



UNIVERSIDAD DE VALLADOLID



**SUSTAINABLE FOREST MANAGEMENT**  
Research Institute

University of Valladolid-INIA



GOBIERNO  
DE ESPAÑA

MINISTERIO  
DE CIENCIA  
E INNOVACIÓN

**MSc Thesis / Tesis de Máster**

**MSc. CONSERVATION AND SUSTAINABLE USE OF FOREST SYSTEMS**

**MÁSTER EN INVESTIGACIÓN PARA LA CONSERVACIÓN Y USO SOSTENIBLE  
DE SISTEMAS FORESTALES**

“Divergencia en estrategias de historia vital entre  
poblaciones de pino carrasco (*Pinus halepensis* Mill.)”

Divergence in life history strategies among  
populations of Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.)

Septiembre 2012

**Autor:** David Lafuente Laguna

**Directores:** Dr. Jose Climent Maldonado y Luis Santos del Blanco



## ÍNDICE

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	1
I INTRODUCCIÓN.....	2
II OBJETIVOS.....	8
III MATERIAL Y MÉTODOS.....	9
III.1 Descripción del ensayo y material vegetal.....	9
III.2 Mediciones.....	10
III.3 Análisis de datos.....	12
IV RESULTADOS.....	14
IV.1 Crecimiento y desarrollo reproductivo entre 2005 y 2012.....	14
IV.2 Análisis univariante entre procedencias.....	15
IV.3 Asociación entre caracteres y clasificación de procedencias.....	17
IV.4 Patrones de variación climática y geográfica.....	18
V DISCUSIÓN.....	20
V.1 Reproducción femenina y masculina.....	20
V.2 Otros caracteres de historia vital.....	21
V.3 Integración fenotípica en estrategias de historia vital.....	22
V.4 Patrones de variación climática y geográfica.....	23
VI CONCLUSIONES.....	25
VII AGRADECIMIENTOS.....	26
VIII BIBLIOGRAFÍA.....	27
IX DATOS SUPLEMENTARIOS	

## RESUMEN

En contraste con el notable conocimiento adquirido en los últimos años sobre la variación genética neutral en especies forestales, aún es muy escaso el que tenemos sobre la variación de caracteres de historia vital, estrechamente relacionados con procesos adaptativos. En el presente estudio se evalúa bajo un ambiente común en campo un conjunto de caracteres clave de historia vital en un ensayo de procedencias de *Pinus halepensis*, con poblaciones que abarcan toda la cuenca mediterránea. Los caracteres elegidos representan las funciones de crecimiento (altura y diámetro normal), mantenimiento (porcentaje de corteza) y reproducción (número de conos femeninos y masculinos y serotinia), entre otros. Aplicamos modelos mixtos generalizados para determinar las alturas umbrales para la reproducción femenina y masculina. Se evaluó la existencia de diferencias significativas entre procedencias en los caracteres evaluados, diferencias que se confirmaron en la mayoría de los casos. Mediante análisis de componentes principales y análisis clúster basados en las medias ajustadas por población, encontramos dos grupos de poblaciones estadísticamente diferenciadas. El primero se caracteriza por una mayor inversión en crecimiento y mantenimiento junto con una menor inversión en reproducción masculina, femenina y menor porcentaje de serotinia. El segundo mostró la constelación opuesta de caracteres, y dentro de este grupo se apreció un compromiso entre número de piñas y tamaño de piñones. Se observa un gradiente noreste-sudoeste de aumento de la precocidad e intensidad reproductivas y serotinia, pero la latitud fue la única variable geográfica o climática que explicó significativamente la separación entre los dos grupos de procedencias obtenidos. Los resultados ponen de manifiesto una marcada divergencia adaptativa entre poblaciones naturales de pino carrasco.

## ABSTRACT

In contrast with the outstanding knowledge acquired over the last few years about neutral genetic variation in forest species, we still have a quite limited knowledge about the variation of life history traits, closely related to adaptive processes. In the present study we evaluated under a common field environment several key life history traits in a provenance test of *Pinus halepensis*, with populations covering the entire Mediterranean basin. The selected traits represent growth (height and breast-height diameter), maintenance (bark percentage) and reproduction (number of female and male cones and serotiny) functions, among others. We used generalized mixed models to determine the threshold heights for female and male reproduction. We checked the significance of differences among provenances in the measured characters, which were confirmed in most cases. By principal component analysis and cluster analysis based on adjusted population means, we found two groups of populations, statistically differentiated. The first one is characterized by a high investment in growth and maintenance together with low investment in female and male reproduction and serotiny. The second group displayed the opposite constellation of traits; also within this group there was a compromise between the number of female cones and seed weight. We found a northeast-southwest gradient of increasing precociousness and intensity of reproduction and serotiny, but latitude was the only climatic or geographical variable explaining significantly the divergence between the two provenance groups previously obtained. These results highlight a marked adaptive divergence between natural populations of Aleppo pine.

## I INTRODUCCIÓN

### **La teoría de historia vital, los caracteres y estrategias.**

El principal objetivo de la teoría de historia vital es conocer cómo la evolución, mediante selección impuesta por los desafíos ecológicos, moldea a los organismos para lograr el éxito reproductivo (Stearns, 1976). Ello implica entender cómo se optimiza el conjunto de caracteres para maximizar el éxito reproductivo, asumiendo que los recursos son limitados y éstos deben asignarse a tres funciones básicas: crecimiento, reproducción, y mantenimiento. La hipótesis básica que subyace en todos los análisis sobre evolución de historias vitales es que la variación está en gran medida limitada por compromisos (*trade-offs*) entre caracteres (Roff and Fairbairn, 2007; Hoffman, 2004).

Las estrategias de historia vital representan el compromiso evolutivo de factores abióticos y bióticos que afectan a la supervivencia y al potencial reproductivo de los individuos bajo un determinado ambiente. Grime (1979) propuso un sencillo esquema para entender las estrategias de historia vital, condicionadas por tres factores ambientales (en sentido amplio) básicos: competencia, perturbaciones y estrés. Si bien esta simplificación se ha discutido mucho (Westoby, 2007), constituye un interesante punto de partida para entender la variación inter- e intra-específica en historias vitales en muchos organismos (p.ej. Chew and Bonser, 2008).

En suma, el objetivo de una estrategia de historia vital consiste en buscar la mejor solución (esto es, la que maximiza la eficacia biológica bajo unas condiciones determinadas) a una serie de problemas del ser vivo, cómo a qué edad y tamaño comenzar la reproducción, con qué frecuencia y regularidad, qué proporción de recursos se dedican en cada ocasión y el tamaño y número de propágulos producidos (Roff, 1992; Stearns, 1976). En efecto, dado que el objetivo último de todo organismo es reproducirse, la edad de inicio de la reproducción es un buen punto de partida en numerosos estudios sobre estrategias de historia vital (Charnov, 1990 ; Verdú, 2002). Mientras que en algunos organismos la reproducción implica una escasa inversión, en otros supone una “decisión” que condiciona todo el desarrollo futuro. Así, está constatado en numerosos organismos que la reproducción precoz e intensa tiene costes en supervivencia, crecimiento o reproducción futuras, por lo que una reproducción precoz está muy asociada a una expectativa de vida reducida (Reznick, 1985; Charnov, 1990). Otros aspectos de la reproducción presentan también compromisos o antagonismos (nivel de asignación frente a la frecuencia de la reproducción; tamaño de la semilla/propágulo frente al número de los mismos, etc.).

### El concepto de integración fenotípica

Dado el carácter intrínsecamente multivariante de las estrategias de historia vital, se ha empleado crecientemente en las últimas décadas el concepto de integración fenotípica en los estudios de ecología evolutiva (Schlichting and Pigliucci, 1995; Callahan and Waller, 2000). La integración fenotípica se refiere a la variación coordinada de los caracteres morfológicos resultado de la genética, del programa de desarrollo (ontogenia) y de las relaciones funcionales entre caracteres. Este concepto ha recibido recientemente un renovado interés por su potencial significado adaptativo, dado que cada vez hay más evidencias de que las presiones selectivas afectan a combinaciones precisas de caracteres, que incrementan la eficacia biológica (Schlichting and Pigliucci, 1995). Este es precisamente el marco conceptual en el que se inserta el presente trabajo.

### **El género *Pinus* y sus estrategias de historia vital**

Los pinos tienen una notable capacidad para prosperar y/o invadir aéreas con limitación de recursos y/o sometidas a perturbaciones, incluso fuera de su rango natural (Richardson et al., 1994). Aunque la tolerancia a lugares con baja fertilidad es general entre coníferas, la capacidad para invadir sitios alterados, en etapas sucesionales es una cualidad de los pinos, ya que poseen una estrategia más agresiva como invasores (Grotkopp et al., 2002).

Entre otros tipos de perturbaciones, el fuego es el único factor pre-humano con suficiente frecuencia e intensidad al que se asume una fuerte presión selectiva en los pinos, por lo que está muy asumido que el fuego ha condicionado fuertemente la diversidad de las historias vitales de los pinos (Keeley and Zedler, 1998; Schwilk and Ackerly 2001; Tapias et al., 2004). Recientes análisis filogenéticos sostienen que la intensa presencia de fuego en el Mesozoico, unida al stress abiótico que define la productividad del sitio, condicionó la evolución de las historias vitales en los pinos (He et al., 2012; Keeley, 2012). El género *Pinus* ha seguido dos estrategias evolutivas básicas en competencia con las angiospermas. El subgénero *Strobus* prospera en suelos pobres en nutrientes y temperaturas extremas, bien por frío o calor, pero con menor intensidad o frecuencia de perturbaciones. En contraste, la línea evolutiva que corresponde al subgénero *Pinus* (en el que se engloban la mayoría de las especies actuales) prospera en lugares propensos al fuego con distintos regímenes en intensidad y frecuencia (Keeley and Zedler, 1998).

Caracteres de historia vital específicos de los pinos.

La serotinia se define como la retención a largo plazo de semillas en la planta, lo que implica el mantenimiento de un banco aéreo de semillas que generalmente se libera tras un incendio. Este fenómeno ocurre en muchos taxones de plantas, principalmente en Australia, Sudáfrica, Norte América y la cuenca Mediterránea (Pausas et al., 2004). En concreto, los pinos se consideran serótinicos si sus piñas permanecen cerradas 3 años o más tras su maduración, pero pueden abrirse rápidamente cuando las altas temperaturas funden la resina que sella las brácteas (Tapias et al., 2001). En lugares xéricos o durante olas de calor extremo los conos serótinicos pueden abrirse sin la necesidad de fuego (Nathan et al., 1999). Se ha argumentado que los pinos serótinicos asignan más recursos a la estructura del cono para proteger las semillas, que sobreviven a temperaturas de más de 200°C (Knapp and Anderson, 1980).

Dentro del subgénero *Pinus*, se han definido distintas estrategias de historia vital contrastadas en relación a la ya mencionada combinación de intensidad y frecuencia de las perturbaciones y la productividad ligada a las limitaciones ambientales (Keeley and Zedler, 1998; Tapias et al., 2004). Sin embargo, Schwilk (2002) establece una forma muy sintética de abordar las diferentes historias vitales de los pinos es mediante dos estrategias básicas: sobrevivir al fuego o afrontar (*embrace*, “abrazar”) el fuego. En este último caso, la planta asigna pocos recursos en supervivencia, mientras muestra caracteres que incrementan la inflamabilidad y mantiene un banco aéreo de semillas en conos serótinicos. La serotinia está correlacionada positivamente con una edad de reproducción mínima y negativamente correlacionada con la autopoda y la densidad de acículas; a su vez, la auto-poda está correlacionada positivamente con el grosor de la corteza y la altura en la madurez (reproducción tardía en tamaño).

En este sentido, entre los pinos españoles tenemos buenos ejemplos de las dos estrategias contrastadas. Así, el pino piñonero (*Pinus pinea*), sobrevive fuegos de baja intensidad gracias a la gruesa corteza de los adultos y la copa densa que dificulta la convección y por tanto disminuye la probabilidad de fuegos de copas (Rigolot, 2004). Pero sobre todo es el pino canario (*P. canariensis*) la especie emblemática de supervivencia frente al fuego, incluso de gran intensidad, al cual sobrevive gracias a su gruesa corteza y la capacidad de rebrote (Climent et al., 2004). A cambio, estas dos especies presentan una reproducción notablemente tardía, entre 15 y 20 años y cuando alcanzan unos cuatro metros de altura (Grivet et al., in prep; Tapias et al., 2004). Por el contrario, *P. halepensis* representa la estrategia opuesta, basada en una alta inflamabilidad facilitada por su copa poco densa y la falta de autopoda (Rigolot,

2004; He et al., 2012), lo que compensa con una reproducción de las más precoces de todo el subgénero y una serotinia media-alta.

