

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Departamento de Biología Vegetal I
(Botánica y Fisiología Vegetal)



**RELACIÓN ENTRE VARIACIÓN FENOTÍPICA Y ÉXITO
REPRODUCTOR EN *OLEA EUROPAEA***

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Carlos Granado Yela

Bajo la dirección de los doctores

Luis Balaguer Núñez
Marcos Méndez Iglesias

Madrid, 2012



**Departamento de Biología Vegetal I
(Botánica y Fisiología Vegetal)
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Complutense de Madrid**

Relación entre variación fenotípica y éxito reproductor en *Olea europaea* L.

**Carlos Granado Yela
Tesis Doctoral
2012**

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA VEGETAL I (BOTÁNICA Y FISIOLOGÍA VEGETAL)



UNIVERSIDAD REY JUAN CARLOS

ÁREA DE BIODIVERSIDAD Y CONSERVACIÓN

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA Y GEOLOGÍA



Relación entre variación fenotípica y éxito reproductor en *Olea europaea* L.

Memoria presentada por Carlos Granado Yela, licenciado en Ciencias Biológicas por la Universidad Complutense de Madrid, para optar al grado de Doctor. Dirigida por el Dr. Luis Balaguer Núñez, de la Universidad Complutense de Madrid, y por el Dr. Marcos Méndez Iglesias, de la Universidad Rey Juan Carlos.

El doctorando

VºBº del director

VºBº del director

Carlos Granado Yela

Luis Balaguer Núñez

Marcos Méndez Iglesias

La presente Tesis Doctoral ha sido financiada por una beca de Formación de Personal Universitario (FPU) concedida por el Ministerio de Educación, Cultura y Deporte. Así mismo, los estudios realizados han sido financiados por los proyectos nacionales CGL2005-03062/BOS y CGL2009-10392.

A Irene porque...

“...estar contigo o no estar contigo es la medida de mi tiempo” (Jorge Luis Borges)

AGRADECIMIENTOS

No te sientas avergonzado o te preocupes si sólo quieres leer esta sección. Estas son las palabras más importantes de todo este librito. Quizás no sean las mejor escritas, las más pensadas. Pero sí son las que se han escrito con más ilusión y ganas. Aquí, cada cosa que se agradece es más importante que todas las demás y no se cuenta “una historia cualquiera de nadie”.

Tengo muchas (tantas) cosas que agradecer a mucha (tanta) gente porque esta sección rubrica el final de la escritura de mi primera y única tesis doctoral. Y sin vosotros esto no habría sido posible. Bien sabéis todos, que los que queremos dedicarnos a esto de la investigación no hacemos lo que hacemos por comodidad, por dinero o por reconocimiento. Simplemente, nos apasiona. Aunque implique que alguna noche te tengas que levantar de la cama para anotar una idea brillante (que luego no lo es tanto por la mañana). Aunque tengamos que renunciar a determinados planes por falta de tiempo o de dinero. Aunque vayamos al campo a ensuciarnos y arañarnos. Aunque sepamos que, a veces, se nos avinagra el carácter porque estamos hasta el gorro de todo. Lo llevamos en el ADN (perdón, DNA) y pensamos en ello las 24 horas de cada día. En mi caso, he estado durante meses calculando la probabilidad, por paquete, de que una galleta oreo estuviera dada la vuelta. También hago yogures en casa para poder probar si al dejarlos 10 minutos más en la yogurtera tienen una textura diferente (y porque salen muy riquitos). Incluso sacudí un calcetín en una maceta después de una campaña de campo para saber qué especies se dispersaban por antropocoria. Soy un tipo raro, y no por escaso. Así que os tengo que dar las gracias a vosotros que compartís conmigo la vocación de la curiosidad. Y también os tengo que dar las gracias a vosotros que, aunque la mayor parte del tiempo no comprendéis lo que hago, cómo lo hago o por qué lo hago, seguís dándome vuestro apoyo absoluto. Lo realmente raro sería no estar agradecido.

No obstante, pido perdón de antemano si me olvido de alguien o si os parece que merecéis más espacio o cariño en esta sección. También soy torpe. No me he olvidado y sí que lo merecéis. ¿Cuántas veces habéis oído eso de “por orden de importancia”? Pues, por favor, olvidadlo por esta vez.

Tengo mucho que agradecer a mis directores porque habéis logrado que termine la tesis y que, aún así, quiera seguir dedicándome a esto. Muchas gracias Luis por tu ímpetu y tu cariño incondicional. Gracias por presentarme siempre como el experto en sexo del grupo. Gracias por contagiarme con tu infinita energía y tu incansable entusiasmo. Sinceramente, creo que eres una de las personas más bellas del mundo. Muchas gracias Marcos por tu dedicación, por enseñarme tantas cosas. Gracias por haber trepado siempre a mi lado, literal y no literalmente. Muchas gracias por

prestarme tu afecto y tu pasión por el conocimiento. Gracias por ser un sabio de todo y especialista en tantas cosas. Gracias a los dos por haberlo hecho todo así de bien. Falta más gente como vosotros en este mundo y en esta profesión.

También quiero dar las gracias a las personas (estupendas) que configuran los Departamentos de Ecología y Biología Vegetal y la Facultad de Biología de la UCM en general. Gracias Rosa por ofrecerme siempre una sonrisa, una frase de ánimo y ayuda en todo momento. También, muchas gracias a todos los investigadores que han formado este grupo tan particular. Gracias Esther por tu cariño y por guiarme en esta fase de mi vida académica. Gracias Pablo por haber apostado en mí tan al principio, haber seguido de cerca mis progresos y darme tan buenos consejos. Gracias Javier por tus amables consejos desde que compartíamos laboratorio. Gracias Esteban, Juan Antonio, José, Antonio, Gabriel, Mariló y Sara. Gracias por configurar un grupo que es una familia. Gracias también a todos los miembros de la URJC que me habéis abierto los brazos siempre que lo he necesitado. Y por supuesto gracias a todos los que habéis hecho posibles las campañas de campo. Gracias en especial a Susana. Gracias también a la gente del vivero de la Tahonilla por su ayuda inestimable y todos esos momentos inolvidables.

Gracias a todos los amigos y compañeros de fatigas en el grupo de investigación. Te quiero dar las gracias en especial a ti, Carlos, por tu inagotable fuente de inspiración. Por tu fuerza natural y tu sabio consejo. Por tu aprecio. Eres responsable, en mucha parte, de que me apasione este trabajo. Gracias Rafa, por tu enorme sabiduría y perspectiva del mundo. Gracias Gema y Camille por ayudarme a arrancar. Gracias Ana por conseguir que nunca me faltara nada, gracias Rocío por darme tranquilidad, gracias Sandra por los abrazos en los pasillos, gracias Katty por agotarte por mí hasta la extenuación. Muchas Gracias Adrián y Agustina por haber renovado mi maltrecha mente en esta última etapa. Gracias Juanma por tu energía. Gracias Juanjo por ayudarme a llevar mejor el frío y el calor.

