

Caracterización química de arbustos patagónicos con diferente preferencia por parte de los herbívoros

FERNANDO P CAVAGNARO✉, RODOLFO A GOLLUSCIO, DIEGO F WASSNER
& DAMIÁN A RAVETTA

Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Argentina

RESUMEN. En el sudoeste de Chubut (Patagonia, Argentina), los arbustos proporcionan los sitios seguros para la instalación de plántulas de la mayoría de las especies de la comunidad. Las distintas especies arbustivas están sometidas a diferentes presiones de pastoreo ovino. Por lo tanto, el conocimiento de los mecanismos de respuesta de cada una de ellas ante ese disturbio es esencial para el diseño de sistemas sustentables de manejo pastoril de esos ecosistemas. En este trabajo se pusieron a prueba dos hipótesis referidas a las respuestas adaptativas y plásticas al pastoreo de los tres arbustos dominantes en la comunidad (*Adesmia campestris*, *Mulinum spinosum* y *Senecio filaginoides*). Para ello, se analizó la composición química de dichas especies, bajo dos presiones de pastoreo, mediante la extracción secuencial de tres grupos de metabolitos secundarios carbonados (MSC): aceites, fenoles y compuestos hidrocarbonados. Se encontró (1) que la especie menos preferida por los herbívoros (*Senecio filaginoides*) tuvo mayor contenido de las tres fracciones de MSC que las otras (respuesta adaptativa), y (2) que solo en *Senecio filaginoides* el contenido total de MSC, y en particular el de aceites y compuestos hidrocarbonados, aumentó en función del pastoreo (respuesta plástica). La ausencia de respuesta plástica en términos de producción de MSC observada en las otras especies, podría estar asociada a la presencia de defensas físicas (espinas).

[Palabras clave: Metabolitos secundarios, Herbivoría, *Adesmia campestris*, *Mulinum spinosum*, *Senecio filaginoides*]

ABSTRACT. Chemical characterization of Patagonian shrubs with different herbivore preference: In southwestern Chubut (Patagonia, Argentina), shrubs provide safe sites for the recruitment of almost all the species of the community. As different shrubs species are subjected to different sheep grazing pressures, the knowledge of their response mechanisms to grazing is crucial to the designing of sustainable systems of grazing management for these ecosystems. This work tested two hypotheses related to the adaptive and plastic responses to grazing for the three dominant shrubs of this community (*Adesmia campestris*, *Mulinum spinosum* and *Senecio filaginoides*). We studied the chemical composition of leaves of these shrubs under two contrasting sheep grazing pressures. We carried out a chemical screening to sequentially extract three groups of different polarity carbon based secondary metabolites (CBSM): oil, phenols and hydrocarbon compounds. We found that (1) the less preferred species (*Senecio filaginoides*) contained higher levels of the three fractions of CBSM than the other two species (adaptive response), and (2) only in *Senecio filaginoides* the CBSM content, in particular those of oil and hydrocarbon fractions, increased with grazing. The absence of plastic responses in the other two species could be related to the presence of structural defenses (thorns).

[Keywords: Secondary metabolites, Grazing, *Adesmia campestris*, *Mulinum spinosum*, *Senecio filaginoides*]

✉ Cátedra de Cultivos Industriales. Fac. de Agronomía. Univ. de Buenos Aires. Av. San Martín 4453 (1417) Capital Federal. Argentina
fcavagna@mail.agro.uba.ar

Recibido: 12 de septiembre de 2002; Fin de arbitraje: 8 de noviembre de 2002; Revisión recibida: 20 de febrero de 2003; Versión final recibida: 11 de junio de 2003; Aceptado: 13 de junio de 2003

INTRODUCCIÓN

En el Distrito Occidental de la Provincia Fitogeográfica Patagónica, los arbustos juegan un papel central en la estructuración de la comunidad, ya que proporcionan los sitios seguros para la instalación de plántulas de la mayoría de las especies que la componen (Aguiar et al. 1992; Aguiar & Sala 1994). Las tres especies arbustivas principales son *Adesmia campestris* (Rendle) Skottsb. (Mamuel choique), *Mulinum spinosum* (Cav.) Pers. (Neneo) y *Senecio filaginoides* DC (Charcao o Mata mora), las cuales totalizan el 12% de la cobertura total y el 33% de la productividad primaria neta aérea de la comunidad (Golluscio et al. 1982; Fernández et al. 1991).

