

Tesis Doctoral

Efecto de la diversidad funcional de insectos herbívoros en el ciclado de carbono y nitrógeno en bosques andino-patagónicos

Oleiro, Marina Inés

2015-03-30

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Oleiro, Marina Inés. (2015-03-30). Efecto de la diversidad funcional de insectos herbívoros en el ciclado de carbono y nitrógeno en bosques andino-patagónicos. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

Oleiro, Marina Inés. "Efecto de la diversidad funcional de insectos herbívoros en el ciclado de carbono y nitrógeno en bosques andino-patagónicos". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2015-03-30.

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Departamento de Ecología, Genética y Evolución

Efecto de la diversidad funcional de insectos herbívoros en el ciclado de carbono y nitrógeno en bosques andino-patagónicos

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área Ciencias Biológicas

Marina Inés Oleiro

Director de tesis: Enrique Chaneton

Consejero de Estudios: Javier López de Casenave

Lugar de trabajo: IFEVA – CONICET - Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires

Buenos Aires, 2015

COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis

Enrique Chaneton

Lic. en Ciencias Biológicas (CAECE)

Dr. Cs. Biológicas (Imperial College London)

Consejero de estudios

Javier Lopez de Casenave

Lic. en Ciencias Biológicas (UBA)

Dr. Cs. Biológicas (UBA)

JURADO DE TESIS

JURADO

Alicia Godeas

Lic. Cs. Biológicas (UBA)

Dra. Cs. Biológicas (UBA)

JURADO

Lucia Vivanco

Lic. Cs. Biológicas (UBA)

Dra. Cs. Agropecuarias (UBA)

JURADO

Graciela Valladares

Bióloga (UNCor)

Dra. Cs. Biológicas (UNCor)

Fecha de defensa de la tesis: 30 de Marzo de 2015

A Lola, Tomy, Guada, Vicky y Manu

*“Niño hijo de niños más grandes, que el mundo va envejeciendo a los golpes.
Niño candilcito en la tormenta, puerta clandestina en la muralla.
Niño del fin del mundo te traigo los abrazos que precisas,
Mis últimas y pobres barricadas, el mundo entero por cambiar
y el corazón en esta retirada”*

Agarrate Catalina.

Agradecimientos

A mi director Enrique, por su gran e inesperado sentido del humor, el cual hizo que transitar mi doctorado fuera un placer. Por su apoyo constante y su generosidad para compartir e impartir conocimiento. Por ser el director que todos quisiéramos tener.

A toda la gente del IFEVA por generar ese ambiente de maravilloso que se respira apenas uno entra por la puerta.

A todos los compañeros de la mitocondria (desde Isa hasta Dani) por la compañía diaria, por el aguante en los berrinches, por las alegrías compartidas, por ser la oficina más copada de todas.

A Pablo, Pri, Marta, Fer, Lucha, Lau, Luis y Gas por la amistad durante estos 5 años de laburo.

A Vicky, Jaqui, y Naomi por los grandiosos viajes compartidos, son las mejores compañeras de viaje que me podrían haber tocado.

A Thomas Kitzberger y Lucas Garibaldi por la ayuda en el campo y por siempre estar dispuestos a aportar algo interesante para discutir y abrir la cabeza.

A todos los que me brindaron su ayuda para poder llevar adelante esta tesis. Desde ayuda técnica hasta cuidándome la casa para que pudiera hacer los viajes. Andy, Lu Ciuffoli, Lu Durán, Sole, Jaqui, Waly, Mirta, Ade, Luisi, seguro me olvido alguno, perdón!!!

A mi familia que a pesar de todo siempre estuvieron ahí.

A mis amigos de siempre, que siguen ahí, firmes cual rulo de estatua. Mención especial para Guada que me mostro el mundo del baile y así conocí el maravilloso mundo del Swing.

A toda la muchachada de Swing. Bailar me hace feliz, pero compartirlo con ustedes es invaluable.

A Pablo, por su aguante, su paciencia, su amor del más tierno.

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

Tabla de contenidos

Resumen	1
Abstract.....	2
CAPITULO I	3
Introducción general	3
Biodiversidad y funcionamiento.....	4
Herbivoría y funcionamiento.....	5
Herbívoros, biodiversidad y descomposición.....	7
El rol funcional de los insectos en bosques andino-patagónicos	10
Objetivos e hipótesis	14
CAPÍTULO II	16
Efecto de la diversidad de insectos folívoros sobre la descomposición y el ciclado de nitrógeno en la hojarasca.	16
Introducción	17
Materiales y Métodos	21
Resultados	28
Discusión	35
CAPÍTULO III	41
Mecanismos asociados al efecto de la herbivoría sobre la descomposición y la dinámica del nitrógeno.....	41
Introducción	42
Materiales y métodos	46
Resultados	53
Discusión	60
CAPITULO IV.....	65
Efecto de la herbivoría por insectos sobre la descomposición de hojarasca en el contexto de la deposición masiva de cenizas volcánicas.	65
Introducción	66

Materiales y métodos	69
Resultados	75
Discusión	79
CAPÍTULO V	83
 Discusión general	83
Rol de la diversidad de insectos herbívoros sobre los procesos del suelo.....	84
Mecanismos asociados a los efectos de la herbivoría sobre la descomposición y la dinámica del N.....	86
Impacto de la deposición de ceniza volcánica sobre procesos del suelo.....	88
Nuevas perspectivas	89
Conclusiones finales	90
BIBLIOGRAFÍA.....	93

Resumen

Efecto de la diversidad funcional de insectos herbívoros en el ciclado de carbono y nitrógeno en bosques andino-patagónicos

La pérdida de biodiversidad afecta las relaciones tróficas y puede modificar los flujos de energía y nutrientes en los ecosistemas. Los consumidores herbívoros pueden afectar el ciclado de C y N en el suelo a través de varios mecanismos. Sin embargo, el rol de la diversidad de insectos defoliadores en el funcionamiento de bosques templados no ha sido aún estudiado en profundidad. El objetivo de esta tesis fue investigar el efecto de la diversidad funcional de insectos herbívoros, medida como diversidad de daños, sobre la descomposición de hojarasca y el ciclado de N en bosques de *Nothofagus pumilio* del norte de la Patagonia. El análisis químico (C:N) y físico (dureza) de la hojarasca mostró que el daño por insectos mejora la "calidad" del sustrato de descomposición. Ese efecto dependió de la identidad del gremio de insectos (masticador, minador, pegador) considerado. Experimentos a campo y en laboratorio indicaron que la herbivoría aceleró la descomposición de hojarasca en el suelo, pero la riqueza del daño foliar no fue un factor significativo. En microcosmos se demostró que tanto el daño físico de las hojas, como la deposición de heces, aumentaron la tasa de descomposición y la liberación de N de la hojarasca. El tipo de daño en la hojarasca (identidad) no afectó la tasa de descomposición, pero sí la dinámica del N. La hojarasca dañada por minadores y pegadores liberó más N que la hojarasca sana o dañada por masticadores. Durante el transcurso de esta tesis ocurrió la erupción del complejo volcánico Puyehue-Cordón Caulle y la deposición masiva de cenizas enmascaró el efecto de los herbívoros sobre la descomposición, pero no modificó las diferencias observadas en la dinámica del N. Evidencias de campo y laboratorio sugieren que la ceniza volcánica limitó la actividad de la mesofauna de detritívoros del suelo. Los resultados demuestran que la composición funcional de insectos folívoros puede regular procesos clave del ciclado de C y N en el suelo y que esos efectos son modificados por disturbios naturales de gran magnitud.

Palabras clave: Biodiversidad, Ciclo de nutrientes, Descomposición, Herbivoría
Nothofagus pumilio

Abstract

Effect of functional diversity of insect herbivores on carbon and nutrient cycling in Patagonian forests

Biodiversity loss affects trophic interactions and may thus change the fluxes of energy and nutrients within ecosystems. The aim of this thesis was to investigate the effect of functional diversity of folivorous insects on litter decomposition and nitrogen cycling in *Nothofagus pumilio* forests in northern Patagonia. Chemical (C:N) and physical (toughness) analyses showed that prior insect damage improves leaf-litter "quality" as a substrate for decomposition, relative to undamaged leaf litter. This effect depended on the insect guild (leaf chewer, miner or tier). Field and laboratory experiments indicated that herbivory accelerated litter decomposition, but leaf damage diversity had no significant effect. In a microcosm experiment, both the physical damage of senescing leaves and deposition of insect frass increased rates of decomposition and net N mineralization. Folivore guild identity did not affect decomposition rate but enhanced N release from litter. Litter damaged by miners and tiers released more N than undamaged leaves or leaves damaged by chewing insects. Mass deposition of volcanic ashes after the 2011 eruption of the Puyehue-Cordón Caulle complex masked any differences in decomposition between intact and insect damaged tree leaves. Yet, insect-mediated effects on litter N dynamics remained significant even beneath a thick ash layer. Laboratory and field evidence suggests that volcanic ashes limited the activity of soil mesofauna. This thesis shows that the functional composition of folivorous canopy insects can regulate key processes for C and N cycling in forest soils, and that these effects are modified by large-scale natural disturbances.

Key words: Biodiversity, Decomposition, Herbivory, *Nothofagus pumilio*, Nutrient cycle.

CAPITULO I

Introducción general

Biodiversidad y funcionamiento

La actividad humana provoca pérdidas irreversibles de *biodiversidad* a escala global (Chapin *et al.* 2000; Sala *et al.* 2000; Cardinale *et al.* 2012). A diferencia de la diversidad taxonómica, el término biodiversidad comprende a la diversidad de los organismos en todos los niveles de organización biológica, desde los genes hasta los ecosistemas, así como también la diversidad de la estructura y el funcionamiento de los sistemas biológicos en el espacio y el tiempo (Noss, 1990; Naeem, 2002). Esa reducción de la biodiversidad modifica las relaciones interespecíficas (Chapin *et al.*, 2000), así como los flujos de energía y materia que determinan el funcionamiento de los ecosistemas (de Ruiter *et al.*, 1995; Hättenschwiler *et al.*, 2005; Srivastava *et al.*, 2009). Durante la década del '90, la preocupación por la pérdida de biodiversidad generó una nueva corriente de investigación que permitió establecer que la diversidad de especies puede modificar el ambiente físico, los ciclos biogeoquímicos y la productividad de los ecosistemas (Cardinale *et al.*, 2012). Sin embargo, todavía queda mucho por investigar sobre las consecuencias funcionales de la pérdida de diversidad biológica en diferentes niveles tróficos (Hättenschwiler *et al.*, 2005; Bruno y Cardinale, 2008; Srivastava *et al.*, 2009; Reiss *et al.*, 2009; Thompson *et al.*, 2012).

Los primeros estudios sobre la relación diversidad–funcionamiento estuvieron enfocados en la producción de biomasa como respuesta a los cambios en la riqueza de especies vegetales (Cardinale *et al.*, 2006). En general, esas investigaciones han demostrado que la disminución de la diversidad, sobre todo en términos de la riqueza (número) de especies o grupos funcionales, tiene impactos negativos sobre la productividad primaria y los procesos relacionados con la captura de recursos por las plantas (Tilman *et al.*, 2001; Loreau *et al.*, 2001; Wardle y Bardgett, 2004; Cardinale *et al.*, 2012). Estos resultados generaron controversia, ya que podían ser explicados por dos mecanismos diferentes (Loreau *et al.*, 2001). Por un lado, la *Complementariedad de nichos* ocurre cuando el desempeño de la comunidad es mayor al esperado por el desempeño de cada una de las especies por separado. Este mecanismo involucra por un lado la diferenciación de nichos que ocurre cuando distintas especies utilizan de manera diferente los recursos (nutrientes, espacio, luz, etc.) y por lo tanto no hay competencia entre ellas. Este mayor aprovechamiento de la gama de recursos disponibles genera un aumento en el desempeño de la comunidad, por ejemplo, en la captura total de carbono (C)

(Tilman *et al.*, 1996; Loreau y Hector, 2001). La noción de complementariedad también involucra las interacciones de *facilitación* entre especies. La facilitación ocurre cuando la presencia de una especie genera un ambiente más propicio para el establecimiento o el aprovechamiento de los recursos por otras especies de la comunidad (Callaway, 1995; Loreau y Hector, 2001).

En contraposición, se propuso que el efecto de la riqueza de especies sobre el funcionamiento puede ocultar un *Efecto de Selección* o de *Muestreo* (“sampling effect” *sensu* Huston 1997). Este ocurre cuando al aumentar el número de especies se incrementa la probabilidad de incluir a la especie que tiene mejor desempeño para la función considerada. Este escenario se caracteriza por nichos superpuestos y competencia por recursos, donde hay una especie que resulta mejor competidora y logra acaparar la mayoría de los recursos disponibles. En estos casos, el efecto de la diversidad depende de la presencia/ausencia de esa especie y la tasa del proceso considerado en las comunidades más diversas no sería mayor al observado para la especie más influyente cuando ésta crece sola (Aarssen, 1997; Tilman, 1997; Loreau y Hector, 2001). Estos mecanismos fueron discutidos originalmente como si fueran mutuamente excluyentes; más aún, el efecto de muestreo fue considerado por algunos como un artificio experimental y no un verdadero mecanismo ecológico (Aarssen, 1997; Huston, 1997), debido a que supone una fuerte influencia del azar en el ensamble de las comunidades. Por otro lado, los efectos de selección fueron tomados como evidencia del crucial papel que juega la identidad de las especies, a través de sus rasgos funcionales, en el control de los procesos ecosistémicos (Grime, 1998; Wardle, 1999). En la actualidad, se considera que ambos mecanismos componen el efecto “total” de la riqueza de especies y son los extremos de un continuo. En el medio de estos extremos puede haber complementariedad entre grupos particulares de especies o grupos funcionales, así como también puede existir la dominancia de un subgrupo de especies complementarias (ver Loreau *et al.* 2001).

Herbivoría y funcionamiento

Los efectos de la herbivoría sobre el funcionamiento del ecosistema han sido muy estudiados en términos de la productividad primaria (McNaughton, 1983; Semmartin y Oesterheld, 1996). La biomasa aérea sufre los efectos directos de la herbivoría ya que pierde tejido fotosintético y eso resulta en la pérdida de C y nutrientes (Ferraro y Oesterheld, 2002). Sin embargo, la herbivoría no siempre tiene

impactos negativos sobre la productividad. Oesterheld y McNaughton (1988), encontraron que plantas de *Themeda triandra* (Poaceae) lograban una mayor productividad cuando eran defoliadas. Los mecanismos por los cuales la herbivoría puede afectar la productividad de un ecosistema han sido vastamente estudiados (McNaughton, 1983; Oesterheld y McNaughton, 1991; Agrawal, 2000; Ferraro y Oesterheld, 2002). Se han realizado numerosos estudios donde se evaluó el efecto de la herbivoría de vertebrados sobre los procesos del suelo en sistemas manejados en los que se han obtenidos resultados tanto positivos como negativos sobre la comunidad de descomponedores y la mineralización de C y nitrógeno (N) (Bardgett y Wardle, 2003). Hay buenas evidencias de que los herbívoros juegan un papel importante en los procesos de retroalimentación que ocurren entre el suelo y la vegetación, ya que afectan la calidad y cantidad de los residuos vegetales que aportan el sustrato para la actividad de los descomponedores del suelo (Hunter, 2001; Wardle y Bardgett, 2004). Sin embargo, el rol de los invertebrados del canopeo sobre los procesos del suelo en sistemas boscosos ha recibido poca atención (Frost y Hunter, 2008).

Existen varios mecanismos por los cuales los herbívoros pueden afectar los procesos del suelo como la descomposición de la hojarasca y los ciclos de nutrientes. En el corto plazo, las heces depositadas en las hojas constituyen una fuente lábil de nutrientes y C lo genera una hojarasca de mejor calidad para la comunidad de descomponedores (Fogal y Slansky, 1985; Belovsky y Slade, 2000). En otros casos los herbívoros dejan caer pedazos de hoja verde mientras se alimentan, los cuales suelen tener mejor calidad que la hojarasca y pueden modificar los flujos de C y nutrientes en el suelo (Fonte y Schowalter, 2005). La herbivoría también cambia la concentración de los nutrientes en la precipitación que cae a través del dosel del bosque. Este cambio se produce debido a la lixiviación de los nutrientes desde las hojas dañadas hacia el agua que pasa a través de ellas (Seastedt, 1984; Hunter, 2001). Tanto los fragmentos de hojas verdes como la precipitación que cae luego de atravesar el canopeo dañado constituyen un aporte adicional de nutrientes al suelo que pueden afectar la actividad de los descomponedores (Hunter, 2001).

El daño generado por los herbívoros también despierta distintas respuestas en la planta que pueden afectar la calidad de la hojarasca que cae al suelo. Por un lado, la retranslocación de nutrientes en las hojas dañadas por herbivoría resulta muchas veces incompleta, lo que genera una hojarasca de mayor calidad química para los descomponedores (Hunter, 2001; Wardle y Bardgett, 2004). La herbivoría

también puede inducir la producción de defensas por parte de la planta como polifenoles y taninos (Coley *et al.*, 1985; Coley y Barone, 1996; Agrawal, 2007). Estos metabolitos secundarios pueden permanecer en el material vegetal senescente reduciendo la calidad de la hojarasca y la tasa de la descomposición de materia orgánica (MO) en el suelo (Melillo *et al.*, 1982; Scott y Binkley, 1997).

Por otro lado, existen efectos a largo plazo promovidos por los herbívoros en la composición de la comunidad vegetal que pueden impactar el ciclo de nutrientes entre el suelo y la vegetación (Chaneton *et al.* 1996; Hunter 2001; Bardgett y Wardle 2003). Las plantas que producen follaje más palatable para los herbívoros, suelen producir hojarasca de mejor calidad y por lo tanto se descomponen más rápidamente (Wardle y Bardgett, 2004). Si los herbívoros se alimentan de manera selectiva sobre una especie en particular o de un pequeño grupo de especies dentro todo el conjunto de especies que hay en la comunidad, entonces podrían modificar la abundancia relativa de las especies de plantas. Si las especies sobre las que se alimentan son las más palatables, entonces la comunidad quedaría dominada por especies que producen hojarasca de baja calidad y por lo tanto este cambio en la composición podría terminar afectando los procesos del suelo (Belovsky y Slade, 2000; Hunter, 2001). Los cambios en la comunidad de plantas también pueden modificar las condiciones microambientales debido a la variación en la cobertura del dosel, que genera cambios en la radiación, humedad y temperatura a nivel del suelo (Hunter, 2001; Semmartin *et al.*, 2007). Los procesos del suelo están fuertemente influenciados por factores abióticos, por lo que estos cambios microclimáticos pueden tener un gran impacto sobre la composición y actividad de los descomponedores del suelo.

Cambios en la abundancia y diversidad de herbívoros podrían alterar las conexiones entre los subsistemas de productores y descomponedores que sostienen la integridad funcional de los ecosistemas (Wardle y Bardgett, 2004) En particular, los efectos de la biodiversidad de herbívoros sobre los procesos del suelo han sido muy poco estudiados (Wardle y Bardgett, 2004; Hättenschwiler *et al.*, 2005).

Herbívoros, biodiversidad y descomposición

La descomposición de MO es un proceso crucial para sostener la vida en la Tierra, ya que constituye la liberación de la energía y los nutrientes que se encuentran fijados en compuestos orgánicos (Berg y Laskowski, 2006). La

producción de biomasa vegetal que se produce a lo largo de un año puede llegar a los 4 kg/m² y todo lo que no es consumido por los herbívoros se incorpora al suelo como MO y entra en descomposición (Swift *et al.*, 1979; Berg y Laskowski, 2006) El reservorio de C del suelo depende de la producción primaria y de la mineralización de los residuos de las plantas. El flujo promedio de CO₂ por respiración en el suelo es aproximadamente 68 x 10¹⁵ gramos de C por año y la mineralización anual del material vegetal que cae al suelo constituye la mitad de dicho flujo (Coûteaux *et al.*, 1995). Tanto la descomposición como la mineralización de nutrientes son indispensables para el mantenimiento de la productividad primaria ya que las plantas absorben los nutrientes en forma inorgánica (Coûteaux *et al.*, 1995; Aerts, 1997; Berg y Laskowski, 2006). En definitiva la descomposición resulta ser un proceso fundamental ya que controla las pérdidas de C del ecosistema, la disponibilidad de nutrientes y en consecuencia, el crecimiento de las plantas y la estructura de las comunidades (Wardle 2002).

La descomposición de la hojarasca es un proceso físico y químico que reduce la hojarasca a sus componentes químicos elementales a través del fraccionamiento del material senescente por parte de los detritívoros y la posterior transformación de esos pequeños fragmentos en moléculas inorgánicas básicas por parte de los microorganismos (Aerts, 1997). Este proceso está controlado por las condiciones ambientales, la calidad del sustrato disponible para los descomponedores y la comunidad de descomponedores del suelo (Seastedt, 1984; Aerts, 1997). Sin embargo, estos tres controles no tienen la misma jerarquía. El clima (particularmente temperatura y humedad) ejerce el mayor control sobre este proceso a escala global. Ambientes más cálidos y húmedos suelen tener tasas de descomposición más altas (Meentemeyer, 1978; Lavelle *et al.*, 1993; Aerts, 1997). Luego, a escala regional, la descomposición se encuentra dominada por la calidad del sustrato, siendo la relación lignina/N o la relación C:N algunos de los mejores predictores de la tasa del proceso (Aerts, 1997). Finalmente, la comunidad de descomponedores suele ser el factor determinante a escala local o de micrositio (Lavelle *et al.*, 1993).

La calidad química de la hojarasca depende en gran medida de las características particulares de cada especie de planta y por lo tanto la composición de especies de una comunidad va a tener un rol muy importante en el ciclado de MO y nutrientes (Vivanco y Austin, 2006), por lo que cambios en la diversidad de especies de plantas pueden tener impactos fuertes sobre los ciclos del suelo. En numerosos estudios donde se evaluó el efecto de la diversidad de especies sobre

los procesos del suelo se han observado tanto efectos de complementariedad como de selección en estudios de mezclas de hojarasca de distintas especies y genotipos (e.g. Hector *et al.* 2000; Vivanco y Austin 2008; Vos *et al.* 2013). Existen evidencias tanto en ambientes terrestres como acuáticos que muestran que la mezcla de distintos tipos de hojarasca puede estimular la descomposición y el ciclado de nutrientes por el efecto de complementariedad de nichos (Hansen y Coleman 1998; Hättenschwiler *et al.* 2001; Gartner y Cardon 2004; Vos *et al.* 2013). También existen estudios donde el efecto de la diversidad de la mezcla de hojarasca sobre la descomposición fue determinado por la inclusión de una especie o un genotipo particular. Estos estudios enfatizaron la importancia de la identidad de las especies, más que la diversidad *per se* (riqueza), en el control del funcionamiento del ecosistema (Cardinale *et al.*, 2006; Vivanco y Austin, 2008; Boyero *et al.*, 2014). Más allá del mecanismo considerado, en conjunto, los estudios realizados hasta ahora no muestran un patrón consistente para el efecto de la diversidad de la hojarasca sobre la tasa de descomposición (k), debido a que tanto los efectos sinérgicos como antagónicos fueron frecuentes (Srivastava *et al.*, 2009).

Si bien existen trabajos que estudiaron los efectos de la herbivoría y de la diversidad de especies de plantas sobre los procesos del suelo, los efectos de la diversidad de herbívoros sobre la descomposición y el ciclado de nutrientes no han sido estudiados (Wardle y Bardgett, 2004; Hättenschwiler *et al.*, 2005). Los distintos gremios de insectos folívoros (masticadores, minadores, galígenos, etc.) generan distintos tipos de daño en las hojas de sus hospedadores. Cada tipo de daño genera cambios físicos y químicos particulares en los tejidos (Hunter, 2001) y, por lo tanto, la hojarasca compuesta por hojas dañadas por un gremio de insectos particular podría ser diferente a la dañada por otro gremio. Las diferentes modificaciones físico-químicas generadas por distintos gremios darían como resultado la producción de hojarasca más o menos diversa de acuerdo con la variedad funcional de los herbívoros que atacaron las hojas. Sin embargo, hasta el momento, sólo se ha considerado el impacto de la presencia/ausencia de insectos folívoros sobre la descomposición de la hojarasca (Belovsky y Slade, 2000; Chapman *et al.*, 2003; Fonte y Schowalter, 2005), mientras que los efectos de la riqueza e identidad de los herbívoros no han sido considerados.

Los efectos de la diversidad de insectos folívoros sobre los procesos del suelo también podrían ser explicados en términos de complementariedad de recursos. Teniendo en cuenta que la hojarasca constituye el recurso para la comunidad de descomponedores (Cardinale *et al.*, 2006), y que una única especie

de planta podría generar distintos tipos de hojarasca al ser dañada por distintos tipos de insectos (masticadores, pegadores, minadores, etc), entonces esta hojarasca más diversa podría generar una gama de nichos más amplia que podría ser aprovechada diferencialmente por una mayor variedad de descomponedores (Srivastava et al. 2009). Por otro lado un tipo de daño podría estimular el consumo de ese tipo de hojarasca y un aumento en la biomasa de descomponedores y finalmente estimular el consumo de los otros tipos de hojarasca (Figura 1.1). Debido a que la calidad y cantidad de la hojarasca son determinantes del reciclado de nutrientes (Coûteaux *et al.*, 1995; Vivanco y Austin, 2008) y esto depende en gran medida de las especies presentes en la comunidad de insectos herbívoros (Belovsky y Slade, 2000), ensambles con una variedad de especies de herbívoros podrían llegar a tener efectos sobre las comunidades de plantas y el funcionamiento del ecosistema distintos a los que se pueden inferir por estudios basados en una única especie (Metcalf *et al.*, 2014). Entender los efectos de la diversidad de insectos folívoros sobre la dinámica de C y nutrientes, así como estudiar los controles de estos procesos es necesario para poder predecir el impacto que tendrían la eventual disminución de la diversidad de insectos del dosel o un incremento en el consumo foliar total bajo un escenario de cambio climático, sobre el ciclado de nutrientes y MO en el suelo.

El rol funcional de los insectos en bosques andino-patagónicos

Los bosques andino patagónicos ocupan una extensa franja territorial entre los 33° y 56°S en la zona sur de Argentina y Chile, a ambos lados de la cordillera de los Andes (Veblen *et al.*, 1996). Debido a los vientos húmedos que provienen del pacífico y descargan en la Cordillera de Los Andes, la precipitación decrece drásticamente desde los 3000 hasta menos de 800 mm anuales en menos 50 km hacia el este (Veblen *et al.*, 1996). La variación climática es más gradual a lo largo del gradiente latitudinal. La temperatura decrece en sentido sur, aunque las temperaturas extremas son atenuadas por la disminución en la continentalidad (Veblen *et al.*, 1996). Existen distintos tipos de bosques que se diferencian por la vegetación predominante y se distribuyen a lo largo del gradiente de precipitación. Las selvas se encuentran en la región más húmeda y se encuentran más extendidas en Chile. Más hacia el este de Los Andes se encuentran los bosques templados dominados por especies del género *Nothofagus* (Veblen *et al.*, 1996). La vegetación en estos bosques generalmente presenta un patrón de transición

gradual y continuo de una comunidad a otra. A su vez, las especies presentan rangos de distribución muy amplios; todas ocupan una gran diversidad de hábitats y muestran gran plasticidad fenotípica (Veblen *et al.*, 1996).

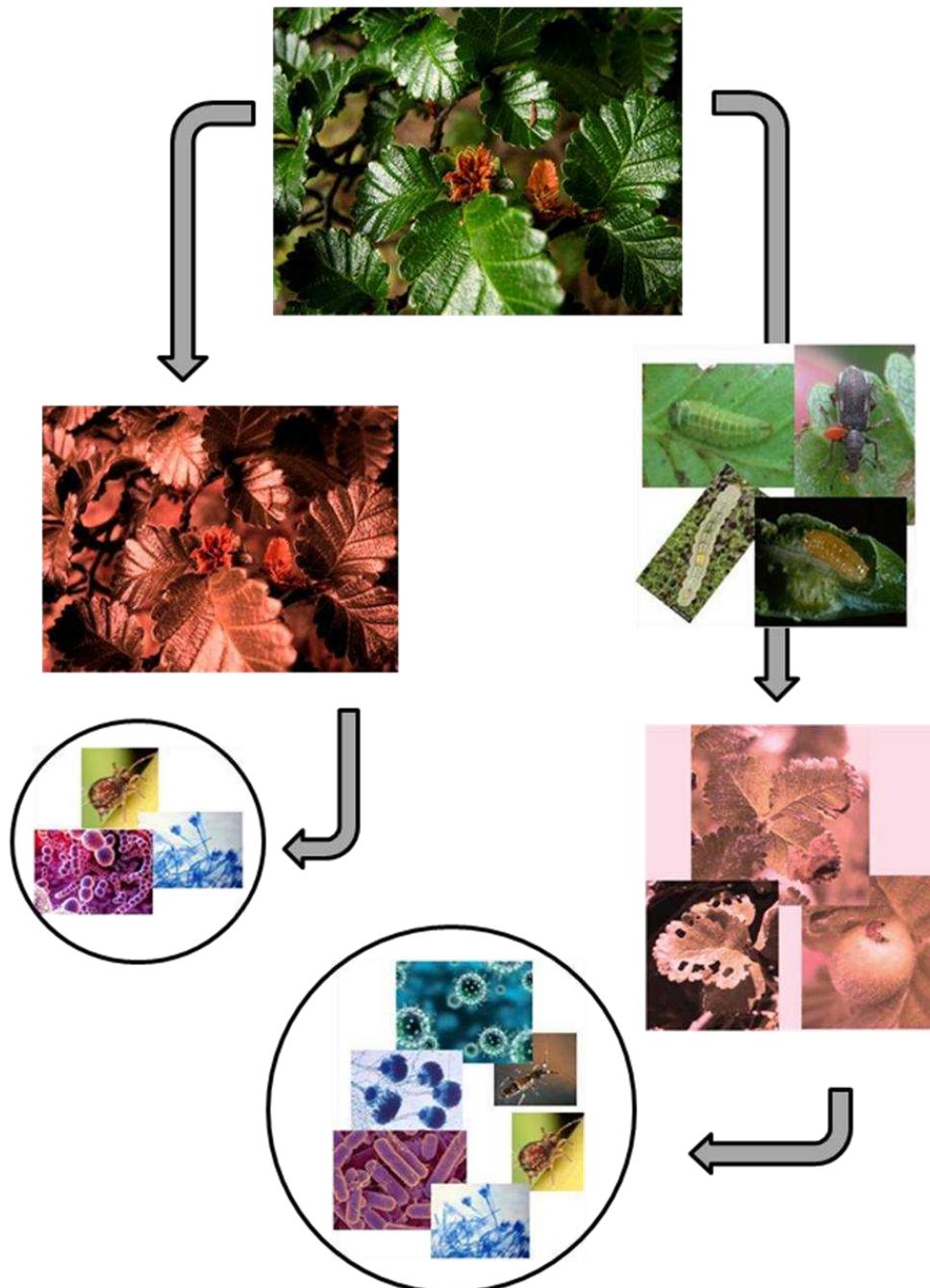


Figura 1.1: Efecto de la diversidad de insectos folívoros sobre la comunidad de descomponedores. En ausencia de herbívoros, se produce un solo tipo de hojarasca (no dañada o “sana”) la cual es aprovechable por una diversidad de descomponedores pequeña (izquierda). El daño causado por distintos tipos de herbívoros genera hojarasca diversa con distintas características químicas y físicas. Esta mayor gama de recursos permite que una mayor variedad de detritívoros utilicen el recurso.