Quiero dar las gracias también a todas las personas que consiguieron que mi estancia en el invierno de la Laponia Sueca fuera cálida. Gracias Juande por hacerme sentir como en casa a 3,000 km de distancia. *Thank you very much Leszek for opening your group's door and letting me in. Sweden was a one life experience. Sabine, thank you so much for your endless understanding. Thanks also to Agnieszka.*

Quiero agradecer el amor sin condiciones de mis padres. Os lo debo todo. Muchas gracias por tener tanta paciencia conmigo y por haberme dado siempre lo que estaba en vuestras manos, incluso más. Gracias por confiar en mí. Gracias por seguir creyendo que soy un buen hijo, incluso

uno de provecho. Aunque no os lo diga con frecuencia, sabed que os quiero y sois pilares fundamentales en mi vida. Gracias a Cristina, mi hermana. Gracias por haberme sufrido durante años. Adoro que nos parezcamos tanto y que seamos tan diferentes. Enana, echo de menos verte todos los días. Por supuesto, tengo mucho que agradecer al resto de mi familia. Muchas gracias a mis abuelas, tíos y tías, primos y primas y demás miembros de la familia de difícil clasificación. Sois tantos que si os nombro a todos esto parecería una guía telefónica. Gracias por vuestro suministro inagotable de morcillas, huevos y cariño. Gracias por mostrarme vuestro apoyo siempre. Gracias por ser mi familia. Prometo ir a veros con más frecuencia. Necesito ir a veros con más frecuencia. Porque el día más feliz del año es cuando nos reunimos a comer o a cenar todos. Gracias, en especial, a Kike por preocuparte de mí y contar conmigo siempre. Gracias Duna por no hacer preguntas cuando me veías triste. Pórtate bien.

Doy las gracias a los padres de Irene por muchas cosas. Sin duda por haber traído a la vida a una persona tan perfecta. Pero también porque me habéis aceptado en vuestra familia sin condiciones, me habéis dado todo vuestro cariño y me habéis ofrecido tantas cosas. Gracias también a Javier (hijo) porque redondeas un cuarteto familiar insuperable.

Gracias a todos mis amigos por caminar a mi lado cuando hacía bueno y cuando llovía a cántaros. Gracias por no exigirme más. Doy gracias a la carrera por haberme dado tantas amistades. Gracias Carlos por ser en mi vida como el aluminio: (un metal) imprescindible. Gracias Jorge por ofrecerme una amistad perfecta. Gracias Marta por descubrirme tu amistad *de novo* cada día, incluso cuando hay mares de por medio. Gracia Nuria por enseñarme cómo agarrarme con fuerza para no caerme. Vales tanto... Gracias Inés por tu inocencia tan sana. Gracias Alfonso por tu humor inextinguible. Gracias a las dos Cristinas y a Adela por darme un hombro en el que apoyarme (prometo que va sin broma). Gracias Ale por ofrecerme tu enorme amistad. Gracias al género *Sonchus*. Tengo que dar mil gracias al resto de biólogos y adjuntos por estar ahí más de una década después. No me olvido de ninguno de vosotros. Por otra parte, gracias Luigi y Pedro. Gracias por recibirme siempre con los brazos abiertos después de estar meses desaparecido. Gracias porque paráis el tiempo y evitáis que la vida se me escape como arena entre los dedos. Gracias a Elena, Mario, Víctor e Iván por vuestra amistad imperecedera. Gracias al resto de segovianos que me conocen como Kan, gracias a mis amigos del colegio, del baloncesto. Sois muchos y, aunque no escriba vuestros nombres, estáis tatuados en mis pensamientos. Gracias José Manuel, David y Beatriz.

También tengo mucho que agradecer al grupo de becarios y colaboradores del departamento de zoología y cía. Incluso a la mini-ONU que hay ahí montada. Gracias por adoptar a un pobre

ecólogo que estudia plantas. Gracias por alegrarme el día en las comidas y por hacerme partícipe de los momentos más importantes de vuestra vida. Muchas Gracias a Sheila, Luis, Bea, Pablo, Dani y Antón por darme cariño y consejo. A ti Sofía te toca un pelín más adelante. Gracias a todos los demás. Vosotros sabéis a quienes me refiero.

Muchas gracias a la gente del Urban. Habéis hecho reírme en los días más difíciles. Gracias por ayudarme a ser más fuerte. Quiero dar las gracias en especial a Sofía. Gracias por dejarme conocerte más allá de por ser la novia de Edward Norton (muchas gracias Samuel por todo). Gracias Antonio por ser tan bella persona. Gracias Oscar por tu insaciable desparpajo. Gracias Nacho, Lidia, Dani, Or, Luis, Luis, Iker. Gracias a todos los demás monkeys.

Estas últimas frases son para a Irene, la persona por la que soy como soy y estoy donde estoy. Gracias por aceptar mi manera de ser, y aún así quererme. Gracias por ser la perfecta compañera de viaje. Gracias por defender mis puntos fuertes y perdonar mis fallos. Gracias por personificar el adjetivo “maravillosa”. No imaginas la cantidad de razones por las que me haces feliz. Sospecho que si te dijera una cada día de mañana, nos harían faltas muchas vidas.

Gracias a todos porque...

“...la felicidad es un placer compartido con otras personas” (Jean Dolent)

“Incluso un viaje de mil millas comienza con un primer paso” (Lao-Tsé)

ÍNDICE

<u>CAPÍTULO I. Introducción general</u>	1
1. VARIACIÓN FENOTÍPICA INTER-INDIVIDUAL	3
1. 1. Caracteres fenotípicos funcionales: del órgano al individuo	3
1. 2. El fenotipo y su relación con el genotipo y el ambiente	4
1. 2. 1. <i>Variación de genotipo y fenotipo: el cambio evolutivo</i>	4
1. 2. 2. <i>Fenotipo y variación ambiental</i>	4
1. 2. 3. <i>Genotipo y ambiente: un dueto inseparable</i>	6
2. VARIACIÓN FENOTÍPICA INTRA-INDIVIDUAL: MODULARIDAD	6
2. 1. Naturaleza modular de las plantas	7
2. 2. El paradigma de los árboles como meta-poblaciones de módulos	7
2. 3. Beneficios “pasivos” del crecimiento modular	8
2. 4. Beneficios “activos” del crecimiento modular	8
3. MODULARIDAD Y LOS CARACTERES REPRODUCTIVOS	12
3. 1. Variación fenotípica ordenada en caracteres reproductivos	13
4. LA CONTROVERSIA EN LA DEFINICIÓN DE EFICACIA BIOLÓGICA	14
4. 1. El concepto de eficacia biológica para Darwin y el descubrimiento del gen	14
4. 2. Estimando la eficacia biológica: el éxito reproductor	15
4. 3. Crecimiento vegetativo e inversión reproductiva	15
4. 4. Estrategias reproductivas: expresión sexual y rendimiento reproductivo	16
5. OBJETIVOS	17
6. BIBLIOGRAFÍA	19
<u>CAPÍTULO II. División espacio-temporal del trabajo dentro de la copa</u>	27
RESUMEN	29
1. INTRODUCCIÓN	30
2. MATERIAL Y MÉTODOS	32

