

Herbivoría y sequía en el Monte: Factores de estrés que afectan el crecimiento y el ataque de insectos en hojas y semillas de una especie forrajera

DAIANA. F. JAUME¹✉; CINTIA P. SOUTO¹ & MARIANA TADEY²

¹ Grupo de Genética Ecológica y Evolutiva. ² Grupo IdEAS, Laboratorio ECOTONO, INIBIOMA-CONICET.

RESUMEN. Además de estrés por sequía, las plantas de climas áridos suelen sufrir herbivoría por grandes mamíferos. Esto puede repercutir en su *fitness*, por lo que a menudo despliegan respuestas o defensas para contrarrestar este efecto, desarrollando mecanismos de tolerancia y resistencia. En este trabajo investigamos cómo la sequía y la herbivoría afectan el crecimiento de plántulas de *Atriplex lampa*, una especie forrajera del Monte Patagónico. En invernadero evaluamos si el estrés por herbivoría simulada afecta la presencia de pulgones en esta especie; a campo estudiamos si la herbivoría por grandes mamíferos afecta la granivoría por insectos. Encontramos que la sequía no afectó el crecimiento de la especie, sugiriendo que *A. lampa* posee mecanismos de tolerancia y adaptación a este tipo de estrés, mientras que la herbivoría redujo su crecimiento. Además, hallamos que un aumento en el estrés sufrido por las plántulas y —en menor grado— por sus parentales (origen de la semilla) se relaciona con una menor presencia de pulgones en las plántulas cultivadas en invernadero. Sin embargo, a campo observamos que a mayor carga ganadera, mayor granivoría por insectos. Los resultados del experimento en invernadero sugieren que *A. lampa* desarrolla algún tipo de defensa o que el estrés por la sequía y la herbivoría simulada disminuyen la atracción por pulgones. Los resultados a campo sugieren que esta especie no genera defensas o que estas se encuentran principalmente en tallos y hojas, y no en frutos. Nuestros resultados evidencian que *A. lampa* ha desarrollado estrategias de tolerancia a la sequía, pero es vulnerable a la herbivoría. Estos factores de estrés podrían estar ejerciendo presiones de selección sobre *A. lampa* que afectan procesos evolutivos y ecológicos, y, en consecuencia, a sus servicios ecosistémicos como especie forrajera clave en la región del Monte.

[Palabras claves: ambientes áridos, herbivoría, sequía, *Atriplex*, carga ganadera, pequeños herbívoros, arbustos]

ABSTRACT. Herbivory and drought in Monte Desert: Stress factors affecting growth and insect attack on leaves and seeds of a native species. Plants in arid environments are exposed to drought stress but also may suffer herbivory by large mammals. Since this may affect plant fitness, plants may display different responses and/or defences, developing tolerance and resistance mechanisms. In this work, we experimentally investigated how drought and herbivory affect seedling growth of a forage species, *Atriplex lampa*, from Patagonian Monte Desert. In addition, we evaluated in a greenhouse whether simulated herbivory stress affects the presence of aphids, and in the field whether herbivory by large mammals affects insect granivory in this species. We found that drought did not affect the species growth, suggesting toleration or adaptation to drought condition, while herbivory reduced its growth. In addition, we found that a higher level of stress on seedlings and, to minor extent, on parent (seed origin) is related to a lower presence of aphids on the seedlings growth in the greenhouses. However, at field conditions, we observed that the higher the stocking rate, the higher the insect granivory. The results from the greenhouse experiment suggest that this species develops some kind of defences or a decrease in aphid attraction caused by drought stress and the simulated herbivory. In contrast, field results imply that this species does not develop any defences or that they are mainly found in stems and leaves, but not in fruits. Our results show that *A. lampa* has developed drought tolerance strategies but is vulnerable to herbivory. These stress factors could be exerting selection pressures on *A. lampa* that affect evolutionary and ecological processes and, consequently, its ecosystem services as a key forage species in the Monte Region.

[Keywords: drylands; grazing pressure; drought; *Atriplex*; livestock density; shrubland; small herbivores]

INTRODUCCIÓN

Los factores de estrés pueden ejercer presiones de selección y modelar la evolución, el funcionamiento y la estabilidad de los ecosistemas (McCluney et al. 2011). Distintos factores de estrés afectan el desarrollo, el crecimiento y la reproducción de las plantas, afectando su ajuste ecológico y su supervivencia (Bacelar et al. 2012; Osakabe et al. 2014; Dickman et al. 2019). En los ecosistemas áridos, la sequía impone el principal factor de estrés abiótico (Rotondi et al. 2003; Lambers et al. 2008; Micco and Arrone 2012). Además, la vegetación puede estar sometida a estrés biótico por herbivoría, generado por distintos organismos como mamíferos y artrópodos, que pueden afectarla de diferentes maneras (Oduor et al. 2010; Aguirrebengoa et al. 2018). En respuesta a estos factores de estrés, las plantas pueden desarrollar diversas respuestas o estrategias asociadas a rasgos defensivos (e.g., espinas). Estos rasgos se transmiten entre generaciones, lo que permite que las especies se adapten y perduren en el tiempo (Mertens et al. 2021). Conocer la respuesta simultánea de la vegetación a dos de los principales factores de estrés (e.g., herbivoría y sequía) e investigar si dichos rasgos se pueden transmitir entre generaciones es importante para comprender la ecología y los procesos evolutivos de la vegetación de zonas áridas, donde, en general, estos factores se estudian de forma independiente (Ruppert et al. 2015; Verwijmeren et al. 2021).

El estrés, ya sea abiótico o biótico, puede desencadenar distintos tipos de respuestas en las plantas (Atkinson 2012). Un estrés abiótico como la sequía puede generar respuestas que le permitan a las plantas tolerar el estrés. Estas respuestas implican la modificación de procesos fisiológicos o bioquímicos que protegen el funcionamiento metabólico y permiten una mayor absorción o retención del agua, como la síntesis de metabolitos secundarios (Chiappero et al. 2019; Fernández 2020), el cierre estomático y la actividad fotosintética (Liu et al. 2019; Talbi et al. 2020). Por su parte, un estrés biótico como la herbivoría desencadena el desarrollo de estrategias defensivas con mecanismos que ayudan a evitar, resistir o tolerar dicho estrés. Dentro de los mecanismos de evasión se encuentra el desarrollo de rasgos que reducen la probabilidad de encuentro con el herbívoro; por ejemplo, reduciendo su tamaño (Boege and Marquis 2005). En cambio, los mecanismos de resistencia involucran rasgos fenológicos,

estructurales o químicos que perjudican la calidad de la planta como alimento; por ejemplo, la síntesis de metabolitos secundarios, la presencia de espinas o el aumento en la abundancia de tricomas (Hanley et al. 2007). Por último, los mecanismos de tolerancia permiten la regeneración de los tejidos dañados (compensación) o, inclusive, un mayor crecimiento como sobrecompensación del daño (Paige 1992; Strauss and Agrawal 1999; Tiffin 2000; Quiroga et al. 2010; Fornoni 2011). Una misma especie vegetal puede desarrollar simultáneamente diferentes tipos de respuestas y estrategias según el estrés y el tipo de interacciones que enfrente.

A su vez, diferentes tipos de herbívoros pueden desencadenar distintas estrategias de defensa anti-herbivoría. Por ejemplo, se demostró que el ganado selecciona y consume individuos (o partes de ellos) de acuerdo con su disponibilidad, palatabilidad y calidad nutricional (Borrelli and Oliva 2001; Tadey 2006). Así, el desarrollo de estrategias como la sobrecompensación parecería adecuado para enfrentar este tipo de herbivoría. Estas estrategias son comunes en las gramíneas (Strauss and Agrawal 1999; Fortes et al. 2004). Por otro lado, los insectos fitófagos, como los pulgones, se alimentan de la savia de sus plantas hospedadoras, de donde obtienen principalmente aminoácidos, algunos de ellos con alto contenido de nitrógeno (Nowak and Komor 2010). Antes de establecer la interacción, los pulgones son capaces de detectar señales volátiles y superficiales de las plantas, como la presencia de algunos metabolitos secundarios, lo que determina la selección de la planta objetivo (Pickett et al. 1992). Ante este tipo de herbívoro, la mejor estrategia de defensa sería generar mecanismos de resistencia, como la síntesis de metabolitos secundarios. No obstante, la acción conjunta de diversos tipos de herbívoros en algunas especies vegetales puede desencadenar simultáneamente diversas respuestas, involucrando tanto mecanismos de tolerancia como de resistencia (Rauscher 2001). Este hecho puede resultar evolutivamente inestable (Núñez-Farfán et al. 2007). La capacidad de respuesta simultánea a los diferentes tipos de estrés dependerá no solo de la duración, la frecuencia y la intensidad de cada factor (Christensen et al. 2006; Desprez-Loustau et al. 2006; Rennenberg et al. 2006), sino también de los costos que implique desarrollar dichas estrategias.

