



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL COMAHUE**  
**CENTRO REGIONAL UNIVERSITARIO BARILOCHE**  
**DEPTO. DE POSTGRADO**

**¿Cómo influye la intensidad de ganado en la germinación y diversidad genética de especies colonizadoras, intermedias y tardías del Monte Patagónico? Aplicaciones a la restauración de un ecosistema árido**



**Trabajo de Tesis para optar al Título de Doctor en Biología**

**Yamila Ivón Pelliza**

**Directora: Mariana Tadey**

**Co directora: Cintia P. Souto**

**2022**

## **Agradecimientos**

Agradezco profundamente a toda la gente que me ayudo a llevar a cabo esta tesis.

En un lugar muy importante y de gran fortaleza para mí, a toda familia, por su constante e incondicional amor, apoyo y confianza. En particular, a mis padres, hermano, cuñada y sobrinos.

A mis directoras, por su acompañamiento, enseñanza y grandes aportes. A mi compañera de grupo de trabajo, Daiana Jaume, por su apoyo y por acompañarme en el campo, laboratorio e invernadero.

A mis amigos, por su valiosa amistad, compañía y gran sostén. En particular, a Marina Strelin, Soledad Vazquez, Giselle Chichizola, Nelson Atencio, Agustín Vitali, Melina Zuliani, Mariana Salgado, Angélica Magna, Daniela Ortíz y Luca Schenone.

A mis compañeros de Ecotono, por su compañía, apoyo y sugerencias todos estos años. En particular a mis compañeras de oficina, Sofía González, Natalia Lezcano, Carolina Quinteros y Yamila Sasal. También a los CPAs de Inibioma por su ayuda.

*“Al final de un proceso solo quedan las semillas que dan inicio al siguiente ciclo...”*

## Resumen

El sobrepastoreo causado por el ganado introducido en áreas naturales es una de las principales causas que profundizan la desertificación. El ganado puede desencadenar una serie de procesos que terminarán impactando en el éxito reproductivo de las plantas. El ramoneo de tallos, hojas y flores, disminuye la cantidad de tejido fotosintético y reproductivo, afectando la asignación de los recursos disponibles tanto para el crecimiento como la reproducción de las plantas. Así, podría afectar la formación de semillas, reduciendo su cantidad y/o calidad. De esta manera, el efecto negativo del ganado sobre las plantas podría propagarse a su descendencia. Una reducción del banco de semillas, de su capacidad germinativa y del establecimiento de plántulas tendría impactos a niveles tanto ecológicos (e.g., revegetación natural del ecosistema impactado) como evolutivos (i.e., afectando la variabilidad genética). Esta tesis tiene como objetivos: evaluar distintos tratamientos germinativos en diez especies nativas del Monte Patagónico (Capítulo 1), evaluar los efectos de la herbivoría por ganado exótico sobre su reproducción y germinación (Capítulo 2) y sobre su variabilidad genética (Capítulo 3), buscando estimar, a nivel de comunidad, su efecto sobre las especies colonizadoras, intermedias y tardías en la sucesión ecológica de la región. Además, esta tesis evalúa cómo los rasgos estudiados en los capítulos anteriores pueden contribuir para generar prácticas y estrategias efectivas de restauración ecológica en áreas degradadas de la región (Capítulo 4).

Conocer los requerimientos germinativos de especies nativas permite comprender la dinámica temporal de la vegetación y es clave para desarrollar proyectos de restauración ecológica. Aplicando distintos tratamientos, se observó que, en general, los porcentajes de germinación fueron diferentes entre los tipos sucesionales de especies. Las especies colonizadoras germinaron de manera similar en todos los tratamientos, incluido el control, sugiriendo que no presentan mecanismos de latencia. Las especies intermedias germinaron más y más rápido cuando se les aplicaban tratamientos de escarificación física, aunque en el tratamiento control también obtuvieron altos porcentajes de germinación (~88%). Esto sugiere que poseen mecanismos de latencia pero no tan profunda como las especies tardías, las cuales, presentaron muy bajos porcentajes de germinación (~5%). La combinación de tratamientos con mayor éxito en su germinación fue el remojo en agua, condiciones de oscuridad y estratificación fría

húmeda. Esto sugiere que las especies tardías poseen mecanismos de latencia profunda muy difíciles de romper.

El ganado doméstico puede afectar a la vegetación que consume a través del daño a sus tejidos vegetativos y meristemas reproductivos repercutiendo sobre la producción de semillas. En general, el ramoneo disminuyó el tamaño y el esfuerzo reproductivo de las plantas. Con el aumento de la carga ganadera, disminuyó la producción de semillas viables, mientras que aumentó el peso de las semillas y su tiempo de germinación. Los tipos sucesionales de especies mostraron diferentes respuestas al incremento de la carga ganadera para la mayoría de los parámetros analizados, siendo las especies intermedias las menos afectadas. Las colonizadoras mantuvieron similar la producción y calidad de sus semillas a lo largo del gradiente de pastoreo, mientras que las intermedias balancearon entre una disminución de la producción de semillas con un aumento de su peso, y las tardías aumentaron el peso y mantuvieron la cantidad de sus semillas viables. Además, mientras que el aumento de la intensidad del pastoreo atrasó la emergencia de especies colonizadoras, las semillas de plantas intermedias emergieron más rápido y más uniforme, disminuyendo la variabilidad del momento en que germinan. Estos resultados sugieren que las especies colonizadoras e intermedias poseen aparentes respuestas compensatorias que les permitirían tolerar cierto grado de herbivoría. Las intermedias presentarían una ventaja al maximizar su aptitud a largo plazo frente a las colonizadoras. Las especies tardías son las más afectadas por el ganado, limitadas en su producción de semillas viables y germinación con graves consecuencias en su reclutamiento.

La diversidad genética es esencial para mantener la biodiversidad a lo largo del tiempo, dado que una mayor variabilidad genética aumenta la capacidad de las especies de responder a cambios ambientales y disturbios, otorgándoles mayor potencial evolutivo. Por lo tanto, dado que el pastoreo afecta a los individuos consumidos y a su descendencia, se esperan cambios en su variabilidad y estructura genética con el aumento del pastoreo. Para estudiar estos efectos, se comparó la variabilidad genética entre la generación parental y su progenie y entre dos cargas ganaderas contrastes (baja y alta). Las comparaciones se realizaron utilizando medidas de cambios relativos (deltas,  $\Delta$ ) en la diversidad genética y el tamaño efectivo de la población, comparando finalmente entre dos especies, *Atriplex lampa* (especie colonizadora) y *Prosopis alpataco* (especie intermedia). Se observó que las poblaciones parentales de *Prosopis*

*alpataco* disminuyeron la variabilidad genética y presentaron cuellos de botella genéticos, y su descendencia mostró endogamia. Los resultados mostraron que la disminución de diversidad genética entre generaciones se asoció a una reducción de la aptitud de los parentales, que a su vez afectó la diversidad genética de la progenie, aumentando la mortalidad de las plántulas. Al comparar entre especies, como se esperaba, *A. lampa* presentó menores cambios genéticos relativos entre la generación parental y su progenie, y entre niveles de carga ganadera, que *P. alpataco*. Estas tendencias diferentes entre generaciones y entre especies podrían atribuirse a sus características asociadas a tipos sucesionales de especies: diferentes ciclos de vida (cortos vs. largos) y estrategias de dispersión de polen (anemófila vs. zoófila) y semillas (anemófila vs. endozoocoria).

En el Monte Patagónico, el crecimiento de la vegetación es muy lento, dificultando la recuperación natural luego de disturbios y resaltando la relevancia elaborar estrategias de restauración que aceleren este proceso. Se realizó un experimento de restauración con distintos tratamientos y se evaluó la influencia de la variabilidad genética en la supervivencia de las plántulas. Se observó que plantas parentales con menor diversidad genética tendieron a producir progenie con mayor supervivencia. Esta tendencia fue más fuerte en la especie colonizadora (*Atriplex lampa*). Esto podría sugerir que el ganado estaría seleccionando fenotipos asociados a ciertos genotipos, homogeneizando las poblaciones, generando así cuellos de botella genéticos. Por otro lado, podría ocurrir que las plantas parentales sometidas al estrés de herbivoría podrían estar aumentando la supervivencia de su progenie, a través de distintos efectos maternos o que estén sobreviviendo aquellos genotipos resistentes al ganado con mayor tasa de supervivencia. En el experimento de restauración, el tratamiento que combinó fertilizante, hidrogel y protección antiherbivoría fue el que presentó mayor supervivencia de plántulas respecto a los demás tratamientos. Además, las especies colonizadoras fueron más eficientes y sobrevivieron más que las intermedias, y más aún que las especies tardías. Estos resultados sugieren que la facilitación entre especies, la adición de fertilizante natural e hidrogel, junto con la protección antiherbivoría y la utilización de especies colonizadoras e intermedias son herramientas de restauración claves para promover la supervivencia, el establecimiento, la persistencia y acelerar el desarrollo de la vegetación nativa del Monte Patagónico.

## Summary

Overgrazing caused by domestic livestock introduced into natural areas is one of the main causes deepening desertification. Livestock can trigger different processes that may affect plant reproductive success. Browsed stems, leaves and flowers decrease the amount of photosynthetic and reproductive tissue, affecting the allocation of available resources for future plant growth and reproduction. Given that plant damage is related to the availability of resources, a reduction in plant resources may affect the formation of seeds, reducing progeny quantity and/or quality. In this way, the negative effect of livestock could be propagated to their offspring. A reduction of the seed bank, germination capacity and seedling establishment may have impacts at both ecological (e.g., natural revegetation of the impacted ecosystem) and evolutionary levels (i.e., affecting genetic variation). The objectives of this thesis are to evaluate: different germination treatments in ten native species of Patagonian Monte (Chapter 1), the effects of herbivory by domestic livestock on their reproduction and germination (Chapter 2) and on their genetic variation (Chapter 3), estimating these effects at community level on the early, intermediate and late species of the ecological succession. This thesis also evaluates how the studied traits can contribute to develop effective strategies for ecological restoration of the region (Chapter 4).

Knowing the germination requirements of native species allows understanding the temporal dynamics of vegetation and is key to develop ecological restoration projects. Applying different treatments, it was observed that, in general, germination percentages were different among successional types of species. Early species germinated similarly in all treatments, including the control, suggesting that they do not present dormancy mechanisms. Intermediate species germinated more and faster with physical scarification treatments, although the control treatment also showed high germination percentages (~88%). This suggests the presence of dormancy mechanisms but not as deep as in late species, which showed scarce germination percentages (~5%). The combination of water soaking, dark conditions and cold wet stratification treatments showed the highest germination percentages. This suggests that late species have deep dormancy mechanisms that are very difficult to break.

Domestic livestock can affect the vegetation they consume through damage to their vegetative tissues and reproductive meristems, affecting seed production. In

general, browsing decreased the size and reproductive effort of plants (i.e. number of flowers produced). With increasing stocking rates, the production of viable seeds decreased, while seed weight and germination time increased. The successional types of species showed different responses to increased stocking rates for most of the parameters analyzed, with intermediate species being the least affected. Early maintained similar seed production and seed quality along the grazing gradient, while intermediates balanced between a decrease in seed production and an increase in seed weight, and late species only increased seed weight without significant changes in seed quantity. In addition, while increased grazing delayed the emergence of early species, seeds of intermediate plants emerged faster and more uniformly, decreasing the variability in germination timing. These results suggest that early and intermediate species present apparent compensatory responses that would allow them to tolerate some degree of herbivory. Intermediate species may have an advantage in maximizing their long-term fitness over colonizers. Late species are the most affected by livestock, with limitations on their seed production and germination with serious consequences on their recruitment.

Genetic diversity is essential for maintaining biodiversity over time, since greater genetic variation increases the ability of species to respond to environmental changes and disturbances, providing them greater evolutionary potential. Therefore, since grazing affects standing individuals and their offspring, changes in their genetic variation and structure are expected with increasing grazing. In order to study these effects, genetic variation was compared between parental generation and their offspring and between two contrasting stocking rates (low and high). The comparisons were done using measures of relative changes (deltas,  $\Delta$ ) in genetic diversity and effective population size, finally comparing between two species, *Atriplex lampa* (early species) and *Prosopis alpataco* (intermediate species). It was observed that parental populations of *P. alpataco* decreased genetic variation and presented genetic bottlenecks, and their offspring showed inbreeding. Results showed that the decrease in genetic diversity between generations was associated with parental fitness reduction, which in turn affected the genetic diversity of the offspring, increasing seedling mortality. When comparing between species, *A. lampa* showed lower relative genetic changes than *P. alpataco* between parental generation and progeny, and between stocking rates. These different trends between generations and between species could be attributed to their



different life cycles (short vs. long), pollen (anemophilous vs. zoophilous) and seed dispersal strategies (anemophilous vs. endozoochory).

In Patagonian Monte, vegetation growth is very slow, hindering natural recovery after disturbances and highlighting the relevance of developing restoration strategies that accelerate this process. A restoration experiment was carried out evaluating different treatments and the influence of genetic variability on seedling survival. It was observed that parental plants with lower genetic diversity tended to produce offspring with higher survival. This trend was stronger in the early species (*Atriplex lampa*) than in the intermediate, *P. alpataco*. This could suggest that the cattle might be selecting phenotypes associated with certain genotypes, homogenizing the populations and generating genetic bottlenecks. On the other hand, it is possible that the parental plants subjected to herbivory stress could be increasing offspring survival through different maternal effects, or that those genotypes resistant to cattle are the only survivals. In the restoration experiment, the treatment that combined fertilizer, hydrogel and anti-herbivory protection had the highest seedling survival compared to the rest. In addition, the early species were more efficient and survived longer than the intermediate species, and even longer than the late species. These results suggest that facilitation, the addition of natural fertilizer, hydrogel, anti-herbivory protection and the use of early and intermediate species are key restoration tools to promote plant survival, establishment and persistence of native vegetation in Patagonian Monte.

## Índice

Resumen .....	4
Summary .....	7
Introducción general.....	122
Sitio de estudio .....	177
Especies focales .....	21
Capítulo 1	
Tratamientos germinativos de las especies nativas del Monte Patagónico: Recomendaciones para restaurar zonas degradadas .....	299
Resumen .....	3030
Introducción .....	322
Objetivo general .....	355
Hipótesis y predicciones.....	356
Materiales y métodos .....	377
Resultados .....	422
Discusión.....	533
Capítulo 2	
¿Cómo afecta el ganado doméstico a a diferentes parámetros reproductivos de las plantas nativas según el tipo sucesional de especies?.....	58
Resumen .....	59
Introducción .....	60
Objetivo general .....	63
Objetivos específicos .....	64
Hipótesis y predicciones.....	64
Materiales y métodos .....	69
Resultados .....	80
Discusión.....	98
Conclusión.....	1055
Capítulo 3	
¿Cómo afecta la herbivoría la diversidad genética de la vegetación del desierto?.....	107
Resumen .....	108
Introducción .....	110
Objetivo general .....	113
Objetivos específicos .....	113
Hipótesis y predicciones.....	114

Materiales y métodos .....	1155
Resultados .....	127
Discusión.....	134
Conclusión.....	138
Capítulo 4	
Herramientas de restauración ecológica teniendo en cuenta la variabilidad genética y la facilitación entre tipos sucesionales de especies .....	140
Resumen.....	141
Introducción .....	143
Objetivo general .....	147
Objetivos específicos .....	147
Hipótesis y predicciones.....	147
Materiales y métodos .....	149
Resultados .....	158
Discusión.....	1666
Conclusión.....	171
Discusión final .....	173
Bibliografía .....	177
Artículo de respaldo .....	223

## Introducción general

El sobrepastoreo causado del ganado doméstico introducido en áreas naturales es una de las principales causas de la desertificación, con importantes impactos ambientales y socioeconómicos de las regiones áridas, semiáridas y subhúmedas secas (Glantz y Orlovsky 1983, Reynolds et al. 2003, 2005, 2007, Maestre et al. 2009). El cambio ambiental global profundizada la desertificación a través de cambios en el clima, pérdida de biodiversidad y cambios en el uso de la tierra (Reynolds et al. 2003). Este proceso ocurre por la degradación de la capacidad productiva de la vegetación (Paruelo y Aguiar 2003, Adeel et al. 2005). Los ambientes áridos proporcionan servicios ecosistémicos esenciales para el sostenimiento de la vida humana y para el desarrollo de actividades productivas, tales como alimentos, ganadería y combustibles, entre otros (Paruelo y Aguiar 2003). Por este motivo se vincula la degradación de la tierra con la pérdida de bienestar humano, generando como meta restituir los servicios ecosistémicos que se han perdido (Adeel et al. 2005). El proceso de desertificación comienza cuando la cobertura vegetal disminuye y el suelo desnudo aumenta, erosionándose por fuertes vientos y causando pérdida de recursos (Borrelli and Oliva 2001, Carballo et al. 2010). El ramoneo y el pisoteo reducen la productividad y disminuyen la diversidad, abundancia y riqueza de especies vegetales causando extinciones locales, y generando cambios en la dinámica de sus comunidades (Paruelo y Aguiar 2003, Mazzoni y Vázquez 2010, Pelliza et al. 2021). Esta degradación puede generar una cadena de efectos indirectos sobre las especies asociadas a la vegetación (Tadey 2007). Así, la profundización de la desertificación por sobrepastoreo tiene consecuencias substanciales en los procesos ecológicos y genéticos de las poblaciones que merecen mayor investigación (Souto y Tadey 2018, Pelliza et al. 2020).

Los disturbios antrópicos pueden llegar a afectar no sólo la composición y estructura de las poblaciones sino también pueden tener consecuencias transgeneracionales, a través de impactos en la aptitud de las especies (Rusterholz et al. 2009). Por ejemplo, el ganado puede afectar la reproducción de las plantas que consume (McNaughton 1983a, Butler y Briske 1988, Noy-Meir y Briske 1996, Pol et al. 2014). El daño a las estructuras reproductivas y/o vegetativas provoca cambios fisiológicos y anatómicos que llevan a las plantas a disminuir la producción de flores y/o frutos (Trlica y Rittenhouse 1993, Lehtilä y Strauss 1997, Tadey 2007, Pol et al. 2014, Lázaro et al.

2016). La disminución o eliminación del tejido reproductor, fotosintético o de las inflorescencias reduce la asignación de los recursos disponibles para formar nuevas estructuras reproductivas, propagándose la disminución a lo largo del tiempo (McNaughton 1983a, Butler y Briske 1988, Noy-Meir y Briske 1996, Pol et al. 2014). Además, este efecto negativo del ganado sobre las plantas se puede propagar a la descendencia, disminuyendo su cantidad y/o la calidad (Charlesworth y Charlesworth 1987, Lehtilä y Strauss 1997, Mothershead y Marquis 2000, Edwards et al. 2005, Tadey 2007, Angeloni et al. 2011, Tadey y Souto 2016). De esta manera, el ganado puede conducir a una reducción del banco de semillas, de su capacidad germinativa y del establecimiento de nuevas plántulas; lo que termina afectando negativamente la posibilidad de revegetación natural (Sternberg et al. 2003, Edwards et al. 2005, Tadey 2007, Pol et al. 2014).

Junto con la pérdida de la biodiversidad y de servicios ecosistémicos ocurre la pérdida de diversidad genética, lo que afecta seriamente la capacidad de las poblaciones de evolucionar y hacer frente a los disturbios (Frankham 2005). Los impactos en las condiciones del hábitat, tanto por factores naturales como antrópicos, pueden afectar la diversidad genética de las poblaciones (Young et al. 1996, Lowe et al. 2005, Aguilar et al. 2008). Por ejemplo, el sobrepastoreo puede producir fragmentación y pérdida del hábitat, modificar la dinámica de las poblaciones naturales y las presiones de selección a las que están sometidas, alterando su diversidad y estructura genética, lo que en última instancia podría disminuir la aptitud de las plantas (Hobbs 2001, Kolb 2008, Heinken y Weber 2013). La reducción del tamaño efectivo poblacional (i.e., número de individuos adultos reproductores en una generación) producida por el consumo de flores y/o de individuos (ya sea por muerte o daño) podría resultar en una menor cantidad de individuos reproductores que contribuyan a la siguiente generación (Mulder 1999, Grant 2010). En las poblaciones pequeñas, generalmente, se pierden alelos por lo que se espera un aumento de la homocigosis (i.e., condición por la cual los alelos en un locus determinado son iguales) y una menor aptitud, con impactos en su fecundidad y viabilidad (i.e., depresión por endogamia, por apareamiento entre individuos estrechamente emparentados) (Heinken y Weber 2013). Asimismo, serán susceptibles de sufrir los efectos de la deriva génica (i.e., fluctuaciones aleatorias en las frecuencias de los alelos de una generación a la siguiente), que pueden resultar en pérdida de alelos por azar (Luikart y Cornuet 1998, Luikart et al. 1998, Piry et al. 1999). Se podrían

producir mayores reducciones en la diversidad genética si las poblaciones atraviesan cuellos de botella genéticos (i.e., drástica reducción del tamaño poblacional) y/o si las tasas de crecimiento poblacional son muy bajas (Luikart y Cornuet 1998, Piry et al. 1999). Además, el ganado puede interferir en la reproducción sexual, disminuyendo la diversidad genética que se transmite a su descendencia, ya que un menor entrecruzamiento en las poblaciones parentales conduciría a una menor diversidad genética en su progenie (Ågren 1996, Souto y Tadey 2018, Young et al. 1996, Leimu et al. 2006, De Vere et al. 2009, Angeloni et al. 2011). Una restricción del flujo genético repercute seriamente en la progenie y, en última instancia, la especie que podría verse afectada por procesos de divergencia, deriva génica y depresión por endogamia (Young et al. 1996, Hedrick y Kalinowski 2000, Couvet 2002, Leimu et al. 2006, Lanfear et al. 2014). De esta forma, al perderse diversidad genética, disminuirá la heterocigosis a largo plazo y/o la variación heredable en caracteres adaptativos, y por lo tanto, la capacidad de respuesta de las poblaciones a disturbios ambientales o antropogénicos (Cornuet y Luikart 1996, Hamrick y Nason 1996, Luikart y Cornuet 1998, Luikart et al. 1998, Williams 2001, Mathiasen et al. 2007, Frankham, R. Ballou, J.D. Briscoe 2015).

La teoría de sucesión ecológica postula que luego de un disturbio, ocurre un cambio en la composición de la vegetación a lo largo del tiempo, que estaría determinado por las características de las especies (Clements 1916, 1928, Gleason 1939, Connell y Slatyer 1977). Los rasgos morfo-fisiológicos, las historias y forma de vida de las especies les otorgan distintas funciones en el proceso de sucesión ecológica y determinan sus respuestas a los disturbios (Bazzaz 1979, Zamora et al. 2004). Después de un disturbio empiezan a establecerse aquellas especies de plantas que poseen altas tasas de germinación, crecimiento, reproducción y dispersión de semillas y con ciclos de vida cortos. Estas especies se denominan especies colonizadoras, ya que sus características les permiten colonizar rápidamente los sitios desnudos (Bazzaz 1979, Zamora et al. 2004, Beider et al. 2013). En las etapas de sucesión más avanzadas, comienzan a dominar las llamadas especies tardías, con mayor capacidad competitiva pero de bajas tasas de germinación, crecimiento lento y con bajas, o menores, tasas de reproducción (Bazzaz 1979, Rees et al. 2001). Entre ambas etapas aparecen las especies intermedias, con características intermedias (Zobel 1989, Kazakou et al. 2006, Pelliza et al. 2021a). Dado que las plantas han desarrollado diferentes respuestas para persistir al estrés ocasionado por disturbios, se espera que estas diferentes características les

proporcionen distintas tolerancias al pastoreo (Noy-Meir 1973, Saiz y Alados 2012, Flores et al. 2013, Chen et al. 2015). Por lo tanto, evaluar las especies según su función en la sucesión ecológica podría brindar información relevante para la recuperación de los ambientes áridos disturbados (Walker et al. 2007, Pelliza et al. 2021a).

Los ambientes áridos, como el Monte Patagónico, son sistemas frágiles y sensibles al pastoreo (Tadey 2006, 2007). Los ecosistemas áridos abarcan casi el 40% del área continental de Argentina, y la Patagonia presenta aproximadamente un 93 % de su superficie en riesgo de desertificación con un avance del orden del 3,8 % anual (Dorcasberro 2004, Guevara et al. 2006, INTA 2011). Estos ecosistemas áridos reciben aportes hídricos poco frecuentes, discretos y la disponibilidad de agua controla la mayoría de los procesos biológicos, determinante del tipo vegetación y, probablemente, de su respuesta a las condiciones de estrés y disturbios (Noy-Meir 1973b). Por lo tanto, la vegetación de zonas áridas se caracteriza por formas de vida xerofíticas con tasas de crecimiento lentas y baja reproducción vegetativa, dependiendo principalmente de la reproducción sexual para persistir en el tiempo (Fisher y Turner 1978). Con la introducción del ganado exótico se rompe el equilibrio preexistente entre la oferta de forraje nativo y la fauna autóctona de la región (Oesterheld et al. 1998). Estos sistemas, cuya renta fue el motor de la colonización de la Patagonia, se basaban en el uso de tierras fiscales sin contemplar un uso sustentable de los recursos naturales y en un contexto de débil presencia de control por parte del Estado (Oesterheld et al. 1998). Aunque se sabe que las prácticas de rotación y trashumancia podrían mitigar el efecto del pastoreo (Baied 1989, Baldi et al. 2008, Root-Bernstein et al. 2017), estas herramientas de manejo son poco frecuentes en la Patagonia extra-andina (Olea y Mateo-Tomás 2009, Auffret et al. 2015, García-Fernández et al. 2019). Como consecuencia de ello, se observa una grave degradación ambiental en la mayor parte de las tierras secas patagónicas (Ares et al. 2003). La reducción de la cobertura, riqueza y abundancia de especies de ambientes áridos pone de manifiesto la necesidad de prevenir la degradación irreversible causada por el sobrepastoreo (Pelliza et al. 2021a). Por lo tanto, estos ambientes son muy vulnerables y sumamente difíciles de recuperar o restaurar, aún si el agente causante de la perturbación ha sido removido del ambiente (Bainbridge 2007).

Para mitigar o recuperar ambientes degradados, en particular en las regiones ecológicamente frágiles, se podrían utilizar diferentes técnicas de restauración ecológica

(Jiang et al. 2018). En general, los ambientes áridos degradados presentan una gran complejidad para la restauración debido a la lentitud de su dinámica poblacional (Noy-Meir 1973a, Del Valle et al. 1998). Ante esto, la restauración ecológica es una actividad que inicia o acelera la recuperación de ecosistemas degradados con respecto a su salud, integridad y sustentabilidad (Society for Ecological Restoration 2004). Actúa reservando y manejando los recursos naturales remanentes, para reincorporarlos a la cadena de bienes y servicios que la sociedad requiere (Aronson et al. 2007, Rovere y Masini 2013). Dentro de las técnicas de restauración ecológica activa, la recuperación de la cobertura vegetal (i.e., revegetación), es la principal medida preventiva para combatir la desertificación por sobrepastoreo (Cortina et al. 2004). Para acelerar la recuperación es conveniente utilizar especies nativas, ya que están adaptadas a las condiciones ambientales y no requieren el aporte extra de energía (Westoby et al. 1989, Dalmaso et al. 2002). La reintroducción de estas plantas producidas en invernaderos es una de las estrategias más utilizadas, por lo que obtener dichas plántulas a partir de semillas es una importante alternativa (Bainbridge 2007, Pérez et al. 2009, González y Pérez 2013). Para implementar adecuadamente éstas técnicas, es necesario conocer los requisitos de germinación de las especies, así como los procesos y factores ambientales que controlan la germinación. Esto se debe a que muchas especies presentan mecanismos de dormición, requiriendo tratamientos pregerminativos para romper su latencia, y así asegurar su germinación rápida (Schmidt 2000, Varela y Arana 2011, Masini et al. 2012, Camina et al. 2013). Este tipo de información es insuficiente para las especies del Monte Patagónico, así como los efectos del ganado sobre su germinación. Por otra parte, las consecuencias genéticas de la reducción de los tamaños poblacionales han sido tema de gran interés en conservación y restauración, siendo la variabilidad genética uno de los tres niveles de biodiversidad recomendada por la Unión Mundial para la Naturaleza (IUCN) para la conservación y restauración de ecosistemas (Reed y Frankham 2003). Aunque, la existencia de variación genética y su influencia en el éxito de la reintroducción de especies vegetales son fundamentales para el éxito de la restauración ecológica (Falk et al. 2001). En la actualidad son escasas las prácticas de manejo y restauración que tienen como objetivo primordial restablecer los procesos ecológicos, considerando la existencia de variación genética de las especies sometidas a disturbios (Thomas et al. 2014). En base a lo desarrollado, en ésta tesis se evaluarán distintos tratamientos germinativos en diez especies nativas (Capítulo 1), el efecto del ganado sobre su reproducción y germinación (Capítulo 2), sobre su diversidad genética



(Capítulo 3), según los tipos sucesionales de especies nativas (colonizadoras, intermedias y tardías), y teniendo en cuenta la variabilidad genética de una especie colonizadora y otra intermedia, se evaluarán distintas estrategias de restauración ecológica (Capítulo 4) en áreas del Monte Patagónico degradadas por sobrepastoreo.

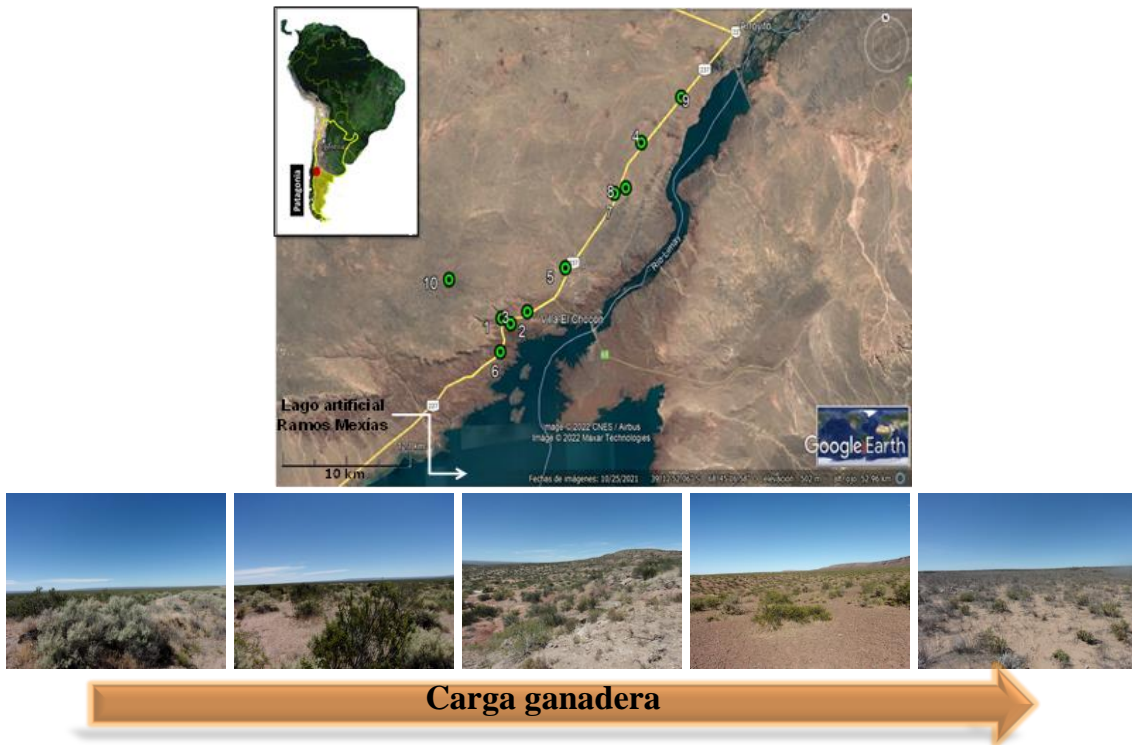
## Sitio de estudio

El área de estudio se encuentra al noroeste de la Patagonia Argentina, en la provincia de Neuquén, entre Arroyito (39° 05' S, 68° 35' O) y Villa El Chocón (39° 17' S, 68° 55' O). La vegetación pertenece a la provincia fitogeográfica del Monte (Cabrera, 1966). Este hábitat es la mayor región seca de Sudamérica, con una alta tasa de evaporación potenciada por los fuertes vientos del oeste, las escasas precipitaciones y las altas temperaturas estivales (Paruelo et al. 1998, Abraham et al. 2009, Busso y Fernández 2017), por lo que esta región es considerada una zona xérica ya que posee un índice de aridez (i.e., precipitación media anual/evapotranspiración potencial) de alrededor de 0.15 (Le Houérou 1996, Paruelo et al. 1998, Tadey 2006). La precipitación media anual es de 180 mm y la temperatura media anual ronda los 15°C (Villagra y Roig 2002, Tadey 2006), con una mínima absoluta de -12.8 °C, durante el invierno, y una máxima absoluta de 42.3 °C, en verano (AIC, Estación Meteorológica de "El Chocón"), con lluvias distribuidas a lo largo del año, lo que provoca un fuerte déficit estival (Leon et al. 1998, Paruelo et al. 1998). La vegetación está dispersada en parches de vegetación y está dominada por *Prosopis alpataco* y dos especies de *Larrea* (*L. divaricata* y *L. cuneifolia* Cav.), asociadas a otras especies arbustivas xerofíticas abundantes como *Atriplex lampa* Gill. ex Moq, *Bougainvillea spinosa* (Cavanilles) Heimerl, *Monttea aphylla* (Miers.) Hauman y *Chuquiraga erinacea* D. Don (Cabrera 1966). Cabe destacar que en esta región, las hierbas y los pastos representan sólo el 6% de la cobertura vegetal total (Tadey 2006).

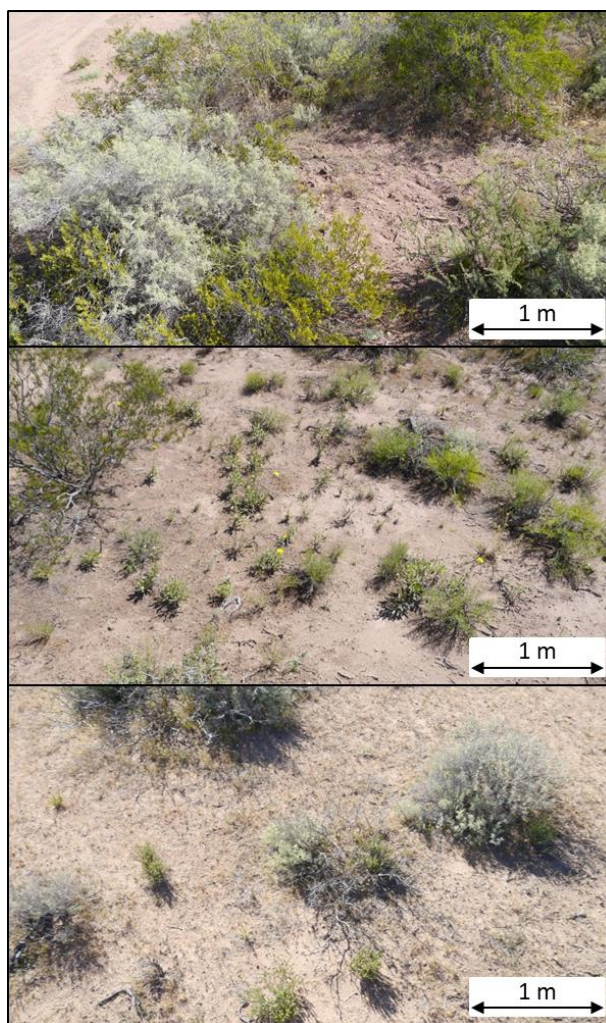
Los campos ganaderos estudiados están ubicados en la misma región a lo largo de la Ruta Nacional Argentina 237, compartiendo el mismo tipo de ambiente, teniendo la misma orientación NO y con una distancia máxima entre ellos de 42 km (Figura 1). Dichos campos no están cercados, su superficie varía entre 94 y 25.000 hectáreas y no hay agua en ellos. Estos campos son explotados por pequeños propietarios rurales, y

están sometidos a pastoreo continuo durante todo el año, sin estar sujetos a rotación u otras prácticas de manejo. Debido a que predominan los arbustos, ya que los pastos y las hierbas son escasos, el ganado acaba ramoneando las especies vegetales disponibles para satisfacer sus necesidades nutricionales (Tadey, 2006). Además, difieren en la composición de grandes herbívoros exóticos y en su historial de pastoreo. La información sobre la abundancia de herbívoros fue proporcionada por los propietarios de los campos. Dado que los campos tienen diferentes proporciones de caballos, cabras, ovejas y vacas, y para compararlos, se transformaron las diferentes densidades de ganado en unidades equivalentes a “vacas”. Además, para lidiar con las diferencias de superficies de cada campo, las unidades ganaderas se dividieron por la superficie (en hectáreas) de cada campo. Para considerar la historia de pastoreo de cada campo se multiplicó la división anterior por los años que cada campo estuvo sometido a pastoreo. Para ello, se consideró que 1 caballo equivale a 1.25 vacas, 1 chivo a 0.17 vacas y 1 oveja a 0.30 vacas, siguiendo la metodología internacional propuesta por Vallentine (2001). Así las cargas ganaderas de los campos estudiados variaron entre 0.06 a 1.63 ganado x años x ha<sup>-1</sup>, y a cada campo le corresponde una carga ganadera. Estudios anteriores en ésta área mostraron que las cargas ganaderas evaluadas están positiva y fuertemente asociadas al porcentaje medio de ramoneo ( $R^2 = 0.96$ ;  $P = 0.0006$ ) y a la densidad de bosteos ( $R^2 = 0.66$ ;  $P = 0.049$ ), mientras que están negativamente asociadas a la cobertura vegetal ( $R^2 = 0.98$ ;  $P = 0.04$ ), a la densidad ( $R^2 = 0.98$ ,  $P = 0.02$ ) y a la riqueza ( $R^2 = 0.97$ ,  $P = 0.04$ ). Además, un estudio previo en los mismos campos mostró que el contenido de nutrientes del suelo desnudo (carbono, nitrógeno y fósforo) no se correlaciona con la carga ganadera (todos los valores  $P > 0.40$ ) (Tadey 2006). Por lo tanto, los campos ganaderos aunque variables, son similares en cuanto a nutrientes del suelo, fisonomía vegetal y características ambientales (clima y relieve).

**Figura 1.** Mapas del área de estudio junto con fotos de los campos ganaderos. Ubicación de los campos ganaderos (puntos verdes con el número del campo) en el Desierto del Monte Patagónico, provincia de Neuquén, Patagonia, Argentina. El número de los campos ganaderos representa el orden de aumento de la carga ganadera (de 0.06 (1) a 1.6 ganado x año x ha<sup>-1</sup> (10)). Imagen modificada de Google Earth. Fotos generales de los campos ganaderos a medida que aumenta la carga ganadera.



**Figura 2.** Imagen de los campos ganaderos. a. Ejemplo de una imagen de un nivel de carga ganadera baja. b. ejemplo de una imagen de un nivel de carga ganadera intermedia. c. ejemplo de una imagen de un nivel de carga ganadera alta.



**Tabla 1.** Detalles de los campos ganaderos estudiados. Se incluye el nombre del campo, el área del campo (en hectáreas, ha), la composición de herbívoros, la historia de pastoreo (número de años usados para la cría de ganado) y la carga ganadera (vacas x año x ha<sup>-1</sup>) modificado de Vallentine (2001), donde los equivalentes a unidades de vacas eran: 1 caballo = 1.25 vacas; 1 chivo= 0.17 vacas; 1 oveja = 0.3 vacas.

Nombre	Área (ha)	Composición de herbívoros	Historia de pastoreo	Carga ganadera según Vallentine
MB	25000	Vacas y caballos	30	0.060
BU	7500	Caballos	30	0.075
C1	94	Caballos y ovejas	10	0.107
CA	94	Vacas, caballos, chivos y ovejas	30	0.117
GUE	3500	Vacas y caballos	10	0.132

LP	4500	Vacas, chivos y ovejas	10	0.212
AMO	550	Vacas, chivos y ovejas	10	0.631
ADA	970	Vacas y caballos	10	0.696
HL	7500	Vacas, caballos y chivos	30	0.924
MA	5000	Vacas, caballos y ovejas	30	1.632

## Especies focales

Como especies focales se utilizaron especies vegetales representativas y abundantes de la vegetación dominante de la región del Monte, con diferentes grados de palatabilidad para el ganado y todas presentes en los campos ganaderos de manera independiente a la carga ganadera. Las especies se clasificaron según el tipo sucesional de especies. Como especies colonizadoras, con menores ciclos de vida, altas tasas de crecimiento y reproducción (Tabla 1), se estudiaron a *Atriplex lampa* (Gandullo et al. 1998; Villagra et al. 2011; Zuleta & Escartín 2014b), *Grindelia chilensis* (González 2010; Masini 2011; Beider et al. 2013), *Gutierrezia solbrigii*, *Hyalis argentea* (Gandullo et al. 2016; Zuleta & Escartín 2014a) y; como especies intermedias, con ciclos de vida, tasas de crecimiento y reproducción intermedios entre colonizadoras y tardías, *Chuquiraga erinacea*, *Senna aphylla* y *Prosopis alpataco* (Zuleta & Escartín 2014b). Las especies tardías, con ciclos de vida más largos, bajas tasas de crecimiento y reproducción (Tabla 1) fueron *Larrea divaricata* (Dalmaso 2010; Zuleta & Escartín 2014b), *L. cuneifolia* (Dalmaso 2010) y *Monttea aphylla* (Castro et al. 2013).

**Tabla 1.** Características de los tipos sucesionales de especies. Clasificación según el tipo sucesional de especies (i.e., colonizadoras, intermedias y tardías), las especies que incluye cada una, la forma de vida, el crecimiento, reproducción, germinación (bajos, intermedios o altos) y las referencias bibliográficas que las describen según el tipo sucesional de especies.

Tipo de especie	Especie	Forma de vida	Crecimiento	Reproducción	Germinación	Bibliografía
Colonizadoras	<i>Atriplex lampa</i>	Arbusto bajo	Rápido	Alta	Alto y escasa latencia	Gandullo et al. 1998; Villagra et al. 2011; Cerda et al 2012; Zuleta & Escartín 2014b; Tadey & Souto 2016; Pelliza et al 2021; Pelliza el at 2022 (en prensa)
	<i>Grindelia chilensis</i>	Arbusto bajo	Rápido	Alta	Alto y escasa latencia	González 2010; Masini 2011; Cerda et al 2012; Beider et al. 2013; Tadey & Souto 2016; Pelliza et al 2021; Pelliza el at 2022 (en prensa)
	<i>Gutierrezia solbrigii</i>	Arbusto bajo	Rápido	Alta	Alto y escasa latencia	Tadey & Souto 2016; Cerda et al 2012; Pelliza et al 2021; Pelliza el at 2022 (en prensa)
	<i>Hyalis argentea</i>	Subarbus to bajo	Rápido	Alta	Alto y escasa latencia	Zuleta & Escartín 2014a; Gandullo et al. 2016; Pelliza el at 2022 (en prensa)
Intermedias	<i>Prosopis alpataco</i>	Arbusto grande	Intermedio	Intermedio	Intermedia y baja latencia	Zuleta & Escartín 2014b; Pelliza et al 2020; Pelliza et al 2021; Pelliza el at 2022 (en prensa)
	<i>Senna aphylla</i>	Arbusto bajo	Intermedio	Intermedio	Intermedia y baja latencia	Pelliza et al 2021; Pelliza el at 2022 (en prensa)
	<i>Chuquiraga erinacea</i>	Arbusto mediano	Intermedio	Intermedio	Intermedia y baja latencia	Pelliza et al 2021; Pelliza el at 2022 (en prensa)
	<i>Larrea divaricata</i>	Arbusto grande	Bajo	Bajo	Baja y alta latencia	Dalmasso 2010; Zuleta & Escartín 2014b; Tadey & Souto 2016; Pelliza et al 2021
Tardías	<i>Larrea cuneifolia</i>	Arbusto grande	Bajo	Bajo	Baja y alta latencia	Dalmasso 2010; Tadey & Souto 2016; Pelliza et al 2021; Pelliza el at 2022 (en prensa)
	<i>Monttea aphylla</i>	Arbusto grande	Bajo	Bajo	Baja y alta latencia	Castro et al. 2013; Tadey & Souto 2016; Pelliza et al 2021; Pelliza el at 2022 (en prensa)

## Descripción de las especies focales

*Atriplex lampa* (Gillies ex Moquin) D. Dietrich, familia: *Chenopodiaceae*. Es un arbusto endémico de Argentina, de amplia distribución en la provincia fitogeográfica del Monte, se encuentra desde las provincias de Córdoba y Mendoza hasta Chubut, pasando por las provincias biogeográficas Chaqueña, Del Espinal, Del Monte, Patagónica, Prepuneña y Puneña (Cabrera 1953, Mantovan y Candia 1995, Brignone et al. 2016). Crece entre 800-2000 m.s.m., en suelos arenosos y con elevada salinidad (Abalos 2016). Su altura promedio es de aproximadamente 1.5 m (Gruneisen 1996). Es un arbusto ceniciento o amarillento y densamente ramoso (Abalos 2016). Las flores son pequeñas de 1 mm sin corola, las masculinas con cáliz de 3 a 5 sépalos, las femeninas, en racimos terminales, se encuentran entre dos brácteas que a la madurez aumentan de tamaño y rodean al fruto (Gruneisen 1996, Abalos 2016). Las hojas perennes, algo carnosas, muy dentadas de hasta 3 cm de largo, son subsésiles o pecioladas, oblongas pinnatipartidas, plegadas sobre el nervio central y con el eje arqueado (Abalos 2016). El fruto es un utrículo encerrado en dos brácteas papiráceas, romboidales, de color verde a amarillento, de 5-12 mm, el cual lleva una semilla (Abalos 2016). Su floración se extiende de septiembre a noviembre (Gruneisen 1996) y fructifica de octubre a enero (Abalos 2016). *A. lampa* es una especie dioica, autoincompatible, polinizada por viento (anemófila) y con dispersión de semillas por viento (Tadey 2007). El género *Atriplex* ocupa un importante lugar entre las quenopodiáceas arbustivas de las regiones áridas del mundo (Mantovan y Candia 1995), e incluye 55 especies, de las cuales 45 son nativas, distribuidas principalmente en Argentina y Chile, y 10 son especies adventicias (Brignone et al. 2016). Las especies de *Atriplex* pueden ser utilizadas como forraje, mostrando características interesantes como un alto contenido proteico y resistencia a la sequía (Colomer and Passera 1990, Mantovan y Candia 1995, Brignone et al. 2016).

*Grindelia chiloensis* (Corn.) Cabrera, familia: *Asteracea*. Se distribuye en las regiones secas, rocosas o arenosas del sur de la provincia fitogeográfica del Monte y en toda la Patagonia, se extiende desde la provincia de San Juan hasta la de Santa Cruz (Cabrera 1953, Roitman 1995). Es un arbusto sufrútice de 30-100 cm de altura, ramoso en la base, con tallos ascendentes, glabros, glutinosos, densamente hojosos en la base (Gruneisen 1996). Las hojas son oblanceoladas u obovadas, agudas atenuadas en la base en un corto pseudopecíolo, enteras, con márgenes aserrados, glabras y glutinosas, que

miden de 3.5-10 cm x 0.7-2.5 cm (Tadey 2007, Abalos 2016). Las flores amarillas se disponen en capítulos solitarios dispuestos en el ápice de las ramas, de 6 cm de diámetro, son de color amarillas y dimorfas (i.e., las flores femeninas son liguladas y las del disco son hermafroditas y tubulosas) (Tadey 2007, Abalos 2016). Los frutos son aquenios oblongos, algo comprimidos y glabros (Gruneisen 1996). Un carácter llamativo es la presencia sobre los botones florales de un líquido resinoso que los cubre, que aparentemente evita la desecación de los mismos (Quintana 2015). Su floración se extiende desde octubre hasta febrero (Tadey 2007, Abalos 2016).

*Gutierrezia solbrigii* (Cabrera), familia: *Asteraceae*. Es una especie endémica de Argentina, frecuente en Patagonia, que se distribuye en las provincias de Mendoza, La Pampa, Neuquén, Río Negro y Chubut hasta los 2000 m s.n.m (Cabrera 1953, 1971, Gruneisen 1996). Es un arbusto pequeño y bajo (de 15-30 cm de altura), con tallos leñosos ascendentes, ramosos, glabros, glutinosos y laxamente hojosos (Gruneisen 1996). Sus hojas son alternas coriáceas, sésiles, lineales u oblanceoladas-lineales, agudas en el ápice, atenuadas en la base, glabras y glutinosas en ambas caras (Tadey 2007). Los capítulos son pedunculados y forman numerosos cimas corimbiformes y laxas (Tadey 2007). Las flores marginales son generalmente blancas, femeninas y liguladas, con un tubo laxamente velludo (Tadey 2007). Mientras que las flores del disco son hermafroditas, con corola tubulosa, los aquenios son turbinados, densamente seríceo-velludos (Correa 1969).

*Hyalis argentea* D. Don ex Hook. & Arn, familia: *Asteraceae*. Es una especie endémica de Argentina; su distribución se limita a suelos arenosos en las provincias de La Pampa, Córdoba, San Luis, Mendoza, Neuquén, Río Negro, Buenos Aires y Chubut (Snow 2009, Camina et al. 2019). Es un subarbusto robusto, plateado, rizomatoso, perenne, de 0.5-1 m de altura (Dalmaso 2010, Abalos 2016). Tallo erecto, ramoso, densamente hojosos, cubiertos por pelos incoloros (Abalos 2016). Hojas ovadas a lineal lanceoladas, trinervadas, cubiertas por pelos incoloros, que miden 4-12 cm x 0.4-1 cm (Abalos 2016). Flores contenidas en capítulos dispuestos en el ápice de los tallos, compuestos por 5-6 flores violáceas, cuatro o cinco flores de rayos bilabiados y una flor de disco tubular pentasecta (Abalos 2016). El estilo es bilabiado, sin pelos de barrido y el aquenio tiene un papo con cerdas heterogéneas (Cabrera 1963, Torres y Galetto 2007, Roque y Funk 2013, Camina et al. 2019). Es una especie autoincompatible que florece de noviembre a febrero (Camina 2011, Camina et al. 2013, 2019, Abalos 2016). Fruto



seco, velludo, con papus blanco, con numerosas cerdas, de 1.2 cm de largo, que les permiten ser llevadas por el viento que fructifica desde diciembre a febrero (Abalos 2016).

*Prosopis alpataco* var. *alpataco*, Familia: *Fabaceae*. Esta especie es endémica de Argentina y habita desde los 30 hasta los 42°S de latitud sur (Burkart 1976, Villagra y Roig 2002, Cariaga et al. 2005). Se caracteriza por ser un arbusto espinoso que forma manchones circulares de hasta 10 m de diámetro y 3 m de altura, sus ramas basales están siempre enterradas, mientras que las secundarias son arqueadas reflexas y aéreas (Burkart 1976, Correa 1984, Villagra y Roig 2002). *P. alpataco* es una especie autoincompatible (Harris 2003), polinizada por insectos y tiene racimos florales densos y amarillentos, con un elevado número medio de flores por inflorescencia (es decir,  $131 \pm 5$  flores) y presenta una elevada mortalidad de las flores entre la tesis y la producción de semillas, con una media de  $28.4 \pm 1.3$  (% de flores  $\times 0.40 \text{ m}^2$ ) (Chiappa et al. 1997, Cariaga et al. 2005), por lo que el número máximo de vainas por inflorescencia que se suele formar está entre 6 y 10 (obs. pers.). Cada flor puede producir una legumbre nutritiva, de sabor dulce, de color amarillo pálido a violáceo, de 7-17 cm de largo y 0.6-1.2 cm de ancho y 5 mm de espesor, con mesocarpio escaso y amargo y semillas elipsoides (Burkart 1976, Correa 1984, Villagra y Roig 2002, Agüero 2009). La productividad de frutos por individuo varía entre 0 y 4 kg (Riveros et al. 2011), lo que complica la estimación del número total de flores y frutos por planta. Las semillas presentan latencia física impuesta por la cubierta seminal dura e impermeable (Villagra 1995). Es un arbusto altamente consumido por el ganado y una especie clave en la vegetación del Desierto del Monte (Villagra y Roig 2002, Catalano et al. 2008). En zonas áridas de Argentina, las semillas de *Prosopis* son dispersadas por mamíferos nativos y no nativos a través de la endozoocoria (Campos et al. 2011). Este tipo de latencia permitiría la asincronía temporal y espacial de la germinación, lo que representa una ventaja en ambientes secos imprevisibles y una adaptación a la dispersión endozoica de las semillas (Riveros et al. 2011). El género *Prosopis* comprende 45 especies, entre arbustos y árboles que son importantes recursos ecológicos, genéticos y económicos en ecosistemas áridos, particularmente conocidos por producir madera dura y sus semillas son una importante fuente de alimento para humanos y animales, siendo también un elemento clave para las prácticas de restauración (Silva et al. 2000, Pasiecznik et al. 2001, Mazzuca y Balzaretto 2003, Bessega et al. 2005, Ferreyra et al.

2007, González Galán et al. 2008, Villagra et al. 2010, William y Jafri 2016, Boeri et al. 2017, Moncada et al. 2019). *Prosopis* sp. son un componente clave del hábitat, alterando las condiciones ambientales bajo sus copas, actuando como especies "nodrizas", ya que potencian la formación de "islas de fertilidad" a través de la acumulación de materia orgánica por el matorral caído y potenciando el reciclaje de nutrientes por su interacción simbiótica con el microorganismo del suelo (Pugnaire et al. 1996, Fredericksen et al. 2000, Rossi y Villagra 2003a, Agüero 2009, Villagra et al. 2010, Riveros et al. 2011). *Prosopis* es un grupo filogenéticamente antiguo y tiene una distribución mundial, siendo Argentina el país con mayor número de especies (28) con 13 endémicas (Burkart 1976) y 8 que ocurren en la Patagonia (Correa 1984).

*Chuquiraga erinacea* D. Don, Familia: *Asterácea*. es un especie endémica de Argentina, crece desde Jujuy hasta el norte de Chubut, a lo largo de la provincia fitogeográfica del Monte, y se extiende hasta la Prepuna, norte de la Patagonia y Sur del Espinal, encontrándose entre 0-4000 m.s.m. (Abalos 2016, Forcone 2018). Habita en suelos arenosos o pedregosos y en terrenos salitrosos con vegetación xerófila (Forcone 2018). Es un arbusto muy espinescente de 40 a 150 cm de altura, ramoso y densamente hojoso. Las hojas son sésiles, de color verde claro, de forma aguda punzante, acanaladas en el haz, dispuestas muy próximas entre sí, alternas, divergentes del tallo, de 5 a 15 mm de longitud (Abalos 2016, Forcone 2018). Las flores son amarillas-anaranjadas, con corola tubulosa y se encuentran agrupadas en capítulos, involucre cónico con brácteas lanceoladas, dispuestos en el extremo de ramitas cortas (Abalos 2016, Forcone 2018). El número de flores por capítulo varía entre 5 y 10 (Abalos 2016, Forcone 2018). El fruto es seco, un aquenio velludo, con papus casi tan largo como la corola que le permite ser llevado por el viento (Abalos 2016, Forcone 2018). Florece desde noviembre hasta marzo (Forcone 2018).

*Senna aphylla* (Cav.) H.S. Irwin & Barneby, Familia: *Fabácea*. Es una especie nativa, característica de la provincia fitogeográfica del Monte, tiene amplia distribución en Argentina, desde Salta a Chubut, y se la encuentra también en Bolivia, crece desde entre 0-2000 m.s.m. (Abalos 2016, Forcone 2018). Es un arbusto bajo áfilo, muy ramoso desde la base, de 0.40 a 1.50 m de altura (Abalos 2016, Forcone 2018). Posee ramas lisas, glabras, verdes, flexuosas y a veces espinosas, con nudos bien marcados de hasta 4 mm de diámetro (Abalos 2016, Forcone 2018). Las hojas se hallan reducidas a escamas triangulares persistentes (Abalos 2016, Forcone 2018). Las flores solitarias o

en racimos, se disponen en el extremo de las ramas, son amarillo-anaranjadas y presentan 5 pétalos ovoidales amarillo oro, de 8 a 17 mm (Abalos 2016, Forcone 2018). Florece desde septiembre hasta abril (Abalos 2016). Su fruto es una legumbre o vaina comprimida, glabra, levemente arqueada o recta, de 4-11 cm x 5 mm, que se abre a la madurez (Abalos 2016, Forcone 2018). Semillas romboidales, grises comprimidas, de hasta 5 mm, separadas entre sí por subdivisiones membranosas (Abalos 2016). Con fruto maduro desde diciembre hasta abril (Abalos 2016).

*Larrea divaricata* Cavanilles, familia: *Zygophyllaceae*. Esta especie se distribuye desde México hasta la Patagonia, en la región seca del oeste de Argentina, desde Salta hasta Chubut, entre 500-2300 m.s.m. (Cabrera 1953, Gruneisen 1996, Abalos 2016). Es un arbusto resinoso, ramoso, de tronco corto y ramificado desde la base, de hasta 5 m de alto, de ramas leñosas, finas, con muchos nudos, jóvenes pubescentes (Abalos 2016). Las hojas resinosas, de color verde claro y de 7-15 mm, poseen dos folíolos subsésiles con un pequeño mucrón central (Abalos 2016). Sus folíolos están poco soldados y son divergentes, oblongo- agudos y pubescentes (Abalos 2016). Las flores son solitarias con 5 sépalos y 5 pétalos color amarillo, pedunculadas con estambres desiguales, y duran aproximadamente 3 o 4 días (Rossi et al. 1999, Abalos 2016). Los pétalos se ubican formando una hélice y miden 8-11 mm (Abalos 2016). El fruto es un esquizocarpo, de 7 mm de largo, separable en cinco mericarpos en gajos, con semillas lisas (Correa 1969, Gruneisen 1996, Rossi et al. 1999, Abalos 2016). La floración comienza en septiembre y el pico de floración es en noviembre (Rossi et al. 1999), mientras que en diciembre ya hay formación de frutos (Gruneisen 1996, Rossi et al. 1999).

*Larrea cuneifolia* Cavanilles, familia: *Zygophyllaceae*. Es una especie endémica d Argentina, se distribuye en el oeste del país, desde Salta hasta Chubut, entre 500-3000 m.s.m., siendo una de las plantas más características de la provincia fitogeográfica del Monte (Cabrera 1953, Gruneisen 1996, Abalos 2016). Es un arbusto resinoso, ramoso, de tronco corto y ramificado desde la base, de aproximadamente 0.5-3 m de altura, con tallos leñosos y ramas jóvenes pubescentes con muchos nudos (Gruneisen 1996, Abalos 2016). Sus hojas son subsésiles, resinosas, opuestas, de color verde oscuro, de 5-13 mm, dos-foliadas y poseen un tercer folíolo en forma de mucrón filiforme (Gruneisen 1996, Abalos 2016). Los folíolos están soldados en casi toda su longitud, son asimétricos, adpreso-pubescentes en ambas caras y agudos (Gruneisen 1996, Abalos 2016). Posee

flores solitarias con 5 sépalos y 5 pétalos de color amarillo, los pétalos se ubican formando una hélice y miden 7-9 mm, pedunculadas, con estambres desiguales (Abalos 2016). Los frutos miden 7 mm de largo, son pubescentes separables en cinco cocos en forma de gajos, con una semilla cada uno (Abalos 2016). Las semillas son lisas y con forma de riñón. La floración comienza a principios de octubre, el pico de floración es en noviembre y la fructificación es en noviembre-diciembre (Gruneisen 1996, Rossi et al. 1999).

*Monttea aphylla* (Miers) Benth et Hooker, familia: *Scrophulariaceae*. Es un arbusto endémico de Argentina, característico de la provincia fitogeográfica del Monte, en la parte central de Argentina y en el norte de Patagonia, de entre 0-1500 m.s.m., hallándose en suelos arenosos y ripiosos desde Salta hasta Chubut (Tadey 2007, Abalos 2016). Es un arbusto ramoso, áfido que sólo posee hojas pequeñas que caen tempranamente, y que puede medir hasta 3 m de alto (Tadey 2007, Abalos 2016). Las ramas son cilíndricas, erectas e intrincadas, de color verde oscuro, de corteza muy lisa y brillante por la cera que las cubre, y a veces terminan en puntas espinosas (Tadey 2007, Abalos 2016). Presenta flores color azulada a violeta, corona tubular de 5 pétalos de 2 cm de largo, hermafroditas, que pueden ser axilares (Tadey 2007, Abalos 2016). El período de floración se extiende de octubre a diciembre (Tadey 2007). Posee un fruto recubierto por el cáliz de la flor el cual es carnoso y amarillo verdoso, de sabor amargo a agrio (Tadey 2007, Abalos 2016). El fruto es un carozo central, de 1 cm, que contiene una sola semilla (Abalos 2016). Fructifica a fines de la primavera y en verano (Abalos 2016).

## Capítulo 1

### Tratamientos germinativos de las especies nativas del Monte Patagónico: Recomendaciones para restaurar zonas degradadas



## Resumen

Conocer los requerimientos germinativos de especies nativas es clave para desarrollar programas adecuados de restauración ecológica en áreas degradadas. Además, el conocimiento sobre procesos y factores ambientales que controlan la germinación permite comprender la dinámica temporal de las comunidades de plantas. Luego de un disturbio esas dinámicas temporales cambian originándose lo que se conoce como sucesión ecológica, donde la composición florística va cambiando con el tiempo a medida que el espacio es recolonizado por las especies. Así, las primeras especies en llegar se denominan especies colonizadoras, que con su actividad biológica dan lugar al establecimiento de especies intermedias y luego a las tardías. Por lo tanto, en este capítulo se evaluaron los requerimientos de germinación de diez especies nativas del Monte Patagónico clasificadas por su rol en la sucesión ecológica (i.e., colonizadoras, intermedias y tardías). Bajo la hipótesis que hay especies oportunistas, que poseen estrategias de germinación rápida que les permite colonizar u ocupar rápidamente áreas altamente disturbadas (i.e., colonizadoras), mientras que, en estadios posteriores de la sucesión ecológica, se establecen especies cuya germinación depende de condiciones ambientales favorables, por lo que sus semillas poseen mecanismos de latencia que les permiten sobrevivir a las condiciones adversas, estas son las llamadas especies tardías. Entre estadios tempranos y tardíos de la sucesión ocurre el establecimiento de especies con características intermedias, que pueden tener o no latencia. Se predice que las especies colonizadoras no requerirán tratamientos germinativos o requerirán tratamientos simples, presentando igual o mayor porcentaje de germinación y menor tiempo de germinación en el tratamiento control respecto de los tratamientos germinativos. Mientras que las especies intermedias y, más aún, las tardías tendrán mayor porcentaje de germinación y menor tiempo de germinación bajo los tratamientos germinativos que en el control, siendo mayor y más rápido en el tratamiento que corresponda al tipo de latencia de cada especie (física, fisiológica, morfológica o combinaciones de latencias). Para llevar a cabo esto, se sembraron semillas de diez especies en placas de Petri en cámaras de germinación que se sometieron a diferentes tratamientos con el fin de determinar las condiciones que mejoran las tasas de germinación de las distintas especies (C = control; E = escarificación física; F = estratificación fría húmeda; O = condiciones de oscuridad; R = remojo en agua; CA= condiciones de calor y sus combinaciones). Se estimó tanto el porcentaje de

germinación como el tiempo mínimo de germinación por tratamiento y especie. En general, se encontraron efectos de los tratamientos sobre la germinación de los tipos sucesionales de especies, respondiendo de forma diferente a algunos de los tratamientos. Las especies colonizadoras germinaron de manera similar en todos los tratamientos, incluido el control. Esto sugiere que, como era de esperarse, especies colonizadoras no presentaron mecanismos de latencia. Las especies intermedias germinaron más y más rápido cuando se les aplicaron tratamientos de escarificación física, no obstante en el tratamiento control también presentó un alto porcentaje de germinación (~88%). Esto sugiere que estas especies poseen mecanismos de latencia pero no tan profunda como las especies tardías. Las especies tardías, como era de esperarse, presentaron muy bajas tasas de germinación (~5%) a pesar de haberles aplicado varios tratamientos, incluidos la combinación de los mismos. La combinación de tratamientos con mayor éxito en la germinación de tardías fue el remojo en agua, condiciones de oscuridad y estratificación fría húmeda. Estos resultados sugieren que estas especies poseen mecanismos de latencia profunda muy difíciles de romper. Es posible que estas especies necesiten la aplicación de varios ciclos de tratamientos para lograr romper su latencia. Basado en estos resultados se recomienda que para restaurar zonas degradadas se utilicen principalmente plantines de especies colonizadoras e intermedias, ya que sus semillas no requieren tratamientos germinativos, se obtienen altos porcentajes de germinación, germinan en menor tiempo y crecen más rápido que las especies tardías. Por otra parte, dado que la producción de plántulas de especies tardías para estrategias de restauración es muy compleja debido a sus bajos porcentajes de semillas viables en zonas disturbadas, a la presencia de mecanismos de latencia y al bajo porcentaje de supervivencia de las plántulas, se recomienda que el foco de conservación esté puesto en estas especies. Conservar a las especies tardías ayudaría luego a utilizarlas como especies nodrizas para la implantación de especies colonizadoras e intermedias y de esta forma re-establecer los parches de vegetación en las zonas disturbadas.

## Introducción

El conocimiento de la biología de las semillas, sus capacidades de germinación y la presencia de latencia ayudan a comprender los procesos ecológicos y evolutivos de las comunidades de plantas (Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia 1993). Las semillas son importantes desde el punto de vista ecológico ya que de la reproducción sexual se dan las semillas, y con ellas la dispersión de las plantas y la formación de un banco de semillas en el suelo. El tipo de latencia de las semillas puede influir en los procesos a nivel de población y de especie, como la colonización, la adaptación, la especiación y la extinción (Willis et al. 2014). Asimismo, este conocimiento cobra relevancia a nivel de manejo y conservación de los ecosistemas, ya que en las semillas reside el almacenamiento y transporte del germoplasma contribuyendo a la conservación de la diversidad genética (Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia 1996, Penfield 2017). Las semillas son una etapa fundamental del ciclo vital de las plantas en lo que respecta a su supervivencia y perpetuación como especie (Bentsink y Koornneef 2008). Por lo tanto, las investigaciones enfocadas en los aspectos fisiológicos y ecofisiológicos de las semillas de distintas especies, y el conocimiento de procesos y factores ambientales que controlan su germinación son indispensables para desarrollar estrategias adecuadas de restauración ecológica (Camina et al. 2013, Sobrevilla-Solís et al. 2013).

Las plantas han desarrollado, a lo largo de su evolución, estrategias adaptativas frente a condiciones adversas del ambiente (Camina et al. 2013). Entre estas estrategias, poseen mecanismos que desencadenan la germinación de sus semillas y generan heterogeneidad en la progenie, al producir semillas con diferentes tasas de germinación o que germinen en diferentes lugares y momentos (Penfield 2017). Una de las estrategias adaptativas es la latencia, que sirve como mecanismo de protección de las semillas, aumentando sus probabilidades de supervivencia (Camina et al. 2013). La latencia, dormancia o letargo, se define como la incapacidad de una semilla viable e intacta de germinar bajo condiciones de temperatura, humedad y concentración de gases que serían adecuadas para la actividad metabólica y la emergencia de las radículas (germinación) (Roberts 1972, Bewley 1997, Varela y Arana 2011). Esta latencia puede ser el resultado de mecanismos físicos, fisiológicos o de desarrollo/morfológicos, o combinaciones de los mismos (Baskin y Baskin 2014, Hoyle et al. 2015). En su forma más simple, la latencia se produce mediante la formación de una simple barrera física



alrededor de la semilla, la cual impide el ingreso del agua y el intercambio de gases (Penfield 2017). En la latencia física, la germinación se impide por una cubierta impermeable al agua por la presencia de una o más capas de células en empalizada lignificadas en la capa interna del fruto (endocarpio) o en la más externa (pericarpio) (Baskin y Baskin 2004a). Las semillas que presentan esta latencia suelen requerir escarificación, es decir, la acción de abrasión de la pared exterior de la semilla, el tegumento, para permitir el contacto con el aire y el agua. La escarificación se puede hacer con productos químicos (ácidos) o mediante el paso por el tracto digestivo de un animal (enzimas digestivas), o físicamente utilizando herramientas como bisturí, agujas y/o papel de lija, teniendo mucho cuidado de no dañar el interior de la semilla. Independientemente del tipo, la escarificación acelera los procesos naturales que normalmente hacen que las capas de semillas sean permeables al agua y al aire permitiendo la germinación (Penfield 2017). Latencia fisiológica significa que existe un "mecanismo inhibidor fisiológico", un programa de quiescencia iniciado por el embrión o por los tejidos circundantes del endospermo que, a través de hormonas inhibitorias, le impide generar suficiente potencial de crecimiento para superar la restricción mecánica de la cobertura de la semilla, en ausencia de los factores ambientales específicos que promueven la germinación (Baskin y Baskin 2004b, Penfield 2017). Por lo general, esta latencia se supera con compuestos químicos como el ácido giberélico, el ácido cítrico, el peróxido de hidrógeno, entre otros, y con la estratificación fría húmeda (Wilan 1991). La estratificación fría húmeda consiste en someter las semillas a condiciones frías y húmedas entre 0-4° C entre 20-125 días según la especie, asemejando a las condiciones naturales de invierno que rompen la latencia al activar su embrión (Wilan 1991, Varela y Arana 2011). En las semillas con latencia morfológica, el embrión es indiferenciado, o puede estar diferenciado pero subdesarrollado, y existe una fase de latencia mientras el embrión continúa su crecimiento, es decir, necesita de un período de maduración que puede producirse durante el almacenamiento en seco y calor (Hatano y Kano 1952, Baskin y Baskin 2004b, Penfield 2017). La latencia morfofisiológica es una combinación de latencia morfológica y fisiológica, donde las semillas tienen tanto una cubierta de semilla o fruto impermeable como un embrión fisiológicamente latente (Baskin y Baskin 2004a). En este caso, después del tratamiento con calor para eliminar la latencia morfológica, debe aplicarse estratificación fría húmeda para eliminar la latencia fisiológica (Wilan 1991). A veces la latencia física de la cubierta está combinada con una latencia fisiológica del embrión, el cual debe tratarse en primer

lugar la cubierta con escarificación, y después aplicarse un enfriamiento en húmedo para romper la latencia del embrión (Bonner et al. 1974, Wilan 1991). Se conoce que la latencia fisiológica es la clase más común en toda la vegetación, excepto en el matorral, donde la latencia física es igualmente importante (Baskin y Baskin 2003, 2004a). Particularmente, entre los factores internos, la latencia física es un mecanismo de supervivencia de varias especies de regiones áridas y semiáridas (Baskin y Baskin 2014, Boeri et al. 2019).

Una germinación rápida y oportunista les permite colonizar el espacio antes que otras especies (Connell y Slatyer 1977). Esto se debe a que disminuye la competencia interespecífica (Connell y Slatyer 1977). Las especies colonizadoras, suelen ser de vida corta y poseen estrategias de germinación oportunista que les permiten establecerse o colonizar rápidamente ambientes desocupados (Bazzaz 1979, Zamora et al. 2004, Raavel et al. 2012, Beider et al. 2013). Además, una rápida germinación, crecimiento y reproducción les permite aprovechar mejor la efímera humedad del suelo, luego de una precipitación o del rocío, en los hábitats áridos (Fenner y Thompson 2005). Como resultado de su establecimiento y actividad biológica, estas especies cambian considerablemente las condiciones del suelo, luz y temperatura, promoviendo el establecimiento de nuevas especies (Clements 1936, Connell y Slatyer 1977). Así, las especies colonizadoras modifican el entorno, haciendo que el hábitat sea menos adecuado para su germinación pero más adecuado para la germinación de otras especies (Pearson et al. 2002, Liu et al. 2020). En etapas más avanzadas de la sucesión ecológica, dominan las especies tardías, las cuales son más longevas y con estrategias de desarrollo más conservadoras que aprovechan mejor los recursos disponibles (Bazzaz 1979, Rees et al. 2001, Raavel et al. 2012). Entre las etapas tempranas y tardías de la sucesión, aparecen las especies intermedias que presentan características intermedias y estrategias más diversas (Zobel 1989, Kazakou et al. 2006, Raavel et al. 2012, Pelliza et al. 2021a). En general, las especies colonizadoras suelen ser peores competidoras que las especies intermedias y tardías (Bazzaz 1979, Zamora et al. 2004, Raavel et al. 2012, Beider et al. 2013). De esta manera, las especies con distinto rol en la sucesión ecológica pueden presentar estrategias alternativas de germinación. Estudiar las estrategias de germinación de las especies colonizadoras, intermedias y tardías a lo largo de la sucesión ecológica en zonas áridas puede proporcionar una base científica para elaborar adecuadas estrategias de restauración de estos ecosistemas disturbados.

Para implementar técnicas revegetación para un proyecto de restauración ecológica, es necesario conocer los requerimientos de germinación de las especies nativas a utilizar. La revegetación es una técnica activa de establecimiento de especies nativas que requiere la producción de plántulas (Society for Ecological Restoration 2004). También es necesario conocer los procesos y factores ambientales que controlan la germinación para poder acelerarla (Schmidt 2000, Masini et al. 2012, Camina et al. 2013). En zonas áridas, el momento de la precipitación es incierto por lo que las plantas dependen fuertemente de la latencia para sobrevivir, ya que esto permite retrasar la germinación hasta que ocurra un evento de precipitación favorable (Venable y Lawlor 1980, Ellner y Shmida 1981). Además, el limitado crecimiento vegetativo de estas especies xéricas hace que su reproducción sexual cobre aún más relevancia para su persistencia (Noy-Meir 1973, Tadey et al. 2009, Bisigato et al. 2013). En general, las zonas áridas se caracterizan por un alto porcentaje de especies arbustivas con semillas con latencia (Baskin y Baskin 2014). Se han desarrollado diversas técnicas de tratamientos para la germinación de especies vegetales con latencia (Sobrevilla-Solís et al. 2013). Sin embargo, muchas veces los resultados son inconsistentes por lo que aún no hay suficiente información sobre los requerimientos generales óptimos de germinación de los distintos tipos sucesionales de especies de ambientes áridos como el Monte Patagónico.

## **Objetivo general**

El objetivo de este capítulo es investigar los requerimientos germinativos de diez especies nativas del Monte Patagónico clasificadas según su rol en la sucesión ecológica (es decir, colonizadoras, intermedias y tardías) y explorar las implicancias de estos conocimientos para producir plántulas y proponer planes adecuados de restauración de la vegetación del Monte en áreas disturbadas.

## **Hipótesis y predicciones**

- Hipótesis: Existen especies que poseen ciertas estrategias germinación que impiden la germinación en condiciones ambientales adversas y la promueven en momentos favorables para su desarrollo llamados mecanismos de latencia. Dichos mecanismos pueden ser físicos, fisiológicos, morfológicos o combinaciones de los mismos. Así, hay especies llamadas colonizadoras que pueden colonizar u ocupar rápidamente espacios altamente disturbados porque tienen estrategias de germinación rápidas y oportunistas. Su establecimiento propicia una mayor actividad biológica con el tiempo, promoviendo el establecimiento de otras especies, generando lo que se denomina sucesión ecológica. En estadios posteriores de la sucesión ecológica, se establecen especies tardías con mejores habilidades competitivas, es decir, que aprovechan de mejor manera los recursos, pero cuya germinación depende de condiciones ambientales favorables, por lo que sus semillas poseen mecanismos de latencia que les permite sobrevivir en condiciones adversas. Entre estadios tempranos y tardíos de la sucesión ocurre el establecimiento de especies con características intermedias, sin latencia o con distintos grados de latencia.

- Predicción: Las especies que tengan latencia tendrán mayores porcentajes de germinación con la aplicación de tratamientos germinativos que sin ellos (control). Si poseen latencia física, requerirán escarificación (mecánica, química, lixiviación o calor seco) para romper o alterar mecánicamente las cubiertas seminales y hacerlas permeables al agua y los gases. Si la latencia es fisiológica requerirán estratificación fría húmeda para generar el potencial de crecimiento necesario. Si la latencia es morfológica requerirán calor para la maduración del embrión. Si la latencia es combinada, requerirán tratamientos germinativos combinados, por ejemplo, si es morfofisiológica requerirán condiciones de calor y estratificación fría húmeda; y si es fisicofisiológica requerirán escarificación y estratificación fría húmeda. A su vez, se espera que las especies colonizadoras no requieran tratamientos germinativos o requieran tratamientos simples, presentando igual o mayor porcentaje de germinación y menor tiempo de germinación en el tratamiento control respecto de los tratamientos germinativos. Mientras que las intermedias y, más aún, las tardías tendrán mayor porcentaje de germinación y menor tiempo de germinación en los tratamientos germinativos que en el control, siendo mayor y más rápido en el tratamiento que corresponda al tipo de latencia de cada especie (física, fisiológica, morfológica o combinaciones de latencias).

## Materiales y métodos

El área de estudio se encuentra al NO de la Patagonia, en la provincia de Neuquén, entre Arroyito (39° 05' S, 68° 35' O) y Villa El Chocón (39° 17' S, 68° 55' O). La vegetación pertenece a la provincia fitogeográfica del Monte (Cabrera 1966). Para más información de los sitios ver la sección “Sitio de estudio” (Introducción general).

### *Especies focales*

Para evaluar los requerimientos germinativos óptimos, se utilizaron especies focales representativas de la vegetación dominante de la región del Monte, y se clasificaron según su función en la sucesión ecológica de la región, basado tanto en la bibliografía como en resultados previos del grupo de trabajo (Pelliza et al. 2021a). Como especies colonizadoras se estudiaron a *Atriplex lampa* (Gillies ex Moquin) D. Dietrich (Gandullo et al. 1998, Villagra et al. 2011, Zuleta y Escartín 2014), *Grindelia chilensis* (Cornel.) (González 2010, Masini 2011, Beider et al. 2013), *Gutierrezia solbrigii* (Cabrera) e *Hyalis argentea* D. Don ex Hook. & Arn. (Zuleta y Escartín 2014, Gandullo et al. 2016). Como especies intermedias se incluyeron *Prosopis alpataco* (Philippi) (Zuleta y Escartín 2014), *Senna aphylla* (Cav.) H.S. Irwin & Barneby y *Chuquiraga erinacea* (Don) y como especies tardías a *Larrea divaricata* (Cav.) (Dalmasso 2010, Zuleta y Escartín 2014), *L. cuneifolia* (Cav.) (Dalmasso 2010) y *Monttea aphylla* (Miers) Berthán et Hooker (Castro et al. 2013). Ver descripción de especies en la sección de “Especies focales” (Introducción general).

### *Recolección y procesamiento de muestras*

Se recolectaron al azar frutos de entre 20 y 32 individuos adultos de cada una de las especies focales, separados como mínimo 10 metros entre sí de otro individuo de la misma especie, totalizando 3050 plantas reproductivas (10 campos x 10 especies x 20-32 individuos, aproximadamente). Los muestreos se realizaron a fines de primavera a verano de los años 2016, 2017 y 2018, dependiendo de la especie. Los frutos y semillas colectadas se secaron al aire y se almacenaron a temperatura ambiente en bolsas de

papel. Luego, en el laboratorio, se separaron las semillas de los frutos aplicando la metodología adecuada para cada especie, contabilizando el número total de semillas por cada planta muestreada y el número de semillas viables producidas. Para *A. lampa*, se separaron las semillas de las brácteas, ya que poseen inhibidores químicos (Bonvissuto y Busso 2007); para *G. chilensis*, *G. solbrigii*, *H. argentea* y *C. erinacea* se separaron las semillas de los capítulos. Para *P. alpataco* y *S. aphylla* se separaron las semillas de las vainas con ayuda de una pinza o manualmente. Para *L. divaricata* y *L. cuneifolia* se separaron las semillas de los pericarpios con ayuda de un mortero. En tanto, las semillas de *M. aphylla* se separaron manualmente de su cáliz persistente carnososo. Se consideraron viables a las semillas de forma conservada y sin rastro de daño. Las semillas viables se pesaron con balanza analítica (Mettler AJ150,  $\pm 0.00001$  g). En algunas especies el número de semillas colectado fue escaso, por ser poco abundantes y/o porque al estar las plantas dañadas por el ganado no produjeron frutos, e incluso en determinados campos no se encontraron semillas viables en los frutos colectados (principalmente las especies de *Larrea* sp.).