Nothofagus pumilio es una especie decidua que domina la zona subalpina de los bosques andino-patagónicos (Veblen *et al.*, 1996). Su distribución se extiende entre los 35° y 55° de latitud y altitudes entre el nivel del mar y los 2000 m. Además, también se encuentra en todo el gradiente de precipitación que va desde los 5000 mm en los bosques al oeste de la cordillera (Chile) hasta menos de 800 mm anuales en las zonas más al este en Argentina (Barros *et al.*, 1983; Veblen *et al.*, 1996). Hacia el norte de su distribución se encuentra asociada con otras especies de *Nothofagus* y también con *Araucaria araucana*, mientras que hacia el sur forma bosques monoespecíficos (Veblen *et al.*, 1996). Durante la estación de crecimiento tiene más de un periodo de expansión foliar. Tanto las condiciones de crecimiento del año anterior como las condiciones climáticas y factores bióticos que ocurren durante la estación de crecimiento en curso pueden influenciar los patrones de crecimiento foliar (Kozłowski *et al.*, 1991). En los bosques secos del noreste de la Patagonia, la expansión foliar de *N. pumilio* comienza en octubre, mientras que en los bosques más húmedos del oeste comienza en noviembre. La caída del follaje ocurre desde fines de abril hasta fines de mayo (Mazía *et al.*, 2009).

Existe una gran diferencia en las tasas de folivoría entre los bosques secos y húmedos de *N. pumilio*, siendo diez veces más alta en los bosques secos. Además los gremios presentes en cada tipo de bosque también difieren (Mazía *et al.*, 2012). En los bosques secos hay tres gremios importantes de insectos folívoros que atacan el follaje durante toda la estación de crecimiento (Mazía *et al.*, 2012). Los grupos funcionales de insectos folívoros definidos por su forma de alimentación incluyen, en orden de importancia: minadores, pegadores, masticadores y agalladores. Los minadores y pegadores pueden consumir hasta el 20% del área foliar cada uno, mientras que el resto no alcanza a dañar el 5% del área foliar del bosque (Mazía *et al.*, 2004, 2012; Garibaldi *et al.*, 2010). Los minadores colonizan el dosel del bosque en primavera (octubre–noviembre) y llegan al máximo daño foliar en enero, cuando se encuentran minadas hasta el 55% de las hojas. Los pegadores aparecen a fines del verano (febrero–marzo) y alcanzan un máximo en abril, dañando hasta el 35% de las hojas. En cambio, el daño foliar por insectos masticadores no muestra un patrón estacional definido (Mazía *et al.*, 2012). Esa separación temporal de nichos entre los gremios de folívoros dominantes aparece asociado con un consumo total que puede alcanzar hasta el 20% de la producción foliar anual (Mazía *et al.*, 2012).

Los niveles de consumo foliar citados sugieren que los insectos defoliadores tendrían una influencia importante sobre el ciclado de nutrientes en bosques de *N. pumilio*. Sin embargo, el impacto de la herbivoría por insectos en los procesos de ciclado de C y N en el suelo no han sido aún estudiados en detalle. En bosques del noroeste de la Patagonia, Chaneton *et al.* (2005) encontraron que el daño foliar causado por insectos del dosel aceleró la descomposición de la hojarasca de *N. pumilio*. Ese trabajo demostró también que la magnitud del efecto de los herbívoros en la descomposición *in situ* de la hojarasca dependió del tipo de bosque considerado, siendo más evidentes en el bosque seco que en el bosque húmedo (Chaneton *et al.* 2005). Esas diferencias estarían reflejando la mayor frecuencia de herbivoría y área foliar dañada por insectos que ocurre en el bosque seco (Mazía *et al.* 2004, 2012). En cambio, se desconoce si la diversidad (riqueza y composición en gremios) de herbívoros defoliadores tiene alguna relación con los mecanismos subyacentes al efecto de la folivoría en la descomposición. Estudiar esta relación funcional sería importante como punto de partida para evaluar las posibles consecuencias ecosistémicas de la pérdida de biodiversidad de insectos en bosques templados. Este es un vacío importante dado que los insectos constituyen los principales consumidores del dosel del bosque

Los bosques andino-patagónicos están sujetos a eventos físicos de perturbación natural de diferente escala y magnitud (Veblen *et al.*, 1996). La ocurrencia de eventos de perturbación de gran escala puede interactuar con los efectos crónicos de procesos locales como la herbivoría (Spiller y Agrawal, 2003). Esos eventos infrecuentes (huracanes, erupciones volcánicas, etc.) modifican el contexto en el cual operan otros factores ecológicos relevantes, aunque su estudio está signado por la oportunidad (Kitzberger 2013; Chaneton *et al.* 2014). En junio de 2011 se produjo la erupción masiva del complejo volcánico Puyehue-Cordón Caulle (CVPCC) situado en el límite del sector noroeste del Parque Nacional Nahuel Huapi. La información disponible sobre el impacto de la herbivoría en años previos a la erupción (Chaneton *et al.*, 2005; Mazía *et al.*, 2012), representa una oportunidad única para evaluar el impacto del evento volcánico sobre el funcionamiento del subsistema de los descomponedores y su interacción con los insectos folívoros. El impacto que tienen los eventos extremos sobre el funcionamiento de los ecosistemas, y la capacidad de sobreponerse a estos eventos infrecuentes, resultan de gran interés para evaluar las consecuencias de la pérdida de biodiversidad y el rol que juegan los consumidores en el funcionamiento (Thompson *et al.*, 2012)

Objetivos e hipótesis

El objetivo general de este trabajo fue investigar el papel de los insectos herbívoros del dosel en el ciclado de C y nutrientes en bosques templados de la Patagonia andina, con énfasis en el efecto de la diversidad funcional de los insectos en la descomposición y la liberación de N de la hojarasca. Mediante la combinación de estudios a campo y en laboratorio (microcosmos), se evaluó la hipótesis general de que la diversidad funcional de insectos folívoros estimula los procesos de descomposición y reciclado de nutrientes de la hojarasca, ya que los distintos tipos de daño foliar producidos por los insectos alteran de variadas maneras la calidad de la hojarasca, a través de cambios físico-químicos que facilitan la actividad de los descomponedores. La combinación de diferentes formas de daño foliar generaría un sustrato heterogéneo que permitiría una mayor complementariedad funcional y el consumo más efectivo de la hojarasca por la comunidad del suelo.

Los objetivos particulares de esta tesis se encuentran desarrollados en tres capítulos de resultados con sus hipótesis y predicciones específicas. En el capítulo 2 se evaluó el efecto de la diversidad funcional (número e identidad de gremios) de insectos folívoros sobre la tasa de descomposición de la hojarasca y el reciclado de nutrientes en el suelo de bosques de *N. pumilio*, mediante un experimento a campo de 28 meses de duración. Los resultados de este capítulo muestran de qué manera la calidad inicial de la hojarasca que cae al suelo y su tasa de descomposición y liberación de N, se ven afectados por la biodiversidad de gremios de insectos folívoros. Luego, en el capítulo 3, se buscó explorar los mecanismos asociados a los cambios en la calidad de la hojarasca y la biota del suelo que mediarían el efecto de la biodiversidad de folívoros sobre la descomposición. Los mecanismos asociados a los cambios en la calidad foliar fueron evaluados mediante un experimento manipulativo en microcosmos de laboratorio. En ese experimento se buscó simular los cambios en dos aspectos de la hoja que son alterados por el ataque de los insectos dominantes en bosque de lenga: la estructura física de los tejidos y la presencia de heces en las hojas. Por otro lado se evaluó la importancia de la mesofauna del suelo como factor mediador del efecto de los insectos del dosel sobre el proceso de descomposición. Para ello se utilizó un experimento a campo de exclusión selectiva de mesofauna durante la descomposición. Los resultados de ambos experimentos permiten comprender la importancia de los cambios directos en la calidad de la hojarasca inducidos por ciertos gremios de

insectos, así como el rol de la mesofauna del suelo en la respuesta a la diversidad de insectos defoliadores.

El experimento de campo informado en el capítulo 2 fue imprevistamente alterado, al quedar virtualmente sepultado por la deposición masiva de cenizas emitidas por la erupción del CVPCC en junio de 2011. Las cenizas volcánicas tendrían propiedades insecticidas, lo cual podría afectar tanto a los herbívoros del dosel como a la mesofauna de detritívoros del suelo (Buteler *et al.* 2014; Chaneton *et al.* 2014). La erupción del volcán ocurrió una vez iniciado este proyecto y sin duda modificó las condiciones ambientales bajo las cuales se decidió estudiar la descomposición de hojarasca. Teniendo en cuenta que es muy factible que la deposición de cenizas volcánicas haya modificado los procesos del suelo, en el capítulo 4 se decidió evaluar el efecto de la folivoría sobre la descomposición de hojarasca en el nuevo contexto ambiental generado por la deposición de cenizas del CVPCC. Se instaló un experimento a campo en el que se manipuló la posición de la hojarasca en el perfil de la capa de cenizas. Esos resultados pudieron ser comparados con los de un estudio previo a la erupción (Chaneton *et al.* 2005). Por otro lado, en microcosmos de laboratorio, se evaluó el efecto de las cenizas sobre la comunidad de microartrópodos del suelo. Los resultados de este capítulo permiten dilucidar la importancia relativa de la folivoría sobre los procesos del suelo en el contexto de un disturbio de gran magnitud.

Finalmente en el capítulo 5 se presenta una síntesis y discusión de los principales resultados y se comentan algunas de sus implicancias.

CAPÍTULO II

Efecto de la diversidad de insectos folívoros sobre la descomposición y el ciclado de nitrógeno en la hojarasca.

Introducción

La actividad humana provoca pérdidas irreversibles de diversidad biológica a escala global (Chapin *et al.*, 2000; Cardinale *et al.*, 2012). Esta reducción de la biodiversidad modifica las relaciones interespecíficas (Chapin *et al.*, 2000), así como los flujos de energía y materia que determinan el funcionamiento de los ecosistemas (de Ruiter *et al.*, 1995; Hättenschwiler *et al.*, 2005; Srivastava *et al.*, 2009). Hasta el presente, la mayoría de los trabajos que estudiaron la relación diversidad–funcionamiento se han enfocado en la producción de biomasa como respuesta a cambios en la riqueza de especies vegetales (Tilman *et al.*, 1996; Cardinale *et al.*, 2006) y en los efectos de la diversidad de carnívoros sobre la abundancia de sus presas (Bruno y Cardinale, 2008). En cambio, el rol de la diversidad de consumidores herbívoros en el funcionamiento ecosistémico ha sido aún poco estudiado (Ebeling *et al.*, 2014).

Hay numerosas evidencias de que los insectos herbívoros juegan un papel importante en los procesos de transferencia de energía y nutrientes que ocurren entre el suelo y la vegetación. La herbivoría afecta la calidad y cantidad de los residuos vegetales que son aportados al sustrato para los organismos descomponedores (Hunter, 2001; Wardle y Bardgett, 2004). Existen varios mecanismos por los cuales la herbivoría puede afectar el ciclado de nutrientes y la descomposición de la hojarasca en el suelo. Por un lado, las heces depositadas por los insectos constituyen una fuente lábil de nutrientes y C que puede estimular la actividad de los microorganismos del suelo (Fogal y Slansky, 1985; Belovsky y Slade, 2000). Por otro lado, La estimulación de la descomposición por herbívoros muchas veces está asociada a un incremento en la concentración de N en los tejidos de rebrote o a la retranslocación incompleta de nutrientes desde las hojas senescentes parcialmente, lo que genera una hojarasca más rica en nutrientes esenciales (Hunter, 2001; Wardle y Bardgett, 2004). La herbivoría también puede inducir la producción de defensas por parte de la planta como polifenoles y taninos (Coley *et al.*, 1985; Coley y Barone, 1996; Agrawal, 2007). Estos metabolitos secundarios pueden permanecer en el material vegetal senescente reduciendo la calidad de la hojarasca y la tasa de la descomposición de MO (Melillo *et al.*, 1982; Scott y Binkley, 1997).

Si bien hay antecedentes que muestran que la herbivoría por insectos puede tener impactos negativos o positivos sobre la descomposición y el ciclado de nutrientes (Melillo *et al.* 1982; Scott y Binkley 1997; Belovsky y Slade 2000; Reynolds y Hunter 2001; Chapman *et al.* 2003; Hunter *et al.* 2003; Schowalter *et al.*

2011), la influencia de la diversidad (número y composición) de especies o grupos funcionales de herbívoros en esos procesos ha sido muy poco estudiada (Wardle y Bardgett, 2004). Los distintos gremios de insectos folívoros (masticadores, minadores, galígenos, etc.) generan distintos tipos de daño en las hojas de sus hospedadores. Cada tipo de daño genera cambios físicos y químicos particulares en los tejidos (Hunter, 2001) y, por lo tanto, la hojarasca compuesta por hojas afectadas por un gremio de insectos particular podría ser diferente a la afectada por otro gremio. Por ejemplo, los insectos con hábito masticador remueven pedazos completos de la hoja. Este tipo de daño fundamentalmente altera la química foliar, ya sea por la retranslocación incompleta de nutrientes o por la inducción de metabolitos secundarios (Coley y Barone, 1996; Hunter, 2001). En cambio, los insectos minadores debilitan la estructura física de la hoja y suelen depositar sus heces dentro de las mismas (Weiss, 2006), lo que generaría cambios adicionales en la química del material foliar. Estas modificaciones físico-químicas darían como resultado la producción de hojarasca más o menos diversa de acuerdo con la variedad funcional de los herbívoros que atacaron las hojas. Sin embargo, hasta el momento, sólo se ha considerado el impacto de la presencia/ausencia de insectos folívoros sobre la descomposición de la hojarasca (Belovsky y Slade, 2000; Chapman *et al.*, 2003; Fonte y Schowalter, 2005), mientras que los efectos de la riqueza e identidad de los herbívoros no han sido considerados.

Los efectos de la diversidad de hojarasca sobre los procesos del suelo se pueden explicar por dos mecanismos generales, no excluyentes, propuestos para la relación biodiversidad–funcionamiento (Aarssen, 1997; Tilman, 1997; Loreau y Hector, 2001). Por un lado el efecto de *Complementariedad* ocurre cuando la mezcla de distintas hojarascas tiene un efecto sobre el proceso evaluado que es mayor (sinérgico) o menor (antagónico) que el de cualquiera de sus componentes individuales. Por otro lado, el efecto de *Selección* ocurre cuando al aumentar la diversidad de la mezcla se incrementa la probabilidad de incluir a la especie (tipo de hojarasca) que tiene mayor influencia sobre el proceso estudiado. En estos casos, el efecto de la diversidad depende de la presencia/ausencia de esa especie y la tasa del proceso en las mezclas no sería mayor al observado para la especie más influyente (Tilman *et al.* 1997; Cardinale *et al.* 2012).

Ambos mecanismos han sido demostrados en estudios de mezclas de hojarascas de distintas especies y genotipos (e.g. Hector *et al.* 2000; Vivanco y Austin 2008; Vos *et al.* 2013). Existen evidencias tanto en ambientes terrestres como acuáticos donde la mezcla de distintos tipos de hojarasca puede estimular la

descomposición y el ciclado de nutrientes por el efecto de complementariedad de nichos (Hansen y Coleman 1998; Hättenschwiler et al. 2001; Gartner y Cardon 2004; Vos *et al.* 2013). También existen estudios donde el efecto de la diversidad de la mezcla de hojarasca sobre la descomposición fue determinada por el efecto de selección, debido a la inclusión de una especie o un genotipo particular. Estos estudios enfatizaron la importancia de la identidad de las especies, más que la diversidad *per se* (riqueza), en el control del funcionamiento del ecosistema (Cardinale *et al.*, 2006; Vivanco y Austin, 2008; Boyero *et al.*, 2014). Más allá del mecanismo considerado, en conjunto, los estudios realizados hasta ahora no muestran un patrón consistente para el efecto de la diversidad de la hojarasca sobre la tasa de descomposición, debido a que tanto los efectos sinérgicos como antagónicos fueron frecuentes (Srivastava *et al.*, 2009).

Existen varios mecanismos por los cuales la diversidad de la hojarasca *per se* puede afectar la descomposición. Cuando los distintos tipos de hojarasca son complementarios en términos de la provisión de recursos esenciales (C, N y P) para los descomponedores, o cuando la arquitectura foliar de las distintas especies aumenta la cantidad de microhábitats disponibles, se genera un aumento en la gama de nichos aprovechables por los microorganismos, lo que puede estimular la descomposición de la MO y la liberación de nutrientes (Gartner y Cardon, 2004; Vos *et al.*, 2013). Por otro lado, la transferencia de nutrientes desde la hojarasca de alto contenido nutricional a la hojarasca más pobre, podría estimular la descomposición total de la mezcla (Hunter, 2001; Srivastava *et al.*, 2009). Alternativamente, la presencia de compuestos secundarios en un tipo de hojarasca podría inhibir la descomposición de la hojarasca de mayor calidad en la mezcla, reduciendo la tasa de descomposición total (Srivastava *et al.*, 2009).

La calidad química de la hojarasca tiene gran influencia sobre la tasa de descomposición (Aerts, 1997). Generalmente la tasa de descomposición tiene una relación positiva con la concentración inicial de N y fósforo (P) de la hojarasca (Aerts, 1997; Schowalter *et al.*, 2011; Mooshammer *et al.*, 2012) y hojas con una relación C:N o Lignina:N más baja se suelen descomponer más rápidamente (Melillo *et al.*, 1982) Asimismo, la dinámica del N también se ve afectada por la calidad inicial de la hojarasca (Swift *et al.*, 1979; Coûteaux *et al.*, 1995; Mooshammer *et al.*, 2012). Si bien se espera que hojas de mayor calidad mineralicen más C y más N, en realidad no siempre la dinámica de estos dos elementos van de la mano (Lovett y Ruesink, 1995). Metcalfe *et al.* (2013), encontraron que en bosques tropicales la dinámica del C no se vio afectada por la

herbivoría, mientras que la herbivoría generó un aumento notable en la deposición de N y P al suelo. Además, las diferencias en las dinámicas del C y los nutrientes durante la descomposición podrían explicarse por la composición funcional de los microorganismos presentes en la comunidad de descomponedores (Wickings *et al.*, 2012; Kaiser *et al.*, 2014). Pequeñas diferencias en los rasgos de vida de los microorganismos como el tamaño celular, la tasa de reproducción o su composición química, pueden ser suficientes para cambiar la respuesta de la comunidad de descomponedores de una manera difícilmente predecible por la calidad química inicial de la hojarasca (Kaiser *et al.*, 2014). Por lo tanto, resulta importante evaluar los efectos de la diversidad de herbívoros no sólo en cuanto a la pérdida de masa de la hojarasca (indicativa del ciclado de C), sino también el balance neto entre los procesos de mineralización e inmovilización de nutrientes.

En este trabajo se estudió el efecto de la diversidad funcional de insectos del dosel sobre la descomposición de la hojarasca de *Nothofagus pumilio* (Lenga) en bosques del norte de la Patagonia. *N. pumilio* es una especie decidua que domina la zona subalpina de los bosques andino-patagónicos (Veblen *et al.*, 1996). En los bosques de lenga hay tres gremios importantes de insectos folívoros que atacan el follaje durante toda la estación de crecimiento (Mazía *et al.*, 2012). En un estudio realizado en bosques secos y húmedos de *N. pumilio*, Chaneton *et al.* (2005) encontraron que a pesar de que la hojarasca del bosque húmedo era de mejor calidad, la descomposición de la hojarasca del bosque seco fue más rápida. Este patrón sería explicado por la mayor frecuencia y diversidad de daño por insectos folívoros en el bosque seco (Chaneton *et al.*, 2005). Ese estudio indicó que la herbivoría puede influir sobre la descomposición de las hojas de lenga, pero no exploró el rol funcional de la diversidad de insectos folívoros.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la diversidad funcional (número e identidad de gremios) de insectos folívoros sobre la tasa de descomposición de la hojarasca y el reciclado de nutrientes, en bosques secos de *N. pumilio* del norte de la Patagonia. En un experimento de incubación de hojarasca a campo, se evaluó la hipótesis de que tanto la riqueza como la identidad de los grupos funcionales de insectos folívoros (medida como riqueza e identidad de tipos de daño) en el dosel del bosque afectan la descomposición y el ciclado de N, a través de su efecto en la calidad del sustrato disponible para los descomponedores del suelo. De acuerdo con esta hipótesis se predijo que:

i. Los residuos de hojas (hojarasca o broza) dañadas por insectos folívoros tendrán una calidad química y física mejor que la hojarasca no dañada, de acuerdo con un mayor contenido de N y menor dureza de los tejidos dañados.

ii. La hojarasca de hojas dañadas por folívoros tendrá una tasa de descomposición más rápida y liberará mayor cantidad de N que la hojarasca no dañada por insectos del dosel.

iii. La tasa de descomposición y la liberación de N de la hojarasca aumentará con el número de gremios de insectos que hayan consumido parcialmente el follaje (i.e. la mezcla de hojarasca con distintos tipos de daño tiene efectos sinérgicos sobre la descomposición y mineralización de N).

iv. La hojarasca dañada por distintos gremios de folívoros (masticadores, minadores, etc) tendrá diferente calidad química y física, lo cual afectará su tasa de descomposición y la cantidad de N liberado.

v. La adición de hojas dañadas por insectos estimulará la descomposición de las hojas sanas en una mezcla de hojarasca, respecto a la descomposición de las hojas sanas por sí solas.

Materiales y Métodos

Sitio de estudio

El estudio se realizó en un bosque monoespecífico de *N. pumilio* situado en la zona de Paso del Córdoba, Parque Nacional Lanín, 87 km al norte de San Carlos de Bariloche (40° 35' 44,5" S, 71° 08' 43,5" O). El sitio se encuentra a 1240 m.s.n.m.; la precipitación anual es menor a 800 mm y la temperatura media anual es 8,4 °C (Chaneton *et al.*, 2014). Los suelos son Andisoles formados sobre depósitos volcánicos recientes (Veblen *et al.*, 1996); se caracterizan por tener un horizonte superior rico en MO (C:N = 15; N_{total} = 0,42%; P_{Bray} = 35 ppm; pH = 6,4). La lenga es una especie decidua; en los bosques secos la expansión foliar comienza en octubre, mientras que la caída del follaje ocurre desde fines de abril hasta fines de mayo. En Paso Córdoba, la producción foliar anual llega a 1057 kg/ha de biomasa seca (Mazía *et al.*, 2012). El daño foliar total acumulado durante la temporada de crecimiento varía entre 25% y 40% según el año (Mazía *et al.*, 2004, 2012)

En los bosques secos de lenga, los grupos funcionales de insectos folívoros definidos por su forma de alimentación incluyen, en orden de importancia: minadores, pegadores, masticadores (Figura 2.1) y agalladores. Los minadores y

pegadores pueden consumir hasta el 20% del área foliar cada uno, mientras que el resto no alcanza a dañar el 5% del área foliar del bosque (Mazía *et al.*, 2004, 2012; Garibaldi *et al.*, 2010). Los minadores colonizan el dosel del bosque en primavera (octubre–noviembre) y llegan al máximo daño foliar en enero, cuando se encuentran minadas hasta el 55% de las hojas. Los pegadores aparecen a fines del verano (febrero–marzo) y alcanzan un máximo en abril, dañando hasta el 35% de las hojas. En cambio, el daño foliar por insectos masticadores no muestra un patrón estacional definido (Mazía *et al.*, 2012).

Los insectos minadores consumen el mesófilo de la hoja dejando intactas ambas epidermis, creando una mina o ampolla donde se alojan hasta el último estadio larval, luego las larvas descienden hasta el suelo del bosque y allí es donde ocurre la pupación. Por otro lado, los insectos pegadores consumen la epidermis de un solo lado y el mesófilo transformando el área de la hoja consumida en una especie de red formada por las nervaduras y la epidermis que no fue consumida (Figura 2.1). Tanto los minadores como los pegadores dejan sus heces y los restos de la muda en el área donde estuvieron alimentándose. Ambos tipos de daño generan debilidad física, como también cambios en la química de la hoja por la deposición de las heces y por la retranslocación incompleta de los nutrientes que sufren las hojas en el momento de la senescencia (Hunter, 2001).



Figura 2.1: Detalle de los daños por insectos folívoros más frecuentes encontrados en el sitio de estudio. a) insectos pegadores, b) masticadores, c) minadores.

La hojarasca de lenga para el experimento se recolectó del suelo del bosque en el momento de la caída natural (mayo) en otoño de 2010. La hojarasca fue separada por tipo de daño causado previamente por insectos del dosel en cuatro tipos básicos: a) hojas sanas; b) hojas dañadas por minadores; c) hojas dañadas por pegadores; y d) hojas dañadas por masticadores. En los casos de las hojas dañadas, el área dañada o removida por herbívoros superó el 25% del área total.

Diseño experimental

Se estableció un experimento de campo para evaluar el efecto del número (riqueza) y la composición (identidad) de los gremios de insectos que dañaron las hojas presentes en la hojarasca, así como el efecto de la presencia de hojas sanas, sobre la tasa de descomposición y la dinámica del N. Se crearon distintas mezclas de hojarasca con 0, 1, 2 y 3 tipos de daño por insectos folívoros, incluyendo para cada nivel de riqueza todas las combinaciones posibles de daño por masticador, minador y pegador (Tabla 2.1). Además, cada mezcla con daño foliar fue combinada con la presencia o ausencia de hojas sanas de lenga. Esto permitió evaluar si existe un efecto facilitador de las hojas dañadas hacia las hojas sanas, estimulando la descomposición de la hojarasca sana. Por otro lado, debido a que en el campo la hojarasca que cae al suelo siempre tiene una proporción de hojas sanas (no dañadas por insectos), su presencia en las mezclas permite evaluar el efecto de la diversidad de daños en un contexto más realista. Se crearon así un total de 15 mezclas de hojarasca (o tratamientos, Tabla 2.1). En las mezclas con más de un tipo de hojarasca, cada tipo dañado o sano contribuyó la misma proporción (en peso seco) al total del material incubado, el cual se mantuvo fijo en 2 g de hojarasca por mezcla. Esto generó un diseño experimental “sustitutivo” (Jolliffe, 2000).

El experimento fue establecido en el campo en diciembre de 2010. La hojarasca fue incubada durante 28 meses utilizando el método de las bolsas de descomposición (“litterbags”) (Harmon *et al.*, 1999). Las bolsas fueron confeccionadas con malla de fibra de vidrio de 2 mm de poro (15 cm x 15 cm) y contuvieron 2 g de material de hojarasca secado al aire. Se midió el contenido inicial de humedad de cada mezcla (n = 10) por diferencia de peso luego de secar el material en la estufa a 65°C por 48hs. Además se utilizaron esas muestras para estimar el contenido inicial de cenizas de cada una las mezclas de hojarasca; para ello se tomó una submuestra (200 mg) que fue calcinada a 500°C durante 4 horas (Harmon *et al.*, 1999). Las cenizas constituyen el material inorgánico presente en la

hojarasca; la diferencia entre el peso inicial previo a la calcinación y las cenizas restantes representa la MO libre de cenizas. Conocer el contenido inicial de humedad y cenizas de cada mezcla de hojarasca fresca, permitió estimar la cantidad de MO contenida en las bolsas de los diferentes tratamientos al inicio de la incubación a campo.

Tabla 2.1: Diseño experimental para el estudio de los efectos de la diversidad de daño, composición de la mezcla y la presencia de hojas sanas sobre la descomposición Se indica la riqueza de tipos de daño y los tipos de hojarasca presentes en las mezclas.

	Sin Sano	Con Sano
0		Sano (S)
R I Q U E Z A	1 Masticador (Ma)	S + Ma
	Minador (Mi)	S + Mi
	Pegador (P)	S + P
	Ma + Mi	S + Ma + Mi
2	Ma + P	S + Ma + P
	Mi + P	S + Mi + P
3	Ma + Mi + P	S + Ma + Mi + P

Se colocaron tres bolsas de descomposición de cada tratamiento con el fin de realizar tres fechas de extracción durante el experimento, las cuales fueron dispuestas en 6 bloques distribuidos al azar dentro del sitio de estudio. Los bloques estuvieron separados por al menos 20 m de distancia. En total cada bloque comprendió 45 bolsas (Figura 2.2.), para un total de 270 bolsas en el experimento completo. Para cada bloque se tuvo en cuenta que el terreno tuviera la menor pendiente posible para reducir posibles efectos de la escorrentía. En cada bloque se removieron todas las plantas del sotobosque y la broza acumulada sobre el suelo para homogenizar las condiciones microambientales. Las bolsas de los distintos tratamientos y fechas de extracción fueron distribuidas al azar dentro de cada bloque y fueron fijadas al suelo con ganchos de metal. Cada bolsa fue identificada individualmente con una placa numerada y un cable de color según la fecha de extracción asignada previamente al azar. Cada bloque fue cubierto con una malla plástica de 1 cm de trama para protegerlos de los animales silvestres (Figura 2.2).

Dinámica de la descomposición y del N

Las bolsas fueron cosechadas a los 4, 16 y 28 meses de iniciado el experimento. En cada fecha se cosechó una bolsa de cada tratamiento elegida al

azar dentro de cada bloque experimental. El 4 de junio de 2011, dos meses luego de la primera cosecha, tuvo lugar la erupción masiva del complejo volcánico Puyehue-Cordón Caulle (CVPCC) que afectó una enorme extensión de la región de estudio en el noroeste de la Patagonia. En particular, el suelo del sitio de estudio fue cubierto por unos 5–10 cm de ceniza volcánica fina (Chaneton *et al.*, 2014). Como resultado, los bloques de bolsas de descomposición fueron tapados completamente por las cenizas. Por este motivo, se extendió a 12 meses el lapso transcurrido hasta la segunda cosecha, y la duración total del experimento se extendió a 28 meses. El material remanente en las bolsas fue secado en estufa durante 48 h a 65°C; se removió el suelo y otras partículas adheridas a la muestra y se determinó el peso seco de la hojarasca de lenga. La pérdida de masa registrada fue corregida por el contenido de cenizas de cada muestra al momento de la cosecha, usando el mismo método ya descrito para la hojarasca inicial.



Figura 2.2: Detalle de un bloque del experimento realizado para evaluar la relación entre la biodiversidad de insectos folívoros y la descomposición de hojarasca en un bosque de *N. pumilio*.

La descomposición fue determinada como la pérdida de peso de la MO contenida en la bolsa a lo largo del tiempo. Durante la descomposición la masa de la broza disminuye exponencialmente con el tiempo; una proporción constante de broza se descompone cada año, siguiendo el modelo $M_t = M_0 e^{-kt}$ (Swift *et al.*, 1979), donde M_0 es la masa de hojarasca al inicio del experimento, M_t es la masa luego de un tiempo t de incubación y k , expresada en tiempo⁻¹, es la constante que caracteriza la velocidad de descomposición (Wieder y Lang, 1982). Se estimó k para cada tipo de hojarasca en cada bloque usando los datos de las tres

extracciones realizadas durante los 28 meses que duró el experimento. Valores altos de k indican una rápida descomposición del material orgánico incubado.

