



7º CONGRESO FORESTAL ESPAÑOL

**Gestión del monte: servicios
ambientales y bioeconomía**

26 - 30 junio 2017 | Plasencia
Cáceres, Extremadura

7CFE01-014

Edita: Sociedad Española de Ciencias Forestales
Plasencia. Cáceres, Extremadura. 26-30 junio 2017
ISBN 978-84-941695-2-6

© Sociedad Española de Ciencias Forestales

Serotinia, carácter adaptativo clave en pino carrasco: influencia de factores endógenos y exógenos

MARTÍN-SANZ, R.C.^{1,2}, SANTOS-DEL-BLANCO, L.³, TONNABEL, J.⁴, CALLEJAS-DÍAZ, M.¹, NOTIVOL, E.⁵, CHAMBEL, M.R.², SAN-MARTÍN, R.^{2,6} y CLIMENT, J.^{1,2}

¹ Departamento de Ecología y Genética Forestal (INIA-CIFOR).

² Instituto Universitario de Investigación y Gestión Forestal Sostenible (UVa-INIA).

³ IDForest-Biotecnología Forestal Aplicada.

⁴ Departamento de Ecología y Evolución, Biophore Building. Universidad de Lausanne (Suiza).

⁵ Unidad de Recursos Forestales (CITA).

⁶ Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias, Universidad de Valladolid.

Resumen

La serotinia es un carácter adaptativo clave en plantas frente al fuego, pero puede verse influida por otros factores ambientales y fisiológicos. Determinar sus componentes de variación es fundamental para entender cómo los bosques podrán enfrentarse al aumento de temperatura, y la mayor frecuencia y severidad de sequías e incendios en las regiones mediterráneas. Utilizamos un ensayo de procedencias de pino carrasco replicado en tres sitios de ambiente contrastado para estudiar la plasticidad de la serotinia y realizamos diferentes experimentos manipulativos para comprobar la existencia de factores endógenos que afectan a la apertura de sus conos. La serotinia varió entre los tres sitios, incluso descontando el efecto alométrico (menor serotinia a mayor tamaño del árbol) y se confirmó la variabilidad genética. Además, la duración de la serotinia en esta especie implica la asignación de agua a los conos a través de sus pedúnculos, sugiriendo la existencia de costes de mantenimiento. Confirmando nuestras hipótesis, los ambientes desfavorables para el crecimiento de esta especie provocaron la liberación precoz de semillas, como efecto directo del ambiente además del propio estatus fisiológico del árbol. Estos resultados sugieren un riesgo en resiliencia de los pinares de pino carrasco bajo los nuevos escenarios de cambio climático.

Palabras clave

Costes de mantenimiento, ecosistemas mediterráneos, plasticidad fenotípica, *Pinus halepensis*, serotinia.

1. Introducción

La serotinia, es decir, el mantenimiento cerrado de los conos del banco aéreo después de su maduración, es un carácter adaptativo clave de las plantas como respuesta al fuego (ENRIGHT et al. 1996; PAUSAS et al. 2004). Sin embargo, existen diferentes mecanismos para la apertura de los conos que sincronizan la liberación de semillas con diferentes condiciones ambientales (LAMONT 1991; NATHAN et al. 1999). En concreto, las condiciones muy secas y calurosas provocan la apertura de los conos liberando las semillas incluso en ausencia de fuego, lo que se conoce como xeriscencia (NE'EMAN et al. 2004; ESPELTA et al. 2011; ALFARO-SÁNCHEZ et al. 2015). Las especies xeriscentes plantean cuestiones interesantes sobre el papel de la interacción de los efectos genéticos y ambientales en la serotinia.

Además de los diferentes mecanismos involucrados en la apertura de los conos, existe también una alta variabilidad en la serotinia, tanto entre especies (KEELEY & ZEDLER 1998; HE et al. 2012; TONNABEL et al. 2012) como entre poblaciones de la misma especie, frecuentemente con un significado ecotípico (TAPIAS et al. 2004; HERNÁNDEZ-SERRANO et al. 2013; CASTELLANOS et al.

2015). Se han encontrado evidencias de control genético de la serotinia en algunas especies, ligando el aumento de la serotinia al aumento de la frecuencia de fuegos de copa (TEICH 1970; HERNÁNDEZ-SERRANO et al. 2013). Recientemente, se ha demostrado que la serotinia en *Pinus halepensis* es moderadamente heredable (h^2 0.20) y presenta una moderada diferenciación genética entre poblaciones (HERNÁNDEZ-SERRANO et al. 2014).

La plasticidad fenotípica (la habilidad de un genotipo para generar diferentes valores fenotípicos para un determinado carácter bajo condiciones ambientales distintas) es una estrategia importante con la que las plantas pueden maximizar su fitness en ambientes fluctuantes (BRADSHAW 1965; SCHEINER 1993), pero muchos caracteres fenotípicos en plantas varían en función del crecimiento y el desarrollo. Por ello, las conclusiones relacionadas con la plasticidad fenotípica pueden cambiar si se tienen en cuenta las diferencias de desarrollo (ontogénicas; WRIGHT & MCCONNAUGHAY 2002; VALLADARES et al. 2006). La manera habitual de revelar este componente ontogénico de la plasticidad es estudiar su alometría, esto es, la variación de un carácter determinado con el tamaño del individuo (WRIGHT & MCCONNAUGHAY 2002; WEINER 2004). De hecho, existen indicios de que la variación de la serotinia en diferentes especies muestra un componente alométrico (NE'EMAN et al. 2004; TAPIAS et al. 2004; BRIAND et al. 2014), pero falta una cuantificación directa.