Los costos de defensa pueden repercutir en el *fitness* de las plantas (Huot et al. 2014). Por

ejemplo, la síntesis de metabolitos secundarios como alcaloides y glucosinatos para defensa frente a los herbívoros consume cantidades significativas de nitrógeno, lo que limita el crecimiento de las plantas (Van Dam 2009). Algunas reducen los costos de estas estrategias defensivas al producir estrategias que son útiles frente a más de un tipo de herbívoro. Se observó que la defoliación por herbivoría induce un aumento en la densidad de tricomas en las hojas, lo que disminuye su palatabilidad para los mamíferos (Raufirad et al. 2016). Al mismo tiempo, el aumento en la densidad de tricomas dificulta el movimiento y el consumo por insectos herbívoros en la planta (Agrawal and Fishbein 2006; Belete 2018). Las estrategias de tolerancia frente a la sequía pueden implicar costos como menor turgencia, tasa de fotosíntesis o asimilación de nutrientes (Van Dam 2009; Khasanova et al. 2013; Huot et al. 2014; León-Sánchez et al. 2020). Sin embargo, una menor turgencia o calidad nutricional reducen la atracción y la probabilidad de daño por insectos herbívoros (Raven 1983; Gely et al. 2020). Esto llevó a plantear que la herbivoría y la sequía son factores de estrés que interactúan de manera convergente sobre un mismo carácter fenotípico (Coughenour 1985; Milchunas et al. 1987; Golluscio et al. 2011). Por ejemplo, la síntesis de oxalato de calcio en altas concentraciones puede intoxicar al ganado, al mismo tiempo que desarrolla una importante función fisiológica en el mantenimiento del balance iónico (Osmond 1963), lo cual representa una respuesta ventajosa frente al estrés por sequía y herbivoría. Sin embargo, no todos los rasgos que confieren una ventaja adaptativa frente al estrés por herbivoría otorgan además una ventaja frente al estrés por sequía, y viceversa (Cibils et al. 1998; Tadey and Farji-Brener 2007; Tadey 2020). La respuesta simultánea a los diferentes tipos de estrés dependerá sobre todo de las estrategias y de los recursos disponibles de las plantas.

La región del Monte Patagónico ha sufrido sobrepastoreo no regulado durante casi un siglo y presenta serios problemas de desertificación (Tadey 2006; Gaitán et al. 2018). La baja cobertura de especies herbáceas en la región (Cabrera 1966; Tadey 2006) hace que los arbustos nativos se conviertan en la principal fuente de alimento del ganado. Dentro de las especies más consumidas se encuentra *Atriplex lampa* (Moq.) D. Dietr, un arbusto halófito con metabolismo C4, de amplia distribución en el desierto del Monte. Además, pequeños

insectos, como los bruquiiónidos (Coleóptera) consumen mucho sus frutos y semillas (Cibils et al. 1998). En *A. subspicata*, otra especie del mismo género, se observó que la herbivoría por pequeños insectos disminuye la tasa fotosintética y, por lo tanto, su crecimiento (Nabity et al. 2006). A su vez, los individuos de una especie herbácea que sufrieron mayor consumo de sus semillas por insectos granívoros presentaron una descendencia con mayor resistencia a ungulados (Aguirrebengoa et al. 2018). Si bien se sabe que, en general, ambos tipos de herbívoros pueden afectar el crecimiento de las plantas, aún se desconoce si la interacción de los dos tipos de herbivoría (mamíferos e insectos) sufrida en la generación parental se relaciona con la respuesta a la herbivoría por insectos fitófagos en la descendencia de especies arbustivas. Tampoco se conoce si la sequía puede afectar de forma simultánea la respuesta a distintos tipos de herbívoros. Este trabajo aportará conocimiento sobre cómo los distintos herbívoros ejercen fuerzas de selección que pueden impactar en las interacciones planta-herbívoro de su descendencia, condicionadas por la sequía.

Elegimos como especie modelo a *A. lampa* para estudiarla experimentalmente en condiciones de invernadero y a campo a lo largo de un gradiente de carga ganadera en el Monte Patagónico. En la condición de invernadero las plantas sufrieron daño por pulgones, lo que nos permitió evaluar las siguientes hipótesis: 1) la herbivoría por ganado y la sequía son factores de estrés que afectan el crecimiento de *A. lampa*. Bajo condiciones controladas en invernadero, realizamos un experimento sembrando semillas de *A. lampa* (descendencia) provenientes de plantas con distintos grados de pastoreo (origen). A las mismas les aplicamos tratamientos simulando sequía y herbivoría por grandes mamíferos. Esperamos que la tasa de crecimiento de plántulas de *A. lampa* sometidas a algún factor de estrés sea menor que la de las plántulas del tratamiento control (sin herbivoría, ni sequía); 2) el estrés que sufren las plantas (herbivoría y sequía) puede afectar su interacción con otros organismos, como los pequeños herbívoros. La herbivoría generada por grandes mamíferos puede desencadenar el desarrollo de defensas que permitan disminuir la herbivoría por insectos, tanto en la generación parental como en su descendencia. Alternativamente, el estrés por sequía, al reducir la turgencia y la asimilación de nutrientes en las plantas, posiblemente disminuye la atracción de insectos fitófagos.

Esperamos que plantas sometidas a mayores niveles de estrés presenten menor herbivoría por insectos fitófagos y menor granivoría. En el invernadero, esperamos que plantas bajo tratamientos de sequía o herbivoría tengan menor presencia de pulgones, y a campo, que a medida que aumenta la carga ganadera disminuya la proporción de semillas consumidas por granívoros, y 3) si los mecanismos de defensa inducidos en la generación parental se pueden transmitir a su descendencia, el origen de la semilla signará la propensión al daño por pequeños herbívoros en la progenie. En el invernadero, esperamos que las plántulas obtenidas a partir de semillas provenientes de campos altamente pastoreados sean menos atacadas por pulgones que aquellas provenientes de campos poco pastoreados o sin pastoreo. El estudio simultáneo de la respuesta de las plantas al estrés por herbivoría y sequía permitirá comprender mejor el impacto del cambio en el uso de la tierra sobre el funcionamiento de los ecosistemas áridos (Choat et al. 2012; Anderegg et al. 2013), así como dar soporte a decisiones de prácticas de manejo, restauración y estrategias de conservación de estos ambientes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio

El área de estudio se encuentra localizada entre Arroyito (39°5' S - 68°35' O) y Villa El Chocón (39°17' S - 68°55' O), en la provincia de Neuquén, al noroeste de la Patagonia argentina. La región pertenece a la provincia

fitogeográfica del Monte. La vegetación tiene una fisonomía de estepa arbustiva, dominada por el género *Larrea* asociado a otros arbustos xerófilos como *A. lampa*, *Monttea aphylla* y *Prosopis alpataco* (Cabrera 1966). Las gramíneas son escasas y representan solo 6% de la cobertura vegetal (Tadey 2006). La temperatura media anual es 15 °C, con una mínima absoluta de -12.8 °C durante el invierno y una máxima absoluta de 42.3 °C en verano (Autoridad Interjurisdiccional de las Cuencas de los ríos Limay, Neuquén y Negro, Estación Meteorológica de El Chocón). La precipitación media anual es 180 mm, con lluvias distribuidas a lo largo del año (Paruelo et al. 1998; Roig-Juñent et al. 2001). La producción ganadera es el sustento económico principal de los pobladores locales de bajos recursos que no aplican un manejo ganadero adecuado (Guevara et al. 2009). Para realizar este estudio seleccionamos 12 campos que difieren en sus cargas ganaderas, pero que comparten similar tipo de ambiente, clima, fisonomía vegetal y características edáficas. Los campos están situados casi consecutivamente a lo largo de la ruta nacional 237. La distancia máxima entre ellos es de ~42 km y su área varía entre 4000 y 25000 ha. En los campos, el ganado pastorea libremente a lo largo de todo el año y está representado por una mezcla de vacunos, equinos, caprinos y ovinos (Tadey 2006). La carga ganadera de cada campo está expresada en unidades ganaderas (UG) por hectárea, ponderadas por los años de pastoreo al que fueron sometidos los campos, variando entre 0 y 1.63 UG/ha x años de pastoreo (datos otorgados por los dueños de los campos) (Tabla 1). La historia

Table 1. Livestock composition in each rangeland. Grazing history was estimated as the number of years that the rangeland was subjected to grazing at the moment of the study; stocking rate for each rangeland is expressed as animal units/ha¹ x years; stocking rate. Animal units were transformed to their equivalent on cattle units (see Materials and Methods). Livestock level corresponds to the grazing intensity in each rangeland.

Tabla 1. Composición de especies de ganado en cada campo. La historia de pastoreo está expresada como cantidad de años que el campo estuvo pastoreado por ganado hasta el momento del estudio; la carga ganadera para cada campo está expresada en unidades ganaderas ha⁻¹ x años; el nivel de carga ganadera corresponde a la intensidad de carga ganadera. Las unidades ganaderas fueron transformadas a su equivalente en vacas (ver Materiales y Métodos).

