desde una altura de 50 cm. Todas las especies que eran tocadas por una aguja fueron registradas. Los muestreos de vegetación se repitieron en las mismas parcelas y con la misma metodología en diciembre de 2014, 2015 y 2016.

Durante tres años se realizó el seguimiento de las condiciones abióticas (la cantidad de luz incidente, la temperatura del suelo y la humedad del suelo) en los 15 micrositios. Todas las variables abióticas se midieron alrededor del mediodía. La luz incidente se midió al nivel del suelo (0,1 m de altura) utilizando un luxómetro digital (Tondaj LX1010B). La temperatura de la superficie del suelo se midió usando un termómetro infrarrojo (Nicety ST530) y la humedad del suelo se midió a una profundidad de 0,1 m con un sensor de humedad (Extech MO750).

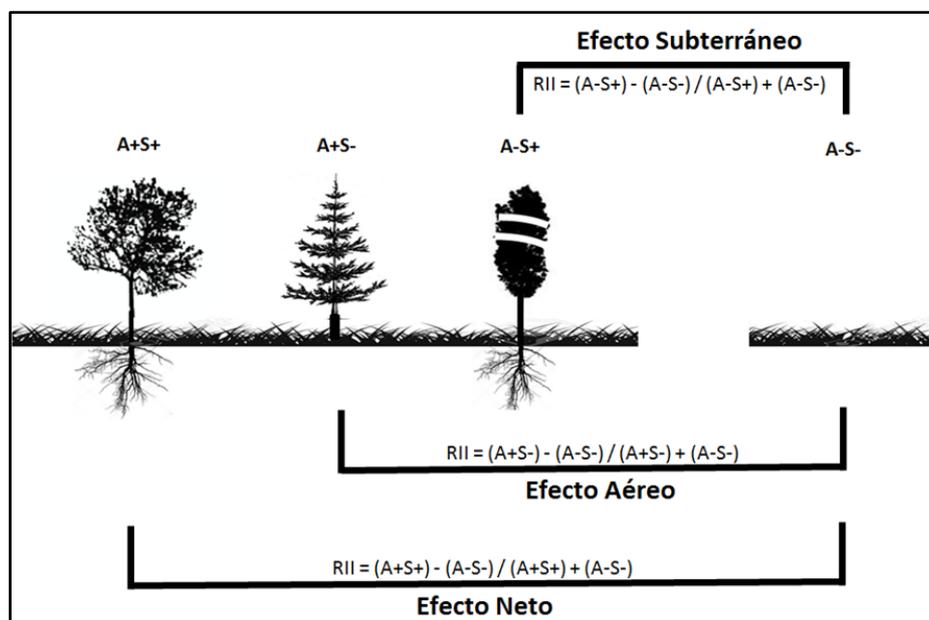


Figura 3.1. Diseño experimental realizado para determinar el efecto neto, aéreo y subterráneo del arbusto *Acanthostyles buniifolius* sobre la comunidad herbácea. A+S+: presencia de dosel (artificial) y ausencia de raíces del arbusto; A+S-: ausencia de dosel (atado) y presencia de raíces; A-S+: ausencia de dosel y de raíces. El efecto del arbusto se calculó a través del RII (Relative Interaction Index) (ver análisis estadístico). También se muestra el tratamiento A+S+: con presencia de dosel y raíces (arbusto intacto).

Análisis estadístico

Para determinar el efecto aéreo y subterráneo del arbusto en la riqueza total de especies y en la riqueza de cada TFP se realizaron ANOVAs de 1 vía con los datos del último año de muestreo. Previo al análisis de datos se chequeó que cumplieran los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza.

La cobertura de especies se calculó de la misma manera que en el capítulo 2. Para evaluar el signo y magnitud de los efectos aéreo y subterráneo del arbusto en la cobertura de especies y de TFP se calculó el Índice relativo de la interacción entre plantas (RII, del inglés “Relative Interaction Index”) de acuerdo a Armas *et al.*, (2004):

$$RII = (X_A^+ - X_A^-) / (X_A^+ + X_A^-)$$

donde X_A^+ es la cobertura de la especie o TFP objetivo registrada en el tratamiento del dosel artificial (“A+S”) o en el tratamiento del dosel atado (“A-S”) y X_A^- es la cobertura en las parcelas sin arbusto (“A^S”) (*). El índice es simétrico alrededor de cero (efecto neutro) y oscila entre +1 (facilitación) y -1 (competencia). Para determinar si una desviación era significativamente distinta de cero, se usó el test *t* de Student. Solo se consideraron las especies que se encontraron en al menos tres parcelas pareadas.

Para visualizar el efecto neto, aéreo y subterráneo del arbusto sobre la composición y cobertura de especies de la comunidad vegetal a lo largo de los 3 años de muestreo, se realizó un análisis de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS, de sus siglas en inglés Non-metric multidimensional scaling). El análisis se realizó con la cobertura de las especies y se utilizó la distancia de Bray-Curtis como medida de disimilitud. La matriz de datos (60 observaciones x 43 especies) incluyó las especies que en alguno de los años tuvieron una cobertura relativa superior al 5% en alguno de los tratamientos.

El efecto aéreo y subterráneo del arbusto sobre la luz incidente, la temperatura del suelo y la humedad del suelo fue comparado con las parcelas abiertas a través de test de *t*. Todos los análisis estadísticos se realizaron con InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2017).

*Una forma alternativa de evaluar el efecto aéreo y subterráneo del arbusto consiste en usar al arbusto intacto como control, variando el cálculo de las diferencias (Anexo 3.1).

3.3 Resultados

A los efectos comparativos, todos los resultados son presentados junto con el tratamiento arbusto intacto dentro de la clausura (A^+S^+) (Capítulo 2).

Efectos aéreos y subterráneos de A. buniifolius en la composición de especies

Durante los tres años de estudio se detectaron cambios en la composición de especies entre los diferentes tratamientos. El eje 1 del NMDS reflejó los cambios asociados a la clausura del área de estudio, en donde todos los tratamientos siguen la misma dirección. A medida que pasa el tiempo de exclusión, se observa un incremento de gramíneas C_3 (*Briza subaristata*, *Danthonia montevidensis*, *Melica brasiliana* y *Piptochaetium stipoides*) y una disminución de gramíneas C_4 (*Andropogon ternatus*, *Aristida venustula*, *Bothriochloa laguroides* y *Paspalum notatum*). El eje 2 estuvo asociado a diferencias entre los tratamientos, principalmente en los dos últimos años de estudio. En el último año, las parcelas del tratamiento A^+S^+ se diferenciaron del resto por una mayor cobertura de *A. venustula*, *Axonopus argentinus*, *B. laguroides* y *P. stipoides* y una menor cobertura de *Axonopus fissifolius* y *Coelorachis selloana*. Por su parte, en el tratamiento A^+S^- se registraron los mayores valores de *B. subaristata* y *M. brasiliana* y los menores de gramíneas C_4 como *A. ternatus*, *A. argentinus*, *Schizachyrium microstachyum* y *S. tenerum*. Finalmente el tratamiento A^-S^+ tuvo en general valores intermedios de cobertura de las especies y se asoció con mayores valores de *A. fissifolius*, *C. selloana*, *Danthonia montevidensis*, *Dichanthelium sabulorum* y fue el único tratamiento donde se registró la hierba *Richardia humistrata*. (Figura 3.2).

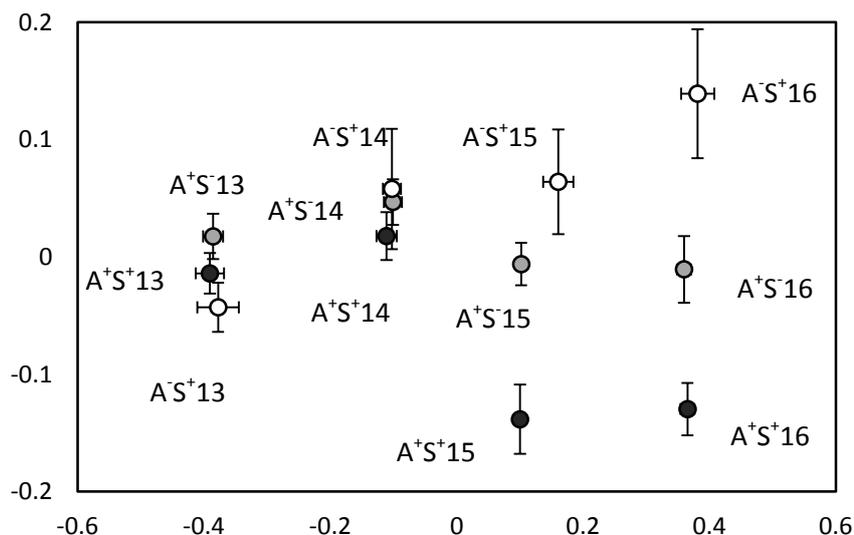


Figura 3.2. Trayectorias temporales (2013-2016) de las comunidades herbáceas desarrolladas debajo del dosel del arbusto *Acanthostyles buniifolius*, bajo tres tratamientos: arbusto intacto (A⁺S⁺), dosel atado (A⁺S⁻) y dosel artificial (A⁻S⁺). Se muestra el promedio y los errores estándares de los scores derivados del escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) con la distancia de Bray-Curtis como medida de disimilitud.

Efectos aéreos y subterráneos de A. buniifolius en la riqueza de especies y por TFP

A lo largo de los tres años de estudio se detectaron 81 taxones (21 gramíneas C₃; 28 gramíneas C₄; 29 hierbas y 3 graminoides), de los cuales 67 fueron identificados a nivel de especie (Anexo 3.2).

El sombreado generado por el arbusto *A. buniifolius*, afectó la riqueza total de especies. La riqueza fue 10% menor en el tratamiento con el dosel artificial que en las parcelas abiertas. Cuando se analizó la riqueza de especies por TFP, solo se detectó un efecto significativo en las gramíneas C₄. El efecto aéreo redujo un 25% y el efecto subterráneo un 18% la riqueza de especies de este grupo (Figura 3.3, Tabla 3.1).

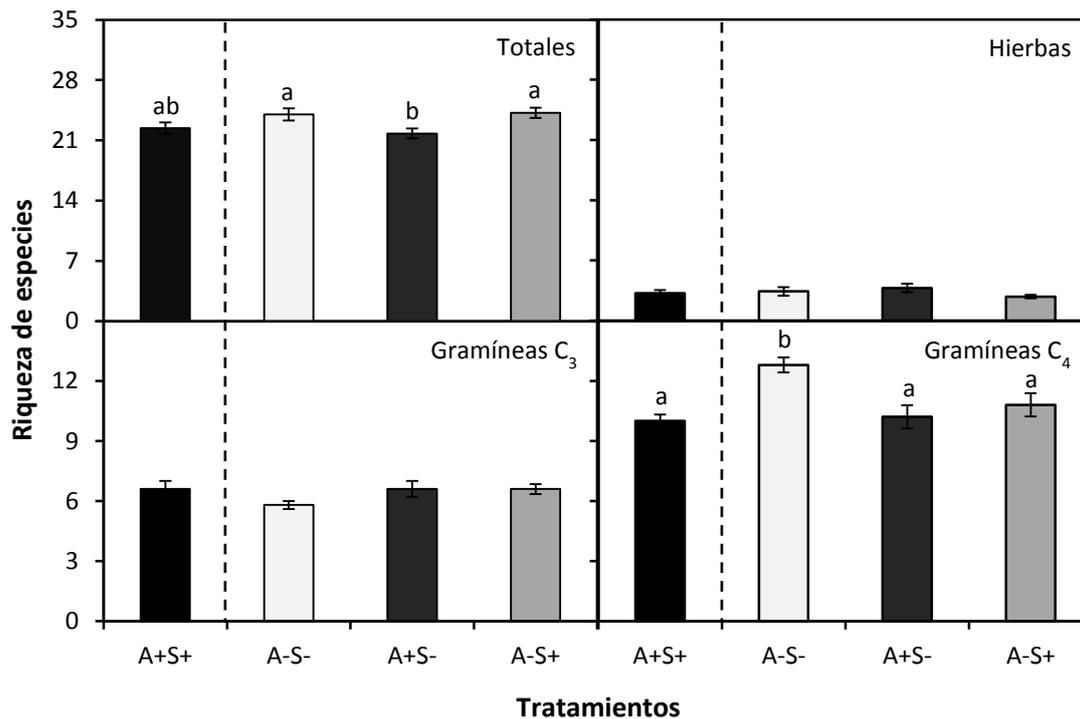


Figura 3.3. Riqueza total de especies y por Tipos Funcionales de Plantas (Gramíneas C₃, Gramíneas C₄ y Hierbas) en los tres tratamientos: Control, sin arbusto (A⁻S⁻); Dosel artificial (A⁺S⁻) y Dosel atado (A⁻S⁺). A los efectos comparativos también se muestra la riqueza de especies debajo del arbusto intacto (A⁺S⁺), calculada en el Capítulo 2. Se muestran los valores promedio (n= 5) y el error estándar. Las diferentes letras muestran diferencias significativas entre los tratamientos (pos hoc LSD, $p < 0,05$). Los ejes tienen distintas escalas.

Tabla 3.1. Efecto de los tratamientos sobre la riqueza total de especies y por Tipos Funcionales de Plantas (Gramíneas C₃; Gramíneas C₄; Hierbas) en pastizales de las Sierras del Este. Se muestran los valores de F y p derivados del ANOVA de una vía. En negrita se muestran los valores significativos ($p < 0,05$).

Efecto (G.L.)		Riqueza de especies			
		Total	GramC ₃	GramC ₄	Hierbas
Tratamiento (3)	F	3,33	1,46	7,12	1,78
	p	0,04	0,26	0,003	0,19

Efectos aéreos y subterráneos de A. buniifolius en la cobertura de TFP y de especies

El RII varió dependiendo del TFP, de las especies y del efecto analizado. Las gramíneas C₃ fueron beneficiadas por el arbusto debido a un efecto subterráneo positivo, las gramíneas C₄ y los gramínoides fueron afectados negativamente por el sombreado mientras que este efecto fue marginalmente negativo para las hierbas ($p=0,08$) (Figura 3.4, Tabla 3.2).

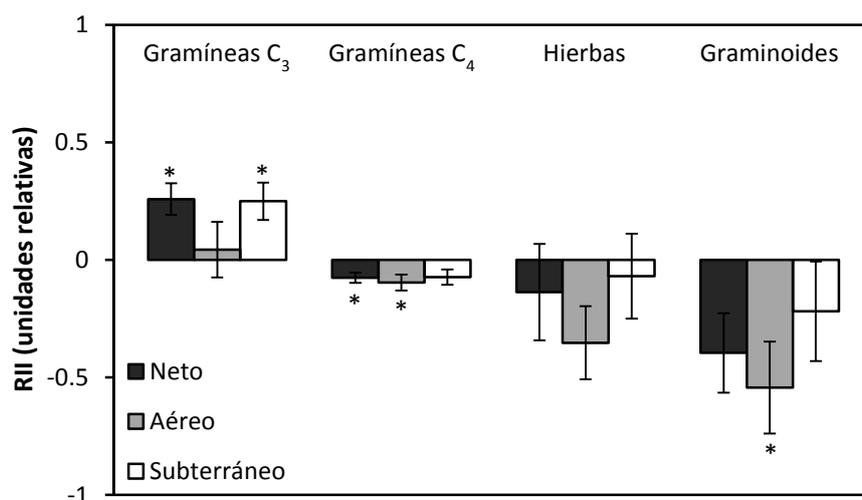


Figura 3.4. Efecto neto, aéreo y subterráneo del arbusto *Acanthostyles buniifolius* sobre la cobertura de los Tipos Funcionales de Plantas (Gramíneas C₃; Gramíneas C₄; Hierbas y Graminoides) en el último año de muestreo. Se muestran los valores promedio (n= 5) y el error estándar del RII. El asterisco muestra que los valores difieren de cero (Test t de Student, $p < 0,05$).

Tabla 3.2. Efecto de los tratamientos sobre la cobertura de los Tipos Funcionales de Plantas (Gramíneas C₃; Gramíneas C₄; Hierbas y Graminoides) en pastizales de las Sierras del Este. Se muestran los valores de T y p derivados del test t de Student. En negrita se muestran los valores con $p < 0,05$.

Efecto		Cobertura de TFP			
		GramC ₃	Gram C ₄	Hierbas	Gramin
Neto	T	38,5	34,85	0,67	23,5
	p	0,018	0,025	0,54	0,078
Aéreo	T	0,37	28,4	22,6	27,75
	p	0,73	0,047	0,08	0,05
Subterráneo	T	31,3	22,7	0,38	12,07
	p	0,035	0,08	0,72	0,29

Cerca del 50% de las especies analizadas individualmente (aquellas presentes al menos en 3 parcelas pareadas) respondieron significativamente al efecto aéreo o subterráneo (o a ambos) del arbusto. En el caso de las gramíneas C₃, la respuesta varió dependiendo de la especie considerada y no se observó un patrón claro. El sombreado del arbusto tuvo un efecto positivo en la cobertura de *Melica brasiliensis* y negativo en la de *Piptochaetium montevidense*. El efecto subterráneo también fue positivo en la cobertura de *Melica brasiliensis* y *Dichanthelium sabulorum*, mientras que en la de *Danthonia rhizomata* el efecto fue negativo (Figura 3.5). Por el contrario, las gramíneas C₄ que respondieron significativamente, mostraron un patrón muy consistente. La mayoría de las especies fueron perjudicadas por al menos uno de los efectos del arbusto. En términos generales, el efecto aéreo fue más perjudicial que el subterráneo. La única especie favorecida fue *Erianthus angustifolius*, con un RII positivo en el tratamiento aéreo (Figura 3.5). De las hierbas, solamente dos especies respondieron significativamente a alguno de los tratamientos, y la respuesta no fue consistente. Una de ellas (*Galactia marginalis*) fue beneficiada por el tratamiento subterráneo y otra (*Richardia humistrata*) fue perjudicada por el tratamiento aéreo (Figura 3.5). Las especies registradas con valores de RII que no difieren significativamente de cero (efecto neutro) en ambos tratamientos, se enlistan en la Tabla 3.3. No se muestran especies que no estuvieran en al menos tres parcelas pareadas. En esta lista son destacables las especies *Coelorachis selleana* y *Schizachyrium tenerum*, que a pesar de no mostrar un efecto aéreo o subterráneo, sí mostraron un efecto neto significativo.

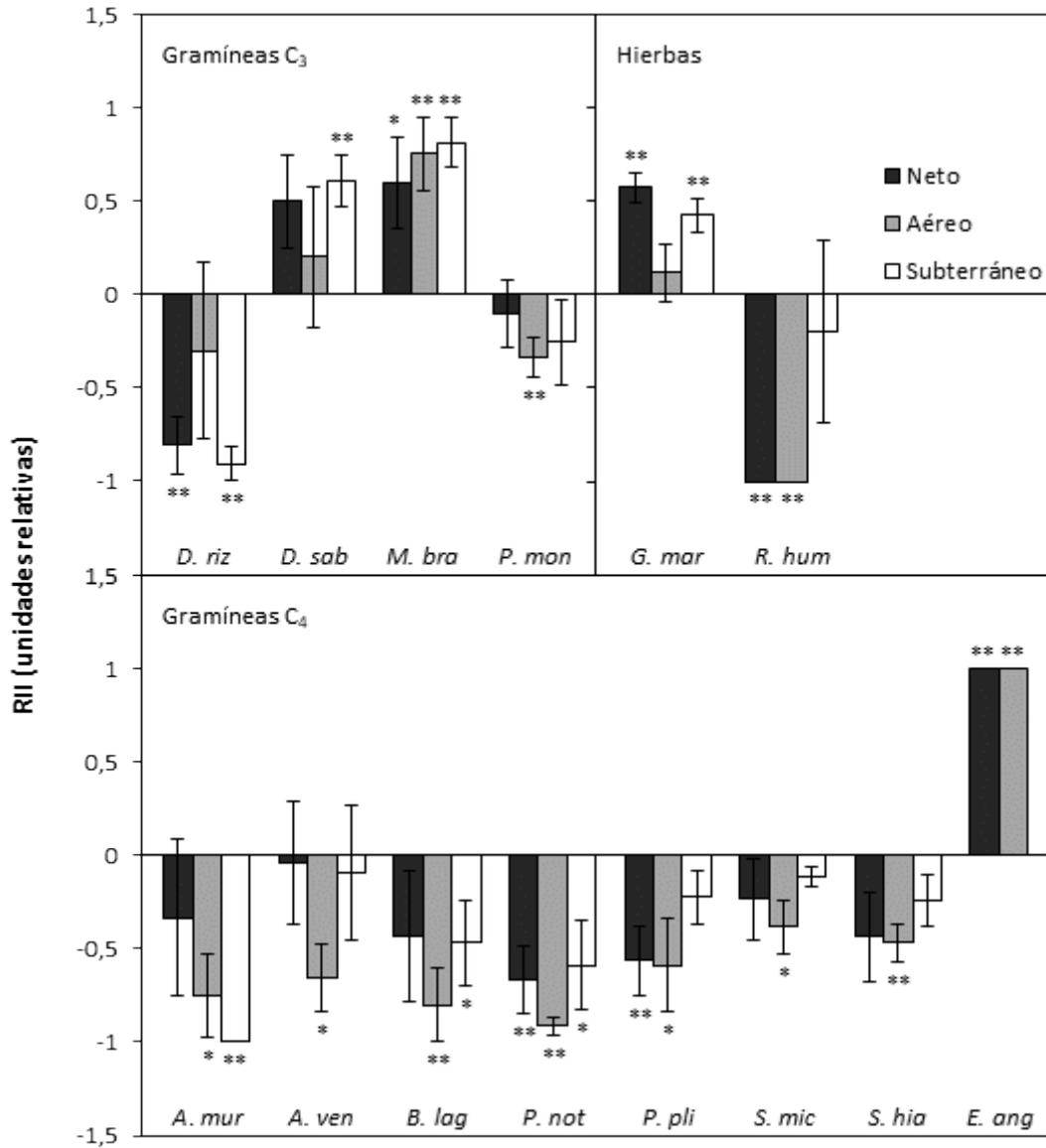


Figura 3.5. Promedio (\pm E. E.) del RII del efecto neto, aéreo y subterráneo de *Acanthostyles buniifolius* en la cobertura de Gramíneas C₃ (*Danthonia rhizomata*, *Dichanthelium sabulorum*, *Melica brasiliana* y *Piptochaetium montevidense*); Gramíneas C₄ (*Aristida murina*, *Aristida venustula*, *Bothriochloa laguroides*, *Paspalum notatum*, *Paspalum plicatulum*, *Schizachyrium microstachyum*, *Steinchisma hians* y *Erianthus angustifolius*) y Hierbas (*Galactia marginalis* y *Richardia humistrata*). Los asteriscos muestran los valores distintos de cero (test *t* de Student, * $p < 0,1$; ** $p < 0,05$).

Tabla 3.3. Promedios de RII de los efectos aéreos y subterráneos del arbusto *Acanthostyles buniifolius* en la cobertura de especies que no difieren estadísticamente de cero (efecto neutro).

TFP	Especies	Aéreo	Subterráneo
Gramíneas C₃	<i>Briza subaristata</i>	-0,24	-0,29
	<i>Danthonia montevidensis</i>	0,11	0,49
	<i>Piptochaetium stipoides</i>	-0,16	0,004
Gramíneas C₄	<i>Andropogon ternatus</i>	-0,3	-0,2
	<i>Axonopus argentinus</i>	-0,04	-0,06
	<i>Axonopus fissifolius</i>	0,15	-0,17
	<i>Coelorachis seloana</i>	-0,03	0,06
	<i>Cynodon dactylon</i>	0,6	-
	<i>Schizachyrium tenerum</i>	0,1	0,18
	<i>Setaria geniculata</i>	-0,07	0,1
Hierbas	<i>Baccharis trimera</i>	0,57	0,7
	<i>Cuphea glutinosa</i>	-0,12	-0,16
	<i>Evolvulus sericeus</i>	-0,24	-0,21
Graminoides	<i>Hypoxis decumbens</i>	-0,1	0,14

Variables abióticas

La disponibilidad de luz disminuyó cerca de un 55% debajo del dosel artificial en comparación con la disponibilidad de luz en las parcelas abiertas. También la temperatura del suelo fue menor bajo el dosel artificial aunque en los meses de verano. Por el contrario, solo hubo una leve tendencia a aumentar la humedad del suelo debido al efecto subterráneo (Tabla 3.4).

Tabla 3.4. Valores promedio de la disponibilidad de luz, la temperatura del suelo y el contenido de agua del suelo en parcelas abiertas (Control), en parcelas con el dosel del arbusto atado (Subterráneo) y debajo del dosel artificial (Aéreo). En negrita valores de T y p significativos derivados del test t de Student.

Variable	Estación	Control	Subterráneo	T	p	Control	Aéreo	T	p
Disponibilidad de luz (luxes)	verano	841	860	1,1	0,28	841	363	8,9	<0,001
	otoño	537	525	0,64	0,54	537	273	15,2	<0,000
	invierno	448	506	1,2	0,30	448	233	6,11	<0,001
	primavera	743	586	1,7	0,13	743	292	10,8	<0,000
Temperatura (°C)	verano	36	34,5	2,0	0,08	36	27,4	11,5	<0,000
	otoño	16,5	15,9	0,78	0,46	16,5	15,4	1,34	0,22
	invierno	12,1	11,6	0,44	0,67	12,1	12,5	0,34	0,75
	primavera	25	24,9	0,05	0,95	25	23,9	1,1	0,29
Humedad del suelo (%)	verano	5,9	6,3	1,84	0,10	5,9	6,0	0,75	0,48
	otoño	10,2	10,7	0,84	0,42	10,2	9,6	0,78	0,48
	invierno	9,5	10,5	1,45	0,19	9,5	9,6	0,33	0,75
	primavera	9,8	11,1	2,4	0,06	9,8	9,6	0,29	0,78

3.4 Discusión

Los resultados obtenidos indican que luego de tres años de exclusión al pastoreo, el arbusto *Acanthostyles buniifolius* ejerce efectos negativos, positivos y neutros sobre la comunidad herbácea. El signo y la intensidad de estos efectos cambian dependiendo del TFP, del metabolismo fotosintético, de las especies involucradas y de si el efecto considerado es el aéreo o el subterráneo. Además, estos efectos tienen influencia en la composición y abundancia de especies de la comunidad vegetal, principalmente en los dos últimos años de estudio. En términos generales, las gramíneas con metabolismo fotosintético C₃ fueron el único tipo funcional beneficiado por la presencia del arbusto, principalmente por un efecto subterráneo positivo. Los otros grupos funcionales de este pastizal no fueron beneficiadas por ningún efecto (aéreo o subterráneo), sino que por el contrario, cuando existió un efecto significativo, éste fue negativo.

Efectos subterráneos de Acanthostyles buniifolius sobre la comunidad herbácea

En concordancia con los resultados obtenidos en el Capítulo 2, el grupo de las gramíneas C₃ fue el único tipo funcional beneficiado por el arbusto *A. buniifolius*. Sin embargo, y contrariamente a lo esperado, el beneficio de este grupo se registró en el tratamiento subterráneo, y no en el tratamiento aéreo (donde se observó un efecto neutro para el grupo en su conjunto). Cuando las especies de este tipo funcional fueron analizadas individualmente, dos de las especies con mayor cobertura (*Melica brasiliensis* y *Dichanthelium sabulorum*) acompañaron la tendencia observada para el grupo, incrementando su cobertura en el tratamiento subterráneo. Típicamente, la facilitación por efectos subterráneos ha sido atribuida a mecanismos mediados por la humedad del suelo y la disponibilidad de nutrientes, mejorando las condiciones biofísicas o biogeoquímicas para el crecimiento herbáceo (Dohn *et al.*, 2013). El aumento de la humedad del suelo debajo de una planta benefactora puede generarse por el mecanismo conocido como ascenso hidráulico (“hydraulic lift”; Richards & Caldwell, 1987), o en su sentido más amplio, como redistribución hidráulica (incluyendo no solo movimientos verticales del agua, sino también movimientos

horizontales). La redistribución hidráulica es un mecanismo que ha explicado la relación positiva entre especies leñosas y herbáceas en ecosistemas de Norteamérica (Caldwell & Richards, 1989; Dawson, 1993; Ryel *et al.*, 2004), Europa (Joffre & Rambal, 1988; Pugnaire *et al.*, 1996) y África (Ludwig, 2001; Ludwig *et al.*, 2003). El efecto positivo del aumento de la humedad del suelo por redistribución hidráulica puede igualar e incluso superar el efecto negativo producido por la competencia entre las raíces (Dohn *et al.*, 2013). Este mecanismo sería particularmente beneficioso para las gramíneas C₃, que en general son poco eficientes en el uso del agua y pierden mucha cantidad de agua por cada molécula de CO₂ fijada. Las raíces del arbusto podrían jugar un papel importante en la provisión de su demanda diaria de agua, y este mecanismo sería más importante que aquel mediado por la reducción de la radiación solar incidente (efecto aéreo) para la disminución del estrés hídrico. Si bien en este trabajo no se observaron diferencias significativas en la humedad del suelo entre los distintos tratamientos, fue en el tratamiento aéreo (con dosel artificial, sin raíces) donde se registraron los valores más bajos de esta variable. Por otra parte, la redistribución hidráulica es un flujo de agua que se produce durante la noche, cuando los estomas de la planta están cerrados (Dawson, 1993). A partir de las primeras horas de la mañana, este flujo se revierte, atendiendo a la demanda transpirativa de las plantas (Richards & Caldwell, 1987). Es posible que en este trabajo no se hayan detectado eventuales diferencias en la humedad del suelo entre los tratamientos, debido a que las mediciones fueron hechas cerca del mediodía, siendo el período del día con mayor demanda evapotranspirativa y varias horas después que las plantas comienzan a absorber el agua del suelo. En consecuencia, en el caso de existir redistribución hidráulica en este sistema, el agua liberada por las raíces durante la noche, probablemente ya había sido utilizada por la vegetación en el momento de la medición de esta variable.

También podría ser factible que el efecto positivo subterráneo esté relacionado con la disponibilidad de nutrientes en el suelo. Las especies C₃ tienen una menor eficiencia en el uso de nitrógeno en comparación con las C₄ (Sage, 1999), y podrían verse beneficiadas si el microhábitat debajo del dosel del arbusto constituyera una “isla de fertilidad”. Para ello sería necesario

conocer el contenido de nutrientes del suelo, lo cual no fue evaluado en esta tesis.

Fuera del grupo de gramíneas con metabolismo C_3 , *Galactia marginalis* (del grupo de las hierbas) fue también favorecida en el tratamiento subterráneo. *Galactia marginalis* fue la única especie de la familia Fabaceae registrada en el estudio y su respuesta podría estar vinculada a uno de los potenciales beneficios de la redistribución hidráulica, que consiste en la provisión de agua a los microorganismos asociados a las raíces finas de las plantas (Muler *et al.*, 2018). En el caso de las leguminosas, este mecanismo podría ser beneficioso de forma indirecta, al favorecer a las bacterias fijadoras de nitrógeno asociadas a las raíces de esta familia de plantas.

A diferencia de lo observado para las gramíneas C_3 , el efecto del tratamiento subterráneo mostró una tendencia negativa para las gramíneas C_4 , y tres especies de este tipo funcional registraron efectos negativos significativos (*Aristida murina*) o marginalmente significativos (*Bothriochloa laguroides* y *Paspalum notatum*). Varios estudios han reportado una disminución del crecimiento de las gramíneas C_4 debido a la competencia por los recursos del suelo con arbustos (Peltzer & Köchy, 2001; Maestre *et al.*, 2003) y árboles (Scholes & Archer, 1997; Ludwig *et al.*, 2004; Dohn *et al.*, 2013) lo que sugiere que la competencia es una interacción importante entre las gramíneas C_4 y las plantas leñosas en los pastizales. El efecto subterráneo negativo del arbusto sobre las gramíneas C_4 es interesante, pensando en el hecho de que este grupo de gramíneas es muy eficiente en el uso de los recursos. Se ha observado que las plantas con metabolismo C_4 tienen una alta eficiencia en el uso del agua (biomasa producida por cantidad de agua transpirada) y del nitrógeno (biomasa producida por cantidad de nitrógeno foliar), lo que les permite ocupar sitios pobres en recursos del suelo (Young & Young, 1983; Sage, 2004; Ripley *et al.*, 2008). Esto se debe a que la alta concentración interna de CO_2 les permite tener altas tasas de fotosíntesis con una baja conductancia estomática, lo que es ventajoso en condiciones de baja disponibilidad de agua en el suelo. Sin embargo, se ha observado que el subtipo metabólico NADP-ME (al cual pertenecen la mayoría de las gramíneas C_4 analizadas) aumenta su cobertura con el incremento de agua en el suelo (Ellis *et al.*, 1980). Aunque las plantas C_4 tienen una elevada eficiencia en el

uso del agua en ambientes secos y calurosos, la sensibilidad del subtipo NADP-ME a la falta temporal de agua, así como su lenta recuperación luego de una sequía, han sido demostradas empíricamente (Ripley *et al.*, 2010; Taylor *et al.*, 2011).