Otro factor que puede influir en la expresión de la plasticidad fenotípica de la serotinia es si el mantenimiento de los conos seróticos supone un coste para el árbol. Mientras se asume que los conos seróticos de algunas angiospermas como *Banksia* o *Leucadendron* dependen del aporte de agua de la planta para abrirse o mantenerse cerrados (CRAMER & MIDGLEY 2009; TONNABEL et al. 2012), la apertura de los conos de las coníferas se suele considerar únicamente dependiente de condiciones externas (NATHAN et al. 1999). Sin embargo, el estado fisiológico del árbol parece afectar a la apertura de los conos en *Cupressus* (LEV-YADUN 1995) y en el pino carrasco (ESPELTA et al. 2011), sugiriendo una posible competencia por el agua entre los conos más viejos y los más jóvenes. Además de algunos estudios (ESPELTA et al. 2011; ALFARO-SÁNCHEZ et al. 2015), las observaciones de campo muestran que los conos seróticos se abren abundantemente después de años secos y calurosos en diferentes bosques de pino carrasco. Por tanto, determinar si la serotinia es un carácter plástico y si existen factores endógenos que afectan a la apertura de los conos es fundamental para entender cómo estos bosques podrán hacer frente a las previsiones de mayor frecuencia de sequías, incrementos de temperatura y mayor frecuencia y severidad de incendios en las regiones mediterráneas (ver por ejemplo, PIÑOL 1998; MEEHL & TEBALDI 2004).

2. Objetivos

Los objetivos concretos de este trabajo son (1) determinar la alometría de la serotinia de *P. halepensis* bajo ambientes diferentes, (2) estudiar la existencia de plasticidad fenotípica una vez se han tenido en cuenta los efectos alométricos e (3) investigar si existen factores internos que afectan a la apertura de los conos seróticos, una vez se han tenido en cuenta los demás efectos (incluso la diferenciación genética –procedencias-).

3. Metodología

3.1. Ensayos de campo

Utilizamos cuatro sitios de ensayo pertenecientes a un ensayo de procedencias de pino carrasco, lo que permite separar entre el efecto ambiental y el genético. Se seleccionaron 19 procedencias, representativas de los gradientes geográfico y ambiental principales de la distribución de la especie (CLIMENT et al., 2008). Tres de los sitios de ensayo con ambiente contrastado se utilizaron para estudiar la plasticidad de la serotinia (uno era favorable para el pino carrasco –ALT en adelante-, otro frío-seco –ADE en adelante- y el último caluroso-seco –VED en adelante-). Además, en

el sitio de ensayo favorable –ALT-, y en otro sitio de características similares –OLM en adelante-, se estableció un experimento de campo manipulativo para estudiar los posibles factores endógenos que afectan a la apertura de los conos seróticos en esta especie. La recolección de conos para los experimentos de laboratorio realizados también para el estudio de los factores endógenos, se llevó a cabo en dos plantaciones de pino carrasco de menos de 20 años de edad (Tabla 1), para no eliminar conos de los árboles del ensayo de campo.

Tabla 1. Descripción de los sitios experimentales utilizados en este trabajo para cada objetivo.

Ensayo de procedencias	Objetivo	Altitud (m)	Edad árboles (años)	P (mm)	Pv (mm)	T (°C)	TMMa (°C)	TMMi (°C)
ADE	Plasticidad	844	17	364	94	13.3	22.9	4.1
ALT	Plasticidad y costes	605	17	417	81	14.4	22.9	7.9
OLM	Costes	731	17	475	62	13.6	24.3	4.9
VED	Plasticidad	423	17	402	83	14.1	24.1	5.5
Plantación								
GUA	Costes	840	15	596	69	12.3	22.5	3.8
VAL	Costes	672	17	491	62	13.7	24.5	5.0

P, precipitación anual; Pv, precipitación de los tres meses más cálidos (junio, julio y agosto); T, temperatura media anual; TMMa, temperatura media máxima de los tres meses más cálidos; TMMi, temperatura media mínima de los tres meses más fríos. Todas las variables anteriores proceden de GONZALO-JIMÉNEZ 2010.

3.2. Toma de datos y experimentos manipulativos

Para determinar la plasticidad de la serotinia calculamos el número total de conos femeninos contando retrospectivamente las diferentes cohortes hasta el primer evento de reproducción. Se usó la proporción de conos cerrados (después de la maduración) respecto al total de conos maduros (abiertos y cerrados) en cada árbol como una estimación de su grado de serotinia. Utilizamos la altura a los 15 años como proxy del tamaño del árbol, es decir, como estado ontogénico, debido a que en estas edades el error experimental en la medida del diámetro es elevado. Por último, cuando se considera la alometría de la serotinia en una especie parcialmente serótina, se deben tener en cuenta otros factores que pueden confundir los resultados. Por un lado, cuanto más viejo es un cono hay más probabilidad de que haya sufrido desgaste y exposición a extremos térmicos que provocan xeriscencia. Por otro lado, el inicio de la reproducción femenina en el pino carrasco varía entre sitios y procedencias (SANTOS-DEL-BLANCO et al. 2013). Para evaluar estos efectos en la variación de la serotinia incluimos el ratio entre el número de conos mayores de 4 años y el número total de conos en la última observación (a los 16 años), y el número total de conos femeninos.