Campo	Especies ganaderas presentes	Historia de pastoreo (años)	Carga ganadera (UG/ha x año)	Nivel de carga
1	Ninguna	0	0	Nula
2	Ninguna	0	0	Nula
3	Ganado vacuno y caballos	30	0.06	Baja
4	Ganado vacuno y caballos	30	0.075	Baja
5	Ganado vacuno, caballos, cabras y ovejas	30	0.11	Media
6	Ganado vacuno y caballos	30	0.117	Media
7	Ganado vacuno y caballos	10	0.132	Media
8	Ganado vacuno, caballos y ovejas	10	0.212	Media
9	Ganado vacuno, caballos y cabras	10	0.631	Alta
10	Ganado vacuno y caballos	10	0.696	Alta
11	Ganado vacuno, caballos y cabras	30	0.924	Alta
12	Ganado vacuno, caballos y ovejas	30	1.632	Alta

de pastoreo es la cantidad de años aproximada con presencia de ganado de cada campo. A su vez, las unidades ganaderas se expresan como su equivalente en vacas por hectárea, calculado según la metodología propuesta por Vallentine (2000), donde: 1 caballo=1.25 vacas, 1 cabra=0.17 vacas y las ovejas=0.3 vacas. El ramoneo dentro de los campos y lejos de los puestos o de las costas del río y lago es bastante uniforme, es decir, sin un gradiente de intensidad de ramoneo. Si bien las cargas ganaderas de los campos estudiados son bajas en comparación con otros sitios, en esta región una carga de 1.63 UG/ha x años de pastoreo representa una alta presión ganadera con serias consecuencias sobre la vegetación (Tadey 2006; Guevara et al. 2009).

Especie focal

Atriplex lampa es un arbusto que pertenece a la familia Quenopodiáceas, llamado comúnmente zampa o cachiyuyo. Es una especie dioica con una amplia distribución en el Monte. Tiene flores pequeñas polinizadas por el viento y frutos consumidos por pequeños insectos granívoros (Cabrerá 1966; Mantovan and Candia 1995; Tadey et al. 2009). *A. lampa* posee hojas perennes con un alto valor proteico, por lo cual constituye un recurso forrajero importante en las zonas áridas, sobre todo en períodos de sequía (Cibils et al. 1998). Además del ganado, la consumen pequeños herbívoros; sobre todo, representantes de las familias Bruchidae (Coleóptera), Psocidae (Psocoptera), Anyphaenidae (Araneae), Psyllidae (Hemíptera), Miridae (Hemíptera) y Chrysomelidae (Coleóptera) (Martínez 2018). A su vez, se reportaron daños por pulgones en tallos y brotes nuevos; estos insectos utilizan sus estiletes para establecer un sitio de alimentación en el floema (Puig et al. 2006), lo que podría repercutir en el crecimiento de la planta y en el consumo de nitrógeno necesario para la síntesis de metabolitos secundarios defensivos.

Diseño experimental y medición de variables

Recolectamos al azar frutos maduros de al menos 10 plantas de *A. lampa* en cada uno de los 12 campos, tratando de abarcar la mayor superficie dentro de cada uno. Además, en cada planta muestreada registramos su altura, el diámetro de la copa y el porcentaje de ramoneo producido por el ganado, estimado como el número de ramas dañadas sobre el número total de ramas. Los frutos recolectados fueron guardados en bolsas de

papel, separadas por individuo, y luego, en el laboratorio, cuantificamos las semillas viables, los frutos vanos y aquellos consumidos por pequeños herbívoros. Los frutos con semillas viables son aquellos sin daño que resistieron una ligera presión manual. Los frutos vanos son aquellos de menor tamaño y sin presencia de semillas, y los frutos dañados por insectos muestran un pequeño orificio de entrada con restos de heces adentro (Busso and Bonvissuto 2009; Romera et al. 2013; Dágata et al. 2021). En total analizamos 6397 frutos provenientes de 110 plantas de 12 campos muestreados, ~60 frutos por planta y 10 plantas por campo. No incluimos en el análisis de datos al campo con mayor carga ganadera debido a que no encontramos individuos de *A. lampa* con frutos. Sembramos las semillas viables para obtener la descendencia y realizar el experimento de simulación de ramoneo por grandes herbívoros y sequía, bajo condiciones controladas de invernadero. Una vez que obtuvimos al menos 60 plántulas por campo (6 por planta madre), las trasplantamos a macetas de 20 cm³ con suelo fértil comercial. Asignamos a cada plántula uno de los siguientes tratamientos: 1) control, sin tratamiento de herbivoría y riego a demanda (C); 2) bajo ramoneo (BR); 3) alto ramoneo (AR); 4) sequía (S); 5) bajo ramoneo y sequía (BR+S), y 6) alto ramoneo y sequía (AR+S) (Figura 1). Los tratamientos de ramoneo consistieron en cortes mecánicos con tijeras, eliminando 20 y 80% del tejido foliar en tratamientos de BR y AR, respectivamente. Estos tratamientos simulaban el daño que suelen sufrir por el ganado, y los porcentajes de ramoneo reflejaron los valores promedio obtenidos a campo con nivel de carga ganadera baja y alta, respectivamente (Tadey 2006). Repetimos este procedimiento tres veces, brindándole a las plántulas entre 3 y 4 meses de recuperación entre cortes. Las semillas fueron sembradas en octubre de 2018, y el primer tratamiento fue realizado en enero de 2019, repitiéndose en el mes de abril y julio del mismo año. Para lograr una diferencia en el régimen de riego (tratamientos de sequía), regamos a demanda las plantas de los tratamientos C, BR y AR, y una vez por cada tres veces regados dichos tratamientos, regamos los tratamientos S, BR+S y AR+S (Fernández 2020). El riego en las plantas sin sequía consistió en una frecuencia de tres veces por semana en verano y una vez por semana en invierno. Asimismo, los tratamientos de bajo ramoneo y sequía (BR+S) y alto ramoneo y sequía (AR+S) recibieron tanto la herbivoría simulada (cortes mecánicos con tijeras) como

los regímenes de sequía. Por último, todas las plántulas y tratamientos estaban expuestas a la presencia de pulgones (Figura 1). Registramos la altura, el diámetro, el número de ramas y la presencia/ausencia de pulgones (i.e., herbivoría por insectos) en todas las plántulas, antes de aplicar el primer tratamiento, y luego del segundo corte aplicado. Con estos datos estimamos la tasa de crecimiento calculada como la diferencia de volumen por unidad de tiempo:

$$\text{Tasa de crecimiento} = \frac{[(\text{altura}_2 \times \text{diámetro}_2) - (\text{altura}_1 \times \text{diámetro}_1)]}{\text{tiempo (días)}}$$

Estimamos la proporción de pulgones por madre como el número de plántulas con pulgones/total de plántulas provenientes de una misma madre.

Análisis estadísticos

Para evaluar el efecto de la herbivoría simulada, la sequía y la presencia de pulgones (herbivoría) sobre el crecimiento de *A. lampa* (variable respuesta) realizamos un ANOVA de dos factores, tratamiento y pulgones. El factor 'tratamiento', con 6 niveles (control, sequía, bajo ramoneo, alto ramoneo, sequía+bajo ramoneo y sequía+alto ramoneo), y el otro factor ('pulgones'), con dos niveles (presencia/ausencia). Dado que el factor pulgones está afectado por el tratamiento, anidamos el efecto de los pulgones dentro de los tratamientos. Cumplimos los supuestos de normalidad y heterogeneidad de varianzas, transformando el crecimiento a su logaritmo natural. Luego, evaluamos si el nivel de estrés (variable explicatoria) se asocia a un menor crecimiento en *A. lampa* (variable respuesta) mediante una regresión lineal simple. Para esto, transformamos los tratamientos (variable categórica) a niveles de estrés (variable categórica ordinal),

otorgando los siguientes valores: 1 al control, 2 a sequía, 3 a bajo ramoneo, 4 alto ramoneo, 5 a bajo ramoneo+sequía y 6 al tratamiento de sequía+alto ramoneo. El tratamiento de sequía suponía un menor estrés debido a que estas plantas están adaptadas a climas áridos y tienen una historia evolutiva con presencia de herbívoros mucho más reciente. Además, para evaluar el efecto de los tratamientos (i.e., la herbivoría de ganado simulada y la sequía) sobre la presencia de pulgones, realizamos un ANOVA de un factor, considerando como factor al tratamiento, con seis niveles (control, sequía, bajo ramoneo, alto ramoneo, sequía+bajo ramoneo y sequía+alto ramoneo) y como variable respuesta a la proporción de plántulas con pulgones por planta madre (i.e., n° plántulas con pulgones/n° total de plántulas por planta madre), para cada tratamiento. A su vez, evaluamos la diferencia de promedio de granivoría (variable respuesta) entre los niveles de carga ganadera (nulo, baja, media y alta) mediante un ANOVA de un factor. El daño de granívoros fue estimado como la proporción de semillas comidas/frutos colectados, por planta madre. Transformamos la variable respuesta utilizando la función arco seno de la raíz cuadrada para cumplir con los supuestos de normalidad. Cuando el efecto de algún factor era significativo, realizamos una prueba *a posteriori* de Tukey. Por último, para analizar si el nivel de carga de origen de las plantas madre y de las semillas usadas para obtener las plántulas de invernadero afectaba la presencia de pulgones y la granivoría a campo de *A. lampa* (variables respuesta), realizamos un ANOVA de un factor usando el nivel de carga como factor con 4 niveles (nula, baja, media y alta). Para realizar esta comparación se seleccionaron solo las plantas madre cuya descendencia tenía pulgones en el invernadero y de las que además se contaba con el dato de semillas consumidas a campo.