2. 1. Especie, localización y diseño experimental.....	32
2. 2. Medidas arquitecturales de las hojas	34
2. 3. Medidas de asimilación fotosintética.....	35
2. 4. Cuantificación de carbohidratos.....	36
2. 5. Análisis de datos	37
3. RESULTADOS	38
4. DISCUSIÓN	40
5. CONCLUSIONES	43
6. BIBLIOGRAFÍA.....	44
7. FIGURAS Y TABLAS	49

CAPÍTULO III. Efectos de posición en el sexo floral dentro de las inflorescencias..... 55

RESUMEN	57
1. INTRODUCCIÓN	58
2. MATERIAL Y MÉTODOS	60
2. 1. Especie y localización	60
2. 2. Manipulación de ramas e inflorescencias.....	61
2. 3. Análisis de datos	62
2. 3. 1. <i>Análisis a nivel de rama</i>	62
2. 3. 2. <i>Análisis a nivel de inflorescencia</i>	63
3. RESULTADOS	64
3. 1. Análisis a nivel de rama.....	64
3. 2. Análisis a nivel de inflorescencia	65
4. DISCUSIÓN	66
5. CONCLUSIONES	69
6. BIBLIOGRAFÍA.....	70
7. FIGURAS Y TABLAS	75

<u>CAPÍTULO IV. Fuentes de variación en la expresión sexual del acebuche</u>	87
RESUMEN	89
1. INTRODUCCIÓN	90
2. MATERIAL Y MÉTODOS	92
2. 1. Especie y muestreo	92
2. 2. Mediciones del sexo fenotípico	93
2. 2. 1. <i>Expresión sexual dentro de individuos</i>	93
2. 2. 2. <i>Expresión sexual entre individuos</i>	93
2. 3. Mediciones de tamaño de la planta y de caracteres foliares morfo-funcionales	94
2. 4. Mediciones de los nutrientes del suelo	94
2. 5. Medición del rendimiento reproductivo en el año 2007	95
2. 6. Análisis de datos	95
2. 6. 1. <i>Variabilidad dentro de individuos</i>	96
2. 6. 2. <i>Variabilidad entre individuos</i>	97
3. RESULTADOS	97
3. 1. Variabilidad dentro de individuos	97
3. 2. Variabilidad entre individuos	98
3. 3. 1. <i>Sexo fenotípico en el año 2007</i>	98
3. 3. 2. <i>Sexo fenotípico en el año 2008</i>	98
3. 3. 3. <i>Variación interanual en el sexo fenotípico</i>	99
4. DISCUSIÓN	99
5. CONCLUSIONES	102
6. BIBLIOGRAFÍA	102
7. FIGURAS Y TABLAS	109

<u>CAPÍTULO V. Determinantes del rendimiento reproductivo en poblaciones</u>	
<u>periféricas</u>	115
RESUMEN	117

1. INTRODUCCIÓN	118
2. MATERIAL Y MÉTODOS	120
2. 1. Especie de estudio y poblaciones	120
2. 2. Variables ambientales	121
2. 3. Medición de tamaño de los árboles y los rasgos fenotípicos foliares	121
2. 4. Medición del rendimiento reproductivo	122
2. 5. Análisis de datos	123
2. 5. 1. <i>Análisis a nivel poblacional</i>	124
2. 5. 2. <i>Análisis a nivel individual</i>	125
3. RESULTADOS	126
3. 1. Variación del rendimiento reproductivo a nivel poblacional	126
3. 2. Variación del rendimiento reproductivo a nivel individual	127
4. DISCUSIÓN	128
5. CONCLUSIONES	131
6. BIBLIOGRAFÍA	132
7. FIGURAS Y TABLAS	140
<u>CAPÍTULO VI. Discusión general y conclusiones</u>	149
1. DISCUSIÓN GENERAL	151
2. CONCLUSIONES	156
3. BIBLIOGRAFÍA	157

CAPÍTULO I

Introducción general

1. VARIACIÓN FENOTÍPICA INTER-INDIVIDUAL

A principios del siglo XX, el biólogo danés Wilhelm L. Johannsen acuñó los términos genotipo y fenotipo para diferenciar, respectivamente, la herencia genética en sí de lo que esta produce. Desde entonces, incontables trabajos evolutivos han hecho de estos dos conceptos el eje central de sus hipótesis y argumentaciones y, hoy en día, se han convertido en la piedra angular de disciplinas tan fértiles como la ecología evolutiva o la sistemática. A lo largo de esta memoria, la variación fenotípica se abordará principalmente desde un punto de vista “fitocéntrico” y, en su mayor parte, enfocado en especies con porte arbóreo. No obstante, se compararán las diferencias en el desarrollo de plantas y animales, ya que la forma de crecimiento en las plantas origina fuentes de variación fenotípica propias.

1.1. Caracteres fenotípicos funcionales: del órgano al individuo

El fenotipo de un organismo compila el conjunto de todas sus características y rasgos visibles, los cuales están relacionados con aspectos que engloban desde su bioquímica hasta su arquitectura (revisiones en Bradshaw 1965; Sultan 1987; Schmid 1992). Como recalca Bernhard Schmid, si se pretende abordar la idiosincrasia fenotípica es necesario descomponer el fenotipo completo, ya que este presenta una extensión y complejidad inabarcables (Schmid 1992). Además, como veremos a lo largo de esta memoria, la simplificación del fenotipo completo se ve justificada por la inmensa diversidad de intensidades y direcciones en las respuestas fenotípicas de cada uno de sus caracteres. Debido a este razonamiento, el término “fenotipo” se usa comúnmente para hacer referencia a un rasgo concreto (o a un conjunto limitado de rasgos) del fenotipo completo de los individuos.

Un rasgo o carácter fenotípico es, por lo tanto, cualquier atributo morfológico, fisiológico o fenológico que se pueda medir a nivel de organismo, desde en una de sus células hasta en todo el individuo, sin que haga referencia alguna al contexto en el que dicho organismo se desarrolla (Violle *et al.* 2007). Ante la necesidad de categorizar los caracteres fenotípicos por su importancia para los organismos, se definieron los caracteres funcionales como aquellos que tienen un impacto indirecto en la eficacia biológica de los organismos mediante sus efectos directos sobre los componentes de esta (Ackerly *et al.* 2000; Geber y Griffen 2003; Violle *et al.* 2007). En este momento no es necesario profundizar en el concepto de la eficacia biológica más allá del nombramiento de sus tres componentes: supervivencia, crecimiento y reproducción (para una prospección más detallada del concepto de eficacia biológica véase el apartado 3). Un ejemplo de caracteres fenotípicos funcionales lo componen todos aquellos aspectos de la planta que tienen que ver con la captura de recursos (véase Ackerly y Monson 2003). En este sentido, en las hojas se

concentran muchos de los rasgos de las plantas que definen su capacidad para la foto-asimilación del carbono. Entonces, la variación entre individuos en los rasgos de estos órganos puede causar diferencias en su eficacia biológica, puesto que es esperable que las plantas que produzcan hojas cuyo fenotipo permita una captura de energía más eficiente tengan más posibilidades de sobrevivir, crezcan más rápidamente y tengan mayor descendencia.