Junto a la edad y tamaño de la primera reproducción, la serotinia, la capacidad de rebrote y el espesor de corteza, existen otros caracteres de historia vital menos estudiados pero que merecen atención. El primero de ellos es la asignación sexual, particularmente interesante en especies monoicas (flores unisexuales pero en el mismo individuo) esto es, la distinta proporción de órganos sexuales de ambos sexos, y en particular en el inicio de la fase reproductiva. Si bien se asume que todos los pinos comienzan su vida reproductiva como femeninos, se ha constatado recientemente que *Pinus pinaster* comienza como masculino, y además existe una interesante diferenciación genética en asignación sexual que sugiere un patrón ecotípico (Santos-del-Blanco et al., 2012). En otras especies de pinos se ha llegado a hablar incluso de “dioecia funcional” entre individuos, reflejando la existencia de un compromiso entre la reproducción de ambos sexos (Cobb et al., 2002; Kang, 2007).

La densidad de la madera, se ha mostrado recientemente como un carácter muy ligado a distintas estrategias de historia vital, al menos en las comparaciones inter-específicas en formaciones forestales con gran diversidad de especies (Van Gelder et al., 2006; Poorter et al., 2010). Así, se asume que maderas densas están asociadas a mayor longevidad y reproducción tardía, esto es, a especies de las últimas fases de la sucesión vegetal, y viceversa. Sin embargo, la madera densa está también asociada a una adaptación al estrés hídrico, debido a la presencia de elementos conductores de menor tamaño (menor lumen celular en relación a las paredes lignificadas) (García-Esteban et al., 2009).

### ***Pinus halepensis***

El pino carrasco, podría considerarse como el extremo de una trayectoria evolutiva en los pinos mediterráneos hacia una menor longevidad, reproducción precoz, baja inversión en mantenimiento y gran capacidad de colonización (Grivet et al., in prep). La corteza es notablemente delgada, lo que implica una baja probabilidad de supervivencia a fuegos incluso de baja intensidad (Rigolot, 2004). La escasa autopoda y poca densidad de la copa aumentan la inflamabilidad de las formaciones de pino carrasco y aumentan la probabilidad de fuegos de copas (Ne'eman et al., 2004). De hecho, las masas de pino carrasco representan el 33% del área total quemada en la cuenca mediterránea (Le Houérou, 1974).

La regeneración post-fuego depende completamente del banco de semillas que alberga el dosel arbóreo, que puede alcanzar un tamaño considerable en pocos años



(Tapias et al., 2001). El bajo peso de la semilla las hace fácilmente propagables, aumentando la dispersión anemófila cuando las condiciones son óptimas para la germinación (Nathan et al., 1999; Ne'eman et al., 2004). Las plántulas crecen rápidamente y comienzan a reproducirse a edad muy temprana, entre los 3 y los 6 años y en el total de los individuos entre los 12-20 años (Tapias et al., 2001, Thanos and Daskalalou, 2000). Los árboles jóvenes reproductores suelen comenzar como femeninos, y posteriormente se convierten en co-sexuales cuando empiezan a producir los primeros estróbilos masculinos (Shmida et al., 2000).

La serotinia en el pino carrasco es mucho mayor en árboles jóvenes y pequeños que en adultos. En estos, las piñas terminan por abrirse aún en ausencia de fuego (Nathan et al., 1999; De Las Heras et al., 2007). El porcentaje de conos serótinicos es mayor en poblaciones regeneradas post-incendio (Tapias et al., 2001).

En cualquier caso, los jóvenes pinos carrascos asignan muchos recursos a la producción precoz de semillas, para reducir así el “riesgo de inmadurez”, esto es, el riesgo de no portar semillas viables antes del siguiente incendio (Ne'eman et al., 2004).

### **La variación intra-específica en la evolución de historias vitales**

Dado que no puede haber evolución sin variación genética, se ha dedicado un gran esfuerzo a comprender la base genética de los caracteres de historia vital (Roff, 1992). En este sentido, los árboles forestales son un buen modelo de estudio, ya que muchas especies presentan una notable diferenciación genética entre poblaciones distribuidas a lo largo de amplios gradientes geográficos y ambientales (Petit and Hampe, 2006). Estos patrones de diferenciación se interpretan a menudo como la huella de procesos micro-evolutivos de adaptación local (variación ecotípica) generados por distintas presiones de selección entre poblaciones (Aitken et al., 2008). Al mismo tiempo, los árboles forestales tienden a mantener altos niveles de diversidad dentro de cada población, lo que les capacita para responder rápidamente a presiones actuales y futuras de selección (Petit and Hampe, 2006). La información acumulada sobre variación genética entre poblaciones y procedencias de pinos es ingente, tanto en caracteres cuantitativos (p.ej. Alía et al., 1997; Isik et al., 2002; González-Martínez et al., 2002; Aitken et al., 2008; Voltas et al., 2008) como moleculares (p.ej Schiller, 2000; González-Martínez et al., 2002; Eveno et al., 2008; Grivet et al., 2011).

Sin embargo, es notable la escasez de publicaciones sobre la variación entre poblaciones (“procedencias”, en sentido amplio) en caracteres de historia vital en

estas especies, si excluimos los estudios basados exclusivamente en plantas muy jóvenes (Grotkopp et al., 2002; Climent et al., 2006, 2011; Aranda et al., 2010).

### **Antecedentes inmediatos de este trabajo**

El presente trabajo se engloba en la línea de investigación en genética de poblaciones y procesos evolutivos en especies forestales del INIA-CIFOR, en la que J. Climent, director de este trabajo, se centra en la evolución de historias vitales en pinos. En realidad esta línea continúa muchos de los postulados de la tesis doctoral de R. Tapias en la ETSIM (Tapias et al., 2001, 2004), a las que se han unido la experiencia del grupo coordinado por R. Alía en el CIFOR (en especial S.C. González-Martínez, M.R. Chambel, D. Grivet y J.J. Robledo-Arnuncio) y la privilegiada infraestructura de la red de ensayos genéticos coordinada por el CIFOR y el CITA (Aragón), denominada GENFORED (Chambel et al., 2011). Este trabajo está estrechamente coordinado con la tesis doctoral de Luis Santos del Blanco, en fase de finalización, centrada en los procesos ecológicos y evolutivos de los caracteres reproductivos en *P. pinaster* y *P. halepensis*, dirigida por J. Climent.

Los trabajos anteriores que han fundamentado el presente trabajo se centraron en la primera constatación de diferenciación entre poblaciones en la asignación reproductiva y tamaño umbral de reproducción en *P. halepensis* (Climent et al., 2008), en la variación intrapoblacional de los mismos caracteres en *P. pinaster* y *P. halepensis* (Santos-del-Blanco et al., 2010), en asignación sexual en *P. pinaster* (Santos-del-Blanco et al., 2012), en plasticidad fenotípica en el tamaño umbral de reproducción en *P. halepensis* (Santos del Blanco et al., in prep.) y, merced a la colaboración con A. Hernández, tesis doctoral dirigida por M. Verdú y J. Pausas del CIDE, en las metodologías para evaluar la serotinia en *P. halepensis* (Hernández et al., in prep).

Toda esta aproximación se basa en ensayos de ambiente común (*common gardens*) en los que los distintos genotipos (familias o procedencias) se evalúan en las mismas condiciones, eliminando así la mayor parte de los efectos ambientales e incluso gran parte de la variación ontogénica, al tratarse de árboles de la misma edad.

## II OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es determinar en *Pinus halepensis* la existencia de distintas estrategias de historia vital entre procedencias basadas en múltiples caracteres y estudiar los patrones de variación geográfica y climática de estas estrategias.

En concreto, se pretende responder a las siguientes preguntas:

(i) ¿Se confirma la existencia de diferencias significativas entre procedencias en la edad de inicio de la reproducción femenina y la fecundidad femenina, ya observadas en trabajos anteriores, en otras condiciones de ensayo?

(ii) ¿Existen diferencias significativas entre procedencias en otras variables de historia vital tales como la edad de inicio de la reproducción masculina, la fecundidad masculina, el porcentaje de piñas serótinas, el porcentaje de corteza, el peso de las semillas, etc.?

(iii) ¿Existe un patrón de variación conjunta entre caracteres coherente con los postulados de la teoría de historia vital? En concreto ¿varían los caracteres reproductivos conjuntamente o, por el contrario, existen compromisos entre caracteres específicos (asignación sexual, serotinia, peso de las semillas y su capacidad de dispersión, etc.)?

(iv) ¿Existe una agrupación de procedencias (poblaciones) en función del conjunto de caracteres que indique la existencia de estrategias de historia vital alternativas?

Y, por último,

(v) ¿En qué medida los patrones de variación encontrados responden a gradientes climáticos y/o geográficos?

### III MATERIAL Y MÉTODOS

#### III.1 Descripción del ensayo y material vegetal

##### Ensayo de procedencias en campo

El estudio se centra en un ensayo de procedencias perteneciente a la red nacional de ensayos genéticos forestales (GENFORED, [www.genfored.es](http://www.genfored.es)), identificado en dicha red con el acrónimo P24OLM. Está situado en el centro de la península Ibérica (Valdeolmos, Madrid) sometido a un clima mediterráneo continental (Tabla 1). El ensayo contiene 43 procedencias que cubren el rango natural de la especie en la península Ibérica e islas Baleares y otras diez poblaciones más situadas en Grecia, Francia, Italia y Túnez (Fig. 1). Las plantas, de una savia, se plantaron en 1997 siguiendo un diseño de bloques completos aleatorizados, formado por 4 bloques y 4 plantas de la misma procedencia contiguas por bloque. El espaciamiento entre individuos fue de 2,5 x 2 m. En 2005, una plaga de conejos (*Oryctolagus cuniculus*) acompañada de un ataque de procesionaria del pino (*Thaumetopoea pityocampa*) afectaron a la parcela experimental, causando daños severos en el primer bloque (actualmente con un 20% supervivencia). Por ello, se midieron solo los 3 bloques restantes en las fases siguientes del estudio.

Tabla 1. Posición geográfica, parámetros climáticos y edáficos del ensayo de procedencias.

Parámetros geográficos, climáticos y edáficos	P24 OLM-Valdeolmos
Latitud(N)	40°38'41,94" N
Longitud(W)	03°26'44.34" W
Altitud (m.s.n.m.)	730
Precipitación media anual (P, mm año-1)	475
Temperatura media anual (°C)	13.6
Precipitación estival (mm)	62
Clasificación edáfica (FAO)	Cambisol eútrico

En colaboración con otras líneas de investigación en el CIFOR y Univ. de Lleida, elegimos una muestra representativa del conjunto total de procedencias compuesta por 19 procedencias (Fig. 1, Tabla A1 en datos suplementarios). Dicha selección cubre la mayor parte de regiones climáticas y ecológicas del rango natural de la especie, recoge un amplio espectro en cuanto a variación molecular y fenotípica avalada por resultados de anteriores trabajos (Grivet et al., 2009; Voltas et al., 2008; Climent et al., 2008; Santos del Blanco et al., 2010). En uno de los trabajos mencionados (Climent et al., 2008), se empleó una clasificación de las procedencias en regiones ecológicas, atendiendo a su similitud ambiental y proximidad geográfica, a partir de las Regiones de Procedencia publicadas (Gil et al., 1996). Hemos mantenido esta identificación para facilitar la comparación de resultados (Tabla A1).

Los datos climáticos para la península Ibérica fueron tomados de un modelo fitoclimático funcional basado en datos obtenidos de estaciones meteorológicas (Gonzalo-Jiménez, 2010). Los datos climáticos de las poblaciones no pertenecientes a la península se obtuvieron del “WorldClim-Global Climate Data” con una resolución de 5 minutos (Hijmans et al., 2005). Se tuvieron en cuenta: temperatura media anual (MAT), rango anual de temperatura (TAR), precipitación anual (P) y precipitación estival (Ps) (Tabla A1). Estos parámetros climáticos recogen satisfactoriamente la variación en esta especie (Voltas et al., 2008; Climent et al., 2008), y otros parámetros posibles están muy correlacionados con los cuatro elegidos.

