



EVALUACIÓN DE UNA TÉCNICA DE PROTECCIÓN FÍSICA EN EL ÉXITO DE ESTABLECIMIENTO DE DOS ESPECIES LEÑOSAS NATIVAS EN ZONAS CON HORMIGAS CORTADORAS

EVALUATION OF A PHYSICAL PROTECTION TECHNIQUE IN THE ESTABLISHMENT SUCCESS OF TWO WOODY NATIVE SPECIES IN AREAS WITH LEAF CUTTER ANTS

Julian Arriaga^{1*}, Romina C. Torres^{1,2,3} y Daniel Renison^{1,2,3}

1. Centro de Ecología y Recursos Naturales Renovables Dr. Ricardo Luti. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Córdoba. Av. Vélez Sarsfield 1611, X5016GCA Córdoba, Argentina.
2. Instituto de Investigaciones Biológicas y Tecnológicas (CONICET - Universidad Nacional de Córdoba). Av. Vélez Sarsfield 1611, X5016GCA Córdoba, Argentina.
3. ONG Ecosistemas Argentinos. 27 de abril 2050, Córdoba, Argentina.

*arriagaj823@gmail.com

Citar este artículo

ARRIAGA, J., R. C. TORRES & D. RENISON. 2021. Evaluación de una técnica de protección física en el éxito de establecimiento de dos especies leñosas nativas de las Sierras de Córdoba (Argentina) en zonas con hormigas cortadoras. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 56: 187-199.

DOI: <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v56.n2.32100>

Recibido: 9 Feb 2021
Aceptado: 13 May 2021
Publicado en línea: 10 Jun 2021
Publicado impreso: 30 Jun 2021
Editor: Ramiro Aguilar

ISSN versión impresa 0373-580X
ISSN versión on-line 1851-2372

SUMMARY

Background and aims: The restoration of forests in areas degraded by anthropic activities is an important practice in the management of mountain systems. Much research is yet needed on methods to reduce effects of herbivores and harsh environments on the establishment of planted tree saplings. Here, we evaluate the effectiveness of a physical protection using polyvinyl chloride (PVC) cylinders in the plantation of two native tree species in the mountains of Central Argentina, in an area with the presence of leaf-cutting ants.

M&M: The study species were escallonia (*Escallonia cordobensis*) and maitén (*Maytenus boaria*). The plantation site was at 1840 m asl. We used 230 seedlings per species, 100 with and 130 without a PVC protection. Outplanting was performed during the wet season in areas with low vegetation. We measured height, survival and herbivory every six months for two years.

Results: For escallonia and maitén, respectively, physical protections increased biannual survival in 24 and 26%, increased height in 7.3 and 12.6 cm, and reduced herbivory by leaf-cutting ants in 30 and 51% as compared to non-protected saplings.

Conclusions: The favorable effects of PVC protections on survival and growth could be due to the decrease in herbivory caused by leaf-cutting ants and also due to the protection against harsh abiotic conditions. We advocate for longer term studies which also aim at understanding the mechanisms underlying the improvement in seedling establishment.

KEY WORDS

Acromyrmex lobicornis, Argentina, Córdoba, *Escallonia cordobensis*, *Maytenus boaria*, reforestation.

RESUMEN

Introducción y objetivos: La restauración de bosques en sitios degradados por actividades antrópicas es una actividad importante en el manejo de sistemas montañosos. Aún hace falta investigación tendiente a reducir el efecto de la herbivoría y de las condiciones ambientales hostiles sobre el establecimiento de plantines de árboles. Nos propusimos evaluar la efectividad de una protección física usando tubos de policloruro de vinilo (PVC) en la plantación de dos especies arbóreas nativas de las Sierras de Córdoba (Argentina) en un área con presencia de hormigas cortadoras.

M&M: Las especies de estudio fueron escallonia (*Escallonia cordobensis*) y maitén (*Maytenus boaria*). El área de plantación estuvo a 1840 m snm. Usamos 230 plantines por especie, 100 de ellos con y 130 sin protección de PVC. Fueron plantadas durante la estación húmeda en sitios con vegetación baja. Medimos semestralmente y por dos años la altura, la supervivencia y los daños por herbivoría.

Resultados: Para escallonia y maitén, respectivamente, la protección aumentó la supervivencia a los dos años en 24 y 26%, aumentó la altura en 7,3 y 12,6 cm, y redujo la herbivoría por hormigas cortadoras en 30 y 51% en comparación con los plantines sin protección.

Conclusiones: El efecto favorable de las protecciones en la supervivencia y crecimiento podría deberse conjuntamente a la disminución de la herbivoría por hormigas cortadoras y al resguardo contra las condiciones abióticas desfavorables. Recomendamos estudios de más años, y tendientes a entender los mecanismos que subyacen a la mejora en el establecimiento de los plantines.

PALABRAS CLAVE

Acromyrmex lobicornis, *Escallonia cordobensis*, *Maytenus boaria*, reforestación, Sierras de Córdoba.

INTRODUCCIÓN

Uno de los aspectos importantes para la restauración del bosque nativo es entender los efectos de la herbivoría sobre la regeneración de especies leñosas y cómo reducir los efectos negativos de la herbivoría en las especies de interés (Renison *et al.*, 2015). La herbivoría por vertebrados puede tener efectos negativos en el establecimiento de las especies leñosas reduciendo su crecimiento y supervivencia en estadios tempranos de desarrollo a través del ramoneo y pisoteo (Howe, 1990; Torres *et al.*, 2008, Renison *et al.*, 2015). También la herbivoría por invertebrados puede afectar el establecimiento de renovales de especies leñosas ya que, por ejemplo, se ha registrado que pequeños daños foliares pueden causar efectos considerables en la producción fotosintética (Zangerl *et al.*, 2002). A su vez, la existencia de selectividad en el consumo por parte de los herbívoros, tanto vertebrados como invertebrados, puede modificar la cobertura relativa de las especies en las comunidades vegetales (Hanley *et al.*, 1995; Howe, 2008) o afectar el reclutamiento de plantas, determinando la presencia o ausencia de distintas especies en micro-hábitats específicos (Green *et al.*, 1997; Rao *et al.*, 2001).

Uno de los grupos de herbívoros invertebrados de mayor relevancia ecológica en América del Sur son las hormigas cortadoras ya que pueden consumir y movilizar una gran cantidad de biomasa vegetal, comparable a la cantidad consumida por grandes herbívoros (Hölldobler & Wilson, 1990; Herrera & Pellmyr, 2009; Montoya-Lerma *et al.*, 2012). Estudios recientes en forestaciones de sauces (*Salix* spp.) y álamos (*Populus* spp.) mencionan daños por estas hormigas que alcanzan los 83 kg/ha de material vegetal seco recolectado (Jiménez, 2019). Varios estudios realizados en bosques y sabanas tropicales y subtropicales han encontrado mayor densidad relativa de hormigueros en bosques degradados o bordes de bosque que en bosques conservados (Farji-Brener, 2001; Wirth *et al.*, 2007; Siqueira *et al.*, 2017). En estos sistemas considerablemente intervenidos por la acción humana, la herbivoría por hormigas podría modificar las trayectorias sucesionales que

conducen al desarrollo de un bosque, sistema de referencia que usualmente se quiere alcanzar a través de las forestaciones con fines de restauración (Leal *et al.*, 2014), en especial si se tiene en cuenta que las hormigas prefieren renovales arbóreos antes que las especies vegetales herbáceas (Herrera & Pellmyr, 2009).