La dinámica del N durante la descomposición se evaluó a partir de la cantidad de N remanente en la hojarasca cosechada la última fecha de extracción. Se determinó la concentración de N total (%) en cada muestra como se describe más abajo. Luego se calculó la cantidad de N remanente en la broza respecto del inicio del experimento, como: $\%N_t M_t / \%N_o M_o * 100$, donde $\%N_o$ es el contenido de N de la muestra al inicio del experimento, M_o es la masa de la muestra y $\%N_t$ y M_t son el contenido de N y la masa de hojarasca remanente en la cosecha final respectivamente. Valores de N mayores a 100% indican acumulación neta de N en la hojarasca, incluyendo microorganismos y productos microbianos, mientras que valores menores a 100% indican liberación neta de N por descomposición. Se utilizan los términos acumulación y liberación netas ya que estrictamente no es posible distinguir entre la conversión de formas de N orgánicas a inorgánicas (mineralización), de la absorción microbiana (inmovilización) del N transformado (Harmon *et al.*, 1999).

Caracterización física y química de la hojarasca

La calidad inicial de la hojarasca usada en el experimento se evaluó a través de la dureza y la composición química (relación C:N) de las hojas. La dureza fue medida en la hojarasca fresca. Se utilizaron 65 hojas de cada tipo de daño a las cuales se les midió la dureza con un penetrómetro que mide la fuerza necesaria (g/mm^2) para atravesar la hoja con una aguja de 2.6 mm de diámetro (Garibaldi *et al.*, 2010). En todos los casos la punción se realizó en zonas donde no hubiera nervaduras principales. En el caso de la hojarasca dañada por insectos minadores y pegadores se calculó la dureza promedio de cada hoja. Se realizó una medición en el área dañada de la hoja y otra en el área sana y se estimaron los porcentajes de área foliar dañada y sana promedio para cada tipo de hojarasca. Finalmente, a cada medición tomada en el área dañada se la multiplicó por el porcentaje de área promedio dañada y a cada medición en el área sana se la multiplicó por el porcentaje de área sana. De esta manera se obtuvo una dureza general de la hoja que incorporó la dureza en ambas zonas (sana y dañada) ponderada por el área ocupada por cada una.

La caracterización química inicial de la hojarasca consistió en la determinación de las concentraciones de N y C total, lo que permitió determinar la relación C:N de cada tipo de hojarasca. Se utilizaron 4 muestras de 1 g. Las

muestras fueron secadas al aire y luego se molieron a polvo. Los contenidos (%) de C y N fueron obtenidos por el método de combustión seca total en un analizador elemental (LECO Truspec, CN Analyzer) disponible en el IFEVA-FAUBA. Estos análisis químicos se realizaron para todas las mezclas de hojarasca consideradas en el diseño experimental (Tabla 2.1).

Análisis estadístico

Las diferencias en la dureza y la relación C:N inicial de los cuatro tipos básicos de hojarasca (sana y dañada por masticadores, pegadores o minadores) se evaluaron mediante análisis de varianza (ANOVA) de un factor. Los efectos de la riqueza y la composición del daño foliar sobre la relación C:N de las mezclas de hojarasca fueron evaluados mediante un modelo de ANOVA anidado con tres factores principales: Riqueza (tres niveles: 1, 2 y 3 tipos de daño), Composición (todas las combinaciones de tipos de daño para cada nivel de riqueza) y Hojas Sanas (dos niveles: con o sin hojas sanas en la mezcla). La Composición fue considerada como factor anidado dentro de la riqueza, mientras que la presencia de hojas sanas estuvo completamente cruzado con la riqueza y la composición. En ambos análisis, las comparaciones *a posteriori* entre tratamientos se realizaron con pruebas LSD de Fisher ($P < 0,05$).

El efecto de los tratamientos sobre la descomposición y la dinámica del N se analizó en dos etapas. Primero, se evaluó el efecto de la riqueza de daños mediante un ANOVA de dos factores: Riqueza (4 niveles: 0 a 3 tipos de daño) y Bloque (6 niveles). Este primer análisis permitió determinar tanto si la herbivoría previa afectó la descomposición independientemente de la composición del daño foliar, así como evaluar las diferencias por la diversidad de daños incluidos en la mezcla. El número de repeticiones por nivel de riqueza fue: 6 (sin daño), 18 (riqueza 1), 18 (riqueza 2) y 6 (riqueza 3). Las comparaciones *a posteriori* se realizaron con pruebas LSD de Fisher ($P < 0,05$). Las variables de respuesta fueron k y el contenido final de N (% del inicial).

En la segunda etapa del análisis, se evaluaron los efectos de la riqueza y composición de tipos de daño foliar y la presencia de hojas sanas en la mezcla sobre k y el contenido final de N. Este análisis excluyó el tratamiento control sin daño foliar. Se utilizó un modelo de ANOVA anidado de 4 factores: Bloque (seis niveles), Riqueza de daños (1 a 3 tipos de daño), Composición (factor anidado en riqueza) y Hojas Sanas (dos niveles) en la mezcla. Se realizaron comparaciones *a posteriori* de LSD Fisher para analizar el efecto de la riqueza.

Las diferencias entre las mezclas con distinta composición de daño foliar para un nivel de riqueza dado se analizaron mediante contrastes *a priori*. Dentro del nivel de riqueza 1 se comparó el tratamiento masticador con los tratamientos minador y pegador juntos y luego se comparó el tratamiento minador con pegador. Dentro del nivel 2 se comparó el tratamiento que contenía mezcla de minador+pegador con los tratamientos masticador+minador y masticador+pegador junto, por último se realizó la comparación entre las mezclas que contenían hojas dañadas por masticadores en su composición.

La posible existencia de efectos no-aditivos de la riqueza de daños sobre k y el %N remanente se evaluó mediante pruebas t ($P < 0,05$) para muestras apareadas (bloques). Se compararon los valores observados de k (o %N) en cada mezcla con el k esperado bajo la hipótesis nula que la mezcla de dos o tres tipos de daño diferentes tuvo un efecto aditivo sobre la variable de respuesta. El valor de k (o %N) esperado se calculó como el k promedio de los valores k de cada tipo de hojarasca presente en la mezcla cuando éstas se pusieron a descomponer por separado. Entonces, si el valor de k (o %N) observado es mayor o menor que el k (o %N) esperado, implica que la mezcla de tipos de hojarasca (con distintos daños) tuvo un efecto sinérgico o antagónico sobre la tasa de descomposición (o de liberación de N), respectivamente.

La relación entre la calidad inicial de la hojarasca (medida como relación C:N) y k se evaluó mediante análisis de correlación de Pearson. Se utilizaron los promedios de C:N y k para cada tratamiento. Para evaluar la relación entre k y la dinámica del N se realizó un análisis de correlación parcial asumiendo que el %N remanente fue la variable dependiente y considerando la constante k (continua) y el bloque (categórica) como variables independientes. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el paquete STATISTICA para windows (Statsoft Inc. 1997).

Resultados

Características físicas y químicas de la hojarasca

Los tipos de hojarasca difirieron significativamente tanto en su dureza como en su calidad química (Figura 2.3). Al evaluar la dureza de los cuatro tipos de hojarasca, se observó que las hojas sanas y las dañadas por insectos masticadores presentaron una dureza mayor que las dañadas por insectos minadores o pegadores ($F_{3,260} = 240$, $P < 0,00001$; Figura 2.3a). La dureza de hojas dañadas por minadores y pegadores fue similar. Por otro lado, las hojas sanas tuvieron la

relación C:N más alta (calidad más baja). El daño por insectos masticadores redujo la relación C:N de las hojas y el efecto fue aún más marcado para las hojas dañadas por insectos minadores o pegadores ($F_{3,16} = 20,93$, $P < 0,001$; Figura 2.3b). Estos cambios en la calidad química de la hojarasca se deben principalmente al aumento del contenido de N con la herbivoría, que fue más evidente en la hojarasca dañada por insectos minadores y pegadores. La máxima disminución del contenido de C (daño pegador) llegó al 7%, en cambio, el contenido de N aumentó entre 12 y 35%, según el tipo de daño (Tabla 2.2).

La riqueza de daños foliares tuvo un efecto significativo sobre la relación C:N inicial de la hojarasca ($F_{3,16} = 20$; $P < 0,00001$). La hojarasca con mayor diversidad de daños (tres gremios) tuvo la mejor calidad química, o menor relación C:N, mientras que las hojarascas con uno o dos tipos de daño mostraron una calidad intermedia. No obstante, las diferencias en C:N observadas entre los tres niveles de riqueza fueron relativamente pequeñas (Figura 2.4a).

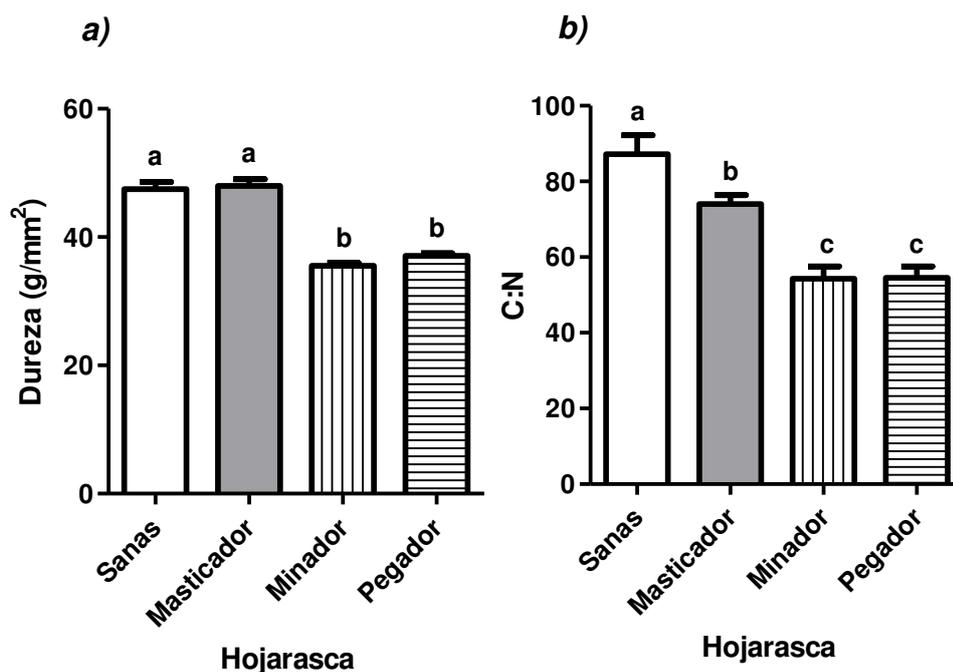


Figura 2.3: a) Dureza y b) relación C:N para los distintos tipos de hojarasca de lenga. Las barras representan la media y su error estándar (dureza, $n = 65$; C:N, $n = 5$). Letras distintas indican diferencias significativas entre tipos de hojarasca ($P < 0,05$).

Tabla 2.2: Contenidos de C y N iniciales en la hojarasca dañada por un gremio de insectos o sin daño. Los valores representan la media y el error estándar para cada tipo de hojarasca (n = 5).

	% C	% N
Sanas	49,86 ± 1,88	0,57 + 0,01
Masticador	47,00 ± 0,32	0,64 + 0,02
Minador	45,36 ± 1,20	0,84 + 0,03
Pegador	41,86 ± 1,16	0,77 + 0,02

La relación C:N no sólo se vio afectada por la riqueza, sino también por la composición de daños presentes en las mezclas, y por la presencia de hojas sanas en las mezclas. No hubo efectos de interacción significativos entre esos factores (Tabla 2.3). Las mezclas con hojas sanas y dañadas tuvieron, en promedio, una relación C:N 4,5% más alta (menor calidad) que aquellas enteramente dañadas. Las diferencias en la relación C:N fueron significativas tanto entre las hojarascas con un tipo de daño (Figura 2.4a), como entre las que mezclaron dos tipos de daño. Específicamente, las mezclas que incluyeron daño por masticadores tuvieron menor calidad química (mayor C:N) que la mezclas con daño por minador y/o pegador (Figura 2.4b).

Tabla 2.3: Resultados del ANOVA donde se evaluó el efecto de la riqueza y la composición de daños y la presencia de hojas sanas en la relación C:N de las mezclas de hojarasca de lenga.

Fuente	GI	CM	F	P
Riqueza	2	680,0	9,029	0,0004
Composición (riqueza)	4	1205,3	16,004	0,0001
Hojas Sanas	1	349,7	4,643	0,0355
Riqueza × Sanas	2	139,9	1,858	0,166
Composición × Sanas	4	65,7	0,872	0,487
Error	56	75,3		

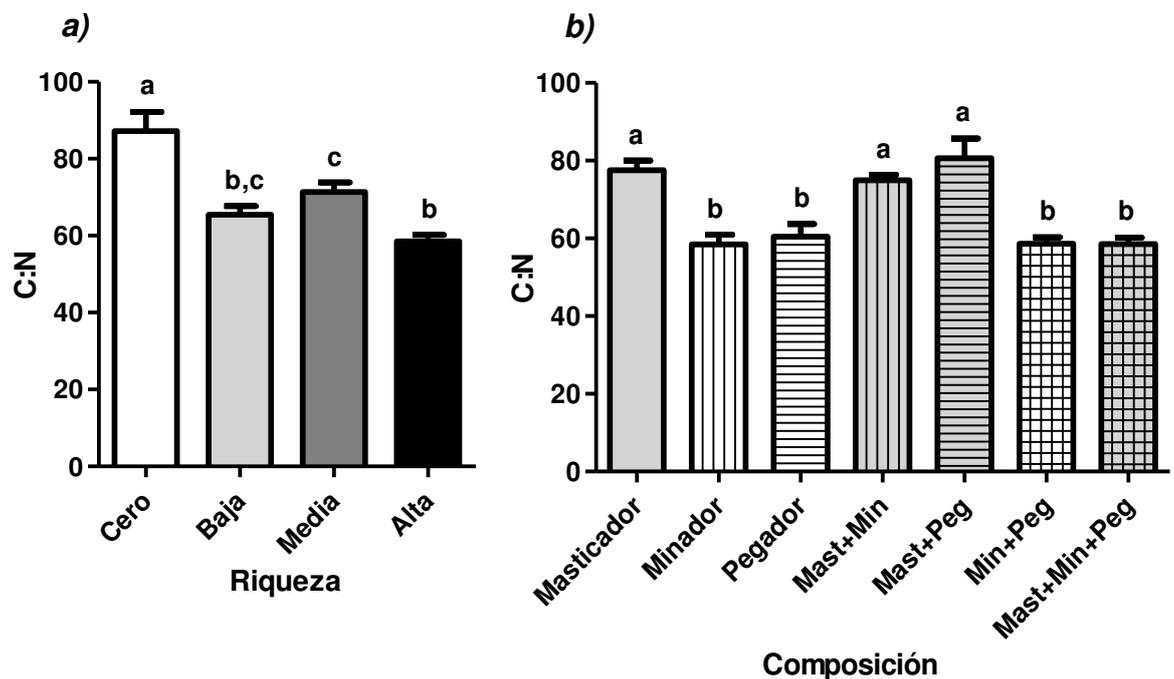


Figura 2.4: a) Relación C:N en función de la riqueza de gremios presentes en las bolsitas de descomposición. b) Relación C:N en función de la composición de gremios presentes en las bolsitas de descomposición. Las barras representan la media y su error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos

Efecto de la biodiversidad sobre la descomposición

La tasa de descomposición se vio afectada por el daño previo causado por insectos folívoros, pero no por la riqueza de gremios que dañaron las hojas (Figura 2.5). A partir de la segunda fecha de extracción (un año y cuatro meses de incubación) la hojarasca no dañada se descompuso más lentamente que las hojarascas con baja, media o alta riqueza de daños foliares ($F_{3,15} = 4,87$, $P < 0,01$; Figura 2.5a). Sin embargo, para los tres niveles de riqueza, la tasa de descomposición (k) osciló en $0,26-0,31$ año⁻¹ y no presentó diferencias significativas entre ellos (Figura 2.5b). Más aún, la tasa de descomposición no se vio afectada significativamente por la composición del daño en la hojarasca ($F_{4,65} = 2,21$, $P < 0,08$) o por la presencia de hojas sanas ($F_{1,65} = 0,29$, $P = 0,59$; con hojas sanas $0,022 \pm 0,003$; sin hojas sanas $0,022 \pm 0,003$) en la mezcla, ni tampoco por la interacción entre ambos factores ($F_{4,65} = 1,46$, $P = 0,22$) (Figura 2.6). Cabe destacar que la descomposición estuvo fuertemente afectada por el micrositio, ya que el factor bloque tuvo un efecto muy significativo ($F_{5,65} = 7,634$, $P < 0,0001$).

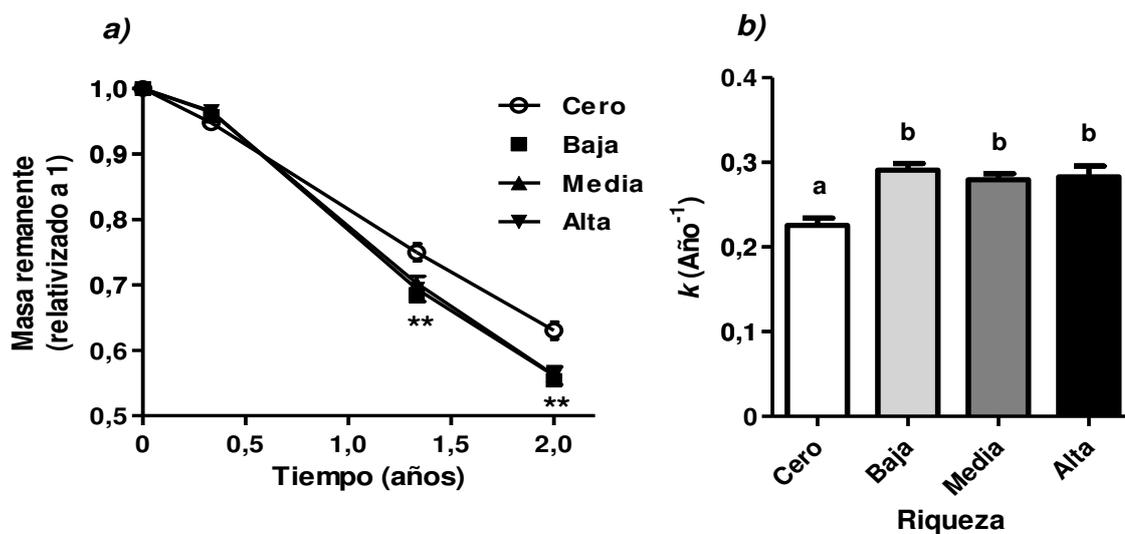


Figura 2.5: Efecto de la riqueza de gremios de insectos folívoros sobre la tasa de descomposición. a) Proporción de masa remanente en función del tiempo para cada uno de los niveles de riqueza. Los puntos representan la media con sus errores estándar (** $P < 0,01$). b) Tasa de descomposición (k) en función de la riqueza de tipos de daño (gremios) en la hojarasca. Las barras representan la media y su error estándar ($n = 6$ a 18). Letras distintas indican diferencias significativas (prueba LSD, $P < 0,05$).

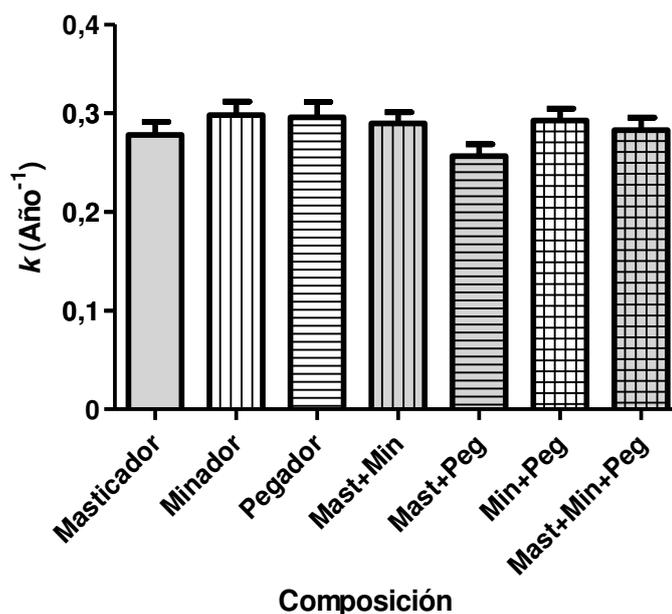


Figura 2.6: Tasa de descomposición en función de la composición de los tipos de daño en la hojarasca. No hubo diferencias significativas ($P < 0,05$). Las barras representan la media y su error estándar ($n = 10$).

La tasa de descomposición de los distintos tipos de hojarasca mostró una correlación significativa con la calidad química inicial de la hojarasca (Figura 2.7). La constante de descomposición disminuyó con el aumento de la relación C:N ($r = 0,66$; $P < 0,01$, $n = 15$).

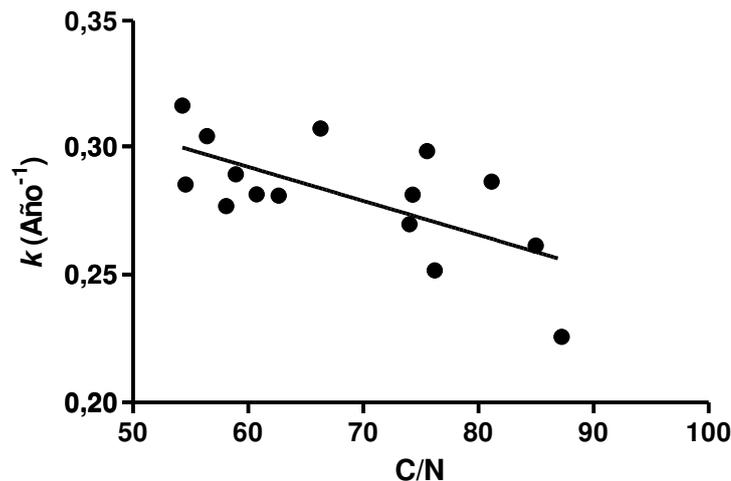


Figura 2.7: Relación entre la tasa de descomposición (k) y la relación C:N inicial de la hojarasca. Cada punto representa el k promedio obtenido para cada mezcla de hojas.

Efecto de la biodiversidad sobre la dinámica del N

La riqueza de daños foliares afectó significativamente la cantidad de N remanente en la hojarasca luego de dos años de descomposición. Sin embargo, ese efecto reflejó principalmente las diferencias entre la hojarasca no dañada y las mezclas de hojarasca dañadas (Tabla 2.4, Figura 2.8a). El daño por insectos redujo un 16–20% el N retenido en la hojarasca ($F_{3,85} = 9,60$, $P < 0,0001$). Si bien se observó una tendencia a disminuir el N remanente al aumentar la riqueza de daños, esas diferencias no fueron significativas (Tabla 2.4, Figura 2.8a).

Los contrastes realizados dentro de cada nivel de riqueza mostraron que el tipo de daño afectó sustancialmente la dinámica del N (Figura 2.8b). Para la hojarasca dañada por un solo gremio, el daño por insectos minadores o pegadores promovió una liberación de N mayor que la hojarasca sólo dañada por insectos masticadores ($t = 2,66$, $P < 0,01$). Algo similar ocurrió para la hojarasca dañada por dos gremios; las mezclas que incluyeron hojas dañadas por insectos masticadores retuvieron mayor cantidad de N que la mezcla de hojarasca dañada por insectos minadores y pegadores ($t = 2,74$, $P < 0,01$; Figura 2.8b). La presencia de hojarasca sana en la mezcla generó un 10% de aumento en la retención de N (Con hojas sanas = $44,12 \pm 1,18$; sin hojas sanas = $40,56 \pm 1,25$). Por último, ninguna de las interacciones tuvo un efecto significativo (ver Tabla 2.4)

Tabla 2.4. Resulta dos del ANOVA donde se evaluó el efecto de la riqueza y la composición de daños y la presencia de hojas sanas sobre el %N remanente en las mezclas de hojarasca de lengua.

Fuente	gl	CM	F	P
Bloque	5	60,3	1,204	0,317
Riqueza	2	62,9	1,256	0,292
Composición (Riqueza)	4	230,6	4,602	0,002
Hojas Sanas	1	239	4,770	0,032
Riqueza x Sanas	2	0,8	0,015	0,985
Composición x Sanas	4	116,1	3,316	0,066
Error	65	50,1		

En general, la mezcla de hojarasca con diferentes tipos de daños tuvo efectos aditivos sobre la dinámica del N. Es decir que las mezclas de hojarasca tendieron a liberar la misma cantidad de N que la esperada según el comportamiento individual de cada tipo de hojarasca por separado (pruebas *t* pareadas, $P > 0,10$). Sin embargo, la única excepción significativa a este patrón fue la mezcla de hojarascas con daño por Minador+Pegador (con hojas sanas) que liberó más N que sus tres componentes por separado ($t = 3,42$, $P = 0,019$).

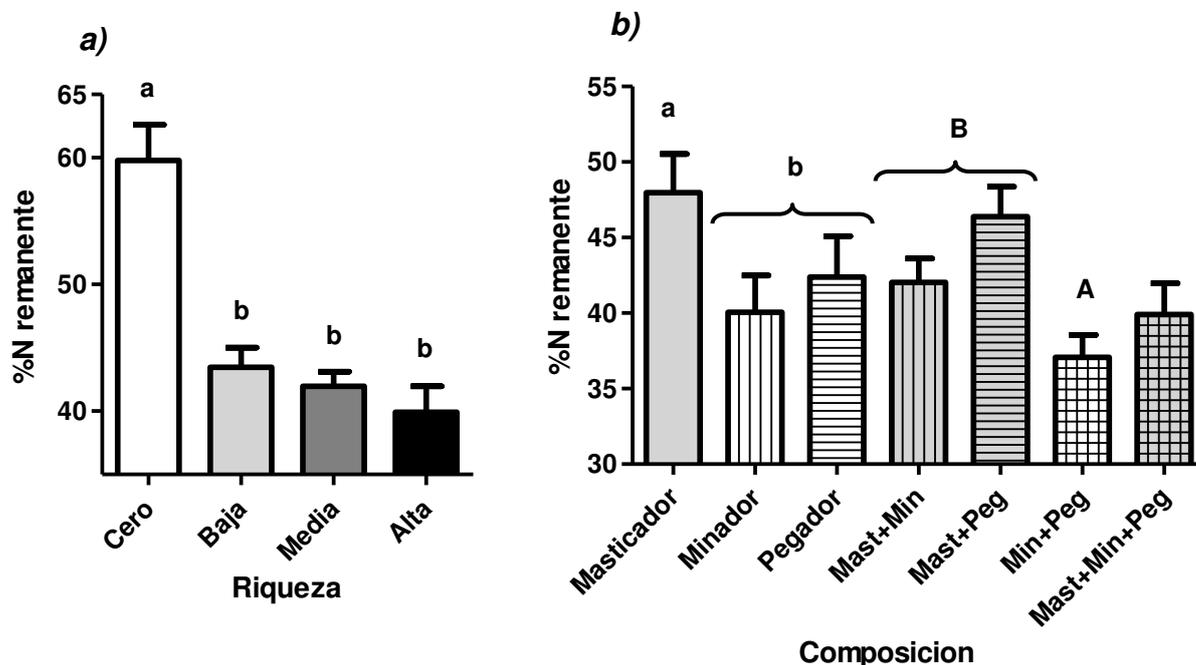


Figura 2.8: a) Nitrógeno remanente en la hojarasca luego de dos años de descomposición en función de la riqueza de daños por insectos defoliadores presentes en la hojarasca. Letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0,05$), b) %N remanente en función de la composición de gremios presentes en la hojarasca. Las barras representan la media y su error estándar ($n = 10$). Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos con igual riqueza de formas de daño (contrastes planeados, $P < 0,05$)

La cantidad de N remanente en la hojarasca luego de dos años de descomposición estuvo inversamente correlacionada con el k de la mezcla correspondiente (Figura 2.9; $r_{\text{parcial}} = 0,58$, $P = 0,0001$).

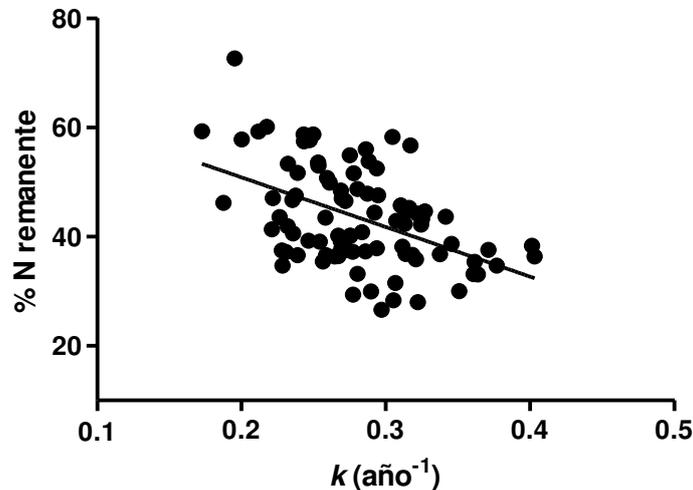


Figura 2.9: Correlación entre la constante de descomposición (k) y el % de N remanente en la hojarasca luego de 2 años de de descomposición. Cada punto corresponde a una bolsita de descomposición.

Discusión

Los resultados obtenidos muestran que la herbivoría cumplió un rol importante como factor regulador de la descomposición y la dinámica del N en la hojarasca de *N. pumilio*. Tanto la tasa de descomposición de la hojarasca, como la liberación de N, fueron estimuladas por el daño foliar causado por insectos del dosel, a través de un cambio significativo en la calidad física y química del material senescente transferido al suelo al final de la estación de crecimiento. La diversidad del daño foliar presente en la hojarasca tuvo efectos variados según el atributo o proceso considerado. Ni la riqueza ni la identidad de los gremios de insectos que consumieron las hojas tuvieron un efecto significativo sobre la tasa de descomposición. En cambio, la calidad química de la hojarasca y la dinámica del N durante la descomposición fueron alteradas por la composición del daño en la mezcla de hojarasca. Estos resultados aportan la primera evidencia experimental de que la diversidad de gremios de insectos folívoros puede influenciar el reciclado de nutrientes en la hojarasca de un bosque templado.

El daño foliar generado por los gremios de insectos más comunes en el sistema mejoró la calidad de la hojarasca, respecto de la hojarasca sana. Sin embargo, los cambios en la calidad no fueron iguales para los distintos tipos de daño (Figura 2.3). Las diferencias observadas en la dureza se debieron a que los insectos masticadores producen la remoción completa de una fracción de la hoja, mientras que el resto retiene la misma dureza registrada en las hojas sanas. En cambio, los insectos minadores y pegadores consumen parcialmente el tejido foliar, generando hojas con áreas estructuralmente debilitadas. Por otro lado, los tres tipos de daño aumentaron la calidad química de la hojarasca, expresada por una reducción sustancial de la relación C:N del tejido foliar. La retranslocación incompleta de N de las hojas dañadas antes de la senescencia foliar probablemente haya contribuido al aumento en el contenido inicial de N inducido por la herbivoría (Hunter 2001; Wardle y Bardgett 2004; Chapman *et al.* 2006). Este proceso podría estar asociado con los tres tipos de daño, aunque sería la principal razón del aumento del %N en la hojarasca dañada sólo por insectos masticadores (Tabla 2.2; Figura 2.3). En cambio, a diferencia de los masticadores, los insectos minadores y pegadores dejan en la hoja sus heces ricas en N y C lábil, lo cual explicaría la mayor calidad de las hojas dañadas por estos dos gremios.