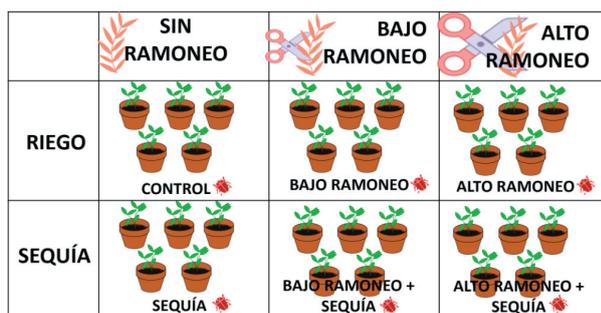


Figure 1. Schematic representation of the experimental design under greenhouse conditions.

The treatments consisted of two levels of drought (with and without drought) and three levels of clipping (control with no clipping, low and high clipping) and their combinations (with drought and low clipping, and drought and high clipping). All treatments were exposed to herbivory by aphids.

Figura 1. Esquemización del diseño experimental bajo condiciones controladas en el invernadero. Los tratamientos simulados consistieron en dos niveles de sequía (con y sin sequía) y tres niveles de ramoneo (sin ramoneo, bajo y alto) y sus combinaciones (sequía más bajo ramoneo y sequía más alto ramoneo simultáneamente). Todos los tratamientos estuvieron expuestos a la herbivoría por pulgones.

Luego usamos los promedios obtenidos de cada variable respuesta para cada nivel de carga y realizamos una regresión lineal entre dichos promedios y el nivel de carga (nula, baja, media y alta, transformado a una variable numérica, 1:4) por separado.

RESULTADOS

Crecimiento de las plántulas en el invernadero

Encontramos diferencias en el crecimiento de las plántulas en los distintos tratamientos de herbivoría, sequía y sus combinaciones ($F_{5,447}=20.38$; $P<0.001$) (Figura 2). La tasa de crecimiento de las plántulas fue independiente de la presencia de pulgones ($F_{1,447}=0.76$; $P=0.58$) (Figura 2). La tasa de crecimiento disminuyó a medida que aumenta el nivel de estrés ($R^2=0.93$; $R=-0.97$; $P<0.001$) (Figura 2). Resulta interesante que el crecimiento de las plántulas en el tratamiento control sin la presencia de pulgones es muy similar al tratamiento de

sequía sin la presencia de pulgones (Figura 2).

Presencia de pulgones en invernadero

La presencia de pulgones varió significativamente entre los diferentes niveles de estrés aplicados ($F_{5,529}=3.34$; $P<0.01$) (Figura 3). Se observó mayor presencia de pulgones en las plántulas del tratamiento control, seguido por los tratamientos de herbivoría simulada, que tuvieron una proporción intermedia de presencia de pulgones. Los tratamientos de sequía y sequía+ramoneo, presentaron las menores proporciones de presencia de pulgones (Figura 3).

Consumo de semillas por insectos (granivoría)

En el campo encontramos que la proporción de semillas consumidas por pequeños herbívoros fue significativamente diferente entre los niveles de carga ganadera ($F_{3,130}=7.15$; $P<0.001$). Observamos una mayor proporción

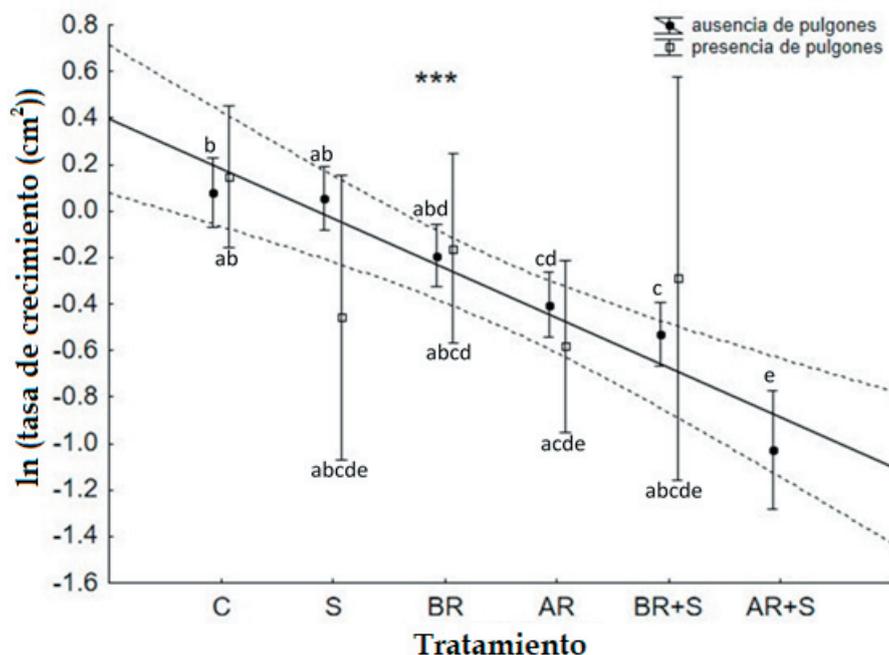


Figure 2. Difference in the mean growth rate of *A. lampa* among treatments (control, C; drought, S; low browsing, BR; high browsing, AR; drought with low browsing, BR+S; drought with high browsing, AR+S). Growth was transformed to the natural logarithm. The bars denote the 95% confidence interval. The line corresponds to the significant regression ($R^2=0.93$, $n=6$, $p=0.002$, $***$) between the natural logarithm of the growth rate of *A. lampa* in the absence of aphids (dependent variable) and the stress level, as independent variable, transforming the applied treatments to a numerical variable, from 1 ascribed to the control treatment to 6 (AR+S treatment).

Figura 2. Diferencias de medias de la tasa de crecimiento de *A. lampa* entre tratamientos (control, C; sequía, S; bajo ramoneo, BR; alto ramoneo, AR; bajo ramoneo por sequía, BR+S; alto ramoneo por sequía, AR+S). La tasa de crecimiento fue transformada a su logaritmo natural. Las barras denotan los intervalos de confianza con un 95% de confiabilidad. La línea, corresponde a la regresión significativa ($R^2=0.933$, $n=6$, $p=0.002$, $***$) entre logaritmo natural de la tasa de crecimiento de *A. lampa* en ausencia de pulgones (variable dependiente) y el nivel de estrés, transformando los tratamientos aplicados a una variable numérica que va desde el número 1 (tratamiento control) al 6 (tratamiento AR+S), como variable independiente.

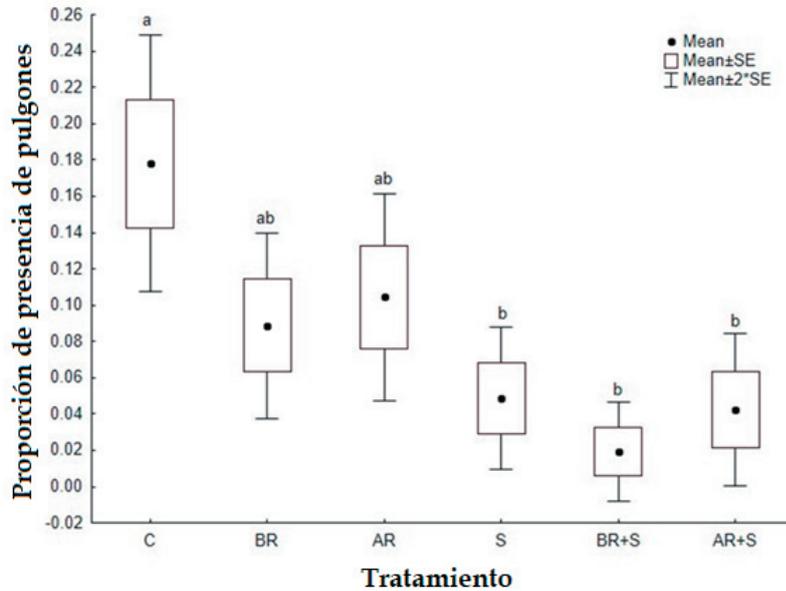


Figure 3. Proportion of seedlings with aphids across the stress level conformed by the applied treatments (C= control, BR= low clipping, 20% AR= high clipping, 80%, S= drought, BR+S= low clipping and drought, AR+S= high clipping and drought). Bars denote 2 SE and letters denote significant differences.

Figura 3. Proporción de presencia de pulgones en función del nivel de estrés aplicado (C= control, BR= plantas sometidas a un ramoneo del 20%, AR= plantas con un 80% de ramoneo, S= sequía, BR+S= bajo ramoneo y sequía simultáneamente, AR+S= alto ramoneo y sequía simultáneamente). Las barras denotan 2 veces el error estándar y las letras las diferencias significativas.

de semillas consumidas por pequeños herbívoros en los campos con niveles de carga ganadera alta, respecto de los campos con carga ganadera nula e intermedia, que no difirieron significativamente entre sí (Figura 4). En particular, los campos con carga ganadera intermedia presentan los menores porcentajes de semillas consumidas por pequeños herbívoros.