Estudios previos mencionan que la herbivoría por hormigas puede atenuarse plantando especies menos preferidas o que posean repelentes (Massad *et al.*, 2011). Otros métodos propuestos incluyen: la exclusión física de las hormigas, el control mecánico de los hormigueros, el control biológico mediante patógenos o predadores y el uso de productos químicos tanto insecticidas como fungicidas (Montoya-Correa *et al.*, 2007; Boulogne *et al.*, 2012; Montoya-Lerma *et al.*, 2012; Della Lucia *et al.*, 2013). Sin embargo, a la hora de seleccionar un método para mitigar el efecto de la herbivoría por hormigas en las plantaciones, es necesario evaluar tanto las ventajas como las desventajas de cada método. Respecto a la utilización de plantas repelentes o más palatables que las de interés para restaurar, si se utiliza una especie exótica con capacidad de repelencia o palatabilidad (Delabie *et al.*, 2003; Caffarini *et al.*, 2008), se correría el riesgo de generar una invasión (Mack *et al.*, 2000). Asimismo, no se ha encontrado información sobre características repelentes para hormigas cortadoras en especies vegetales nativas. En cuanto a la utilización de productos químicos, esto puede tener gran efectividad en el corto plazo, sin embargo, presenta desventajas por los daños ambientales que trae aparejados, como puede ser la mortalidad de especies que no son el objetivo de la aplicación (Della Lucia *et al.*, 2013). Con respecto a la exclusión de las hormigas mediante algún tipo de barrera o protección física, tiene la ventaja de no introducir químicos dañinos en el ambiente al mismo tiempo que solo se necesitan conocimientos básicos del comportamiento de las hormigas, lo que puede hacer más sencilla su utilización (Jaacks, 2017). Varios métodos utilizados como barreras a las hormigas, como la colocación de grasa y sustancias pegajosas, tienen la desventaja que son de duración limitada y deben renovarse luego de lluvias o cuando se saturan (Montoya-Lerma *et al.*, 2012). En un estudio

previo en las Sierras de Córdoba se evaluó una técnica de protección física individual usando tubos de policloruro de vinilo (PVC) en plantaciones de *Polylepis australis* mostrando la potencialidad de ser efectiva para disuadir el ataque por hormigas cortadoras. Además, la técnica empleada tiene la ventaja de ser económica, durable, de bajo mantenimiento y ambientalmente segura (Jaacks, 2017).

Es de esperarse que técnicas como la protección física individual mediante tubos de PVC introduzca cambios micro-ambientales en el entorno del plantín. Algunos de estos cambios podrían ser, la menor incidencia del viento e insolación, la mayor retención de agua y temperatura alrededor del plantín. Se conoce que estas condiciones más favorables de micrositio pueden ser determinantes para el desempeño de los plantines (Schönbeck *et al.*, 2015; Loranger *et al.*, 2017; Sparacino *et al.*, 2020). En sistemas en restauración similares a los del presente trabajo, aun sin presencia de hormigas cortadoras, se ha observado que las protecciones plásticas alrededor de plantines de *Polylepis australis* resultan beneficiosas para su establecimiento al protegerlos de los fuertes vientos presentes en la zona (Renison *et al.*, 2002; Sparacino *et al.*, 2020). En lo que respecta a las especies de interés para el presente trabajo, no se ha encontrado mayor información respecto a las condiciones óptimas de crecimiento para escallonia (*Escallonia cordobensis*), mientras que para maitén (*Maytenus boaria*) se menciona la posibilidad de que requiera protección por parte de la vegetación circundante para poder tolerar las condiciones abióticas desfavorables del área (Marro *et al.*, 2017).

En este trabajo nos propusimos evaluar el efecto de una técnica de protección física (tubos de PVC) en el desempeño del establecimiento de plantines de maitén y escallonia plantados con fines de restauración en un sitio con presencia de hormigas cortadoras. Específicamente, comparamos la supervivencia, el crecimiento y el daño de la herbivoría por hormigas, sobre plantines con y sin protecciones físicas. Consideramos que la información autoecológica de las especies *E. cordobensis* y *M. boaria* es demasiado limitada como para aventurar sobre ellas una extrapolación de las conclusiones

obtenidas en *Polylepis australis* (Jaacks, 2017). Además, no hemos encontrado estudios similares en ninguna otra especie. Debido a que las tres especies antes mencionadas (*E. cordobensis*, *M. boaria* y *P. australis*) son las más usadas en restauración de bosque en las Sierras Grandes de Córdoba, es de vital importancia optimizar sus técnicas de plantado y aumentar así la probabilidad de establecimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El estudio se realizó en las Sierras de Córdoba, en el centro de Argentina (31°34'0''S; 64°50'0''O; 500–2800 m). La temperatura media es de 11.2°C a 1800 msnm, existiendo temperaturas inferiores a 0°C durante todo el año (Marcora *et al.*, 2008). La precipitación media anual fue de 900 mm en el período 1992–2010. La temporada seca y fría dura de mayo a septiembre y el 83% de la lluvia se concentra en los meses más cálidos entre octubre y abril (Colladon *et al.*, 2010). Los suelos se derivan principalmente de la meteorización del sustrato de granito y depósitos eólicos de textura fina (Cabido *et al.*, 1987).

La vegetación está constituida por un mosaico de pastizales, céspedes de pastoreo, bosques de *Polylepis australis* (donde se encuentran las especies leñosas de interés para el trabajo), afloramientos de granito y áreas erosionadas con superficies rocosas expuestas (Funes & Cabido, 1995; Cingolani *et al.*, 2003). La ganadería es la principal actividad económica de la zona, comenzó a principios del siglo XVII y reemplazó a los grandes herbívoros nativos a principios del siglo XX (Díaz *et al.*, 1994).

Las plantaciones experimentales se realizaron en Los Gigantes, en un área de 19 ha (31°23'12.79''S; 64°47'56.20''O) donde el ganado fue excluido en el año 2016. Esta área presenta una combinación de pastizales y afloramientos rocosos, en una altitud de 1840 msnm. Se estimó una densidad de hormigueros superior a 2 hormigueros/ha, densidad mayor a la estimada en el Parque Nacional Quebrada del Condorito de 0,66 hormigueros/ha (Renison, datos no publicados). La única especie de hormiga

cortadora que detectamos en el área de estudio fue *Acromyrmex lobicornis* EMERY (1888) que tiene una distribución nativa Neotropical, incluyendo a Bolivia, Brasil, Paraguay, Uruguay y Argentina donde es la especie más abundante en zonas semiáridas (https://www.antwiki.org/wiki/Acromyrmex_lobicornis, consulted April 2020).

Especies seleccionadas

La escallonia, *Escallonia cordobensis* (Kuntze) Hosseus (Escalloniaceae), es un arbusto o árbol pequeño, con múltiples fustes, de 1,5-3 m de altura, aunque puede alcanzar una altura de hasta 8 m (Renison observ. pers.). Esta especie es endémica de las Sierras Grandes, Sierras de los Comechingones y Sierras de San Luis, en las provincias de Córdoba y San Luis (Argentina). Crece en riberas de arroyos sobre suelos pedregosos, muchas veces asociados a los bosques de *Polylepis*. Se caracteriza por poseer tallos jóvenes densamente foliados, corteza gris claro a la base (Sede & Denham, 2018).