La calidad química inicial de la hojarasca también se vio afectada por la riqueza y la composición de daños presentes en la mezcla de hojas. Sin embargo, el efecto promedio de la riqueza estuvo fuertemente influido por la composición de las mezclas. Dentro de cada nivel de riqueza, las mezclas con menor proporción de daño por masticadores tuvieron una relación C:N más baja, debido a un mayor aporte de N por la hojarasca dañada por minadores y pegadores (ver Figura 2.4). Ese efecto fue más evidente en las mezclas con 1 o 3 tipos de daño foliar. Por otro lado, la calidad química (%N y C:N) de las distintas mezclas de hojas fue la esperada de acuerdo con la contribución proporcional de cada tipo de hojarasca. Por lo tanto, estos resultados reflejaron los efectos aditivos (en sentido estequiométrico) de los diferentes tipos de daño foliar sobre la química inicial de la hojarasca de lenga.

A pesar de las evidentes diferencias observadas en la química inicial de las mezclas de hojarasca, en contra de la hipótesis planteada, no se detectaron efectos significativos de la riqueza o del tipo de daño foliar (gremio de folívoros) sobre la descomposición de MO, a lo largo de 28 meses de experimento a campo (Figuras 2.5, 2.6). No obstante, la hojarasca dañada por herbívoros se descompuso significativamente más rápido que la hojarasca sana, independientemente de su

diversidad de daño. Este resultado concuerda con lo informado anteriormente para este sistema por Chaneton *et al.* (2005) y es consistente con la baja relación C:N de las mezclas de hojarasca dañada. La descomposición más rápida de las hojas dañadas podría ser explicada por las heces depositadas por los insectos y la retranslocación incompleta de N. Ambos mecanismos generan una hojarasca más rica en nutrientes esenciales, lo cual favorece la descomposición por los microorganismos del suelo (Fogal y Slansky, 1985; Belovsky y Slade, 2000; Hunter, 2001; Wardle y Bardgett, 2004; Uselman *et al.*, 2011).

El hecho de que no se haya encontrado un efecto de la diversidad sobre k (pérdida de masa) podría deberse a que las diferencias iniciales en la calidad química de las mezclas de hojarasca pueden no haber sido suficientes como para afectar el consumo por la biota del suelo. *Nothofagus pumilio* es una especie muy eficiente en retranslocar los nutrientes durante la senescencia foliar, lo cual determina una hojarasca de bajo %N (Diehl *et al.*, 2003; Satti *et al.*, 2003). Los resultados de este trabajo mostraron un incremento entre 12 y 47% del contenido de N inicial en la hojarasca dañada (ver Tabla 2.2). La hojarasca dañada por insectos masticadores incremento el contenido inicial de N en un 12%, en cambio el daño por minadores o pegadores tuvo un incremento mayor al 35%. Estas diferencias indican que las heces tienen un mayor peso sobre el cambio de calidad de la hojarasca que la translocación incompleta de nutrientes. Por otro lado, la combinación de diferentes tipos de daño en la hojarasca no parece haber promovido el uso complementario de recursos por los descomponedores (Gartner y Cardon 2004; Srivastava *et al.* 2009). Para que la diversidad de la hojarasca estimule la descomposición, sería necesario que promueva un aumento en la diversidad de descomponedores que consumen el sustrato o que facilite un consumo total mayor por los microorganismos (Wardle y Putten, 2002). Aparentemente, si bien la combinación de diferentes daños incrementó la calidad de la hojarasca, no habría modificado su heterogeneidad intrínseca como fuente de energía para la biota de detritívoros y descomponedores del suelo.

Por otro lado, existen otros factores que influyen sobre la descomposición (clima, disturbios, fertilidad del suelo) y que pueden tener mayor impacto que la diversidad de la hojarasca en los procesos del suelo (Wardle y Putten, 2002). En este caso no se puede soslayar que el sitio experimental recibió una intensa deposición de ceniza volcánica luego de la explosión del CVPCC en junio de 2011 (Chaneton *et al.*, 2014). La caída masiva de cenizas volcánicas constituye un disturbio infrecuente y de gran magnitud, que pudo haber afectado sustancialmente

las condiciones microambientales (físicas, químicas y bióticas) para la descomposición. Por ejemplo, estudios realizados luego de la erupción del Monte Santa Helena (Washington, EEUU) mostraron un incremento de la tasa de descomposición debajo de la capa de cenizas (Edmonds y Erickson, 1994; Erickson y Edmonds, 1994). Ese cambio fue explicado por el mayor contenido de humedad y amortiguación de la temperatura en el suelo con cenizas. Sin embargo, también se sabe que las cenizas volcánicas tienen efectos deletéreos sobre los artrópodos (Marske *et al.*, 2007; Buteler *et al.*, 2011, 2014), lo que puede haber afectado a los microartrópodos detritívoros del suelo. Entonces, es factible que bajo las condiciones microclimáticas y biológicas creadas por la deposición de cenizas, las diferencias en la hojarasca asociadas con la diversidad de daños, no hayan sido tan relevantes para la descomposición.

La dinámica del N durante la descomposición también se vio afectada significativamente por la herbivoría por insectos del dosel. Las mezclas con hojas dañadas liberaron mayor cantidad de N que la hojarasca sana, aunque no hubo diferencias debidas a la riqueza de daños presentes en la mezcla (Figura 2.8). En cambio, se detectó un efecto importante de la biodiversidad en términos de la composición de la mezcla (identidad del insecto que produjo el daño) sobre la mineralización de N. Específicamente, la liberación de N al cabo de 28 meses fue mayor en los tratamientos con hojas dañadas por minadores o pegadores. El hecho de que las hojas dañadas por masticadores tengan la calidad inicial más baja y la tasa de liberación más lenta, condice con la idea de que el ciclado de nutrientes está fuertemente influenciado por la relación inicial entre el C y los nutrientes presentes en la hojarasca (Mooshammer *et al.*, 2012).

Se observaron efectos no aditivos, sinérgicos, sobre la dinámica del N únicamente en la mezcla de Sano+Min+Peg. Esto pudo deberse a que las hojas dañadas facilitaron la actividad de los microorganismos que intervienen en el ciclado del N también en las hojas sanas. Por otro lado, esta forma de sinergismo podría además ser generada por una transferencia de nutrientes desde la hojarasca de mayor calidad hacia la de menor calidad a través de hifas de hongos o por lixiviación. Esta transferencia de nutrientes genera un efecto acelerador por parte de las hojas dañadas hacia las hojas no dañadas que estimula la descomposición de toda la mezcla (Srivastava *et al.*, 2009; Cardinale *et al.*, 2012). Aislar los distintos tipos de daño en mezclas con hojas sólo dañadas o sanas permite identificar el efecto de un daño particular, así como el efecto de la riqueza. Sin embargo, en el campo, una fracción importante de las hojas que caen al suelo no fueron dañadas

por insectos (Mazía *et al.*, 2004, 2012). Por lo tanto, este efecto sinérgico reflejaría una condición del sustrato más realista, ya que su composición es similar a lo que se encuentra habitualmente en el suelo del bosque.

En conjunto, los resultados mostraron que la diversidad de daños por insectos no afectó la descomposición, aunque modificó la dinámica del N y sin embargo existe una relación clara entre la calidad inicial de la hojarasca y la tasa de descomposición y también entre la dinámica del N y la descomposición. Kaiser *et al.* (2014), mostraron que los rasgos funcionales (ej. tamaño celular, tasa de recambio) de la comunidad microbiana del suelo pueden afectar la descomposición de maneras que no son predecibles a partir de la calidad inicial del material a descomponer. Por otro lado, hay estudios que indican que la descomposición está regulada tanto por la calidad de la hojarasca como por la comunidad de descomponedores y estos factores tienen distinto peso a lo largo del proceso (Wickings *et al.* 2012). Esta fluctuación en los factores más influyentes a lo largo del tiempo también puede explicar las distintas respuestas del C y el N. Por último, el hecho de que la tasa de descomposición se haya visto fuertemente afectada por el micrositio (efecto bloque $P < 0.00001$) y la cantidad de N liberada no, podría depender del procedimiento para obtener los datos de MO perdida que es menos preciso que los análisis de N en tejidos.

En conclusión, los resultados de este capítulo apoyan la hipótesis de que los herbívoros cumplen un rol importante en el ciclo de los nutrientes y que la biodiversidad de organismos en el dosel de un bosque puede impactar en los procesos del suelo (Hunter, 2001; Chapman *et al.*, 2003; Wardle y Bardgett, 2004). Por otro lado, el rol de la diversidad funcional de herbívoros tuvo efectos variados sobre los distintos procesos del suelo aquí estudiados. Esas diferencias en los efectos de la diversidad funcional de insectos indican que no siempre el ciclo de la MO va acompañado de una mayor mineralización de nutrientes (Lovett y Ruesink 1995; Manzoni *et al.* 2010). Numerosos estudios mostraron que la diversidad de especies de plantas o genotipos puede tener efectos importantes sobre la dinámica del N (Tilman *et al.*, 1997; Cardinale *et al.*, 2012). Sin embargo, la relación entre la diversidad de insectos del dosel y los procesos del suelo no había sido estudiada hasta ahora (cf. Wardle y Bardgett 2004). Los resultados obtenidos indican que es necesario tener en cuenta los cambios en la comunidad de herbívoros para poder evaluar integralmente el impacto de los disturbios antrópicos, y de otros componentes del cambio global sobre el funcionamiento de los ecosistemas de bosque. En conjunto, las diferencias obtenidas entre los distintos procesos del suelo

acompañan la creciente evidencia (Gartner y Cardon, 2004; Vos *et al.*, 2013; Kaiser *et al.*, 2014) que demuestra que para poder predecir el curso de los distintos aspectos del ciclado de nutrientes y el flujo de energía en el suelo, es necesario profundizar los conocimientos sobre la dinámica microbiana del suelo.

CAPÍTULO III

Mecanismos asociados al efecto de la herbivoría sobre la descomposición y la dinámica del nitrógeno.

Introducción

Los insectos herbívoros pueden afectar el funcionamiento de los ecosistemas a través de su efecto directo sobre la productividad primaria y por la alteración de la MO que llega al suelo para descomponerse (Belovsky y Slade 2000; Chapman *et al.* 2003; Wardle y Bardgett 2004). La herbivoría tiene efectos variados sobre los procesos de reciclado de C y nutrientes en el suelo, debido a que genera cambios en los rasgos funcionales de las plantas que influyen sobre la calidad de la broza producida (Hunter, 2001). La calidad de la broza es un factor determinante del reciclado de nutrientes (Coûteaux *et al.* 1995; Aerts 1996), que puede ser afectado por la composición de la comunidad de insectos herbívoros (Belovsky y Slade, 2000). Existen evidencias de que los insectos herbívoros pueden ejercer tanto efectos positivos como negativos sobre los procesos del suelo (Lovett y Ruesink, 1995; Hunter, 2001; Bardgett y Wardle, 2003; Chapman *et al.*, 2006; Classen *et al.*, 2013). Sin embargo, los mecanismos que median esos efectos no han sido aún totalmente dilucidados.

Un mecanismo bien conocido por el cual los herbívoros pueden acelerar la descomposición es la deposición de heces, lo cual puede estimular los procesos microbianos debido a que constituyen una fuente lábil de nutrientes y C (Fogal y Slansky 1985; Belovsky y Slade 2000). Frost y Hunter (2004) demostraron que la adición de heces de una polilla (Lepidoptera: Lasiocampidae) aumentó la biomasa microbiana y el ciclado de N en el suelo. En cambio, Schowalter *et al.* (2011) encontraron que el agregado de heces de una especie de lepidóptero redujo la tasa de descomposición de *Dacryodes excelsa* (Burseraceae). Sin embargo, el mismo estudio mostró que el flujo de nutrientes al suelo se vio favorecido por la adición de heces, probablemente debido al N lábil presente en las heces y no por una aceleración de la descomposición (Schowalter *et al.*, 2011). Por otro lado, la herbivoría podría afectar la descomposición de la hojarasca a través de las heces depositadas en las mismas hojas por ciertos gremios de insectos. En particular, muchos insectos minadores, pegadores o enrolladores de hojas dejan sus excretas fecales en el mismo sitio donde se alimentan, ya sea dentro, entre o sobre las hojas dañadas (Weiss, 2006). Los estudios que evaluaron hasta ahora el rol ecosistémico de las excreciones de insectos lo hicieron mediante aplicaciones directas de las heces sobre el suelo (Lovett y Ruesink 1995; Forkner y Hunter 2000; Schowalter *et al.* 2011). Notablemente, las consecuencias funcionales de la variación del

contenido de N en las hojas por la deposición de heces no han sido aún consideradas.

El daño que generan los insectos herbívoros en los tejidos foliares puede provocar una retranslocación incompleta de nutrientes durante la senescencia, lo que genera una hojarasca de mayor calidad nutricional (Hunter, 2001; Wardle y Bardgett, 2004). Chapman *et al.* (2003) encontraron que la herbivoría por larvas de polillas (Lepidoptera: Pyralidae) y cochinillas (Hemiptera: Matsucoccidae) aumentó la concentración de N y P en la hojarasca producida por las plantas, y que esa mejora en la calidad en la hojarasca se tradujo en un aumento significativo en la tasa de descomposición. Otros trabajos han demostrado que el aumento en la calidad de la hojarasca asociada con la herbivoría también puede reflejar la movilización de recursos para reponer el follaje dañado (Bardgett y Wardle, 2003). El rebrote producido luego de un evento de defoliación intenso suele estar enriquecido en N, lo cual estimula el ciclado de C y N durante la descomposición (Chapman *et al.*, 2006; Crutsinger *et al.*, 2007) En otros casos, las plantas responden a la herbivoría mediante la producción de compuestos secundarios (fenoles, alcaloides, etc.) que pueden limitar la degradación posterior de la hojarasca por los descomponedores del suelo (Findlay *et al.*, 1996; Chapman *et al.*, 2006).

Si bien hay numerosos estudios que evaluaron el efecto de la herbivoría sobre procesos del suelo, la mayoría de estos se enfocaron en los efectos derivados de la explosión demográfica de insectos epidémicos (Lovett y Ruesink, 1995; Reynolds *et al.*, 2000; Hunter, 2001; de Mazancourt *et al.*, 2001). Sin embargo, la herbivoría crónica por insectos no eruptivos, aunque menos drástica, puede tener consecuencias importantes sobre los procesos ecosistémicos (de Mazancourt *et al.*, 2001). Por otro lado, un aspecto que ha sido hasta ahora soslayado es el rol de la diversidad funcional de insectos folívoros que coexisten en un ecosistema (Wardle y Bardgett, 2004). De acuerdo con su modo de alimentación, distintos gremios de insectos alteran de diferente manera la estructura y química de las hojas (ver Capítulo 2). Por lo tanto, sería esperable que la acción conjunta de diferentes gremios de insectos genere efectos no aditivos sobre la tasa de descomposición del follaje que cae al suelo.

La descomposición puede considerarse un proceso de dos etapas. En la primera etapa el material muerto es fraccionado en pequeñas partes por los organismos detritívoros. En la segunda etapa esas pequeñas fracciones de material son degradadas y convertidas a formas inorgánica elementales por los

microorganismos (Aerts, 1997). Los invertebrados que componen la mesofauna del suelo son los principales organismos encargados del fraccionamiento del material vegetal que cae al suelo (Seastedt, 1984). Por lo tanto, la ausencia de este componente de la comunidad del suelo suele tener un impacto negativo sobre los procesos de descomposición y ciclado de nutrientes (García-Palacios *et al.*, 2013). En un estudio donde se evaluó la calidad del sustrato, el clima y la presencia de microartrópodos en el suelo, Gonzalez y Seastedt (2001) encontraron que la tasa de descomposición fue mayor en sitios donde la fauna no fue excluida. Sin embargo, los efectos de exclusión de la mesofauna fueron más notorios cuando la hojarasca tenía una calidad química que favorecía la degradación. El clima también influye en los efectos de la presencia de la mesofauna, ya que éstos son más evidentes en sitios húmedos y de clima templado (Heneghan *et al.*, 1999; González y Seastedt, 2001). De hecho, Araujo *et al.* (2012) no encontraron un efecto significativo de la exclusión de la mesofauna del suelo sobre la descomposición en un ecosistema de estepa árida.

Si bien hay estudios que evalúan el efecto de la herbivoría sobre la descomposición y el ciclado de nutrientes en el suelo, los mecanismos que intervienen no han sido evaluados en profundidad. En un contexto de pérdida de biodiversidad y cambio climático (Cardinale *et al.*, 2012), resulta de gran importancia conocer el impacto de los distintos tipos de daño y modificaciones que sufren las hojas por herbivoría, ya que la pérdida de diversidad de insectos del dosel puede tener distintos impactos dependiendo del número y la identidad de los gremios que se pierdan (Cardinale *et al.*, 2012). Un aspecto poco estudiado hasta el momento es la posible interacción entre los efectos de los insectos herbívoros sobre las hojas y la actividad de la mesofauna de detritívoros en el suelo. En particular, tanto la alteración física de los tejidos de las hojas (e.g. ruptura de la cutícula), como la deposición de heces en las hojas, podrían estimular el ataque de la hojarasca por la mesofauna, facilitando así el proceso de fragmentación y posterior descomposición del material senescente (Seastedt, 1984).

El objetivo de este trabajo fue explorar los mecanismos asociados a los cambios en la calidad de la hojarasca y la mesofauna del suelo, que pueden intervenir en el efecto de la biodiversidad de insectos folívoros sobre la descomposición. Los bosques de *Nothofagus pumilio* del norte de la Patagonia andina ofrecen un sistema ideal para evaluar el rol de la diversidad funcional de insectos folívoros sobre los procesos del suelo (ver Capítulo 2). Estos bosques contienen una variedad de gremios de insectos herbívoros que consumen las hojas

de lenga. En los bosques “secos” de lenga, el mayor daño foliar es causado por insectos minadores y pegadores, los cuales atacan el follaje durante la primera y la segunda mitad de la estación de crecimiento, respectivamente (Mazía *et al.*, 2004, 2012). Ambos gremios dejan sus heces en las hojas y causan una fuerte alteración física de los tejidos foliares. En el capítulo 2 se demostró que el daño por ambos gremios reduce la dureza de las hojas e incrementa la calidad química de la hojarasca, evidenciada por un aumento del contenido de N y reducción de la relación C:N.

Específicamente, aquí se evaluaron las siguientes hipótesis:

i. La herbivoría acelera la descomposición y el ciclado de N porque la hojarasca dañada aporta un sustrato de mayor calidad debido a la debilidad física generada por el daño foliar y al aumento del contenido de N asociado con la deposición de heces.

ii. La combinación de diferentes formas de daño foliar por distintos gremios de insectos induce cambios físicos y químicos en las hojas que tienen un efecto sinérgico sobre la tasa de descomposición y liberación de nutrientes.

iii. Los cambios químicos y físicos inducidos por los insectos en la hojarasca estimulan la actividad de la mesofauna del suelo, por lo cual la interacción entre ambos grupos de consumidores (herbívoros y detritívoros) acelera la descomposición y la liberación de nutrientes.

Para poner a prueba estas hipótesis, se realizó un experimento en condiciones de laboratorio (microcosmos) en el que se manipuló la diversidad del daño por insectos que recibieron las hojas de lenga y se simularon dos componentes de la actividad de los herbívoros: deposición de heces y alteración física de las hojas. Además, en otro experimento realizado a campo, se incubaron hojas dañadas por diferentes gremios de insectos en presencia y ausencia (exclusión) de la mesofauna del suelo. De acuerdo con las hipótesis planteadas se predijo que:

i. El daño artificial de la epidermis de hojas senescentes sanas (no dañadas previamente por insectos) acelerará su tasa de descomposición.

ii. La adición de heces de insectos aumentará la descomposición de hojas sanas y entonces borrarán las diferencias en la descomposición entre hojas sanas y dañadas al compensar la menor calidad intrínseca de las hojas sanas.

iii. La hojarasca modificada por daño físico (artificial) y adición de heces tendrá una descomposición más rápida que la afectada por sólo uno de esos

factores. De manera equivalente, la mezcla de hojas dañadas por dos gremios de insectos se descompondrá más que la dañada por un solo gremio.

iv. La exclusión de la mesofauna del suelo reducirá las diferencias en la tasa de descomposición de hojarasca inducida por la presencia y diversidad de daño por diferentes gremios de insectos.

Luego de la erupción de 2011, la zona de Paso Córdoba quedó cubierta por una capa de 5-10 cm de ceniza fina (Ver Capítulo 2). Debido a este disturbio surgió la necesidad de realizar un experimento controlado y libre de cenizas para poder evaluar los mecanismos que intervienen en el aumento en la tasa de descomposición de la hojarasca dañada. Por otro lado, los daños realizados por los gremios de insectos minadores y pegadores son los que generan cambios más grandes tanto físicamente como químicamente respecto de la hojarasca sana. Por este motivo es que para los experimentos realizados en este capítulo se utilizó hojarasca dañada por insectos minadores y pegadores y se excluyó al gremio de los masticadores.

Materiales y métodos

Sistema de estudio

En este estudio se utilizó hojarasca de *N. pumilio* recolectada en un bosque monoespecífico en la zona de Paso del Córdoba, al norte de la ciudad de Bariloche (ver Capítulo 2). Se seleccionaron hojas sanas y hojas dañadas por insectos minadores o pegadores, ya que el experimento se focalizó en los efectos de la modificación física y química de las hojas que producen estos dos gremios de folívoros dominantes (Capítulo 2). Del mismo sitio de bosque, se colectó suelo del horizonte orgánico (hasta 10 cm de profundidad) libre de hojarasca para ser utilizado como sustrato y fuente de microorganismos para la descomposición. Tanto la hojarasca como el suelo fueron extraídos a principios de junio de 2011, una semana antes de la erupción del CVPCC (Chaneton *et al.*, 2014). Por lo tanto, el experimento en microcosmos que se describe a continuación fue realizado en condiciones libres de cenizas.

Experimento en microcosmos

Se realizó un experimento de incubación de hojarasca de *N. pumilio* en microcosmos de laboratorio, con suelo natural del bosque y bajo temperatura controlada. El experimento comprendió dos grupos de tratamientos: uno incluyó

mezclas de hojarasca con distinto tipo de daño natural (4 tratamientos) y el otro mezclas con distintas formas de manipulación artificial de la hojarasca para simular los cambios físicos y químicos que sufren las hojas dañadas por insectos (3 tratamientos). La mezcla de hojas sin daño natural ni manipulación artificial fue utilizada como tratamiento control.

En total se generaron 8 tratamientos: 1) hojarasca sana (S); 2) hojarasca dañada por insectos minadores (M); 3) hojarasca dañada por insectos pegadores (P); 4) mezcla de hojarasca dañada por insectos minadores y pegadores (PM); 5) hojarasca dañada por insectos pegadores, con remoción de heces (PL); 6) hojarasca dañada artificialmente (A); 7) hojarasca sana con adición de heces (H); y 8) hojarasca dañada artificialmente con adición de heces (AH).

Para los tratamientos con hojarasca dañada naturalmente, se consideraron las hojas previamente atacadas por insectos minadores y pegadores, ya que estos gremios son los que causan mayor herbivoría en bosques secos y mésicos de *N. pumilio* en el norte de Patagonia (Mazía *et al.*, 2004, 2012). Se crearon mezclas de hojarasca con daño de minador, daño de pegador (riqueza = 1 gremio) y con daño de minador y pegador en igual proporción (riqueza = 2 gremios), siguiendo el mismo protocolo descrito en el Capítulo 2. Por último, a hojas dañadas por insectos pegadores se les removieron manualmente las heces y todos los restos orgánicos dejados por las larvas, utilizando un pincel y una pinza de punta delgada esterilizados. Este tratamiento buscó evaluar en qué medida las hojas dañadas naturalmente deben su mejor calidad química (%N y relación C:N; Capítulo 2) a las heces depositadas por los insectos dentro/sobre la hoja, o a la retranslocación incompleta de nutrientes al momento de la senescencia foliar (Hunter, 2001)

Para los tratamientos con daños artificiales, se crearon tres mezclas de hojarasca, en las que se manipuló la calidad física y química de las hojas senescentes de lenga. Para simular el daño físico generado por insectos pegadores se utilizó hojarasca sana y fresca, a la cual se le removió la epidermis abaxial y el mesófilo mediante una pinza de punta delgada y una aguja de disección esterilizadas con alcohol etílico. No se intentó simular el daño físico causado por insectos minadores ya que eso hubiera implicado la remoción del tejido del mesófilo sin romper la epidermis, lo cual resulta prácticamente inviable desde el punto de vista manipulativo.

Para simular el efecto sobre la química de las hojas asociado con la deposición de heces por insectos minadores y pegadores (ver Figura 2.1), se colectaron las heces a partir de hojas dañadas naturalmente por esos gremios.

Para ello se tomaron hojas dañadas por insectos pegadores y bajo lupa se removieron las heces usando un pincel y una pinza de punta delgada. A las hojas dañadas por insectos minadores se les removieron las heces contenidas dentro de las minas. Las minas fueron cuidadosamente abiertas debajo de la lupa y con pinza de punta fina y pincel fueron retiradas las heces que se encontraban dentro. Se estimó el porcentaje de peso seco al aire que correspondía a las heces en 10 muestras de 0,5 g de hojarasca y se ajustó la cantidad de heces (g) necesaria para agregar a 1g de hojarasca. La adición de heces se realizó por separado sobre grupos de hojas sanas y de hojas dañadas artificialmente. Esto permitió evaluar el efecto de ambas manipulaciones por separado y en conjunto.

La descomposición de la hojarasca generada por los distintos tratamientos se evaluó en microcosmos confeccionados con recipientes de plástico transparente de 500 cm³. En cada recipiente se colocaron ~200 g de suelo del bosque de lenga y sobre ese sustrato, se colocó una capa de 1g de mezcla de hojarasca fresca de lenga. La hojarasca de los distintos tratamientos fue colocada sobre ese mantillo en bolsas de malla de fibra de vidrio (10 x 10 cm) de 2 mm de poro conteniendo 1 g de material (Figura 3.1). Los microcosmos fueron colocados en una incubadora a 20 °C y durante el tiempo que duró el experimento fueron regados día por medio. Los microcosmos fueron rotados, al azar dentro de la incubadora cada vez que fueron regados. El experimento se inició en diciembre de 2011 y duró 12 meses. Se realizaron dos fechas de extracción de bolsas de hojarasca para medir la pérdida de masa como estimador de la descomposición, a los 9 y los 12 meses de iniciado el experimento. Se usaron 5 repeticiones de cada tratamiento, para un total de 80 microcosmos (8 tratamientos x 2 fechas x 5 repeticiones).

Luego de cada cosecha, se secaron las bolsas en estufa durante 48 h a 65°C, se removió el suelo y otras partículas adheridas a la muestra y se volvió a secar en estufa para la determinación del peso seco de la hojarasca remanente. La pérdida de masa registrada se corrigió por el contenido de cenizas de la broza al momento de la extracción (ver Capítulo 2). La descomposición fue determinada como el porcentaje de MO perdida en cada intervalo de tiempo (%MO perdida), respecto del peso inicial ajustado por el contenido de humedad y cenizas de la hojarasca.



Figura 3.1: Detalle de un microcosmos usado para evaluar el efecto sobre la descomposición inducido por los cambios físicos y químicos sufridos por la hojarasca dañada por insectos folívoros.

Se determinó la concentración inicial de C y N en submuestras de los distintos tipos de hojarasca usados en el experimento ($n = 4$), con el fin de evaluar si las manipulaciones fueron efectivas al simular la calidad química de la hojarasca dañada y para comparar esos cambios con los inducidos por el daño natural por insectos. Los análisis de contenido de C fueron realizados por combustión seca total en un analizador automático (LECO Truspec, CN Analyzer). El contenido de N fue determinado por el método semi-micro Kjeldahl (Bremner, 1996). Ambos análisis fueron realizados en el LANAIS–CONICET, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca.

Al final del experimento se evaluó la cantidad de N remanente en la hojarasca parcialmente descompuesta, el cual refleja el balance neto entre los procesos de acumulación y liberación de N por la interacción entre los microorganismos y la hojarasca (Harmon *et al.*, 1999). El N remanente se expresó en forma relativa al inicial determinado para cada tipo de hojarasca y fue calculado como se describió en el Capítulo 2.

Para evaluar si el tipo de hojarasca afectó la abundancia de microartrópodos en el suelo, se realizó una extracción de la mesofauna mediante un dispositivo de gradiente de luz/temperatura tipo "Tullgren" modificado (Crossley y Blair, 1991). Para este experimento se utilizó todo el contenido de los sustratos (mantillo y suelo) correspondientes a las repeticiones de la última extracción (12 meses). El período de extracción de mesofauna fue de 5 días, durante los cuales todos los suelos fueron rociados suavemente con agua para evitar la desecación. Los artrópodos fueron recolectados en frascos de vidrio y fijados en alcohol 70%. Las muestras

fueron inspeccionadas bajo lupa de disección y se contabilizó la cantidad de artrópodos correspondientes a diferentes taxa vinculados al proceso de descomposición (Collembola, Psocoptera, Diplura y larvas de varios órdenes diferentes). Los ácaros fueron contabilizados por separado, pero no fueron considerados en el análisis final, debido a que su función trófica es heterogénea y no siempre fácil de definir (Maraun *et al.*, 2007). No obstante, su inclusión no modificó cualitativamente los resultados. Los suelos fueron secados a 100 °C durante 48 hs y luego pesados; se expresó la abundancia de microartrópodos cada 100 g de suelo seco.

Experimento de campo: rol de la mesofauna del suelo

El experimento a campo fue realizado en un bosque de *N. pumilio* ubicado en la zona del Valle del Challhuaco (Figura 3.2), en el Parque Nacional Nahuel Huapi, 15 km al sur de San Carlos de Bariloche (41° 14' 58" S, 71° 16' 59" O). El sitio se encuentra a 1230 m s.n.m.; la precipitación anual es de 1100 mm y la temperatura media de 9 °C. El suelo es similar al descrito para otros bosques mésico-secos de *N. pumilio* (ver Capítulo 2). El sitio resultó afectado levemente por la deposición de < 1cm de cenizas finas emitidas por el complejo volcánico Puyehue-Cordón Caulle luego de su erupción en junio de 2011 (Chaneton *et al.*, 2014). La hojarasca para este experimento fue recolectada de un bosque de lenga (Paso del Córdoba) antes de la erupción volcánica.



Figura 3.2: Valle del Challhuaco, sitio donde se llevo a cabo el experimento para evaluar el rol de la mesofauna y su interacción con el daño por folívoros en la descomposición de hojarasca de lenga.

El experimento se instaló en abril de 2012 y tuvo una duración de 9 meses. El estudio debió ser interrumpido antes de lo previsto para evitar disturbios del material experimental por vandalismo (ver más abajo). El experimento fue establecido con un diseño factorial 4 x 2 (= 8 tratamientos). Se utilizaron 4 tipos de hojarasca: hojas sanas, hojas dañadas por insectos minadores, hojas dañadas por insectos pegadores y la mezcla de esos dos tipos de daño. Estos fueron los mismos tratamientos con daño natural utilizados en el experimento de microcosmos.