Las tres especies tienen distinto comportamiento frente al pastoreo. Al comparar sitios sometidos a presiones de pastoreo crecientes, la importancia de *Senecio filaginoides* aumenta con el pastoreo, mientras que la de *Adesmia campestris* y *Mulinum spinosum* disminuye (Fernández et al. 1992; Perelman et al. 1997). Además, mientras que *Senecio filaginoides* prácticamente no es ramoneado por el ganado doméstico, los brotes y las flores de *Mulinum spinosum* y *Adesmia campestris* son consumidos con alta preferencia por los ovinos en primavera y verano (Bonvissuto et al. 1983). Por último, mientras que *Senecio filaginoides* carece de espinas, *Mulinum spinosum* tiene espinas foliares y *Adesmia campestris* las tiene caulinares (Pyykko 1966; Cabrera 1971; Burkart et al. 1984; Constance 1988). La comprensión de las causas de tan diferentes comportamientos ante el pastoreo es fundamental para desarrollar sistemas sustentables de manejo pastoril de la comunidad.

El mencionado incremento de la especie menos preferida a expensas de las otras estaría asociado a que la selectividad del consumo de los animales constituye una presión de selección fundamental en sistemas pastoriles, conduciendo al predominio de las especies menos preferidas y más tolerantes al estrés (Grime 1979). Una de las características que otorga resistencia al estrés a una población es la estrategia de defensa contra los herbívoros, que puede ser tanto de carácter físico como químico. La defensa física de las plantas resulta de una serie de rasgos como

las espinas, tricomas y pelos glandulares (Wink 1988), los cuales son seleccionados naturalmente bajo la presión de la sequía en ambientes áridos, pero que actúan de manera accesoria como defensa antiherbívoro (Coughenour 1985; Milchunas et al. 1988; Grubb 1992). Las defensas químicas están asociadas generalmente a la presencia de metabolitos secundarios y pueden dividirse en dos grandes grupos. En el primero se encuentran los compuestos monoméricos - defensas cualitativas o móviles (Feeny 1976)- que se encuentran en baja concentración y están representados por toxinas tales como los ácidos fenólicos, los alcaloides y los flavonoides (Horner 1988). En el segundo grupo se encuentran los compuestos poliméricos - defensas cuantitativas o inmóviles (Feeny 1976)- que se presentan en mayor concentración e incluyen a los taninos y ligninas (Rhoades & Cates 1976; Owen-Smith 1982; Coley et al. 1985). Coley et al. (1985) propusieron que, en ambientes de baja disponibilidad de recursos como la Patagonia, se espera encontrar defensas del tipo inmóvil, cuyos altos costos de síntesis se verían diluidos en mayores tiempos de duración de las hojas. Además de estas respuestas adaptativas (diferencias entre especies), se han descrito respuestas plásticas al estrés provocado por el pastoreo (diferencias entre individuos pastoreados y no pastoreados de un mismo genotipo). Dichas respuestas plásticas consisten en el aumento de alguno de los dos tipos de defensas (Milewski et al. 1991; Karban et al. 1997; Agrawal & Rutter 1998; Cipollini 1998).

El estudio del contenido de metabolitos secundarios de base carbonada (MSC) en especies diferencialmente preferidas por los herbívoros y sometidas a distinta presión de pastoreo permite evaluar, entonces, las respuestas químicas, tanto plásticas como adaptativas, de cada una ante el pastoreo. Los análisis químicos tradicionales, empleados para el reconocimiento de MSC, son específicos para determinados grupos de compuestos (e.g., isoprenoides, esteroides, alcaloides; Domínguez 1973). Los pocos métodos disponibles para reconocer la casi totalidad de los grupos de MSC a partir de una sola muestra de material vegetal no solo son largos y laboriosos sino que, además, proporcionan

únicamente resultados cualitativos (Domínguez 1973). En este trabajo se recurrió a la marcha de extracción propuesta por Buchanan et al. (1978), diseñada originalmente para hallar especies vegetales productoras de hidrocarburos y caucho. La ventaja de esa marcha por sobre las tradicionales radica en que permite un "screening" expeditivo de todos los grupos de MSC simultáneamente y a un costo relativamente bajo. Además, arroja resultados cuantitativos a partir del secado y pesado de las fracciones obtenidas.