El maitén, *Maytenus boaria* Molina (Celastraceae), es un árbol de alrededor de 8 m de altura, presente en los Andes de Argentina y Chile desde Tierra del Fuego/región Magallánica hasta la provincia de Mendoza/región de Atacama, en las sierras de San Luis y Córdoba; y en Brasil en las sierras de Río Grande Do Sul. Presenta reproducción por semillas, dispersadas por aves en los meses de verano (Demaio *et al.*, 2015), además de reproducción vegetativa por raíz (Renison observ. pers.). Experimentos realizados en el centro de Argentina mostraron los mejores rendimientos de los plantines a campo entre los 1500 y 1800 msnm y en sitios sin ganadería (Marcora *et al.*, 2013).

Diseño experimental

Los plantines de maitén y escallonia fueron producidos en un vivero de la localidad de Cuesta Blanca (64° 34' 46"O; 31° 28' 56"S) a partir de semillas recolectadas a 15 km o menos del área de plantación. Los plantines al momento del plantado tuvieron una edad aproximada de 18 meses y una altura promedio de 19 cm en maitén y de 34 cm en escallonia.

Se plantaron un total de 230 plantines de cada especie, en micrositos con vegetación baja

(menor a 20 cm) y con una separación entre plantines de al menos 3 m. La plantación se hizo en enero de 2018, en hoyos de aproximadamente 35 cm de profundidad y 20 cm de diámetro cavados manualmente con pala, y los plantines se regaron por única vez en el momento de la plantación con 5 l de agua. A un total de 100 plantines por especie seleccionados al azar, se les colocó una protección física y a 130 se los dejó sin protección. La razón para dejar un mayor número de plantines en el tratamiento control sin protección es que en experiencias previas este tratamiento tuvo una alta mortalidad (Jaacks, 2017) y es necesario tener un número inicial mayor para así poder tener suficientes plantines vivos para analizar el crecimiento.

La protección física consistió en un tubo de polivinilo de cloruro (PVC) colocado alrededor de cada plantín, como en Jaacks (2017). Las características de dichos tubos son: color blanco (impide el paso de la luz), 16 cm de diámetro y 30 cm de alto, siendo previsto que al momento de la plantación se los entierre en 5 o 7 cm, quedando así una barrera física y visual de entre 20 a 25 cm de altura.

El monitoreo de los plantines se realizó cada 6 meses durante un periodo de 24 meses, teniéndose al final del experimento cuatro mediciones además de las condiciones iniciales. Para la elección de la cantidad y tiempo entre los monitoreos se tuvo en cuenta el trabajo previo de Jaacks (2017). Para evaluar el desempeño en el establecimiento, se registró la supervivencia y la altura de los plantines. Además, se registró la existencia de daño o corte en los plantines, diferenciando los daños ocasionados por hormigas de aquellos ocasionados por otros herbívoros mediante las características de los cortes que realizan los distintos herbívoros. Para el caso de las hormigas es común la defoliación total de los plantines dejando parte del tallo sin cortar, y cuando la defoliación no es total dejan cortes en forma de semicírculo (Bollazzi Sosa, 2014). A su vez, se tuvieron en cuenta las características de los cortes realizados por roedores y ungulados (descriptas en Schaller 2000) para distinguirlos de la realizadas por invertebrados. Se estimó el porcentaje del plantín que se encontraba defoliado. Como se observó que usualmente cuando las hormigas atacaban

un plantín lo defoliaban en su totalidad (100%), y con el objetivo de simplificar el análisis de los datos, se transformó la respuesta de esta variable a presencia/ausencia de herbivoría por hormigas.

Análisis de datos

Los datos se analizaron, por separado para cada especie, empleando Modelos Lineales Generalizados (MLG) usando el programa Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2017). Las variables de respuestas fueron la supervivencia y herbivoría por hormigas (presencia/ausencia) a los dos años de la plantación con asunción de distribución binomial y función de enlace logística, la altura final y el crecimiento total (altura final – altura inicial), con asunción de distribución normal y función de enlace identidad. Como variable predictora se incluyó el tratamiento de protección (con y sin protección). Además, para los plantines del tratamiento “sin protección”, se analizó la supervivencia final a dos años del plantado (con asunción de distribución binomial) en función de la herbivoría por hormigas (con y sin signos de daño por hormigas durante el primer año). Se comprobaron los supuestos de normalidad y homocedasticidad para todos los análisis con variables de asunción de distribución normal.

RESULTADOS

A los dos años de plantados, la supervivencia de escallonia con y sin protección fue de 85% y 61%, respectivamente, por lo que la protección aumentó la supervivencia en un 24% (MLG: $c2 = 15,2$, $GL = 1$, $P < 0,0001$; Fig. 1). Mientras que la supervivencia de maitén con y sin protección fue de 95% y 69%, respectivamente, por lo que en este caso la protección aumentó la supervivencia en un 26% (MLG: $c2 = 18,5$, $GL = 1$, $P < 0,0001$; Fig. 1).

Para los plantines de escallonia, la altura promedio al final del experimento fue menor que al inicio del experimento. A los dos años de plantados, las escallonias con y sin protección, disminuyeron su altura 15 cm y 20 cm, respectivamente (MLG: $c2 = 5,2$, $GL = 1$, $P = 0,022$; Fig. 2A), con una altura final de $19,8 \pm 1,5$ cm ($N = 85$) y $12,5 \pm 1,2$ cm ($N = 79$), respectivamente (MLG: $c2 = 14,0$, $GL = 1$, $P < 0,0001$; Fig. 2B). Por su parte, a los dos años de plantados, los maitenes con protección aumentaron en promedio 6 cm de altura, mientras que sin protección disminuyeron en promedio 8 cm (MLG: $c2 = 76,5$, $GL = 1$, $P < 0,0001$; Fig. 2C), con una altura final de $24,0 \pm 1,4$ cm ($N = 95$) y $11,4 \pm 0,9$ cm ($N = 90$), respectivamente (MLG: $c2 = 58,1$, $GL = 1$, $P < 0,0001$; Fig. 2D).

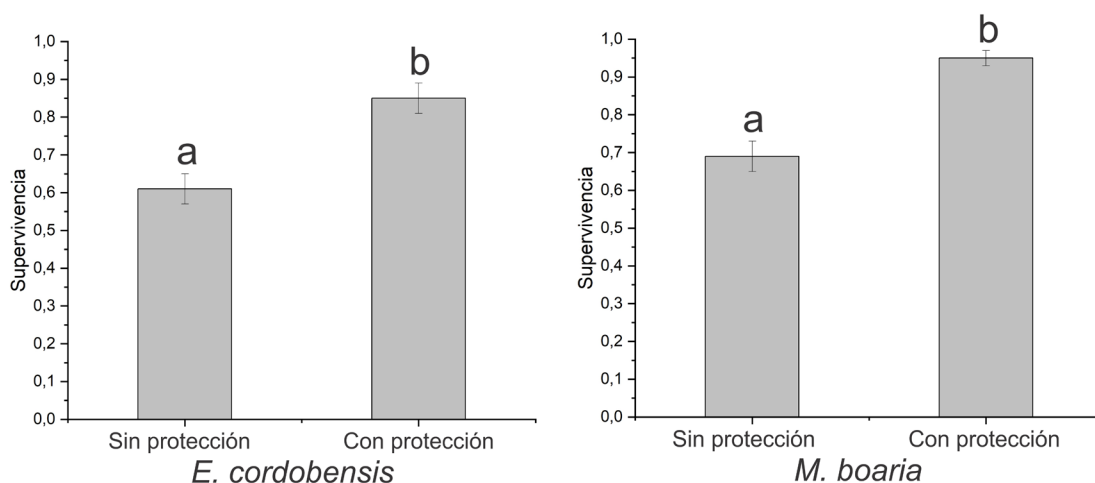


Fig. 1. Proporción de plantines vivos (supervivencia) en tratamientos con y sin protección para *Escallonia cordobensis* y *Maytenus boaria*, a los dos años de plantados. Las distintas letras indican diferencias significativas ($P < 0,05$). Las barras sobre las columnas indican error estándar.