Para evaluar los posibles factores endógenos que afectan a la apertura de los conos seróticos en el pino carrasco realizamos tres experimentos, pero antes comprobamos si sería posible una interacción entre el cono y la rama debida a la condición fisiológica del pedúnculo. Los pedúnculos de todos los conos utilizados en este estudio (unos 540) mostraron xilema con albura, de color claro, húmedo al cortarlo y con tejidos corticales vivos, a diferencia de los pedúnculos de otras especies relacionadas (Figura 1).

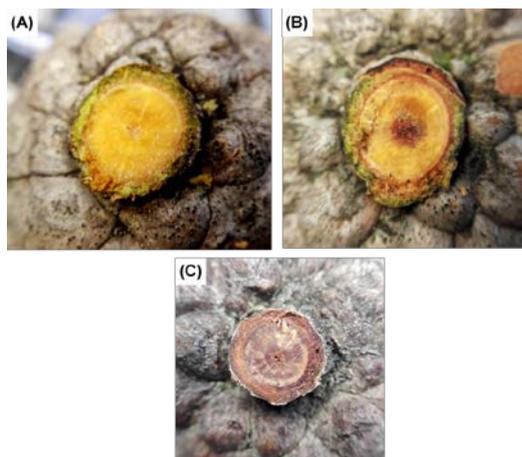


Figura 1. Secciones de pedúnculos de conos seróticos de > de 5 años. (A y B) P. halepensis, (C) P. brutia. El xilema en (A) es completamente albura; en (B) el xilema tiene un duramen incipiente y en (C) es completamente duramen. (A) y (B) muestran tejidos corticales vivos (floema y parénquima cortical), pero (C) no. El 99% de los conos de P. halepensis muestreados en este estudio estaban en el estatus '(A)'.

En el experimento de exploración de laboratorio tratamos de determinar el efecto de la edad de los conos en su apertura (TAPIAS et al. 2001) y la existencia de dos tipos diferentes de conos, lo que podría estar relacionado con diferencias físicas (MOYA et al. 2008; SALVATORE et al. 2010). Recolectamos conos de las dos plantaciones y calculamos la edad de cada uno siguiendo el protocolo de TAPIAS et al. (2001). Introdujimos los conos en una cámara donde la humedad disminuyó y la temperatura aumentó paulatinamente y de forma controlada, y se grabó en video la apertura de los conos para calcular la temperatura acumulada que sufren hasta su apertura. Calculamos también la densidad de cinco escamas de la parte central de cada cono y su contenido de humedad tras el experimento. Debido a los resultados obtenidos en este experimento, continuamos comparando parejas de conos del mismo verticilo.

El experimento de campo se realizó en dos sitios favorables del ensayo de procedencias (ALT y OLM), seleccionando aleatoriamente árboles altamente reproductivos y seróticos. En ellos marcamos tres ramas por árbol con una pareja de conos seróticos del mismo verticilo en cada rama, teniendo en total 87 parejas de conos de 29 árboles en OLM y 69 parejas de conos de 23 árboles en ALT. En cada pareja, uno de los conos se cortó de la rama y se colgó dentro de una cesta en el mismo lugar de la rama (conos cortados) y su pareja se mantuvo en la rama sin tocar (conos en rama; Figura 2). Seguimos el experimento anotando el estado de los conos (abierto o cerrado) durante 125 semanas en OLM y 60 semanas en ALT. También analizamos los efectos genéticos entre procedencias en OLM o entre grupos de procedencias para los dos sitios juntos, debido a una diferente representación de procedencias entre sitios. Para los dos sitios, agrupamos las procedencias con comportamiento similar en reproducción, serotinia y crecimiento en dos grupos muy diferenciados: 'Noreste' con procedencias menos serótinas y con menor asignación reproductiva y 'Suroeste' con procedencias muy serótinas y con alta precocidad y asignación reproductiva.

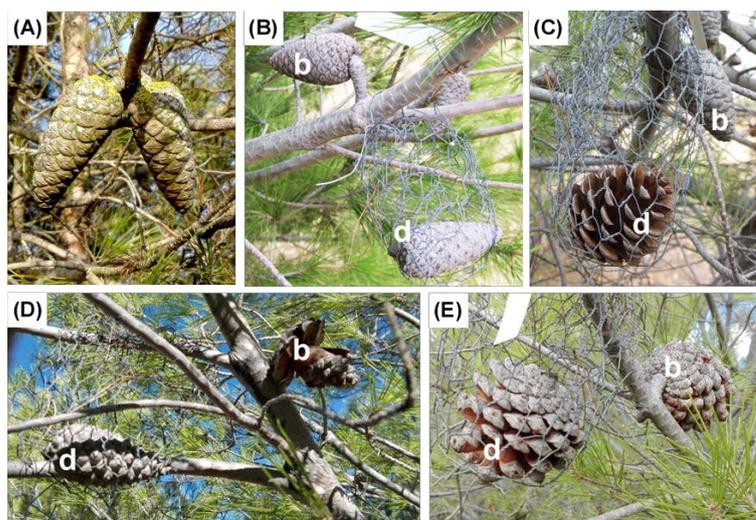


Figura 2. Descripción del experimento manipulativo de campo. (A) Pareja de conos serótinicos cerrados del mismo verticilo de *P. halepensis*. Los pedúnculos gruesos se distinguen fácilmente. (B) 'Cerrado': ambos conos de la pareja, cortado y en rama, se mantienen cerrados; (C) 'Positivo': el cono cortado se abre antes que su pareja en rama; (D) 'Negativo': el cono cortado se abre más tarde que su pareja en rama; (E) 'Abierto': ambos conos de la pareja se abren entre observaciones. b, cono en rama -control-; d, cono cortado.