Herbivoría por niveles de carga

Al comparar la herbivoría por insectos, granivoría en la generación parental a campo y los pulgones en su descendencia, no encontramos diferencias significativas entre los niveles de carga ganadera, aunque sí se observa una tendencia (Wilks, $F_{6,186}=1.74$; $P=0.11$) (Figura 5). Nuevamente, encontramos un efecto del nivel de carga ganadera para

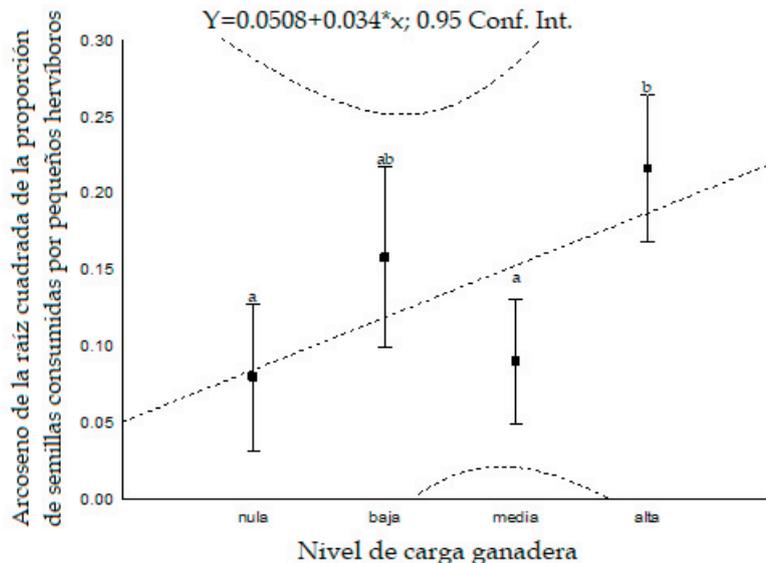


Figure 4. Proportion of consumed seeds by insect herbivores under natural conditions along the stocking levels. Rangelands were grouped according to their stocking rate as null, low ($<0.1 \text{ UG ha}^{-1} \times \text{year}$), medium ($0.1-0.3 \text{ UG ha}^{-1} \times \text{year}$) and high ($>0.3 \text{ UG ha}^{-1} \times \text{year}$). Bars denote 95% confidence interval. The blue line shows the linear tendency of seed consumption along the stocking levels.

Figura 4. Proporción de semillas consumidas por pequeños herbívoros a campo según el nivel de carga ganadera. Los campos se agruparon acorde a su carga ganadera como nula, baja ($<0.1 \text{ UG ha}^{-1} \times \text{año}$), media ($0.1-0.3 \text{ UG ha}^{-1} \times \text{año}$) y alta ($>0.3 \text{ UG ha}^{-1} \times \text{año}$). Las barras denotan un intervalo de confianza del 95%. La línea azul representa la tendencia lineal del consumo de semillas con el nivel de carga ganadera.

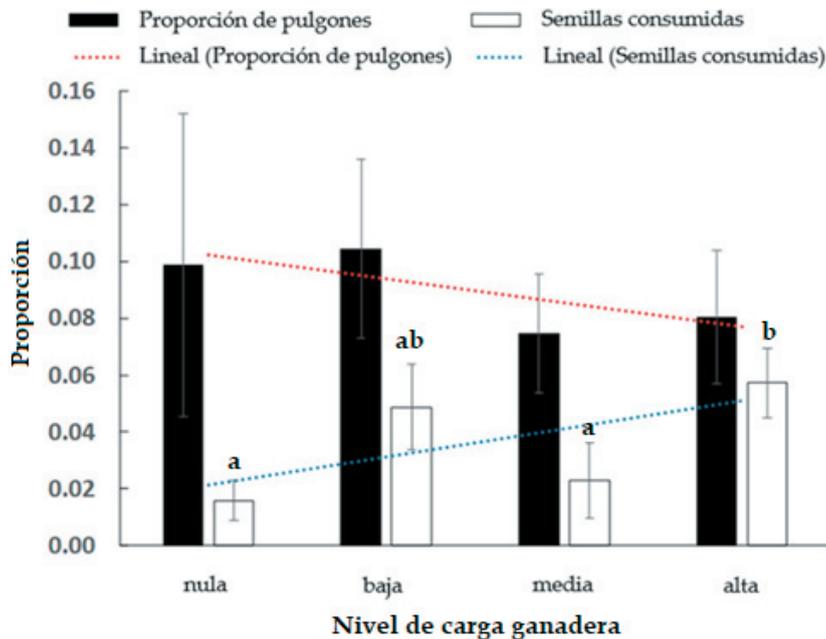


Figure 5. Mean proportion of consumed seeds in the rangelands (white bars) and mean proportion of seedlings with aphids in the experiment under greenhouse conditions (black bars) grouped by the stocking level (x-axis, null=nula, low=baja, intermediate=media and high=alta) suffered by the maternal plants from which seeds were obtained. The upper limit of the bars represents the mean and their dispersion denote the standard error. The dotted lines show the linear tendency between the mean proportion of consumed seeds (blue) and the proportion of aphids (red) with stocking level, transformed to a numerical variable.

Figura 5. Diferencia de medias de la proporción de semillas consumidas a campo (barras blancas) y de la proporción plántulas con pulgones en el invernadero (barras negras), entre los niveles de carga ganadera de donde provinieron las plantas y las semillas. El extremo superior de cada barra corresponde a la media. Los desvíos de cada barra corresponden al error estándar. Las líneas punteadas muestran las tendencias lineales entre el promedio de proporción de semillas consumidas (azul) y la proporción de pulgones (rojo) con el nivel de carga ganadera, transformado a variable numérica.

las semillas consumidas a campo ($F_{3,94}=3.43$; $P<0.05$), pero no para la presencia de pulgones ($F_{3,94}=0.12$; $P>0.05$). La asociación entre la proporción de semillas consumidas por pequeños insectos y el nivel de carga ganadera fue no significativa, aunque positiva ($R^2=0.41$, $R=0.64$, $n=4$, $P=0.36$). En cambio, la asociación entre la proporción de pulgones y el nivel de carga fue no significativa, pero negativa ($R^2=0.59$; $R=-0.77$; $n=4$; $P=0.23$). Además, observamos que dentro del tratamiento control, la progenie proveniente de plantas sin herbivoría tuvo parcialmente una mayor proporción de pulgones que las plántulas provenientes de campos con herbivoría (Figura 5, nivel de carga nula versus el resto de los tratamientos; 0.10 ± 0.05 vs. 0.08 ± 0.02 , media \pm ES).

DISCUSIÓN

En este trabajo evaluamos, experimentalmente y a campo, el efecto del estrés por herbivoría y sequía sobre la tasa de crecimiento de *A. lampa*, una especie típica del desierto del Monte.

Además, evaluamos si la herbivoría por grandes mamíferos y la herbivoría simulada afectaban al daño de insectos herbívoros (granívoros y pulgones). Encontramos que la herbivoría y la combinación de ambos factores de estrés (herbivoría y sequía) reducen la tasa de crecimiento de *A. lampa*. Sin embargo, la tasa de crecimiento en el tratamiento de sequía no difirió significativamente del tratamiento control, representando ambos las mayores tasas de crecimiento. Estos resultados sugieren que *A. lampa* tolera el estrés por sequía, pero no el estrés por herbivoría o la combinación de ambos factores de estrés cuando actúan de manera simultánea. Además, como esperábamos, vimos que el estrés en las plantas con herbivoría simulada disminuyó la presencia de pulgones, posiblemente por una menor atracción (i.e., menor calidad del recurso) o una mayor defensa (i.e., producción de metabolitos secundarios) (Newton and Goodin 1989). No obstante, el hecho de que la proporción de pulgones tiende a disminuir con el nivel de carga ganadera —que en este caso representa el estrés sufrido por

las plantas madre (Figura 5)— sugiere una transmisión generacional de defensas. A campo, observamos que a mayor nivel de carga ganadera hay un mayor consumo de semillas por pequeños herbívoros, lo que sugiere que plantas más dañadas son más vulnerables a otros herbívoros. Por lo tanto, nuestra hipótesis de que los mecanismos de defensas inducidos en la generación parental pueden transmitirse a su descendencia está parcialmente sustentada, aunque la defensa anti-herbivoría parece no estar en el fruto. El Monte Patagónico es un sistema frágil y sensible a la degradación, donde modificaciones pequeñas en el nivel de carga ganadera producen cambios severos en la estructura de la comunidad vegetal y en las interacciones que se establecen con otros organismos, como la herbivoría por insectos (Tadey 2006, 2015, 2016).

Tanto el estrés por sequía como el estrés por herbivoría pueden reducir el crecimiento de las plantas (Golluscio et al. 2011). Sin embargo, nuestros resultados muestran que *A. lampa* es capaz de tolerar el estrés por sequía, ya que su crecimiento no se vio afectado por este tratamiento. Esto sugiere que *A. lampa*, al igual que otras especies del Monte, ha estado sometida a la sequía un tiempo lo suficientemente largo para adaptarse a este tipo de estrés (Villagra et al. 2011; Peguero-Pina et al. 2020). Dos características morfo-fisiológicas de *A. lampa* que podrían contribuir frente a la tolerancia de la sequía son su capacidad de reducir el área foliar y su mecanismo fotosintético C4 (Kadereit et al. 2010; Villagra et al. 2011). Además, esta especie, al ser halófila, tiene sales de oxalato que le permiten absorber mayor cantidad de agua (Cibils et al. 1998; Martínez et al. 2003). En contraposición, el estrés por herbivoría implicó una disminución significativa en el crecimiento de esta especie, probablemente debido a que la presión de la herbivoría por grandes mamíferos es reciente en su historia evolutiva. Los registros de megafauna para el bioma del Monte describen grandes herbívoros con una dieta generalista basada principalmente en pastos y gramíneas asociados a cuerpos de agua, lo que sugiere una baja asociación de grandes herbívoros con la vegetación arbustiva xérica, como *A. lampa* (Flores et al. 2012; Fernández et al. 2016; Villavicencio et al. 2016; Mehl et al. 2019). Las estrategias que le confieren a *A. lampa* una tolerancia al estrés por sequía no parecen otorgarle ninguna ventaja frente al estrés por

herbivoría. Esto parece indicar que la presión de selección que ejercen los factores abióticos (sequía) y bióticos (herbívoros) no interactúan de manera convergente y que operan sobre distintos rasgos fenotípicos.