#### *Tratamientos germinativos*

Los tratamientos germinativos se realizaron en un subconjunto de muestras de cada especie de planta. Cada tratamiento fue aplicado en 10-30 semillas provenientes de 10-20 individuos/especie. Se trabajó bajo flujo laminar, con superficies y material necesario desinfectado y autoclavado. Todas las semillas tratadas fueron desinfectadas, previo a colocarlas en cajas de Petri, sometiéndolas a una inmersión en etanol al 70% durante 7 minutos, seguido de 7 minutos en hipoclorito de sodio comercial (60 g/L de Cl activo) diluido al 15% (Villagra y Cavagnaro 2000). Las semillas se colocaron con pinzas en placas de Petri estériles preparadas con un disco de algodón y un disco de papel absorbente saturado con agua destilada. Para prevenir infección por hongos, se rociaron con una suspensión del fungicida Fungoxan al 0,1% (producto comercial al 50% p.a.) antes de colocarlas a germinar. A cada especie se le aplicó un tratamiento diferente según lo recomendado en la bibliografía y experiencias pilotos anteriores con las mismas (ver detalle de los tratamientos aplicados a cada especie en Tabla 1). Dado que el número de especies estudiadas y de tratamientos aplicados era elevado no pudieron ser testeadas todas las combinaciones posibles de tratamientos debido a que

esto multiplicaría mucho el número de réplicas (10 especies x 21 tratamientos x 5-10 individuos = 1050-2100 réplicas). Por eso se eligieron para algunas especies aplicar aquellos tratamientos que nunca habían sido testeados anteriormente.

Las semillas de *Atriplex lampa*, *Grindelia chiloensis* y *Gutierrezia solbrigii* se estratificaron en frío húmedo (4°C) en heladera durante 30 días y en condiciones de oscuridad, tapando las placas de Petri con papel aluminio (Mantovan y Candia 1995, Beider 2012). *Grindelia chiloensis* y *Gutierrezia solbrigii* no requieren tratamientos germinativos según bibliografía (Masini 2011, Masini et al. 2016, Tadey y Souto 2016); pero se adicionaron tratamientos en este capítulo que incluyeron escarificación física con corte de un ala (para *G. chiloensis*), remojo en agua durante 24 horas, sumado a lo mencionado y las combinaciones. *Hyalis argentea* se hizo germinar en oscuridad (Dalmaso et al. 2002, Camina 2011), con escarificación física con lija y combinaciones de tratamientos (Tabla 1). A *Prosopis alpataco*, *Senna aphylla* y *Chuquiraga erinacea* se le realizaron una escarificación física con lija (Villagra y Cavagnaro 2000, Galíndez et al. 2016), a *Chuquiraga erinacea* se le realizó también estratificación fría húmeda (Wulff 1990) y combinación de tratamientos (Tabla 1). Las semillas de *P. alpataco* fueron sometidas a remojo en agua caliente durante 10 minutos y las de *S. aphylla* a estratificación fría húmeda y combinaciones de tratamientos (Tabla 1). A las semillas del género *Larrea* y *Monttea aphylla* se les realizó escarificación física con lija (corte basal con bisturí para *M. aphylla*), estratificación fría húmeda durante 30 días en heladera (4°C), oscuridad (Barbour 1968, Bonvissuto y Busso 2007, Palacio et al. 2008, Hernandez et al. 2020, Hernández y Pérez 2021), remojo por 24 horas (Fernández et al. 2019) y calor en estufa a 60 °C y combinaciones de tratamientos (Tabla 1). Para todas las especies se dejaron semillas sin tratamientos germinativos, control (ver Tabla 1). Finalmente, todas las especies se colocaron en una cámara de germinación bajo condiciones controladas de luz y temperatura: 12 hs luz/12 hs oscuridad, a 30 °C día/20 °C noche, respectivamente. Una vez aplicado el tratamiento correspondiente las semillas se regaron semanalmente a demanda para mantener la humedad de la placa de Petri. La germinación y la fecha de germinación por placa se documentaron semanalmente, identificando y registrando el número de radículas emergidas. Luego, para cada placa se calculó la germinación (número de radículas emergidas /número total de semillas plantadas) y los días transcurridos hasta que la primera radícula emergió

(como la diferencia entre fecha de germinación y la fecha de colocación a cámara de germinación), como una estimación del tiempo mínimo de germinación.

**Tabla 1.** Tratamientos germinativos aplicados a cada tipo de especies (colonizadoras, intermedias y tardías). Con una cruz se indican todos los tratamientos aplicados en cada una de las especies. Cada tratamiento tuvo entre 10-30 semillas provenientes de 10-20 individuos/especie. C= control; O= condiciones de oscuridad; E= escarificación física; F= estratificación fría húmeda; R= remojo en agua; CA= condiciones de calor seco en estufa; EF= Escarificación y estratificación; EO= escarificación y oscuridad; ER= escarificación y remojo; RF= remojo y estratificación; RO= remojo y oscuridad; ECA= escarificación y calor; OF = oscuridad y estratificación; RCA= remojo y calor; FCA= estratificación y calor; ECAF= escarificación, calor y estratificación; ECARF= escarificación, calor, remojo y estratificación; EOF= escarificación, oscuridad y estratificación; ERCA= escarificación, remojo y calor; ERF= escarificación, remojo y estratificación; RCAO= remojo, calor y oscuridad.

Tratamientos Germinativos	Colonizadoras				Intermedias			Tardías		
	<i>Atriplex lampa</i>	<i>Grindelia chiloensis</i>	<i>Gutierrezia Solbrigii</i>	<i>Hyalis argentea</i>	<i>Prosopis alpataco</i>	<i>Senna aphylla</i>	<i>Chuquiraga erinacea</i>	<i>Larrea divaricata</i>	<i>Larrea cuneifolia</i>	<i>Monttea aphylla</i>
Control (C)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Oscuridad (O)	X	X	X	X				X	X	X
Escarificación (E)		X		X	X	X	X		X	X
Estratificación (F)	X	X	X			X	X	X	X	X
Remojo (R)		X			X			X	X	X
Calor (CA)									X	X
EF		X				X	X			X
EO				X						
ER										X
RF		X						X	X	X
RO		X						X	X	
ECA										X
OF	X	X	X					X	X	
RCA									X	X
FCA										X
ECAF										X
ECARF										X
EOF								X		
ERCA										X
ERF										X
RCAO										X



## Análisis estadístico de datos

Para determinar si las especies tienen semillas con estado de latencia se comparó el promedio de porcentaje y tiempo de germinación entre tratamientos (control vs tratamientos de germinación) en cada tipo de especie (colonizadora, intermedias y tardías) mediante modelos jerárquicos generalizados mixtos (GLMMs). Como variables respuesta se utilizaron el porcentaje de semillas germinadas (%) y el tiempo mínimo de germinación (días). Como variables explicativas se utilizaron a los tratamientos germinativos (C= control; E= escarificación física; F= estratificación fría húmeda; O= condiciones de oscuridad; R= remojo en agua; CA= condiciones de calor seco en estufa; y combinaciones entre los tratamientos germinativos), y un factor de interacción entre los tratamientos germinativos y el tipo sucesional de especies. Como efecto aleatorio se utilizó a la especie anidada en el campo de donde provienen las semillas (Tabla 2). Los análisis estadísticos y los correspondientes gráficos se realizaron utilizando distintos paquetes dentro del programa R 3.5.3 (R Development Core Team 2017). La germinación se modeló con una distribución Binomial (con datos binarios por planta, es decir, número de semillas que germinaron-número de semillas que no germinaron) aplicando la función “logit link” del paquete “lme4” (Bates et al. 2014, 2019). El tiempo medio de germinación se ajustó a una distribución Gamma para datos continuos positivos, recomendada para tiempo entre eventos (Zuur et al. 2009). Asimismo, cada variable respuesta se analizó para cada especie por separado (*A. lampa*, *G. chilensis*, *G. solbrigii*, *H. argentea*, *P. alpataco*, *S. aphylla*, *C. erinacea*, *L. divaricata*, *L. cuneifolia* y *M. aphylla*) con los tratamientos germinativos como variable explicativa, considerando como efecto aleatorio al campo de donde provienen las semillas. Cuando los efectos fueron significativos se realizaron análisis a posteriori de Tukey utilizando el comando “glht” del paquete “multcomp” (Hothorn et al. 2007, 2020).

**Tabla 2.** Modelos estadísticos aplicados. Variable respuesta, variable explicativa, efecto aleatorio y distribución estadística utilizada en los modelos lineales mixtos generalizados (GLMMs).

Variable respuesta	Variable explicativa (efecto fijo)	Efecto aleatorio	Distribución estadística
Porcentaje de germinación	Tratamiento*tipo de especie	Campo/especie	Binomial

Porcentaje de germinación de colonizadoras	Tratamiento	Campo/especie	Binomial
Porcentaje de germinación de intermedias	Tratamiento	Campo/especie	Binomial
Porcentaje de germinación de tardías	Tratamiento	Campo/especie	Binomial
Tiempo de germinación	Tratamiento*tipo de especie	Campo/especie	Gamma
Tiempo de germinación de colonizadoras	Tratamiento	Campo/especie	Gamma
Tiempo de germinación de intermedias	Tratamiento	Campo/especie	Gamma
Tiempo de germinación de tardías	Tratamiento	Campo/especie	Gamma

## Resultados

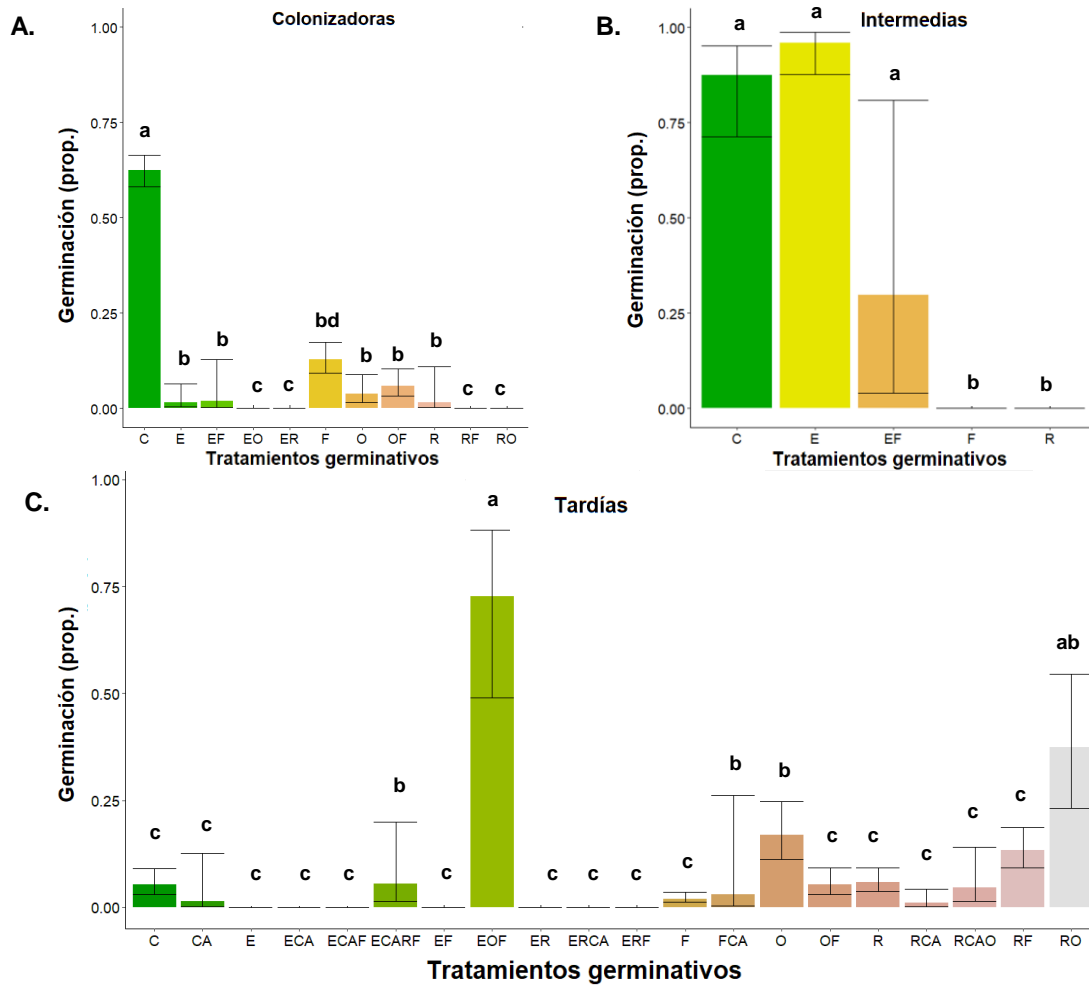
### *Germinación observada en cada tipo de especies sucesional*

En general, se encontró que los tipos sucesionales de especies presentaron en promedio distinto porcentaje de germinación ( $\chi^2_{\text{tipo de especie}} = 55.94$ ,  $gl = 639$ ,  $P < 0.0001$ ) y que los tratamientos aplicados promovieron la germinación de distinta manera ( $\chi^2_{\text{tratamiento}} = 56.64$ ,  $gl = 639$ ,  $P < 0.0001$ ). Además, el efecto de los tratamientos aplicados sobre los porcentajes de germinación fue diferente para los tipos sucesionales de especies ( $\chi^2_{\text{tipo spp} \times \text{tratamiento}} = 23.43$ ,  $gl = 639$ ,  $P = 0.036$ ).

Al analizar los tipos de especie por separado se observó que en las especies colonizadoras, el tratamiento control mostró un mayor porcentaje de germinación ( $C_{\text{prom.}} = \sim 62\%$ ) que el resto de los tratamientos ( $\chi^2 = 656.03$ ,  $gl = 139$ ,  $P < 0.0001$ ; Figura 1 A). En las especies intermedias se observó un mayor porcentaje de germinación en el tratamiento de escarificación física ( $E_{\text{prom.}} = \sim 96\%$ ) que en el resto de los tratamientos, pero no difirió significativamente del control ( $\chi^2 = 12.26$ ,  $gl = 133$ ,  $P = 0.015$ ; Figura 1 B). Por su parte, las especies tardías registraron mayor porcentaje de germinación con la combinación de tratamientos de oscuridad, escarificación física y la estratificación fría

húmeda (~73%, EOF) y con la combinación de tratamientos de oscuridad junto con remojo (~ 37%, RO) que en el resto de los tratamientos ( $\chi^2 = 136.07$ ,  $gl = 364$ ,  $P < 0.0001$ ; Figura 1 C).

**Figura 1.** Porcentaje de germinación observado bajo diferentes tratamientos germinativos en los distintos tipos sucesionales de especies. Las barras muestran los promedios con sus intervalos de confianza (95%) obtenidos a partir de un GLMM con distribución binomial. Promedio de germinación para: A) Especies colonizadoras, B) intermedias y C) tardías. Los tratamientos fueron: C= control; E= escarificación física; F= estratificación fría-húmeda; O= condiciones de oscuridad; R= remojo en agua; CA= condiciones de calor; EF= escarificación física y estratificación fría-húmeda; EO= escarificación física y condiciones de oscuridad; ER= escarificación física y remojo en agua; RF= remojo en agua y estratificación fría-húmeda; RO= remojo en agua y condiciones de oscuridad; ECA= escarificación física y condiciones de calor; OF= condiciones de oscuridad y estratificación fría-húmeda; RCA= remojo en agua y condiciones de calor; FCA= estratificación fría-húmeda y condiciones de calor; ECAF= escarificación física, condiciones de calor y estratificación fría-húmeda; ECARF= escarificación física, condiciones de calor, remojo en agua y estratificación fría-húmeda; EOF= escarificación física, condiciones de oscuridad y estratificación fría-húmeda; ERCA= escarificación física, remojo en agua y condiciones de calor; ERF= escarificación física, remojo en agua y estratificación fría-húmeda; RCAO= remojo en agua, condiciones de calor y condiciones de oscuridad. Las letras (a-d) sobre las barras de los gráficos denotan las diferencias significativas entre los tratamientos germinativos.

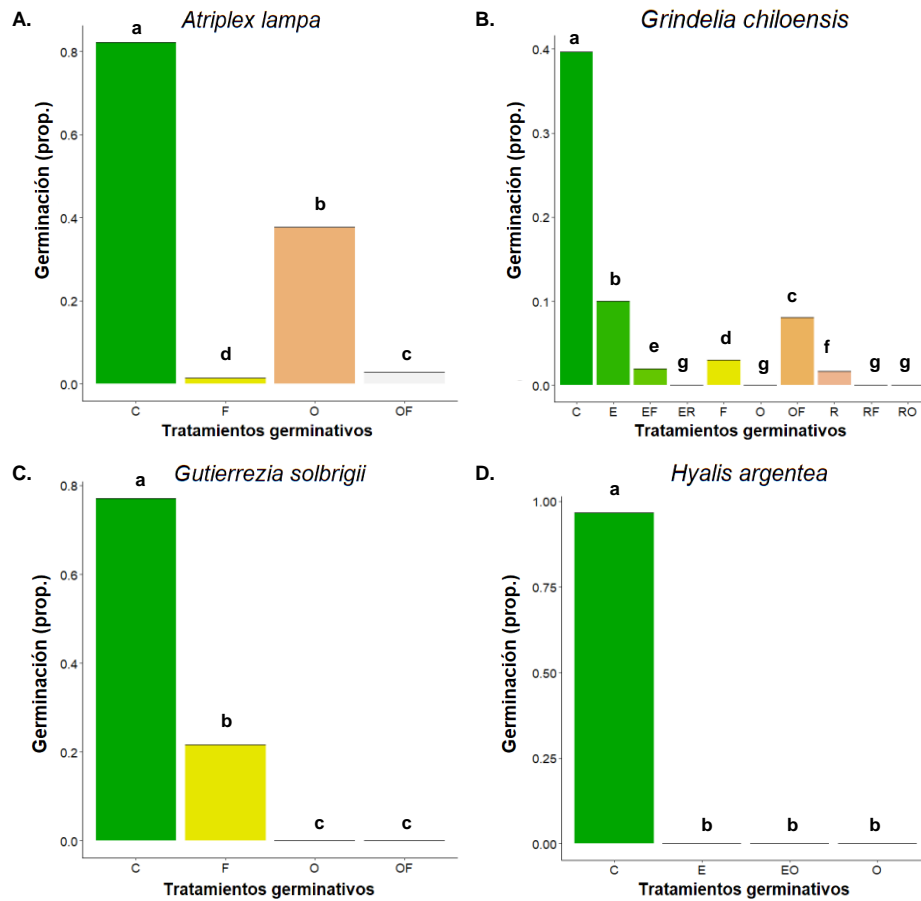


### Germinación observada por especie estudiada

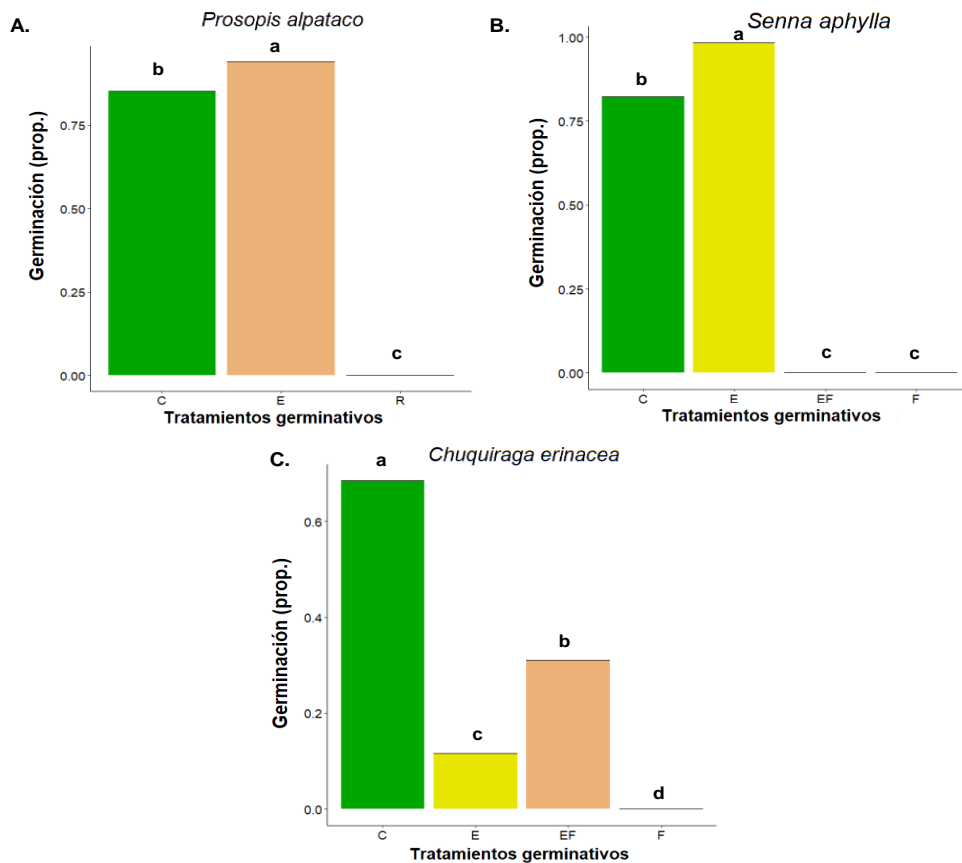
Al analizar individualmente cada especie focal se observa que *Atriplex lampa*, *Grindelia chilensis*, *Gutierrezia solbrigii* e *Hyalis argentea* presentaron mayor porcentaje de germinación bajo el tratamiento control que bajo los tratamientos de germinación (C= ~ 74 % vs. ~6%;  $\chi^2 = 46.41$ , gl = 21,  $P < 0.0001$ ;  $\chi^2 = 41.48$ , gl = 35,  $P < 0.0001$ ;  $\chi^2 = 29.04$ , gl = 18,  $P < 0.0001$ ;  $\chi^2 = 292.16$ , gl = 245,  $P < 0.0001$ ; respectivamente, Figura 2 A-D). *Prosopis alpataco* y *Senna aphylla* presentaron mayor porcentaje de germinación cuando sus semillas fueron sometidas a escarificación física que en resto de los tratamientos (E = ~97% vs ~26%;  $\chi^2 = 128.81$ , gl = 48,  $P < 0.0001$ ;  $\chi^2 = 14139$ , gl = 84,  $P < 0.0001$ ; respectivamente, Figura 3 A y B). *Chuquiraga erinacea* tuvo un mayor porcentaje de germinación bajo el tratamiento control que en el

resto de los tratamientos (78% vs. ~15%;  $\chi^2 = 54.44$ , gl = 30,  $P < 0.0001$ ; Figura 3 C). *Larrea divaricata* presentó mayor porcentaje de germinación que el resto de los tratamientos bajo la combinación de condiciones de oscuridad y remojo en agua (25% vs ~9%;  $\chi^2 = 51.82$ , gl = 73,  $P < 0.0001$ ; Figura 4 A). *Larrea cuneifolia* germinó en mayor porcentaje bajo la combinación de condiciones de oscuridad, escarificación física y estratificación fría húmeda en comparación con el resto de los tratamientos (76% vs. ~13%;  $\chi^2 = 54.44$ , gl = 197,  $P < 0.0001$ ; Figura 4 B). Por último, *Monttea aphylla* obtuvo mayor del porcentaje de germinación bajo el tratamiento de remojo en agua que en el resto de los tratamientos (0.1% vs. ~0.017%;  $\chi^2 = 72.31$ , gl = 83,  $P < 0.0001$ ; Figura 4 C).

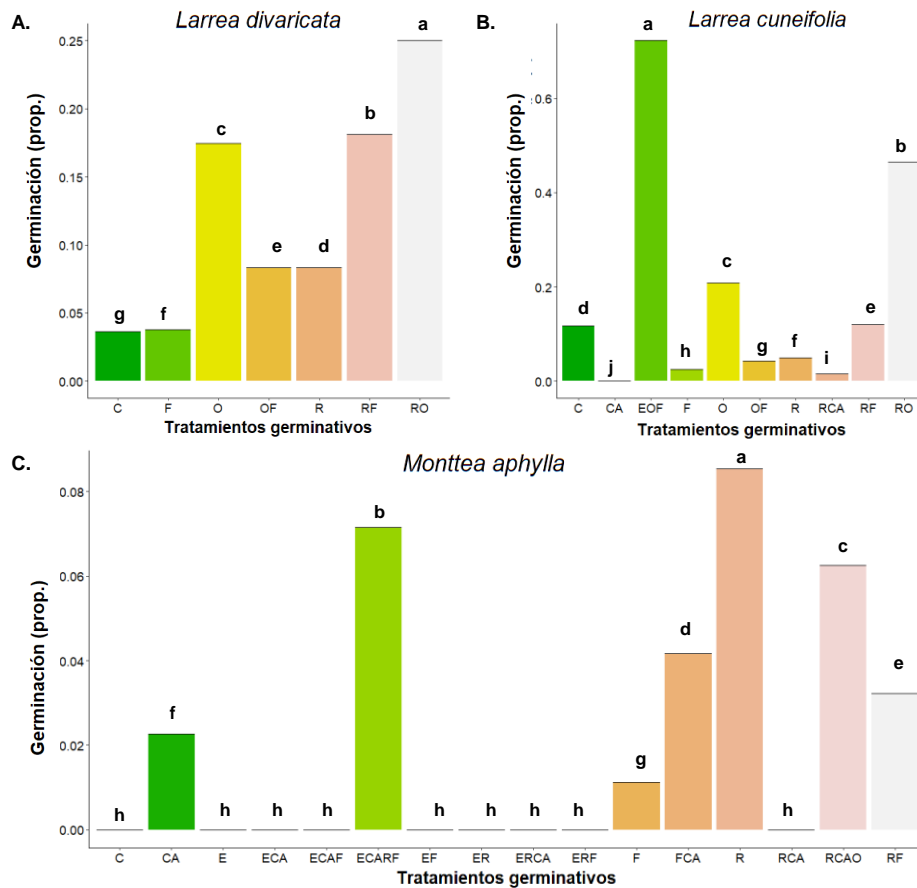
**Figura 2.** Porcentaje de germinación observado bajo diferentes tratamientos germinativos para las especies colonizadoras. Las barras muestran los promedios con sus intervalos de confianza (95%) obtenidos a partir de un GLMM con distribución binomial de las especies colonizadoras. Promedio de germinación para: A. *Atriplex lampa*. B. *Grindelia chiloensis*. C. *Gutierrezia solbrigii*. D. *Hyalis argentea*. C= control; E= escarificación física; F= estratificación fría-húmeda; O= condiciones de oscuridad; R= remojo en agua; OF= condiciones de oscuridad y estratificación fría-húmeda; EF= escarificación física y estratificación fría-húmeda; ER= escarificación física y remojo en agua; RF= remojo en agua y estratificación fría-húmeda; RO= remojo en agua y condiciones de oscuridad; EO= escarificación física y condiciones de oscuridad. Las letras (a-g) sobre las barras de los gráficos denotan las diferencias significativas entre los tratamientos germinativos.



**Figura 3.** Porcentaje de germinación observado bajo diferentes tratamientos germinativos para las especies intermedias. Las barras muestran los promedios con sus intervalos de confianza (95%) obtenidos a partir de un GLMM con distribución binomial de las especies intermedias. Promedio de germinación para: A. *Prosopis alpataco*. B. *Senna aphylla*. C. *Chuquiraga erinacea*. C= control; E= escarificación física; F= estratificación fría-húmeda; R= remojo en agua; EF= escarificación física y estratificación fría-húmeda. Las letras (a-d) sobre las barras de los gráficos denotan las diferencias significativas entre los tratamientos germinativos.



**Figura 4.** Porcentaje de germinación observado bajo diferentes tratamientos germinativos para las especies tardías. Las barras muestran los promedios ajustados con sus intervalos de confianza (95%) obtenidos a partir de un GLMM con distribución binomial de las especies tardías. Promedio de germinación para: A. *Larrea divaricata*. B. *Larrea cuneifolia*. C. *Monttea aphylla*. C= control; E= escarificación física; F= estratificación fría-húmeda; O= condiciones de oscuridad; R= remojo en agua; CA= condiciones de calor seco en estufa; EF= escarificación física y estratificación fría-húmeda; EO= escarificación física y condiciones de oscuridad; ER= escarificación física y remojo en agua; RF= remojo en agua y estratificación fría-húmeda; RO= remojo en agua y condiciones de oscuridad; ECA= escarificación física y condiciones de calor; OF= condiciones de oscuridad y estratificación fría-húmeda; RCA= remojo en agua y condiciones de calor; FCA= estratificación fría-húmeda y condiciones de calor; ECAF= escarificación física, condiciones de calor y estratificación fría-húmeda; ECARF= escarificación física, condiciones de calor, remojo en agua y estratificación fría-húmeda; EOF= escarificación física, condiciones de oscuridad y estratificación fría-húmeda; ERCA= escarificación física, remojo en agua y condiciones de calor; ERF= escarificación física, remojo en agua y estratificación fría-húmeda; RCAO= remojo en agua, condiciones de calor y condiciones de oscuridad. Las letras (a-j) sobre las barras de los gráficos denotan las diferencias significativas entre los tratamientos germinativos.



### Tiempo de germinación observado por tipo sucesional de especies

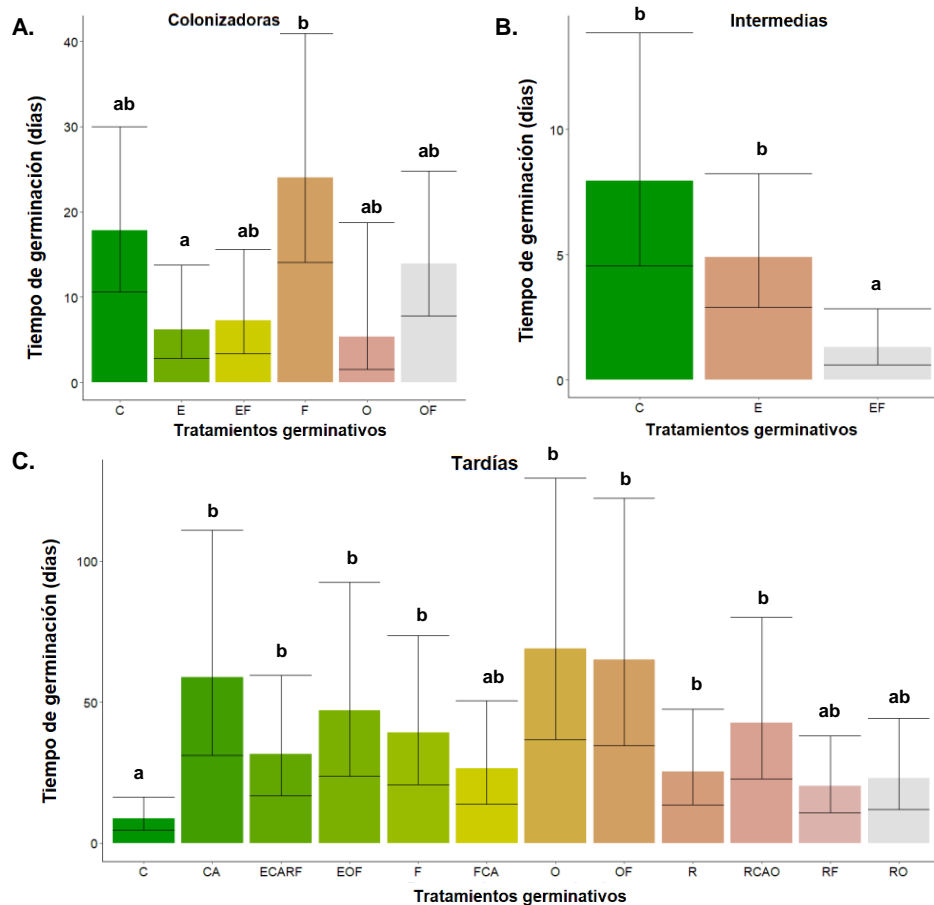
En general, el tiempo medio de germinación entre los tipos sucesionales de especies fue similar ( $P = 0.37$ ), aunque se observaron diferencias significativas entre los tratamientos ( $\chi^2_{\text{tratamiento}} = 26.94$ ,  $gl = 269$ ,  $P = 0.012$ ), como también se observó que el efecto de los tratamientos sobre el tiempo de germinación fue diferente en cada tipo sucesional de especie ( $\chi^2_{\text{tipo spp} \times \text{tratamiento}} = 17.78$ ,  $gl = 269$ ,  $P = 0.003$ ).

Cuando se analizaron los tipos sucesionales de especies por separado se observó que las especies colonizadoras germinaron más rápidamente bajo los tratamientos de escarificación física (~6 días), oscuridad (~6 días) y escarificación junto con estratificación fría (~7 días), luego germinaron los tratamientos de oscuridad junto con estratificación fría (~14 días) y control (~18 días), y en último lugar germinaron los tratamientos de estratificación fría (~24 días;  $\chi^2 = 27.25$ ,  $gl = 70$ ,  $P < 0.0001$ ; Figura 5 A). Por su parte, las especies intermedias germinaron significativamente más rápido



bajo la combinación de escarificación física y estratificación fría húmeda (~2 días) que con el control (~6 días) ( $\chi^2 = 24.17$ ,  $gl = 82$ ,  $P < 0.0001$ ; Figura 5 B), y más rápido que la escarificación (~4 días) pero no significativamente diferente de esta última. Por último, las especies tardías germinan más rápidamente en el tratamiento control (~12 días), seguido por el remojo (~22 días) que en el resto de los tratamientos germinativos ( $\chi^2 = 27.91$ ,  $gl = 111$ ,  $P = 0.003$ ; Figura 5 C).

**Figura 5.** Tiempo mínimo de germinación observado bajo los diferentes tratamientos germinativos para los tipos sucesionales de especies. Las barras muestran los promedios ajustados con sus intervalos de confianza (95%) del tiempo de germinación (días) obtenido con un GLMM con distribución Gamma. Promedio del tiempo de germinación para: A. Colonizadoras. B. Intermedias. C. Tardías. C= control; E= escarificación física; F= estratificación fría-húmeda; O= condiciones de oscuridad; R= remojo en agua; CA= condiciones de calor seco en estufa; y combinaciones entre los tratamientos germinativos. Las letras (a-b) sobre las barras de los gráficos denotan las diferencias significativas entre los tratamientos germinativos.

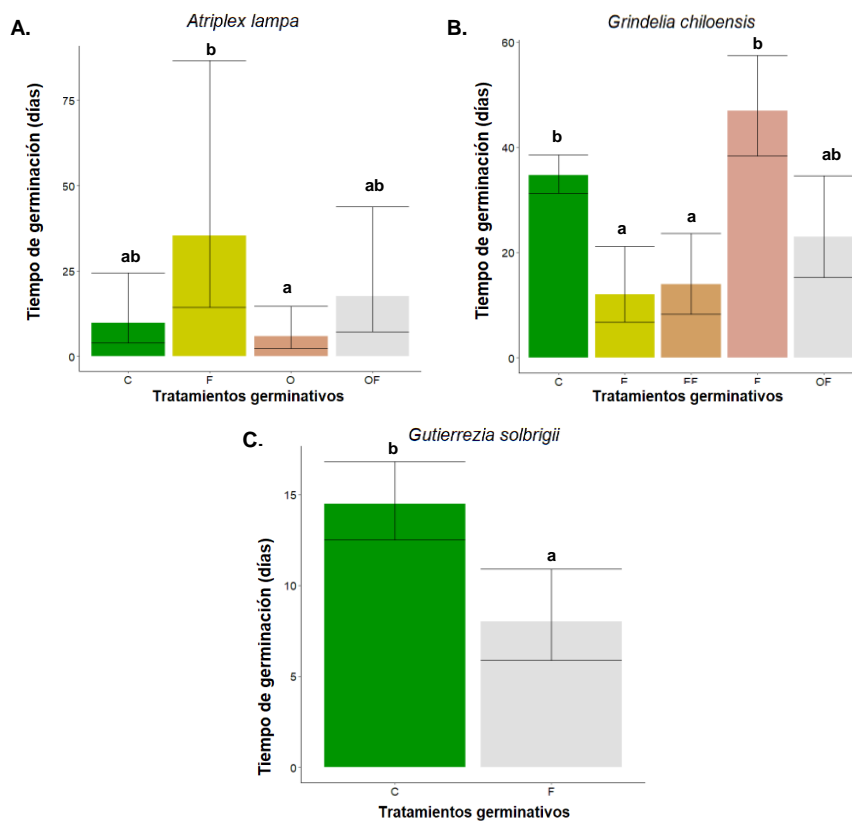


### *Tiempo de germinación observado para cada especie estudiada*

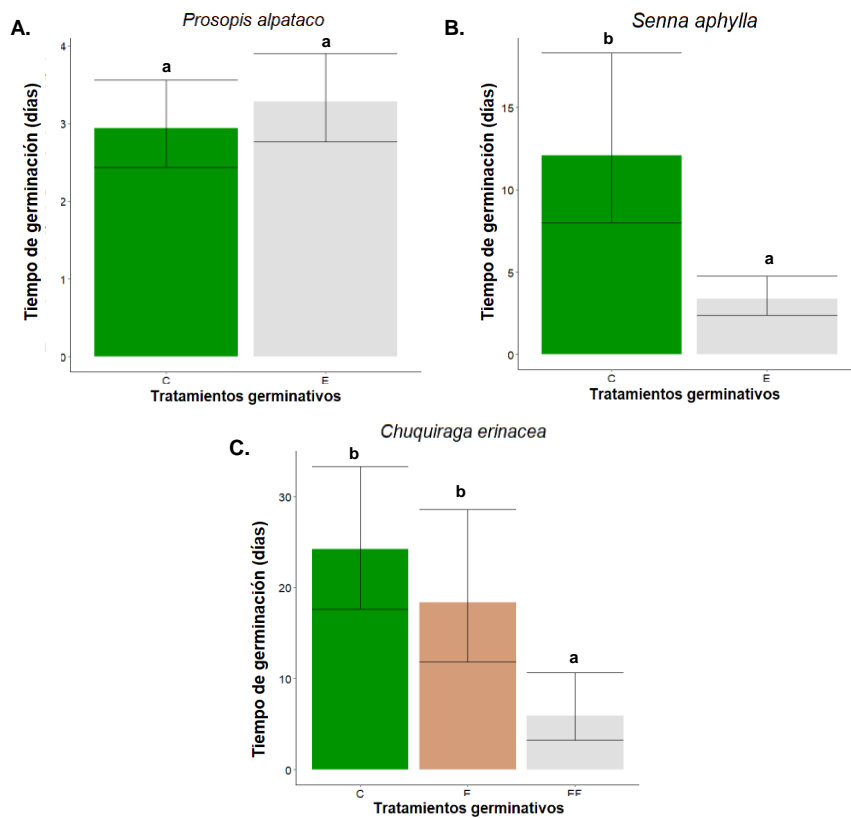
Al analizar cada especie por separado, *Atriplex lampa* germinó más rápidamente cuando sus semillas fueron sometidas al tratamiento de oscuridad (~6 días), seguido del control (~10 días), estratificación junto con oscuridad (~18 días), y por último con la estratificación fría húmeda (~35 días;  $\chi^2 = 273.88$ , gl = 11,  $P < 0.0001$ ; Figura 6 A). *Grindelia chiloensis* germinó en menor tiempo con escarificación física (~12 días) y escarificación junto con estratificación fría (~14 días), luego con estratificación fría húmeda junto con oscuridad (~23 días), y tardó más tiempo con el control (~34 días) y la estratificación fría húmeda (~47 días) ( $\chi^2 = 11.73$ , gl = 10,  $P = 0.019$ ; Figura 6 B). *Gutierrezia solbrigii* germinó en menor tiempo con estratificación fría húmeda (~8 días) que bajo el control (~14 días;  $\chi^2 = 4.71$ , gl = 13,  $P = 0.029$ ; Figura 6 C). En *Prosopis alpataco* el tiempo de germinación no fue significativamente diferente entre los tratamientos tardando todos alrededor de 3 días ( $P = 0.93$ ; Figura 7 A). *Senna aphylla* germinó más rápidamente con escarificación (~3 días) que con el control (~12 días;  $\chi^2 = 21.85$ , gl = 25,  $P < 0.0001$ ; Figura 7 B). En *Chuquiraga erinacea* la combinación de escarificación física y estratificación fría húmeda fue el tratamiento en el que más rápido ocurrió la germinación (~7 días) mientras que en las semillas control la germinación ocurrió a partir de los ~ 24 días y en las semillas con escarificación física en ~ 18 días ( $\chi^2 = 18.23$ , gl = 33,  $P = 0.0001$ ; Figura 7 C). *Larrea divaricata* un menor tiempo de germinación con el tratamiento que combina el remojo y estratificación fría húmeda (~10 días) y el control (~11 días), seguido por el que combina remojo y condiciones de oscuridad (~12 días), que con las condiciones oscuridad (~75 días) y estratificación fría húmeda (~ 82 días;  $\chi^2 = 37.60$ , gl = 47,  $P < 0.0001$ ; Figura 8 A). *Larrea cuneifolia* un menor tiempo de germinación con el control y del pretratamiento que combina condiciones de oscuridad y estratificación fría húmeda (~8-9 días), seguido por el tratamiento de oscuridad y de escarificación junto con estratificación y oscuridad (~10 días), luego germinaron los tratamientos de remojo junto con oscuridad (~22 días), remojo solo (~30 días) y la estratificación fría (~53 días), y por último la estratificación fría junto con oscuridad (~85 días;  $\chi^2 = 16.62$ , gl = 42,  $P = 0.019$ ; Figura 8 B). Las semillas de *Monttea aphylla* presentaron menor tiempo de germinación con el tratamiento de remojo en agua (~96 días), luego con los que combinan calor junto con estratificación fría húmeda (~140 días) y el tratamiento de calor junto con escarificación, remojo y estratificación (~156 días), después germinaron los

tratamientos que combinaron remojo y estratificación fría (~207 días), calor, remojo y oscuridad (~215 días) y la estratificación (~217 días), y en último lugar el tratamiento de calor (~311 días;  $\chi^2 = 408.16$ ,  $gl = 10$ ,  $P < 0.0001$ ; Figura 8 C).

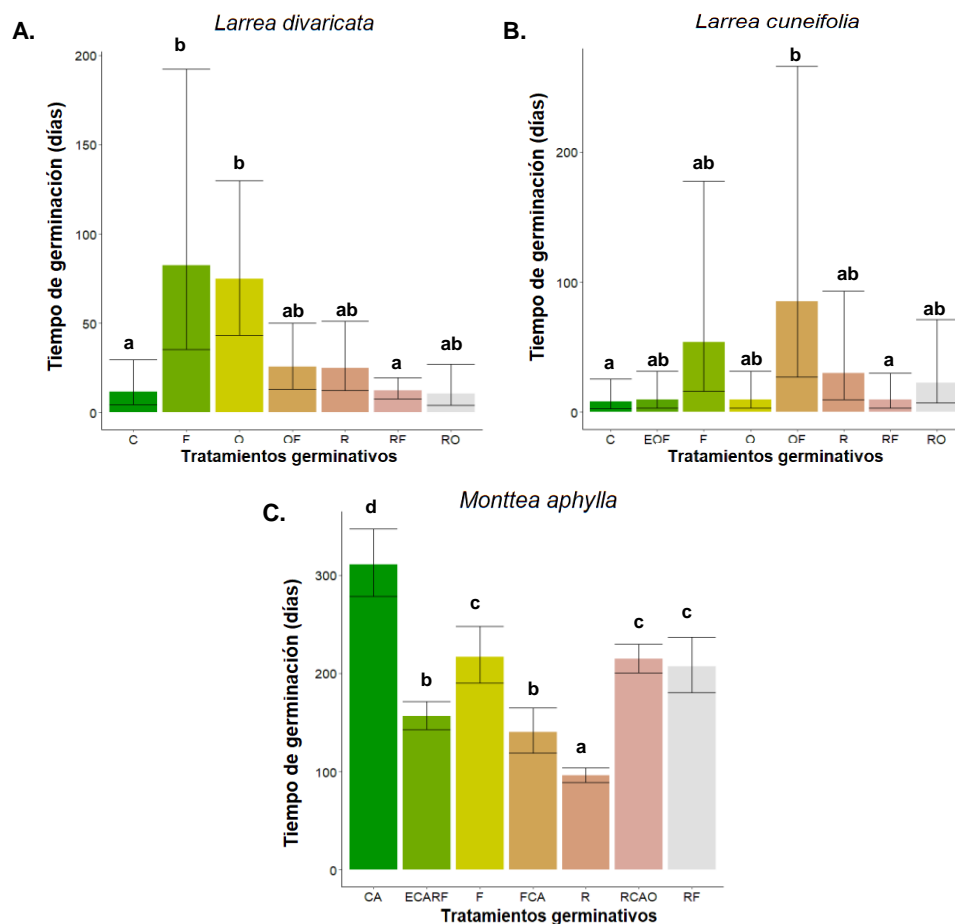
**Figura 6.** Tiempo mínimo de germinación bajo los diferentes tratamientos germinativos para las especies colonizadoras. Las barras muestran los promedios ajustados con sus intervalos de confianza (95%) del tiempo de germinación (días) obtenida con un GLMM con distribución Gamma de las especies colonizadoras. Promedio del tiempo de germinación para: A. *Atriplex lampa*. B. *Grindelia chilensis*. C. *Gutierrezia solbrigii*. D. *Hyalis argentea*. C= control; E= escarificación física; F= estratificación fría-húmeda; O= condiciones de oscuridad; R= remojo en agua; y combinaciones entre los tratamientos germinativos. Las letras (a-b) sobre las barras de los gráficos denotan las diferencias significativas entre los tratamientos germinativos.



**Figura 7.** Tiempo mínimo de germinación bajo los diferentes tratamientos germinativos para las especies intermedias. Las barras muestran los promedios ajustados con sus intervalos de confianza (95%) del tiempo de germinación (días) obtenida con un GLMM con distribución Gamma de las especies intermedias. Promedio del tiempo de germinación para: A. *Prosopis alpataco*. B. *Senna aphylla*. C. *Chuquiraga erinacea*. C= control; E= escarificación física; F= estratificación fría-húmeda; R= remojo en agua; y combinaciones entre los tratamientos germinativos. Las letras “a” y “b” sobre las barras de los gráficos denotan las diferencias significativas entre los tratamientos germinativos.



**Figura 8.** Tiempo mínimo de germinación bajo los diferentes tratamientos germinativos para las especies tardías. Las barras muestran los promedios ajustados con sus intervalos de confianza (95%) del tiempo de germinación (días) obtenido con un GLMM con distribución Gamma de las especies tardías. Promedio del tiempo de germinación para: A. *Larrea divaricata*. B. *Larrea cuneifolia*. C. *Monttea aphylla*. C= control; E= escarificación física; F= estratificación fría-húmeda; O= condiciones de oscuridad; R= remojo en agua; CA= calor seco en estufa; y sus respectivas combinaciones. Las letras “a”, “b” y “c” sobre las barras de los gráficos denotan las diferencias significativas entre los tratamientos germinativos.



## Discusión

En este capítulo se evaluaron los requerimientos germinativos de diez especies nativas del Monte Patagónico clasificadas según su rol en la sucesión ecológica (es decir, colonizadoras, intermedias y tardías) con el fin de explorar las implicancias de estos conocimientos en la producción de plántulas para su utilización en restauración de la vegetación del Monte y poder proponer así estrategias restauradoras de áreas disturbadas, más adecuados y eficientes. Estos resultados de tratamientos germinativos confirman la clasificación de las especies en colonizadoras, intermedias y tardías. Como se predijo, hubo tres especies que presentaron mecanismos de latencia profunda en sus semillas (i.e., tardías). Como era de esperarse, los distintos tipos de especies presentaron estrategias de germinación diferentes, de las cuales las especies colonizadoras presentaron un tipo de germinación rápida y espontánea u oportunista, sin necesitar

tratamientos para que este proceso ocurra. Mientras que las especies intermedias mostraron mecanismos de latencia no profunda, mejorando su germinación con la escarificación física pero igualmente presentando relativamente altos porcentajes de germinación sin tratamientos. Las especies tardías mostraron mecanismos de latencia muy profundos necesitando la combinación de tratamientos para lograr un alto porcentaje de germinación. El mayor porcentaje encontrado para estas especies se obtuvo bajo la combinación de oscuridad, remojo en agua y estratificación fría húmeda, germinado aproximadamente tres cuartas partes de las semillas sembradas.

Como postula la teoría de la sucesión ecológica, las especies colonizadoras presentaron una estrategia de germinación oportunista (Clements 1916, 1928, Gleason 1939, Connell y Slatyer 1977). Es decir, las semillas de especies colonizadoras germinan rápidamente inmediatamente después de su dispersión lo que les permite establecerse y colonizar ambientes degradados con abundante suelo desnudo y poca vegetación (Keever 1950, Bazzaz 1979, Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia 1996, Zamora et al. 2004, Beider et al. 2013, Zhang et al. 2018a, 2018b). Los resultados obtenidos mediante los tratamientos germinativos para *A. lampa*, *G. chiloensis*, *G. solbrigii* y *Hyalis argentea* concuerdan y complementan estudios previos (Mantovan y Candia 1995, Bonvissuto y Busso 2007, Masini 2011, Beider 2012, Masini et al. 2016, Tadey y Souto 2016). Estas especies germinaron más en el tratamiento control que en el resto de los tratamientos, aunque la escarificación y la estratificación fría aceleró la germinación en *Grindelia chiloensis* y en *Gutierrezia solbrigii*, sugiriendo que probablemente su época de germinación sea en el otoño. En cuanto a las especies intermedias se observaron altos porcentajes de germinación en semillas sin tratamientos pero, en general, germinan más y más rápido cuando se realiza una escarificación física de las semillas, lo que parece ablandar sus tegumentos y hacerlas permeables al agua y los gases (Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia 1993, Baskin y Baskin 2004b). Esto sugiere, entonces, la presencia de mecanismos de latencia física poco profunda, estando en concordancia con estudios previos de algunas de las especies estudiadas, como *P. alpataco* y *S. aphylla* (Villagra y Cavagnaro 2000, Galíndez et al. 2016). Asimismo, se observó que en promedio las especies intermedias germinaron más rápido que el resto de las especies, la diferencia quizá con las especies colonizadoras es que las intermedias son arbustos de mayor porte y de crecimiento más lento que las colonizadoras, lo que las pone en desventaja para la colonización de espacios. No obstante, estas especies

intermedias juegan un rol primordial en la sucesión ya que sirven de nodrizas. Además, las especies intermedias aquí estudiadas, *P. alpataco* y *S. aphylla*, pertenecen a la familia *Fabaceae* y tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico estableciendo asociaciones simbióticas con microorganismos fijadores de nitrógeno lo que las convierte en especies clave para mejorar las condiciones generales del suelo y fomentar la actividad biológica de las zonas áridas (Johnson et al. 1987, EL Sabagh et al. 2020). De esta manera, las especies intermedias parecen facilitar la germinación y el establecimiento del resto de las especies, actuando como especies nodrizas que aumentan las fuerzas de asociación con otras especies (Pelliza et al. 2021a). Asimismo, al ser algunas de ellas, como *P. alpataco*, arbustos de gran porte y con espinas cumplen un rol importante en la protección contra la herbivoría de mamíferos (Pugnaire et al. 1996, Fredericksen et al. 2000, Rossi y Villagra 2003b, Agüero 2009, Villagra et al. 2010, Riveros et al. 2011). Desde el punto de vista antrópico cabe destacar que estas especies prestan varios servicios ecosistémicos para el hombre como forraje para la cría de ganado, recursos alimenticios y fuente de leña, y se pueden utilizar como ornamentales (Villagra et al. 2004, Álvarez y Villagra 2009, Riveros et al. 2011). Por último, las especies tardías presentaron mecanismos de latencia profunda siendo la combinación de tratamientos lo que aumentó significativamente su tasa de germinación. No obstante, los tratamientos requeridos difirieron entre las especies de tardías y esto es importante a la hora de planificar estrategias de restauración con especies nativas. De las especies estudiadas el mayor porcentaje de germinación obtenido fue en *Larrea cuneifolia* (~75%), seguida por *L. divaricata* (~25%) y en último lugar *M. aphylla* (~10%). En general, la literatura muestra porcentajes de germinación (~20%) similares para el género *Larrea* (Barbour 1968, Graves et al. 1975, Bonvissuto y Busso 2007, Tadey y Souto 2016, Fernández et al. 2019, Hernández y Pérez 2021). Además, las especies de *Larrea* parece que presentan inhibidores químicos de la germinación en el tegumento solubles en agua sugiriendo latencia química (Baskin y Baskin 2014, Fernández et al. 2019). Eventualmente las especies de *Larrea* pueden tener una latencia fisicofisiológica, ya que requieren escarificación (con remojo y lija) y estratificación fría húmeda para geminar. No obstante, la germinación no es el único cuello de botella en estas especies, ya que el porcentaje de semillas viables y la tasa de sobrevivencia también son extremadamente bajos (ver capítulo 2). Muchas veces, aquellas semillas que han empezado a desarrollar su radícula no prosperan y otras veces, las plántulas desarrolladas no sobreviven mucho tiempo, por lo que los ensayos de germinación de

*Larreas* sp. deberían hacerse hasta que se vea la aparición de hojas verdaderas o que en condiciones ambientales favorables pueden generar plántulas viables (Solans et al. 2021). Por su lado, *M. aphylla* parece presentar una latencia física pero aún más profunda que las especies de *Larrea*. Si bien el remojo fue el tratamiento con mayor germinación, la germinación de esta especie fue menor al 10%, lo que sugiere que podría no sólo tener una latencia física, sino una combinación diferente de latencias y más profundas. Aunque por primera vez se pudieron evaluar algunos tratamientos germinativos sobre las semillas de *M. aphylla*, es necesario continuar con la investigación de los requerimientos de estas especies ya que posiblemente necesite de varios ciclos de tratamientos para romper la latencia de sus semillas (Baskin y Baskin 2014). Dado estos resultados, en los cuales bajo condiciones de remojo y estratificación fría las semillas de especies tardías germinaron más rápido, cabe suponer que germinan mayormente en invierno.

#### *Implicancias, sugerencias y aplicaciones de resultados en la restauración ecológica*

Los requerimientos de germinación de especies nativas son indispensables para desarrollar estrategias adecuadas de restauración ecológica de zonas degradadas (Camina et al. 2013, Sobrevilla-Solís et al. 2013). El Monte Patagónico es un ambiente muy sensible a las perturbaciones y dado que estas especies vegetales apenas presentan regeneración vegetativa, la reproducción sexual es esencial para su persistencia en el tiempo (TADÉY et al. 2009, Bisigato et al. 2013, Tadey 2015). Se pudo observar cómo difieren los requerimientos de germinación y ruptura de la latencia en los distintos tipos sucesionales de especies. Con los resultados obtenidos, y teniendo en cuenta la necesidad de generar plantines en grandes cantidades para su utilización en restauración de la vegetación y que la propagación a partir de semillas permite la preservación de la diversidad genética de las especies, se recomienda comenzar la restauración con especies colonizadoras e intermedias. Estas especies no requieren de tratamientos germinativos y su germinación ocurre de manera relativamente rápida lo que facilita la generación de los plantines. La producción de plántulas de especies tardías para estrategias de restauración implica un gran esfuerzo, debido a su profunda latencia, por lo que para estas especies es necesario continuar investigando sobre las estrategias de ruptura de la latencia y de supervivencia de las plántulas. Por lo tanto, las especies



tardías deberían ser el foco de las prácticas de conservación y manejo ya que, además, son especies clave en la formación de los parches de vegetación de zona áridas, facilitando el desarrollo y protegiendo a otras especies vegetales, manteniendo así el funcionamiento de los ecosistemas áridos (Pelliza et al. 2021a). Alternativamente, en caso de que las especies tardías no pudieran ser conservadas y/o no estén presentes, las técnicas de propagación vegetativa, como la micropropagación *in vitro* y el enraizamiento de segmentos de plantas podrían ofrecer posibilidades valiosas cuando las semillas son de difícil obtención, de preservar o germinar (Palacio et al. 2008). Asimismo, la adición de semillas de especies en el ambiente disturbado es otra forma de facilitar la restauración, pero el momento de la adición de semillas es crítico para el establecimiento exitoso de las plántulas (Liu et al. 2020). Para realizar siembra directa de semillas a campo, teniendo en cuenta los resultados aquí obtenidos, podemos considerar que las especies colonizadoras deberían sembrarse en otoño temprano, mientras que las tardías en el verano, ya que además de las condiciones de frío y oscuridad del invierno que requieren para germinar, tendrían un período de maduración y se disminuiría la competencia entre las plántulas. De los resultados obtenidos podemos concluir que una forma posible de acelerar la sucesión ecológica en las zonas áridas como el Monte Patagónico, es mediante la plantación de especies colonizadoras e intermedias a partir de semillas y acompañar esta práctica con siembra directa de semillas de especies intermedias y tardías, con tratamiento germinativo previo, en los mismos parches para aumentar la potencial revegetación natural. Esta investigación es una aproximación de los requerimientos germinativos de especies nativas del Monte Patagónico, con un gran aporte para la obtención de plantines para su utilización en estrategias de restauración ecológica de áreas disturbadas.

## Capítulo 2

**¿Cómo afecta el ganado doméstico a a diferentes parámetros reproductivos de las plantas nativas según el tipo sucesional de especies?**



## Resumen

El ganado doméstico puede afectar a la vegetación que consume a través del daño a sus tejidos vegetativos y meristemas reproductivos, repercutiendo sobre la producción de semillas. Sin embargo, las especies vegetales pueden responder de manera diferente a dichos efectos acorde a sus características fisiológicas y de historia de vida. Esas características les pueden permitir a las especies tener diferentes estrategias de reproducción, crecimiento y establecimiento. En este capítulo se estudiaron las respuestas de los distintos tipos sucesionales de especies (i.e., colonizadoras, intermedias y tardías) del Monte Patagónico a un gradiente de carga ganadera, a través de parámetros, como la biomasa (tamaño), el esfuerzo reproductivo (proporción de ramas reproductivas/planta), la cantidad de semillas viables, su calidad (peso), la depredación de semillas por insectos, y su capacidad germinativa. Se observó, que en general, el ramoneo disminuyó el tamaño y el esfuerzo reproductivo de las plantas. Con el aumento de la carga ganadera, disminuyó la producción de semillas viables y el porcentaje de germinación, mientras que aumentó el peso de las semillas y su tiempo de germinación. Como se esperaba, los distintos tipos sucesionales de especies mostraron diferentes respuestas al incremento de la intensidad de pastoreo para la mayoría de los parámetros analizados, siendo las especies intermedias las menos afectadas. Las especies colonizadoras mantuvieron similar la producción y calidad de sus semillas en el gradiente de pastoreo, mientras que las intermedias compensaron la disminución de la producción de semillas aumentando su peso, y las tardías sólo aumentaron el peso de sus semillas manteniendo su producción. Además, mientras que el aumento de la intensidad del pastoreo atrasó la germinación de especies colonizadoras, las semillas de especies intermedias germinaron más rápido y más uniforme (i.e., disminuyó la variabilidad del momento en que germinan). Estos resultados sugieren que las especies colonizadoras e intermedias poseen aparentes respuestas compensatorias que les permiten tolerar la herbivoría. Las especies intermedias presentarían una ventaja al maximizar su aptitud a largo plazo frente a las colonizadoras, las cuales al demorar su germinación, podrían perder su capacidad de establecerse rápidamente. Las especies tardías son las más afectadas por el ganado, limitadas en su producción de semillas viables y germinación con graves consecuencias en su reclutamiento.

## Introducción

La intensidad y duración de los disturbios pueden tener distintos impactos en la aptitud de la vegetación afectada y, por lo tanto, en su descendencia (Rusterholz et al. 2009). Tal es el caso del pastoreo por ganado, donde el daño a las estructuras reproductivas y en las yemas de crecimiento provoca cambios fisiológicos y anatómicos que disminuyen la producción de flores y frutos, al restringir la energía y los recursos que tienen las plantas para recuperarse, afectando negativamente su reproducción (McNaughton 1983a, Butler y Briske 1988, Pol et al. 2014, Trlica y Rittenhouse 1993, Lehtilä y Strauss 1997, Tadey 2007, Pol et al. 2014, Lázaro et al. 2016, Tadey y Souto 2016). Incluso, el ganado indirectamente podría aumentar la susceptibilidad de las plantas a otros herbívoros, al disminuir sus defensas y/o sus recursos (Holeski et al. 2012, Aguirrebengoa et al. 2018, Kellenberger et al. 2018). De esta manera, los daños producidos por el ganado pueden reducir la cantidad y/o la calidad de la descendencia de las plantas consumidas y consecuentemente su aptitud (Charlesworth y Charlesworth 1987, Lehtilä y Strauss 1997, Mothershead y Marquis 2000, Edwards et al. 2005, Angeloni et al. 2011). Así, el efecto negativo del ganado sobre las plantas se propagaría a su descendencia, derivando en una reducción del banco de semillas, de su capacidad germinativa y, en última instancia, disminuyendo el establecimiento de la progenie (Trlica y Rittenhouse 1993, Sternberg et al. 2003, Tadey 2007, Pol et al. 2014, Tadey y Souto 2016). Por lo tanto, este disturbio podría repercutir seriamente en la capacidad de revegetación natural que tendrá el ecosistema, acentuando los procesos de desertificación (Sternberg et al. 2003, Edwards et al. 2005, Tadey 2007, Pol et al. 2014).

Las plantas exhiben dos momentos críticos durante sus ciclos de vida: la germinación de las semillas y el establecimiento de las plántulas (Kozlowski y Gunn 1972, Esler y Phillips 1994, Gutterman 1994). En hábitats hostiles, cada especie tiene su propia estrategia que le permite evitar, tolerar o resistir condiciones de estrés ambiental (Gutterman 1994, Liu et al. 2014). En ambientes áridos, las plantas despliegan una amplia variedad de estrategias de dispersión de semillas y de germinación para asegurar su persistencia en el tiempo (Saatkamp et al. 2019). Algunos mecanismos de dispersión incluyen estrategias de escape (gran producción de semillas muy pequeñas) o protección (semillas protegidas por las estructuras lignificadas como un banco de semillas aéreo de larga duración) que pueden reducir la mortalidad por estrés hídrico y/o por herbivoría

(Gutterman 2002, Liu et al. 2014). La producción de semillas pequeñas permite que se entierren fácilmente en el suelo, mientras que la producción de semillas protegidas permite que disminuya su depredación (Peart 1984, Thompson 1987). En cuanto a las estrategias germinativas de las plantas, se pueden dividir en dos categorías, las oportunistas y cautelosas. Las especies con germinación oportunista no tienen mecanismos de latencia, o poseen una latencia leve, y altas y rápidas tasas de germinación (Venable y Lawlor 1980, Philippi 1993, Gutterman 1994, Liu et al. 2014). Las especies con germinación cautelosa poseen mecanismos de latencia generalmente profunda, y bajas y lentas tasas de germinación (Venable y Lawlor 1980, Philippi 1993, Gutterman 1994, Liu et al. 2014). Además, las plantas con estrategias de dispersión de escape suelen desarrollar estrategias oportunistas, mientras que las plantas con estrategias de protección de semillas suelen desarrollar una germinación cautelosa. Una de las estrategias de supervivencia más importantes en muchas especies es la producción de semillas con diferente momento de germinación; así como de grandes y duraderos bancos de semillas; e incluso, en algunas especies pueden presentar tolerancia a la sequía (Gutterman 2002). Varios trabajos han analizado únicamente la germinabilidad, mientras que el comportamiento de las semillas durante el proceso de germinación tiene varios aspectos que informan sobre su dinámica, como el tiempo, la tasa, la homogeneidad y la sincronía (Labouriau 1983, Brown y Mayer 1988, Ranal y Santana, 2006). Esto permite predecir el grado de éxito de una especie en función de la capacidad de su semilla para extender la germinación a lo largo del tiempo (Labouriau 1983, Brown y Mayer 1988, Ranal y Santana, 2006). También se ha demostrado que la masa de las semillas está correlacionada con una serie de rasgos, incluyendo la dispersión, la supervivencia y la forma de crecimiento (Westoby et al. 1996, Moles et al. 2007, Zaidman et al. 2010). No obstante, se sabe poco sobre si otros rasgos reproductivos, incluyendo las estrategias de germinación, se correlacionan con la producción de semillas (cantidad y/o calidad de semillas), o si son independientes (Hoyle et al. 2015). Más aún, suele existir una compensación entre el número y tamaño/calidad de la progenie producida, dado que los recursos dirigidos a la reproducción deben equilibrar el costo relacionado con el número de semillas producidas y su calidad (Kamczyc-Pers et al. 2022). Tanto la dispersión, la germinación, el momento de la germinación y el establecimiento de plántulas desempeñan un papel importante en el reclutamiento de las comunidades vegetales (Grubb 1977, Cornaglia et al. 2009). Por lo tanto, las estrategias que presenten las

plantas pueden generar cambios en la configuración de la estructura, dinámica y función de las comunidades, y por ende, de su persistencia a largo plazo (McNaughton 1983, Soriano et al. 1994, Oesterheld et al. 1998).

En las plantas, existe una competencia por los recursos en la inversión del crecimiento, la reproducción y el desarrollo de estructuras defensivas (Bazzaz y Grace 1997). Ante la mayor limitación de recursos causada por la herbivoría de los grandes mamíferos, las plantas pueden disminuir su inversión en estructuras defensivas, alterando a su vez su susceptibilidad a la herbivoría por insectos (Holeski et al. 2012, Aguirrebengoa et al. 2018, Kellenberger et al. 2018). Debido a que estas principales funciones interactúan y compiten, dependiendo de la especie y del disturbio, se condicionará como se redistribuirán y reasignarán los recursos disponibles, afectando la producción de semillas (Bazzaz y Grace 1997). Cuanto más indefensas están las plantas, mayor es la probabilidad de ataque de insectos herbívoros, frugívoros o granívoros, agravando el efecto sobre la progenie (Aguirrebengoa et al. 2018). Dentro de las respuestas de las plantas existen defensas antiherbivoría que pueden ser constitutivas (e.g., mecánicas o pasivas, reductores de digestibilidad o toxinas) o inducibles (e.g., metabolitos secundarios o cambios morfológicos y fisiológico) (Agrawal et al. 1999). No obstante, el ganado no sólo disminuye los recursos disponibles en las plantas sino que también puede interactuar de diferentes maneras con las poblaciones de insectos, y tanto directa o como indirectamente, alterar o cambiar sus abundancias, preferencias y/o interacciones interespecíficas (McNaughton 1983a, Petraitis et al. 1989, Caswell y Cohen 1993, Williams et al. 2010, Ebeling et al. 2012). Además, se ha observado una relación entre el peso de la semilla y la preferencia de los insectos herbívoros; en general, el valor nutricional de la semilla aumenta con su peso (Honek et al. 2007, Ramírez y Traveset 2010). Se ha encontrado que la producción de semillas es inversamente proporcional a la inversión en defensas, y la aptitud es proporcional a la producción de semillas (Bazzaz et al. 1987, Bazzaz y Grace 1997). Por lo tanto, la depredación de semillas puede tener efectos negativos en la aptitud de las plantas al reducir su progenie (Janzen 1971, Moles et al. 2003, Kolb et al. 2007). De esta manera, el ganado también puede aumentar indirectamente la depredación de semillas por parte de los insectos, profundizando su efecto en la progenie de las plantas consumidas.

La dinámica poblacional de las plantas de ambientes áridos y el impacto del ganado sobre su progenie es diferente y está poco estudiado en la región del Monte en

comparación con los pastizales semiáridos (Carmona et al. 2013, Deng et al. 2014, Liu et al. 2015). La diferencia radica en que las zonas áridas están dominadas por arbustos longevos, mientras que las estepas semiáridas herbáceas están dominadas por gramíneas, plantas anuales o herbáceas, cuyas formas de vida les permiten una recuperación más rápida a la herbivoría (Coughenour 1985, Agustine y McNaughton 1998, Sjögersten et al. 2011). Estudios previos mostraron que algunas especies nativas del Monte disminuyen el peso de los frutos y la germinación cuando aumenta la carga ganadera (Tadey y Souto 2016), y que el ganado modifica la estructura de la comunidad, reduciendo la cobertura vegetal, la riqueza y la abundancia de especies (Tadey 2006, Pelliza et al. 2021a). En el contexto actual de cambio climático global, la comprensión de las estrategias de germinación de las diferentes especies nativas amenazadas frente al pastoreo pasa de ser una cuestión de interés evolutivo y ecológico, a una cuestión urgente para los objetivos de conservación, manejo y restauración ecológica (Liu et al. 2014, Hoyle et al. 2015). Dado que las plantas han desarrollado diferentes respuestas para persistir al estrés, se espera que sus diferentes características sucesionales les proporcionen distintas tolerancias al pastoreo (ver “Introducción general”). Por lo tanto, se esperaría que tengan respuestas diferentes, principalmente en la reasignación de recursos a distintas funciones de las plantas (Noy-Meir 1973, Saiz y Alados 2012, Flores et al. 2013, Chen et al. 2015). Además, se pondrá a prueba un modelo causal hipotético para estimar los efectos directos e indirectos del pastoreo en la capacidad germinativa (tiempo y porcentaje de germinación) a través del ramoneo, la biomasa, el esfuerzo reproductivo, y la cantidad y calidad de semillas, utilizando la metodología de análisis de vías “D-sep”.

## **Objetivo general**

Estudiar el efecto del pastoreo por ganado doméstico sobre la biomasa, el esfuerzo reproductivo, la cantidad y calidad de semillas, depredación de semillas por insectos y la capacidad germinativa de distintos tipos sucesionales de especies (i.e., colonizadoras, intermedias y tardías), a lo largo de un gradiente de pastoreo en el Monte Patagónico. Para ello, el capítulo se dividió en tres secciones con sus respectivos objetivos específicos, para evaluar a lo largo de un gradiente de carga ganadera la diferente respuesta de cada tipo sucesional de especie.

## **Objetivos específicos**

### Sección 1: Efectos del ganado doméstico en la biomasa y el esfuerzo reproductivo

Evaluar el efecto del ganado doméstico sobre el tamaño y el esfuerzo reproductivo de las plantas consumidas, y comparar cómo difieren las respuestas de los tipos sucesionales de especies (i.e., colonizadoras, intermedias y tardías) a dichos efectos.

### Sección 2: Efectos del ganado doméstico en la cantidad y calidad de semillas

Evaluar el efecto del ganado doméstico en la cantidad y calidad de semillas y la depredación de semillas por insectos de las plantas consumidas. Analizar la relación de la cantidad y calidad de semillas con el tamaño y esfuerzo reproductivo de las plantas. Determinar la relación entre la cantidad y calidad de semillas, y de éstas con la depredación de semillas por insectos. Comparar cómo difieren las respuestas de los tipos sucesionales de especies (i.e., colonizadoras, intermedias y tardías) a dichos efectos.

### Sección 3: Efectos del ganado doméstico en la capacidad germinativa

Evaluar el efecto el ganado doméstico sobre la capacidad germinativa de las plantas consumidas. Comparar cómo difieren las respuestas de los tipos sucesionales de especies (i.e., colonizadoras, intermedias y tardías) a dichos efectos.

## **Hipótesis y predicciones**

### Sección 1: Efectos del ganado doméstico en la biomasa y el esfuerzo reproductivo



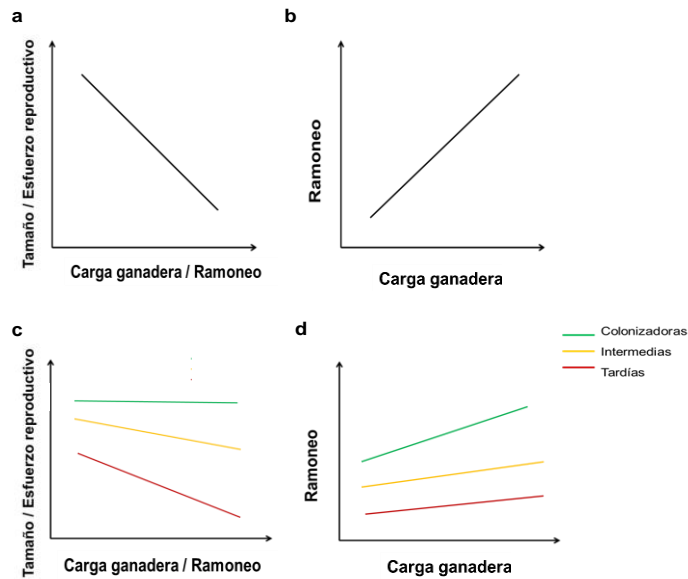
- Hipótesis 1: El daño por la herbivoría del ganado doméstico sobre especies de plantas consumidas disminuye la recuperación de su biomasa aérea y esfuerzo reproductivo debido a que genera una limitación de recursos disponibles.

- Predicción 1: Se espera que con el aumento de la carga ganadera, las plantas tengan menor tamaño, menor esfuerzo reproductivo y estén más ramoneadas (Figura 1 a y b). Se espera el mismo patrón entre el porcentaje de ramoneo y las variables mencionadas (Figura 1 a).

-Hipótesis 2: Los tipos sucesionales de especies responden diferente al daño del ganado en su biomasa y esfuerzo reproductivo (i.e., magnitud y dirección), debido a sus ciclos de vida y sus características morfo-fisiológicas (e.g., tasas de crecimiento, reproducción y producción de semillas). Aquellas especies tardías e intermedias que poseen ciclos de vida más largos (i.e., bajas tasas de crecimiento y reproducción), se van a ver más afectadas por el daño por ramoneo del ganado, y pueden asignar menos recursos a la recuperación de sus estructuras vegetativas y/o reproductivas que las especies colonizadoras con ciclos de vida cortos y características opuestas (i.e., altas tasas de crecimiento y reproducción).

-Predicción 2: Se espera que a medida que aumenten la carga ganadera y/o el ramoneo, el tamaño y esfuerzo reproductivo en especies tardías e intermedias disminuya más que el de las especies colonizadoras (Figura 1 c). Por otro lado, puede ocurrir que a medida que la carga ganadera aumente, las especies colonizadoras, al ser más palatables, sean más ramoneadas que las especies intermedias y tardías (Figura 1 d).

**Figura 1:** Predicciones para la hipótesis 1 y 2: el daño del ganado en especies de plantas consumidas genera una limitación de recursos disponibles disminuyendo la asignación de recursos a la recuperación de biomasa aérea y esfuerzo reproductivo. Los tipos sucesionales de especies responden diferente al daño por el ganado. a. Se espera una asociación negativa del tamaño y esfuerzo reproductivo con la carga ganadera y el ramoneo. b. Se espera encontrar una asociación positiva entre la carga ganadera y el ramoneo. c. Se espera que a medida que aumente la carga ganadera y el ramoneo, el tamaño y el esfuerzo reproductivo de las especies tardías e intermedias disminuyan más que el de las colonizadoras. d. Se espera también que aumente más el ramoneo de las especies colonizadoras que el de las especies intermedias y tardías.



## Sección 2: Efectos del ganado doméstico en la cantidad y calidad de semillas

- Hipótesis 3: El daño causado por el ganado doméstico en la biomasa aérea y la reproducción de las plantas disminuye la cantidad y/o calidad de sus semillas, al limitar la reasignación de los recursos.

- Predicción 3.1: Se espera encontrar que a medida que aumente la carga ganadera y/o el ramoneo, y disminuya el tamaño y el esfuerzo reproductivo, la cantidad y/o calidad de semillas disminuyen (i.e., semillas viables y peso de semilla) (Figura 2 a y b).

-Predicción 3.2: Además, se espera encontrar una asociación negativa entre la cantidad y calidad de semillas, debido a la limitación de recursos (Figura 2 c).

-Hipótesis 4: El daño causado por el ganado doméstico limita la disponibilidad de recursos asignables a mecanismos de defensa de las plantas, aumentando la depredación de semillas por insectos.

-Predicción 4.1: Se espera que con el aumento de la carga ganadera y/o el ramoneo aumente la depredación de semillas por insectos (Figura 2 d).

-Predicción 4.2: También, se espera que a medida que aumente la cantidad y/o calidad de semillas (i.e., semillas viables y el peso de semilla) se genere mayor atracción y aumente la depredación de semillas por insectos (Figura 2 e).

-Hipótesis 5: La reproducción (cantidad y calidad) y las defensas antiherbivoría de los tipos sucesionales de especies van a responder diferente ante el daño del ganado, debido a sus diferentes ciclos de vida y características. El efecto negativo del ganado será más acentuado en las especies tardías e intermedias que en las especies colonizadoras.

-Predicción 5.1: A medida que aumenten la carga ganadera y/o el ramoneo, y disminuya tamaño y el esfuerzo reproductivo, se espera que la cantidad y/o calidad de semillas en las especies tardías e intermedias disminuya más que en las especies colonizadoras (Figura 2 f).

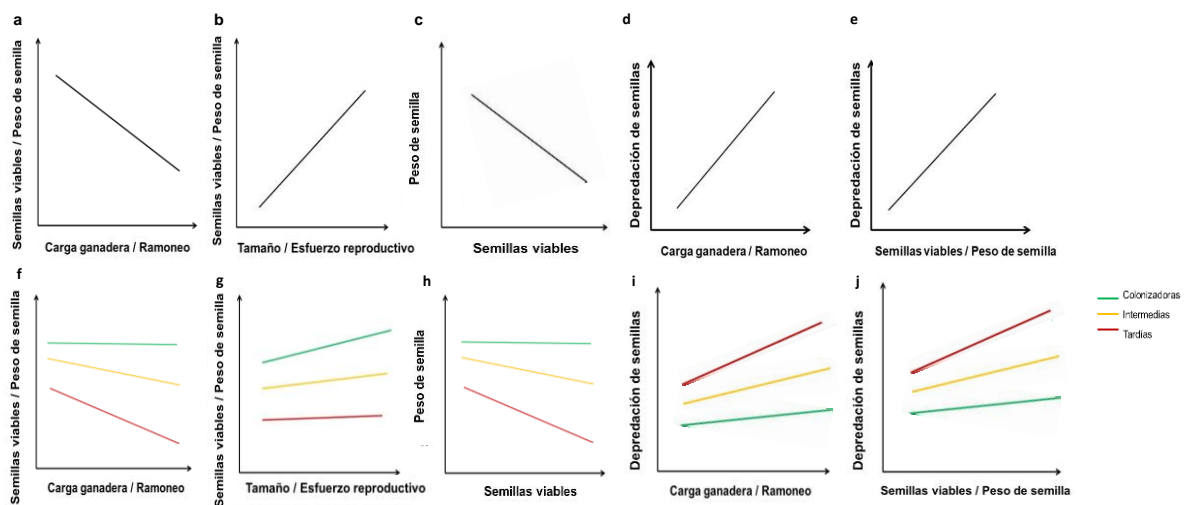
-Predicción 5.2: A medida que aumenten el tamaño y el esfuerzo reproductivo, se espera que la cantidad y/o calidad de semillas en las especies colonizadoras aumenten más que en las especies intermedias y tardías (Figura 2 g).

-Predicción 5.3: Además, se espera que a medida que aumente la cantidad de semillas viables, el peso de semillas en las especies tardías e intermedias disminuya más que en las especies colonizadoras (Figura 2 h).