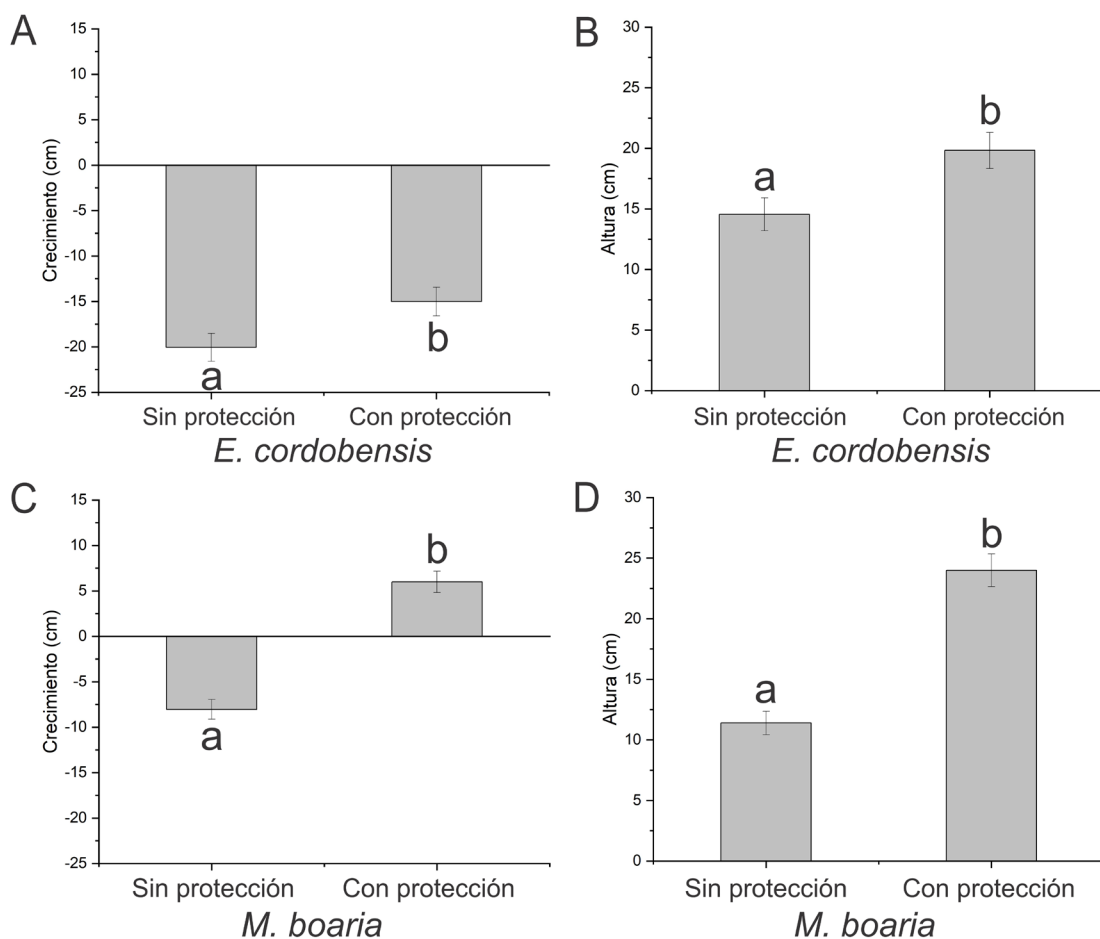


Fig. 2. Crecimiento (cm) y altura media (cm) en tratamientos con y sin protección para *Escallonia cordobensis* (A, B) y *Maytenus boaria* (C, D) a los dos años de plantados. Las distintas letras indican diferencias significativas ($P < 0,05$). Las barras sobre las columnas indican error estándar.

Al finalizar el experimento, el 42% del total de los plantines presentaron al menos una vez alguna clase de herbivoría, correspondiendo el 35% a herbivoría por hormigas cortadoras y el 7% restante a otros insectos o liebres. En las escallonias con y sin protección la proporción de plantines que sufrieron al menos un evento de herbivoría por hormigas fue de 21% y 51%, respectivamente (MLG: $c_2 = 25,7$, GL = 1, $P < 0,0001$; Fig. 3A), mientras que en los maitenes con y sin protección las cifras fueron de 4% y 55%, respectivamente (MLG: $c_2 = 38,8$, GL = 1, $P < 0,0001$; Fig. 3B). La herbivoría

por hormigas cortadoras varió a lo largo del tiempo, observándose mayor herbivoría en los registros de marzo y septiembre del primer año del experimento, siendo siempre mayor en los plantines sin protección (Fig. 3C).

En cuanto a la supervivencia de escallonia en función de la herbivoría por hormigas en plantines sin protección, la supervivencia a los dos años fue de 41% y 75% para los plantines con y sin signos de daño por hormigas durante el primer año, respectivamente. Así, la herbivoría por hormigas durante el primer año disminuyó la supervivencia a dos años en un 34% (MLG:

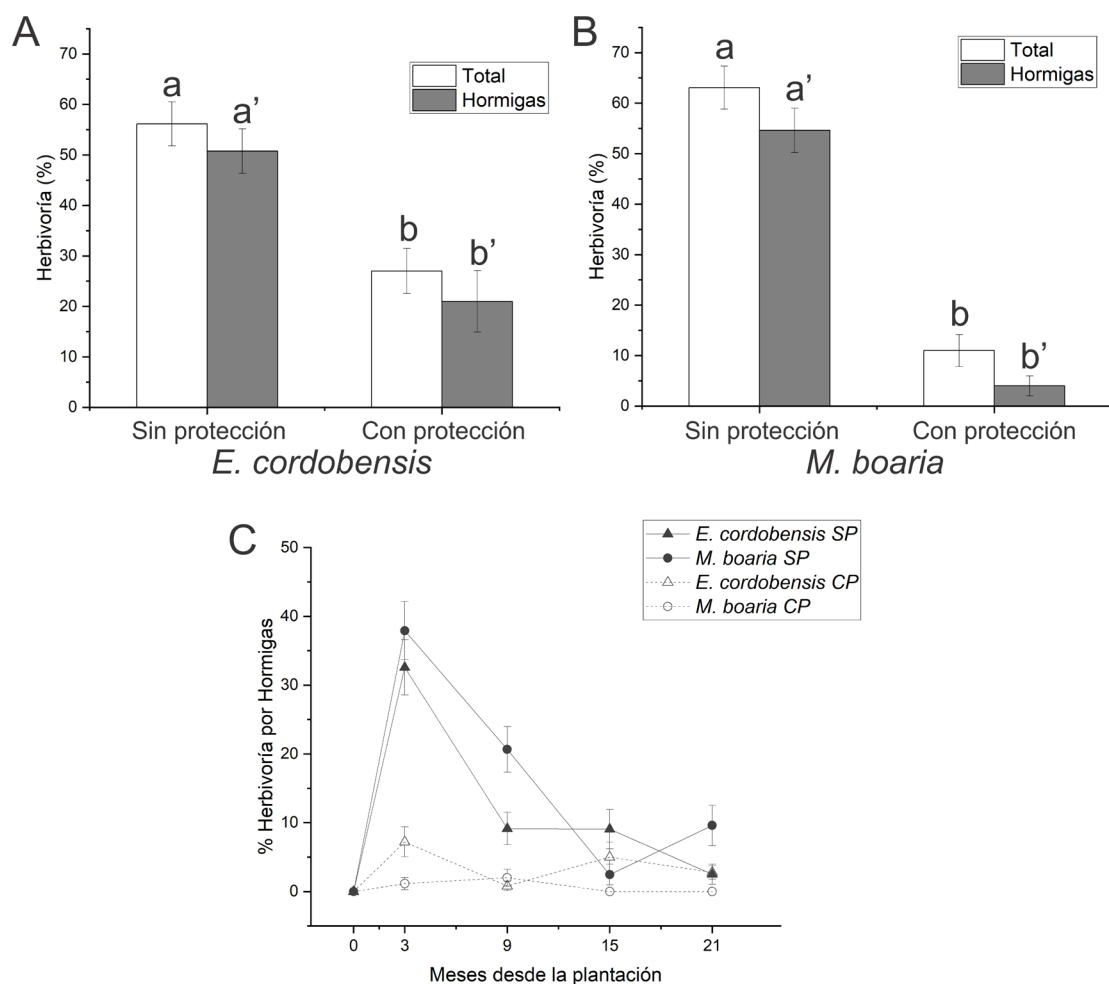


Fig. 3. Proporción de plantines en los que se registró herbivoría para **A:** escallonia (*Escallonia cordobensis*) y **B:** maitén (*Maytenus boaria*). Las columnas blancas representan la proporción de plantines que presentaron herbivoría de cualquier tipo (total) y las columnas grises representan la proporción de plantines que presentaron herbivoría por hormigas cortadoras. Las letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0,05$) dentro del tipo de herbivoría considerados. Las barras sobre las columnas indican error estándar. **C:** Proporción de plantines que registraron herbivoría por hormigas cortadoras en función del tiempo después de la plantación. Líneas cortadas y símbolos vacíos representan los plantines con protección (CP). Líneas enteras y símbolos rellenos representan los plantines sin protección (SP). Símbolos triangulares representan los plantines de *E. cordobensis*. Símbolos circulares representan plantines de *M. boaria*. Las barras sobre los símbolos indican error estándar.

$c^2 = 23,9$, $GL = 1$, $P < 0,0001$; Fig. 4). Para maitén, la supervivencia a los dos años fue de 51% y 87% en plantines con y sin signos de daño por hormigas durante el primer año, respectivamente. Así, la herbivoría por hormiga durante el primer año redujo la supervivencia a

dos años en un 36% (MLG: $c^2 = 35,5$, $GL = 1$, $P < 0,0001$; Fig. 4). No se realizó este mismo análisis para los plantines con protección debido a que en estos plantines se registró muy poca herbivoría por hormigas durante el primer año (8 plantines de escallonia y 4 de maitén).

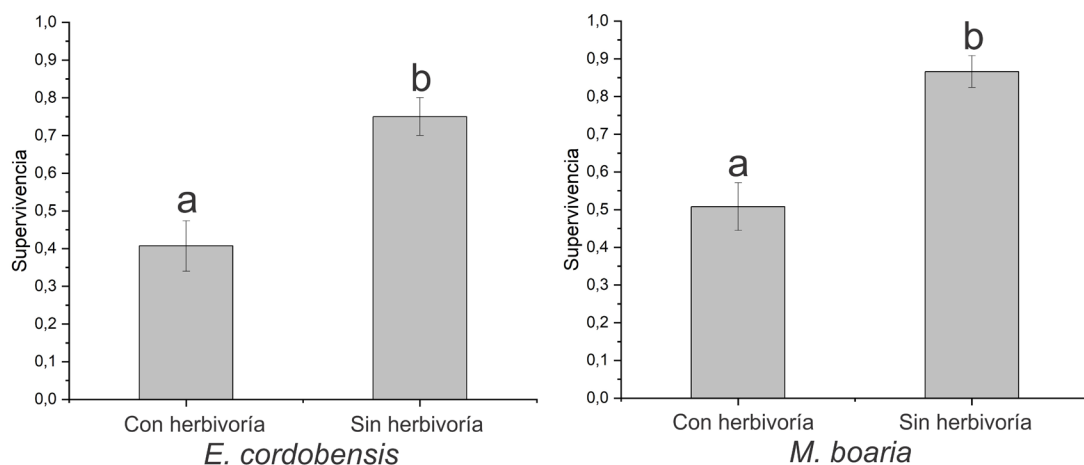


Fig. 4. Proporción de plantines vivos (supervivencia) en condiciones con o sin presencia de herbivoría por hormigas durante el primer año desde la plantación, para *Escallonia cordobensis* y *Maytenus boaria*, a los dos años de plantados. Las distintas letras indican diferencias significativas ($P < 0,05$). Las barras sobre las columnas indican error estándar.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Nuestros resultados muestran una mayor supervivencia y crecimiento para los plantines con protección de escallonia y maitén (*E. cordobensis* y *M. boaria*), en concordancia con el trabajo previo con la especie *Polylepis australis* (Jaacks, 2017). El menor daño por hormigas registrado parece explicar en gran parte la mejora en el desempeño de los plantines con protección, aunque otros factores, como las modificaciones micro-ambientales que posiblemente introducen las protecciones, también podrían influir en este resultado.

Según estudios en medianos y grandes herbívoros, los sistemas de montaña pueden ser altamente susceptibles al efecto que genera la herbivoría sobre la estructura de la vegetación (Hofgaard *et al.*, 2010; Speed *et al.*, 2011). En particular en las Sierras de Córdoba se reconoce un fuerte efecto de simplificación de los bosques de *P. australis* por parte de la herbivoría por ganado doméstico (Cingolani *et al.*, 2003, 2008; Renison *et al.*, 2011, 2015), pero poco se sabe del efecto de la herbivoría por invertebrados, y en particular por hormigas, en estos sistemas. Aún se necesitan más estudios para entender en profundidad los mecanismos que subyacen el efecto positivo de las protecciones físicas en el desempeño de los plantines. Sin

embargo, los resultados aquí obtenidos muestran que, al menos en algunos sitios degradados, la herbivoría por hormigas puede condicionar el éxito de las plantaciones y del establecimiento natural de leñosas, como sucede con el ganado doméstico.

El efecto de la herbivoría por hormigas en áreas en proceso de restauración ha sido observado en varias regiones del neotrópico, ya que por ejemplo, las hormigas suelen predar o remover las semillas introducidas o bien atacar las hojas nuevas de plantas jóvenes (Majer *et al.*, 2007). Diversos estudios ilustran los severos daños que las hormigas cortadoras generan tanto en plantaciones forestales con fines productivos (Pérez *et al.*, 2011; Nickele *et al.*, 2012; Zanetti *et al.*, 2014), como también en reforestaciones con plantas nativas (Garen *et al.*, 2009; Perin & Guimarães, 2012). Estos daños se concentran en los primeros años de regeneración del bosque (Vasconcelos & Cherrett, 1997). A su vez, existe una preferencia de las hormigas cortadoras por bosques degradados o bordes de bosques (Farji-Brener, 2001; Wirth *et al.*, 2007; Meyer, 2008; Barrera *et al.*, 2015; Siqueira *et al.*, 2017; Amaya-Hernández *et al.*, 2019), condición que caracteriza las etapas iniciales de los sitios de restauración de las Sierras de Córdoba.