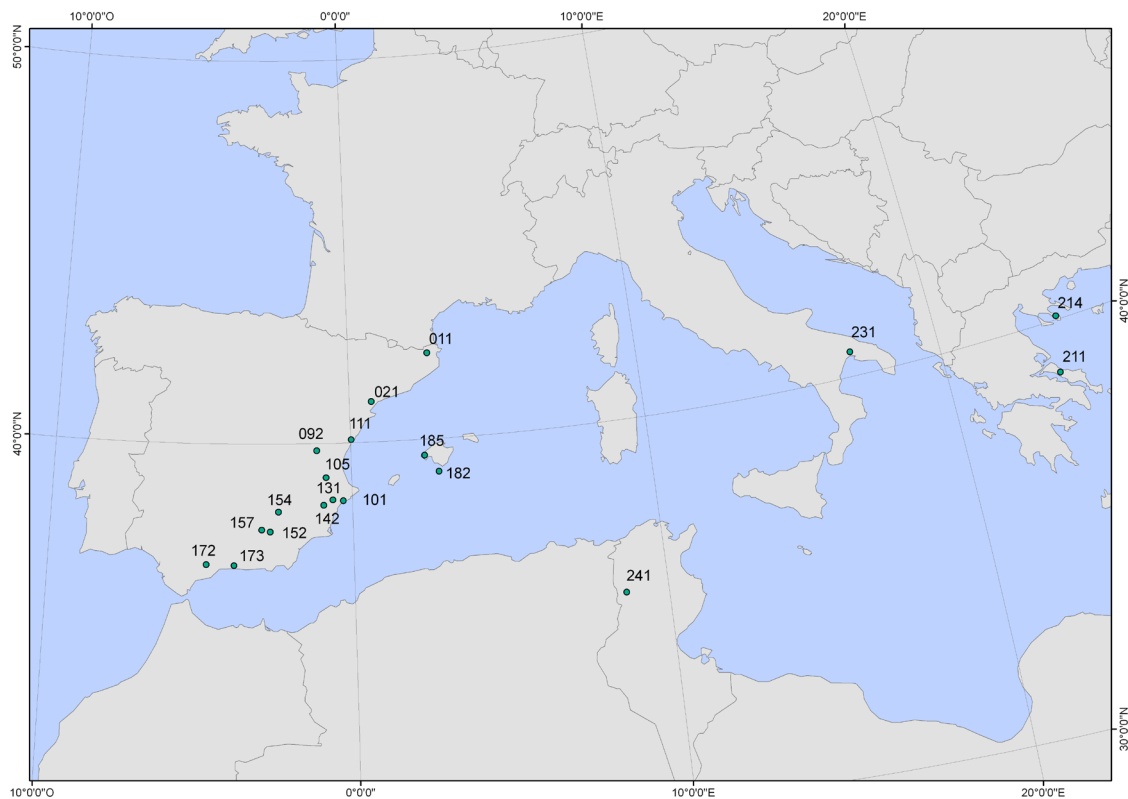


Figura 1. Procedencias del ensayo P24OLM elegidas para este estudio (Tabla A1).

### III.2 Mediciones

#### Ensayo de campo en Valdeolmos

La medición del diámetro normal ( $DBH_{11}$ ) y altura ( $H_{11}$ ) se llevó a cabo en otoño de 2011 para la totalidad de los individuos del dispositivo experimental. La tasa de crecimiento relativo en altura ( $RGR_H$ ) se calculó con las alturas de los años 2006 y 2011.

Se extrajeron dos microcores por individuo extraídos mediante Trephor® (Rossi et al., 2006), para determinar la densidad de madera (WOOD). Cada microcore se conservó en agua destilada con fungicida a 4°C hasta su procesamiento. Mediante calibre

electrónico se registró la longitud y tres diámetros de la probeta (microcore) con los que se calculó el volumen aproximando su forma a un cilindro. Posteriormente las muestras se secaron a 105°C y se pesaron en balanza digital de precisión. La densidad se estimó relacionando el peso seco y el volumen saturado de cada cilindro (Valencia and Vargas, 1997).

La suma de conos femeninos (CC<sub>0809</sub>) se determinó sumando los conos femeninos de las cohortes de los años 2008 y 2009 para la totalidad de los individuos. El número de conos masculinos (MC<sub>12</sub>) se evaluó en la primavera de 2012, estimándolo mediante el conteo de grupos de conos masculinos (ramas reproductivas masculinas) en un tiempo de 15 segundos (Koenig et al., 1994). A partir de estos datos, los individuos se clasificaron en femeninos, masculinos o cosexuales en función del sexo que expresaron hasta la última medición. Es decir, considerando esta propiedad como un carácter acumulado, independientemente de que un año determinado pudieran no expresar una función sexual que ya habían mostrado anteriormente. Los que todavía no hubieran expresado ningún carácter sexual se clasificaron como juveniles. La serotinia (SEROT) se determinó como el porcentaje de piñas maduras cerradas respecto del total de piñas presentes en cada individuo.

Realizamos una cosecha de conos femeninos maduros en verano de 2011 de una submuestra de individuos de todas las procedencias del estudio. Las piñas se eligieron de la última cohorte madura, esto es, correspondiente a la floración de 2009, siempre que esto fue posible. Una vez medidas su longitud y anchura, se extrajeron los piñones de cada uno de los conos, seleccionándose 10 piñones por piña. Éstos fueron pesados (SEED<sub>w</sub>) y escaneados a 300 pp de resolución mediante Epson Expression 10000 XL®. La imagen obtenida fue tratada con el software ImageJ (Abràmoff et al., 2004) para calcular la superficie alar de cada piñón. Empleamos el cociente del área entre el peso del piñón con su ala como estimación de la capacidad intrínseca de dispersión de la semilla (DISPERS), esto es, independiente de la altura del árbol y las condiciones atmosféricas (Benkman, 1995).

Si bien obtuvimos muestras de corteza con *Trephor*®, que posteriormente medimos en laboratorio para obtener el espesor radial de corteza de cada individuo, posteriormente descartamos estos valores por su escasa variación y elevado error experimental en una fase tan precoz del desarrollo (a esta edad, la corteza en *P. halepensis* es extremadamente delgada en comparación con otros pinos). Por ello, asumiendo un elevado control genético de este carácter, empleamos la medición del espesor de corteza (BARK<sub>1</sub>) de una réplica de este ensayo Montañana (Zaragoza, P24SIA2 en GENFORED).

Tabla 3. Caracteres medidos en Valdeolmos.

Abreviatura	Carácter	Medias	Unidades
CC <sub>0809</sub>	Sumatorio de conos femeninos 2008/2009	9,93 ± 1,35	conos
SEROT	Serotinia	72 ± 0,67	%
MC <sub>12</sub>	Conteo de conos masculinos 2012	14,49 ± 1,62	conteo
WOOD	Densidad de madera	523,72 ± 13,53	kg/m <sup>3</sup>
DISPERS	Dispersión de la semilla (área / peso)	626,80 ± 42,46	mm <sup>2</sup> x mg <sup>-1</sup>
RGR <sub>H</sub>	Tasa relativa de crecimiento en altura	0,16 ± 0,01	mm x día <sup>-1</sup>
SEED <sub>w</sub>	Peso de la semilla	27,60 ± 1,34	mg
FTSR	Tamaño umbral de reproducción femenina	199,00	cm
MTSR	Tamaño umbral de reproducción masculina	311,00	cm
DBH <sub>11</sub>	Diámetro normal	64,92 ± 5,76	cm
H <sub>11</sub>	Altura 2011	408,27 ± 21,92	cm
BARK <sub>1</sub>	Porcentaje de espesor de Corteza (CITA-Zaragoza)	11,93 ± 0,80	%

### III.3 Análisis de datos

#### Variación y co-variación entre caracteres fenotípicos

*Análisis univariante.* Para cada variable registrada se ajustó un modelo mixto empleando el paquete lme4 (Bates et al. 2011) mediante el uso de la plataforma R (R Development Core Team, 2012) definiendo procedencia como factor aleatorio debido a desequilibrios en el conjunto de datos. Para determinar la existencia de variación significativa entre procedencias para cada carácter analizado se empleó un test de ratios de verosimilitud (LTR). Posteriormente se calcularon las medias corregidas por procedencia para cada carácter estudiado. En la tasa de crecimiento en altura, diámetro y altura correspondientes al año 2011 se tuvo en cuenta el efecto del bloque (REP) para el cálculo de la media corregida. Para el cálculo de la densidad de madera se empleó como covariable el diámetro correspondiente a la altura de extracción del microcore. Para las variables DISPERS y SEED<sub>w</sub> se tuvo en cuenta la influencia de cada piña dentro del árbol perteneciente a cada procedencia.

El cálculo de la altura umbral para la reproducción masculina y femenina se llevó a cabo mediante una variable categórica de presencia o ausencia de órganos reproductores y aplicando modelos mixtos generalizados (GLMM) ajustados mediante inferencia Bayesiana (Montecarlo basado en Cadenas de Markov) mediante el paquete de R MCMCglmm (Hadfield, 2011). La cadena de Markov corrió durante 5.500.000 iteraciones, con las 500.000 primeras correspondientes al calentamiento y muestreo cada 5.000 iteraciones para evitar correlaciones entre los valores. En los casos en los que no se logró ajustar el modelo, debido al número demasiado escaso de reproductores o a otras causas de error, se estimó el tamaño umbral de reproducción de la procedencia como la altura del árbol reproductor más pequeño

entre series de observaciones, ocurrió en las procedencias 11, 92, 111, 142, 157, 172, 185, 231 y 241.

Análisis multivariante. Con el fin de determinar cómo se agruparon los distintos caracteres evaluados, realizamos un análisis de componentes principales (PCA) a partir de las medias corregidas obtenidas en los análisis univariantes mediante el software STATISTICA 7®. Se realizó una clasificación de variables en activas y suplementarias. Las primeras fueron aquellas que aportaron información al análisis de componentes principales mientras que las segundas actúan aportaron información descriptiva proyectándose en los ejes de los análisis. El criterio de selección de las variables activas se realizó eligiendo aquellas que presentasen una interpretación adaptativa más sencilla y que preferiblemente fuesen significativas en los análisis univariantes. Este análisis permite además obtener un resumen gráfico de la agrupación de las 19 poblaciones en los 11 caracteres empleados en este estudio. En una segunda fase, las coordenadas de cada procedencia en los ejes factoriales significativos del PCA se emplearon en un análisis clúster de k-medias (McQueen, 1967) para obtener grupos caracterizados por una asociación de caracteres semejante. Este método asigna cada caso al grupo cuyo centroide está más próximo.

### **Patrones de variación geográfica y climática**

En primer lugar, realizamos un análisis de componentes principales con las variables climáticas de las procedencias (MAT, TAR, P y Ps) para confirmar de un modo visual el grado de independencia de los parámetros seleccionados. Igualmente, para conocer la co-variación entre las variables climáticas y geográficas, se incluyeron estas últimas como suplementarias en el PCA.

Para determinar la influencia de la variación geográfica y climática en la clasificación basada en las variables fenotípicas, empleamos un análisis de regresión logística. Mediante un modelo lineal generalizado que emplea como función de enlace la función *logit*, se estimó un modelo de regresión donde las variables geográficas y climáticas actúan como variables independientes y el grupo de variación fenotípica como variable binaria dependiente, incorporando las variables independientes paso a paso (*stepwise*) por medio de ratios de verosimilitud (LTR).

Complementariamente, obtuvimos las matrices de correlaciones de Pearson entre todos los caracteres fenotípicos y parámetros geográficos y climáticos y los valores de los ejes de los dos análisis de componentes principales realizados usando el software STATISTICA 7®.



## IV RESULTADOS

### IV.1 Crecimiento y desarrollo reproductivo entre 2005 y 2012

En 2005, la altura media de las plantas en los bloques estudiados fue de  $167,1 \pm 1,7$  cm (media  $\pm$  error estándar) con una supervivencia del 89,4%. En el año 2010, la altura media fue  $324,5 \pm 3,5$  cm con una supervivencia del 87,6%. En 2012, la altura media aumentó hasta los  $411,5 \pm 3,8$  cm con una supervivencia del 87,4 %.

En 2005 el 59,8% de los individuos aún eran juveniles, esto es, no mostraron caracteres reproductivos. El 31,6% del total presentó conos femeninos, y solamente el 8,6% tuvo conos masculinos. En 2010, incluyendo los conos aún de los años 2008 y 2009 (presentes en la copa, ya fueran abiertos o cerrados), el número de individuos juveniles descendió hasta el 11,0% mientras que los femeninos y masculinos experimentaron un considerable aumento con un 62,5% y un 29,0% respectivamente. En el año 2012 la observación cuantitativa de floración masculina y femenina mostró un ligero incremento del número de juveniles (14,1%), mientras que los femeninos decrecieron hasta el 53,0% y los masculinos aumentaron hasta el 33,0% (Fig. 2).