-Predicción 5.4: A medida que aumenten la carga ganadera y/o el ramoneo, y la cantidad y calidad de semillas, se espera que la depredación de semillas por insectos en las especies tardías e intermedias aumente más que en las especies colonizadoras (Figura 2 i-j).

**Figura 2:** Predicciones para la hipótesis 3, 4 y 5: El daño causado por el ramoneo del ganado en la biomasa aérea y el esfuerzo reproductivo de las plantas disminuye la asignación de recursos a la cantidad y/o calidad de sus semillas y a mecanismos de defensa. Los tipos sucesionales de especies responden diferente al efecto del ganado; siendo más acentuado el efecto negativo sobre especies tardías e intermedias que sobre especies colonizadoras. a. Se espera encontrar una disminución de las semillas viables y su peso a medida que aumentan la carga ganadera y/o el ramoneo; y b. Se espera encontrar un aumento de las semillas viables y su peso a medida que aumentan el tamaño y/o el esfuerzo reproductivo. c. Se espera también encontrar una relación negativa entre las semillas viables y su peso. d. Además, se espera que aumente la depredación

de semillas por insectos a medida que aumenten la carga ganadera y/o el ramoneo; y e. a medida que aumenten las semillas viables y el peso de semilla. f. Asimismo, se espera que las semillas viables y peso de semilla en las especies tardías e intermedias disminuyan más que en las colonizadoras, a medida que aumenten la carga ganadera y/o el ramoneo; g. se espera que las semillas viables y peso de semilla en las especies colonizadoras aumenten más que en las intermedias y tardías, a medida que aumenten el tamaño y el esfuerzo reproductivo. h. Se espera que a medida que aumenten las semillas viables, el peso de semilla de las especies tardías e intermedias disminuya más que las de las colonizadoras. i. A medida que aumenten la carga ganadera y/o el ramoneo, se espera que la depredación de semillas en las especies tardías e intermedias aumente más que en las colonizadoras. j. A medida que aumenten las semillas viables y el peso de semilla, se espera que la depredación de semillas en las especies tardías e intermedias aumente más que en colonizadoras.



### Sección 3: Efectos del ganado doméstico en la capacidad germinativa

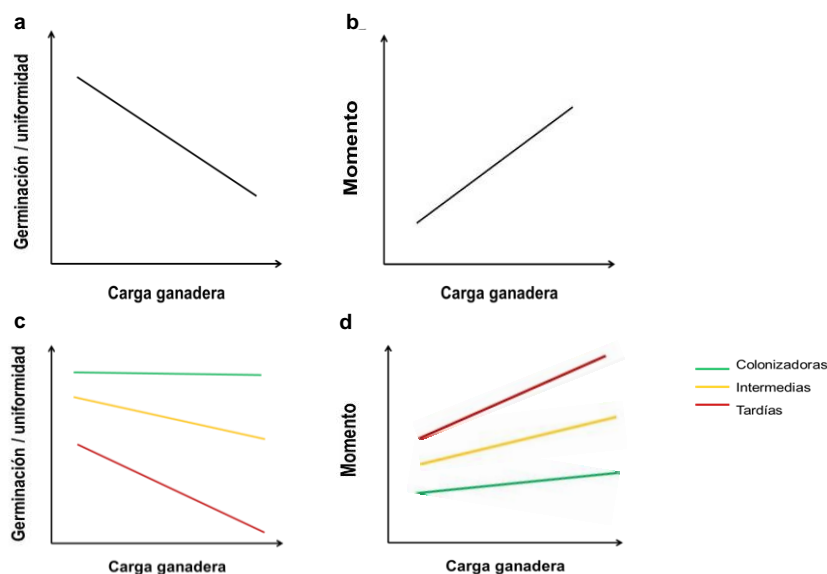
- Hipótesis 6: El ganado doméstico, al afectar negativamente la biomasa y el esfuerzo reproductivo de las plantas, disminuye los recursos disponibles, reduciendo así la cantidad y/o calidad de semillas producidas, lo que termina repercutiendo negativamente en su capacidad germinativa (i.e., tasas y tiempos y variabilidad de germinación).

-Predicción 6: A medida que aumenta la carga ganadera se espera encontrar una disminución de la germinación, y que dichas semillas tarden más en germinar (momento en que germinan) y que disminuya la variabilidad del momento en que germinan (i.e., uniformidad del tiempo de germinación) (Figura 3 a y b).

-Hipótesis 7: Los tipos sucesionales de especies responden diferente al daño causado por el ganado en la capacidad germinativa de sus semillas; siendo menos afectadas las especies colonizadoras que las especies intermedias y tardías.

-Predicción 7: Se espera que con la carga ganadera disminuya más la germinación, y tarden más en germinar las semillas y el momento sea más variable en las especies tardías e intermedias que las de especies colonizadoras (Figura 3 c y d).

**Figura 3:** Predicciones para la hipótesis 6 y 7: El efecto del ganado en la biomasa y reproducción disminuye los recursos disponibles, reduciendo así la cantidad y/o calidad de semillas producidas, lo que termina repercutiendo en su capacidad germinativa. Los tipos sucesionales de especies responden diferente al daño causado por el ganado sobre su capacidad germinativa. a. Se espera encontrar que a medida que aumenta la carga ganadera, disminuye la germinación y la variabilidad del tiempo de germinación; y, b. aumenta el momento en que germinan las semillas. c. Además, se espera que a medida que aumenta la carga ganadera, las especies tardías e intermedias muestren menor germinación y variabilidad del momento de germinación; y d. tarden más en germinar que las especies colonizadoras.



## Materiales y métodos

### *Sitio de estudio*

Los muestreos y la recolección de semillas se realizaron en el NO de la Patagonia, en la provincia de Neuquén, entre las localidades de Arroyito (39° 05' S, 68°

35' O) y Villa El Chocón (39° 17' S, 68° 55' O). La vegetación es característica de la provincia fitogeográfica del Monte (Cabrera 1966). Información detallada sobre los sitios de estudio se encuentra en la sección “Sitio de estudio” (Introducción general).

### *Especies focales*

Las especies focales son representativas de la vegetación dominante de la región del Monte, y se clasificaron según su función en la sucesión ecológica de la región, a partir de información bibliográfica y resultados previos del grupo de trabajo (Pelliza et al. 2021). Como especies colonizadoras se incluyeron: *Atriplex lampa* (Gillies ex Moquin) D. Dietrich (Gandullo et al. 1998, Villagra et al. 2011, Zuleta y Escartín 2014), *Grindelia chilensis* (Cornel.) (González 2010, Masini 2011, Beider et al. 2013), *Gutierrezia solbrigii* (Cabrera) e *Hyalis argentea* D. Don ex Hook. & Arn. (Zuleta y Escartín 2014, Gandullo et al. 2016). Se consideraron especies intermedias a: *Prosopis alpataco* (Philippi) (Zuleta y Escartín 2014), *Senna aphylla* (Cav.) H.S. Irwin & Barneby y *Chuquiraga erinacea* (Don) y como especies tardías a: *Larrea divaricata* (Cav.) (Dalmasso 2010, Zuleta y Escartín 2014), *L. cuneifolia* (Cav.) (Dalmasso 2010) y *Monttea aphylla* (Miers) Berthán et Hooker (Castro et al. 2013). Ver descripción de cada una de las especies en la sección “Especies focales” (Introducción general).

### *Recolección de muestras y mediciones*

En 10 campos se midieron entre 20 y 32 individuos al azar, separados como mínimo 10 metros entre sí, de cada especie focal y se colectaron sus frutos o semillas, totalizando 3050 plantas (10 campo x 10 especies x 20-32 individuos). Los muestreos se realizaron en la época de verano entre el 2016 y 2018 durante la etapa de fructificación de las especies. Dentro de cada campo, los muestreos se realizaron tratando de abarcar la mayor área posible para lograr un muestreo representativo de las poblaciones de cada especie en cada campo. Se midió la altura y el diámetro de la corona (m) para calcular el tamaño (altura x diámetro, m<sup>2</sup>) de cada planta muestreada y de esa forma estimar la biomasa aérea. A su vez, se estimó visualmente el ramoneo (ramas ramoneadas/total de ramas de cada planta x 100, %) y el esfuerzo reproductivo (ramas con producción de frutos y/o flores sobre el total de ramas de cada planta x 100, %). Luego en el

laboratorio, se separaron las semillas de los frutos colectados, utilizando para cada especie la metodología más adecuada, y se contó el número total de semillas y el número de semillas viables. Se consideraron semillas viables a aquellas de forma conservada y sin rastro de daños. También, se contabilizaron y luego se descartaron las semillas depredadas por insectos, con tegumento dañado y las de aspecto no viable (semillas más pequeñas que el resto o muy aplanadas). Con el recuento de semillas depredadas se estimó la depredación de semillas por insectos promedio por planta (i.e., número de semillas con indicios de depredación /total de semillas contabilizadas por planta). Para estimar la capacidad reproductiva de cada planta muestreada, se calculó el “seed set” o producción de semillas viables, como el número de semillas viables/número de semillas totales contabilizadas. Por último, como estimador de la calidad de las semillas, se pesaron las semillas viables con una balanza analítica (Mettler AJ150,  $\pm 0.00001$  g) para obtener una medida del promedio del peso de una semilla por planta (mg). Algunas especies, principalmente tardías, en campos de alta carga ganadera, presentaron un bajo número de semillas viables colectadas o incluso nulo, probablemente debido a la baja abundancia de la especie, el alto consumo de frutos por el ganado, la escasa producción de frutos y/o a la producción de frutos sin semillas viables.

#### *Experimento de germinación de plántulas*

Para estimar el efecto del ganado sobre la germinación, se sembraron las semillas viables en macetas de 20 cm de profundidad y 10 cm de diámetro rellenas de tierra fértil en condiciones de invernadero. Las semillas se regaron semanalmente a demanda para mantener la humedad del suelo. Se estimó la germinación a través del monitoreo de la emergencia de las plántulas, a partir de una submuestra de 1392 plantas madres. La emergencia de las plántulas se registró semanalmente para luego estimar su edad. Para cada planta madre, se estimó la germinación (i.e., el número de plántulas emergidas/total de semillas sembradas), y el tiempo medio de germinación, como los días transcurridos hasta que emergió cada plántula (i.e., la diferencia entre la fecha de emergencia y la fecha de siembra), para luego estimar el efecto del ganado sobre la capacidad germinativa de cada tipo de especie. También, se calculó la variabilidad del tiempo de germinación por planta (i.e., desviación estándar del tiempo medio de

germinación /tiempo medio de germinación, adaptación de Santana y Ranal (2006)), que es una medida de dispersión relativa que mide la variabilidad entre las semillas en relación con el tiempo medio de germinación de la muestra, lo cual permite realizar comparaciones, independientemente de la magnitud del tiempo medio de germinación (Ranal y Santana, 2006).

### *Análisis de datos*

#### Sección 1: Efectos del ganado doméstico en la biomasa y esfuerzo reproductivo

Para estudiar el efecto del ganado en la biomasa y esfuerzo reproductivo de las plantas consumidas, se realizaron modelos lineales generalizados mixtos (GLMM), utilizando como variables respuesta al tamaño, el esfuerzo reproductivo y el ramoneo, según corresponda. Las variables independientes fueron la carga ganadera, el ramoneo, y el tipo sucesional de especie, y la interacción entre la carga/ramoneo con el tipo de especie (e.g., *carga ganadera \* tipo de especie*) como efectos fijos. Dado que la unidad muestral es de individuo, los modelos incluyeron a la especie anidada en el campo ganadero como efecto aleatorio, siendo válido para todas las secciones (Tabla 1). La diferencia entre la carga ganadera y el ramoneo como variables independientes, es que la primera es una medida indirecta del efecto del ganado y la otra es una medida directa del daño ocasionado por el mismo a las plantas. Al usar la carga ganadera como variable independiente del tamaño y el esfuerzo reproductivo de las plantas, se evalúa la asociación general entre la presencia de ganado en el campo y su efecto sobre la comunidad de plantas, lo cual incluye los efectos directos e indirectos del ganado sobre las plantas, lo que podría incorporar mayor variación en las variables respuestas. Mientras que al usar el porcentaje de ramoneo/planta como variable independiente, se considera la relación directa entre el daño y la respuesta individual de cada planta. Esto es válido para todas las secciones. Los análisis estadísticos y gráficos de todas las secciones se realizaron utilizando el programa R 3.4.4 (R Development Core Team 2017). Cuando correspondía se realizaron análisis a posteriori para el tipo de especie, con el método de Tukey utilizando el comando “glht” del paquete “multcomp” (Hothorn et al. 2007, 2020). El ramoneo y el esfuerzo reproductivo, como variables respuestas, se transformaron en proporciones y se modelaron con una distribución Beta, sugerida para tasas y proporciones (Ferrari et al. 2010), con la función “logistic link” del paquete



“GlmADMB” (Skaug et al. 2018). El tamaño, como variable respuesta, se transformó a su logaritmo ( $\log_{10}(x + 1)$ ) para cumplir con los supuestos de normalidad y se analizaron con una distribución normal, utilizando el paquete “nlme”, incluyendo una corrección por heterogeneidad de varianza entre los tipos de especies mediante la función “weights” ( $\text{weights} = \text{varIdent}(\text{form}=\sim 1|\text{tipo de especie})$ ) y una función de autocorrelación ( $\text{corCompSymm}(\text{form}=\sim 1|\text{campo/especie})$ ) (John et al. 2021, Pinheiro et al. 2021).

Asimismo, las variables respuesta (tamaño, esfuerzo reproductivo y ramoneo) se analizaron para cada tipo sucesional de especie (colonizadoras, intermedias y tardías) por separado. Para estos modelos también se utilizaron a la carga ganadera o al ramoneo como variables independientes (Tabla 1). Para reportar la significancia de los resultados se tuvo en cuenta los siguientes valores de  $P$ :  $P < 0.05^*$ ,  $P < 0.001^{**}$ ,  $P < 0.0001^{***}$ ,  $0.10 > P > 0.05$  (marginamente significativo) y  $P > 0.10$  *ns.*: no significativo.

## Sección 2: Efectos del ganado doméstico en la cantidad y calidad de semillas

Para estudiar el efecto del ganado en la cantidad y calidad de semillas y la depredación de semillas por insectos, se utilizaron como variables respuestas el porcentaje de semillas viables, peso medio de semilla (mg) y el porcentaje de depredación de semillas por insectos por planta. Como variables independientes se utilizó separadamente a la carga ganadera, ramoneo, tamaño, esfuerzo reproductivo, semillas viables y peso medio de semilla (Tabla 1). Las variables independientes fueron la carga ganadera, el ramoneo, y el tipo sucesional de especie, y la interacción entre la carga/ramoneo con el tipo de especie (e.g., *carga ganadera \* tipo de especie*) como efectos fijos. La proporción de semillas viables y de depredación de semillas por insectos se modelaron con una distribución Binomial aplicando la función “logit link” del paquete “lme4” (Bates et al. 2014, 2019). El peso medio de semilla se ajustó a una distribución Gamma con la función “log link” (Zuur et al. 2009). Por último, para evaluar la respuesta al ganado (en cuanto a pendiente y significancia) de cada tipo sucesional de especie, se corrieron los mismos modelos con las correspondientes variables respuesta para cada tipo de especie por separado (i.e., colonizadoras, intermedias y tardías).

### Sección 3: Efectos del ganado doméstico en la capacidad germinativa

Para estudiar el efecto del ganado en la capacidad de germinación de los diferentes tipos de especies sucesionales, se utilizaron modelos lineales generalizados mixtos (GLMM). Las variables respuesta fueron la germinación (emergencia de plántulas/total de semillas sembradas), el tiempo medio de germinación (días) y la variabilidad de germinación por planta (desviación estándar del tiempo de emergencia medio/tiempo de emergencia medio). Las variables independientes fueron la carga ganadera, el ramoneo, y el tipo sucesional de especie, y la interacción entre la carga/ramoneo con el tipo de especie (e.g., *carga ganadera \* tipo de especie*) como efectos fijos. El tiempo medio de germinación se ajustó a una distribución Gamma para datos continuos positivos, comúnmente utilizada para el tiempo entre eventos (Zuur et al. 2009). La germinación se modeló con una distribución Binomial (datos binarios por planta, es decir, plántulas emergidas y semillas no emergidas, aplicando la función "logit link" del paquete "lme4" (Bates et al. 2014, 2019). La variabilidad también se modeló con una distribución Beta, sugerida para tasas y proporciones (Ferrari et al. 2010), con la función "logit link" del paquete "GlmADMB" (Skaug et al. 2018).

Asimismo, cada variable respuesta se analizó por separado para cada tipo de especie sucesional (para las especies colonizadoras, intermedias y tardías), con la carga ganadera como variable independiente (Tabla 1). Las especies tardías tuvieron una germinación de plántulas muy baja siendo nula en la mayoría de los casos, por lo que no fue posible evaluar el tiempo medio de germinación y la variabilidad en estos tipos de especies.

**Tabla 1.** Detalle de los modelos estadísticos utilizando modelos lineales mixtos generalizados (GLMM) realizados en el programa "R". Las variables respuestas (tamaño, esfuerzo reproductivo, ramoneo, semillas viables, peso de semilla, depredación de semillas, germinación, tiempo de germinación y variabilidad de germinación), variables independientes (carga ganadera, ramoneo, tamaño, esfuerzo reproductivo, semillas viables y peso de semilla) en interacción con el tipo sucesional de especies (colonizadoras, intermedias y tardías), y efecto aleatorio (la especie anidada en el campo ganadero), con sus correspondientes distribuciones estadísticas. Primero se muestran los modelos generales con interacción entre efectos fijos y luego los modelos para cada tipo sucesional de especie por separado.

Variable respuesta	Tipo sucesional de especie	Variable predictora	Efecto fijo	Efecto aleatorio	Distribución estadística
Tamaño		Carga ganadera	Carga ganadera*tipo de especie	Campo/especie	Normal

		Ramoneo	Ramoneo *tipo de especie	Campo/especie	Normal
<b>Esfuerzo reproductivo</b>		Carga ganadera	Carga ganadera*tipo de especie	Campo/especie	Beta
		Ramoneo	Ramoneo *tipo de especie	Campo/especie	Beta
<b>Ramoneo</b>		Carga ganadera	Carga ganadera*tipo de especie	Campo/especie	Beta
<b>Semillas viables</b>		Carga ganadera	Carga ganadera*tipo de especie	Campo/especie	Binomial
		Ramoneo	Ramoneo*tipo de especie	Campo/especie	Binomial
		Tamaño	Tamaño*tipo de especie	Campo/especie	Binomial
		Esfuerzo reproductivo	Esfuerzo reproductivo*tipo de especie	Campo/especie	Binomial
<b>Peso de semilla</b>		Carga ganadera	Carga ganadera*tipo de especie	Campo/especie	Gamma
		Ramoneo	Ramoneo*tipo de especie	Campo/especie	Gamma
		Tamaño	Tamaño*tipo de especie	Campo/especie	Gamma
		Esfuerzo reproductivo	Esfuerzo reproductivo*tipo de especie	Campo/especie	Gamma
		Semillas viables	Semillas viables*tipo de especie	Campo/especie	Gamma
<b>Depredación de semillas por insectos</b>		Carga ganadera	Carga ganadera*tipo de especie	Campo/especie	Binomial
		Ramoneo	Ramoneo*tipo de especie	Campo/especie	Binomial
		Semillas viables	Semillas viables*tipo de especie	Campo/especie	Binomial
		Peso de semilla	Peso de semilla*tipo de especie	Campo/especie	Binomial
<b>Germinación</b>		Carga ganadera	Carga ganadera*tipo de especie	Campo/especie	Binomial
<b>Tiempo de germinación</b>		Carga ganadera	Carga ganadera*tipo de especie	Campo/especie	Gamma
<b>Variabilidad de germinación</b>		Carga ganadera	Carga ganadera*tipo de especie	Campo/especie	Beta
<b>Tamaño</b>	Colonizadoras				
	Intermedias	Carga ganadera	Carga ganadera		
	Tardías				
	Colonizadoras			Campo/especie	Normal
	Intermedias	Ramoneo	Ramoneo		
<b>Esfuerzo reproductivo</b>	Colonizadoras				
	Intermedias	Carga ganadera	Carga ganadera		
	Tardías				
	Colonizadoras			Campo/especie	Beta
	Intermedias	Ramoneo	Ramoneo		
<b>Ramoneo</b>	Tardías				
	Colonizadoras	Carga ganadera	Carga ganadera	Campo/especie	Beta
	Intermedias				
<b>Semillas viables</b>	Colonizadoras				
	Intermedias	Carga ganadera	Carga ganadera		
	Tardías				
	Colonizadoras			Campo/especie	Binomial
	Intermedias	Ramoneo	Ramoneo		
	Tardías				
	Colonizadoras				
	Intermedias	Tamaño	Tamaño		
	Intermedias				

	Tardías				
	Colonizadoras				
	Intermedias	Esfuerzo reproductivo	Esfuerzo reproductivo		
	Tardías				
	Colonizadoras				
	Intermedias	Carga ganadera	Carga ganadera		
	Tardías				
	Colonizadoras				
	Intermedias	Ramoneo	Ramoneo		
	Tardías				
	Colonizadoras				
<b>Peso de semilla</b>	Intermedias	Tamaño	Tamaño	Campo/especie	Gamma
	Tardías				
	Colonizadoras				
	Intermedias	Esfuerzo reproductivo	Esfuerzo reproductivo		
	Tardías				
	Colonizadoras				
	Intermedias	Semillas viables	Semillas viables		
	Tardías				
	Colonizadoras				
	Intermedias	Carga ganadera	Carga ganadera		
	Tardías				
	Colonizadoras	Ramoneo			
	Intermedias		Ramoneo		
	Tardías				
<b>Depredación de semillas</b>	Colonizadoras			Campo/especie	Binomial
	Intermedias	Semillas viables	Semillas viables		
	Tardías				
	Colonizadoras				
	Intermedias	Peso de semilla	Peso de semilla		
	Tardías				
<b>Germinación</b>	Colonizadoras				
	Intermedias	Carga ganadera	Carga ganadera	Campo/especie	Binomial
	Tardías				
<b>Tiempo de germinación</b>	Colonizadoras				
	Intermedias	Carga ganadera	Carga ganadera	Campo/especie	Gamma
	Tardías				
<b>Variabilidad de germinación</b>	Colonizadoras				
	Intermedias	Carga ganadera	Carga ganadera	Campo/especie	Beta
	Tardías				

### *Análisis de vías: D-sep*

Se evaluó un modelo causal hipotético (Figura 4) que pone a prueba el efecto de la carga ganadera (CG) sobre el tiempo (T) y el porcentaje de germinación (G) a través del ramoneo (R), esfuerzo reproductivo (ER), semillas viables (SV) y/o el peso de semilla (PS) (Figura 9). Se utilizó un análisis de vías confirmatorio multinivel, utilizando el método “D-sep” (Shipley 2009). El análisis de vías proporciona una estimación de la magnitud y la importancia de las hipotéticas conexiones causales entre conjuntos de variables, dividiendo la variación de los datos observacionales en componentes causales y no causales (Shipley 2009). Así se genera un diagrama de “cajas” (variable) y “flechas” (efecto) que muestra cómo los efectos causales deben fluir a través del sistema estudiado (Shipley 2009). En este diagrama, las flechas representan la dirección de las relaciones causales entre las variables y la pendiente de cada regresión representa la fuerza de esa relación (Shipley 2016). La prueba D-sep de un modelo hipotético causal determina la dependencia o independencia de pares de variables (V1, V2) tras mantener estadísticamente constantes otras variables (V3, y, Vn). Esto se aplica independientemente de la naturaleza de las variables, el tipo de distribución de probabilidad o la forma funcional de sus relaciones (es decir, lineal o no lineal). El conjunto de “claims” de independencia (i.e., variables que no están asociadas) implícitos en la Figura 4 (el modelo causal hipotético) se utilizaron para calcular la base de BU sensu Shipley (2009), que se muestra en la Tabla 3. La BU consiste en los N “claims” de independencia que prueban todo el conjunto de patrones de dependencia e independencia estadística implicados por el modelo causal propuesto. El ajuste del modelo se calculó con la Ecuación 1, comparando C con una distribución  $\chi^2$  con  $2k$  grados de libertad (donde  $k$  es el número de afirmaciones independientes) (Shipley 2009). La ecuación 1 combina todas las probabilidades nulas ( $p_i$ ) para cada afirmación de independencia. El modelo se rechaza si C está por debajo del nivel de significación elegido ( $P = 0.05$ ) (Shipley 2009).

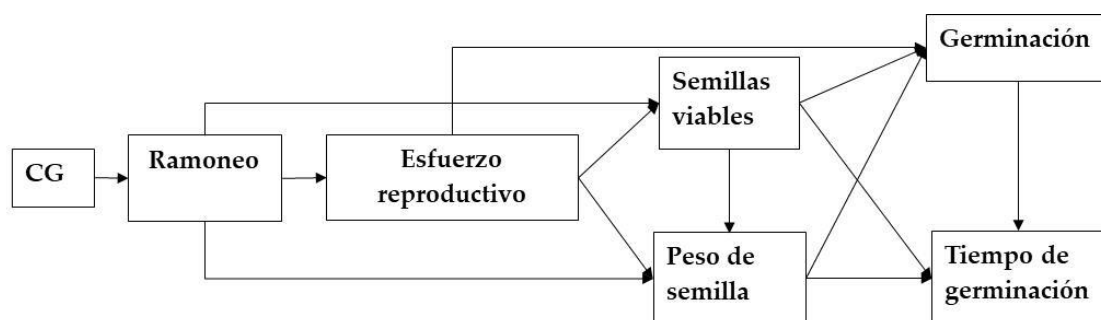
$$C = -2 \sum_{i=1}^k \ln(p_i). \quad (1)$$

En el modelo propuesto, se utiliza la carga ganadera como proxy del gradiente de pastoreo. Las pendientes de las regresiones se muestran encima de cada flecha en el modelo de vías (Figura 4) y representan la fuerza y el signo de la interacción entre las

variables (Shipley 2000, 2009). El ramoneo, el esfuerzo reproductivo, el porcentaje de semillas viables, el peso medio de semilla, la germinación y el tiempo medio de germinación se analizaron como se mencionó anteriormente (Tabla 2).

La asociación entre cada par de variables depende de las relaciones directas e indirectas (Legendre y Legendre 1998). Para obtener el efecto indirecto total de la carga ganadera sobre la capacidad germinativa, multiplicamos los coeficientes estimados para cada par de variables implicadas en cada posible vía indirecta. Luego, sumamos todos los efectos de las vías indirectas y directas para estimar la covariación total ( $r$ ) (Legendre y Legendre 1998, Shipley 2000).

**Figura 4:** Modelo causal hipotético “D-sep” que describe los efectos directos e indirectos del ganado en la capacidad germinativa.



**Tabla 2:** Conjunto de “claims” del modelo “D-sep” implicados por la Figura 4 (modelo causal) utilizados para calcular la base de “BU” sensu Shipley (2009). Las regresiones entre variables tuvieron en cuenta los efectos aleatorios del individuo anidado en las especies, anidadas en los campos ganaderos. El ajuste del modelo se calculó con la Ecuación 1, comparando C con una distribución  $\chi^2$  con  $2k$  grados de libertad (donde  $k$  es el número de “claims” independientes). La ecuación 1 combina todas las probabilidades nulas ( $p_i$ ) para cada “claim” de independencia. El modelo se rechaza si C está por debajo del nivel de significación elegido. Las abreviaturas son las siguientes: Carga ganadera (CG), porcentaje de ramoneo (R), esfuerzo reproductivo (ER), porcentaje de semillas viables (SV), peso medio de semilla (PS), porcentaje de germinación (G), tiempo de germinación (TG), campo ganadero (campo), especie (sp) e individuo (ind).

“Claims” de independencia D-sep	Variable con pendiente cero	Modelos mixtos	Distribución estadística	Valores <i>P</i>
CG, ER   R	CG	ER ~ CG + R + (1 campo/sp/ind)	Beta	<i>P</i> = 0.72
CG, SV   R, PS, G, TG	CG	SV ~ CG + R + SW + %G + GT + (1 campo/sp/ind)	Binomial	<i>P</i> = 0.73
CG, SW   R, G, TG	CG	PS ~ CG + R + G + TG + (1 campo/sp/ind)	Gamma	<i>P</i> = 0.66
CG, G   R, TG	CG	G ~ CG + R + TG + (1 campo/sp/ind)	Binomial	<i>P</i> = 0.33
CG, TG   R	CG	TG ~ CG + R + (1 campo/sp/ind)	Gamma	<i>P</i> = 0.42
R, PS   ER, G, TG	R	SV ~ R + ER + G + TG + (1 campo/sp/ind)	Binomial	<i>P</i> = 0.70
R, TG   ER, G	R	TG ~ R + ER, G + (1 campo/sp/ind)	Gamma	<i>P</i> = 0.64
ER, TG   SV, PS, G	ER	TG ~ RE + SS + SW + %G + (1 campo/sp/ind)	Gamma	<i>P</i> = 0.72
R, SV   RE, G, SW, TG	R	SV ~ R + ER + G + PS + TG + (1 campo/sp/ind)	Binomial	<i>P</i> = 0.38
R, G   ER, TG	R	G ~ R + ER + TG + ((1 campo/sp/ind)	Binomial	<i>P</i> = 0.47
ER, G   SV, PS	ER	G ~ ER + SV + PS + (1 campo/sp/ind)	Binomial	<i>P</i> = 0.78
SV, TG   PS	SV	TG ~ SV + PS + (1 campo/sp/ind)	Gamma	<i>P</i> = 0.39
PS, TG   G	PS	TG ~ PS + G + (1 campo/sp/ind)	Gamma	<i>P</i> = 0.68

**Tabla 3:** Ecuaciones utilizadas para estimar los parámetros del modelo “D-sep” de la Figura 4. Las abreviaturas son las siguientes: Carga ganadera (CG), porcentaje de ramoneo (R), esfuerzo reproductivo (ER), porcentaje de semillas viables (SV), peso medio de semilla (PS), porcentaje de germinación (G), tiempo de germinación (TG), campo ganadero (campo), especies (sp) e individuos (ind).

Variable respuesta	Efectos fijos	Efecto aleatorio	Distribución
--------------------	---------------	------------------	--------------

<b>R</b>	CG	campo/sp/ind	Beta
<b>ER</b>	R	campo/sp/ind	Beta
<b>SV</b>	ER	campo/sp/ind	Binomial
<b>PS</b>	ER+SV	campo/sp/ind	Gamma
<b>TG</b>	G	campo/sp/ind	Gamma
<b>G</b>	SV	campo/sp/ind	Binomial

## Resultados

### Sección 1: Efectos del ganado doméstico en la biomasa y esfuerzo reproductivo

#### *Efecto del ganado sobre el tamaño de las plantas*

En general el tamaño de las plantas no se asoció significativamente con la carga ganadera ( $\beta = 0.03$ ,  $gl = 3035$ ,  $P = 0.38$ , Figura 5 a), los distintos tipos sucesionales de especies difirieron significativamente en su tamaño promedio ( $\chi^2 = 213$ ,  $gl = 2$ ,  $P < 0.0001$ , Figura 5 d). Las especies colonizadoras fueron las de tamaño más pequeño, seguidas por las intermedias, siendo las tardías las de mayor tamaño. No se observó interacción de los tipos de especies con la carga ganadera ( $\chi^2_{\text{carga*tipo de especies}} = 2.27$ ,  $gl = 2$ ,  $P = 0.32$ ). El tamaño de las especies colonizadoras e intermedias no mostraron asociación con la carga ganadera (los  $P > 0.32$ , Figura 6 a y b), aunque las tardías tuvieron una tendencia a asociarse negativamente con la carga ganadera ( $\beta = -0.05$ ,  $gl = 646$ ,  $P = 0.16$ ), aunque no fue estadísticamente significativa (Figura 6 c).

El tamaño de las plantas se asoció negativa y significativamente con el ramoneo ( $\beta = -0.11$ ,  $gl = 2995$ ,  $P < 0.0001$ , Figura 7 a), aunque los distintos tipos de especies mostraron distintos tamaños ( $\chi^2 = 213$ ,  $gl = 2$ ,  $P < 0.0001$ ) y respondieron de forma diferente al ramoneo (i.e., interacción significativa entre los factores,  $\chi^2_{\text{ramoneo*tipo de especies}} = 21.3$ ,  $gl = 2$ ,  $P < 0.0001$ ). Al analizar por separado el efecto del ramoneo sobre el tamaño de las plantas para cada tipo sucesional de especies, se observó que con el aumento del ramoneo, el tamaño de las colonizadoras disminuyó significativamente ( $\beta = -0.10$ ,  $gl = 1686$ ,  $P < 0.0001$ , Figura 7 c), mientras que el tamaño de las intermedias



aumentó significativamente ( $\beta = 0.12$ ,  $gl = 657$ ,  $P = 0.045$ ; Figura 7 d) y el tamaño de las tardías no mostró asociación ( $\beta = 0.03$ ,  $gl = 646$ ,  $P = 0.45$ , Figura 7 e).

#### *Efecto del ganado sobre el esfuerzo reproductivo de las plantas*

En general, el esfuerzo reproductivo de plantas no se asoció con la carga ganadera ( $\beta = 0.279$ ,  $gl = 2999$ ,  $P = 0.715$ , Figura 5 b). Los tipos sucesionales de especies presentaron esfuerzos reproductivos significativamente diferentes entre sí ( $\chi^2 = 10.48$ ,  $gl = 2$ ,  $P = 0.005$ , Figura 5 e), siendo las especies colonizadoras las que en promedio mostraron un mayor esfuerzo reproductivo. No se observó interacción entre el tipo sucesional de especies y la carga ganadera para esta variable ( $\chi^2_{\text{carga*tipo de especies}} = 0.502$ ,  $gl = 2$ ,  $P = 0.78$ ). El esfuerzo reproductivo de las colonizadoras, intermedias y tardías, analizadas por separado, no mostraron asociación con la carga ganadera (todos los  $P > 0.292$ , Figura 6 d-f).

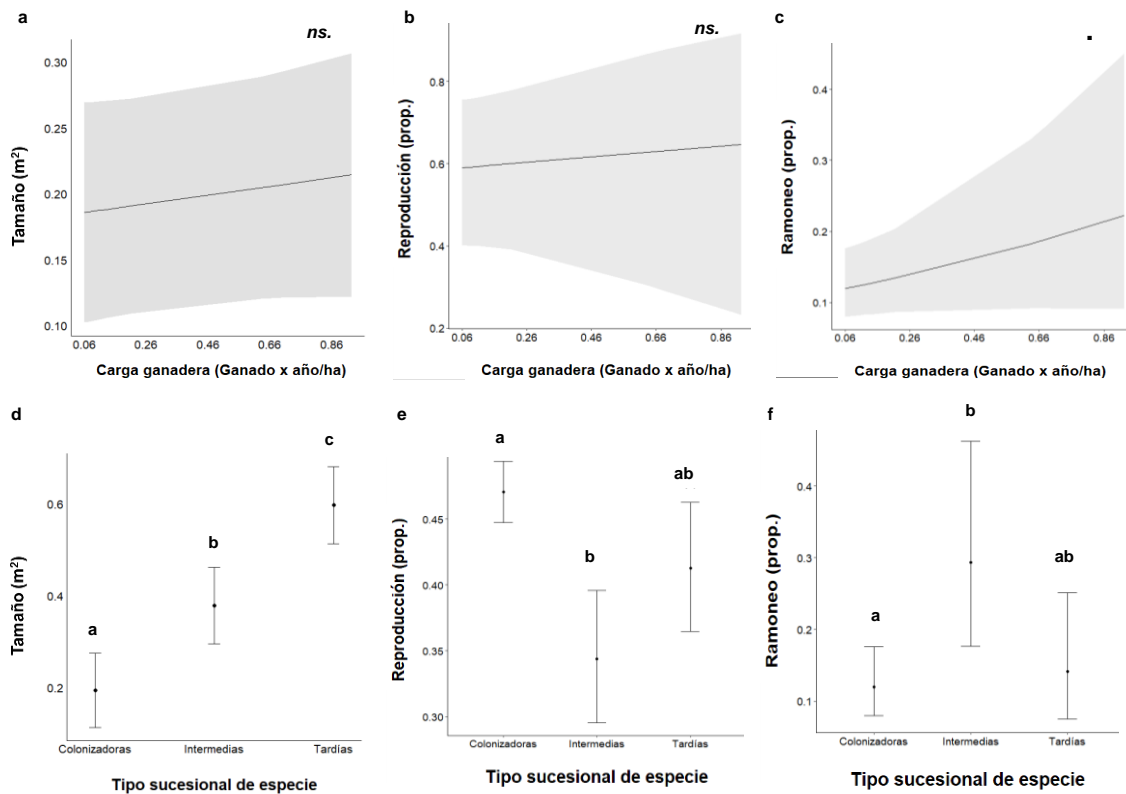
El ramoneo disminuyó significativamente el esfuerzo reproductivo de las plantas ( $\beta = -1.327$ ,  $gl = 2755$ ,  $P < 0.0001$ , Figura 7 b). Esta variable fue en promedio diferente entre cada tipo sucesional de especies ( $\chi^2 = 49.7$ ,  $gl = 2$ ,  $P < 0.0001$ ), los cuales respondieron de forma diferente al ramoneo (interacción entre factores,  $\chi^2_{\text{ramoneo*tipo de especies}} = 219.7$ ,  $gl = 2$ ,  $P < 0.0001$ ). Al analizar el efecto del ramoneo sobre el esfuerzo reproductivo de los tipos de especies por separado, se observó que todas las especies disminuyeron significativamente su esfuerzo reproductivo con el ramoneo, aunque con distinta pendiente ( $\beta = -1.244$ ,  $gl = 1686$ ,  $P < 0.0001$ ;  $\beta = -0.78$ ,  $gl = 404$ ,  $P = 0.006$ ;  $\beta = -0.41$ ,  $gl = 649$ ,  $P = 0.033$ ; respectivamente, Figura 7 f-g). Las especies colonizadoras fueron las que presentaron una mayor pendiente negativa (Figura 7 f).

#### *Ramoneo de las plantas en función de la carga ganadera*

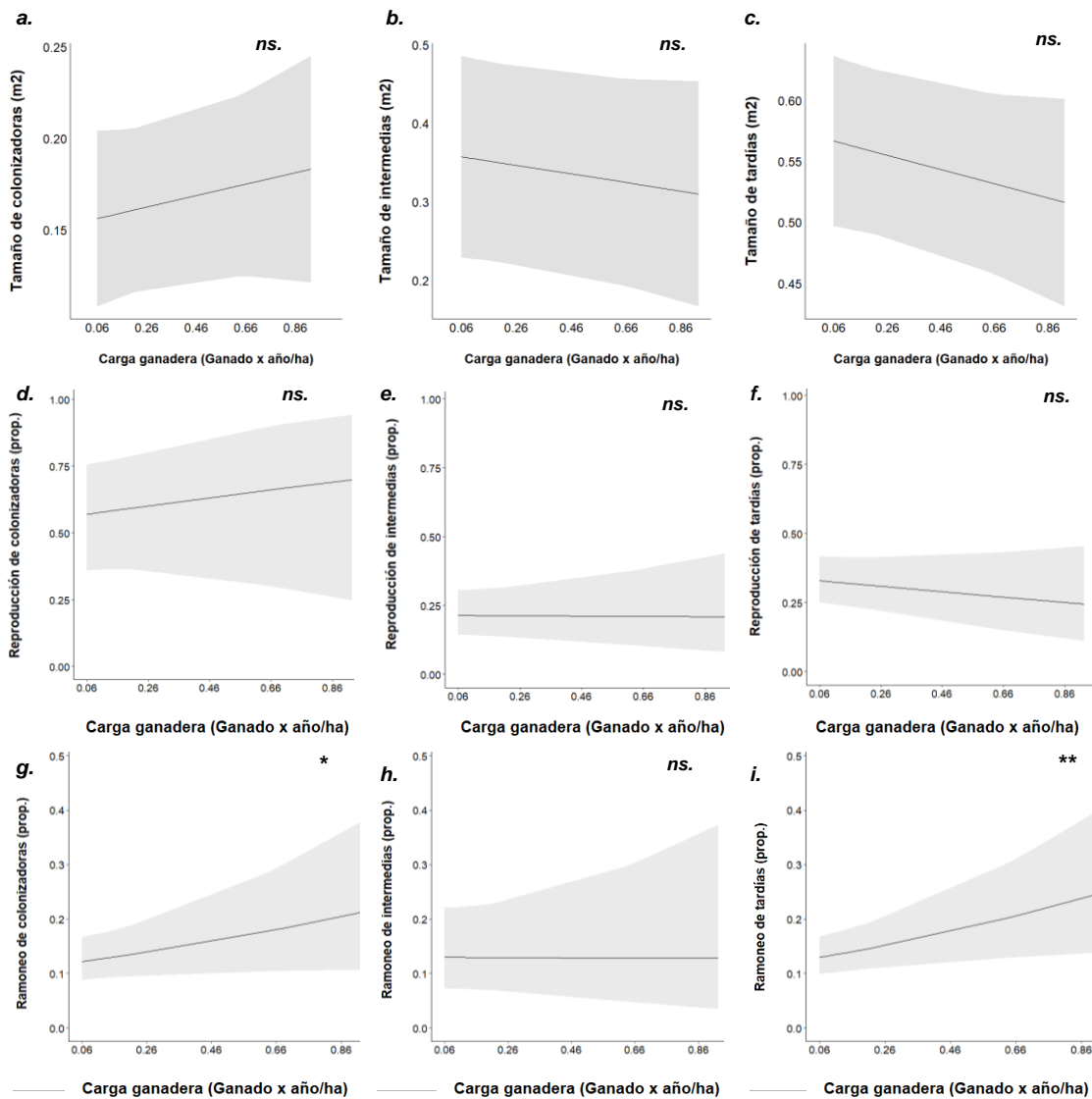
Con el aumento de la carga ganadera aumentó el ramoneo de las plantas ( $\beta = 0.862$ ,  $gl = 2999$ ,  $P = 0.09$ , Figura 5 c), aunque marginalmente. El ramoneo promedio en cada tipo sucesional de especies fue diferente ( $\chi^2 = 11.983$ ,  $gl = 2$ ,  $P = 0.002$ , Figura 5 f), siendo las especies intermedias las que presentan mayor porcentaje promedio de ramoneo. El ramoneo de cada tipo sucesional de especies varió de manera similar con la

carga ganadera, es decir, no hubo interacción entre la carga ganadera y el tipo de especies ( $\chi^2_{\text{carga*tipo de especies}} = 0.690$ ,  $gl = 2$ ,  $P = 0.708$ ). Sin embargo, al analizar la relación de la carga ganadera con el ramoneo para cada tipo de especies por separado, se observó que en las colonizadoras y tardías el ramoneo aumentó significativamente con la carga ganadera ( $\beta = 0.824$ ,  $gl = 1684$ ,  $P = 0.014$ ;  $\beta = 0.921$ ,  $gl = 648$ ,  $P = 0.009$ , respectivamente, Figura 11 A y C), mientras que en especies intermedias no mostró variación significativa ( $\beta = 0.376$ ,  $gl = 658$ ,  $P = 0.673$ , Figura 11 B).

**Figura 5.** Relación entre el tamaño, el esfuerzo reproductivo y el ramoneo de las plantas según la carga ganadera ( $\text{ganado.año.ha}^{-1}$ ) y el tipo sucesional de especie del Monte Patagónico. Se muestran los valores ajustados e intervalos de confianza (95%, en gris) del logaritmo del tamaño obtenido con distribución normal y del esfuerzo reproductivo y ramoneo de las plantas obtenidos con GLMM y distribución Beta. a. Tamaño ( $\text{m}^2$ ). b. Esfuerzo reproductivo (proporción). c. Ramoneo (proporción). Promedio  $\pm$  IC (95%) para cada tipo sucesional de especie del: d. Tamaño de las plantas ( $\text{m}^2$ ), e. Esfuerzo reproductivo (proporción). F. Ramoneo (proporción).  $P < 0.05^*$ ,  $P < 0.001^{**}$ ,  $P < 0.0001^{***}$ ,  $0.10 < P > 0.05^*$  (marginamente significativo),  $P > 0.10$  ns.: no significativo. La letra denota diferencias significativas (prueba post-hoc de Tukey) entre los niveles de los factores.

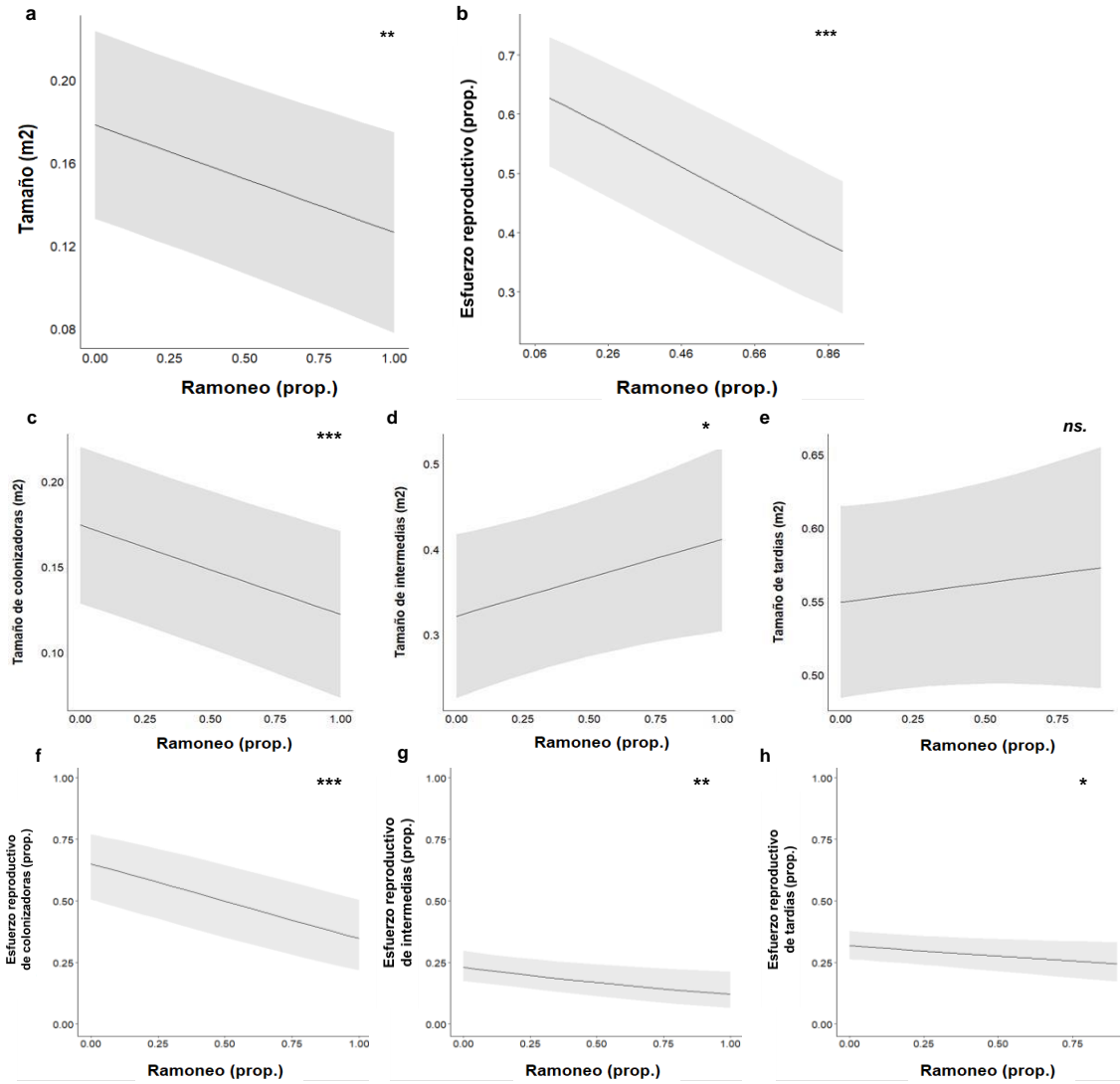


**Figura 6.** Relación entre la carga ganadera y el tamaño, el esfuerzo reproductivo y el ramoneo de las plantas del Monte Patagónico para cada el tipo sucesional de especie por separado. Se muestran los valores ajustados e intervalos de confianza (95%, en gris) del logaritmo del tamaño ( $m^2$ ) obtenido con distribución normal y del ramoneo (proporción) y esfuerzo reproductivo (proporción) de las plantas obtenidos con GLMM y distribución Beta. Carga ganadera (ganado x año x  $ha^{-1}$ ) versus: a. Tamaño de colonizadoras ( $m^2$ ), b. Tamaño de intermedias, c. Tamaño de tardías ( $m^2$ ), d. Esfuerzo reproductivo de colonizadoras (prop.), e. Esfuerzo reproductivo de intermedias (prop.), f. Esfuerzo reproductivo de tardías (prop.). g. Ramoneo de colonizadoras (prop.), h. Ramoneo de intermedias (prop.), i. Ramoneo de tardías (prop.),  $P < 0.05^*$ ,  $P < 0.001^{**}$ ,  $P < 0.0001^{***}$ ,  $0.10 < P > 0.05^{\cdot}$  (marginamente significativo),  $P > 0.10$  ns.: no significativo.



**Figura 7.** Relaciones entre el ramoneo (variable independiente) con el tamaño y el esfuerzo reproductivo de las plantas del Monte Patagónico y para cada tipo sucesional de especies por separado. Se muestran los valores ajustados e intervalos de confianza (95%, en gris) del

logaritmo del tamaño con distribución normal y del esfuerzo reproductivo obtenidos con un GLMM con distribución Beta. Ramoneo (proporción) vs. a. Tamaño ( $m^2$ ). b. Esfuerzo reproductivo (proporción). Regresiones para cada tipo sucesional de especie entre el ramoneo vs. c. Tamaño de colonizadoras ( $m^2$ ), d. Tamaño de intermedias ( $m^2$ ), e. Tamaño de tardías ( $m^2$ ), f. Esfuerzo reproductivo de colonizadoras (prop.), g. Esfuerzo reproductivo de intermedias (prop.), h. Esfuerzo reproductivo de tardías (prop.).  $P < 0.05^*$ ,  $P < 0.001^{**}$ ,  $P < 0.0001^{***}$ ,  $0.10 < P > 0.05^{\cdot}$  (marginamente significativo),  $P > 0.10$  *ns.*: no significativo.



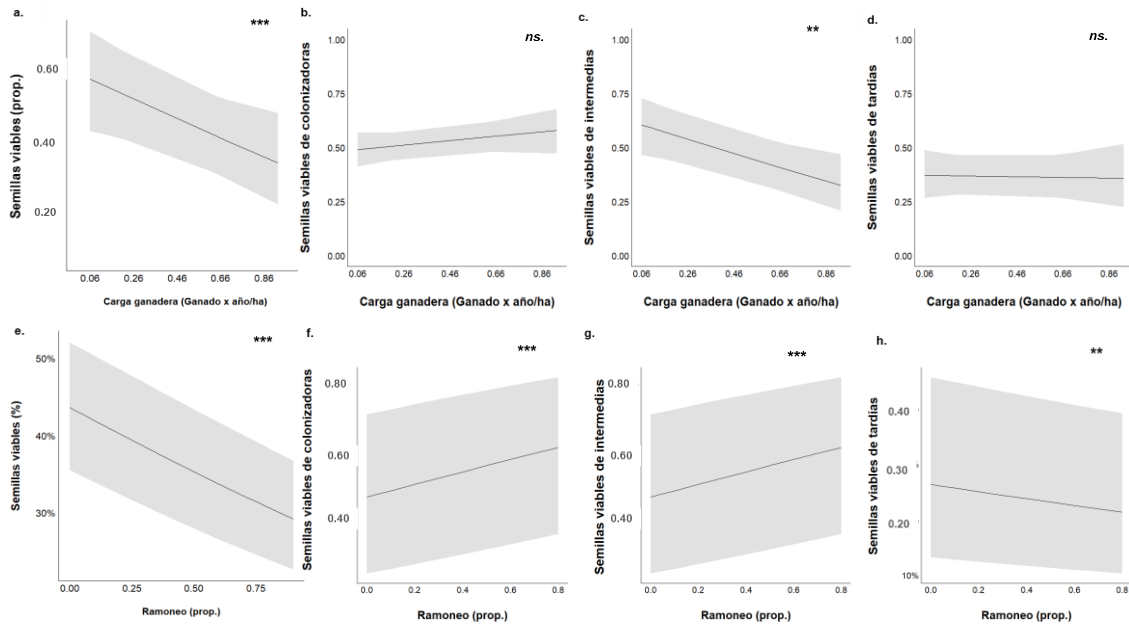
## Sección 2: Efectos del ganado doméstico en la cantidad y calidad de semillas producidas

### *Efecto del ganado en la cantidad de semillas viables*

En general, a medida que aumentó la carga ganadera, la producción de semillas viables disminuyó significativamente ( $\beta = -1.1$ ,  $gl = 1813$ ,  $P = 0.015$ , Figura 8 a). Sin embargo, los tipos sucesionales de especies no se diferenciaron significativamente en su producción de semillas viables ( $\chi^2 = 2.01$ ,  $gl = 2$ ,  $P = 0.37$ ). Se observó una interacción entre el tipo sucesional de especies y la carga ganadera para esta variable ( $\chi^2_{\text{carga*tipo de especies}} = 200.8$ ,  $gl = 2$ ,  $P < 0.0001$ ). La producción de semillas viables en especies intermedias disminuyó significativamente con el aumento de la carga ganadera ( $\beta = -1.34$ ,  $gl = 530$ ,  $P = 0.003$ , Figura 8 c), mientras que en las especies colonizadoras y tardías no mostraron asociación significativa con la carga ganadera (todos los  $P > 0.2$ , Figura 8 b y d).

Asimismo, la producción de semillas viables disminuyó con el ramoneo ( $\beta = -0.41$ ,  $gl = 1259$ ,  $P < 0.0001$ , Figura 8 e). Aunque, la producción promedio de semillas viables no fue significativamente diferente entre los tipos sucesionales de especies ( $\chi^2 = 0.92$ ,  $gl = 2$ ,  $P = 0.63$ ). Sin embargo, los tipos de especies respondieron de forma diferente al ramoneo ( $\chi^2_{\text{ramoneo*tipo de especie}} = 421.2$ ,  $gl = 2$ ,  $P < 0.0001$ ). La producción de semillas viables de las colonizadoras e intermedias aumentó significativamente con el ramoneo ( $\beta = 0.23$ ,  $gl = 701$ ;  $\beta = 0.75$ ,  $gl = 268$  ambos  $P < 0.001$ , Figura 8 f y g), mientras que en las tardías disminuyó ( $\beta = -0.34$ ,  $gl = 111$ ,  $P = 0.001$ , Figura 8 h).

**Figura 8.** Relación entre la carga ganadera y el ramoneo (variables independientes) y las semillas viables para cada tipo de especie de las semillas viables de plantas del Monte Patagónico. Se muestran los valores ajustados e intervalos de confianza (95%, en gris) de las semillas viables obtenidos con un GLMM con distribución Binomial. Carga ganadera (ganado. años. ha<sup>-1</sup>) vs. a. Semillas viables (prop.), b. Semillas viables de colonizadoras (prop.), c. Semillas viables de intermedias (prop.), d. Semillas viables de tardías (prop.). Ramoneo (prop.) vs e. Semillas viables (prop.), f. Semillas viables de colonizadoras (prop.), g. Semillas viables de intermedias (prop.), h. Semillas viables de tardías (prop.).  $P < 0.05^*$ ,  $P < 0.001^{**}$ ,  $P < 0.0001^{***}$ ,  $0.10 < P > 0.05$  (marginamente significativo),  $P > 0.10$  ns.: no significativo.

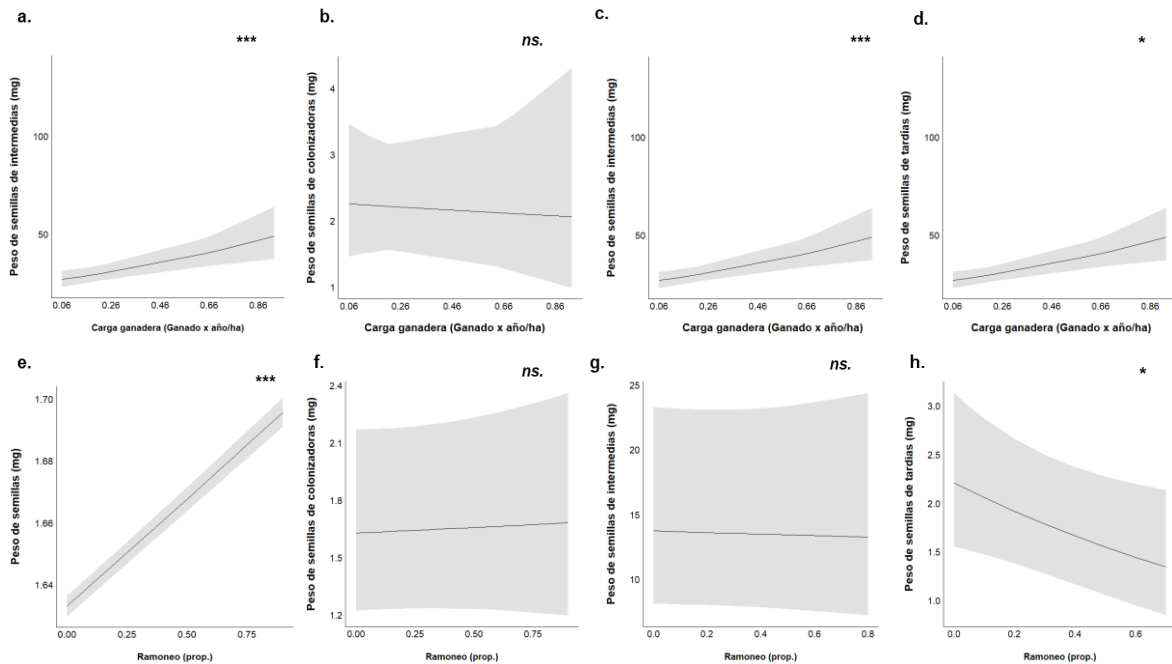


### Efectos del ganado sobre la calidad de las semillas

En general, con el aumento de la carga ganadera y del ramoneo, las plantas produjeron semillas más pesadas ( $\beta = 1.7$ ,  $gl = 1596$ ,  $P < 0.0001$ ;  $\beta = 0.41$ ,  $gl = 1121$ ,  $P < 0.0001$ , respectivamente, Figura 9 a y e). El promedio del peso de semilla fue significativamente diferente entre los tipos sucesionales de especies ( $\chi^2 = 74.9$ ,  $gl = 2$ ,  $P < 0.0001$ ). Los tipos sucesionales de especies tendieron a responder diferente a la carga ganadera (interacción *carga ganadera \* tipo de especies*,  $\chi^2 = 3.245$ ,  $gl = 2$ ,  $P = 0.107$ ) pero respondieron significativamente diferente al ramoneo (interacción *ramoneo \* tipo de especies*,  $\chi^2 = 462880.3$ ,  $gl = 2$ ,  $P < 0.0001$ ). El peso de las semillas de las colonizadoras no varió significativamente con la carga ganadera ni con el ramoneo ( $P = 0.85$ ; Figura 9 b y f), mientras que en las intermedias el peso de las semillas aumentó con la carga ganadera ( $\beta = 0.697$ ,  $gl = 488$ ,  $P = 0.0004$ , Figura 9 c), pero no con el ramoneo ( $P = 0.85$ , Figura 9 g). En las tardías el peso de las semillas aumentó con la carga ganadera y disminuyó con el ramoneo ( $\beta = 1.426$ ,  $gl = 488$ ,  $P = 0.018$ , Figuras 16 f;  $\beta = -0.709$ ,  $gl = 83$ ,  $P = 0.029$ , Figura 9 d y h, respectivamente).

**Figura 9.** Relaciones entre la carga ganadera y el ramoneo con el peso medio de semilla de plantas del Monte Patagónico y para cada tipo sucesional de especie por separado. Se muestran los valores ajustados e intervalos de confianza (95%, en gris) del peso medio de semilla obtenidos con un GLMM con distribución Gamma. Carga ganadera ( $\text{ganado.año.ha}^{-1}$ ) vs. a.

Peso medio de semilla (mg). b. Peso medio de semilla de colonizadoras (mg) c. Peso medio de semilla de intermedias (mg). d. Peso medio de semilla de tardías (mg). Ramoneo (prop.) vs. e. Peso medio de semilla (mg), f. Peso medio de semilla de colonizadoras (mg) g. Peso medio de semilla de intermedias (mg). h. Peso medio de semilla de tardías (mg).  $P < 0.05^*$ ,  $P < 0.001^{**}$ ,  $P < 0.0001^{***}$ ,  $0.10 < P > 0.05$  (marginamente significativo),  $P > 0.10$  *ns.*: no significativo.



### *Relación entre cantidad y calidad de semillas*

Se encontró una relación negativa entre la cantidad y calidad de las semillas, las plantas que producían mayor cantidad de semillas viables, originaban semillas de menor peso ( $\beta = -0.29$ ,  $gl = 1584$ ,  $P = 0.0002$ ). En cuanto a los tipos de especies por separado, la relación entre el peso de las semillas y las semillas viables en las especies colonizadoras fue negativa, donde las plantas que produjeron más semillas viables, originaban semillas de menor peso ( $\beta = -0.287$ ,  $gl = 831$ ,  $P = 0.001$ ), mientras que en las especies intermedias y tardías no hubo una asociación significativa entre la cantidad y la calidad (los  $P > 0.29$ ).

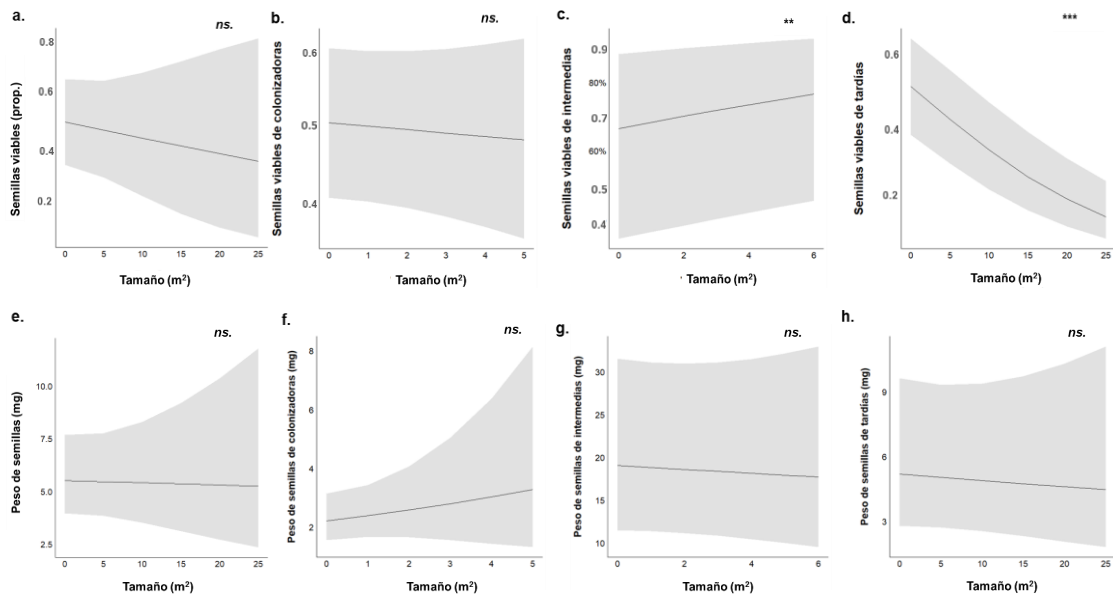
### *Efectos del tamaño de la planta y del esfuerzo reproductivo en la cantidad y calidad de las semillas*

En general, no se encontró una asociación entre el tamaño de las plantas y la cantidad de semillas viables ( $P = 0.55$ , Figure 10 a). La cantidad promedio de semillas viables no fue significativamente diferente entre los tipos sucesionales de especies ( $\chi^2 = 1.41$ ,  $gl = 2$ ,  $P = 0.49$ ). Sin embargo, se observó que la cantidad de semillas viables varía según los tipos sucesionales de especies y el tamaño de la planta ( $\chi^2_{\text{tamaño} \times \text{tipo sp.}} = 29.17$ ,  $gl = 2$ ,  $P < 0.0001$ ). En especies colonizadoras, no hubo asociación del tamaño con la cantidad de semillas viables ( $P = 0.66$ ; Figura 10 b); en las intermedias aumentó ( $\beta = 0.8$ ,  $gl = 268$ ,  $P = 0.002$ ; Figura 10 c) y en las tardías disminuyó con el tamaño de las plantas ( $\beta = -0.08$ ,  $gl = 114$ ,  $P < 0.0001$ , Figures 10 d).

El peso de las semillas no se asoció significativamente con el tamaño de las plantas ( $P = 0.21$ , Figura 10 e). El promedio del peso de semilla fue significativamente diferente entre los tipos sucesionales de especies ( $\chi^2 = 45.13$ ,  $gl = 2$ ,  $P < 0.0001$ ). La variación entre el peso de semilla y el tamaño de las plantas fue similar para todos los tipos de especies (todos los  $P = 0.40$ ). El peso de las semillas no se asoció significativamente con el tamaño de las plantas en ninguno de los tipos sucesionales de especies (los  $P > 0.402$ , Figuras 10 f-h).

**Figura 10.** Relaciones del tamaño con las semillas viables y el peso medio de semilla de plantas del Monte Patagónico y para cada tipo sucesional de especie por separado. Se muestran los valores ajustados e intervalos de confianza (95%, en gris) de las semillas viables obtenidos con un GLMM con distribución Binomial y del peso medio de semilla obtenidos con un GLMM con distribución Gamma. Tamaño ( $m^2$ ) vs.: a. Semillas viables (proporción). b. Semillas viables de colonizadoras. c. Semillas viables de intermedias. d. Semillas viables de tardías. e. Peso medio de semilla (mg). f. Peso medio de semilla de colonizadoras (mg). g. Peso medio de semilla de intermedias (mg). h. Peso medio de semilla de tardías (mg).  $P < 0.05^*$ ,  $P < 0.001^{**}$ ,  $P < 0.0001^{***}$ ,  $0.10 < P > 0.05^{\circ}$  (marginamente significativo),  $P > 0.10$  *ns.*: no significativo.

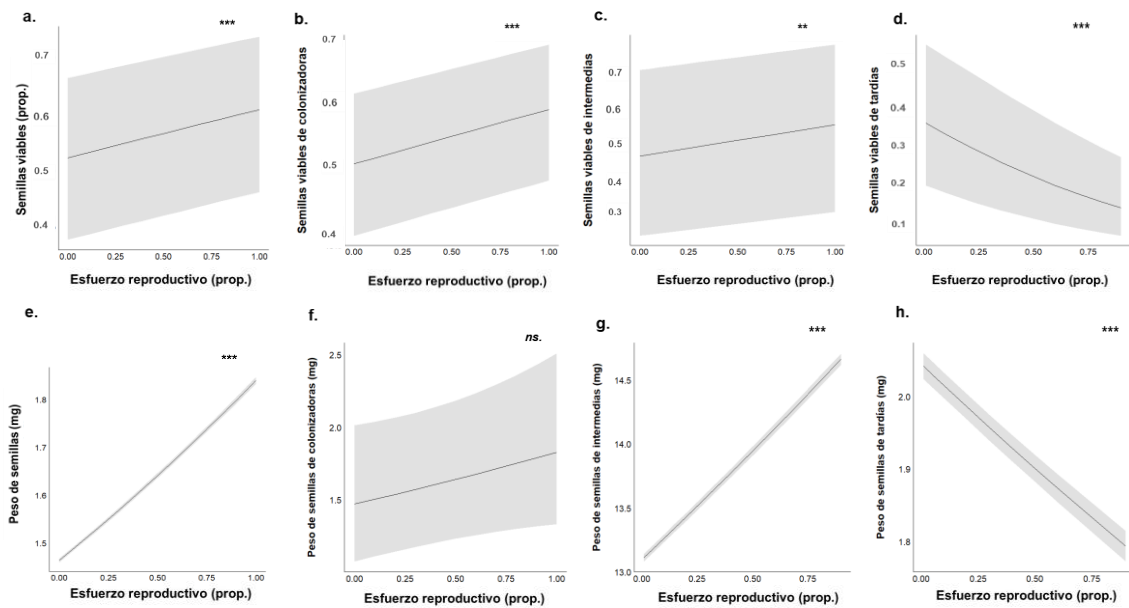




Plantas con mayor esfuerzo reproductivo, produjeron mayor cantidad de semillas viables ( $\beta = 0.346$ ,  $gl = 1259$ ,  $P < 0.0001$ , Figura 11 a). La cantidad de semillas viables fue similar entre los tipos sucesionales de especies ( $\chi^2 = 0.92$ ,  $gl = 2$ ,  $P = 0.63$ ). Se observó también interacción entre esfuerzo reproductivo y los tipos sucesionales de especies para la cantidad de semillas viables ( $\chi^2 = 218.21$ ,  $gl = 2$ ,  $P < 0.0001$ ). El esfuerzo reproductivo se asoció positivamente con la cantidad de semillas viables en las especies colonizadoras e intermedias ( $\beta = 0.343$ ,  $gl = 701$ ,  $P < 0.0001$ ;  $\beta = 0.352$ ,  $gl = 268$ ,  $P = 0.001$ ; Figuras 11 b y c), mientras que en las tardías lo hizo de manera negativa ( $\beta = -1.398$ ,  $gl = 111$ ,  $P < 0.0001$ ; Figura 11 d).

Plantas con mayor esfuerzo reproductivo, produjeron mayor peso de semilla ( $\beta = 0.23$ ,  $gl = 1121$ ,  $P < 0.0001$ , Figura 11 e). El promedio del peso de semilla fue significativamente diferente entre los tipos sucesionales de especies ( $\chi^2 = 74.9$ ,  $gl = 2$ ,  $P < 0.0001$ ). Se observó también interacción entre esfuerzo reproductivo y los tipos sucesionales de especies para el peso de semilla ( $\chi^2 = 119188$ ,  $gl = 2$ ,  $P < 0.0001$ ). El esfuerzo reproductivo no se asoció significativamente con el peso de semilla en las especies colonizadoras ( $P = 0.11$ ; Figura 11 f), en las intermedias lo hizo positivamente ( $\beta = 0.125$ ,  $gl = 241$ ,  $P < 0.0001$ , Figura 11 g) y en las tardías lo hizo de forma negativa ( $\beta = -0.145$ ,  $gl = 83$ ,  $P < 0.0001$ ; Figura 11 h).

**Figura 11.** Relación del esfuerzo reproductivo con las semillas viables y el peso medio de semilla de las plantas del Monte Patagónico. Se muestran los valores ajustados e intervalos de confianza (95%, en gris) de las semillas viables obtenidos con un GLMM con distribución Binomial y del peso medio de semilla obtenidos con un GLMM con distribución Gamma. Esfuerzo reproductivo (proporción) vs.: a. Semillas viables (prop.). b. Semillas viables de colonizadoras (prop.). c. Semillas viables de intermedias (prop.). d. semillas viables de tardías (prop.). e. Peso de semilla (mg). f. Peso de semilla de colonizadoras (mg). g. Peso de semilla de intermedias (mg). h. Peso de semilla de tardías (mg).  $P < 0.05^*$ ,  $P < 0.001^{**}$ ,  $P < 0.0001^{***}$ ,  $0.10 < P > 0.05$  (marginalmente significativo),  $P > 0.10$  ns.: no significativo.

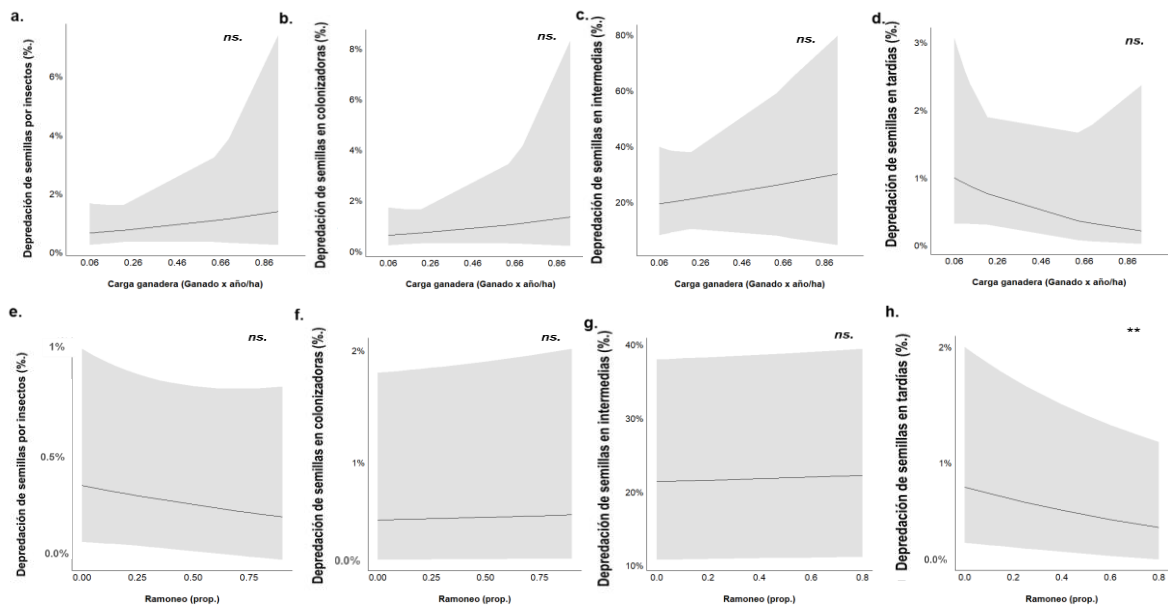


### *Efectos del ganado sobre la depredación de semillas por insectos*

El porcentaje de depredación de semillas por insectos no varió significativamente con la carga ganadera ni con el ramoneo (todos los  $P > 0.49$ , Figura 10 a y e). El promedio de la depredación de semillas por insectos fue significativamente diferente entre los tipos sucesionales de especies ( $\chi^2 = 17.72$ ,  $gl = 2$ ,  $P = 0.0001$ ). La relación entre la depredación y la carga ganadera fue similar entre los tipos sucesionales de especies (interacción *carga ganadera\*tipo sucesional de especies*,  $P = 0.40$ ). Sin embargo, la relación entre la depredación y el ramoneo fue diferente para los tipos sucesionales de especies ( $\chi^2_{\text{ramoneo} \times \text{tipo sp.}} = 7.90$ ,  $gl = 2$ ,  $P = 0.019$ ). Al analizar la depredación de semillas en función de la carga ganadera y del ramoneo para cada tipo de especie por separado, se observó que sólo en las especies tardías las plantas más ramoneadas tenían menor porcentaje de depredación por insectos en sus semillas ( $\beta = -$

0.738,  $gl = 283$ ,  $P = 0.007$ ; Figura 12 h); mientras que para el resto de las especies no se observó asociación (todos los  $P > 0.47$ , Figura 12 b-d y f-g).

**Figura 12.** Relaciones de la carga ganadera y el ramoneo con el porcentaje de depredación de semillas por insectos en especies del Monte Patagónico. La figura muestra cómo varían los valores ajustados e intervalos de confianza (95%, en gris) en función de la carga ganadera (ganado. año.ha<sup>-1</sup>) y el ramoneo (proporción) de la depredación de semillas (%) obtenidos con un GLMM con distribución Binomial. Carga ganadera (ganado.año.ha<sup>-1</sup>) vs.: a. Depredación de semillas por insectos (%). b. Depredación de semillas en colonizadoras (%). c. Depredación de semillas en intermedias (%). d. Depredación de semillas en tardías (%). Ramoneo (proporción) vs.: e. Depredación de semillas por insectos (%). f. Depredación de semillas en colonizadoras (%). g. Depredación de semillas en intermedias (%). h. Depredación de semillas en tardías (%).  $P < 0.05^*$ ,  $P < 0.001^{**}$ ,  $P < 0.0001^{***}$ ,  $0.10 < P > 0.05$  (Marginalmente significativo),  $P > 0.10$  ns.: no significativo.

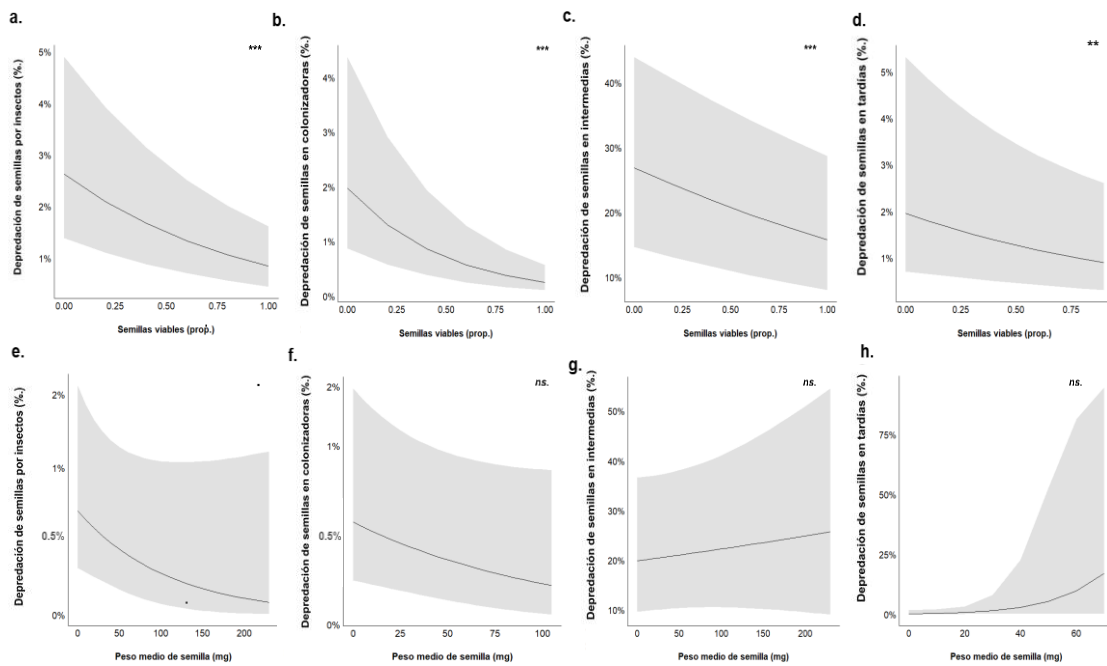


### *Relación entre la cantidad y calidad de semillas con la depredación de semillas por insectos*

Asimismo, cuanto mayor era la producción de semillas en las plantas, menor era el porcentaje de depredación de semillas a las mismas ( $\beta = -2.08$ ,  $gl = 1182$ ,  $P < 0.0001$ , Figura 13 a) y cuanto mayor era el peso de las semillas, menor era el porcentaje de depredación de semillas, aunque esta relación fue marginalmente significativa ( $\beta = -$

0.09,  $gl = 1182$ ,  $P = 0.095$ , Figura 13 e). El porcentaje de depredación de semillas por insectos fue significativamente diferente entre los tipos sucesionales de especies ( $\chi^2 = 17.72$ ,  $gl = 2$ ,  $P = 0.0001$ ). La relación entre la depredación de semillas con la producción de semillas viables y con el peso fue diferente para los distintos tipos sucesionales de especies (interacción con el tipo sucesional de especies,  $\chi^2_{\text{viables.}} = 86.68$ ,  $gl = 2$ ,  $P < 0.0001$ ;  $\chi^2_{\text{peso}} = 5.30$ ,  $gl = 2$ ,  $P = 0.070$ , respectivamente). Se observó que en los tres tipos de especies, una mayor producción de semillas viables en las plantas se asociaba a un menor porcentaje de depredación de semillas por insectos (colonizadoras  $\beta = -2.08$ ,  $gl = 700$ ,  $P < 0.0001$ ; intermedias  $\beta = -0.67$ ,  $gl = 266$ ,  $P < 0.0001$ ; tardías  $\beta = -0.88$ ,  $gl = 120$ ,  $P = 0.008$ ; Figuras 13 b-d). En cuanto a la relación del peso con la depredación de semillas, se observó que en las colonizadoras a mayor peso de semilla había un menor porcentaje de depredación de semillas ( $\beta = -0.09$ ,  $gl = 700$ ,  $P = 0.093$ ; Figura 13 f), mientras que en las intermedias no se observó una asociación significativa ( $P = 0.54$ ; Figuras 13 g) y las tardías mostraron una tendencia, aunque no estadísticamente significativa ( $P = 0.13$ ; Figuras 13 h).