Resulta llamativa la respuesta diferencial de las gramíneas C₃ y C₄ al efecto subterráneo del arbusto, la cual podría deberse a la fenología de las plantas. A diferencia de las gramíneas C₃ (de crecimiento invernal), tanto las gramíneas C₄ como el arbusto son de crecimiento estival, con su máximo período de crecimiento durante la estación del año con mayor déficit hídrico (Cruz *et al.*, 2014). En estas condiciones, el agua constituye un recurso muy limitante, y los posibles efectos positivos subterráneos del arbusto generados por la redistribución hidráulica se podrían ver anulados por una intensa competencia por agua. Esto coincide con la propuesta de Maestre *et al.* (2009), que predicen que cuando existe un alto nivel de estrés inducido por un recurso (e.g. agua) y ambas especies interactuantes tienen similares estrategias de vida (e.g. competidoras o tolerantes al estrés), la interacción esperada es de competencia, más que de facilitación.

Contrariamente a lo esperado, no se detectó un efecto subterráneo negativo del arbusto en la riqueza o en la cobertura de las hierbas o de los gramínoideos, lo que estaría indicando que (a) existe una segregación espacial importante entre las raíces de estas herbáceas y las raíces del arbusto (Jackson *et al.*, 1996), minimizando la competencia subterránea (Nippert & Knapp, 2007), o (b) la redistribución hidráulica estaría compensando los efectos negativos de la competencia.

Efectos aéreos de Acanthostyles buniifolius sobre la comunidad herbácea

El tratamiento aéreo no tuvo efectos significativos sobre las gramíneas C₃, a excepción de *M. brasiliensis*, que fue beneficiada. La reducción de la radiación incidente y temperatura, con el consiguiente mejoramiento del estado hídrico de las plantas debajo del dosel de una planta, constituye uno de los principales mecanismos que subyace en la hipótesis del gradiente de estrés (Bertness & Callaway, 1994). En general, las gramíneas C₃ son más abundantes en lugares frescos y sombreados que en los sitios abiertos (Klink & Joly, 1989) ya que las altas temperaturas y los altos niveles de radiación solar

promueven la pérdida de parte del CO₂ fijado por fotorrespiración (Edwards *et al.*, 2010). Por lo tanto era esperable que la riqueza o cobertura de las gramíneas C₃ fueran mayores debajo del dosel artificial que en las parcelas sin arbusto. Una posible explicación a la ausencia de efectos aéreos es que en los sitios abiertos, la acumulación de hojas secas y el aumento del tamaño de las plantas debido a la remoción del ganado, pudieron haber creado un microclima similar al que se genera debajo del dosel del arbusto, promoviendo la reducción de la radiación solar incidente y de la temperatura a nivel del suelo (Facelli & Pickett, 1991). Por lo tanto, desde la perspectiva del efecto aéreo, a las gramíneas C₃ les sería indistinto crecer en sitios abiertos o debajo de un arbusto dentro de una exclusión al ganado.

En relación a las gramíneas C₄, los resultados del Capítulo 2 muestran que *A. buniifolius* tuvo un efecto neto negativo sobre la riqueza y cobertura de este tipo funcional. En el presente capítulo se pudo determinar que este efecto negativo se debió principalmente al efecto aéreo del arbusto. Casi la totalidad de las gramíneas C₄ se vieron desfavorecidas por el sombreado y cerca de la mitad tuvo una reducción significativa de su cobertura. Las plantas con metabolismo C₄ tienen altos costos energéticos para la fijación de CO₂ (Watcharamongkol *et al.*, 2018), que pueden compensar mediante altas tasas de fotosíntesis, para lo cual necesitan estar expuestas a la luz solar directa (Sage, 2004). Esto limita su crecimiento y distribución en ambientes con baja disponibilidad de radiación solar (Sonawane *et al.*, 2018), como los hábitats boscosos, donde prevalece una menor luminosidad y las temperaturas son bajas (Sage *et al.*, 1999). Los resultados de este capítulo apoyan evidencias de sistemas naturales (Lett & Knapp, 2003) y experimentos de invernadero (Altesor *et al.*, 2017), en donde la disponibilidad de luz ha sido señalada como el factor que más limita el crecimiento de las gramíneas C₄.

A diferencia del patrón general observado para las gramíneas C₄, la especie *Erianthus angustifolius* fue beneficiada por el tratamiento aéreo. Esta especie es una gramínea de gran porte, formadora de maciegas que pueden superar el metro de altura, y es la especie dominante en algunas comunidades de la región de estudio (Lezama *et al.*, 2019). Debido a su gran porte, es una buena competidora por la luz, y recientemente ha sido demostrado que la

germinación de sus semillas es indiferente al régimen lumínico (López-Mársico *et al.*, 2019).

La cobertura del tipo funcional de los gramínoideos fue afectada negativamente por el sombreado del arbusto. A nivel de especie, debido a problemas taxonómicos, solo fue posible realizar el análisis para *Hypoxis decumbens* (Hypoxidaceae), cuyo efecto fue neutro. En relación a este grupo, se ha observado que las ciperáceas y las juncáceas (el componente mayoritario de los gramínoideos) requieren mucha luz y altas temperaturas para germinar (Schütz & Rave, 1999). En los pastizales de Uruguay, las ciperáceas y las juncáceas son más abundantes en los sitios pastoreados, en donde la cantidad de radiación solar que alcanza el suelo no limita el crecimiento de la vegetación (Altesor *et al.*, 2006).

En el caso de las hierbas, el efecto aéreo fue marginalmente negativo para el grupo en su conjunto. Estos resultados coinciden con los obtenidos en otros pastizales méxicos en donde la menor riqueza y cobertura de hierbas se observó debajo de los arbustos (Lett & Knapp, 2003). A nivel de especie, la respuesta al tratamiento aéreo fue significativa en un solo caso (*Richardia humistrata*, Rubiaceae), una especie postrada de hojas pequeñas, muy frecuente en sistemas pastoreados que disminuye rápidamente su abundancia en áreas clausuradas (Altesor *et al.*, 2005), indicando una baja tolerancia a condiciones de sombreado. El grupo de las hierbas es rico en especies pero muy heterogéneo desde el punto de vista taxonómico y de su distribución espacial. La mayoría de las especies censadas fueron muestreadas en menos de 3 parcelas pareadas, indicando que existe una baja fidelidad de estas especies a un microhábitat determinado. Como se señaló en el Capítulo 2, es altamente probable que la heterogeneidad interna del grupo impida encontrar patrones generales y por lo tanto sería deseable definir posibles subgrupos funcionalmente diferentes.

En resumen, los resultados de este capítulo contribuyen al conocimiento sobre las interacciones entre arbustos y especies herbáceas en pastizales subhúmedos de Uruguay. El diseño experimental permitió separar los efectos aéreos y los subterráneos del arbusto *A. buniifolius* sobre la riqueza y la cobertura de especies herbáceas. Se destaca el efecto subterráneo positivo del

arbusto en la cobertura de las gramíneas C₃. Por otra parte las gramíneas C₄, las hierbas y los gramínoides se vieron perjudicados por el sombreado del arbusto. Esto muestra la complejidad de las interacciones entre las especies en los ecosistemas naturales. El arbusto *A. buniifolius* es una especie que generalmente se trata de eliminar de los sistemas pastoriles (Sarroca & Strauch, 1994). Sin embargo, los arbustos pueden jugar un papel importante en el mantenimiento de la riqueza y abundancia de especies de este pastizal, especialmente de aquellas más sensibles a la falta de agua. De esta manera, podrían amortiguar los cambios climáticos previstos para los próximos años como los eventos extremos de sequía que se proyectan para la región (Epstein *et al.*, 2002).

Anexo 3.1

En esta tesis se usó al espacio abierto como referencia o “control”, de tal forma de mantener el mismo control para los tres efectos (neto, aéreo y subterráneo). Una forma alternativa de evaluar el efecto aéreo y subterráneo del arbusto consiste en usar al arbusto intacto como control, variando el cálculo de las diferencias (Figura 3.6).

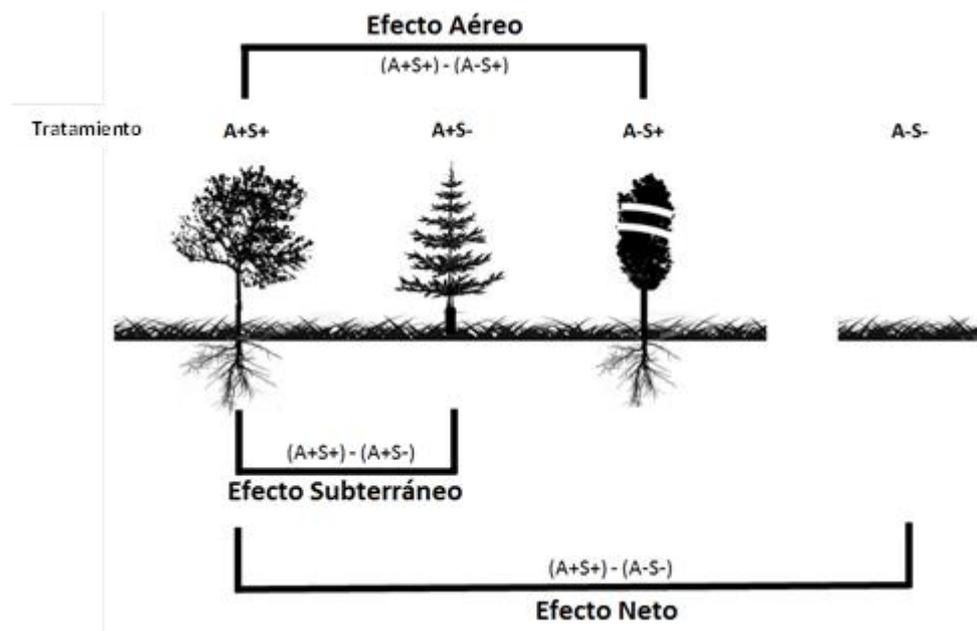


Figura 3.6. Modo alternativo para el cálculo del efecto neto, aéreo y subterráneo del arbusto, usando al arbusto intacto como control.

En la Figura 3.7 se muestran los resultados del RII calculado de esta forma alternativa. Se puede observar que las tendencias son las mismas que en el análisis en el que se usó al espacio abierto como control, si bien hay menos efectos significativos.

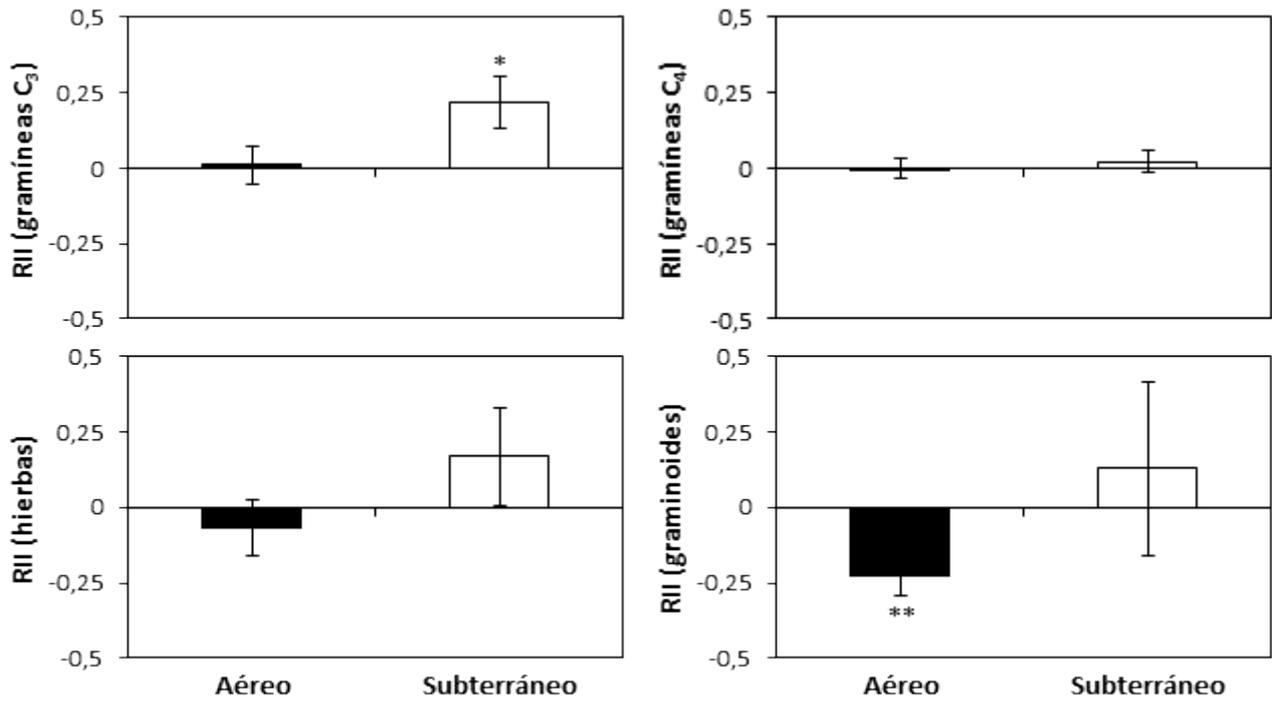


Figura 3.7. Efecto aéreo y subterráneo del arbusto *Acanthostyles buniifolius* sobre la cobertura de los Tipos Funcionales de Plantas (Gramíneas C₃; Gramíneas C₄; Hierbas y Graminoides), usando al arbusto intacto como control. Se muestran los valores promedio (n= 5) y el error estándar del RII. Los asteriscos muestran que los valores difieren de cero (Test *t* de Student, **p*<0.1; ***p*< 0,05).

Anexo 3.2

Tabla 3.5. Frecuencia promedio (n= 5) de los 81 taxones identificados en los tres tratamientos: control (A⁻S⁻); aéreo (A⁺S⁻; dosel artificial) y subterráneo (A-S+, arbusto atado) a lo largo de los cuatro muestreos. Se detectaron 49 taxones en la familia Poaceae (Poa); 10 en Asteraceae (Ast); cuatro en Rubiaceae (Rub); dos en Apiaceae (Api); Convolvulaceae (Con), Cyperaceae (Cyp), Orobanchaceae (Oro) y en Plantaginaceae (Pla); uno en Amaranthaceae (Ama), Fabaceae (Fab), Hypoxidaceae (Hyp), Juncaceae (Jun), Labiatae (Lab), Lythraceae (Lyt), Moraceae (Mor), y en Oxalidaceae (Oxa).

Especie	Familia	Frecuencia promedio											
		2013			2014			2015			2016		
		A-S-	A-S+	A+S-	A-S-	A-S+	A+S-	A-S-	A-S+	A+S-	A-S-	A-S+	A+S-
Gramíneas C₃													
<i>Agrostis montevidensis</i>	Poa	0	0	0	0,2	1	0,8	0	0	0	0	0	0
<i>Agrostis sp.</i>	Poa	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Briza brizoides</i>	Poa	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Briza subaristata</i>	Poa	0	0,2	0,2	2,2	3,6	3,6	4,2	3	3	0	1,6	1,8
<i>Calamagrostis alba</i>	Poa	0	0	0	0	0,4	0,4	0	0,8	1,8	0	1	0
<i>Calamagrostis montevidensis</i>	Poa	0	0	0	0,6	0	0	0	0,6	0,2	0	0,8	0,6
<i>Calamagrostis sp.</i>	Poa	0	0,2	0	0	1	0,2	0	0	0	0	0	0
<i>Danthonia cirrata</i>	Poa	0,2	0,2	0,8	0	0	0,2	0,2	2	1,8	0	0	0
<i>Danthonia montevidensis</i>	Poa	0	0	0,2	0	0	0,4	0	0	0	2,6	10	3
<i>Danthonia rizomata</i>	Poa	4,6	11	8,2	4,4	4,8	2,6	4,6	2,8	2,2	2,4	0,2	0,6
<i>Danthonia sp.</i>	Poa	0	0	0	0,4	0,2	0,8	0	0	0	0	0	0
<i>Dichanthelium sabulorum</i>	Poa	0	6,6	9,6	1,8	8	13	1	9,6	12,2	4,2	17,6	13
<i>Melica rigida</i>	Poa	0	0	0	0	0,4	0	0	0	0	0	0	0
<i>Melica brasiliana</i>	Poa	0	0,8	1,2	0,2	0,4	0,2	0	2,8	4,6	0,4	3,8	4,2
<i>Microbriza poaeomorpha</i>	Poa	0	0	0	0	0,4	0	0	0,2	1,8	0	0,6	0,2
<i>Nassella charruana</i>	Poa	0	0	0	0	0	0,2	0,2	0	0,2	0	0	0
<i>Nassella neesiana</i>	Poa	0	0	0	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0,2
<i>Nassella papposa</i>	Poa	0	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Nassella pauciciliata</i>	Poa	0	0	0	0	0,4	0,2	0	0	0	0	0	0
<i>Piptochaetium montevidense</i>	Poa	7	17,6	14,6	18,6	17,8	17	16	21,8	17	14	9,8	7,2
<i>Piptochaetium stipoides</i>	Poa	2,2	7	3	6,2	6,2	4	8,8	12,2	6,4	8,4	11	7
Gramíneas C₄													
<i>Andropogon ternatus</i>	Poa	1	8,2	13,8	5,2	9	8,6	6,6	9,8	6,8	8	5,4	4,2
<i>Aristida murina</i>	Poa	5,6	0,8	3	3	0,4	3,2	3,8	0,2	1	1,8	0	1
<i>Aristida uruguayensis</i>	Poa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,4	0,2	0
<i>Aristida sp.</i>	Poa	0	0	0,2	2,6	2,4	0,4	0	0	0	0	0	0
<i>Aristida venustula</i>	Poa	13,6	7,8	7,8	6,6	1	4,6	12,4	3,8	2,6	8,8	3,4	2,6
<i>Axonopus argentinus</i>	Poa	1,2	6,4	4	5	15,8	14,6	5,2	12,6	9,4	4,8	10,4	8,2
<i>Axonopus fissifolius</i>	Poa	4	9	9,8	8,6	10	18,4	7,2	10,2	9,8	6,8	8	6,2
<i>Bothriochloa laguroides</i>	Poa	4,8	6,6	5,6	6,8	4	2,6	3,2	3,8	2,8	1,6	0,8	0,4
<i>Coelorachis seloana</i>	Poa	10,6	8,8	7	25	28	23	29,8	29	34,4	29,8	33	29,2
<i>Cynodon dactylon</i>	Poa	0,2	0,2	2,4	1,4	0	3,4	0,2	0	7,4	0,8	0	8,6
<i>Eragrostis bahiensis</i>	Poa	0	0	0	0	0	0	0,6	0	0	0,8	0	0
<i>Eragrostis lugens</i>	Poa	0	0,8	0	0,2	0	0,2	0	0	0	0	0	0
<i>Eragrostis neesii</i>	Poa	3,6	0,2	0,6	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eragrostis retinens</i>	Poa	0	0	0	0,2	0	0,4	0	0	0	0	0	0
<i>Eragrostis sp.</i>	Poa	0	0,2	1,4	0	0	0,4	0	0	0	0	0	0
<i>Gymnopogon sp.</i>	Poa	0	0	0	0	0,2	0	0	0,4	0	0	0,6	0
<i>Leptocoryphium lanatum</i>	Poa	0	0	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Panicum sp.</i>	Poa	0	0	0	0	0	0	0	0	0,2	0	0	0
<i>Paspalum dilatatum</i>	Poa	0,8	0,2	0,4	1,4	0,2	0,2	0	0	0	0	0	0
<i>Paspalum notatum</i>	Poa	25,8	10	8,4	35,4	7,4	7,6	21,8	7,2	4,4	14,4	2	1
<i>Paspalum plicatulum</i>	Poa	10,4	8,8	6,8	28,6	19	16,8	20,6	19,8	14	21	9,8	6,4
<i>Paspalum pumilum</i>	Poa	0	0	0	0	0	0,8	0	0	0,4	0	0	0
<i>Saccharum angustifolium</i>	Poa	0	0,2	0	0	1	0,4	0	2,6	3,8	0	1,8	12,6
<i>Schizachyrium microstachyum</i>	Poa	0,4	1	1,6	7,8	9,6	13,8	11,4	19,6	17,4	9,8	8	4,2
<i>Schizachyrium spicatum</i>	Poa	0,2	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Schizachyrium tenerum</i>	Poa	2,2	1,4	5,4	4,6	10	8	9,2	20	22,8	15,8	27,2	22,4
<i>Setaria geniculata</i>	Poa	1,2	0,2	0,4	0	0	0	0	0,4	0	1,4	0,8	0,6
<i>Steinchisma hians</i>	Poa	2,6	4	5,6	9,6	10,2	10	7,8	10,2	6	8	6	3,2
Hierbas													
<i>Agalinis communis</i>	Oro	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

<i>Baccharis articulata</i>	Ast	0	0	0	0	0	1,2	0	0	0	0	0	0
<i>Baccharis ochracea</i>	Ast	1	0,2	0,2	0	0	0	0	0,4	0,2	0	0,2	0
<i>Baccharis trimera</i>	Ast	0	0,6	0,4	0	3,4	0,8	0,2	2,4	2,4	1,2	7,4	5,2
<i>Buchnera integrifolia</i>	Oro	0	0	0,2	0	0	0	0,2	0	0	0	0	0
<i>Chaptalia exscapa</i>	Ast	0	0	0,4	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chaptalia piloselloides</i>	Ast	0,2	0	0,2	0,2	0	0	0,4	0,8	0	1	0	0
<i>Chevreulia acuminata</i>	Ast	0	0	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chevreulia sarmentosa</i>	Ast	3,6	1,8	1,8	0,4	0,2	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cuphea glutinosa</i>	Lyt	0,2	0	0,4	0,4	0,2	0,6	0,4	0,4	0,2	0,2	0,8	0
<i>Dichondra sericea</i>	Con	0,2	0,6	0,2	0	0,2	0	0	0	0	0,2	0	0,2
<i>Dorstenia brasiliensis</i>	Mor	0	0	0	0	0,2	0,2	0	0	0,4	0	0	0
<i>Eryngium horridum</i>	Api	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eryngium nudicaule</i>	Api	0,2	0,4	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0
<i>Evolvulus sericeus</i>	Con	11,6	4,2	4,4	14,2	4,6	3,6	13,4	5	2,6	16,6	6,2	3,8
<i>Galactia marginalis</i>	Fab	0,4	2,4	2	0,8	2	2,6	1,2	4,4	3,4	1,4	3,6	2,2
<i>Galium richardianum</i>	Rub	0	0	0	0,2	0	0	0,2	0	0,2	0	0	0
<i>Galium uruguayense</i>	Rub	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,4	0,2
<i>Gamochaeta sp.</i>	Ast	0	0,2	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Labiada sp.</i>	Lab	0	0	0	0	0	0	0	0	0,2	0	0	0
<i>Mecardonia sp.</i>	Pla	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0,2	0
<i>Oxalis eriocarpa</i>	Oxa	0	0	0	0	0	0	0	0,2	0	0	0,2	0
<i>Pfaffia tuberosa</i>	Ama	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,2
<i>Richardia humistrata</i>	Rub	1,2	6,4	1,6	0,6	1,4	0	1,2	0,2	0,4	0,8	0,6	0
<i>Richardia stellaris</i>	Rub	1,6	1,2	2,4	0,4	0,4	0	0	0	0	0	0	0,2
<i>Scoparia montevidensis</i>	Pla	0,6	0	0,2	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Stenandrium sp.</i>	Aca	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Senecio selloi</i>	Ast	0	0	0	0	0,4	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sommerfeltia spinulosa</i>	Ast	0,6	1	0	0,8	1,2	1,2	1,2	0,6	0,2	0,8	0,4	0,6
Graminoides													
<i>Cyperus sp.</i>	Cyp	24,2	22,6	18	40	29	33,4	14,4	9,4	2,2	9,6	5	3,2
<i>Eleocharis sp.</i>	Cyp	2,4	2	3,8	1,6	0	1,6	0	0	0	0	0	0
<i>Hypoxis decumbens</i>	Hyp	0	0,8	1	0,2	0,2	0,2	1,4	0,6	2,4	1,8	3	2,2

Capítulo 4: Efectos del pastoreo y del arbusto *Acanthostyles buniifolius* sobre la emergencia y el establecimiento de plántulas de un pastizal de la región este de Uruguay

4.1 Introducción

El reclutamiento de plántulas es un proceso clave que afecta la viabilidad de las poblaciones en el largo plazo y la estructura de las comunidades vegetales (Nathan & Muller-Landau, 2000; Ren *et al.*, 2008; Costa *et al.*, 2017). Este proceso de incorporación de individuos a una población, puede variar tanto espacial como temporalmente, dependiendo de la producción y dispersión de semillas viables y de su existencia en el banco de semillas. Además, las condiciones ambientales, la disponibilidad de micrositios adecuados para la germinación, la supervivencia y el crecimiento de las plántulas también actúan como un filtro para el reclutamiento de individuos (Bissels *et al.*, 2006; Zimmermann *et al.*, 2008). Las plántulas recientemente emergidas son pequeñas y no tienen la capacidad de hacer frente a condiciones adversas, por lo que son extremadamente sensibles a los factores abióticos y bióticos del ambiente (Lloret *et al.*, 2004; Eriksson & Ehrlén, 2008). La mayoría de las plántulas mueren después de la emergencia debido a la elevada radiación solar y/o temperatura, a la falta de agua y nutrientes, a la competencia con otras plantas o a la herbivoría (Fenner & Thompson, 2005). Como resultado, el establecimiento de nuevos individuos es un evento esporádico en la mayoría de los ecosistemas terrestres y es el principal cuello de botella en la historia de vida de la mayoría de las especies vegetales (Kitajima & Fenner, 2000; Benson & Hartnett, 2006; Graae *et al.*, 2011).

Aunque la vegetación establecida puede reducir el reclutamiento de plántulas por competencia, algunas especies (denominadas "plantas nodrizas") pueden beneficiar a las plántulas mediante la mejora de las condiciones abióticas y/o la protección frente a la herbivoría y facilitar su establecimiento (Bruno *et al.*, 2003; Holmgren & Scheffer, 2010; He *et al.*, 2013). El refugio proporcionado por una planta nodriza protege a las plántulas de la elevada radiación solar, amortigua las temperaturas extremas, limita la pérdida de agua (Shreve, 1931; Turner *et al.*, 1966; Castro *et al.*, 2002) y brinda protección a las semillas y plántulas contra la depredación y posibles daños mecánicos (Steenbergh & Lowe, 1977; Valiente-Banuet & Ezcurra, 1991; García & Obeso, 2003). De esta manera el micro-ambiente generado por una planta nodriza

reduce la fotoinhibición, el estrés térmico y la tasa de transpiración de las plántulas (Bonanomi *et al.*, 2011). Las plantas nodrizas también pueden modificar las condiciones del suelo mediante el aumento de la humedad, la materia orgánica o la disponibilidad de nutrientes y la estabilización del sustrato (Flores & Jurado, 2003). En los sistemas pastoriles, algunas plantas pueden reducir la probabilidad de detección y/o la vulnerabilidad de las plántulas frente a los grandes herbívoros a través del ocultamiento y de elementos físicos (espinas) o químicos (toxinas) disuasivos (Rebollo *et al.*, 2002; Barbosa *et al.*, 2009; Louthan *et al.*, 2014). Por lo tanto, la presencia de plantas nodrizas juega un papel importante en el reclutamiento de plántulas y en el mantenimiento de la biodiversidad en distintos ambientes.

Si bien desde hace casi un siglo ya se había propuesto que en algunas condiciones el reclutamiento de especies ocurría mayormente debajo de plantas ya establecidas (Shreve, 1931), no fue hasta las últimas décadas que la facilitación comenzó a ser incorporada a la teoría ecológica (Bruno *et al.*, 2003). Se ha propuesto que el efecto positivo de las plantas nodrizas aumentaría directamente al aumentar el estrés físico o la presión de herbivoría (Bertness & Callaway, 1994). Por lo tanto, el papel facilitador de las plantas nodrizas en el reclutamiento de plántulas se ha probado comúnmente en ecosistemas áridos, semiáridos y subalpinos (Michalet & Pugnaire, 2016). Sin embargo, como las plántulas son altamente sensibles a las condiciones abióticas y bióticas, la presencia de plantas nodrizas también podría ser importante en ambientes menos estresantes (Holmgren & Scheffer, 2010) o en situaciones de pastoreo. No obstante, la evidencia empírica sobre los efectos facilitadores en el reclutamiento de plántulas es escasa en ambientes sub-húmedos.

A lo anteriormente mencionado, hay que agregar que las interacciones entre plantas son dinámicas y su signo e intensidad pueden variar a lo largo de la ontogenia de los individuos (Miriti, 2006). El efecto de una especie sobre otra puede cambiar, debido a que las plantas experimentan distintas tolerancias a los factores extrínsecos en diferentes etapas de su desarrollo (Soliveres *et al.*, 2010). Por lo tanto una planta nodriza puede ser positiva para un individuo en una etapa de su vida y negativa en otra.

El estrés abiótico y la presión de pastoreo a menudo ocurren simultáneamente en la naturaleza y su combinación puede agravar los efectos

perjudiciales que generan ambos tipos de estrés cuando actúan individualmente (Maalouf *et al.*, 2012; Koerner & Collins, 2014). Este tema es de particular relevancia en ecosistemas continuamente perturbados por actividades antrópicas, como los pastizales dedicados a la producción ganadera (Oesterheld & Sala, 1990; Loeser *et al.*, 2007). En este ecosistema manejado, la presencia de arbustos puede relajar estos filtros ambientales mediante la mejora de las condiciones abióticas y la protección frente al pastoreo, proporcionando sitios seguros para la supervivencia y el crecimiento de las plántulas que crecen asociadas (Aguilar & Sala, 1999). Muchas especies de arbustos son tóxicas o tienen espinas u hojas duras y actúan como una barrera que impide que el ganado acceda a sus vecinos. De esta manera, los individuos protegidos por los arbustos pueden alcanzar la etapa adulta y actuar como fuentes de semillas y mantener las poblaciones localmente viables a través de los efectos de masa (Bulleri *et al.*, 2016).

El pastoreo es uno de los factores bióticos que más influye en la estructura y el funcionamiento de los pastizales templados (Altesor *et al.*, 1998; Woodis & Jackson, 2008; Lezama *et al.*, 2014). El consumo de biomasa por el ganado, el pisoteo y la deposición de heces y orina, afectan tanto la composición de especies vegetales como la productividad primaria de estos ecosistemas (Lezama & Paruelo, 2016). En los pastizales subhúmedos, el pastoreo aumenta la cobertura y riqueza total de especies, la abundancia de gramíneas C₄ postradas y cambia la identidad de las especies dominantes (Milchunas & Lauenroth, 1993; Rusch & Oesterheld, 1997; Rodríguez *et al.*, 2003). Además, el pastoreo puede conducir a un aumento de los efectos de facilitación como resultado de la protección que algunas especies no palatables brindan a las especies más consumidas por el ganado cuando crecen asociadas (Nöell-Estapé *et al.*, 2013; Fernández *et al.*, 2019). Desafortunadamente, el efecto del pastoreo sobre el reclutamiento de nuevos individuos a partir de semillas es desconocido para pastizales uruguayos. Sin embargo, en la Pampa Inundable, Oesterheld & Sala (1990) observaron que el pastoreo promueve el reclutamiento de individuos a partir de semillas, en comparación con sitios clausurados al ganado, debido a una mayor generación de sitios seguros (“safe sites”, sensu Harper, 1977).

En este capítulo, se evaluó el efecto del pastoreo y del arbusto *Acanthostyles buniifolius* sobre la emergencia y el establecimiento de plántulas en un pastizal subhúmedo de Uruguay. Específicamente, se cuantificó los efectos sobre la abundancia, la emergencia, la mortalidad, la longevidad y la riqueza de morfoespecies de las plántulas a lo largo de dos años.

Objetivo general

El objetivo general de este trabajo fue evaluar el efecto del pastoreo y del arbusto *Acanthostyles buniifolius*, sobre la estructura y la dinámica de la comunidad de plántulas de un pastizal de Uruguay.

Objetivos específicos:

- 1) Evaluar, durante dos años, en parcelas pastoreadas y excluidas al ganado, y en parcelas con presencia y ausencia del arbusto:
 - a) el número acumulado de plántulas de dicotiledóneas y monocotiledóneas emergidas
 - b) la dinámica temporal de la abundancia, la emergencia y la mortalidad de plántulas de dicotiledóneas y monocotiledóneas
 - c) la longevidad de las plántulas

- 2) En el último año de muestreo, evaluar los efectos del arbusto y del pastoreo sobre la riqueza de morfoespecies de dicotiledóneas y monocotiledóneas.