En este trabajo se presenta un estudio exploratorio de las respuestas químicas al pastoreo en las tres especies de arbustos dominantes en las estepas del sudoeste de Chubut. Para poder separar las respuestas plásticas de las adaptativas se estudió el contenido de MSC de las tres especies, bajo dos presiones de pastoreo contrastantes desde hace 17 años. El experimento puso a prueba las siguientes hipótesis centrales: (1) el contenido de metabolitos secundarios en las tres especies estudiadas es inversamente proporcional a su preferencia por parte de los grandes herbívoros (respuestas adaptativas), y (2) el contenido de metabolitos secundarios aumenta en respuesta al pastoreo en la especie que carece de defensas físicas (*Senecio filaginoides*) y no se modifica en las que sí las poseen (*Mulinum spinosum* y *Adesmia campestris*) (respuestas plásticas).

MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en el Campo Experimental del INTA en Río Mayo, provincia de Chubut (45°25'S; 70°20'O). El área de estudio corresponde a la comunidad de *Stipa speciosa* (Coirón amargo), *Adesmia campestris*, *Berberis heterophylla* (Calafate) y *Poa lanuginosa* (Pasto hilo) (Golluscio et al. 1982). Las precipitaciones anuales son de 137 mm en promedio y están concentradas en la estación fría (Fernández et al. 1992). El suelo sobre el cual se asienta esta comunidad es homogéneo en toda el área de estudio y ha sido caracterizado como Calciorthid (Fernández & Paruelo 1988).

Se recolectaron muestras de hojas de las tres especies de arbustos (*Senecio filaginoides*, *Mulinum spinosum* y *Adesmia campestris*). Las

hojas se obtuvieron de tres individuos de cada especie ubicados en un área clausurada al pastoreo de grandes herbívoros durante los últimos 17 años, y de otros tantos individuos ubicados en un área vecina sometida a pastoreo continuo con una carga de 0.3 Equivalentes Oveja/ha. Los seis individuos fueron seleccionados al azar entre los de tamaño modal de cada especie. De cada individuo se tomaron muestras de hojas verdes del año, totalmente expandidas y ubicadas en la parte superior de la copa. Una vez secas y molidas las hojas, las muestras se sometieron a una marcha de extracción secuencial, que separó tres grupos de sustancias de distinta polaridad: aceites, fenoles y compuestos hidrocarbonados (Buchanan et al. 1978; Figura 1). La fracción de aceites contiene principalmente ceras, isoprenoides y esteroides. La fracción de fenoles contiene fenoles, taninos, alcaloides, glicósidos y flavonoides. La fracción hidrocarbonada está constituida por hidrocarburos de cadena larga, ceras y politerpenos (Buchanan et al. 1978). Una limitante de la técnica es que las tres fracciones presentan proporciones variables de diversos metabolitos primarios. En particular, el residuo final contiene no solamente celulosa y proteínas (metabolitos primarios), sino también lignina (Buchanan et al. 1978). Sin embargo, a los fines

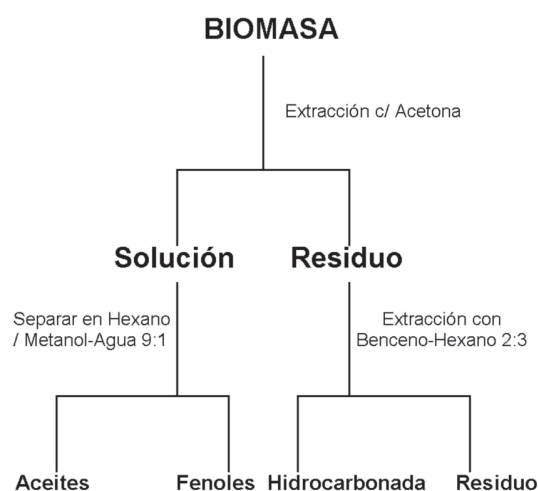


Figura 1. Marcha de extracción de los tres grupos de compuestos de diferente polaridad obtenidos de las hojas de tres arbustos del sudoeste de Chubut.