En concordancia con nuestros resultados, experiencias previas de exclusión de hormigas

cortadoras a través de una barrera física, han mostrado un aumento en la supervivencia y una disminución de la herbivoría por hormigas en los plantines protegidos (Vasconcelos & Cherrett, 1997; Pérez *et al.*, 2011; Jaacks, 2017). Los antecedentes mencionados y los resultados del presente trabajo refuerzan la idea de que, al menos parcialmente, la mayor supervivencia presentada por los plantines con protección se debe a una menor frecuencia de herbivoría por hormigas cortadoras. Considerando la limitada información disponible sobre la autoecología de las especies estudiadas, *escallonia* y *maitén*, el presente trabajo aportó evidencia sobre la susceptibilidad que presentan ambas especies a la herbivoría por hormigas.

La diferencia de crecimiento entre los plantines con y sin protección puede también verse explicada por el resguardo contra condiciones climáticas extremas (frío y viento) que generaron las protecciones. En otras especies las heladas causan la muerte de la parte alta de los plantines y generan una disminución en la altura promedio (Torres & Renison, 2015; Verzino *et al.*, 2004; Körner & Paulsen, 2004; Marcora *et al.*, 2013). Apoyando una hipótesis de disminución de altura por heladas en el presente estudio, se observó en las mediciones posteriores al invierno que algunos plantines se encontraban secos en la porción de la planta que quedaba por fuera de la protección y que por dentro de las mismas presentaban sus hojas en buen estado de salud (observ. pers.). También se ha observado en experimentos con *P. australis*, que las protecciones plásticas aumentaron el crecimiento de los plantines, aunque no la supervivencia, aparentemente por generar una protección contra el viento (Renison *et al.*, 2002; Sparacino *et al.*, 2020). No contar con valores de alguna de las variables ambientales dentro y fuera de las protecciones fue una limitación del presente trabajo. Lo cual impidió profundizar en los mecanismos mediante los cuales las protecciones estarían aumentando el desempeño en el establecimiento.

Es notable el mayor crecimiento del *maitén* (*M. boaria*) plantado con protección, en comparación con los plantados sin protección (Fig. 2C) y en comparación con el crecimiento reportado en los estudios previos hechos en la zona (Marcora *et al.*, 2013; Marro *et al.*, 2017). Esta diferencia en el crecimiento parece deberse al resguardo generado por las protecciones contra las condiciones

ambientales desfavorables que prevalecen en la zona. Experiencias previas con *maitén* registran crecimiento recién a partir del quinto año desde la plantación, hipotetizándose que transcurrido ese tiempo la vegetación circundante podría estar facilitando el crecimiento por un efecto nodriza (Marro *et al.*, 2017). Esta explicación hipotética también se apoya en el hecho de que en el centro de Argentina el *maitén* a menudo sólo se encuentra en bosques maduros (Renison *et al.*, 2011). En el presente trabajo, el crecimiento positivo del *maitén* en los primeros dos años desde la plantación parece asociarse a que las protecciones generan un resguardo contra condiciones abióticas hostiles, similar al que posibilita la vegetación circundante, en plazos temporales más amplios o en bosques conservados.

Costos y beneficios del uso de protecciones y sus implicancias para la reforestación

Las protecciones físicas aumentaron el desempeño en el establecimiento de los plantines de *escallonia* y *maitén*. Sin embargo, la utilización de las protecciones aumentó el costo de plantación de USD\$ 0,8 (Renison, comunicación personal) a USD\$ 3,0 por plantín, sin considerar la planificación que debe realizarse a medio o largo plazo respecto de los residuos que generan las protecciones cuando ya no son utilizables. Ponderando la altura de los plantines, su supervivencia y el costo como en Jaacks (2017) se obtiene que la eficiencia de plantación luego de dos años fue un 46% mejor sin protección. Si bien la diferencia monetaria no parece justificar la colocación de protecciones y las consecuentes mejoras en el desempeño de los plantines, antes de descartar la técnica completamente deberían evaluarse posibles mejoras. Por ejemplo, la reutilización de las protecciones en futuras plantaciones podría disminuir costos, además de considerarse que su rédito podría ser mayor a más años y que en sitios degradados a ciertas altitudes estas protecciones podrían ser la única forma de garantizar el éxito de la reforestación. En lo que respecta particularmente al daño por hormigas cortadoras, podría evaluarse la utilización simultánea de otras técnicas de bajo costo, como la plantación adjunta de plantas repelentes o más palatables también nativas de la zona, o la destrucción mecánica de los hormigueros con el fin de reducir la herbivoría.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

JA y DR concibieron la idea. JA y DR concretaron el experimento a campo. JA realizó los monitoreos. JA, DR y RT analizaron los datos. JA elaboró el manuscrito. Todos los autores discutieron los resultados e hicieron comentarios sobre el manuscrito.

AGRADECIMIENTOS

A Ronaldo H. Renison por ayudar tanto en la producción de los arbolitos. Deutsche Forschungsgemeinschaft Grant (DFG-Alemania) y Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET-Argentina) proveyeron los fondos. La Familia Ruiz Moreno nos permitió realizar este estudio en su campo y nos brindó alojamiento. Julio Domínguez facilitó los contactos, construyó los alambrados y ayudó en las plantaciones. Numerosos voluntarios ayudaron durante las plantaciones. Dos revisores anónimos y el editor a cargo mejoraron sustancialmente la redacción del manuscrito.