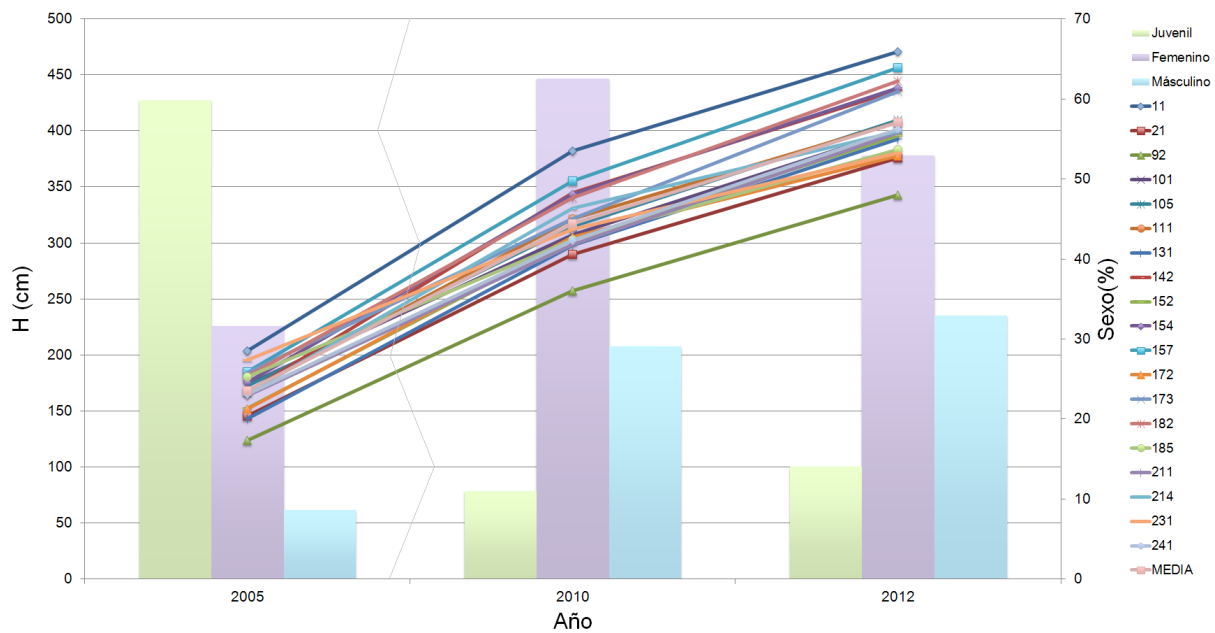


Figura 2. Comparación por procedencia de medias de altura y desarrollo reproductivo en P24OLM en 2005, 2010 y 2012.

Los tamaños umbrales de reproducción femeninos variaron desde 131,3 cm (procedencia 172) hasta 289,9 cm en la procedencia 211. Los tamaños umbrales de reproducción masculinos mostraron un rango aún mayor. La población 92 fue la que se reprodujo con menor tamaño, 153,5 cm, y además fue la única población cuyo tamaño umbral para la reproducción masculina fue superior al de la femenina. La

población que mostró un mayor tamaño umbral de reproducción masculino, fue de nuevo la procedencia griega 211, con 529,9 cm. La procedencia 182 mostró un tamaño umbral masculino muy cercano al femenino, con unos valores de 217,4 y 213,7 cm respectivamente, mientras que las procedencias 11, 211, 154, 152 y 214 destacaron por sus amplias diferencias de tamaño umbral masculino y femenino, siempre mayor el primero (Fig. 3).

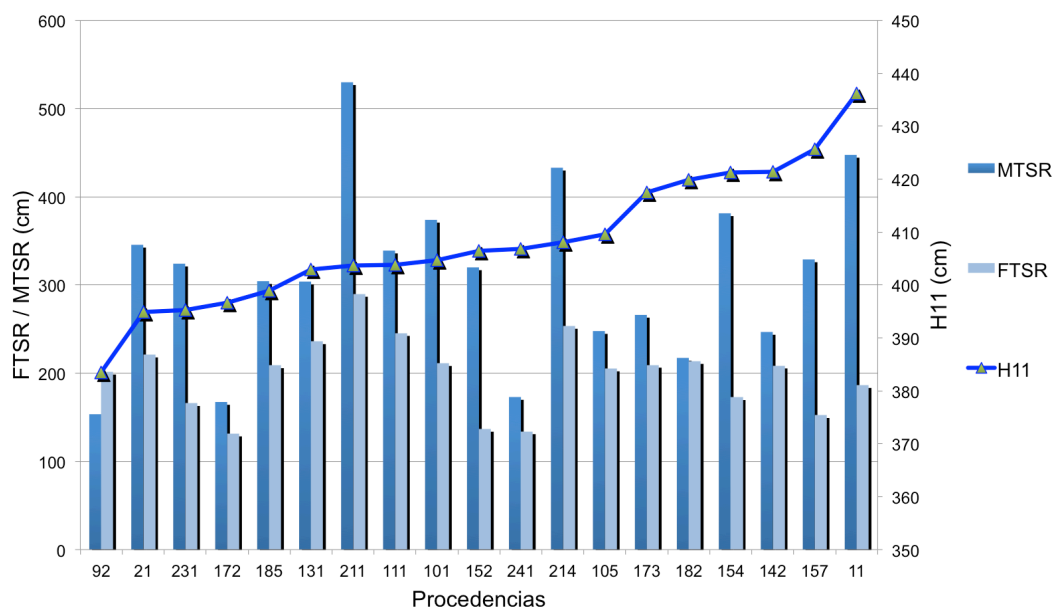


Figura 3. Tamaños umbrales para la reproducción masculina (MTSR) y femenina (FTSR) para las procedencias de estudio ordenadas según su altura en 2011.

#### IV.2 Variación entre procedencias (univariante)

La serotinia (SEROT) mostró diferencias significativas entre procedencias ( $p < 0.0001$ ) (Tabla 5). Las procedencias españolas 11 y 154 destacaron por un nivel de serotinia bajo, con unos valores de 22,4% y 30,1% respectivamente (Fig. 4a). Las procedencias extranjeras presentaron todas una serotinia elevada, con porcentajes superiores al 78%. El conteo de conos ( $CC_{0809}$ ) presentó igualmente diferencias significativas entre procedencias ( $p < 0.0001$ ) destacando como máximas productoras de conos las procedencias 231 y 241, con 26,6 y 46,6 conos por árbol, respectivamente. Por otro lado, la procedencia 92 mostró el menor número de conos (2,50). La floración masculina estimada ( $MC_{12}$ ) mostró unas diferencias muy significativas entre procedencias ( $p < 0.0001$ ). La población 173 produjo una media de 44,7 conos, mientras que otras (11, 111, 142 y 185) mostraron valores extremadamente bajos (Fig. 4c). El porcentaje de corteza ( $BARK_1$ ) medido en el sitio de ensayo de Montañana mostró diferencias significativas a nivel de procedencia ( $p < 0.0001$ ) (Tabla 5). La procedencia 211 fue la que presentó mayor porcentaje, un 14,0%. Por otro lado, la población 241 registró el menor porcentaje, 10,0%. Por último, el peso del piñón

(SEED<sub>w</sub>) mostró también diferencias significativas entre procedencias ( $p < 0.0001$ ). Destacan por su mayor peso las procedencias 111, 131, 173 y 214, y en el extremo opuesto las procedencias 142, 211, 231 y 241. Las medias por procedencia del diámetro a la altura del pecho (DBH<sub>11</sub>) no mostraron diferencias significativas (Tabla 5).

Tabla 5. Estimación de modelos de caracteres y significación de efecto procedencia (PROV). Los seis primeros son los que se emplean en el PCA (activas).

Carácter	Modelo	Df	AIC	BIC	logLik	Chisq	Df	Pr(>Chisq)	
SEROT	Cbind (abierta, cerrada) ~ (1   PROV)	3	337,17	344,9	-165,59	706,38	1	<2,20E-16	***
CC <sub>0809</sub>	CC <sub>0809</sub> ~ (1   PROV)	3	2066,6	2076,6	-1030,3	1316,8	1	<2,20E-16	***
MC <sub>12</sub>	MC <sub>12</sub> ~ (1   PROV)	3	4339,6	4349,6	-2166,8	1973,4	1	<2,20E-16	***
BARK <sub>1</sub>	BARK <sub>1</sub> ~ (1   PROV)	4	1466	1480,4	-728,98	30,838	1	2,81E-08	***
SEED <sub>w</sub>	SEED <sub>w</sub> ~ (1   proc/arbol/piña)	5	14180	14209	-7085,1	1569,4	1	<2,20E-16	***
DBH <sub>11</sub>	DBH <sub>11</sub> ~ REP + (1   PROV)	6	1792,2	1811,8	-890,09	1,2601	1	0,2616	n.s.
H <sub>11</sub>	H <sub>11</sub> ~ REP + (1   PROV)	4	2376,3	2389,5	-1184,2	2,407	1	0,1208	n.s.
RGR <sub>H</sub>	RGR <sub>H</sub> ~ REP + (1   PROV)	6	-780,37	-760,52	396,18	16,291	1	5,43E-05	***
WOOD	WOOD ~ d.hbark + (1   PROV)	5	2089,2	2105,5	-1039,6	2,7005	1	0,1003	n.s.
DISPERS	DISPERS ~ (1   proc/arbol/piña)	5	31336	31365	-15663	1810	1	<2.20E-16	***

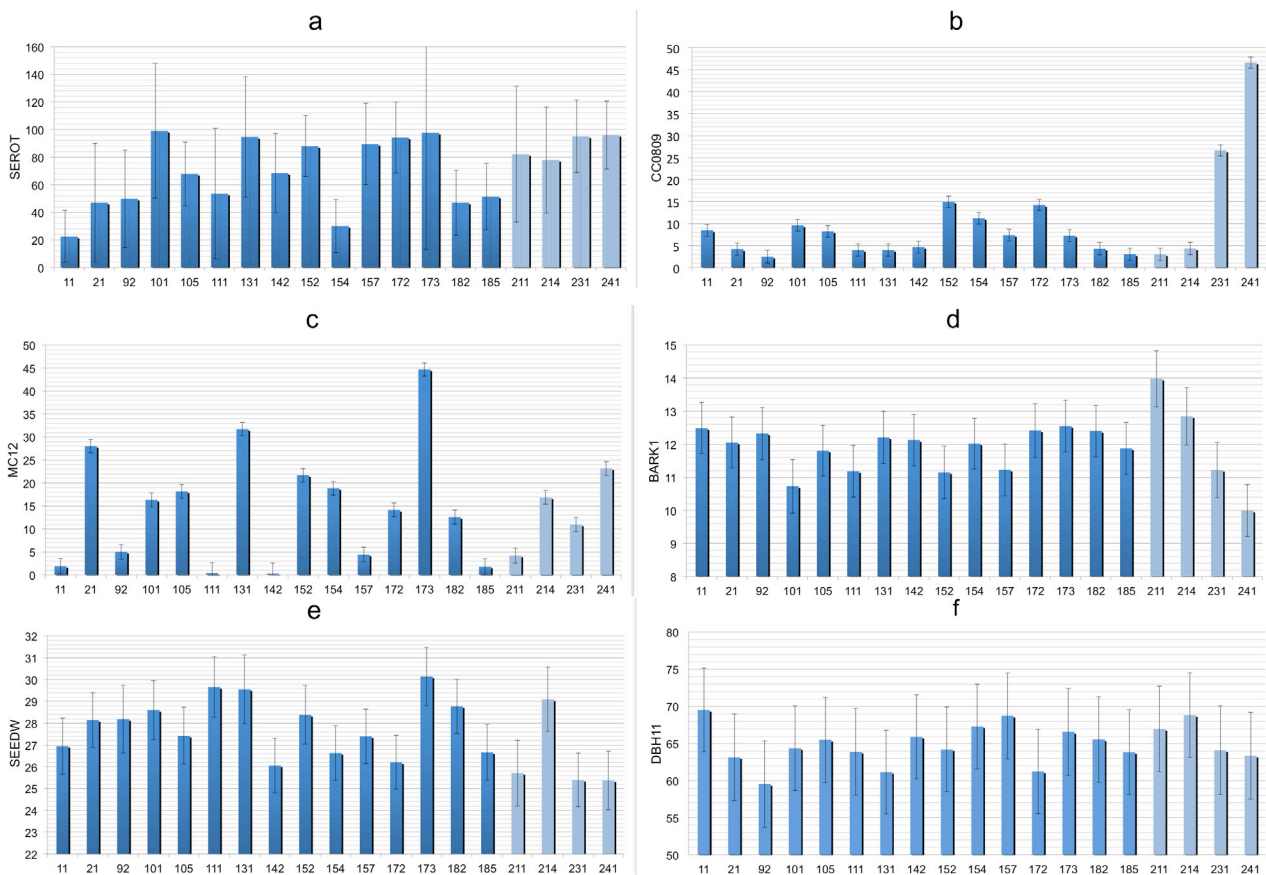


Figura 4. Medias por población y errores estándar de los caracteres empleados en los análisis de componentes principales. (a. serotinia, SEROT; b. número de conos femeninos 2008-2009, CC<sub>0809</sub>; c. conos masculinos, MC<sub>12</sub>; d. porcentaje de corteza, BARK<sub>1</sub>; e. peso de semilla, SEED<sub>w</sub>; f. diámetro 2011, DBH<sub>11</sub>).