Por otra parte, el estrés que sufren las plantas puede afectar su interacción con otros organismos, como los pequeños insectos herbívoros. Nuestros resultados experimentales muestran que las plantas de *A. lampa* sometidas a mayor estrés (i.e., herbivoría más sequía) recibieron un menor daño por pulgones, sugiriendo que puede generar defensas anti-herbivoría (e.g., mecanismos de resistencia). Así, la defoliación simulada en el invernadero podría haber desencadenado la síntesis de metabolitos secundarios que resultan tóxicos para los pulgones. Además, se sabe que la herbivoría puede inducir el incremento de la densidad de tricomas en una planta (Ning et al. 2016), lo cual podría también dificultar la presencia de pequeños herbívoros. Por otra parte, una menor turgencia o calidad nutritiva generada por el estrés sufrido puede repercutir de manera indirecta en la presencia de pulgones a través de una menor atracción. Estudios futuros deberían evaluar la síntesis de metabolitos secundarios, el efecto de la turgencia o la relación de C/N. Bajo condiciones controladas, las plantas sometidas a mayor estrés presentan menor herbivoría independientemente del mecanismo involucrado. Sin embargo, en situaciones naturales donde no todos los factores pueden ser controlados, las respuestas a los distintos tipos de estrés podrían variar.

A campo, observamos mayores tasas de granivoría por insectos con el aumento de la carga ganadera. Se observó que en esta región, el ganado disminuye la cobertura, la abundancia y la riqueza de la vegetación (Tadey 2006). Bajo este contexto, si las poblaciones de insectos granívoros se mantuvieran constantes o aumentarían con la carga ganadera, se incrementaría la presión por herbivoría dada por una mayor abundancia de insectos por planta (Tadey 2016). Alternativamente, si la población de insectos disminuye con la carga ganadera, la presión de herbivoría podría estar dada por un aumento en el tiempo de forrajeo por planta. Otra explicación al aumento de granivoría con la carga ganadera es a través de una limitación de recursos disponibles en la planta producida por el ganado, que repercute en la generación de estructuras de defensa en las semillas, aumentando su

vulnerabilidad (Strauss and Agrawal 1999). Esta última explicación se enmarca en la teoría de asignación óptima de las defensas (McKey 1974). La misma predice que el costo de las estrategias de defensas estará determinado por un balance entre la tasa de consumo, la función del tejido consumido y su costo ecológico (McCall and Fordyce 2010). En este sentido, *A. lampa* parecería mostrar que es menos costoso sacrificar parte de la descendencia que tejidos vegetativos de la planta. Esto podría deberse a que en este sistema árido es preferible asegurarse la supervivencia del individuo, debido a la dificultad del establecimiento de nuevos individuos, por sobre la reproducción que ocurre periódicamente. Por lo tanto, perder parte de la descendencia no condenaría a la extinción de la especie.

La respuesta inducida por el estrés de herbivoría en las plantas puede transmitirse a las siguientes generaciones, otorgándole una ventaja adaptativa a la especie (Sobral et al. 2021). Esta idea concuerda con nuestros resultados de una tendencia en la disminución de la presencia de pulgones con el aumento del nivel de carga ganadera (carga ganadera medida en las plantas madre) (Figura 5), sugiriendo que aquellas plántulas provenientes de madres estresadas generan una progenie más protegida. Dichas progenies mostraron una disminución en la presencia de pulgones con el aumento del estrés (tratamientos de herbivoría más sequía), lo que indicaría no solo la inducción de mecanismos de defensa, sino también su transmisión a la siguiente generación. Otra evidencia parcial es que en el tratamiento control observamos que la progenie proveniente de plantas sin herbivoría tuvo mayor ataque de pulgones que las plántulas provenientes de campos con herbivoría (Figura 5) (nivel de carga nula versus el resto de los tratamientos). Otros estudios demostraron que las defensas inducidas por herbivoría en las plantas se pueden expresar en una generación, y que estos cambios se pueden transmitir a las siguientes generaciones mediante mecanismos epigenéticos de larga duración (Holeski et al.

2012; Sobral et al. 2021). Los mecanismos epigenéticos son un conjunto de procesos moleculares que pueden regular actividades génicas sin alterar la secuencia de ADN como, por ejemplo, la metilación de citosinas (Bird 2007). Estos procesos moleculares pueden alterar la expresión génica afectando a los fenotipos (Richards 2006). A su vez, algunos de estos cambios en los patrones epigenéticos a nivel individual pueden transmitirse a la siguiente generación, aun cuando las condiciones de estrés desaparezcan (Richards 2006; Youngson and Whitelaw 2008; Jablonka and Raz 2009), lo que le otorgaría una ventaja adaptativa frente al estrés por herbivoría. El diseño experimental aplicado permitió mostrar que el estrés por herbivoría constituye una amenaza significativa para una especie forrajera con un amplio rango de distribución en el Monte. A su vez, aportamos una primera aproximación sobre qué estrategias de defensa podrían desencadenarse y cómo es la interacción entre los factores de estrés más comunes de zonas áridas y semiáridas.

En conclusión, si bien *A. lampa* está adaptada a zonas áridas, es vulnerable a distintos tipos de herbivoría, evidenciado por su ausencia local en campos con alta carga ganadera y su disminución del crecimiento bajo tratamientos de herbivoría. Las estrategias de defensa desencadenadas bajo estrés hídrico no implicarían una ventaja para tolerar o resistir el estrés por herbivoría en esta especie. Sin embargo, la respuesta generada frente al estrés por herbivoría, posiblemente una estrategia de defensa química, podría prevenir el daño futuro de otros insectos herbívoros folívoros y, a su vez transmitir esta respuesta a su descendencia.

AGRADECIMIENTOS. Agradecemos a Y.I. Pelliza por su ayuda en el trabajo de campo y a N.A. Robredo por su colaboración en el experimento de invernadero. Este trabajo fue posible gracias a una beca de doctorado otorgada a Daiana Jaume por el CONICET. Este estudio fue financiado por la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica PICT 2015-3478 y por CONICET PIP 07-12.

REFERENCIAS

- Agrawal, A. A., and M. Fishbein. 2006. Plant defense syndromes. *Ecology* 87:132-149. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2006\)87\[132:PD5\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2006)87[132:PD5]2.0.CO;2).
- Aguirrebengoa, M., M. García-Planas, C. Müller, and A. González-Megías. 2018. Transgenerational effects of ungulates and pre-dispersal seed predators on offspring success and resistance to herbivory. *PLoS ONE* 13(12):1-18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207553>.
- Anderegg, W. R., L. Plavcová, L. D. L. Anderegg, U. G. Hacke, J. A. Berry, and C. B. Field. 2013. Drought's legacy: multiyear hydraulic deterioration underlies widespread aspen forest die-off and portends increased future risk.