BIBLIOGRAFÍA

- AMAYA-HERNÁNDEZ, L. M., Y. A. MERA-VELASCO, M. C. GALLEGO-ROPERO, J. MONTOYA-LERMA & I. ARMBRECHT. 2019. Herbivoría de *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Formicidae) en parches de bosque seco tropical del sur-occidente colombiano. *Bol. Cient. Mus. Hist. Nat. U. de Caldas*, 23: 171-189.
<http://dx.doi.org/10.17151/bccm.2019.23.2.9>
- BARRERA, C. A., L. M. BUFFA & G. VALLADARES. 2015. Do leaf-cutting ants benefit from forest fragmentation? Insights from community and species-specific responses in a fragmented dry forest. *Insect Conserv. Divers.* 8: 456-463.
<https://doi.org/10.1111/icad.12125>
- BOLLAZZI SOSA, M. 2014. *Hormigas cortadoras de hojas Acromyrmex spp. Reconocimiento a campo de plagas y enfermedades forestales*. INIA, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Uruguay. Cartilla n° 36.
- BOULOGNE, I., P. PETIT, H. OZIER-LAFONTAINE, L. DESFONTAINES & G. LORANGER-MERCIRIS. 2012. Insecticidal and antifungal chemicals produced by plants: a review. *Environ. Chem. Lett.* 10: 325-347.
<https://doi.org/10.1007/s10311-012-0359-1>
- CABIDO, M., R. BREIMER & G. VEGA. 1987. Plant communities and associated soil types in a high plateau of the Córdoba mountains, central Argentina. *Mt. Res. Dev.* 7: 25-42.
<https://doi.org/10.2307/3673322>
- CAFFARINI, P., P. CARRIZO, A. PELICANO, P. ROGGERO, & J. PACHECO. 2008. Efectos de extractos acetónicos y acuosos de *Ricinus communis* (ricino), *Melia azedarach* (paraíso) y *Trichillia glauca* (trichillia), sobre la hormiga negra común (*Acromyrmex lundii*). *Idesia (Arica)* 26: 59-64.
<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292008000100008>
- CINGOLANI, A. M., M. R. CABIDO, D. RENISON & V. SOLÍS NEFFA. 2003. Combined effects of environment and grazing on vegetation structure in Argentine granite grasslands. *J. Veg. Sci.* 14: 223-232.
<https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2003.tb02147.x>
- CINGOLANI, A. M., D. RENISON, P. A. TECCO, D. E. GURVICH & M. CABIDO. 2008. Predicting cover types in a mountain range with long evolutionary grazing history: a GIS approach. *J. Biogeogr.* 35: 538-551.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2007.01807.x>
- COLLADON, L., G. FELICI & I. PAZOS. 2010. Anuario pluviométrico 205/ 06 2009/10 de la Cuenca del Río San Antonio. [online]. Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/ina> [Acceso: 20 Marzo 2021].
- DELABIE, J. H. C., M. OSPINA & G. ZABALA. 2003. Relaciones entre hormigas y plantas: una introducción. En: FERNANDEZ F. (ed.) *Introducción a las Hormigas de la Región Neotropical*, pp 167-180. Instituto de investigación de recursos biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá.
- DELLA LUCIA, T. M., L. C. GANDRA & R. N. GUEDES. 2013. Managing leaf-cutting ants: peculiarities, trends and challenges. *Pest Manag. Sci.* 70: 14-23. <https://doi.org/10.1002/ps.3660>
- DEMAIO, P. H., M. MEDINA y U. KARLIN. 2015. *Árboles Nativos De Argentina. Tomo 1: Centro y Cuyo*. Ecoval Editorial, Córdoba.
- DÍAZ, S., A. ACOSTA & M. CABIDO. 1994. Community structure in montane grasslands of central Argentina in relation to land use. *Appl. Veg. Sci.* 5: 483-488.
<https://doi.org/10.2307/3235974>
- DI RIENZO, J. A., MACCHIAVELLI, R. & CASANOVES, F. 2017. Modelos lineales

- generalizados mixtos aplicaciones en InfoStat. Grupo Infostat, Córdoba, Argentina [online]. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Fernando_Casanoves/publication [Acceso: 7 Febrero 2021].
- FARJI-BRENER, A. G. 2001. Why are leaf-cutting ants more common in early secondary forests than in old-growth tropical forests? An evaluation of the palatable forage hypothesis. *Oikos* 92: 169-177. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2001.920120.x>
- FUNES, G. & M. CABIDO. 1995. Variabilidad local y regional de la vegetación rupícola de las Sierras Grandes de Córdoba, Argentina. *Kurtziana* 24: 173-173.
- GAREN, E. J., K. SALTONSTALL, J. L. SLUSSER, S. MATHIAS, M. S. ASHTON & J. S. HALL. 2009. An evaluation of farmers' experiences planting native trees in rural Panama: implications for reforestation with native species in agricultural landscapes. *Agrofor. Syst.* 76: 219-236. <https://doi.org/10.1007/s10457-009-9203-4>
- GREEN, P. T., D. J. O'DOWD & P. S. LAKE. 1997. Control of seedling recruitment by land crabs in rain forest on a remote oceanic island. *Ecology* 78: 2474-2486. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(1997\)078\[2474:COSRBL\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(1997)078[2474:COSRBL]2.0.CO;2)
- HANLEY, M. E., M. FENNER & P. J. EDWARDS. 1995. An experimental field study of the effects of mollusc grazing on seedling recruitment and survival in grassland. *J. Ecol.* 83: 621-627. <https://doi.org/10.2307/2261630>
- HERRERA, C. M. & O. PELLMYR. (Eds.). 2009. *Plant animal interactions: an evolutionary approach*. John Wiley & Sons.
- HOFGAARD, A., J. O. LØKKEN, L. DALEN & H. HYTTBORN. 2010. Comparing warming and grazing effects on birch growth in an alpine environment—a 10-year experiment. *Plant Ecol. Divers.* 3: 19-27. <https://doi.org/10.1080/17550871003717016>
- HÖLLDOBLER, B. & E. O. WILSON. 1990. *The ants*. Harvard University Press.
- HOWE, H. F. 1990. Survival and growth of juvenile *Virola surinamensis* in Panama: effects of herbivory and canopy closure. *J. Trop. Ecol.* 6 : 259-280. <https://www.jstor.org/stable/2559826>
- HOWE, H. F. 2008. Reversal of fortune: plant suppression and recovery after vole herbivory. *Oecologia* 157: 279-286. <https://doi.org/10.1007/s00442-008-1069-z>
- JAACKS, G. 2017. *Evaluación de una técnica contra hormigas para el proyecto de reforestación en el Parque Nacional Quebrada del Condorito*. Tesis de maestría. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- JIMÉNEZ, N. L. 2019. *Patrones de herbivoría y coocurrencia de hormigas cortadoras de hojas en forestaciones y áreas naturales del Bajo Delta del Río Paraná, Argentina*. Tesis de doctorado. Universidad de Buenos Aires, Argentina.
- KÖRNER, C. & J. PAULSEN. 2004. A world-wide study of high altitude treeline temperatures. *J. Biogeogr.* 31: 713-732. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2003.01043.x>
- LEAL, I. R., R. WIRTH & M. TABARELLI. 2014. The multiple impacts of leaf-cutting ants and their novel ecological role in human-modified neotropical forests. *Biotropica* 46: 516-528. <https://doi.org/10.1111/btp.12126>
- LORANGER, H., G. ZOTZ & M. Y. BADER. 2017. Competitor or facilitator? The ambiguous role of alpine grassland for the early establishment of tree seedlings at treeline. *Oikos* 126: 1625-1636. <https://doi.org/10.1111/oik.04377>
- MACK, R. N., D. SIMBERLOFF, W. MARK LONSDALE, H. EVANS, M. CLOUT, & F. A. BAZZAZ. 2000. Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecol. Appl.* 10: 689-710. [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(2000\)010\[0689:BICEGC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(2000)010[0689:BICEGC]2.0.CO;2)
- MAJER, J. D., K. E. BRENNAN & M. L. MOIR. 2007. Invertebrates and the restoration of a forest ecosystem: 30 years of research following bauxite mining in Western Australia. *Restor. Ecol.* 15: S104-S115. <https://doi.org/10.1111/j.1526-100X.2007.00298.x>
- MARCORA, P., I. HENSEN, D. RENISON, P. SELTMANN & K. WESCHE. 2008. The performance of *Polylepis australis* trees along their entire altitudinal range: implications of climate change for their conservation. *Divers. Distrib.* 14: 630-636. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2007.00455.x>
- MARCORA, P. I., D. RENISON, A. I. PAÍS-BOSCH, M. R. CABIDO & P. A. TECCO. 2013. The effect of altitude and grazing on seedling establishment of woody species in central Argentina. *Forest Ecol. Manag.* 291: 300-307. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2012.11.030>
- MARRO, N., F. SOTERAS, N. COFRÉ, I. IBARRA, R. TORRES, A. G. BECERRA & D. RENISON. 2017. Neotropical tree production: insights into