### IV.3 Asociación entre caracteres y clasificación de procedencias

Los datos de partida para el análisis multivariante fueron las medias corregidas por procedencia para las variables que representan los tres procesos básicos de historia vital (crecimiento, reproducción y mantenimiento). Entre todas las variables analizadas, elegimos aquellas que presentaron variación significativa entre procedencias (SEROT, CC<sub>0809</sub>, MC<sub>12</sub>, BARK<sub>1</sub>, SEED<sub>W</sub>). Las excepciones fueron el diámetro, que incorporamos como mejor variable descriptiva del tamaño, a pesar de no mostrar efecto significativo de la procedencia, y la capacidad de dispersión de las semillas (DISPERS) y tasa de crecimiento relativo (RGR<sub>H</sub>), que no se incorporaron pese a mostrar diferencias significativas, buscando simplificar la interpretación adaptativa de los resultados. No obstante, representamos estas dos variables, más los tamaños umbrales de reproducción (FTSR y MTSR) y la densidad de madera (WOOD) como variables suplementarias, para permitir visualizar la relación entre las variables fenotípicas.

El análisis de Componentes Principales mostró dos ejes significativos (autovalor >1) que explicaron una varianza acumulada del 61,62% (38,62% y 23,00%, respectivamente). Se realizó la proyección de las variables activas y suplementarias en los dos ejes (Fig 5a). El número de conos (CC<sub>0809</sub>) se presentó como la variable más influyente en el primer eje del PCA ( $r=0,88$   $p<0,05$ ), seguida de la serotinia (SEROT), porcentaje de corteza (BARK<sub>1</sub>) con  $r=0,76$   $p<0,05$  y  $r=-0,74$   $p<0,05$ , respectivamente. Por otro lado, el peso de la semilla (SEED<sub>W</sub>) y el número de conos masculinos (MC<sub>12</sub>) fueron las dos variables más correlacionadas con el segundo eje ( $r=0,83$   $p<0,05$  y  $r=0,54$   $p<0,05$ ) (Tabla A2 en datos suplementarios).

El número de conos femeninos (CC<sub>0809</sub>) se correlacionaron positivamente con la serotinia (SEROT) ( $r=0,50$   $p<0,05$ ) y negativamente con el porcentaje de corteza (BARK<sub>1</sub>);  $r=-0,37$  n.s. y  $r=-0,63$   $p<0,05$ , respectivamente (Tabla A2). El peso de las semillas (SEED<sub>W</sub>) no mostró correlaciones significativas con las restantes variables activas, pero sí una correlación negativa casi significativa con el número de conos femeninos ( $r=-0,44$   $p<0,1$ ). Cabe destacar la fuerte correlación negativa existente entre FTSR y CC<sub>0809</sub>,  $r=-0,77$   $p<0,05$ . Por otro lado, existe una correlación positiva significativa entre BARK<sub>1</sub> y FTSR,  $r=0,60$   $p<0,05$  (Tabla A2).

Mediante el análisis clúster de K-medias, a partir de las coordenadas de las procedencias en los ejes factoriales, se generaron dos grupos (Fig. 5b). El primer clúster está formado por un total de 12 procedencias, caracterizadas por valores elevados de DBH<sub>11</sub> y BARK<sub>1</sub>, además de las dos suplementarias MTSR y FTSR

(reproducción tardía en tamaño). El segundo clúster contiene un total de 7 procedencias, caracterizadas por valores altos de los caracteres reproductivos (MC<sub>12</sub> SEROT, CC<sub>0809</sub>). El peso de la semilla (SEED<sub>w</sub>) contrapuesto al n° de conos femeninos (CC<sub>0809</sub>), representaría un eje de variación a lo largo de este grupo, entre procedencias con pocos conos pero semillas grandes (131 y 173) y las de comportamiento opuesto (231 y 241). Además, este grupo se caracterizó por valores altos de RGR<sub>H</sub>, WOOD y DISPERS, en orden decreciente de importancia.

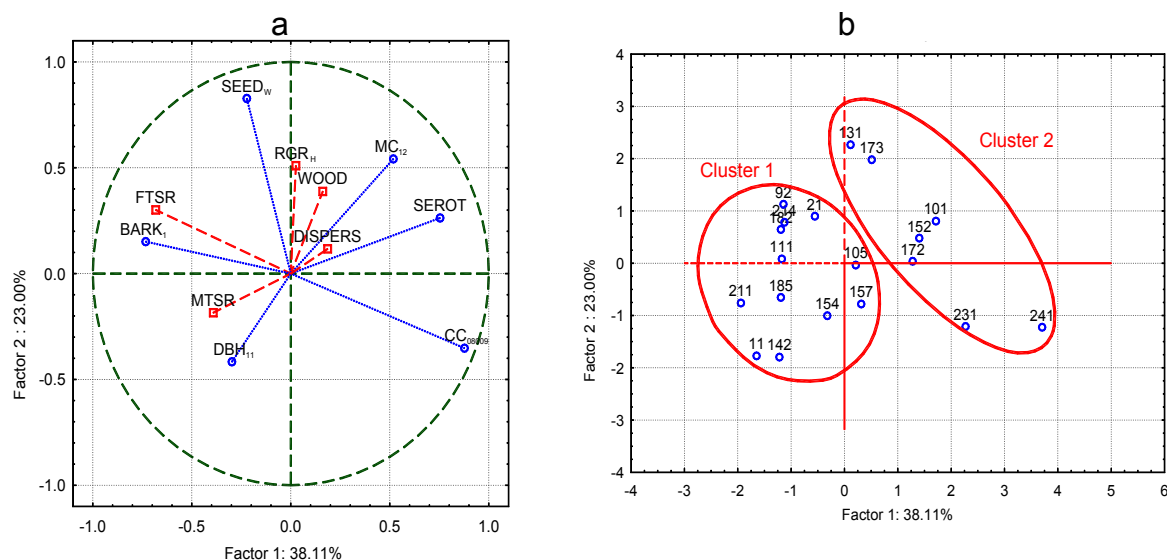


Figura 5. a. Proyección de las variables fenotípicas activas y pasivas en los dos ejes significativos del análisis de componentes principales. (variables con círculo, activas; cuadrado, suplementarias  
 b. Proyección de las procedencias en los mismos ejes, señalando los dos grupos obtenidos por clúster mediante k-medias.

#### IV.4 Patrones de variación climática y geográfica.

En cuanto al análisis de las variables climáticas de origen de las procedencias de estudio, el PCA mostró dos componentes significativas (autovalor > 1), explicando ambas un 78,55%. El primer factor presentó una varianza del 43,86% mientras que el segundo fue de 34,69%. En la proyección de las variables en los ejes seleccionados podemos observar que, salvo las variables de precipitación anual y estival (P y Ps), muy correlacionadas ( $r=0,52$   $p<0,05$ ), las otras dos variables presentan ejes de variación casi equidistantes. La variable suplementaria altitud (ALT) está fuertemente correlacionada con la oscilación térmica anual (TAR),  $r=0,58$   $p<0,05$ , y con la temperatura media anual (MAT),  $r=-0,66$   $p<0,05$  (Tabla A2). También existe otra correlación entre las variables suplementarias latitud (LAT) y precipitación estival (Ps),  $r=0,69$   $p<0,05$  (Tabla A2). La altitud (ALT) está correlacionada negativamente con la longitud (LONG) y la latitud (LAT) ( $r=-0,64$   $p<0,05$  y  $r=-0,46$   $p<0,05$ , respectivamente (Tabla A2), indicando una mayor altitud de las procedencias hacia el Sur y Oeste.

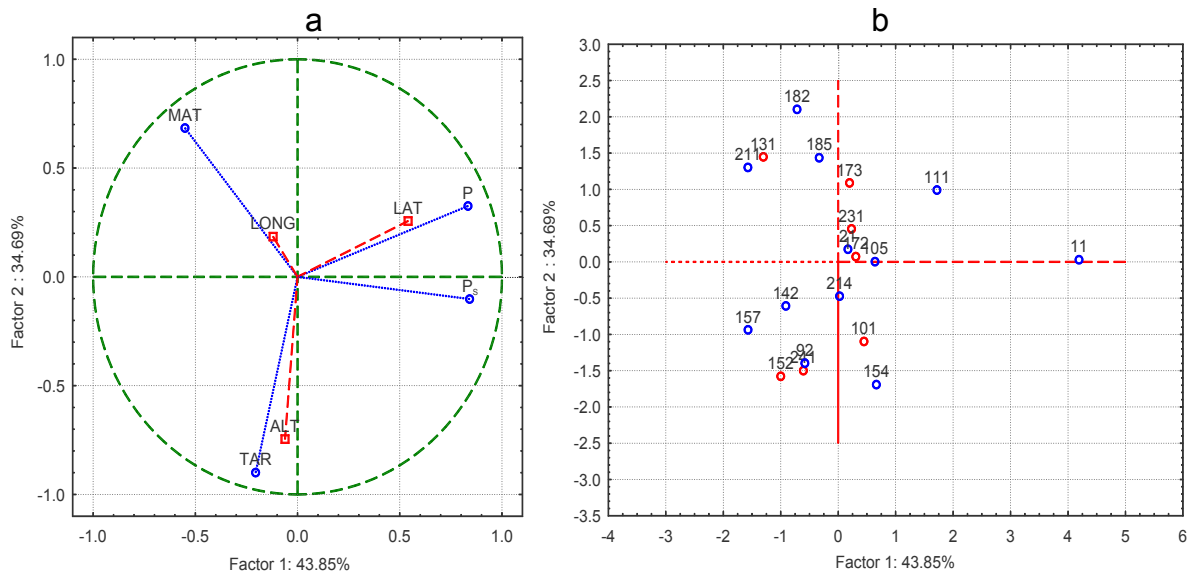


Figura 6. a. Proyección de las variables climáticas activas y geográficas (suplementarias) en los dos ejes significativos del análisis de componentes principales. var. activas, azules; suplementarias, cuadrado. b. Proyección de las procedencias en los mismos ejes, con indicación de los grupos (clúster) obtenidos del análisis de k-medias de variables fenotípicas (Clúster 1, puntos azules; clúster 2, puntos rojos).

Se aprecia la ausencia de relación entre la variación climática y la clasificación (clústers) obtenida a partir de las variables fenotípicas (Fig. 6b). Este hecho se confirmó mediante el análisis de regresión logística, en el que sólo se incorporó la latitud (LAT) con un efecto significativo ( $p < 0,05$ ), de forma que se detectó una mayor presencia de la estrategia representada por el clúster 2 hacia menores latitudes (Fig. A1 en datos suplementarios).

No obstante, observando la relación variable a variable, sí encontramos algunas correlaciones significativas (Tabla A2). El porcentaje de corteza se correlacionó negativamente con la altitud y positivamente con la temperatura media anual ( $r = -0,49$   $p < 0,05$  y  $r = 0,49$   $p < 0,05$ , respectivamente). La serotinia se correlacionó negativamente con la latitud ( $r = -0,64$   $p < 0,05$ ) y con la precipitación estival ( $r = -0,54$   $p < 0,05$ ). El tamaño umbral de reproducción masculina mostró una correlación positiva tanto con la longitud ( $r = 0,52$   $p < 0,05$ ) como con la latitud ( $r = 0,45$   $p < 0,1$ ). El tamaño umbral de reproducción femenina mostró correlaciones negativas significativas con la altitud y el rango de temperatura anual,  $r = -0,51$   $p < 0,05$  y  $r = -0,56$   $p < 0,05$ , respectivamente. El número de conos femeninos se correlacionó negativamente con la latitud ( $r = -0,43$   $p < 0,1$ ), la densidad de madera presentó una correlación negativa con la precipitación estival (Ps),  $r = -0,44$   $p < 0,1$ . La dispersión de las semillas presentó correlaciones con la altitud y la temperatura media anual, la primera de ellas negativa ( $r = -0,40$   $p < 0,1$ ) y la segunda positiva ( $r = 0,42$   $p < 0,05$ ).