- Global change biology 19(4):1188-1196. <https://doi.org/10.1111/gcb.12100>.
- Atkinson, N. J., and P. E. Urwin. 2012. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. *Journal of Experimental Botany* 63(10):3523-3543. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers100>.
- Bacelar, E. L., J. M. Moutinho-Pereira, B. Gonçalves, C. V. Brito, J. Gomes-Laranjo, et al. 2012. Water use strategies of plants under drought conditions. Pp. 145-170 *en* R. Aroca (ed.). *Plant Responses to Drought Stress*. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-32653-0_6.
- Belete, T. 2018. Defense mechanisms of plants to insect pests: from morphological to biochemical approach. *Trends in Technical and Scientific Research* 2(2):555584.
- Bird, A. 2007. Perceptions of epigenetics. *Nature* 447:396-98. <https://doi.org/10.1038/nature05913>.
- Boege, K., and R. J. Marquis. 2005. Facing herbivory as you grow up: the ontogeny of resistance in plants. *Trends in Ecology and Evolution* 20:441-448. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.05.001>.
- Borrelli, P., and G. Oliva. 2001. Efectos de los animales sobre los pastizales. Pp. 99-128 *en* Ganadería ovina sustentable en la Patagonia Austral. INTA Reg. Pat. Sur.
- Busso, C. A., and G. L. Bonvissuto. 2009. Soil seed bank in and between vegetation patches in arid Patagonia, Argentina. *Environmental and Experimental Botany* 67(1):188-195. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.01.003>.
- Cabrera, A. L. 1966. Esquema fitogeográfico de la República Argentina. *Botánica* 3:87-168.
- Chiappero, J., L. del Rosario Cappellari, L. G. Sosa Alderete, T. B. Palermo, and E. Banchio. 2019. Plant growth promoting rhizobacteria improve the antioxidant status in *Mentha piperita* grown under drought stress leading to an enhancement of plant growth and total phenolic content. *Industrial Crops and Products* 139:111553. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111553>.
- Choat, B., S. Jansen, T. J. Brodribb, H. Cochard, S. Delzon, R. Bhaskar, et al. 2012. Global convergence in the vulnerability of forests to drought. *Nature* 491:752-755. <https://doi.org/10.1038/nature11688>.
- Cibils, A. F., D. M. Swift, and E. D. Mearns. 1998. Plant-herbivore interactions in Atriplex: current state of knowledge. USDA Forest Service - General Technical Report RMRS-GTR.
- Coughenour, M. B. 1985. Graminoid responses to grazing by large herbivores: adaptations, exaptations, and interacting processes. *Annals - Missouri Botanical Garden* 72:852-863. <https://doi.org/10.2307/2399227>.
- Van Dam, N. M. 2009. Belowground herbivory and plant defenses. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 40:373-391. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.110308.120314>.
- Dágata, S. L., M. E. Fernández, and C. B. Passera. 2021. Environmental factors affecting seed quality and germination of *Mimosa ephedroides* (Fabaceae), an endemic shrub from Monte Desert, Argentina. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias* 53:139-149. <https://doi.org/10.48162/rev.39.014>.
- Desprez-Loustau, M. L., B. Marçais, L. M. Nageleisen, D. Piou, and A. Vannini. 2006. Interactive effects of drought and pathogens in forest trees. *Annals of Forest Science* 63(6):597-612. <https://doi.org/10.1051/forest:2006040>.
- Dickman, E. E., L. K. Pennington, S. J. Franks, and J. P. Sexton. 2019. Evidence for adaptive responses to historic drought across a native plant species range. *Evolutionary Applications* 12(8):1569-1582. <https://doi.org/10.1111/eva.12803>.
- Fernández, F. J., P. Teta, E. Mange, L. Prates, L. G. Venanzi, and U. F. J. Pardiñas. 2016. Micromamíferos del sitio arqueológico Cueva Galpón (Río Negro, Argentina): aspectos taxonómicos y reconstrucción paleoambiental para el Holoceno Tardío en Norpatagonia oriental. *Arqueología* 22:105-124.
- Fernández, M. E. 2020. Estrategias de tres especies arbustivas del Monte frente al estrés hídrico y su relevancia para la restauración. *Ecología Austral* 30:205-219. <https://doi.org/10.25260/EA.20.30.2.0.1058>.
- Flores, C. E., A. M. Cingolani, A. von Müller, and F. R. Barri. 2012. Habitat selection by reintroduced guanacos (*Lama guanicoe*) in a heterogeneous mountain rangeland of central Argentina. *Rangeland J.* 34:439-445. <https://doi.org/10.1071/RJ12040>.
- Fornoni, J. 2011. Ecological and evolutionary implications of plant tolerance to herbivory. *Functional Ecology* 25(2): 399-407. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2010.01805.x>.
- Fortes, D., R. S. Herrera, and S. González. 2004. Estrategias para la resistencia de las plantas a la defoliación. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 38(2):111-119. URL: redalyc.org/articulo.oa?id=193017901001.
- Gaitán, J. J., D. E. Bran, G. E. Oliva, M. R. Aguiar, G. G. Buono, et al. 2018. Aridity and overgrazing have convergent effects on ecosystem structure and functioning in Patagonian rangelands. *Land Degradation and Development* 29(2): 210-218. <https://doi.org/10.1002/ldr.2694>.
- Gely, C., S. G. W. Laurance, and N. E. Stork. 2020. How do herbivorous insects respond to drought stress in trees? *Biological Reviews* 95(2):434-448. <https://doi.org/10.1111/brv.12571>.
- Golluscio, R. A., F. P. Cavagnaro, and M. D. Valenta. 2011. Arbustos de la estepa patagónica: ¿adaptados a tolerar la sequía o el pastoreo? *Ecología Austral* 21(1):61-70. URL: tinyurl.com/2bjcbpf.
- Guevara, J. C., E. G. Grünwaldt, O. R. Estevez, A. J. Bisigato, L. J. Blanco, et al. 2009. Range and livestock production in the Monte Desert, Argentina. *Journal of Arid Environments* 73(2):228-237. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2008.02.001>.
- Hanley, M. E., B. B. Lamont, M. M. Fairbanks, and C. M. Rafferty. 2007. Plant structural traits and their role in anti-herbivore defence. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 8(4):157-178. <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2007.01.001>.
- Holeski, L. M., G. Jander, and A. A. Agrawal. 2012. Transgenerational defense induction and epigenetic inheritance in plants. *Trends in Ecology and Evolution* 27(11):618-626. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2012.07.011>.

- Huot, B., J. Yao, B. L. Montgomery, and S. Y. He. 2014. Growth-defense tradeoffs in plants: A balancing act to optimize fitness. *Molecular Plant* 7(8):1267-1287. <https://doi.org/10.1093/mp/ssu049>.
- Jablonka, E., and G. Raz. 2009. Transgenerational epigenetic inheritance: prevalence, mechanisms, and implications for the study of heredity and evolution. *The Quarterly Review of Biology* 84(2):131-176. <https://doi.org/10.1086/598822>.
- Kadereit, G., E. V. Mavrodiev, E. H. Zacharias, and A. P. Sukhorukov. Molecular phylogeny of Atripliceae (Chenopodioideae, Chenopodiaceae): Implications for systematics, biogeography, flower and fruit evolution, and the origin of C4 photosynthesis. 2010. *American Journal of Botany* 197(10):1664-1687. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000169>.
- Khasanova, A., J. J. James, and R. E. Drenovsky. 2013. Impacts of drought on plant water relations and nitrogen nutrition in dryland perennial grasses. *Plant and Soil* 372(1):541-552. <https://doi.org/10.1007/s11104-013-1747-4>.
- Lambers, H., F. S. Chapin, and T. L. Pons. 2008. Ecological Biochemistry: Allelopathy and Defense Against Herbivores. Pp. 445-477 *en* *Plant Physiological Ecology*. Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-0-387-78341-3_13.
- León-Sánchez, L., E. Nicolás, I. Prieto, P. Nortes, F. T. Maestre, and J. I. Querejeta. 2020. Altered leaf elemental composition with climate change is linked to reductions in photosynthesis, growth and survival in a semi-arid shrubland. *Journal of Ecology* 108(1):47-60. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.13259>.
- Liu, B., J. Liang, G. Tang, X. Wang, F. Liu, and D. Zhao. 2019. Drought stress effects on growth, water use efficiency, gas exchange and chlorophyll fluorescence of *Juglans* rootstocks. *Scientia Horticulturae* 250:230-235. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.02.056>.
- 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. URL: redalyc.org/articulo.oa?id=42800407.
- Martínez, F. J. 2018. Ensamblajes de artrópodos asociados a arbustos nativos del noreste de la Patagonia: su relación con la complejidad estructural de la vegetación y el pastoreo ovino. Tesis doctoral. Universidad Nacional de La Plata. <https://doi.org/10.35537/10915/66704>.
- Martínez, J. P., J. F. Ledent, M. Bajji, J. M. Kinet, and S. Lutts. 2003. Effect of water stress on growth, Na⁺ and K⁺ accumulation and water use efficiency in relation to osmotic adjustment in two populations of *Atriplex halimus* L. *Plant Growth Regulation* 41(1):63-73. <https://doi.org/10.1023/A:1027359613325>.
- McCall, A. C., and J. A. Fordyce. 2010. Can optimal defence theory be used to predict the distribution of plant chemical defences? *Journal of Ecology* 98(5):985-992. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2010.01693.x>.
- McCluney, K. E., J. Belnap, S. L. Collins, A. L. González, E. M. Hagen, et al. 2012. Shifting species interactions in terrestrial dryland ecosystems under altered water availability and climate change. *Biological Reviews* 87(3):563-582. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2011.00209.x>.
- McKey, D. 1974. Adaptive patterns in alkaloid physiology. *The American Naturalist* 108(961):305-320. <https://doi.org/10.1086/282909>.
- Mehl, A. E., L. Rojo, C. G. de Francesco, E. Cerdeño, and A. M. Forasiepi. 2019. El Pleistoceno de Mendoza: una síntesis geológica y paleontológica. *Opera Lilloana* 52:537-573. <http://www.lillo.org.ar/publicaciones/opera-lilloana/v52/a19>.
- Mertens, D., K. Boege, A. Kessler, J. Koricheva, J. S. Thaler, N. K. Whiteman, and E. H. Poelman. 2021. Predictability of biotic stress structures plant defence evolution. *Trends in Ecology and Evolution* 36(5):444-456. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2020.12.009>.
- Micco, V. De, and G. Arrone. 2012. Plant responses to drought stress: From morphological to molecular features. Pp. 37-61 *en* R. Aroca (ed.). *Plant Responses to Drought Stress*. 2012th edition. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Milchunas, D. G., O. E. Sala, and W. K. Lauenroth. 1988. A generalized model of the effects of grazing by large herbivores on grassland community structure. *American Naturalist* 132(1):87-106. <https://doi.org/10.1086/284839>.
- Nabity, P. D., T. M. Heng-moss, and L. G. Higley. 2006. Effects of insect herbivory on physiological and biochemical (oxidative enzyme) responses of the halophyte *Atriplex subspicata* (Chenopodiaceae). *Environmental Entomology* 35(6):1677-1689. <https://doi.org/10.1093/ee/35.6.1677>.
- Newton, R. J., and J. R. Goodin. 1989. Moisture stress adaptation in shrubs. Pp. 365-383 *en* *The biology and utilization of shrubs*. Academic Press, San Diego, CA.
- Ning, P., J. Wang, Y. Zhou, L. Gao, J. Wang, and C. Gong. 2016. Adaptational evolution of trichome in *Caragana korshinskii* to natural drought stress on the Loess Plateau, China. *Ecology and Evolution* 6(11):3786-3795. <https://doi.org/10.1002/ece3.2157>.
- Nowak, H., and E. Komor. 2010. How aphids decide what is good for them: experiments to test aphid feeding behaviour on *Tanacetum vulgare* (L.) using different nitrogen regimes. *Oecologia* 163(4):973-984. <https://doi.org/10.1007/s00442-010-1652-y>.
- Núñez-Farfán, J., J. Fornoni, and P. L. Valverde. 2007. The evolution of resistance and tolerance to herbivores. *Annual Review of ecology, evolution, and systematics* 38:541-566. URL: jstor.org/stable/30033871.
- Oduor, A. M., J. M. Gómez, and S. Y. Strauss. 2010. Exotic vertebrate and invertebrate herbivores differ in their impacts on native and exotic plants: a meta-analysis. *Biological Invasions* 12(2):407-419. <https://doi.org/10.1007/s10530-009-9622-1>.
- Osakabe, Y., K. Osakabe, K. Shinozaki, and L. S. P. Tran. 2014. Response of plants to water stress. *Frontiers in Plant Science* 5:86. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00086>.
- Paige, K. N. 1992. Overcompensation in response to mammalian herbivory: from mutualistic to antagonistic interactions. *Ecology* 73(6):2076-2085. <https://doi.org/10.2307/1941456>.