- germination, growth and outplanting for *Maytenus boaria*. *Cernea* 23 : 377-385.
<https://doi.org/10.1590/01047760201723032344>
- MASSAD, T. J., J. Q. CHAMBERS, S. G. ROLIM, R. M. JESUS, & L. A. DYER. 2011. Restoration of pasture to forest in Brazil's Mata Atlântica: The roles of herbivory, seedling defenses, and plot design in reforestation. *Restor. Ecol.* 19: 257-267.
<https://doi.org/10.1111/j.1526-100X.2010.00683.x>
- MEYER, S. T. 2008. *Ecosystem engineering in fragmented forests: edge-mediated hyper-abundance of leaf-cutting ants and resulting impacts on forest structure, microclimate and regeneration*. Doktorarbeit. Universität Kaiserslautern.
- MONTOYA-CORREA, M., J. MONTOYA-LERMA, I. ARMBRECHT & M. C. GALLEGU-ROPERO. 2007. ¿Cómo responde la hormiga cortadora de hojas *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Myrmicinae) a la remoción mecánica de sus nidos? *Bol. Mus. Ent. Univ. Valle* 8: 1-8.
- MONTOYA-LERMA, J., C. GIRALDO-ECHEVERRI, I. ARMBRECHT, A. FARJI-BRENER & Z. CALLE. 2012. Leaf-cutting ants revisited: towards rational management and control. *Int. J. Pest Manag.* 58: 225-247. <https://doi.org/10.1080/09670874.2012.663946>
- NICKELE, M. A., W. REIS FILHO, E. B. D. OLIVEIRA, E. T. IEDE, N. CALDATO & P. STRAPASSON. 2012. Leaf-cutting ant attack in initial pine plantations and growth of defoliated plants. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 47: 892-899.
<https://doi.org/10.1590/S0100-204X2012000700003>
- PÉREZ, S. P., J. C. CORLEY & A. G. FARJI-BRENER. 2011. Potential impact of the leaf-cutting ant *Acromyrmex lobicornis* on conifer plantations in northern Patagonia, Argentina. *Agric. Forest Entomol.* 13: 191-196.
<https://doi.org/10.1111/j.1461-9563.2010.00515.x>
- PERIN, M. A. A. & J. F. GUIMARÃES. 2012. Efeitos dos ninhos de *Atta laevigata* (Fr. Smith, 1858) (Hymenoptera: Formicidae) sobre a vegetação do cerrado. *Rev. Árvore* 36: 463-470.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622012000300008>
- RAO, M., J. TERBORGH & P. NUÑEZ. 2001. Increased herbivory in forest isolates: implications for plant community structure and composition. *Conserv. Biol.* 15: 624-633.
<https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2001.015003624.x>
- RENISON, D., A. M. CINGOLANI & D. SCHINNER. 2002. Optimizing restoration of *Polylepis australis* woodlands: when, where and how to transplant seedlings to the mountains. *Ecotropica* 8: 219-224.
- RENISON, D., I. HENSEN & R. SUAREZ. 2011. Landscape structural complexity of high-mountain *Polylepis australis* forests: a new aspect of restoration goals. *Restor. Ecol.*, 19, 390-398.
<https://doi.org/10.1111/j.1526-100X.2009.00555.x>
- RENISON, D., M. P. CHARTIER, M. MENGHI, P. I. MARCORA, R. C. TORRES, M. GIORGIS & A. M. CINGOLANI. 2015. Spatial variation in tree demography associated to domestic herbivores and topography: Insights from a seeding and planting experiment. *Forest Ecol. Manag.* 335: 139-146.
<https://doi.org/10.1016/j.foreco.2014.09.036>
- SCHALLER, M. J. 2000. Evaluation of wildlife damage to forests in Germany. *Human Conflicts with Wildlife: Economic Considerations* 14: 123-126.
- SCHÖNBECK, L., M. LOHBECK, F. BONGERS, M. M. RAMOS & F. Sterck. 2015. How do light and water acquisition strategies affect species selection during secondary succession in moist tropical forests?. *Forests* 6: 2047-2065.
<https://doi.org/10.3390/f6062047>
- SEDE, S. M. & S. S. DENHAM. 2018. Taxonomic Revision of *Escallonia* (Escalloniaceae) in Argentina. *Syst. Bot.* 43: 364-396.
<https://doi.org/10.1600/036364418X696932>
- SIQUEIRA, F. F., J. D. RIBEIRO-NETO, M. TABARELLI, A. N. ANDERSEN, R. WIRTH & I. R. LEAL. 2017. Leaf-cutting ant populations profit from human disturbances in tropical dry forest in Brazil. *J. Trop. Ecol.* 33: 337-344.
<https://doi.org/10.1017/S0266467417000311>
- SPARACINO, J., D. RENISON, A. M. DEVEGILI & R. SUAREZ. 2020. Wind protection rather than soil water availability contributes to the restriction of high-mountain forest to ravines. *New For.* 51: 101-117. <https://doi.org/10.1007/s11056-019-09722-z>
- SPEED, J. D., G. AUSTRHEIM, A. J. HESTER & A. MYSTERUD. 2011. Growth limitation of mountain birch caused by sheep browsing at the altitudinal treeline. *Forest Ecol. Manag.*, 261, 1344-1352.
<https://doi.org/10.1016/j.foreco.2011.01.017>
- TORRES, R. C., RENISON, D., HENSEN, I., SUAREZ, R., ENRICO, L. 2008. *Polylepis australis*' regeneration niche in relation to seed dispersal, site characteristics and livestock density. *Forest Ecol. Manag.* 254: 255-260.
- TORRES, R. C. & D. RENISON. 2015. Effects of vegetation and herbivores on regeneration of two

- tree species in a seasonally dry forest. *J. Arid Environ.* 121: 59-66.
<https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2015.05.002>
- VASCONCELOS, H. L. & J. M. CHERRETT. 1997. Leaf-cutting ants and early forest regeneration in central Amazonia: effects of herbivory on tree seedling establishment. *J. Trop. Ecol.* 13: 357-370.
<https://www.jstor.org/stable/2560289>
- VERZINO, G., J. JOSEAU, M. DÍAZ & M. DORADO. 2004. Comportamiento inicial de especies nativas del Chaco Occidental en plantaciones en zonas de pastizales de altura de las Sierras de Córdoba, Argentina. *Bosque (Valdivia)* 25: 53-67.
<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002004000100005>
- WIRTH, R., S. T. MEYER, W. R. ALMEIDA, M. V. ARAÚJO JR, V. S. BARBOS, & I. R. LEAL. 2007. Increasing densities of leaf-cutting ants (*Atta spp.*) with proximity to the edge in a Brazilian Atlantic forest. *J. Trop. Ecol.* 23: 501-505. <https://www.jstor.org/stable/4499125>
- ZANETTI, R., J. C. ZANUNCIO, J. C. SANTOS, W. L. P. DA SILVA, G. T. RIBEIRO & P. G. LEMES. 2014. An overview of integrated management of leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae) in Brazilian forest plantations. *Forests* 5: 439-454.
<https://doi.org/10.3390/f5030439>
- ZANGERL, A. R., J. G. HAMILTON, T. J. MILLER, A. R. CROFTS, K. OXBOROUGH, M. R. BERENBAUM & E. H. DE LUCIA. 2002. Impact of folivory on photosynthesis is greater than the sum of its holes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 99: 1088-1091.
<https://doi.org/10.1073/pnas.022647099>