Figure 1. Chemical screening used to obtain three different fractions differing in polarity from leaves of three shrubs in southwestern Chubut Province.

de este trabajo se supone que tanto las proporciones de metabolitos primarios en las tres fracciones como la de metabolitos secundarios en el residuo son despreciables o constantes para todas las especies comparadas.

Luego de secarlas en desecador de vacío, se pesaron las tres fracciones y el residuo y se calcularon sus porcentajes respecto de la biomasa inicial. Estos valores fueron transformados (como el arcoseno de la raíz cuadrada) y sometidos a ANOVA Factorial (tres especies x dos presiones de pastoreo). Las diferencias entre especies fueron analizadas mediante la Prueba de Tukey. Este estudio tiene un carácter preliminar, debido al bajo número de repeticiones y a lo reducido del área geográfica relevada. Como consecuencia, se estableció un nivel de significancia relativamente laxo ($\alpha = 0.10$) y se realizaron análisis de potencia de las comparaciones estadísticas realizadas utilizando el programa GPower (Erdfelder et al. 1996). Tales análisis de potencia permiten evaluar la probabilidad de aceptar erróneamente la hipótesis de ausencia de diferencias (β) y también calcular el tamaño de muestra necesario para alcanzar

una determinada potencia ($1-\beta$) en futuros estudios.

RESULTADOS

Las tres especies difirieron significativamente en su contenido conjunto de aceites, fenoles y compuestos hidrocarbonados: *Senecio filaginoides* tuvo los contenidos más altos (alrededor del 22%), *Mulinum spinosum* tuvo contenidos intermedios (alrededor del 17%) y *Adesmia campestris* tuvo los contenidos más bajos (alrededor del 12%) (Figura 2a). Esa tendencia se observó tanto en los individuos del área pastoreada como en los del área clausurada. Sin embargo, se detectó una interacción especies x pastoreo significativa, asociada a que *Senecio filaginoides* fue la única especie cuyos individuos sometidos a pastoreo tuvieron mayor contenido conjunto de las tres fracciones que los provenientes del área clausurada (ANOVA, $P < 0.10$; Figura 2a y Tabla 1). Resultados similares se registraron en las fracciones de aceites y fenoles, aunque en esta última no se detectaron efectos del pastoreo en ninguna de las espe-

Tabla 1. Probabilidades de aceptar erróneamente como válida la existencia de diferencias significativas entre promedios (α) y de aceptar erróneamente como válida la ausencia de diferencias significativas entre promedios (β) para distintas comparaciones de los contenidos de fracciones obtenidas de las hojas de tres arbustos del sudoeste de Chubut. Se estableció un nivel crítico de significancia de 10%. Los asteriscos indican los valores de α significativos al 10% y los valores de β correspondientes a una potencia mayor a 85%. P: individuos pastoreados; C: individuos no pastoreados; Ms: *Mulinum spinosum*; Ac: *Adesmia campestris*; Sf: *Senecio filaginoides*.

Table 1. Probability of wrongly accepting as valid, significant differences between averages (α), and of wrongly accepting as valid a lack of significant differences between averages (β) for different comparisons of the content of fractions obtained from leaves of three shrubs in southwestern Chubut Province. Significant level is 10%. Asterisks indicate significant α values at 10% and β values with a power over 85%. P: grazed individuals; C: non-grazed individuals; Ms: *Mulinum spinosum*; Ac: *Adesmia campestris*; Sf: *Senecio filaginoides*.