La hojarasca fue incubada utilizando 2 tipos de malla: gruesa = 2 mm de poro, confeccionada con tela de fibra de vidrio, y fina = 0.5 mm de poro, confeccionada con tela de voile. Los tratamientos fueron repetidos en 5 bloques aleatorizados, para un total de 40 bolsitas. Cada bolsa contuvo 2 g de hojarasca secada al aire y preparada siguiendo los mismos protocolos del Capítulo 2. Se utilizaron dos mallas diferentes para que la hojarasca fuera accesible por distintos componentes de la comunidad de descomponedores del suelo (Figura 3.3). La malla fina permitió excluir a la mesofauna, integrada principalmente por microartrópodos con un tamaño >0.5 mm. La hojarasca dentro de la malla fina pudo ser alcanzada por hongos, bacterias y algunos ácaros y nematodos (Bradford *et al.*, 2002). Los bloques fueron separados por ~20 m a lo largo de una transecta dispuesta sobre terreno sin pendiente para evitar efectos de escorrentía. Las bolsas fueron fijadas al suelo con estacas de metal y numeradas. Cada bloque fue protegido con una malla plástica de 1 cm de poro para protegerlos de los animales silvestres.



Figura 3.3: Detalle de un bloque donde se puede observar los dos tipos de malla utilizados para el experimento de mesofauna.

Análisis estadísticos

El efecto inducido por la diversidad de daños y el tipo de manipulación sobre el %MO perdida y el N remanente en la hojarasca de los microcosmos se evaluó mediante modelos de ANOVA de dos factores fijos: tipo de hojarasca (8 niveles) y fecha de extracción (2 niveles). Se realizaron contrastes *a priori* (planeados) para evaluar diferencias entre los distintos tipos de daño natural (minador vs. pegador) y los distintos tipos de manipulaciones (daño artificial vs. adición de heces) sobre la descomposición. Además, se realizó un contraste para evaluar si existieron diferencias generales entre los dos grupos de tratamientos (daño natural vs. artificial). El mismo esquema de contrastes fue aplicado para evaluar los efectos de los tratamientos sobre la cantidad de N remanente en la hojarasca al final del experimento (12 meses).

Por otro lado, se utilizaron contrastes *a priori* ($P < 0,05$) para evaluar la presencia de efectos no aditivos entre tipos de daño o entre tipos de manipulación sobre la descomposición. La presencia de efectos no aditivos se evaluó dentro de cada grupo de tratamientos de hojarasca (daño natural o daño artificial) utilizando sólo los valores de la última fecha de extracción. Por ejemplo, para la hojarasca dañada por insectos, se comparó el %MO perdido por la mezcla dañada por pegadores y minadores con el promedio del %MO perdido por los dos tipos de hojarasca por separado. Para la hojarasca dañada artificialmente, se comparó el tratamiento que combinó daño artificial y adición de heces con el promedio de esos dos tratamientos por separado. En ambos casos, un contraste significativo indicaría que los gremios de insectos, o las manipulaciones aplicadas, tuvieron un efecto no aditivo (sinérgico o antagónico) sobre la pérdida de %MO durante la descomposición. El mismo esquema de contrastes fue aplicado para evaluar los efectos de los tratamientos sobre la cantidad de N remanente en la hojarasca al final del experimento (12 meses).

Para evaluar las diferencias en la calidad química inicial de la hojarasca entre los tratamientos en los microcosmos, se realizó un ANOVA de un factor seguido por comparaciones múltiples de los promedios mediante pruebas LSD de Fisher ($P < 0,05$). Este análisis se realizó por separado para el contenido de N y la relación C:N inicial de la hojarasca. La relación entre la descomposición y la calidad química inicial de la hojarasca se evaluó mediante análisis de correlación de Pearson entre la relación C:N y el %MO perdido al final del experimento.

El efecto de los tratamientos sobre la abundancia total de microartrópodos detritívoros (mesofauna) extraídos de los microcosmos se evaluó mediante ANOVA

de un factor. El análisis fue repetido para los colémbolos por separado, ya que representaron el grupo más abundante (76%), pero los resultados obtenidos fueron los mismos que para la abundancia total.

El experimento realizado en el campo para evaluar el rol de la mesofauna del suelo fue vandalizado (remoción de las redes protectoras de los bloques) y parcialmente disturbado por ganado doméstico. Esto determinó la pérdida o rotura de varias bolsas de descomposición (8 en total) y, en consecuencia, los bloques no fueron más repeticiones completas de todos los tratamientos. Por lo tanto, los análisis estadísticos se realizaron sin tener en cuenta los bloques originales. El disturbio del diseño original también implicó que los tratamientos quedaran desbalanceados en número de repeticiones; la mayoría de los tratamientos tuvo finalmente 4 repeticiones, uno tuvo 3 y otro 5 repeticiones. El rol de la mesofauna en el proceso de descomposición y su posible interacción con la diversidad de daños por folívoros se evaluó mediante un modelo de ANOVA factorial con tres efectos fijados: tipo de malla (2 niveles: fina y gruesa), presencia de daño por minadores (2 niveles: con y sin) y presencia de daño por pegadores (2 niveles: con y sin). Debido al disturbio sufrido por el experimento y la consecuente reducción de la potencia del análisis, la significación estadística de las diferencias se evaluó para un nivel crítico de $P < 0,10$.

Resultados

Experimento de microcosmos

Química inicial de la hojarasca

El contenido inicial de N (%) fue significativamente diferente entre los tratamientos ($F_{7,24} = 11,2$, $P < 0,0001$) y las manipulaciones experimentales resultaron efectivas al modificar la calidad inicial de la hojarasca (Tabla 3.1). Por un lado, al remover las heces y otros desechos de las hojas dañadas por insectos pegadores, el contenido de N disminuyó a valores similares a los obtenidos para la hojarasca sana (PL = S). Por otro lado, el agregado de heces a hojas sanas o dañadas artificialmente aumentó el %N respecto de las hojas intactas (SH y AH > S). Estos tratamientos de adición de heces tuvieron valores de %N muy similares a los de la hojarasca dañada por insectos (SH y AH = P y PM), aunque la hojarasca dañada por minadores mostró el %N más alto de todos los tratamientos (Tabla 3.1). El daño artificial por sí solo no afectó el %N en la hojarasca (A = S).

Tabla 3.1: Contenido de N (%) inicial en la hojarasca de los distintos tratamientos en el experimento de microcosmos. Los valores son Media \pm ES (n = 4). Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos (LSD, $P < 0.05$).

Tratamiento	% Nitrógeno
Sano (S)	0,58 \pm 0,01 ^a
Artificial (A)	0,59 \pm 0,02 ^a
Sano+Heces (SH)	0,70 \pm 0,01 ^b
Artificial+ Heces (AH)	0,68 \pm 0,02 ^b
Pegador Limpio (PL)	0,62 \pm 0,01 ^a
Pegador (P)	0,70 \pm 0,04 ^b
Minador(M)	0,80 \pm 0,03 ^c
Pegador+Minador (PM)	0,73 \pm 0,03 ^b

Como era de esperar, esos cambios en el contenido de N modificaron significativamente la relación C:N de los distintos tipos de hojarasca ($F_{7,24} = 12,27$, $P < 0,0001$; Figura 3.4). Los tratamientos con hojarasca sana (S), daño artificial (A) y daño por pegadores con remoción de heces (PL) tuvieron la calidad más baja del experimento (alto C:N). Los tratamientos con hojarasca dañada por pegadores y la mezcla con daños por pegadores y minadores, junto con los tratamientos con agregado de heces, resultaron con una calidad intermedia. Por último, las hojas dañadas sólo por insectos minadores tuvieron la relación C:N más baja (Figura 3.4).

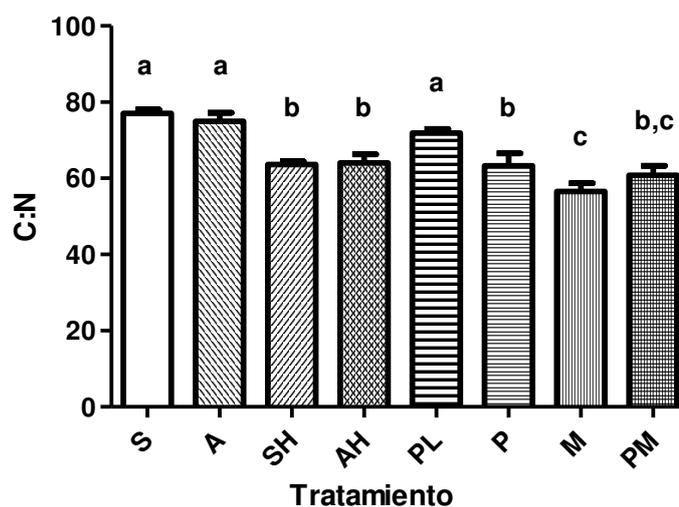


Figura 3.4: Relación C:N de la hojarasca en los tratamientos del experimento de microcosmos. Las barras representan la media y su error estándar (n = 5). Letras distintas indican diferencias significativas (LSD, $P < 0,05$). S: Sano, A: Artificial; SH: Sano+Heces; AH: Artificial+Heces; PL: Pegador Limpio; P: Pegador; M: Minador; PM: Pegador+Minador

Cambios en la descomposición de hojarasca

El %MO perdida por la hojarasca se vio afectado por el tratamiento y por el tiempo de incubación, pero no se observó interacción entre ambos factores (Tabla 3.1). En promedio, el %MO perdido fue 26% a los 9 meses y 33% a los 12 meses de incubación.

Tabla 3.1: Resultados del ANOVA del %MO perdida para los distintos tratamientos y las dos fechas de extracción en experimento de

Efecto	gl	CM	F	P
Tratamiento	7	170,78	3,84	0,0015
Fecha extracción	1	2088,18	46,97	<0,0001
Tratamiento × Fecha	7	14,07	0,32	0,94
Error	64	44,46		

Los tratamientos con daño por insectos, así como los creados por las manipulaciones, perdieron más %MO (se descompusieron más rápido) que la hojarasca sana (Figura 3.5). Por otro lado, en promedio, el %MO perdido no fue diferente entre los tratamientos con daño natural y los de hojarasca manipulada ($t = 1,14$; $P = 0,26$, ver letras mayúsculas Figura 3.5). La hojarasca dañada por insectos pegadores perdió un poco más de %MO que la hojarasca dañada por minadores ($t = 2,04$; $P = 0,049$), mientras que la mezcla de ambos tipos de daño tuvo un efecto aditivo en la descomposición ($t = 0,67$; $P = 0,5$ ver letras minúsculas Figura 3.5). Los tratamientos con agregado de heces y daño físico artificial no fueron diferentes entre sí. No obstante, se observó una tendencia a que la pérdida de MO fuera mayor (sinergismo) cuando se agregaron heces a la hojarasca con daño artificial, cuando se comparó este tratamiento con el promedio de las dos manipulaciones por separado ($t = 1,76$; $P = 0,085$; Figura 3.5).

En general, la pérdida de MO estuvo negativamente correlacionada con la relación C:N inicial de la hojarasca, pero esa relación fue débil ($r = 0,36$, $P < 0,02$) y estuvo en gran medida determinada por la diferencia entre la hojarasca sana y el resto de los tratamientos. Tipos de hojarasca con relación C:N bien diferentes presentaron niveles de %MO perdida muy similares (Figura 3.6). El %N inicial, en cambio, no mostró una correlación significativa con el %MO perdida ($r = 0,28$; $P = 0,078$)

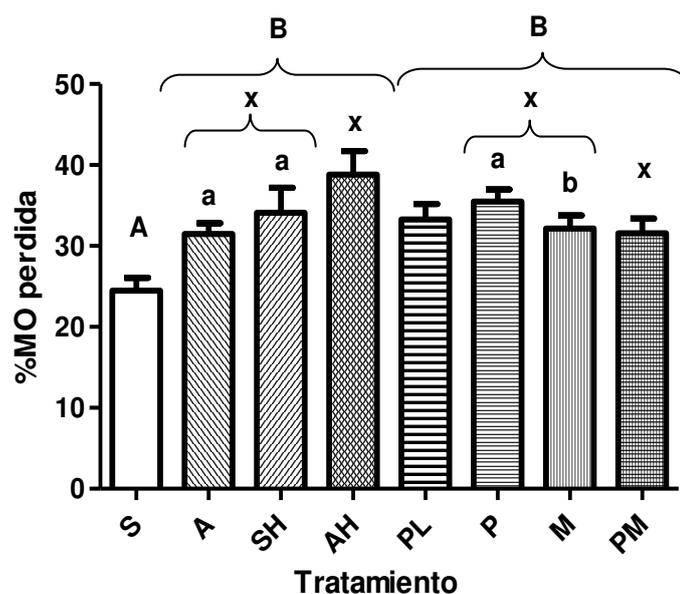


Figura 3.5: El %MO perdida por la hojarasca incubada 12 meses en el experimento de microcosmos. Las barras representan la media y su error estándar (n = 5). Letras distintas dentro de cada tipo de letra (mayúsculas, minúsculas y x,z) indican diferencias significativas.: S: Sano, A: Artificial; SH: Sano+Heces; AH: Artificial+Heces; PL: Pegador Limpio; P: Pegador; M: Minador; PM: Pegador+Minador

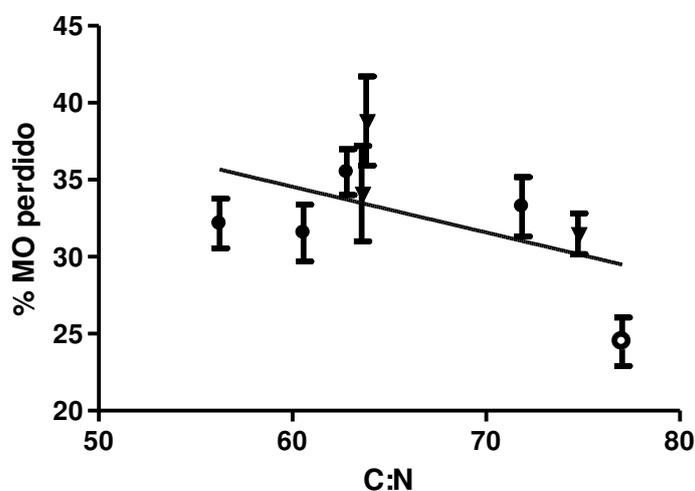


Figura 3.6: Relación entre el %MO perdida y la C:N inicial de la hojarasca. Los puntos representan la media con sus errores estándar para cada tratamiento ($r = 0,36$; $P = 0,022$, $n = 40$). El círculo vacío corresponde al tratamiento de hojarasca sana; los círculos llenos a los tratamientos con daño natural y los triángulos llenos a los tratamientos con daño artificial.

Dinámica del Nitrógeno

La cantidad de N remanente en la hojarasca varió significativamente entre los distintos tratamientos al cabo de 12 meses de incubación (Figura 3.7). La hojarasca sana retuvo, en promedio, menos N que las hojarascas manipuladas

artificialmente ($t = 2,59$; $P = 0,014$) y, a su vez, los tratamientos con daño artificial retuvieron en promedio menos N que las hojarasca con daño natural por insectos ($t = 10,13$; $P < 0,00001$; letras mayúsculas en la Figura 3.7). Por otro lado, hubo diferencias significativas dentro de cada grupo de tratamientos (daño natural o artificial; ver letras minúsculas, Figura 3.7). La hojarasca con daño físico artificial retuvo más N que aquella donde se adicionaron las heces ($t = 6,24$; $P < 0,00001$), mientras que la hojarasca dañada sólo por insectos pegadores retuvo más N que las dañadas por insectos minadores ($t = 4,65$; $P < 0,0001$).

Además, se encontraron efectos no aditivos de la diversidad dentro de ambos grupos de tratamientos. Por un lado, la hojarasca con daño artificial y agregado de heces liberó más N que tratamientos por separado ($t = 4,06$; $P < 0,001$). Por el otro lado, la mezcla de hojarasca dañada por insectos minadores y pegadores liberó significativamente más N que el promedio de los dos gremios por separado ($t = 4,65$; $P < 0,00001$), indicando un efecto sinérgico de la diversidad de insectos sobre el ciclado de N. Por último, la remoción de heces de la hojarasca dañada por pegadores (PL) no modificó la dinámica del N, respecto de su contraparte no manipulada (P), pero retuvo más N que la hojarasca con daño artificial que simuló el daño por los insectos pegadores (A) (ver Figura 3.7).

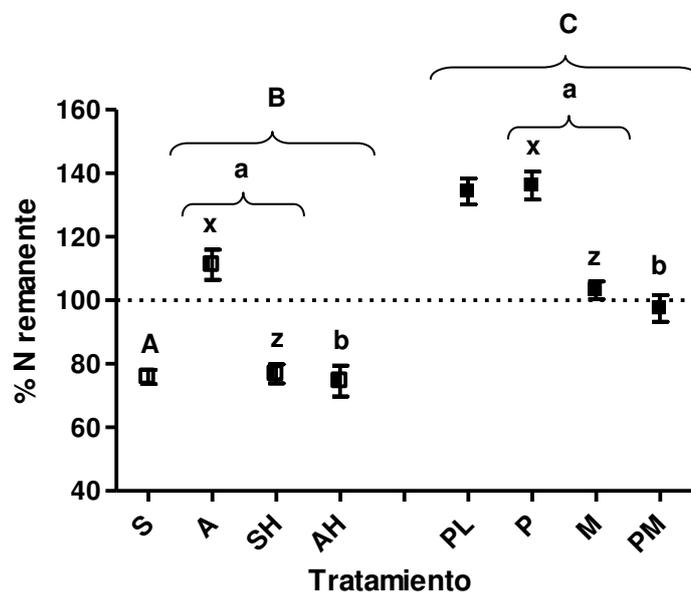


Figura 3.7: Porcentaje de N remanente en función de los distintos tratamientos. Los puntos representan la media con su error estándar para cada tratamiento. Letras distintas dentro de cada tipo de letra (mayúsculas, minúsculas y x,z) indican diferencias significativas. □: Hojas sanas; ■: Daños artificiales; ■: Daños naturales S: Sano, A: Artificial; SH: Sano+Heces; AH: Artificial+Heces; PL: Pegador Limpio; P: Pegador; M: Minador; PM: Pegador+Minador

Abundancia de mesofauna en los microcosmos

La abundancia total de microartrópodos descomponedores extraídos de los microcosmos al final del experimento mostró una gran variabilidad dentro de cada tratamiento y no se vio afectada en forma consistente por el tipo de hojarasca ($F_{7, 32} = 0,79$; $P = 0,59$; Figura 3.8). El mismo resultado se obtuvo cuando se evaluaron por separado las diferencias en la abundancia de colémbolos ($F_{7, 32} = 0,8$; $P = 0,63$).

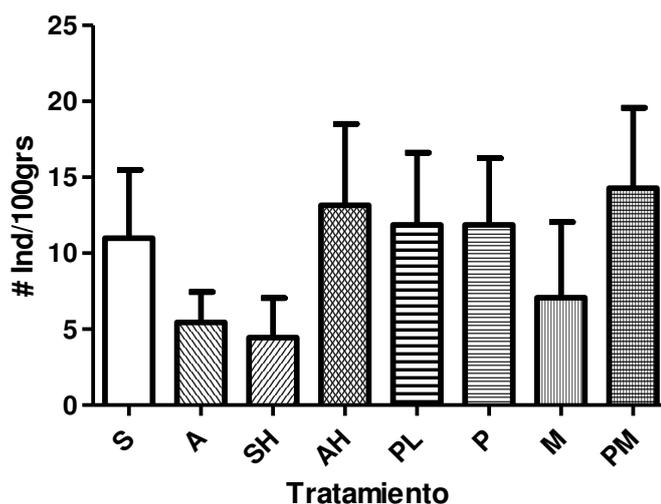


Figura 3.8: Abundancia de microartrópodos descomponedores (No./100 g suelo seco) en los tratamientos del experimento en microcosmos. Las barras representan la media y su error estándar

Efecto de la mesofauna sobre la descomposición a campo

Al evaluar el efecto de la mesofauna sobre el proceso de descomposición se observó que para los tratamientos con malla fina el %MO perdida fue en promedio significativamente menor que para los tratamientos de malla gruesa (Tabla 3.3, Figura 3.9). Por otro lado, la presencia de daño por insectos minadores incrementó el %MO perdida (Tabla 3.3), aunque ese efecto dependió del acceso de la mesofauna y de la presencia de daño por insectos pegadores (ambas interacciones $P < 0,10$). Los resultados de la Figura 3.9 indican que el daño por minadores estimuló la pérdida de masa por descomposición en las bolsas con malla gruesa, especialmente en ausencia de daño por insectos pegadores.

Tabla 3.3: Resultado del ANOVA para el %MO perdida en el experimento de campo que evaluó el rol de la mesofauna del suelo. *Diferencias significativas ($P < 0.05$). § Diferencias marginales ($0,05 < P < 0,10$).

Efecto	gl	CM	F	P
Tipo de malla	1	360,39	8,341	0,008*
Minador	1	318,55	7,373	0,012*
Pegador	1	29,33	0,679	0,418
Malla × Minador	1	146,06	3,381	0,078§
Malla × Pegador	1	129,47	2,997	0,096§
Minador × Pegador	1	167,10	3,867	0,061§
Malla × Minador × Pegador	1	6,37	0,147	0,704
Error	24	43,21		

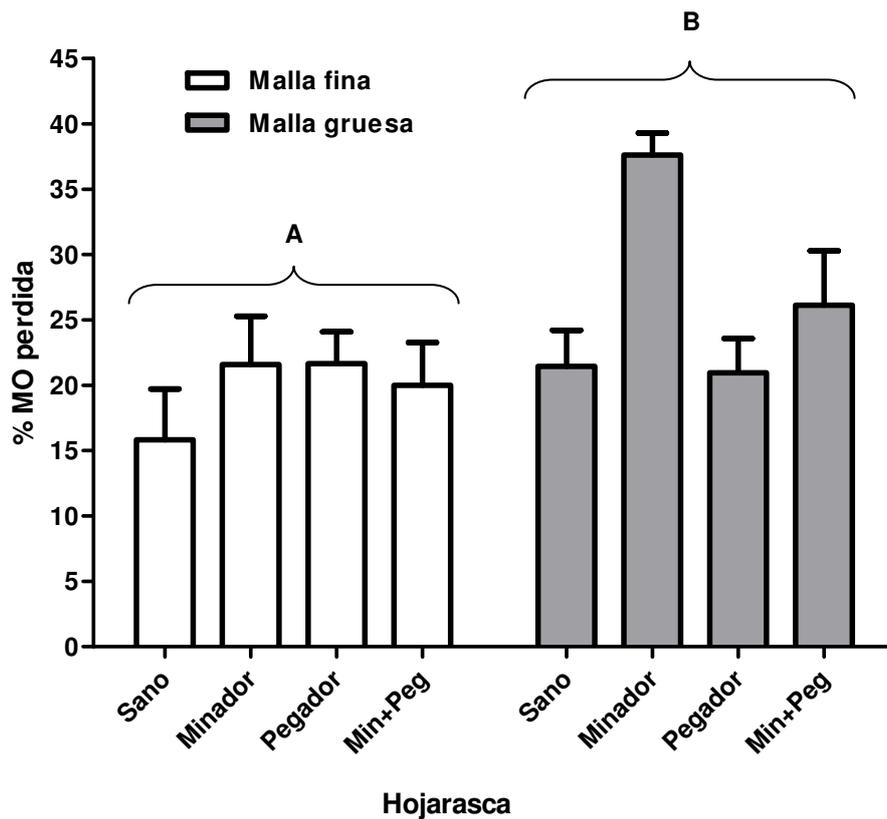


Figura 3.9: % MO perdida en función de los distintos tipos de hojarasca y el tipo de malla utilizada. Las barras representan la media y su error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas

Discusión

Los resultados de este trabajo muestran que tanto los cambios físicos como los químicos sufridos por las hojas dañadas por insectos folívoros afectan la descomposición y la dinámica del N de la hojarasca de *N. pumilio*. El daño artificial y la adición de heces estimularon la descomposición de las hojas no dañadas por insectos, un efecto equivalente al inducido por el daño causado por los insectos minadores y pegadores de hojas. Por otro lado, se comprobó que la mesofauna del suelo cumplió un rol mediador importante del efecto generado por la herbivoría en los procesos de degradación de MO en el suelo.

La hojarasca de lenga con heces de insectos, ya sea por daño natural o por agregado manual, mostró un incremento significativo en la calidad química, reflejada por una menor relación C:N inicial. De hecho, al remover las heces de las hojas dañadas por insectos pegadores, se observó que la relación C:N aumentó a valores similares a los de la hojarasca sana (Figura 3.4). Estos resultados apoyan la hipótesis de que las heces depositadas por los insectos son un factor importante en la determinación de la calidad de la hojarasca que cae al suelo del bosque y que ese efecto refleja sobre todo un aumento en el %N de las hojas (Lovett y Ruesink, 1995; Hunter, 2001). Si bien otros trabajos habían mostrado que la herbivoría puede aumentar la calidad de la hojarasca a través de otros mecanismos (Belovsky y Slade, 2000; Hunter, 2001; Chapman *et al.*, 2003, 2006), éste es el primer trabajo que aporta evidencia sobre el efecto de las excreciones depositadas dentro/sobre las hojas por insectos del dosel.

El incremento en la calidad de la hojarasca que cayó al suelo se tradujo en una mayor descomposición, ya que todos los tratamientos perdieron mayor %MO que la hojarasca sana y no hubo diferencias entre los dos grupos de tratamientos (artificial vs. natural). Este resultado sugiere que la manipulación de la hojarasca logró simular, al menos en parte, los cambios funcionales exhibidos por las hojas dañadas por insectos. Por otro lado, se observó que la diversidad de daños foliares tuvo un efecto pequeño en la descomposición (Figura 3.5). Sólo la identidad del gremio (daño natural) tuvo un efecto significativo, dado que las hojas dañadas por pegadores se descompusieron más que las dañadas por minadores. La riqueza de daños no tuvo efecto significativo sobre la pérdida de MO, aunque para los tratamientos artificiales hubo una tendencia al sinergismo ($P = 0,085$) entre el daño manual y la adición de heces. Cabe aclarar que los valores de MO perdida en la hojarasca con agregado de heces no pueden explicarse por el lavado de las

mismas, ya que la masa de heces representó el 15% del peso inicial del sustrato, mientras que el %MO perdida por esa hojarasca superó el 35%. En total, el escaso impacto de la diversidad de gremios sobre la descomposición podría deberse a que las diferencias en la calidad inicial y/o heterogeneidad de las mezclas de hojarasca no fueron suficientes para afectar de manera apreciable la actividad de los descomponedores (Gartner y Cardon, 2004).

La dinámica del N se vio fuertemente influenciada por la diversidad del daño por insectos folívoros. El %N remanente en la hojarasca fue elevado (>70%) y en la mayoría de los casos hubo retención de N durante el período analizado. En promedio, los tratamientos con daño natural inmovilizaron más N que los tratamientos artificiales (Figura 3.7). Esto podría deberse a que el daño natural generó cambios químicos en las hojas (e.g. retranslocación incompleta de N, producción de metabolitos secundarios) que no fueron reproducidos al dañar manualmente hojas abscindidas o al agregar las heces de insectos (Hunter, 2001; Wardle y Bardgett, 2004). Sin embargo, la hojarasca con daño artificial tendió a retener mayor cantidad de N, acercándose a los niveles observados en las hojas dañadas por insectos pegadores (ver Figura 3.7). Este patrón sugiere que la alteración física de los tejidos habría facilitado la entrada y desarrollo de los microorganismos, lo que promovería una mayor inmovilización durante las primeras etapas de la descomposición (Lovett y Ruesink, 1995). De todas maneras, la hojarasca dañada por insectos pegadores mostró una mayor retención que la hojarasca manipulada artificialmente. Esto podría deberse al mayor contenido inicial de N en las hojas dañadas naturalmente, posible producto de la retranslocación incompleta durante la senescencia y la deposición de heces por parte de los insectos (Hunter, 2001; Chapman *et al.*, 2003; Wardle y Bardgett, 2004). Ese mayor contenido de N podría sostener un mayor crecimiento de microorganismos y, por lo tanto, mayor retención de N.

Por otro lado, se observaron diferencias significativas en la dinámica del N entre los distintos tipos de hojarasca dañadas por insectos. Tanto la identidad como la riqueza del daño foliar afectó el grado de retención-liberación de N durante la descomposición. La hojarasca dañada por minadores retuvo menos N que la dañada por insectos pegadores, presumiblemente porque la deposición interna de heces por los minadores facilitaría el reciclado de N. Este efecto podría haber sido, en parte, simulado por los tratamientos de adición manual de heces, los cuales mostraron la liberación neta de N más alta. Sin embargo, es posible que la mayor liberación de N registrada en esa hojarasca se haya debido a que las heces no

fueron incorporadas a las hojas, lo que podría favorecer su lavado por el riego frecuente. En conjunto, los resultados indican que los diferentes modos de alimentación de los folívoros estudiados generaron una dinámica diferencial del uso del N por los microorganismos, lo que reflejaría los cambios específicos en rasgos físicos y químicos de la hojarasca (Manzoni *et al.*, 2012; Kaiser *et al.*, 2014).

En cuanto a la riqueza de gremios se observa que la mezcla de daños genera un efecto sinérgico. Debido a que la liberación de N de la mezcla es similar a la de la hojarasca dañada por insectos minadores podría pensarse que el daño por minadores ejerce un efecto acelerador sobre la hojarasca dañada por pegadores (Srivastava *et al.*, 2009; Cardinale *et al.*, 2012). Si bien se han observado efectos de diversidad (complementariedad o identidad) en términos de especies o genotipo sobre los distintos procesos del suelo (Hansen y Coleman, 1998; Gartner y Cardon, 2004; Hättenschwiler y Gasser, 2005; Vos *et al.*, 2013), los resultados de este trabajo son la primer evidencia que apoya que la diversidad de insectos folívoros pueden tener un impacto importante sobre la dinámica del C y los nutrientes del suelo.

El tratamiento con hojarasca sana fue uno de los pocos tratamientos que liberó N. Sin embargo, al comparar los datos de %N remanente y %MO remanente se observa que ambos porcentajes son iguales (Figura 3.10). Este hecho indicaría que la hojarasca sana se comporto como si fuera material inerte. El N liberado, simplemente se debe a la pérdida de MO. El hecho de que el %N remanente sea igual al de %MO indicaría que las hojas sanas fueron fragmentadas por los detritívoros, pero luego no hubo una colonización por parte de los microorganismos que intervienen en la degradación de los pequeños fragmentos de la hojarasca convirtiéndolos en formas inorgánicas (Aerts, 1997).

Los resultados obtenidos en este experimento muestran que la diversidad de los herbívoros tuvo efectos muy distintos sobre los procesos evaluados. En el caso de la descomposición pareciera que la diversidad (identidad y riqueza) no tiene un papel preponderante. En el caso de la dinámica del N se puede ver que los distintos tipos de daño tienen efectos muy distintos sobre la comunidad del suelo y que la mezcla de ambos gremios mejora el ciclado de N en toda la mezcla. Estos resultados indican que la dinámica de los distintos nutrientes y la del C no van de la mano. Un resultado similar encontraron Metcalfe *et al.* (2014), donde vieron que la herbivoría no afectó la descomposición pero tuvo un fuerte impacto sobre la dinámica del N y del P.