## V DISCUSIÓN

En el presente trabajo hemos abordado el estudio de la variación intraespecífica de estrategias de historia vital en *Pinus halepensis* a partir de múltiples caracteres cuantitativos, evaluados durante el cambio de fase reproductivo en un ensayo de procedencias en campo.

### V.I Reproducción femenina y masculina

El tamaño umbral de reproducción es un concepto muy empleado en estudios en animales y plantas herbáceas, pero hasta ahora muy poco aplicado a especies arbóreas (Schmida et al., 2000) y aún menos con algún control de las condiciones ambientales o de la variación genética (p. ej. Santos et al., 2010, y en prensa).

Nuestros resultados indican que, en las condiciones del ensayo, prácticamente todas las procedencias comenzaron su etapa reproductiva como femeninas, alcanzándose la sincronía sexual paulatinamente. Este hecho concuerda con observaciones previas, tanto en otros ensayos de procedencias (Climent et al., 2008; Santos-del-Blanco et al., 2010) como en masas naturales en Israel (Schmida et al., 2000). Esta clara prioridad de la función femenina, tanto en edad como en tamaño (la altura umbral para la reproducción femenina fue 199 cm frente a 311 cm para la masculina), podría incrementar el éxito reproductivo en situaciones de perturbaciones frecuentes como los incendios, donde los árboles adultos supervivientes pueden polinizar los conos femeninos del regenerado post-incendio (Ne'eman et al., 2004).

En relación a la primera pregunta formulada en los objetivos, encontramos diferencias entre procedencias en el tamaño umbral de reproducción tanto femenina como masculina, siendo el primero más homogéneo entre procedencias (Fig.3). Este resultado contrasta con el obtenido en procedencias de *Pinus pinaster* por Santos-del-Blanco (2012), en donde fue el tamaño para la reproducción femenina el más diferenciado entre procedencias. Esta disparidad podría tener relación con el distinto peso de la competencia y las perturbaciones entre ambas especies, en línea con la teoría de las estrategias de Grime (1977). No obstante, en *P. halepensis* las procedencias precoces en reproducción femenina tienden a serlo también en reproducción masculina (Tabla A2), por lo que, al menos a nivel de procedencia no observamos un compromiso entre ambas funciones ni la existencia de una diferenciación genética en la asignación sexual.

## V.II Otros caracteres de historia vital

La serotinia se acepta ampliamente como uno de los principales caracteres de historia vital en el subgénero *Pinus* ligado a la adaptación al fuego, al permitir el almacenaje de semillas en un banco aéreo y su liberación abrupta cuando las condiciones para la germinación son óptimas (Schwilk and Ackerly, 2001; He et al., 2012). Por ello, es relevante que en nuestro experimento el grado de serotinia varíe ampliamente entre procedencias (entre el 20 y el 100 %), de forma semejante a lo observado en procedencias de *P. pinaster* (Tapias et al., 2004). Este resultado es el primero obtenido en *Pinus halepensis* que confirme diferencias genéticas entre procedencias en serotinia, al mismo tiempo que otros trabajos en curso están revelando una heredabilidad alta entre familias dentro de procedencias (Hernández et al., in prep).

Hay que resaltar la correlación positiva que encontramos entre serotinia y número de conos femeninos, de forma que una alta fecundidad femenina precoz implicaría un banco aéreo aún mayor. Las poblaciones con esta combinación de caracteres tendrían una clara ventaja en escenarios de fuegos recurrentes, minimizando el riesgo de inmadurez; es decir, la muerte de los regenerados post-incendio antes de que produzcan semillas viables (Tapias et al., 2001; Ne'eman et al., 2004).

Por otra parte, el espesor de corteza se encontró más correlacionado con el tamaño umbral de reproducción femenina que con la serotinia, de modo que la reproducción femenina más tardía va ligada a un mayor espesor de corteza. La literatura ha dado mucho mayor relieve a la evolución conjunta (opuesta) entre espesor de corteza y serotinia (Keeley and Zedler, 1998; Schwilk and Ackerly, 2001 ; He et al., 2012) pero en general se ha prestado poca atención a la correlación entre precocidad en la reproducción y espesor de corteza entre poblaciones. Este resultado es muy coherente con los postulados de la teoría de historia vital, ya que una alta inversión en reproducción precoz va ligada en general a expectativas de poca longevidad (Stearns, 1976), por lo que el coste de la corteza como elemento clave de mantenimiento-supervivencia podría no compensar. En especies no rebrotadoras, la corteza gruesa sólo asegura la supervivencia de los árboles con fuegos de suelo o sotobosque si los de los árboles tienen una talla y desarrollo suficiente (Keeley and Zedler 1998; Rigolot, 2004). En este sentido, la reproducción precoz y el mantenimiento de un banco aéreo de semillas podría resultar contra-adaptativo dado que la reproducción tiene un coste en crecimiento (Schmidting, 1981; Karlsson and Mendez, 2005) lo que parece constatarse en esta especie tanto por correlaciones genéticas negativas (Santos-del-Blanco et al., 2010) como mediante experimentos manipulativos (Santos-del-Blanco,



com. pers.). No está claro hasta qué punto la serotinia es también costosa en esta especie, pero se ha sugerido por evidencias indirectas (Espelta et al., 2011).

El peso de las semillas es otro carácter ampliamente reconocido como relevante en las historias vitales de especies forestales, que ha mostrado diferencias entre procedencias muy significativas y hasta ahora inexploradas en esta especie. Las procedencias con cosechas de piñas más abundantes tendieron a registrar un menor peso del piñón (Tabla A2). Las semillas grandes permiten un mayor crecimiento y supervivencia de las plántulas (p.ej. Castro, 1999) mientras que semillas ligeras podrían tener a priori una mayor capacidad de dispersión anemófila (Benkman, 1995; Keeley and Zedler, 1998), lo que no parecen confirmar nuestros resultados. En principio, la prioridad a la producción de numerosas semillas fácilmente dispersables por el viento se ajusta más a la estrategia colonizadora del pino carrasco (Grotkopp et al., 2002). Este posible compromiso entre tamaño y capacidad de dispersión de las semillas en esta especie necesita aún mayor experimentación.

Por último, el hecho de no encontrar diferencias significativas entre procedencias ni en altura ni en diámetro podría parecer sorprendente, teniendo en cuenta que la altura es el principal carácter cuantitativo en el que se basa la mayor parte de la literatura sobre adaptación en especies forestales (p. ej. Matyas, 1994; Rehfeldt et al., 2000). Sin embargo, hay evidencias de una baja diferenciación entre poblaciones en tamaño en especies Mediterráneas, sobre todo en sitios de ensayo desfavorables (López et al., 2007; Schiller and Atzmon, 2009). En efecto, en una réplica de nuestro ensayo plantada en condiciones menos favorables, la diferenciación entre procedencias en diámetro y biomasa resultó aún menor (Santos-del-Blanco et al., en prep.).

### **V.III Integración fenotípica en estrategias de historia vital**

La evaluación de la variación conjunta de caracteres mediante análisis multivariante se ha utilizado ampliamente en estudios de historias vitales de Pinus (Strauss and Ledig, 1985; Keeley and Zedler, 1998; Grotkopp et al., 2002; Tapias et al., 2004). En nuestro caso, los dos grupos (clústers) obtenidos para *P. halepensis* tienen una interpretación directa como reflejo de dos estrategias contrastadas. La primera de ellas representa una mayor inversión en crecimiento y mantenimiento (corteza) a expensas de una menor reproducción precoz de ambos sexos y menor grado de serotinia y la segunda es la constelación opuesta de caracteres. Este resultado confirma los obtenidos en trabajos anteriores, basados sólo en reproducción femenina y crecimiento (Climent et al., 2008; Santos-del-Blanco et al., 2010). Así, una parte de las poblaciones de pino carrasco evaluadas mantienen una cierta tendencia a la estrategia “evasora” en

relación al fuego, frente a las que han exacerbado la tendencia de “abrazar” el fuego, según los postulados de Schwilk y Ackerly (2001). La primera estrategia estaría algo más cercana a la de *Pinus brutia*, la especie genéticamente más próxima y la cual contacta con *P. halepensis* en el Mediterráneo oriental (Grivet et al., in prep). Por otra parte, en el grupo 2 (reproductores precoces) se observa más claramente el compromiso entre número de conos y peso de semillas ya comentado.

#### **V.IV Patrones de variación geográfica y climática**

Las correlaciones variable a variable han confirmado un patrón observado en los trabajos previos ya mencionados: la existencia de un gradiente noreste-sudoeste de aumento de la precocidad e intensidad reproductivas, a las que podemos sumar la serotinia como nuevo resultado (Tabla A2). Entre los factores climáticos se confirma la relación entre el rango anual de temperaturas y la reproducción femenina (Climent et al., 2008), y se observa una disminución del porcentaje de corteza con la altitud. Sin embargo, sólo la latitud logró explicar alguna parte significativa de la segregación entre las dos estrategias basadas en todos los caracteres de historia vital conjuntamente. En general, los patrones de variación clinal genética o fenotípica en árboles forestales se ha observado más claramente en latitudes elevadas (p.ej. Hurme et al., 1997), mientras que en el Mediterráneo parecen ser los factores climáticos (temperatura o sequía estival) los que hasta ahora explican mejor los posibles patrones de variación genética adaptativa (Voltas et al., 2008; Grivet et al., 2011).

En cualquier caso, en los patrones de variación (o en la ausencia de ellos) que hemos observado pueden estar influyendo simultáneamente varios factores. La primera explicación es un proceso de adaptación local dirigido por la presión selectiva de varios factores, sobre todo una combinación entre frecuencia e intensidad de perturbaciones y fertilidad del sitio, que ya se ha comentado (Tapias et al., 2004; Keeley and Zedler, 1998). En concreto, en relación a la serotinia, los trabajos centrados en poblaciones post-incendio en España y Norte América han dado mucho peso a la historia reciente de incendios para explicar las diferencias entre poblaciones (Tapias et al., 2001; Gauthier et al., 1996), justificadas por un previsible control genético simple de este carácter, un *locus* con 2 alelos (Teich, 1970; Perry and Lotan, 1979). Sin embargo, nuestros datos no provienen de regenerados post-incendio, sino de la descendencia de poblaciones naturales que han mantenido una cierta estabilidad y flujo genético entre zonas más y menos afectadas por incendios recientes.

Pero a la adaptación local podrían sumarse otras causas, como la historia poblacional, sobre todo la colonización relativamente reciente del Oeste del mediterráneo desde las

poblaciones orientales, más antiguas (Grivet et al., 2009). Como hemos visto, son precisamente las poblaciones griegas las que presentan caracteres ancestrales, más similares a los de *Pinus brutia*. Podría también tratarse de una introgresión de genes de *P. brutia* en *P. halepensis* en zonas donde contactan ambas especies, pero estaría limitada por el hecho de que la hibridación solo funciona cuando *P. halepensis* poliniza a *P. brutia* (Panetsos, 1975) y no al contrario.

Por último sería preciso combinar los resultados de este trabajo con la variación molecular neutra y adaptativa con el fin de detectar otros procesos evolutivos no adaptativos, como la deriva genética, que tal vez podrían explicar el comportamiento extremo de algunas poblaciones. Igualmente, no podemos descartar el posible efecto de las interacciones bióticas con todo tipo de organismos, tanto simbióticos como herbívoros o predadores de semillas, pero para aclarar estos efectos se necesitarán probablemente otros dispositivos experimentales y una diferente escala de estudio.