- Paruelo, J. M., A. Beltrán, E. Jobbágy, O. E. Sala, and R. A. Golluscio. 1998. El clima de la Patagonia: patrones generales y controles sobre los procesos bióticos. *Ecología Austral* 8(02):085-101. https://ojs.ecologiaaustral.com.ar/index.php/Ecologia_Austral/article/view/1611.
- Peguero-Pina, J. J., A. Vilagrosa, D. Alonso-Forn, J. P. Ferrio, D. Sancho-Knapik, and E. Gil-Pelegrín. 2020. Living in drylands: Functional adaptations of trees and shrubs to cope with high temperatures and water scarcity. *Forests* 11(10):1028. <https://doi.org/10.3390/f11101028>.
- Pickett, J. A., L. J. Wadhams, C. M. Woodcock, and J. Hardie. 1992. The chemical ecology of aphids. *Annual Review of Entomology* 37:67-90. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.37.010192.000435>.
- Puig, S., F. Videla, M. I. Cona, and S. A. Monge. 2006. Relaciones dietarias entre herbívoros silvestres y domésticos en un área protegida de Patagonia septentrional (Mendoza, Argentina). *Anuales de Arqueología y Etnología UNCuyo* 61:237-262.
- Quiroga, R. E., R. A. Golluscio, L. J. Blanco, and R. J. Fernández. 2010. Aridity and grazing as convergent selective forces: an experiment with an Arid Chaco bunchgrass. *Ecological Applications* 20(7):1876-1889. <https://doi.org/10.1890/09-0641.1>.
- Raufirad, V., H. Azadi, A. Ebrahimi, and S. Bagheri. 2016. Determining rangeland species palatability: application of principal component analysis. *Rangelands* 38(3):105-112. <https://doi.org/10.1016/j.rala.2016.01.001>.
- Rausher, M. D. 2001. Co-evolution and plant resistance to natural enemies. *Nature*, 411(6839): 857-864. <https://doi.org/10.1038/35081193>.
- Raven, J. A. 1983. Phytophages of Xylem and Phloem: a comparison of Animal and Plant Sap-feeders. *Advances in Ecological Research* 13:135-234. [https://doi.org/10.1016/S0065-2504\(08\)60109-9](https://doi.org/10.1016/S0065-2504(08)60109-9).
- Rennenberg, H., F. Loreto, A. Polle, F. Brill, S. Fares, R. S. Beniwal, and A. J. Gessler. 2006. Physiological responses of forest trees to heat and drought. *Plant Biology* 8(05):556-571. <https://doi.org/10.1055/s-2006-924084>.
- Richards, E. J. 2006. Inherited epigenetic variation-revisiting soft inheritance. *Nature Reviews Genetics* 7(5):395-401. <https://doi.org/10.1038/nrg1834>.
- Roig-Juñent, S., G. Flores, S. Claver, G. Debandi, and A. Marvaldi. 2001. Monte desert (Argentina): insect biodiversity and natural areas. *Journal of Arid Environments* 47(1):77-94. <https://doi.org/10.1006/jare.2000.0688>.
- Romera, P., F. Fernández-Illescas, F. J. J. Nieva, P. Rodríguez-Rubio, E. Sánchez-Gullón, and A. F. Muñoz-Rodríguez. 2013. Reproductive phenology and pre-dispersal fruit predation in *Atriplex halimus* L. (*Chenopodiaceae*). *Botanical Studies* 54:1-10. <https://doi.org/10.1186/1999-3110-54-4>.
- Rotondi, A., F. Rossi, C. Asunis, and C. Cesaraccio. 2003. Leaf xeromorphic adaptations of some plants of a coastal Mediterranean macchia ecosystem. *Journal of Mediterranean Ecology* 4:25-35.
- Ruppert, J. C., K. Harmony, Z. Henkin, H. A. Snyman, M. Sternberg, et al. 2015. Quantifying drylands' drought resistance and recovery: the importance of drought intensity, dominant life history and grazing regime. *Global Change Biology* 21(3):1258-1270. <https://doi.org/10.1111/gcb.12777>.
- Sobral, M., L. Sampedro, I. Neylan, D. Siemens, and R. Dirzo. 2021. Phenotypic plasticity in plant defense across life stages: inducibility, transgenerational induction, and transgenerational priming in wild radish. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 118(33):1-6. <https://doi.org/10.1073/pnas.2005865118>.
- Strauss, S. Y., and A. A. Agrawal. 1999. The ecology and evolution of plant tolerance to herbivory. *Trends in Ecology and Evolution* 14(5):179-185. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(98\)01576-6](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(98)01576-6).
- 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(1):109-116. <https://doi.org/10.1111/j.1654-109X.2006.tb00660.x>.
- Tadey, M. 2015. Indirect effects of grazing intensity on pollinators and floral visitation. *Ecological Entomology* 40(4): 451-460. <https://doi.org/10.1111/een.12209>.
- Tadey, M. 2016. Variation in insect assemblage and functional groups along a grazing gradient in an arid environment. *Entomology, Ornithology and Herpetology: Current Research*. <https://doi.org/10.4172/2161-0983.1000179>.
- Tadey, M. 2020. Reshaping phenology: grazing has stronger effects than climate on flowering and fruiting phenology in desert plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 42:125501. <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2019.125501>.
- 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(3):526-536. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2006.10.016>.
- 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(2):190-201. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2009.01001.x>.
- Talbi, S., J. A. Rojas, M. Sahrawy, M. Rodríguez-Serrano, K. E. Cárdenas, et al. 2020. Effect of drought on growth, photosynthesis and total antioxidant capacity of the saharan plant *Oudenedya africana*. *Environmental and Experimental Botany* 176:104099. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104099>.
- Tiffin, P. 2000. Mechanisms of tolerance to herbivore damage: what do we know? *Evolutionary Ecology* 14(4):523-536. <https://doi.org/10.1023/A:1010881317261>.
- Vallentine, J. F. 2000. Kind and mix of grazing animals. Pp. 303-344 *en* *Grazing Management*. 2nd Ed. Academic Press, San Diego, CA, USA.
- Verwijmeren, M., M. Baudena, M. Wassen, R. Díaz-Sierra, C. Smit, and M. Rietkerk. 2021. Intra-seasonal rainfall variability and herbivory affect the interaction outcome of two dryland plant species. *Ecosphere* 12(4):e03492. <https://doi.org/10.1002/ecsp.2021>.

[//doi.org/10.1002/ecs2.3492](https://doi.org/10.1002/ecs2.3492).

- Villagra, P. E., C. Giordano, J. A. Álvarez, J. B. Cavagnaro, C. Guevara, et al. 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(1):29-42.
- Villavicencio, N. A., E. L. Lindsey, F. M. Martin, L. A. Borrero, P. I. Moreno, et al. 2016. Combination of humans, climate, and vegetation change triggered Late Quaternary megafauna extinction in the Última Esperanza region, southern Patagonia, Chile. *Ecography* 39:125-140. <https://doi.org/10.1111/ecog.01606>.
- Youngson, N. A., and E. Whitelaw. 2008. Transgenerational epigenetic effects. *Annual Review of Genomics and Human Genetics* 9(1):233-257. <https://doi.org/10.1146/annurev.genom.9.081307.164445>.