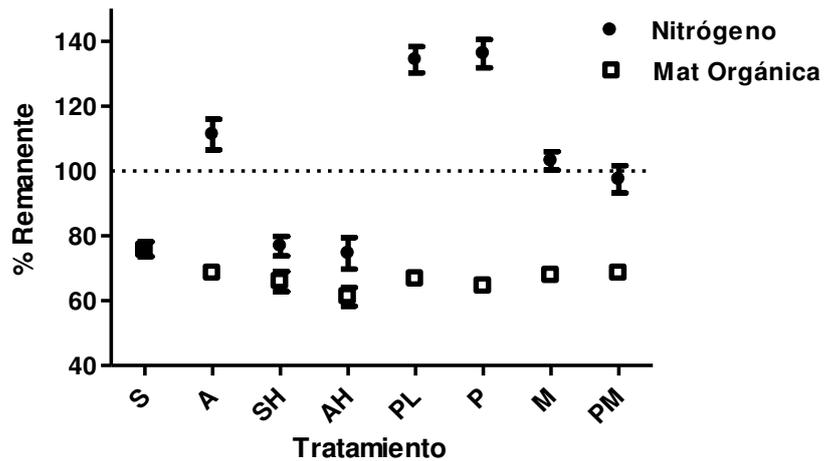


Figura 3.10: %N remanente (círculos llenos) y %MO remanente (cuadrados vacíos) en función de los distintos tratamientos utilizados en el experimento de microcosmos.

Al evaluar los efectos de la hojarasca sobre la mesofauna del suelo no se obtuvieron diferencias entre los distintos tratamientos. Si bien Reynolds *et al.* (2003), encontraron que la adición de heces estimulaba el crecimiento poblacional de la mesofauna del suelo, estos autores hicieron adiciones de heces semanales a lo largo de todo un año. En el experimento informado en este capítulo, los distintos tipos de hojarasca y las heces fueron agregadas una única vez a lo largo de todo el experimento. Esta diferencia en el diseño experimental podría explicar la ausencia de efectos del tipo de hojarasca sobre la mesofauna del suelo, ya que si hubiera habido un efecto positivo de las heces sobre la mesofauna del suelo, es improbable que dichos efectos tuvieran una duración de 12 meses. Alternativamente, la variabilidad inicial de la abundancia de microartrópodos entre los microcosmos, factor no medido en este estudio, podría haber confundido las posibles diferencias inducidas por los tratamientos. Idealmente se debería controlar la densidad inicial de la mesofauna en todos los microcosmos y aplicar los tratamientos por un tiempo más prolongado.

Por el contrario, el experimento de campo evidenció el rol de la mesofauna y su intervención en el efecto de la herbivoría sobre la descomposición de hojarasca. Las diferencias en descomposición entre los distintos tipos de hojarasca fueron evidentes cuando se permitió el acceso de los microartrópodos (Figura 3.9). Un resultado similar fue observado en otros estudios en los que los efectos de la mesofauna estuvieron condicionados por la calidad de la hojarasca (González y Seastedt, 2001; Yang y Chen, 2009). Si bien se obtuvo una mayor descomposición en general cuando la mesofauna no fue excluida, este resultado dependió

fuertemente de la presencia de daño por insectos minadores. Esto podría reflejar una interacción específica entre la mesofauna y el tipo de año generado por los minadores. Este resultado acompaña la idea de que el efecto de la pérdida de diversidad sobre el funcionamiento del ecosistema dependerá en gran medida del rasgo funcional que se pierda (Cardinale *et al.*, 2012).

En general, los resultados de este trabajo apoyan la hipótesis de que tanto los cambios físicos como los químicos sufridos por las hojas al ser dañadas por insectos tienen un impacto positivo sobre la descomposición de hojarasca (Lovett y Ruesink, 1995; Reynolds *et al.*, 2000; Hunter, 2001). La dinámica del N también fue modificada por el daño foliar (artificial o natural), aunque en este estudio, la herbivoría no facilitó la liberación de N. En cambio, el daño natural promovió la inmovilización de N por los microorganismos durante el primer año de descomposición. Finalmente, el experimento a campo confirmó nuestra predicción sobre el rol de la mesofauna del suelo, ya que su exclusión tuvo un impacto negativo sobre la descomposición y opacó los efectos de la herbivoría. En síntesis, este capítulo muestra que existe una fuerte relación entre los procesos de consumo foliar en el canopeo del bosque y la degradación de la MO en el suelo, y que estos efectos estarían siendo mediados en parte por la mesofauna de detritívoros.

CAPITULO IV

Efecto de la herbivoría por insectos sobre la descomposición de hojarasca en el contexto de la deposición masiva de cenizas volcánicas.

Introducción

Los disturbios de gran escala son usualmente considerados como eventos devastadores, con efectos sobre los ecosistemas terrestres que pueden durar muchos años (Chaneton *et al.*, 2014). Sin embargo, los disturbios naturales son fenómenos propios de los ecosistemas que ocurren con variada magnitud y cierta regularidad a lo largo del tiempo (White y Pickett, 1985) y actualmente son considerados un componente integral de la dinámica de los ecosistemas (Dale *et al.*, 2005). Además, se ha empezado a establecer la idea de que aún los eventos más severos generan condiciones espacialmente heterogéneas y no siempre letales, que pueden facilitar la recuperación post-disturbio de los organismos (Turner *et al.*, 1997; Dale *et al.*, 2005; Chaneton *et al.*, 2014). Los cambios inducidos por los disturbios en la abundancia, composición y diversidad de las comunidades bióticas pueden alterar procesos clave del ecosistema, como la producción primaria, la herbivoría y el ciclado de nutrientes (e.g. Chaneton *et al.*, 2014). Las tasas de esos procesos pueden, a su vez, influir sobre la resiliencia de diferentes componentes de las comunidades.

Las erupciones volcánicas tienen gran impacto en los ciclos biogeoquímicos (Jones y Gislason, 2008). Inmediatamente luego de la erupción, el material volcánico es altamente reactivo, ya que al entrar en contacto con agua puede liberar ácidos y sales metálicas al medio. La liberación de estos compuestos puede generar acidificación y contaminación en el suelo, lo que podría tener un serio impacto en la vegetación, los animales y los distintos procesos ecosistémicos (Frogner *et al.*, 2001; Jones y Gislason, 2008). Las cenizas dispersadas por la explosión pueden alterar las interacciones interespecíficas y afectar procesos ecosistémicos como la productividad primaria y la herbivoría (Seymour *et al.*, 1983; Marske *et al.*, 2007; Chaneton *et al.*, 2014). Por otro lado, tanto en suelos como en superficies acuáticas, se encontró que la deposición de ceniza volcánica provoca la liberación de macronutrientes y metales biológicamente activos que quedan disponibles para sostener la producción primaria (Frogner *et al.*, 2001; Dahlgren *et al.*, 2004). La deposición de cenizas además afecta el ciclado de la MO en el suelo. Por ejemplo, se ha observado que la hojarasca enterrada debajo de las cenizas se descompone más rápido que la que cae sobre la capa de cenizas luego de la erupción, o la depositada sobre el suelo orgánico libre de cenizas. Este efecto ha sido atribuido a incrementos en la temperatura y la retención de humedad en el

suelo debajo de las cenizas (Edmonds y Erickson, 1994; Erickson y Edmonds, 1994; Berenstecher, 2013).

Por otro lado, se sabe que la deposición de ceniza volcánica también puede tener impactos negativos sobre las comunidades de invertebrados que se encuentran en la zona afectada (Elizalde, 2014). Por ejemplo, Marske *et al.* (2007) encontraron que la deposición de cenizas redujo la abundancia de insectos folívoros del bosque en la isla de Monserrat. En un estudio reciente, Chaneton *et al.* (2014) encontraron que los niveles de consumo foliar por insectos herbívoros en bosques de *N. pumilio* disminuyó drásticamente luego de la caída de arena y cenizas emitidas por el CVPCC en el norte de la Patagonia. Experimentos de laboratorio demostraron el efecto insecticida de las cenizas emitidas por el CVPCC sobre tres especies de coleópteros (Buteler *et al.*, 2011, 2014). Estos efectos nocivos encontrados en diversos insectos podrían también afectar a los microartrópodos componentes de la mesofauna del suelo (Elizalde, 2014) y, de ese modo, podrían repercutir negativamente sobre los procesos de ciclado de C y nutrientes.

El impacto de la caída de material volcánico sobre la descomposición dependería del momento de la erupción, en relación con la temporada de crecimiento y caída de la hojarasca de los árboles. La hojarasca liberada antes de la erupción quedará enterrada debajo de una capa de cenizas de variada profundidad, de acuerdo con la posición geográfica del bosque respecto del volcán (Dale *et al.*, 2005). En cambio, la hojarasca producida en la temporada siguiente a la erupción será depositada sobre las cenizas. Entonces, es esperable que las condiciones para la descomposición de la MO varíen de acuerdo con la posición de la hojarasca, debido a diferencias en el microambiente biótico y abiótico debajo y sobre la capa de cenizas (Erickson y Edmonds 1994; Berenstecher 2013). Además, si las cenizas alteran los niveles de herbivoría en el dosel del bosque (Chaneton *et al.*, 2014), la hojarasca producida luego de la erupción tendría una calidad diferente a la que fue enterrada por las cenizas. Por lo tanto, se podría esperar que las tasas de descomposición reflejaran una interacción compleja entre la herbivoría y la posición de la hojarasca en relación al nuevo sustrato volcánico. Los efectos de la deposición de cenizas volcánicas podrían tener, entonces, consecuencias funcionales de largo plazo sobre los procesos del suelo. Sin embargo, no existen estudios que hayan integrado ambos procesos, herbivoría y descomposición, en el contexto de sistemas afectados por actividad volcánica.

En junio de 2011 se produjo la erupción masiva del CVPCC situado en el límite entre Chile y Argentina, en el sector noroeste del Parque Nacional Nahuel Huapi. Los bosques de *N. pumilio* que son el objeto de estudio de esta tesis fueron afectados en diferente grado por las cenizas volcánicas, según su distancia y posición relativa al foco de emisión (Chaneton *et al.*, 2014). En particular, los bosques secos de *N. pumilio* situados a la latitud del volcán, incluyendo el sitio de estudio en Paso Córdoba, fueron cubiertos por una capa de 5-10 cm de cenizas finas (ver Capítulo 2). Este disturbio redujo drásticamente los niveles de folivoría por insectos medidos en los dos años siguientes (Chaneton *et al.* 2014). Las cenizas cayeron una vez finalizada la temporada de crecimiento 2010-2011, por lo cual la hojarasca producida en condiciones “normales” de herbivoría quedó enterrada. En cambio, la hojarasca luego de la erupción estuvo virtualmente libre de daño y cayó sobre la capa de cenizas. Los resultados de un estudio de descomposición realizado previamente en Paso Córdoba (Chaneton *et al.* 2005) brindaron una oportunidad única para evaluar en qué medida la deposición de cenizas, en interacción con la herbivoría, habría afectado el ciclado de C y N en la hojarasca de lenga.

El presente trabajo examinó los efectos de la herbivoría por insectos y la posición de la hojarasca relativa a la capa de cenizas, en un experimento de campo realizado luego de la erupción del sistema CVPCC. Además, se compararon los resultados de este estudio (2011-2012) con los del experimento realizado por Chaneton *et al.* (2005), con el fin de evaluar el efecto relativo de la herbivoría en el contexto ambiental generado por la deposición reciente de cenizas volcánicas. Por último, para explorar el impacto de las cenizas sobre la mesofauna del suelo, un factor mediador del efecto de los herbívoros sobre la descomposición (ver Capítulo 3), se llevó a cabo un experimento de manipulación de cenizas en microcosmos. El experimento de campo evaluó la hipótesis de que las condiciones microambientales generadas debajo de la capa de cenizas estimulan la descomposición y el reciclado de N de la hojarasca (ver Erickson y Edmonds 1994), pero no modifican el efecto acelerador de la herbivoría sobre la tasa de descomposición (Chaneton *et al.*, 2005; Capítulos 2 y 3). Por otro lado, el experimento de microcosmos puso a prueba la hipótesis de que las cenizas volcánicas tiene un impacto negativo sobre la abundancia de la mesofauna de artrópodos del suelo.

En el contexto de estas hipótesis, se examinaron las siguientes predicciones:

i. La descomposición (pérdida de MO) y la liberación de N serán más rápidas para la hojarasca enterrada bajo las cenizas, que para la hojarasca depositada sobre la capa de cenizas.

ii. La remoción de las cenizas volcánicas reducirá la descomposición y la cantidad de N liberada por la hojarasca en contacto con el suelo orgánico.

iii. La descomposición y la liberación de N serán más rápidas para la hojarasca incubada luego de la erupción volcánica debajo de las cenizas, que para la hojarasca incubada antes de la erupción sobre el suelo libre de cenizas.

iv. La hojarasca dañada y no dañada por insectos folívoros se degradará de igual manera sobre la capa de cenizas, mientras que el daño foliar aumentará la descomposición y la liberación de N en la hojarasca en contacto con el suelo orgánico.

v. La adición manual de cenizas volcánicas sobre el suelo orgánico del bosque reducirá la abundancia de la mesofauna de artrópodos detritívoros.

Materiales y métodos

Experimento en el campo

El estudio a campo se realizó en un bosque monoespecífico de *N. pumilio* (lenga) situado en la zona de Paso del Córdoba dentro del Parque Nacional Lanín, 87 km al norte de San Carlos de Bariloche (Ver Capítulo 2). El sitio fue fuertemente afectado por la deposición de cenizas finas emitidas por el CVPCC durante 2011 (Figura 4.1). Dos años luego de la erupción volcánica, el daño total de hojas por insectos folívoros cayó a su nivel más bajo en los últimos 10 años (menos de 2% del área foliar dañada), mientras que la producción foliar total del bosque aumentó significativamente (Chaneton *et al.*, 2014).

El experimento se inició en abril de 2012 y tuvo una duración de 11 meses. Para evaluar el efecto de las cenizas volcánicas sobre la descomposición, se colocaron bolsitas de hojarasca en tres posiciones: 1- Sobre el suelo orgánico y tapadas por la capa de ceniza (Bajo Cenizas); 2- Sobre el suelo orgánico, pero con remoción de la capa de ceniza (Suelo Limpio); y 3- Sobre la capa de ceniza (Sobre Cenizas). Se utilizaron tres tipos de hojarasca con distinto nivel de daño por insectos del dosel para evaluar si el efecto de la herbivoría sobre la descomposición fue modificado por la deposición de cenizas y determinar la interacción con la posición de la hojarasca en el suelo.

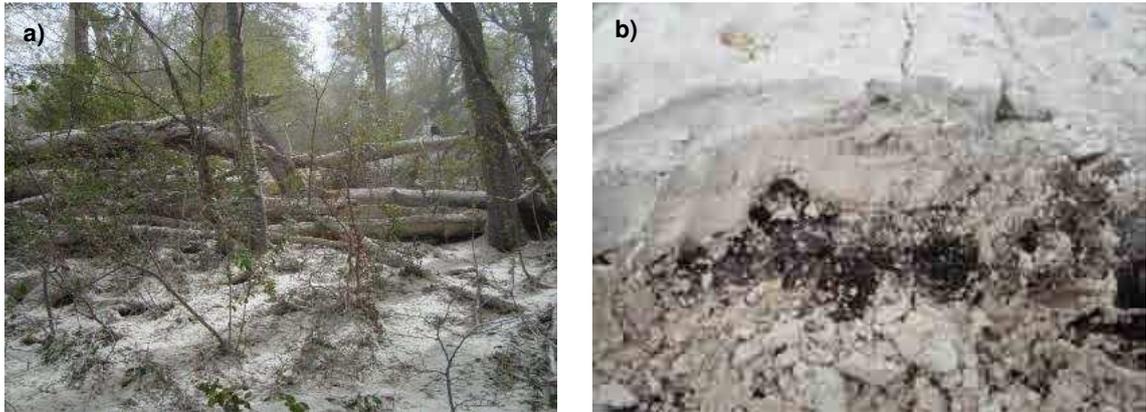


Figura 4.1: Cobertura de cenizas sobre el sitio de estudio en Paso Córdoba. a) Vista general del bosque luego de la deposición de cenizas. b) Detalle de la capa de cenizas (~5 cm) sobre el suelo orgánico. Fotos tomadas en enero 2012.

En cada posición se colocaron bolsitas con: 1- Hojarasca sana; 2- Hojarasca dañada; y 3- Mezcla de hojarasca sana y sana. Las bolsitas (15 cm x 15 cm) fueron confeccionadas con malla de fibra de vidrio de 2 mm de poro y contuvieron 2 g de hojarasca secada al aire. La hojarasca dañada incluyó hojas senescentes dañadas por todos los gremios de insectos presentes en el bosque (Capítulo 2). Se utilizaron hojas que tenían al menos el 25% del área dañada. En la mezcla de hojarasca sana+dañada (mezcla con daño “natural”), se incorporó 1/4 de hojarasca sana y el resto estuvo dañado con la misma composición que la hojarasca totalmente dañada. Estos tratamientos de hojarasca fueron iguales a los utilizados por Chaneton *et al.* (2005), lo cual permitió la comparación de la descomposición y la retención de N en las condiciones imperantes antes y después de la erupción del volcán. Otros aspectos del protocolo experimental fueron similares a los empleados en el estudio citado.

Se instalaron 6 bloques experimentales completos, dejando una distancia mínima de 20 m entre bloques. Cada bloque comprendió 9 bolsitas de descomposición (3 posiciones x 3 tipos de daño); el diseño incluyó una sola fecha de cosecha. En cada bloque se delimitaron sectores para las tres posiciones (o micrositos) y dentro de cada sector se ubicaron al azar las bolsitas con los tres tipos distintos de hojarasca. Se colocaron ramas gruesas para separar los sectores entre sí y a los fines de evitar que la ceniza de los micrositos vecinos (Sobre ceniza y Bajo ceniza) cayera sobre el sector del tratamiento con suelo limpio. Todas las bolsitas fueron fijadas al suelo con ganchos de metal y fueron identificadas individualmente con una placa numerada y un cable de color según el tipo de

hojarasca. Cada bloque fue cubierto por una malla plástica de 1 cm de poro para protegerlo de los animales silvestres (Figura 4.1).

Al final del experimento se recolectaron las 54 bolsitas de hojarasca (3 micrositos x 3 tipos de daño x 6 bloques), las cuales fueron procesadas para determinar el %MO y el %N remanente. El material remanente fue secado en estufa durante 48 h a 65°C; se removió el suelo y otras partículas adheridas a la muestra y se determinó el peso seco de la hojarasca. La descomposición fue determinada como el porcentaje de MO perdida (%MO perdida) respecto del peso inicial, ajustado por el contenido de humedad y de cenizas (ver Capítulo 2).

Se determinó la concentración inicial de N en submuestras de los distintos tipos de hojarasca ($n = 4$), con el fin de evaluar su calidad química inicial. El contenido de N fue determinado por el método semi-micro Kjeldahl (Bremner, 1996) en la cátedra de Cereales de la Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires (la misma técnica de extracción se utilizó para el experimento de 2004-2005). Al final del experimento se evaluó la cantidad de N remanente en la hojarasca parcialmente descompuesta, el cual refleja el balance neto entre los procesos de acumulación y liberación de N por la interacción entre los microorganismos y la hojarasca (Harmon *et al.*, 1999). El N remanente se expresó en forma relativa al inicial determinado para cada tipo de hojarasca y fue calculado como se describió en el Capítulo 2.



Figura 4.1: Detalle de un bloque del experimento realizado para determinar los efectos de la ceniza volcánica y la herbivoría sobre la descomposición de lenga. a) Bolsas depositadas sobre la capa de cenizas; b) Bolsas depositadas sobre el suelo orgánico sin cenizas; c) Bolsas depositadas sobre el suelo orgánico y cubiertas por la capa de cenizas.

Los resultados obtenidos durante este experimento (2012-2013) fueron comparados con los obtenidos en el experimento de descomposición instalado en noviembre de 2004 (Chaneton *et al.*, 2005) en el mismo sitio de estudio. Esta comparación permitió evaluar si la deposición de ceniza volcánica habría afectado las condiciones microambientales. Incluyendo la comunidad de descomponedores del suelo, en una escala mayor que la del micrositio. En el experimento de 2004 se utilizaron los mismos tipos de hojarasca (3 niveles de daño foliar) que en 2012 (n = 10 bloques). Ese experimento tuvo una duración de 12 meses. Las condiciones climáticas para los dos períodos experimentales comparados fueron muy similares. La temperatura media fue 8,7 °C y 8,9 °C en 2004 y 2012, respectivamente, mientras que la precipitación anual fue 663 mm en 2004 y 726 mm en 2012 (Estación Meteorológica Aeropuerto de Bariloche, S.M.N.).

Experimento de microcosmos: cenizas y mesofauna del suelo

Se instaló un experimento en microcosmos en condiciones de luz, temperatura y humedad controladas para evaluar el efecto de la deposición de ceniza volcánica sobre la mesofauna del suelo. Para ello se utilizó suelo del horizonte orgánico (hasta 10 cm de profundidad) libre de hojarasca, extraído de la zona de Paso Córdoba antes (1 semana) y después (1 mes) de la erupción de junio 2011. Para el suelo colectado luego de la erupción, se separó la capa de cenizas del suelo orgánico y sólo se utilizó en el experimento el suelo orgánico “libre de cenizas” colectado luego de la erupción. Ambos suelos fueron almacenados húmedos a 5 °C hasta el momento de iniciar el experimento (aproximadamente 3 meses). La ceniza volcánica recolectada del bosque de lenga en Paso Córdoba fue almacenada en bolsas de plástico a temperatura ambiente.

El efecto de la ceniza volcánica sobre la mesofauna del suelo se evaluó en microcosmos confeccionados en recipientes de plástico transparente de 500 cm³. Se generaron tres tratamientos a partir del origen del suelo y del agregado de cenizas: 1- Suelo extraído previamente a la erupción del volcán sin agregado de cenizas (Pre Volcán Limpio); 2- Suelo extraído previamente a la erupción del volcán con el agregado de ceniza (Pre Volcán Ceniza); 3- Suelo extraído posteriormente a la erupción del volcán con el agregado de ceniza (Post Volcán). En cada recipiente se colocaron ~200 g de suelo del bosque y sobre ese sustrato se colocó una capa de 2 g de mezcla de hojarasca fresca de lenga (obtenida a fines de mayo de 2011, previo a la erupción volcánica). En los tratamientos con agregado de ceniza se colocó una capa de ~2,5 cm de espesor de ceniza volcánica “fina” sobre el mantillo

(Figura 4.2). Según los análisis realizados por otros autores sobre los materiales emitidos por el CVPCC, la ceniza estuvo compuesta principalmente por dos elementos: dióxido de silicio (SiO_2) y óxido de aluminio (Al_2O_3) y sólo presentó trazas de macronutrientes como N y P (Bermudez y Delpino, 2011; Buteler *et al.*, 2011). Las cenizas más finas que se dispersaron a gran distancia del volcán por la región de estudio, incluyendo la zona de Paso Córdoba (Gaitán *et al.*, 2011; Chaneton *et al.*, 2014), estuvieron conformadas por partículas de vidrio volcánico de 50–100 μm de diámetro (Buteler *et al.*, 2011, 2014).

Se establecieron 10 repeticiones por tratamiento para un total de 30 microcosmos. Los microcosmos fueron mantenidos en cámaras de crecimiento a 20 °C y en condiciones de oscuridad. Una vez por semana se controló la humedad de los sustratos insertando hasta 3 cm de profundidad un sensor “Theta Probe” modelo HH2 (Delta-T Devices, Cambridge, Reino Unido) para asegurar que los tratamientos no tuvieran pérdidas de humedad que pudieran afectar diferencialmente el desarrollo de la fauna del suelo. Dos veces por semana los tratamientos fueron regados con 5-10 ml de agua, dependiendo de los valores de humedad obtenidos en cada medición; se buscó mantener un contenido de humedad del suelo entre 10–15% v/v.



Figura 4.2: Detalle de los microcosmos utilizados para evaluar el efecto de las cenizas volcánicas sobre la mesofauna del suelo en condiciones controladas.

El experimento duró 4 meses. A su finalización se realizó la extracción de la mesofauna mediante un dispositivo de gradiente de luz/temperatura tipo “Tullgren” modificado (Crossley y Blair, 1991). Para este experimento se utilizó el suelo orgánico y el mantillo únicamente, excluyendo la ceniza. Por lo tanto, el volumen de suelo examinado fue aproximadamente el mismo para los tres tratamientos. El

período de extracción de mesofauna fue de 5 días, durante los cuales todos los suelos fueron rociados suavemente con agua para evitar la desecación. Los microartrópodos fueron recolectados en frascos de vidrio y fijados en alcohol 70%. Las muestras fueron inspeccionadas bajo lupa de disección y se contabilizó la cantidad de microartrópodos correspondientes a diferentes taxa (Collembola, Homoptera, Psocoptera, Diplura, ácaros y larvas de varios órdenes diferentes). En este caso se contabilizó la totalidad de los artrópodos presentes en las muestras debido a que el experimento apuntó a determinar si la ceniza tiene efectos nocivos sobre la mesofauna del suelo en general. Los suelos fueron secados a 100 °C durante 48hs y luego pesados; se expresó la abundancia de microartrópodos como no. de individuos por 100 g de suelo seco.

Análisis estadístico

Las diferencias en la calidad (%N) inicial de la hojarasca se evaluaron mediante un modelo lineal general que incluyó el tipo de hojarasca (3 niveles) y el año de experimento (2 niveles: 2004 vs. 2012) como efectos fijos. En este análisis se modeló la varianza utilizando la función *Varident* (R Development Core Team 2013) dentro del paquete estadístico Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2012) debido a que las varianzas no pudieron ser homogeneizadas aún después de ser transformados los datos por el arcoseno. Se realizaron comparaciones *a posteriori* con pruebas LSD de Fisher ($P < 0,05$) para evaluar las diferencias entre los tipos de hojarasca incubados antes (2004) o después (2012) de la erupción, así como para comparar un mismo tipo de hojarasca entre años (i.e., sana 2012 vs. sana 2004; dañada 2012 vs. dañada 2004; natural 2012 vs. natural 2004).

Los efectos del micrositio y el tipo de hojarasca sobre el %MO perdida y el %N remanente en el experimento 2012 (post-erupción) fueron evaluados mediante un modelo de ANOVA con parcelas divididas de 3 factores, con el micrositio (3 niveles) y el tipo de hojarasca (3 niveles) y el bloque ($n = 6$) como efectos principales. El tipo de hojarasca ingresó al modelo como sub-parcela anidada dentro del micrositio (parcela principal). Por lo tanto, el efecto del micrositio se evaluó con la interacción Micrositio x Bloque como error en la prueba F. Se realizaron comparaciones *a posteriori* para analizar las diferencias entre las medias de los distintos tratamientos (LSD Fisher, $P < 0,05$). Las diferencias en %MO y %N remanente de los tipos de hojarasca utilizados en 2004 (pre-erupción) se analizaron mediante un ANOVA de dos factores: hojarasca (3 niveles) y bloque ($n = 10$). Para evaluar si existieron diferencias en la descomposición y la dinámica del N entre los

experimentos realizados antes y después de la erupción volcánica, se utilizó un modelo lineal con un factor “condición de incubación” definido por 4 niveles: 3 micrositios en 2012 + 1 micrositio en 2004. Para este análisis los distintos tipos de hojarasca fueron agrupados dentro de cada condición de incubación. Se modeló la varianza usando la función *Varident* en el paquete Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2012) debido a que los datos no cumplían el supuesto de homogeneidad de varianzas. Se realizaron contrastes *a priori* para evaluar si hubo diferencias significativas en el %MO y el %N remanente entre el año 2004 (pre-erupción) y cada una de las tres posiciones utilizadas en 2012.

El efecto de las cenizas sobre la abundancia total de microartrópodos (mesofauna) extraídos de los microcosmos se evaluó mediante un modelo lineal de un factor con 3 niveles. Debido a la falta de homogeneidad de varianzas, se utilizó la función *Varident* en Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2012). Se realizaron comparaciones *a posteriori* (LSD de Fisher, $P < 0,05$) para evaluar las diferencias entre los tratamientos.

Resultados

Efecto de la deposición volcánica sobre la descomposición y la dinámica del N

La hojarasca utilizada en los dos experimentos a campo (2012 y 2004) tuvo diferencias significativas en el %N inicial. Por un lado, la hojarasca sana tuvo un 21% menos N inicial que los dos tratamientos con hojarasca dañada, tanto en 2012 como en 2004 ($F_{2,40} = 163$; $P < 0,0001$; letras mayúsculas en Figura 4.3). Por otro lado, al comparar el contenido inicial de N entre los dos años, se observó que las hojarascas sana y dañada tuvieron mayor %N inicial en 2012 que en 2004 (pruebas LSD $P < 0,05$, luego del ANOVA: $F_{1,40} = 500$; $P < 0,0001$), mientras que la mezcla natural de hojarasca (sana + dañada) no mostró diferencias entre años (Asteriscos en Figura 4.3).

En el experimento instalado luego de la erupción en 2012, la hojarasca se descompuso significativamente más rápido en el micrositio bajo ceniza que en los otros dos micrositios (letras mayúsculas en Figura 4.4). Sin embargo, no hubo diferencias en el %MO perdida entre los tres tipos de hojarasca, lo que indicó que la herbivoría por insectos del dosel no afectó la descomposición en el contexto de este experimento (Tabla 4.1).

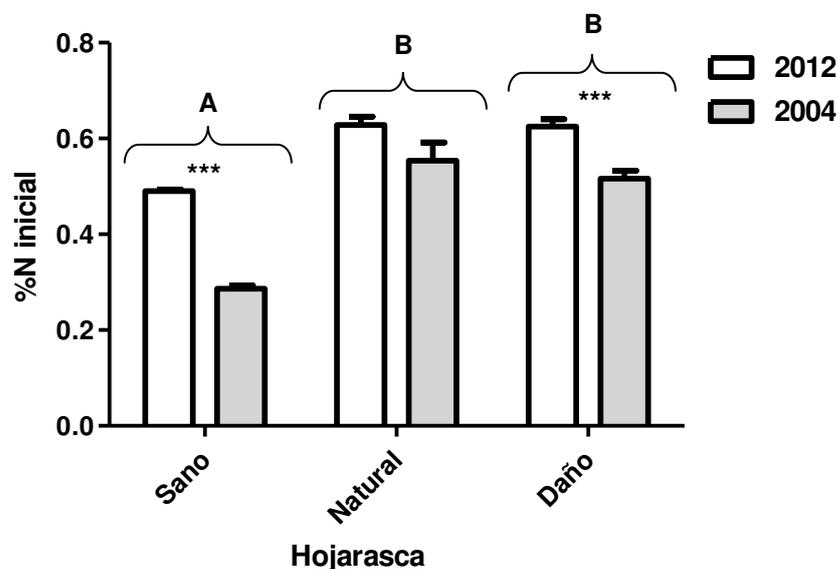


Figura 4.3: Contenido inicial de N en función del tipo de hojarasca y del año del experimento. Las barras representan la media y su error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tipos de hojarasca dentro de un mismo año. Los asteriscos indican diferencias significativas entre años para un mismo tipo de hojarasca *** $P < 0,001$. 2012: post-erupción, 2004: pre-erupción volcánica.