- 3) Determinar el efecto del arbusto sobre la radiación incidente, la temperatura superficial del suelo y la humedad del suelo, en condiciones de pastoreo y de micro-exclusiones.

Hipótesis

El mejoramiento microclimático y la protección frente al pastoreo debajo del dosel del arbusto serán positivos para la emergencia y sobrevivencia de las plántulas. Por lo tanto, se espera que debajo del arbusto aumente la riqueza, abundancia y longevidad de las plántulas en comparación con los sitios abiertos. Por otro lado, la estructura de la canopia y el ambiente lumínico a

nivel del suelo en las áreas pastoreadas favorecerán el reclutamiento de individuos en comparación con sitios clausurados al ganado.

4.2 Materiales y métodos

Sitio de estudio

Las características del sitio de estudio y de la especie *A. buniifolius* se describen en detalle en el Capítulo 2 de esta tesis.

Diseño experimental

En un área pastoreada del sitio de estudio se delimitaron cinco cuadrantes de 25 m² que tuvieran dos arbustos de tamaño similar (cobertura del dosel de 1 m²), separados entre sí por al menos tres metros. Debajo de ambos arbustos se marcó una parcela permanente de 1m² con el arbusto en el centro de la parcela. Además, adyacente a cada una de estas parcelas, se delimitó una parcela abierta (sin arbusto) de 1 m² (Total: 20 parcelas; 10 con arbusto y 10 sin arbusto). Todas las parcelas fueron marcadas con una barra de metal insertada en cada esquina. Al comienzo de la primavera (setiembre de 2015), la mitad de las parcelas con arbustos y de las parcelas abiertas, se vallaron con una jaula de metal (1,2 m de lado x 1 m de altura) revestida con malla de alambre. Las jaulas fueron diseñadas para proteger a las plántulas del pastoreo, sin modificar las condiciones abióticas. De esta manera se instalaron cuatro tratamientos con cinco réplicas cada uno, en un diseño factorial completo: arbusto (presente o ausente) y pastoreo (presente o ausente). Desde la instalación del experimento (setiembre de 2015), hasta setiembre de 2017, se realizaron 18 censos de plántulas en cada uno de los tratamientos, distribuidos lo más homogéneamente posible en el tiempo (aproximadamente un censo cada 40 días). Los censos se llevaron a cabo con la ayuda de un cuadro de 1 m² dividido en 100 subparcelas de 10 cm de lado. El seguimiento de las plántulas se realizó en 20 subparcelas (unidad censal: 0,2 m²) sorteadas al inicio del estudio. En el primer censo, todas las plántulas presentes en las subparcelas sorteadas fueron registradas como monocotiledóneas o dicotiledóneas y marcadas con un anillo de metal para seguir su destino. En los

censos posteriores, se registró la sobrevivencia de las plántulas marcadas previamente y se marcaron las nuevas plántulas emergidas. A lo largo del experimento, se censaron un total de 7200 subparcelas (20 subparcelas x 4 tratamientos x 5 réplicas x 18 censos). En el último censo, se colectaron todas las plántulas presentes en las subparcelas y se llevaron al laboratorio para su identificación. Debido a la dificultad de identificar todas las plántulas a nivel de especie o género, la identificación se hizo a nivel de morfoespecie.

Durante los dos años que duró el experimento, se realizó el seguimiento de las condiciones abióticas (la cantidad de luz incidente, la temperatura del suelo y la humedad del suelo) en las 20 parcelas. Todas las variables abióticas se midieron cada 45 días alrededor del mediodía. La luz incidente se midió al nivel del suelo (10 cm de altura) utilizando un luxómetro digital (Tondaj LX1010B). La temperatura de la superficie del suelo se midió usando un termómetro infrarrojo (Nicety ST530) y la humedad del suelo se midió a una profundidad de 10cm con un sensor de humedad (Extech MO750).

Análisis de los datos

La abundancia, la emergencia y la mortalidad de plántulas registradas en cada censo, fueron promediadas por estación para los dos años. La mortalidad fue calculada como el número de individuos muertos al tiempo t (M_t) sobre el total de individuos presentes en el tiempo $t-1$ (N_{t-1}):

$$\text{Mortalidad} = M_t / N_{t-1}.$$

La longevidad (número de días que las plantas fueron registradas vivas) se calculó para el primer año de estudio.

El número acumulado de plántulas emergidas (número total de plántulas emergidas durante los dos años), la longevidad y la riqueza de morfoespecies del último censo, fueron analizados mediante ANOVA de dos vías con la presencia del arbusto y el pastoreo como efectos fijos. La dinámica temporal de la abundancia, la emergencia y la mortalidad de las plántulas fueron analizadas a través de ANOVA de dos vías con medidas repetidas, con la presencia del arbusto y el pastoreo como efectos fijos. La longevidad de las dicotiledóneas y monocotiledóneas se comparó a través del test t de Student. Todas las variables fueron analizadas para ver si cumplían los supuestos de normalidad y homocedasticidad. El número acumulado de plántulas emergidas, la

abundancia de plántulas registradas en cada estación del año y la longevidad, fueron transformados a la función $\log(n+1)$ para cumplir con los supuestos de homocedasticidad y homogeneidad de varianza del ANOVA (Zar, 1996). Se hicieron pruebas de Fisher LSD para comparaciones “a posteriori” cuando fue necesario. El efecto del arbusto en las condiciones abióticas fue analizado con el test de Kruskal-Wallis. Los análisis estadísticos se realizaron con los programas Statistica e Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2017).

4.3 Resultados

A lo largo de los dos años de estudio, se registraron 2779 plántulas, de las cuales el 75,5% fueron dicotiledóneas. El mayor número acumulado de plántulas en una parcela fue 362 (equivalente a unas 100 plántulas/m²), registrado en una parcela abierta bajo pastoreo. El menor número fue 55 plántulas (equivalente a unas 15 plántulas/m²), en una parcela con arbusto y protegida contra el ganado.

El arbusto y el pastoreo tuvieron efectos opuestos en el número acumulado de plántulas de dicotiledóneas emergidas. El número de plántulas emergidas debajo de los arbustos fue un 57% menor en relación a las parcelas sin arbusto. Por el contrario, el número de plántulas emergidas en las parcelas pastoreadas fue un 56% mayor en relación a las parcelas clausuradas al pastoreo. En el caso de las monocotiledóneas, la tendencia fue similar, pero ni el arbusto ni el pastoreo afectaron de manera significativa el número de plántulas emergidas (Figura 4.1, Tabla 4.1).

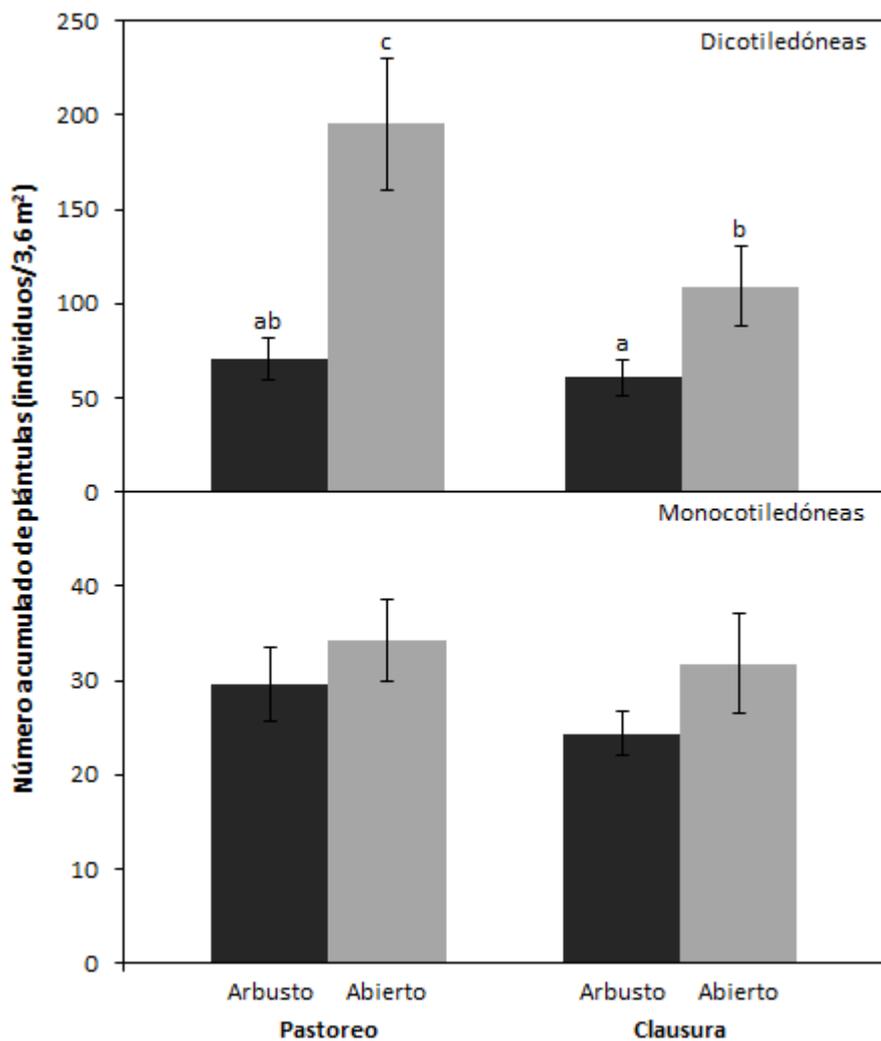


Figura 4.1. Número acumulado de plántulas de dicotiledóneas y de monocotiledóneas emergidas durante dos años en los diferentes tratamientos (Promedio \pm E.E.). Las distintas letras indican diferencias significativas entre los tratamientos derivadas del ANOVA de dos vías (LSD Fisher; $p < 0,05$).

Tabla 4.1. Efectos del arbusto *Acanthostyles buniifolius* y el pastoreo en el número acumulado de plántulas emergidas durante dos años en un pastizal de la región este de Uruguay. Se muestran los valores de F y *p* derivados del ANOVA de dos vías. En negrita se muestran los valores significativos ($p < 0,05$).

Efecto (G.L.)		Número acumulado de plántulas	
		Dicotiledóneas	Monocotiledóneas
Arbusto (1)	F	19,6	1,49
	<i>p</i>	0,0004	0,24
Pastoreo (1)	F	4,6	1,05
	<i>p</i>	0,047	0,32
ArbustoxPastoreo (1)	F	1,7	0,05
	<i>p</i>	0,2	0,83

Dinámica temporal de las plántulas

Abundancia

La abundancia de dicotiledóneas a lo largo de los dos años de estudio fue afectada por el arbusto, por la estación del año y por el efecto interactivo del pastoreo y la estación del año. Debajo del arbusto, la abundancia de plántulas de este grupo fue siempre menor que en las parcelas abiertas. Por otro lado, se observaron picos de abundancia en invierno, durante los dos años en las parcelas pastoreadas y en el primer año en las clausuradas al pastoreo. La estación del año con menor abundancia de dicotiledóneas fue el verano. En el caso de las monocotiledóneas, solo la estación del año fue significativa siendo la primavera de 2016 el momento con más plántulas y la primavera y el verano de 2015 los momentos con menos plántulas (Figura 4.2, Tabla 4.2).

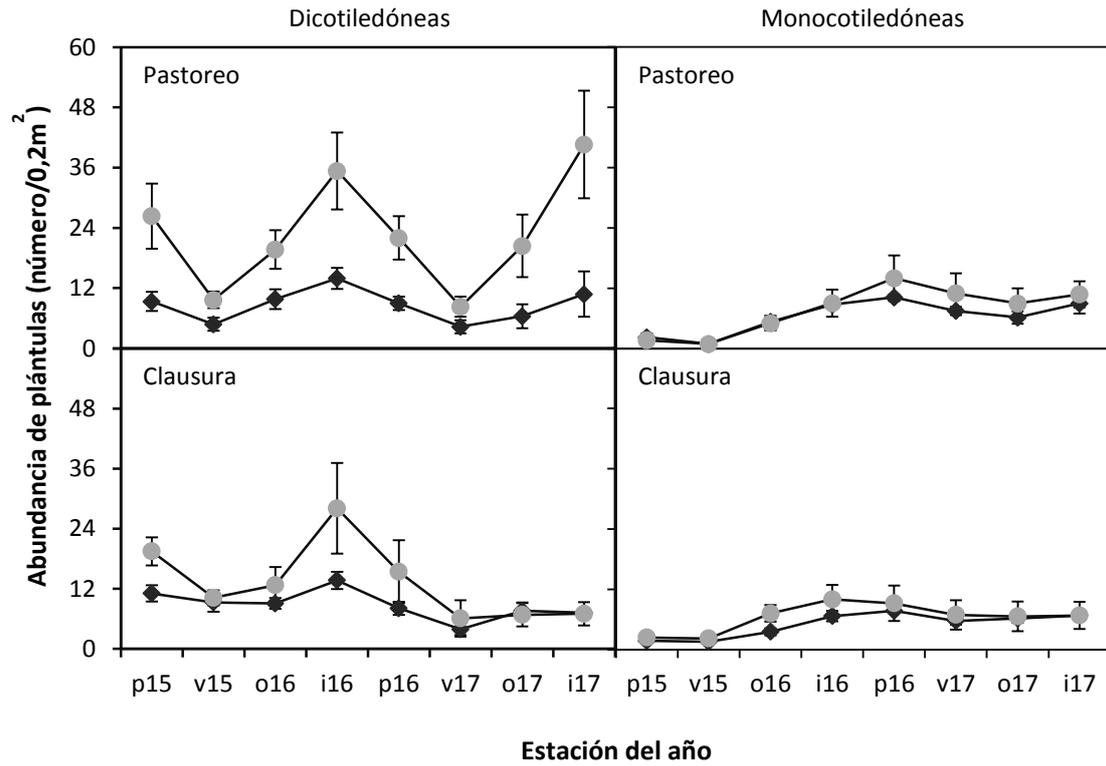


Figura 4.2. Dinámica estacional de la abundancia de plántulas de dicotiledóneas y monocotiledóneas (Promedio \pm E.E.) censadas en las parcelas con arbusto (rombos negros) y abiertas (círculos grises) en pastoreo y clausura. Los censos se realizaron desde inicios de la primavera de 2015 (p15) hasta finales del invierno de 2017 (i17).

Tabla 4.2. Efectos del arbusto *Acanthostyles buniifolius*, del pastoreo y de la estación de muestreo en la abundancia de plántulas en un pastizal de la región este de Uruguay. Se muestran los valores de F y *p* derivados del ANOVA de medidas repetidas. En negrita se muestran los valores significativos ($p < 0,05$).

Efecto (G.L.)		Número de plántulas	
		Dicotiledóneas	Monocotiledóneas
Arbusto (1)	F	7,03	0,99
	<i>p</i>	0,02	0,33
Pastoreo (1)	F	1,9	0,81
	<i>p</i>	0,2	0,38
ArbustoxPastoreo (1)	F	3,5	0,00
	<i>p</i>	0,08	0,99
Estación (7)	F	21,9	19,5
	<i>p</i>	<0,001	<0,001
ArbustoxEstación (7)	F	0,83	0,4
	<i>p</i>	0,6	0,9
PastoreoxEstación (7)	F	3,8	1,45
	<i>p</i>	0,01	0,2
ArbustoxPastoreoxEstación (7)	F	2,0	0,8
	<i>p</i>	0,06	0,6

Emergencia y mortalidad

La emergencia de dicotiledóneas fue afectada por el arbusto, el pastoreo, la estación del año y sus interacciones. Durante los dos años, el número de plántulas emergidas debajo del arbusto fue menor en comparación con las parcelas abiertas. Por el contrario, el número de plántulas emergidas en las parcelas pastoreadas fue mayor en comparación con las parcelas clausuradas, pero a partir del otoño de 2016. En general, la mayor emergencia de plántulas se observó en el otoño-invierno (excepto un pico de la primavera de 2015), mientras que en el verano la emergencia fue mínima. En la clausura, el pico de emergencia invernal fue menos evidente en el segundo año.

Por el contrario, ni el arbusto ni el pastoreo afectaron de manera significativa la mortalidad de las plántulas de dicotiledóneas. Ésta solo fue afectada por la estación del año, y en general mostró un patrón opuesto al de la emergencia. La mortalidad promedio por estación fue del 40% y varió entre el 62% en primavera y el 26 % en invierno. (Figura 4.3, Tabla 4.3).

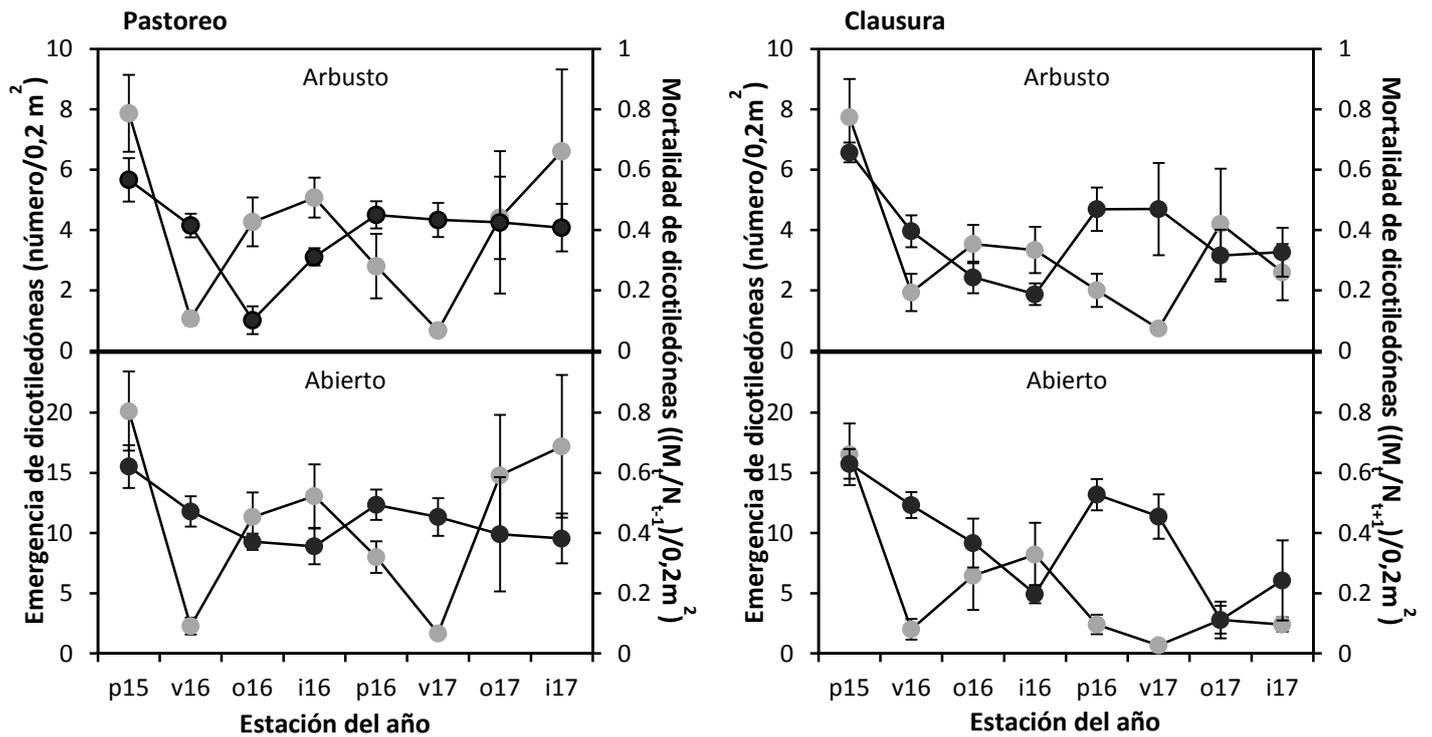


Figura 4.3. Dinámica estacional de la emergencia (círculos grises) y la mortalidad (círculos negros) de plántulas de dicotiledóneas (Promedio \pm E.E.) en parcelas con arbusto y abiertas en pastoreo y clausura a lo largo de dos años. Los censos se realizaron desde inicios de la primavera de 2015 (p15) hasta finales del invierno de 2017 (i17). La mortalidad se expresa como la fracción de individuos muertos en el tiempo t con relación al número de individuos censados en el tiempo $t-1$.

Tabla 4.3. Resultados del ANOVA de medidas repetidas para el efecto del arbusto *Acanthostyles buniifolius*, del pastoreo y la estación de muestreo en la emergencia y mortalidad de plántulas de dicotiledóneas. Se resaltan en negrita los valores F y p significativos ($p < 0,05$).

Efecto (G.L.)		Variable	
		Emergencia	Mortalidad
Arbusto (1)	F	28,9	0,16
	p	0,0003	0,7
Pastoreo (1)	F	11,9	2,4
	p	0,003	0,14
ArbustoxPastoreo (1)	F	6,7	0,94
	p	0,02	0,34
Estación (7)	F	16,3	11,0
	p	<0,00001	<0,00001
ArbustoxEstación (7)	F	3	0,7
	p	0,006	0,7
PastoreoxEstación (7)	F	2,7	1,7
	p	0,01	0,12
ArbustoxPastoreoxEstación (7)	F	1,2	1,34
	p	0,32	0,24

En el caso de las monocotiledóneas, solo la estación del año fue significativa en la emergencia de las plántulas, pero el patrón fue menos consistente que el de las dicotiledóneas. El pico máximo de emergencia se observó entre el otoño y la primavera, dependiendo del tratamiento y del año de muestreo. Al igual que las dicotiledóneas, el verano fue, en todos los tratamientos, la estación del año con menor número de plántulas emergidas. La mortalidad promedio fue del 27% y varió entre el 59% en primavera y el 6 % en invierno (Figura 4.4, Tabla 4.4).

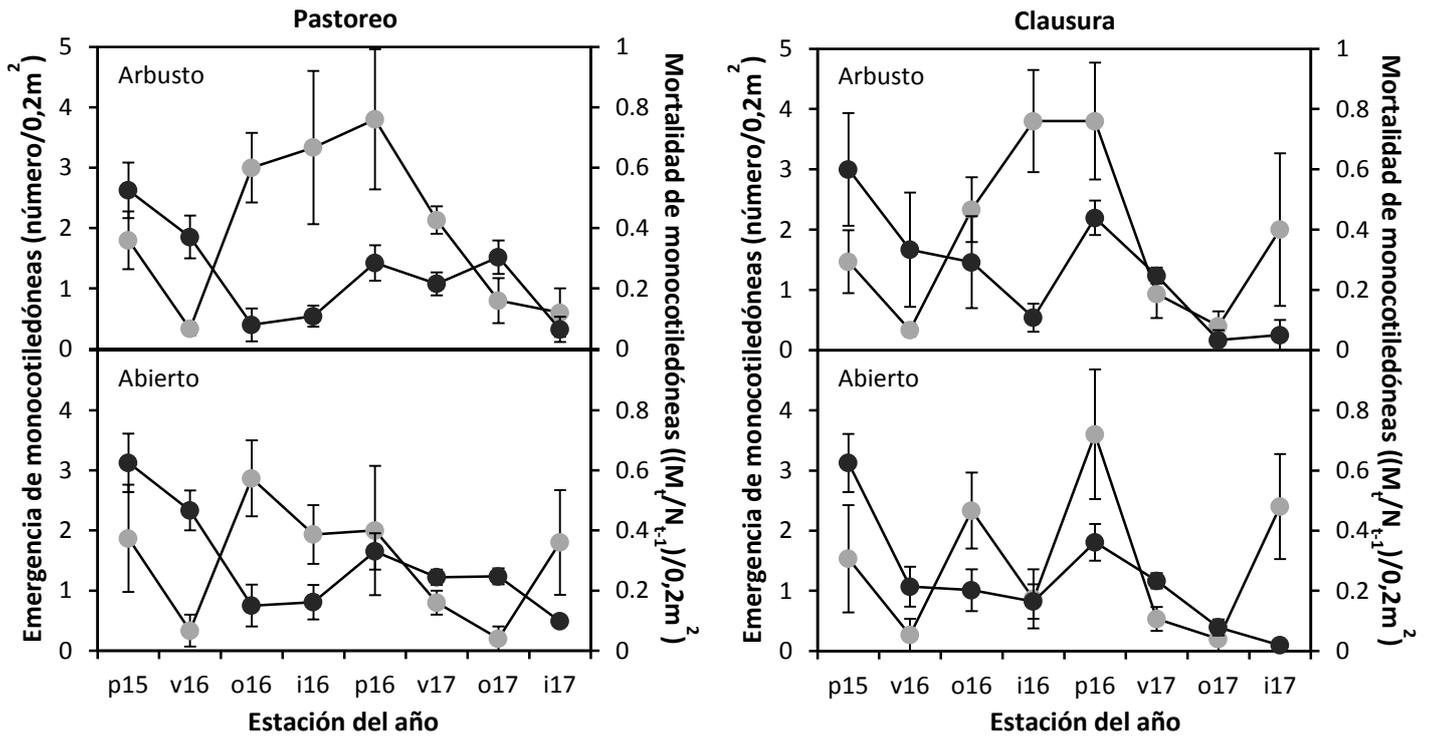


Figura 4.4. Dinámica estacional de la emergencia (círculos grises) y la mortalidad (círculos negros) de plántulas de monocotiledóneas (Promedio \pm E.E.) en parcelas con arbusto y abiertas en pastoreo y clausura a lo largo de dos años. Los censos se realizaron desde inicios de la primavera de 2015 (p15) hasta finales del invierno de 2017 (i17). La mortalidad se expresa como la fracción de individuos muertos en el tiempo t con relación al número de individuos censados en el tiempo $t-1$.

Tabla 4.4. Resultados del ANOVA de medidas repetidas para el efecto del arbusto *Acanthostyles buniifolius*, el pastoreo y la estación del año sobre la emergencia y mortalidad de plántulas de monocotiledóneas. Se resaltan en negrita los valores F y p significativos ($p < 0,05$).

Efecto (G.L.)		Variable	
		Emergencia	Mortalidad
Arbusto (1)	F	3,28	0,92
	p	0,09	0,35
Pastoreo (1)	F	0,04	3,4
	p	0,85	0,09
ArbustoxPastoreo (1)	F	0,03	2,8
	p	0,87	0,11
Estación (7)	F	9,9	24,9
	p	<0,00001	<0,00001
ArbustoxEstación (7)	F	1,7	1,6
	p	0,11	0,13
PastoreoxEstación (7)	F	0,85	1,8
	p	0,55	0,09
ArbustoxPastoreoxEstación (7)	F	0,51	2,5
	p	0,83	0,02

La longevidad de las dicotiledóneas que emergieron en el primer año de estudio fue de 90 días y la de las monocotiledóneas de 111 días, pero esta diferencia no fue significativa ($t= 0,6$; $p= 0,55$). La longevidad de las plántulas de dicotiledóneas en los tratamientos con el arbusto fue un 23% mayor que en las parcelas abiertas (de 81 a 100 días), mientras que el pastoreo no tuvo un efecto significativo. En el caso de las monocotiledóneas, se observó un incremento del 21% en la longevidad de las plántulas debajo del arbusto, pero no fue significativo. Tampoco el pastoreo afectó la longevidad de las monocotiledóneas de modo significativo (Figura 4.5, Tabla 4.5).

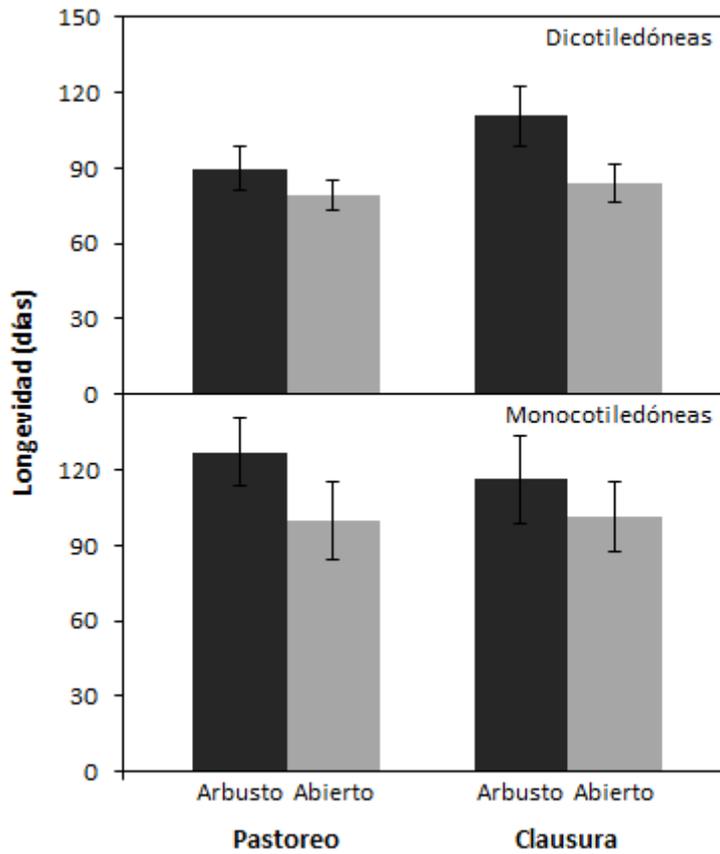


Figura 4.5. Longevidad (Promedio \pm E.E.) de las dicotiledóneas y monocotiledóneas emergidas durante el primer año de estudio debajo del arbusto *Acanthostyles buniifolius* o en sitios abiertos en pastoreo y clausura.

Tabla 4.5. Resultados del ANOVA de dos vías para el efecto del arbusto *Acanthostyles buniifolius* y el pastoreo sobre la longevidad de las plántulas de dicotiledóneas y monocotiledóneas. Se resaltan en negrita los valores F y p significativos ($p < 0,05$).

Efecto (G.L.)		Longevidad	
		Dicotiledóneas	Monocotiledóneas
Arbusto (1)	F	3,7	2,3
	p	0,05	0,13
Pastoreo (1)	F	1,6	0,24
	p	0,21	0,62
ArbustoxPastoreo (1)	F	0,7	0,54
	p	0,4	0,46

La riqueza de morfoespecies, de dicotiledóneas y de monocotiledóneas fue afectada por los tratamientos. El tratamiento del pastoreo afectó a ambos grupos, siendo mayor la riqueza en sitios pastoreados que en sitios excluidos. El efecto del arbusto solo fue significativo para las dicotiledóneas que crecen en sitios pastoreados, disminuyendo su riqueza debajo del dosel (Figura 4.6; Tabla 4.6).

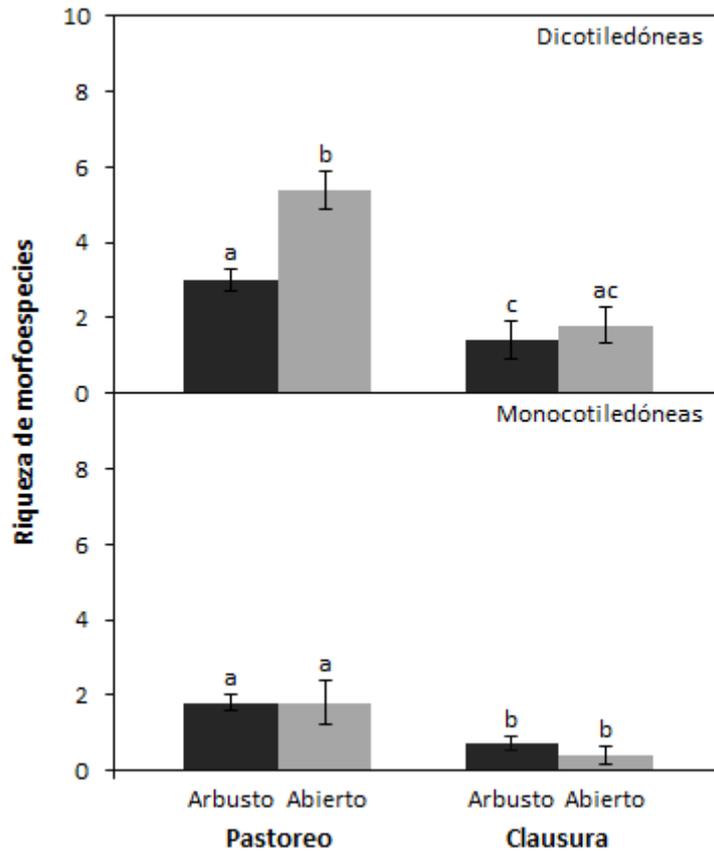


Figura 4.6. Promedio (\pm E.E.) de la riqueza de morfoespecies de dicotiledóneas y monocotiledóneas debajo del arbusto *Acanthostyles buniifolius* y en parcelas abiertas bajo régimen de pastoreo y clausura. La riqueza corresponde al último censo (setiembre 2017) y fue comparada con ANOVA de dos vías. Las diferencias significativas entre los tratamientos se indican con diferentes letras (Post hoc LSD; $p < 0,05$).