Comparación	Aceites	Fenoles	Hidrocarbonada	Residuo
α				
Factor especie	< 0.001 *	< 0.001 *	< 0.001 *	< 0.001 *
Factor pastoreo	0.052 *	0.761	0.047 *	0.197
Especie x Pastoreo	0.026 *	0.168	0.002 *	0.063 *
P vs. C (Ms)	0.85	0.26	0.22	0.35
P vs. C (Ac)	0.94	0.19	0.17	0.33
P vs. C (Sf)	0.06 *	0.50	< 0.001 *	0.081 *
β				
Factor especie (P)	0 *	0 *	0 *	0 *
Factor especie (C)	0 *	0 *	0.90	0 *
P vs. C (Ms)	0.87	0.52	0.39	0.62
P vs. C (Ac)	0.89	0.35	0.31	0.52
P vs. C (Sf)	0.14 *	0.70	0 *	0.14 *

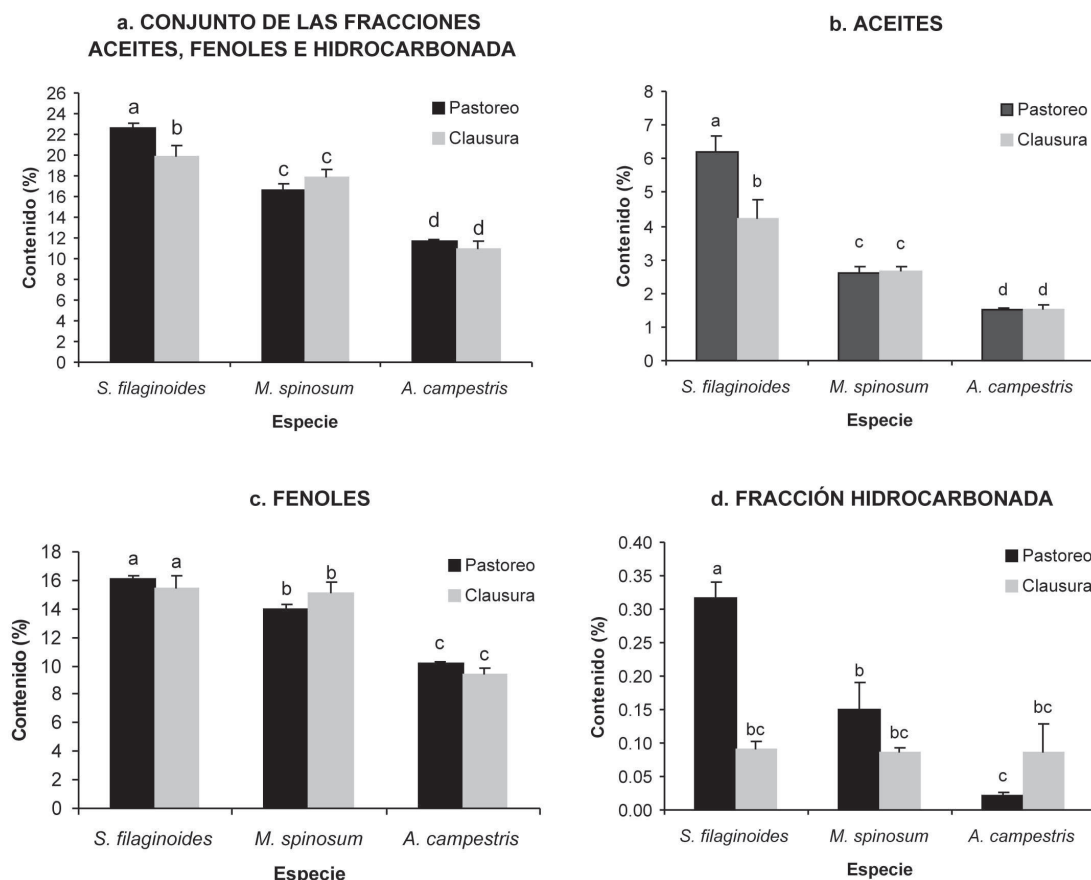


Figura 2. Contenido del conjunto de las tres fracciones (calculado como 100 - residuo), de la fracción de aceites, de la fracción de fenoles y de la fracción hidrocarbonada, obtenidas de las hojas de *Senecio filaginoides*, *Mulinum spinosum* y *Adesmia campestris* del sudoeste de Chubut en los tratamientos de pastoreo y clausura. Los valores están expresados en porcentaje del peso seco total del material vegetal. Letras distintas indican diferencias significativas entre especies y entre tratamientos ($P < 0.10$).