Tabla 4.1: Resultados del ANOVA para parcelas divididas donde se evaluó el efecto de la ceniza volcánica y la herbivoría sobre la descomposición de hojarasca (2012-2013)

Fuente	gl	CM	F	P
Bloque	5	112,08	13,684	0,00001
Micrositio	2	949,65	28,000	0,00001
Micrositio x bloque	10	33,92	.	
Hojarasca	2	17,65	0,693	0,505
Micrositio x Hojarasca	4	13,52	0,531	0,714
Error	30	25,45		

En cambio, en el experimento realizado en 2004-2005, sin influencia de una erupción reciente, se observaron diferencias significativas entre los tipos de hojarasca incubados. Las hojas dañadas por insectos defoliadores se descompusieron más rápidamente que las hojas sanas, mientras que la mezcla natural de hojas sanas y dañadas tuvo valores intermedios de %MO perdida ($F_{2,18} = 6,78$, $P < 0,01$; letras minúsculas en Figura 4.4). Al comparar los resultados de cada micrositio utilizado en el experimento de 2012 con los resultados obtenidos en el 2004, se observó que la descomposición fue significativamente menor en el

experimento realizado luego de la erupción volcánica ($F_{3,82} = 62,59$; $P < 0,0001$), independientemente del micrositio donde se incubaron las bolsitas (Limpio: $F_{1,79} = 131,69$, $P < 0,0001$; Bajo Ceniza: $F_{1,79} = 18,13$, $P < 0,001$; Sobre Ceniza: $F_{1,79} = 120,17$, $P < 0,0001$; Figura 4.4: asteriscos).

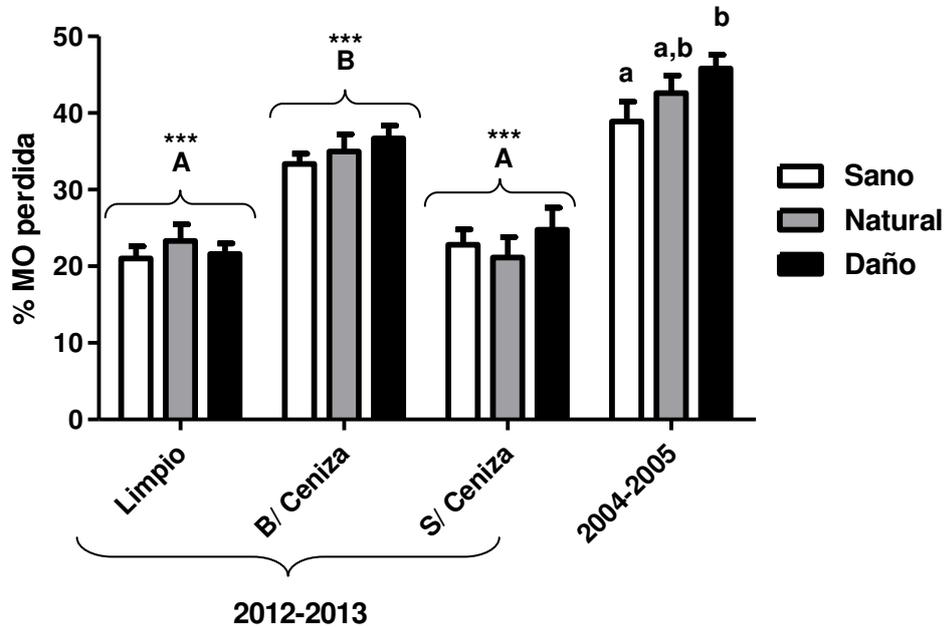


Figura 4.4: MO perdida (%) en función del tipo de hojarasca, micrositio de incubación y año del experimento. Las barras representan la media y su error estándar. Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre los micrositios del año 2012. Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas entre los tipos de hojarasca para el año 2004. Asteriscos indican diferencias significativas entre micrositios del experimento 2012 y el experimento 2004. *** $P < 0,001$. 2012: post-erupción, 2004: pre-erupción volcánica.

Durante el experimento realizado en 2012, la dinámica del N se vio afectada tanto por el tipo de hojarasca como por el micrositio (Figura 4.5). La hojarasca incubada bajo la capa de cenizas retuvo menos N que la hojarasca incubada sobre las cenizas o sobre suelo donde se removieron las cenizas ($F_{2,10} = 21,52$, $P < 0,001$; letras mayúsculas en Figura 4.5). Esas diferencias fueron consistentes para los tres tipos de hojarasca (Micrositio x hojarasca: $F_{4,30} = 0,45$; $P = 0,77$). Además, el tipo de hojarasca mostró diferencias significativas; la hojarasca sana retuvo más N que la hojarasca dañada y ésta a su vez retuvo más N que la mezcla natural de hojarasca sana y dañada ($F_{2,30} = 23,81$, $P < 0,0001$; letras minúsculas en Figura 4.5). Por otro lado, en el experimento realizado en 2004 se observó que la hojarasca sana retuvo significativamente mayor cantidad de N que los dos tratamientos con hojas dañadas ($F_{2,18} = 29,65$, $P < 0,0001$; letras minúsculas en Figura 4.5).

Al comparar el %N retenido en la hojarasca incubada en los tres micrositos de 2012 con el experimento realizado en 2004 (asteriscos en Figura 4.5), se observó que la retención fue significativamente menor en 2012-2013 post-erupción que en el experimento realizado antes de la erupción en 2004-2005 (ANOVA de un factor: Condición de incubación $F_{3,82} = 15,95$; $P < 0,0001$), independientemente del micrositio considerado para 2012 (Limpio: $F_{3,80} = 21,62$, $P < 0,0001$; Bajo Ceniza: $F_{3,80} = 39,32$, $P < 0,0001$; Sobre Ceniza: $F_{3,80} = 15,69$, $P < 0,001$).

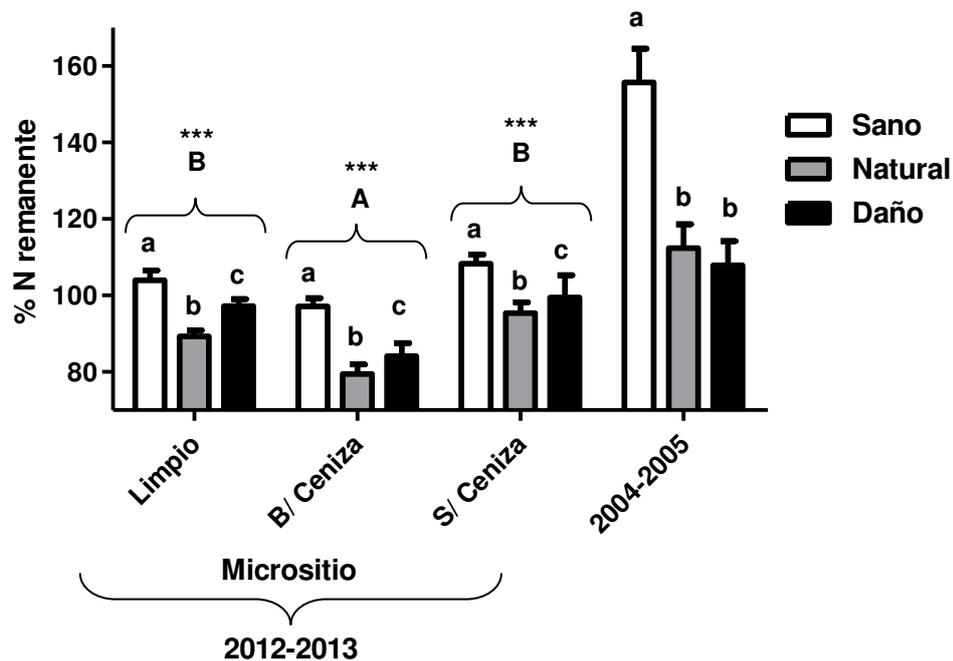


Figura 4.5: %N remanente en la hojarasca en función del tipo de hojarasca, el micrositio de incubación y el año. Las barras representan la media y su error estándar. Letras mayúsculas indican diferencias entre los micrositos del experimento 2012-2013. Letras minúsculas indican diferencias significativas entre los tipos de hojarasca en cada experimento por separado. Los asteriscos indican diferencias significativas entre cada uno de los micrositos del experimento realizado en 2012-2013 y el experimento 2004-2005, anterior a la erupción del volcán. *** $P < 0,001$

Experimento de microcosmos: ceniza volcánica y mesofauna del suelo

El experimento de microcosmos mostró que la deposición de ceniza volcánica sobre el suelo tuvo un fuerte efecto negativo sobre la abundancia de la mesofauna del suelo. En los dos tratamientos con una capa de ceniza sobre el suelo orgánico, la densidad total de microartrópodos extraídos fue significativamente menor que en el tratamiento donde el suelo estuvo libre de cenizas ($F_{2,27} = 7,25$, $P < 0,005$; Figura 4.6). Este efecto se observó tanto cuando la

ceniza se agregó al suelo extraído previo a la erupción del volcán, como cuando se agregó sobre el suelo obtenido luego de la erupción (ver Figura 4.6).

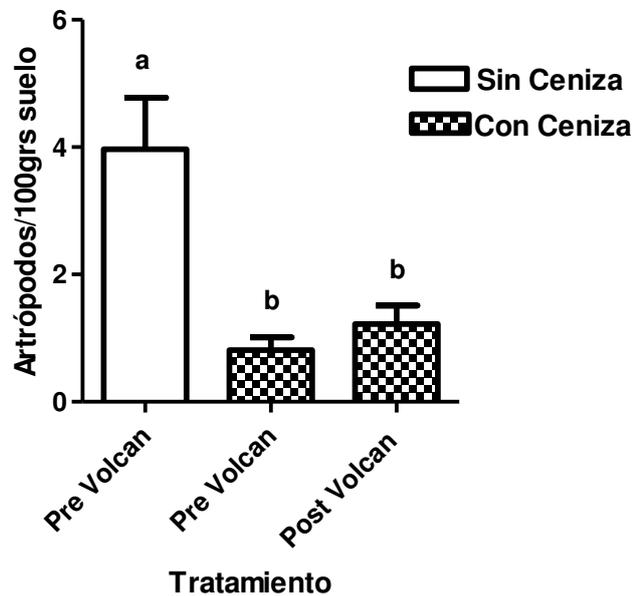


Figura 4.6: Abundancia total de microartrópodos (no./100 g suelo seco) en función del origen del suelo en el experimento de microcosmos. Las barras representan la media y su error estándar ($n = 10$) para cada tratamiento de manipulación de cenizas. Letras distintas indican diferencias significativas (LSD, $P < 0,05$).

Discusión

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que la deposición masiva de cenizas volcánicas influyó fuertemente sobre la descomposición y la dinámica del N en la hojarasca de *N. pumilio* y que, además, condicionó la influencia de la herbivoría sobre esos procesos. En general, la caída de cenizas desaceleró la descomposición, especialmente para la hojarasca depositada sobre la capa de cenizas o sobre el suelo limpio. Además, los resultados de los microcosmos sugieren que el impacto de las cenizas sobre los procesos de reciclado de C y N en el suelo estaría, al menos en parte, mediado por su efecto negativo sobre la comunidad de microartrópodos detritívoros.

La descomposición se vio afectada por la posición donde se colocó la hojarasca en relación con la capa de cenizas, pero no hubo diferencias por el tipo de hojarasca (Figura 4.4). De acuerdo con la predicción inicial, la hojarasca enterrada bajo las cenizas perdió más %MO que la depositada sobre las cenizas. Estudios realizados luego de la erupción del volcán Santa Helena (Washington,

EEUU) mostraron que la capa de cenizas aumentó la humedad del suelo y mantuvo una temperatura elevada en los meses fríos, lo que explicaría la mayor descomposición de la hojarasca enterrada (Edmonds y Erickson 1994; Erickson y Edmonds 1994). Al retirar las bolsas del campo pude observar una mayor humedad en la hojarasca enterrada bajo las cenizas, sin embargo, el contenido de humedad no fue medido experimentalmente. Este aumento en la descomposición de MO parece estar explicado por cambios en las condiciones microambientales generadas justo debajo de la capa de cenizas. Por otro lado, la remoción de la capa de cenizas redujo significativamente el %MO perdido en la hojarasca en contacto con el suelo orgánico. Esto puede explicarse por el efecto insecticida que tienen las cenizas sobre los artrópodos (Marske *et al.*, 2007; Buteler *et al.*, 2011, 2014), ya que el experimento fue instalado 1 año después de la erupción. La menor descomposición sobre la capa de cenizas también puede deberse al efecto insecticida. El hecho de que la broza se encuentre sobre la capa de cenizas impide el acceso de la mesofauna que interviene en el proceso de descomposición y por lo tanto puede afectar negativamente a la descomposición. Éste resultado, sugiere que la descomposición de la hojarasca que cae luego de la deposición de ceniza volcánica se verá negativamente afectada por lo menos en los años inmediatos luego de la erupción.

La herbivoría previa por insectos del dosel no afectó la tasa de descomposición de la hojarasca, independientemente de la posición en el perfil de las cenizas. Este resultado es contrastante con los obtenidos en 2004 y en los capítulos previos de esta tesis. Debido a que este experimento fue instalado aproximadamente 1 año luego de la erupción del volcán, es posible que el impacto de la deposición de cenizas volcánicas sobre la mesofauna del suelo (Marske *et al.*, 2007; Buteler *et al.*, 2011, 2014) y otros organismos del suelo, como también sobre los ciclos biogeoquímicos (Frogner *et al.*, 2001; Jones y Gislason, 2008) enmascare el efecto de la herbivoría sobre la descomposición de MO y por lo tanto los efectos de la herbivoría en un contexto de disturbio natural pierdan relevancia.

Por último, se observa que en general la descomposición en el año 2012 fue menor que en el año 2004. Estas diferencias no pueden explicarse por diferencias en la calidad de la hojarasca, ya que en el año 2012 el N inicial de la hojarasca fue mayor que en 2004 (Ver figura 4.3), por lo que se esperaría que la descomposición fuera mayor en el experimento más reciente. Los efectos dañinos que puede tener las cenizas sobre los artrópodos del suelo (Marske *et al.*, 2007; Buteler *et al.*, 2011, 2014) parecieran ser la explicación más plausible para la disminución de la

descomposición. Los resultados obtenidos en el experimento de microcosmos de este capítulo también apoyan la idea de que el impacto negativo de las cenizas sobre la mesofauna del suelo podrían repercutir negativamente sobre el proceso de descomposición.

La dinámica del N fue afectada tanto por el micrositio como por el tipo de hojarasca, pero no hubo interacciones entre los factores (Figura 4.5). En líneas generales el porcentaje de retención de N fue muy alto (> 70%). Coincidentemente con la hipótesis planteada en este capítulo, la liberación de N se vio estimulada bajo la capa de cenizas ya que el %N remanente es menor en este micrositio que sobre la capa de cenizas o sobre el suelo orgánico. En este caso, la mayor descomposición de MO estuvo acompañada de una mayor liberación de N. Existen estudios realizados en zonas tropicales donde la descomposición y la mineralización del N siguieron la misma tendencia (Fonte y Schowalter, 2004, 2005). Es posible que los cambios de la humedad y la temperatura que se generan debajo de la capa de cenizas (Erickson y Edmonds, 1994; Berenstecher, 2013) hayan provocado condiciones favorables para el ciclado del C y también del N. Por otro lado, se observó que en todos los micrositios, la hojarasca sana inmovilizó más N que los otros dos tratamientos. Debido a la relación positiva que existe entre la calidad inicial de la hojarasca y la dinámica del N (Mooshammer *et al.*, 2012), era de esperarse que la hojarasca sana inmovilizara más N que los tratamientos con presencia de hojas dañadas. Por último, se observa que en el experimento realizado en el año 2004 hubo mayor retención de N que en el año 2012. La menor calidad de la hojarasca utilizada en el año 2004 podría explicar estas diferencias. Por otro lado, es posible que la dinámica del N en año 2012 también se haya visto modificada por los efectos que las cenizas volcánicas pueden tener sobre los ciclos biogeoquímicos (Frogner Kockum *et al.*, 2006; Jones y Gislason, 2008).

El experimento en microcosmos arrojó resultados concordantes con la hipótesis planteada. Los tratamientos a los cuales se les agregó una capa de cenizas tuvieron menor cantidad de artrópodos (Figura 4.6). La reducción de la mesofauna del suelo fue independiente del origen del suelo, ya que tanto el tratamiento con suelo extraído previamente a la erupción del volcán como el que contenía suelo post-volcánico (ambos con adición de cenizas) mostraron un número menor de microartrópodos comparado con el tratamiento al cual no se le agregaron cenizas. Esta reducción en la comunidad de artrópodos del suelo podría explicarse por el efecto insecticida que tienen las cenizas finas sobre los artrópodos en general (Marske *et al.*, 2007; Buteler *et al.*, 2011, 2014).

En conjunto, los resultados de este trabajo mostraron que la herbivoría no afectó de igual manera la descomposición y la dinámica del N, mientras que la deposición de cenizas afectó de la misma manera a ambos procesos. Es posible que el impacto negativo de las cenizas sobre la mesofauna del suelo haya contribuido a diluir los efectos de la herbivoría. Debido a que la comunidad de la mesofauna del suelo es la que se encarga de fragmentar la hojarasca para convertirla en material disponible para los microorganismos (Seastedt, 1984; Aerts, 1997), es posible que una reducción en este componente de la comunidad de descomponedores reduzca el impacto que pueden tener las diferencias finas que tienen distintos tipos de hojarasca de una misma especie sobre el ciclado de MO. El ciclado de N en cambio, se encuentra dominada por las bacterias y hongos del suelo (Aerts, 1997; Araujo *et al.*, 2012). Debido a la naturaleza microscópica de estos organismos, es posible que la deposición de cenizas no tenga un impacto tan grande sobre esta fracción de descomponedores y entonces este proceso no se haya visto tan afectado por la erupción volcánica.

En síntesis, la magnitud del efecto de la erupción volcánica parece haber excedido los efectos que la herbivoría puede tener sobre la descomposición (Wardle y Putten, 2002). Debido a que las condiciones ambientales son el control más importante a escala global de los procesos del suelo (Aerts, 1997), es posible que las nuevas condiciones ambientales que se generan a partir de un disturbio de gran magnitud prevalezcan sobre el impacto que puede tener la variación de la calidad química del sustrato. Los resultados de este capítulo indican que para poder predecir los efectos de la pérdida de biodiversidad sobre el funcionamiento del ecosistema es necesario tener en cuenta el contexto abiótico y ambiental del ecosistema en estudio.

CAPÍTULO V

Discusión general

Rol de la diversidad de insectos herbívoros sobre los procesos del suelo

Esta tesis aporta resultados novedosos sobre el efecto de la diversidad funcional de insectos herbívoros sobre la descomposición de la MO y la dinámica del N en la hojarasca. Los procesos del suelo se encuentran fuertemente influenciados por la calidad del sustrato que es aportado al suelo por las especies de plantas y herbívoros presentes en la comunidad (Coûteaux *et al.*, 1995; Vivanco y Austin, 2008). Numerosos estudios han mostrado que la diversidad de especies de plantas puede tener efectos positivos o negativos sobre los distintos procesos del suelo (Hansen y Coleman, 1998; Hector *et al.*, 2000; Gartner y Cardon, 2004; Hättenschwiler y Gasser, 2005; Vos *et al.*, 2013; Ebeling *et al.*, 2014). Por otro lado, los efectos de la herbivoría sobre los procesos del suelo también han sido evaluados en términos de presencia/ausencia de daño en las hojas y esos resultados han sido variables (Melillo *et al.*, 1982; Scott y Binkley, 1997; Belovsky y Slade, 2000; Reynolds y Hunter, 2001; Chapman *et al.*, 2003; Schowalter *et al.*, 2011). Sin embargo, los efectos de la herbivoría en términos de la diversidad (riqueza e identidad) de insectos han recibido escasa atención (Wardle y Putten, 2002).

En esta tesis se postuló que la folivoría estimulaba la descomposición y la liberación del N de la hojarasca y que un aumento en la riqueza de daños tendría efectos positivos sobre ambos procesos. En general, los resultados obtenidos en este trabajo respaldaron la creciente evidencia que muestra que la dinámica de la MO y la del N durante la descomposición no siempre van de la mano (Lovett y Ruesink, 1995; Metcalfe *et al.*, 2014). La diversidad de gremios (riqueza e identidad) de insectos folívoros tuvo impactos más pronunciados sobre la dinámica del N que sobre la tasa de descomposición o pérdida de masa de la hojarasca. Por otro lado, esta tesis aporta nueva evidencia que confirma la conexión entre los procesos que suceden en el dosel del bosque y los que operan a nivel del suelo (Hunter, 2001; Wardle y Bardgett, 2004).

Los resultados obtenidos muestran que el daño por insectos folívoros estimula la descomposición de la hojarasca. Sin embargo, en contra de lo esperado, la riqueza de tipos de daño foliar no tuvo ningún efecto significativo sobre la descomposición de la MO. Estos resultados fueron consistentes para experimentos que fueron llevados a cabo en condiciones muy variadas, tanto a campo como en microcosmos. Por otro lado, la identidad del gremio folívoro sólo

afectó la descomposición en el experimento realizado en microcosmos de laboratorio. Se observó que la hojarasca dañada por insectos pegadores de hojas se descompuso más rápidamente que la dañada por insectos minadores. En el campo no se observó dicho efecto en un estudio de descomposición que fue afectado por la deposición masiva de cenizas volcánicas del complejo Puyehue-Cordón Caulle. Es posible que el experimento de microcosmos, al no haber sido afectado por las cenizas y haberse realizado bajo condiciones más controladas, haya permitido que se manifiesten efectos más sutiles de la herbivoría, incluyendo el efecto de la identidad del grupo funcional de insectos sobre la tasa de descomposición.

La dinámica del N también se vio estimulada por el daño previo de la hojarasca por insectos folívoros del dosel, pero además reflejó la influencia de la biodiversidad de gremios de insectos. La diversidad de gremios afectó el ciclado de N en términos de la identidad del daño en la hojarasca. Las hojas dañadas por insectos minadores tuvieron una liberación de N más rápida, mientras que la hojarasca dañada por masticadores fue la que liberó más lentamente el N. Los efectos de riqueza de gremios se observaron claramente sólo en el experimento de microcosmos. Al igual que con la descomposición, es posible que las condiciones controladas en las que se llevó a cabo este experimento, permitan revelar los efectos más sutiles de la riqueza e identidad de gremios de insectos. Sin dudas, hubo diferencias cualitativas importantes entre los resultados de ambos tipos de experimentos. En particular, durante el 1er año de descomposición se produjo la inmovilización del N en la hojarasca dañada por insectos, tanto en el campo como en condiciones de laboratorio (ver Capítulo 3 y 4). En cambio, luego de dos años de descomposición en el campo se observó que todos los tipos de hojarasca liberaron N en forma neta (ver Capítulo 2).

Estas diferencias entre la pérdida de masa por descomposición y la dinámica del N en la hojarasca sugieren que estos procesos podrían no estar gobernados por los mismos organismos de la comunidad de descomponedores del suelo. En la descomposición, la mesofauna de microartrópodos cumple un rol fundamental ya que interviene en la fragmentación física temprana de la hojarasca (Seastedt, 1984). En cambio, son los microorganismos (bacterias y hongos) los actores principales del balance entre la inmovilización y liberación de N durante la degradación de la materia orgánica (Aerts, 1997). Es posible que las diferencias biológicas que tienen estos organismos provoquen que la pérdida de masa, que involucra sobre todo la mineralización del carbono, y la dinámica del N no se vean

igualmente afectadas por la alteración física y química de las hojas por los insectos del dosel.

Mecanismos asociados a los efectos de la herbivoría sobre la descomposición y la dinámica del N

Se han propuesto varios mecanismos que explicarían la relación entre la herbivoría y los procesos del suelo (Hunter, 2001; Wardle y Bardgett, 2004), aunque no todos han sido probados experimentalmente. Los experimentos de esta tesis fueron diseñados para evaluar los efectos de los cambios físicos y químicos que sufren las hojas al ser dañadas por insectos folívoros sobre la descomposición y la dinámica del N. Por otro lado, la influencia de la mesofauna del suelo también ha sido estudiada en distintos ecosistemas y utilizando distintas especies de plantas (Heneghan *et al.*, 1999; González y Seastedt, 2001; Araujo *et al.*, 2012). En este trabajo se buscó evaluar la interacción que podría existir entre los insectos del dosel y la mesofauna del suelo. Los resultados de esta tesis aportan nueva evidencia empírica que muestra que la alteración física de los tejidos foliares y la mejora en la calidad química de la hojarasca dañada son los mecanismos que intervienen en la estimulación de la tasa de descomposición y el ciclado de N en los bosques de *N. pumilio* del norte de la Patagonia. Además, se demostró que existe una interacción sinérgica entre los insectos herbívoros del dosel del bosque y la mesofauna del suelo que aceleró la descomposición. Ambos resultados son aportes novedosos al estudio de la relación entre la biodiversidad y el funcionamiento del ecosistema.

Los resultados de esta tesis muestran que una mejor calidad química de la hojarasca tiene impactos positivos en la descomposición (Capítulos 2 y 3). Diehl *et al.* (2008) encontraron que el contenido de N en hojas sanas de *N. pumilio* pasa de 2,3% en hojas verdes a 0,5% en hojas senescentes, lo que indica que *N. pumilio* es muy eficiente al retranslocar los nutrientes foliares durante de la senescencia. Los valores obtenidos de %N en este trabajo concuerdan con lo observado por Diehl *et al.* (2008). El daño causado por insectos folívoros aumentó la calidad de la hojarasca y el contenido de N en la hojarasca dañada por los distintos gremios tomó valores entre 0,6 y 0,8%, siendo el gremio de los masticadores el que generó los valores más bajos (ver Capítulo 2). En el caso de los masticadores, el aumento en el contenido de N sólo respondería a la retranslocación incompleta de nutrientes, ya que no hay deposición de heces ni de otros restos. Esto indica que a pesar del

daño por insectos, *N. pumilio* logra translocar muy eficientemente el N desde las hojas. En las hojas dañadas por minadores y pegadores se observaron los valores más altos de contenido de N. Seguramente, el mayor contenido de N en este tipo de hojarasca se deba a las heces depositadas por estos gremios de insectos (Hunter, 2001; Wardle y Bardgett, 2004). Esto indica que la deposición de heces tiene un gran impacto sobre el cambio de la calidad de la hojarasca dañada. Sin embargo, las variaciones de %N inicial en los distintos tipos de hojarasca dañada no son tan diferentes entre sí y quizás esos cambios no sean suficientes para generar diferencias en la estimulación del ciclado de MO. La debilidad física de los tejidos provocada por los insectos también tuvo un papel significativo y es el otro factor que contribuyó a la estimulación de la descomposición por la herbivoría en este trabajo. No obstante, ambos mecanismos habían sido con frecuencia ignorados como posibles causas del efecto de los herbívoros del dosel en la aceleración de la descomposición de hojarasca en el suelo.

Por otro lado la mesofauna del suelo también cumple un rol fundamental en la descomposición. En ausencia de la mesofauna las tasas de descomposición fueron similares para hojas sanas y dañadas por minadores y/o pegadores. Además, en general, la descomposición fue más lenta cuando la mesofauna fue excluida mediante una malla muy fina. Sin embargo, la magnitud del efecto dependió del gremio de insectos folívoros que dañó las hojas. La estimulación de la descomposición por la mesofauna del suelo tuvo su mayor efecto en los tratamientos donde la hojarasca había sido dañada por insectos minadores. A lo largo de toda la tesis, sólo hubo dos situaciones donde el daño por insectos folívoros no afectó la descomposición de la hojarasca. Esto ocurrió cuando se excluyó la mesofauna (Ver Capítulo 3) y en el experimento instalado en Paso Córdoba luego de la erupción del volcán (Ver Capítulo 4). Debido al efecto nocivo de las cenizas sobre los artrópodos y la mesofauna del suelo (Figura 4.6, Buteler *et al.* 2011, 2014), es posible que en el experimento instalado luego de la erupción volcánica la mesofauna se haya visto reducida, en consonancia con el experimento de microcosmos en el que se manipuló la ceniza sobre el suelo. Estos resultados apoyan la idea de que la mesofauna cumple un rol importante en el ciclado de la MO (Seastedt, 1984) y aportan nueva evidencia sobre las interrelaciones entre la fauna del dosel del bosque y la comunidad de descomponedores del suelo.

Impacto de la deposición de ceniza volcánica sobre procesos del suelo

Los disturbios naturales son fenómenos propios de los ecosistemas que ocurren con variada magnitud y cierta regularidad a lo largo del tiempo (White y Pickett, 1985). Los disturbios pueden inducir cambios en las comunidades bióticas que pueden alterar procesos claves como la producción primaria, la herbivoría y el ciclado de nutrientes (Chaneton *et al.*, 2014). Las erupciones volcánicas tienen gran impacto en los ciclos biogeoquímicos (Jones y Gislason, 2008) y además tienen impactos negativos sobre los artrópodos (Marske *et al.*, 2007; Buteler *et al.*, 2011, 2014). La erupción del CVPCC ocurrió una vez iniciado este proyecto y modificó drásticamente las condiciones ambientales bajo las cuales se decidió estudiar la descomposición de la hojarasca y el ciclado del N. Este disturbio representó una excelente oportunidad para evaluar los efectos de la deposición de cenizas sobre los distintos procesos del suelo. Asimismo, permitió evaluar el peso relativo de la herbivoría como factor modulador de estos procesos, en el contexto de un disturbio de gran magnitud.

Los experimentos realizados en esta tesis mostraron que la descomposición y la dinámica del N se vieron favorecidas cuando la hojarasca quedó enterrada bajo la capa de cenizas. Sin embargo, no se observaron efectos de la folivoría sobre la pérdida de masa de la broza, ya que las hojas sanas y las dañadas por distintos gremios se descompusieron de igual modo, independientemente de su posición respecto de la capa de cenizas volcánicas (Capítulo 4). Por otro lado se observó que la deposición de cenizas sobre el suelo redujo el número de invertebrados presentes en el suelo. Debido a que la ausencia de la mesofauna solapa los efectos de la folivoría sobre la descomposición, la ausencia de diferencias entre las tasas de descomposición entre hojas sanas y dañadas en un contexto de deposición masiva de cenizas volcánicas podría tener su raíz en los efectos insecticidas de las cenizas sobre los microartrópodos del suelo (Buteler *et al.*, 2011).

La dinámica del N, en cambio, mostró diferencias significativas entre los distintos tipos de hojarasca. Conforme a lo esperado, la hojarasca sana inmovilizó más N que los tratamientos con hojarasca dañada en todos los micrositios. Aún en un contexto de disturbio, la dinámica del N se vio favorecida por la herbivoría. El ciclado del N es llevado a cabo principalmente por los microorganismos del suelo, es posible que las cenizas no hayan tenido un efecto tan negativo sobre éstos y entonces el efecto acelerador de la herbivoría sobre la dinámica del N no se haya visto afectada por la deposición de cenizas.

Nuevas perspectivas

Los resultados de esta tesis permiten comprender en mayor profundidad los posibles impactos de la pérdida de insectos folívoros sobre los procesos del suelo. Sin embargo, aún quedan muchos interrogantes que merecen ser tenidos en cuenta para futuros estudios. Si bien se observó un efecto acelerador de la herbivoría sobre el proceso de descomposición, la riqueza de gremios folívoros no tuvo ningún efecto sobre la dinámica de la MO. A lo largo de esta tesis se evaluó el efecto de la herbivoría y de la diversidad de grupos funcionales sobre la dinámica de C y del N mediante experimento sustitutivo (Jolliffe, 2000). Sin embargo, en un contexto de pérdida de biodiversidad es posible que la disminución en el consumo del follaje debido a la ausencia de uno de los grupos funcionales no sea compensada por un aumento en el consumo por el resto de los grupos. Esto podría generar una disminución en la tasa de herbivoría y por lo tanto el sustrato disponible para los descomponedores tendrá una menor proporción de hojas dañadas. Esta disminución en la cantidad de hojas dañadas que entran al ciclo de descomposición podría influir negativamente sobre la descomposición y por lo tanto repercutir sobre las pérdidas de C del ecosistema, la disponibilidad de nutrientes y en consecuencia, el crecimiento de las plantas y la estructura de las comunidades (Wardle 2002). Evaluar los efectos de la pérdida de biodiversidad sobre los procesos del suelo en un marco donde la pérdida de un grupo funcional no sea sustituida resulta novedoso ya que no existen trabajos que evalúen la pérdida de diversidad en un contexto no sustitutivo. Por otro lado, seguramente la pérdida de diversidad en la naturaleza suceda en un escenario donde las distintas especies, grupos funcionales o gremios no sean reemplazados en su totalidad, por lo que evaluar los efectos de la pérdida de diversidad mediante experimentos no sustitutivos resultará más realista.