En el experimento de aporte de agua en laboratorio evaluamos el efecto del aporte de agua a través del pedúnculo en la apertura de los conos. Igual que en el experimento de campo, usamos parejas de conos del mismo verticilo. Ambos conos de la pareja se sometieron a las mismas condiciones controladas de temperatura y humedad en la cámara, pero uno de los conos tuvo aporte externo de agua (conos con agua) y otro se mantuvo seco (conos secos; Figura 3). Calculamos el contenido de humedad de los conos después del experimento y la temperatura acumulada que sufrieron hasta su apertura.

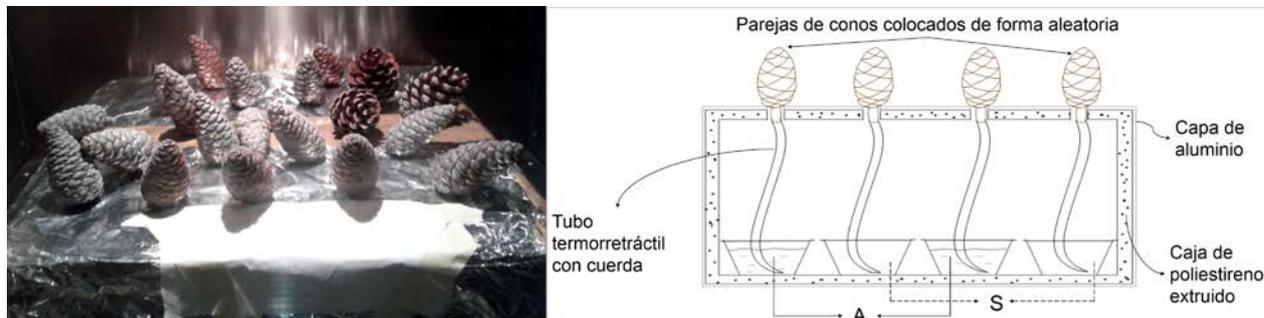


Figura 3. (A) Fotografía de la caja de poliestireno extruido usada dentro de la cámara. Una capa de aluminio cubre la caja para aumentar el aislamiento y prevenir el calentamiento del agua. (B) Esquema del experimento dentro de la caja de poliestireno. A, conos con agua; S, conos secos.

3.3. Análisis de datos

Ajustamos modelos mixtos generalizados (GLMM) binomiales para estudiar el grado de serotinia (número de conos abiertos y cerrados a nivel de árbol individual), incluyendo la interacción sitio por altura, el número total de conos femeninos y el proxy para la edad de los conos como factores fijos, y la interacción procedencia por sitio como aleatorio. Ajustamos también modelos alométricos independientes para la serotinia en cada sitio con procedencia como aleatorio. De este modo definimos el tamaño umbral para la pérdida de la serotinia (TSSL) como el tamaño al cuál el grado de serotinia es del 50%.

La relación entre la temperatura de apertura de los conos y su edad, la densidad de las escamas y el contenido de humedad de los conos después del experimento de exploración de

laboratorio se comprobó mediante correlaciones de Pearson. También analizamos el efecto de esas variables en la temperatura acumulada de apertura de los conos mediante modelos lineales mixtos (LMM).

Los efectos de los tratamientos aplicados a las parejas de conos en su probabilidad de apertura (entre conos cortados y conos en rama en el experimento de campo, y entre conos con agua y conos secos en el de aporte de agua en laboratorio) se analizaron con GLMM binomiales. En el experimento de aporte de agua en laboratorio todos los conos se llegaron a abrir dentro de la cámara por lo que la variable binaria de apertura se estableció como sigue: conos que se abrieron antes que su pareja y conos que se abrieron después. Para comprobar si los conos secos perdieron o no más agua que los conos con agua al final de este experimento, usamos LMM para analizar su cantidad de humedad después del experimento.

Finalmente, evaluamos el progreso del efecto del tratamiento del experimento de campo en OLM mediante el test no paramétrico de McNemar, en el que comparamos las frecuencias de nuestros cuatro casos posibles: “Cerrado”, los dos conos de la pareja se mantienen cerrados; “Positivo”, el cono cortado se abre antes que el cono en rama; “Negativo”, el cono en rama se abre antes y “Abierto”, los dos conos de la pareja se abren entre observaciones.