1.2. El fenotipo y su relación con el genotipo y el ambiente

La definición formal de fenotipo se esquematiza mediante la siguiente ecuación:

$$\textit{Fenotipo} = \textit{Genotipo} + \textit{Ambiente} + \textit{Genotipo} \times \textit{Ambiente}$$

En esta definición causal del fenotipo, aparentemente sencilla, se explicitan las dos partes generales responsables de la existencia de variación fenotípica, *i.e.*, genotipo y ambiente. En los siguientes sub-apartados se analizarán, por separado, los factores que originan diversidad en los fenotipos así como su papel en la evolución de la vida.

1.2.1. Variación de genotipo y fenotipo: el cambio evolutivo

En primer lugar, la ecuación anteriormente mencionada indica que el fenotipo es, en parte, la consecuencia del acervo genético de los organismos (*i.e.*, de su genotipo). Dicho de otra forma, la variación fenotípica entre distintos individuos que experimentan un mismo ambiente evidencia la existencia de variación genética entre los mismos. La diversidad de fenotipos constituye el primero de los tres requisitos clásicos recopilados por Richard C. Lewontin para que exista la evolución por selección natural. El segundo requisito establece que la manifestación de cada variante fenotípica ha de suponer una tasa de supervivencia y/o reproducción diferente, mientras que el tercero asume que la variante fenotípica, y con ella la ventaja que pueda conferir, tiene que ser heredable (Lewontin 1970). Así, el cambio evolutivo se produciría al aumentar o disminuir, en las poblaciones naturales, la frecuencia de ciertos genotipos (y en consecuencia de sus fenotipos), de tal manera que el conjunto de la población en un momento dado será claramente diferente de cómo eran sus antepasados (Lewontin 1970).

1.2.2. Fenotipo y variación ambiental

En segundo lugar, la ecuación anterior señala que un mismo individuo (*i.e.*, un mismo genotipo) puede expresar diferentes fenotipos en función del ambiente que experimente o, lo que es lo mismo, puede expresar plasticidad fenotípica (definición original de Schmalhausen 1949; para un compendio de definiciones véase Whitman y Agrawal 2009). Desde los gérmenes de la teoría de la

evolución se empezó a otorgar importancia al cambio fenotípico ambientalmente inducido. Dos planteamientos evolutivos diferentes, aunque relacionados, abogaron por el papel de lo que hoy llamamos plasticidad fenotípica, no sólo en la adaptación de una especie a las condiciones del medio, sino también como mecanismo promotor del cambio evolutivo (Crispo 2007). James M. Baldwin propuso en 1896 que aquellos individuos que fueran capaces de responder de manera más acusada ante nuevas circunstancias ambientales tendrían más posibilidades de sobrevivir y reproducirse, condicionando así el cambio evolutivo. Casi sesenta años después, Conrad H. Waddington planteó que la expresión de un carácter fenotípico, que originalmente fue estimulado por un factor ambiental, podía llegar a integrarse en el genoma mediante la acción de la selección, con lo que entonces se expresaría sin necesidad de recibir tal estímulo. Sin embargo, ambas teorías cayeron en desgracia durante la síntesis moderna de la teoría evolutiva. De hecho, hasta casi los años 1980 se argumentó que la plasticidad fenotípica era únicamente un mecanismo que atenuaba la selección y reducía la velocidad de los procesos evolutivos por dos motivos (recogidos en Schlichting y Pigliucci 1998; Schlichting 2004): primero, la plasticidad fenotípica permite que un mismo genotipo exprese múltiples fenotipos en función de las condiciones ambientales, por lo que no son necesarias otras variantes genéticas para alcanzar una eficacia biológica óptima; segundo, diferentes genotipos pueden alcanzar la misma solución fenotípica a través de respuestas plásticas, con lo que las diferencias genéticas entre los individuos se esconden a los ojos de la selección. Fue entonces, cuando la investigación en el campo del cambio fenotípico rescató, actualizó y amplió los trabajos de Baldwin y Waddington, generándose un marco teórico y experimental con suficiente peso como para aupar a la respuesta fenotípica ambiental como uno de los principales mediadores de la evolución (Lande 1976; Via 1993; Schlichting y Pigliucci 1998; Agrawal 2001; Pigliucci y Murren 2003; Price *et al.* 2003; West-Eberhard 2003; Adams y Huntingford 2004; Yeh y Price 2004; Ghalambor *et al.* 2007; Crispo 2008).

No obstante, no se debe confundir la plasticidad fenotípica con la inestabilidad en el desarrollo. Si un organismo no es capaz de gestionar las condiciones ambientales apropiadamente, estas pueden inducir irregularidades en su crecimiento. Así, ciertas condiciones de estrés pueden provocar que el individuo sea incapaz de corregir los errores que se producen durante su formación, o la formación de alguno de sus órganos, lo que propicia la aparición de fenotipos inesperados (Van Valen 1962; Palmer y Strobeck 1986, 1997). Una medida clásica de inestabilidad en el desarrollo es la desviación respecto de la simetría en caracteres bilaterales (*i.e.*, asimetría fluctuante). Aunque la importancia de esta fuente de variación fenotípica no se ha de infravalorar, ya que puede condicionar las posibilidades de supervivencia o reproducción de los organismos, se asume que juega un papel secundario en los procesos evolutivos. Un ejemplo del efecto de la inestabilidad en

el desarrollo en las posibilidades de reproducción en plantas lo proporcionan los estudios sobre asimetría floral, que concluyen que la perfección floral influye en la selección de los polinizadores, reduciéndose significativamente la tasa de visitas y la polinización en las flores menos simétricas (Lehrer *et al.* 1995; Salonen y Lammi 2001).

Hasta el momento se ha considerado que el ambiente que promueve la variabilidad fenotípica es, única y exclusivamente, el conjunto de variables externas al organismo (*i.e.*, los factores de tipo abiótico y biótico). Sin embargo, el fenotipo de los organismos también puede cambiar a medida que se estos desarrollan (Allsopp 1967; Coleman *et al.* 1994; Smith 2011), con lo que el ambiente interno (*i.e.*, la fase del programa de desarrollo en la que se encuentren) es una fuente importante de variación fenotípica y, además, limita, modula o enmarca la respuesta fenotípica al ambiente externo. Un ejemplo claro de variación fenotípica como consecuencia de la ontogenia lo proporcionan las plantas heteroblásticas, es decir, plantas con un fenotipo juvenil y un fenotipo adulto (Allsopp 1967; Diggle 2002, Moreno-Alias *et al.* 2009).