Tabla 4.6. Resultados del ANOVA de dos vía para el efecto del arbusto *Acanthostyles buniifolius*, el pastoreo y la interacción arbusto x pastoreo sobre la riqueza de morfoespecies de dicotiledóneas y monocotiledóneas. Se resaltan en negrita los valores significativos ($p < 0,05$).

Efecto (G.L.)		Riqueza de morfoespecies	
		Dicotiledóneas	Monocotiledóneas
Arbusto (1)	F	9,1	0,56
	<i>p</i>	0,008	0,46
Pastoreo (1)	F	31,4	7,56
	<i>p</i>	<0,0001	0,01
ArbustoxPastoreo (1)	F	4,6	0,56
	<i>p</i>	0,046	0,46

Variables abióticas

La disponibilidad de luz disminuyó cerca de un 45% debajo del dosel de *A. buniifolius* en comparación con la disponibilidad de luz en las parcelas abiertas. También la temperatura del suelo fue menor bajo los arbustos aunque se observaron diferencias significativas solo en los meses de verano. La humedad del suelo fue mayor debajo de los arbustos solo en los meses de verano (Tabla 4.7).

Tabla 4.7. Promedio (\pm E. E.) de la disponibilidad de luz, la temperatura del suelo y el contenido de agua del suelo debajo de arbustos y en sitios abiertos en clausura y pastoreo y los valores H y *p* derivados del Kruskal-Wallis. Diferentes letras muestran diferencias significativas entre los tratamientos. En negrita valores de H y *p* significativos.

Variable	Estación	Con jaula		Sin jaula		H	<i>p</i>
		Abierto	Arbusto	Abierto	Arbusto		
Disponibilidad de luz (luxes)	verano	829 ^{ac}	380 ^b	858 ^c	519 ^{ab}	16,8	0,0008
	otoño	568 ^a	287 ^b	520 ^a	260 ^b	14,95	0,002
	invierno	472 ^a	228 ^b	372 ^a	240 ^b	15,7	0,001
	primavera	613	346	705	560	6,3	0,1
Temperatura (°C)	verano	34,8 ^{ac}	30,4 ^a	37,2 ^c	30 ^b	16,2	0,001
	otoño	17	13,9	14,6	13,8	6,4	0,09
	invierno	15,5	13,5	14,6	15,3	6,75	0,08
	primavera	25,4 ^{ab}	24,2 ^a	29,8 ^b	28,6 ^b	12,77	0,005
Humedad del suelo (%)	verano	4,3 ^a	3,2 ^b	4,9 ^a	3,2 ^b	12,1	0,007
	otoño	9,9	10,2	9,7	9,9	1,3	0,7
	invierno	9,7	10,3	8,8	9,4	3,6	0,3
	primavera	10,8	11,4	10,5	10,4	2,4	0,49

4.4 Discusión

En este trabajo se evaluó por primera vez el efecto del pastoreo y el posible rol del arbusto *Acanthostyles buniifolius* como especie nodriza, sobre las plántulas emergentes en un pastizal de la región este de Uruguay. En términos generales, los efectos del pastoreo y del arbusto solo fueron significativos en el grupo de las dicotiledóneas. De acuerdo a lo esperado, el pastoreo aumentó la riqueza y la emergencia de plántulas, y tuvo un efecto neutro para el resto de las variables analizadas. En relación al arbusto, su presencia tuvo efectos negativos, neutros o positivos según la variable de respuesta analizada. Por un lado fue negativa para la riqueza de morfoespecies y para la emergencia de las plántulas, mientras que tuvo un efecto neutro en la mortalidad y positivo en la longevidad. De esta manera, nuestra predicción acerca del papel del arbusto como facilitador de las plántulas del pastizal se cumple exclusivamente para la longevidad de las mismas. Además, se pudo constatar que la abundancia de plántulas, tanto de dicotiledóneas como de monocotiledóneas, varió significativamente a lo largo del período de muestreo. El seguimiento individual de las plántulas en el tiempo permitió determinar si la dinámica temporal de la abundancia estaba mediada por la emergencia, por la mortalidad o por ambos parámetros demográficos. Además se pudo establecer los períodos del año que más favorecían o perjudicaban al reclutamiento de las plántulas.

En relación al efecto positivo del pastoreo sobre el reclutamiento de plántulas, nuestros resultados coinciden con los de otros trabajos realizados en pastizales de Sudamérica (Oesterheld & Sala, 1990), Asia (Wu *et al.*, 2011) y Europa (Eriksson & Eriksson, 1997). El pastoreo puede promover la emergencia de plántulas mediante el aumento de la heterogeneidad espacial en las condiciones o en la disponibilidad de recursos generados por la remoción de biomasa, el pisoteo y la deposición de heces y orina (Olf & Ritchie, 1998). El pastoreo favorece a las especies de bajo porte (Cayssials & Rodríguez, 2018) y genera claros, lo que aumenta la cantidad de luz y la temperatura en la superficie del suelo (Bullock, 2000). Estos efectos son importantes ya que el aumento de la radiación incidente y las mayores fluctuaciones de temperatura promueven la germinación de muchas especies

(Forcella *et al.*, 2000). Por el contrario, en los sitios clausurados al pastoreo, la competencia por luz es un factor estructurador de la comunidad vegetal, debido a la dominancia de plantas de alto porte y a la mayor acumulación de materia seca en pie y broza (Altesor *et al.*, 2005). Estas condiciones parecen ser limitantes para la emergencia y desarrollo de individuos a partir de semillas, tal como se observó en las parcelas clausuradas durante el segundo año de exclusión. En estos censos desaparece el pico de abundancia y emergencia de dicotiledóneas en las parcelas abiertas, que ya no se diferencian de las parcelas con arbusto.

El efecto negativo del arbusto sobre la emergencia de plántulas en el pastoreo es contrario a lo esperado, dado que la protección de las plántulas frente al estrés biótico es uno de los mecanismos de facilitación observados en ecosistemas pastoriles (Smit *et al.*, 2007). En estos sitios, las plántulas crecen preferentemente debajo de los arbustos ya que pueden ser ocultadas de los herbívoros (Louthan *et al.*, 2014) o pueden ser protegidas por espinas o toxinas (Smit *et al.*, 2009). Si bien el arbusto *A. buniifolius* no tiene espinas ni es tóxico para el ganado, se han observado efectos positivos en la frecuencia de especies herbáceas debidos a la protección frente al pastoreo (Fernández *et al.*, 2019). Por lo tanto, la menor emergencia de plántulas bajo el arbusto sugiere que la modificación de las condiciones abióticas debajo de su dosel tornaría el ambiente menos favorable para el reclutamiento de plántulas y que éste sería el efecto más importante en esta etapa del ciclo de vida de los individuos.

La reducción de la temperatura promedio y de sus fluctuaciones son dos de los principales efectos generados por el dosel de *A. buniifolius* a nivel microclimático (Fernández *et al.*, 2014; 2019) que pudieron limitar el número de semillas germinadas. La fluctuación de la temperatura reduce la dormancia de varias especies (Vleeshouwers, 1997), es una señal importante para la germinación (Thompson *et al.*, 1977) y es también uno de los factores que más afecta la emergencia de las plántulas en ambientes templados (Forcella *et al.*, 2000). Por otra parte, las temperaturas más bajas debajo del arbusto pudieron haber enlentecido el metabolismo de las plántulas y retrasado su crecimiento y desarrollo (Domisch *et al.*, 2001). La exposición a bajas temperaturas puede generar diferentes problemas en las plántulas, desde clorosis y necrosis de las

hojas, inhibición del crecimiento del tallo o las raíces, dificultad para captar micronutrientes y agua del suelo e incluso la marchitez (Moradtalab *et al.*, 2018).

La disminución de la radiación solar es otro de los efectos que el arbusto genera a nivel del microclima y que también pudo afectar la emergencia de las plántulas (Clarke & Davison, 2004). La radiación solar actúa no solo como un recurso sino como una señal para la germinación, al igual que las fluctuaciones de la temperatura (Pons, 2000). Asociado a la disminución de la radiación solar, la absorción diferencial de la clorofila *a* genera cambios en la calidad de la luz que incide sobre el suelo (Ballaré & Casal, 2000). Se ha observado que debajo del dosel vegetal la relación rojo/rojo lejano del espectro lumínico disminuye (Venier *et al.*, 2017), lo que pudo reducir la germinación de muchas especies. Las semillas tienen la capacidad de monitorear el ambiente lumínico en el que se encuentran a través de moléculas especializadas localizadas en el embrión llamadas fitocromos (Pons, 2000). La disminución de la germinación en ambientes con baja relación de rojo/rojo lejano, ha sido interpretada como una forma de evitar la germinación en presencia de otras plantas y por lo tanto en condiciones altamente competitivas (Dobarro *et al.*, 2010). La reducción de radiación solar afectaría principalmente la germinación de especies con semillas pequeñas, ya que las especies con semillas grandes dependen menos de la disponibilidad de luz para germinar (Tiansawat & Dalling, 2013). Por otra parte, el sombreado del arbusto sumado a la acumulación de broza podrían haber agotado los recursos de las plántulas luego de su germinación (Loydi *et al.*, 2015).

Además, la menor emergencia debajo del arbusto podría deberse a una menor disponibilidad de semillas en comparación con las parcelas abiertas (Zimmermann *et al.*, 2008). La reproducción conlleva costos y los factores que limitan la producción de semillas viables frecuentemente implican factores intrínsecos a la planta, como los patrones de asignación de recursos a los distintos órganos. Muchas especies modifican la asignación de biomasa a las hojas, raíces e inflorescencias dependiendo de las características del sitio en donde crecen (Obeso, 2002). Ningún individuo es capaz de maximizar el crecimiento, la supervivencia y la reproducción en todas las situaciones, por lo que maximizar una de las funciones en una situación dada, genera un

compromiso (trade-off) con las restantes (Kleyer & Minden, 2015). En ambientes en donde la luz es un factor limitante, muchas especies invierten proporcionalmente más biomasa en hojas para maximizar la captación de luz y la fotosíntesis a expensas de la biomasa reproductiva (Niu *et al.*, 2008). Sin embargo, algunas evidencias de pastizales pastoreados sugieren que las plantas protegidas por sus vecinos producen más inflorescencias que cuando crecen sin protección (Bossuyt *et al.*, 2005). Además, debajo del arbusto se encuentran más especies que en las parcelas abiertas (Capítulo 2) y esas especies alcanzan a producir semillas sin problema aparente (observación personal), por lo que esta explicación sería la menos esperable.

Los meses del verano fueron los más críticos para las poblaciones de plántulas, independientemente de los tratamientos. En este período, la emergencia fue mínima y la mortalidad máxima, seguramente como consecuencia de las altas temperaturas y del déficit hídrico que experimenta la región en esta estación del año (Cruz *et al.*, 2014). La falta de agua podría haber disminuido la rehidratación de las semillas y de esta manera la germinación (Bradford, 1995), mientras que las plántulas emergidas podrían haber muerto por desecación debido a la excesiva transpiración (Will *et al.*, 2013). Este patrón ha sido observado en pastizales de África (O'Connor, 1995) y Australia (Hovenden *et al.*, 2008). De acuerdo con la hipótesis del gradiente de estrés (SGH), la frecuencia de las interacciones positivas sería más común y dominaría en sitios con elevado estrés abiótico (Xu *et al.*, 2010) pero también en períodos con elevado déficit hídrico (Hastwell & Facelli, 2003). Por lo tanto, sería esperable un efecto positivo del arbusto al menos en esta época del año, lo cual no fue observado.

Contrariamente a lo esperado, la mortalidad de las plántulas no fue afectada ni por el pastoreo ni por la presencia del arbusto. Era esperable un aumento de mortalidad en el pastoreo, debido al pisoteo del ganado y a la mayor radiación solar y temperatura que genera. Además, era esperable una menor mortalidad relativa de plántulas debajo del arbusto, debido a la protección frente al ganado o como resultado de la mejora de las condiciones abióticas (Smit *et al.*, 2009). La falta de un efecto significativo pone de manifiesto que la mortalidad de las plántulas no está controlada por las

interacciones bióticas, sino que podría ser más afectada por las condiciones climáticas y sus variaciones estacionales (Gage & Cooper, 2004).

La presencia del arbusto solo tuvo un efecto positivo en la longevidad de las plántulas. El cambio en el signo de la interacción (de negativo a positivo), podría reflejar los cambios en los requerimientos de recursos y condiciones abióticas que los individuos experimentan a lo largo de su desarrollo ontogénico (Schupp, 1995). Los resultados de este estudio sugieren que las condiciones para la emergencia no serían las mismas que para la sobrevivencia de las plántulas. Tal vez las fluctuaciones de temperatura y la exposición a elevados niveles de radiación solar sean necesarios para la germinación y la emergencia de las plántulas, pero la posterior exposición a mayores niveles de temperatura y radiación solar disminuirían su sobrevivencia. La protección de las plántulas frente al estrés abiótico es uno de los mecanismos de facilitación planteados para ecosistemas áridos y semiáridos (Filazzola & Lortie, 2014), mientras que los cambios en el signo de las interacciones durante la ontogenia de las plantas han sido observados en ambientes áridos (Miriti, 2006), semiáridos (Soliveres *et al.*, 2010) y subhúmedos (Schiffers & Tielbörger, 2006).

Independientemente del tratamiento, el número de plántulas que lograron sobrevivir y establecerse fue bajo, lo que coincide con resultados de pastizales templados de otras regiones (Edwards & Crawley, 1999; Benson & Hartnett, 2006). Este patrón es bastante general, ya que en la mayoría de los ecosistemas terrestres el reclutamiento de individuos es un evento raro y esporádico (Kitajima & Fenner, 2000). Muchos autores plantean que el establecimiento de nuevos reclutas es el principal cuello de botella en la mayoría de las poblaciones de plantas (Zimmermann *et al.*, 2008). Además, la propagación vegetativa es el principal modo de reproducción en la mayoría de los biomas dominados por plantas herbáceas, como los pastizales (Klimešová *et al.*, 2018). En sitios pastoreados, muchas especies poseen rizomas o estolones que le permiten la translocación o el almacenaje de recursos (Liu *et al.*, 2016) y son estructuras importantes para la propagación vegetativa. En estos pastizales, muchas de las especies presentes (*Axonopus fissisolius*, *Coelorachis seloana*, *Paspalum notatum*, *Richardia humistrata*, entre otras) tienen la capacidad de propagarse vegetativamente y colonizar nuevos sitios a

través de estas estructuras. Por lo tanto, la persistencia de las especies en estos pastizales estaría más asociada al crecimiento vegetativo que al establecimiento de nuevos individuos (Texeira & Altesor, 2009).

Este capítulo contribuye al conocimiento sobre el efecto del pastoreo y del arbusto *A. buniifolius* en el reclutamiento, a partir de semillas, de nuevos individuos en pastizales sub-húmedos. Se pudo observar que la mayor emergencia fue de dicotiledóneas y que la gran mayoría de plántulas (tanto dicotiledóneas como monocotiledóneas) murieron antes de establecerse. Esto evidencia que el reclutamiento por medio de semillas es bajo en estos pastizales y que la propagación vegetativa sería la principal forma de mantenimiento de las especies en la comunidad. En general la emergencia y la mortalidad mostraron patrones opuestos a lo largo del tiempo, lo que podría ser consecuencia de un fuerte control de las condiciones estacionales en estas variables de respuesta. Mientras que el pastoreo aumentó la emergencia de las plántulas, el arbusto tuvo el efecto contrario. Este último podría ser consecuencia de la disminución de la temperatura y la radiación solar bajo su dosel. Sin embargo esas mismas condiciones microclimáticas aumentaron la longevidad de las plántulas, lo que evidencia un conflicto entre las condiciones que las plántulas necesitan para emerger y las que necesitan para establecerse (Schupp, 1995). La mayor longevidad de las plántulas emergidas debajo del arbusto podría darles la oportunidad de atravesar los períodos críticos del año (i.e. verano) y llegar a establecerse en la comunidad vegetal.

Capítulo 5: Discusión general

En esta tesis se describen los patrones de riqueza, cobertura de especies y de Tipos Funcionales de Plantas (TFP) y de emergencia, mortalidad, longevidad y riqueza de morfoespecies de plántulas generados por la presencia del arbusto *Acanthostyles buniifolius* en pastizales de la región este de Uruguay. También se cuantificaron los efectos neto, aéreo y subterráneo del arbusto y si su efecto sobre la comunidad herbácea varió en presencia o ausencia del pastoreo. Los resultados obtenidos representan un avance en el conocimiento de la importancia relativa de la competencia y la facilitación entre arbustos y plantas herbáceas en pastizales de Uruguay. Así, se describen por primera vez los efectos aislados de protección frente al pastoreo y de mejora de las condiciones microclimáticas, así como el efecto aéreo y subterráneo del arbusto sobre la comunidad herbácea. Asimismo, se da cuenta por primera vez de los efectos del arbusto y el pastoreo en la dinámica de la emergencia y mortalidad de plántulas y en su longevidad. A continuación se resumen y discuten los principales resultados en el marco de la importancia que tienen las interacciones entre plantas como determinantes de la estructura de la comunidad vegetal. También se discuten el abordaje metodológico empleado en los diferentes capítulos, la implicancia de los resultados obtenidos y las perspectivas a futuro.

5.1 Las interacciones entre plantas como determinantes de la estructura de la comunidad

Las interacciones entre plantas son procesos que afectan de manera positiva o negativa la presencia de alguna/s especie/s en la comunidad vegetal (Michalet & Pugnaire, 2016). El efecto neto de una planta sobre otra puede ser el resultado de la co-ocurrencia de efectos positivos y negativos, cuya importancia relativa varía en función de las condiciones abióticas, de la ontogenia o de la presencia de herbívoros (He *et al.*, 2013). Estos procesos operan en una escala espacial reducida, típicamente algunos centímetros o metros en el caso de los árboles. En sistemas pastoriles, los efectos positivos pueden ser debidos a la mejora de las condiciones abióticas que una planta pueda generar (sombreado, reducción de la temperatura, mayor humedad del suelo, etc.) o debido a la protección frente al ganado. Determinar el papel que tienen las interacciones entre plantas sobre la estructura y la dinámica de las

comunidades es uno de los objetivos centrales de la ecología vegetal (Michalet *et al.*, 2015).

Efectos positivos de Acanthostyles buniifolius sobre la comunidad herbácea

En el capítulo 2 de esta tesis se pudo determinar que los efectos positivos del arbusto *A. buniifolius* son más evidentes en las parcelas pastoreadas, principalmente para las gramíneas. La protección frente a la herbivoría es un mecanismo de facilitación bien descrito en la literatura ecológica (Baraza *et al.*, 2006; Barbosa *et al.*, 2009; Louthan *et al.*, 2014). Algunas especies son tóxicas o tienen espinas en sus hojas lo que impide el acceso del ganado a las plantas que crecen a su alrededor (Smit *et al.*, 2009). En los pastizales del Río de la Plata (PRP), el pastoreo tiene un fuerte efecto sobre la estructura del tapiz herbáceo (Lezama *et al.*, 2014) y ha sido observado que el pastoreo continuo genera la pérdida de varias especies de alta calidad forrajera (Altesor *et al.*, 1998). En estas comunidades, el hábito de crecimiento postrado es el mecanismo de evasión al pastoreo más evidente (Rodríguez *et al.*, 2003; Díaz *et al.*, 2007; Fedrigo *et al.*, 2018). En el caso de las gramíneas, el hábito postrado es exclusivo de especies con metabolismo fotosintético C₄, que si bien constituyen las especies dominantes en términos de cobertura, son una pequeña fracción de la riqueza total en los sistemas pastoreados de la región (Jaurena *et al.*, 2012; Cayssials & Rodríguez, 2018). Es razonable suponer que otras gramíneas que mantienen el hábito de crecimiento erecto, adopten otras estrategias para escapar de sus herbívoros, como por ejemplo la asociación con plantas no palatables o tóxicas.

Si bien la protección frente a la herbivoría es un mecanismo conocido de facilitación, hasta el momento solo *Eryngium horridum* había sido citada como una especie con este efecto en los PRP (Fidelis *et al.*, 2009; Nöell-Estapé *et al.*, 2013). En el caso de *E. horridum*, la protección estaría asociada a la presencia de espinas en sus hojas. Por el contrario, *A. buniifolius* carece de espinas y hasta el momento no ha sido reportada como tóxica para el ganado. Esto sugiere que el mecanismo de protección del arbusto estaría asociado al ocultamiento de las plantas entre sus tallos y ramas (Baraza *et al.*, 2006). La protección frente al pastoreo generada por la presencia del arbusto crearía “microclausuras” en donde las gramíneas C₃ y las especies menos tolerantes al

pastoreo podrían prosperar. De esta manera, la presencia del arbusto pondría un freno a la pérdida de especies en pastizales continuamente pastoreados.

Además de la protección frente a la herbivoría, también se detectó un efecto positivo del arbusto sobre las gramíneas C₃ en condiciones de clausura al ganado, que fue atribuido a la mejora de las condiciones abióticas. La disminución del estrés abiótico constituye el mecanismo central que subyace a la hipótesis del gradiente de estrés propuesto principalmente para ecosistemas áridos y semiáridos (Bertness & Callaway, 1994; Holmgren *et al.*, 1997; Bruno *et al.*, 2003). El efecto positivo neto del arbusto sobre las gramíneas C₃ se debió a un efecto subterráneo (RII positivo) y no aéreo (RII neutro), como se había supuesto (Capítulo 3). Este efecto positivo del arbusto podría atribuirse a una mayor disponibilidad de nutrientes o al aumento de la humedad del suelo (Dohn *et al.*, 2013). El aumento de la humedad del suelo debajo de una planta benefactora puede generarse por la disminución de la evaporación o la redistribución hidráulica (Scott *et al.*, 2008). Las gramíneas C₃ se beneficiarían de este mecanismo debido a su baja eficiencia en el uso del agua y al hecho que, a medida que crecen, invierten proporcionalmente menos biomasa en las raíces (Reich *et al.*, 2003). De esta manera, el aumento en la disponibilidad de agua sería más importante que la reducción de la radiación solar incidente y la temperatura (efecto aéreo) para la disminución del estrés hídrico.

A nivel de especie, el sombreado tuvo un efecto positivo solamente en la cobertura de *Melica brasiliana* (gramínea C₃) y *Erianthus angustifolius* (gramínea C₄). En general, las especies C₃ no toleran altas temperaturas ni altos niveles de radiación solar y abundan en lugares frescos, húmedos y sombreados (Bianchin & Rúgolo de Agrasar, 2002) por lo que se esperaba que más especies se beneficiaran del microclima generado por el dosel del arbusto. La falta de un efecto aéreo positivo podría ser consecuencia de que el análisis del Capítulo 3 fue realizado con los datos del tercer año de la exclusión, cuando la comunidad estaba dominada por especies erectas de alto porte. Estas especies disminuyen la radiación incidente y la temperatura, pudiendo generar los mismos efectos aéreos que el arbusto. El efecto aéreo positivo sobre la gramínea *Erianthus angustifolius* (C₄) es excepcional para este grupo funcional, ya que como grupo, éste se ve perjudicado por el sombreado.

En el caso de las plántulas, también existieron efectos positivos asociados a la longevidad de los individuos. Las plántulas emergidas debajo de los arbustos vivieron más tiempo que las emergidas en parcelas abiertas. En general, las plántulas recién emergidas son pequeñas y no tienen la capacidad de hacer frente a condiciones adversas, por lo que son extremadamente sensibles a los factores abióticos y bióticos del ambiente (Lloret *et al.*, 2004; Eriksson & Ehrlén, 2008). La mayoría de las plántulas no llegan a establecerse debido a la elevada radiación solar y/o temperatura, a la falta de agua y nutrientes, a la competencia con otras plantas o a la herbivoría (Fenner & Thompson, 2005). El sombreado y la menor temperatura registrada debajo del dosel del arbusto pudieron haber reducido la fotoinhibición, el estrés térmico y/o la tasa de transpiración de las plántulas, aumentando su longevidad (Bonanomi *et al.*, 2011). En este caso, el costo de crecer en un sitio con menor radiación (menos fotosíntesis) puede ser compensado si la reducción de la demanda hídrica atmosférica es disminuida, mejorando el estado hídrico de la planta (Holmgren *et al.* 1997). El aumento de la longevidad de las plántulas puede ser especialmente beneficioso para la sobrevivencia de los individuos, si les permite atravesar los momentos de mayor déficit hídrico, que ocurren en el verano en el caso de los pastizales uruguayos.

Efectos negativos de Acanthostyles buniifolius sobre la comunidad herbácea

Los efectos negativos ocurrieron principalmente en el área clausurada al ganado y en su mayor parte estuvieron asociados al efecto aéreo del arbusto. Los grupos más afectados por el dosel del arbusto fueron las gramíneas C₄, los graminoides y marginalmente, las hierbas. En general, las gramíneas con metabolismo C₄ son poco tolerantes la falta de luz y a las bajas temperaturas debido a que tienen altos costos energéticos para la fijación de CO₂ (Watcharamongkol *et al.*, 2018). El alto costo energético lo pueden compensar mediante altas tasas de fotosíntesis, para lo cual necesitan estar expuestas a la luz solar directa (Sage, 2004). En el caso de los graminoides, el metabolismo fotosintético también podría ser la causa del efecto negativo del sombreado. Este grupo incluye la familia de las ciperáceas (Cyperaceae), que es la segunda familia más rica en especies C₄ luego de las gramíneas (Sage, 2004). En general, las ciperáceas requieren mucha luz y altas temperaturas para

germinar (Schütz & Rave, 1999), por lo que son abundantes en los sitios pastoreados, en donde la luz solar no es un factor limitante para el crecimiento de la vegetación (Altesor *et al.*, 2006).

En relación al efecto subterráneo del arbusto, se observó que tendió a ser negativo para la mayoría de las gramíneas C₄, teniendo un efecto marginal en los casos de *Bothriochloa laguroides* y *Paspalum notatum* y significativo para *Aristida murina*. Diferentes estudios han resaltado el efecto negativo de los arbustos (Peltzer & Köchy, 2001; Maestre *et al.*, 2003) y los árboles (Scholes & Archer, 1997; Ludwig *et al.*, 2004; Dohn *et al.*, 2013) en el crecimiento de las gramíneas C₄ debido a la competencia por los recursos del suelo. El posible efecto negativo de la competencia entre *A. buniifolius* y algunas gramíneas C₄ ya ha sido sugerido para pastizales del suroeste uruguayo (Fernández & Altesor, 2019) y éste podría deberse a que tanto las gramíneas C₄ como el arbusto son de crecimiento estival, en el período con mayor déficit hídrico de Uruguay (Cruz *et al.*, 2014). Si bien las especies con metabolismo fotosintético C₄ tienen una alta eficiencia en el uso del agua, el sub-tipo metabólico NADP-ME (al cual pertenecen la mayoría de las gramíneas C₄ analizadas) es muy sensible a la falta temporal de agua y exhibe una lenta recuperación después de un evento de sequía (Ripley *et al.*, 2010; Taylor *et al.*, 2011).

También existieron efectos negativos sobre la mayoría de las variables analizadas en las plántulas de dicotiledóneas. La presencia del arbusto fue negativa para la abundancia, emergencia y riqueza de morfoespecies. Si bien los arbustos tienen un efecto positivo en la emergencia de plántulas en ambientes semiáridos, en los ecosistemas más templados y más húmedos tiende a ser negativa (Gómez-Aparicio, 2009). Por otra parte, los efectos negativos del arbusto fueron más evidentes en las parcelas pastoreadas que en las clausuradas. Estos resultados fueron inesperados, ya que la protección de las plántulas frente al estrés biótico es uno de los mecanismos de facilitación observados en ecosistemas pastoriles (Smit *et al.*, 2007). Además, las condiciones abióticas en el pastoreo parecen, a priori, más limitantes en los sitios abiertos que debajo del arbusto. Sin embargo el pastoreo puede promover la emergencia de plántulas a través de la generación de claros y del aumento de la radiación incidente y la temperatura del suelo. En el caso de las

monocotiledóneas, ni el arbusto ni el pastoreo tuvieron efectos significativos en la mayoría de las variables analizadas y su reclutamiento fue muy inferior al de dicotiledóneas, lo que sugiere una fuerte apuesta de este grupo a la regeneración por propagación vegetativa.

También se observó, que las condiciones requeridas para la emergencia y la longevidad de las plántulas no son las mismas. Si bien la mayor radiación solar y el aumento de temperatura potenciaron la emergencia de plántulas de dicotiledóneas, bajo esas condiciones la longevidad de los individuos fue menor que debajo del arbusto. Esta situación ocurre ya que, durante la ontogenia, las condiciones o los atributos que son ventajosos en un momento pueden cambiar y volverse negativos en otra etapa del desarrollo de un individuo. En la literatura ecológica se describe como un conflicto entre la semilla y la plántula (Schupp, 1995). Este conflicto pone de manifiesto que al parecer los micrositios (abierto vs. arbusto) no son “ni mejores ni peores” para el reclutamiento de las plántulas, sino que cada uno genera diferentes efectos en diferentes etapas del desarrollo.

Por otra parte, la reducción de la emergencia de las dicotiledóneas debajo del arbusto ocurrió a lo largo de todo el año, a excepción de los meses de verano en donde la emergencia fue casi nula, tanto debajo del dosel como en parcelas abiertas. La escasa emergencia en los meses de verano probablemente se deba al elevado déficit hídrico que experimenta la región (Cruz *et al.*, 2014). Las plántulas recién emergidas son sensibles a la elevada radiación solar, a la elevada temperatura y a la falta de agua, entre otros factores (Fenner & Thompson, 2005). Esto sugiere un fuerte control de las condiciones abióticas en la emergencia de plántulas en estos pastizales y le otorga al pastoreo y a los arbustos un rol secundario en esta estación del año.

5.2 Aproximaciones metodológicas utilizadas en esta tesis

En los sitios pastoreados, las plantas están expuestas a dos posibles efectos del arbusto que actúan de manera conjunta: la protección frente al pastoreo y la modificación del microclima. Para separar estos efectos, se clausuró un área de 2500 m² en donde se pudiera evaluar solo el efecto abiótico del arbusto (neto, aéreo y subterráneo). Un tema importante a tener en cuenta, es que cuando se clausura un sitio al pastoreo, comienza un proceso

de sucesión en donde los principales cambios florísticos se observan a los 2-3 primeros años (Rodríguez *et al.*, 2003). Por lo tanto, para analizar exclusivamente el efecto de la modificación del microclima, los análisis fueron realizados con los datos del tercer año de muestreo, asumiendo que luego de transcurrido ese tiempo, los efectos de protección al pastoreo serían prácticamente inexistentes en la clausura. Por otro lado, la diferencia entre el efecto neto del arbusto en el pastoreo y el de la clausura nos permitió estimar el efecto exclusivo de protección frente al pastoreo. Las áreas (pastoreada y clausurada) eran adyacentes, por lo que otros factores como el tipo de suelo, la profundidad, régimen de precipitación, temperatura, etc. eran iguales para ambos sitios y no tendrían un efecto diferencial. Sin embargo, considero importante señalar algunas limitaciones metodológicas en el diseño de los experimentos.

Una limitación metodológica importante, consistió en haber realizado solamente una exclusión al pastoreo, lo que dificulta su generalización a otras zonas. Esto implica que los resultados de esta tesis deberían ser complementados con análisis similares en varias situaciones pareadas clausura/pastoreo en diferentes regiones del país. Otra limitación estaría asociada al bajo número de réplicas que se realizaron en cada tratamiento, por lo que en algunos casos solo se pudieron detectar tendencias y no diferencias estadísticamente significativas. Aun así, se pudieron detectar efectos significativos en diferentes variables de respuesta.

Otra limitación está relacionada a las variables de respuesta utilizadas para determinar el efecto del arbusto en la comunidad como fueron la riqueza y la frecuencia de las especies, obtenidas una vez al año en los muestreos de vegetación. En la literatura puede verse que además de las variables estimadas en esta tesis, se incorporan otro tipo de variables, principalmente fisiológicas, como la fotosíntesis, la transpiración o la eficiencia en el uso de la luz de las especies. Por otro lado, un único muestreo anual limita la capacidad de evaluar cambios temporales del efecto del arbusto, asociados a los cambios estacionales del clima.

Por último, también hubiera sido deseable contar con una mayor frecuencia de mediciones de las variables abióticas y con un mayor número de sensores instalados en los sitios de estudio. Esto es de particular importancia

en momentos en donde el estado del tiempo es tan variable y puede cambiar abruptamente de un día para otro. Además, también sería importante para estimar el efecto del arbusto en la humedad del suelo, en particular cuando se evalúa su efecto subterráneo, de tal forma de poder comprobar los mecanismos subyacentes a las respuestas encontradas, que en la tesis se presentan a modo de hipótesis.