4. Resultados

4.1. Plasticidad y efectos alométricos y genéticos en la serotinia

El grado de serotinia fue muy diferente entre los tres sitios, encontrando un menor número de árboles muy serotinos (aquellos con más del 80% de conos cerrados) en el sitio seco. Encontramos efecto significativo del ratio de los conos viejos respecto al total de conos ($\chi^2 = 10.60$, $DF = 1$, $P = 0.002$), del número total de conos ($\chi^2 = 12.78$, $DF = 1$, $P < 0.001$), del tamaño del árbol ($\chi^2 = 13.79$, $DF = 3$, $P < 0.001$), del sitio ($\chi^2 = 29.76$, $DF = 4$, $P < 0.001$) y de la interacción sitio por tamaño en la serotinia ($\chi^2 = 5.45$, $DF = 2$, $P = 0.004$). Como esperábamos, un elevado ratio de conos viejos respecto al total y un número alto de conos femeninos indicaron un menor grado de serotinia en todos los sitios de ensayo. Además, a mayor tamaño del árbol menor grado de serotinia en todos los sitios, aunque la interacción del tamaño con el sitio de ensayo resultó en un efecto alométrico en la serotinia distinto para cada sitio, reflejado en los valores del TSSL. En el sitio frío los árboles perdieron la serotinia más rápidamente en términos de tamaño (TSSL = 596 cm; CI: 508-726), que en el sitio seco (TSSL = 791 cm; CI: 497-3197) y en el favorable (TSSL = 1132 cm; CI: 878-1911; Figura 4). Nuestros resultados confirmaron también un efecto genético (procedencias) en la variación de la serotinia.

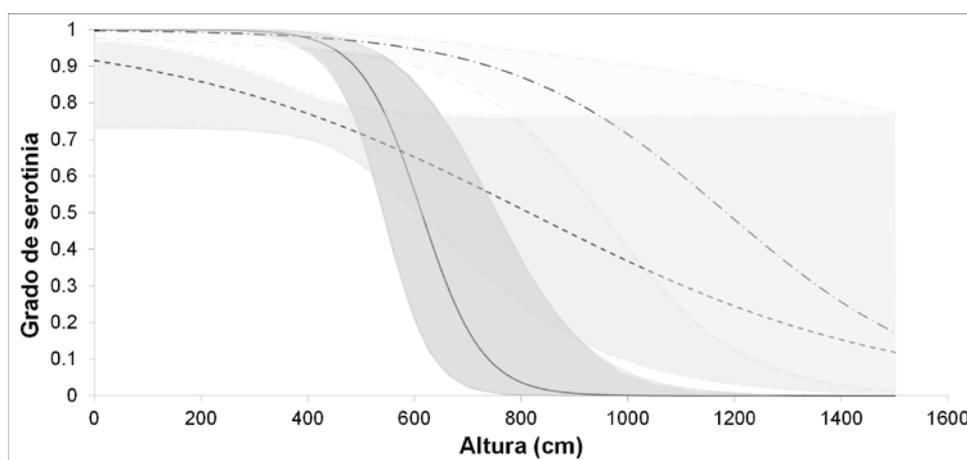


Figura4. Modelos logísticos relacionando el grado de serotinia con la altura del árbol en *P. halepensis* para tres sitios con ambiente contrastado. Los datos incluyen un amplio rango de procedencias, por lo que son representativos de la especie. La línea sólida corresponde a ADE, la línea discontinua corresponde a VED y la línea de puntos y guiones corresponde a ALT. Las líneas y sombras grises representan los intervalos de confianza al 95% para cada modelo.

4.2. Experimento de exploración de laboratorio

Los conos viejos se abrieron a menor temperatura acumulada ($r = -0.33$; $P < 0.0001$) y tuvieron una cantidad de humedad menor después del experimento que los conos jóvenes ($r = -0.24$; $P = 0.005$). La densidad de las escamas no se relacionó con la edad ni la temperatura de apertura de los conos, pero los conos más densos mostraron un menor contenido de humedad ($r = -0.19$; $P = 0.023$). Además, la temperatura de apertura de los conos y la densidad de sus escamas sufrieron una variación continua a lo largo del experimento.

4.3. Experimento manipulativo de campo

La probabilidad de apertura fue mucho mayor para los conos cortados que para los que se mantuvieron en la rama ($\chi^2 = 50.48$, $DF = 1$, $P < 0.001$; $\chi^2 = 38.14$, $DF = 1$, $P < 0.001$, para los dos sitios juntos y para OLM, respectivamente). Los grupos de procedencias para los dos sitios juntos ($\chi^2 = 6.19$, $DF = 2$, $P = 0.045$) y las procedencias en OLM ($\chi^2 = 24.40$, $DF = 12$, $P = 0.018$) influyeron también en la apertura, abriéndose más rápidamente los conos de las procedencias pertenecientes al grupo Noreste (Figura 5A).