**Figura 13.** Relaciones de las semillas viables y el peso medio de semilla con el porcentaje de depredación de semillas por insectos en especies del Monte Patagónico y para cada tipo sucesional de especies por separado. La figura muestra cómo varían los valores ajustados e intervalos de confianza (95%, en gris) en función de peso medio de semilla (mg) de la depredación de semillas (%) obtenidos con un GLMM con distribución Binomial. Semillas viables (proporción) vs.: a. Depredación de semillas (%). b. Depredación de semillas en colonizadoras (%). c. Depredación de semillas en intermedias (%). d. Depredación de semillas en tardías (%). Peso medio de semillas (mg) vs.: e. Depredación de semillas (%). f. Depredación de semillas en colonizadoras (%). g. Depredación de semillas en intermedias (%). h. Depredación de semillas en tardías (%).  $P < 0.05^*$ ,  $P < 0.001^{**}$ ,  $P < 0.0001^{***}$ ,  $0.10 < P > 0.05$  (marginamente significativo),  $P > 0.10$  *ns.*: no significativo.



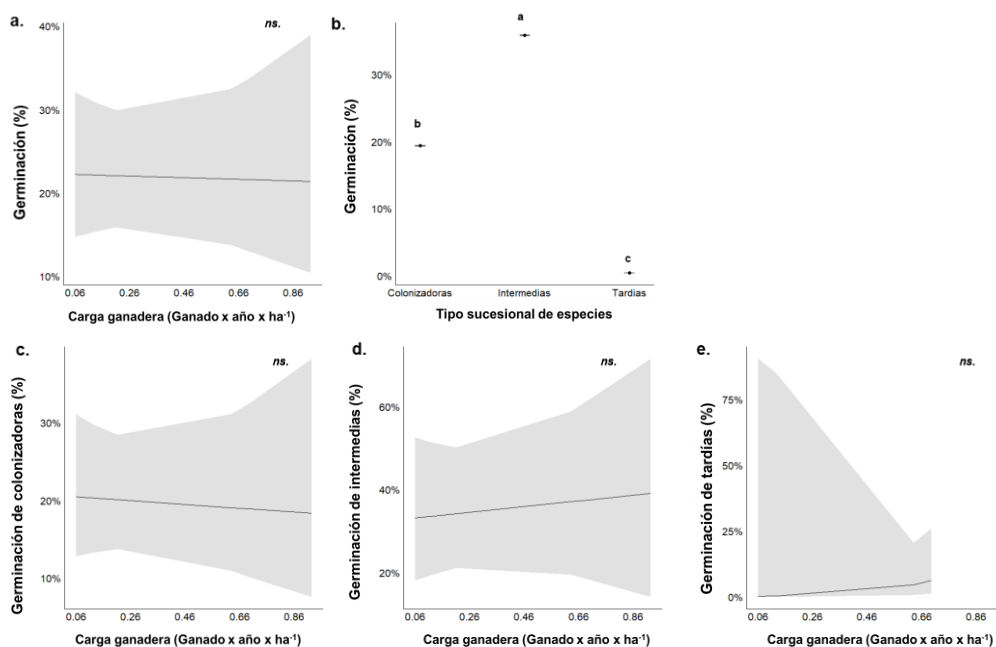
### Sección 3: Efectos del ganado doméstico en la capacidad germinativa

#### *Efecto del ganado en el porcentaje de germinación*

En general, el porcentaje de germinación de las especies estudiadas no varió con la carga ganadera ( $\beta = -0.05$ ,  $gl = 1381$ ,  $P = 0.931$ , Figura 14 a). Aunque, los tipos sucesionales de especies mostraron promedios de germinación significativamente diferentes entre sí ( $\chi^2 = 2377270$ ,  $gl = 1381$ ,  $P < 0.0001$ ), siendo mayor el porcentaje de germinación de las especies intermedias, seguidas por las colonizadores y en último lugar las tardías con una germinación casi nula (1.3% con 3 semillas geminadas de 64 semillas) (Figura14 b). Además, los tipos sucesionales de especies respondieron de forma diferente a la carga ganadera, mostrando interacción entre los factores ( $\chi^2 = 2730587$ ,  $gl = 1381$ ,  $P < 0.0001$ ). No obstante, al analizar cada tipo de especies por separado, la germinación no muestra asociación significativa con la carga ganadera para ninguno de los tipos de especies (todos los  $P > 0.446$ , Figura 14 c-e).

**Figura 14:** Variación del porcentaje de germinación con la carga ganadera y para cada tipo sucesional de especies. La figura muestra los valores ajustados con sus intervalos de confianza (95%, en gris) obtenidos con un GLMM utilizando la distribución Binomial para el porcentaje

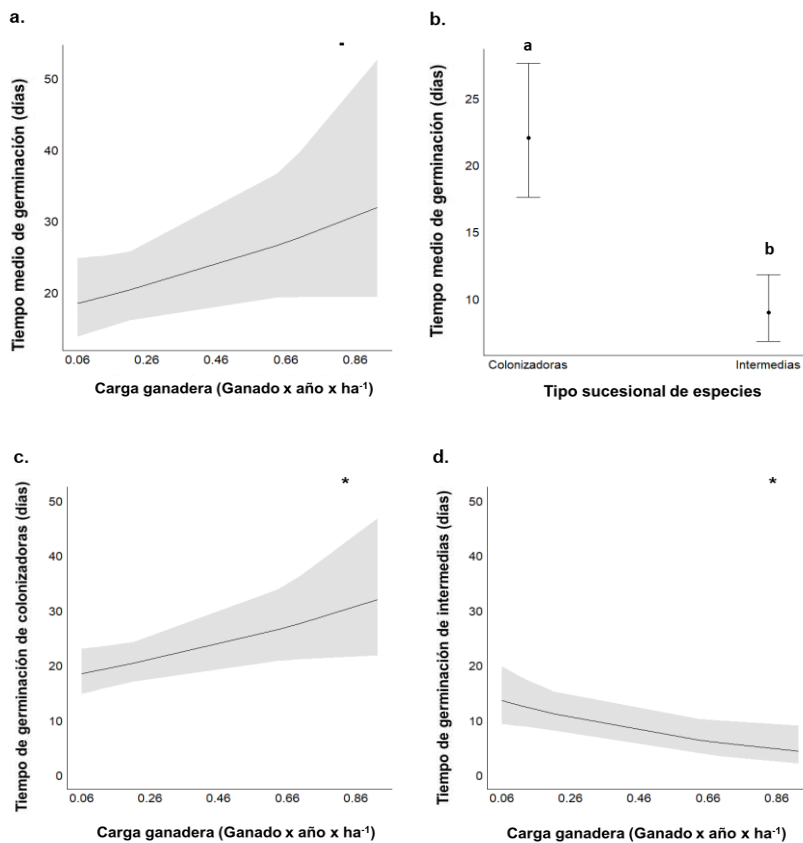
de germinación. a. Porcentaje de germinación (%) vs. carga ganadera (ganado x año x ha<sup>-1</sup>). b. Porcentaje de germinación promedio para cada tipo sucesional de especies. c. Porcentaje de germinación de colonizadoras vs. carga ganadera. d. Porcentaje de germinación de intermedias vs. carga ganadera. e. Porcentaje de germinación de tardías vs. carga ganadera.  $P < 0.05^*$ ,  $P < 0.001^{**}$ ,  $P < 0.0001^{***}$ ,  $0.10 < P > 0.05^{\cdot}$  (marginally significant),  $P > 0.10$  ns.: no significativo. La letra denota diferencias significativas (prueba post-hoc de Tukey) entre los niveles de los factores.



### Efecto del ganado en el tiempo de germinación

La carga ganadera aumentó marginalmente el tiempo de germinación ( $\beta = 0.630$ ,  $gl = 800$ ,  $P = 0.095$ , Figura 15 a). Como era de esperar, los tipos sucesionales de especies mostraron diferentes tiempos de germinación ( $\chi^2 = 1.098$ ,  $gl = 800$ ,  $P = 0.078$ , Figura 15 b) y se observó interacción significativa entre la carga ganadera y el tipo de especies,  $\chi^2_{\text{carga*tipo de especies}} = 7.518$ ,  $gl = 800$ ,  $P = 0.006$ ). Las colonizadoras mostraron tiempos de germinación más lentos con el aumento de la carga ganadera ( $\beta = 0.63$ ,  $gl = 367$ ,  $P = 0.028$ , Figura 15 c), mientras que las intermedias mostraron un tiempo de germinación más rápido ( $\beta = -1.309$ ,  $gl = 432$ ,  $P = 0.012$ , Figura 15 d). El tiempo de germinación en las tardías no pudo ser evaluado debido que la tasa de germinación de estas especies fue muy baja (sólo 3 semillas germinaron con un promedio de 8 días en germinar).

**Figura 15:** Variación del tiempo de germinación con la carga ganadera y para cada tipo sucesional de especies. La figura muestra los valores ajustados con sus intervalos de confianza (95%, en gris) obtenidos con un GLMM utilizando la distribución Poisson para el tiempo de germinación (días). a. Tiempo de germinación (días) vs. carga ganadera (ganado x año x ha<sup>-1</sup>). b. Tiempo de germinación promedio para cada tipo sucesional de especies. c. Tiempo de germinación de colonizadoras vs. carga ganadera. d. Tiempo de germinación de intermedias vs. carga ganadera. El tiempo de germinación en las especies tardías no se evaluó debido a los valores faltantes.  $P < 0.05^*$ ,  $P < 0.001^{**}$ ,  $P < 0.0001^{***}$ ,  $0.10 < P > 0.05'$  (marginamente significativo),  $P > 0.10$  ns.: no significativo. La letra denota diferencias significativas (prueba post-hoc de Tukey) entre los niveles de los factores.

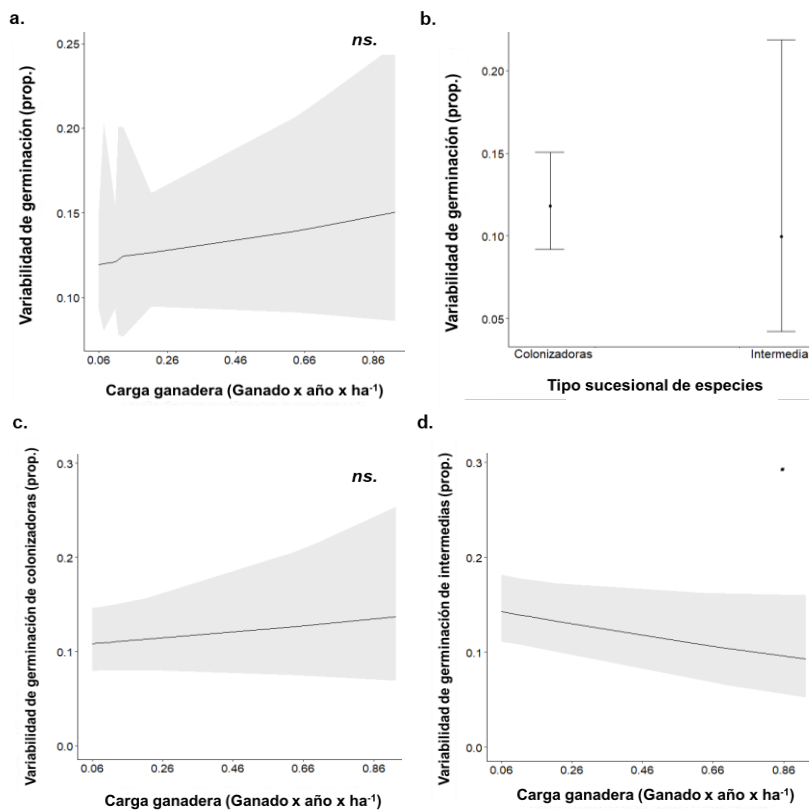


### *Efecto del ganado en el coeficiente de variabilidad del tiempo de germinación*

La carga ganadera no afectó significativamente a la variabilidad de germinación;  $\beta = 0.309$ ,  $gl = 791$ ,  $P = 0.317$ , Figura 16 a). Sorprendentemente, los tipos sucesionales de especies mostraron similares promedios en el coeficiente de variabilidad ( $\chi^2 = 0.58$ ,  $gl = 791$ ,  $P = 0.445$ , Figura 16 b), y tuvieron una interacción marginal con la carga ganadera ( $\chi^2_{\text{carga*tipo de especies}} = 3.17$ ,  $gl = 791$ ,  $P = 0.074$ ). La variabilidad de germinación de las colonizadoras no varió con la carga ganadera ( $\beta = 0.31$ ,  $gl = 368$ ,  $P$

= 0.41, Figura 16 c), mientras que la de intermedias disminuyó marginalmente con la carga ganadera ( $\beta = -0.562$ ,  $gl = 436$ ,  $P = 0.067$ , Figura 16 d), y en las tardías no pudo ser evaluado debido a la baja tasa de germinación obtenida para estas especies.

**Figura 16:** Variación del coeficiente de variabilidad del tiempo de germinación con la carga ganadera y para cada tipo sucesional de especies. La figura muestra los valores ajustados con sus intervalos de confianza (95%, en gris) obtenidos con un GLMM utilizando la distribución Beta. a. Variabilidad del tiempo de germinación vs. carga ganadera (ganado x año x ha<sup>-1</sup>). b. variabilidad del tiempo de germinación promedio para cada tipo sucesional de especies. c. variabilidad del tiempo de germinación de colonizadoras. d. variabilidad del tiempo de germinación de intermedias.  $P < 0.05^*$ ,  $P < 0.001^{**}$ ,  $P < 0.0001^{***}$ ,  $0.10 < P > 0.05$  (marginamente significativo),  $P > 0.10$  ns.: no significativo. La letra denota diferencias significativas (prueba post-hoc de Tukey) entre los niveles de los factores.

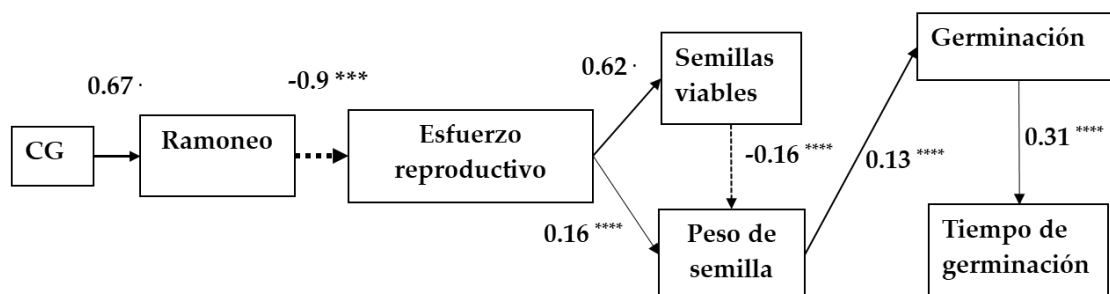




*Análisis de vías (D-Sep): el efecto de la carga ganadera sobre el tiempo de germinación y la germinación, a través del ramoneo, esfuerzo reproductivo, producción de semillas y su peso.*

El modelo de vías hipotético evaluado (Figura 4) no fue significativo, por lo que, se substituyó por un modelo más sencillo que no incluía las vías que no eran significativas. Este último análisis del modelo fue estadísticamente significativo ( $C = 14.93$ ;  $2k = 26$ ;  $P = 0.96$ ) y mostró que el ganado, a través del ramoneo, aumenta indirectamente el tiempo de germinación (las semillas tardan más tiempo en germinar). La vía indirecta más fuerte ( $r = 0.004$ ) fue de la carga ganadera al ramoneo, del ramoneo al esfuerzo reproductivo, del esfuerzo reproductivo al peso de semillas, del peso de semilla a la germinación y de la germinación al tiempo de germinación. Esta vía mostró que la carga ganadera afectó positiva e indirectamente al tiempo de germinación; mientras que la vía a través de las semillas viables mostró una fuerza menor ( $r = 0.002$ ). De esta forma, el ganado aumentó el ramoneo en las plantas, el cual afectó negativamente al esfuerzo reproductivo de las plantas, el cual afectó positivamente al peso de semilla, siendo el peso de semilla el que afecta positivamente a la germinación y ésta al tiempo de germinación (Figura 17).

**Figura 17:** Modelo causal (D-Sep) que describe los efectos del pastoreo sobre la capacidad germinativa. Modelo de vías significativo: las flechas continuas indican efectos positivos; las flechas discontinuas indican efectos negativos y el grosor de las flechas indica la fuerza de la relación. Los coeficientes de regresión están cerca de las flechas con su nivel de significación como sigue:  $P < 0.05^*$ ,  $P < 0.001^{**}$ ,  $P < 0.0001^{***}$ ,  $0.10 < P > 0.05^{\cdot}$  (marginamente significativo),  $P > 0.10$  *ns.*: no significativo. La idoneidad de los modelos se evaluó sobre la base de  $\chi^2$  y los valores  $P$  asociados (un valor  $P$  más alto significa un mejor ajuste de los datos con el modelo).



$C = 14,93$ ;  $2k = 26$ ;  $P = 0,96^*$

## Discusión

La forma en que las plantas pueden responder a los disturbios se relaciona con sus características fisiológicas, sus formas de vida y su función ecológica dentro de la comunidad (Grime 1977, Huston y DeAngelis 1994). Este capítulo evaluó el efecto del ganado doméstico sobre el tamaño, esfuerzo reproductivo, cantidad y calidad de semillas, depredación de semillas por insectos, porcentaje, tiempo y variabilidad de germinación para la vegetación del Monte Patagónico en general y para los distintos tipos sucesionales de especies por separado (i.e., colonizadoras, intermedias y tardías). En primer lugar, se observó que un aumento de la carga ganadera aumentó el ramoneo en las plantas, lo que sugiere que esta variable es una buena indicadora del efecto del ganado. En general, se encontró que el ramoneo tuvo un efecto negativo sobre la biomasa vegetal y la aptitud, al disminuir el tamaño, esfuerzo reproductivo y su producción de semillas viables. No obstante, el peso de las semillas y el tiempo en que germinan aumentaron con la carga ganadera. Hubo distintas respuestas de los tipos sucesionales de especies con el ganado (en magnitud y significancia) para la mayoría de las variables estudiadas, sugiriendo que sus rasgos fisiológicos y ciclos de vida les otorgan distintas estrategias para enfrentar a este disturbio. Con el ramoneo, las especies colonizadoras se vieron afectadas negativamente en su biomasa y esfuerzo reproductivo, pero aumentaron su producción de semillas viables y el tiempo en que tardan en germinar, a expensas de disminuir su peso. Con el aumento del ganado, las especies intermedias sobrecompensaron aumentando su biomasa pero disminuyeron su esfuerzo reproductivo, donde su mayor biomasa podría permitirles sobrecompensar a su vez la baja producción de semillas con un aumento de su peso. Las tardías, dado que no se vio disminuido su tamaño con el ramoneo, parecen invertir los recursos disponibles en compensar su biomasa o sólo fueron consumidas sus estructuras reproductivas sin afectar su tamaño. Esto estaría disminuyendo la asignación en su esfuerzo reproductivo y por lo tanto, la producción de semillas viables, peso y germinación. A su vez, los efectos sobre la biomasa repercutieron positivamente en las defensas presentando una menor depredación de semillas por insectos. Por último, se resume y discute las relaciones causales entre la carga ganadera y la aptitud.

El efecto del ganado en la vegetación depende del tipo sucesional de especies (Pelliza et al. 2021). Como se esperaba, con el aumento de la carga ganadera aumentó el

ramoneo sobre las plantas, en particular en las especies colonizadoras y tardías. Estos resultados sugieren que las colonizadoras fueron muy ramoneadas y las preferidas por el ganado, con lo cual recibieron una mayor presión de consumo que el resto de las especies, posiblemente por su mayor palatabilidad. En cuanto a las tardías, probablemente se deba a que, a medida que disminuye la oferta de forraje, el ganado empieza a consumir todas las especies disponibles para poder mantener sus requerimientos nutricionales, aumentando así la presión de pastoreo en todo el elenco de especies vegetales, incluso en las menos palatables (Tadey 2006). Por su parte, las intermedias a diferencia del resto, mostraron un alto porcentaje de ramoneo independientemente del gradiente de carga ganadera, como ya se había reportado para una de estas especies (Pelliza et al. 2020). Esto sugiere que el ganado busca activamente a estas especies para su consumo, ya que aún en cargas ganaderas bajas, donde la oferta de forraje es mayor y la presión de pastoreo es menor, estas especies son muy consumidas. Así, se observaron distintas preferencias de consumo, según el tipo sucesional de especies y la densidad de ganado, lo cual podría afectar sus respuestas fisiológicas y/o morfológicas al daño en sus estructuras vegetativas y/o reproductivas.

El ganado puede afectar las vías fisiológicas o metabólicas de las plantas y así impactar en su desarrollo (Poonam et al. 2017). El ramoneo del ganado tuvo un fuerte efecto sobre la biomasa y la reproducción de la vegetación estudiada reduciendo significativamente el tamaño de las plantas y su esfuerzo reproductivo. En general, esto estaría reflejando que, tras su consumo, las plantas no logran recuperar su tejido fotosintético ni reproductivo al perder los recursos disponibles. Particularmente, la biomasa aérea suele estar relacionada con la capacidad competitiva de las especies y con su estrategia en la distribución de los recursos. Una menor biomasa aérea en las plantas implica una menor cantidad de estructuras vegetativas, debido a la pérdida de capacidad fotosintética y de la redistribución del carbono, afectando negativamente su recuperación (Ferraro y Oesterheld 2002, Hao y He 2019). Como respuesta, es posible que las plantas asignen una mayor proporción de recursos a generar biomasa subterránea y así obtener más nutrientes para su crecimiento y/o compensar efectos negativos del ganado (Bagchi y Ritchie 2010). A su vez, la edad puede estar asociada al tamaño de las plantas, y estos suelen tener una fuerte influencia positiva en la asignación de recursos para reproducción (Bonser and Aarssen 2009). Sin embargo, algunas especies pueden favorecer el inicio de la reproducción en plantas más jóvenes

y/o de menor tamaño cuando las condiciones ambientales limitan su crecimiento (Bonser and Aarssen 2009). Característicamente, las especies colonizadoras fueron las que mayor esfuerzo reproductivo mostraron, seguidas por las tardías y, en menor medida por las intermedias; demostrando que la asignación de recursos para reproducción es relativamente alta en las plantas de vida corta y tamaño pequeño (Taylor et al. 1990, Bonser y Aarssen 1996, 2009). Sin embargo, la biomasa y el esfuerzo reproductivo de las colonizadoras fueron los más afectados por el ramoneo. Posiblemente, la alta presión de pastoreo que reciben estas especies sumado al daño de meristemas vegetativos y reproductivos, y la escasez de recursos pueden ser los causantes de impedir que estas especies se alcancen a recuperar del daño (Boyer 1988, Geber 1990, Bonser y Aarssen 1996, 2001). Las intermedias, altamente ramoneadas, parecen haber invertido sus recursos disponibles en aumentar su tamaño en vez de reproducirse sexualmente. Este aumento del tamaño podría estar dado mayormente por lo que ocurre con una de las especies intermedias, *Prosopis alpataco* (Villagra y F. A. Roig. 2002, Passera et al. 2010, Pelliza et al. 2020). La capacidad de *P. alpataco* de propagarse radialmente formando coronas muy grandes (> 6 m diámetro), sumada a una probable disminución de la competencia interespecífica dada por la reducción de la cobertura vegetal (Tadey y Farji-Brener 2007), hace que esta especie pueda aumentar su tamaño como una posible estrategia de escape de la herbivoría. Las especies tardías también parecen asignar sus recursos a mantener su biomasa a expensas de disminuir su reproducción sexual. Un mayor tamaño les otorgaría una ventaja ante el ramoneo posiblemente por su capacidad de evitarlo y redistribuir recursos y/o recuperarse (Strauss y Agrawal 1999). También, es probable que el ganado sólo consuma sus flores y/o frutos sin afectar significativamente el tamaño de la planta. Además, puede haber un sesgo de muestreo, ya que se midieron sólo individuos adultos porque son los que sobreviven y se reproducen, sin estimar el consumo de plantas jóvenes. Por lo tanto, factores que podrían estar influyendo son los asociados a la distinta composición ganadera de los campos, como su comportamiento y preferencias diferenciales de consumo. Consecuentemente, tanto a escala ecológica como evolutiva, esto puede no solo producir desacoples fenológicos entre distintas poblaciones de plantas, lo cual puede promover aislamiento reproductivo y/o especiación, sino que también puede afectar a las poblaciones de los animales e insectos que dependen de ellas como refugio y/o recurso alimenticio (Kerley et al. 1993, Armbruster 1997, Fox 2003, Tadey 2007). Finalmente, las especies con ciclos de vida largos parecen invertir más recursos en

compensar o sobrecompensar la biomasa removida a expensas de las estructuras reproductivas comparadas con las de vida corta.

Los efectos de herbivoría podrían propagarse hasta la siguiente generación de las plantas consumidas, mediante el impacto en la cantidad y calidad de sus semillas (Trlica y Rittenhouse 1993, Agrawal 2001). La cantidad como la calidad de las semillas están relacionadas con la aptitud de cada progenie (Kamczyc-Pers et al. 2022). En este caso, un aumento del peso de la semilla en detrimento de una disminución de la producción de semillas viables podría relacionarse a cambios y/o aumentos en los contenidos de C y N (Kamczyc-Pers et al. 2022). Esta compensación entre peso medio de semilla y producción de semillas viables podría explicarse por efectos maternos, mecanismos por los cuales las plantas maternas pueden mejorar la aptitud de su progenie (Galloway 2005). Estos efectos materno-ambientales pueden transmitirse a través de cambios genéticos citoplasmáticos, nucleares del endospermo o fenotípicos maternos y/o cambios epigenéticos, generando una respuesta fenotípica plástica, que sobrecompensan el estrés sufrido y aumenta las probabilidades de supervivencia y establecimiento de la progenie (Agrawal 2001, Herman y Sultan 2011, Herrera y Bazaga 2011, Richards 2011, Nguyen et al. 2021). En este caso, el aumento de la calidad de la semilla parece estar dado por efectos maternos del endospermo a través de la estructura de la semilla, posiblemente aumentando sus reservas. De esta manera, y ante la limitación de recursos, las plantas pueden compensar una baja producción de semillas con un aumento de su calidad (peso), como una forma de asegurar la supervivencia de esa población más pequeña de progenie (Agrawal 2001). Particularmente, este patrón se observó para las colonizadoras e intermedias; mientras que en tardías sólo aumentó el peso de semilla. Se ha encontrado que colonizadoras como el enebro, almacenan el N a largo plazo, no obstante no ocurre esto con las especies de sucesión tardía (De Frenne et al. 2018, Kamczyc-Pers et al. 2022). Las tardías serían las más afectadas por el ganado, ya que, a pesar de presentar un gran esfuerzo reproductivo (que disminuía con la carga ganadera), se obtuvieron escasas semillas viables, principalmente en el extremo del gradiente de pastoreo estudiado. Una disminución en la producción de semillas viables podría reflejar el efecto negativo directo por consumo de las estructuras reproductivas, o indirecto por limitación de la cantidad de energía y recursos disponibles y/o limitación polínica en las plantas para producir flores, frutos y semillas (Clark y Clark 1985, Bonser y Aarssen 2001, McManus y Veit 2001). También, al medir por especie la

producción de semillas por hectáreas de cada campo (i.e., promedio de semillas viables) encontramos que cuando aumenta la carga ganadera, en general disminuye significativamente esta producción de semillas ( $\beta = -2.25$ ,  $gl = 67$ ,  $P < 0.0001$ ), así como también disminuye significativamente en los tipos sucesionales de especies por separado ( $\beta_{\text{colon}} = -2.25$ ,  $\beta_{\text{inter}} = -0.19$ ,  $\beta_{\text{tard}} = -1.46$ ,  $P < 0.0001$ ). Trabajos previos han mostrado que bajo perturbaciones severas las plantas aumentan la calidad de sus semillas (Dyer 2002, Mayer et al. 2005, Akiyama y Ågren 2012, Pol et al. 2014, Chen et al. 2017), o incluso, la disminución en la cantidad de descendencia producida fue compensada con un aumento del vigor de las plántulas (Tadey y Souto 2016). Así las semillas más pesadas presentes en los campos de alta carga ganadera podrían mejorar la emergencia, supervivencia, establecimiento y vigor de las plántulas, incluso su capacidad competitiva y resistencia a otros herbívoros (Naylor 1993, Baraloto et al. 2005, Zaidman et al. 2010, Liu et al. 2014). Mientras que en los campos de baja carga ganadera, las semillas más pequeñas podrían ahorrar recursos y contribuir a la persistencia del banco de semillas y a la dispersión a larga distancia (Ellner y Shmida 1981, Westoby et al. 1992, Thompson et al. 1993, Agrawal 2001). Los efectos de la herbivoría del ganado en las semillas también puede afectar la asignación de recursos a las defensas de las mismas (Holeski et al. 2012, Aguirrebengoa et al. 2018, Kellenberger et al. 2018).

En las plantas también hay una competencia por la asignación de recursos entre estructuras de defensa, crecimiento y reproducción (Bazzaz y Grace 1997). Los resultados obtenidos en este capítulo sugieren que las especies del Monte no producen o no alcanzan a producir defensas suficientes para disminuir la herbivoría por ganado. Sin embargo, la depredación de semillas por insectos no aumentó con la carga o el ramoneo como se esperaba. Inversamente, en las tardías la depredación de semillas disminuyó, mostrando menor vulnerabilidad a los insectos al aumentar el ramoneo. Estas especies podrían estar destinando recursos a invertir en mecanismos de defensa contra la herbivoría por insectos granívoros. La falta de variación de la depredación de semillas por insectos con el ganado en los otros tipos de especies, podría estar sugiriendo cierto nivel de defensa, que alcanza para limitar el consumo por insectos, por ejemplo, a través de la producción de metabolitos secundarios (Hernán et al. 2019). Además, a mayor oferta de semillas viables y de mayor peso, menor fue la presión por herbivoría de insectos, posiblemente porque la abundancia de insectos estuvo limitada por algún

depredador, competidor u otro factor (McNaughton 1983b, Petraitis et al. 1989, Caswell y Cohen 1993, Reitz y Trumble 2002, Tadey 2016). Las semillas más pesadas de especies colonizadoras podrían tener mayor protección de la cubierta al ser más dura y/o tóxica, y de esa manera ser menos depredadas (Bazzaz y Grace 1997). Esto podría explicarse por un cambio en la asignación relativa de las estructuras dentro de la semilla, aumentando la cubierta seminal respecto del endospermo, disminuyendo la calidad nutricional pero aumentando la protección (Bazzaz y Grace 1997). Estos efectos maternos podrían estar influyendo también en los rasgos asociados con las defensas, donde las plantas maternas afectan indirectamente las interacciones de la descendencia con otros herbívoros, ya que la cantidad y el peso de las semillas podría estar influyendo en la resistencia de las mismas a los insectos (Agrawal 2001, Aguirrebengoa et al. 2018). La depredación de semillas por insectos antes de su dispersión es una fuerza selectiva importante que modifica aspectos biológicos de las semillas, por ejemplo, promoviendo el aborto de los frutos, con impactos en la aptitud de la descendencia (Sallabanks y Courtney 1992). Por lo tanto, la depredación de insectos en las semillas también podría perturbar la germinación, el establecimiento, el crecimiento y supervivencia de plántulas, afectando la dinámica de las poblaciones vegetales en las zonas áridas (Brown et al. 1985, 1987).

A través de los efectos del pastoreo sobre la cantidad y calidad de semillas de las plantas, se podría ver afectada también su capacidad germinativa (Marquis 1984, Simmons y Yeorgan 1990, Agrawal 2001). En general, se encontró un posible balance entre el porcentaje de germinación y el tiempo de germinación las semillas con el aumento de la intensidad de ganado. Esto puede deberse a una menor viabilidad debido a una reducción en el contenido de carbono en las semillas, producto del efecto del ganado sobre los recursos de las plantas (Aguirrebengoa et al., 2018). Además, los efectos indirectos del ganado en el flujo de gametas (i.e., flujo polínico) y en el flujo génico (i.e., aumento de la endogamia) en la población de plantas parentales, podría afectar negativamente la viabilidad de las semillas y por lo tanto su germinación (Tadey y Souto 2016, Castilla et al. 2019, Pelliza et al. 2020). Mediante el análisis de vías se encontró un efecto indirecto del ganado sobre la capacidad germinativa al impactar negativamente en el esfuerzo reproductivo de las plantas, donde un mayor peso de semilla predice un mayor porcentaje de germinación y éste último predice un aumento del tiempo medio en que germinan las semillas. Otros estudios encontraron que las

semillas más pesadas tardan más tiempo en germinar (Naylor 1981, Agrawal 2001). Un aumento en el momento en que germinan las semillas puede ser una adaptación para prevenir la germinación bajo condiciones desfavorables, llamado el “bet-hedging” (Crean y Marshall 2009). Incluso este “reparto” del momento en que germinan sus semillas, se puede dar entre distintos años (germinación polifénica, sensu van der Pijl (1972); Cohen (1966, 1967)), estrategia particularmente común en regiones áridas (Kos y Poschlod 2010, Kimball et al. 2011). Como se esperaba, el ganado no se asoció con la germinación de especies colonizadoras, pero estas tardan más tiempo en germinar, lo cual afectaría su capacidad de colonizar rápidamente el suelo desnudo. Las semillas de intermedias estarían aumentando la homogeneidad del momento en que germinan (disminuyen la variabilidad), pero germinan en promedio más rápido. Este patrón también esté relacionado con efectos maternos, donde incluso las plantas estén favoreciendo que las semillas germinen antes y casi todas en el mismo momento. Un retraso en el momento de la germinación permite a las plantas maternas disminuir la competencia entre su progenie o para asegurar su éxito en un entorno heterogéneo (Ellner y Shmida 1981, Westoby 1981, Ellner 1986, Roach y Wulff 1987). Mientras que una germinación rápida podría minimizar la duración de su exposición a posibles depredadores, asegurando mayor establecimiento de las plántulas (Tweddle et al. 2013). Esto también puede maximizar el desarrollo de las plántulas durante un periodo de condiciones ambientales favorables de duración limitada, aunque también puede aumentar la mortalidad por heladas (Tweddle et al. 2013). La germinación más rápida y uniforme de las semillas de las intermedias les ayudaría a obtener ventajas competitivas en tiempo y espacio respecto a las colonizadoras (Bu et al. 2008). Las especies tardías no mostraron relación de la germinación con la intensidad del ganado, lo que podría deberse a su alta latencia y baja producción de semillas viables (o mayor aborto de semillas). Además, las especies tardías de *Larrea* tienen una latencia fisiológica profunda, resultando en escasa germinación (Capítulo 1) (Baskin y Baskin 1998, 2014, Bonvissuto y Busso 2007, Tadey y Souto 2016). Estas especies longevas podrían estar invirtiendo más recursos en subsistir o resistir al ganado, destinando los recursos a generar mayor biomasa fotosintética, de conducción y/o subterránea (Bagchi y Ritchie 2010). De esta manera, la asignación de recursos a la reproducción, como la formación de flores, puede ser insuficiente para lograr su desarrollo y maduración o para mejorar calidad de los frutos y semillas, causando su posterior aborto (Lee y Bazzaz 1982, Marshall y Ellstrand 1988). Con estos mecanismos las plantas maternas pueden ajustar



la producción de progenie al nivel de los recursos disponibles (Lloyd 1980, Stephenson 1981). Por lo tanto, la germinación y el momento de germinación de las semillas parecen estar casi exclusivamente bajo control materno, indirectamente a través de la calidad de la semilla (Weis 1982, Dolan 1984, Roach y Wulff 1987).

## **Conclusión**

El ganado afecta de forma directa e indirecta la dinámica de la vegetación de zonas áridas y sus efectos trascienden a las generaciones (Souto y Tadey 2018, Pelliza et al. 2020). Los resultados obtenidos sugieren que la magnitud de los efectos del ganado sobre la aptitud de las plantas depende del tipo sucesional de especies consumidas. Así, en condiciones de escasos recursos como los ambientes áridos, los tipos sucesionales de especies presentan diferentes respuestas, posiblemente a través de efectos maternos, para tolerar (compensando o sobrecompensando), resistir o evitar la herbivoría por ganado. Las especies tardías serían las más afectada por el ganado, ya que no desarrollaron semillas viables, lo que implica fuertes limitaciones en el reclutamiento natural de estas especies. Las intermedias serían capaces de compensar entre cantidad y calidad de semillas, y al germinar más rápido podrían tener cierta ventaja competitiva, con respecto a las colonizadoras, las cuales al tardar más tiempo en germinar perderían su ventaja de colonización. La calidad de la semilla estaría asociada con la asignación de recursos en las semillas por parte de la planta materna, y para muchas especies es primordial para la germinación, establecimiento y supervivencia de las plántulas (Agrawal 2001, 2002, Steets y Ashman 2010). El hecho de que las intermedias muestren aparentes respuestas plásticas para compensar el daño a través de efectos maternos ambientales y dada su importancia para la formación de los parches de vegetación, tanto por su rol de facilitadoras como de nodrizas, pone en evidencia su utilidad para estrategias de restauración de zonas degradadas. Para su conservación ex situ, restauración y obtención de semillas para la producción de plantines se recomendaría que se colecten semillas de campos con cargas ganaderas bajas, de plantas de tamaño grande y con alto esfuerzo reproductivo. Para las intermedias, recoger semillas de cargas altas, provenientes de plantas más grandes y con mayor esfuerzo

reproductivo; y para las colonizadoras recoger semillas de plantas con mayor esfuerzo reproductivo. La combinación de especies colonizadoras e intermedias para restauración podría resultar en un proceso de restauración más rápido aprovechando sus interacciones positivas y que ambos tipos de especies poseen altas tasas de reproducción, germinación y crecimiento. Asimismo, en este capítulo se reafirma que las estrategias de conservación deberían enfocarse en las especies tardías. En general, la respuesta de las plantas parentales para reemplazar el tejido consumido tiene impactos en la cantidad y calidad de semillas producidas, y en consecuencia en la emergencia y el momento en que ocurre la germinación de su progenie, y a su vez, esto podría derivar en grandes impactos en la estructura, dinámica y función de la vegetación del Monte (Naylor 1993). Esta disminución en la aptitud suele estar acompañada de pérdidas de la diversidad genética de ambas generaciones, con consecuencias negativas en la capacidad de evolucionar (Pelliza et al. 2020). Los tipos sucesionales de especies proporcionan una unidad de comparación fundamental para explicar y predecir las diferencias de rendimiento entre especies dentro de un entorno común. Estos resultados aportan información altamente útil para ser utilizada en la toma de decisiones, conservación, manejo sustentable y restauración de estos ecosistemas.

## Capítulo 3

**¿Cómo afecta la herbivoría la diversidad genética de la vegetación del desierto?**



## Resumen

La conservación de la biodiversidad es clave para el funcionamiento y salud de los ecosistemas, y aunque pocas veces se dimensiona la importancia de la diversidad genética como componente de la biodiversidad, el potencial evolutivo de las especies depende de que posean suficiente diversidad genética, que les permita persistir a los disturbios. Dicha diversidad genética se transmite entre generaciones a través de la reproducción sexual, y un mayor entrecruzamiento entre parentales conducirá a una mayor diversidad genética en su progenie. El pastoreo por grandes herbívoros exóticos es uno de los principales disturbios que provocan la pérdida de biodiversidad y amenaza la sostenibilidad de las zonas áridas en todo el mundo. El objetivo de este capítulo es evaluar los efectos del ganado sobre la variabilidad y estructura genética de la vegetación del Monte Patagónico, a través de dos marcadores moleculares. Utilizando isoenzimas, se evaluaron los efectos del ganado a lo largo de un gradiente creciente de pastoreo sobre la estructura, variabilidad genética y la aptitud de generaciones parentales y su progenie en la especie modelo *Prosopis alata* en diez campos ganaderos. También, se realizó un análisis de vías (“D-sep”) para estimar los efectos directos e indirectos del pastoreo sobre la aptitud de la progenie, donde como indicadores de la aptitud parental se utilizaron el porcentaje de semillas viables, el peso de las semillas, la germinación de las plántulas y la mortalidad para la progenie. Además, utilizando marcadores microsatélites, se compararon los efectos del ganado sobre la variabilidad genética entre la generación parental y su progenie, estimando cambios relativos (deltas,  $\Delta$ ) en el tamaño efectivo poblacional y la diversidad genética entre dos niveles de cargas ganaderas contrastantes (baja y alta) y entre dos tipos sucesionales de especies, *Atriplex lampa* (colonizadora) y *P. alata* (intermedia). Se encontró que con el aumento de las cargas ganaderas en el gradiente de pastoreo, disminuyó la variabilidad genética en las poblaciones parentales de *P. alata* y presentaron cuellos de botella genéticos, además su progenie mostró crecientes niveles de endogamia. Al testear un modelo causal hipotético (“D-sep”), se encontró que la disminución de diversidad genética entre la generación parental y su progenie se asoció fuertemente con menor aptitud de los parentales, lo que a su vez afectó la diversidad genética de la progenie, aumentando la mortalidad de las plántulas. Al comparar entre especies, *P. alata* presentó mayores cambios genéticos relativos entre generaciones y entre niveles de carga ganadera. Estas diferencias transgeneracionales entre especies

podrían atribuirse a sus diferentes ciclos de vida (cortos vs. largos, respectivamente) y estrategias de dispersión de polen (anemófila vs. zoófila). Estos resultados sugieren que la introducción de grandes herbívoros en campos ganaderos no manejados afecta la variabilidad y estructura genética de la vegetación, lo cual podría poner en peligro la sostenibilidad del sistema y su potencial evolutivo a largo plazo. La revegetación natural también podría verse comprometida al aumentar las pérdidas de aptitud y diversidad genética a lo largo de las generaciones. Esto resalta la importancia de evaluar y conservar la diversidad genética de las especies nativas de climas áridos consumidas por el ganado.

## Introducción

La diversidad genética es esencial para mantener la biodiversidad a lo largo del tiempo, dado que una mayor diversidad genética aumenta la probabilidad de que las especies tengan capacidad de responder a cambios ambientales y disturbios (Hoffmann y Parsons 1991, Banks et al. 2013, Rice y Jain 2013). La transformación, degradación y fragmentación del paisaje causada por la ganadería está afectando los ecosistemas en todo el mundo (FAO 2019). En particular, en los ecosistemas áridos está bien documentado que el pastoreo del ganado conduce a una severa reducción de la cobertura, abundancia y riqueza de la vegetación, afectando su funcionamiento (Paruelo and Aguiar 2003, Tadey 2006, Li et al. 2017, Pelliza et al. 2021a). Además, dado el impacto negativo del ganado sobre la dinámica de los ecosistemas, el pastoreo sostenido en el tiempo puede tener consecuencias evolutivas impredecibles en las comunidades vegetales (Tadey y Farji-Brener 2007, Herman y Sultan 2011, Hanke et al. 2014), afectando a su vez la diversidad genética de las plantas. Esto último ha recibido limitada atención en la bibliografía, y menos aún el efecto del pastoreo sobre la diversidad genética a través de las generaciones (Fu et al. 2005, Wu et al. 2010).

Los disturbios pueden generar cuellos de botella, que podrían producir mayores reducciones en la diversidad genética (Luikart y Cornuet 1998, Piry et al. 1999). Se dice que una población ha sufrido un cuello de botella cuando ha experimentado un drástico descenso en el número de individuos en algún momento del pasado. Bajo condiciones neutrales, las poblaciones pequeñas pueden sufrir cambios en la composición genética de la población a lo largo de las generaciones de forma estocástica, esto se denomina deriva génica (Carson 1968, 1982, Templeton 1980, Van Heerwaarden et al. 2008, Abel et al. 2015). Como consecuencia, la proporción de alelos de la población parental habrá cambiado considerablemente y las generaciones siguientes presentarán menor variabilidad genética sólo por azar (Luikart y Cornuet 1998, Piry et al. 1999). Sin embargo, los cuellos de botella también han sido considerados como mecanismos impulsores de especiación y evolución adaptativa (Carson 1968, 1982, Templeton 1980, Van Heerwaarden et al. 2008, Abel et al. 2015). Así, presiones de selección (como por ejemplo el pastoreo) pueden generar cuellos de botella genéticos, al seleccionar determinados genotipos (Wahl et al. 2002). Los individuos sobrevivientes serán los que determinen la composición genética de las generaciones posteriores (Bryant 1986,

Lynch 1988, Reece 2014, Abel et al. 2015). Los dos procesos evolutivos (cuellos de botella neutrales y adaptativos) llevan a que disminuya la variabilidad genética y consecuentemente se reduzca el potencial evolutivo de la población (Van Heerwaarden et al. 2008, Abel et al. 2015). Además, las reducciones en el tamaño efectivo de la población por eliminación de individuos por consumo y/o consumo exclusivo de flores y/o frutos (reducción de la reproducción), podría resultar en menos individuos reproductores que contribuyan a la siguiente generación (Couvét 2002, Leimu et al. 2006). Este proceso, también puede conducir a la restricción del flujo génico y a la pérdida de variabilidad genética de las especies (Young et al. 1996, Couvét 2002, Leimu et al. 2006, Lanfear et al. 2014). Por lo general, después de un cuello de botella, la endogamia puede profundizarse. Esto se debe a que el número de individuos disponibles para la reproducción será limitado y posiblemente emparentado, lo que puede conllevar a la disminución de la viabilidad y la aptitud de la descendencia, causando lo que se denomina depresión por endogamia (Hedrick y Kalinowski 2000). Como consecuencia, reducciones en la variabilidad genética de las poblaciones vegetales podrían disminuir gravemente su capacidad de adaptación para hacer frente a futuros impactos naturales y/o antropogénicos en un mundo cambiante (Cornuet y Luikart 1996, Luikart y Cornuet 1998, Luikart et al. 1998, Williams 2001, Frankham, R. Ballou, J.D. Briscoe 2015).

Los grandes herbívoros pueden modificar directa o indirectamente la fecundidad de las plantas y el flujo génico durante las etapas de predispersión (i.e., polinización) y postdispersión (i.e., dispersión), lo que podría conducir a cambios en la diversidad genética y la estructura de las poblaciones de plantas consumidas (Mulder 1999, Grant 2010). Incluso los herbívoros pueden ayudar a la dispersión de las especies vegetales mediante la zoocoria (Campos et al. 2011, Bessega et al. 2017, García-Fernández et al. 2019). Desde una perspectiva ecológica, una reducción del tamaño poblacional causada por el ganado también puede afectar la descendencia, alterando las interacciones con los dispersores de gametas (polinizadores) y de semillas (Ågren 1996). En el caso de plantas entomófilas, que dependen de polinizadores para su reproducción, el número de plantas en flor (cruzamientos posibles) puede afectar su capacidad de atraer polinizadores y su comportamiento de forrajeo, lo que lleva a un menor flujo de polen dentro de la población (Lehtilä y Strauss 1997, Tadey 2008, 2015). Cuando las plantas son menos atractivas, los polinizadores tienden a reducir la frecuencia de visita y/o a buscar otros lugares con mayor disponibilidad de recursos (Strauss et al. 1996). Cuando

las plantas con flores están distanciadas unas de otras, los polinizadores tienden a permanecer más tiempo en una misma planta debido al costo de forrajeo (Tadey 2015). En cambio, las plantas anemófilas (i.e., dispersadas por viento) no están limitadas por la presencia ni el rango de movimiento de los polinizadores, como resultado, podrían tener mayor éxito en la dispersión a larga distancia (Cox 1991). En este caso, su polinización podría estar más limitada por la abundancia y/o cobertura vegetal, ya que éstas necesitan de la presencia cercana de individuos de su misma especie (Tadey 2008a). Una restricción en el flujo de polen exogámico puede aumentar la autopolinización aumentando la endogamia (Oostermeijer et al. 1994, Herrera 2000, Mothershead y Marquis 2000, Aguilar et al. 2008, Tadey 2008a, De Vere et al. 2009, Labouche et al. 2017). Esto puede dar lugar a depresión por endogamia, que se expresa con menor éxito reproductivo, menor fructificación y producción de semillas, bajas tasas de germinación y/o mayor aborto de semillas y mortalidad de las plántulas (Waser y Price 1989, Oostermeijer et al. 2003, Reed y Frankham 2003, De Vere et al. 2009, González-Varo et al. 2012, Abrahamsson et al. 2013). Una menor cantidad o calidad de semillas también afecta el comportamiento de los dispersores lo que a su vez repercute en la dinámica poblacional (Schupp et al. 2003, Sasal y Morales 2013, Godínez-Alvarez et al. 2002). Además, el daño a las plantas producido por el ramoneo del ganado puede reducir los recursos nutricionales para las estructuras reproductivas, profundizando la disminución de la aptitud (Charlesworth y Charlesworth 1987, Lehtilä y Strauss 1997, Mothershead y Marquis 2000, Keller y Waller 2002, Angeloni et al. 2011, Ramsey y Vaughton 2016). Una menor aptitud pueden reducir los bancos de semillas y la dispersión de las plantas, lo que agrava las pérdidas de diversidad genética a lo largo de las generaciones (Trlica y Rittenhouse 1993, Sternberg et al. 2003, Tadey 2007, Pol et al. 2014, Tadey y Souto 2016).

Al igual que otras zonas áridas del mundo, el Monte Patagónico es un ecosistema que se ve cada vez más afectado por el pastoreo del ganado, lo que genera graves problemas de desertificación con impactos socio-económicos (Reynolds et al. 2007, Maestre et al. 2009). La estimación de los efectos transgeneracionales a largo plazo del pastoreo sobre la variabilidad y estructura genética de las plantas que consume sigue siendo un desafío y requiere mayor atención. Al igual que el resto de las variables evaluadas en los capítulos anteriores, los efectos del ganado sobre la variabilidad genética podrían depender del tipo sucesional de especies, dado sus diferentes



características (ver “Introducción general” para más detalles) (Noy-Meir 1973, Premoli et al. 2007, Saiz y Alados 2012, Flores et al. 2013, Chen et al. 2015). Por lo que es importante investigar los efectos transgeneracionales del ganado sobre la variabilidad y estructura genética de los distintos tipos de especies para entender y predecir las dinámicas vegetales de las zonas áridas sometidas a disturbios.

## Objetivo general

El objetivo de este capítulo es analizar y comparar los efectos del ganado sobre la variabilidad y estructura genética, tanto en poblaciones parentales como en su progenie, de dos tipos de especies arbustivas del Monte Patagónico, una colonizadora y una intermedia. Debido a que los análisis moleculares son costosos, en este capítulo se eligieron sólo dos especies modelo que se genotiparon mediante dos técnicas diferentes, isoenzimas y microsatélites. Así, este capítulo tiene dos secciones.

## Objetivos específicos

### Sección 1: Efectos de un gradiente de carga ganadera sobre la variabilidad genética y aptitud de *P. alpataco*

Evaluar el efecto del ganado sobre la variabilidad y estructura genética, así como sobre la aptitud de *P. alpataco* (especie modelo intermedia en la sucesión) a lo largo de un gradiente de pastoreo en generaciones parentales y su progenie.

### Sección 2: Comparación transgeneracional entre cargas contrastantes y entre *A. lampa* (colonizadora) y *P. alpataco* (intermedia)

Comparar el tamaño efectivo poblacional y la variabilidad genética de *A. lampa* (especie colonizadora) y *P. alpataco* (especie intermedia) entre generaciones parentales y sus progenies, provenientes de campos con niveles contrastantes de carga ganadera (baja y alta).

## Hipótesis y predicciones

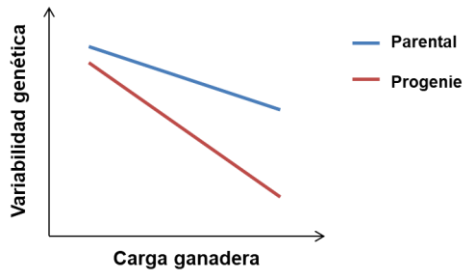
### Sección 1: Efectos de un gradiente de carga ganadera sobre la variabilidad genética y aptitud de *P. alpataco*

- Hipótesis 1: El daño causado por el ganado en la vegetación disminuye su variabilidad genética y aumenta su estructura en las poblaciones parentales, a través de la eliminación de individuos por consumo o pisoteo. Estos efectos se verán profundizados en su progenie.

- Predicción 1.1: Se espera que a medida que aumenta la carga ganadera disminuya el número promedio y efectivo de alelos por locus ( $A$  y  $Ae$ ), las heterocigosis observada y esperada ( $H_o$  y  $H_e$ ), y el porcentaje de loci polimórficos ( $\%P$ ) estimados a través de isoenzimas en *Prosopis alpataco*. Se espera que las pendientes de dichas regresiones sean más pronunciadas en la progenie (Figura 1). Además, se espera encontrar cuellos de botella genéticos ( $Bn_{st}$ ) en las poblaciones parentales de los campos con carga ganadera intermedia y alta. Se espera que los cuellos de botella sean más pronunciados en la progenie.

-Predicción 1.2: Se espera que las poblaciones de *Prosopis alpataco* sometidas a pastoreo presenten estructura genética poblacional medida a través de los parámetros  $F$  de Wright, ya sea dada por endogamia dentro de las poblaciones ( $F_{IS}$ ) y/o por divergencia entre ellas ( $F_{ST}$ ). Además, que dicha estructura sea más marcada en las poblaciones provenientes de campos con niveles de carga ganadera intermedia y alta.

**Figura 1.** Predicción para la hipótesis 1: El consumo del ganado disminuye su variabilidad genética en las poblaciones vegetales parentales, profundizando estos efectos en su progenie. Se espera que disminuya el número promedio y efectivo de alelos por locus ( $A$  y  $Ae$ ), las heterocigosis observada y esperada ( $H_o$  y  $H_e$ ), y el porcentaje de loci polimórficos ( $\%P$ ), en las poblaciones parentales a medida que aumenta la carga ganadera. Se espera que la pendiente de dichas regresiones sea más grande para la progenie. La línea de color azul marca la tendencia de la población parental y en rojo la tendencia de la progenie.



Sección 2: Comparación transgeneracional entre cargas contrastantes y entre *A. lampa* (colonizadora) y *P. alpataco* (intermedia)

- Predicción 1.3: Se espera encontrar menor tamaño efectivo poblacional ( $N_e$ ) en las poblaciones parentales sometidas a cargas ganaderas altas ( $VG_a$ ) comparadas con las poblaciones sujetas a cargas ganaderas bajas ( $VG_b$ );  $VG_b > VG_a$ .

-Predicción 1.4: Se espera encontrar diferencias en la variabilidad genética ( $\Delta VG$ ) entre la población parental ( $VG_M$ ) y la progenie ( $VG_P$ ), y que esa diferencia sea mayor entre las poblaciones sometidas a cargas ganaderas altas ( $\Delta VG_a$ ) y las sujetas a cargas ganaderas bajas ( $\Delta VG_b$ ):  $\Delta VG_a > \Delta VG_b$ .

-Hipótesis 2: El ganado tiene un efecto transgeneracional distinto sobre la variabilidad genética de *Atriplex lampa*, especie colonizadora, y *Prosopis alpataco*, especie intermedia, debido a sus diferentes características e historias de vida.

-Predicción 2: Se espera encontrar menor diferencia de variabilidad genética entre la población parental y su progenie ( $\Delta VG$ ) entre cargas ganaderas contrastantes (baja y alta) en *A. lampa* ( $\Delta VG_{AL}$ ) respecto a *P. alpataco* ( $\Delta VG_{PA}$ ), debido a que la primera tiene ciclos de vida más cortos y tasas de reproducción más altas ( $\Delta VG_{AL} < \Delta VG_{PA}$ ).

## **Materiales y métodos**

### *Recolección de muestras*

En 10 campos ganaderos, ubicados en el sitio de estudio (Introducción General), se midió y recolectó material foliar y semillas (progenie) de entre 20 y 30 individuos de *Atriplex lampa* y *Prosopis alpataco*, como especies modelo del Monte Patagónico (ver Capítulo 2). En el campo ganadero con mayor carga ganadera (1.632 ganado  $\times$  año  $\times$  ha<sup>-1</sup>), no todas las plantas produjeron frutos y/o semillas viables y, por lo tanto, no se obtuvieron plántulas para la generación progenie. Esto se debe a que la producción de frutos y/o semillas en las plantas del campo con mayor carga ganadera fue escasa o nula debido al intenso daño causado por el ganado. Debido a esto, para estimar la variabilidad genética del nivel alto de carga ganadera (Sección 2), tanto para *A. lampa* como *P. alpataco* se utilizó el campo ganadero siguiente de mayor carga ganadera (0.924 ganado  $\times$  año  $\times$  ha<sup>-1</sup>). Para obtener la progenie, se sembraron semillas viables de cada planta por separado, en un sustrato de enmienda orgánica bajo condiciones de invernadero. Como estimaciones de la aptitud parental se calcularon para cada individuo muestreado de *P. alpataco* (Sección 1) las siguientes variables: el porcentaje de las semillas viables (número de semillas viables/número total de semillas por planta parental), el promedio del peso de una semilla (mg) y el promedio de semillas germinadas por planta parental (número de semillas emergidas/número total de semillas sembradas por planta parental) (ver Capítulo 2). Para estimar los niveles de variabilidad genética de su progenie, se recogió tejido foliar fresco de 238 plántulas cultivadas en el invernadero de *P. alpataco*. Debido a que el número total de plántulas obtenidas variaba entre los campos ganaderos, incluimos entre 11 y 30 individuos dependiendo de la disponibilidad, intentando seleccionarlos de manera tal que provengan de diferentes plantas parentales dentro de cada campo ganadero. Para estimar la variabilidad genética de la progenie evaluada mediante microsatélites (Sección 2), se recogió tejido foliar fresco de una submuestra de las plántulas obtenidas en invernadero. Para *P. alpataco* se colectó tejido foliar de 25 plántulas de cada carga ganadera (baja y alta), y para *A. lampa*, entre 35-40 plántulas de cada carga ganadera (baja y alta). Todo el material foliar fresco se conservó a -21°C hasta que se realizaron los análisis genéticos.

### *Análisis moleculares*

#### Sección 1: Efectos de un gradiente de carga ganadera sobre la variabilidad genética y aptitud de *P. alpataco*

Para genotipar tanto la generación parental como la progenie de *P. alpataco*, se utilizó la técnica de electroforesis horizontal de isoenzimas en 464 individuos. Las isoenzimas son marcadores codominantes, ideales para estudiar la variación genética dentro y entre las poblaciones. Tienen un menor nivel de polimorfismo en comparación con los microsatélites ya que presentan menor número de alelos por locus, y aunque los marcadores genómicos basados en el ADN pueden ser superadores, las isoenzimas siguen siendo una de las metodologías más rápidas y económicas para estudiar especies no modelo, siendo una opción confiable que permite analizar muchos individuos de muchas poblaciones. En el laboratorio se extrajeron enzimas a partir de material foliar conservado utilizando la metodología de Mitton et al. (1979). Los homogenatos obtenidos se congelaron a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta que se llevó a cabo la electroforesis, absorbiéndolos en mechas de papel Whatman n° 3, que se corrieron en geles de almidón al 12% w/v. La electroforesis horizontal se llevó a cabo utilizando dos sistemas buffer o tampón (morfolina-citrato (MC) e histidina-EDTA) (King y Dancik 1983, Ranker et al. 1989). En el sistema MC se resolvieron las siguientes enzimas y sus loci putativos: malato deshidrogenasa (Mdh-2), enzima málica (Me-2, Me-3) y peroxidasa (catódica: Per-2). Mientras que en el sistema histidina-EDTA se resolvieron las siguientes enzimas y loci putativos: Fosfoglucomutasa (Pgm), Fosfoglucosimerasa (Pgi-2, Pgi-3) y Peroxidasa (anódica: Per-2). La electroforesis se realizó a  $4^{\circ}\text{C}$  hasta que el indicador frontal, azul de bromofenol, migró aproximadamente 10 cm desde el origen hasta el ánodo. Las porciones catódica y anódica de cada gel fueron cortadas horizontalmente sobre las que se vertieron las tinciones suspendidas en agarosa al 1% p/v para enzimas específicas, siguiendo procedimientos estándar (Soltis et al. 1983). Los patrones de bandas se visualizaron utilizando un transiluminador. Los alelos se numeraron secuencialmente, asignando el número más bajo a la isoenzima más anódica (Souto and Premoli 2003).

## Sección 2: Comparación transgeneracional entre cargas contrastantes y entre *A. lampa* (colonizadora) y *P. alpataco* (intermedia)

Para evaluar el efecto de niveles de carga ganadera contrastantes (baja y alta) sobre la variabilidad genética de poblaciones parentales y progenes de las especies *A. lampa* y *P. alpataco*, se utilizaron marcadores hipervariables del ADN nuclear

(microsatélites). Estas secuencias simples repetidas (SSR), son secuencias de ADN constituidas por repeticiones en tándem (Mottura 2006). Estos análisis se llevaron a cabo sobre material foliar de buena calidad, obtenido de 144 individuos de *Atriplex lampa* y de 110 individuos de *Prosopis alpataco* colectados en los campos estudiados. Se transfirieron marcadores microsatélites ya desarrollados para éstos géneros (Tablas 3 y 4), siguiendo la metodología propuesta por Guichoux et al. (2011). Estos marcadores permitieron calcular parámetros estándar de variación genética poblacional tanto para la generación parental como para la siguiente generación (progenie).

**Tabla 3.** Nombre del locus, secuencias del cebador (F: forward y R: reverse), motivos repetidos, tamaños en pares de bases de los cebadores y temperatura óptima de incubación que se utilizaron para *Atriplex* spp. Fuente: Modificado de Byrne et al. (2008) y Clarke et al. (2012).

Locus	Secuencia 5´-3´ del cebador	Motivo repetido	Tamaño (pb)	T <sub>a</sub>
<b>Ays04</b>	F: ACGACGTTGTAAAAAAGTTGTTGCACAAGACCCC R: CATTAAGTTCCCATTATCGAGGGATTACTAAATTGTGG	(ATT) <sub>10</sub>	275-334	55
<b>Ays14</b>	F: ACGACGTTGTAAAACCAGCTACTCGAAAATCGCT R: CATTAAGTTCCCATTATTGTGAGCCCATGATTGAAG	(CCA) <sub>9</sub>	153-184	55
<b>Ays26</b>	F: ACGACGTTGTAAAATGCAGCTAGTGATGAGCTTGA R: CATTAAGTTCCCATTAGCAGCACATTTAGTTGCTCG	(AAT) <sub>13</sub>	163-183	55
<b>Ays27</b>	F: ACGACGTTGTAAAACCTTTCTCCTCGGTTCCACA R: CATTAAGTTCCCATTAGATCTAAATAAAGAAAACCGACCA	(TTC) <sub>10</sub>	114-152	55
<b>1AF1</b>	F: GAACACAGGCTATTCCCAAG R: GGAAAGAACATGTGAGAGTTCG	(CA) <sub>8</sub>	147-156	56
<b>1AG5</b>	F: CTGCAAGCTAGCGTTCATGC R: ACTCCTCCTATGGCCCTATCTC	(TG) <sub>10</sub>	151-160	56
<b>1B12</b>	F: TGTAGCTGGAAGCGGTAAAG R: GAAGCGGTGGTAAATTCCTG	(TC) <sub>27</sub>	233-284	56
<b>2F2</b>	F: ATAGGCGACAAGCGAACAAC R: GCTTTTCCAACCTCCACCACA	(AG) <sub>12</sub>	195-207	56
<b>10C1</b>	F: TCTCCCTCTCCTATCACATGG R: GCCTTTCTTGTTGCATCGTC	(TC) <sub>19</sub>	188-233	56
<b>10H3</b>	F: CGTGCAGAATGTATGGTGGGA R: CAAGTCGCGTCAGGATCATA	(GA) <sub>22</sub>	191-226	56

**Tabla 4.** Nombre del locus, secuencias forward y reverse, motivos repetidos, tamaños en pares de bases de los cebadores y temperatura óptima de incubación que se utilizaron para *Prosopis* spp. Fuente: Modificado de Mottura (2006), Bessega et al. (2013) y Alves et al. (2014).

Locus	Secuencia 5'-3' del cebador	Motivo repetido	Tamaño (pb)	T <sub>a</sub>
<b>Mo07</b>	F: GAAGCTCCCTCACATTTTGC R: CTATTTGCGCAACACACAGC	(GC) <sub>8</sub>	197	59
<b>Mo09</b>	F: ATTCCTCCCTCACATTTTGC R: CATTATGCCAGCCTTTGTTG	(TG) <sub>17</sub>	233	59
<b>GL3</b>	F: CACCGATCTCACAAAGCTGC R: AATGGATCTGGTGTGTCGC	(AAT) <sub>5</sub>	230–280	58
<b>GL8</b>	F: CAGGTGGGCATGAAGTTTCC R: CCAAGAACAACCTGCCGAAG	(AT) <sub>12</sub>	150–180	58
<b>GL15</b>	F: GTGTTATGGTCCCAACAGCC R: TGAAGAGGGAGGAATCGCAG	(AG) <sub>12</sub>	160–220	58
<b>GL16</b>	F: GTTGGATTTACGGAAGGGC R: TCAGCTAAGTGGCCATACGG	(AT) <sub>16</sub>	250–300	58
<b>GL21</b>	F: ATCTCCGTCACAACTTGCAC R: ACCCTCACTCCCGAATGATG	(AG) <sub>5</sub>	190–230	58
<b>GL23</b>	F: GTCTTCTCTCCCGTGGATCC R: TGAGGCAAAGGAAGAGCAAC	(AT) <sub>10</sub>	300–330	58
<b>GL24</b>	F: CCTTAATCTCCCTCTCGGCC R: AACCAGGCTCTGCAGAAATG	(AC) <sub>11</sub>	260–330	58
<b>GL26</b>	F: CGAATGTGGATCTTCTGCGG R: TTAAGCGGCCCAAGTTTCTC	(GT) <sub>8</sub>	180–220	58

#### *Extracción de ADN*

Para la extracción del ADN se usó el protocolo ATMAB modificado (Doyle 1990). Se utilizaron 10 pares de cebadores de microsatélites nucleares para determinar el genotipo de las especies focales. Para ello se puso a punto el protocolo de extracción de ADN. Para *A. lampa*, se utilizó el buffer ATMAB, mezclando 20 gr. de bromuro de alquitrimetilamonio (sales de ATMAB), 40ml de ácido de etilendiaminotetraacético (EDTA) 0.5M a pH8, 100ml de tris hidroximetilaminometano (Tris HCL) 1M a pH8, 280ml de cloruro de sodio (NaCl) 5M y se llevó a volumen final de 1000ml con agua

destilada. En el caso de *P. alpataco*, se prepararon dos buffers de extracción, uno con 30 ml de volumen final, contenía 3 ml de tris hidroximetilaminometano (Tris HCL) 100 mM pH 8, 2.445 g de cloruro de sodio (NaCl) 1.4 M, 0.225 g de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) 20 mM y 0.6 g de dodecil sulfato de sodio (SDS). Para obtener 30 ml del segundo buffer, se añadieron 30 ml de buffer 1, 0.225 g de ditiotreitól (DTT) y 0.3 g polivinilpirrolidona (PVP). Para la extracción de ADN, para cada individuo se pesaron entre 0.03 y 0.04 gr. de tejido foliar seco y entre 0.05 y 0.1 de tejido foliar fresco, se colocaron dentro de tubos Eppendorf de 1.5 ml aptos para diclorometano y se le agregó 2-3 bolitas de 3mm de tungsteno imantadas. Se molió el tejido congelándolo con nitrógeno líquido durante 1 min y luego se molió mecánicamente agitándose por 2 min en un tissue lyser. Se retiraron las pelotitas utilizando un imán y se colocó 1 ml de buffer de extracción a cada tubo, según corresponda. Para las muestras de *A. lampa* se agregaron 0.0075gr de ditiotreitól (DTT) y 0.01 de polivinilpirrolidona (PVP 40000) (1ml de buffer de extracción). Las muestras de *P. alpataco* se centrifugaron por 8 min a 10000 rpm y luego se les eliminó el sobrenadante. Seguidamente, se les agregó 600 µl de buffer 2 y se colocaron en un vortex por 30 segundos para homogeneizar las muestras. Se incubaron a 55°C en baño maría durante una hora, mezclando por inversión cada 15 minutos. Una vez cumplido el tiempo, se retiraron los tubos del baño y se dejaron reposar 10 minutos a temperatura ambiente. A las muestras de *A. lampa*, se les agregó 400ml de diclorometano y se mezclaron los tubos suavemente hasta obtener una emulsión. A continuación, se centrifugaron por 10 minutos a 13000 rpm. El sobrenadante se trasvasó a un nuevo tubo Eppendorf. En los casos que no se obtuvo un sobrenadante nítido se repitieron los pasos desde el agregado de diclorometano. Luego, se agregó 2/3 del volumen de isopropanol frío 76% y se mezcló suavemente. En el caso de no aparecer el pellet de ADN, se colocaban los tubos Eppendorf en el freezer a -20°C durante media hora. Se centrifugaron a 13000 rpm durante 15 minutos. Se removió el isopropanol cuidando de no perder el pellet y se agregó 1 ml etanol frío 99%. Se mezcló suavemente por inversión y se dejó reposar durante al menos una hora a -20°C. Transcurrido ese tiempo, se centrifugó durante 15 minutos a 13000 rpm. A las muestras de *P. alpataco*, una vez cumplido el tiempo de incubación, se les agregó 700-750 µl de cloroformo: isoamilico (24:1) por muestra y se vortexeó por 30 segundos. Se centrifugaron por 20 min a 13200 rpm para recuperar el sobrenadante. Se agregó 700-750 µl de cloroformo por muestra y se vortexeó 30 segundos. Se centrifugaron por 20 min a 13200 rpm para recuperar el



sobrenadante. A continuación, se agregó el 60% en volumen de isopropanol frío, mezclándose por inversión. Se los dejó reposar a temperatura ambiente por 10 min y se llevó al freezer por 1 hora. Después se centrifugaron por 20 min a 13200 rpm y se les eliminó el sobrenadante. Se les agregó 800 µl de etanol 70% y se los vortexeó por 30 segundos, dejándolo en reposo a temperatura ambiente por 5 min. Luego se centrifugaron por 10 min a 13200 rpm y se les eliminó el sobrenadante. Se les agregó 800 µl de etanol 70%, se los vortexeó por 30 segundos y se los dejó en reposo por 5 min. Se centrifugaron nuevamente por 10 min a 13200 rpm y se eliminó el sobrenadante. Por último, todas las muestras se dejaron secar en estufa a 37°C y se les agregó 50-100 µl de agua (dependiendo de la cantidad de pellet), para luego guardarse en freezer. Para realizar la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se diluyó cada muestra de ADN en 20% V/V de agua CAB (en nuestro caso, entre 50 a 100ml). Para corroborar la extracción se sembraron 3 µl de cada muestra junto con 3 µl de loading buffer 1X, en gel de agarosa 1X (preparados con 0.7gr. de agarosa con 70 ml de TAE 1X).

#### *Amplificación de marcadores microsatélites de A. lampa y P. alpataco*

Los marcadores microsatélites se amplificaron mediante reacciones en cadena de la polimerasa (PCR) que consideraron múltiples microsatélites en un cóctel único (Mastermix). Para cada muestra de *A. lampa* se preparó la siguiente fórmula: 6.3 ml de agua autoclavada, 4.5 ml de PCR Buffer 10x, 2.54 ml de MgCl<sub>2</sub>, 1.8 ml de dNTPs, 2.4 ml de BSA, 0.6 ml de Taq polimerasa y 10.2 ml de la combinación de iniciadores. En cada uno de los 96 pocillos de la placa de PCR, se colocó un tubo Eppendorf de 0.2 ml con una alícuota de 1 µl de ADN junto con 14 µl de cada producto de la Mastermix. Las reacciones se amplificaron utilizando un ciclo térmico de 94°C por 10 minutos, seguido de 10 ciclos de 95°C por 30 segundos, 56/55°C por 30 segundos (según correspondiera la temperatura de annealing de los microsatélites) y 72°C por 30 segundos, finalizando en 72°C por 5 minutos. Para cada muestra de *P. alpataco* se preparó la siguiente fórmula: 12.7 ml de agua autoclavada, 2.4 ml de PCR Buffer 10x, 0.7 ml de MgCl<sub>2</sub> 50mM, 0.7 ml de dNTPs, 1 ml de BSA, 0.2 ml de Taq polimerasa y 5 ml de la combinación de iniciadores. En cada uno de los 96 pocillos de la placa de PCR, se colocó un tubo Eppendorf de 0.2 ml con una alícuota de 2 µl de ADN junto con 23 µl de

cada producto de la Mastermix. Las reacciones se amplificaron utilizando un ciclo térmico de 94°C por 3 minutos, 95°C por 1 minuto, 10 ciclos de 94°C por 1 minuto, 62°C por 1 minutos y 72°C por 1 minuto, seguido de otros 10 ciclos de 94°C por 1 minuto, 59°C por 1 minutos y 72°C por 1 minuto, seguido de otros 10 ciclos de 94°C por 1 minuto, 58°C por 1 minutos y 72°C por 1 minuto, para terminar con 72°C por 10 minutos. A continuación, las placas de microsátélites se enviaron a secuenciar a Macrogen (Korea). El genotipo se evaluó utilizando el programa Peaks Scanner v1.0 (Applied Biosystem), obteniendo un total de 25 loci.

### *Análisis de los datos*

#### *Estimación de los parámetros genéticos*

Se estimaron parámetros de variabilidad genética para las poblaciones parentales y progenie a nivel de campo ganadero a partir de los datos isoenzimáticos y de microsátélites. Dado que en la bibliografía se encontró que las especies son autoploiploides (Frayssinet et al. 2007, Saidman et al. 1997), se analizaron más de una región en algunos loci de microsátélites. En los próximos análisis se incluyeron las siguientes variables: número promedio de alelos por locus ( $A$ ), número efectivo de alelos por locus ( $Ae$ ), heterocigosis observada ( $H_o$ ) y esperada bajo equilibrio Hardy-Weinberg ( $H_e$ ), porcentaje de loci polimórficos ( $\%P$ , criterio del 95%), utilizando el plugin de Microsoft Office EXCEL GenAlEx v. 6.5 (Peakall y Smouse 2006, 2012). Para comparar entre generaciones, se evaluó el cambio relativo en la diversidad genética de la generación parental a la progenie ( $\Delta Vg = 1 - Vg \text{ parental} / Vg \text{ progenie}$ ) (Vigouroux et al. 2002), donde  $Vg$  es cada parámetro de variación genética, siendo  $A$  es el cambio en el número promedio de alelos,  $Ae$  es el cambio en el número promedio de alelos efectivos, y  $H_o$ ,  $H_e$  son el cambio en la heterocigosis observada y esperada, respectivamente. Una pérdida de diversidad genética relativa de la generación parental a la progenie estaría representada por un valor negativo de  $\Delta Vg$ . Además, para *P. alpataco* con los datos isoenzimáticos se estimaron los distintos niveles de estructura genética poblacional utilizando los estadísticos de Wright: endogamia dentro de las poblaciones ( $F_{IS}$ ), divergencia genética entre poblaciones ( $F_{ST}$ ) y estructura genética total ( $F_{IT}$ ), siguiendo la ecuación:  $(1 - F_{IT}) = (1 - F_{IS})(1 - F_{ST})$ . Estos parámetros miden el nivel de heterocigosis observada comparado a la heterocigosis esperada bajo el

equilibrio Hardy–Weinberg. Estos parámetros  $F$  se calcularon utilizando el software FSTAT (Goudet 1994). Para detectar las diferencias del efecto del pastoreo en la estructura genética de la población con el método de isoenzimas, se agruparon las cargas ganaderas similares en tres categorías de nivel de carga ganadera: baja (B) (0.06 a 0.07 ganado x año x ha<sup>-1</sup>), intermedia (I) (0.10 a 0.21 ganado x año x ha<sup>-1</sup>), y alta (A) (0.63 a 1.63 ganado x año x ha<sup>-1</sup>). Esta agrupación permite comparar la estructura genética dentro y entre los niveles de carga ganadera. También, se estimaron cuellos de botella genéticos utilizando el programa informático Bottleneck 1.2 (Piry et al. 1999), que comprueba si las poblaciones experimentaron una severa reducción del tamaño efectivo bajo el supuesto de que esta reducción se correlaciona con la pérdida de alelos y el aumento de loci en heterocigosis. Por lo que se espera que poblaciones que sufrieron cuellos de botella recientes presenten exceso de heterocigosis en la mayoría de sus loci comparado a lo esperado bajo el equilibrio Hardy–Weinberg (Cornuet y Luikart, 1996; Luikart y Cornuet, 1998; Luikart et al., 1998). Para determinar si una población presenta un exceso de heterocigosis, se utilizó el modelo de alelos infinitos (IAM), que asume que cada mutación produce un nuevo alelo que es diferente de todos los existentes (Kimura y Crow, 1964) y la prueba estadística de signos de Wilcoxon (Luikart y Cornuet, 1998), ya que suele ser la herramienta más potente y robusta cuando se utiliza un número reducido de loci (< 20) (Piry et al. 1999). También, con los datos de microsatélites se calculó el tamaño efectivo poblacional ( $N_e$ ) para cada campo ganadero y generación, con NeEstimator v2, una aplicación de software que produce estimaciones contemporáneas del tamaño efectivo poblacional (Peel et al. 2003, Do et al. 2014). Se utilizó el método de Coancestría molecular (Do et al. 2014). Además, se calculó para cada especie el cambio relativo entre generaciones y niveles de carga ganadera (baja y alta) ( $\Delta VG$ ) con la misma ecuación ( $\Delta VG = 1 - \Delta VG_{\text{baja}} / \Delta VG_{\text{alta}}$ ), donde  $VG$  es cada parámetro de variación genética, siendo  $\Delta VG_A$  el cambio en el número medio de alelos entre la generación parental y progenie,  $\Delta VG_{Ae}$  el cambio en el número promedio de alelos efectivos entre la generación parental y la progenie y  $\Delta VG_{Ho}$ ,  $\Delta VG_{He}$  el cambio en la heterocigosis observada y esperada, respectivamente, y  $\Delta VG_{Ne}$  el cambio de tamaño efectivo poblacional, entre la carga ganadera baja y alta. Estos últimos parámetros se utilizaron para comparar entre especies con los datos de microsatélites. Además, se estimaron parámetros genéticos individuales para las plántulas parentales y progenie dentro de cada campo ganadero para ser utilizados en un análisis de vías: la heterocigidad individual ( $IndHet$ ), calculada como: el número de

loci heterocigotas dividido por el número total de loci analizados por individuo, utilizando el plugin de Microsoft Office EXCEL GenAlEx v.6.5 (Peakall y Smouse 2006, 2012) y la diversidad alélica individual, calculada como: el número de alelos de cada individuo dividido por el número total de alelos en cada población (Peterson et al. 1998, Thoß et al. 2011).