1.2.3. *Genotipo y ambiente: un dueto inseparable*

En tercer y último lugar, el término de la interacción entre genotipo y ambiente en la ecuación propuesta al principio de esta sección advierte de la verdadera complejidad en la definición y caracterización del fenotipo, e informa de que el fenotipo es una propiedad emergente que surge de la combinación de ambos componentes (revisado en Schmid 1992). Así, todo lo comentado anteriormente se entremezcla y combina, puesto que los diferentes genotipos pueden expresar mayor o menor plasticidad fenotípica, en algunos o en todos sus rasgos, como respuesta a los cambios ambientales. De hecho, no sólo distintos genotipos pueden expresar grados de plasticidad desiguales en diferentes caracteres fenotípicos, sino que una alta plasticidad en un carácter puede causar baja plasticidad en otro carácter que esté vinculado con él funcionalmente, o viceversa (*e.g.*, Bradshaw 1965).

2. VARIACIÓN FENOTÍPICA INTRA-INDIVIDUAL: MODULARIDAD

En términos generales, las plantas son capaces de producir dos tipos de módulos: vegetativos y reproductivos. Si bien ambos tipos de módulos están sujetos a reglas de similar naturaleza, el propósito específico de cada uno promueve que posean particularidades propias. Este segundo apartado se dedica a indagar en las repercusiones del crecimiento modular de las plantas sobre sus

aspectos vegetativos, mientras que el apartado tercero se reserva para el análisis de la producción reiterativa de estructuras reproductivas.

2.1. Naturaleza modular de las plantas

“[A] *plant produces a considerable number of structures of one kind. This simple feature can explain a major difference in variation patterns exhibited by plants and animals*”; Lloyd 1984.

Lenn Jerling comenzaba el título de uno de sus manuscritos haciendo la siguiente pregunta: ¿Se parecen las plantas y los animales? (en inglés, “*Are plants and animals alike?*”; Jerling 1985). Cualquier persona respondería casi sin pensar que no, y explicaría a continuación que las principales diferencias entre plantas y animales son que las plantas son sésiles y tienen la capacidad de hacer la fotosíntesis, mientras que los animales son móviles y heterótrofos. Sin embargo, existen otras muchas diferencias entre animales y plantas y, de entre todas ellas, la más importante quizás es que se desarrollan de manera distinta (Lloyd 1984). El plan corporal de los animales es fijo, sus gametos están predeterminados y sus células altamente diferenciadas. Además, pocos tejidos animales adultos conservan la posibilidad de diferenciarse y en el caso de que se produjeran variaciones genéticas somáticas no se transmitirían a la descendencia porque la línea germinal es independiente (Walbot 1996). Sin embargo, en las plantas existe una enorme plasticidad en la forma y función de sus células individuales y órganos, y sus células meristemáticas mantienen la capacidad para dar origen a todos los tipos celulares. Por tanto, los cambios epigenéticos y genotípicos se generan y seleccionan fácilmente en el soma y se pueden transmitir a la descendencia (Walbot 1996). Debido a su desarrollo laxo y a su organización abierta, las plantas crecen de manera indefinida por organogénesis continua y producción repetitiva de estructuras homólogas. Dicho de otra manera, las plantas crecen modularmente añadiendo constantemente partes homólogas nuevas a su cuerpo.

2.2. El paradigma de los árboles como meta-poblaciones de módulos

En la parte aérea de las plantas, los diferentes órganos (hojas, nudos y entrenudos) se agrupan en módulos. Los módulos de un mismo individuo, para conseguir su máxima productividad, compiten con sus congéneres por recursos y conexiones vasculares (Sachs *et al.* 1993). No obstante, el incremento en el número de módulos de una planta no está limitado únicamente por la cantidad de recursos de los que esta dispone. Existen ciertas constricciones estructurales asociadas al tamaño de los individuos. Los árboles, llegado el momento, podrían llegar a derrumbarse como consecuencia de limitaciones bio-mecánicas en su estructura. Esto podría evitarse si, cada vez, produjeran módulos más pequeños o si desviarán mayor proporción de recursos a la reproducción (López *et al.*

2001). Como consecuencia del incremento desproporcionado de sus necesidades de estabilidad mecánica, la biomasa que los árboles dedican a hojas disminuye según crece el tamaño de su estructura (Sterck y Bongers 1998, Valladares y Niinemets 2008). Esto desemboca en una paradoja aparente (Delagrange *et al.* 2004), ya que, a medida que los árboles aumentan su tamaño, aumenta la cantidad de tejido que respira (ramas) pero no la cantidad de tejido que foto-asimila (hojas). Por lo tanto, la existencia de competencia entre módulos y los problemas mecánicos que se derivan de su crecimiento en número cuestionan las ventajas de esta “vida en común”.

2.3. Beneficios “pasivos” del crecimiento modular

James White fue el precursor de la interpretación demográfica de las plantas, que sostiene que su crecimiento se puede describir en términos de natalidad y mortalidad de sus unidades modulares (White 1979; Watkinson y White 1986). La visión demográfica de las plantas, junto con las aportaciones de otros autores en el campo de la autonomía modular (*e.g.*, Watson y Casper 1984; Ruohomaki *et al.* 1997), ha propiciado que la repetición modular se haya interpretado pluralmente en términos de redundancia modular. La ventaja ecológica de la reiteración de estructuras análogas residiría, por lo tanto, en la compartimentación del daño que podría sufrir la planta como consecuencia del envejecimiento, el estrés ambiental o el ataque de herbívoros. En árboles, esta posibilidad está ligada a la capacidad de rebrote, ya que cada uno de sus módulos contiene meristemas a partir de los cuales se puede reiniciar la organogénesis y el crecimiento. Además, en la mayoría de los árboles, la redundancia modular es posible gracias a la enorme autonomía de sus módulos, como consecuencia de su sistema vascular abierto y su habilidad para establecer nuevas conexiones vasculares después de que se haya producido un daño (Haukioja y Koricheva 2000).

2.4. Beneficios “activos” del crecimiento modular

La línea argumental que aboga por un papel ecológico activo del crecimiento modular en las plantas proporciona varias explicaciones adicionales al paradigma de la rivalidad entre módulos. Como se verá a continuación, los mecanismos que subyacen a estas explicaciones aumentan en su complejidad en consonancia con el incremento en las capacidades de las plantas para interpretar el ambiente y responder a él en pos de un mayor beneficio integrado para todo el organismo.