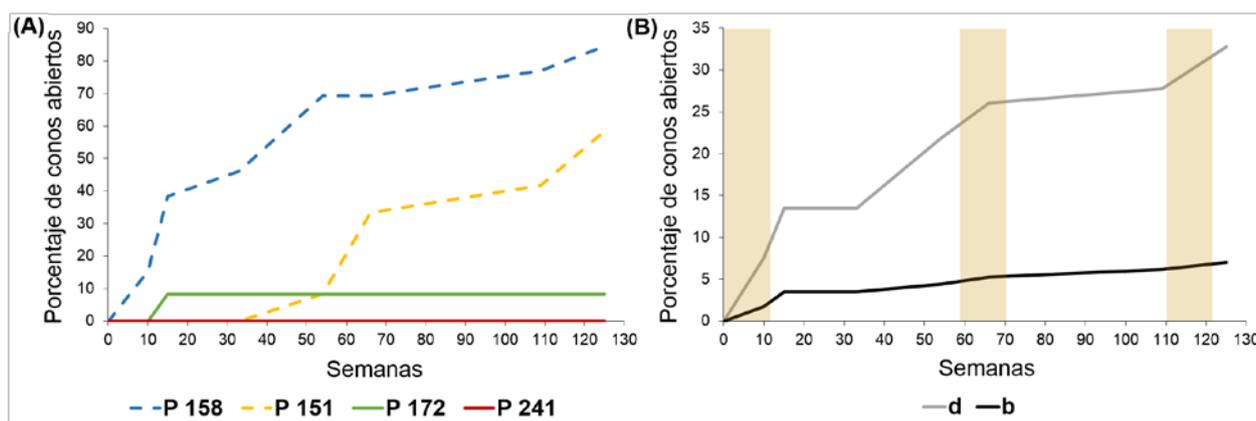


Figura5. Apertura de conos en OLM por procedencia y tratamiento. (A) Porcentaje de conos abiertos para algunas procedencias de comportamiento contrastado pertenecientes a dos grupos de procedencias distintos. Procedencias P 158 y P 151 forman parte del grupo Noreste; procedencias P 172 y P 241 forman parte del grupo Suroeste. (B) Porcentaje de conos abiertos durante el experimento en OLM por tratamiento. Las sombras marrones indican los veranos. b, conos en rama -control-; d, conos cortados.

En OLM, donde el seguimiento del experimento fue más duradero, se observó que los mayores cambios en el porcentaje de conos abiertos ocurrieron durante los veranos (Figura 5B). El test no paramétrico de McNemar mostró que el tratamiento fue significativo desde el inicio del experimento ($\chi^2 = 3.27$, $DF = 1$, $P = 0.070$), aumentando continuamente hasta la última observación ($\chi^2 = 20.93$, $DF = 1$, $P < 0.0001$; Figura 6).

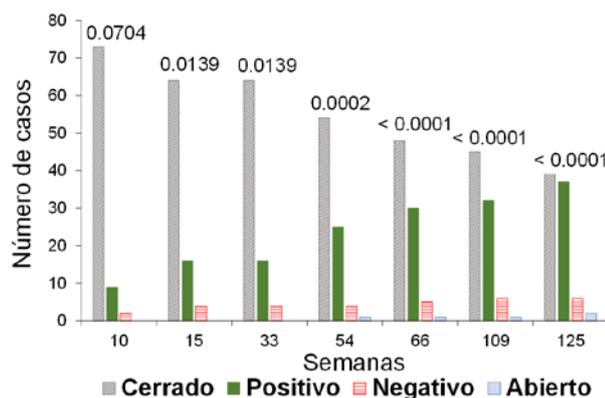


Figura6. Progreso del experimento manipulativo de campo en OLM desde la semana 10 hasta la 125 después de su establecimiento. Las categorías significan: 'Cerrado', ambos conos de la pareja se mantienen cerrados; 'Positivo', el cono cortado se abre antes; 'Negativo', el cono en rama se abre antes; 'Abierto', ambos conos de la pareja se abren entre observaciones. Los números en las barras se corresponden con los p-valores del test de McNemar.

4.4. Experimento de aporte de agua en laboratorio

La probabilidad de apertura de los conos fue menor para los conos con agua que para los conos secos ($P < 0.0001$). Además, los conos con agua tuvieron una cantidad de humedad mayor después del experimento ($P < 0.0001$) y la temperatura acumulada tuvo un efecto positivo en la apertura de los conos ($P = 0.030$).

5. Discusión

Presentamos las primeras evidencias experimentales de plasticidad de la serotinia y del papel clave que desempeñan las condiciones internas en el mantenimiento de los conos seróticos cerrados en una conífera con serotinia variable.

La frecuencia de árboles muy seróticos fue mucho menor en VED (sitio seco) que en ADE y ALT (sitios frío y favorable, respectivamente), resultado esperable teniendo en cuenta que los conos xeriscentes del pino carrasco tienden a abrirse con condiciones calurosas y secas, sin incendio (NATHAN et al. 1999; NE'EMAN et al. 2004; ALFARO-SÁNCHEZ et al. 2015).

Encontramos una relación negativa entre el tamaño del árbol y el grado de serotinia -árboles más grandes son menos seróticos-, pero relacionando estas dos variables en los 3 sitios de ensayo mediante modelos logísticos, descubrimos un patrón de plasticidad menos evidente y propusimos un nuevo parámetro: el tamaño umbral para la pérdida de serotinia (TSSL), que permite una cuantificación directa de la plasticidad alométrica en la serotinia. Según los valores de TSSL, la pérdida de serotinia más rápida se produjo en el ADE (sitio frío) y no en VED (seco; Figura 4). Sin embargo, el ajuste del modelo logístico fue peor en VED debido al bajo número de árboles muy seróticos encontrados allí. Como esperábamos, nuestros resultados también confirmaron la existencia de diferenciación genética entre poblaciones para la serotinia (HERNÁNDEZ-SERRANO et al. 2013) y de diferencias genéticas en la plasticidad de este carácter entre poblaciones (mostrado por la interacción sitio x procedencia). Muy interesante es que el bajo grado de serotinia del sitio seco es una clara evidencia del efecto directo del clima caluroso y seco (xeriscencia; NATAHN et al. 1999), mientras que la comparación entre el sitio frío y el favorable indica plasticidad alométrica en la serotinia debida a una combinación de efectos ambientales directos (exógenos) e indirectos (endógenos). Éstos últimos podrían estar influidos por el estado fisiológico del árbol (ESPELTA et al. 2011), lo que nos llevó a seguir con el resto de experimentos.