### *Análisis estadístico*

El efecto del pastoreo sobre la variabilidad genética, tanto en las generaciones parentales como en la progenie, se analizó mediante regresiones lineales simples utilizando como variables respuesta a cada parámetro genético poblacional ( $A$ ,  $Ae$ ,  $Ho$ ,  $He$ ,  $\%P$ ) estimado por campo ganadero, y a la carga ganadera como variable independiente. Además, se analizó el cambio relativo de cada parámetro genético ( $\Delta A$ ,  $\Delta Ae$ ,  $\Delta Ho$ ,  $\Delta He$ ) como variable respuesta versus la carga ganadera (variable independiente). Se compararon los estadísticos  $F$  de Wright ( $F_{IT}$ ,  $F_{ST}$  y  $F_{IS}$ ) entre niveles de carga ganadera (baja, intermedia y alta) y entre generaciones con un test de Kruskal Wallis para datos no paramétricos. Todos los análisis estadísticos se realizaron con R 3.4.4 (R Development Core Team 2017).

Para estimar el efecto del pastoreo sobre la variabilidad genética y aptitud de los parentales y cómo esto repercute sobre la aptitud de la progenie, se elaboró un modelo hipotético causal multivariado utilizando el análisis de vías "D- Sep" (Figura 2a). Este método permite estimar los componentes causales y no causales de la variación total estimando la relación directa e indirecta entre las variables involucradas (ver Capítulo 2 para más detalles de la metodología). El modelo postulado en este capítulo contempla que el gradiente de pastoreo (GG) afecta directamente a la aptitud de la progenie (OF) o indirectamente a través de la diversidad genética de la progenie (OG), la aptitud de los parentales (PF) y la diversidad genética de los parentales (PG, Figura 2a). A su vez, la diversidad genética parental puede afectar directamente a la FP, a la OF y a la OG (Figura 2a). Además, la FP y la OG pueden tener un efecto sobre la OF (Figura 2a). En este modelo, se utilizó la carga ganadera como proxy de GG. Para representar a la "diversidad genética" y la "aptitud parental" en una única variable integral, se realizaron tres Análisis de Componentes Principales (PCA): uno utilizando la IndHet y la diversidad alélica individual para estimar la diversidad genética parental y de la

progenie por separado, y un tercer PCA utilizando la proporción de semillas viables, el peso de las semillas y la germinación de las plántulas como aproximaciones a la aptitud parental (ver Capítulo 2). Todos estos análisis se realizaron con variables estimadas a nivel individual dentro de cada campo ganadero. En los análisis posteriores, se utilizaron los valores de los ejes del primer PCA que explicaban más del 60% de la varianza. Como indicador de la OF, se utilizó la mortalidad de las plántulas. La mortalidad individual de las plántulas se analizó con una distribución Bernoulli recomendada para una variable binaria en la que 0 representa la supervivencia de las plántulas y 1 la mortalidad de las mismas (Zuur et al. 2009). Los modelos con mortalidad de plántulas tuvieron como factor aleatorio la anidación del individuo en los campos ganaderos. Los demás análisis (vías 1-5, ver Tabla 1) se realizaron mediante regresiones lineales. Para probar el modelo “D-sep”, primero se exploró la existencia de independencia entre las variables (i.e., variables que no están asociadas, o “claims”, Tabla 2) sensu el modelo hipotetizado de la Figura 2a. A continuación, para comprobar si el modelo se ajusta a los datos, se estimó el parámetro C siguiendo la ecuación:

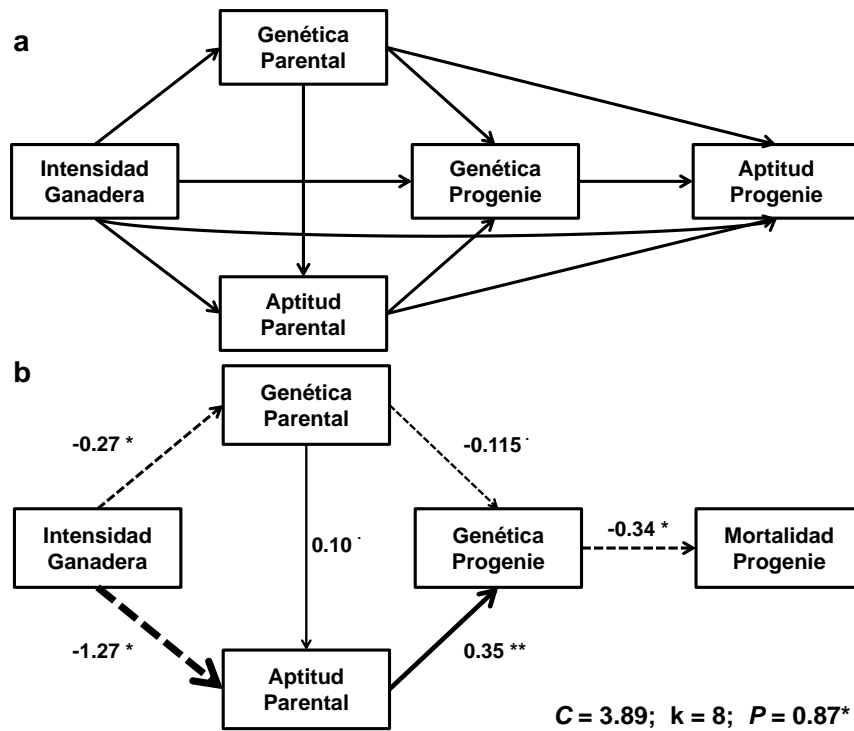
$$C = -2 \sum_{i=1}^k \text{Ln} (P_i), \quad (2)$$

donde  $k$  es el número de afirmaciones independientes,  $P_i$  es la probabilidad nula para cada  $k$ . A continuación, se comparó el valor C resultante con una distribución 2 con  $2k$  grados de libertad (Shiple 2000, 2009, 2016). Se rechaza el modelo causal si es poco probable que el valor C se haya producido por azar (es decir,  $P < 0.05$ ) (Shiple 2009).

Luego de confirmar los “claims” o independencias, se procede a analizar las dependencias o variables asociadas. La fuerza de las diferentes vías hipotéticas se evaluó por sus valores estimados (pendientes) y las probabilidades asociadas en las regresiones. Por lo tanto, para obtener el efecto indirecto total de la carga ganadera sobre la aptitud de la progenie, se multiplicaron los coeficientes estimados para cada par de variables implicadas en cada posible vía indirecta entre estas dos variables (carga ganadera-aptitud de la progenie). Se obtuvieron tres vías indirectas de GG a OF. 1) Del gradiente de pastoreo al genotipo parental, del genotipo parental al genotipo de la progenie y del genotipo de la progenie a la aptitud de la progenie (GG-PG-OG-OF). 2) De la intensidad de pastoreo al genotipo parental, del genotipo parental a la aptitud parental, de la aptitud parental al genotipo de la progenie y del genotipo de la progenie a la aptitud de la progenie (GG-PG-PF-OG-OF). 3) Del gradiente de pastoreo a la aptitud

de los padres, de la aptitud de los padres al genotipo de la progenie y de éste a la aptitud de las progenie (GG-PF-OG-OF) (Fig. 2a). A continuación, se sumaron todos los efectos de las vías indirectas y directas para estimar la covariación total (Legendre y Legendre 1998, Shipley 2000).

**Figura 2.** Modelo causal que describe los efectos del pastoreo sobre la aptitud de los parentales y de la progenie y la diversidad genética. a) Modelo hipotético. b) Modelo significativo obtenido: las flechas continuas indican efectos positivos; las flechas discontinuas indican efectos negativos y el grosor de la flecha indica la fuerza de la relación. Los coeficientes de regresión están cerca de las flechas con su nivel de significación como sigue:  $P < 0.10$ ,  $*P < 0.05$ ,  $**P < 0.005$ . La significancia de los modelos se evaluó sobre la base de  $\chi^2$  y los valores  $P$  asociados (un valor  $P$  más alto significa un mejor ajuste de los datos con el modelo).



**Tabla 1:** Ecuaciones utilizadas para estimar los parámetros del análisis de vías “D-sep” de la Figura 1b. Los nombres de las variables son los siguientes: SM = mortalidad de plántulas, SR= carga ganadera, OG= dimensión genética extraída del eje x de un ACP que incluye los parámetros genéticos de la generación de progenie, PG= dimensión genética extraída del eje x de un ACP que incluye los parámetros genéticos de la generación parental, PF= dimensión de aptitud extraída del eje x de un ACP que incluye los parámetros de aptitud de la generación parental.

Vías	Modelos de vías	$\beta$	$P$
------	-----------------	---------	-----

1	lm (PG ~ SR )	-0.27	0.034
2	lme (PF ~ SR, random=~1 campo/individuo)	-1.27	0.022
3	lme (PF ~ PG)	0.1	0.070
4	lme (OG ~ PG, random=~ 1 campo/individuo)	-0.11	0.080
5	lm (OG ~ PF)	-0.35	0.002
6	glm (SM ~ OG, family = Binomial (link = "logit"))	-0.34	0.050

**Tabla 2:** “Claims” que prueban los patrones de dependencia-independencia entre las variables sensu la Figura 1b utilizada para estimar la base de la BU (Shibley, 2009). Los nombres de las variables son los siguientes SM= mortalidad de plántulas, SR= tasa de carga ganadera, OG= dimensión genética extraída del eje x de un ACP que incluye los parámetros genéticos de la generación de progenie, PG= dimensión genética extraída del eje x de un ACP que incluye los parámetros genéticos de la generación parental, PF= dimensión de aptitud extraída del eje x de un ACP que incluye los parámetros de aptitud de la generación parental.

Independencia entre variables	Variables con pendiente cero	"Claims" testeados	Distribución Estadística	P
SM,SR OG	SM	claim1= glmer(SM ~ SR + OG + (1 campo/individuo))	Binomial (link = "logit")	0.81
SM,PG OG	SM	claim2 = glm(SM ~ PG + OG )	Binomial (link = "logit")	0.74
SM,PF OG	SM	claim3 = glm(SM ~ PF + OG)	Binomial (link = "logit")	0.26
OG,SR PF,PG	OG	claim4 = lme (OG ~ SR + PF + PG, random=~ 1 campo/individuo)	Normal	0.90

## Resultados

Sección 1: Efectos de un gradiente de carga ganadera sobre la variabilidad genética y aptitud de *P. alpataco*

### *Efecto del pastoreo sobre los parámetros genéticos en ambas generaciones*

Se observó que con la carga ganadera disminuyó la variabilidad genética de la generación parental linealmente, tanto en el número promedio de alelos por locus ( $A$ ) ( $\beta = -0.42$ ,  $P = 0.016$ ), la heterocigosis observada ( $H_o$ ) ( $\beta = -0.10$ ,  $P = 0.017$ ), la heterocigosis esperada ( $H_e$ ) ( $\beta = -0.12$ ,  $P = 0.005$ ), como en el porcentaje de loci polimórficos ( $\%P$ ) ( $\beta = -0.25$ ,  $P = 0.014$ ). En cambio la progenie, no mostró una relación lineal significativa entre la carga ganadera y los parámetros genéticos poblacionales (todos  $P > 0.5$ ).

El nivel de carga ganadera baja de la generación parental no presentó estructuración genética significativa ( $F_{IT}$  no difiere significativamente de cero). A medida que aumentó el nivel de carga ganadera, el  $F_{IT}$  de las poblaciones parentales se volvió significativamente diferente de cero e influenciado por la endogamia dentro de las poblaciones ( $F_{IS}$ ), y a niveles altos de carga ganadera la influencia de la endogamia ( $F_{IS}$ ) fue similar a la divergencia entre poblaciones ( $F_{ST}$ ) (Figura 3). La generación progenie, en cambio, mostró altos niveles de estructuración genética total ( $F_{IT}$ ) en el nivel de carga ganadera baja, lo que se explica casi completamente por la endogamia dentro de las poblaciones ( $F_{IS} > F_{ST}$ , Figura 3). Mientras que a medida que aumenta el nivel de carga ganadera, la estructura genética total disminuye ( $F_{IT}$ ) y se explica de forma similar tanto por la endogamia intrapoblacional como por la divergencia entre poblaciones ( $F_{IS} \sim F_{ST}$ , Figura 3). Ninguno de estos parámetros se diferenció significativamente entre los niveles de carga ganadera (todos los  $P > 0.5$ ). Además, se encontró cuellos de botella genéticos en todos los campos ganaderos estudiados, con exceso significativo de heterocigosis en las poblaciones parentales (todos  $P < 0.05$ ; Tabla 5), y déficit significativo de heterocigosis en seis de las diez poblaciones progenie ( $P < 0.004$ , Tabla 5).

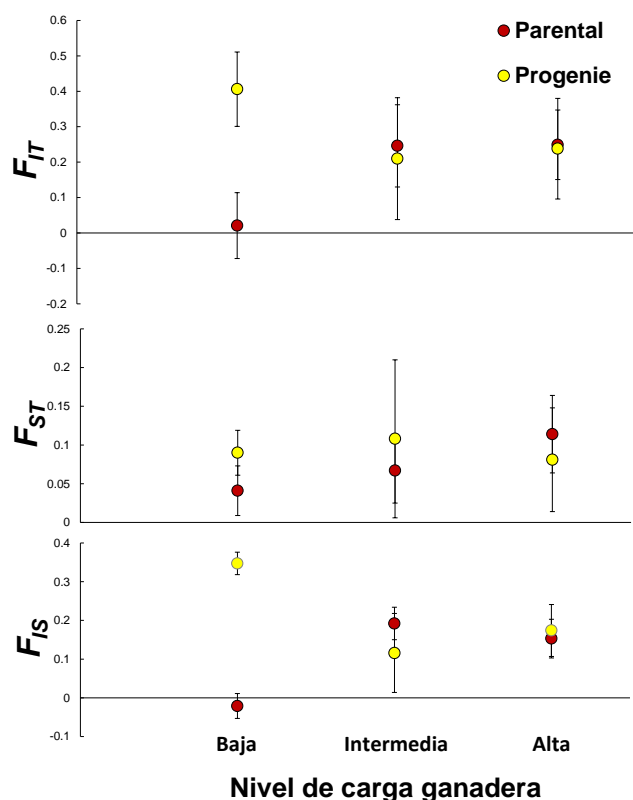
**Tabla 5:** Promedio ( $\pm$  ES) de los parámetros genéticos poblacionales de *Prosopis alpataco* para cada campo ganadero. Se detalla el nombre del campo, el nivel de carga ganadera, como: B = bajo, I = intermedio y A = alto, y la generación (Parental o Progenie). Los parámetros genéticos evaluados fueron:  $A$  = número promedio de alelos por locus,  $A_e$  = número promedio de alelos efectivos por locus,  $H_o$  = heterocigosis observada,  $H_e$  = heterocigosis esperada,  $F_{IS}$  = índice de endogamia poblacional,  $\%P$  = porcentaje de loci polimórficos.  $Bn$   $St$  valores probabilidad ( $P$ ) resultado del análisis de cuellos de botella, mostrando la significancias en el exceso de heterocigotas o su déficit al comparar con lo esperado bajo el equilibrio Hardy-Weinberg,



estimado mediante la prueba de signos bajo el modelo de alelos infinitos. En negrita se resaltan los valores de  $P$  estadísticamente significativos.

Campo	Nivel de carga	Generación	Carga ganadera	$A$ (ES)	$Ae$ (ES)	$Ho$ (ES)	$He$ (ES)	$Fis$ (ES)	% $P$	$Bn_{st}$	Déficit de $He$
MB	B	Parental	0.06	2.50 ± 0.27	1.76 ± 0.13	0.47 ± 0.07	0.40 ± 0.06	-0.09 ± 0.05	87.5	<b>0.008</b>	0.996
MB	B	Progenie	0.06	2.75 ± 0.25	1.48 ± 0.12	0.16 ± 0.04	0.29 ± 0.06	0.22 ± 0.13	100	0.988	<b>0.020</b>
BU	B	Parental	0.075	2.25 ± 0.16	1.53 ± 0.07	0.32 ± 0.04	0.34 ± 0.03	0.06 ± 0.10	100	<b>0.014</b>	0.990
BU	B	Progenie	0.075	2.00 ± 0.33	1.04 ± 0.17	0.10 ± 0.03	0.12 ± 0.05	0.17 ± 0.06	87.5	0.996	<b>0.008</b>
C1	I	Parental	0.107	2.38 ± 0.42	2.02 ± 0.31	0.27 ± 0.09	0.38 ± 0.11	0.28 ± 0.08	62.5	<b>0.016</b>	1.000
C1	I	Progenie	0.107	2.38 ± 0.26	1.18 ± 0.05	0.10 ± 0.04	0.14 ± 0.04	0.34 ± 0.13	87.5	0.988	<b>0.020</b>
CA	I	Parental	0.117	2.12 ± 0.58	1.34 ± 0.33	0.29 ± 0.09	0.29 ± 0.09	0.14 ± 0.08	62.5	<b>0.047</b>	0.969
CA	I	Progenie	0.117	2.12 ± 0.23	1.20 ± 0.06	0.16 ± 0.04	0.15 ± 0.04	0.05 ± 0.03	87.5	0.996	<b>0.008</b>
GUE	I	Parental	0.132	2.62 ± 0.26	1.79 ± 0.21	0.34 ± 0.05	0.39 ± 0.07	0.14 ± 0.10	87.5	<b>0.055</b>	0.961
GUE	I	Progenie	0.132	2.37 ± 0.18	1.27 ± 0.11	0.22 ± 0.11	0.18 ± 0.05	-0.18 ± 0.17	100	0.973	<b>0.037</b>
LP	I	Parental	0.212	1.87 ± 0.23	1.46 ± 0.13	0.28 ± 0.07	0.27 ± 0.07	-0.01 ± 0.11	75.0	<b>0.008</b>	1.000
LP	I	Progenie	0.212	2.25 ± 0.37	1.42 ± 0.19	0.21 ± 0.08	0.22 ± 0.08	0.09 ± 0.05	62.5	0.594	0.500
AMO	A	Parental	0.631	2.12 ± 0.29	1.64 ± 0.19	0.27 ± 0.07	0.33 ± 0.08	0.14 ± 0.05	75.0	<b>0.008</b>	1.000
AMO	A	Progenie	0.631	2.50 ± 0.33	1.56 ± 0.22	0.25 ± 0.10	0.29 ± 0.08	0.19 ± 0.17	75.0	0.922	0.219
ADA	A	Parental	0.696	2.00 ± 0.27	1.63 ± 0.17	0.31 ± 0.07	0.33 ± 0.08	0.09 ± 0.09	75.0	<b>0.008</b>	1.000
ADA	A	Progenie	0.696	2.50 ± 0.33	1.70 ± 0.19	0.27 ± 0.09	0.35 ± 0.08	0.25 ± 0.12	75.0	0.211	0.781
HL	A	Parental	0.924	2.12 ± 0.35	1.63 ± 0.24	0.28 ± 0.09	0.29 ± 0.10	0.06 ± 0.08	62.5	<b>0.031</b>	0.984
HL	A	Progenie	0.924	2.12 ± 0.23	1.18 ± 0.04	0.15 ± 0.03	0.14 ± 0.03	0.18 ± 0.04	87.5	0.988	<b>0.020</b>
MA	A	Parental	1.632	1.62 ± 0.32	1.26 ± 0.13	0.15 ± 0.08	0.15 ± 0.07	0.004 ± 0.12	37.5	<b>0.004</b>	1.000
MA	A	Progenie		na	na	na	na	na	na	na	na

**Figura 3.** Estadísticos de estructuración genética  $F$  de Wright entre los niveles de carga ganadera comparando las generaciones parentales (círculo rojo) y las progenes (círculo amarillo). La figura muestra la media  $\pm$  intervalos de confianza (IC) para cada nivel de carga ganadera: A. Estructura total ( $F_{IT}$ ); B. Divergencia entre campos ganaderos ( $F_{ST}$ ); C. Endogamia ( $F_{IS}$ ).



### *Modelando los efectos del pastoreo sobre la diversidad genética y la aptitud*

Se probó un modelo hipotético completo (Figura 2a) incluyendo todas las posibles relaciones entre las variables estudiadas que resultó no significativo. A continuación, se probó un modelo reducido que incluía sólo aquellas variables con efectos significativos, obteniendo un modelo ajustado que no rechazaba la hipótesis nula ( $P = 0.87$ , Figura 2b). En este modelo, el gradiente de pastoreo redujo la aptitud de los parentales (PF) ( $r = -1.27$ ) y su diversidad genética ( $r = -0.27$ ), y en última instancia redujo la mortalidad de las plántulas a través de la diversidad genética de la progenie ( $r = -0.34$ ). La vía indirecta más fuerte ( $r = 0.15$ ) fue la del gradiente de pastoreo, a través de la aptitud de los parentales (PF), el genotipo de la progenie (OG) y la aptitud de la

progenie (OF) (GG-PF-OG-OF). Esta vía mostró un efecto negativo del gradiente de pastoreo sobre la supervivencia de las plántulas, mientras que el resto de las vías mostró una fuerza menor (GG-PG-OG-OF,  $r = -0.01$  y GG-PG-PF-OG-OF,  $r = 0.003$ , respectivamente).

Sección 2: Comparación transgeneracional entre cargas contrastantes y entre *A. lampa* (colonizadora) y *P. alpataco* (intermedia)

En *A. lampa*, se observó una reducción del tamaño efectivo poblacional entre las generaciones parental y progenie en el nivel de carga ganadera alta ( $Ne$  7.9 vs. 6.1, respectivamente) y valores negativos de  $\Delta Ne$ . Mientras que se encontró aumento del tamaño efectivo poblacional entre generaciones en el nivel de carga ganadera baja ( $Ne$  parental = 3.8,  $Ne$  progenie = 4.6) y valores positivos de  $\Delta Ne$ . En cambio, en *P. alpataco* se encontró una reducción del tamaño efectivo poblacional entre las generaciones parental y progenie en el nivel de carga ganadera baja ( $Ne$  parental = 18,  $Ne$  progenie = 4.3) y valores negativos de  $\Delta Ne$ . Mientras que aumentó en el nivel de carga alta ( $Ne$  parental = 5.4,  $Ne$  progenie = 12.5) y valores positivos de  $\Delta Ne$  (Figura 4 a y Tabla 7).

**Tabla 7.** Valores del tamaño efectivo poblacional,  $Ne$  (Intervalo de Confianza \* Jackknife de los Loci) para las generaciones parentales y progenes en cargas ganaderas bajas y altas para las especies de *A. lampa* y *P. alpataco*. Valores estimados con el programa NeEstimator v2 (Do et al. 2014) con el método de Coancestría molecular.

<b>Especie</b>	<b>Nivel de carga ganadera</b>	<b>Generación</b>	<b><math>Ne</math> (IC)</b>
<i>Atriplex lampa</i>	Baja	Parental	3.8 (2.8- 4.9)
		Progenie	4.6 (2.0 - 8.1)
	Alta	Parental	7.9 (4.2 - 12.8)
		Progenie	6.1 (3.2 - 10.1)
<i>Prosopis alpataco</i>	Baja	Parental	18 (3-46.1)
		Progenie	4.3 (2.7-6.3)
	Alta	Parental	5.4 (3-8.5)
		Progenie	12.5 (4.6-24.3)

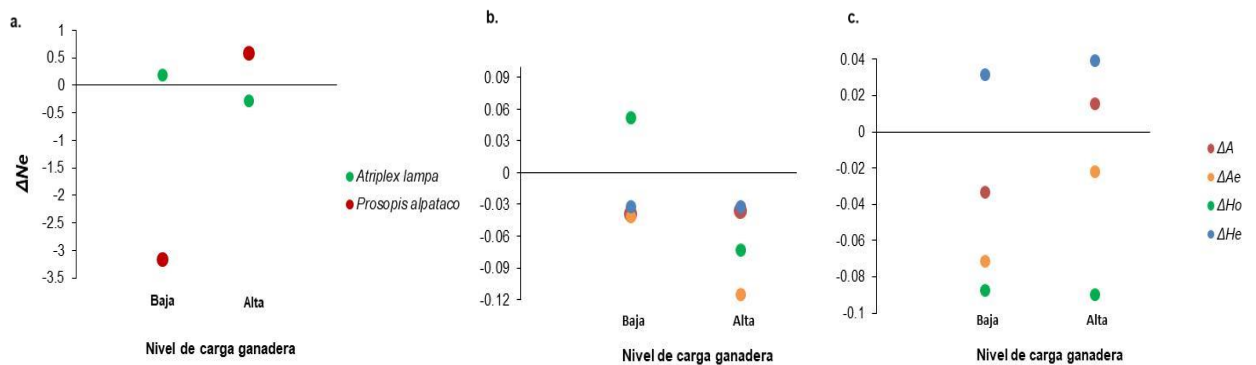
Al analizar las diferencias relativas en los parámetros genéticos poblacionales entre la generación parental y la progenie de *Atriplex lampa* en cargas ganaderas bajas, se observó pérdida de diversidad genética en la mayoría de los parámetros, excepto en  $\Delta Ho$  (Figura 4 b). Al comparar entre cargas ganaderas se observó mayor pérdida de variabilidad genética (valores absolutos) entre generaciones provenientes de campos sometidos a alta carga ganadera (medidos a través de  $\Delta Ae$  y  $\Delta Ho$ ), que en los sujetos a carga ganadera baja (Figura 4 b).

Al analizar las diferencias en los parámetros genéticos poblacionales entre la generación parental y la progenie para la especie *Prosopis alpataco* en el nivel de carga ganadera baja, se observó pérdida de variabilidad genética en la mayoría de los parámetros, excepto en  $\Delta He$  (Figura 4 c). Al comparar entre cargas ganaderas, se observó ganancia entre generaciones en el número promedio de alelos por locus ( $\Delta A$ ) en campos sometidos a alta carga ganadera, mientras que en los sujetos a carga ganadera baja hubo pérdida en el número promedio de alelos por locus ( $\Delta A$ ) (Figura 4 c).

**Tabla 6.** Valores promedio  $\pm$  ES (error estándar) de los parámetros de variabilidad genética poblacional de *Atriplex lampa* y *Prosopis alpataco* estimados para cada nivel de carga ganadera y generación mediante marcadores microsatélites. Se detalla el nivel de carga ganadera, como bajo y alto, y la generación (Parental o Progenie). Los parámetros genéticos evaluados fueron:  $A$  = número promedio de alelos por locus,  $Ae$  = número promedio de alelos efectivos por locus,  $Ho$  = heterocigosis observada,  $He$  = heterocigosis esperada.

Especie	Nivel de carga ganadera	Generación	$A \pm ES$	$Ae \pm ES$	$Ho \pm ES$	$He \pm ES$
<i>Atriplex lampa</i>	Baja	Parental	4.39 $\pm$ 0.35	3.20 $\pm$ 0.27	0.37 $\pm$ 0.05	0.64 $\pm$ 0.04
		Progenie	4.22 $\pm$ 0.34	3.07 $\pm$ 0.29	0.39 $\pm$ 0.06	0.62 $\pm$ 0.04
	Alta	Parental	4.55 $\pm$ 0.36	3.27 $\pm$ 0.28	0.29 $\pm$ 0.04	0.64 $\pm$ 0.04
		Progenie	4.39 $\pm$ 0.28	2.93 $\pm$ 0.22	0.27 $\pm$ 0.03	0.62 $\pm$ 0.03
<i>Prosopis alpataco</i>	Baja	Parental	7.36 $\pm$ 0.49	4.66 $\pm$ 0.43	0.41 $\pm$ 0.04	0.71 $\pm$ 0.04
		Progenie	7.12 $\pm$ 0.43	4.35 $\pm$ 0.36	0.38 $\pm$ 0.07	0.73 $\pm$ 0.02
	Alta	Parental	7.8 $\pm$ 0.48	4.7 $\pm$ 0.42	0.35 $\pm$ 0.09	0.73 $\pm$ 0.03
		Progenie	7.92 $\pm$ 0.42	4.6 $\pm$ 0.32	0.32 $\pm$ 0.06	0.76 $\pm$ 0.02

**Figura 4.** Cambio en el tamaño efectivo poblacional ( $\Delta Ne$ ) y la diversidad genética entre las generaciones parentales y progenie en cargas ganaderas bajas y altas de poblaciones de *A. lampa* y *P. alpataco*. a. Cambio en el tamaño efectivo poblacional para *A. lampa* y *P. alpataco*. b. Cambios en la diversidad genética de *A. lampa*. c. Cambios en la diversidad genética *P. alpataco*. Los valores negativos de  $\Delta Ne$  y  $\Delta GV$  representan pérdida de tamaño efectivo poblacional y de la diversidad genética, respectivamente, de la generación parental a la progenie. La variación genética delta se calculó para cada variable genética utilizando la siguiente ecuación:  $\Delta VG = 1 - VG \text{ parental} / VG \text{ progenie}$ , es decir,  $\Delta Ne =$  Cambio en el tamaño efectivo poblacional ( $Ne$ );  $\Delta A =$  Cambio en el número promedio de alelos por locus ( $A$ );  $\Delta Ae =$  Cambio en el número promedio de alelos efectivos por locus ( $Ae$ );  $\Delta Ho =$  Cambio en la heterocigosis observada ( $Ho$ );  $\Delta He =$  Cambio de la heterocigosis esperada ( $He$ ). Los valores de  $Ne$  se estimaron con el programa NeEstimator v2 (Do et al. 2014), a través del método de Coancestría molecular.



Al comparar entre las especies y entre niveles de carga ganadera, se observó que *P. alpataco* presentó mayores valores absolutos de  $\Delta VG$  que *A. lampa*, mostrando un mayor impacto del ganado en la generación progenie comparada con la parental (Tabla 10). En *P. alpataco* aumentó el número de alelos ( $\Delta VGA$ ) de la generación parental a la progenie entre niveles de carga (baja-alta), mientras que *A. lampa* los perdió ( $-\Delta VGA$ ). En cambio, a niveles de carga ganadera alta *A. lampa* aumentó el número efectivo de alelos ( $\Delta VG Ae$ ) y *P. alpataco* los disminuyó ( $-\Delta VG Ae$ ) (Tabla 10). *P. alpataco* ganó heterocigosis observada y esperada ( $\Delta VG Ho$  y  $\Delta VG He$ ) y *A. lampa* ganó heterocigosis observada ( $\Delta VG Ho$ ), y ambas especies ganaron tamaño efectivo poblacional ( $\Delta VG Ne$ ) en ambos niveles de carga ganadera (baja y alta). *A. lampa* fue la especie que ganó

mayor (valor absoluto más alto) heterocigosis observada, y *P. alpataco* ganó mayor heterocigosis esperada y tamaño efectivo poblacional (Tabla 10).

**Tabla 10.** Cambio relativo entre niveles de carga ganadera (baja y alta) para *A. lampa* y *P. alpataco*. El cambio relativo se estimó como  $\Delta VG = 1 - (VG \text{ baja} / VG \text{ alta})$ , donde VG es cada parámetro de variación genética, siendo  $\Delta VGA$  el cambio en el número medio de alelos entre la generación parental y progenie,  $\Delta VGAe$  el cambio en el número medio efectivo de alelos entre la generación parental y progenie y  $\Delta VGHo$ ,  $\Delta VGHe$  el cambio en la heterocigosis observada y esperada, respectivamente, y  $\Delta VGNe$  el cambio en el tamaño efectivo poblacional entre la generación parental y progenie.

Especie	$\Delta VGA$	$\Delta VGAe$	$\Delta VGHo$	$\Delta VGHe$	$\Delta VGNe$
<i>Atriplex lampa</i>	-0.11	0.64	1.69	0.00	1.59
<i>Prosopis alpataco</i>	3.22	-2.26	0.02	0.20	6.61

## Discusión

Los disturbios que afectan a poblaciones vegetales naturales por largos periodos de tiempo, pueden erosionar su acervo genético a través de las generaciones (Ellstrand y Elam 1993, Couvet 2002, Lowe et al. 2005, Leimu et al. 2006, Leroy et al. 2018, Soares et al. 2019). En este capítulo se evaluaron los efectos del ganado doméstico sobre la variabilidad genética y la aptitud de las poblaciones parentales y de su progenie en la vegetación del Monte Patagónico. Al evaluar los efectos del ganado sobre la variabilidad genética de *P. alpataco* a lo largo de un gradiente de pastoreo, se observó que la variabilidad genética de la generación parental disminuyó con el aumento del pastoreo, aumentó su endogamia y sufrió cuellos de botella genéticos. En la progenie también se observó endogamia, que podría ser la causa de la disminución de la supervivencia de la progenie observada en los resultados del modelo “D-sep” (i.e., depresión por endogamia). El aumento de la mortalidad de la progenie se dio a través de reducir la aptitud de la generación parental y su variabilidad genética, reduciendo en consecuencia a la variabilidad genética de la progenie. Al comparar entre dos tipos

sucesionales de especies (*A. lampa* como colonizadora y *P. alpataco* como intermedia), se encontraron diferencias, en el efecto transgeneracional entre los niveles de cargas ganaderas contrastantes (bajo y alto) sobre la variabilidad genética. *A. lampa* presentó pérdida de tamaño efectivo poblacional ( $\Delta Ne$ ) entre generaciones en el campo de carga ganadera alta. Mientras que *P. alpataco* mostró mayores cambios relativos (valores absolutos) entre generaciones de la mayoría de las variables analizadas. A continuación se resumen y discuten las relaciones entre la intensidad de pastoreo, la aptitud y los parámetros de diversidad genética entre generaciones y especies.

### Sección 1: Efectos de un gradiente de carga ganadera sobre la variabilidad genética y aptitud de *P. alpataco*

Se observaron diferentes efectos negativos del ganado sobre la diversidad genética en *P. alpataco*. En la población parental, se encontró que con creciente pastoreo se redujo la variabilidad genética, y se encontraron cuellos de botella genéticos (exceso significativo de heterocigosis comparada con lo esperado bajo el equilibrio Hardy -Weinberg), lo que sugiere que el ganado estaría eliminando individuos y genotipos a través del consumo o el pisoteo, determinando la composición genética de la generación progenie (Cornuet y Luikart 1996, Piry et al. 1999, Bouzat 2010, Reece 2014, Abel et al. 2015, Layman y Busch 2018). Esto conduce a la homogeneización del acervo genético, principalmente dentro de las poblaciones provenientes de campos con alta carga ganadera (Pelliza et al. 2020). Esto se ve reflejado en el aumento de la endogamia dentro de las poblaciones y en la divergencia entre poblaciones parentales provenientes de campos con distinta carga ganadera. Además, la deriva génica puede llevar a una mayor reducción de la diversidad genética por azar (Frankham 1995). Estos efectos perjudiciales del pastoreo sobre la variación genética pueden poner en peligro la capacidad de la población para persistir bajo condiciones de estrés o eventos climáticos ambientales aleatorios que puedan ocurrir a lo largo de las generaciones (Frankham et al. 2002).

El análisis de vías (D-sep) mostró que los efectos del pastoreo en la generación progenie fueron más complejos. A pesar de que no se encontraron asociaciones lineales de los parámetros genéticos de la generación progenie con la carga ganadera, se observó tanto endogamia como divergencia genética en los campos más pastoreados. La alta

endogamia de las plántulas de *P. alpataco* podría explicarse por mecanismos precigóticos, principalmente durante la polinización. El pastoreo puede restringir la polinización y/o en la distribución espacial y temporal de las plantas sexualmente compatibles, con consecuencias en la estructura demográfica de las especies vegetales (Cox 1991, Tadey 2008). Esto podría limitar el flujo génico al disminuir la probabilidad de deposición de polen de plantas no emparentadas (Lehtilä y Strauss 1997, Winfree et al. 2007, Tadey 2008, 2015, Lázaro et al. 2016, Castilla et al. 2019).

En general, una pérdida de diversidad genética se asocia a una reducción de la aptitud de los individuos debido a los efectos detrimentales de la depresión por endogamia (Bouzat 2010). Se observaron efectos negativos del pastoreo en la generación parental, tanto en la aptitud como en la variabilidad genética, con los consiguientes efectos transgeneracionales. Los resultados obtenidos sugieren que el principal mecanismo por el que el pastoreo afectó a la diversidad genética y la supervivencia de la progenie fue a través de la aptitud de los parentales. Siguiendo el modelo testeado (D-sep), la vía más fuerte muestra que el impacto del pastoreo sobre la diversidad genética y la aptitud de la generación parental afectaron la diversidad genética de la progenie, aumentando indirectamente la mortalidad de las plántulas. El aumento de la mortalidad de las plántulas podría atribuirse a una reducción de la calidad de las semillas por daño a la planta parental y/o por depresión por endogamia (Aguirrebengoa et al. 2018). Un aumento marginal de la aptitud al aumentar la diversidad genética de los parentales, y una menor mortalidad de las plántulas con una mayor diversidad genética de la descendencia, sugiere que niveles altos de diversidad genética se asociarían con mayor aptitud (Hoffmann y Parsons 1991, Reed y Frankham 2003, Bouzat 2010, Banks et al. 2013, Rice y Jain 2013). Esto, en definitiva implicaría que una generación podría ser suficiente tiempo para ver cambios significativos en la diversidad genética. Dado que la aptitud de los parentales estuvo altamente asociada a la diversidad genética parental, podemos asumir que la diversidad genética parental también es importante para la persistencia de la descendencia en el tiempo. Bajo condiciones áridas en las que habita esta especie, se espera que los impactos indirectos del pastoreo sobre la aptitud de la descendencia sean mucho mayores, comprometiendo el establecimiento natural y exacerbando las pérdidas de diversidad genética a lo largo de las generaciones (Trlica y Rittenhouse 1993, Sternberg et al. 2003, Tadey 2007, Pol et al. 2014, Tadey y Souto 2016). En consecuencia, una disminución de la aptitud de las



especies puede reducir la tasa de crecimiento poblacional y potencialmente disminuir sus tamaños efectivos con mayores pérdidas de diversidad genética a lo largo del tiempo (Lande 1994, Lynch et al. 1995, Hendry et al. 2018).

## Sección 2: Comparación transgeneracional entre cargas contrastantes y entre *A. lampa* (colonizadora) y *P. alpataco* (intermedia)

Los rasgos distintivos de ciclos de vida de las especies vegetales se relacionan con sus niveles de variabilidad genética (Hamrick y Godt 1996, Nosrati et al. 2015). Como se esperaba, se observan mayores cambios relativos (pérdidas o ganancias) entre generaciones y entre el nivel de carga baja y alta para *P. alpataco*, principalmente mayor pérdida del número promedio de alelos efectivos por locus ( $\Delta V G A e$ ), comparado con *A. lampa*. Esto podría deberse a que el efecto del ganado en la progenie de *A. lampa* es menor, debido a su capacidad de asignar una mayor cantidad de recursos para su progenie, aumentando la producción de semillas viables con el aumento de la carga ganadera (Capítulo 2). También podría deberse a que las plantas con polinización anemófila están relacionadas con menores costos metabólicos (menor asignación de recursos), en relación con las plantas polinizadas por insectos como *P. alpataco*, que deben invertir más energía en atraer, y muchas veces en recompensar a los polinizadores (Ackerman 2000). Además, las plantas polinizadas por viento, como *A. lampa*, no están limitadas por la presencia de polinizadores (sobre los cuales el ganado tiene impactos indirectos) y, como resultado, podrían tener mayor éxito en la dispersión a larga distancia del polen, principalmente en los campos de alta carga ganadera que presentan áreas más abiertas (menor cobertura vegetal) (Cox 1991, Pelliza et al. 2021a). La ganancia de tamaño efectivo poblacional ( $N_e$ ) y de alelos ( $\Delta A$ ) entre la generación parental y la progenie de *P. alpataco* en el nivel alto de carga ganadera estaría indicando un aumento del entrecruzamiento de individuos reproductores a través de la polinización. Esto podría ser el resultado de un cambio del comportamiento de los polinizadores por posibles cambios en los recursos, lo cual podría estar afectando las distancias de dispersión del polen a las que se desarrollan los vecindarios genéticos (Kolb 2008, Breed et al. 2015, Tadey 2015, Lloyd et al. 2018). Asimismo la ganancia de heterocigosis esperada ( $\Delta H e$ ) en *P. alpataco* pueden deberse a que todas las poblaciones parentales sufrieron cuellos de botella genéticos recientemente (Sección 1) ya que se

observaría un exceso de heterocigosis en loci selectivamente neutros, es decir, la heterocigosis calculada a partir de una muestra de genes es mayor que la heterocigosis esperada a partir del número de alelos encontrados en la muestra si la población estuviera en equilibrio entre deriva y mutaciones (equilibrio de Hardy-Weinberg) (Luikart et al. 1998). Estas poblaciones pueden mostrar una reducción correlativa del número de alelos ( $A, Ae$ ) y/o de diversidad de genes ( $He$ , o heterocigosis en equilibrio Hary-Weinberg) en los loci polimórficos (es decir, deficiencia de heterocigosis). Ya que primero se pierden los alelos en homocigosis, el exceso de heterocigosis persiste sólo unas pocas generaciones hasta que se establece un nuevo equilibrio (Luikart et al. 1998). Los cuellos de botella, incluso los breves, tienen un impacto desproporcionado en la diversidad a largo plazo (Kitchen 2018). Aunque las poblaciones se reduzcan y luego crezcan rápidamente hasta alcanzar su tamaño inicial (o mayor), la diversidad genética de la población no se recupera tan rápidamente (Kitchen 2018). Por lo tanto, el ganado podría estar teniendo efectos indirectos de forma diferencial sobre la progenie de especies colonizadoras e intermedias, al afectar la dispersión del polen y, por lo tanto, al flujo génico dentro de las poblaciones de plantas. La forma de vida y el sistema reproductivo tienen fuertes efectos en la diversidad genética de la población parental y su distribución, por ende, en cómo responden las especies y sus generaciones a los disturbios (Hamrick y Godt 1996).

## Conclusión

De la existencia de variabilidad genética depende el potencial evolutivo de las especies y su capacidad de tolerar los disturbios. En este capítulo se observó que el pastoreo por parte del ganado doméstico puede tener consecuencias sobre la variabilidad y estructura genética de las plantas que consume, probablemente al influir sobre el flujo génico a través del polen tanto directa como indirectamente, y dependiendo de la intensidad de pastoreo. En general, las pérdidas de variabilidad genética se asociaron a la reducción de la aptitud de los parentales, que a su vez afectó a la variabilidad genética de la progenie y aumentó la mortalidad de las plántulas en el caso de *P. alpataco*. La pérdida y/o cambios relativos de diversidad genética entre generaciones estarían implicando mecanismos complejos que dependen del tipo de especie, y de cómo y cuanta intensidad el ganado afecta su flujo de polen, y

probablemente la dispersión de semillas. Estos resultados destacan la relevancia de estimar los efectos directos e indirectos, intra e intergeneracionales, del pastoreo sobre la dinámica de las poblaciones vegetales. Así, la introducción de grandes herbívoros exóticos en campos ganaderos no manejados está afectando gravemente a la estructura de la vegetación de las zonas áridas, con consecuencias sustanciales sobre los procesos ecológicos y evolutivos además de impactar sobre los servicios de los ecosistemas.

## Capítulo 4

### Herramientas de restauración ecológica teniendo en cuenta la variabilidad genética y la facilitación entre tipos sucesionales de especies



## Resumen

En el Monte Patagónico, como en la mayoría de los ecosistemas áridos, la recuperación natural de la vegetación es muy lenta, dificultando su restauración luego de disturbios y resaltando la relevancia de los estudios que colaboren en acelerar este proceso. Esto se debe a la combinación de limitaciones dada por la temperatura, precipitación, recursos escasos y las características de las especies vegetales a través de las cuales subsisten en estos ambientes. La facilitación es uno de los principales procesos que ocurren para enfrentar el estrés ambiental. Esta interacción entre especies es uno de los motores de la formación de parches de vegetación de las zonas áridas. Un ejemplo conocido de facilitación es el efecto nodriza, dado por especies que además de mejorar las condiciones microclimáticas, propician el establecimiento y protegen a otras especies de la herbivoría. En este capítulo, se realizó un experimento piloto de restauración ecológica en el Monte Patagónico, un ambiente en el cual el proceso de desertificación está en aumento, principalmente debido por la introducción de ganado doméstico. Como herramientas de restauración se evaluaron efectos de facilitación entre especies, adición de nutrientes y agua, remoción del disturbio, y los efectos combinados entre tratamientos. Además, se asoció la supervivencia de las plántulas de dos tipos de especies (i.e., colonizadoras e intermedias) con su variabilidad genética y la de sus parentales. Para ello, se realizó un experimento de trasplante de plántulas obtenidas a partir de semillas colectadas de diferentes campos ganaderos, de los cuales se conocía la variabilidad genética propia y de sus parentales, así como la carga ganadera de origen, de *Atriplex lampa* como especie colonizadora y *Prosopis alpataco* como especie intermedia. Se aplicaron los siguientes tratamientos a 7 especies nativas (4 colonizadoras y 3 intermedias): facilitación (efecto nodriza, asociación entre dos y tres especies); fertilizante natural (basurero de hormigas); hidrogel; protección antiherbivoría (clausura con malla metálica), combinación de los tratamientos y control (sin tratamiento). Al evaluar la influencia de la variabilidad genética en la supervivencia de las plántulas se observó que a menor heterocigosis individual de la planta parental, mayor supervivencia de las plántulas. Esta tendencia fue más fuerte en la especie colonizadora, que también mostró una mayor supervivencia en plántulas provenientes parentales de altas cargas ganaderas. Esto podría deberse a que el ganado estaría seleccionando ciertos genotipos, homogeneizando las poblaciones, sumado principalmente a cuellos de botella que estructuraron la población. También podría

deberse a efectos maternos por los cuales las plantas parentales podrían estar aumentando la supervivencia de su progenie. El tratamiento que combinó fertilizante, protección antiherbivoría e hidrogel fue el que presentó mayor supervivencia de plántulas respecto a los demás tratamientos, posiblemente debido al efecto sinérgico del hidrogel reteniendo prolongadamente humedad y nutrientes. Entre las herramientas de facilitación, se destacó la utilización de especies nodrizas. Además, las especies colonizadoras fueron más eficientes y sobrevivieron más que las intermedias y más aún que las especies tardías. Estos resultados sugieren que la facilitación entre especies, la adición de fertilizante natural e hidrogel, junto con la protección antiherbivoría y la utilización de especies colonizadoras e intermedias son herramientas de restauración claves para promover la supervivencia, el establecimiento, la persistencia y acelerar el desarrollo de la vegetación nativa del Monte Patagónico.

## Introducción

Las prácticas de restauración ecológica son cada vez más demandadas para enfrentar a los principales problemas ambientales, como la pérdida de biodiversidad, la desertificación y al cambio climático (Thomas et al. 2014). La constante degradación de las tierras áridas por disturbios antrópicos impulsa procesos de desertificación, provocando un gran daño ambiental y socio-económico (Maestre et al. 2016). Las zonas áridas están repartidos por todo el mundo, pero rara vez se manejan sustentablemente debido a su baja productividad relacionada con el clima hostil (Hobley et al. 2018). Esto conlleva una serie de consecuencias económicas y sociales debido a la reducción de servicios ecosistémicos, como la pérdida de diversidad biológica y genética, y de productividad del suelo, que impactan en la estructura y funcionamiento de estos ambientes (Prävǎlie et al. 2017, Souto y Tadey 2018, Pelliza et al. 2020, 2021). En la Patagonia árida, la cría de ganado exótico y la extracción hidrocarburífera son los principales usos de la tierra que intensifican en diferente grado la desertificación, cuya vegetación presenta una baja resiliencia y/o capacidad natural de revegetación (Noy-Meir 1973a, Del Valle et al. 1998). El sobrepastoreo puede reducir la cobertura, abundancia, riqueza de especies vegetales (Tadey 2006, Zhang et al. 2013, Tálamo et al. 2015, Pelliza et al. 2021), alterar la materia orgánica y los nutrientes del suelo mediante el pisoteo, heces y orina, debilitando las interacciones positivas entre plantas y, ocasionalmente, creando interacciones competitivas (Huston y DeAngelis 1994, Callaway et al. 1997, Turner 1998, Tarin et al. 2016). La combinación condiciones limitantes de agua, altas temperaturas y suelos pobres en nutrientes limitan fuertemente la germinación, supervivencia y desarrollo de la vegetación longeva y de crecimiento lento (Noy-Meir 1973, Fisher y Turner 1978, Carrillo-García et al. 1999, Bainbridge 2007, González Medrano 2012). Frente a estas presiones sobre el uso de la tierra se demandan acciones que disminuyan la degradación ambiental y promuevan la diversidad biológica y genética, tal como el manejo sustentable de estos ecosistemas y su restauración ecológica (Maestre et al. 2001, Pelliza et al. 2020).

Es importante considerar en los proyectos de restauración ecológica el efecto de los disturbios sobre la variabilidad genética de las poblaciones (Harris et al. 2006). Si las poblaciones perdieron variabilidad genética, es probable que los ecosistemas restaurados no sean autoperpetuantes, ya que esto reduce la capacidad adaptativa de las

especies frente a cambios naturales y/o antrópicos (Thomas et al. 2014). En general, los disturbios, como el sobrepastoreo, pueden causar la disminución del tamaño efectivo poblacional (i.e., número de individuos adultos reproductores en una generación) afectando su variabilidad genética (Wright 1931, Tremblay y Ackerman 2001, Charlesworth 2003, Lanfear et al. 2014). Esto puede ocurrir a través de una disminución en la fecundidad y el flujo génico de las poblaciones (Mulder 1999, Grant 2010). Por ejemplo, la reducción de la abundancia y/o cobertura de especies vegetales puede producir una restricción del flujo de polen y/o un aumento de la autopolinización que podrían reducir la cantidad y calidad del polen (polen endogámico) (Oostermeijer et al. 1994, Tadey 2008b, De Vere et al. 2009, Herrera y Bazaga 2016, Labouche et al. 2017). De esta manera, las poblaciones pequeñas están sujetas a los efectos de la endogamia, como consecuencia de una mayor probabilidad de apareamiento entre individuos estrechamente relacionados (Heinken y Weber 2013). Además, esto aumenta la probabilidad de homocigosis producida por la pérdida de variación genética dentro de la población, con consecuencias en la aptitud de la descendencia (i.e, depresión por endogamia) (Hedrick y Kalinowski 2000). En el caso de poblaciones vegetales, se pueden observar reducciones en la producción de semillas, tasas de germinación y mortalidad de las plántulas (Waser y Price 1989, De Vere et al. 2009, González-Varo et al. 2012). Sin embargo, en la actualidad las prácticas de manejo y restauración sólo se enfocan en restablecer algunos procesos ecológicos de las especies sometidas a disturbios, sin considerar su variabilidad genética (Thomas et al. 2014). Por lo tanto, se resalta la importancia de incluir los aspectos genéticos en los objetivos de restauración para aumentar la supervivencia y persistencia de las especies vegetales de zonas áridas disturbadas (Mijangos et al. 2015).

En general las interacciones bióticas positivas, como la facilitación, son uno de los principales impulsores de la formación de parches de vegetación en las zonas áridas, (Brooker et al. 2008, Soliveres y Maestre 2014, Saiz et al. 2018). Estos parches, también conocidos como "islas de fertilidad", acumulan recursos tales como nutrientes, agua, semillas, microorganismos y hojarasca (Schlesinger et al. 1990, Ludwig et al. 2005, Saco et al. 2007, Deblauwe et al. 2008). Los ejemplos de facilitación entre plantas pueden variar desde la reducción de condiciones ambientales hostiles (e.g., efecto nodriza) hasta la facilitación de la polinización (e.g., cofloración) (Fowler 1986, Pugnaire et al. 1996, Armas y Pugnaire 2005, Saiz et al. 2016). Un tipo de facilitación



clave en zonas áridas es el efecto nodriza, donde una especie facilita el reclutamiento de otras especies, promoviendo su supervivencia, establecimiento y/o crecimiento (Fowler 1986, Pugnaire et al. 1996). Las especies nodrizas actúan como refugios contra las condiciones de estrés, al mejorar el entorno abiótico (es decir, temperatura, humedad y calidad de suelo) y la disponibilidad de recursos (i.e., nutrientes y agua) (Fowler 1986, Pugnaire et al. 1996, Zou et al. 2005, Jankju 2013, Soliveres et al. 2014). Por otro lado, las interacciones negativas también pueden influir en la distribución de la vegetación, ya que las especies pueden segregarse espacialmente para evitar la competencia (Alados et al. 2006, Aschehoug et al. 2016, Saiz et al. 2018). Las interacciones negativas suelen dominar cuando se liberan recursos limitantes y las positivas cuando disminuyen los recursos o productividad del ecosistema o cuando aumenta el estrés (Bertness y Callaway 1994, Rietkerk et al. 2004, Maestre et al. 2009). Los cambios relativos entre las interacciones de facilitación y competencia dependen del contexto, y pueden ocurrir por el impacto de los disturbios antrópicos, alterando de diferentes maneras la estructura dinámica y funcionamiento de estos ecosistemas áridos (Song et al. 2019).

Las técnicas de restauración que se utilizan en ambientes áridos para compensar la escasez de nutrientes y agua son la adición de fertilizante o enmienda y el riego o uso de hidrogel, aunque han mostrado diferentes eficiencias relativas (Lucero et al. 2010, Chirino et al. 2011, Castro et al. 2013, Böhlenius y Övergaard 2014, Cenzano et al. 2018, Saha et al. 2020, de Souza et al. 2021, Meadors 2021). Como posible fertilizante o enmienda natural que podría emplearse en las prácticas de restauración en el Monte, se podría utilizar a los basureros de las hormigas cortadoras de hojas (*Acromyrmex lobicornis*), un recurso abundante y renovable, que favorece el establecimiento, crecimiento y reproducción de las plantas, influyendo en el ciclo de los nutrientes del suelo (Tadey y Farji-Brener 2007, Farji-Brener y Tadey 2009, Cerda et al. 2012). Los basureros de las hormigas están compuestos por restos de vegetales y provienen de la recolección de las hormigas para cultivar un hongo mutualista dentro del nido, mediante el cual alimentan a sus larvas (Tadey y Farji-Brener 2007). Como una técnica para asegurar la provisión de agua en la etapa crítica de establecimiento de las plántulas, se ha utilizado hidrogel en algunas experiencias de restauración. Esta sustancia es un polímero sintético hidrofílico reticulado, que al aplicarlo en la raíz, semilla o tierra actúa como reservorio de agua y reduce la mortalidad de las plantas por estrés hídrico (Chirino et al. 2011, Kargar et al. 2017). El hidrogel tiene la capacidad de absorber y

luego liberar grandes volúmenes de agua y nutrientes hidrosolubles (Böhlenius y Övergaard 2014). Otra técnica frecuentemente utilizada en restauración es el uso de clausuras contra la herbivoría. Dado que la herbivoría también impone restricciones al establecimiento de la vegetación, la remoción de este disturbio (e.g., mediante clausuras) aumentaría la supervivencia de las plantas, debido a que éstas no presentarían daños que limiten su crecimiento y persistencia (Dalmaso y Martínez 2013). Por lo tanto, la utilización de los basureros de hormigas, la adición de hidrogel y las clausuras antiherbivoría serían interesantes herramientas de restauración debido a que aumentarían la disponibilidad de recursos del suelo y favorecerían el crecimiento de las plantas (Cerdeira et al. 2012, Kargar et al. 2017).

La alta degradación de los ambientes áridos se debe principalmente a la introducción de ganado doméstico (Del Valle et al. 1998, Tadey 2006, Tadey y Farji-Brener 2007). Por ejemplo, el Monte Patagónico es una de las regiones más áridas de Argentina, con diferentes niveles de desertificación. Frente al Decenio de las Naciones Unidas sobre la Restauración de los Ecosistemas 2021-2030 con un llamado a impulsar la restauración de ambientes degradados mediante iniciativas concretas sobre el terreno, de destaca la urgencia de generar estrategias más eficientes para restaurar. Ante esto, surge la revegetación como una herramienta principal de restauración ecológica para recuperar la cobertura vegetal. Para combatir los factores limitantes del establecimiento de la vegetación en ambientes áridos, la adición de nutrientes y humedad y la protección antiherbivoría podrían ser buenas herramientas para complementar la revegetación. No obstante, son pocas las investigaciones que analizan varias estrategias de restauración combinadas, teniendo en cuenta la variabilidad genética y las características intrínsecas de los ecosistemas y especies en estudio. Además, las características de historia de vida de las plantas son un aspecto poco considerado a la hora de seleccionar especies adecuadas para la restauración y merecen mayor atención. La clasificación por su rol sucesional (i.e., colonizadoras, intermedias y tardías) ayudar a explicar los procesos de degradación, como la posible capacidad de recuperación y restauración de un ecosistema degradado (Pelliza et al. 2021). Tener en cuenta estrategias de facilitación entre distintitos tipos sucesionales de especies es primordial para mantener y/o formar parches de vegetación. Por lo tanto, dada alta degradación y desertificación de estos ecosistemas áridos, las estrategias de restauración se convierten en iniciativas necesarias para frenar la degradación y/o acelerar su recuperación (Maestre et al. 2001).

## Objetivo general

Evaluar la eficiencia de distintas herramientas al momento de diseñar un proyecto de restauración ecológica en el Monte Patagónico, teniendo en cuenta la variabilidad genética y el rol sucesional de las especies de plántulas a utilizar.

## Objetivos específicos

Evaluar la asociación de la variabilidad genética, tanto parental como de la progenie, en la supervivencia de las plántulas progenies en condiciones de campo. Comparar distintas herramientas de restauración, como la facilitación, la adición de nutrientes y de humedad, la protección contra la herbivoría y la combinación mediante asociaciones espaciales de plántulas de distintos tipos sucesionales de especies (i.e., colonizadoras, intermedias y tardías) a una escala experimental de 1 hectárea.

## Hipótesis y predicciones

### Asociación entre la variabilidad genética y la supervivencia de plántulas

- Hipótesis 1: Una mayor variabilidad genética se asocia con una mayor supervivencia de las plántulas, lo que a su vez les otorgaría un mayor potencial para ser utilizadas en experimentos de restauración ecológica.

- Predicción 1.1: Plántulas que presenten altos niveles de heterocigosis y/o diversidad alélica individual, y/o que provengan de plantas parentales genéticamente más variables, tendrán mayor supervivencia pos trasplante a campo.

- Predicción 1.2: Se espera que las plántulas originadas de semillas de plantas parentales que crecieron en campos con alta intensidad de ganado (carga ganadera), presenten menor supervivencia luego del trasplante a campo, debido al efecto negativo del ganado sobre la variabilidad genética.

## Efecto de las herramientas de restauración en la supervivencia de las plántulas

- Hipótesis 2: La asociación espacial entre plantas genera condiciones microclimáticas más favorables que conducen a la facilitación entre especies y al desarrollo de parches de vegetación en zonas áridas.

- Predicción 2.1: Se espera que la supervivencia pos trasplante a campo sea mayor cuando se agrupen individuos espacialmente entre sí que los que se plantaron solos en suelo desnudo (control).

- Predicción 2.2: Además, se espera que la supervivencia sea mayor cuando se trasplantan las plántulas bajo de especies nodrizas adultas establecidas en comparación con plántulas aisladas (control).

- Hipótesis 3: Las herramientas que mejoren la disponibilidad de nutrientes y de agua y que protejan a las plántulas contra la herbivoría serán más eficientes, y más aún la combinación de dichas herramientas por efectos sinérgicos, que sin estas herramientas.

- Predicción 3: Se espera mayor supervivencia de plántulas pos trasplante en las herramientas que tengan la combinación de fertilizante natural en el suelo (basurero de hormigas), adición de hidrogel y protección antiherbivoría que los tratamientos por separado y más aún que el control (sin tratamiento).

- Hipótesis 4: Las características fisiológicas de los tipos sucesionales de especies condicionan su eficiencia en la restauración. Así plántulas de especies colonizadoras que pueden establecerse rápidamente en suelo desnudo y que tienen ciclos de vida más cortos, mayores porcentajes de germinación y tasas de crecimiento, serán más eficientes respecto de las especies intermedias y tardías que se establecen más tarde en la sucesión, tienen ciclos de vida más largos, y menores porcentajes de germinación y tasas de crecimiento.

- Predicción 4: Se espera mayor germinación y supervivencia pos trasplante a campo de las plántulas de especies colonizadoras que las de especies intermedias y tardías.

## Materiales y métodos

### *Especies focales*

Las especies focales se clasificaron según su función en la sucesión ecológica de la región, a partir de información bibliográfica y resultados previos del grupo de trabajo (ver Introducción general para más detalles) (Pelliza et al. 2021). Como especies colonizadoras se incluyeron a *Atriplex lampa* (Gillies ex Moquin) D. Dietrich (Gandullo et al. 1998, Villagra et al. 2011, Zuleta y Escartín 2014), *Grindelia chiloensis* (Cornel.) (González 2010, Masini 2011, Beider et al. 2013), *Gutierrezia solbrigii* (Cabrera) e *Hyalis argentea* D. Don ex Hook. & Arn. (Zuleta y Escartín 2014, Gandullo et al. 2016). Se consideraron especies intermedias a *Prosopis alpataco* (Philippi) (Zuleta y Escartín 2014), *Senna aphylla* (Cav.) H.S. Irwin & Barneby y *Chuquiraga erinacea* (Don); y como especies tardías a *Larrea divaricata* (Cav.) (Dalmasso 2010, Zuleta y Escartín 2014), *L. cuneifolia* (Cav.) (Dalmasso 2010) y *Monttea aphylla* (Miers) Berthán et Hooker (Castro et al. 2013). Ver descripción de cada una de las especies en la sección “Especies focales” (Introducción general).

### *Obtención de plántulas*

El área a restaurar se encuentra al NO de la Patagonia, en la provincia de Neuquén, en la localidad de Plottier. Corresponde a un área privada de la cual se tuvo la autorización correspondiente para llevar a cabo los experimentos de restauración ecológica. Para más información sobre la colección de semillas y mediciones ver la sección “Sitio de estudio” (Introducción general) y el Capítulo 2. Para la obtención de plantines, se sembraron las semillas viables de cada especie focal en bandejas de siembra (72 celdas) de 20 cm de profundidad y 10 cm de diámetro en un sustrato de enmienda orgánica bajo condiciones de invernadero (Imagen 1; ver Capítulo 2 para más detalles). Las bandejas se regaron semanalmente para asegurar la humedad según su necesidad. Luego de 4-6 meses de edad, las plántulas se repicaron a macetas de 25 x 15 cm (Imagen 2). En las especies tardías se obtuvo un bajo número de semillas viables y baja supervivencia en condiciones de invernadero, limitando la obtención de plantines de las mismas (Capítulo 1 y 2).

**Imagen 1.** Bandejas de siembra con plántulas emergidas bajo condiciones de invernadero.



**Imagen 2.** Plántulas de entre 4-6 meses repicadas a macetas.



### *Asociación de la variabilidad genética y la supervivencia de plántulas*

Para evaluar la importancia de la variabilidad genética individual en la supervivencia de las plántulas trasplantadas en el experimento de restauración, se tomaron los datos obtenidos a partir de los análisis genéticos con marcadores de microsatélites en el Capítulo 3, de los individuos trasplantados de dos de las especies (una colonizadora, *Atriplex lampa*, y una intermedia, *Prosopis alptaco*), tanto del propio individuo como de su parental. Se asociaron los datos de la heterocigosis individual (*IndHet*) parental y de la progenie (plántulas), calculada como: el número de loci heterocigotas dividido por el número total de loci analizados por individuo (Peakall y Smouse 2006, 2012), y la diversidad alélica individual de las plántulas, calculada como: el número de alelos de cada individuo dividido por el número total de alelos en

cada población (Peterson et al. 1998, Thoß et al. 2011), con la supervivencia individual de una submuestra de plántulas trasplantadas a campo de dichas especies. Previo al experimento de restauración, se habían colectado las hojas de plantines obtenidos en invernadero de *A. lampa* (especie colonizadora) y *P. alpataco* (especie intermedia), provenientes de un campo con carga ganadera baja y otro con carga alta (ver Capítulo 3). Los datos genéticos se obtuvieron a partir del material foliar de la progenie de *A. lampa* (n = 25) y de *P. alpataco* (n = 34), como para cada una de sus respectivas plantas parentales de la cual fueron recolectadas esas semillas (ver Capítulo 3). Luego, como otra estimación indirecta de la variabilidad genética de la población parental de donde provienen los individuos trasplantados, y teniendo en cuenta los resultados del Capítulo 3, se asoció el origen de las semillas, es decir, el campo ganadero representado por su carga ganadera con la supervivencia de todos los plantines utilizados en el experimento de restauración.

#### *Experimento de restauración*

Se plantearon dos experimentos de restauración en dos áreas cercanas a la ciudad de Plottier, provincia de Neuquén, en dos años consecutivos (2018 y 2019). En cada área de aproximadamente una hectárea se trasplantaron plántulas obtenidas en invernadero, de entre 6 meses y 1 año y medio de edad. Durante al menos 3 meses previos al experimento de restauración, las plántulas se sometieron a un período de rustificación afuera del invernadero (disminución de la frecuencia y cantidad de riego, exposición al viento y a la radiación solar directa), para amortiguar el cambio abrupto que iban a sufrir bajo las condiciones desfavorables de campo al momento del trasplante. Luego de establecido el experimento de restauración, se monitoreó la supervivencia individual de cada plántula cada cuatro meses, durante un año.

#### Experimento de Facilitación

Para el experimento de facilitación se realizaron tres tratamientos: tres especies asociadas, dos especies asociadas, efecto nodriza y el control (sin tratamiento, plántulas solas). Los tratamientos de asociación entre tres y dos especies consistieron en el trasplante de 3 y 2 plántulas de distintas especies cercanas espacialmente entre sí en el

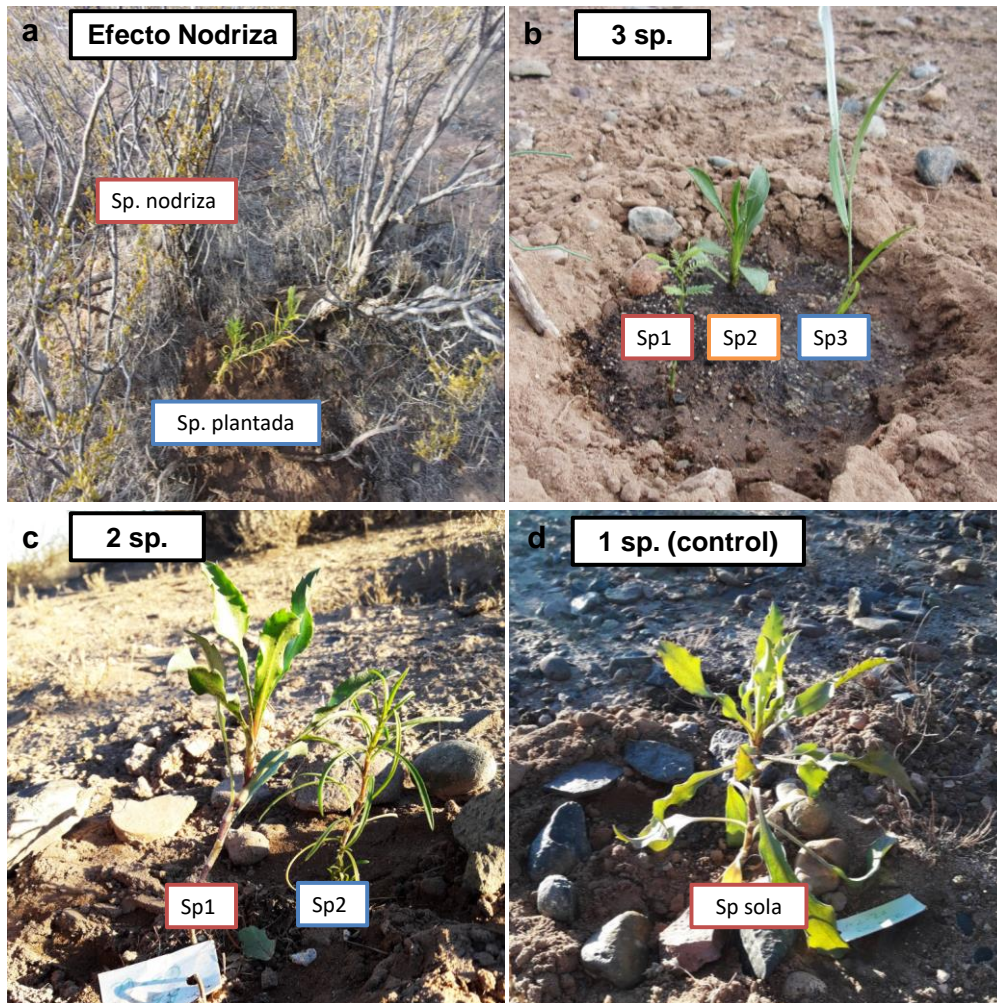
mismo hoyo de plantación, aproximadamente una zona de 400 cm<sup>2</sup> (Imagen 3 b y c). El diseño experimental se estableció mediante la combinación cruzada entre los tipos sucesionales de especies (e.g., colonizadoras vs intermedias, colonizadoras vs. tardías, intermedias vs. tardías), en base a una investigación previa que resaltó que las interacciones facilitadoras más importantes a nivel ecológico se dan entre tipos contrastantes de tipos sucesionales de especies (Pelliza et al. 2021). Sin embargo, como no se pudo obtener igual número de réplicas de todas las especies para realizar todas esas combinaciones, principalmente por un reducido número de plántulas de especies tardías (ver Capítulo 1 y 2), se trató de combinar las especies con el número de plántulas obtenidas en invernadero. Para el tratamiento de tres especies asociadas, sólo se combinó una especie intermedia (*Prosopis alpataco*) con dos especies colonizadoras (*Grindelia chiloensis* y *Gutierrezia solbrigii*) con 10 repeticiones. En el tratamiento de facilitación con efecto nodriza (i.e, asociación de una plántula bajo el dosel de una especie “nodriza” adulta, ya establecida en el área a restaurar), se utilizaron 168 plántulas de distintas especies de colonizadoras e intermedias para su trasplante debajo del dosel de estas especies “nodrizas” (Foto 3 a, Tabla 1). Se utilizaron como especies nodrizas a una especie colonizadora (*Atriplex lampa*), tres especies intermedias (*Prosopis alpataco*, *Senna aphylla* y *Chuquiraga erinacea*) y tres tardías en la sucesión ecológica (*Larrea divaricata*, *L. cuneifolia* y *Monttea aphylla*). Para el tratamiento control, es decir, se trasplantaron plántulas aisladas o solas sin asociación en suelo desnudo (n = 112). El número total de combinaciones y replicas entre tipos sucesionales de especies se puede observar en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Diseño experimental de los experimentos de facilitación y la combinación de los tipos sucesionales de especies (colonizadora, intermedia y tardía). Asociación espacial entre dos y tres especies, efecto nodriza (i.e, asociación de una plántula bajo el dosel de una especie “nodriza” adulta, ya establecida en el área a restaurar), y el respectivo control (plántula sola), según la combinación de cada especie y tipo sucesional correspondiente. Como especies colonizadoras se utilizaron: AL = *Atriplex lampa*, GC = *Grindelia chiloensis*, GS = *Gutierrezia solbrigii*, HA = *Hyalis argentea*; como especies intermedias: PA = *Prosopis alpataco*, CE = *Chuquiraga erinacea*, SA = *Senna aphylla*, y como especies tardías: LD = *Larrea Divaricata*, LC = *Larrea cuneifolia* y MA = *Monttea aphylla*. Las celdas contienen el número de réplicas de cada especie o par de especies. El área marcada con líneas color azul indica la asociación entre dos especies, las líneas en color rojo la asociación entre tres especies, las líneas de color verde marcan el efecto nodriza, y las líneas anaranjadas marcan el control (sin tratamiento).



		Asociación de dos especies						Efecto nodriza						Control	
Tipo sucesional de especie	Especie	Colonizadoras				Intermedias		Tardías			Intermedias		Colonizadora		
		<i>AL</i>	<i>GC</i>	<i>GS</i>	<i>HA</i>	<i>PA</i>	<i>CE</i>	<i>SA</i>	<i>LD</i>	<i>LC</i>	<i>MA</i>	<i>PA</i>	<i>SA</i>		<i>AL</i>
Colonizadoras	<i>AL</i>	-							5	5	5	-	-	-	15
	<i>GC</i>	5	-						5	15	5	10	8	18	26
	<i>GS</i>	5	5	-					5	5	5	-	-	-	5
	<i>HA</i>	5	5	5	-				5	5	5	-	-	-	16
Intermedias	<i>PA</i>	8	10	5	5	-			5	10	5	5	10	12	44
	<i>CE</i>	5	5	5	5	5	-		5	5	5	-	-	-	5
	<i>SA</i>	-	2	8	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	<i>PA</i>	10													

**Imagen 3.** Tratamientos con facilitación entre especies. a. Efecto nodriza (plántula establecida bajo el dosel de una especie “nodriza” adulta, ya establecida en el área a restaurar). b. Asociación de tres especies en el mismo hoyo de plantación. c. Asociación entre dos especies en el mismo hoyo de plantación. d. Un individuo solo, sin asociación (control).



### Herramientas de restauración

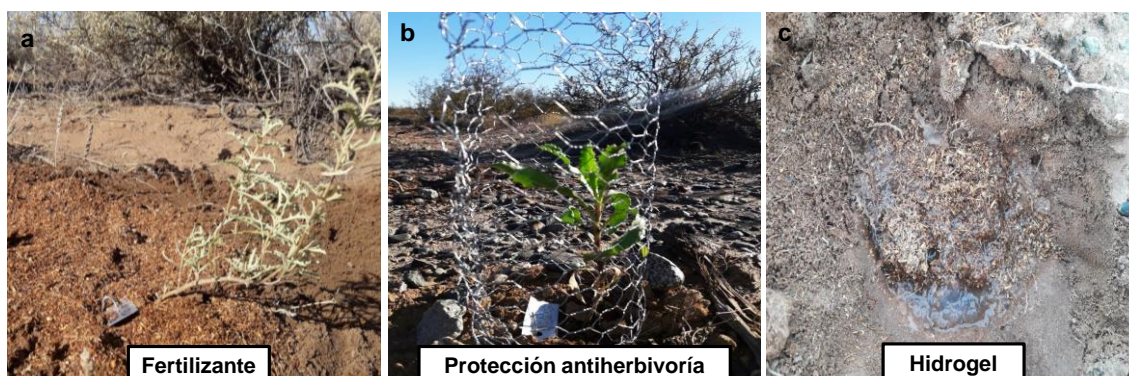
Como técnica de adición de nutrientes se utilizó un fertilizante natural (F), basura de hormigas cortadoras de hojas, *Acromyrmex lobicornis*, que se agregó al momento del trasplante (Farji-Brener y Ghermandi 2004, Tadey y Farji-Brener 2007). En cada hoyo de plantación se añadió una mezcla de 1:3 partes de basura de hormigas con suelo previo a colocar la plántula (Imagen 4 a). Como técnica de hidratación se usó hidrogel (H), también mezclado y agregado en el momento del trasplante. Esta sustancia se preparó mezclando previamente 10 g de alginato en 1000 ml de agua, y por otro lado, 14.7 g cloruro de calcio en 1000 ml agua. Luego, se mezcla y agita el alginato con el cloruro de calcio. Al momento del trasplante, se colocó 300 ml por cada plantación (Imagen 4 c). Como técnica de protección contra la herbivoría se utilizaron 20 clausuras individuales (P). Previamente, se armaron protecciones creadas de mallas metálicas que rodeaban a la plántula (Imagen 4 b). Por último, se realizó la combinación de los

tratamientos: dos especies asociadas (una especie intermedia con una colonizadora) con la adición de fertilizante (2F, n = 12); adición de hidrogel con protección antiherbivoría, PH (n = 20); la adición de fertilizante e hidrogel, FH (n = 15); la adición de fertilizante con protección antiherbivoría, FP (n = 18); la adición de fertilizante e hidrogel con protección antiherbivoría, FPH (n = 15). Para el tratamiento control, es decir, se trasplantaron plántulas aisladas o solas sin asociación en suelo desnudo (n = 112). El número de réplicas por cada especie y tratamiento con adición de fertilizante, hidrogel, protección antiherbivoría y combinaciones, según los tipos sucesionales de especies (colonizadoras e intermedias) se muestran en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Diseño experimental de los tratamientos de restauración con adición de nutrientes, agua y clausura. Adición de fertilizante (F), adición de hidrogel (H), protección individual antiherbivoría (P) y sus combinaciones (PH, FH, FP, FPH), según las especies y los tipos sucesionales de especies (colonizadoras e intermedias). Las celdas contienen el número de réplicas de cada especie.

Tipo sucesional de especies	Especies	Hidrogel (H)	Protección anti-herbivoría (P)	Fertilizante natural (F)	P + H	F + H	F + P	F + P + H
Colonizadoras	<i>Atriplex lampa</i>	10	12	11	10	10	10	10
	<i>Grindelia chiloensis</i>	10	10	5	10	5	5	5
	<i>Gutierrezia solbrigii</i>	-	4	4	-	-	1	-
Intermedias	<i>Prosopis alpataco</i>	-	4	3	-	-	2	-

**Imagen 4.** Tratamientos con fertilizante, protección antiherbivoría e hidrogel. a. Adición de fertilizante natural (basurero de hormigas). b. Protección individual antiherbivoría (de malla metálica). c. Adición de hidrogel (humedad).



## Análisis de datos

Para evaluar la relación entre variabilidad genética y la supervivencia de las plántulas trasplantadas en condiciones de campo se utilizó al porcentaje de supervivencia de las plántulas como variable respuesta y a la heterocigosis individual parental, la heterocigosis y la diversidad alélica individual de las plántulas y la carga ganadera (ganado x año x ha<sup>-1</sup>) como el origen de las plantas parentales, como variables independientes, por separado. Además, se analizaron separadamente las mismas variables de variabilidad genética para la especie colonizadora (*A. lampa*) e intermedia (*P. alpataco*) y para colonizadoras e intermedias cuando la variable independiente era la carga ganadera (Tabla 3). Para cada uno de estos modelos se incluyó a la especie anidada en el campo ganadero como efecto aleatorio (Tabla 3). Por otro lado, para evaluar los efectos de los tratamientos de facilitación se utilizó a la supervivencia individual de cada plántula como variable respuesta y al tratamiento, es decir, asociación entre tres (3) y dos especies (2), efecto nodriza (N) y el control (C), como variable independiente (Tabla 3). Para evaluar las herramientas de restauración se utilizó al porcentaje de supervivencia de las plántulas como variable respuesta y al tratamiento como variable independiente, donde por separado se utilizó a todos los tratamientos que tenían fertilizante natural (F, FP, FH, FPH, C), hidrogel (H, FH, PH, FPH, C) y protección antiherbivoría (P, FP PH, FPH, C) (Tabla 3). Para evaluar la diferencia en la supervivencia promedio de los tipos sucesionales de especies (colonizadoras, intermedias y tardías) se utilizó al porcentaje de supervivencia de las plántulas como variable respuesta y al tipo sucesional de especie como variable independiente (Tabla 3). Dado que no se obtuvieron plántulas de *L. divaricata* y *M. aphylla*, y sólo cinco individuos de *L. cuneifolia*, no incluimos a las especies tardías en estos análisis. La evaluación de la germinación de los tipos sucesionales de especies se realizó en el Capítulo 2. También, para evaluar el tratamiento más eficiente, se analizaron todos los tratamientos juntos, con el porcentaje de supervivencia de las plántulas trasplantada a campo como variable respuesta y al tratamiento como variable independiente (i.e., control, asociación entre tres y dos especies, dos especies asociadas con fertilizante natural, efecto nodriza, fertilizante natural, hidrogel, protección antiherbivoría y sus combinaciones (PH, FH, FP y FPH)) (Tabla 3). Se utilizaron modelos lineales generalizados mixtos (GLMM), los cuales se analizaron y graficaron con R versión 3.4.4 (R Development Core Team 2017). El porcentaje de supervivencia

se estimó con la supervivencia individual de cada plántula a los 6 meses de su trasplante a campo, correspondiente a los dos experimentos juntos (2018-2019), y se analizó con una distribución Bernoulli, recomendada para una variable binaria, en la que 1 representa la supervivencia de la plántula y 0 la mortalidad de la misma (Zuur et al. 2009). Cuando correspondía se utilizó el método de Tukey para análisis a posteriori utilizando el comando "glht" del paquete "multcomp" (Hothorn et al. 2007, 2020).