5.3 Implicancia de los resultados obtenidos

En los sistemas de producción ganadera de Uruguay, los arbustos en general, y *A. buniifolius* en particular, son especies indeseadas ya que su presencia es considerada negativa para las gramíneas y por lo tanto reduciría la disponibilidad de forraje para el ganado (Sarroca & Strauch, 1994). En consecuencia, en Uruguay se ha destinado un gran esfuerzo en evaluar técnicas de erradicación de los arbustos (Alemán & Gómez, 1989; Barrios & Noguez, 1999). Sin embargo, los resultados obtenidos muestran que, contrariamente a la idea de que los arbustos compiten con las gramíneas, la presencia de *A. buniifolius* en el pastoreo tiene efectos positivos de protección sobre la mayoría de las gramíneas C₃ y no afecta la cobertura de las gramíneas C₄. Si bien la cobertura de los arbustos puede disminuir con el pastoreo, su presencia podría reducir el efecto negativo de la pérdida de especies detectada bajo pastoreo continuo (Altesor *et al.*, 1998). Esto es importante en un contexto regional de pérdida de pastizales por cambios en el uso del suelo, así como de aumento de la presión de pastoreo por el aumento de la carga animal en las áreas remanentes (Modernel *et al.*, 2016).

Además de la protección frente al pastoreo, los efectos positivos de mejora del microclima tienen importancia para un grupo relevante, como son las gramíneas C₃. En general, las gramíneas C₃ son sensibles a las altas temperaturas y dominan en ambientes más sombreados y húmedos. La presencia de los arbustos sería importante en sitios o momentos del año en donde las condiciones abióticas limitan el desarrollo de este grupo metabólico. Sería necesario pensar estratégicamente el manejo de los arbustos como forma de aumentar la riqueza de especies de este grupo. Además, se podría utilizar el potencial de este arbusto como reservorio de diversidad para la regeneración de sitios degradados por sobrepastoreo u otros factores. El uso

de arbustos para la regeneración de ecosistemas degradados por distintas causas es una práctica extendida en diversos ecosistemas como bosques (Gómez-Aparicio *et al.*, 2004), pastizales semiáridos (Huber-Sannwald & Pyke, 2005) y desiertos (Zhao *et al.*, 2007).

5.4 *Perspectivas a futuro*

Los resultados obtenidos en este trabajo abren algunas interrogantes que podrían ser abordadas en el futuro:

¿el efecto del arbusto es el mismo en todas las regiones ganaderas del país? Esta pregunta es central si se pretende manejar la cobertura de arbustos como una forma de protección de algunas especies o TFP en pastizales pastoreados. Los resultados obtenidos en esta región podrían no ser extrapolables a otras regiones con distinto tipo de suelo y condiciones climáticas.

¿el efecto varía en años con diferentes condiciones climáticas? La hipótesis habitualmente manejada sostiene que el efecto positivo del arbusto sería más esperable en condiciones de estrés por falta de agua o elevadas temperaturas. Por ello, sería importante determinar los cambios relativos de la competencia y la facilitación bajo distintas condiciones climáticas debido a los eventos climáticos extremos como sequías y olas de calor que se proyectan para los años venideros (Epstein *et al.*, 2002).

¿qué efecto tiene el arbusto sobre las condiciones físicas y químicas del suelo? En otros sitios se ha evidenciado el efecto de “isla de fertilidad” generado por la acumulación de nutrientes y materia orgánica en el suelo debajo de los arbustos y se ha planteado que la microflora varía en comparación con los sitios abiertos. Sin embargo, la mayoría de estos trabajos fueron realizados en sitios áridos y semiáridos, por lo que valdría la pena realizar estos estudios en sitios subhúmedos.

¿qué densidad de arbustos sería deseable para maximizar los efectos positivos sin afectar otras actividades como el manejo del ganado? Los trabajos aquí descritos se realizaron bajo una cobertura del arbusto cercana al 30% del área.

Sin embargo, la cobertura del arbusto es muy variable y altamente parcheada llegando a cubrir extensas áreas y formando densos “chircales”. En nuestro país no hay trabajos en los que se haya evaluado el efecto de la cobertura del arbusto sobre distintas variables abióticas y bióticas del pastizal. Si bien a nivel mundial existe preocupación por el aumento de los arbustos en los pastizales, su efecto sobre la estructura y el funcionamiento ecosistémico es variable (Eldridge *et al.*, 2011). Profundizar en este tema sería de particular trascendencia si se plantea el uso de los arbustos como herramienta de manejo para evitar la pérdida de especies en pastizales pastoreados.

¿qué potencial tienen los arbustos para la regeneración de pastizales degradados o zonas que fueron transformadas a agricultura? Como se mencionó previamente, el uso de arbustos para la regeneración de ecosistemas degradados por actividades humanas es una herramienta bastante utilizada. Sería deseable explorar el potencial del arbusto para la regeneración de pastizales sobrepastoreados o de zonas abandonadas por las actividades agrícolas. Este aspecto es de gran importancia a nivel mundial y cada vez más relevante en nuestro país, en donde la tasa de cambio en el uso del suelo es una de las más altas a nivel mundial (Baeza, 2016).

Conclusiones

Los resultados de esta tesis confirman que el arbusto *Acanthostyles buniifolius* establece relaciones de facilitación con algunas especies herbáceas en un pastizal de la región este de Uruguay. Estos resultados contribuyen a la comprensión del papel de las interacciones positivas en ambientes sub-húmedos.

El metabolismo fotosintético de las especies es un atributo clave para analizar la interacción entre el arbusto y las gramíneas en este pastizal. El arbusto protege a las gramíneas de los herbívoros y también beneficia a las gramíneas C₃ por efectos abióticos subterráneos. Por el contrario, el arbusto perjudica a las gramíneas C₄ y graminoides a través de efectos aéreos.

La presencia del arbusto disminuye la emergencia de dicotiledóneas pero aumenta la longevidad de las plántulas. Por el contrario, el pastoreo favorece su emergencia. El reclutamiento de las monocotiledóneas no es afectado ni por el arbusto ni por el pastoreo.

La presencia de *A. buniifolius* en los pastizales de Uruguay puede tener un papel relevante en el mantenimiento de la riqueza y diversidad de estas comunidades. Para generalizar los resultados de esta tesis deberían realizarse análisis similares en diferentes regiones del país, y a partir de ello, evaluar la práctica frecuente de su erradicación.

Bibliografía

Aguiar, M.R. & Sala, O.E. (1999). Patch structure, dynamics and implications for the functioning of arid ecosystems. *Trends in Ecology & Evolution* 14: 273-277. doi: [10.1016/S0169-5347\(99\)01612-2](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(99)01612-2)

Alemán, A. & Gómez, A. (1989). Control de malezas de campo sucio y reservas de carbohidratos de plantas arbustivas. Tesis para obtener el título de Ingeniero Agrónomo, Facultad de Agronomía (UDELAR). Montevideo, Uruguay.

Altesor, A.; Di Landro, E.; May, H. & Ezcurra, E. (1998). Long-term species change in a Uruguayan grassland. *Journal of Vegetation Science* 9: 173-180. doi: [10.2307/3237116](https://doi.org/10.2307/3237116)

Altesor, A.; Leoni, E.; Guido, A. & Paruelo, J.M. (2017). Differential responses of three grasses to defoliation, water and light availability. *Plant Ecology* 218: 95-104. doi: [10.1007/s11258-016-0669-7](https://doi.org/10.1007/s11258-016-0669-7)

Altesor, A.; Oesterheld, M.; Leoni, E.; Lezama, F. & Rodríguez, C. (2005). Effect of grazing on community structure and productivity of a Uruguayan grassland. *Plant Ecology* 179: 83-91. doi: [10.1007/s11258-004-5800-5](https://doi.org/10.1007/s11258-004-5800-5)

Altesor, A.; Piñeiro, G.; Lezama, F.; Jackson, R.; Sarasola, M. & Paruelo, J.M. (2006). Ecosystem changes associated with grazing in subhumid South American grasslands. *Journal of Vegetation Science* 17: 323-332. doi: [10.1111/j.1654-1103.2006.tb02452.x](https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2006.tb02452.x)

Andrade, B.O.; Marchesi, E.; Burkart, S.; Setubal, R.B.; Lezama, F.; Perelman, S.; Schneider, A.A.; Trevisan, R.; Overbeck, G.E. & Boldrini, I.I. (2018). Vascular plant species richness and distribution in the Río de la Plata grasslands. *Botanical Journal of the Linnean Society* 188: 250-256. doi: [10.1093/botlinnean/boy063](https://doi.org/10.1093/botlinnean/boy063)

Armas, C.; Ordiales, R. & Pugnaire, F.I. (2004). Measuring plant interactions: A new comparative index. *Ecology* 85: 2682-2686. doi: [10.1890/03-0650](https://doi.org/10.1890/03-0650)

Auerbach, M. & Shmida, A. (1987). Spatial scale and the determinants of plant species richness. *Trends in Ecology & Evolution* 2: 238-242. doi: [10.1016/0169-5347\(87\)90005-X](https://doi.org/10.1016/0169-5347(87)90005-X)

Baeza, S. (2016). El Uso/Cobertura del suelo en Uruguay y los Pastizales del Río de la Plata: caracterización, análisis de sus cambios a lo largo del tiempo e impactos sobre el funcionamiento ecosistémico. Tesis para obtener el título de Doctor en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias (PEDECIBA, UDELAR). Montevideo, Uruguay.

Baeza, S.; Rama, G. & Lezama, F. (2019). Cartografía de los pastizales naturales en las regiones geomorfológicas de Uruguay predominantemente ganaderas. Ampliación y actualización. En: Altesor, A. (Ed.). INIA, Serie FPTA (en prensa).

Bakker, E.S.; Gill, J.L.; Johnson, C.N.; Vera, F.W.M.; Sandom, C.J.; Asner G.P. & Svenning, J.-C. (2016). Combining paleo-data and modern exclosure experiments to assess the impact of megafauna extinctions on woody vegetation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*: 113: 847-855. doi: [10.1073/pnas.1502545112](https://doi.org/10.1073/pnas.1502545112)

Ballaré, C.L & Casal, J.J. (2000). Light signals perceived by crop and weed plants. *Field Crops Research* 67: 149-160. doi: [10.1016/S0378-4290\(00\)00090-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(00)00090-3)

Baraza, E.; Zamora, R. & Hódar, J.A. (2006). Conditional outcomes in plant-herbivore interactions: neighbours matter. *Oikos* 113: 148-156. doi: [10.1111/j.0030-1299.2006.14265.x](https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2006.14265.x)

Barbosa, P.; Hines, J.; Kaplan, I.; Martinson, H.; Szczepaniec, A. & Szendrei, Z. (2009). Associational resistance and associational susceptibility: having right or

wrong neighbors. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 40: 1-20. doi: [10.1146/annurev.ecolsys.110308.120242](https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.110308.120242)

Barrios, J. & Noguez, J. (1999). Control de malezas en campo sucio con máquina de alfombra. Tesis para obtener el título de Ingeniero Agrónomo, Facultad de Agronomía (UDELAR). Montevideo, Uruguay.

Benson, E.J. & Hartnett, D.C. (2006). The role of seed and vegetative reproduction in plant recruitment and demography in tallgrass prairie. *Plant Ecology* 187: 163-178. doi: [10.1007/s11258-005-0975-y](https://doi.org/10.1007/s11258-005-0975-y)

Bernardi, R.E.; de Jonge, I.K. & Holmgren, M. (2016). Trees improve forage quality and abundance in South American subtropical grasslands. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 232: 227-231. doi: [10.1016/j.agee.2016.08.003](https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.08.003)

Bertness, M. & Callaway, R.M. (1994). Positive interactions in communities. *Trends in Ecology & Evolution* 9: 191-193. doi: [10.1016/0169-5347\(94\)90088-4](https://doi.org/10.1016/0169-5347(94)90088-4)

Bianchin, M.C. & Rúgolo de Agrasar, Z.E. (2002). Analysis of the patterns of distribution of photosynthetic pathways and representativity of the family Poaceae on Martín García Island, Río de La Plata, Buenos Aires, Argentina. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 197: 351-360. doi: [10.1078/0367-2530-00051](https://doi.org/10.1078/0367-2530-00051)

Biganzoli, F.; Wiegand, T. & Batista, W.B. (2009). Fire-mediated interactions between shrubs in a South American temperate savannah. *Oikos* 118: 1383-1395. doi: [10.1111/j.1600-0706.2009.17349.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2009.17349.x)

Bissels, S.; Donath, T.W.; Hölzel, N. & Otte, A. (2006). Effects of different mowing regimes on seedling recruitment in alluvial grasslands. *Basic and Applied Ecology* 7: 433-442. doi: [10.1016/j.baae.2005.10.002](https://doi.org/10.1016/j.baae.2005.10.002)

Bonanomi, G.; Incerti, G. & Stefano, M. (2011). Assessing occurrence, specificity, and mechanisms of plant facilitation in terrestrial ecosystems. *Plant Ecology* 212: 1777-1790. doi: [10.1007/s11258-011-9948-5](https://doi.org/10.1007/s11258-011-9948-5)

Bossuyt, B.; De Fre, B. & Hoffmann, M. (2005). Abundance and flowering success patterns in a short-term grazed grassland: early evidence of facilitation. *Journal of Ecology* 93: 1104-1114. doi: [10.1111/j.1365-2745.2005.01059.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2005.01059.x)

Bulleri, F.; Bruno, J.F.; Silliman, B.R. & Stachowicz, J.J. (2016). Facilitation and the niche: implications for coexistence, range shifts and ecosystem functioning. *Functional Ecology* 30: 70-78. doi: [10.1111/1365-2435.12528](https://doi.org/10.1111/1365-2435.12528)

Bullock, J.M. (2000) Gaps and seedling colonization. En: Fenner, M. (ed.). *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*. CAB International, Wallingford, Inglaterra. pp. 375-395.

Bradford, K.J. (1995). Water relations in seed germination. En: Kigel, J. y Galili, G. (Eds.). *Seed Development and Germination*. Marcel Dekker, New York. pp. 351-396.

Bremond, L., Boom, A. & Favier, C. (2012). Neotropical C₃/C₄ grass distributions – present, past and future. *Global Change Biology* 18: 2324-2334. doi: [10.1111/j.1365-2486.2012.02690.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2012.02690.x)

Breshears, D.D.; Nyhan, J.W.; Heil, C.E. & Wilcox, B.P. (1998). Effects of woody plants on microclimate in a semiarid woodland: soil temperature and evaporation in canopy and intercanopy patches. *International Journal of Plant Sciences* 159: 1010-1017. doi: [10.1086/314083](https://doi.org/10.1086/314083)

Briggs, J.M.; Knapp, A.K.; Blair, J.M.; Heisler, J.L.; Hoch, G.A.; Lett, M.S. & McCarron, J.K. (2005). An Ecosystem in Transition: Causes and Consequences of the Conversion of Mesic Grassland to Shrubland. *BioScience* 55: 243-254. doi: [10.1641/0006-3568\(2005\)055\[0243:AEITCA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2005)055[0243:AEITCA]2.0.CO;2)

Brooker, R.W. (2006). Plant-plant interactions and environmental change. *New Phytologist* 171: 271-284. doi: [10.1111/j.1469-8137.2006.01752.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01752.x)

Bruno, J.F.; Stachowicz, J.J. & Bertness, M.D. (2003). Inclusion of facilitation into ecological theory. *Trends in Ecology & Evolution* 18: 119-125. doi: [10.1016/S0169-5347\(02\)00045-9](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(02)00045-9)

Burgess, S.S.O. & Bleby; T.M. (2006). Redistribution of soil water by lateral roots mediated by stem tissues. *Journal of Experimental Botany* 57: 3283-3291. doi: [10.1093/jxb/erl085](https://doi.org/10.1093/jxb/erl085)

Burke, I.C.; Lauenroth, W.K.; Vinton, M.A.; Hook, PB; Kelly, RH; Epstein, H.E.; Aguiar, M.R.; Robles, M.D.; Aguilera, M.O.; Murphy, KL & Gill, R.A. (1998). Plant-soil interactions in temperate grasslands. *Biogeochemistry* 42: 121-143. doi: [10.1007/978-94-017-2691-7_7](https://doi.org/10.1007/978-94-017-2691-7_7)

Cadotte, M.W.; Borer, E.T.; Seabloom, E.W.; Cavender-Bares, J.; Harpole, W.S.; Cleland, E. & Davies, K.F. (2010). Phylogenetic patterns differ for native and exotic plant communities across a richness gradient in Northern California. *Diversity and Distributions*. 16: 892-901. doi: [10.1111/j.1472-4642.2010.00700.x](https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2010.00700.x)

Callaway, R.M. (1995). Positive interactions among plants. *The Botanical Review* 61: 306-349. doi: [10.1007/BF02912621](https://doi.org/10.1007/BF02912621)

Callaway, R.M. (2007). *Positive Interactions and Interdependence in Plant Communities*. Springer, Dordrecht, The Netherlands.

Callaway, R.M.; Kikodze, D.; Chiboshvili, M. & Khetsuriani, L. (2005). Unpalatable plants protect neighbors from grazing and increase plant community diversity. *Ecology* 86: 1856-1862. doi: [10.1890/04-0784](https://doi.org/10.1890/04-0784)

Callaway, R.M. & Pennings, S.C. (2000). Facilitation may buffer competitive effects: indirect and diffuse interactions among salt marsh plants. *The American Naturalist* 156: 416-424. doi: [10.1086/303398](https://doi.org/10.1086/303398)

Castro, J.; Zamora, R.; Hódar, J.A. & Gómez, J.M. (2002). Use of shrubs as nurse plants: a new technique for reforestation in mediterranean mountains. *Restoration Ecology* 10: 297-305. doi: [10.1046/j.1526-100X.2002.01022.x](https://doi.org/10.1046/j.1526-100X.2002.01022.x)

Cavieres, L.A. & Badano, E.I. (2009). Do facilitative interactions increase species richness at the entire community level? *Journal of Ecology* 97: 1181-1191. doi: [10.1111/j.1365-2745.2009.01579.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2009.01579.x)

Cayssials, V. & Rodríguez, C. (2018). The adaptive value of grass traits in response to grazing. *Journal of Plant Ecology* 11: 248-255. doi: [10.1093/jpe/rtw139](https://doi.org/10.1093/jpe/rtw139)

Chaneton, E.J.; Perelman, S.B. & León, R.J.C. (2005). Floristic heterogeneity of flooding Pampa grasslands: a multi-scale analysis. *Plant Biosystems* 139: 245-254. doi: [10.1080/11263500500340714](https://doi.org/10.1080/11263500500340714)

Chapin, F.S.; Bret-Harte, M.S.; Hobbie, S.E. & Zhong, H. (1996). Plant functional types as predictors of transient responses of arctic vegetation to global change. *Journal of Vegetation Science* 7: 347-358. doi: [10.2307/3236278](https://doi.org/10.2307/3236278)

Chebataroff, J. (1960). Algunos aspectos evolutivos de la vegetación de la Provincia Fitogeográfica Uruguayense. Apartado de Revista Nacional N° 201

Christin, P.A.; Besnard, G.; Samaritani, E.; Duvall, M.R.; Hodkinson, T.R.; Savolainen, V. & Salamin, N. (2008). Oligocene CO₂ decline promoted C₄ photosynthesis in grasses. *Current Biology* 18: 37-43. doi: [10.1016/j.cub.2007.11.058](https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.11.058)

Clarke, P.J. & Davison, E.A. (2004). Emergence and survival of herbaceous seedlings in temperate grassy woodlands: Recruitment limitations and regeneration niche. *Austral Ecology* 29: 320-331. doi: [10.1111/j.1442-9993.2004.01369.x](https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2004.01369.x)

Collins, S.L. (2000). Disturbance frequency and community stability in native tallgrass prairie. *The American Naturalist* 155: 311-325. doi: [10.1086/303326](https://doi.org/10.1086/303326)

Costa, A.N.; Vasconcelos, H.L. & Bruna, E.M. (2017). Biotic drivers of seedling establishment in Neotropical savannas: selective granivory and seedling herbivory by leaf-cutter ants as an ecological filter. *Journal of Ecology* 105: 132-141. doi: [10.1111/1365-2745.12656](https://doi.org/10.1111/1365-2745.12656)

Cowling, R.M. (1983). The occurrence of C₃ and C₄ grasses in fynbos and allied shrublands in the south eastern Cape, South Africa. *Oecologia* 58: 121-127. doi: [10.1007/BF00384551](https://doi.org/10.1007/BF00384551)

Craine, J.M. & Dybzinski, R. (2013). Mechanisms of plant competition for nutrients, water and light. *Functional Ecology* 27: 833-840. doi: [10.1111/1365-2435.12081](https://doi.org/10.1111/1365-2435.12081)

Crawley, M.J. (1987). The structure of plant communities. En: Crawley, M.J. (Ed.). *Plant Ecology*. Blackwell, Oxford.

Cruz, G.; Baethgen, W.; Picasso, V. & Terra, R. (2014). Análisis de sequías agronómicas en dos regiones ganaderas de Uruguay. *Agrociencia Uruguay* 18: 126-132.

Cunningham, S.A.; Summerhayes, B. & Westoby, M. (1999). Evolutionary divergences in leaf structure and chemistry, comparing rainfall and soil nutrient gradients. *Ecology* 69: 569-588. doi: [10.1890/0012-9615\(1999\)069\[0569:EDILSA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9615(1999)069[0569:EDILSA]2.0.CO;2)

Damgaard, C.; Merlin, A.; Mesléard, F. & Bonis, A. (2011). The demography of space occupancy: measuring plant colonization and survival probabilities using repeated pin-point measurements. *Methods in Ecology and Evolution* 2: 110-115. doi: [10.1111/j.2041-210X.2010.00053.x](https://doi.org/10.1111/j.2041-210X.2010.00053.x)

Dawson, T.E. (1993). Hydraulic lift and water use by plants: implications for water balance, performance and plant-plant interactions. *Oecologia* 95: 565-574. doi: [10.1007/BF00317442](https://doi.org/10.1007/BF00317442)

Díaz, S.; Acosta, A. & Cabido, M. (1992). Morphological analysis of herbaceous communities under different grazing regimes. *Journal of Vegetation Science* 3: 689-696. doi: [10.2307/3235837](https://doi.org/10.2307/3235837)

Díaz, S.; Lavorel, S.; McIntyre, S.; Falczuk, V.; Casanoves, F.; Milchunas, D.G.; Skarpe, C.; Rusch, G.; Sternberg, M.; Noy-Meir, I.; Landsberg, J.; Zhang, W.; Clark, H. & Campbell, B.D. (2007). Plant trait responses to grazing - a global synthesis. *Global Change Biology* 13: 313-341. doi: [10.1111/j.1365-2486.2006.01288.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2006.01288.x)

Di Rienzo, J.A.; Casanoves, F.; Balzarini, M.G.; Gonzalez, L.; Tablada, M. & Robledo, C.W. InfoStat versión 2017. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Dohn, J.; Dembélé, F.; Karembé, M.; Moustakas, A.; Amévor, K.A. & Hanan, N.P. (2013). Tree effects on grass growth in savannas: competition, facilitation and the stress-gradient hypothesis. *Journal of Ecology* 101: 202-209. doi: [10.1111/1365-2745.12010](https://doi.org/10.1111/1365-2745.12010)

Dobarro, I.; Valladares, F. & Peco, B. (2010). Light quality and not quantity segregates germination of grazing increasers from decreasers in Mediterranean grasslands. *Acta Oecologica* 36: 74-79. doi: [10.1016/j.actao.2009.10.005](https://doi.org/10.1016/j.actao.2009.10.005)

Domisch, T.; Finér, L. & Lehto, T. (2001). Effects of soil temperature on biomass and carbohydrate allocation in Scots pine (*Pinus sylvestris*) seedlings at the beginning of the growing season. *Tree Physiology* 21: 465-472. doi: [10.1093/treephys/21.7.465](https://doi.org/10.1093/treephys/21.7.465)

Dong, X.W.; Zhang, X.K.; Bao, X.L. & Wang, J.K. (2009). Spatial distribution of soil nutrients after the establishment of sand-fixing shrubs on sand dune. *Plant, Soil and Environment* 55: 288-294. doi: [10.17221/13/2009-PSE](https://doi.org/10.17221/13/2009-PSE)

Edwards, E.J.; Osborne, C.P.; Strömberg, C.A.; Smith, S.A.; C₄ Grasses Consortium; Bond, W.J.; Christin, P.A.; Cousins, A.B.; Duvall, M.R.; Fox, D.L.; Freckleton, R.P.; Ghannoum, O.; Hartwell, J.; Huang, Y.; Janis, C.M.; Keeley, J.E.; Kellogg, E.A.; Knapp, A.K.; Leakey, A.D.; Nelson, D.M.; Saarela, J.M.; Sage, R.F.; Sala, O.E.; Salamin, N.; Still, C.J. & Tipple, B. (2010). The origins of C₄ grasslands: integrating evolutionary and ecosystem science. *Science* 328: 587-591. doi: [10.1126/science.1177216](https://doi.org/10.1126/science.1177216)

Edwards, E.J. & Smith, S.A. (2010). Phylogenetic analyses reveal the shady history of C₄ grasses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107: 2532-2537. doi: [10.1073/pnas.0909672107](https://doi.org/10.1073/pnas.0909672107)

Edwards, G.R. & Crawley, M.J. (1999). Herbivores, seed banks and seedling recruitment in mesic grassland. *Journal of Ecology* 87: 423-435. doi: [10.1046/j.1365-2745.1999.00363.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.1999.00363.x)

Ehleringer, J.R. (1978). Implications of quantum yield differences on the distributions of C₃ and C₄ grasses. *Oecologia* 31: 255-267. doi: [10.1007/BF00346246](https://doi.org/10.1007/BF00346246)

Ehleringer, J.R. (2005). The Influence of Atmospheric CO₂, Temperature, and Water on the Abundance of C₃/C₄ Taxa. En: Baldwin, I. *et al.* (Eds.). *A History of Atmospheric CO₂ and Its Effects on Plants, Animals, and Ecosystems*. Ecological Studies (Analysis and Synthesis), vol 177. Springer, New York, NY.

Ehleringer, J.R.; Cerling, T.E. & Helliker, B.R. (1997). C₄ photosynthesis, atmospheric CO₂, and climate. *Oecologia* 112: 285-299. doi: [10.1007/s004420050311](https://doi.org/10.1007/s004420050311)

Eldridge, D.J.; Bowker, M.A.; Maestre, F.T.; Roger, E.; Reynolds, J.F. & Whitford, W.G. (2011). Impacts of shrub encroachment on ecosystem structure and functioning: towards a global synthesis. *Ecology Letters* 14: 709-722. doi: [10.1111/j.1461-0248.2011.01630.x](https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01630.x)

Ellis, R.P.; Vogel, J.C. & Fuls, A. (1980). Photosynthetic pathways and the geographical distribution of grasses in south west Africa/Namibia. *South African journal of science* 76: 307-314.

Epstein, H.E.; Gill, R.A.; Paruelo, J.M.; Lauenroth, W.K.; Jia, G.J. & Burke, I.C. (2002). The relative abundance of three plant functional types in temperate grasslands and shrublands of North and South America: effects of projected climate change. *Journal of Biogeography* 29: 875-888. doi: [10.1046/j.1365-2699.2002.00701.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2699.2002.00701.x)

Eriksson, Å. & Eriksson, O. (1997). Seedling recruitment in semi-natural pastures: the effects of disturbance, seed size, phenology and seed bank. *Nordic Journal of Botany* 17: 469-482. doi: [10.1111/j.1756-1051.1997.tb00344.x](https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1997.tb00344.x)

Eriksson, O. & Ehrlén, J. (2008). Seedling recruitment and population ecology. En: Leck, M.A.; Parker, V.T. & Simpson, R.L. (Eds). *Seedling ecology and evolution*. Cambridge University Press, Cambridge, pp 239-254.

Facelli, J.M. & Pickett, S.T.A. (1991). Plant litter: its dynamics and effects on plant community structure. *The Botanical Review* 57: 1-32. doi: [10.1007/BF02858763](https://doi.org/10.1007/BF02858763)

Fedrigo, J.K.; Ataíde, P.F.; Filho, J.A.; Oliveira, L.V.; Jaurena, M.; Laca, E.A.; Overbeck, G.E. & Nabinger, C. (2018). Temporary grazing exclusion promotes rapid recovery of species richness and productivity in a long-term overgrazed Campos grassland. *Restoration Ecology* 26: 677-685. doi: [10.1111/rec.12635](https://doi.org/10.1111/rec.12635)

Fenner, M. & Thompson, K. (2005). *The ecology of seeds*. Cambridge Univ Press, Cambridge.

Fernández, G. & Altesor, A. (2019). Differential responses of C₃ and C₄ grasses to shrub effects in a sub-humid grassland of South America. *Journal of Vegetation Science* 30: 203-211. doi: [10.1111/jvs.12715](https://doi.org/10.1111/jvs.12715)

Fernández, G.; Lezama, F. & Rodríguez, C. (2019). Decoupling facilitative effects in a temperate subhumid grassland: photosynthetic metabolism matters. *Plant Ecology & Diversity*. doi: [10.1080/17550874.2019.1572246](https://doi.org/10.1080/17550874.2019.1572246)

Fernández, G.; Texeira, M. & Altesor, A. (2014). The small scale spatial pattern of C₃ and C₄ grasses depends on shrub distribution. *Austral Ecology* 39: 532-539. doi: [10.1111/aec.12113](https://doi.org/10.1111/aec.12113)

Fidelis, A.; Overbeck, G.E.; Pillar, V.D. & Pfadenhauer, J. (2009). The ecological value of *Eryngium horridum* in maintaining biodiversity in subtropical grasslands. *Austral Ecology* 34: 558-566. doi: [10.1111/j.1442-9993.2009.01959.x](https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2009.01959.x)

Filazzola, A. & Lortie, C.J. (2014). A systematic review and conceptual framework for the mechanistic pathways of nurse plants. *Global Ecology and Biogeography* 23: 1335-1345. doi: [10.1111/geb.12202](https://doi.org/10.1111/geb.12202)

Fletcher, A.L.; Sinclair, T.R. & Allen, L.H. (2007). Transpiration responses to vapor pressure deficit in well watered 'slow-wilting' and commercial soybean. *Environmental and Experimental Botany* 61: 145-151. doi: [10.1016/j.envexpbot.2007.05.004](https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.05.004)

Flores, J. & Jurado, E. (2003). Are nurse-protégé interactions more common among plants from arid environments? *Journal of Vegetation Science* 14: 911-916. doi: [10.1111/j.1654-1103.2003.tb02225.x](https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2003.tb02225.x)

Forcella, F.; Benesch Arnold, R.L.; Sanchez, R. & Ghersa, C.M. (2000). Modeling seedling emergence. *Field Crops Research* 67: 123-139. doi: [10.1016/S0378-4290\(00\)00088-5](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(00)00088-5)

Gage, E.A. & Cooper, D.J. (2004). Constraints on willow seedling survival in a Rocky Mountain Montane floodplain. *Wetlands* 24: 908-911. doi: [10.1672/0277-5212\(2004\)024\[0908:COWSSI\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1672/0277-5212(2004)024[0908:COWSSI]2.0.CO;2)

Galíndez, G.; Ortega-Baes, P.; Scopel, A.L. & Hutchings, M.J. (2013). The dynamics of three shrub species in a fire-prone temperate savanna: the interplay between the seed bank, seed rain and fire regime. *Plant Ecology* 214: 75-86. doi: [10.1007/s11258-012-0147-9](https://doi.org/10.1007/s11258-012-0147-9)

García, D. & Obeso, J.R. (2003). Facilitation by herbivore-mediated nurse plants in a threatened tree, *Taxus baccata*: local effects and landscape level consistency. *Ecography* 26: 739-750. doi: [10.1111/j.0906-7590.2003.03601.x](https://doi.org/10.1111/j.0906-7590.2003.03601.x)

Givnish, T.J. (1979). On the adaptive significance of leaf form. En: Solbrig, O.T.; Jain, S.; Johnson, G.B. & Raven, P.H. (Eds.). *Topics in plant population biology*. London, UK: Macmillan. pp 375-407.