Encontramos una variación continua en la temperatura de apertura y en la densidad de las escamas de los conos, lo que no sostiene la existencia de dos tipos de conos diferenciados como se había propuesto anteriormente (MOYA ET AL. 2008; SALVATORE et al. 2010). Además, los conos más viejos se abrieron a menor temperatura (TAPIAS et al. 2001) y perdieron más agua durante el experimento, lo que sugiere una degradación física de los conos viejos como ocurre en otras especies de pinos (ver por ejemplo BENKMAN et al. 2003). Todos estos resultados, junto con la poca diferencia de densidad de las escamas entre conos de diferentes edades, nos hacen rechazar la hipótesis de que la mayor serotinia de los árboles jóvenes se debe a diferencias físicas en las primeras cohortes de conos.

Un hecho fundamental en este estudio es que el xilema del pedúnculo de los conos del pino carrasco se mantienen como albura durante mucho tiempo, permitiendo así la interacción entre el árbol y los conos (Figura 1), aunque se necesitaría un mayor estudio comparativo dentro del género *Pinus*. El experimento manipulativo de campo mostró que los conos cortados se abrieron mucho antes que los que se mantuvieron en la rama, en ambos sitios de ensayo. El uso de parejas de conos nos permitió eliminar las variaciones microambientales entre el cono cortado y el de la rama, al igual que las variaciones debidas a la rama y a la edad del cono. Este experimento de campo fue más informativo en OLM debido a su mayor duración. En este sitio, el efecto del tratamiento mostrado por el test no-paramétrico incrementó a lo largo del tiempo (Figura 6). La apertura de los conos se disparó después de cada verano (Figura 5), especialmente para los conos cortados, lo que demuestra que el ambiente interno modifica claramente la condición xeriscente del pino carrasco. El experimento de campo también confirmó el efecto genético en la serotinia de esta especie previamente probado (HERNÁNDEZ-SERRANO et al. 2013, 2014; CASTELLANOS et al. 2015). Como esperábamos, los conos de las procedencias menos serótinas (grupo Noreste) se abrieron en mayor proporción y con un claro efecto del tratamiento -los conos cortados se abrieron antes-, mientras que las procedencias más serótinas (grupo Suroeste) mantuvieron sus conos cerrados durante mucho más tiempo -incluso los conos cortados; Figura 5-, seguramente debido a un sellado más fuerte de las escamas de sus conos.

Utilizamos el experimento de aporte de agua en laboratorio para confirmar la existencia de costes de mantenimiento en el sentido contrario que en el experimento de campo, es decir, suministramos agua a través del pedúnculo a la mitad de los conos, dejando al resto secos, sin agua. Como esperábamos, los conos secos se abrieron significativamente antes que sus parejas con agua y a una mayor temperatura acumulada. El tratamiento también afectó al contenido de agua de los conos después del experimento, siendo menor en los conos secos, lo que confirma que el tratamiento de privación de agua afectó a la condición interna de los conos, indicando por tanto que la condición interna de los conos tiene un papel muy relevante en la probabilidad de que éstos se abran o se mantengan cerrados.

Todos estos resultados sugieren que la plasticidad observada en el grado de serotinia de *P. halepensis* (menor serotinia en condiciones limitantes para el crecimiento: frío y seco) se debe tanto a factores exógenos como endógenos. Por ello, es preciso matizar el carácter xeriscente que se atribuye actualmente a esta especie en su conjunto. Sería más preciso hablar de serotinia variable entre ecotipos (o procedencias), modulada tanto por el efecto directo del ambiente como por el estado hídrico del árbol.

6. Conclusiones

Nuestro estudio provee la primera evidencia experimental de plasticidad fenotípica de la serotinia en *P. halepensis*, confirmando que los ambientes desfavorables para el crecimiento de esta especie pueden provocar una precoz liberación de semillas. Además, los resultados ponen de manifiesto que la duración de la serotinia en esta especie implica la asignación de agua a los conos a través de sus pedúnculos, sugiriendo que los costes de mantenimiento de la serotinia en el pino

carrasco pueden ser más importantes de lo que se pensaba. La existencia de estos costes tiene grandes implicaciones en el efecto del cambio climático (combinando sequías e incendios más frecuentes y severos) sobre la resiliencia de las poblaciones naturales del pino carrasco, mediante modificaciones de los bancos aéreos de semillas.

7. Agradecimientos

Agradecemos la asistencia técnica de E. Ballesteros, F. del Caño, R. Pulido y S. Sansegundo. Este trabajo ha sido financiado por los proyectos FENOPIN (AGL2012-40151-C03-02) y FUTURPIN (AGL2015-68274-C3-01). El Ministerio Español de Economía y Competitividad también financia al autor R.M.S. mediante una beca predoctoral (FPI BES-2013-064210). Algunos de los datos usados en este trabajo forman parte de la red nacional de ensayos genéticos forestales GENFORED (www.genfored.es).