**Tabla 3.** Detalle de los modelos estadísticos utilizando modelos lineales mixtos generalizados (GLMM) realizados en el programa “R”. Las variables respuestas (porcentaje de supervivencia de las plántulas), variables independientes (heterocigosis individual parental, heterocigosis individual de la progenie, diversidad alélica de la progenie, carga ganadera como origen de la población parental, tratamiento de facilitación, tratamiento de adición de fertilizante, tratamiento de adición de hidrogel, tratamiento de protección antiherbivoría, tratamientos (todos juntos) y tipo sucesional de especie), y efecto aleatorio cuando correspondía (la especie anidada en el campo ganadero), con sus correspondientes distribuciones estadísticas.

Variable respuesta	Variable predictora	Efecto fijo	Efecto aleatorio	Distribución estadística
Porcentaje de supervivencia	Heterocigosis individual parental	Heterocigosis individual parental	Campo/especie	Bernoulli
Porcentaje de supervivencia de <i>Atriplex lampa</i>	Heterocigosis individual parental	Heterocigosis individual parental	Campo/especie	Bernoulli
Porcentaje de supervivencia de <i>Prosopis alpacato</i>	Heterocigosis individual parental	Heterocigosis individual parental	Campo/especie	Bernoulli
Porcentaje de supervivencia	Heterocigosis individual de la progenie	Heterocigosis individual de la progenie	Campo/especie	Bernoulli
Porcentaje de supervivencia de <i>Atriplex lampa</i>	Heterocigosis individual de la progenie	Heterocigosis individual de la progenie	Campo/especie	Bernoulli
Porcentaje de supervivencia de <i>Prosopis alpacato</i>	Heterocigosis individual de la progenie	Heterocigosis individual de la progenie	Campo/especie	Bernoulli
Porcentaje de supervivencia	Diversidad alélica de la progenie	Diversidad alélica de la progenie	Campo/especie	Bernoulli
Porcentaje de supervivencia de <i>Atriplex lampa</i>	Diversidad alélica de la progenie	Diversidad alélica de la progenie	Campo/especie	Bernoulli
Porcentaje de supervivencia de <i>Prosopis alpacato</i>	Diversidad alélica de la progenie	Diversidad alélica de la progenie	Campo/especie	Bernoulli
Porcentaje de supervivencia	Carga ganadera	Carga ganadera	Campo/especie	Bernoulli
Porcentaje de supervivencia de	Carga ganadera	Carga ganadera	Campo/especie	Bernoulli

Colonizadoras				
Porcentaje de supervivencia de Intermedias	Carga ganadera	Carga ganadera	Campo/especie	Bernoulli
Porcentaje de supervivencia	Tratamiento de facilitación	Tratamiento de facilitación		Bernoulli
Porcentaje de supervivencia	Tratamiento de fertilizante	Tratamiento de fertilizante		Bernoulli
Porcentaje de supervivencia	Tratamiento de hidrogel	Tratamiento de hidrogel		Bernoulli
Porcentaje de supervivencia	Tratamiento de protección antiherbivoría	Tratamiento de protección antiherbivoría		Bernoulli
Porcentaje de supervivencia	Tratamientos (todos)	Tratamientos (todos)		Bernoulli
Porcentaje de supervivencia	Tipo sucesional de especie	Tipo sucesional de especie		Bernoulli

## Resultados

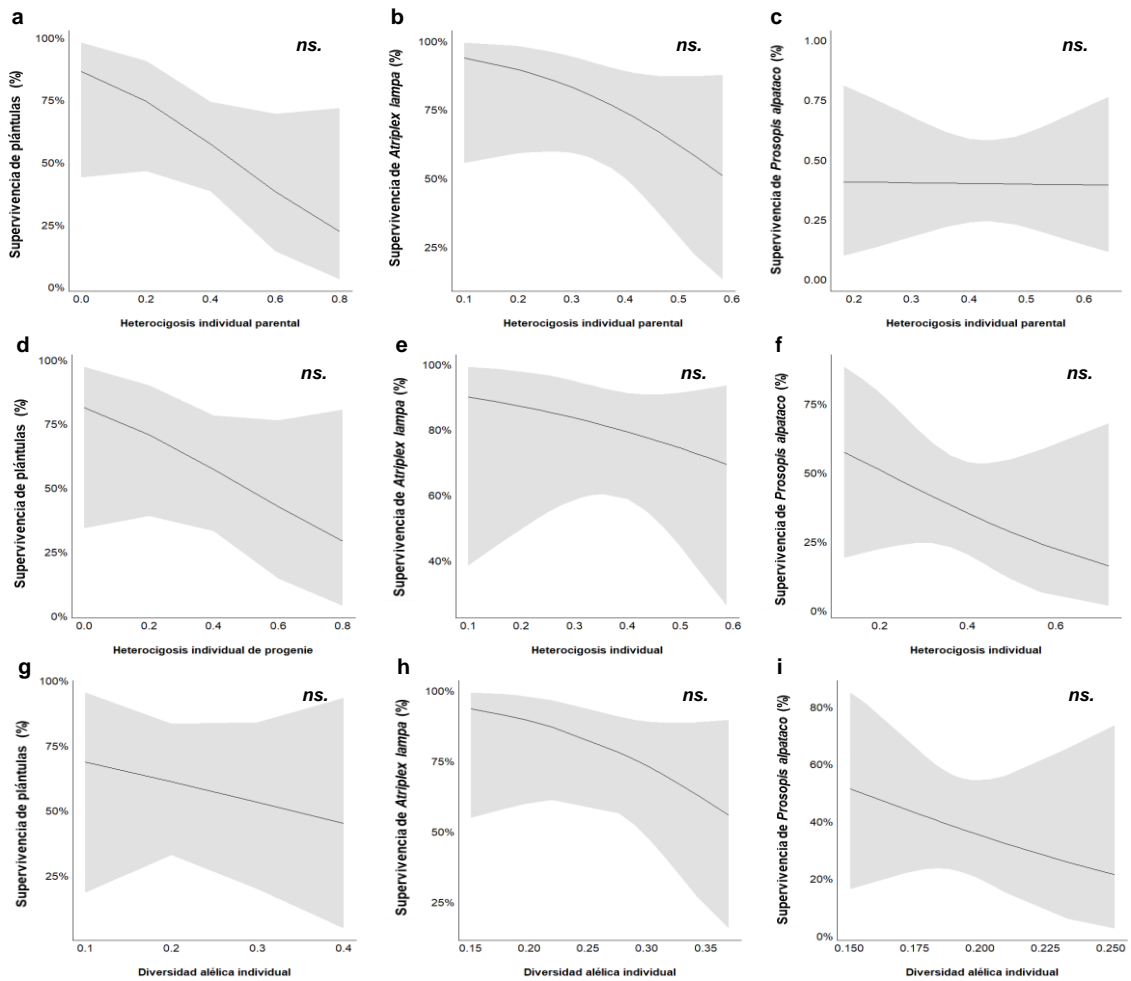
### Influencia de la variabilidad genética en la supervivencia de plántulas

Plantas parentales (tanto de *A. lampa* y *P. alpataco*) con mayor heterocigosis individual dieron origen a progenies que sobrevivieron menos en condiciones de campo, aunque esta tendencia negativa no fue estadísticamente significativa ( $\beta = -3.88$ ,  $gl = 49$ ,  $P = 0.12$ , Figura 1a). Por separado, se observó la misma tendencia para *Atriplex lampa*, donde plántulas que provenían de plantas genéticamente más variables (i.e., con mayor heterocigosis individual) tuvieron menor supervivencia a campo ( $\beta = -5.52$ ,  $gl = 20$ ,  $P = 0.17$ , Figura 1b), mientras que para *Prosopis alpataco*, no se encontró asociación entre la heterocigosis parental y la supervivencia de sus progenies ( $\beta = -0.12$ ,  $gl = 27$ ,  $P = 0.97$ , Figura 1c). Un aumento en la heterocigosis individual de las plántulas no se asoció significativamente con su supervivencia en condiciones de campo ( $\beta = -2.95$ ,  $gl = 53$ ,  $P = 0.24$ , Figura 2a). Por separado, tampoco se encontró asociación entre la heterocigosis individual de las plantas con su supervivencia a campo tanto para *Atriplex lampa* ( $\beta = -2.82$ ,  $gl = 20$ ,  $P = 0.503$ , Figura 2b) como para *Prosopis alpataco* ( $\beta = -3.22$ ,  $gl = 29$ ,  $P = 0.325$ , Figura 2c).

Un aumento en la diversidad alélica de las plántulas no se asoció significativamente con su supervivencia en condiciones de campo ( $\beta = -3.26$ ,  $gl = 53$ ,  $P = 0.68$ , Figura 3a). Por separado, tampoco se encontró asociación entre la diversidad

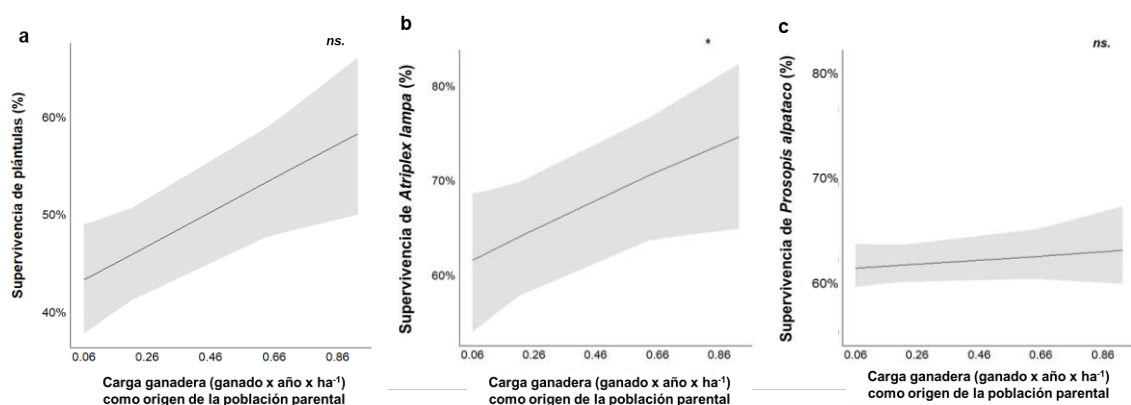
alélica individual de las plántulas con su supervivencia tanto para *Atriplex lampa* ( $\beta = -11.12$ ,  $gl = 22$ ,  $P = 0.22$ , Figura 3b) como para *Prosopis alpataco* ( $\beta = -13.44$ ,  $gl = 29$ ,  $P = 0.47$ , Figura 3c).

**Figura 1.** Relación entre la variabilidad genética (i.e., heterocigosis individual parental y la heterocigosis y diversidad alélica individual de las plántulas progenies) y la supervivencia de plántulas progenies trasplantadas a campo. Se muestran los valores ajustados e intervalos de confianza (95%, en gris) del porcentaje de supervivencia obtenidos con un GLMM con distribución Bernoulli. Heterocigosis individual parental vs.: a. Supervivencia de plántulas (%). b. Supervivencia de plántulas de *Atriplex lampa* (%). c. Supervivencia de plántulas de *Prosopis alpataco* (%). Heterocigosis individual de las plántulas vs.: d. Supervivencia de plántulas (%). e. Supervivencia de plántulas de *Atriplex lampa* (%). f. Supervivencia de plántulas de *Prosopis alpataco* (%). Diversidad alélica individual de las plántulas vs.: g. Supervivencia de plántulas (%). h. Supervivencia de plántulas de *Atriplex lampa* (%). i. Supervivencia de plántulas de *Prosopis alpataco* (%).  $P < 0.05^*$ ,  $P < 0.001^{**}$ ,  $P < 0.0001^{***}$ ,  $0.10 < P > 0.05^{\cdot}$  (marginamente significativo),  $P > 0.10$  ns.: no significativo.



La supervivencia de plántulas a campo no se asoció con la carga ganadera como origen de su población parental ( $\beta = 0.76$ ,  $gl = 488$ ,  $P = 0.41$ , Figura 2a). Por separado, se observó un aumento significativo de la supervivencia de las plántulas de especies colonizadoras con el aumento de la carga ganadera ( $\beta = 0.70$ ,  $gl = 285$ ,  $P = 0.041$ , Figura 2b), mientras que la supervivencia de plántulas de especies intermedias no se asoció con la carga ganadera como origen de su población parental ( $\beta = 0.56$ ,  $gl = 194$ ,  $P = 0.65$ , Figura 2c).

**Figura 2.** Relación la carga ganadera como origen de la población parental con la supervivencia de las plántulas progenies trasplantadas a campo y para las especies colonizadoras e intermedias en la sucesión. Se muestran los valores ajustados e intervalos de confianza (95%, en gris) del porcentaje de supervivencia obtenidos con un GLMM con distribución Bernoulli. Carga ganadera (ganado x año x ha<sup>-1</sup>) vs.: a. Supervivencia de plántulas (%). b. Supervivencia de plántulas de colonizadoras (%). C. Supervivencia de plántulas de intermedias (%).  $P < 0.05^*$ ,  $P < 0.001^{**}$ ,  $P < 0.0001^{***}$ ,  $0.10 < P > 0.05$  (marginamente significativo),  $P > 0.10$  ns.: no significativo.



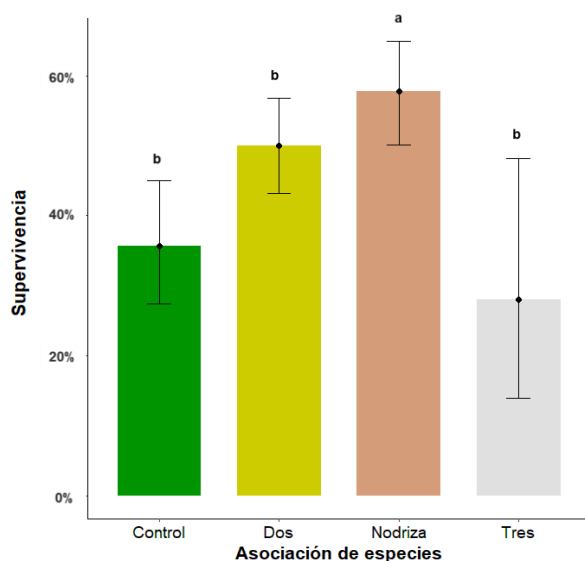
Efecto de las herramientas de restauración en la supervivencia de las plántulas

*Tratamiento de facilitación*

Las plántulas en general tuvieron mayor supervivencia a campo con el tratamiento de efecto nodriza respecto al control ( $\chi^2 = 17.75$ ,  $gl = 505$ ,  $P < 0.0005$ , Figura 3).



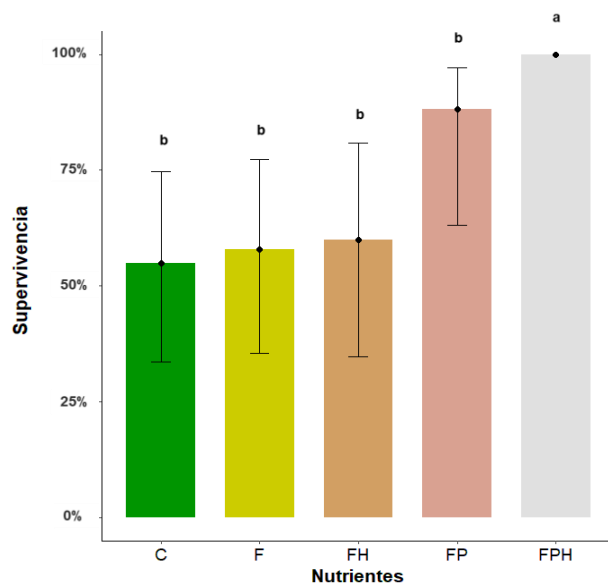
**Figura 3.** Porcentaje de supervivencia promedio de plántulas trasplantadas a campo para los tratamientos de facilitación (i.e. asociación espacial entre especies). Se muestran los valores ajustados e intervalos de confianza (95%, en gris) del porcentaje de supervivencia de las plántulas obtenidos con un GLMM con distribución Bernoulli. Supervivencia de las plántulas (%) vs tratamientos de facilitación entre especies. C = control; dos = asociación entre dos especies; Nodrizas = asociación de una especie a una especie nodriza; tres = asociación de tres especies. La letra denota diferencias significativas (prueba post-hoc de Tukey) entre los niveles de los factores.



#### *Tratamiento de adición de fertilizante natural*

Las plántulas tuvieron mayor supervivencia a campo con el tratamiento que combinó fertilizante, protección antiherbivoría e hidrogel (FPH), respecto al control ( $\chi^2 = 20.38$ ,  $gl = 85$ ,  $P < 0.0005$ , Figura 4).

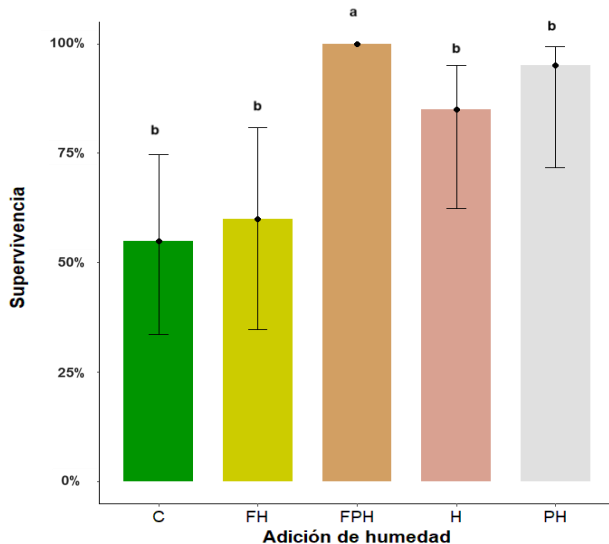
**Figura 4.** Porcentaje de supervivencia promedio de plántulas trasplantadas a campo para los tratamientos que incluían la adición de nutrientes mediante un fertilizante natural (basureo de hormigas). Se muestran los valores ajustados e intervalos de confianza (95%, en gris) del porcentaje de supervivencia obtenidos con un GLMM con distribución Bernoulli. Supervivencia de las plántulas (%) vs tratamientos con adición de fertilizante. C = control; F = fertilizante; FH= fertilizante más hidrogel; FP= fertilizante más protección antiherbivoría; FPH= fertilizante más protección antiherbivoría más hidrogel. La letra denota diferencias significativas (prueba *post-hoc* de Tukey) entre los niveles de los factores.



#### *Tratamiento de adición de hidrogel*

Las plántulas tuvieron mayor supervivencia a campo con el tratamiento que combinó fertilizante, protección antiherbivoría e hidrogel (FPH). No hubieron diferencias significativas entre la supervivencia de las plántulas con adición sola de hidrogel (H) respecto al control ( $\chi^2 = 10.28$ ,  $gl = 83$ ,  $P = 0.035$ , Figura 5).

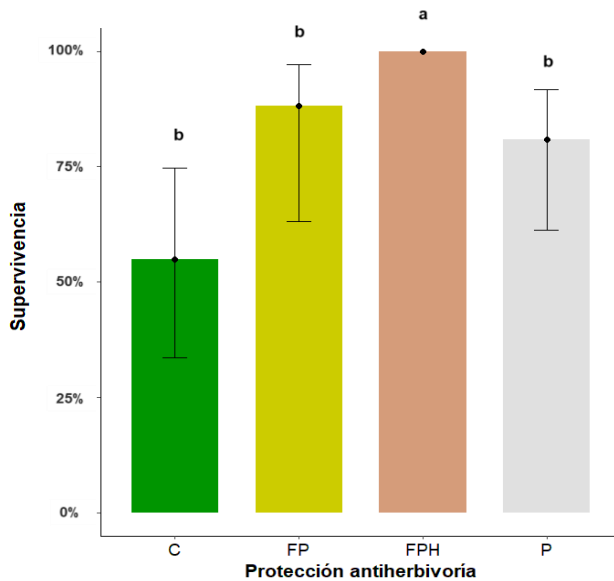
**Figura 5.** Porcentaje de supervivencia promedio de las plántulas trasplantadas a campo para los tratamientos que tenían adición de humedad (hidrogel). Se muestran los valores ajustados e intervalos de confianza (95%, en gris) del porcentaje de supervivencia obtenidos con un GLMM con distribución Bernoulli. Supervivencia de las plántulas (%) vs tratamientos con adición de hidrogel. C = control; FH = fertilizante más hidrogel; FPH = fertilizante más protección antiherbivoría más hidrogel; H = hidrogel; PH = protección antiherbivoría más hidrogel. La letra denota diferencias significativas (prueba post-hoc de Tukey) entre los niveles de los factores.



### *Tratamiento con protección antiherbivoría*

Las plántulas tuvieron mayor supervivencia a campo con el tratamiento que combinó fertilizante, protección antiherbivoría e hidrogel (FPH). No hubieron diferencias significativas entre la supervivencia de las plántulas con protección antiherbivoría (P) respecto al control ( $\chi^2 = 15.24$ ,  $gl = 80$ ,  $P = 0.001$ , Figura 6).

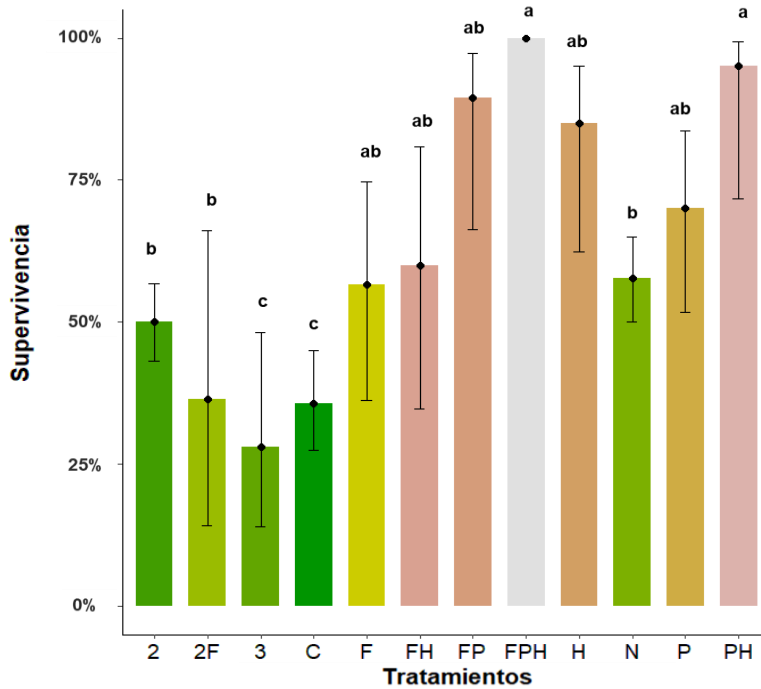
**Figura 6.** Porcentaje de supervivencia promedio de las plántulas trasplantadas a campo para los tratamientos que tenían protección antiherbivoría (malla metálica). Se muestran los valores ajustados e intervalos de confianza (95%, en gris) del porcentaje de supervivencia obtenidos con un GLMM con distribución Bernoulli. Supervivencia de las plántulas (%) vs tratamientos con protección antiherbivoría. C = control; FP= fertilizante más protección antiherbivoría; FPH= fertilizante más protección antiherbivoría más hidrogel; P = protección antiherbivoría. La letra denota diferencias significativas (prueba post-hoc de Tukey) entre los niveles de los factores.



### *Todos los tratamientos juntos*

Al tener en cuenta todos las estrategias juntas, también se observó que las plántulas tuvieron mayor supervivencia a campo con el tratamiento que combinó fertilizante, protección antiherbivoría e hidrogel (FPH<sub>prom.</sub> = 100%), respecto a todos los demás tratamientos, incluido el control ( $\chi^2 = 31.88$ , gl = 648,  $P < 0.001$ , Figura 7). Además, se obtuvieron mayores porcentajes de supervivencia en los tratamientos de protección antiherbivoría combinado con el hidrogel (PH<sub>prom.</sub> = ~94%), fertilizante combinado con la protección antiherbivoría (FP<sub>prom.</sub> = ~88%), hidrogel (H<sub>prom.</sub> = ~86%), protección antiherbivoría (P<sub>prom.</sub> = ~72%), efecto nodriza (N<sub>prom.</sub> = ~66%) y asociación de dos especies (2<sub>prom.</sub> = ~50%), respecto al control.

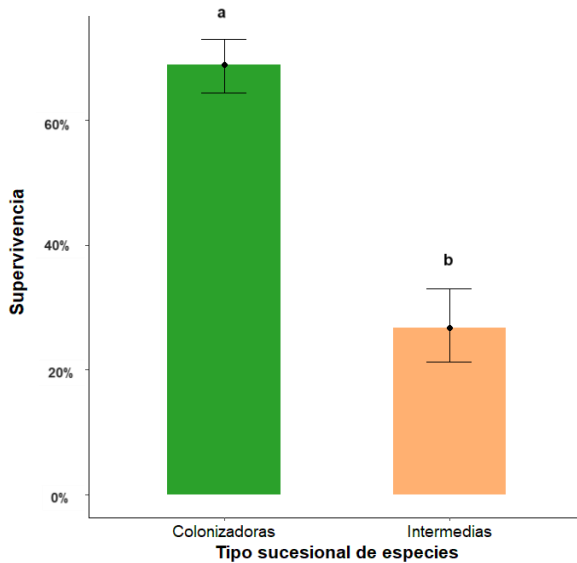
**Figura 7.** Porcentaje de supervivencia promedio de las plántulas trasplantadas a campo para los todos los tratamientos juntos. Se muestran los valores ajustados e intervalos de confianza (95%, en gris) del porcentaje de supervivencia obtenidos con un GLMM con distribución Bernoulli. Supervivencia de las plántulas (%) vs tratamientos. 2 = dos especies asociadas, 2F = dos especies asociadas más adición de fertilizante; 3 = tres especies asociadas; C = control; F = fertilizante; FH = fertilizante más hidrogel; FP = fertilizante más protección antiherbivoría; FPH = fertilizante más protección antiherbivoría más hidrogel; H = hidrogel; N = nodriza; P = protección antiherbivoría; PH = protección antiherbivoría más hidrogel. La letra denota diferencias significativas (prueba post-hoc de Tukey) entre los niveles de los factores.



### *Efecto del tipo sucesional de especies*

Al comparar la eficiencia de los tipos sucesionales de especies, se observó significativamente mayor supervivencia de las plántulas de especies colonizadoras ( $Colonizadoras_{prom.} = \sim 70\%$ ) respecto de las de especies intermedias ( $Intermedias_{prom.} = \sim 27\%$ ;  $\chi^2 = 76.22$ ,  $gl = 1$ ,  $P < 0.0001$ ; Figura 8).

**Figura 8.** Porcentaje de supervivencia promedio de las plántulas trasplantadas a campo según el tipo sucesional de especie, teniendo en cuenta todos los todos los tratamientos. Se muestran los valores ajustados e intervalos de confianza (95%, en gris) del porcentaje de supervivencia obtenidos con un GLMM con distribución Bernoulli. Supervivencia de las plántulas (%) vs tipo sucesional de especies (colonizadoras-intermedias). La letra denota diferencias significativas (prueba post-hoc de Tukey) entre los niveles de los factores.



## Discusión

En este capítulo se realizó un experimento piloto de restauración ecológica con distintas herramientas en el desierto del Monte Patagónico, utilizando plántulas generadas a partir de semillas en invernadero de distintos tipos sucesionales de especies (colonizadoras e intermedias), provenientes de campos con distinta carga ganadera y con distintos niveles de variabilidad genética. Al evaluar la asociación de la variabilidad genética en la supervivencia de las plántulas se observó una tendencia inversa a la esperada; donde plántulas provenientes de parentales genéticamente más variables tuvieron menor supervivencia en condiciones de campo. Esta tendencia fue más fuerte la especie colonizadora, *A. lampa*, que también mostró una mayor supervivencia con el aumento de la carga ganadera como el origen de sus plantas parentales. Esto podría deberse a que el ganado estaría seleccionando (o rechazando) ciertos genotipos, homogeneizando las poblaciones, y/o como estrategia a través de efecto maternos, las plantas podrían estar aumentando la supervivencia de su progenie para persistir. Además, se evaluaron distintas herramientas de restauración, donde el tratamiento que combinó el fertilizante natural con la protección antiherbivoría e hidrogel (FPH) presentó el mayor valor de supervivencia de plántulas trasplantadas a campo. Este resultado destaca que los factores claves de la supervivencia de plantas son los nutrientes y el agua y la protección antiherbivoría. También, el tratamiento de efecto

nodriza obtuvo mayor supervivencia respecto al control (sin tratamiento), que probablemente está relacionado con el aumento de las condiciones microclimáticas y con la protección antiherbivoría. Además, las especies colonizadoras son más eficientes para ser utilizadas en estrategias de restauración ya que germinan y sobreviven más que las especies intermedias. En base a estos resultados, se proporcionarán sugerencias de restauración y manejo sustentable para zonas áridas sometidas a sobrepastoreo.

Un mayor éxito de una especie en la restauración, a través de una mayor aptitud, podría ser conferido por una mayor variabilidad genética (Hoffmann y Parsons 1991, Reed y Frankham 2003, Bouzat 2010, Banks et al. 2013, Rice y Jain 2013). Se encontraron tendencias inversas a las esperadas, donde una mayor diversidad genética de la planta parental levemente se asoció a una mayor mortalidad de su progenie trasplantada en condiciones de campo. Aunque esta tendencia no fue estadísticamente significativa, posiblemente se podría corroborar aumentando el número de réplicas y mediante la utilización de marcadores moleculares adaptativos. Lo que podría estar pasando es que el ganado al estar seleccionando (o rechazando) determinados genotipos, esos individuos sobrevivientes con ciertos caracteres tienden a homogeneizar la población, lo que sumado a cuellos de botellas genéticos en los parentales, con posibles efectos de endogamia, causa que aumente la homocigosis (Reece 2014, Abel et al. 2015, Pelliza et al. 2020). También, los cuellos de botella tienen impactos a largo plazo, lo que podría terminar en deriva génica y la recuperación de la diversidad genética de esa población sería muy lenta; aunque, también podrían estar llevando a procesos de evolución adaptativa de los genotipos sobrevivientes de estas poblaciones más pastoreadas (Carson 1968, 1982, Templeton 1980, Van Heerwaarden et al. 2008, Reece 2014, Abel et al. 2015, Kitchen 2018). Consecuentemente, en estas poblaciones muestreadas se observa una mayor homocigosis asociada a mayor supervivencia de la progenie proveniente de individuos parentales que resisten o toleran los efectos del ganado. No obstante, debería evaluarse que ocurre con la variabilidad genética y la aptitud de la progenie a un mayor lapso de tiempo pos cuello de botella genético. Además, otra posible explicación podría deberse a los efectos maternos, donde estas plantas maternas que sobreviven y crecen en ambientes más estresantes, es decir, en campos de mayor carga ganadera, mejoran la aptitud de su progenie (Galloway 2005). Principalmente, esto se observa para las especies colonizadoras, como *A. lampa*, donde plantas maternas sobreviviendo en campos de alta carga ganadera tuvieron una progenie

que sobrevive más (Figura 4 b). A través de una mayor calidad de la semilla, los efectos maternos del endospermo pueden promover una mayor asignación de recursos por parte de la planta materna, y para muchas especies es primordial para la germinación, establecimiento y supervivencia de las plántulas (Roach y Wulff 1987, Agrawal 2001, 2002, Steets y Ashman 2010). También, el ambiente mediante mecanismos no genéticos (es decir, epigenéticos), puede influir directamente en la variación fenotípica y la adaptación (Skinner y Nilsson 2021). Estudios recientes han demostrado que la memoria ambiental inducida por el estrés está mediada por mecanismos epigenéticos que controlan la expresión génica a través de la metilación del ADN, las modificaciones de las histonas y los pequeños ARN, que pueden contribuir por separado o conjuntamente a los fenotipos, y podrían transmitirse a las siguientes generaciones (Turgut-Kara et al. 2020). Un estudio demostró que las plantas en presencia de estrés abiótico, incluso con poca variación genética poblacional, pueden obtener a una alta variación epigenética para hacer frente a estos ambientes; y mientras que la variación genética disminuyó, la variación epigenética aumentó, lo que indica que estas formas de variación se produjeron de forma independiente y tuvieron poca influencia entre sí (Lira-Medeiros et al. 2010). En este sentido, el ambiente árido sobrepastoreado en el que crecen las plantas maternas pueden aumentar las probabilidades de supervivencia de su progenie, a través de la provisión de semillas o de modificaciones epigenéticas, y, por tanto, hacerlos más adaptados a condiciones ambientales maternas similares (Pastor et al. 2013, Pikaard y Scheid 2014, Conrath et al. 2015, Balao et al. 2018, Albaladejo et al. 2019, Lázaro-Lobo et al. 2020). Se destaca la importancia de evaluar las diferentes vías de impactos de los disturbios, tanto en aspectos ecológicos como genéticos, y las posibles respuestas de las especies frente a ellos, como formas de predecir la supervivencia o aptitud de las especies introducidas en proyectos de restauración ecológica. Sin embargo, es necesario fomentar el mantenimiento de la diversidad genética para la sostenibilidad a largo plazo de los campos ganaderos de tierras secas no manejados sustentablemente, donde las condiciones ambientales extremas los hacen más susceptibles a los disturbios que otros ecosistemas más húmedos (Souto y Tadey 2018, Pelliza et al 2020).

Las interacciones bióticas de facilitación impulsan el establecimiento de las plantas para la formación de la vegetación en zonas áridas (Brooker et al. 2008, Soliveres y Maestre 2014, Saiz et al. 2018). El tratamiento en el que se evaluó el efecto



nodriza, promovió una mayor supervivencia de las plántulas, junto con las asociaciones entre dos especies. Esto se debe a que las nodrizas favorecen el establecimiento o crecimiento de otra especie bajo su dosel al actuar como refugios contra las condiciones de estrés, al mejorar las condiciones abióticas o la disponibilidad de recursos y protegiéndolas de la herbivoría (Pugnaire et al. 1996, Zou et al. 2005, Jankju 2013, Soliveres et al. 2014). Mientras que, en las asociaciones entre especies, las especies ensambladas se amortiguan mutuamente ante el estrés (Bertness y Callaway 1994, Pugnaire y Luque 2001). Cada asociación de especies, provee de cobertura y sistemas radiculares, densidad y profundidad, propiciando una recuperación de nutrientes en el suelo, un aumento de la porosidad, el mejoramiento de la estructura y la protección mecánica del mismo, en menor tiempo que el que se llevaría durante la sucesión natural (Bertness y Callaway 1994, Pugnaire y Luque 2001, Suárez Guerrero 2008). No obstante, la supervivencia de las plántulas asociadas entre tres individuos no difirió del control, lo cual puede deberse a cierta competencia, quizás entre especies colonizadoras. También, una de las especies colonizadoras, *Hyalis argentea*, presentó rápidamente alta mortalidad por herbivoría. Se concluye que las estrategias de facilitación son claves para promover la recolonización de la flora nativa de las zonas áridas (Suárez Guerrero 2008).

Los factores abióticos como los nutrientes y agua son los recursos principales que promueven la vegetación de zonas áridas. La combinación de adición de nutrientes, agua y protección antiherbivoría fue el tratamiento más eficiente obteniendo mayor supervivencia de plántulas pos trasplante a campo. Esto se debe a efectos sinérgicos de los tratamientos que reducen los factores limitantes para la supervivencia y crecimiento de las plántulas (Kargar et al. 2017). Se destaca la combinación del fertilizante con el hidrogel, que reduce la mortalidad de las plántulas al retener la humedad del suelo (Böhlenius y Övergaard 2014). El hidrogel también puede retener los nutrientes cuando se incorporan al suelo, haciendo que estén disponibles para el crecimiento de las plantas (Kargar et al. 2017). Se encontraron mejoras del rendimiento de las plantas sometidas a estrés hídrico en suelos con hidrogel debido a la capacidad de absorber y luego liberar gradualmente el agua y los nutrientes (Orikiriza et al. 2013, Kargar et al. 2017). Además, se encontró que la aplicación de hidrogel puede reducir la pérdida por evaporación y la percolación profunda, aumentando así el crecimiento de la planta y el tiempo de supervivencia ante la sequía (Saha et al. 2020). Un meta-análisis indicó que la

inoculación con hongos micorrícicos en el vivero (sola, o en combinación con enmiendas orgánicas) fue el tratamiento más eficaz para mejorar tanto la supervivencia como el crecimiento de las plántulas trasplantadas en zonas áridas (Piñeiro et al. 2013). Se han aislado cepas de actinomicetes del basurero de hormigas en el Monte Patagónico, por lo que indirectamente la adición de basurero inocularía estos microorganismos, y estaría promoviendo el ciclado de nutrientes, facilitando la incorporación de éstos a las plantas, influyendo en la tolerancia de las plantas a la sequía y mejorando su establecimiento y supervivencia (Solans et al. 2021). Por lo tanto, adicionar actinobacterias nativas del Monte (cepas procedentes de los basureros y del suelo nativo) pueden aumentar la supervivencia y el crecimiento de las especies vegetales al mejorar su estado nutricional, lo que sugiere su potencial para facilitar el establecimiento de la vegetación y, por tanto, también ser buenas candidatas para las prácticas de restauración (Solans et al. 2021). Asimismo, dado que el pastoreo impone restricciones al establecimiento de la vegetación, la remoción de este disturbio (i.e., clausura individual), generó una mayor supervivencia de plántulas, debido a la reducción de daños que producen la mortalidad de estas plántulas (Dalmaso y Martínez 2013). Este experimento destaca la utilización del fertilizante natural, como el basurero de hormigas cortadoras de hojas, en estrategias de restauración, resaltando que es un recurso abundante y renovable en zonas áridas y semiáridas que aumenta, junto con otras estrategias, la supervivencia de plántulas en condiciones de campo (Tadey y Farji-Brener 2007, Farji-Brener y Tadey 2009). Por lo tanto, la combinación de adición de nutrientes con basurero de hormigas, humedad con hidrogel y la protección antiherbivoría son buenas herramientas para proyectos de restauración de zonas áridas al mejorar la supervivencia de las plántulas.

La clasificación según el rol sucesional de las especies podría ser una buena estrategia para la restauración ecológica. En el capítulo 1 observamos que las especies colonizadoras no presentaron mecanismos de latencia por lo que no requieren tratamientos germinativos, mientras que las especies intermedias poseen mecanismos de latencia no profundos, necesitando tratamientos de escarificación física, y las tardías latencia profunda con mayor complejidad en tratamientos que rompan su latencia. No obstante, las semillas de especies intermedias germinan en promedio más y más rápido que las especies colonizadoras, y más aún que las tardías que tienen muy bajos porcentajes de germinación (~5%) (ver Capítulo 2). Además, los resultados de este

capítulo muestran que las plántulas de especies colonizadoras presentaron mayor supervivencia que las especies intermedias; mientras que la baja supervivencia en invernadero de las especies tardías limitó el análisis de su supervivencia a campo. Los ciclos cortos de vida y la mayor tasa de crecimiento de las colonizadoras les da una ventaja para sobrevivir y establecerse más rápido que el resto de las especies. Frente a estos resultados se recomienda que se vivericen y se reintroduzcan principalmente plántulas de especies colonizadoras e intermedias en zonas degradadas, ya que sus semillas no requieren tratamientos germinativos, se obtienen buenos porcentajes de germinación y de forma más rápida y con tasas de crecimiento mayores que las especies tardías. El foco de conservación debería estar puesto en las especies tardías, debido a su alta latencia y baja viabilidad de las semillas y su escasa germinación y supervivencia, y dependiendo del disturbio, se podrían utilizar como especies nodrizas para facilitar el establecimiento de plántulas de especies colonizadoras e intermedias y de esta forma reestablecer los parches de vegetación. Por lo tanto, la importancia la clasificación de las especies por su rol sucesional ayuda a explicar los procesos de degradación como de su posible recuperación, como a simplificar, reducir costos y aumentar el éxito de los proyectos de restauración (Pelliza et al. 2021).

## **Conclusión**

La restauración de los ecosistemas áridos se basa en el conocimiento de las interacciones abióticas y bióticas que afectan al establecimiento de las plantas (Pyke y Archer 1991). El conocimiento de la medida en que los tipos sucesionales de especies pueden facilitar el establecimiento de otras especies sirve para formular protocolos de ensamblaje para la introducción de especies en un sitio (Pyke y Archer 1991). Por lo tanto, se destaca la importancia de tener en cuenta los principios de sucesión ecológica para aumentar el éxito de la restauración de los ambientes disturbados (Walker et al. 2007). Dado que el riego y la utilización de fertilizantes industriales aumenta considerablemente los costos de restauración, el uso de hidrogel y fertilizante natural presentes en los ecosistemas áridos puede reducir los costos y ayudar a superar las limitaciones de humedad y nutrientes del suelo en el momento de trasplante, incluso de

la siembra, y así mejorar el rendimiento de las plántulas en el campo (Lucero et al. 2010, Chirino et al. 2011). También son una buena opción, junto con la inoculación de actinobacterias, para mejorar la calidad de las plántulas producidas en invernadero destinadas a la restauración de zonas áridas (Lucero et al. 2010, Solans et al. 2021). Además, la comprensión de la importancia de los aspectos genéticos y los efectos maternos que intervienen en la aptitud de las distintas especies a determinados disturbios son claves para entender como estos conocimientos podrían aumentar el éxito de los esfuerzos de conservación y restauración (Rice y Emery 2003). Estos resultados sugieren que la facilitación entre especies, la adición de fertilizante natural e hidrogel, junto con la protección antiherbivoría y la utilización de especies colonizadoras e intermedias son estrategias de restauración claves para promover la supervivencia, el establecimiento, la persistencia y acelerar el desarrollo de la vegetación nativa de zonas áridas. La restauración ecológica es clave como una herramienta fundamental en la lucha por revertir y mejorar la actual desertificación, pérdida de biodiversidad y servicios ecosistémicos de las zonas áridas (Cortina et al. 2004, Mijangos et al. 2015).

## Discusión final

Esta tesis representa una aproximación a las complejas relaciones entre el ganado y las plantas, tanto desde una perspectiva ecológica como genética, y con destacadas implicancias en la restauración ecológica de ambientes áridos degradados en el Monte Patagónico. Al evaluar los efectos de la herbivoría por ganado exótico sobre la reproducción, germinación y variabilidad genética de especies nativas, teniendo en cuenta el tipo sucesional de especies (i.e., colonizadoras, intermedias y tardías) se observaron sus diferentes respuestas al daño del ganado en sus estructuras vegetativas y/o reproductivas, y la cascada de efectos sobre su aptitud y variabilidad genética. Esta información permite recomendar y sugerir sobre aspectos útiles para la toma de decisiones y/o estrategias más eficientes a la hora de seleccionar el germoplasma adecuado para ser utilizado en la reintroducción de especies para proyectos de restauración ecológica de ecosistemas áridos sobrepastoreados. En el primer capítulo, como requisito indispensable para la producción de plántulas para las técnicas de restauración, se evaluaron diferentes tratamientos germinativos para unificar los requerimientos de diez especies nativas claves del ecosistema del Monte Patagónico. En el segundo capítulo se evaluó principalmente cómo el ganado impactó en la reproducción, producción de semillas y germinación, momentos críticos durante la vida de las plantas y su establecimiento, posibilitando una revegetación natural a lo largo del tiempo. En el tercer capítulo se evaluó cuáles son las consecuencias genéticas en las plantas consumidas por el ganado, con posibles impactos en su potencial evolutivo frente al sobrepastoreo. En el cuarto capítulo se evaluó diferentes herramientas que podrían utilizarse en la restauración ecológica de zonas áridas, teniendo en cuenta una aproximación de la importancia de la variabilidad genética en la supervivencia de las plántulas. A lo largo de toda la tesis, se tuvo en cuenta los efectos del ganado sobre los tipos sucesionales de especies, como una estrategia para clasificar y simplificar las distintas respuestas de las plantas y su potencial nivel predictivo. Por último, se realizaron recomendaciones para la restauración ecológica de zonas áridas disturbadas.

El pastoreo del ganado doméstico disminuyó la reproducción de la vegetación con consecuencias ecológicas y posiblemente evolutivas. Estas consecuencias ecológicas implican una reducción en el esfuerzo reproductivo, una menor progenie con menor capacidad de germinación y un retraso en la misma. La reducción del esfuerzo

reproductivo, tiene consecuencias sobre el flujo de gametas (i.e., polen) y el éxito reproductivo (Charlesworth y Charlesworth 1987, Lehtilä y Strauss 1997, Mothershead y Marquis 2000, Edwards et al. 2005, Tadey 2007, Angeloni et al. 2011, Tadey y Souto 2016). Este último está directamente relacionado con la producción de semillas de las plantas, cuya reducción puede afectar la cantidad de progenie que se establecerá, impactando en la dinámica de la vegetación y en los organismos asociados que dependen de ellas (Charlesworth y Charlesworth 1987, Strauss et al. 1996, Adler et al. 2001, Bell et al. 2005, Bommarco et al. 2012, Pozo et al. 2015). Por ejemplo, una germinación retrasada o temprana, pueden afectar el desarrollo de las plantas y, por lo tanto, a la interacción con los polinizadores, los dispersores, los microorganismos del suelo y a la facilitación y competencia entre las especies vegetales (Washitani y Nishiyama 1992, Bu et al. 2008, Kimball et al. 2011, Gremer et al. 2016). Asimismo, el momento de la germinación pueden impactar en el establecimiento de las plantas al aumentar el riesgo de daños por heladas cuando la germinación se produce antes de lo previsto o, como en este caso, el riesgo de desecación cuando se produce más tarde de lo previsto, debido a las altas temperaturas de primavera-verano en las regiones áridas (Bu et al. 2008, Gremer y Venable 2014). Todo lo mencionado puede afectar al desencadenamiento del proceso de sucesión tras los disturbios (Olf et al. 1994).

Entre las consecuencias evolutivas del pastoreo con efectos transgeneracionales están los cambios que implican la variación genética. Un aumento de la intensidad de pastoreo reduce la variabilidad genética y genera estructuración poblacional, donde las poblaciones parentales presentan cuellos de botella genéticos, mientras que su descendencia muestra endogamia. Una disminución de diversidad genética entre la generación parental y la progenie se asocia a una reducción de la aptitud de los parentales, que a su vez afecta a la diversidad genética de la progenie y aumenta su mortalidad. La pérdida de diversidad genética impide o limita la respuesta de las especies a continuas y/o futuras perturbaciones (Hoffmann y Parsons 1991, Banks et al. 2013, Rice y Jain 2013). Por lo tanto, los efectos del pastoreo sobre la vegetación nativa pueden tener múltiples consecuencias ecológicas y evolutivas, con resultados imprevistos en el funcionamiento y la sostenibilidad del ecosistema (Zas et al. 2013).

Las características de historia de vida de las plantas son un aspecto poco considerado a la hora de seleccionar especies adecuadas para la restauración y merecen mayor atención. Al clasificar las especies según su rol en la sucesión ecológica, se

encontraron diferentes respuestas de las mismas al daño ocasionado por el ganado. Las especies tardías son las más afectadas, ya que poseen mecanismos de latencia profunda, limitada producción de semillas viables y germinación con graves consecuencias en su reclutamiento natural. Con el aumento de la intensidad de pastoreo las intermedias fueron capaces de compensar la disminución de la producción de semillas aumentando su peso, mientras que sus semillas emergieron más rápidamente y uniformemente. Las colonizadoras mantuvieron similar la producción y calidad de sus semillas con el aumento de la intensidad del pastoreo, pero se atrasó su germinación aunque no presentan latencia. Las intermedias presentarían una ventaja competitiva al maximizar su aptitud a largo plazo frente a las colonizadoras, las cuales al tardar más tiempo en germinar perderían su ventaja de establecimiento rápido en suelo desnudo pos disturbio. Por lo tanto, la clasificación por su rol sucesional ayuda a explicar los procesos de degradación, como su posible recuperación y restauración (Pelliza et al. 2021). Además, esta agrupación de especies según rasgos morfo-fisiológicos similares, simplifica y reduce los costos de las prácticas de restauración aumentando el éxito de la misma. El conocimiento de la medida en que los tipos sucesionales de especies pueden facilitar la entrada o el establecimiento de otras especies sirven para formular protocolos de ensamblaje para la introducción de especies en un sitio (Pyke y Archer 1991). Por lo tanto, se destaca la importancia de tener en cuenta los principios de sucesión ecológica para aumentar el éxito de la restauración de los ambientes disturbados (Walker et al. 2007).

En conclusión, como sugerencias de restauración ecológica, se sugiere la combinación de especies colonizadoras e intermedias ya que podría resultar en un proceso de restauración más rápido, aprovechando sus interacciones positivas y que ambas poseen relativamente altas tasas de reproducción, germinación y crecimiento. Dada la alta latencia y baja germinación de las especies tardías, resultando en un banco de semillas y una persistencia a largo plazo seriamente afectados por el ganado, las estrategias de conservación deberían enfocarse en estas especies, siempre que sea posible. Para su conservación *ex situ*, restauración y obtención de semillas para la producción de plantines se recomendaría que se colecten semillas de campos con cargas ganaderas bajas, de plantas de mayor tamaño y con mayor porcentaje de esfuerzo reproductivo. Por tanto, estos resultados aportaron información de gran utilidad para la toma de decisiones en estrategias de conservación, manejo sostenible y restauración de

ecosistemas áridos degradados. Algunas de las medidas que podrían mitigar la reducción del tamaño efectivo de la población son la inclusión de prácticas de manejo sustentable como la rotación del ganado, las prácticas de trashumancia y la aplicación de planes de la restauración ecológica a largo plazo (Pelliza et al. 2020). Nuevamente se resalta la importancia de tener en cuenta la forma de reproducción como también la duración y ocurrencia de los ciclos vitales de las especies a utilizar (i.e., establecimiento, desarrollo, reproducción y dispersión), para poder recuperar la diversidad biológica y genética. De todas formas no hay una receta única, y siempre hay que evaluar cuáles son las condiciones de degradación del sitio a restaurar para determinar qué medidas deben tomarse (Pelliza et al. 2021).



## Bibliografía

- Abalos, R. M. 2016. Plantas del Monte argentino: guía de campo. 2da edition. Ecoval editorial, Córdoba.
- Abel S, Abel zur Wiesch P, Davis BM, Waldor MK. 2015. Analysis of bottlenecks in experimental models of infection. *PLoS Pathog* 11:6, e1004823.
- Abraham, E., H. F. del Valle, F. Roig, L. Torres, J. O. Ares, F. Coronato, and R. Godagnone. 2009. Overview of the geography of the Monte Desert biome (Argentina). *Journal of Arid Environments* 73:144–153.
- Abrahamsson, S., J. Ahlinder, P. Waldmann, and M. R. García-Gil. 2013. Maternal heterozygosity and progeny fitness association in an inbred Scots pine population. *Genetics* 141:41–50.
- Ackerman, J. D. 2000. Abiotic pollen and pollination: Ecological, functional, and evolutionary perspectives. *Plant Systematics and Evolution* 222:167–185.
- Adeel, Z., U. Safriel, D. Niemeijer, and R. White. 2005. Ecosistemas y bienestar humano. Síntesis sobre desertificación. World Resources Institute, Washington, DC. Copyright.
- Adler, P., D. Raff, and W. Lauenroth. 2001. The effect of grazing on the spatial heterogeneity of vegetation. *Oecologia* 128:465–479.
- Agrawal, A. A. 2001. Transgenerational consequences of plant responses to herbivory: An adaptive maternal effect? *American Naturalist* 157:555–569.
- Agrawal, A. A. 2002. Herbivory and maternal effects: mechanisms and consequences of transgenerational induced plant resistance. *Ecology* 83:3408–3415.
- Agrawal, A. A., P. M. Gorski, and D. W. Tallamy. 1999. Polymorphism in plant defense against herbivory: Constitutive and induced resistance in *Cucumis sativus*. *Journal of Chemical Ecology* 25:2285–2304.
- Ågren, J. 1996. Population size, pollinator limitation, and seed set in the self-incompatible herb *Lythrum salicaria*. *Ecology* 77:1779–1790.

- Aguero, P. R. 2009. Evaluación de características estructurales y procesos fisiológicos determinantes de las posibilidades de uso de dos especies arbustivas del género *Prosopis* en el ecotono Monte-Patagonia. “Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. <http://digital.bl.fcen.uba.ar>.”
- Aguilar, R., M. Quesada, L. Ashworth, Y. Herrerias-Diego, and J. Lobo. 2008. Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: Susceptible signals in plant traits and methodological approaches. *Molecular Ecology* 17:5177–5188.
- Aguirrebengoa, M., M. García-Planas, C. Muller, and A. González-Megías. 2018. Transgenerational effects of ungulates and pre-dispersal seed predators on offspring success and resistance to herbivory. *PLoS ONE* 13:1–18.
- Agustine, D. J., and S. J. McNaughton. 1998. Ungulate effects on the functional species composition of plant communities: herbivore selectivity and plant tolerance. *Journal of Wildlife Management* 62:1165–1183.
- Akiyama, R., and J. Ågren. 2012. Magnitude and timing of leaf damage affect seed production in a natural population of *Arabidopsis thaliana* (*Brassicaceae*). *PLoS ONE* 7.
- Alados, C. L., P. Gotor, P. Ballester, D. Navas, J. M. Escos, T. Navarro, and B. Cabezudo. 2006. Association between competition and facilitation processes and vegetation spatial patterns in alpha steppes. *Biological Journal of the Linnean Society* 87:103–113.
- Albaladejo, R. G., C. Parejo-Farnés, E. Rubio-Pérez, S. Nora, and A. Aparicio. 2019. Linking DNA methylation with performance in a woody plant species. *Tree Genetics and Genomes* 15.
- Alvarez, J. A., and P. E. Villagra. 2009. *Prosopis flexuosa* DC. (*Fabaceae*, *Mimosoideae*). *Kurtziana* 35:49–63.
- Alves, F. M., M. I. Zucchi, A. M. G. Azevedo-tozzi, Â. L. B. Sartori, and A. P. Souza. 2014. Characterization of microsatellite markers developed from *Prosopis rubriflora* and *Prosopis ruscifolia* (*Leguminosae* - *Mimosoideae*), legume species that are used as models for genetic diversity studies in Chaquenan areas under anthropization in South America. *BMC Research notes* 7:1–6.

- Angeloni, F., N. J. Ouborg, and R. Leimu. 2011. Meta-analysis on the association of population size and life history with inbreeding depression in plants. *Biological Conservation* 144:35–43.
- Ares, J. O., M. B. Bertiller, and A. Bisigato. 2003. Estimates of dryland degradation in Argentina with Fourier signatures from low-altitude monochromatic images with high spatial resolution. *Landscape Ecology* 18:51–63.
- Armas, C., and F. I. Pugnaire. 2005. Plant interactions govern population dynamics in a semi-arid plant community. *Journal of Ecology* 93:978–989.
- Armbruster, Scott W. 1997. Exaptations link evolution of plant-herbivore and plant-pollinator interactions: a phylogenetic inquiry. *Ecology* 78:1661–1672.
- Aronson, J., D. Reninson, C. Ovalle, and A. Del Pozo. 2007. Restauración del capital natural: sin reservas no hay bienes ni servicios. *Ecosistemas* 16:15–24.
- Aschehoug, E. T., R. Brooker, D. Z. Atwater, J. L. Maron, and R. M. Callaway. 2016. The mechanisms and consequences of interspecific competition among plants. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 47:263–281.
- Auffret, A. G., J. Plue, and S. A. O. Cousins. 2015. The spatial and temporal components of functional connectivity in fragmented landscapes. *Ambio* 44:51–59.
- Bagchi, S., and M. E. Ritchie. 2010. Herbivore effects on above- and belowground plant production and soil nitrogen availability in the Trans-Himalayan shrub-steppes. *Oecologia* 164:1075–1082.
- Baied, C. A. 1989. Transhumance and land use in the northern Patagonian Andes. *Mountain Research & Development* 9:365–380.
- Bainbridge, D. A. 2007. Restoration approaches and planning. Pages 90–111 *A Guide for Desert and Dryland Restoration: New hope for Arid Lands*. Islandpress. Washington, USA.
- Balao, F., O. Paun, and C. Alonso. 2018. Uncovering the contribution of epigenetics to plant phenotypic variation in Mediterranean ecosystems. *Plant Biology* 20:38–49.
- Baldi, R., S. Albon, D. Elston, M. K. Barnes, B. E. Norton, M. Maeno, J. C. Malechek,

- J. Damuth, and C. M. Janis. 2008. Paddock size and stocking density affect spatial heterogeneity of grazing. *Biological Reviews* 61:733–758.
- Banks, S. C., G. J. Cary, A. L. Smith, I. D. Davies, D. A. Driscoll, A. M. Gill, D. B. Lindenmayer, and R. Peakall. 2013. How does ecological disturbance influence genetic diversity? *Trends in Ecology and Evolution* 28:670–679.
- Baraloto, C., P. M. Forget, and D. E. Goldberg. 2005. Seed mass, seedling size and neotropical tree seedling establishment. *Journal of Ecology* 93:1156–1166.
- Barbour, M. G. 1968. Germination requirements of the desert shrub *Larrea divaricata*. *Ecology* 49:915–923.
- Baskin, C. C., and J. M. Baskin. 1998. Seeds: ecology, biogeography, and, evolution of dormancy and germination. Elsevier, Ed. Primera edición. Academic Press.
- Baskin, C. C., and J. M. Baskin. 2003. When breaking seed dormancy is a problem. Try a move-along experiment. *Native Plants Journal* 4:17–21.
- Baskin, C. C., and J. M. Baskin. 2004a. Germinating seeds of wildflowers, an ecological perspective. *HortTechnology* 14:467–473.
- Baskin, C. C., and J. M. Baskin. 2014. Seeds: Ecology, biogeography, and, evolution of dormancy and germination. Elsevier, Ed. Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination. Segunda edición. Academic Press, Lexington, Kentucky, USA.
- Baskin, J. M., and C. C. Baskin. 2004b. A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research* 14:1–16.
- Bates, D., M. Mächler, B. M. Bolker, and S. C. Walker. 2014. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software* 67.
- Bates, D., M. Maechler, B. Bolker, S. Walker, R. H. Christensen Bojesen, H. Singmann, B. Dai, F. Scheipl, and G. Grothendieck. 2019. Package “lme4.”
- Bazzaz, F. A. 1979. The physiological ecology of plant succession. *Annual Review of Ecology and Systematics* 10:351–371.
- Bazzaz, F. A., and J. Grace. 1997. Plant resource allocation. (F. A. Bazzaz and J. Grace,

- Eds.) Physiological ecology series. Academic Press.
- Beider, A. 2012. Viverización de especies nativas de zonas áridas. *Experimentia* 2:70.
- Beider, A., N. Ciano, and R. Zerrizuela. 2013. Revegetación artificial de taludes de locaciones en corte en la cuenca del Golfo San Jorge. Páginas 213–224 in D. R. Perez, A. E. Rovere, and M. E. Rodríguez Araujo, editores. *Restauración Ecológica en la Diagonal Árida de la Argentina*. 1a edición. Vazquez Mazzini, Buenos Aires, Argentina.
- Bell, J. M., J. D. Karron, and R. J. Mitchell. 2005. Interspecific competition for pollination lowers seed production and outcrossing in *Mimulus ringens*. *Ecology* 86:762–771.
- Bentsink, L., and M. Koornneef. 2008. Seed dormancy and germination. *The Arabidopsis Book* 6:18.
- Bertness, M. D., and R. M. Callaway. 1994. Positive interactions in communities. *Trends in Ecology & Evolution* 9:191–193.
- Besega, C. F., C. L. Pometti, J. T. Miller, R. Watts, B. O. Saidman, J. C. Vilardi, and P. C. F. Abaceae. 2013. New microsatellite loci for *Prosopis alba* and *P. chilensis* (*Fabaceae*). *BioOne* 1:1–4.
- Besega, C., C. Pometti, C. Campos, B. O. Saidman, and J. C. Vilardi. 2017. Implications of mating system and pollen dispersal indices for management and conservation of the semi-arid species *Prosopis flexuosa* (*Leguminosae*). *Forest Ecology and Management* 400:218–227.
- Besega, C., B. O. Saidman, and J. C. Vilardi. 2005. Genetic relationships among American species of *Prosopis* (*Leguminosae*) based on enzyme markers. *Genetics and Molecular Biology* 28:277–286.
- Bewley, J. D. 1997. Seed germination and dormancy. *The Plant Cell* 9:1055–1 066.
- Bisigato, A. J., M. V. Campanella, and G. E. Pazos. 2013. Plant phenology as affected by land degradation in the arid Patagonian Monte, Argentina: a multivariate approach. *Journal of Arid Environments* 91:79–87.

- Boeri, P., M. C. Gazo, M. Failla, D. Barrio, D. Dalzotto, and S. Sharry. 2019. Optimum germinative conditions of a multipurpose shrub from Patagonia: *Prosopis alpataco* (Fabaceae). *Darwiniana* 7:199–207.
- Boeri, P., L. Piñuel, S. Sharry, and D. Barrio. 2017. Caracterización nutricional de la harina integral de algarroba (*Prosopis alpataco*) de la Norpatagonia Argentina. *Revista de la Facultad de Agronomía* 116:129–140.
- Böhlenius, H., and R. Övergaard. 2014. Effects of direct application of fertilizers and hydrogel on the establishment of poplar cuttings. *Forests* 5:2967–2979.
- Bommarco, R., L. Marini, and B. E. Vaissière. 2012. Insect pollination enhances seed yield, quality, and market value in oilseed rape. *Oecologia* 169:1025–1032.
- Bonner, F. T., B. F. McLemore, and J. P. Barnett. 1974. Presowing treatment of seed to speed germination. Pages 126–135 in C. Schopmeyer, editor. *Agriculture Handbook*. 450th edición. United States Forest Service.
- Bonser, S. P., and L. W. Aarssen. 1996. Meristem allocation: a new classification theory for adaptive strategies in herbaceous plants. *Oikos* 77:347.
- Bonser, S. P., and L. W. Aarssen. 2001. Allometry and plasticity of meristem allocation throughout development in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Ecology* 89:72–79.
- Bonser, S. P., and L. W. Aarssen. 2009. Interpreting reproductive allometry: individual strategies of allocation explain size-dependent reproduction in plant populations. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 11:31–40.
- Bonvissuto, G. L., and C. A. Busso. 2007. Germination of grasses and shrubs under various water stress and temperature conditions. *Phyton* 76:119–131.
- Borrelli, P., and G. Oliva. 2001. Efectos de los animales sobre los pastizales. Páginas 99–128 *Ganadería ovina sustentable en la Patagonia Austral*. INTA. Región Patagonia Sur.
- Bouzat, J. L. 2010. Conservation genetics of population bottlenecks: the role of chance, selection, and history. *Conservation Genetics* 11:463–478.
- Boyer, J. S. 1988. Cell enlargement and growth-induced water potentials. *Physiologia*

Plantarum 73:311–316.

- Breed, M. F., K. M. Ottewell, M. G. Gardner, M. H. K. Marklund, E. E. Dormontt, and A. J. Lowe. 2015. Mating patterns and pollinator mobility are critical traits in forest fragmentation genetics. *Heredity* 115:108–114.
- Brignone, N. F., S. S. Denham, and R. Pozner. 2016. Synopsis of the genus *Atriplex* (*Amaranthaceae*, *Chenopodioideae*) for South America. *Australian Systematic Botany* 29:324–357.
- Brooker, R. W., F. T. Maestre, R. M. Callaway, C. L. Lortie, L. A. Cavieres, G. Kunstler, and R. Michalet. 2008. Facilitation in plant communities: The past, the present, and the future. *Journal of Ecology* 96:18–34.
- Brown, R. F., and Mayer, D. G. 1988. Representing cumulative germination. 1. A critical analysis of single-value germination indices. *Annals of botany* 61:2, 117-125.
- Brown, V. K., A. C. Gange, I. M. Evans, and A. L. Storr. 1987. The effect of insect herbivory on the growth and reproduction of two annual *Vicia* species at different stages in plant succession. *Journal of Ecology* 75:1173–1189.
- Brown, V. K., S. Oikos, P. I. Proceedings, T. European, and V. K. Brown. 1985. Insect Herbivores and plant succession. *Oikos* 44:17–22.
- Bryant, E. H., McCommas, S. A., & Combs, L. M. 1986. The effect of an experimental bottleneck upon quantitative genetic variation in the housefly. *Genetics*, 114:4, 1191-1211.
- Bu, H., G. Du, X. Chen, X. Xu, K. Liu, and S. Wen. 2008. Community-wide germination strategies in an alpine meadow on the eastern Qinghai-Tibet plateau: Phylogenetic and life-history correlates. *Plant Ecology* 195:87–98.
- Burkart, A. 1976. A monograph of the genus *Prosopis* (*Leguminosae* subfam. *Mimosoideae*). *Journal of the Arnold Arboretum* 57:450–525.
- Busso, C. A., and O. A. Fernández. 2017. Arid and semi-arid rangelands: two thirds of Argentina. in M. K. Gaur and V. R. Squires, editores. *Climate variability impacts on land use and livelihoods in drylands*. Springer International Publishing.

- Butler, J. L., and D. D. Briske. 1988. Population structure and tiller demography of the bunchgrass *Schizachyrium scoparium* in response to herbivory. *Wiley* 51:306–312.
- Byrne, M., M. Hankinson, J. F. Sampson, and S. Stankowski. 2008. Microsatellite markers isolated from a polyploid saltbush, *Atriplex nummularia* Lindl. (*Chenopodiaceae*). *Molecular Ecology Resources* 8:1426–1428.
- Cabrera, A. 1953. Esquema fitogeográfico de la República Argentina. *Revista del Museo de La Plata, Botánica* 8:87–168.
- Cabrera, A. L. 1963. Flora de la Provincia de Buenos Aires, parte VI, Compuestas. INTA, Buenos Aires.
- Cabrera, A. L. 1966. Esquema fitogeográfico de la República Argentina. *Botánica* 3:87–168.
- Cabrera, A. L. 1971. Fitogeografía de la República Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* XIV: 1–50.
- Callaway, R. M., L. R. Walker, R. M. Callaway 'and, and L. R. Walker<sup>2</sup>. 1997. Competition and facilitation: a synthetic approach to interactions in plant communities. *Ecology Ecology* .
- Camina, J. L. 2011. Biología reproductiva de *Hyalis argentea* D. Don en Hook. & Arn. var. *latisquama* Cabrera. Universidad Nacional de Bahía Blanca.
- Camina, J. L., E. Tourn, A. C. Andrada, C. Pellegrini, and L. Ashworth. 2019. Spatial and temporal distribution of floral rewards within the capitula: The case of *Hyalis argentea* (*Asteraceae*). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 54:17–27.
- Camina, J., E. Tourn, A. Andrada, and C. Pellegrini. 2013. Germination traits of the native *Hyalis argentea* (*Asteraceae*). Pages 127–138 in C. A. Busso, editor. *From seed Germination to Young Plants. Ecology, Growth and Environmental Influences*. Nova Science Publishers, Inc., New York.
- Campos, C. M., V. E. Campos, A. Mongeaud, C. E. Borghi, C. De Los Ríos, and S. M. Giannoni. 2011. Relationships between *Prosopis flexuosa* (*Fabaceae*) and cattle in the Monte desert: Seeds, seedlings and saplings on cattle-use site classes. *Revista Chilena de Historia Natural* 84:289–299.



- Carballo, C., K. Chávez, A. García, B. García-Pozuelo, and E. M. Vicente. 2010. Lucha contra la desertificación y la pobreza. Fundación. Madrid.
- Cariaga, R. E., P. R. Agüero, D. A. Ravetta, and A. E. Vilela. 2005. Differences in production and mortality of reproductive structures in two *Prosopis* L. (*Mimosaceae*) shrub species from Patagonia, Argentina. *Journal of Arid Environments* 63:696–705.
- Carmona, C. P., F. M. Azcárate, and B. Peco. 2013. Does cattle dung cause differences between grazing increaser and decreaser germination response? *Acta Oecologica* 47:1–7.
- Carrillo-García, Á., J. L. León De La Luz, Y. Bashan, and G. J. Bethlenfalvay. 1999. Nurse plants, mycorrhizae, and plant establishment in a disturbed area of the Sonoran Desert. *Restoration Ecology* 7:321–335.
- Carson, H. L. 1968. The population flush and its genetic consequences. *Population biology and evolution*, 123-137.
- Carson, H. L. 1982. Speciation as a major reorganization of polygenic balances. *Progress in clinical and biological research*, 96, 411-433.
- Castilla, A. R., P. J. Garrote, M. Żywiec, G. Calvo, A. Suárez, E. Miguel, D. José, F. X. Picó, and J. M. Fedriani. 2019. Genetic rescue by distant trees mitigates qualitative pollen limitation imposed by fine-scale spatial genetic structure. *Molecular Ecology* 28:4363–4374.
- Castro, M. L., G. A. Zuleta, A. A. Pérez, M. E. Ciancio, P. Tchilinguirian, and C. A. Escartín. 2013. Rehabilitación de estepas arbustivas en locaciones petroleras del Monte Austral. Evaluación de la técnica de escarificado i: vegetación. Páginas 225–245 in D. R. Pérez, A. E. Rovere, and M. E. Rodríguez Araujo, editores. *Restauración Ecológica en la Diagonal Árida de la Argentina*. Vazquez Mazzini, Buenos Aires.
- Caswell, H., and J. E. Cohen. 1993. Local and regional regulation of species-area relations: a patch- occupancy model. *Species diversity in ecological communities*: 99–107.

- Catalano, S. A., J. C. Vilardi, D. Tosto, and B. O. Saidman. 2008. Molecular phylogeny and diversification history of *Prosopis* (*Fabaceae: Mimosoideae*). *Biological Journal of the Linnean Society* 93:621–640.
- Cenzano, A. M., C. M. Rostagno, and M. A. Luna. 2018. Mecanismos lipídicos de resistencias a la sequía de plantas nativas del Monte Patagónico. Páginas 326–331 in V. M. Paletto, M. Rostagno, G. Buono, C. Gonzalez, and N. Ciano, editores. *Restauración Ecológica en la Diagonal Árida de la Argentina*. Third edición. Puerto Madryn, Argentina.
- Cerda, N. V., M. Tadey, A. G. Farji-Brener, and M. C. Navarro. 2012. Effects of leaf-cutting ant refuse on native plant performance under two levels of grazing intensity in the Monte Desert of Argentina. *Applied Vegetation Science* 15:479–487.
- Charlesworth, D. 2003. Effects of inbreeding on the genetic diversity of populations. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London: Biological Sciences* 358:1051–1070.
- Charlesworth, D., and B. Charlesworth. 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual review of ecology and systematics* 18:237–268.
- Chen, J., T. Dong, B. Duan, H. Korpelainen, Ü. Niinemets, and C. Li. 2015. Sexual competition and N supply interactively affect the dimorphism and competitiveness of opposite sexes in *Populus cathayana*. *Plant, Cell and Environment* 38:1285–1298.
- Chen, T., M. Christensen, Z. Nan, and F. Hou. 2017. The effects of different intensities of long-term grazing on the direction and strength of plant–soil feedback in a semiarid grassland of Northwest China. *Plant and Soil* 413:303–317.
- Chiappa, E., R. Villaseñor, H. Toro, and R. Covarrubias. 1997. Táctica reproductiva de *Prosopis* (*Mimosaceae*) y asociaciones ecológicas de sus polinizadores, en el desierto del norte de Chile. *Multequina* 6:9–20.
- Chirino, E., A. Vilagrosa, and V. R. Vallejo. 2011. Using hydrogel and clay to improve the water status of seedlings for dryland restoration. *Plant and Soil* 344:99–110.

- Clark, D. B., and D. A. Clark. 1985. Seedling dynamics of a tropical tree: impacts of herbivory and meristem damage. *Ecology* 66:1884–1892.
- Clarke, L. J., Jardine, D. I., Byrne, M., Kelly K., Lowe, A. J. 2012. Significant population genetic structure detected for a new and highly restricted species of *Atriplex* (*Chenopodiaceae*) from Western Australia, and implications for conservation management. *Australian Journal of Botany* 60:32–41.
- Clements, F. E. 1916. *Plant succession: an analysis of the development of vegetation*. 242da edición. Carnegie Institution of Washington.
- Clements, F. E. 1928. *Plant succession and indicators*. H. W. Wilson Company, New.
- Clements, F. E. 1936. Nature and structure of the climax. *The Journal of Ecology* 24:252.
- Cohen, D. 1966. Optimizing reproduction in a randomly varying environment. *Journal of Theoretical Biology* 12:119–129.
- Cohen, D. 1967. Optimizing reproduction in a randomly varying environment when a correlation may exist between the conditions at the time a choice has to be made and the subsequent outcome. *Journal of Theoretical Biology* 16:1–14.
- Colomer, J. S., and C. B. Passera. 1990. The nutritional value of *Atriplex* spp. as fodder for arid regions. *Journal of Arid Environments* 19:289–295.
- Connell, J. H., and R. O. Slatyer. 1977. Mechanisms of succession in natural communities and their role in community stability and organization. *The American Naturalist* 111:1119–1144.
- Conrath, U., G. J. M. Beckers, C. J. G. Langenbach, and M. R. Jaskiewicz. 2015. Priming for enhanced defense. *Annual Review of Phytopathology* 53:97–119.
- Cornaglia, P. S., G. E. Schrauf, and V. A. Deregibus. 2009. Flooding and grazing promote germination and seedling establishment in the perennial grass *Paspalum dilatatum*. *Austral Ecology* 34:343–350.
- Cornuet, J. M., and G. Luikart. 1996. Power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 114:2001–2014.

- Correa, M. N. 1969. Flora Patagónica. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Buenos Aires.
- Correa, M. N. 1984. *Prosopis*. Páginas 258–267 in M. N. Correa, editor. Flora Patagónica. Colección Científica del INTA.
- Cortina, J., J. Bellot, A. Vilagrosa, R. N. Caturla, F. T. Maestre, E. Rubio, J. M. Ortíz de Urbina, and A. Bonet. 2004. Restauración en semiárido. Capítulo 12, en Avances en el estudio de la gestión del monte mediterráneo, en Vallejo, RV, y Alloza, JA (Eds.). Pag. 345-406.
- Coughenour, M. B. 1985. Graminoid responses to grazing by large herbivores: adaptations, exaptations, and interacting processes. *Annals - Missouri Botanical Garden* 72:852–863.
- Couvet, D. 2002. Deleterious effects of restricted gene flow in fragmented populations. *Conservación biológica: perspectivas desde América Latina* 16:369–376.
- Cox, P. A. 1991. Abiotic pollination: an evolutionary escape for animal-pollinated angiosperms. *Philosophical Transactions - Royal Society of London, B* 333:217–224.
- Crean, A. J., and D. J. Marshall. 2009. Coping with environmental uncertainty: Dynamic bet hedging as a maternal effect. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364:1087–1096.
- Dalmaso, A. D. 2010. Revegetación de áreas degradadas con especies nativas. *Boletín Sociedad Argentina de Botánica* 45:149–171.
- Dalmaso, A. D., and C. E. Martínez. 2013. Revegetación de áreas degradadas. Estudio de caso en plataformas petroleras en Malargüe, Mendoza. Pages 275–292 in D. R. Pérez, A. E. Rovere, and M. E. Rodríguez Araujo, editores. *Restauración Ecológica en la Diagonal Árida de la Argentina*. 1er edición. Vázquez Mazzini, Buenos Aires, Argentina.
- Dalmaso, A., E. Martínez Carretero, and O. Console. 2002. Revegetación de áreas degradadas. *Boletín de extensión científica IADIZA* 5.
- Deblauwe, V., N. Barbier, P. Coueron, O. Lejeune, and J. Bogaert. 2008. The global

- biogeography of semi-arid periodic vegetation patterns. *Global Ecology and Biogeography* 17:715–723.
- Deng, L., S. Sweeney, and Z. P. Shangguan. 2014. Grassland responses to grazing disturbance: Plant diversity changes with grazing intensity in a desert steppe. *Grass and Forage Science* 69:524–533.
- DeWoody, J. A., A. M. Harder, S. Mathur, and J. R. Willoughby. 2021. The long-standing significance of genetic diversity in conservation. *Molecular Ecology* 30:4147–4154.
- Do, C., R. S. Waples, D. Peel, G. M. Macbeth, B. J. Tillett, and J. R. Ovenden. 2014. NeEstimator v2: Re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size ( $N_e$ ) from genetic data. *Molecular Ecology Resources* 14:209–214.
- Dolan, R. W. 1984. The effect of seed size and maternal source on individual size in a population of *Ludwigia leptocarpa* (*Onagraceae*). *American Journal of Botany* 71:1302–1307.
- Dorcasberro, R. 2004. Ganado bovino criollo, una alternativa para Neuquén. *Sitio Argentino de Producción Animal* 145:20–55.
- Doyle, J. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13–15.
- Dyer, A. R. 2002. Burning and grazing management in a Californian grassland: Effect on bunchgrass seed viability. *Restoration Ecology* 10:107–111.
- Ebeling, A., A. M. Klein, W. W. Weisser, and T. Tschardtke. 2012. Multitrophic effects of experimental changes in plant diversity on cavity-nesting bees, wasps, and their parasitoids. *Oecologia* 169:453–465.
- Edwards, G. R., M. J. M. Hay, and J. L. Brock. 2005. Seedling recruitment dynamics of forage and weed species under continuous and rotational sheep grazing in a temperate New Zealand pasture. *Grass and Forage Science* 60:186–199.
- Ellner, S. 1986. Germination dimorphisms and parent-offspring conflict in seed germination. *Journal of Theoretical Biology* 123:173–185.

- Ellner, S., and A. Shmida. 1981. Why are adaptations for long-range seed dispersal rare in desert plants? *Oecologia* 51:133–144.
- Ellstrand, N. C., and D. R. Elam. 1993. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annual review of ecology and systematics* 24:217–242.
- Esler, K. J., and N. Phillips. 1994. Experimental effects of water stress on semi-arid Karoo seedlings: implications for field seedling survivorship. *Journal of Arid Environments* 26:325–337.
- Falk, D. A., E. E. Knapp, and E. O. Guerrant. 2001. An introduction to restoration genetics: 32.
- FAO. 2019. The state of the world's biodiversity for food and agriculture. *Environmental Policy and Law*, 49(2/3), 110-112.
- Farji-Brener, A. G., and L. Ghermandi. 2004. Seedling recruitment in a semi-arid Patagonian steppe: Facilitative effects of refuse dumps of leaf-cutting ants. *Journal of Vegetation Science* 15:823–830.
- Farji-Brener, A. G., and M. Tadey. 2009. Contributions of leaf-cutting ants to soil fertility: Causes and consequences. Páginas 81–91 in D. P. Lucero and J. E. Boggs, editors. *Soil Fertility*. Nova Science Publishers, Inc., USA.
- Fenner, M., and K. Thompson. 2005. *The ecology of seeds*. Segunda edición. Cambridge University Press.
- Fernández, M. E., M. A. Cony, and C. B. Passera. 2019. Germination temperatures and seed dormancy of two *Larrea* species (*Zygophyllaceae*) from the monte desert, Argentina. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias* 51:235–247.
- Ferrari, S., F. Cribari-neto, S. L. P. Ferrari, and F. Cribarineto. 2010. Beta regression for modelling rates and proportions beta regression for modelling rates and proportions. *Journal of Applied Statistics* 31:18.
- Ferraro, D. O., and M. Oesterheld. 2002. Effect of defoliation on grass growth. A quantitative review. *Oikos* 98:125–133.