El desarrollo de los árboles se describe como el resultado de un proceso de selección fundamentado en las interacciones no programadas entre los módulos (Sachs *et al.* 1993). En esta definición se destacan dos aspectos cruciales del crecimiento modular: el papel de la plasticidad modular, que en árboles se conoce como plasticidad dentro de la copa o plasticidad intra-dosel (en inglés, “*intracanopy plasticity*”; Sack *et al.* 2006), y la sinergia en la interacción de los módulos

derivada de la auto-organización a nivel de toda la planta. La lectura puramente demográfica de una planta no pone en valor que los nuevos meristemos que producen las plantas son expuestos continuamente a la influencia del ambiente (Schmid 1992). Esta propiedad morfo-genética del crecimiento modular, junto con la capacidad de las plantas para expresar respuestas fenotípicas plásticas, propicia una característica intrínseca de estos organismos: la potencial variación en los rasgos de las copias de sus estructuras modulares (véase Herrera 2009). A nivel individual, con la expresión de plasticidad fenotípica surge la posibilidad de discriminar las condiciones ambientales que son más adecuadas para el crecimiento. Así, la naturaleza plástica del crecimiento modular permite la producción de órganos en parches ambientales más favorables (Bazzaz 1991). Esto se traduce en que la plasticidad permite la selección de hábitat (*sensu* Donohue 2003), ya que la respuesta a las señales ambientales modifica el ambiente que la planta (y con ella sus nuevos meristemos) experimentará a continuación. Un ejemplo son los foto-tropismos o la prospección ambiental que promueve el crecimiento diferencial hacia las condiciones de luz más favorables (Henriksson 2001).

Por otra parte, la interpretación demográfica de las plantas desvincula por completo al conjunto de subunidades de un organismo del organismo en sí como conjunto. No obstante, la plasticidad modular responde tanto a señales ambientales como a señales que pueden provenir de otras partes de la planta. Los árboles ajustan su morfología y fisiología en respuesta a los gradientes ambientales que se producen en el interior de sus copas (Sack *et al.* 2006; García-Verdugo *et al.* 2009) y, a su vez, la plasticidad local está regulada por la integración modular, *i.e.*, los efectos que surgen como consecuencia de la comunicación entre las distintas subunidades estructurales y funcionales (de Kroon *et al.* 2005). La suma de la respuesta modular plástica y la integración a escala de organismo propician la aparición de dos estrategias adicionales: la construcción de nicho y la división de trabajo.

En lo que respecta a la construcción de nicho (*sensu* Laland *et al.* 1999), la expresión de plasticidad modular puede llegar a trascender su papel como mecanismo de selección de hábitat si permite la modificación directa del ambiente que experimenta la misma. En ambientes de alta intensidad lumínica, por ejemplo, la expresión de plasticidad modular en el ángulo o tamaño de las hojas más expuestas puede controlar el auto-sombreado sobre las hojas más resguardadas, lo que reduciría el daño potencial por foto-inhibición (Howell *et al.* 2002, Percy *et al.* 2005) o proporcionaría un ambiente más homogéneo y predecible a las partes internas de las copas (Rubio de Casas *et al.* 2007). De manera análoga, la exposición al viento en plantas leñosas motiva una respuesta plástica a nivel de copa que promueve modificaciones hidráulicas y mecánicas en las

partes externas que consiguen un ambiente homogéneo en las capas interiores (García-Verdugo *et al.* 2009).

Otra solución al problema de la interacción antagonista entre módulos redundantes en cualquier organismo modular es la especialización (temporal o espacial) de los mismos en la ejecución de tareas específicas o, lo que es lo mismo, la división de trabajo (Williams 1986). Este término, acuñado originalmente en sistemas económicos, se trasladó rápidamente a los sistemas vivos para explicar las estrategias de comportamiento en animales coloniales, principalmente himenópteros. Sin embargo, en plantas sólo se ha demostrado para un grupo muy particular de especies que se caracteriza por su crecimiento clonal (Stuefer *et al.* 1996; Charpentier y Stuefer 1997; Stuefer 1998; Stuefer *et al.* 1998). Un individuo (*genet*) de estas especies clonales está compuesto por varios módulos (*ramets*) unidos entre sí por conexiones vasculares. En realidad, estos *ramets* son individuos completos que pueden separarse del conjunto del organismo y vivir de manera independiente.

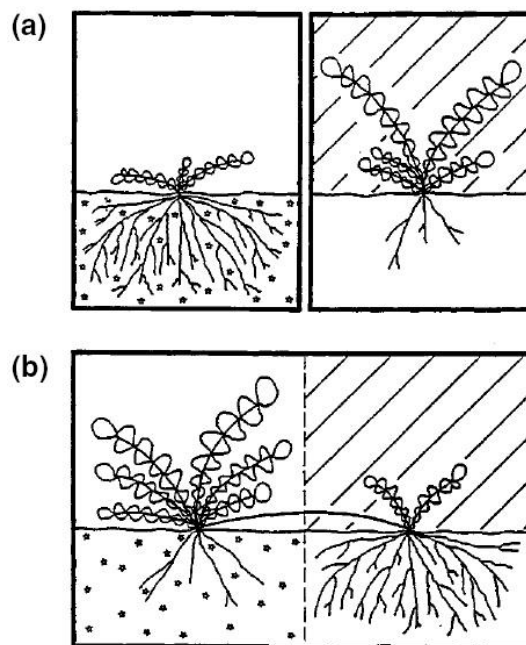


Figura 1. División de trabajo ambiental inducida en plantas clonales (extraído de Stueffer 1998). En la figura superior (a) se muestra la especialización en la captura del recurso más escaso en dos *ramets* desconectados. En la figura inferior (b) se muestra la especialización en la captura del recurso más abundante en dos *ramets* interconectados.

La peculiaridad de este sistema es que los distintos *ramets* de un mismo individuo pueden experimentar ambientes dispares con lo que la planta, como un todo, responde a esta heterogeneidad en el ambiente para incrementar su captura total de recursos. En el ejemplo clásico descrito por

Josef F. Stuefer (Figura 1), se compara el funcionamiento de dos *ramets* interconectados y dos *ramets* desconectados, que crecen en dos ambientes contrastados. En uno de los ambientes abunda el agua en el suelo pero hay escasa luz mientras que en el otro escasea el agua del suelo pero abunda la luz. En el caso de los *ramets* desconectados, cada uno se especializa en la captura del recurso limitante. Sin embargo, los *ramets* interconectados se especializan en la captura del recurso más abundante ya que la integración a escala de todo el organismo permite que los dos *ramets* intercambien agua y foto-asimilados entre sí. De este modo, la división de tareas incrementa la captura total de recursos a nivel de toda la planta (Stuefer 1998).