8. Bibliografía

- ALFARO-SHÁNCHEZ, R.; CAMARERO, J.J.; LÓPEZ-SERRANO, F.R.; SÁNCHEZ-SALGUERO, R.; MOYA, D.; DE LAS HERAS, J. 2015. Positive coupling between growth and reproduction in young post-fire Aleppo pines depends on climate and site conditions. *Int J Wildl Fire*. 24 507-517.
- BENKMAN, C.W.; PARCHAMAN, T.L.; FAVIS, A.; SIEPIELSKI, A.M. 2003. Reciprocal selection causes a coevolutionary arms race between crossbills and lodgepole pine. *Am Nat*. 162 182-194.
- BRADSHAW, A.D. 1965. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Adv Genet*. 13 115-155.
- CASTELLANOS, M.C.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, S.C.; PAUSAS, J. 2015. Field heritability of a plant adaptation to fire in heterogeneous landscapes. *Mol Ecol*. 24 5633-5642.
- CLIMENT, J.; PRADA, M.A.; CALAMA, R.; CHAMBEL, M.R.; DE RON, D.S.; ALÍA, R. 2008. To grow or to seed: Ecotypic variation in reproductive allocation and cone production by young female Aleppo pine (*Pinus halepensis*, Pinaceae). *Am J Bot*. 95 833-842.
- CRAMER, M.D.; MIDGLET, J.J. 2009. Maintenance costs of serotiny do not explain weak serotiny. *Austral Ecol*. 34 653-662.
- ENRIGHT, N.; LAMONT, B.; MARSULA, R. 1996. Canopy seed bank dynamics and optimum fire regime for the highly serotinous shrub, *Banksia hookeriana*. *J Ecol*. 84 9-17.
- ESPELTA, J.M.; ARNAN, X.; ANSELM, R. 2011. Non-fire induced seed release in a weakly serotinous pine: climatic factors, maintenance costs or both? *Oikos*. 120 1752-1760.
- 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. Madrid.
- HE, T.; PAUSAS, J.G.; BELCHER, C.M.; SCHWILK, D.W.; LAMONT, B. 2012. Fire-adapted traits of *Pinus arrose* in the fiery Cretaceous. *New Phytol*. 194 751-759.

- HERNÁNDEZ-SERRANO, A.; VERDÚ, M.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, S.C.; PAUSAS, J. 2013. Fire structures pine serotiny at different scales. *Am J Bot.* 100 2349–2356.
- HERNÁNDEZ-SERRANO, A.; VERDÚ, M.; SANTOS-DEL-BLANCO, L.; CLIMENT, J.M.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, S.C.; PAUSAS, J. 2014. Heritability and quantitative genetic divergence of serotiny, a fire-persistence plant trait. *Ann Bot.* 114 571–577.
- KEELEY, J.; ZEDLER, P. 1998. Life history evolution in pines. En: RICHARDSON, D.M. (ed): *Ecology and biogeography of Pinus*. 219–242. Cambridge University Press. Cambridge, UK.
- LAMONT, B. Canopy seed storage and release-what's in a name? 1991. *Oikos*. 60 266–268.
- LEV-YADUN, S. 1995. Living serotinous cones in *Cupressus sempervirens*. *Int J Plant Sci.* 156 50–54.
- MEEHL, G.A.; TEBALDI, C. 2004. More intense, more frequent and longer lasting heat waves in the 21st century. *Science*. 305 994–997.
- MOYA, D.; SARACINO, A.; SALVATORE, R.; LOVREGGIO, R.; DE LAS HERAS, J.; LEONE, V. 2008. Anatomic basis and insulation of serotinous cones in *Pinus halepensis* Mill. *Trees*. 22 511–519.
- NATHAN, R.; SAFRIEL, U.N.; NOY-MEIR, I.; SCHILLER, G. 1999. Seed release without fire in *Pinus halepensis*, a Mediterranean serotinous wind-dispersed tree. *J Ecol.* 87 659–669.
- NE'EMAN, G.; GOUBITZ, S.; NATHAN, R. 2004. Reproductive traits of *Pinus halepensis* in the light of fire – a critical review. *Plan Ecol.* 171 69–79.
- PAUSAS, J.G.; BRADSTOCK, R.; KEITH, D.; KEELEY, J. 2004. Plant functional traits in relation to fire in crown-fire ecosystems. *Ecology*. 85 1085–1100.
- PIÑOL, J.; TERRADAS, J.; LLORET, F. 1998. Climate warming, wildfire hazard and wildfire occurrence in coastal eastern Spain. *Clim Change*. 38 345–357.
- SALVATORE, R. MOYA, D.; PULIDO, L.; LOVREGGIO, R.; LÓPEZ-SERRANO, F.R.; DE LAS HERAS, J.; LEONE, V. 2010. Morphological and anatomical differences in Aleppo pine seeds from serotinous and non serotinous cones. *New For.* 39 329–341.
- SANTOS-DEL-BLANCO, L.; BONSER, S.P.; VALLADARES, F.; CHAMBEL, M.R.; CLIMENT, J. 2013. Plasticity in reproduction and growth among 52 range-wide populations of a Mediterranean conifer: Adaptive responses to environmental stress. *J Evo Bio.* 26 1912 – 1924.
- SCHEINER, S.M. 1993. Genetics and evolution of phenotypic plasticity. *Annu Rev Ecol Syst.* 24 35–68.
- TAPIAS, R.; CLIMENT, J.M.; PARDOS, J.A.; GIL, L. 2004. Life histories of Mediterranean pines. *Plant Ecol.* 171 53–68.

TAPIAS, R.; GIL, L.; FUENTES-UTRILLA, P.; PARDOS, J.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. *J Ecol* 89 629–638.

TONNABEL, J.; VAN DOOREN, T.J.M.; MIDGLEY, J.; HACCOU, P.; MIGNOT, A.; RONCE, O.; OLIVIERI, I. 2012. Optimal resource allocation in a serotinous non-resprouting plant species under different fire regimes. *J Ecol.* 100 1464–1474