## VI CONCLUSIONES

1. Prácticamente todas las procedencias del ensayo comenzaron su etapa reproductiva como femeninas, alcanzando la sincronía sexual paulatinamente.
2. Se encontró un efecto significativo de la procedencia en el tamaño umbral de reproducción tanto femenina como masculina, siendo el primero más homogéneo entre procedencias.
3. Las procedencias precoces en reproducción femenina tendieron a serlo también en reproducción masculina, por lo que no se aprecia un compromiso entre ambas funciones ni diferenciación genética en la asignación sexual.
4. Se ha constatado por primera vez la existencia de diferencias genéticas entre procedencias de pino carrasco en el grado de serotinia, con amplias diferencias, entre el 20 y el 100 %.
5. La serotinia y el número de conos femeninos están positivamente correlacionados, lo que implica que las procedencias más serótinas acumulan bancos aéreos de semillas mucho mayores que las menos serótinas.
6. El espesor de corteza estuvo más correlacionado con el tamaño umbral de reproducción femenina que con la serotinia, de modo que la reproducción femenina más tardía va ligada a un mayor espesor de corteza.
7. El peso de las semillas mostró diferencias entre procedencias muy significativas, y las procedencias con cosechas de piñas más abundantes tendieron a registrar un menor peso del piñón.
8. La ausencia de diferencias genéticas entre procedencias en el crecimiento en altura o diámetro es consistente con otros trabajos en pinos mediterráneos, en particular cuando las condiciones de ensayo son desfavorables para el crecimiento.
9. Los análisis multivariantes revelaron dos grupos diferenciados por su combinación de caracteres: el primero de ellos con una mayor inversión en crecimiento y corteza a expensas de una menor reproducción precoz de ambos sexos y menor grado de serotinia y el segundo con la constelación opuesta de caracteres. Esta separación es coherente con una divergencia en estrategias de historia vital.
10. Se observó un gradiente noreste-sudoeste de aumento de la precocidad e intensidad reproductivas y serotinia. Sin embargo, es la latitud la única variable geográfica o climática que explica significativamente la separación entre los dos grupos de procedencias basados en el conjunto completo de caracteres.

## VII AGRADECIMIENTOS

Esta investigación se ha desarrollado como parte de los proyectos VamPiRo “Efectos demográficos y selectivos del fuego en plantas mediterráneas: Variación molecular y pirofitismo. Demographic and selective effects of fire in Mediterranean plants: Molecular Variation and Pyrophytism” (CGL2008-05289-C02) y MITIGENFOR “Variabilidad genética y plasticidad fenotípica en la capacidad de captura de carbono y resiliencia en pinos mediterráneos” (RTA2011-00016-00-00) pertenecientes al Ministerio de Ciencia e Innovación.

Agradezco el esfuerzo de aquellas personas que han hecho posible la existencia de este programa de Máster y Doctorado, incluyendo el Instituto de Gestión Forestal Sostenible.

Mi más sincero agradecimiento a José Climent Maldonado y Luis Santos del Blanco que me han guiado durante todo el trabajo. Agradezco también el apoyo incondicional de todo el equipo de campo compuesto por Diana Barba, Fernando del Caño, Eduardo Ballesteros y Abel Blanco. Así como a Paco Auñón, Apolinar Saldaña, Isabel Rodríguez, Ricardo Alía, Regina Chambel y Rafael Calama. A compañeros del máster y del Instituto y a toda la gente que han aportado mucho a mi madurez personal.

Por último, y de modo muy especial, a mis padres y hermano que siempre han estado aguantándome en los peores momentos.

## VIII BIBLIOGRAFÍA

- Abràmoff MD, Magalhães PJ, Ram SJ. 2004. Image Processing with ImageJ. *Biophotonics International* 11: 36–42.
- Aitken SN, Yeaman S, Holliday JA, Wang T, Curtis-McLane S. 2008. Adaptation, migration or extirpation: climate change outcomes for tree populations. *Evolutionary Applications* 1: 95–111.
- Alía R, Moro J, Denis JB. 1997. Performance of *Pinus pinaster* provenances in Spain: interpretation of the genotype by environment interaction. *Canadian Journal of Forest Research* 27: 1548–1559.
- Aranda I, Alía R, Ortega U, Dantas ÂK, Majada J. 2009. Intra-specific variability in biomass partitioning and carbon isotopic discrimination under moderate drought stress in seedlings from four *Pinus pinaster* populations. *Tree Genetics & Genomes* 6: 169–178.
- Bates D, Maechler M, Bolker B. 2011. Package lme4: linear mixed-effects models using S4 classes. R package version 0.999375-42. <http://CRAN.R-project.org/package=lme4>.
- Benkman CW. 1995. Wind dispersal capacity of pine seeds and the evolution of different seed dispersal modes in pines. *Oikos* 73: 221–224.
- Bond, WJ., Van Wilgen BW. 1996. *Fire and plants*. Chapman and Hall, London, UK.
- Callahan H, Waller D. 2000. Phenotypic integration and the plasticity of integration in an amphicarpic annual. *International Journal of Plant Sciences* 161: 89–98.
- Castro J. 1999. Seed mass versus seedling performance in Scots pine: a maternally dependent trait. *New Phytologist*, 144(1), 153–161.
- Chambel MR, Climent J, Barba D, Notivol E, Alía R (2011). Genotype-Environment interaction in Iberian pines and its importance in restoration programs. In: *Restoring Forests: Advances in techniques and theory*. Madrid, 27-29 de septiembre 2011
- Charnov EL. 1990. On evolution of age of maturity and the adult lifespan. *Journal of Evolutionary Biology* 144: 139–144.
- Chew SJ, Bonser SP. 2008. The evolution of growth rate, resource allocation and competitive ability in seeder and resprouter tree seedlings. *Evolutionary Ecology* 23: 723–735.
- Climent J, Chambel MR, López R, Mutke S, Alía Ricardo, Gil Luis. 2006. Population divergence for heteroblasty in the Canary Island pine (*Pinus canariensis*, Pinaceae). *American Journal of Botany* 93: 840–848.
- Climent J, Prada MA, Calama R, Chambel MR, Sánchez De Ron D, Alía R. 2008. To grow or to seed: ecotypic variation in reproductive allocation and cone production by young female Aleppo pine (*Pinus halepensis*, Pinaceae). *American Journal of Botany* 95: 833–842.
- Climent J, San-Martín R, Chambel MR, Mutke S. 2010. Ontogenetic differentiation between Mediterranean and Eurasian pines (sect. *Pinus*) at the seedling stage. *Trees* 25: 175–186.
- Climent J, Tapias R, Pardos José A, Gil L. 2004. Fire adaptations in the Canary Islands pine (*Pinus canariensis*). *Plant Ecology formerly Vegetatio* 171: 185–196.
- Cobb NS, Trotter RT, Whitham TG. 2002. Long-term sexual allocation in herbivore resistant and susceptible pinyon pine (*Pinus edulis*). *Oecologia* 130: 78–87.
- Critchfield WB. 1957. *Geographic variation in Pinus contorta*. Harvard University, Cambridge.
- De Las Heras J, Moya D, López-Serrano F, Condés S. 2007. Reproduction of postfire *Pinus halepensis* Mill. stands six years after silvicultural treatments. *Annals of Forest Science* 64: 59–66.
- Espelta JM, Arnan X, Rodrigo A. 2011. Non-fire induced seed release in a weakly serotinous pine: climatic factors, maintenance costs or both?. *Oikos* 120: 1752-1760.
- Eveno E, Collada C, Guevara MA, Léger V, Soto A, Díaz L, Léger P, González-Martínez SC, Cervera MT, Plomion C, Garnier-Géré PH. 2008. Contrasting patterns of selection at *Pinus pinaster* Ait. drought stress candidate genes as revealed by genetic differentiation analyses. *Molecular Biology and Evolution* 25: 417–437.

- García-Esteban L, Martín JA, Palacios P, García Fernández F, López R. 2009. Adaptive anatomy of *Pinus halepensis* trees from different Mediterranean environments in Spain. *Trees* 24: 19–30.
- Gauthier S., Bergeron Y. and Simon J-P. 1996. Effects of fire regime on the serotiny level of jack pine. *Journal of Ecology* 84: 539– 548.
- Gil L, Díaz-Fernández PM, Jiménez MP, Roldan M, Alía R, De Miguel J, Martín S, De Tuero M. 1996. Las regiones de procedencia de *Pinus halepensis* Mill. en España. Organismo Autónomo Parques Nacionales, Madrid. 97 pp.
- González-Martínez SC, Alía R, Gil L. 2002. Population genetic structure in a Mediterranean pine (*Pinus pinaster* Ait.): a comparison of allozyme markers and quantitative traits. *Heredity* 89: 199–206.
- Gonzalo-Jiménez J. 2010. Diagnóstico fitoclimático de la España peninsular: hacia un modelo de clasificación funcional de la vegetación y de los ecosistemas peninsulares españoles. Organismo Autónomo de Parques Nacionales.
- Grime JP. 1979. *Plant strategies and vegetation processes* (Chichester, Ed.). Wiley.
- Grivet D, Sebastiani F, Alía R, Bataillon T, Torre S, Zabal-Aguirre M, Vendramin GG, González-Martínez SC. 2011. Molecular footprints of local adaptation in two Mediterranean conifers. *Molecular Biology and Evolution* 28: 101–116.
- Grivet D, Sebastiani F, González-Martínez Santiago C, Vendramin GG. 2009. Patterns of polymorphism resulting from long-range colonization in the Mediterranean conifer Aleppo pine. *The New phytologist* 184: 1016–1028.
- Grotkopp E, Rejmánek M, Rost TL. 2002. Toward a causal explanation of plant invasiveness: seedling growth and life-history strategies of 29 pine (*Pinus*) species. *The American naturalist* 159: 396–419.
- Hadfield J. 2011. Package “MCMCglmm” Reference manual. : <http://cran.r-project.org/web/packages/MCMCglmm/MC>
- He T, Pausas JG, Belcher CM, Schwilk DW, Lamont BB. 2012. Fire-adapted traits of *Pinus* arose in the fiery Cretaceous. *The New phytologist* 194: 751–759.
- Hijmans RJ, Cameron SE, Parra JL, Jones PG, Jarvis A, others. 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology* 25: 1965–1978.
- Hoffmann, A. A. 2004. Genetic correlations, tradeoffs and environmental variation. *Heredity*, 241–248.
- Hurme P, Repo T, Savolainen O, Paakkonen T. 1997. Climatic adaptation of bud set and frost hardiness in Scots pine (*Pinus sylvestris*). *Canadian Journal of Forest Research*, 27(5), 716–723.
- Isik F, Isik K, Yildirim T, Li B. 2002. Annual shoot growth components related to growth of *Pinus brutia*. *Tree Physiology* 22: 51–58.
- Kang H. 2007. Changes in gender expression in Korean populations of *Pinus densiflora* over a five-year period. *Journal of Plant Biology* 50: 181–189.
- Karlsson, PS, Mendez M. 2005. The resource economy of plant reproduction. In E. Reekie & F. A. Bazzaz (Eds.), *Reproductive Allocation in Plants* London: Elsevier Academic Press, pp. 1–47.
- Keeley JE, Zedler PH. 1998. Evolution of life histories in *Pinus*. *Ecology and Biogeography of Pinus* (ed. D.M. Richardson), pp. 219–251. Cambridge University Press, Cambridge.
- Keeley JE. 2012. Ecology and evolution of pine life histories. *Annals of Forest Science*: 445–453.
- Knapp, AK, Anderson JE. 1980. Effect of heat on germination of seeds from serotinous lodgepole pine cones. *The American Midland Naturalist* 104:370-372.
- Koenig WD, Knops JMH, Carmen WJ, Stanback MT. 1994. Estimating acorn crops using visual surveys. *Canadian Journal of Forest Research* 24: 2105–2112.