Figure 2. Total extract content (calculated as 100 - residue), content of oil fraction, content of phenol fraction, and content of the hydrocarbon fraction obtained from leaves of *Senecio filaginoides*, *Mulinum spinosum* and *Adesmia campestris* in southwestern Chubut Province in the grazed and non-grazed treatments. Values are expressed as percent on a dry-weight basis. Different letters indicate significant differences between species and treatments ($P < 0.10$).

cies y, por lo tanto, no hubo una interacción significativa (Figuras 2b, 2c y Tabla 1). En el caso de la fracción hidrocarbonada, hubo una marcada interacción asociada a que las mencionadas diferencias entre especies se mantuvieron solo entre los individuos del área pastoreada y a que, además, como en el caso de los aceites y el contenido conjunto de las tres fracciones, *Senecio filaginoides* fue la única especie que mostró un incremento del contenido de compuestos hidrocarbonados en respuesta al pastoreo (Figura 2d y Tabla 1). Las comparaciones que arrojaron diferencias significativas entre promedios tuvieron por lo general una alta potencia (>85%; Tabla 1).

En cambio, aquellas en las que no fue posible detectar diferencias significativas tuvieron una potencia menor (10-70%; Tabla 1).

DISCUSIÓN

Los resultados apoyaron la hipótesis referida a las diferencias adaptativas entre las tres especies, ya que se encontró un mayor contenido de metabolitos secundarios en la especie menos preferida por los ovinos (*Senecio filaginoides*) que en las más preferidas (*Mulinum spinosum* y *Adesmia campestris*; hipótesis 1). También apoyaron la hipótesis

que sugería que *Senecio filaginoides* posee una estrategia de respuesta ante la herbivoría basada principalmente en la producción de compuestos químicos carbonados, mientras que esa estrategia estaría ausente, o al menos sería menos importante, en las otras dos especies, que cuentan con defensas físicas (hipótesis 2).

Estas inferencias solo son estrictamente válidas para la pequeña área geográfica explorada (Hurlbert 1984). Sin embargo, pueden ser extrapoladas tentativamente a un área geográfica más vasta, bajo la convicción de que los "stands" comparados en este trabajo son representativos de la comunidad predominante en la porción meridional del Distrito Occidental de la Provincia Fito-geográfica Patagónica (León et al. 1998).

Resulta inesperado el incremento verificado en el contenido de MSC de *Senecio filaginoides* en respuesta al pastoreo, teniendo en cuenta que no suele ser consumida por los ovinos (Fernández et al. 1992; Somlo et al. 1997). Sin embargo, *Senecio filaginoides* parece jugar un papel importante en la dieta de otros herbívoros, particularmente orugas y parásitos que forman agallas (RA Golluscio, obs. pers.). No obstante, al no excluir las clausuras la acción de los insectos, la herbivoría de éstos no puede explicar las diferencias observadas entre las áreas pastoreada y clausurada. En cambio, *Senecio filaginoides* constituiría el componente predominante (30-40%) de la dieta estival de los guanacos en la comunidad estudiada, tanto en el sudoeste de Chubut como en el noroeste de Santa Cruz (Somlo et al. 1997:27-28). Las diferencias químicas halladas entre los individuos pastoreados y no pastoreados de *Senecio filaginoides* no podrían ser entonces atribuidas a la exclusión del pastoreo ovino, sino a la exclusión del pastoreo de los guanacos u otros herbívoros silvestres. Este modelo conceptual refuerza las consideraciones de Lauenroth (1998) acerca de que la flora patagónica habría estado sujeta a una larga coevolución con los guanacos.

El supuesto de que las tres fracciones están integradas principalmente por metabolitos secundarios carbonados (MSC) y que el residuo está constituido básicamente por metabolitos primarios carbonados (MPC) resulta más