- Ferreya, L. I., C. Bessega, J. C. Vilardi, and B. O. Saidman. 2007. Consistency of population genetics parameters estimated from isozyme and RAPDs dataset in species of genus *Prosopis*. *Genetica* 131:217–230.
- Fisher, R. A., and N. C. Turner. 1978. Plant productivity in the arid and semiarid zones. *Annual review of plant physiology* 29:277–317.
- Flores, J., O. Briones, A. Flores, S. Sánchez-Colón, A. E. De Villalobos, D. V. Peláez, R. M. Bóo, M. D. Mayor, O. R. Elia, S. M. H. Nasr, S. K. Savadkoohi, E. Ahmadi, J. Alexander, G. Sanchez, R. D'Aubeterre, J. Principal, J. García, K. Ramawat, P. E. Villagra, M. A. Cony, N. G. Mantován, B. E. Rossi, M. M. González Loyarte, R. Villalba, L. Marone, M. Perosa, F. Rojas, P. E. Villagra, C. M. C. M. Campos, R. A. Ojeda, R. E. Cariaga, P. R. Agüero, D. A. Ravetta, A. E. Vilela, C. A. Carranza, L. Pietrarelli, M. Ledesma, M. Balzarini, D. Prokopiuk, C. Chifa, J. A. V Garza, A. R. Estrada, M. L. Cardenas-Avila, S. M. Limon, M. G. Alvarez, V. V Lopez, M. A. Giantomasi, F. A. R. Juñent, P. E. Villagra, A. M. Srur, P. E. V. Juan A. Álvarez, C. M. C. M. Campos, S. Vélez, O. A. Martínez-Rodríguez, J. Rivera-Maya, and E. Santamaría-Cesar. 2013. Morphometric characteristics, viability and germination of mesquite and sweet acacia seeds in northeastern Mexico. *Journal of Arid Environments* 35:169–174.
- Forcone, A. 2018. Hierbas y arbustos frecuentes en el valle inferior del río Chubut. Una guía ilustrada para su reconocimiento. Universidad Nacional del Sur, Trelew, Chubut.
- Fowler, N. 1986. The role of competition in plant communities in arid and semiarid regions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 17:89–110.
- Fox, G. A. 2003. Assortative mating and plant phenology: evolutionary and practical consequences. *Evolutionary Ecology Research* 5:1–18.
- Frankham, R. Ballou, J.D. Briscoe, D. A. 2002. Introduction to conservation genetics. (K. H. McInness, Ed.). First edition. Cambridge University Press, Melbourne, Madrid.
- Frankham, R. Ballou, J.D. Briscoe, D. A. 2015. Introduction to conservation genetics. The effects of brief mindfulness intervention on acute pain experience: An

- examination of individual difference 1:1689–1699.
- Frankham, R. 1995. Conservation genetics. *Annual review of genetics* 29:305–327.
- Frankham, R. 2005. Genetics and extinction 126:131–140.
- Frayssinet, N., E. González, A. D´Ambrogio, S. Fernández, and I. Furlan. 2007. Estudio citológico, exo y endomorfológico en *Atriplex lampa* (moq.) D. Dieter. (*Chenopodiaceae*). *Polibotánica* 24:1–23.
- Fredericksen, T. S., M. J. Justiniano, B. Mostacedo, D. Kennard, and L. McDonald. 2000. Comparative regeneration ecology of three leguminous timber species in a Bolivian tropical dry forest. *New Forests* 20:45–64.
- De Frenne, P., H. Blondeel, J. Brunet, M. M. Caron, O. Chabrierie, M. Cougnon, S. A. O. Cousins, G. Decocq, M. Diekmann, B. J. Graae, M. E. Hanley, T. Heinken, M. Hermy, A. Kolb, J. Lenoir, J. Liira, A. Orczewska, A. Shevtsova, T. Vanneste, and K. Verheyen. 2018. Atmospheric nitrogen deposition on petals enhances seed quality of the forest herb *Anemone nemorosa*. *Plant Biology* 20:619–626.
- Fu, Y., D. Thompson, W. Willms, and M. Mackay. 2005. Long-term grazing effects on genetic variability in mountain rough fescue. *Rangeland Ecology and Management* 58:637–642.
- Galíndez, G., D. Ceccato, G. Malagrina, B. Pidal, G. Chilo, H. Bach, R. Fortunato, and P. Ortega-baes. 2016. Physical seed dormancy in native legume species of Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 51:73–78.
- Galloway, L. F. 2005. Maternal effects provide phenotypic adaptation to local environmental conditions. *New Phytologist* 166:93–100.
- Gandullo, R., J. Gastiazoro, and A. Bünzli. 1998. Dinamismo de la vegetación psamófila de Senillosa y Plottier provincia de Neuquén (Argentina). *Muldequina* 7:11–20.
- Gandullo, R., G. Siffredi, and V. Velasco. 2016. Guía para el reconocimiento de especies del norte neuquino. (INTA, Ed.). 1a ed. San Carlos de Bariloche, Río Negro.



- García-Fernández, A., P. Manzano, J. Seoane, F. M. Azcárate, J. M. Iriondo, and B. Peco. 2019. Herbivore corridors sustain genetic footprint in plant populations: a case for Spanish drove roads. *PeerJ* 7:1–27.
- Geber, M. A. 1990. The cost of meristem limitation in *Polygonum arenastrum*: Negative genetic correlations between fecundity and growth. *Evolution* 44:799.
- Glantz, M. H., and N. Orlovsky. 1983. Desertification: A review of the concept. *Desertification Control Bulletin* 9:15–22.
- Gleason, H. A. 1939. The individualistic concept of the plant association. *American Midland Naturalist* 21:92–110.
- Godínez-Alvarez, H., A. Valiente-Banuet, and A. Rojas-Martínez. 2002. The role of seed dispersers in the population dynamics of the columnar cactus *Neobuxbaumia tetetzo*. *Ecology* 83:2617–2629.
- González Galán, A., A. Corrêa Duarte, C. M. Patto de Abreu, and M. F. Piccolo Barcelos. 2008. Caracterización química de la harina del fruto de *Prosopis* spp. procedente de Bolivia y Brasil. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 58:309–315.
- González Medrano, F. 2012. Adaptaciones de las plantas a la aridez. Páginas 53–84 *Las zonas áridas y semiáridas de México y su vegetación*.
- González, F. del M., and D. R. Pérez. 2013. Reintroducción de especies nativas en sitios degradados del volcán Auca Mahuida. EDUCO. Neuquén.
- González, M. F. 2010. Reintroducción de especies nativas de dos grupos funcionales en sitios con degradación severa en La Payunia de Neuquén, Argentina. Universidad Nacional del Comahue.
- González-Varo, J. P., A. Aparicio, S. Lavergne, J. Arroyo, and R. G. Albaladejo. 2012. Contrasting heterozygosity-fitness correlations between populations of a self-compatible shrub in a fragmented landscape. *Genetica* 140:31–38.
- Goudet, J. 1994. FSTAT: a computer program to calculate F-Statistics. *Journal of Heredity* 86:485–486.

- Grant, S. Q. 2010. Microsatellite genetic diversity of Northern Red Oak (*Quercus rubra* L.) in Western North Carolina pre- and post- Chestnut blight and pre- and post-harvest. Western Carolina University, Faculty of the Graduate School In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science.
- Grativol, C., A. S. Hemerly, and P. C. G. Ferreira. 2012. Genetic and epigenetic regulation of stress responses in natural plant populations. *Biochimica et Biophysica Acta - Gene Regulatory Mechanisms* 1819:176–185.
- Graves, W. L., B. L. Kay, and W. A. Williams. 1975. Seed Treatment of Mojave Desert Shrubs. *Agronomy Journal* 67:773–777.
- Gremer, J. R., S. Kimball, and D. L. Venable. 2016. Within-and among-year germination in Sonoran Desert winter annuals: bet hedging and predictive germination in a variable environment. *Ecology Letters* 19:1209–1218.
- Gremer, J. R., and D. L. Venable. 2014. Bet hedging in desert winter annual plants: Optimal germination strategies in a variable environment. *Ecology Letters* 17:380–387.
- Grime, J. P. 1977. Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. *The American Naturalist* 111:1169–1194.
- Grubb, P. J. 1977. The maintenance of species-richness in plant communities: the importance of the regeneration niche. *Biological Reviews* 52:107–145.
- Gruneisen, P. H. 1996. La vegetación del Monte en el Yacimiento de Aguada de la Pichana. Total Austral, Buenos Aires.
- Guevara, J. C., M. B. Bertiller, O. R. Estevez, E. G. Grünwaldt, and L. I. Allegretti. 2006. Pastizales y producción animal en zonas áridas de Argentina. *Sécheresse* 17:257–264.
- Guichoux, E., L. Lagache, S. Wagner, P. Chaumeil, P. Lager, O. Lepais, C. Lepoittevin, T. Malausa, E. Revardel, F. Salin, and R. J. Petit. 2011. Current trends in microsatellite genotyping. *Molecular Ecology Resources* 11:591–611.
- Gutterman, Y. 1994. Strategies of seed dispersal and germination in plants inhabiting

- deserts. *The Botanical Review* 60:373–425.
- Gutterman, Y. 2002. Survival strategies of annual desert plants. Page 348 in Cloudsley-Thompson, editor. *Adaptations of Desert Organisms*. Second. Springer Science & Business Media, Heidelberg, Germany.
- Hamrick, J. L., and M. J. W. Godt. 1996. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. *Philosophical Transactions of The Royal Society Biological Sciences* 351:1291–1298.
- Hamrick, J. L., and J. D. Nason. 1996. Consequences of dispersal in plants. Páginas 203–236 in O. E. Rhodes, R. K. Chesser, and M. H. Smith, editores. *Population dynamics in ecological space and time*. The University of Chicago Press.
- Hanke, W., J. Bohner, N. Dreber, N. Jurgens, U. Schmiedel, D. Wesuls, and J. Dengler. 2014. The impact of livestock grazing on plant diversity: An analysis across dryland ecosystems and scales in southern Africa. *Ecological Applications* 5:1188–1203.
- Hao, Y., and Z. He. 2019. Effects of grazing patterns on grassland biomass and soil environments in China: A meta-analysis. *PLoS ONE* 14:1–15.
- Harris, J. A., R. J. Hobbs, E. Higgs, and J. Aronson. 2006. Ecological restoration and global climate change. *Restoration Ecology* 14:170–176.
- Harris, P. J. C. 2003. Vegetative propagation of *Prosopis*. *Tissue Culture in Forestry* 3:5–6.
- Hatano, K., and T. Kano. 1952. A brief report on the after-ripening of the seeds of *Ginkgo biloba*. *J. Jap. Forest. Soc* 34:369–370.
- Hedrick, P. W., and S. T. Kalinowski. 2000. Inbreeding depression in conservation biology. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31:139–162.
- Heinken, T., and E. Weber. 2013. Consequences of habitat fragmentation for plant species: Do we know enough? *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 15:205–216.
- Hendry, A. P., D. J. Schoen, M. E. Wolak, and J. M. Reid. 2018. The contemporary

- evolution of fitness. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 49:457–476.
- Herman, J. J., and S. E. Sultan. 2011. Adaptive transgenerational plasticity in plants: case studies, mechanisms, and implications for natural populations. *Frontiers in plant science* 2:1–10.
- Hernán, G., I. Castejón, J. Terrados, and F. Tomas. 2019. Herbivory and resource availability shift plant defense and herbivore feeding choice in a seagrass system. *Oecologia* 189:719–732.
- Hernández, J. A., and D. R. Pérez. 2021. Tratamientos germinativos para restauración ecológica en gran escala en tierras secas: avances en *Larrea cuneifolia* Cav. *Semiárida Revista de la Facultad de Agronomía* 31:45–54.
- Hernandez, J. A., D. R. Pérez, and C. A. Busso. 2020. Germination of *Larrea divaricata* Cav, an important shrub species to restore desertified arid ecosystems. *Journal of Arid Environments* 179:104175.
- Herrera, C. M. 2000. Flower-to-seedling consequences of different pollination regimes in an insect-pollinated shrub. *Ecology* 81:15–29.
- Herrera, C. M., and P. Bazaga. 2011. Untangling individual variation in natural populations: Ecological, genetic and epigenetic correlates of long-term inequality in herbivory. *Molecular Ecology* 20:1675–1688.
- Herrera, C. M., and P. Bazaga. 2016. Genetic and epigenetic divergence between disturbed and undisturbed subpopulations of a Mediterranean shrub: A 20-year field experiment. *Ecology and Evolution* 6:3832–3847.
- Hobbs, R. J. 2001. Synergisms among habitat fragmentation, livestock grazing, and biotic invasions in southwestern Australia. *Conservation Biology* 15:1522–1528.
- Hobley, E., N. Garcia-Franco, R. Hübner, and M. Wiesmeier. 2018. Reviewing our options: Managing water-limited soils for conservation and restoration. *Land Degradation and Development* 29:1041–1053.
- Hoffmann, A. A., and P. A. Parsons. 1991. *Evolutionary Genetics and Environmental Stress*. Cambridge University Press (CUP).

- Holeski, L. M., G. Jander, and A. A. Agrawal. 2012. Transgenerational defense induction and epigenetic inheritance in plants. *Trends in Ecology and Evolution* 27:618–626.
- Honek, A., Z. Martinkova, P. Saska, and S. Pekar. 2007. Size and taxonomic constraints determine the seed preferences of *Carabidae* (Coleoptera). *Basic and Applied Ecology* 8:343–353.
- Hothorn, T., F. Bretz, P. Westfall, and R. Heiberger. 2007. The multcomp Package.
- Hothorn, T., F. Bretz, P. Westfall, R. M. Heiberger, A. Schuetzenmeister, and S. Scheibe. 2020. Package “multcomp”.
- Labouriau, L. G. 1983. A germinação das sementes. *Série de Biologia. Monografia*, 24.
- Le Houérou, H. N. . 1996. Climate change, drought and desertification. *Journal of Arid Environments* 34:133–185.
- Lynch, M. 1988. Design and analysis of experiments on random drift and inbreeding depression. *Genetics*, 120:3, 791-807.
- Hoyle, G. L., K. J. Steadman, R. B. Good, E. J. McIntosh, L. M. E. Galea, and A. B. Nicotra. 2015. Seed germination strategies: An evolutionary trajectory independent of vegetative functional traits. *Frontiers in Plant Science* 6:1–13.
- Huang, Z., S. Liu, K. J. Bradford, T. E. Huxman, and D. L. Venable. 2016. The contribution of germination functional traits to population dynamics of a desert plant community. *Ecology* 97:250–261.
- Huston, M. A., and D., DeAngelis. 1994. Competition and coexistence: the effects of resource transport and supply rates. *The American Naturalist* 144:954–977.
- INTA. 2011. Proyecto de prevención y lucha contra la desertificación para el desarrollo sustentable de la Patagonia, PRODESAR.
- Jankju, M. 2013. Role of nurse shrubs in restoration of an arid rangeland: Effects of microclimate on grass establishment. *Journal of Arid Environments* 89:103–109.
- Janzen, D. H. 1971. Seed predation by animals. *Annual Review of Ecology and Systematics* 2:465–492.

- Jiang, C., R. Nath, L. Labzovskii, and D. Wang. 2018. Integrating ecosystem services into effectiveness assessment of ecological restoration program in northern China's arid areas: Insights from the Beijing-Tianjin sandstorm source region. *Land Use Policy* 75:201–214.
- John, A., S. Weisberg, B. Price, D. Adler, D. Bates, G. Baud-bovy, B. Bolker, S. Ellison, S. Graves, R. Heiberger, P. Krivitsky, R. Laboissiere, M. Maechler, G. Monette, D. Murdoch, D. Ogle, B. Ripley, W. Venables, S. Walker, D. Winsemius, and A. Zeileis. 2021. Package "car."
- Johnson, N. D., B. Liu, and B. L. Bentley. 1987. The effects of nitrogen fixation, soil nitrate, and defoliation on the growth, alkaloids, and nitrogen levels of *Lupinus succulentus* (*Fabaceae*). *Oecologia* 74:425–431.
- Kamczyc-Pers, E., E. Maderek, and J. Kamczyc. 2022. Seed Quantity or Quality? Reproductive responses of females of two dioecious woody species to long-term fertilization. *International Journal of Molecular Science* 23:3187.
- Kargar, M., R. Suresh, M. Legrand, P. Jutras, O. G. Clark, and S. O. Prasher. 2017. Reduction in water stress for tree saplings using hydrogels in soil. *Journal of Geoscience and Environment Protection* 5:27–39.
- Kazakou, E., D. Vile, B. Shipley, C. Gallet, and E. Garnier. 2006. Co-variations in litter decomposition, leaf traits and plant growth in species from a Mediterranean old-field succession. *Functional Ecology* 20:21–30.
- Keever, C. 1950. Causes of succession on old fields of the piedmont, North Carolina. *Ecological Monographs* 20:229–250.
- Kellenberger, R. T., G. A. Desurmont, P. M. Schlüter, and F. P. Schiestl. 2018. Trans-generational inheritance of herbivory-induced phenotypic changes in *Brassica rapa*. *Scientific Reports* 8:1–9.
- Keller, L. F., and D. M. Waller. 2002. Inbreeding effects in wild populations. *Trends in Ecology and Evolution* 17:230–241.
- Kerley, G. I. H., F. Tiver, and W. G. Whitford. 1993. Herbivory of clonal populations: cattle browsing affects reproduction and population structure of *Yucca elata*.

Oecologia 93:12–17.

- Kimball, S., A. L. Angert, T. E. Huxman, and D. Lawrence Venable. 2011. Differences in the timing of germination and reproduction relate to growth physiology and population dynamics of Sonoran desert winter annuals. *American Journal of Botany* 98:1773–1781.
- King, J. N., and B. P. Dancik. 1983. Inheritance and linkage of isozymes in white spruce (*Picea glauca*). *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 25:430–436.
- Kitchen, A. 2018. Genetic bottleneck. Pages 1–2 *The International encyclopedia of biological anthropology*.
- Kolb, A. 2008. Habitat fragmentation reduces plant fitness by disturbing pollination and modifying response to herbivory. *Biological Conservation* 141:2540–2549.
- Kolb, A., J. Ehrlén, and O. Eriksson. 2007. Ecological and evolutionary consequences of spatial and temporal variation in pre-dispersal seed predation. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 9:79–100.
- Kos, M., and P. Poschlod. 2010. Why wait? Trait and habitat correlates of variation in germination speed among *Kalahari* annuals. *Oecologia* 162:549–559.
- Kozlowski, T. T., and C. R. Gunn. 1972. Importance and characteristics of seeds. Pages 1–20 *Seed Biology: Importance, Development, and Germination*.
- Labouche, A. M., S. A. Richards, and J. R. Pannell. 2017. Effects of pollination intensity on offspring number and quality in a wind-pollinated herb. *Journal of Ecology* 105:197–208.
- Lande, R. 1994. Risk of population extinction from fixation of new deleterious mutations. *Evolution* 48:1460–1469.
- Lanfear, R., H. Kokko, and A. Eyre-Walker. 2014. Population size and the rate of evolution. *Trends in Ecology and Evolution* 29:33–41.
- Layman, N. C., and J. W. Busch. 2018. Bottlenecks and inbreeding depression in autotetraploids. *Evolution* 72:2025–2037.
- Lázaro, A., T. Tscheulin, J. Devalez, G. Nakas, and T. Petanidou. 2016. Effects of

- grazing intensity on pollinator abundance and diversity, and on pollination services. *Ecological Entomology* 41:400–412.
- Lázaro-Lobo, A., M. Herrera, J. A. Campos, L. Caño, E. Goñi, and G. N. Ervin. 2020. Influence of local adaptations, transgenerational effects and changes in offspring's saline environment on *Baccharis halimifolia* L. under different salinity and light levels. *Environmental and Experimental Botany* 177.
- Lee, T. D., and F. A. Bazzaz. 1982. Regulation of fruit and seed production in an annual legume, *Cassia fasciculata*. *Ecology* 63:1363–1373.
- Legendre, P., and L. Legendre. 1998. *Numerical Ecology*. (Developments in Environmental Modelling, 20). Second edition.
- Lehtilä, K., and S. Y. Strauss. 1997. Leaf damage by herbivores affects attractiveness to pollinators in wild radish, *Raphanus raphanistrum*. *Oecologia* 111:396–403.
- Leimu, R., P. Mutikainen, J. Koricheva, and M. Fischer. 2006. How general are positive relationships between plant population size, fitness and genetic variation? *Journal of Ecology* 94:942–952.
- Leon, R. J. C., D. Bran, M. Collantes, J. M. Paruelo, and A. Soriano. 1998. Grandes unidades de vegetación de la Patagonia extra andina. *Ecología Austral* 8:125–144.
- Leroy, G., E. L. Carroll, M. W. Bruford, J. A. DeWoody, A. Strand, L. Waits, and J. Wang. 2018. Next-generation metrics for monitoring genetic erosion within populations of conservation concern. *Evolutionary Applications* 11:1066–1083.
- Li, W., F. Xu, S. Zheng, F. Taube, and Y. Bai. 2017. Patterns and thresholds of grazing-induced changes in community structure and ecosystem functioning: species-level responses and the critical role of species traits. *Journal of Applied Ecology* 54:963–975.
- Lira-Medeiros, C. F., C. Parisod, R. A. Fernandes, C. S. Mata, M. A. Cardoso, and P. C. G. Ferreira. 2010. Epigenetic variation in mangrove plants occurring in contrasting natural environment. *PLoS ONE* 5:1–8.
- Liu, H., D. Zhang, X. Yang, Z. Huang, S. Duan, and X. Wang. 2014. Seed dispersal and germination traits of 70 plant species inhabiting the Gurbantunggut Desert in



northwest China. *Scientific World Journal* 1:13.

- Liu, J., C. Feng, D. Wang, L. Wang, B. J. Wilsey, and Z. Zhong. 2015. Impacts of grazing by different large herbivores in grassland depend on plant species diversity. *Journal of Applied Ecology* 52:1053–1062.
- Liu, K., T. Liang, W. Qiang, G. Du, J. M. Baskin, C. C. Baskin, H. Bu, H. Yang, and S. Xiao. 2020. Changes in seed germination strategy along the successional gradient from abandoned cropland to climax grassland in a subalpine meadow and some implications for rangeland restoration. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 289:106746.
- Lloyd, D. G. 1980. Sexual strategies in plants: I. An hypothesis of serial adjustment of maternal investment during one reproductive session. *New Phytologist* 86:69–79.
- Lloyd, M. W., H. R. Tumas, and M. C. Neel. 2018. Limited pollen dispersal, small genetic neighborhoods, and biparental inbreeding in *Vallisneria americana*. *American Journal of Botany* 105:227–240.
- Lowe, A. J., D. Boshier, M. Ward, C. F. E. Bacles, and C. Navarro. 2005. Genetic resource impacts of habitat loss and degradation; reconciling empirical evidence and predicted theory for Neotropical trees. *Heredity* 95:255–273.
- Lucero, M. E., D. R. Dreesen, and D. M. VanLeeuwen. 2010. Using hydrogel filled, embedded tubes to sustain grass transplants for arid land restoration. *Journal of Arid Environments* 74:987–990.
- Ludwig, J. A., B. P. Wilcox, D. D. Breshears, D. J. Tongway, and A. C. Imeson. 2005. Vegetation patches and runoff–erosion as interacting ecohydrological processes in semiarid landscapes. *Ecology* 86:288–297.
- Luikart, G., F. W. Allendorf, J. M. Cornuet, and W. B. Sherwin. 1998. Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottlenecks. *The Journal of Heredity* 89:238–247.
- Luikart, G., and J. M. Cornuet. 1998. Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. *Conservation Biology* 12:228–237.

- Lynch, M., J. Conery, and R. Burger. 1995. Mutation accumulation and the extinction of small populations. *The American Naturalist* 146:489–518.
- Maestre, F. T., S. Bautista, J. Cortina, and J. Bellot. 2001. Potential for using facilitation by grasses to establish shrubs on a semiarid degraded steppe. *Ecological Applications* 11:1641–1655.
- Maestre, F. T., R. M. Callaway, F. Valladares, and C. J. Lortie. 2009. Refining the stress-gradient hypothesis for competition and facilitation in plant communities. *Journal of Ecology* 97:199–205.
- Maestre, F. T., D. J. Eldridge, S. Soliveres, S. Kéfi, M. Delgado-Baquerizo, M. A. Bowker, P. García-Palacios, J. Gaitán, A. Gallardo, R. Lázaro, and M. Berdugo. 2016. Structure and Functioning of Dryland Ecosystems in a Changing World. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 47:215–237.
- Mantovan, N., and R. Candia. 1995. Carácter germinativo de semillas de *Atriplex lampa* (moq) con distinto tiempo de almacenaje en condiciones no controladas. *Multequina* 4:59–64.
- Marquis, R. J. 1984. Leaf herbivores decrease fitness of a tropical plant. *Science* 226:537–539.
- Marshall, D. L., and N. C. Ellstrand. 1988. Effective mate choice in wild radish: evidence for selective seed abortion and its mechanism. *American Naturalist* 131:739–756.
- Masini, A. C. A. 2011. Germinación de especies nativas del norte neuquino: Provincias fitogeográficas del Monte y Patagónica (Distrito de la Payunia), e implicancias para la rehabilitación de zonas áridas degradadas. Universidad Nacional del Sur.
- Masini, A. C. A., A. E. Rovere, and D. R. Pérez. 2012. Requerimientos pregerminativos de dos especies leñosas: *Anarthrophyllum capitatum* Sorarú y *Anarthrophyllum elegans* (Gillies ex Hook. & Arn.) F. Philippi. *Quebracho* 20:85–96.
- Masini, A., A. Rovere, and G. Pirk. 2016. Germination of *Gutierrezia solbrigii* and *Senecio subulatus*, endemic *Asteraceae* from Argentina. *Phyton* 85:314–323.
- Mathiasen, P., A. E. Rovere, and A. C. Premoli. 2007. Genetic structure and early

- effects of inbreeding in fragmented temperate forests of a self-incompatible tree, *Embothrium coccineum*. *Conservation Biology* 21:232–240.
- Mayer, A. C., B. L. Estermann, V. Stockli, and M. Kreuzer. 2005. Experimental determination of the effects of cattle stocking density and grazing period on forest regeneration on a subalpine wood pasture. *Animal Research* 54:153–171.
- Mazzoni, E., and M. Vázquez. 2010. Desertificación en la Patagonia. *Developments in Earth surface processes*. 13er edición.
- Mazzuca, M., and V. T. Balzaretto. 2003. Fatty acids, sterols and other steroids from seeds of Patagonian *Prosopis* species. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83:1072–1075.
- McManus, M. T., and B. Veit. 2001. *Meristematic Tissues in Plant Growth and Development*. (M. T. McManus and B. Veit, Eds.). Sheffield Academic Press, New Zealand.
- McNaughton, S. J. 1983. Compensatory plant growth as a response to herbivory. *Oikos* 40:329.
- Meadors, S. R. 2021. *Hydrogel water retention amendments and nutrient additions vary in ecological restoration efficacy across soil type and native plant species*. New México State University.
- Mijangos, J. L., C. Pacioni, P. B. S. Spencer, and M. D. Craig. 2015. Contribution of genetics to ecological restoration. *Molecular Ecology* 24:22–37.
- Mitton, J. B., Y. B. Linhart, K. B. Sturgeon, and J. L. Hamrick. 1979. Allozyme polymorphisms detected in mature needle tissue of ponderosa pine. *Journal of Heredity* 70:86–89.
- Moles, A. T., D. D. Ackerly, J. C. Tweddle, J. B. Dickie, R. Smith, M. R. Leishman, M. M. Mayfield, A. Pitman, J. T. Wood, and M. Westoby. 2007. Global patterns in seed size. *Global Ecology and Biogeography* 16:109–116.
- Moles, A. T., D. I. Warton, and M. Westoby. 2003. Do small-seeded species have higher survival through seed predation than large-seeded species? *Ecology* 84:3148–3161.

- Moncada, X., D. Plaza, A. Stoll, C. Payacan, D. Seelenfreund, E. Martínez, A. Bertin, and F. A. Squeo. 2019. Genetic diversity and structure of the vulnerable species *Prosopis chilensis* (Molina) Stuntz in the Coquimbo Region, Chile. *Gayana Botánica* 76:91–104.
- Mothershead, K., and R. J. Marquis. 2000. Fitness impacts of herbivory through indirect effects on plant-pollinator interactions in *Oenothera macrocarpa*. *Ecology* 81:30–40.
- Mottura, M. 2006. Development of microsatellites in *Prosopis* spp. and their application to study the reproduction system:206.
- Mulder, C. P. H. 1999. Vertebrate herbivores and plants in the Arctic and subarctic: effects on individuals, populations, communities and ecosystems. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 2:29–55.
- Naylor, R. E. L. 1981. An evaluation of various germination indices for predicting differences in seed vigour in *Italian ryegrass*. *Seed Science & Technology* 9:593–600.
- Naylor, R. E. L. 1993. The effect of parent plant nutrition on seed size, viability and vigour and on germination of wheat and triticale at different temperatures. *Annals of Applied Biology* 123:379–390.
- Nguyen, C. D., J. Chen, D. Clark, H. Perez, and H. A. Huo. 2021. Effects of maternal environment on seed germination and seedling vigor of petunia × hybrid a under different abiotic stresses. *Plants* 10:1–13.
- Nosrati, H., M. H. Feizi, A. Razban-Haghighi, and S. Sayed-Tarrah. 2015. Impact of life history on genetic variation in *Trifolium* (*Fabaceae*) estimated by ISSR. *Environmental and Experimental Biology* 13:83–88.
- Noy-Meir, I. 1973. Desert ecosystems: environment and producers. *Annual review of ecology and systematics* 4:25–51.
- Noy-Meir, I., and D. D. Briske. 1996. Fitness components of grazing-induced population reduction in a dominant annual, *Triticum diocoides* (wild wheat). *Journal of Ecology* 84:439–448.

- Noy-Meir, M. 2016. Desert Ecosystems: Environment and Producers. *Annual Review of Ecology and Systematics* 4:25–51.
- Nybohm, H., and I. V. Bartish. 2000. Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 3:93–114.
- Oosterheld, M., M. R. Aguiar, and J. M. Paruelo. 1998. Ecosistemas patagónicos. *Ecologia Austral* 8:75–84.
- Olea, P. P., and P. Mateo-Tomás. 2009. The role of traditional farming practices in ecosystem conservation: The case of transhumance and vultures. *Biological Conservation* 142:1844–1853.
- Oloff, H., D. M. Pegtel, J. M. Van Groenendael, and J. P. Bakker. 1994. Germination strategies during grassland succession. *The Journal of Ecology* 82:69.
- Oostermeijer, J. G. B., M. W. van Eijck, and J. C. M. den Nijs. 1994. Offspring fitness in relation to population size and genetic variation in the rare perennial plant species *Gentiana pneumonanthe* (*Gentianaceae*). *Oecologia* 97:289–296.
- Oostermeijer, J. G. B., S. H. Luijten, and J. C. M. den Nijs. 2003. Integrating demographic and genetic approaches in plant conservation. *Biological Conservation* 113:389–398.
- Orikiriza, L. J. B., H. Agaba, G. Eilu, J. D. Kabasa, M. Worbes, and A. Hüttermann. 2013. Effects of Hydrogels on Tree Seedling Performance in Temperate Soils before and after Water Stress. *Journal of Environmental Protection* 04:713–721.
- Páez, S. A., and D. E. Marco. 2000. Seedling habitat structure in dry Chaco forest (Argentina). *Journal of Arid Environments* 46:57–68.
- Palacio, L., M. C. Baeza, J. J. Cantero, R. Cusidó, and M. E. Goleniowski. 2008. In vitro propagation of “Jarilla” (*Larrea divaricata* Cav.) and Secondary Metabolite Production. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 31:2321–2325.
- Paruelo, J. M., and M. R. Aguiar. 2003. Impacto humano sobre los ecosistemas: El caso de la desertificación. *Ciencia Hoy* 13:48–59.

- Paruelo, J. M., A. Beltran, E. Jobbagy, O. E. Sala, and R. A. Golluscio. 1998. The climate of Patagonia: General patterns and controls on biotic processes. *Ecologia Austral* 8:85–101.
- Pasiecznik, N. M., P. Felker, P. J. C. Harris, L. N. Harsh, G. Cruz, J. C. Tewari, K. Cadoret, and L. J. Maldonado. 2001. The *Prosopis juliflora* - *Prosopis pallida* Complex: a monograph. (HDRA, Ed.). Coventry, UK.
- Passera, C., B. Cavagnaro, and C. Sartor. 2010. Plantas C4, C4 y CAM nativas del monte árido argentino. Adaptaciones y potencial biológico. Páginas 165–176 in J. L. G. Rebollar and A. C. Sancho, editores. C4 y CAM. Características generales y uso en programas de desarrollo de tierras áridas y semiáridas.
- Pastor, V., E. Luna, B. Mauch-Mani, J. Ton, and V. Flors. 2013. Primed plants do not forget. *Environmental and Experimental Botany* 94:46–56.
- Peakall, R., and P. E. Smouse. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research: 288–295.
- Peakall, R., and P. E. Smouse. 2012. GenALEX 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics* 28:2537–2539.
- Pearson, T. R. H., D. F. R. P. Burslem, C. E. Mullins, and J. W. Dalling. 2002. Germination ecology of neotropical pioneers: Interacting effects of environmental conditions and seed size. *Ecology* 83:2798–2807.
- Peart, M. H. 1984. The effects of morphology, orientation and position of grass diaspores on seedling survival. *The Journal of Ecology* 72:437.
- Peel, D., S. L. Peel, and J. R. Ovenden. 2003. NeEstimator: Software for Estimating Effective Population Size. Molecular Fisheries Laboratory, Department of Primary Industries.
- Pelliza, Y. I., A. Fernandez, H. Saiz, and M. Tadey. 2021. Together we stand, divided we fall: effects of livestock grazing on vegetation patches in a desert community. *Journal of Vegetation Science* 32:e13015.
- Pelliza, Y. I., C. P. Souto, and M. Tadey. 2020. Unravelling effects of grazing intensity

- on genetic diversity and fitness of desert vegetation. *Perspectives in Ecology and Conservation* 18:178–189.
- Pelliza, Y. I., C. P. Souto, and M. Tadey. 2021b. Desafíos de la restauración ecológica en zonas árida. *Boletín de Restauración Ecológica de Argentina* 5:24–27.
- Penfield, S. 2017. Seed dormancy and germination. *Current Biology* 27:R874–R878.
- Pérez, D. R., A. E. Rovere, and F. M. Farinaccio. 2009. Rehabilitación en el desierto. (Total, Ed.). Vazquez Mazzini Neuquén.
- Peterson, S., K. Wilson, and J. M. Pemberton. 1998. Major histocompatibility complex variation associated with juvenile survival and parasite resistance in a large unmanaged ungulate population (*Ovis aries* L.). *Proc. Nat. Acad. Sci* 95:3714–3719.
- Petratis, P. S., R. E. Latham, and R. A. Niesenbaum. 1989. The maintenance of species diversity by disturbance. *The Quarterly Review of Biology* 64:393–418.
- Philippi, T. 1993. Bet-hedging germination of desert annuals: beyond the first year. *American Naturalist* 142:474–487.
- van der Pijl, L. 1972. Principles of Dispersal in Higher Plants. (L. van der Pijl, Ed.) *The Bryologist*. Segunda edición. Springer Berlin Heidelberg, New York.
- Pikaard, C. S., and O. M. Scheid. 2014. Epigenetic regulation in plants. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 6.
- Pinheiro, J., D. Bates, S. DebRoy, D. Sarkar, EISPAC, S. Heisterkamp, B. VanWilligen, and J. Ranke. 2021. Package “nlme.”
- Piñeiro, J., F. T. Maestre, L. Bartolomé, and A. Valdecantos. 2013. Ecotechnology as a tool for restoring degraded drylands: A meta-analysis of field experiments. *Ecological Engineering* 61:133–144.
- Piry, S., G. Luikart, and J. M. Cornuet. 1999. BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reduction in the effective population size using allele frequency data. *Journal of Heredity* 90:502–503.
- Pol, R. G., M. C. Sagario, and L. Marone. 2014. Grazing impact on desert plants and

- soil seed banks: Implications for seed-eating animals. *Acta Oecologica* 55:58–65.
- Poonam, S. Ahmad, N. Kumar, P. Chakraborty, and R. Kothari. 2017. Plant growth under stress conditions: Boon or bane. Pages 291–313 in V. Shukla, S. Kumar, and N. Kumar, editors. *Plant Adaptation Strategies in Changing Environment*. Springer, Singapore.
- Pozo, M. I., B. Lievens, and H. Jacquemyn. 2015. Impact of microorganisms on nectar chemistry, pollinator attraction and plant fitness. Pages 1–45 *Nectar: Production, Chemical Composition and Benefits to Animals and Plants*. Nova Science Publishers Inc, New York.
- Právělie, R., C. Patriche, and G. Bandoc. 2017. Quantification of land degradation sensitivity areas in Southern and Central Southeastern Europe. New results based on improving DISMED methodology with new climate data. *Catena* 158:309–320.
- Premoli, A. C., R. F. Del Castillo, A. C. Newton, S. Bekessy, M. Caldiz, C. Martinez-Araneda, P. Mathiasen, M. C. Nuñez-Avila, P. Quiroga, C. Souto, and S. Trujillo-Argueta. 2007. Patterns of Genetic Variation in Tree Species and their Implications for Conservation: 120–157.
- Pugnaire, F. I. ., P. Haase, and J. Puigdefábregas. 1996. Facilitation between Higher Plant Species in a Semiarid Environment. *Ecology* 77:1420–1426.
- Pugnaire, F. I., and M. T. Luque. 2001. Changes in plant interactions along a gradient of environmental stress. *Oikos* 93:42–49.
- Pyke, D. A., and S. Archer. 1991. Plant-plant interactions affecting plant establishment and persistence on revegetated rangeland. *Journal Of Range Management* 44:550–557.
- Quintana, D. R. 2015. *Plantas de la Patagonia Árida. Nativas y exóticas del noreste del Chubut. 1a edición. Remitente Patagonia, Trelew Chubut.*
- R Development Core Team. 2017. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing. Viena, Austria.
- Ravel, V., C. Violle, and F. Munoz. 2012. Mechanisms of ecological succession: Insights from plant functional strategies. *Oikos* 121:1761–1770.



- Ramírez, N., and A. Traveset. 2010. Predispersal seed-predation by insects in the Venezuelan Central Plain: Overall patterns and traits that influence its biology and taxonomic groups. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 12:193–209.
- Ramsey, M., and G. Vaughton. 2016. Inbreeding Depression and Pollinator Availability in a Partially Self-Fertile Perennial Herb *Blandfordia grandiflora* (*Liliaceae*). *Oikos* 76:465–474.
- Ranal, M. A., and Santana, D. G. D. 2006. How and why to measure the germination process? *Brazilian Journal of Botany* 29:1, 1-11.
- Ranker, T. A., C. H. Haufler, P. S. Soltis, D. E. Soltis, C. H. Haufler, T. A. Ranker, and D. E. Soltis. 1989. Genetic Evidence for Allopolyploidy in the Neotropical Fern *Hemionitis pinnatifida* (*Adiantaceae*) and the Reconstruction of an Ancestral Genome. *Systematic Botany* 14:439–447.
- Reece, J. B. 2014. *Campbell biology*. Décima edición. Boston: Pearson.
- Reed, D. H., and R. Frankham. 2003. Correlation between Fitness and Genetic Diversity. *Conservation Biology* 17:230–237.
- Rees, M., R. Condit, M. Crawley, S. Pacala, and D. Tilman. 2001. Long-Term Studies of Vegetation Dynamics. *Science* 293:650–655.
- Reitz, S. R., and J. T. Trumble. 2002. Competitive displacement among insects and arachnids. *Annual Review of Entomology* 47:135–1658.
- Reynolds, J. F., F. T. Maestre, E. Huber-Sannwald, J. Herrick, and P. R. Kemp. 2005. Aspectos socioeconómicos y biofísicos de la desertificación. *Ecosistemas* 14:18.
- Reynolds, J. F., F. T. Maestre, P. R. Kemp, D. M. Stafford-smith, and E. Lambin. 2007. Natural and Human Dimensions of Land Degradation in Drylands: Causes and Consequences. Pages 247–257 in P. L. F. Canadell J.G., Pataki D.E., editor. *Terrestrial Ecosystems in a Changing World*. Global Cha. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Reynolds, J. F., D. M. Stafford-smith, and E. Lambin. 2003. Do humans cause deserts? An old problem through the lens of a new framework: the Dahlem desertification

- paradigm. Pages 2042–2048 The VIIth International Rangelands Congress.
- Rice, K. J., and N. C. Emery. 2003. Managing microevolution: Restoration in the face of global change. *Frontiers in Ecology and the Environment* 1:469–478.
- Rice, K., and S. Jain. 2013. Plant Population Genetics and Evolution in Disturbed Environments. Pages 287–303 in S. T. A. Pickett and P. S. WHITE, editors. *The Ecology of Natural Disturbance and Patch Dynamics*. Academic Press.
- Richards, E. J. 2011. Natural epigenetic variation in plant species: A view from the field. *Current Opinion in Plant Biology* 14:204–209.
- Rietkerk, M., S. C. Dekker, P. C. De Ruiter, and J. Van De Koppel. 2004. Self-organized patchiness and catastrophic shifts in ecosystems. *Science* 305:1926–1929.
- Riveros, C. V., P. A. Meglioli, and P. E. Villagra. 2011. *Prosopis alpataco* Phil. (*Fabaceae, Mimosoideae*). *Kurtziana* 36:53–64.
- Roach, D. A., and R. D. Wulff. 1987. Maternal effects in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18:209–235.
- Roberts, E. H. 1972. Dormancy: a Factor Affecting Seed Survival in the Soil. Páginas 321–359 *Viability of Seeds*.
- Roitman, G. G. 1995. Comportamiento reproductivo de *Grindelia chilensis* (*Asteraceae*). *Darwiniana* 33:21–26.
- Root-Bernstein, M., M. Guerrero-Gatica, L. Piña, C. Bonacic, J.-C. Svenning, and F. M. Jaksic. 2017. Rewilding-inspired transhumance for the restoration of semiarid silvopastoral systems in Chile. *Regional Environmental Change* 17:1381–1396.
- Roque, N., and V. A. Funk. 2013. Morphological characters add support for some members of the basal grade of *Asteraceae*. *Botanical Journal of the Linnean Society* 171:568–586.
- Rossi, B. E., G. O. Debandi, I. E. Peralta, and E. Martinez Palle. 1999. Comparative phenology and floral patterns in *Larrea* species (*Zygophyllaceae*) in the Monte desert (Mendoza, Argentina). *Journal of Arid Environments* 43:213–226.

- Rossi, B. E., and P. E. Villagra. 2003. Effects of *Prosopis flexuosa* on soil properties and the spatial pattern of understorey species in arid Argentina. *Journal of Vegetation Science* 14:543–550.
- Rovere, A. E., and A. C. A. Masini. 2013. Caminos teóricos, metodológicos y recorridos, para la recuperación de áreas áridas degradadas. Páginas 38–48 *Restauración Ecológica en la Diagonal Árida de la Argentina*.
- Rusterholz, H. P., M. Kissling, and B. Baur. 2009. Disturbances by human trampling alter the performance, sexual reproduction and genetic diversity in a clonal woodland herb. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 11:17–29.
- Saatkamp, A., A. Cochrane, L. Commander, L. K. Guja, B. Jimenez-Alfaro, J. Larson, A. Nicotra, P. Poschod, F. A. O. Silveira, A. T. Cross, E. L. Dalziell, J. Dickie, T. E. Erickson, A. Fidelis, A. Fuchs, P. J. Golos, M. Hope, W. Lewandrowski, D. J. Merritt, B. P. Miller, R. G. Miller, C. A. Offord, M. K. J. Ooi, A. Satyanti, K. D. Sommerville, R. Tangney, S. Tomlinson, S. Turner, and J. L. Walck. 2019. A research agenda for seed-trait functional ecology. *New Phytologist* 221:1764–1775.
- Sabagh, A. EL, A. Hossain, M. S. Islam, S. Fahad, D. Ratnasekera, R. S. Meena, A. Wasaya, T. A. Yasir, M. Ikram, M. Mubeen, M. Fatima, W. Nasim, A. Çığ, F. Çığ, M. Erman, and M. Hasanuzzaman. 2020. Nitrogen fixation of legumes under the family *Fabaceae*: adverse effect of abiotic stresses and mitigation strategies. Páginas 75–111 in M. Hasanuzzaman, S. Araújo, and S. S. Gill, editors. *The Plant Family Fabaceae. Biology and Physiological Responses to Environmental Stresses*. Springer.
- Saco, P. M., G. R. Willgoose, and G. R. Hancock. 2007. Eco-geomorphology of banded vegetation patterns in arid and semi-arid regions. *Hydrology and Earth System Sciences Discussions, Copernicus Publications* 11:1717–1730.
- Saha, A., S. Sekharan, and U. Manna. 2020. Superabsorbent hydrogel (SAH) as a soil amendment for drought management: A review. *Soil and Tillage Research* 204:104736.

- Saidman, B. O., J. C. Vilardi, S. Montoya, and L. Poggio. 1997. Genetic variability and ploidy level in species of *Prosopis* (*Leguminosae*, *Mimosoideae*). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 32:217–226.
- Saiz, H., and C. L. Alados. 2012. Changes in semi-arid plant species associations along a livestock grazing gradient. *PLoS ONE* 7:1–9.
- Saiz, H., J. Gómez-gardeñes, J. P. Borda, and F. T. Maestre. 2018. The structure of plant spatial association networks is linked to plant diversity in global drylands. *Journal of Ecology* 106:1–11.
- Saiz, H., J. Gómez-gardeñes, P. Nuche, A. Girón, Y. Pueyo, and C. L. Alados. 2016. Evidence of structural balance in spatial ecological networks: 1–9.
- Sallabanks, R., and S. P. Courtney. 1992. Frugivory, seed predation, and insect-vertebrate interactions. *Annual Review of Entomology* 37:377–400.
- Santana, D. G., and M. A. Ranal. 2006. Linear correlation in experimental design models applied to seed germination. *Seed Science and Technology* 34:233–239.
- Sasal, Y., and J. M. Morales. 2013. Linking frugivore behavior to plant population dynamics. *Oikos* 122:95–103.
- Schlesinger, W. H., J. F. Reynolds, G. L. Cunningham, L. F. Hufnneke, W. M. Jarrell, R. A. Virginia, and W. G. Whitford. 1990. Biological Feedbacks in Global Desertification. *Science* 247:1043–1048.
- Schmidt, L. 2000. Dormancy and Pretreatment. *Guide to Handling of Tropical and Subtropical Forest Seed*:1–38.
- Schupp, E. W., P. Jordano, and J. M. Gómez. 2010. Seed dispersal effectiveness revisited: A conceptual review. *New Phytologist* 188:333–353.
- Shipley, B. 2000. A new inferential test for path models based on directed acyclic graphs. *Structural Equation Modeling* 7:206–218.
- Shipley, B. 2009. Confirmatory path analysis in a generalized multilevel context. *Ecology* 90:363–368.
- Shipley, B. 2016. *Cause and Correlation in Biology: A User's Guide to Path Analysis*,

- Structural Equations and Causal Inference with R. The Quarterly Review of Biology. Segunda edición. Cambridge University Press.
- Silva, M. P., M. J. Martinez, R. Coirini, M. A. Brunetti, M. Barlin, and U. Karlin. 2000. Valoración nutritiva del fruto del algarrobo blanco (*Prosopis chilensis*) bajo distintos tipos de almacenamiento. *Multequina* 9:65–74.
- Simmons, A. M., and K. V. Yeargan. 1990. Effect of combined injuries from defoliation and green stink bug (*Hemiptera: Pentatomidae*) and influence of field cages on soybean yield and seed quality. *Journal of Economic Entomology* 83:599–609.
- Sjögersten, S., R. van der Wal, M. J. J. E. Loonen, and S. J. Woodin. 2011. Recovery of ecosystem carbon fluxes and storage from herbivory. *Biogeochemistry* 106:357–370.
- Skaug, A. H., D. Fournier, A. Nielsen, A. Magnusson, and B. Bolker. 2018. glmmADMB: Generalized Linear Mixed Models using “AD Model Builder.”
- Skinner, M. K., and E. E. Nilsson. 2021. Role of environmentally induced epigenetic transgenerational inheritance in evolutionary biology: Unified Evolution Theory. *Environmental Epigenetics* 7:1–12.
- Soares, L. A. S. S., E. Cazetta, L. R. Santos, D. de S. França, and F. A. Gaiotto. 2019. Anthropogenic disturbances eroding the genetic diversity of a threatened palm tree: A multiscale approach. *Frontiers in Genetics* 10:1–12.
- Sobrevilla-Solís, J. A., A. L. López-Escamilla, L. Romero-Bautista, and M. López-Herrera. 2013. Evaluación de diferentes tratamientos pregerminativos y osmóticos en la germinación de *Prosopis laevigata* (Humb. y Bonpl. ex Willd) M. C. Johnston. Page 14 in Zea Books, editor. Estudios científicos en el estado de Hidalgo y zonas aledañas, Volumen II. Harold W.
- Society for Ecological Restoration. 2004. Principios de SER Internacional sobre la restauración ecológica:1–15.
- Solans, M., Y. I. Pelliza, and M. Tadey. 2021. Inoculation with native actinobacteria may improve desert plant growth and survival with potential use for restoration practices. *Microbial Ecology* 83:380–392.

- Soliveres, S., and F. T. Maestre. 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.
- Soliveres, S., F. T. Maestre, D. J. Eldridge, M. Delgado-Baquerizo, J. L. Quero, M. A. Bowker, and A. Gallardo. 2014. Plant diversity and ecosystem multifunctionality peak at intermediate levels of woody cover in global drylands. *Global Ecology and Biogeography* 23:1408–1416.
- Soltis, D. E., C. H. Haufler, D. C. Darrow, and G. J. Gastony. 1983. Starch gel electrophoresis of ferns: a compilation of grinding buffers, gel and electrode buffers, and staining schedules. *American Fern Journal* 73:9–27.
- Song, M., L. Yu, Y. Jiang, H. Korpelainen, and C. Li. 2019. Increasing soil age drives shifts in plant-plant interactions from positive to negative and affects primary succession dynamics in a subalpine glacier forefield. *Geoderma* 353:435–448.
- Soriano, A., O. E. Sala, and S. B. Perelman. 1994. Patch structure and dynamics in a Patagonian arid steppe.
- Souto, C. P., and A. C. Premoli. 2003. Genetic divergence among natural populations of *Alstroemeria aurea* D. Don: A dominant clonal herb of the understory in subalpine *Nothofagus* forests. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 44:329–336.
- Souto, C. P., and M. Tadey. 2018. Livestock effects on genetic variation of creosote bushes in Patagonian rangelands. *Environmental Conservation* 46:59–66.
- de Souza, D. C., V. L. Engel, and E. C. de Mattos. 2021. Direct seeding to restore tropical seasonal forests: effects of green manure and hydrogel amendment on tree species performances and weed infestation. *Restoration Ecology* 29:1–7.
- Steets, J. A., and T. L. Ashman. 2010. Maternal effects of herbivory in *Impatiens capensis*. *International Journal of Plant Sciences* 171:509–518.
- Stephenson, A. G. 1981. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 12:253–279.
- Sternberg, M., M. Gutman, A. Perevolotsky, and J. Kigel. 2003. Effects of grazing on soil seed bank dynamics: An approach with functional groups. *Journal of*

- Vegetation Science 14:375–386.
- Strauss, S. Y., and A. A. Agrawal. 1999. The ecology and evolution of plant tolerance to herbivory. *Trends in Ecology and Evolution* 14:179–185.
- Strauss, S. Y., J. K. Conner, and S. L. Rush. 1996. Foliar herbivory affects floral characters and plant attractiveness to pollinators: implications for male and female plant fitness. *The American Naturalist* 147:1098–1107.
- Suárez Guerrero, A. I. 2008. Efecto de ensamblajes de leñosas nativas en la restauración del bosque mesófilo. Instituto de Ecología, A. C.
- Tadey, M. 2006. Grazing without grasses: Effects of introduced livestock on plant community composition in an arid environment in northern Patagonia. *Applied Vegetation Science* 9:109–116.
- Tadey, M. 2007. Efectos del pastoreo sobre la polinización y reproducción de plantas del Monte Patagónico. Universidad Nacional del Comahue- Centro Regional Universitario Bariloche.
- Tadey, M. 2008. Efecto del ganado sobre los niveles de polinización en especies vegetales del monte patagónico. *Ecología Austral* 18:89–100.
- Tadey, M. 2015. Indirect effects of grazing intensity on pollinators and floral visitation. *Ecological Entomology* 40:451–460.
- Tadey, M. 2016. Variation in insect assemblage and functional groups along a grazing gradient in an arid environment. *Entomology, Ornithology & Herpetology: Current Research* 5.
- Tadey, M., and A. G. Farji-Brener. 2007. Discriminating direct and indirect effects of exotic grazers on native plant cover in the Monte desert of Argentina. *Journal of Arid Environments* 69:526–536.
- Tadey, M., and C. P. Souto. 2016. Unexpectedly, intense livestock grazing in arid rangelands strengthens the seedling vigor of consumed plants. *Agronomy for Sustainable Development* 36:63.
- Tadey, M., J. C. Tadey, and N. Tadey. 2009. Reproductive biology of five native plant

- species from the Monte Desert of Argentina. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161:190–201.
- Táلامo, A., A. Barchuk, S. Cardozo, C. Trucco, G. Marás, and C. Trigo. 2015. Direct versus indirect facilitation (herbivore mediated) among woody plants in a semiarid Chaco forest: A spatial association approach. *Austral Ecology* 40:573–580.
- Tarin, P.-K., N. Ohana-Levi, I. Herrmann, E. Zaady, Z. Henkin, and A. Karnieli. 2016. Grazing intensity effects on soil quality: A spatial analysis of a Mediterranean grassland. *Catena* 146:100–110.
- Taylor, D. R., L. W. Aarssen, and C. Loehle. 1990. On the relationship between  $r/K$  selection and environmental carrying capacity: A new habitat templet for plant Life history strategies. *Oikos* 58:239.
- Templeton, A. R. 1980. The theory of speciation via the founder principle. *Genetics*, 94:4, 1011-1038.
- Thomas, E., R. Jalonen, J. Loo, D. Boshier, L. Gallo, S. Cavers, S. Bordács, P. Smith, and M. Bozzano. 2014. Genetic considerations in ecosystem restoration using native tree species. *Forest Ecology and Management* 333:66–75.
- Thompson, K. 1987. Seeds and seed banks. *New Phytologist* 106:23–34.
- Thompson, K., S. R. Band, and J. G. Hodgson. 1993. Seed size and shape predict persistence in soil. *Functional Ecology* 7:236.
- Thoß, M., P. Ilmonen, K. Musikf, and D. J. Penn. 2011. Major histocompatibility complex heterozygosity enhances reproductive success. *Molecular Ecology* 20:1546–1557.
- Torres, C., and L. Galetto. 2007. Style morphological diversity of some *Asteraceae* species from Argentina: Systematic and functional implications. *Journal of Plant Research* 120:359–364.
- Tremblay, R. L., and J. D. Ackerman. 2001. Gene flow and effective population size in *Lepanthes* (*Orchidaceae*): a case for genetic drift. *Biological Journal of the Linnean Society* 72:47–62.



- Trlica, M. J., and L. R. Rittenhouse. 1993. Grazing and plant performance. *Ecological Applications* 3:21–23.
- Turgut-Kara, N., B. Arikan, and H. Celik. 2020. Epigenetic memory and priming in plants. *Genetica* 148:47–54.
- Turner, M. D. 1998. Long term effect of daily orbits on nutrient availability in Sahelian West Africa: I- Gradients in the chemical composition of rangeland soils and vegetation. *Journal of Biogeography* 25:669–682.
- Tweddle, J. C., Dickie, J. B., Baskin, C. C., and Baskin, J. M. 2003. Ecological aspects of seed desiccation sensitivity. *Journal of ecology* 91:2, 294-304.
- Del Valle, H. F., N. O. Elissalde, D. A. Gagliardini, and J. Milovich. 1998. Status of desertification in the Patagonian region: Assessment and mapping from satellite imagery. *Arid Soil Research and Rehabilitation* 12:95–121.
- Vallentine, J. F. 2001. *Grazing Management*. Second. Academic Press, San Diego, CA, US.
- Van Heerwaarden, B., Willi, Y., Kristensen, T. N., & Hoffmann, A. A. 2008. Population bottlenecks increase additive genetic variance but do not break a selection limit in rain forest *Drosophila*. *Genetics* 179:4, 2135-2146.
- Varela, S. A., and V. Arana. 2011. Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos. Serie técnica “Sistemas Forestales Integrados” 3:10.
- Vázquez-Yanes, C., and A. Orozco-Segovia. 1993. Patterns of seed longevity and germination in the tropical rainforest. *Annual Review of Ecology and Systematics* 24:69–87.
- Vázquez-Yanes, C., and A. Orozco-Segovia. 1996. Physiological ecology of seed dormancy and longevity. Pages 535–558 in S. S. Mulkey, R. L. Chazdon, and A. P. Smith, editors. *Tropical Forest Plant Ecophysiology*. Springer, Boston, MA, Boston.
- Venable, D. L., and L. Lawlor. 1980. Delayed germination and dispersal in desert annuals: Escape in space and time. *Oecologia* 46:272–282.

- De Vere, N., E. Jongejans, A. Plowman, and E. Williams. 2009. Population size and habitat quality affect genetic diversity and fitness in the clonal herb *Cirsium dissectum*. *Oecologia* 159:59–68.
- Vigouroux, Y., M. McMullen, C. T. Hittinger, K. Houchins, L. Schulz, S. Kresovich, Y. Matsuoka, and J. Doebley. 2002. Identifying genes of agronomic importance in maize by screening microsatellites for evidence of selection during domestication. *PNAS* 99:9650–9655.
- Vilela, A. E., and D. A. Ravetta. 2001. The effect of seed scarification and soil-media on germination, growth, storage, and survival of seedlings of five species of *Prosopis L. (Mimosaceae)*. *Journal of Arid Environments* 48:171–184.
- Villagra, P. 1995. Temperature effects on germination of *Prosopis argentina* and *P. alpataco (Fabaceae, Mimosoideae)*. *Seed science and technology* 23:639–646.
- Villagra, P. E., and J. B. Cavagnaro. 2000. Effect of clayish and sandy soils on the growth of *Prosopis argentina* and *P. alpataco* seedlings. *Ecologia Austral* 10:113–121.
- Villagra, P. E., M. A. Cony, N. G. Mantován, B. E. Rossi, M. M. González Loyarte, R. Villalba, and L. Marone. 2004. Ecología y manejo de los algarrobales de la provincia fitogeográfica del Monte. (M. F. Arturi, J. L. Frangi, and J. F. Goya, Eds.) *Ecología y Manejo de Bosques Nativos de Argentina*. Ecología y manejo de bosques nativos de Argentina, Mendoza, Argentina.
- Villagra, P. E., C. Giordano, J. A. Álvarez, J. B. Cavagnaro, A. Guevara, C. Sartor, C. B. Passera, and S. Greco. 2011. Ser planta en el desierto: estrategias de uso de agua y resistencia al estrés hídrico en el Monte Central de Argentina. *Ecología Austral* 21:29–42.
- Villagra, P. E., and A. Roig. 2002. Distribución geográfica y fitosociología de *Prosopis argentina* y *P. alpataco (Fabaceae, Mimosoideae)*. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 37:1–8.
- Villagra, P. E., A. Vilela, C. Giordano, and J. A. Alvarez. 2010. Ecophysiology of *Prosopis* species from the arid lands of Argentina: What do we know about adaptation to stressful environments? Pages 321–340 in R. K., editor. *Desert*

- Plants. Springer. Berlin, Heidelberg.
- Wahl, L.M., Gerrish, P.J., & Saika-Voivod, I. 2002. Evaluating the impact of population bottlenecks in experimental evolution. *Genetics* 162: 961–971.
- Wahlund, S. 1928. Zusammensetzung von Populationen und Korrelationserscheinungen von Standpunkt der Vererbungslehre aus betrachtet. *Hereditas* 11:65–106.
- Wali, M. K. 1999. Ecological succession and the rehabilitation of disturbed terrestrial ecosystems. *Plant and soil* 213:195–220.
- Walker, L. R., J. Walker, and R. del Moral. 2007. Forging a new alliance between succession and restoration. Pages 1–18 *Linking Restoration and Ecological Succession*. First edition. Springer-Verlag New York.
- Waser, N. M., and M. V. Price. 1989. Optimal Outcrossing in *Ipomopsis aggregata*: Seed Set and Offspring Fitness. *Evolution* 43:1097.
- Washitani, I., and S. Nishiyama. 1992. Effects of seed size and seedling emergence time on the fitness components of *Ambrosia trifida* and *A. artemisiaefolia* var. *elatior* in competition with grass perennials. *Plant Species Biology* 7:11–19.
- Weis, I. M. 1982. The effects of propagule size on germination and seedling growth in *Mirabilis hirsuta*. *Canadian Journal of Botany* 60:1868–1874.
- Westoby, M. 1981. How diversified seed germination behavior is selected. *The American Naturalist* 118:882–885.
- Westoby, M., E. Jurado, and M. Leishman. 1992. Comparative evolutionary ecology of seed size. *Trends in Ecology and Evolution* 7:368–372.
- Westoby, M., M. Leishman, and J. Lord. 1996. Comparative ecology of seed size and dispersal. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 351:1309–1318.
- Westoby, M., B. Walker, and N. Noy-Meir. 1989. Opportunistic management for rangelands not at equilibrium. *Journal of Range Management* 42:266–274.
- Wilan, R. L. 1991. Guía para la manipulación de semillas forestales, con especial referencia a los trópicos.

- William, K., and L. Jafri. 2016. Mesquite (*Prosopis juliflora*): Livestock grazing, its toxicity and management. *Journal of Bioresource Management* 2:49–58.
- Williams, N. M., E. E. Crone, T. H. Roulston, R. L. Minckley, L. Packer, and S. G. Potts. 2010. Ecological and life-history traits predict bee species responses to environmental disturbances. *Biological Conservation* 143:2280–2291.
- Williams, S. L. 2001. Reduced genetic diversity in eelgrass transplantations affects both population growth and individual fitness. *Ecological Applications* 11:1472–1488.
- Willis, C. G., Baskin, C. C., Baskin, J. M., Auld, J. R., Venable, D. L., Cavender-Bares, J., Venable, D. L., Cavender-Bares, J., Donohue, K., de Casas, R. R., Bradford, K., Burghardt, L., Kalisz, S., Meyer, S., Schmitt, J., Strauss, S., Wilczek, A. 2014. The evolution of seed dormancy: environmental cues, evolutionary hubs, and diversification of the seed plants. *New Phytologist* 203(1), 300-309.
- Winfree, R., T. Griswold, and C. Kremen. 2007. Effect of human disturbance on bee communities in a forested ecosystem. *Conservation Biology* 21:213–223.
- Wright, S. 1931. Evolution in mendelian populations. *Genetics* 16:97.
- Wu, J., Y. Gao, X. Bao, H. Gao, M. Jia, J. Li, and N. Zhao. 2010. Genetic variation among *Stipa grandis* P. *Smirn* populations with different durations of fencing in the Inner Mongolian Steppe. *The Rangeland Journal* 32:427–434.
- Wulff, A. F. 1990. Estudios cromosomicos en *Barnadesiinae* (*Mutisieae*, *Asteraceae*). I. *Chuquiraga* y *Doniophyton*. *Darwiniana* 30:185–193.
- Young, A., T. Boyle, and T. Brown. 1996. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends in Ecology & Evolution* 11:413–418.
- Zaidman, B. Z., M. Ghanim, and Y. Vaknin. 2010. Effect of seed weight on seed vigour and early seedling growth of *Jatropha curcas*, a biodiesel plant. *Seed Science and Technology* 38:757–766.
- Zamora, R., P. Garcá-Fayos, and L. Gómez-Aparicio. 2004. Las interacciones planta-planta y planta animal en el contexto de la sucesión ecológica. Páginas 371–394 in F. Valladares, editor. *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante*. 2da edición. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino Organismo

Autónomo Parques Nacionales, Madrid, España.

- Zas, R., C. Cendán, and L. Sampedro. 2013. Mediation of seed provisioning in the transmission of environmental maternal effects in Maritime pine (*Pinus pinaster Aiton*). *Heredity* 111:248–255.
- Zhang, H., B. Gilbert, W. Wang, J. Liu, and S. Zhou. 2013. Grazer exclusion alters plant spatial organization at multiple scales, increasing diversity. *Ecology and Evolution* 3:3604–3612.
- Zhang, H., W. Qi, and K. Liu. 2018a. Functional traits associated with plant colonizing and competitive ability influence species abundance during secondary succession: Evidence from subalpine meadows of the Qinghai – Tibetan Plateau. *Ecology and Evolution*: 6529–6536.
- Zhang, J., Y. Huang, H. Chen, J. Gong, Y. Qi, E. Li, and X. Wu. 2018b. Response of plant functional traits at species and community levels to grazing exclusion on Inner Mongolian steppe, China. *The Rangeland Journal* 40:179–189.
- Zobel, M. 1989. Secondary forest succession in Järvelja, southeastern Estonia: Changes in field layer vegetation. *Annales Botanici Fennici* 26:171–182.
- Zou, C. B., P. W. Barnes, S. Archer, and C. R. McMurtry. 2005. Soil moisture redistribution as a mechanism of facilitation in savanna tree-shrub clusters. *Oecologia* 145:32–40.
- Zuleta, and C. Escartín. 2014. Regeneración post-disturbio en ambientes degradados por la actividad petrolera en Nor-Patagonia. Pages 105–112 in A. S. Álvarez and D. R. Perez, editores. Aspectos ecológicos, microbiológicos y fisiológicos de la restauración de ambientes degradados de zonas áridas. Aportes de investigaciones de Argentina, Chile, Venezuela y México. Ministerio de Educación de la Nación y Conicet, Mendoza, Argentina.
- Zuloaga, F. O., O. Morrone, and M. J. Belgrano. 2008. Catálogo de las plantas vasculares del Cono Sur (Argentina, Sur de Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay). *Monographs in Systematic Botany*. Missouri Botanical Garden, St. Louis, U.S.A.
- Zuur, A. F., E. N. Ieno, N. J. Walker, S. A. A., and G. M. Smith. 2009. Mixed Effects

Lideks and Extensions in Ecology with R. Public Health. Springer-Verlag New York, New York.



Research Letters

# Unravelling effects of grazing intensity on genetic diversity and fitness of desert vegetation

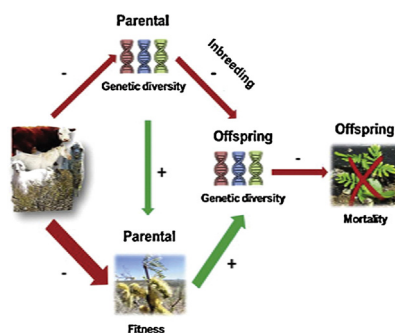
Y. Ivón Pelliza\*, C.P. Souto, M. Tadey

Laboratorio Ecotono-INIBIOMA-CONICET-CRUB, Universidad Nacional del Comahue, Quintral 1250, Bariloche 8400, Río Negro, Argentina

HIGHLIGHTS

- Large herbivores cause genetic diversity loss between cohorts in a desert shrub.
- Parental and offspring cohorts showed increasing inbreeding.
- Livestock reduced seed set, seedling emergence and increased offspring mortality.
- Unmanaged large exotic herbivores seriously affect dryland vegetation structure.
- Disturbance jeopardize plant evolutionary potential through complex effects.

GRAPHICAL ABSTRACT



ARTICLE INFO

*Article history:*  
Received 28 February 2020  
Accepted 26 June 2020  
Available online 12 September 2020

*Keywords:*  
Herbivory  
Genetic diversity  
Inbreeding  
Fitness  
*Prosopis alpataco*  
Patagonian Monte Desert

ABSTRACT

Biodiversity conservation focuses on species and/or populations, but preserving genetic diversity and structure has received limited attention and even less maintaining species evolutionary potential over generations. Genetic diversity is an essential component of biodiversity enabling species' persistence, particularly under disturbances. Via sexual reproduction genetic diversity is transmitted across generations and greater outcrossing in parental populations will lead to greater genetic diversity in their offspring. Grazing by exotic large herbivores is one of the main disturbances driving biodiversity loss threatening rangelands sustainability worldwide. We investigated grazing effects on fitness and genetic diversity of parental and offspring cohorts of *Prosopis alpataco* from Patagonian Monte Desert. We collected fresh leaves and seeds from 10 independent rangelands with different herbivore density, forming a grazing gradient, and estimated genetic parameters from allele frequencies using isoenzymes. We recorded plant size, seed weight, seed set, seedling emergence and mortality as proxies of plant fitness. Applying regression models and path analysis (D-separation) approaches we observed that increasing grazing reduced seed set and seedling emergence, and significantly increased seedling mortality. Parental and offspring suffered from inbreeding. Moreover, we found genetic diversity loss throughout cohorts in all rangelands, however, this loss was relatively lower at intermediate grazing intensities. The introduction of large herbivores in unmanaged rangelands affected vegetation structure, jeopardizing their evolutionary potential and system sustainability. Therefore, natural revegetation may be compromised by aggravated genetic diversity losses along generations that might be deepened in drylands under forecasted climate change. This highlights the importance of evaluating and conserving genetic diversity.

© 2020 Associação Brasileira de Ciência Ecológica e Conservação. Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

\* Correspondence author.  
E-mail address: [ivon.pelliza@comahue-conicet.gob.ar](mailto:ivon.pelliza@comahue-conicet.gob.ar) (Y.I. Pelliza).

## Introduction

Genetic diversity is essential for sustaining biodiversity over time given that a greater genetic diversity increases species likelihood to respond to environmental changes and disturbances (Banks et al., 2013; Hoffmann and Parsons, 1991; Rice and Jain, 2013). Land transformation and fragmentation caused by livestock breeding is affecting ecosystems worldwide (FAO, 2019), although for some areas are reported positive effects (García-Fernández et al., 2019; Shapira et al., 2019), while for others negative effects were observed (Fischer and Lindenmayer, 2007; Hobbs et al., 2008; Yirdaw et al., 2017). Particularly, it is well documented that livestock grazing in arid ecosystems leads to severe reduction in vegetation cover, abundance and richness, affecting their functioning (Li et al., 2017; Paruelo and Aguiar, 2003; Tadey, 2006). Moreover, long-term grazing and its negative impact on ecosystem dynamics can have unpredictable evolutionary consequences on plant communities (Hanke et al., 2014; Herman and Sultan, 2011; Tadey and Farji-Brener, 2007). However, the extent of these effects on plant genetic diversity has received limited attention, and even less the effect of grazing on genetic diversity through generations (Fu et al., 2005; Wu et al., 2010).

Large herbivores can directly or indirectly modify plant fecundity and gene flow during pre-dispersal and post-dispersal stages, which might lead to changes in genetic diversity and structure of consumed plant populations (Grant, 2010; Mulder, 1999). Even if herbivores can help plant species dispersal by zoochory (Bessega et al., 2017; Campos et al., 2011; García-Fernández et al., 2019), reductions in effective population size by consumption of individuals (either by killing or damage) and/or decreasing reproduction (by consumption of flowers and/or fruits) might result in less breeding individuals contributing to the next generation. This process may lead to the reduction of the species' gene pool and the restriction of gene flow, eroding over time, genetic diversity and increasing divergence among populations (Couvret, 2002; Lanfear et al., 2014; Leimu et al., 2006; Young et al., 1996). Small populations are subjected to inbreeding effects as a consequence of the increased likelihood of mating with closely related individuals (Heinken and Weber, 2013). However, inbreeding may also be increased through genetic drift, changes in allele frequencies caused by cumulative effects and bottleneck, which is a kind of genetic drift where the gene pool of a population is drastically reduced by a stochastic event (Luikart and Cornuet, 1998; Luikart et al., 1998; Piry et al., 1999). Usually, after these events inbreeding may be deepened by limited reproduction, decreasing offspring viability and fitness (i.e. inbreeding depression) (Hedrick and Kalinowski, 2000). Consequently, reductions in genetic variation could severely decrease the adaptive capacity of plant populations, affecting their ability to cope with future natural and/or anthropogenic impacts in a changing world (Cornuet and Luikart, 1996; Frankham et al., 2015; Luikart and Cornuet, 1998; Luikart et al., 1998; Williams, 2001).

From an ecological perspective, a limited number of available mates as a consequence of smaller population size may also affect future generations through reduced pollination and reproduction (Ågren, 1996). The number of mates (i.e. flowering plants) may affect pollination attraction and foraging behavior (Lehtilä and Strauss, 1997; Tadey, 2015, 2008), leading to lower pollen flow within population (Lehtilä and Strauss, 1997). When plants are less attractive, pollinators tend to reduce visitation frequency or to leave to other rich-resources sites (Strauss et al., 1996). Alternatively, when attractive plants are distant from each other, pollinators tend to stay longer within a single plant (Tadey, 2015). These behaviors restrict pollen flow and increase self-pollination, reducing pollen quality (i.e. endogamic pollen) (Aguilar et al., 2008; de Vere et al., 2009; Herrera, 2000; Labouche et al., 2017; Mothershead and Marquis, 2000; Oostermeijer et al., 1994; Tadey,

2008). These last processes may result in inbreeding depression expressed as lower reproduction success by reduced fruit and seed set, germination rates and/or greater seed abortion and seedling mortality (Abrahamsson et al., 2013; de Vere et al., 2009; González-Varo et al., 2012; Oostermeijer et al., 2003; Reed and Frankham, 2003; Waser and Price, 1989). Additionally, plant damage may reduce nutritional resources for new reproductive structures, leading to lower flower production and, consequently, lower plant fitness (Angeloni et al., 2011; Charlesworth and Charlesworth, 1987; Keller and Waller, 2002; Lehtilä and Strauss, 1997; Mothershead and Marquis, 2000; Ramsey and Vaughton, 2016). These negative repercussions of large exotic herbivores on plant fitness may reduce seed banks and seed dispersal, compromising natural revegetation and aggravating genetic diversity losses along generations (Pol et al., 2014; Sternberg et al., 2003; Tadey and Souto, 2016; Tadey, 2007; Trlica and Rittenhouse, 1993).

Particularly in dry environments, large herbivores can be important seed dispersal agents through defecation and trampling, and promoters of seedling establishment for some species by modifying micro-environmental conditions (Aschero and García, 2012; Aschero et al., 2016; Bessega et al., 2017; Campos et al., 2011). In some regions it was observed that livestock may have positive effects on species and ecosystems, such as enhancing seed dispersal and soil quality (Abdalla et al., 2018; Manley et al., 1995; Root-Bernstein et al., 2017; Shapira et al., 2019; Tarin et al., 2016). However, previous works in arid ecosystems showed that livestock may also indirectly affect native dispersers (such as rodents and birds) affecting their interaction with plant species (Marone et al., 2008; Milesi et al., 2002; Tadey, 2019). Additionally, pollen dispersal may also be indirectly affected by livestock grazing. Positive effects were reported for pollination community at intermediate levels of grazing (Tadey, 2015); nevertheless, the increment in pollinators richness and abundance were not reflected in an increase in plant reproduction (Tadey and Souto, 2016; Tadey, 2007). Moreover, a greenhouse study reported increased seedling vigor in some species with increasing livestock density; however, their response is still unknown under natural arid conditions (Tadey and Souto, 2016). Contrarily, other studies found that grazing by large herbivores reduced plant cover, richness, reproduction, germination (Cerdeja et al., 2012a; Tadey and Farji-Brener, 2007; Tadey, 2006) and even genetic diversity of dominant shrubs (*Larrea divaricata* and *Larrea cuneifolia*) (Souto and Tadey, 2018). Therefore, although it seems that livestock may have positive effects in arid regions, finally those effects are counteracted by other negative effects. This underlines the importance of evaluating direct and indirect causal relationships between variables to detect the strongest effect.

Vegetation in the world has evolved in association with herbivory developing adaptive traits. However, in arid regions, such as Patagonian Monte Desert, current vegetation traits suggesting coadaptation are notably weak since browsing reduces reproduction (Cerdeja et al., 2012b; Tadey and Farji-Brener, 2007; Tadey and Souto, 2016; Tadey, 2020, 2006). This may be partially explained by a weak co-evolution history with herbivores since the large extinct megafauna cited for Monte Desert, or nearby, were mostly described as grazers, found in moister areas associated water and grasses (e.g. records from saline lagoons and endorheic basins), suggesting low association with xeric shrub vegetation (Fernández et al., 2016; Mehl et al., 2019; Tadey, 2020; Villavicencio et al., 2016). In addition, persistent herbivores, such as guanaco (*Lama guanicoe*, Müller), with a generalist diet including shrubs, are currently scarce in Monte Desert regions and probably were in the past as well (Burgi et al., 2012; Flores et al., 2012). The low abundance of herbivores may also explain a weak coevolution in this xeric vegetation. Desert climatic hostility also modeled vegetation evolution, influencing plant growth which needed to survive under water scarcity and high evapotranspiration rates. Therefore, desert veg-



etation is characterized by xerophytic lifeforms with slow growth rates and low vegetative reproduction, mainly relying on sexual reproduction to persist over time (Fisher and Turner, 1978). Moreover, as other drylands of the world, Patagonian Monte Desert is an arid ecosystem that is increasingly affected by livestock grazing, which accentuates severe desertification problems, with important socioeconomic impacts on local communities (Maestre et al., 2009; Reynolds et al., 2007). Although it is known that rotation and transhumance practices may mitigate grazing effect (Baied, 1989; Barnes et al., 2008; Root-Bernstein et al., 2017), these grazing management tools are infrequent in Monte Desert (Auffret et al., 2015; García-Fernández et al., 2019; Olea and Mateo-Tomás, 2009). As a consequence of this, serious environmental degradation is observed in most of Patagonian drylands (Ares et al., 2003; INTA, 2011). Estimating the long-term effects of grazing is still a challenge and needs deeper investigation. We studied grazing effects on genetic diversity and fitness in parental and offspring cohorts of *Prosopis alpacato* Phill., a xerophytic shrub highly consumed by exotic large herbivores in Patagonian Monte Desert. This shrub can be dispersed by livestock, had good germination rates and is abundant in the studied region which makes it suitable to estimate genetic diversity on offspring. To fulfil our aim, we tested the following hypotheses: (1) Plant damage by herbivore consumption of photosynthetic tissue, flowers and fruits reduces the availability of plant resources precluding the allocation to new reproductive structures decreasing plant fitness by reducing the formation of fruits and seeds in terms of quality and quantity. So, as large herbivores increase in abundance, we expect a decrease in plant size (height and diameter), seed weight, seed set and seedling emergence rate; (2) Herbivore consumption of breeding individuals causes lower population reproduction success, eventually decreasing genetic diversity and increasing genetic structure of standing populations, deepening this effect through cohorts. As large herbivores increase in abundance, we expect a decrease in mean number of alleles, effective number of alleles, observed and expected heterozygosity, and percentage of polymorphic loci, and a worsening of these effects in the next cohort. Additionally, we expect that grazing will intensify inbreeding within plant parental populations and that these effects would be deepened in the offspring populations. We assess relative genetic diversity losses between parental and offspring generation ( $\Delta GV$ ) calculated for each genetic parameter separately; expecting greater losses of genetic diversity between generations as grazing intensity increases. Additionally, we tested a hypothetical causal model using D-separation methodology to estimate grazing direct and indirect effects on parental and offspring fitness and genetic diversity. We predicted that individuals with higher genetic diversity will produce heavier seeds, higher seed set and seedling emergence rate, along with lower seedling mortality.