- Le Houérou HN. 1974. Fire and vegetation in the Mediterranean basin. Annual Tall Timber Fire Ecology Conference 13: 237–277.
- López R, Zehavi A, Climent J, Gil L. 2007. Contrasting ecotypic differentiation for growth and survival in *Pinus canariensis* (Pinaceae). Australian Journal of Botany, 55, 1–11.
- Matyas C. 1994. Modeling climate-change effects with provenance test data. *Tree Physiology*, 14(7-9), 797–804.
- McQueen, JB. 1967. Some Methods for Classification and Analysis of Multivariate Observations. Proceedings of the 5th Berkeley Symposium on Mathematical Statistics and Probability, 281-297.
- Nathan R, Safriel UN, Noy-Meir I, Schiller G. 1999. Seed release without fire in *Pinus halepensis*, a Mediterranean serotinous wind-dispersed tree. *Journal of Ecology* 87: 659–669.
- Ne'eman G, Goubitz S, Nathan R. 2004. Reproductive traits of *Pinus halepensis* in the light of fire – a critical review. *Plant Ecology* 171: 69–79.
- Panetsos KP. 1975. Natural hybridization between *Pinus halepensis* and *Pinus brutia* in Greece. *Silvae Genetica*, 24(5-6), 163–168.
- Pausas JG, Bradstock R, Keith D, Keeley J E. 2004. Plant functional traits in relation to fire in crown-fire ecosystems. *Ecology* 85: 1085–1100.
- Perry DA, Lotan JE. 1979. A model of fire selection for serotiny in lodgepole pine. *Evolution* 33: 958–968.
- Petit RJ, Hampe A. 2006. Some Evolutionary Consequences of Being a Tree. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 37: 187–214.
- Poorter L, McDonald I, Alarcón A, Fichtler E, Licona JC, Peña-Claros M, Sterck F, Villegas Z, Sass-Klaassen U. 2010. The importance of wood traits and hydraulic conductance for the performance and life history strategies of 42 rainforest tree species. *The New phytologist* 185: 481–492.
- Rehfeldt, GE, Tchebakova NM, Parfenova YI, Wykoff WR, Kuzmina N, Milyutin LI. 2002 . Intraspecific responses to climate in *Pinus sylvestris*. *Global Change Biology*, 8(9), 912–929.
- Reznick D. 1985. Costs of Reproduction: An Evaluation of the Empirical Evidence Costs of reproduction: an evaluation of the empirical evidence. *Oikos* 44: 257–267.
- Richardson DM, Williams PA, Hobbs RJ. 1994. Pine Invasions in the Southern Hemisphere: Determinants of Spread and Invasibility. *Journal of Biogeography* 21: 511–527.
- Rigolot E. 2004. Predicting postfire mortality of *Pinus halepensis* Mill. and *Pinus pinea* L. *Plant Ecology* 171: 139–151.
- Roff DA. 1992. The evolution of life histories: theory and analysis. Chapman & Hall.
- Roff DA, Fairbairn DJ. 2007. The evolution of trade-offs: where are we? *Journal of evolutionary biology* 20: 433–447.
- Rossi S, Anfodillo T, Menardi R. 2006. Trephor: a new tool for sampling microcores from tree stems. *lawa Journal* 27: 89–97.
- Sachs T. 1999. “Node counting”: an internal control of balanced vegetative and reproductive development. *Plant, Cell and Environment* 22: 757–766.
- Santos-del-Blanco L, Notivol E, Zas R, Chambel M.R., Majada J, Climent J. 2010. Variation of early reproductive allocation in multi-site genetic trials of Maritime pine and Aleppo pine. *Forest Systems* 19: 381–392.
- Santos-del-Blanco L, Climent JM, González-Martínez SC, Pannell JR. 2012. Genetic differentiation for size at first reproduction through male versus female functions in the widespread Mediterranean tree *Pinus pinaster*. *Annals of Botany*.
- Schiller G. 2000. Inter- and intra-specific genetic diversity of *Pinus halepensis* Mill. and *P-brutia* Ten. Ecology, biogeography and management of *Pinus halepensis* and *P. brutia* forest ecosystems in the Mediterranean Basin. 13–35.
- Schlichting CD, Pigliucci M. 1995. Gene-regulation, quantitative genetics and the evolution of reaction norms. *Evolutionary Ecology* 9: 154–168.



- Schwilk DW. 2002. Plant Evolution in Fire-Prone Environments. Ph. D. dissertation Stanford University, Stanford.
- Schwilk DW, Ackerly DD. 2001. Flammability and serotiny as strategies: correlated evolution in pines. 2: 326–336.
- Shmida A, Lev-Yadun S, Goubitz S, Ne'eman G. 2000. Sexual allocation and gender segregation in *Pinus halepensis*, *P. brutia* and *P. pinea*. In: Ne'eman G, Trabaud L. eds. Ecology, biogeography and management of *Pinus halepensis* and *P. brutia* Mediterranean pine forest ecosystems. Leiden: Backhuys Publishers, 9–104.
- Schiller G, Atzmon N. 2009. Performance of Aleppo pine (*Pinus halepensis*) provenances grown at the edge of the Negev desert: A review. *Journal of Arid Environments* 73, 1051–1057.
- Schmidtling RC. 1981. The inheritance of precocity and its relationship with growth in loblolly pines. *Silvae genetica* 30, 188–192.
- Stearns SC. 1976. Life-history tactics: a review of the ideas. *The Quarterly Review of Biology* 51: 3–47.
- Strauss SH, Ledig FT. 1985. Seedling Architecture and Life History Evolution in Pines *The American Naturalist* Vol. 125, No. 5, 702–715
- Tapias R, Climent J, Pardos Jose A, Gil L. 2004. Life histories of Mediterranean pines. *Plant Ecology* 171: 53–68.
- Tapias R, Gil Luis, Fuentes-Utrilla P, Pardos Jose A. 2001. Canopy seed banks in Mediterranean pines of south-eastern Spain: a comparison between *Pinus halepensis* Mill., *P. pinaster* Ait., *P. nigra* Arn. and *P. pinea* L. *Journal of Ecology* 89: 629–638.
- Teich AH. 1970. Cone serotiny and inbreeding in natural populations of *Pinus banksiana* and *Pinus contorta*. *Canadian Journal of Botany* 48: 1805–1809.
- Thanos CA, Daskalaku E.N. 2000. Reproduction in *Pinus halepensis* and *P. brutia*. In: Ne'eman G. and Trabaud L. (eds), Ecology, Biogeography and Management of *Pinus halepensis* and *P. brutia* Ecosystems in the Mediterranean Basin. Backhuys Publishers, Leiden, pp. 79–90.
- Valencia S, Vargas J. 1997. Método empírico para estimar la densidad básica en muestras pequeñas de madera. *Madera y Bosques* 3: 81–87.
- Van Gelder HA, Poorter L, Sterck FJ. 2006. Wood mechanics, allometry, and life-history variation in a tropical rain forest tree community. *The New phytologist* 171: 367–378.
- Verdú M. 2002. Age at maturity and diversification in woody angiosperms. *Evolution* 56: 1352–1361.
- Voltas J, Chambel MR, Prada MA, Ferrio JP. 2008. Climate-related variability in carbon and oxygen stable isotopes among populations of Aleppo pine grown in common-garden tests. *Trees-Structure and Function* 22: 759–769.
- Westoby M. 2007. Generalization in functional plant ecology: the species sampling problem, plant ecology strategies scheme and phylogeny. In: Puignaire, F. I., & Valladares, F. (Eds.). (2007). *Functional Plant Ecology*. Environment, 685–704.

## **IX DATOS SUPLEMENTARIOS**

Tabla A1. Procedencias empleadas del dispositivo experimental P24-Valdeolmos.

País	Codigo	Región Ecológica	Procedencia	Localización	Longitud	Latitud	Altitud (m)	Temperatura media (°C)	Rango anual de temperatura (°C)	Precipitación (mm)	Precipitación estival (mm)
España	P011CAB	1	Cataluña	Cabanellas	2°47'00"E	42°14'51"N	221	14.2	27	858	208
España	P021TIV	1	Cataluña	Tivissa	0°50'06"E	42°19'46"N	368	15.3	27.4	566	75
España	P092TUE	4	Maestrazgo-Los Serranos	Tuéjar	1°09'33"W	39°49'06"N	665	15	32.2	385	91
España	P111BIM	4	Maestrazgo-Los Serranos	Benicasim	0°01'33"E	40°04'37"N	449	14.2	21.9	699	90
España	P101TIB	5	Levante Interior	Tibi	0°38'55"W	38°31'08"N	993	13	27.2	503	58
España	P105BIC	5	Levante Interior	Bicorp	0°51'30"W	39°06'12"N	619	14.75	27	598.5	80.5
España	P131VIL	5	Levante Interior	Villajoyosa	0°18'14"W	38°29'44"N	98	16.8	23.8	431	51
España	P142MVA	6	Bética Septentrional	Monovar	0°57'27"W	38°23'05"N	760	14.7	28	387	51
España	P152BEN	7	Bética Meridional	Benamaurel	2°44'19"W	37°42'05"N	914	14.3	31.8	394	44
España	P154SAN	7	Bética Meridional	Santiago de la Espada	2°28'03"W	38°13'35"N	761	13.6	32.6	608	66
España	P157ESP	7	Bética Meridional	Alhama de Murcia	3°01'19"W	37°45'10"N	818	15.6	32.6	433	29
España	P172CAR	8	Sur	Carratraca	4°50'01"W	36°50'32"N	643	14.85	28.6	699.5	33
España	P173FRI	8	Sur	Frigiliana	3°55'13"W	36°49'03"N	583	15.2	24.6	696	26
España	P182PMC	9	Mallorca	Palma de Mallorca	2°56'26"E	39°08'56"N	46	16.7	21.9	563	40
España	P185GAL	9	Mallorca	Son Martí/Calviá	2°29'13"E	39°35'14"N	272	15.8	22.3	526	55
Grecia	P211IST	12	Grecia	Istaia-eyboia	23°30'46"E	38°44'29"N	27	17.47	27.2	506	35
Grecia	P214KAS	12	Grecia	Kassandra	23°54'27"E	40°05'13"N	173	14.37	27.7	510	61
Italia	P231TAR	14	Italia	Litorale Tarantino	17°07'04"E	40°37'08"N	106	15.17	25.5	551	76
Túnez	P241THA	15	Túnez	Thala	8°39'00"E	35°33'60"N	527	14.89	33.6	467	63



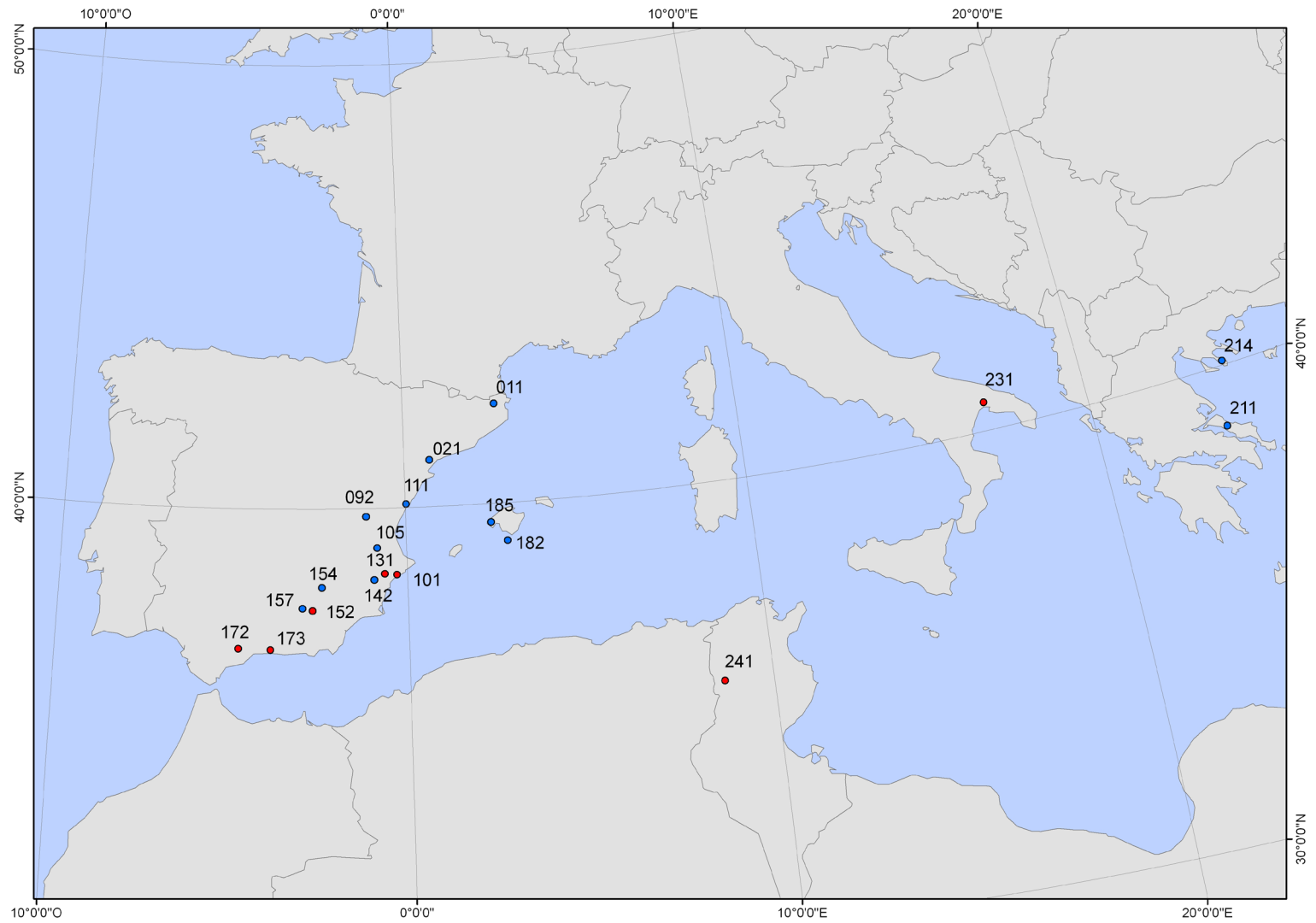


Figura A1. Procedencias del ensayo P24OLM coloreadas según el clúster fenotípico al que pertenecen. Rojo: clúster 2; azul; clúster 1.