plausible en algunas fracciones que en otras, lo cual merece análisis futuros más detallados en estas últimas. En efecto, se espera que la fracción de fenoles contenga cantidades considerables de hidratos de carbono (MPC) que podrían haber llegado a enmascarar eventuales diferencias en el contenido de los diversos MSC incluidos en esa fracción. Esto podría explicar, en particular, la ausencia de diferencias significativas en esta fracción entre las plantas pastoreadas y clausuradas de *Senecio filaginoides*. En cambio, la importancia de los lípidos y los ácidos grasos (MPC) en la fracción aceites sería mínima, ya que dicha fracción tuvo la particularidad de ser sólida a temperatura ambiente y líquida a 60°C, lo que evidencia el predominio de las ceras en ella. La importancia de los ácidos grasos (MPC) en la fracción hidrocarbonada también sería despreciable, ya que esa fracción incluiría solamente la escasa proporción de estos compuestos que no resultaron incluidos en la fracción de aceites. Por último, si bien la proporción de lignina en el residuo podría llegar a ser muy elevada, de ninguna manera podría superar a la suma de celulosa y proteína. Por ejemplo, Somlo et al. (1985) encontraron que el contenido de lignina en brotes de *Mulinum spinosum* y *Adesmia campestris* (12.5% y 11.9%, respectivamente) era menor a la mitad de la suma de proteína, celulosa y hemicelulosa en ambos casos (48.4% y 23.6%, respectivamente).

A modo de conclusión, este trabajo sugiere que las especies arbustivas de la estepa del sudoeste de Chubut más preferidas por los grandes herbívoros (*Adesmia campestris* y *Mulinum spinosum*) tienen menor contenido de metabolitos secundarios carbonados que la menos preferida (*Senecio filaginoides*). Además, las especies que cuentan con defensas físicas (las dos más preferidas) no presentarían un aumento significativo en el contenido de MSC al ser pastoreadas, mientras que sí lo haría la especie menos consumida por el ganado doméstico, carente de defensas físicas (*Senecio filaginoides*).

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue posible gracias a los subsidios FONCYT (PICT 02092/97), UBA