En el experimento realizado en microcosmos para evaluar los mecanismos asociados al efecto de la herbivoría sobre la descomposición y la dinámica del nitrógeno, se excluyó la hojarasca dañada por insectos masticadores debido a que sus características físicas y químicas resultaron ser las más parecidas a las observadas en la hojarasca sana. En este experimento, si bien se observaron efectos claros de la herbivoría sobre la descomposición, la riqueza y la identidad de los grupos funcionales mostraron efectos débiles. Debido a que este experimento mostró efectos más sutiles que no se observaron en los experimentos a campo, es posible que la inclusión de un número mayor de grupos funcionales y con

características (físicas y químicas) más disímiles entre sí permita observar más claramente los efectos de la riqueza y la identidad de gremios sobre los procesos del suelo.

Por último, en muchos casos, la herbivoría por insectos reduce el crecimiento anual del diámetro del tronco, por la disminución en el crecimiento de los anillos (Ruel y Whitham, 2002; Trotter *et al.*, 2002), probablemente debido a que la planta asigna recursos para producir nuevo follaje en lugar de producir madera (Chapman *et al.*, 2006). La reducción de la biomasa foliar no puede ser renovada fácilmente. Esta reducción en la maquinaria fotosintética podría contrarrestar cualquier impacto positivo que puede tener la herbivoría sobre el ciclado de nutrientes por un aumento en la calidad de la hojarasca (Chapman *et al.*, 2006). Los resultados de este trabajo indican que la herbivoría tiene impactos positivos sobre el ciclado de nutrientes en el suelo, sin embargo, es necesario evaluar el impacto que tienen estos efectos sobre la productividad del bosque para poder determinar si la herbivoría tiene impactos positivos sobre todo el ciclo de nutrientes o si, esa mejora en la dinámica de los nutrientes no se traduce en una mayor productividad de todo el bosque.

Conclusiones finales

Los estudios realizados en esta tesis permiten avanzar en el conocimiento de las posibles consecuencias inducidas por cambios en la diversidad funcional de insectos folívoros sobre el funcionamiento de los ecosistemas. Los insectos que habitan el dosel de los bosques están entre los organismos más afectados por los cambios en el uso de la tierra y por procesos de extinción antropogénicos como la fragmentación de hábitats o la contaminación atmosférica (Didham *et al.*, 1996; Dirzo y Raven, 2003). Sin embargo, aún no se sabe con certeza cuáles serán los impactos que tendrían la pérdida de diversidad y los cambios en la composición funcional de las comunidades de artrópodos, sobre procesos clave del ecosistema como la descomposición y el ciclado de nutrientes.

Esta tesis demostró que la herbivoría por insectos del dosel tiene impactos positivos sobre la descomposición y la dinámica del N en bosques subalpinos de la Patagonia. En contra de lo esperado, los cambios en la riqueza y la composición de grupos funcionales de insectos folívoros no tuvieron efectos significativos sobre la tasa de descomposición de hojarasca en el suelo. En cambio, la liberación de N de la hojarasca durante la descomposición, se vio afectada por ambos componentes

de la biodiversidad de insectos folívoros. Hasta ahora se había demostrado que tanto la diversidad de especies de plantas, como la presencia de herbívoros, pueden ejercer efectos positivos o negativos sobre el ciclado de nutrientes (Lovett y Ruesink, 1995; Reynolds y Hunter, 2001; Metcalfe et al., 2014). Los resultados de esta tesis constituyen la primera evidencia experimental que muestra que la diversidad de insectos folívoros influye en el ciclado de N en el suelo del bosque.

Por otro lado, los experimentos de esta tesis permitieron demostrar que tanto los cambios físicos como los cambios químicos sufridos por las hojas dañadas por insectos, cumplen un papel mediador importante en la estimulación de los procesos de ciclado de C y N durante la descomposición. Si bien estos mecanismos habían sido propuestos anteriormente (Hunter, 2001; Wardle y Bardgett, 2004), hasta el momento nunca habían sido puestos a prueba en forma explícita, especialmente considerando la íntima relación establecida entre ciertos gremios de insectos (minadores, pegadores) y sus plantas hospedadoras. Además, se detectó a campo que la mesofauna del suelo cumple un papel importante como mediadora de los efectos que ejercen los insectos folívoros durante la descomposición de hojarasca. Estos resultados refuerzan la idea de que el funcionamiento del ecosistema integra relaciones complejas entre organismos que habitan el dosel y el suelo del bosque.

El estudio de estos procesos bajo condiciones naturales permitió poner en contexto el papel de los insectos herbívoros ante la ocurrencia de un disturbio de gran magnitud. De hecho, los efectos de las erupciones volcánicas sobre la descomposición de materia orgánica han sido aún poco estudiados. Aquí se demostró experimentalmente que la deposición de cenizas volcánicas tiene efectos importantes sobre la descomposición y la dinámica del N en la hojarasca. En ese sentido, los resultados de esta tesis ofrecen dos perspectivas sobre el efecto de las cenizas volcánicas. Por un lado, la hojarasca enterrada bajo las cenizas sufre mayor descomposición y libera mayor cantidad de N. La estimulación de ambos procesos estaría relacionada con cambios en las condiciones microclimáticas del suelo (Edmonds y Erickson, 1994; Erickson y Edmonds, 1994). Por otro lado, la deposición masiva de cenizas redujo la descomposición general de hojarasca, en comparación con períodos no afectados por erupción volcánica. Este efecto sería fundamentalmente mediado por el disturbio causado por las cenizas en la mesofauna del suelo (capítulo 4, Buteler et al. 2011, 2014), el cual parcialmente anuló los efectos de la herbivoría sobre el ciclado de materia orgánica. Estos

resultados representan un aporte novedoso al estudio de las consecuencias ecológicas de las perturbaciones naturales de gran escala.

En síntesis, los resultados de esta tesis muestran que la herbivoría y la diversidad de herbívoros tienen efectos positivos sobre el ciclado de la MO y el N en el suelo, pero que estos efectos pierden importancia relativa en el contexto de un disturbio de gran magnitud. El hecho de que un disturbio de gran magnitud opaque los efectos de la diversidad de herbívoros, indica que es necesario evaluar la pérdida de diversidad dentro del contexto biótico y abiótico en el que se encuentra el ecosistema en estudio para poder predecir el impacto que puede tener una disminución en la diversidad sobre el funcionamiento del ecosistema.

BIBLIOGRAFÍA

- Aarssen LW. 1997.** High productivity in grassland ecosystems: effected by species diversity or productive species? *Oikos* **80**: 183–184.
- Aerts R. 1997.** Climate, leaf litter chemistry and leaf litter decomposition in terrestrial ecosystems: a triangular relationship. *Oikos* **79**: 439–449.
- Agrawal AA. 2000.** Overcompensation of plants in response to herbivory and the by-product benefits of Mutualism. *Tends in plant science* **5**: 309–313.
- Agrawal AA. 2007.** Macroevolution of plant defense strategies. *Trends in ecology y evolution* **22**: 103–109.
- Araujo PI, Yahdjian L, Austin AT. 2012.** Do soil organisms affect aboveground litter decomposition in the semiarid Patagonian steppe, Argentina? *Oecologia* **168**: 221–30.
- Bardgett R, Wardle D. 2003.** Herbivore-mediated linkages between aboveground and belowground communities. *Ecology* **84**: 2258–2268.
- Barros V, Cordon V, Moyano C, Mendez R, Forquera J, Pizzio O. 1983.** *Cartas de precipitacion de la Zona oeste de las provincias de Rio Negro y Neuquen.*
- Belovsky GE, Slade JB. 2000.** Insect herbivory accelerates nutrient cycling and increases plant production. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **97**: 14412–14417.
- Berenstecher P. 2013.** Efectos de las cenizas volcánicas sobre las comunidades microbianas y la descomposición en un ecosistema semiárido de la Patagonia, Argentina.
- Berg B, Laskowski R. 2006.** *Litter decomposition: A guide to carbon and nutrient turnover.* Berkeley: Elsevier.
- Bermudez A, Delpino D. 2011.** *La actividad el volcán Puyehue y su impacto sobre el territorio de la República Argentina.*
- Boyero L, Cardinale BJ, Bastian M, Pearson RG. 2014.** Biotic vs. abiotic control of decomposition: a comparison of the effects of simulated extinctions and changes in temperature. *PloS one* **9**: 1–6.
- Bradford MA, Tordoff GM, Eggers T, Jones TH, Newington JE. 2002.** Microbiota, fauna, and mesh size interactions in litter decomposition. *Oikos* **99**: 317–323.
- Bremner J. 1996.** Nitrogen—total (DL Sparks, Ed.). *Methods of soil analysis. Part 3. Chemical Methods*: 1085–1123.

- Bruno JF, Cardinale BJ. 2008.** Cascading effects of predator richness. *Frontiers in Ecology and the Environment* **6**: 539–546.
- Buteler M, Lopez Garcia G, Pochettino A, Stefanazzi N, Ferrero A, Stadler T. 2014.** Insecticidal activity of volcanic ash against *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera : Curculionidae) under laboratory conditions. *Ecologia Austral* **24**: 17–22.
- Buteler M, Stadler T, Lopez Garcia G, Lassa MS, Trombotto Liaudat D, D'Adamo P, Fernandez-Arhex V. 2011.** Propiedades insecticidas de la ceniza del complejo volcánico Puyehue-Cordón Caulle y su posible impacto ambiental. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* **70**: 149–156.
- Callaway RM. 1995.** Positive interactions among plants. *Botanical Review* **61**: 306–349.
- Cardinale BJ, Duffy JE, Gonzalez A, Hooper DU, Perrings C, Venail P, Narwani A, Mace GM, Tilman D, Wardle DA, et al. 2012.** Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature* **486**: 59–67.
- Cardinale BJ, Srivastava DS, Duffy JE, Wright JP, Downing AL, Sankaran M, Jouseau C. 2006.** Effects of biodiversity on the functioning of trophic groups and ecosystems. *Nature* **443**: 989–92.
- Chaneton EJ, Mazia CN, Garibaldi LA, Chaij J, Kitzberger T. 2014.** Impact of volcanic ash deposition on foliar productivity and insect herbivory in northern Patagonia deciduous forests. *Ecologia Austral* **24**: 51–63.
- Chaneton EJ, Mazia CN, Kitzberger T, Mazía N. 2005.** Insect herbivory accelerates leaf-litter decomposition in Patagonian deciduous forests.
- Chapin FS, Zavaleta ES, Eviner VT, Naylor RL, Vitousek PM, Reynolds HL, Hooper DU, Lavorel S, Sala OE, Hobbie SE, et al. 2000.** Consequences of changing biodiversity. *Nature* **405**: 234–242.
- Chapman S, Hart S, Cobb N. 2003.** Insect herbivory increases litter quality and decomposition: an extension of the acceleration hypothesis. *Ecology* **84**: 2867–2876.
- Chapman S, Whitham T, Powell M. 2006.** Herbivory differentially alters plant litter dynamics of evergreen and deciduous trees. *Oikos* **114**: 566–574.
- Classen A, Chapman S, Whitham T, Hart S, Koch G. 2013.** Long-term insect herbivory slows soil development in an arid ecosystem. *Ecosphere* **4**: 1–14.
- Coley PD, Barone JA. 1996.** Herbivory and Plant Defenses in Tropical Forests. *Annual Review of Ecology and Systematics* **27**: 305–335.

- Coley P, Bryant J, Chapin III F. 1985.** Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science* **230**: 895–899.
- Coûteaux MM, Bottner P, Berg B. 1995.** Litter decomposition, climate and litter quality. *Trends in ecology y evolution* **10**: 63–66.
- Crossley D, Blair J. 1991.** A high-efficiency, 'low-technology' Tullgren-type extractor for soil microarthropods. *Agriculture, Ecosystems y Environment* **34**: 187–192.
- Crutsinger GM, Habenicht MN, Classen AT, Schweitzer JA, Sanders NJ. 2007.** Galling by *Rhopalomyia solidaginis* alters *Solidago altissima* architecture and litter nutrient dynamics in an old-field ecosystem. *Plant and Soil* **303**: 95–103.
- Dahlgren RA, Saigusa M, Ugolini FC. 2004.** The nature, properties and management of volcanic soils. *Advances in Agronomy* **82**: 113–182.
- Dale VH, Swanson FJ, Crisafulli CM. 2005.** *Ecological Responses to the 1980 Eruption of Mount St. Helens* (VH Dale, FJ Swanson, and CM Crisafulli, Eds.). New York, NY: Springer New York.
- De Mazancourt C, Loreau M, Dieckmann U. 2001.** Can the evolution of plant defense lead to plant-herbivore mutualism? *The American naturalist* **158**: 109–23.
- Didham RK, Ghazoul J, Stork NE, Davis AJ. 1996.** Insects in fragmented forests: A functional approach. *Trends in Ecology and Evolution* **11**: 255–260.
- Diehl P, Mazzarino MJ, Fontenla S. 2008.** Plant limiting nutrients in Andean-Patagonian woody species: Effects of interannual rainfall variation, soil fertility and mycorrhizal infection. *Forest Ecology and Management* **255**: 2973–2980.
- Diehl P, Mazzarino MJ, Funes F, Sonia F, Gobbi ME, Ferrari J. 2003.** Nutrient conservation strategies in native Andean-Patagonian forests. *Journal of Vegetation Science* **14**: 63–70.
- Dirzo R, Raven PH. 2003.** Global State of Biodiversity and Loss. *Annual Review of Environment and Resources* **28**: 137–167.
- Ebeling A, Meyer ST, Abbas M, Eisenhauer N, Hillebrand H, Lange M, Scherber C, Vogel A, Weigelt A, Weisser WW. 2014.** Plant Diversity Impacts Decomposition and Herbivory via Changes in Aboveground Arthropods. *PLoS ONE* **9**: 1–8.
- Edmonds RL, Erickson HE. 1994.** Influence of Mount St. Helens ash on litter decomposition. I. Pacific silver fir needle decomposition in the ash-fall zone. *Canadian Journal of Forest Research* **24**: 826–831.

- Elizalde L. 2014.** Volcanism and arthropods: a review. *Ecologia Austral* **24**: 3–16.
- Erickson HE, Edmonds RL. 1994.** Influence of Mount St. Helens ash on litter decomposition. II. Experimental studies with Douglas-fir needles. *Canadian Journal of Forest Research* **24**: 832–838.
- Ferraro DO, Oesterheld M. 2002.** Effect of defoliation on grass growth. A quantitative review. *Oikos* **98**: 125–133.
- Findlay S, Carreiro M, Krischik V, Jones C. 1996.** Effects of damage to living plants on leaf litter quality. *Ecological Applications* **6**: 269–275.
- Fogal WH, Slansky FJ. 1985.** Contribution of Feeding by European Pine Sawfly Larvae to Litter Production and Element Flux in Scot Pine Plantations. *Canadian Journal for Research* **15**: 484–487.
- Fonte SJ, Schowalter TD. 2004.** Decomposition of greenfall vs. senescent foliage in a tropical forest ecosystem in Puerto Rico. *Biotropica* **36**: 474–482.
- Fonte SJ, Schowalter TD. 2005.** The influence of a neotropical herbivore (*Lamponius portoricensis*) on nutrient cycling and soil processes. *Oecologia* **146**: 423–31.
- Forkner RE, Hunter MD. 2000.** What Goes up Must Come down? Nutrient Addition and Predation Pressure on Oak Herbivores. *Ecology* **81**: 1588.
- Frogner Kockum PC, Herbert RB, Gislason SR. 2006.** A diverse ecosystem response to volcanic aerosols. *Chemical Geology* **231**: 57–66.
- Frogner P, Reynir Gíslason S, Óskarsson N. 2001.** Fertilizing potential of volcanic ash in ocean surface water. *Geology* **29**: 487–490.
- Frost C, Hunter M. 2004.** Insect canopy herbivory and frass deposition affect soil nutrient dynamics and export in oak mesocosms. *Ecology* **85**: 3335–3347.
- Frost CJ, Hunter MD. 2008.** Insect herbivores and their frass affect *Quercus rubra* leaf quality and initial stages of subsequent litter decomposition. *Oikos* **117**: 13–22.
- Gaitán JJ, Ayesa J a, Umaña F, Raffo F, Bran DB. 2011.** *Cartografía del área afectada por cenizas volcánicas en las provincias de Río Negro y Neuquén*. San Carlos de Bariloche.
- García-Palacios P, Maestre FT, Kattge J, Wall DH. 2013.** Climate and litter quality differently modulate the effects of soil fauna on litter decomposition across biomes. *Ecology letters* **16**: 1045–53.

- Garibaldi LA, Kitzberger T, Noemí Mazía C, Chaneton EJ. 2010.** Nutrient supply and bird predation additively control insect herbivory and tree growth in two contrasting forest habitats. *Oikos* **119**: 337–349.
- Gartner TB, Cardon ZG. 2004.** Decomposition dynamics in mixed-species leaf litter. *Oikos* **104**: 230–246.
- González G, Seastedt T. 2001.** Soil fauna and plant litter decomposition in tropical and subalpine forests. *Ecology* **82**: 955–964.
- Grime J. 1998.** Benefits of plant diversity to ecosystems: immediate, filter and founder effects. *Journal of Ecology* **86**: 902–910.
- Hansen RA, Coleman DC. 1998.** Litter complexity and composition are determinants of the diversity and species composition of oribatid mites (Acari : Oribatida) in litterbags. *Applied Soil Ecology* **9**: 17–23.
- Harmon M, Nedelhoffer K, Blair J. 1999.** Measuring decomposition, nutrient turnover, and stores in plant litter. In: Robertson GP, Coleman DC, Bledsoe CS, Sollins P, eds. Standard soil methods for long term ecological research. Oxford: Oxford University Press, 202–240.
- Hättenschwiler S, Gasser P. 2005.** Soil animals alter plant litter diversity effects on decomposition. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **102**: 1519–1524.
- Hättenschwiler S, Tiunov A V., Scheu S. 2005.** Biodiversity and Litter Decomposition in Terrestrial Ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **36**: 191–218.
- Hector A, Beale AJ, Minns A, Otway SJ, Lawton JH. 2000.** Consequences of the reduction of plant diversity for litter decomposition: effects through litter quality and microenvironment. *Oikos* **90**: 357–371.
- Heneghan L, Coleman D, Zou X, Crossley DJ, Haines B. 1999.** Soil microarthropod contributions to decomposition dynamics: tropical-temperate comparisons of a single substrate. *Ecology* **80**: 1873–1882.
- Hunter MD. 2001.** Insect population dynamics meets ecosystem ecology: effects of herbivory on soil nutrient dynamics. *Agricultural and Forest Entomology* **3**: 77–84.
- Hunter MD, Linnen CR, Reynolds BC. 2003.** Effects of endemic densities of canopy herbivores on nutrient dynamics along a gradient in elevation in the southern Appalachians. *Pedobiologia* **47**: 231–244.
- Huston MA. 1997.** Hidden treatments in ecological experiments: re-evaluating the ecosystem function of biodiversity. *Oecologia* **110**: 449–460.

- Jolliffe P. 2000.** The replacement series. *Journal of Ecology* **88**: 371–385.
- Jones MT, Gislason SR. 2008.** Rapid releases of metal salts and nutrients following the deposition of volcanic ash into aqueous environments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **72**: 3661–3680.
- Kaiser C, Franklin O, Dieckmann U, Richter A. 2014.** Microbial community dynamics alleviate stoichiometric constraints during litter decay. *Ecology letters* **17**: 680–90.
- Kitzberger T. 2013.** Impact of extreme and infrequent events on terrestrial ecosystems and biodiversity. In: Levin S, ed. *Encyclopedia of Biodiversity*. Elsevier, 209–223.
- Kozlowski TT, Kramer PJ, Pallardy SG. 1991.** *The Physiological Ecology of Woody Plants*. Academic Press.
- Lavelle P, Blanchart E, Martin A, Martin S, Spain A. 1993.** A hierarchical model for decomposition in terrestrial ecosystems: application to soils of the humid tropics. *Biotropica* **25**: 130–150.
- Loreau M, Hector A. 2001.** Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. *Nature* **412**: 72–76.
- Loreau M, Naeem S, Inchausti P, Bengtsson J, Grime JP, Hector A, Hooper DU, Huston M a, Raffaelli D, Schmid B, et al. 2001.** Biodiversity and ecosystem functioning: current knowledge and future challenges. *Science* **294**: 804–8.
- Lovett GM, Ruesink AE. 1995.** Carbon and nitrogen mineralization from decomposing gypsy moth frass. *Oecologia* **104**: 133–138.
- Manzoni S, Taylor P, Richter A, Porporato A, Agre G. 2012.** Environmental and stoichiometric controls on microbial carbon-use efficiency in soils. *New Phytologist* **196**: 79–91.
- Manzoni S, Trofymow J, Jackson R, Porporato A. 2010.** Stoichiometric controls on carbon, nitrogen, and phosphorus dynamics in decomposing litter. *Ecological Monographs* **80**: 89–106.
- Maraun M, Schatz H, Scheu S. 2007.** Awesome or ordinary? Global diversity patterns of oribatid mites. *Ecography* **30**: 209–216.
- Marske KA, Ivie MA, Hilton GM. 2007.** Effects of Volcanic Ash on the Forest Canopy Insects of Montserrat, West Indies. *Community and Ecosystem Ecology* **36**: 817–825.

Mazía N, Chaneton EJ, Dellacanonica C, Dipaolo L, Kitzberger T. 2012. Seasonal patterns of herbivory, leaf traits and productivity consumption in dry and wet Patagonian forests. *Ecological Entomology* **37**: 193–203.

Mazía N, Chaneton EJ, Kitzberger T, Garibaldi L a. 2009. Variable strength of top-down effects in Nothofagus forests: bird predation and insect herbivory during an ENSO event. *Austral Ecology*: 1–9.

Mazía N, Kitzberger T, Chaneton EEJ. 2004. Interannual changes in folivory and bird insectivory along a natural productivity gradient in northern Patagonian forests. *Ecography* **27**: 29–40.

McNaughton S. 1983. Compensatory plant growth as a response to herbivory. *Oikos* **40**: 329–336.

Meentemeyer V. 1978. Macroclimate and lignin control of litter decomposition rates. *Ecology* **59**: 465–472.

Melillo J, Aber J, Muratore J. 1982. Nitrogen and lignin control of hardwood leaf litter decomposition dynamics. *Ecology* **63**: 621– 626.

Metcalfe DB, Asner GP, Martin RE, Silva Espejo JE, Huasco WH, Farfán Amézquita FF, Carranza-Jimenez L, Galiano Cabrera DF, Baca LD, Sinca F, et al. 2014. Herbivory makes major contributions to ecosystem carbon and nutrient cycling in tropical forests. *Ecology letters* **17**: 324–332.

Mooshammer M, Wanek W, Schneckner J, Wild B, Leitner S, Hofhansi F, Blöchl, Hammerle I, Frank A, Fuchslueger L, et al. 2012. Stoichiometric controls of nitrogen and phosphorus cycling in decomposing beech leaf litter. *Ecology* **93**: 770–782.

Naeem S. 2002. Ecosystem consequences of biodiversity loss: the evolution of a paradigm. *Ecology* **83**: 1537–1552.

Noss R. 1990. Indicators for Monitoring Biodiversity: A Hierarchical Approach. *Conservation biology* **4**: 355–364.

Oesterheld M, McNaughton SJ. 1988. Intraspecific variation in the response of *Themeda triandra* to defoliation: the effect of time of recovery and growth rates on compensatory growth. *Oecologia* **77**: 181–186.

Oesterheld M, McNaughton SJ. 1991. Effect of stress and time for recovery on the amount of compensatory growth after grazing. *Oecologia* **85**: 305–313.

R Core Team. 2013. R: A language and environment for statistical computing.

Reiss J, Bridle JR, Montoya JM, Woodward G. 2009. Emerging horizons in biodiversity and ecosystem functioning research. *Trends in ecology y evolution* **24**: 505–14.

Reynolds BC, Hunter MD. 2001. Responses of soil respiration, soil nutrients, and litter decomposition to inputs from canopy herbivores. *Soil Biology and Biochemistry* **33**: 1641–1652.

Reynolds B, Hunter M, Crossley Jr D. 2000. Effects of canopy herbivory on nutrient cycling in a northern hardwood forest in western North Carolina. *Selbyana* **21**: 74–78.

Reynolds B, Jr DC, Hunter M. 2003. Response of soil invertebrates to forest canopy inputs along a productivity gradient. *Pedobiologia* **47**: 127–139.

Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. 2012. InfoStat version 2012.

Ruel J, Whitham TG. 2002. Fast-growing juvenile pinyons suffer greater herbivory when mature. *Ecology* **83**: 2691–2699.

De Ruiter PC, Neutel a M, Moore JC. 1995. Energetics, patterns of interaction strengths, and stability in real ecosystems. *Science* **269**: 1257–60.

Satti P, Mazzarino MJ, Gobbi M, Funes F, Roselli L, Fernandez H. 2003. Soil N dynamics in relation to leaf litter quality and soil fertility in north-western Patagonian forests. *Journal of Ecology* **91**: 173–181.

Schowalter TD, Fonte SJ, Geaghan J, Wang J. 2011. Effect of manipulated herbivore inputs on nutrient flux and decomposition in a tropical rainforest in Puerto Rico. *Oecologia* **167**: 1141–1149.

Scott N a., Binkley D. 1997. Foliage litter quality and annual net N mineralization: comparison across North American forest sites. *Oecologia* **111**: 151–159.

Seastedt T. 1984. The Role of Microarthropods in Decomposition and Mineralization Processes. *Annual Review of Entomology* **29**: 25–46.

Semmartin M, Garibaldi L a., Chaneton EJ. 2007. Grazing history effects on above- and below-ground litter decomposition and nutrient cycling in two co-occurring grasses. *Plant and Soil* **303**: 177–189.

Semmartin M, Oesterheld M. 1996. Effect of grazing pattern on primary productivity. *Oikos* **75**: 431–436.

Seymour V, Hinckley T, Morikawa Y, Franklin J. 1983. Foliage damage in coniferous trees following volcanic ashfall from Mt. St. Helens. *Oecologia* **59**: 339–343.

- Spiller D, Agrawal A. 2003.** Intense disturbance enhances plant susceptibility to herbivory: natural and experimental evidence. *Ecology* **84**: 890–897.
- Srivastava DS, Cardinale BJ, Downing AL, Duffy JE, Jouseau C, Sankaran M, Wright JP. 2009.** Diversity has stronger top-down than bottom-up effects on decomposition. *Ecology* **90**: 1073–83.
- Statsoft I. 1997.** Statistica version 7.
- Swift M, Heal O, Anderson J. 1979.** *Decomposition in terrestrial ecosystems*. Berkeley: University of California Press.
- Thompson RM, Brose U, Dunne J a, Hall RO, Hladyz S, Kitching RL, Martinez ND, Rantala H, Romanuk TN, Stouffer DB, et al. 2012.** Food webs: reconciling the structure and function of biodiversity. *Trends in ecology y evolution* **27**: 689–97.
- Tilman D. 1997.** Distinguishing between the effects of species diversity and species composition. *Oikos* **80**: 185.
- Tilman D, Lehman C, Thomson K. 1997.** Plant diversity and ecosystem productivity: theoretical considerations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **94**: 1857–1861.
- Tilman D, Reich P, Knops J, Wedin D, Mielke T, Lehman C. 2001.** Diversity and productivity in a long-term grassland experiment. *Science* **294**: 843–845.
- Tilman D, Wedin D, Knops J. 1996.** Productivity and sustainability influenced by biodiversity in grassland ecosystems. *Nature* **379**: 718 – 720.
- Trotter RT, Cobb NS, Whitham TG. 2002.** Herbivory, plant resistance, and climate in the tree ring record: interactions distort climatic reconstructions. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **99**: 10197–10202.
- Turner MG, Dale VH, Everham EH. 1997.** Fires, hurricanes, and volcanoes: comparing large disturbances. *BioScience* **47**: 758–768.
- Uselman SM, Snyder KA, Blank RR. 2011.** Insect biological control accelerates leaf litter decomposition and alters short-term nutrient dynamics in a Tamarix-invaded riparian ecosystem. *Oikos* **120**: 409–417.
- Veblen T, Donoso C, Kitzberger T, Rebertus A. 1996.** Ecology of Southern Chilean and Argentinean Nothofagus forests. The ecology and biogeography of Nothofagus forests. In: Veblen T, Hill R, Read J, eds. The ecology and biogeography of Nothofagus forests. New Haven: Yale University Press, 293–353.

Vivanco L, Austin AT. 2006. Intrinsic effects of species on leaf litter and root decomposition: A comparison of temperate grasses from North and South America. *Oecologia* **150**: 97–107.

Vivanco L, Austin AT. 2008. Tree species identity alters forest litter decomposition through long-term plant and soil interactions in Patagonia, Argentina. *Journal of Ecology* **96**: 727–736.

Vivanco L, Austin AT. 2011. Nitrogen addition stimulates forest litter decomposition and disrupts species interactions in Patagonia, Argentina. *Global Change Biology* **17**: 1963–1974.

Vos VC, van Ruijven J, Berg MP, Peeters E, Berendse F. 2013. Leaf litter quality drives litter mixing effects through complementary resource use among detritivores. *Oecologia* **173**: 269–80.

Wardle DA. 1999. Is 'sampling effect' a problem for experiments investigating biodiversity-ecosystem function relationships? *Oikos* **87**: 403–407.

Wardle D, Bardgett R. 2004. Indirect effects of invertebrate herbivory on the decomposer subsystem. In: Weisser WW, Siemann E, eds. *Insects and Ecosystem Function*. Springer, 53–69.

Wardle D, Putten W Van der. 2002. Biodiversity, ecosystem functioning and above-ground-below-ground linkages. In: Loreau M, Naeem S, Inchausti P, eds. *Biodiversity and Ecosystem Functioning. Synthesis and Perspectives*. Oxford: Oxford University Press, 155–180.

Weiss MR. 2006. Defecation behavior and ecology of insects. *Annual review of entomology* **51**: 635–661.

White PS, Pickett STA. 1985. Natural Disturbance and Patch Dynamics: An Introduction. *The Ecology of Natural Disturbance and Patch Dynamics*. 472.

Wickings K, Grandy a S, Reed SC, Cleveland CC. 2012. The origin of litter chemical complexity during decomposition. *Ecology letters* **15**: 1180–8.

Wieder R, Lang G. 1982. A critique of the analytical methods used in examining decomposition data obtained from litter bags. *Ecology* **63**: 1636–1642.

Yang X, Chen J. 2009. Plant litter quality influences the contribution of soil fauna to litter decomposition in humid tropical forests, southwestern China. *Soil Biology and Biochemistry* **41**: 910–918.