Al igual que las plantas clonales, los árboles son organismos altamente modulares en los que sus módulos experimentan ambientes heterogéneos en el tiempo y en el espacio (Sack *et al.* 2006; Rubio de Casas *et al.* 2007; García-Verdugo *et al.* 2009). A su vez, presentan una alta autonomía modular y elevada plasticidad modular (Petit y Hampe 2006). Estas circunstancias motivaron que se sugiriera que también podría existir división de trabajo dentro de las copas de los árboles si se reinterpretaba en este sentido, por ejemplo, la clásica división entre hojas de sol y hojas de sombra (Rubio de Casas *et al.* 2007). Desde el punto de vista de la eco-fisiología, se considera que las hojas de sol (*i.e.*, las hojas de las capas más externas del árbol) presentan fenotipos que responden a las condiciones de alta intensidad lumínica donde se producen, siendo más pequeñas, más gruesas y más verticales, para evitar la pérdida de agua en los momentos de mayor insolación del día (Jurik *et al.* 1979; Valladares y Niinemets 2008). Las hojas de sombra, por su parte (*i.e.*, las hojas de las capas más profundas), presentan un fenotipo que optimiza la captura de fotones en condiciones de baja intensidad lumínica, siendo más grandes, más finas y más horizontales. Sin embargo, la diferenciación estructural del fenotipo foliar podría representar una especialización enfocada a una mayor eficiencia en la captura de diferentes tipos de luz en diferentes momentos (Rubio de Casas *et al.* 2007). Concretamente, las hojas de sol podrían estar especializadas estructural y morfo-fisiológicamente en la captura de la radiación directa de las primeras y las últimas horas del día (cuando la intensidad de luz no es foto-inhibitoria), mientras que las hojas de sombra estarían especializadas en la captura de radiación difusa principalmente en las horas centrales del día (cuando mayor intensidad de luz alcanza a esas regiones de la copa resguardadas). En el Capítulo II de la presente memoria, se pretende dar un paso más en esta línea argumental, investigando, en el acebuche (*Olea europaea* L.), la potencial complementariedad temporal en los patrones diurnos de exposición a la radiación solar de las hojas de sol y sombra, y de sus patrones de asimilación fotosintética y exportación de carbohidratos.

3. MODULARIDAD Y LOS CARACTERES REPRODUCTIVOS

Al igual que las estructuras vegetativas, las estructuras reproductivas de una misma planta pueden manifestar variabilidad en sus caracteres fenotípicos. Carlos M. Herrera, en un ejercicio minucioso de recopilación bibliográfica, describe como prácticamente todos los rasgos fenotípicos de las flores, los frutos y las semillas pueden variar dentro de una misma planta, de manera discreta o categórica (Herrera 2009). A continuación se detallan los ejemplos más conspicuos, aunque se han documentado otras muchas formas de variación fenotípica en las estructuras reproductivas (Herrera 2009 y los estudios citados en este trabajo).

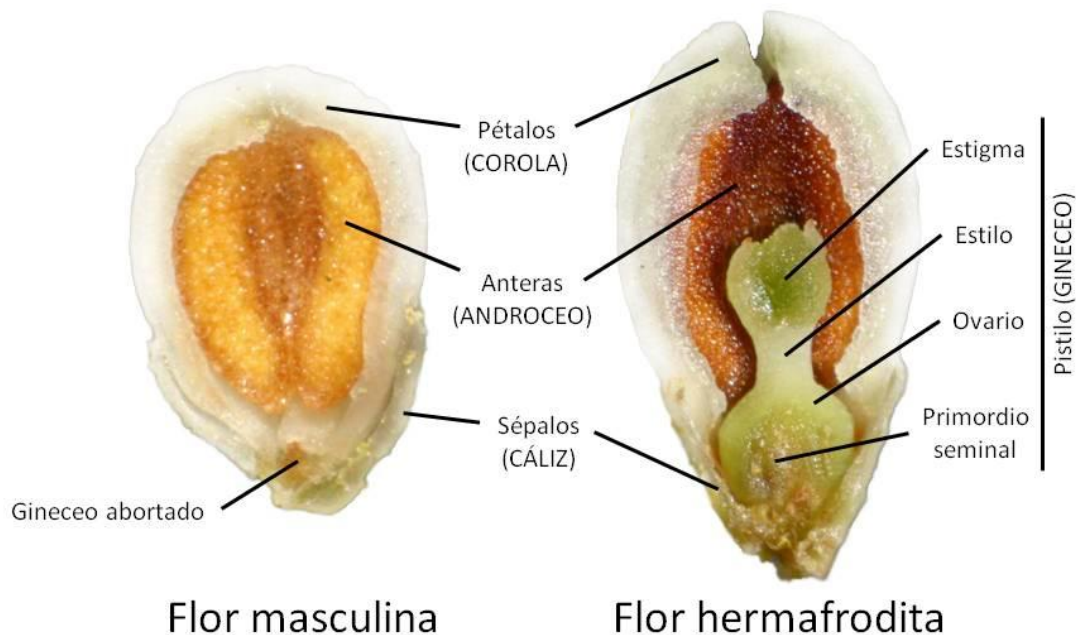
Las flores, aunque son las estructuras que menos variación presentan entre todas las estructuras que se repiten en las plantas, pueden variar tanto en sus rasgos estructurales como en los funcionales. Numerosos trabajos recogen variación continua intra-individual en las dimensiones de las partes de las flores, como los pétalos, las corolas, los estambres o los gineceos, o en la producción de néctar (Zimmerman 1988; Williams y Conner 2001; Diggle 2003; Herrera *et al.* 2006). También se han descrito variaciones en el número de estructuras por flor o, lo que es lo mismo, variaciones intra-individuales en la fórmula floral (Roy 1963; Huether 1968). No obstante, los ejemplos más conocidos y frecuentes de variación en los rasgos florales los proporcionan las especies en las que sus flores difieren en su sexo o en su sistema de cruzamiento (Herrera 2009). Entre las primeras están las especies que producen de manera simultánea varios tipos de flores (Yampolsky y Yampolsky 1922), como las especies monoicas (masculinas y femeninas), andromonoicas (masculinas y hermafroditas) y ginomonoicas (femeninas y hermafroditas). Entre las segundas destacan las especies que producen simultáneamente flores cleistógamas (*i.e.*, cerradas que se autofecundan) y flores casmógamas (*i.e.*, abiertas y están expuestas a la fecundación cruzada; Culley y Klooster 2007), o especies que presentan enantiofilia (*i.e.*, asimetría lateral en la desviación del estilo; Barrett *et al.* 2000).

Por otra parte, también se ha descrito una variación continua dentro de las plantas en las dimensiones de sus frutos (Obeso y Herrera 1994). En plantas que producen frutos carnosos, es frecuente que estos difieran en la cantidad de nutrientes de sus pulpas (Jordano 1995). En plantas que producen ovarios con múltiples primordios seminales, la norma parece ser que sus frutos contengan un número variable de semillas (Obeso y Herrera 1994). No obstante, la variación más notable es la variación cualitativa de los frutos o heterocarpia (Imbert 2002).

Finalmente, la mayoría de las plantas presentan heteromorfismo críptico en sus semillas (Venable 1985) que supone una variación continua dentro de cada individuo en el tamaño y/o

viabilidad en sus semillas (Matilla *et al.* 2005). En cuanto a la variación fenotípica discreta en las semillas, es frecuente que las especies que presentan heterocarpia presenten también heterospermia (Imbert 2002).