Gómez-Aparicio, L. (2009). The role of plant interactions in the restoration of degraded ecosystems: a meta-analysis across life-forms and ecosystems. *Journal of Ecology* 97: 1202-1214. doi: [10.1111/j.1365-2745.2009.01573.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2009.01573.x)

Gómez-Aparicio, L.; Gómez, J.M.; Zamora, R. & Boettinger, J.L. (2005). Canopy vs. soil effects of shrubs facilitating tree seedlings in Mediterranean montane ecosystems. *Journal of Vegetation Science* 16: 191-198. doi: [10.1111/j.1654-1103.2005.tb02355.x](https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2005.tb02355.x)

Gómez-Aparicio, L.; Zamora, R.; Gómez, J.M.; Hódar, J.A.; Castro, J. & Baraza, E. (2004). Applying plant facilitation to forest restoration: a meta-analysis of the use of shrubs as nurse plants. *Ecological Applications* 14: 1128-1138. doi: [10.1890/03-5084](https://doi.org/10.1890/03-5084)

Graae, B.J.; Ejrnaes, R.; Lang, S.I.; Meineri, E.; Ibarra, P.T. & Bruun, H.H. (2011). Strong microsite control of seedling recruitment in tundra. *Oecologia* 166: 565-576. doi: [10.1007/s00442-010-1878-8](https://doi.org/10.1007/s00442-010-1878-8)

Gräff, A.; Moser G. & Heiselmayer, P. (2015). Is light interception of understorey species facilitated by light reflection from plant neighbours? *Plant Ecology & Diversity* 8: 1-12. doi: [10.1080/17550874.2014.898162](https://doi.org/10.1080/17550874.2014.898162)

Graff, P. & Aguiar, M.R. (2011). Testing the role of biotic stress in the stress gradient hypothesis. *Processes and patterns in arid rangelands*. *Oikos* 120: 1023-1030. doi: [10.1111/j.1600-0706.2010.19059.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.19059.x)

Graff, P.; Aguiar, M.R. & Chaneton, E.J. (2007). Shifts in positive and negative plant interactions along a grazing intensity gradient. *Ecology* 88: 188-199. doi: [10.1890/0012-9658\(2007\)88\[188:SIPANP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2007)88[188:SIPANP]2.0.CO;2)

Grass Phylogeny Working Group II (2012). New grass phylogeny resolves deep evolutionary relationships and discovers C₄ origins. *New Phytologist* 193: 304-312. doi: [10.1111/j.1469-8137.2011.03972.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03972.x)

Gregory, N.G. (1995). The role of shelterbelts in protecting livestock: a review. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 38: 423-450. doi: [10.1080/00288233.1995.9513146](https://doi.org/10.1080/00288233.1995.9513146)

Greig-Smith, P. (1983). *Quantitative plant ecology* (3rd ed.). Oxford, UK: Blackwell.

Grossi, M.A.; Gutiérrez D.G; Berrueta P.C. & Martínez J.J. (2011). *Acanthostyles* (Asteraceae, Eupatorieae): a revision with a multivariate analysis. *Australian Systematic Botany* 24: 87-103. doi: [10.1071/SB10038](https://doi.org/10.1071/SB10038)

Gurevitch, J.; Scheiner, S.M. & Fox, G.A. (2006). *The ecology of plants* (2nd ed.). Massachusetts, USA: Sinauer Associates.

Hairston, N.; Smith, F. & Slobodkin, L. (1960). Community structure, population control and competition. *American Naturalist* 94: 421-425. doi: [10.1086/282146](https://doi.org/10.1086/282146)

Harper, J.L. (1977). *Population biology of plants*. London, UK: Academic Press.

Hastwell, G.T. & Facelli, J.M. (2003). Differing effects of shade-induced facilitation on growth and survival during the establishment of a chenopod shrub. *Journal of Ecology* 91: 941-950. doi: [10.1046/j.1365-2745.2003.00832.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.2003.00832.x)

He, Q.; Bertness, M.D. & Altieri, A.H. (2013). Global shifts towards positive species interactions with increasing environmental stress. *Ecology Letters* 16: 695-706. doi: [10.1111/ele.12080](https://doi.org/10.1111/ele.12080)

Hillebrand, H.; Gruner, D.S.; Borer, E.T.; Bracken, M.E.S.; Cleland, E.E.; Elser, J.J.W.; Harpole, S.; Ngai, J.T.; Seabloom, E.W.; Shurin, J.B. & Smith, J.E. (2007). Consumer versus resource control of producer diversity depends on ecosystem type and producer community structure. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104: 10904-10909. doi: [10.1073/pnas.0701918104](https://doi.org/10.1073/pnas.0701918104)

Hoffmann, W.A. & Jackson, R.B. (2000). Vegetation-climate feedbacks in the conversion of tropical savanna to grassland. *Journal of Climate* 13: 1593-1602. doi: [10.1175/1520-0442\(2000\)013<1593:VCFITC>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1175/1520-0442(2000)013<1593:VCFITC>2.0.CO;2)

Holmgren, M. & Scheffer, M. (2010). Strong facilitation in mild environments: the stress gradient hypothesis revisited. *Journal of Ecology* 98: 1269-1275. doi: [10.1111/j.1365-2745.2010.01709.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2010.01709.x)

Holmgren, M.; Scheffer, M. & Huston, M. (1997). The interplay of facilitation and competition in plant communities. *Ecology* 78: 1966-1975. doi: [10.1890/0012-9658\(1997\)078\[1966:TIOFAC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(1997)078[1966:TIOFAC]2.0.CO;2)

Holzappel, C.; Tielbörger, K.; Parag, H.A.; Kigel, J. & Sternberg, M. (2006). Annual plant-shrub interactions along an aridity gradient. *Basic and Applied Ecology* 7: 268-279. doi: [10.1016/j.baae.2005.08.003](https://doi.org/10.1016/j.baae.2005.08.003)

Hovenden, M.J.; Newton, P.C.D.; Wills K.E.; Janes, J.K.; Williams, A.L.; Vander Schoor, J.K. & Nolan, M.J. (2008). Influence of warming on soil water potential controls seedling mortality in perennial but not annual species in a temperate

grassland. *New Phytologist* 180: 143-152. doi: [10.1111/j.1365-2486.2008.01597.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01597.x)

Howard, K.S.C.; Eldridge, D.J. & Soliveres, S. (2012). Positive effects of shrubs on plant species diversity do not change along a gradient in grazing pressure in an arid shrubland. *Basic and Applied Ecology* 13: 159-168. doi: [10.1016/j.baae.2012.02.008](https://doi.org/10.1016/j.baae.2012.02.008)

Huber-Sannwald, E. & Pyke, D.A. (2005). Establishing Native Grasses in a Big Sagebrush-Dominated Site: An Intermediate Restoration Step. *Restoration Ecology* 13: 292-301. doi: [10.1111/j.1526-100X.2005.00037.x](https://doi.org/10.1111/j.1526-100X.2005.00037.x)

Hunter, A.F. & Aarssen, L.W. (1988). Plants helping plants. *BioScience* 38: 34-40. doi: [10.2307/1310644](https://doi.org/10.2307/1310644)

Huntly, N. (1991). Herbivores and the dynamics of communities and ecosystems. *Annual Review of Ecology and Systematics* 22: 477-503. doi: [10.1146/annurev.es.22.110191.002401](https://doi.org/10.1146/annurev.es.22.110191.002401)

Jackson, R.B.; Canadell, J.; Ehleringer, J.R.; Mooney, H.A.; Sala, O.E. & Schulze, E.D. (1996). A global analysis of root distributions for terrestrial biomes. *Oecologia* 108: 389-411. doi: [10.1007/BF00333714](https://doi.org/10.1007/BF00333714)

Jaurena, M.; Lezama, F. & Cruz, P. (2012). Perennial grasses traits as functional markers of grazing intensity in basaltic grasslands of Uruguay. *Chilean Journal of Agricultural Research* 72: 541-549.

Jobbágy, E.G. & Jackson, R.B. (2000). The vertical distribution of soil organic carbon and its relation to climate and vegetation. *Ecological Applications* 10: 423-436. doi: [10.1890/1051-0761\(2000\)010\[0423:TVDOSO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(2000)010[0423:TVDOSO]2.0.CO;2)

Joffre, R. & Rambal, S. (1988). Soil water improvement by trees in the rangelands of southern Spain. *Acta Oecologica* 9: 405-422.

Kitajima, K. & Fenner, M. (2000). Ecology of seedling regeneration. En: Fenner, M. (Ed.). Seeds: the ecology of regeneration in plant communities. CAB International, Wallingford, Inglaterra. pp 331-359.

Klanderud, K.; Vandvik, V. & Goldberg, D. (2015). The importance of biotic vs. abiotic drivers of local plant community composition along regional bioclimatic gradients. PLoS ONE 10: e0130205. doi: [10.1371/journal.pone.0130205](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130205)

Kleyer, M. & Minden, V. (2015). Why functional ecology should consider all plant organs: An allocation-based perspective. Basic and Applied Ecology 16: 1-9. doi: [10.1016/j.baae.2014.11.002](https://doi.org/10.1016/j.baae.2014.11.002)

Klimešová, J.; Martínková, J. & Herben, T. (2018). Horizontal growth: An overlooked dimension in plant trait space. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics 32: 18-21. doi: [10.1016/j.ppees.2018.02.002](https://doi.org/10.1016/j.ppees.2018.02.002)

Klink, C.A. & Joly, C.A. (1989). Identification and distribution of C₃ and C₄ grasses in open and shaded habitats in Sao Paulo state, Brazil. Biotropica 21 30-34. doi: [10.2307/2388438](https://doi.org/10.2307/2388438)

Koerner, S.E. & Collins, S.L. (2014). Interactive effects of grazing, drought, and fire on grassland plant communities in North America and South Africa. Ecology 95: 98-109. doi: [10.1890/13-0526.1](https://doi.org/10.1890/13-0526.1)

Kopp, C.W. & Cleland, E.E. (2018). Plant community response to *Artemisia rothrockii* (sagebrush) encroachment and removal along an arid elevational gradient. Journal of Vegetation Science 29: 859-866. doi: [10.1111/jvs.12669](https://doi.org/10.1111/jvs.12669)

Körner, C. 2003. Limitation and stress - always or never? Journal of Vegetation Science 14: 141-143. doi: [10.1111/j.1654-1103.2003.tb02138.x](https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2003.tb02138.x)

Lavorel, S.; McIntyre, S.; Landsberg, J. & Forbes, T.D.A. (1997). Plant functional classifications: from general groups to specific groups based on

response to disturbance. *Trends in Ecology & Evolution* 12: 474-478. doi: [10.1016/S0169-5347\(97\)01219-6](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(97)01219-6)

Le Bagousse-Pinguet, Y.; Xiao, S.; Brooker, R.W.; Gross, N.; Liancourt, P.; Straile, D. & Michalet, R. (2014). Facilitation displaces hotspots of diversity and allows communities to persist in heavily stressed and disturbed environments. *Journal of Vegetation Science* 25: 66-76. doi: [10.1111/jvs.12064](https://doi.org/10.1111/jvs.12064)

Lett, M.S. & Knapp, A.K. (2003). Consequences of shrub expansion in mesic grassland: resource alterations and graminoid responses. *Journal of Vegetation Science* 14: 487-496. doi: [10.1111/j.1654-1103.2003.tb02175.x](https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2003.tb02175.x)

Lezama, F.; Altesor, A.; Pereira, M. & Paruelo, J.M. (2011). Descripción de la heterogeneidad florística en los pastizales naturales de las principales regiones geomorfológicas de Uruguay. En: Altesor, A.; Ayala, W. & Paruelo, J.M. (Eds.). *Bases ecológicas y tecnológicas para el manejo de pastizales*. Montevideo, Uruguay: INIA. pp 15-32.

Lezama, F.; Baeza, S.; Altesor, A.; Cesa, A.; Chaneton, E.J. & Paruelo, J.M. (2014). Variation of grazing-induced vegetation changes across a large-scale productivity gradient. *Journal of Vegetation Science* 25: 8-21. doi: [10.1111/jvs.12053](https://doi.org/10.1111/jvs.12053)

Lezama, F. & Paruelo, J.M. (2016). Disentangling grazing effects: trampling, defoliation and urine deposition. *Applied Vegetation Science* 19: 557-566. doi: [10.1111/avsc.12250](https://doi.org/10.1111/avsc.12250)

Lezama, F.; Pereira, M.; Altesor, A. & Paruelo, J.M. (2019). Grasslands of Uruguay: classification based on vegetation plots. *Phytocoenologia*. doi: [10.1127/phyto/2019/0215](https://doi.org/10.1127/phyto/2019/0215)

Liancourt, P.; Callaway, R. & Michalet, R. (2005). Stress tolerance and competitive-response ability determine the outcome of biotic interactions. *Ecology* 86: 1611-1618. doi: [10.1890/04-1398](https://doi.org/10.1890/04-1398)

Lin, B. (2010). The role of agroforestry in reducing water loss through soil evaporation and crop transpiration in coffee agroecosystems 150: 510-518. doi: [10.1016/j.agrformet.2009.11.010](https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2009.11.010)

Liu, F.; Liu, J. & Dong, M. (2016). Ecological Consequences of Clonal Integration in Plants. *Frontiers in Plant Science* 7: 770. doi: [10.3389/fpls.2016.00770](https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00770)

Lloret, F.; Peñuelas, J. & Estiarte, M. (2004). Experimental evidence of reduced diversity of seedlings due to climate modification in a Mediterranean-type community. *Global Change Biology* 10: 248-258. doi: [10.1111/j.1365-2486.2004.00725.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2004.00725.x)

Loeser, M.R., Sisk, T.D. & Crews, T.E. (2007). Impact of Grazing Intensity during Drought in an Arizona Grassland. *Conservation Biology* 21: 87-97. doi: [10.1111/j.1523-1739.2006.00606.x](https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2006.00606.x)

López-Mársico, L.; Altesor, A.; Oyarzabal, M.; Baldassini, P. & Paruelo, J.M. (2015). Grazing increases below-ground biomass and net primary production in a temperate grassland. *Plant and Soil* 392: 155-162. doi: [10.1007/s11104-015-2452-2](https://doi.org/10.1007/s11104-015-2452-2)

López-Mársico, L.; Farías-Moreira, L.; Lezama, F.; Altesor, A. & Rodríguez, C. (2019). Light intensity triggers different germination responses to fire-related cues in temperate grassland species. *Folia Geobotanica* (en prensa).

Lortie, C.J.; Brooker, R.W.; Choler, P.; Kikvidze, Z.; Michalet, R.; Pugnaire, F.I. & Callaway, R.M. (2004). Rethinking plant community theory. *Oikos* 107: 433-438. doi: [10.1111/j.0030-1299.2004.13250.x](https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2004.13250.x)

Louthan, A.M.; Doak, D.F.; Goheen, J.R.; Palmer, T.M. & Pringle, R.M. (2014). Mechanisms of plant-plant interactions: concealment from herbivores is more important than abiotic-stress mediation in an African savannah. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 281: 1-7. doi: [10.1098/rspb.2013.2647](https://doi.org/10.1098/rspb.2013.2647)

Loydi, A.; Donath, T.W.; Otte, A. & Eckstein, R.L. (2015). Negative and positive interactions among plants: effects of competitors and litter on seedling emergence and growth of forest and grassland species. *Plant Biology* 17: 667-675. doi: [10.1111/plb.12287](https://doi.org/10.1111/plb.12287)

Ludwig, F. (2001). Tree-grass interactions on an East African savanna: the effects of competition, facilitation and hydraulic lift. En: *Tropical Resource Management Papers*, Vol. 39. Wageningen University, The Netherlands.

Ludwig, F.; Dawson, T.E.; de Kroon, H.; Berendse, F. & Prins, H.H.T. (2003). Hydraulic lift in *Acacia tortilis* trees on an East African savanna. *Oecologia* 134: 293. doi: [10.1007/s00442-002-1119-x](https://doi.org/10.1007/s00442-002-1119-x)

Ludwig, F.; Dawson, T.E.; Prins, H.H.; Berendse, F. & de Kroon, H. (2004). Below-ground competition between trees and grasses may overwhelm the facilitative effects of hydraulic lift. *Ecology Letters* 7: 623-631. doi: [10.1111/j.1461-0248.2004.00615.x](https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2004.00615.x)

Maalouf, J.P.; Le Bagousse-Pinguet, Y.; Marchand, L.; Touzard, B. & Michalet, R. (2012). The interplay of stress and mowing disturbance for the intensity and importance of plant interactions in dry calcareous grasslands. *Annals of Botany* 110: 821-828. doi: [10.1093/aob/mcs152](https://doi.org/10.1093/aob/mcs152)

Maestre, F.T.; Bautista, S. & Cortina, J. (2003). Positive, negative, and net effects in grass-shrub interactions in Mediterranean semiarid grasslands. *Ecology* 84: 3186-3197. doi: [10.1890/02-0635](https://doi.org/10.1890/02-0635)

Maestre, F.T.; Callaway, R.M.; Valladares, F. & Lortie, C.J. (2009). Refining the stress-gradient hypothesis for competition and facilitation in plant communities. *Journal of Ecology* 97: 199-205. doi: [10.1111/j.1365-2745.2008.01476.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2008.01476.x)

Maron, J.L. & Crone, E. (2006). Herbivory: effects on plant abundance, distribution and population growth. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 273: 2575-2584. doi: [10.1098/rspb.2006.3587](https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3587)

Matteucci, S.D. & Colma, A. (1982). Metodología para el estudio de la vegetación. Serie Biología, monografía No. 22. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos, Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Washington, DC.

McIntire, E.J.B. & Fajardo, A. (2014). Facilitation as a ubiquitous driver of biodiversity. *New Phytologist* 201: 403-416. doi: [10.1111/nph.12478](https://doi.org/10.1111/nph.12478)

Michalet, R. (2007). Highlighting the multiple drivers of change in interactions along stress gradients. *New Phytologist* 173: 3-6. doi: [10.1111/j.1469-8137.2006.01949.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01949.x)

Michalet, R.; Le Bagousse-Pinguet, Y.; Maalouf, J.-P. & Lortie C.J. (2014). Two alternatives to the stress-gradient hypothesis at the edge of life: the collapse of facilitation and the switch from facilitation to competition. *Journal of Vegetation Science* 25: 609-613. doi: [10.1111/jvs.12123](https://doi.org/10.1111/jvs.12123)

Michalet, R.; Maalouf, J.P.; Choler, P.; Clement, B.; Rosebery, D.; Royer, J. M.; Schöb, C. & Lortie, C.J. (2015). Competition, facilitation and environmental severity shape the relationship between local and regional species richness in plant communities. *Ecography* 38: 335-345. doi: [10.1111/ecog.01106](https://doi.org/10.1111/ecog.01106)

Michalet, R. & Pugnaire, F.I. (2016). Facilitation in communities: underlying mechanisms, community and ecosystem implications. *Functional Ecology* 30: 3-9. doi: [10.1111/1365-2435.12602](https://doi.org/10.1111/1365-2435.12602)

Mihoč, M.A.K.; Giménez-Benavides, L.; Pescador, D.S.; Sánchez, A.M.; Cavieres, L.A. & Escudero, A. (2016). Soil under nurse plants is always better than outside: A survey on soil amelioration by a complete guild of nurse plants across a long environmental gradient. *Plant and Soil* 408: 31-41. doi: [10.1007/s11104-016-2908-z](https://doi.org/10.1007/s11104-016-2908-z)

Milchunas, D.G. & Lauenroth, W.K. (1993). Quantitative Effects of Grazing on Vegetation and Soils Over a Global Range of Environments. *Ecological Monographs* 63: 327-366. doi: [10.2307/2937150](https://doi.org/10.2307/2937150)

Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (2011). Censo General Agropecuario. DIEA. Montevideo, Uruguay. www.mgap.gub.uy

Miriti, M.N. (2006). Ontogenetic shift from facilitation to competition in a desert shrub. *Journal of Ecology* 94: 973-979. doi: [10.1111/j.1365-2745.2006.01138.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2006.01138.x)

Modernel, P.; Rossing, W.A.H.; Corbeels, M.; Dogliotti, S.; Picasso, V. & Tiftonell, P. (2016). Land use change and ecosystem service provision in Pampas and Campos grasslands of southern South America. *Environmental Research Letters* 11. doi: [10.1088/1748-9326/11/11/113002](https://doi.org/10.1088/1748-9326/11/11/113002)

Moradtalab, N.; Weinmann, M.; Walker, F.; Höglinger, B.; Ludewig, U. & Neumann, G. (2018). Silicon Improves Chilling Tolerance During Early Growth of Maize by Effects on Micronutrient Homeostasis and Hormonal Balances. *Frontiers in Plant Science* 9: 420. doi: [10.3389/fpls.2018.00420](https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00420)

Muler, A.L.; van Etten, E.J.B.; Stock, W.D.; Howard, K. & Froend, R.H. (2018). Can hydraulically redistributed water assist surrounding seedlings during summer drought? *Oecologia* 187 625-641. doi: [10.1007/s00442-018-4158-7](https://doi.org/10.1007/s00442-018-4158-7)

Nathan, R. & Muller-Landau, H.C. (2000). Spatial patterns of seed dispersal, their determinants and consequences for recruitment. *Trends in Ecology & Evolution* 15: 278-285. doi: [10.1016/S0169-5347\(00\)01874-7](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(00)01874-7)

Návar, J. & Bryan, R. (1990). Interception loss and rainfall redistribution by three semi-arid growing shrubs in northeastern Mexico. *Journal of Hydrology* 115: 51-63. doi: [10.1016/0022-1694\(90\)90197-6](https://doi.org/10.1016/0022-1694(90)90197-6)

Niinemets, Ü. & Valladares, F. (2004). Photosynthetic acclimation to simultaneous and interacting environmental stresses along natural light

gradients: optimality and constraints. *Plant Biology* 6: 254-268. doi: [10.1055/s-2004-817881](https://doi.org/10.1055/s-2004-817881)

Nippert, J.B. & Knapp, A.K. (2007). Soil water partitioning contributes to species coexistence in tallgrass prairie. *Oikos* 116: 1017-1029. doi: [10.1111/j.0030-1299.2007.15630.x](https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2007.15630.x)

Niu, K.; Luo, Y.; Choler, P. & Du, G. (2008). The role of biomass allocation strategy in diversity loss due to fertilization. *Basic and Applied Ecology* 9: 485-493. doi: [10.1016/j.baae.2007.06.015](https://doi.org/10.1016/j.baae.2007.06.015)

Nöell-Estapé, S.E.; Semmartin, M. & Paruelo, J.M. (2013). Refuge effect of an unpalatable forb on community structure and grass morphology in a temperate grassland. *Plant Ecology* 214: 363-372. doi: [10.1007/s11258-013-0173-2](https://doi.org/10.1007/s11258-013-0173-2)

Nordenstahl, M.; Gundel, P.E.; Clavijo, M.P. & Jobbágy, E.G. (2011). Forage production in natural and afforested grasslands of the Pampas: ecological complementarity and management opportunities. *Agroforestry Systems* 83: 201-211. doi: [10.1007/s10457-011-9383-6](https://doi.org/10.1007/s10457-011-9383-6)

Nuñez, C.I.; Raffaele, E.; Nuñez, M.A. & Cuassolo, F. (2009). When do nurse plants stop nursing? Temporal changes in water stress levels in *Austrocedrus chilensis* growing within and outside shrubs. *Journal of Vegetation Science* 20: 1064-1071. doi: [10.1111/j.1654-1103.2009.01107.x](https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2009.01107.x)

Obeso, J.R. (2002). The costs of reproduction in plants. *New Phytologist* 155: 321-348. doi: [10.1046/j.1469-8137.2002.00477.x](https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2002.00477.x)

O'Connor, T.G. (1995). Acacia karroo invasion of grassland: environmental and biotic effects influencing seedling emergence and establishment. *Oecologia* 103: 214-223. doi: [10.1007/BF00329083](https://doi.org/10.1007/BF00329083)

Oesterheld, M. & Oyarzabal, M. (2004). Grass-to-grass protection from grazing in a semi-arid steppe. Facilitation, competition, and mass effect. *Oikos* 107: 576-582. doi: [10.1111/j.0030-1299.2004.13442.x](https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2004.13442.x)

Oesterheld, M. & Sala, O.E. (1990). Effects of grazing on seedling establishment: the role of seed and safe-site availability. *Journal of Vegetation Science* 1: 353-358. doi: [10.2307/3235711](https://doi.org/10.2307/3235711)

Olf, H. & Ritchie, M.E. (1998). Effects of herbivores on grassland plant diversity. *Trends in Ecology & Evolution* 13: 261-265. doi: [10.1016/S0169-5347\(98\)01364-0](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(98)01364-0)

Paruelo, J.M.; Jobbágy, E.G.; Oesterheld, M.; Golluscio, R.A. & Aguiar, M.R. 2007. The grasslands and steppes of Patagonia and the Rio de la Plata plains. En Veblen, T.T., Young, K.R. & Orme, A.R. (Eds.). *The Physical Geography of South America*. Oxford University Press, Oxford, UK. pp 232-248.

Paruelo, J.M.; Jobbágy, E.G.; Sala, O.E.; Lauenroth, W.K. & Burke, I.C. (1998). Functional and structural convergence of temperate grassland and shrubland ecosystems. *Ecological Applications* 8: 194-206. doi: [10.1890/1051-0761\(1998\)008\[0194:FASCOT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(1998)008[0194:FASCOT]2.0.CO;2)

Peltzer, D.A. & Köchy, M. (2001). Competitive effects of grasses and woody plants in mixed-grass prairie. *Journal of Ecology* 89: 519-527. doi: [10.1046/j.1365-2745.2001.00570.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.2001.00570.x)

Piñeiro, G.; Paruelo, J.M.; Jobbágy, E.G.; Jackson, R.B. & Oesterheld, M. (2009). Grazing effects on belowground C and N stocks along a network of cattle exclosures in temperate and subtropical grasslands of South America. *Global Biogeochemical Cycles* 23: GB2003. doi: [10.1029/2007GB003168](https://doi.org/10.1029/2007GB003168)

Pons, T.L. (2000). Seed responses to light. En: Fenner, M. (Ed.). *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*. CAB International, Wallingford, Inglaterra. pp 259-284.

Pugnaire, F.I.; Haase, P. & Puigdefabregas, J. (1996). Facilitation between higher plant species in a semiarid environment. *Ecology* 77: 1420-1426. doi: [10.2307/2265539](https://doi.org/10.2307/2265539)

Prider, J.N. & Facelli, J.M. (2004). Interactive effects of drought and shade on three arid zone chenopod shrubs with contrasting distributions in relation to tree canopies. *Functional Ecology* 18: 67-76. doi: [10.1046/j.0269-8463.2004.00810.x](https://doi.org/10.1046/j.0269-8463.2004.00810.x)

Prieto, I.; Armas, C. & Pugnaire, F.I. (2012). Water release through plant roots: new insights into its consequences at the plant and ecosystem level. *New Phytologist* 193: 830-841. doi: [10.1111/j.1469-8137.2011.04039.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.04039.x)

Rajaniemi, T.K. (2002). Why does fertilization reduce plant species diversity? Testing three competition-based hypotheses. *Journal of Ecology* 90: 316-324. doi: [10.1046/j.1365-2745.2001.00662.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.2001.00662.x)

Rawson, H.M.; Begg, J.E. & Woodward, R.G. (1977). The effect of atmospheric humidity on photosynthesis, transpiration and water use efficiency of leaves of several plant species. *Planta* 134: 5-10. doi [10.1007/BF00390086](https://doi.org/10.1007/BF00390086)

Rebollo, S.; Milchunas, D.G.; Noy-Meir, I. & Chapman, P.L. (2002). The role of a spiny plant refuge in structuring grazed shortgrass steppe plant communities. *Oikos* 98: 53-64. doi: [10.1034/j.1600-0706.2002.980106.x](https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2002.980106.x)

Reich, P.B.; Buschena, C.; Tjoelker, M.G.; Wrage, K.; Knops, J.; Tilman, D. & Machado, J.L. (2003). Variation in growth rate and ecophysiology among 34 grassland and savanna species under contrasting N supply: a test of functional group differences. *New Phytologist* 157: 617-631. doi: [10.1046/j.1469-8137.2003.00703.x](https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00703.x)

Ren, H.; Yang, L. & Liu, N. (2008). Nurse plant theory and its application in ecological restoration in lower subtropics of China. *Progress in Natural Science* 18: 137-142. doi: [10.1016/j.pnsc.2007.07.008](https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2007.07.008)

Richards, J.H. & Caldwell, M.M. (1987). Hydraulic lift: Substantial nocturnal water transport between soil layers by *Artemisia tridentata* roots. *Oecologia* 73: 486-489. doi: [10.1007/BF00379405](https://doi.org/10.1007/BF00379405)

Ríos, A. (2007). Estrategias para el control de campo sucio. En: INIA (Eds.). Seminario de Actualización Técnica en Manejo de Malezas. Montevideo, Uruguay. pp 107-115.

Rodríguez, C.; Leoni, E.; Lezama, F. & Altesor, A. (2003). Temporal trends in species composition and plant traits in natural grasslands of Uruguay. *Journal of Vegetation Science* 14: 433-440. doi: [10.1111/j.1654-1103.2003.tb02169.x](https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2003.tb02169.x)

Rossado, A. (2011). Efecto del arbusto *Eupatorium buniifolium* sobre la composición florística del estrato herbáceo en un pastizal natural. Informe de pasantía de Licenciatura en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias (UDELAR), Montevideo, Uruguay.

Rule, S.; Brook, B.W.; Haberle, S.G.; Turney, C.S.M.; Kershaw, A.P. & Johnson C.N. (2012). The Aftermath of Megafaunal Extinction: Ecosystem Transformation in Pleistocene Australia. *Science* 335: 1483-1486. doi: [10.1126/science.1214261](https://doi.org/10.1126/science.1214261)

Rusch, G. & Oesterheld, M. (1997). Relationship between productivity, and species and functional group diversity in grazed and non-grazed Pampas grassland. *Oikos* 78: 519-526. doi: [10.2307/3545613](https://doi.org/10.2307/3545613)

Ripley, B.S.; Abraham, T.I. & Osborne, C.P. (2008). Consequences of C₄ photosynthesis for the partitioning of growth: a test using C₃ and C₄ subspecies of *Alloteropsis semialata* under nitrogen-limitation. *Journal of Experimental Botany* 59: 1705-1714. doi: [10.1093/jxb/erm210](https://doi.org/10.1093/jxb/erm210)

Ripley, B.; Frole, K. & Gilbert, M. (2010). Differences in drought sensitivities and photosynthetic limitations between co-occurring C₃ and C₄ (NADP-ME) Panicoid grasses. *Annals of Botany* 105: 493-503. doi: [10.1093/aob/mcp307](https://doi.org/10.1093/aob/mcp307)

Ryel, R.J.; Leffler, A.J.; Peek, M.S.; Ivans, C.Y. & Caldwell, M.M. (2004). Water conservation in *Artemisia tridentata* through redistribution of precipitation. *Oecologia* 141: 335-345. doi: [10.1007/s00442-003-1421-2](https://doi.org/10.1007/s00442-003-1421-2)

Sage, R.F. (1999). Why C₄ Photosynthesis? En: Sage, R.F. & Monson, R.K. (Eds.). C₄ Plant Biology. Academic Press, California, USA. pp 3-16.

Sage, R.F. (2004). The evolution of C₄ photosynthesis. *New Phytologist* 161: 341-370. doi: [10.1111/j.1469-8137.2004.00974.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.00974.x)

Sage, R.F. & McKown, A.D. (2006). Is C₄ photosynthesis less phenotypically plastic than C₃ photosynthesis? *Journal of Experimental Botany* 57: 303-317. doi: [10.1093/jxb/erj040](https://doi.org/10.1093/jxb/erj040)

Sala, O.E.; Austin, A. & Vivanco, L. 2001. Temperate grassland and shrubland ecosystems. En: Levin, S. (Ed.). *Encyclopedia of biodiversity* 5: 627-635. Academic Press, San Diego.

Sala, O.E.; Lauenroth, W.K.; McNaughton, S.J.; Rusch, G.M. & Zhang, X. 1996. Biodiversity and Ecosystem Function in Grasslands. En: Mooney, H.A.; Cushman, H.; Medina, E.R.; Sala, O.E. & Schulze, E.D. (Eds.). *Functional Roles of Biodiversity: A Global Perspective*. John Wiley & Sons, Chichester, NY.

Sarroca, C. & Strauch, J.J. (1994). Efecto de la competencia de *Baccharis coridifolia* (mío-mío) sobre la producción del campo natural. Tesis para obtener el título de Ingeniero Agrónomo, Facultad de Agronomía (UDELAR). Montevideo, Uruguay.