## Materials and methods

### Study area

The study area was located in northwest Patagonia Argentina, in Neuquén province, between Arroyito (39°05'S, 68°35' W) and Villa "El Chocón" (39°17' S, 68°55' W). The vegetation is a xerophytic shrubland that belongs to the Monte Desert phytogeographic region (Cabrera, 1966). This habitat is the largest dry region of South America with a high evaporation rate enhanced by strong westerly winds, low rainfall and high summer temperatures (Abraham et al., 2009; Paruelo et al., 1998; Busso and Fernández, 2017). Mean annual precipitation is below 200 mm and average annual temperature is around 15 °C (Tadey, 2006; Villagra and Roig, 2002), resulting in a strong summer deficit (Leon et al., 1998; Paruelo et al., 1998). Vegetation is scattered and is dominated by *Prosopis*

*alpacato* and two *Larrea* species (*L. divaricata* and *L. cuneifolia* Cav.), associated with other abundant xerophytic shrub species such as *Atriplex lampa* Gill. ex Moq, *Bougainvillea spinosa* (Cavanilles) Heimerl, *Monttea aphylla* (Miers.) Hauman and *Chuquiraga erinacea* D. Don (Cabrera, 1966). In this region herbs and grasses represent only 6% of total plant cover (Tadey, 2006). We selected ten rangelands with increasing exotic large herbivore abundance to study its effects on *P. alpacato* fitness, genetic diversity and structure over generations. All rangelands were located in the same region along Argentine National Route 237, sharing similar environmental conditions, having the same NW orientation and the maximum distance between them was 42 km (Fig. A.1, Appendix A). Rangelands are not fenced, their area varied between 94 and 25,000 Ha and there were no water points within them. Rangelands are operated by poor smallholders, are under continuous grazing throughout the year, have no management (i.e. not subjected to rotation or other practices) and differ in the composition of exotic large herbivores and grazing history (see Appendix A, Table A.1). The abundance of exotic herbivores was provided by rangeland owners. This region is dominated by shrubs, since grasses and herbs are scarce, all livestock end up browsing available plant species to fulfil their nutritional requirements (Tadey, 2006). Since rangelands have different proportions of horses, goats, sheep and cows, and that not all livestock produce the same plants damage, we transformed the different livestock densities to animal unit (AU) per hectare, weighting by the history of grazing (i.e. years the rangeland was subjected to grazing), hereafter stocking rate, to make it comparable between rangelands. For this, we considered that 1 cow equals since to 1 AU, 1 horse equals to 1.25 AU, 1 goat equals to 0.17 AU and 1 sheep equals to 0.3 AU, as a modification of the international methodology proposed by Valentine (2001), and as in Souto and Tadey (2018), with stocking rates ranging from 0.06 to 1.63 AU  $\times$  Years Ha<sup>-1</sup> (Table A.1, Appendix A). Previous studies in this area showed that stocking rates evaluated as here are positively and strongly associated to mean browsing percentage ( $R^2 = 0.96$ ;  $P = 0.0006$ ) and dung density ( $R^2 = 0.66$ ;  $P = 0.049$ ) while are negatively associated with plant cover ( $R^2 = 0.98$ ;  $P = 0.04$ ), density ( $R^2 = 0.98$ ;  $P = 0.02$ ) and richness ( $R^2 = 0.97$ ;  $P = 0.04$ ); evidencing that for these rangelands, stocking rate is good predictor of plant damage by livestock. In addition, soil nutrient content (carbon, nitrogen and phosphorus) was not correlated with stocking rate (all  $P > 0.40$ ) (Tadey, 2006).

### Studied species

We selected *Prosopis alpacato* var. *alpacato* (Fabaceae, Mimosoideae) as model species, since it is a shrub highly consumed by livestock and a key species in Monte Desert vegetation (Catalano et al., 2008; Villagra and Roig, 2002). This species is endemic of Argentina and inhabits from 30 to 42° South latitude (Burkart, 1976; Cariaga et al., 2005; Villagra and Roig, 2002). It is characterized for being a spiny shrub that forms circular patches up to 10 m in diameter and 3 m high, its basal branches are always buried, while the secondary branches are arched reflexuous and aerial (Burkart, 1976; Correa, 1984; Villagra and Roig, 2002). *P. alpacato* is insect-pollinated and has dense and yellowish flower clusters, with a high mean number of flowers per inflorescence (i.e.  $131 \pm 5$  flowers) and presents a high flower mortality between anthesis and fruit set with an average of  $28.4 \pm 1.3$  (% flower  $\times 0.40 \text{ m}^{-2}$ ) (Cariaga et al., 2005; Chiappa et al., 1997). Therefore, the maximum number of pods per inflorescence usually formed are between 6 to 10 (pers. obs.). Each flower may produce a nutritional legume, with sweet flavor, pale yellow to violet, 7–17 cm long and 0.6–1.2 cm wide and 5 mm thick, with scarce and bitter mesocarp and ellipsoid seeds (Aguero, 2009; Burkart, 1976; Correa, 1984; Villagra and Roig, 2002). Fruit productivity per individual varies between 0 and 4 kg (Vega Riveros, 2009, Vega

Riveros et al., 2011), complicating the estimation of total number of flowers and fruits per plant. Seeds present physical dormancy imposed by the hard and waterproof seminal cover (Villagra, 1995). In arid zones of Argentina, *Prosopis* seeds are dispersed by native and non-native mammals through endozoochory (Campos et al., 2011). This type of dormancy would allow temporal and spatial asynchrony of germination, which represents an advantage in unpredictable dry environments and an adaptation to the endozoic seed dispersal (Vega Riveros et al., 2011). The genus *Prosopis* comprises 45 species, including shrubs and trees that are important ecological, genetic and economic resources in arid ecosystems, particularly known for producing hard wood and their seeds are an important food source for humans and animals, also being a key element for restoration practices (Bessega et al., 2005; Boeri et al., 2017; Ferreyra et al., 2007; González Galán et al., 2008; Mazzuca and Balzaretto, 2003; Moncada et al., 2019; Pasiecznik et al., 2001; Silva et al., 2000; Villagra et al., 2010; William and Jafri, 2016). *Prosopis* sp. are key component of the habitat, altering environmental conditions under their canopies, acting as “nurse” species, as they enhance the formation of “fertility islands” through the accumulation of organic matter by fallen brush and enhancing nutrient recycling by their symbiotic interaction with soil microorganism (Aguero, 2009; Fredericksen et al., 2000; Pugnaire et al., 1996; Rossi and Villagra, 2003; Vega Riveros et al., 2011; Villagra et al., 2010). *Prosopis* is a phylogenetically ancient group and has a worldwide distribution, being Argentina the country with highest number of species (28) with 13 endemic ones (Burkart, 1976) and 8 occurring in Patagonia (Correa, 1984).

#### Collection and measurements

In each rangeland, we selected and measured 20–30 individuals, totaling 284 plants. Within each rangeland, individual were sampled randomly, attempting to embrace the largest area possible (~25 km<sup>2</sup> variable depending on the rangeland). Sampling area was located at least 300 m from the road and more than 3 km from the house-farms to avoid additional anthropogenic disturbances. From each individual we collected fresh leaves and fruits to obtain the offspring cohort. We measured plant height and crown diameter (in meters) with a centimeter. We also estimated a browsing index (as a visual estimate of the proportion of the browsed branches per plant). Once mature, we collected an average of 15 fruits per plant, and in the laboratory, we separated seeds from the legume and weighted them in an analytical weighing scale. We considered seeds to be viable when no insect damage was observed and seeds were well formed. With the number of viable seeds we estimate seed set as the number of viable seeds/total seeds per pod. Viable seeds were mechanically scarified with sand paper to break dormancy and promote germination (Vilela and Ravetta, 2001). We sowed three viable seeds per plant in sowing plugs (72 cells) on an organic amendment substrate under greenhouse conditions. Mean greenhouse temperature varied between 18 and 28 °C during the spring-summer period and between 15 and 2 °C along autumn to winter. The seeds were watered weekly to ensure humidity as needed. We monitored seedling emergence every two days during two months and recording along the survey seedling mortality. As a proxy of parental performance, we calculated for each sampled individual the following variables: mean seed set (number viable seeds/total numbers of seeds per parental plant), mean seed weight (in grams) and mean of seedling emergence per parental plant (i.e. number of emerged seeds/ total number of sowed seeds per parental plant), as indirect estimations of fitness through seed quality. We calculated the proportion of viable seeds/pod. Then we estimated the mean proportion of viable seeds per plant, as an estimation of seed set. In this case, each pod corresponds to one flower. In the rangeland with the highest grazing intensity

(1.632 AU × Year Ha<sup>-1</sup>), not all plants produced fruits and, therefore, few legumes could be collected, obtaining no viable seeds and no offspring cohort (Table A.3, Appendix A).

To estimate offspring genetic variation, we collected fresh foliar tissue from 238 seedlings growing under greenhouse conditions. Since the number of seedlings varied among rangelands, we included from 11 to 30 individuals depending on availability, attempting to select them from different parental individuals within each rangeland. All fresh leaf material was preserved in the freezer at –21 °C until we performed genetic analyses.

#### Isoenzyme method

To genotype both parental and offspring cohorts we used horizontal isoenzyme electrophoresis technique. Isoenzymes are codominant markers, ideal for population genetic studies of the causes and effects of genetic variation within and between populations. They have a lower level of polymorphism as they have fewer alleles per locus compared with other markers, being superseded by DNA-based approaches, but they are still among the fastest and cheapest marker systems for non-model species, being a cost-effective choice for analyzing many individuals within many populations. In the laboratory we extracted proteins from preserved fresh material using mortars and enzymes following Mitton et al. (1979) methodology. Homogenates were frozen at –80 °C until electrophoresis was performed. Then homogenates were absorbed onto Whitman No. 3 paper wicks, which were run in 12% w/v starch gels. Horizontal electrophoresis was carried out using two buffer systems (morpholine-citrate (MC) and histidine-EDTA buffer), (King and Dancik, 1983; Ranker et al., 1989). In MC system the following enzymes and their putative loci were resolved: Malate dehydrogenase (Mdh-2), Malic enzyme (Me-2, Me-3) and Peroxidase (cathodic: Per-2). Whereas, in histidine-EDTA system the following enzymes and putative loci were resolved: Phosphoglucosomutase (Pgm), Phosphoglucosomerase (Pgi-2, Pgi-3) and Peroxidase (anodic: Per-2). Electrophoresis was carried out at 4 °C until the front indicator, bromophenol blue, migrated approximately 10 cm from the origin to the anode. The cathodic and anodic portions of each gel were sliced horizontally on which the stains suspended in 1% p/v agarose were poured according to Mitton et al. (1979). The bands were stained for specific enzymes, suspended in 1% agar, following standard procedures (Soltis et al., 1983). Band patterns were visualized using a transilluminator. Alleles were numbered sequentially, with the lowest number assigned to the most anodic isoenzyme (Souto and Premoli, 2003).

#### Data analysis

##### Estimation of genetic parameters

To test neutrality of the isoenzyme loci, we performed the Ewens–Watterson with the POPGENE program version 1.31 (Yeh et al., 1999) and the algorithm given in Manly (1985). To get sufficient precision, the probability was calculated using 1000 simulations. These tests showed that the 8 loci included in this study are neutral (Appendix A, Table A.6). We estimated genetic diversity parameters for parental and offspring populations at rangeland level from isoenzyme data. In the forthcoming analyses we included the following variables: mean number of alleles per locus ( $A$ ), effective number of alleles per locus ( $A_e$ ), percentage of polymorphic loci (% $P$ , 95% criterion), observed heterozygosity ( $H_o$ ) and expected under Hardy–Weinberg equilibrium ( $H_e$ ), inbreeding index ( $F_{is}$ ) using the Microsoft Office EXCEL plugin GenAlEx v. 6.5 (Peakall and Smouse, 2012, 2006). In addition, we assessed the change in genetic diversity from parental to offspring generation ( $\Delta GV = 1 - \text{parental } GV / \text{offspring } GV$ ) (Vigouroux et al., 2002), where  $GV$  is each genetic

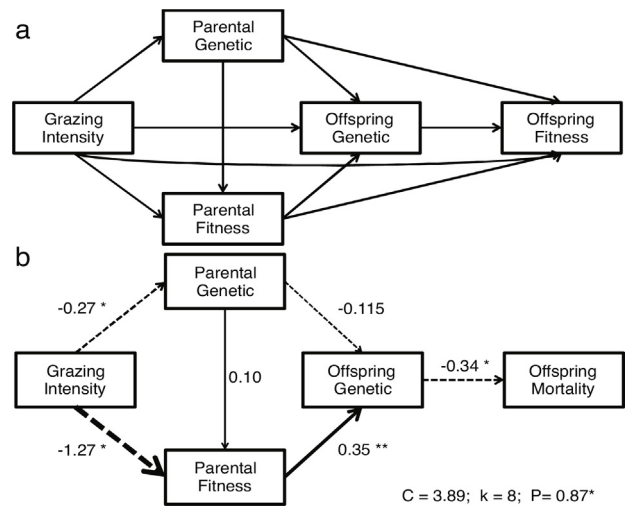
variation parameter, where:  $\Delta A$  is the change in mean number of alleles,  $\Delta Ae$  is the change in mean effective number of alleles and  $\Delta Ho$ ,  $\Delta He$  are the change in observed and expected heterozygosity, respectively. A relative genetic diversity loss from parental to offspring generation would be represented by a negative value of  $\Delta GV$ . In addition, we estimated genetic structure using Fisher's statistics: within populations inbreeding ( $F_{IS}$ ), among populations genetic divergence ( $F_{ST}$ ) and total genetic structure ( $F_{IT}$ ), using FSTAT software (Goudet, 1994). In order to detect differences of grazing effect on population genetic structure, we grouped similar stocking rates into three categories as follows: low (L) (0.06 to 0.07 AU  $\times$  Year Ha<sup>-1</sup>), intermediate (I) (0.10 to 0.21 AU  $\times$  Year Ha<sup>-1</sup>), and high (H) stocking level (0.63 to 0.1.63 AU  $\times$  Year Ha<sup>-1</sup>). This grouping allows the genetic structure comparisons within and between stocking level (Table A. 2, Appendix A). Furthermore, we also estimated individual genetic parameter for parental and offspring seedlings within each rangeland from isoenzyme data to be used in a path analysis: individual heterozygosity (*IndHet*), i.e. number of heterozygous loci divided by total number of loci analyzed per individual, using the Microsoft Office EXCEL plugin GenAlEx v. 6.5 (Peakall and Smouse, 2012, 2006) and *individual allelic diversity*, i.e. number of alleles of each individual divided by total number of alleles in each population (Peterson et al., 1998; Thoß et al., 2011).

### Statistical analysis

**Effect of grazing on plant fitness.** To investigate grazing effects on parental fitness we used a regression approach using mean plant height, diameter, seed set and seed weight as response variables with stocking rate as explanatory variable. The sampling unit was the individual plant. Models had parental individuals identity nested in rangeland as random factor. Mean plant height and diameter and mean seed weight were analyzed by simple regressions. We transformed plant height and diameter to their logarithm to achieve normality. Seed set and seedling emergence were analyzed with generalized linear mixed models (GLMM). We analyzed seed set with a Beta distribution (used for modelling rates and proportions) (Ferrari et al., 2010) with a logistic link function using the "GlmADMB" package (Skaug et al., 2018). Whereas for seedling emergence we used a Binomial distribution with logit link function in "lme4" package (Bates et al., 2019, 2014). All statistical analyses were performed using R 3.4.4 (R Development Core Team, 2017).

**Grazing effect on genetic parameters in both generations.** The effect of grazing on genetic variation both in parental and offspring cohorts, was analyzed using linear regression models with all the estimated genetic parameters for each rangeland ( $A$ ,  $Ae$ ,  $Ho$ ,  $He$ ,  $\%P$ ) as dependent variables versus stocking rate, independently. Additionally, we analyzed the relative change of each genetic parameter ( $\Delta A$ ,  $\Delta Ae$ ,  $\Delta Ho$ ,  $\Delta He$ ) with stocking rate (explanatory variable), using linear and quadratic regressions. We compared  $F_{IT}$ ,  $F_{ST}$  and  $F_{IS}$  among stocking levels (low, intermediate and high) and between cohorts with a Kruskal Wallis's test.

**Path analysis: D-separation.** To estimate how grazing affect offspring fitness through parental and offspring genetic diversity and parental fitness, we hypothesized a multivariate causal model using path analysis (Fig. 1a). The path analysis was tested with a generalized multilevel "D-separation" test (or "D-sep") (Shipley, 2009). This method allows estimating causal and non-causal components from total variation through modeling how the variables are linked together by direct and indirect effects leading to a "box and arrow" diagram showing how causal effects should flow through the studied system (Shipley, 2009). In this diagram arrows depict direction of causal relationships between variables and the slope of each regression depicts the strength of that relationship (Shipley, 2016). The D-sep method has the advantage that can be used for non-



**Fig. 1.** Causal model describing grazing effects on parental and offspring fitness and genetic diversity. a) Hypothetical model. b) Significant model: continuous arrows indicate positive effects; dashed arrows indicate negative effects and arrow thickness indicate the strength of the relationship. Regression coefficients are near arrows with their significance level as follows:  $\cdot P < 0.10$ ,  $\ast P < 0.05$ ,  $\ast\ast P < 0.005$ . The suitability of the models was assessed on the basis of  $\chi^2$  and the associated  $P$  values (a higher  $P$  value means a better fit of data with the model).

normally distributed data, non-linear functional relationships and data with hierarchical structures (Shipley, 2016, 2009, 2000). Our model tested whether grazing gradient (GG) directly affect offspring fitness (OF) or indirectly through offspring genetic diversity (OG) and/or parental fitness (PF) and parental genetic diversity (PG). In turn PG may directly affect PF and OF and OG. Additionally, PF and OG may have an effect on OF (Fig. 1a). In this model, we used stocking rate as GG proxy. To summarize "genetic diversity" and "parental fitness" in a single integral variable, we performed three Principal Component Analysis (PCA): one using the *IndHet* and *individual allelic diversity* for parental genetic diversity, another with the same variables for offspring, and a third PCA using viable seeds proportion, seed weight and seedling emergence as proxies of parental fitness. All these analyses were performed with variables estimated at individual level within each rangeland. In further analyses, we used first PCAs' axis scores explaining more than 60% of the variance. As a proxy of OF, we used seedling mortality. Individual seedling mortality was analyzed with a Bernoulli distribution recommended for binary variable where 0 represents seedling survival and 1 is seedling mortality (Zuur et al., 2009). Models with seedling mortality had individual nested in rangeland as a random factor. The other analyses were performed using linear regressions (Table A.4, Appendix A). To test the path model we first explored the existence of independence among variables (claims, Table A.5, Appendix A) *sensu* the hypothesized model of Fig. 1a. Then to test whether the model fits the data, we estimated parameter  $C$  following the equation:

$$C = -2 \sum_{i=1}^k \ln(P_i) \quad (1)$$

where  $k$  is number of independent claims,  $P_i$  is null probability for each of  $k$ . We then compared resulting  $C$  value to a  $\chi^2$  distribution with  $2k$  degrees of freedom (Shipley, 2016, 2009, Shipley, 2000). We rejected the causal model if the  $C$  value is unlikely to have occurred by chance (i.e.,  $P < 0.05$ ) (Shipley, 2009). The association between each pair of variables depends on both direct and indirect relationships (Legendre and Legendre, 1998). To obtain total indirect effect of stocking rate on offspring fitness, we multiplied estimated coefficients for each pair of variables involved in each

possible indirect pathway. Then, we summed all indirect and direct pathways effects to estimate total covariation ( $r$ ) (Legendre and Legendre, 1998; Shipley, 2000). There were three indirect pathways from GG to OF. 1) From grazing gradient to parental genotype, from parental genotype to offspring genotype and from offspring genotype to offspring fitness (GG-PG-OG-OF). 2) From grazing intensity to parental genotype, from parental genotype to parental fitness, from parental fitness to offspring genotype and from offspring genotype to offspring fitness (GG-PG-PF-OG-OF). 3) From grazing gradient to parental fitness, from parental fitness to offspring genotype and from this one to offspring fitness (GG-PF-OG-OF) (Fig. 1a).

**Relationships between parental plant fitness and offspring genetic parameters.** Based on D-sep results, we analyzed the strongest path. To explore how parental fitness affected offspring genetic population parameters, we subjected these data to separate linear and polynomial regressions (quadratic term; taking into account the offspring genetics quadratic response to grazing), analyzing effective number of alleles ( $A_e$ ), expected heterozygosity ( $H_e$ ) and inbreeding ( $F_{IS}$ ) as dependent variables, and parental proportion of viable seeds, seed weight and seedling emergence as independent variables (fixed effects).

## Results

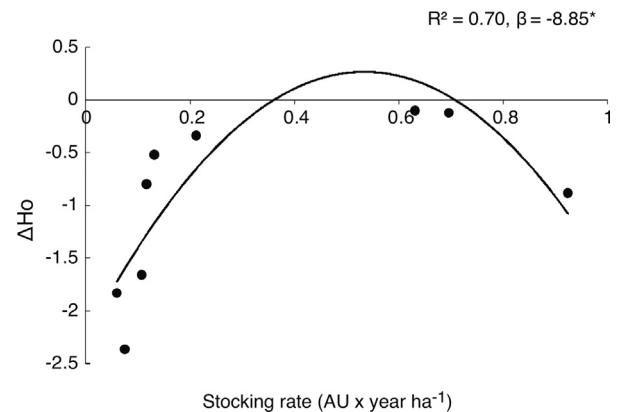
### Effect of grazing on plant fitness

We found that grazing intensity linearly reduced the seed set ( $\beta = -2.5$ ,  $P < 0.0001$ ) and seedling emergence ( $\beta = -1.64$ ,  $P < 0.0001$ ). The browsing index tended to increase with increasing grazing intensity ( $\beta = 0.59$ ,  $P = 0.11$ ), while plant height, diameter and mean seed weight did not show significant responses to grazing (all  $P > 0.14$ ).

### Grazing effect on genetic parameters in both generations

We observed that as grazing intensity increased, genetic diversity of the parental cohort linearly decreased in mean number of alleles ( $A$ ) ( $\beta = 0.42$ ,  $P = 0.016$ ), observed heterozygosity ( $H_o$ ) ( $\beta = -0.10$ ,  $P = 0.017$ ), expected heterozygosity ( $H_e$ ) ( $\beta = -0.12$ ,  $P = 0.005$ ) and percentage of polymorphic loci (%P) ( $\beta = -0.25$ ,  $P = 0.014$ ). Regarding offspring cohort, we found that grazing did not linearly affect population genetic parameters (all  $P > 0.5$ ). However,  $A_e$  and  $H_o$  showed a negative quadratic association with stocking rate ( $\beta = -2.42$ ,  $P = 0.05$ ;  $\beta = -0.78$ ,  $P = 0.017$ , respectively). In addition, when analyzing the differences in population genetic parameters between cohorts (parental-offspring), we found that stocking rate showed a significant and negative quadratic association with  $\Delta H_o$  ( $\beta = -8.85$ ,  $R^2 = 0.70$ ,  $P = 0.030$ ) and marginally with  $\Delta A$  ( $\beta = -1.18$ ,  $P = 0.08$ ),  $\Delta H_e$  ( $\beta = -6.88$ ,  $P = 0.10$ ) and  $\Delta A_e$  ( $\beta = -2.48$ ,  $P = 0.11$ ); (Fig. 2 and Fig A.2, Appendix A).

We found that total genetic structure ( $F_{IT}$ ) of parental cohort in rangelands with low grazing intensity was not different from zero and was mainly explained by divergence between populations ( $F_{ST} > F_{IS}$ , Table 1). As stocking level increased,  $F_{IT}$  in parental populations turned significantly different from zero and more influenced by within population inbreeding ( $F_{IS}$ ), although at high stocking levels the influence of  $F_{IS}$  was similar to between populations divergence ( $F_{ST}$ ) (Table 1). None of these parameters show differences among stocking levels ( $F_{ST}$   $\chi^2 = 1.14$ ,  $P = 0.56$ ;  $F_{IS}$   $\chi^2 = 0.29$ ,  $P = 0.87$ ). Offspring cohort, instead, showed high levels of total genetic structure ( $F_{IT}$ ) in rangelands with low grazing intensity, which is almost completely explained by within population inbreeding ( $F_{IS} > F_{ST}$ , Table 1). Whereas as stocking level increased, total genetic structure decreased ( $F_{IT}$ ) and is similarly explained by both, within



**Fig. 2.** Relative genetic loss between cohorts along a grazing gradient. Dots represent changes in observed mean heterozygosity ( $\Delta H_o = 1 - \text{parental } H_o / \text{offspring } H_o$ ) between parental and offspring population for each rangeland. Negative values of  $\Delta H_o$  show the loss of  $H_o$  from parental to offspring cohort. \*denotes  $P < 0.05$ .

population inbreeding and among population divergence ( $F_{IS} \sim F_{ST}$ , Table 1, Fig A.3, Appendix A).

### Modeling grazing effects on genetic diversity and fitness

First we tested a hypothetical complete model (Fig. 1a) including all possible relationships among studied variables obtaining a non-significant model. Then, we tested a reduced model that included only those variables with significant effects, obtaining a fitted model that did not reject the null hypothesis ( $P = 0.87$ , Fig. 1b). In this model, the grazing gradient reduced parental fitness (PF) ( $r = -1.27$ ) and genetic diversity ( $r = -0.27$ ), and ultimately reducing seedling mortality through offspring genetic diversity ( $r = -0.34$ ). The strongest indirect pathway ( $r = 0.15$ ) was from grazing gradient, through parental fitness (PF), offspring genotype (OG) to offspring fitness (OF) (GG-PF-OG-OF). This pathway showed a positive effect of grazing gradient on seedling mortality, while the rest showed lower strength (GG-PG-OG-OF,  $r = -0.01$  and GG-PG-PF-OG-OF,  $r = 0.003$ , respectively).

### Relationships between parental plant fitness and offspring genetic parameters

We found that parental seed set was marginal and quadratically associated with effective number of alleles ( $A_e$ ,  $\beta = -0.47$ ,  $P = 0.059$ ) and showed a quadratic tendency with expected heterozygosity ( $H_e$ ,  $\beta = -0.15$ ,  $P = 0.13$ ) of offspring cohort. Also, that seedling emergence was marginal and quadratically associated with offspring effective number of alleles ( $A_e$ ,  $\beta = -11.34$ ,  $P = 0.054$ ) and significant and quadratically associated with offspring expected heterozygosity ( $H_e$ ,  $\beta = -4.98$ ,  $P = 0.019$ ). Meanwhile, seedling emergence was marginal and linearly associated with offspring inbreeding ( $F_{IS}$ ,  $\beta = -0.61$ ,  $P = 0.092$ ). Seed weight did not show association with other offspring genetic parameters neither linearly nor quadratic ( $A_e$ ,  $H_e$ ,  $F_{IS}$ , all  $P > 0.32$ ) (Table 2).

## Discussion

Long lasting disturbances on natural populations may cause genetic diversity erosion through generations. We tested whether exotic large herbivores produce transgenerational negative effects on phenotypic and genetic traits of desert vegetation. As hypothesized, we found that grazing mostly affected parental cohort fitness and its genetic diversity and structure, consequently affecting the offspring. Genetic diversity was lost from parental to offspring cohort along the grazing gradient, although the effect was rel-

**Table 1**  
Mean of F-statistics ( $F_{IT}$ ,  $F_{ST}$ ,  $F_{IS}$ ) and their confidence intervals for each stocking level (low, intermediate, high) and cohort (parental and offspring). ns = not significantly different from zero. \* = significantly different from zero.

Stocking level	Cohort	$F_{IT}$	$F_{ST}$	$F_{IS}$
Low	Parental	0.021 (-0.08–0.114) ns	0.041 (0.009–0.073)*	-0.021 (-0.124–0.074) ns
	Offspring	0.406 (0.293–0.511)*	0.09 (0.042–0.119)*	0.347 (0.225–0.466)*
Intermediate	Parental	0.246 (0.116–0.351)*	0.063 (0.03–0.109)*	0.192 (0.058–0.306)*
	Offspring	0.210 (0.069–0.382)*	0.108 (0.015–0.21)*	0.116 (-0.06–0.323) ns
High	Parental	0.249 (0.162–0.347)*	0.114 (0.069–0.164)*	0.153 (0.055–0.263)*
	Offspring	0.238 (0.132–0.380)*	0.081 (0.007–0.148)*	0.114 (0.011–0.364)*

**Table 2**  
Relationships between parental fitness and offspring genetic parameters. Analyses of the effects of parental fitness on offspring genetic diversity. Genetic parameters evaluated were:  $A_e$  = effective alleles number,  $H_e$  = expected heterozygosity,  $F_{IS}$  = inbreeding index.

Explanatory variable	Response variable	Regression type	$\beta$	P	df
Seed set	$A_e$	Quadratic	-0.467	0.059	7
	$H_e$	Quadratic	-0.150	0.131	7
	$F_{IS}$	Simple	-0.103	0.733	7
Seed weight	$A_e$	Quadratic	-0.092	0.346	7
	$H_e$	Quadratic	-0.043	0.241	7
	$F_{IS}$	Quadratic	-0.008	0.903	7
Seedling emergence	$A_e$	Quadratic	-11.34	0.054	7
	$H_e$	Quadratic	-4.978	0.019	7
	$F_{IS}$	Simple	-0.611	0.092	7

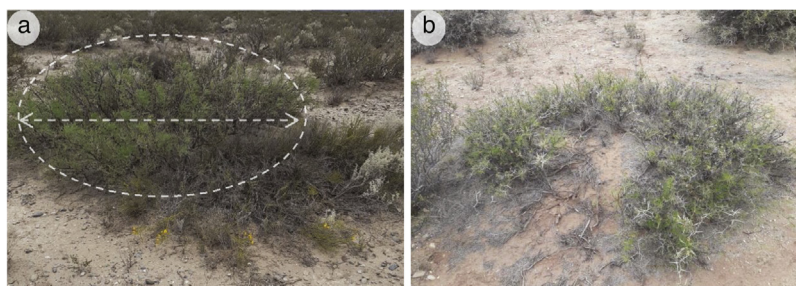
actively lower at intermediate levels of grazing. As expected, we observed inbreeding effects on all offspring populations, while parental populations showed inbreeding on moderate and highly grazed rangelands. In addition, there was a negative impact of grazing on offspring survival. Finally, we summarized and discussed the causal relationships among grazing intensity, fitness and genetic diversity parameters between cohorts.

We observed that large herbivores fed on *P. alpataco* plants and this occurred in all the studied rangelands, with a mean browsing index for all parental populations of  $67 \pm 30\%$  (Fig. 3b). This contradicts previous results in the same region that found that browsing index to other species increased linearly with stocking rate (Tadey, 2006). However, this reflects the species high palatability that even in slightly grazed rangelands, with low encounter probability; there were several highly consumed individuals (>40% browsed in average, Table A.3, Appendix A). We found a significant decrease in plant performance in terms of seed set and seedling emergence along the grazing gradient. These results could be explained by the plant damage effects on reproduction, such as the reduction in resources available to invest in reproduction or by direct consumption of flowers, which in turn could affect pollination services, and/or fruits. Inbreeding may also cause an increase in aborted seeds decreasing seed set (Castilla et al., 2019). Aguirrebengoa et al. (2018) found that ungulates significantly reduced seedling emergence rate, attributing it to lower viability by a reduction in seeds carbon content, which could even explain the higher seedlings mortality. On the other hand, large herbivores did not affect plant height and crown diameter; this apparent discrepancy with the high damage observed could be explained by several facts. First, this spiny shrub sprouts radially generating large crowns up to 8 m in diameter, which generally deters grazing. However, in highly grazed rangelands resources for large herbivores become scarce and this plant species is highly palatable. In this context, herbivores can manage to destroy a crown and open a trail inside of it, foraging

the plant center and giving it a ring-shape, without varying its total diameter (Fig. 3a–b). Large herbivores usually consume *P. alpataco*'s small young leaves, flowers and fruits, and less frequently, stems and spiny branches. We suggest the addition of a measurement of green biomass to estimate grazing damage in future studies. Moreover, we observed no variation in seed weight along grazing gradient, suggesting that seed weight is maintained, probably at the expense of reduced seed quantity, through maternal effects mechanisms (Agrawal, 2001). Nevertheless, our results suggest that grazing is affecting, at least partially, reproduction success through plant damage of a xerophytic shrub that depends mainly on sexual reproduction to persist over time.

Consequences of long lasting disturbances on plant abundance and reproduction can affect ecosystem dynamics in different ways that, through time, end up impacting on their genetic diversity and structure (Davies et al., 2016). As mentioned above, genetic diversity is essential for species persistence over time. We observed different negative effects of large herbivores on genetic diversity between cohorts. In parental cohort, we found that grazing reduced genetic diversity, which suggests that large herbivores are eliminating standing individuals (i.e. genotypes) through consumption or trampling. *P. alpataco* is a long-lived, self-incompatible species (Harris, 2003), and probably sampled individuals existed before the introduction of exotic livestock in the region. Therefore, it is also probably that livestock had been selecting (or rejecting) some genotypes, leading to within population gene pool homogenization. Accordingly, we found increasing inbreeding within and divergence among parental populations with grazing intensity. Moreover, genetic drift may lead to further reductions in genetic diversity (Frankham, 1995). Consequently, a reduced population size and/or cross-reproduction could restrict gene flow, depauperating the gene pool across cohorts. In this way, few individuals and/or fewer breeding individuals contribute to seed production to future generations and, therefore, part of the population's genetic diversity is lost (Souto and Tadey, 2018). These detrimental effects of grazing on genetic variation may jeopardize population's ability to persist in stressful or changing environments across generations (Frankham et al., 2002).

Grazing effects on the offspring cohort were more complex. Genetic diversity of parental to offspring populations is expected to vary due to sexual reproduction; greater outcrossing in parental population would lead to greater genetic diversity in the offspring. However, we observed that as large herbivores increased in abundance, offspring genetic diversity showed a negative quadratic response. Even when genetic diversity was lower in offspring than in parental generation in all studied rangelands (i.e. negative  $\Delta H_o$  values), this loss was lower at intermediate grazing intensities (Fig. 2). These results may allude to the "intermediate-disturbance hypothesis" (Connell, 1978; Wilkinson, 1999), suggesting that in offspring cohort, an intermediate level of disturbance would affect



**Fig. 3.** *Prosopis alata* crowns. a: Oval-shaped crown slightly grazed. b: Ring-shaped crown foraged from plant center.

genetic diversity loss less than extreme grazing intensities. This might be explained by pre-zygotic mechanisms, mainly during pollination. A recent study reported that intermediate levels of grazing did not impair bee communities (Shapira et al., 2019). Similarly, in the same rangelands included in this study, pollinator richness and abundance were higher at intermediate than at extreme grazing intensities (Tadey, 2015). This might possibly be the result of a reduction in the abundance of dominant species and the increase of rare ones by reduced competition; this in turn would improve pollination services, favoring cross-pollination at intermediate grazing intensities (Castilla et al., 2019; Lázaro et al., 2016; Lehtilä and Strauss, 1997; Tadey, 2015; Winfree et al., 2007). In accordance with this, we observed lower levels of inbreeding by kinship in the offspring at intermediate grazing intensities. So higher pollen dispersal might be preventing inbreeding depression (Gandon and Michalakis, 1999; Gandon, 1999; Hamilton and May, 1977; Taylor, 1988). To some extent, intermediate grazing could also benefit *P. alata* establishment through a genetic structure determinant, such as seed dispersal (Bessega et al., 2017), by seeded droppings and subsequent trampling and burial. Additionally, since *P. alata* has high germination rates once it escapes herbivory it could easily establish in bare soil where there is less competition (Campos et al., 2011; Paez and Marco, 2000). Nevertheless, there is little information on the role of livestock in the dispersion process of *P. alata* (Vega Riveros et al., 2011).

At the extremes of grazing intensity reproductive success may be limited by the level of kinship among intraspecific neighbors, as generally nearby individuals may exhibit higher relatedness levels (Castilla et al., 2019; Loveless and Hamrick, 1984), and by pollinator behavior that could be affecting plant-pollinator interactions, such as distances of pollen dispersal at which the genetic neighborhoods develops (Breed et al., 2015; Kolb, 2008; Lloyd et al., 2018; Tadey, 2015). In the case of low grazing intensities, where there are patches with more plants density and all species bloom almost simultaneously, there is a greater competition between pollinator species and between plants for pollinators (Tadey, 2006). This could be reducing pollen quantity (pollen limitation) and quality through inbred pollen dispersal due to territorial pollinator foraging behaviors (i.e. foraging only on a reduced group of individuals/patches) (Castilla et al., 2019; Tadey, 2008, 2015). This is supported by the higher inbreeding between cohorts observed in low grazing intensity rangelands. Meanwhile, highly grazed rangelands have lower plant density, cover and species richness (Tadey, 2006), leading to more isolated flowering plants and patches increasing pollinator foraging costs (Kolb, 2008; Tadey, 2020, 2007). Consequently, grazing would be indirectly enhancing self-pollination by limiting pollinator movement among patches because pollinators tend to visit more flowers per plant to reduce foraging costs (Harder, 2014; Jennemten, 1988; Kolb, 2008; Sih and Baltus, 1987; Tadey, 2015). In turn, self-pollinated endogamic pollen may result in non-viable seeds, particularly in those plant species with a self-incompatible reproduction system (Harris, 2003), as observed in our results.

Therefore, large herbivores could be affecting pollen dispersal and hence gene flow within plant populations differentially along the grazing gradient, whereas at intermediate levels of grazing better pollination services might decrease inbreeding through generations.

In general, genetic diversity losses are associated with a reduction in fitness due to inbreeding depression, both at the individual and population level, which further reduces the population size (Bouzat, 2010). We observed negative grazing effects on parental cohort, both on phenotypic and genotypic variation, with consequent transgenerational effects on their offspring. We found grazing effects on seedling mortality exclusively through indirect mechanisms. Aguirrebengoa et al. (2018) found some similar results, showing direct negative effects of ungulates on offspring cohort, increasing their mortality rate, ascribing it to a reduction in seed quality by parental plant damage. According to our model, grazing negatively affected parental genetic diversity and fitness, which in turn affected offspring genetic diversity, increasing seedling mortality. Among the three proposed indirect pathways that increase mortality rate (Fig. 1b), the pathway including parental fitness (i.e. PCA scores summarizing three variables, viable seeds, seed weight and seedling emergence) through offspring genetic diversity was the strongest; and as above described, we observed a strong decrease in plant performance along the grazing gradient. Grazing may restrict pollination with consequences on plant species demographic structure and/or spatial and temporal distribution of sexually compatible plants, limiting gene flow by decreasing the likelihood of pollen deposition from unrelated plants (Tadey, 2008) and affecting offspring mortality by inbreeding depression, as we observed here. Usually, higher genetic diversity is associated with an increase in plant fitness (Bouzat, 2010). We observed, in our model, that parental genetic marginally increased their fitness (PCA scores), but greater offspring genetic diversity had negative correlations with seedling mortality. Additionally, we observed a marginal and negative association between parental and offspring genetic diversity. This may result from the high variability observed on genetic diversity (PCA scores) along the grazing gradient (Fig. A.4, Appendix A), different type of responses from each generation to grazing intensity (linear vs. quadratic) or similarities in genetic diversity between both cohorts. Suggesting that one generation might not have enough time to see significant changes in genetic diversity or that a larger sample size is needed. However, our results also showed significant losses of genetic diversity between cohorts with long-term effects. The path analysis evidenced that the main mechanism by which grazing affected offspring genetic diversity and survival was through parental fitness. The negative and quadratic associations among seed set and seedling emergence of parental cohort on the effective number of alleles and expected heterozygosity of offspring cohort showed that populations with intermediate production of viable seeds and emergence rates produce offspring with higher genetic diversity (*Ae* and *He*). This

could be limiting offspring gene pool, whereas at intermediate grazing intensities, with intermediate viable seeds production and seedlings emergence, there is greater genetic diversity in offspring, possibly due to greater richness and abundance of pollinators (i.e. better pollination services). It would be useful to confirm these results with another type of more sensitive and more polymorphic molecular markers than isoenzymes, such as microsatellites. Our results also highlight the need of measuring reproduction success both in quantity and quality, in terms of cross-breeding with non-inbred pollen, seedling vigor and survival as we found that evidenced with the greatest seedlings emergence occurred in populations with less inbreeding ( $F_{IS}$ ). Since parental fitness was highly associated to parental genetic diversity, we may assume that parental genetic diversity is also important for offspring persistence over time. In this sense, indirect grazing impacts on offspring fitness are expected to be much greater in arid field conditions, compromising natural establishment and exacerbating genetic diversity losses over generations (Pol et al., 2014; Sternberg et al., 2003; Tadey and Souto, 2016; Tadey, 2007; Trlica and Rittenhouse, 1993). In consequence, a decrease in species fitness can decrease population growth rate and potentially decrease their sizes with greater losses of genetic diversity over time, consequently affecting their adaptive potential to environmental and/or anthropogenic changes (Hendry et al., 2018; Lande, 1994; Lynch et al., 1995).

Therefore, the maintenance of genetic diversity needs to be encouraged for the long-term sustainability of unmanaged dryland rangelands (Souto and Tadey, 2018), where extreme environmental conditions make them more susceptible to disturbance than other more humid ecosystems. Some of the measures that could mitigate population reduction are the inclusion of sustainable management practices such as livestock rotation, transhumance practices and the application of ecological restoration. In the case of the latter, increasing biological and genetic diversity should also consider the type of species with different growth rates, such as early or pioneer species, which may be less susceptible to grazing and have a faster recovery rate than late species, have high reproductive success, provide high availability of resources for pollinators, consider their phenology and seed dispersal.

## Conclusions

Genetic diversity enables species to persist over time by overcoming disturbance effects. This study shows that grazing by large exotic herbivores can change gene flow in different pathways depending on the intensity, with consequences on genetic diversity and structure. We observed that offspring populations showed significant inbreeding effects. We found that genetic diversity loss between cohorts involved complex, non-linear and indirect mechanisms. Generally, genetic diversity losses were associated with a reduction in parental fitness, which in turn affected offspring genetic diversity and increased seedlings mortality. Hence, studies along gradients of disturbance and understanding relationships among variables in a causal framework are important to detect these processes. Our results highlight the relevance of estimating intra and inter-generational direct and indirect of long-term effects of grazing on plant population dynamics. Finally, the introduction of large exotic herbivores in unmanaged rangelands are seriously affecting dryland vegetation structure, with substantial consequences on ecological processes and ecosystem services. Livestock grazing may be, therefore, jeopardizing desert species evolutionary potential, compromising natural revegetation and aggravating genetic diversity losses along generations that might be deepened under forecasted climate change.

## Declaration of interests

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

## Acknowledgements

The authors thank Hugo Saiz for helpful comments on an early version of the manuscript, and two anonymous reviewers and Editor for their helpful recommendations that have significantly improve it. This study was supported by projects PICT 2014-3478, Argentine Science and Technology Secretary and PIP-2015-2017, CONICET.

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary material related to this article can be found, in the online version, at doi:<https://doi.org/10.1016/j.pecon.2020.06.005>.

## References

- Abdalla, M., Hastings, A., Chadwick, D.R., Jones, D.L., Evans, C.D., Jones, M.B., Rees, R.M., Smith, P., et al., 2018. Critical review of the impacts of grazing intensity on soil organic carbon storage and other soil quality indicators in extensively managed grasslands. *Agric. Ecosyst. Environ.* 253, 62–81, <http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2017.10.023>.
- Abraham, E., del Valle, H.F., Roig, F., Torres, L., Ares, J.O., Coronato, F., Godagnone, R., 2009. Overview of the geography of the Monte Desert biome (Argentina). *J. Arid Environ.* 73, 144–153, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaridenv.2008.09.028>.
- Abrahamsson, S., Ahlinder, J., Waldmann, P., García-Gil, M.R., 2013. Maternal heterozygosity and progeny fitness association in an inbred Scots pine population. *Genetic* 141, 41–50, <http://dx.doi.org/10.1007/s10709-013-9704-y>.
- Agrawal, A.A., 2001. Transgenerational consequences of plant responses to herbivory: an adaptive maternal effect? *Am. Nat.* 157, 555–569, <http://dx.doi.org/10.1086/319932>.
- Ågren, J., 1996. Population size, pollinator limitation, and seed set in the self-incompatible herb *Lythrum salicaria*. *Ecology* 77, 1779–1790, <http://dx.doi.org/10.2307/2265783>.
- Aguero, P.R., 2009. Evaluación de características estructurales y procesos fisiológicos determinantes de las posibilidades de uso de dos especies arbustivas del género *Prosopis* L. en el ecotono Monte-Patagonia. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires <http://digital.bl.fcen.uba.ar>.
- Aguilar, R., Quesada, M., Ashworth, L., Herrerías-Diego, Y., Lobo, J., 2008. Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches. *Mol. Ecol.* 17, 5177–5188, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03971.x>.
- Aguirrebengoa, M., García-Planas, M., Muller, C., González-Megías, A., 2018. Transgenerational effects of ungulates and pre-dispersal seed predators on offspring success and resistance to herbivory. *PLoS One* 13, 1–18.
- Angeloni, F., Ouborg, N.J., Leimu, R., 2011. Meta-analysis on the association of population size and life history with inbreeding depression in plants. *Biol. Conserv.* 144, 35–43, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2010.08.016>.
- Ares, J.O., Bertiller, M.B., Bisigato, A., 2003. Estimates of dryland degradation in Argentina with Fourier signatures from low-altitude monochromatic images with high spatial resolution. *Landsat. Ecol.* 18, 51–63, <http://dx.doi.org/10.1023/A:1022963302696>.
- Aschero, V., García, D., 2012. The fencing paradigm in woodland conservation: consequences for recruitment of a semi-arid tree. *Appl. Veg. Sci.*, 1–11, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1654-109X.2011.01180.x>.
- Aschero, V., Morris, W.F., Vázquez, D.P., Alvarez, J.A., Villagra, P.E., 2016. Demography and population growth rate of the tree *Prosopis flexuosa* with contrasting grazing regimes in the Central Monte Desert. *For. Ecol. Manage.* 369, 184–190, <http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2016.03.028>.
- Auffret, A.G., Plue, J., Cousins, S.A.O., 2015. The spatial and temporal components of functional connectivity in fragmented landscapes. *Ambio* 44, 51–59, <http://dx.doi.org/10.1007/s13280-014-0588-6>.
- Baied, C.A., 1989. Transhumance and land use in the northern Patagonian Andes. *Mt. Res. Dev.* 9, 365–380, <http://dx.doi.org/10.2307/3673585>.
- Banks, S.C., Cary, G.J., Smith, A.L., Davies, I.D., Driscoll, D.A., Gill, A.M., Lindenmayer, D.B., Peakall, R., 2013. How does ecological disturbance influence genetic diversity? *Trends Ecol. Evol.* 28, 670–679.
- Barnes, M.K., Norton, B.E., Maeno, M., Malechek, J.C., 2008. Paddock size and stocking density affect spatial heterogeneity of grazing. *Rangeland Ecol. Manage.* 61, 380–388, <http://dx.doi.org/10.2111/06-155.1>.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B.M., Walker, S.C., 2014. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J. Stat. Softw.* 67, <http://dx.doi.org/10.18637/jss.v067.i01>.

- Bates, D., Maechler, M., Bolker, B., Walker, S., Christensen Bojesen, R.H., Singmann, H., Dai, B., Scheipl, F., Grothendieck, G., 2019. Package "lme4".
- Bessega, C., Saidman, B.O., Vilardi, J.C., 2005. Genetic relationships among American species of *Prosopis* (Leguminosae) based on enzyme markers. *Genet. Mol. Biol.* 28, 277–286.
- Bessega, C., Pometti, C., Campos, C., Saidman, B.O., Vilardi, J.C., 2017. Implications of mating system and pollen dispersal indices for management and conservation of the semi-arid species *Prosopis flexuosa* (Leguminosae). *For. Ecol. Manage.* 400, 218–227.
- Boeri, P., Piñuel, L., Sharry, S., Barrio, D., 2017. Caracterización nutricional de la harina integral de albarroba (*Prosopis alata*) de la norpatagonia Argentina. *Rev. Fac. Agron.* 116, 129–140.
- Bouzat, J.L., 2010. Conservation genetics of population bottlenecks: the role of chance, selection, and history. *Conserv. Genet.* 11, 463–478. <http://dx.doi.org/10.1007/s10592-010-0049-0>.
- Breed, M.F., Ottewill, K.M., Gardner, M.G., Marklund, M.H.K., Dormontt, E.E., Lowe, A.J., 2015. Mating patterns and pollinator mobility are critical traits in forest fragmentation genetics. *Heredity* (Edinb.) 115, 108–114. <http://dx.doi.org/10.1038/hdy.2013.48>.
- Burgi, M.V., Marino, A., Rodríguez, M.V., Pazos, G., Baldi, R., 2012. Response of guanacos *Lama guanicoe* to changes in land management in Península Valdés, Argentine Patagonia: conservation implications. *Oryx* 46, 99–105. <http://dx.doi.org/10.1017/S0030605311000214>.
- Burkart, A., 1976. A monograph of the genus *Prosopis* (Leguminosae subfam. Mimosoideae). *J. Arnold Arb.* 57, 450–525.
- Busso, C.A., Fernández, O.A., 2017. Arid and semiarid rangelands of Argentina. In: Gaur, M.K., Squires, V.R. (Eds.), *Climate Variability Impacts on Land Use and Livelihoods in Drylands*, pp. 261–291. <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-56681-8>.
- Cabrera, A.L., 1966. Esquema fitogeográfico de la República Argentina. *Botánica* 3, 87–168.
- Campos, C.M., Campos, V.E., Mongeaud, A., Borghi, C.E., De Los Ríos, C., Giannoni, S.M., 2011. Relationships between *Prosopis flexuosa* (Fabaceae) and cattle in the Monte desert: seeds, seedlings and saplings on cattle-use site classes. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 84, 289–299. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-078X2011000200013>.
- Cariaga, R.E., Agüero, P.R., Ravetta, D.A., Vilela, A.E., 2005. Differences in production and mortality of reproductive structures in two *Prosopis* L. (Mimosaceae) shrub species from Patagonia, Argentina. *J. Arid Environ.* 63, 696–705. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaridenv.2005.03.025>.
- Castilla, A.R., Garrote, P.J., Żywiec, M., Calvo, G., Suárez, A., Miguél, E., José, D., Picó, F.X., Fedriani, J.M., 2019. Genetic rescue by distant trees mitigates qualitative pollen limitation imposed by fine-scale spatial genetic structure. *Mol. Ecol.* 28, 4363–4374. <http://dx.doi.org/10.1111/mec.15233>.
- Catalano, S.A., Vilardi, J.C., Tosto, D., Saidman, B.O., 2008. Molecular phylogeny and diversification history of *Prosopis* (Fabaceae: Mimosoideae). *Biol. J. Linn. Soc.* 93, 621–640.
- Cerda, N.V., Tadey, M., Farji-Brener, A.G., Navarro, M.C., 2012a. Effects of leaf-cutting ant refuse on native plant performance under two levels of grazing intensity in the Monte Desert of Argentina. *Appl. Veg. Sci.* 15, 479–487. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1654-109X.2012.01188.x>.
- Cerda, N.V., Tadey, M., Farji-Brener, A.G., Navarro, M.C., 2012b. Effects of leaf-cutting ant refuse on native plant performance under two levels of grazing intensity in the Monte Desert of Argentina. *Appl. Veg. Sci.* 15, 479–487. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1654-109X.2012.01188.x>.
- Charlesworth, D., Charlesworth, B., 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 18, 237–268.
- Chiappa, E., Villaseñor, R., Toro, H., Covarrubias, R., 1997. Táctica reproductiva de *Prosopis* (Mimosaceae) y asociaciones ecológicas de sus polinizadores, en el desierto del norte de Chile. *Multequina* 6, 9–20.
- Connell, J.H., 1978. Diversity in Tropical Rain Forests and coral reefs. *Science* (80-) 199, 1302–1310.
- Cornuet, J.M., Luikart, G., 1996. Power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 114, 2001–2014.
- Correa, M.N., 1984. *Prosopis*. In: Correa, M.N. (Ed.), *Flora Patagónica. Colección Científica Del INTA*, pp. 258–267.
- Couvet, D., 2002. Deleterious effects of restricted gene flow in fragmented populations. *Conserv. Biol. Perspect. Desde América Lat.* 16, 369–376.
- Davies, I.D., Cary, G.J., Landguth, E.L., Lindenmayer, D.B., Banks, S.C., 2016. Implications of recurrent disturbance for genetic diversity. *Ecol. Evol.* 6, 1181–1196. <http://dx.doi.org/10.1002/ece3.1948>.
- de Vere, N., Jongejans, E., Plowman, A., Williams, E., 2009. Population size and habitat quality affect genetic diversity and fitness in the clonal herb *Cirsium dissectum*. *Oecologia* 159, 59–68. <http://dx.doi.org/10.1007/s00442-008-1203-y>.
- FAO, 2019. The State of the World's Biodiversity for Food and Agriculture. The State of the World's Biodiversity for Food and Agriculture. <http://dx.doi.org/10.4060/ca3129en>.
- Fernández, F.J., Teta, P., Mange, E., Prates, L., Venanzi, L.G., Pardiñas, U.F.J., 2016. Micromamíferos del sitio arqueológico Cueva Galpón (Río Negro, Argentina): aspectos tafonómicos y reconstrucción paleoambiental para el Holoceno Tardío en Norpatagonia oriental. *Arqueología* 22, 105–124. <http://dx.doi.org/10.34096/arqueologia.t22.n0.3279>.
- Ferrari, S., Cribari-neto, F., Ferrari, S.L.P., Cribari-neto, F., 2010. Beta regression for modelling rates and proportions beta regression for modelling rates and proportions. *J. Appl. Stat.* 31, 18. <http://dx.doi.org/10.1080/0266476042000214501>.
- Ferreira, L.I., Bessega, C., Vilardi, J.C., Saidman, B.O., 2007. Consistency of population genetics parameters estimated from isozyme and RAPDs dataset in species of genus *Prosopis*. *Genetica* 131, 217–230. <http://dx.doi.org/10.1007/s10709-006-9132-3>.
- Fischer, J., Lindenmayer, D.B., 2007. Landscape modification and habitat fragmentation: a synthesis. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 16, 265–280. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1466-8238.2006.00287.x>.
- Fisher, R.A., Turner, N.C., 1978. Plant productivity in the arid and semiarid zones. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 29, 277–317.
- Flores, C.E., Cingolani, A.M., Von Miller, A., Barri, F.R., 2012. Habitat selection by reintroduced guanacos (*Lama guanicoe*) in a heterogeneous mountain rangeland of central Argentina. *Rangel. J.* 34, 439–445. <http://dx.doi.org/10.1071/RJ12040>.
- Frankham, R., 1995. Conservation genetics. *Annu. Rev. Genet.* 29, 305–327.
- Frankham, R., Ballou, J.D., Briscoe, D.A., 2002. *Introduction to Conservation Genetics*, 1st ed. Cambridge University Press, Melbourne, Madrid.
- Frankham, R., Ballou, J.D., Briscoe, D.A., 2015. *Introduction to conservation genetics*. *Eff. Br. mindfulness Interv. acute pain Exp. An Exam. Individ. Differ.* 1, 1689–1699. <http://dx.doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.
- Fredericksen, T.S., Justiniano, M.J., Mostacedo, B., Kennard, D., McDonald, L., 2000. Comparative regeneration ecology of three leguminous timber species in a Bolivian tropical dry forest. *New For.* 20, 45–64. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1006735819449>.
- Fu, Y., Thompson, D., Willms, W., Mackay, M., 2005. Long-term grazing effects on genetic variability in mountain rough fescue. *Rangeland Ecol. Manage.* 58, 637–642.
- Gandon, S., 1999. Kin competition, the cost of inbreeding and the evolution of dispersal. *J. Theor. Biol.* 200, 345–364. <http://dx.doi.org/10.1006/jtbi.1999.0994>.
- Gandon, S., Michalakis, Y., 1999. Evolutionarily stable dispersal rate in a metapopulation with extinctions and kin competition. *J. Theor. Biol.* 199, 275–290. <http://dx.doi.org/10.1006/jtbi.1999.0960>.
- García-Fernández, A., Manzano, P., Seoane, J., Azcárate, F.M., Iriondo, J.M., Peco, B., 2019. Herbivore corridors sustain genetic footprint in plant populations: a case for Spanish drove roads. *PeerJ* 7, 1–27. <http://dx.doi.org/10.7717/peerj.7311>.
- González Galán, A., Corréa Duarte, A., Patto de Abreu, C.M., Piccolo Barcelos, M.F., 2008. Caracterización química de la harina del fruto de *Prosopis* spp. procedente de Bolivia y Brasi. *Arch. Latinoam. Nutr.* 58, 309–315.
- González-Varo, J.P., Aparicio, A., Lavergne, S., Arroyo, J., Albaladejo, R.G., 2012. Contrasting heterozygosity–fitness correlations between populations of a self-compatible shrub in a fragmented landscape. *Genetica* 140, 31–38. <http://dx.doi.org/10.1007/s10709-012-9655-8>.
- Goudet, J., 1994. FSTAT: a computer program to calculate F-statistics. *J. Hered.* 86, 485–486.
- Grant, S.Q., 2010. Microsatellite Genetic Diversity of Northern Red Oak (*Quercus rubra* L.) in Western North Carolina pre- and Post- Chestnut Blight and pre- and Post-Harvest. Western Carolina University, Faculty of the Graduate School In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science.
- Hamilton, W.D., May, R.M., 1977. Dispersal in stable habitats. *Nature* 269, 578–581.
- Hanke, W., Bohner, J., Dreber, N., Jurgens, N., Schmiedel, U., Wesuls, D., Dengler, J., 2014. The impact of livestock grazing on plant diversity: an analysis across dryland ecosystems and scales in southern Africa. *Ecol. Appl.* 5, 1188–1203. <http://dx.doi.org/10.1890/13-0377.1>.
- Harder, L.D., 2014. Choice of individual flowers by bumble bees: interaction of morphology, time and energy. *Behaviour* 104, 60–77.
- Harris, P.J.C., 2003. Vegetative propagation of *Prosopis*. *Tissue Cult. For.* 3, 5–6.
- Hedrick, P.W., Kalinowski, S.T., 2000. Inbreeding depression in conservation biology. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 31, 139–162.
- Heinken, T., Weber, E., 2013. Consequences of habitat fragmentation for plant species: do we know enough? *J. PPEES* Sources 15, 205–216. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ppees.2013.05.003>.
- Hendry, A.P., Schoen, D.J., Wolak, M.E., Reid, J.M., 2018. The contemporary evolution of fitness. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 49, 457–476. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110617-062358>.
- Herman, J.J., Sultan, S.E., 2011. Adaptive transgenerational plasticity in plants: case studies, mechanisms, and implications for natural populations. *Front. Plant Sci.* 2, 1–10. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2011.00102>.
- Herrera, C.M., 2000. Flower-to-seedling consequences of different pollination regimes in an insect-pollinated shrub. *Ecology* 81, 15–29. [http://dx.doi.org/10.1890/0012-9658\(2000\)081\[0015:FTSCOD\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1890/0012-9658(2000)081[0015:FTSCOD]2.0.CO;2).
- Hobbs, N.T., Galvin, K.A., Stokes, C.J., Lockett, J.M., Ash, A.J., Boone, R.B., Reid, R.S., Thornton, P.K., 2008. Fragmentation of rangelands: implications for humans, animals, and landscapes. *Glob. Environ. Change* 18, 776–785. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2008.07.011>.
- Hoffmann, A.A., Parsons, P.A., 1991. *Evolutionary Genetics and Environmental Stress*. Cambridge University Press (CUP). <http://dx.doi.org/10.1017/s0016672300030172>.
- INTA, 2011. Proyecto de prevención y lucha contra la desertificación para el desarrollo sustentable de la Patagonia. PRODESAR. Inf. Audit. gestión Ambient.
- Jennemten, O.L.A., 1988. Pollination in *Dianthus deltoides* (Caryophyllaceae): effects of habitat fragmentation on visitation and seed set. *Conserv. Biol.* 2, 359–366.
- Keller, L.F., Waller, D.M., 2002. Inbreeding effects in wild populations. *Trends Ecol. Evol.* 17, 230–241. [http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347\(02\)02489-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347(02)02489-8).
- King, J.N., Dancik, B.P., 1983. Inheritance and linkage of isozymes in white spruce (*Picea glauca*). *Can. J. Genet. Cytol.* 25, 430–436. <http://dx.doi.org/10.1139/g83-066>.



- Kolb, A., 2008. Habitat fragmentation reduces plant fitness by disturbing pollination and modifying response to herbivory. *Biol. Conserv.* 141, 2540–2549, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2008.07.015>.
- Labouche, A.M., Richards, S.A., Pannell, J.R., 2017. Effects of pollination intensity on offspring number and quality in a wind-pollinated herb. *J. Ecol.* 105, 197–208, <http://dx.doi.org/10.1111/1365-2745.12659>.
- Lande, R., 1994. Risk of population extinction from fixation of new deleterious mutations. *Evolution* (N. Y.) 48, 1460–1469.
- Langford, R., Kokko, H., Eyre-Walker, A., 2014. Population size and the rate of evolution. *Trends Ecol. Evol.* 29, 33–41, <http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2013.09.009>.
- Lázaro, A., Tscheulin, T., Devalez, J., Nakas, G., Petanidou, T., 2016. Effects of grazing intensity on pollinator abundance and diversity, and on pollination services. *Ecol. Entomol.* 41, 400–412, <http://dx.doi.org/10.1111/een.12310>.
- Legendre, P., Legendre, L., 1998. Numerical ecology, second. Ed. Dev. Environ. Model. 20, <http://dx.doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.
- Lehtilä, K., Strauss, S.Y., 1997. Leaf damage by herbivores affects attractiveness to pollinators in wild radish, *Raphanus raphanistrum*. *Oecologia* 111, 396–403, <http://dx.doi.org/10.1007/s004420050251>.
- Leimu, R., Mutikainen, P., Koricheva, J., Fischer, M., 2006. How general are positive relationships between plant population size, fitness and genetic variation? *J. Ecol.* 94, 942–952, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2745.2006.01150.x>.
- Leon, R.J.C., Bran, D., Collantes, M., Paruelo, J.M., Soriano, A., 1998. Grandes unidades de vegetación de la Patagonia extra andina. *Ecol. Austral* 8, 125–144.
- Li, W., Xu, F., Zheng, S., Taube, F., Bai, Y., 2017. Patterns and thresholds of grazing-induced changes in community structure and ecosystem functioning: species-level responses and the critical role of species traits. *J. Appl. Ecol.* 54, 963–975, <http://dx.doi.org/10.1111/1365-2664.12806>.
- Lloyd, M.W., Tumas, H.R., Neel, M.C., 2018. Limited pollen dispersal, small genetic neighborhoods, and biparental inbreeding in *Vallisneria americana*. *Am. J. Bot.* 105, 227–240, <http://dx.doi.org/10.1002/ajb2.1031>.
- Loveless, M.D., Hamrick, J.L., 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 15, 65–95.
- Luikart, G., Cornuet, J.M., 1998. Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. *Conserv. Biol.* 12, 228–237.
- Luikart, G., Allendorf, F.W., Cornuet, J.M., Sherwin, W.B., 1998. Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottlenecks. *J. Hered.* 89, 238–247.
- Lynch, M., Conery, J., Burger, R., 1995. Mutation accumulation and the extinction of small populations. *Am. Nat.* 146, 489–518, <http://dx.doi.org/10.1086/285812>.
- Maestre, F.T., Callaway, R.M., Valladares, F., Lortie, C.J., 2009. Refining the stress-gradient hypothesis for competition and facilitation in plant communities. *J. Ecol.* 97, 199–205, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2745.2008.01476.x>.
- Manley, J., Schuman, G., Reeder, J., Hert, R., 1995. Rangeland soil carbon and nitrogen responses to grazing. *J. Soil Water Conserv.* 50, 294–298.
- Marone, L., Lopez de Casenave, J., Milesi, F.A., Cueto, V.R., 2008. Can seed eating birds exert top down effects on grasses of the Monte Desert? *Oikos* 117, 611–619, <http://dx.doi.org/10.1111/j.2007.0030-1299.16506.x>.
- Mazzuca, M., Balzaretto, V.T., 2003. Fatty acids, sterols and other steroids from seeds of Patagonian *Prosopis* species. *J. Sci. Food Agric.* 83, 1072–1075, <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.1510>.
- Mehi, A.E., Rojo, L., de Francesco, C.G., Cerdeño, E., Forasiepi, A.M., 2019. El Pleistoceno de Mendoza: una síntesis geológica y paleontológica. *Opera Lilloana* 52, 537–573.
- Milesi, F.A., Marone, L., Lopez de Casenave, J., Cueto Victor, R., Mezquida, E.T., 2002. Gremios de manejo como indicadores de las condiciones del ambiente: un estudio de caso con aves y perturbaciones del hábitat en el Monte central, Argentina. *Ecol. Austral* 12, 149–161.
- Mitton, J.B., Linhart, Y.B., Sturgeon, K.B., Hamrick, J.L., 1979. Allozyme polymorphisms detected in mature needle tissue of ponderosa pine. *J. Hered.* 70, 86–89, <http://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a109220>.
- Moncada, X., Plaza, D., Stoll, A., Payacan, C., Seelenfreund, D., Martínez, E., Bertin, A., Squeo, F.A., 2019. Genetic diversity and structure of the vulnerable species *Prosopis chilensis* (Molina) Stuntz in the Coquimbo Region, Chile. *Gayana. Botánica* 76, 91–104, <http://dx.doi.org/10.4067/s0717-66432019000100091>.
- Mothershead, K., Marquis, R.J., 2000. Fitness impacts of herbivory through indirect effects on plant-pollinator interactions in *Oenothera macrocarpa*. *Ecology* 81, 30–40.
- Mulder, C.P.H., 1999. Vertebrate herbivores and plants in the arctic and subarctic: effects on individuals, populations, communities and ecosystems. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.* 2, 29–55.
- Olea, P.P., Mateo-Tomás, P., 2009. The role of traditional farming practices in ecosystem conservation: the case of transhumance and vultures. *Biol. Conserv.* 142, 1844–1853, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2009.03.024>.
- Oostermeijer, J.G.B., van Eijck, M.W., den Nijs, J.C.M., 1994. Offspring fitness in relation to population size and genetic variation in the rare perennial plant species *Gentiana pneumonanthe* (*Gentianaceae*). *Oecologia* 97, 289–296.
- Oostermeijer, J.G.B., Luijten, S.H., den Nijs, J.C.M., 2003. Integrating demographic and genetic approaches in plant conservation. *Biol. Conserv.* 113, 389–398, [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3207\(03\)00127-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3207(03)00127-7).
- Paez, S., Marco, D.E., 2000. Seedling habitat structure in dry Chaco forest (Argentina). *J. Arid Environ.* 46, 57–68, <http://dx.doi.org/10.1006/jare.2000.0648>.
- Paruelo, J.M., Aguiar, M.R., 2003. Impacto humano sobre los ecosistemas: El caso de la desertificación. *Cienc. Hoy* 13, 48–59.
- Paruelo, J.M., Beltran, A., Jobbagy, E., Sala, O.E., Golluscio, R.A., 1998. The climate of Patagonia: general patterns and controls on biotic processes. *Ecol. Austral* 8, 85–101.
- Pasiecznik, N.M., Felker, P., Harris, P.J.C., Harsh, L.N., Cruz, G., Tewari, J.C., Cadoret, K., Maldonado, L.J., 2001. The *Prosopis juliflora* - *Prosopis pallida* Complex: a Monograph. Coventry, UK.
- Peakall, R., Smouse, P.E., 2006. GENALEX 6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes* 6, 288–295, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>.
- Peakall, R., Smouse, P.E., 2012. GenALEX 6.5: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research — an update. *Bioinformatics* 28, 2537–2539, <http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>.
- Peterson, S., Wilson, K., Pemberton, J.M., 1998. Major histocompatibility complex variation associated with juvenile survival and parasite resistance in a large unmanaged ungulate population (*Ovis aries* L.). *Proc. Nat. Acad. Sci.* 95, 3714–3719.
- Piry, S., Luikart, G., Cornuet, J.M., 1999. Bottleneck: a computer program for detecting recent reduction in the effective population size using allele frequency data. *J. Hered.* 90, 502–503, <http://dx.doi.org/10.1093/jhered/90.4.502>.
- Pol, R.G., Sagario, M.C., Marone, L., 2014. Grazing impact on desert plants and soil seed banks: implications for seed-eating animals. *Acta Oecologica* 55, 58–65, <http://dx.doi.org/10.1016/j.actao.2013.11.009>.
- Pugnaire, F.I., Haase, P., Puigdefábregas, J., 1996. Facilitation between higher plant species in a semiarid environment. *Ecology* 77, 1420–1426.
- R Development Core Team, 2017. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing.
- Ramsey, M., Vaughton, G., 2016. Inbreeding depression and pollinator availability in a partially self-fertile perennial herb *Blandfordia grandiflora* (*Liliaceae*). *Oikos* 126, 465–474.
- Ranker, T.A., Haufler, C.H., Soltis, P.S., Soltis, D.E., Haufler, C.H., Ranker, T.A., Soltis, D.E., 1989. Genetic evidence for allopolyploidy in the neotropical fern *Hemionitis pinnatifida* (*Adiantaceae*) and the reconstruction of an ancestral genome. *Syst. Bot.* 14, 439–447.
- Reed, D.H., Frankham, R., 2003. Correlation between fitness and genetic diversity. *Conserv. Biol.* 17, 230–237.
- Reynolds, J.F., Smith, D.M.S., Lambin, E.F., Turner, B.L., Mortimore, M., Batterbury, S.P.J., Downing, T.E., Dowlatabadi, H., Fernandez, R.J., Herrick, J.E., Huber-Sannwald, E., Jiang, H., Leemans, R., Lynam, T., Maestre, F.T., Ayarza, M., Walker, B., 2007. Global desertification: building a science for dryland development. *Science* (80-) 316, 847–851, <http://dx.doi.org/10.1126/science.1131634>.
- Rice, K., Jain, S., 2013. Plant population genetics and evolution in disturbed environments. In: Pickett, S.T.A., White, P.S. (Eds.), *The Ecology of Natural Disturbance and Patch Dynamics*. ACADEMIC PRESS, INC., pp. 287–303, <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-050495-7.50021-1>.
- Root-Bernstein, M., Guerrero-Gatica, M., Piña, L., Bonacic, C., Svenning, J.-C., Jaksic, F.M., 2017. Rewilding-inspired transhumance for the restoration of semiarid silvopastoral systems in Chile. *Reg. Environ. Change* 17, 1381–1396, <http://dx.doi.org/10.1007/s10113-016-0981-8>.
- Rossi, B.E., Villagra, P.E., 2003. Effects of *Prosopis flexuosa* on soil properties and the spatial pattern of understorey species in arid Argentina. *J. Veg. Sci.* 14, 543–550, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1654-1103.2003.tb02181.x>.
- Shapira, T., Henkin, Z., Dag, A., Mandelik, Y., 2019. Rangeland sharing by cattle and bees: moderate grazing does not impair bee communities and resource availability. *Ecol. Appl.* 30, 1–35, <http://dx.doi.org/10.1002/eap.2066>.
- Shipley, B., 2000. A new inferential test for path models based on directed acyclic graphs. *Struct. Equ. Model.* 7, 206–218, <http://dx.doi.org/10.1207/S15328007SEM0702>.
- Shipley, B., 2009. Confirmatory path analysis in a generalized multilevel context. *Ecology* 90, 363–368, <http://dx.doi.org/10.1890/08-1034.1>.
- Shipley, B., 2016. Cause and Correlation in Biology: A User's Guide to Path Analysis, Structural Equations and Causal Inference With R, 2nd ed, The Quarterly Review of Biology. Cambridge University Press, <http://dx.doi.org/10.1086/420554>.
- Sih, A., Baltus, M.-S., 1987. Patch size, pollinator behavior, and pollinator limitation in catnip. *Ecology* 68, 1679–1690.
- Silva, M.P., Martínez, M.J., Coirini, R., Brunetti, M.A., Barlin, M., Karlin, U., 2000. Valoración nutritiva del fruto del algarrobo blanco (*Prosopis chilensis*) bajo distintos tipos de almacenamiento. *Multequina* 9, 65–74.
- Skaug, A.H., Fournier, D., Nielsen, A., Magnusson, A., Bolker, B., 2018. *glmmADMB: Generalized Linear Mixed Models using "AD Model Builder"*.
- Soltis, D.E., Haufler, C.H., Darrow, D.C., Gastony, G.J., 1983. Starch gel electrophoresis of ferns: a compilation of grinding buffers, gel and electrode buffers, and staining schedules. *Am. Fern J.* 73, 9–27, <http://dx.doi.org/10.2307/1546611>.
- Souto, C.P., Premoli, A.C., 2003. Genetic divergence among natural populations of *Alstroemeria Aurea* D. Don: A dominant clonal herb of the understorey in subalpine *Nothofagus* forests. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 44, 329–336.
- Souto, C.P., Tadey, M., 2018. Livestock effects on genetic variation of creosote bushes in Patagonian rangelands. *Environ. Conserv.* 46, 59–66, <http://dx.doi.org/10.1017/S0376892918000280>.

- Sternberg, M., Gutman, M., Perevolotsky, A., Kigel, J., 2003. Effects of grazing on soil seed bank dynamics: an approach with functional groups. *J. Veg. Sci.* 14, 375–386. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1654-1103.2003.tb02163.x>.
- Strauss, S.Y., Conner, J.K., Rush, S.L., 1996. Foliar herbivory affects floral characters and plant attractiveness to pollinators: implications for male and female plant fitness. *Am. Nat.* 147, 1098–1107.
- Tadey, M., 2006. Grazing without grasses: effects of introduced livestock on plant community composition in an arid environment in northern Patagonia. *Appl. Veg. Sci.* 9, 109–116. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1654-109X.2006.tb00660.x>.
- Tadey, M., 2007. Efectos del pastoreo sobre la polinización y reproducción de plantas del Monte Patagónico. Universidad Nacional del Comahue- Centro Regional Universitario Bariloche.
- Tadey, M., 2008. Efecto del ganado sobre los niveles de polinización en especies vegetales del monte patagónico. *Ecol. Austral* 18, 89–100. <http://dx.doi.org/10.2307/1479000>.
- Tadey, M., 2015. Indirect effects of grazing intensity on pollinators and floral visitation. *Ecol. Entomol.* 40, 451–460. <http://dx.doi.org/10.1111/een.12209>.
- Tadey, M., 2019. Should i stay or should i go? Indirect effects of livestock on bird nest-site selection in arid environments. *Rangel. J.* 41, 147–155. <http://dx.doi.org/10.1071/RJ18067>.
- Tadey, M., 2020. Reshaping phenology: grazing has stronger effects than climate on flowering and fruiting phenology in desert plants. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.* 42, 125501. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ppees.2019.125501>.
- Tadey, M., Farji-Brener, A.G., 2007. Discriminating direct and indirect effects of exotic grazers on native plant cover in the Monte desert of Argentina. *J. Arid Environ.* 69, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaridenv.2006.10.016>.
- Tadey, M., Souto, C.P., 2016. Unexpectedly, intense livestock grazing in arid rangelands strengthens the seedling vigor of consumed plants. *Agron. Sustain. Dev.* 36, 1–7. <http://dx.doi.org/10.1007/s13593-016-0400-z>.
- Tarin, P.K., Ohana-Levi, N., Herrmann, I., Zaady, E., Henkin, Z., Karnieli, A., 2016. Grazing intensity effects on soil quality: A spatial analysis of a Mediterranean grassland. *Catena* 146, 100–110. <http://dx.doi.org/10.1016/j.catena.2016.04.020>.
- Taylor, P.D., 1988. An inclusive fitness model for dispersal of offspring. *J. Theor. Biol.* 130, 363–378. [http://dx.doi.org/10.1016/S0022-5193\(88\)80035-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-5193(88)80035-3).
- Thoß, M., Ilmonen, P., Musikf, K., Penn, D.J., 2011. Major histocompatibility complex heterozygosity enhances reproductive success. *Mol. Ecol.* 20, 1546–1557. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05009.x>.
- Trlica, M.J., Rittenhouse, L.R., 1993. Grazing and plant performance. *Ecol. Appl.* 3, 21–23.
- Valentine, J.F., 2001. *Grazing Management*. Academic P. ed., San Diego, CA, US.
- Vega Riveros, C., Meglioli, P.A., Villagra, P.E., 2011. *Prosopis alpataco* Phil. (Fabaceae, Mimosoideae). *Kurtziana* 36, 53–64.
- Vigouroux, Y., McMullen, M., Hittinger, C.T., Houchins, K., Schulz, L., Kresovich, S., Matsuoka, Y., Doebley, J., 2002. Identifying genes of agronomic importance in maize by screening microsatellites for evidence of selection during domestication. *PNAS* 99, 9650–9655.
- Vilela, A.E., Ravetta, D.A., 2001. The effect of seed scarification and soil-media on germination, growth, storage, and survival of seedlings of five species of *Prosopis* L. (Mimosaceae). *J. Arid Environ.* 48, 171–184. <http://dx.doi.org/10.1006/jare.2000.0735>.
- Villagra, P., 1995. Temperature effects on germination of *Prosopis argentina* and *P. alpataco* (Fabaceae, Mimosoideae). *Seed Sci. Technol.* 23, 639–646.
- Villagra, P.E., Roig, A., 2002. Distribución geográfica y Fitosociología de *Prosopis argentina* y *P. alpataco* (Fabaceae, Mimosoideae). *Bol. Soc. Argentina Bot.* 37, 1–8.
- Villagra, P.E., Vilela, A., Giordano, C., Alvarez, J.A., Berlin, Heidelberg 2010. Ecophysiology of *Prosopis* Species From the Arid Lands of Argentina: What Do We Know About Adaptation to Stressful Environments?, in: K., R. (Ed.), *Desert Plants*, pp. 321–340. <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-02550-1>.
- Villavicencio, N.A., Lindsey, E.L., Martin, F.M., Borrero, L.A., Moreno, P.I., Marshall, C.R., Barnosky, A.D., 2016. Combination of humans, climate, and vegetation change triggered late quaternary megafauna extinction in the Última Esperanza region, southern Patagonia, Chile. *Ecography (Cop.)* 39, 125–140. <http://dx.doi.org/10.1111/ecog.01606>.
- Waser, N.M., Price, M.V., 1989. Optimal outcrossing in ipomopsis aggregata: seed set and offspring fitness. *Evolution (N. Y.)* 43, 1097. <http://dx.doi.org/10.2307/2409589>.
- Wilkinson, D.M., 1999. The disturbing history of intermediate disturbance. *Oikos* 84, 145–147.
- William, K., Jafri, L., 2016. Mesquite (*Prosopis juliflora*): livestock grazing, its toxicity and management. *J. Bioresour. Manag.* 2, 49–58.
- Williams, S.L., 2001. Reduced genetic diversity in eelgrass transplantations affects both population growth and individual fitness. *Ecol. Appl.* 11, 1472–1488. [http://dx.doi.org/10.1890/1051-0761\(2001\)011\[1472:RGDIET\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1890/1051-0761(2001)011[1472:RGDIET]2.0.CO;2).
- Winfree, R., Griswold, T., Kremen, C., 2007. Effect of human disturbance on bee communities in a forested ecosystem. *Conserv. Biol.* 21, 213–223. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1523-1739.2006.00574.x>.
- Wu, J., Gao, Y., Bao, X., Gao, H., Jia, M., Li, J., Zhao, N., 2010. Genetic variation among *Stipa grandis* P. Smirn populations with different durations of fencing in the Inner Mongolian Steppe. *Rangel. J.* 32, 427–434.
- Yeh, F., Boyle, R., Yang, R., Ye, Z., Mao, J., Yeh, D., 1999. Popgene version 1.31. A Microsoft window based freeware for population genetic analysis.
- Yirdaw, E., Tigabu, M., Monge, A., 2017. Rehabilitation of degraded dryland ecosystems – review. *Finnish Soc. For. Sci.* 51, 1–32.
- Young, A., Boyle, T., Brown, T., 1996. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends Ecol. Evol.* 11, 413–418. [http://dx.doi.org/10.1016/0169-5347\(96\)10045-8](http://dx.doi.org/10.1016/0169-5347(96)10045-8).
- Zuur, A.F., Ieno, E.N., Walker, N.J., A, S.A., Smith, G.M., 2009. *Mixed Effects Lideks and Extensions in Ecology with R*, Public Health. Springer-Verlag, New York, New York. <http://dx.doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.