(IG 06) y CONICET (PEI 0096/97; PIP 0225/98 y 0326/98). Asimismo, los autores desean agradecer las sugerencias de A. Pomilio, C. Ghersa, S. Perelman, M. Oesterheld y tres revisores anónimos en diversas etapas del trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- AGRAWAL, AA & MT RUTTER. 1998. Dynamic anti-herbivore defence in ant-plants: the role of induced responses. *Oikos* **83**:227-236.
- AGUIAR, MR & OE SALA. 1994. Competition, facilitation, seed distribution and the origin of patches in a Patagonian steppe. *Oikos* **70**:26-34.
- AGUIAR, MR; A SORIANO & OE SALA. 1992. Competition and facilitation in the recruitment of seedlings in the Patagonian steppe. *Funct. Ecol.* **6**:66-70.
- BONVISSUTO, G; E MORICZ DE TECSO; O ASTIBIA & J ANCHORENA. 1983. Resultados preliminares sobre los hábitos dietarios de ovinos en un pastizal semidesértico de Patagonia. *IDIA* **36**(supl.):243-253.
- BUCHANAN, RA; IM CULL; FH OTEY & CR RUSSELL. 1978. Hydrocarbon- and rubber-producing crops. Evaluation of U.S. plant species. *Econ. Bot.* **32**:131-145.
- BURKART, A; L BRAVO; MN CORREA; RH FORTUNATO; RN GIANGUALANI ET AL. 1984. Leguminosae. Pp. 89-297 en: *Flora patagónica. Tomo VIII. Parte IVb*. Colección Científica, INTA. Buenos Aires.
- CABRERA, AL. 1971. Compositae. Pp. 1-432 en: *Flora patagónica. Tomo VIII. Parte VII*. Colección Científica, INTA. Buenos Aires.
- CIPOLLINI, D. 1998. Induced defences and phenotypic plasticity. *Trends Ecol. Evol.* **13**:200.
- COLEY, PD; JP BRYANT & FS CHAPIN III. 1985. Resource availability and plant antiherbivore defence. *Science* **230**:895-899.
- CONSTANCE, L. 1988. Umbelliferae. Pp. 310-379 en: *Flora patagónica. Tomo VIII. Parte V*. Colección Científica, INTA. Buenos Aires.
- COUGHENOUR, MB. 1985. Graminoid responses to grazing by large herbivores: adaptations, exaptations, and interacting processes. *Ann. Mo. Bot. Gard.* **72**:852-863.
- DOMÍNGUEZ, XA. 1973. *Métodos de investigación fitoquímica*. Limusa. México DF.
- ERDFELDER, E; F FAUL & A BUCHNER. 1996. GPower: a general power analysis program. *Behav. Res. Meth. Ins. C.* **28**:1-11.
- FEENY, PP. 1976. Plant antiherbivore defence. Pp. 1-40 en: JW Wallace & RL Mansell (eds). *Biochemical interactions between plants and insects. Recent advances in Phytochemistry. Vol. 10*. Plenum. New York.
- FERNÁNDEZ, RJ; AH NUÑEZ & A SORIANO. 1992. Contrasting demography of two Patagonian shrubs under different conditions of sheep grazing and resource supply. *Oecologia* **91**:39-46.
- FERNÁNDEZ, RJ & JM PARUELO. 1988. Root system of two Patagonian shrubs: A quantitative description using a geometrical method. *J. Range Manage.* **41**:220-223.
- FERNÁNDEZ, RJ; OE SALA & RA GOLLUSCIO. 1991. Woody and herbaceous aboveground production of a Patagonian steppe. *J. Range Manage.* **44**:434-437.
- GOLLUSCIO, RA; RJC LEÓN & S PERELMAN. 1982. Caracterización fitosociológica de la estepa del oeste del Chubut. Su relación con el gradiente ambiental. *Bol. Soc. Arg. Bot.* **21**:299-324.
- GRIME, JP. 1979. *Plant strategies and vegetation process*. John Wiley. Chichester.
- GRUBB, PJ. 1992. A positive distrust in simplicity: lessons from plant defences and from competition among plants and among animals. *J. Ecol.* **80**:585-610.
- HORNER, JD. 1988. Astringency of Douglas-fir foliage in relation to phenology and xylem pressure potential. *J. Chem. Ecol.* **14**:1227-1237.
- HURLBERT, SH. 1984. Pseudoreplication and the design of ecological field experiments. *Ecol. Monogr.* **54**:187-211.
- KARBAN, R; AA AGRAWAL & M MANGEL. 1997. The benefits of induced defenses against herbivores. *Ecology* **78**:1351-1355.
- LAUENROTH, WK. 1998. Guanacos, spiny shrubs and the evolutionary history of grazing in the Patagonian steppe. *Ecología Austral* **8**:211-216.
- LEÓN, RJC; D BRAN; M COLLANTES; JM PARUELO & A SORIANO. 1998. Grandes unidades de vegetación de la Patagonia extra andina. *Ecología Austral* **8**:125-144.
- MILCHUNAS, DG; OE SALA & WK LAUENROTH. 1988. A generalized model of the effects of grazing by large herbivores on grassland community structure. *Am. Nat.* **132**:87-106.
- MILEWSKI, AV; TP YOUNG & D MADDEN. 1991. Thorns as induced defenses. Experimental evidence. *Oecologia* **86**:70-75.
- OWEN-SMITH, N. 1982. Factors influencing the consumption of plants products by large herbivores. Pp. 359-404 en: FJ Huntley & BH Walker (eds). *Ecology of tropical savannas*. Springer-Verlag. New York.
- PERELMAN, SB; RJC LEÓN & JP BUSSACCA. 1997. Floristic changes related to grazing intensity in a Patagonian shrub steppe. *Ecography* **20**:400-406.

- PYYKKO, M. 1966. The leaf anatomy of East Patagonian xeromorphic plants. *Ann. Bot. Fenn.* 3:453-622.
- RHOADES, DF & RG CATES. 1976. Toward a general theory of plant antiherbivore chemistry. Pp. 168-213 en: JW Wallace & RL Mansell (eds). *Biochemical interactions between plants and insects. Recent advances in Phytochemistry. Vol. 10.* Plenum. New York.
- SOMLO, R; C DURAÑONA & R ORTÍZ. 1985. Valor nutritivo de especies forrajeras patagónicas. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 5:589-605.
- SOMLO, R; A PELLIZA; P WILLEMS; V NAKAMATSU & A MANERO. 1997. *Atlas dietario de herbívoros patagónicos.* PRODESAR-INTA-GTZ. San Carlos de Bariloche.
- WINK, M. 1988. Plant breeding: importance of plant secondaries metabolites for protection against pathogens and herbivores. *Theor. Appl. Genet.* 75:225-233.