Schiffers, K. & Tielbörger, K. (2006). Ontogenetic shifts in interactions among annual plants. *Journal of Ecology* 94: 336-341. doi: [10.1111/j.1365-2745.2006.01097.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2006.01097.x)

Schoener, T.W. (1983). Field experiments on interspecific competition. *The American Naturalist* 122: 240-285. doi: [10.1086/284133](https://doi.org/10.1086/284133)

Scholes, R.J. & Archer, S.R. (1997). Tree-grass interactions in savannas. *Annual Review of Ecology and Systematics* 28: 517-544. doi: [10.1146/annurev.ecolsys.28.1.517](https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.28.1.517)

Schuepp, P.H. (1993). Tansley Review No. 59 Leaf boundary layers. *New Phytologist* 125: 477-507. doi: [10.1111/j.1469-8137.1993.tb03898.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1993.tb03898.x)

Schupp, E.W. (1995). Seed-seedling conflicts, habitat choice, and patterns of plant recruitment. *American Journal of Botany*, 82: 399-409. doi: [10.1002/j.1537-2197.1995.tb12645.x](https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1995.tb12645.x)

Schütz, W. & Rave, G. (1999). The effect of cold stratification and light on the seed germination of temperate sedges (*Carex*) from various habitats and implications for regenerative strategies *Plant Ecology* 144: 215-230. doi: [10.1023/A:1009892004730](https://doi.org/10.1023/A:1009892004730)

Scott, R.L.; Cable, W.L., & Hultine, K.R. (2008). The ecohydrologic significance of hydraulic redistribution in a semiarid savanna. *Water Resources Research* 44: W02440. doi: [10.1029/2007WR006149](https://doi.org/10.1029/2007WR006149).

Shreve, F. (1931). Physical Conditions in Sun and Shade. *Ecology* 12: 96-104. doi: [10.2307/1932935](https://doi.org/10.2307/1932935)

Smit, C.; Rietkerk, M. & Wassen, M.J. (2009). Inclusion of biotic stress (consumer pressure) alters predictions from the stress gradient hypothesis. *Journal of Ecology* 97: 1215-1219. doi: [10.1111/j.1365-2745.2009.01555.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2009.01555.x)

Smit, C.; Vandenberghe, C.; den Ouden, J. & Müller-Schärer, H. (2007). Nurse plants, tree saplings and grazing pressure: changes in facilitation along a biotic environmental gradient. *Oecologia* 152: 265-273. doi: [10.1007/s00442-006-0650-6](https://doi.org/10.1007/s00442-006-0650-6)

Soliveres, S.; DeSoto, L.; Maestre, F.T. & Olano, J.M. (2010). Spatio-temporal heterogeneity in abiotic factors modulate multiple ontogenetic shifts between competition and facilitation. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 12: 227-234. doi: [10.1016/j.ppees.2010.02.003](https://doi.org/10.1016/j.ppees.2010.02.003)

Soliveres, S.; Eldridge, D.J.; Hemmings, F. & Maestre, F.T. (2012). Nurse plant effects on plant species richness in drylands: the role of grazing, rainfall and species specificity. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 14: 402-410. doi: [10.1016/j.ppees.2012.09.003](https://doi.org/10.1016/j.ppees.2012.09.003)

Soliveres, S. & Maestre, F.T. (2014). Plant-plant interactions, environmental gradients and plant diversity: a global synthesis of community-level studies. *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics* 16: 154-163. doi: [10.1016/j.ppees.2014.04.001](https://doi.org/10.1016/j.ppees.2014.04.001)

Sonawane, B.V.; Sharwood, R.E.; Whitney, S. & Ghannoum, O. (2018). Shade compromises the photosynthetic efficiency of NADP-ME less than that of PEP-CK and NAD-ME C₄ grasses. *Journal of Experimental Botany* 69: 3053-3068. doi: [10.1093/jxb/ery129](https://doi.org/10.1093/jxb/ery129)

Song, M.; Tian, Y.; Xu, X.; Hu, Q. & Ouyang, H. (2006). Interactions between shoot and root competition among four plant species in an alpine meadow on the Tibetan Plateau. *Acta Oecologica* 29: 214-220. doi: [10.1016/j.actao.2005.10.005](https://doi.org/10.1016/j.actao.2005.10.005)

Soriano, A. (1991). Río de la Plata Grasslands. En: Coupland, R.T. (Ed.). *Natural grasslands: introduction and Western Hemisphere*. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands. pp 367-407.

Stachowicz, J.J. (2001). Mutualism, facilitation, and structure of ecological communities. *BioScience* 51: 235-246. doi: [10.1641/0006-3568\(2001\)051\[0235:MFATSO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2001)051[0235:MFATSO]2.0.CO;2)

Steenbergh, W.F. & Lowe, C.H. (1977). Ecology of the Saguaro: II, Reproduction, Germination, Establishment, Growth, and Survival of the Young Plant. National Park Service Scientific Monograph Series Number 8. National Park Service, Washington, D.C., USA.

Still, C.J.; Berry, J.A.; Collatz, G.J. & DeFries, R.S. (2003). Global distribution of C₃ and C₄ vegetation: Carbon cycle implications. *Global Biogeochemical Cycles* 17: 6-1-6-14

Stoll, P. & Weiner, J. (2000). A neighborhood view of interactions among individual plants. En: *The geometry of ecological interactions: simplifying spatial complexity*. Dieckmann, U.; Law, R. & Metz, J.A.J. (Eds.). Cambridge University Press.

Taylor, S.H.; Ripley, B.S.; Woodward, F.I. & Osborne, C.P. (2011). Drought limitation of photosynthesis differs between C₃ and C₄ grass species in a comparative experiment. *Plant, Cell & Environment* 34: 65-75. doi: [10.1111/j.1365-3040.2010.02226.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2010.02226.x)

Terradas, J. (2001). *Ecología de la vegetación. De la ecofisiología de las plantas a la dinámica de comunidades y paisajes*. Omega, Barcelona.

Texeira, M. & Altesor, A. (2009). Small-scale spatial dynamics of vegetation in a grazed Uruguayan grassland. *Austral Ecology* 34: 386-394. doi: [10.1111/j.1442-9993.2009.01940.x](https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2009.01940.x)

Thompson, K.; Grime, J.P. & Mason, G. (1977). Seed germination in response to diurnal fluctuations of temperature. *Nature* 267: 147-149. doi: [10.1038/267147a0](https://doi.org/10.1038/267147a0)

Tiansawat, P. & Dalling, J.W. (2013). Differential seed germination responses to the ratio of red to far-red light in temperate and tropical species. *Plant Ecology* 214: 751-764. doi: [10.1007/s11258-013-0205-y](https://doi.org/10.1007/s11258-013-0205-y)

Turner, R.M.; Alcorn S.M.; Olin G. & Booth, J.A. (1966). The influence of shade, soil and water on saguaro seedling establishment. *Botanical Gazette* 127:95-102. doi: [10.1086/336348](https://doi.org/10.1086/336348)

Valiente-Banuet, A. & Ezcurra, E. (1991). Shade as a Cause of the Association Between the Cactus *Neobuxbaumia Tetetzo* and the Nurse Plant *Mimosa Luisana* in the Tehuacan Valley, Mexico. *Journal of Ecology* 79: 961-971. doi: [10.2307/2261091](https://doi.org/10.2307/2261091)

Veldman, J.W.; Buisson, E.; Durigan, G.; Fernandes, G.W.; Le Stradic, S.; Mahy, G.; Negreiros, D.; Overbeck, G.E.; Veldman, R.G.; Zaloumis, N.P.; Putz, F.E. & Bond, W.J. (2015). Toward an old-growth concept for grasslands, savannas, and woodlands. *Frontiers in Ecology and the Environment* 13: 154-162. doi: [10.1890/140270](https://doi.org/10.1890/140270)

Venier, P.; Cabido, M. & Funes, G. (2017). Germination characteristics of five coexisting neotropical species of *Acacia* in seasonally dry Chaco forests in Argentina. *Plant Species Biology* 32: 134-146. doi: [10.1111/1442-1984.12134](https://doi.org/10.1111/1442-1984.12134)

Verdú, M. & Valiente-Banuet, A. (2011). The relative contribution of abundance and phylogeny to the structure of plant facilitation networks. *Oikos* 120: 1351-1356. doi: [10.1111/j.1600-0706.2011.19477.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2011.19477.x)

Vleeshouwers, L.M. (1997). Modelling the Effect of Temperature, Soil Penetration Resistance, Burial Depth and Seed Weight on Pre-emergence Growth of Weeds. *Annals of Botany* 79: 553-563. doi: [10.1006/anbo/79.5.553](https://doi.org/10.1006/anbo/79.5.553)

Vogel, S. (1968). "Sun leaves" and "shade leaves": differences in convective heat dissipation. *Ecology* 49: 1203-1204. doi: [10.2307/1934517](https://doi.org/10.2307/1934517)

Walck, J. L.; Hidayati, S. N.; Dixon, K. W.; Thompson, K. & Poschlod, P. (2011). Climate change and plant regeneration from seed. *Global Change Biology* 17: 2145-2161. doi: [10.1111/j.1365-2486.2010.02368.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2010.02368.x)

Watcharamongkol, T.; Christin, P. & Osborne, C.P. (2018). C₄ photosynthesis evolved in warm climates but promoted migration to cooler ones. *Ecology Letters* 21: 376-383. doi: [10.1111/ele.12905](https://doi.org/10.1111/ele.12905)

Wayne, E.R. & Van Auken, O.W. (2018). Photosynthetic comparison of *Carex planostachys* (C₃) and *Aristida purpurea* (C₄) to light and water manipulations. *Phytologia* 100: 91-103.

Will, R.E.; Wilson, S.M.; Zou, C.B. & Hennessey, T.C. (2013). Increased vapor pressure deficit due to higher temperature leads to greater transpiration and faster mortality during drought for tree seedlings common to the forest-grassland ecotone. *New Phytologist* 200: 366-374. doi: [10.1111/nph.12321](https://doi.org/10.1111/nph.12321)

Wilson, S.D. & Tilman, D. (2002). Quadratic variation in old-field species richness along gradients of disturbance and nitrogen. *Ecology* 83: 492-504. doi: [10.1890/0012-9658\(2002\)083\[0492:QVIOFS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2002)083[0492:QVIOFS]2.0.CO;2)

Woodis, J.E. & Jackson, R.D. (2008). The effects of clipping height and frequency on net primary production of *Andropogon gerardii* (C₄ grass) and *Bromus inermis* (C₃ grass) in greenhouse experiments. *Grass and Forage Science* 63: 458-466. doi: [10.1111/j.1365-2494.2008.00653.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2008.00653.x)

Woodward, F.I.; Lomas, M.R. & Kelly, C.K. (2004). Global climate and the distribution of plant biomes. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 359: 1465-1476. doi: [10.1098/rstb.2004.1525](https://doi.org/10.1098/rstb.2004.1525)

Wright, A.; Schnitzer, S.A. & Reich, P.B. (2014). Living close to your neighbors: the importance of both competition and facilitation in plant communities. *Ecology*. 95: 2213-2223. doi: [10.1890/13-1855.1](https://doi.org/10.1890/13-1855.1)

Wu, G.-L.; Li, W.; Li, X.-P. & Shi, Z.-H. (2011). Grazing as a mediator for maintenance of offspring diversity: Sexual and clonal recruitment in alpine grassland communities. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 206: 241-245. doi: [10.1016/j.flora.2010.05.005](https://doi.org/10.1016/j.flora.2010.05.005)

Wunderle, K.; Rascher, U.; Pieruschka, R.; Schurr, U. & Ebert, V. (2015). A new spatially scanning 2.7 μm laser hygrometer and new small-scale wind tunnel for direct analysis of the H_2O boundary layer structure at single plant leaves. *Applied Physics B* 118: 11-21. doi: [10.1007/s00340-014-5948-1](https://doi.org/10.1007/s00340-014-5948-1)

Xu, J.; Michalet, R.; Zhang, J.-L.; Wang, G.; Chu, C.-J. & Xiao, S. (2010). Assessing facilitative responses to a nurse shrub at the community level: the example of *Potentilla fruticosa* in a sub-alpine grassland of northwest China. *Plant Biology* 12: 780-787. doi: [10.1111/j.1438-8677.2009.00271.x](https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2009.00271.x)

Yang, Y.; Niu, Y.; Cavieres, L.A. & Sun, H. (2010). Positive associations between the cushion plant *Arenaria polytrichoides* (Caryophyllaceae) and other alpine plant species increase with altitude in the Sino-Himalayas. *Journal of Vegetation Science* 21: 1048-1057. doi: [10.1111/j.1654-1103.2010.01215.x](https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2010.01215.x)

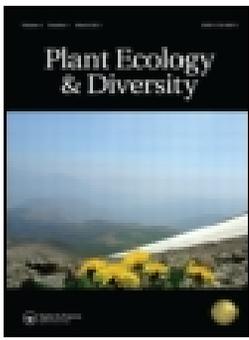
Young, H.J. & Young, T.P. (1983). Local distribution of C_3 and C_4 grasses in sites of overlap on Mount Kenya. *Oecologia* 58: 373-377. doi: [10.1007/BF00385238](https://doi.org/10.1007/BF00385238)

Zar, J.H. (1996). *Biostatistical Analysis*. (3rd edn.). London: Prentice-Hall.

Zhao, H.-L.; Zhou, R.-L.; Su, Y.-Z.; Zhang, H.; Zhao, L.-Y. & Drake, S. (2007). Shrub facilitation of desert land restoration in the Horqin Sand Land of Inner Mongolia. *Ecological Engineering* 31: 1-8. doi: [10.1016/j.ecoleng.2007.04.010](https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2007.04.010)

Zhu, X.; Portis, A.R. & Long, S.P. (2004). Would transformation of C_3 crop plants with foreign Rubisco increase productivity? A computational analysis extrapolating from kinetic properties to canopy photosynthesis. *Plant, Cell & Environment* 27: 155-165. doi: [10.1046/j.1365-3040.2004.01142.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2004.01142.x)

Zimmermann, J.; Higgins, S.I.; Grimm, V.; Hoffmann, J.; Münkemüller, T. & Linstädter, A. (2008). Recruitment filters in a perennial grassland: the interactive roles of fire, competitors, moisture and seed availability. *Journal of Ecology* 96: 1033-1044. doi: [10.1111/j.1365-2745.2008.01409.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2008.01409.x)



Decoupling facilitative effects in a temperate subhumid grassland: photosynthetic metabolism matters

Gastón Fernández, Felipe Lezama & Claudia Rodríguez

To cite this article: Gastón Fernández, Felipe Lezama & Claudia Rodríguez (2019): Decoupling facilitative effects in a temperate subhumid grassland: photosynthetic metabolism matters, *Plant Ecology & Diversity*, DOI: [10.1080/17550874.2019.1572246](https://doi.org/10.1080/17550874.2019.1572246)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/17550874.2019.1572246>

 View supplementary material 

 Accepted author version posted online: 24 Jan 2019.
Published online: 01 Mar 2019.

 Submit your article to this journal 

 Article views: 17

 View Crossmark data 

Decoupling facilitative effects in a temperate subhumid grassland: photosynthetic metabolism matters

Gastón Fernández^a, Felipe Lezama^b and Claudia Rodríguez^c

^aGrupo Multidisciplinario en Ecología para la Agricultura, Centro Universitario Regional del Este, Universidad de la República, Treinta y Tres, Uruguay; ^bDepartamento de Sistemas Ambientales, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay; ^cInstituto de Ecología y Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

ABSTRACT

Background: Abiotic microhabitat amelioration and protection from herbivores are two of the main mechanisms associated with facilitative interactions in plant communities.

Aims: We investigated the effect of the shrub *Acanthostyles buniifolius* on the herbaceous community of a subhumid grassland in order to disentangle the protective role of the shrub from its effect on ameliorating the abiotic conditions of microhabitats.

Methods: In two contiguous areas, one continuously grazed and the other excluded from livestock for 3 years, we determined floristic composition and species cover under the shrub canopy and in paired open sites. We calculated the Relative Interaction Index (RII) for cover of plant functional types and species.

Results: Under grazing, C₃ grass richness was higher under the shrub canopy than in open plots. Also, the RII was higher in the grazed area for most functional types. Inside the enclosure, the cover of C₃ grasses was higher in the presence of the shrub. Conversely, the richness and cover of C₄ grasses was lower under the shrub canopy.

Conclusions: We found evidence of facilitation in a subhumid grassland. The shrub may protect grasses from grazers and may benefit C₃ grasses through microclimatic amelioration. Therefore, photosynthetic pathway should be considered when analysing facilitative interactions in mesic environments.

ARTICLE HISTORY

Received 11 June 2018
Accepted 16 January 2019

KEYWORDS

C₃ grasses; C₄ grasses; grazing protection; facilitation; photosynthetic metabolism; plant-plant interactions; shrubs; subhumid grasslands

Introduction

Understanding the role of plant–plant interactions on community structure and dynamic is a central goal in plant ecology (Michalet et al. 2015). It has been widely documented that plants may exert negative or positive effects on their neighbours, through a complex balance that involves competition and facilitation, respectively (Bertness and Callaway 1994; Bruno et al. 2003; McIntire and Fajardo 2014). Historically, most empirical studies and theoretical models have focused on competition as the main driver of plant distribution and community structure (Hairston et al. 1960; Schoener 1983; Craine and Dyzinski 2013). However, during the last few decades, a growing body of descriptive and experimental evidence have emphasised the role of facilitation as an important and ubiquitous process affecting plant community richness, composition, and dynamics (Hunter and Aarssen 1988; Stachowicz 2001; Le Bagousse-Pinguet et al. 2014).

Shrub species are among the best-known examples of benefactor plants (Filazzola and Lortie 2014). A benefactor plant can facilitate the growth and survival of its neighbours through modifications of abiotic

conditions (abiotic microhabitat amelioration) and protection from grazing (biotic refuge effects). Abiotic microhabitat amelioration includes the reduction of solar irradiance and wind speed, as well as the buffering of extreme temperatures as compared to surrounding open areas (Xu et al. 2010; Fernández et al. 2014; Mihoč et al. 2016), which ultimately reduce photo-inhibition and water stress for some understorey species (Holmgren et al. 1997). Also, soil conditions could be modified through increases in moisture, nutrients, organic matter and stability of soil structure (Flores and Jurado 2003; Bonanomi et al. 2011). Refuge effects include shelter against defoliation and trampling by large herbivores via physical (thorns, spines) and/or chemical (toxins) defences or concealment (Fidelis et al. 2009; Louthan et al. 2014). Although a benefactor plant can exert both positive effects (microsite amelioration and refuge from grazing) simultaneously, their interactive effect has been poorly evaluated (Soliveres et al. 2012; Filazzola and Lortie 2014).

It has been proposed that the relative importance of facilitation increases with increasing physical stress

and grazing pressure (Bertness and Callaway 1994; Holmgren et al. 1997; Callaway et al. 2002; Graff et al. 2007; Smit et al. 2007). As a result, the role of facilitative interactions has been commonly tested in stressful environments such as arid, semi-arid, subalpine ecosystems, and salt marshes and has been largely ignored in more productive environments (Michalet and Pugnaire 2016). However, in the last few years, several authors have argued that facilitation often collapses at the harshest end of the abiotic gradient and that facilitative interactions may prevail under moderate rather than extreme conditions (Holmgren and Scheffer 2010; Michalet et al. 2014). In addition, the relative importance of facilitation may depend on the life history of the beneficiary species (Liancourt et al. 2005). Therefore, a benefactor plant may differentially affect co-occurring species with different abiotic requirements (Yang et al. 2010).

Although facilitation is known to have consequences at the community level, its effects have received more attention and are better understood at the individual and population levels (Cavieres and Badano 2009). However, the importance of facilitative interactions as a driver of community structure cannot be inferred from pair-wise interactions due to the variety of responses that can be found in a multispecies assemblage (Soliveres and Maestre 2014). An alternative way to assess the role of facilitation at the community level is to group species into plant functional types (PFTs). Given that species belonging to different functional types should differ in timing, source, and efficiency of resource use, facilitation intensity could vary among four functional types of temperate grasslands, defined by life form and photosynthetic metabolism of the species: C_3 (cool-season) grasses, C_4 (warm-season) grasses, forbs, and non-grass monocots.

The C_4 metabolism is a modification of the ancestral C_3 pathway and has evolved more than 60 times in at least 18 families of flowering plants (Christin et al. 2011). The C_4 photosynthetic pathway is especially common among monocots, such as grasses and sedges, but infrequent among dicots. The ecological success of C_4 species is associated with the expansion of open biomes dominated by herbaceous plants, such as savannas and grasslands (Christin et al. 2008; Edwards and Smith 2010). C_4 plants generally tolerate higher temperatures and solar irradiance, drier conditions, greater seasonality, and lower atmospheric CO_2 levels than C_3 species and rarely colonise forest habitats where less light and lower temperatures prevail (Sage 2004). Conversely, the C_3 pathway greatly

decreases photosynthetic performance in situations that promote photorespiration, typically high-temperature and low- CO_2 environments (Edwards and Smith 2010).

Here, we evaluated the role of the shrub *Acanthostyles buniifolius* (Hook. & Arn.) R. M. King & H. Rob. on the community structure of a temperate subhumid grassland in Uruguay. Using an experimental design with a 3-year herbivore exclosure, we aimed to unravel the abiotic microsite effects from the grazing refuge effects of the shrub on community richness, cover of PFTs, and cover of individual species. We expected a stronger positive effect of the shrub under grazing than in the exclosure, since both mechanisms (abiotic microhabitat amelioration and herbivore protection) would be operating in the presence of grazers. In addition, we predicted that species with C_3 metabolism would benefit most from the presence of *A. buniifolius*, since the alleviated microclimatic conditions found beneath the shrub canopy may reduce their photorespiratory activity.

Materials and methods

Study site

The study was conducted in the Southern Campos of the Río de la Plata grasslands, east of Uruguay (33° 11'S, 54°33'W). This region encompasses an area of 2.5 Mha, of which 66% is covered by natural grasslands dominated by *Piptochaetium montevidense*, *Richardia humistrata*, *Chevreulia sarmentosa*, *Dichondra sericea*, and *Paspalum notatum* (Lezama et al. 2011). These 'old-growth' grasslands (Veldman et al. 2015) have been continuously grazed since the introduction of cattle at the beginning of the seventeenth century. Cattle grazing affects plant traits and community composition. Grazed communities are dominated by prostrate, warm season (C_4) grasses that are replaced by erect, cool season (C_3) grasses in grazing exclosures (Cayssials and Rodríguez 2018). Forbs conform a subordinate group of perennial C_3 species that occupy the spatial interstices among dominant grasses, and their dynamics seem to be regulated by processes other than grazing (Rodríguez et al. 2003). Grasslands respond rapidly to grazing removal such that major changes in community structure occur after 2–3 years of exclosure (Rodríguez et al. 2003). For the period 1991–2016, mean annual precipitation was 1,400 mm and mean annual temperature was 17°C (<http://www.inia.uy/gras/Clima/Bancodatos-agroclimatico>).

Benefactor species

A. buniifolius (Asteraceae) is a perennial, medium-tall (1–2 m height) shrub native to Argentina, Uruguay, Brazil, Paraguay, and Bolivia (Grossi et al. 2011). Its life span does not exceed 20 years. It flowers typically during the austral summer and produces large quantities of achenes that disperse freely by the wind (Galíndez et al. 2013). Additionally, it has the capability to resprout after fire or physical damage from a woody xylopodium (Biganzoli et al. 2009). It is usually profusely branched, with lax foliage at the tips of the branches. Although the species lacks thorns or toxins, it has low or no nutritional value (Ríos 2007), and thus it is scarcely consumed by cattle in its adult phase and may protect smaller neighbouring plants under its canopy from herbivores.

A. buniifolius is the most common shrub in Uruguayan grasslands, but its distribution is far from uniform. Its cover ranges from 0% to 100% depending upon grazing management, the history of tillage, or natural variability (Baeza 2016). In the study site, it grows scattered in the herbaceous matrix, covering 5–10% of the area. Previous studies have suggested that *A. buniifolius* can benefit some C_3 grasses under its canopy (Fernández 2011; Fernández et al. 2014). However, these studies focused on pair-wise interactions with a limited number of beneficiary species and did not compare grazed with ungrazed areas.

Experimental design

In the spring of 2016, we selected two contiguous areas located within the same soil unit, one continuously grazed at a moderate stocking rate (<0.5 animals/ha) and the other a 3-year fenced livestock enclosure of 2,500 m². In both grazing treatments, we randomly selected five shrubs and five paired open sites placed as close as possible to these shrubs as locations for 20 plots of 1 m² (10 plots under the grazing treatment and 10 plots in the enclosure). Shrubs were of similar size (1.5 m height and projected canopy cover of 1 m²) and were separated from each other by at least 3 m and up to 5 m from the edge of the enclosure. The design was not replicated for the grazed–ungrazed contrasts. However, the enclosure was located in a way that plant community structure inside and outside the enclosure was similar at the beginning of the exclusion period. Thus, we believe that the grazing treatment is the major cause for the eventual differences inside vs. outside the enclosure.

Floristic composition was determined through the point-intercept method (Greig-Smith 1983), using a metal frame of 1 m² supporting 81 vertical pins (separated 10 cm) which were inserted into the vegetation from a height of 50 cm. All the species in contact with the pins were registered. Species were sorted into four functional types: C_3 (cool-season) grasses, C_4 (warm-season) grasses, forbs, and non-grass monocots (including Cyperaceae, Hypoxidaceae and Iridaceae). The absence of C_4 forbs in Uruguayan grasslands, as well as taxonomic uncertainties in monocots that we could not solve, prevented the separation of these two latter groups into C_3 and C_4 species.

Incident light, soil temperature and soil moisture were measured in the 20 sampling plots, at around midday. All variables were measured seasonally (four measurements per year) over 3 years (2014–2016). Environmental measurements of the cooler seasons (autumn, winter) and those of the warmer seasons (spring, summer) were pooled together. Incident light was measured at ground level (0.1 m height) using a digital light meter (Tondaj LX1010B). Soil surface temperature was measured using an infrared thermometer (Nicety ST530) and soil moisture was measured at 0.1 m depth with a soil moisture meter (Extech MO750).

Statistical analyses

Differences in total species richness and PFT richness among treatments (open/shrub × grazed/exclosure) were analysed using one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test ($\alpha = 0.05$). Prior to analysis, we carried out data normality tests and evaluated homoscedasticity. All data followed normality assumptions.

Species cover was calculated as: YX/n ; where YX is the number of pins that hit the species X and n is the total number of pins (Damgaard et al. 2011). The cover of plant functional types (C_3 grasses, C_4 grasses, forbs and non-grass monocots) was calculated as the sum of the cover of all individual species belonging to that PFT.

In order to evaluate the effect of the shrub on the cover of species and PFTs, we calculated the Relative Interaction Index (RII) following Armas et al. (2004):

$$RII = (X_{S+} - X_{S-}) / (X_{S+} + X_{S-})$$

where X_{S+} and X_{S-} are the cover of the target species or PFT in the presence and absence of shrubs. The index is symmetrical around zero (neutral effect)

and ranges from +1 (facilitation) to -1 (competition). We used *t*-tests to determine significant deviation from zero.

Species richness and RII of functional types were analysed including all registered species. For pairwise interaction analyses, only species that occurred in at least three paired plots were considered.

The effect of the shrub on incident light, soil temperature, and soil moisture was analysed using one-way ANOVA coupled with Tukey's test when main effect was significant. Data followed normality assumptions. All statistical analyses were made using InfoStat (Di Rienzo et al. 2017).

Results

Species richness

In total, 64 species were found in all plots. Of these, 13 were C₃ grasses, 24 were C₄ grasses, 23 were forbs, and 3 were non-grass monocots (Table S1).

In the grazed area, total species richness was higher under the shrubs than in the surrounding open area ($F_{3,16} = 14.97$, $P < 0.0001$). Of the functional types, only the grasses responded to the presence of the shrub, but the response varied between metabolic pathways. C₃ grass richness was 70% higher under the shrub canopy in the grazed area ($F_{3,16} = 7.28$, $P = 0.003$), but was unaffected in the enclosure by the presence of the shrub. Alternatively, C₄ grass richness did not differ under grazing, but was 22% lower under shrubs when livestock were excluded ($F_{3,16} = 6.60$, $P = 0.004$) (Figure 1).

PFT and species cover

For most functional types, the Relative Interaction Index, estimated from species cover values, was always higher in the grazed area compared to the enclosure. The C₃ grasses was the only functional type that showed positive values of RII in both

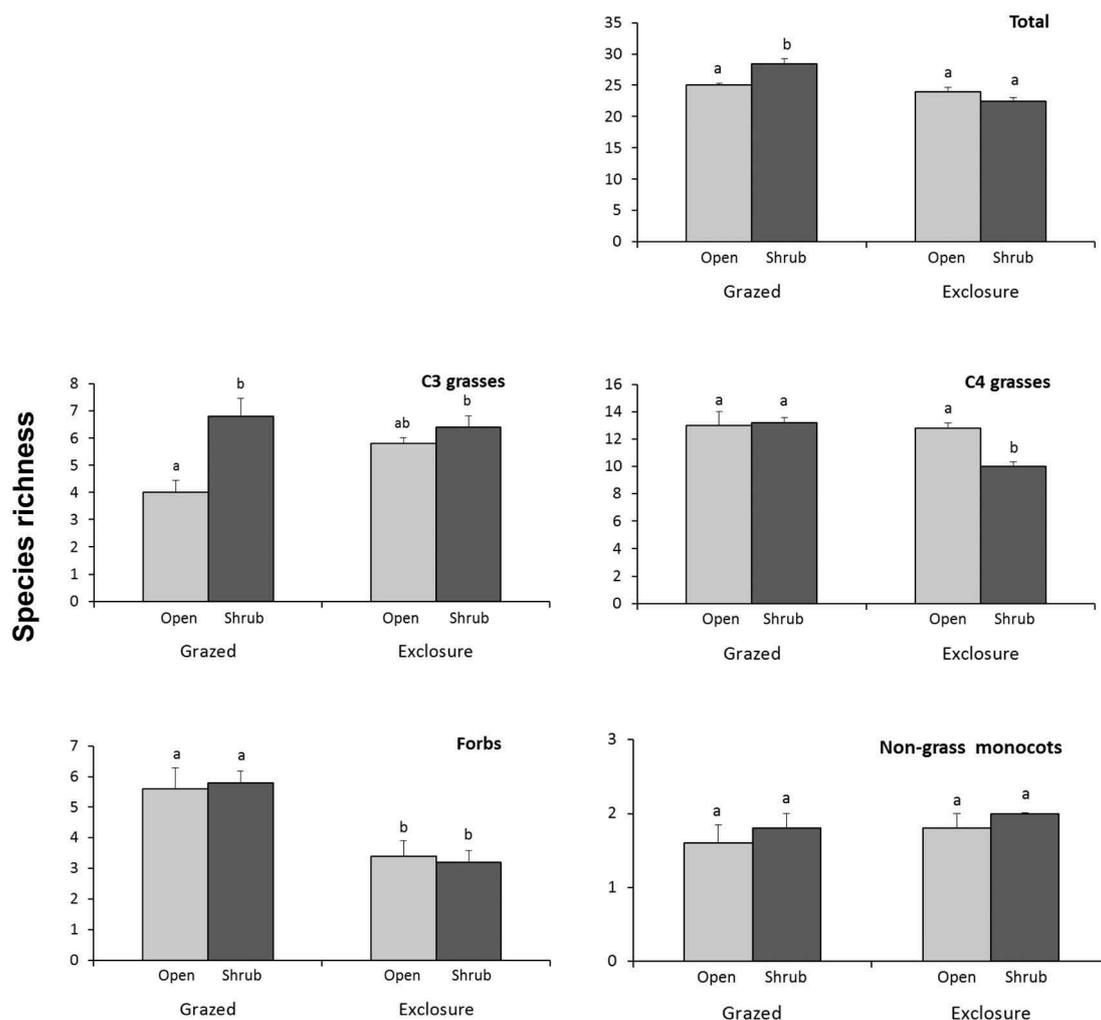


Figure 1. Total species richness and by functional type of the herbaceous vegetation growing under the canopy of the shrub *Acanthostyles buniifolius* and in the surrounding open area, inside and outside a grazing enclosure ($n = 5$ for each treatment). All registered species were included in the analyses. Values are means (\pm SE). Different letters indicate significant differences among microsites ($P < 0.05$) in a post-ANOVA Tukey test. Boldface type highlights comparisons that were statistically different.

grazing treatments, whereby the effect of the shrub doubled in the grazed area. C₄ grasses and non-grass monocots showed negative values of RII inside the enclosure and neutral values under grazing. Forbs were indifferent to the presence of the shrub, showing values that did not differ significantly from zero in both grazing treatments (Figure 2).

The positive effect of *A. buniifolius* on the cover of C₃ grasses was more evident when the species were analysed individually. About 70% (six out of nine) of the C₃ grass species used in pair-wise analyses were recorded in both grazing treatments. In the grazed area, all species increased their cover in the presence of the shrub. Inside the enclosure, more than half showed a positive trend in RII, although only *Danthonia montevidensis* registered positive values significantly different from zero. Otherwise, *D. rhizomata* was the only species registered with negative values (Figure 3).

Of the 16 C₄ grass species used for pair-wise analyses, only 6 (37.5%) were recorded in both grazing treatments, showing a significant trend in the RII in at least one of them. Essentially, the effect of the shrub on these six C₄ grass species was neutral or positive under grazing but negative inside the enclosure. Three species (*Coelorachis selloana*, *Paspalum notatum* and *P. plicatulum*) shifted from neutral values under grazing to negative values inside the enclosure. The remaining species showed positive values under grazing and positive (*Schizachyrium tenerum*), negative (*Eragrostis bahiensis*) and neutral (*Aristida murina*) values inside the enclosure (Figure 3).

Forbs showed no clear trends in their response to the presence of *A. buniifolius*. Only three species were recorded in both grazing treatments, with significant values of RII in at least one of them (Figure 3). Most non-grass monocots were rare species (present in less than three plots) and were not analysed individually.

The list of species registered with RII values that did not differ significantly from zero (neutral effect), as well as those recorded in only one of the grazing treatments, are shown in Table S2.

Abiotic measurements

In both grazing treatments, light availability about half below the canopy of *A. buniifolius* compared to the surrounding open area ($F_{3,16} = 66.4$ and $F_{3,16} = 80.7$ for cold and warm-season respectively, $P < 0.0001$). Soil temperature was significantly lower under the shrubs during the warmest months ($F_{3,16} = 28.7$; $P < 0.001$). In contrast, there were no significant differences in soil moisture between the shrub and open microsites (Table 1).

Discussion

We found evidence of positive effects of the shrub *A. buniifolius* on the richness and cover of the dominant life-form (i.e. grasses) of a temperate subhumid grassland. According to the stress-gradient hypothesis (SGH) the frequency of facilitative interactions is more common in conditions of high abiotic stress

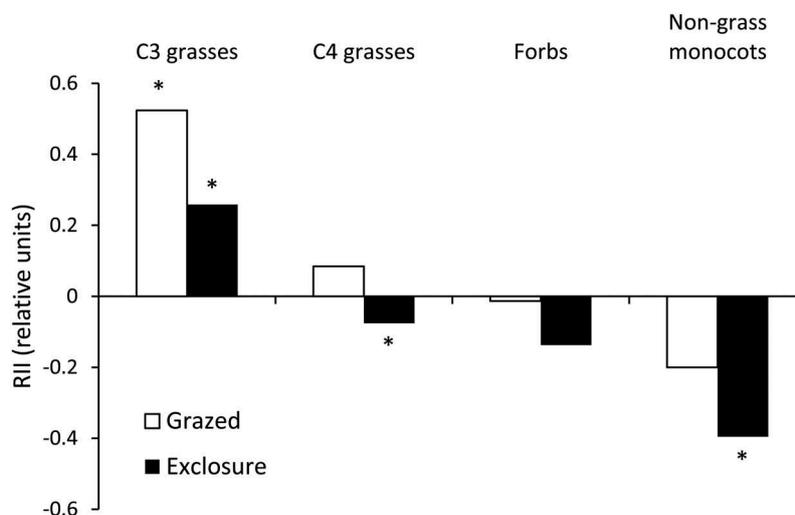


Figure 2. Mean relative interaction indices (RII) calculated for cover of four functional types growing under the canopy of the shrub *Acanthostyles buniifolius* and in the surrounding open area, inside and outside a grazing enclosure ($n = 5$ for each treatment). Cover of all registered species were included in the analyses. Values higher or lower than zero indicate positive (facilitation) or negative (competition) effects of the shrub, respectively. Asterisks indicate values that significantly differ from zero in a t -test ($P < 0.05$).

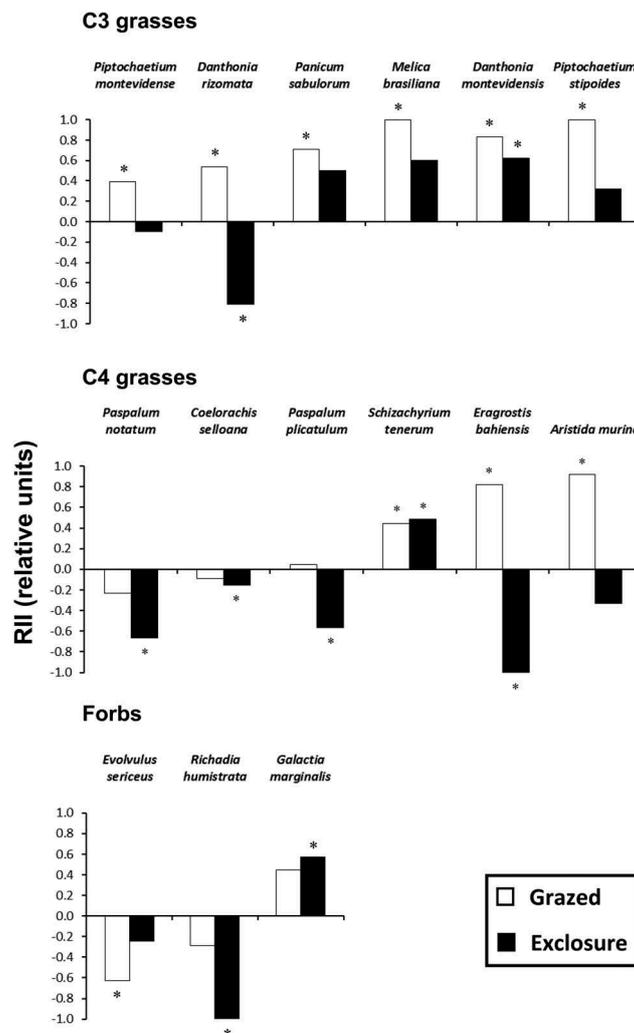


Figure 3. Mean relative interaction indices (RII) calculated for cover of species growing under the canopy of the shrub *Acanthostyles buniifolius* and in the surrounding open area, inside and outside a grazing exclusion ($n = 5$ for each treatment). RII values range from 1 (facilitation) to -1 (competition). Asterisks indicate significant deviation from zero using t -test ($P < 0.05$). Only species recorded in both grazing regimes with values significantly different from 0 in at least one of them are shown.

Table 1. Light availability, soil temperature, and soil moisture measured under the canopy of the shrub *Acanthostyles buniifolius* and in the surrounding open area, inside and outside a grazing exclusion ($n = 5$ for each treatment). Variables were measured seasonally over 3 years (2014–2016).

Variable	Season	Grazed		Exclosure		$F_{(3, 16)}$	P
		Shrub	Open	Shrub	Open		
Light availability (luxes)	Autumn/winter	379.4^a	517.3^b	279.5^c	492.8^b	66.4	<0.0001
	Spring/summer	420.4^a	839.5^b	329.7^a	792.4^b	80.7	<0.0001
Soil temperature (°C)	Autumn/winter	12.9^a	13.05^a	13.3^{ab}	14.95^b	5.9	0.006
	Spring/summer	27.85^a	31.25^b	25.1^c	30^b	28.7	<0.0001
Soil moisture (%)	Autumn/winter	9.9	9.7	10.1	9.8	0.24	0.87
	Spring/summer	8.0	8.1	8.3	7.5	2.26	0.12

Different letters indicate significant differences among microsites ($P < 0.05$) in a post-ANOVA Tukey test. Boldface type highlights comparisons that were statistically different.

and/or high consumer pressure (Bertness and Callaway 1994). Species of temperate grasslands of Uruguay are not exposed to critical abiotic stressors, but since the introduction of livestock by European settlers, about 400 years ago, they have been subjected to moderate/high grazing pressure. Consistent with our expectations, we found that in

the grazed plots the cover of grass species was higher beneath the shrub canopy than outside of it. Additionally, we found that C_3 grasses were also favoured by the presence of the shrub inside the exclusion, suggesting more adequate abiotic conditions for this functional type, and supporting the idea that positive interactions may be more

common in mesic environments than previously thought (Holmgren and Scheffer 2010). However, we may not altogether rule out that the interaction observed reflects the legacy of previous herbivory before fencing 3 years prior to the study.

Photosynthetic metabolism was found to be a key attribute for understanding the facilitative interactions in this temperate grassland. Inside the enclosure (where the biotic refuge effect would not be operating), the positive effects of the shrub were mainly associated with the C_3 grasses. Compared to their C_4 counterparts, C_3 leaves have no biochemical CO_2 concentrating mechanisms. At high temperatures and low atmospheric CO_2 , the key C_3 photosynthetic enzyme rubisco does not distinguish completely between CO_2 and O_2 . The O_2 uptake leads to the less efficient ($\leq 40\%$) carbon-gain photorespiration process (Edwards et al. 2010). In order to reduce photorespiration, C_3 plants can increase internal leaf CO_2 concentration simply by opening stomates (Sage 1999). However, this poses a problem for C_3 species growing in open habitats, like natural grasslands, where species are exposed to intense solar radiation and high temperatures. Increasing stomatal conductance comes at a high cost in terms of transpiration and risks of severe wilting and even death (Sage 1999; Gurevitch et al. 2006). Living in a micro-environment with reduced solar radiation and temperature, like that found under the canopy of *A. buniifolius*, may benefit C_3 grasses by reducing photorespiratory activity. Abiotic stress amelioration constitutes the core mechanism underlying the SGH (Bertness and Callaway 1994; Holmgren et al. 1997; Bruno et al. 2003) and although it has been widely documented in xeric environments (Cavieres and Badano 2009; Filazzola and Lortie 2014), our results indicate that C_3 grasses of subhumid grasslands also benefit from this mechanism.

Most C_4 grass species were negatively affected by the presence of the shrub inside the enclosure. Contrary to C_3 species, which can acclimate to shade through structural, biochemical, and physiological changes of the leaves (Sage and McKown 2006), C_4 species do not thrive well in low-light environments (Ehleringer 1978). Although C_4 plants have substantial acclimation potential, certain features unique to C_4 photosynthesis (e.g. the mesophyll-bundle sheath complex and associated structural and physiological traits) must be maintained in order to function efficiently, reducing the potential for photosynthetic acclimation to shade (Sage and McKown 2006). Our results are consistent with findings for particular C_4 grass species, both in natural

systems (Lett and Knapp 2003) and greenhouse experiments (Altesor et al. 2017).

Despite the opposite effects of the shrub on C_3 and C_4 grasses inside the enclosure, the shrub would be protecting both functional types from grazing by herbivores. Herbivore protection is a well-known mechanism that promotes facilitative interactions (Barbosa et al. 2009; Smit et al. 2009; Filazzola and Lortie 2014) and several studies have shown that unpalatable plants reduce the grazing pressure on their palatable neighbours (Oesterheld and Oyarzabal 2004; Bossuyt et al. 2005; Callaway et al. 2005; Graff et al. 2007; Noëll-Estapé et al. 2013). The protective role of *A. buniifolius* may be due to visual concealment from grazers, since the shrub lacks spines or toxicity (Louthan et al. 2014). After 3 years of livestock exclusion, we assumed that grazing protection was negligible inside the enclosure, but appears to function simultaneously with the abiotic amelioration mechanism under grazing. For C_3 grasses, it seemed that the two mechanisms (microclimatic amelioration and herbivore protection) converge, both leading to positive effects. This may explain the two-fold increase in the intensity of facilitation when livestock were present. Alternatively, the two mechanisms seem to work in opposite directions for C_4 grasses. The negative effect of the shrub on C_4 grass cover inside the enclosure shifted to neutral in the grazed area. In the latter case, the positive effect of the shrub mediated by grazing protection may offset the negative effect induced by shading, leading to a neutral net outcome.

Forbs did not show a consistent response to the presence of *A. buniifolius*. As a group, the effect of the shrub on forb richness and cover was neutral in both grazing treatments. However, when the species were analysed separately, one benefited from growing under the shrub canopy, while two responded negatively, irrespective of the grazing condition. Photosynthetic metabolism cannot account for the heterogeneity of responses, as all registered species had C_3 photosynthesis. C_4 photosynthesis is relatively uncommon in dicotyledonous plants, occurring only in some families (Ehleringer et al. 1997). In natural grasslands of Uruguay, forbs are a phylogenetically heterogeneous group of species that occupy interstitial spaces left by the matrix-forming grasses (Rodríguez et al. 2003; Lezama and Paruelo 2016). The species studied are small-stature perennials, and except for *Sommerfeltia spinulosa* and *Cuphea glutinosa* that can grow up to 40 cm, their biomass is generally concentrated close to the ground. Having small prostrate leaves offers a two-fold advantage in this system: (1) species can avoid being consumed by grazers (Díaz

et al. 1992) and (2) small leaves have a thinner boundary layer, which allows greater convective cooling, usually with a net reduction in water loss through evapotranspiration (Vogel 1968; Givnish 1979; Cunningham et al. 1999). It is likely that forbs of these grasslands are not dependent on beneficial associations with shrubs in order to cope with grazing and high-light environments, and their response is mediated by other mechanisms not considered in this study.

Taken together, non-grass monocots decreased their cover under the shrub canopy. The non-grass monocot functional type includes the sedge family (Cyperaceae), which is the second richest family in C_4 species (ca. 1330 species, 27% of all species in the family), following the grasses (Sage 2004). Therefore, the sedge family is a good system to assess facilitative interactions mediated by photosynthetic metabolism. However, in our study most species of this functional type were rare, present in less than three plots, and therefore were discarded from the individual analysis. More data would be needed in order to discuss facilitative interactions within this functional type.

Our research highlights the convenience of using individual and community approaches as complementary analyses in order to explore facilitative effects in a highly diverse community. The use of a PFT approach allowed us to unravel the effects of microclimatic amelioration and herbivore protection in C_3 and C_4 grasses. An increment in the abundance of C_3 species was also observed under woody species of fynbos (Cowling 1983), savannas (Scholes and Archer 1997), artificially afforested grasslands (Nordenstahl et al. 2011) and natural grasslands (Fernández et al. 2014; Bernardi et al. 2016). However, these studies did not compare grazed with ungrazed areas, and consequently failed to determine the exact mechanism underlying the facilitative effect of the benefactor species. On the other hand, pair-wise interaction analyses revealed heterogeneous behaviour among forbs, suggesting that grouping multiple lineages into a single functional type may mask underlying variation in other traits that could explain the varied responses to the presence of the shrub.

Conclusions

Our study contributes to the knowledge of facilitative interactions, providing evidence that shrubs of a temperate subhumid grassland may protect grasses from grazers and that they can also benefit C_3 grasses by alleviating stressful conditions of the open environment. Nonetheless, we acknowledge

that our findings cannot be generalised to other subhumid grasslands. Community richness and composition, grazing regime and resource availability vary across landscapes and regions, and in turn, plant–plant interaction outcomes may change. Additionally, the limited number of replicates (five) used in our study created a conservative comparison by reducing the chances of finding significant differences among treatments. Further analyses including more sampling sites and replicates are needed. The generalisation of our results is important because shrubs like *A. buniifolius* are undesirable and usually removed by land managers in order to increase the effective grazing area. However, shrubs may play an important role in maintaining the richness and abundance of species of grasslands, especially of those most appreciated by grazers. Although we did not measure reproductive performance, it is also possible that grasses growing under the shrub canopy have higher reproductive success, as already noted by other authors (e.g. Bossuyt et al. 2005). Therefore, shrubs may provide resilience to this highly diverse community in the face of natural and anthropogenic disturbances.

Acknowledgements

We thank Amparo Quiñones and her family for logistical support, and B. Costa, S. García, A. Geymonat, L. Gillman, A. Guido, E. Leoni, L. López-Mársico and A. Quiñones for field assistance. Christine Lucas kindly helps us with the style of the manuscript. The paper was improved by the comments of two anonymous reviewers. This work was supported by the *Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas* and the *Agencia Nacional de Investigación e Innovación* under Grant (POS_NAC_2012_1_8716).

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

Funding

This work was supported by the *Agencia Nacional de Investigación e Innovación* [POS_NAC_2012_1_8716]; *Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas*.

Notes on contributors

Gastón Fernández is an associate professor with research interests in plant–plant interactions and the ecophysiology of grasses.

Felipe Lezama is an associate professor with experience in phytosociological studies of grassland vegetation.

Claudia Rodríguez is an associate professor with a main interest in the effects of grazing by large herbivores on grassland community structure.

References

- Altesor A, Leoni E, Guido A, Paruelo JM. 2017. Differential responses of three grasses to defoliation, water and light availability. *Plant Ecol.* 218(2):95–104. doi:10.1007/s11258-016-0669-7.
- Armas C, Ordiales R, Pugnaire FI. 2004. Measuring plant interactions: a new comparative index. *Ecology.* 85(10):2682–2686. doi:10.1890/03-0650.
- Baeza S. 2016. El Uso/Cobertura del suelo en Uruguay y los Pastizales del Río de la Plata: caracterización, análisis de sus cambios a lo largo del tiempo e impactos sobre el funcionamiento ecosistémico [dissertation]. Montevideo: Universidad de la República.
- Barbosa P, Hines J, Kaplan I, Martinson H, Szczepanec A, Szendrei Z. 2009. Associational resistance and associational susceptibility: having right or wrong neighbors. *Annu Rev Ecol Evol Syst.* 40:1–20. doi:10.1146/annurev.ecolsys.110308.120242
- Bernardi RE, de Jonge IK, Holmgren M. 2016. Trees improve forage quality and abundance in South American subtropical grasslands. *Agric Ecosyst Environ.* 232:227–231. doi:10.1016/j.agee.2016.08.003
- Bertness M, Callaway RM. 1994. Positive interactions in communities. *Trends Ecol Evol.* 9(5):191–193. doi:10.1016/0169-5347(94)90088-4.
- Biganzoli F, Wiegand T, Batista WB. 2009. Fire-mediated interactions between shrubs in a South American temperate savannah. *Oikos.* 118(9):1383–1395. doi:10.1111/j.1600-0706.2009.17349.x.
- Bonanomi G, Incerti G, Stefano M. 2011. Assessing occurrence, specificity, and mechanisms of plant facilitation in terrestrial ecosystems. *Plant Ecol.* 212:1777–1790. doi:10.1007/s11258-011-9948-5
- Bossuyt B, De Fre B, Hoffmann M. 2005. Abundance and flowering success patterns in a short-term grazed grassland: early evidence of facilitation. *J Ecol.* 93(6):1104–1114. doi:10.1111/j.1365-2745.2005.01059.x.
- Bruno JF, Stachowicz JJ, Bertness MD. 2003. Inclusion of facilitation into ecological theory. *Trends Ecol Evol.* 18(3):119–125. doi:10.1016/S0169-5347(02)00045-9.
- Callaway RM, Brooker RW, Choler P, Kikvidze Z, Lortie CJ, Michalet R, Paolini L, Pugnaire FI, Newingham B, Aschehoug ET, et al. 2002. Positive interactions among alpine plants increase with stress. *Nature.* 417:844–848. doi:10.1038/nature00812
- Callaway RM, Kikvidze D, Chiboshvili M, Khetsuriani L. 2005. Unpalatable plants protect neighbors from grazing and increase plant community diversity. *Ecology.* 86(7):1856–1862. doi:10.1890/04-0784.
- Cavieres LA, Badano EI. 2009. Do facilitative interactions increase species richness at the entire community level?. *J Ecol.* 97(6):1181–1191. doi:10.1111/j.1365-2745.2009.01579.x.
- Cayssials V, Rodríguez C. 2018. The adaptive value of grass traits in response to grazing. *J Plant Ecol.* 11(2):248–255. doi:10.1093/jpe/rtw139.
- Christin P-A, Besnard G, Samaritani E, Duvall MR, Hodkinson TR, Savolainen V, Salamin N. 2008. Oligocene CO₂ decline promoted C₄ photosynthesis in grasses. *Curr Biol.* 18(1):37–43. doi:10.1016/j.cub.2007.11.058.
- Christin P-A, Osborne CP, Sage RF, Arakaki M, Edwards EJ. 2011. C₄ eudicots are not younger than C₄ monocots. *J Exp Bot.* 62(9):3171–3181. doi:10.1093/jxb/err041.
- Cowling RM. 1983. The occurrence of C₃ and C₄ grasses in fynbos and allied shrublands in the south eastern Cape, South Africa. *Oecologia.* 58(1):121–127. doi:10.1007/BF00384551.
- Craine JM, Dybzinski R. 2013. Mechanisms of plant competition for nutrients, water and light. *Funct Ecol.* 27(1):833–840. doi:10.1111/1365-2435.12081.
- Cunningham SA, Summerhayes B, Westoby M. 1999. Evolutionary divergences in leaf structure and chemistry, comparing rainfall and soil nutrient gradients. *Ecology.* 69(4):569–588. doi:10.1890/0012-9615(1999)069[0569:EDILSA]2.0.CO;2.
- Damgaard C, Merlin A, Mesléard F, Bonis A. 2011. The demography of space occupancy: measuring plant colonization and survival probabilities using repeated pin-point measurements. *Methods Ecol Evol.* 2(1):110–115. doi:10.1111/j.2041-210X.2010.00053.x.
- Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. 2017. Grupo InfoStat, FCA. Argentina: Universidad Nacional de Córdoba. <http://www.infostat.com.ar/>
- Díaz S, Acosta A, Cabido M. 1992. Morphological analysis of herbaceous communities under different grazing regimes. *J Veg Sci.* 3(5):689–696. doi:10.2307/3235837.
- Edwards EJ, Osborne CP, Cae S, Smith SA, Bond WJ, Christin P-A, Cousins AB, Duvall MR, Fox DL, Freckleton RP, et al. 2010. The origins of C₄ grasslands: integrating evolutionary and ecosystem science. *Science.* 328(5978):587–591. doi:10.1126/science.1177216.
- Edwards EJ, Smith SA. 2010. Phylogenetic analyses reveal the shady history of C₄ grasses. *Proc Natl Acad Sci USA.* 107(6):2532–2537. doi:10.1073/pnas.0909672107.
- Ehleringer J. 1978. Implications of quantum yield differences on the distributions of C₃ and C₄ grasses. *Oecologia.* 31(3):255–267. doi:10.1007/BF00346246.
- Ehleringer JR, Cerling TE, Helliker BR. 1997. C₄ photosynthesis, atmospheric CO₂, and climate. *Oecologia.* 112(3):285–299. doi:10.1007/s004420050311.
- Fernández G. 2011. Efecto del arbusto *Eupatorium buniifolium* (Hook. y Arn.) en el desempeño y la distribución espacial de gramíneas nativas en un pastizal natural de Uruguay [dissertation]. Montevideo: Universidad de la República.
- Fernández G, Texeira M, Altesor A. 2014. The small scale spatial pattern of C₃ and C₄ grasses depends on shrub distribution. *Austral Ecol.* 39(5):532–539. doi:10.1111/aec.12113.
- Fidelis A, Overbeck GE, Pillar VD, Pfadenhauer J. 2009. The ecological value of *Eryngium horridum* in maintaining biodiversity in subtropical grasslands. *Austral Ecol.* 34(5):558–566. doi:10.1111/j.1442-9993.2009.01959.x.

- Filazzola A, Lortie CJ. 2014. A systematic review and conceptual framework for the mechanistic pathways of nurse plants. *Glob Ecol Biogeogr.* 23(12):1335–1345. doi:10.1111/geb.12202.
- Flores J, Jurado E. 2003. Are nurse-protégé interactions more common among plants from arid environments? *J Veg Sci.* 14(6):911–916. doi:10.1658/1100-9233(2003)014[0911:ANIMCA]2.0.CO;2.
- Galíndez G, Ortega-Baes P, Scopel AL, Hutchings MJ. 2013. The dynamics of three shrub species in a fire-prone temperate savanna: the interplay between the seed bank, seed rain and fire regime. *Plant Ecol.* 214(1):75–86. doi:10.1007/s11258-012-0147-9.
- Givnish TJ. 1979. On the adaptive significance of leaf form. In: Solbrig OT, Jain S, Johnson GB, Raven PH, editors. *Topics in plant population biology*. London: Macmillan; p. 375–407.
- Graff P, Aguiar MR, Chaneton EJ. 2007. Shifts in positive and negative plant interactions along a grazing intensity gradient. *Ecology.* 88(1):188–199. doi:10.1890/0012-9658(2007)88[188:SIPANP]2.0.CO;2.
- Greig-Smith P. 1983. *Quantitative plant ecology*. Oxford: Blackwell.
- Grossi MA, Gutiérrez DG, Berrueta PC, Martínez JJ. 2011. *Acanthostyles* (Asteraceae, Eupatorieae): a revision with a multivariate analysis. *Aust Syst Bot.* 24(2):87–103. doi:10.1071/SB10038.
- Gurevitch J, Scheiner SM, Fox GA. 2006. *The ecology of plants*. Massachusetts (US): Sinauer Associates.
- Hairston N, Smith F, Slobodkin L. 1960. Community structure, population control and competition. *Am Nat.* 94(879):421–425. doi:10.1086/282146.
- Holmgren M, Scheffer M. 2010. Strong facilitation in mild environments: the stress gradient hypothesis revisited. *J Ecol.* 98(6):1269–1275. doi:10.1111/j.1365-2745.2010.01709.x.
- Holmgren M, Scheffer M, Huston M. 1997. The interplay of facilitation and competition in plant communities. *Ecology.* 78(7):1966–1975. doi:10.1890/0012-9658(1997)078[1966:TIOFAC]2.0.CO;2.
- Hunter AF, Aarssen LW. 1988. Plants helping plants. *BioScience.* 38(1):34–40. doi:10.2307/1310644.
- Le Bagousse-Pinguet Y, Xiao S, Brooker RW, Gross N, Liancourt P, Straile D, Michalet R. 2014. Facilitation displaces hotspots of diversity and allows communities to persist in heavily stressed and disturbed environments. *J Veg Sci.* 25(1):66–76. doi:10.1111/jvs.12064.
- Lett MS, Knapp AK. 2003. Consequences of shrub expansion in mesic grassland: resource alterations and graminoid responses. *J Veg Sci.* 14(4):487–496. doi:10.1658/1100-9233(2003)014[0487:COSEIM]2.0.CO;2.
- Lezama F, Altesor A, Pereira M, Paruelo JM. 2011. Descripción de la heterogeneidad florística en los pastizales naturales de las principales regiones geomorfológicas de Uruguay [Description of the floristic heterogeneity in the natural grasslands of the main geomorphological regions of Uruguay]. In: Altesor A, Ayala W, Paruelo JM, editors. *Bases ecológicas y tecnológicas para el manejo de pastizales*. Montevideo (UY): INIA; p. 15–32.
- Lezama F, Paruelo JM. 2016. Disentangling grazing effects: trampling, defoliation and urine deposition. *Appl Veg Sci.* 19(4):557–566. doi:10.1111/avsc.12250.
- Liancourt P, Callaway R, Michalet R. 2005. Stress tolerance and competitive-response ability determine the outcome of biotic interactions. *Ecology.* 86(6):1611–1618. doi:10.1890/04-1398.
- Louthan AM, Doak DF, Goheen JR, Palmer TM, Pringle RM. 2014. Mechanisms of plant-plant interactions: concealment from herbivores is more important than abiotic-stress mediation in an African savannah. *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* 281(1780):1–7. doi:10.1098/rspb.2013.2647.
- McIntire EJB, Fajardo A. 2014. Facilitation as a ubiquitous driver of biodiversity. *New Phytol.* 201(2):403–416. doi:10.1111/nph.12478.
- Michalet R, Le Bagousse-Pinguet Y, Maalouf J-P, Lortie CJ. 2014. Two alternatives to the stress-gradient hypothesis at the edge of life: the collapse of facilitation and the switch from facilitation to competition. *J Veg Sci.* 25(2):609–613. doi:10.1111/jvs.12123.
- Michalet R, Maalouf JP, Choler P, Clement B, Rosebery D, Royer JM, Schöb C, Lortie CJ. 2015. Competition, facilitation and environmental severity shape the relationship between local and regional species richness in plant communities. *Ecography.* 38(4):335–345. doi:10.1111/ecog.01106.
- Michalet R, Pugnaire FI. 2016. Facilitation in communities: underlying mechanisms, community and ecosystem implications. *Funct Ecol.* 30(1):3–9. doi:10.1111/1365-2435.12602.
- Mihoč MAK, Giménez-Benavides L, Pescador DS, Sánchez AM, Cavieres LA, Escudero A. 2016. Soil under nurse plants is always better than outside: a survey on soil amelioration by a complete guild of nurse plants across a long environmental gradient. *Plant Soil.* 408(1–2):31–41. doi:10.1007/s11104-016-2908-z.
- Noëll-Estapé SE, Semmartin M, Paruelo JM. 2013. Refuge effect of an unpalatable forb on community structure and grass morphology in a temperate grassland. *Plant Ecol.* 214(3):363–372. doi:10.1007/s11258-013-0173-2.
- Nordenstahl M, Gundel PE, Clavijo MP, Jobbágy EG. 2011. Forage production in natural and afforested grasslands of the Pampas: ecological complementarity and management opportunities. *Agroforest Syst.* 83:201–211. doi:10.1007/s10457-011-9383-6.
- Oesterheld M, Oyarzabal M. 2004. Grass-to-grass protection from grazing in a semi-arid steppe. Facilitation, competition, and mass effect. *Oikos.* 107(3):576–582. doi:10.1111/j.0030-1299.2004.13442.x.
- Ríos A. 2007. Estrategias para el control de campo sucio [Strategies for the control of weeds in the field]. In: INIA, editores. *Seminario de Actualización Técnica en Manejo de Malezas*. Montevideo (UY): INIA; p. 107–115.
- Rodríguez C, Leoni E, Lezama F, Altesor A. 2003. Temporal trends in species composition and plant traits in natural grasslands of Uruguay. *J Veg Sci.* 14(3):433–440. doi:10.1658/1100-9233(2003)014[0433:TTISCA]2.0.CO;2.

- Sage RF. 1999. Why C₄ photosynthesis? In: Sage RF, Monson RK, editors. C₄ plant biology. California (US): Academic Press; p. 3–16.
- Sage RF. 2004. The evolution of C₄ photosynthesis. *New Phytol.* 161(2):341–370. doi:10.1111/j.1469-8137.2004.00974.x.
- Sage RF, McKown AD. 2006. Is C₄ photosynthesis less phenotypically plastic than C₃ photosynthesis? *J Exp Bot.* 57(2):303–317. doi:10.1093/jxb/erj040.
- Schoener TW. 1983. Field experiments on interspecific competition. *Am Nat.* 122(2):240–285. doi:10.1086/284133.
- Scholes RJ, Archer SR. 1997. Tree-grass interactions in savannas. *Annu Rev Ecol Syst.* 28:517–544. doi:10.1146/annurev.ecolsys.28.1.517
- Smit C, Rietkerk M, Wassen MJ. 2009. Inclusion of biotic stress (consumer pressure) alters predictions from the stress gradient hypothesis. *J Ecol.* 97(6):1215–1219. doi:10.1111/j.1365-2745.2009.01555.x.
- Smit C, Vandenbergh C, Den Ouden J, Muller-Scharer H. 2007. Nurse plants, tree saplings and grazing pressure: changes in facilitation along a biotic environmental gradient. *Oecologia.* 152(2):265–273. doi:10.1007/s00442-006-0650-6.
- Soliveres S, Eldridge DJ, Hemmings F, Maestre FT. 2012. Nurse plant effects on plant species richness in drylands: the role of grazing, rainfall and species specificity. *Perspect Plant Ecol Syst.* 14(6):402–410. doi:10.1016/j.ppees.2012.09.003.
- Soliveres S, Maestre FT. 2014. Plant-plant interactions, environmental gradients and plant diversity: a global synthesis of community-level studies. *Perspect Plant Ecol Syst.* 16(4):154–163. doi:10.1016/j.ppees.2014.04.001.
- Stachowicz JJ. 2001. Mutualism, facilitation, and structure of ecological communities. *BioScience.* 51(3):235–246. doi:10.1641/0006-3568(2001)051[0235:MFATSO]2.0.CO;2.
- Veldman JW, Buisson E, Durigan G, Fernandes GW, Le Stradic S, Mahy G, Negreiros D, Overbeck GE, Veldman RG, Zaloumis NP, et al. 2015. Toward an old-growth concept for grasslands, savannas, and woodlands. *Front Ecol Environ.* 13(3):154–162. doi:10.1890/140270.
- Vogel S. 1968. “Sun leaves” and “shade leaves”: differences in convective heat dissipation. *Ecology.* 49(6):1203–1204. doi:10.2307/1934517.
- Xu J, Michalet R, Zhang J-L, Wang G, Chu C-J XS. 2010. Assessing facilitative responses to a nurse shrub at the community level: the example of *Potentilla fruticosa* in a sub-alpine grassland of northwest China. *Plant Biol.* 12(5):780–787. doi:10.1111/j.1438-8677.2009.00271.x.
- Yang Y, Niu Y, Cavieres LA, Sun H. 2010. Positive associations between the cushion plant *Arenaria polytrichoides* (Caryophyllaceae) and other alpine plant species increase with altitude in the Sino-Himalayas. *J Veg Sci.* 21(6):1048–1057. doi:10.1111/j.1654-1103.2010.01215.x.