Figura 2. Corte longitudinal de una flor masculina y una flor hermafrodita de acebuche.



3.1. Variación fenotípica ordenada en caracteres reproductivos

Pamela K. Diggle es, probablemente, la abanderada en el estudio de los denominados efectos de posición. Las distintas estructuras de las plantas se producen en posiciones distintas y en un contexto ontogenético diferente lo que, como se ha descrito con anterioridad, puede desembocar en variaciones en el fenotipo (e incluso la función) de cada módulo. Este fenómeno se conoce como contingencia ontogenética (Diggle 1994). Así, las flores que se producen en una misma inflorescencia pueden variar en su fenotipo siguiendo algún tipo de patrón que refleje dicha contingencia ontogenética. Los patrones de variación dentro de las inflorescencias tienen dos explicaciones solapantes: la existencia de competencia entre flores por los recursos que llegan a las inflorescencias y limitaciones arquitecturales en estas (Diggle 2003). Así, el patrón de variación más frecuente es la reducción en las dimensiones o el número de las estructuras reproductivas de las flores desde las bases de las inflorescencias hacia sus ápices (Diggle 2003). A su vez, en especies que producen varios tipos florales, esta variación ordenada también se produce en la colocación de

los distintos sexos (Diggle y Miller 2004). Por ejemplo, en especies andromonoicas (*i.e.*, que produce simultáneamente flores hermafroditas y masculinas) las flores hermafroditas se suelen ubicar en las posiciones basales de las inflorescencias, mientras que las masculinas se suelen producir en las distales (Diggle y Miller 2004). El acebuche (*Olea europaea* L.) es una especie andromonoica (Figura 2). No obstante, el patrón de segregación espacial de flores hermafroditas y masculinas dentro de sus inflorescencias no es el habitual. En el Capítulo III de la presente memoria doctoral se investigan las causas de estos efectos de posición atípicos en las inflorescencias del acebuche.

4. LA CONTROVERSIA EN LA DEFINICIÓN DE EFICACIA BIOLÓGICA

De todos los conceptos surgidos en el ámbito de la biología evolutiva el más esquivo tanto en su origen como en su definición es, sin lugar a dudas, el de eficacia biológica (en inglés, “*fitness*”). Se ha de atribuir el germen del término a Charles R. Darwin, quien usó los verbos *fit* y *adapt* de manera análoga (en castellano adecuarse y adaptarse, respectivamente) en toda su obra. Sin embargo, Darwin sólo empleó una vez la palabra *fitness* en la primera edición del “Origen de las especies” (“*Nor ough we marvel if all the contrivances in nature be not, as far as we can judge, absolutely perfect; and if some of them be abhorrent to our idea of fitness*”; citado en Paul 1998). Por su parte, Herbert Spencer, compatriota contemporáneo de Darwin, acuñó la frase “*survival of the fittest*” (la supervivencia del más apto) para intentar eliminar el matiz activo que otorgaba este último a la naturaleza en su expresión “*natural selection*” (selección natural). Si bien la expresión de Spencer no llegó a desbancar nunca a la de Darwin, si parece que pudiera haber promovido el paso definitivo del verbo *fit* y del adjetivo superlativo *fittest* al sustantivo *fitness*. Probablemente, la mejor definición de la eficacia biológica hasta la fecha sea la de Stephen C. Stearns (1976) que señala se trata de “algo que todo el mundo entiende pero que nadie puede definir con precisión” (en inglés, “*fitness: something everyone understands but no one can define precisely*”).

4.1. El concepto de eficacia biológica para Darwin y el descubrimiento del gen

La teoría evolutiva de Darwin se basa en que las propiedades de los organismos varían entre individuos que viven en un determinado ambiente, de modo que aquellos que se adecúen mejor a las condiciones impuestas por este ambiente tendrán más posibilidades de sobrevivir y reproducirse (*i.e.*, tendrán mayor eficacia biológica) que aquellos que se adecúen peor. Sin duda, Darwin fue consciente de que su teoría del cambio evolutivo no estaría completa hasta que se comprendieran los mecanismos relacionados con la herencia. Así, a principios del siglo XX, con el

redescubrimiento de los trabajos de Gregor Mendel, se intentó convertir a la genética la definición ecológica de eficacia biológica propuesta por Darwin. Quizás el más avanzado en esta línea fuera Ronald A. Fisher, quien con su libro "*The genetical theory of natural selection*" (La teoría genética de la selección natural) fue uno de los precursores de la genética poblacional y el cambio evolutivo. Se señaló al gen como el objeto donde actuaba la selección, de modo que la propia selección se redefinió en términos genéticos como el cambio en la frecuencia de los genes. La eficacia biológica se definió, entonces, como la medida en que un organismo transmite su información genética a las siguientes generaciones (Futuyma 1998).

4.2. Estimando la eficacia biológica: el éxito reproductor

Es inevitable sentir un cierto vértigo cuando uno se plantea que ha de medir la eficacia biológica de un organismo, esto es, diseñar un procedimiento con el que cuantificar de manera precisa la cantidad de veces que un organismo transmite su acervo genético a nuevas generaciones y hacerla extensible al resto de individuos de su población, incluso de su especie. Tres razones hacen de esta labor una opción prácticamente inabarcable en la mayoría de los casos. Primero, la reproducción sexual, gracias a la recombinación genética, obliga a "sortear" cuántos y qué genes poseerá la descendencia de cada parental. Segundo, si el organismo es bisexual, como es el caso de la mayoría de las plantas (Yampolsky y Yampolsky 1922), sería necesario calcular la parte correspondiente a la reproducción vía función masculina y femenina. Tercero, las plantas perennes se reproducen en repetidas ocasiones con resultados dispares, con lo que se podría errar en la medida de la eficacia biológica de determinados individuos si no se escogieran individuos equivalentes en su ontogenia. Ante esta situación, y con el objetivo de aunar las definiciones ecológica y genética de eficacia biológica, el propio Douglas J. Futuyma propuso una definición demográfica: la eficacia biológica de un individuo (genotipo) es su contribución promedio a la población, en términos de nuevos integrantes (Futuyma 2009). Este promedio se conceptualiza en el término "éxito reproductor" que describe explícitamente el número medio de descendientes producidos en el proceso reproductivo por el organismo, e implícitamente el crecimiento y supervivencia del mismo, ya que estos son pre-requisitos para que se pueda reproducir (Futuyma 2009).

4.3. Crecimiento vegetativo e inversión reproductiva

La eficacia biológica de las plantas perennes se ve condicionada tanto por los módulos vegetativos como por los módulos reproductivos (Lovett-Doust 1989; Geber 1990), puesto que su supervivencia, crecimiento y reproducción dependen de las sucesivas asignaciones de recursos para producir ambos tipos de módulos. Esto se traduce en que, en condiciones naturales donde la

disponibilidad de recursos es finita, una producción copiosa de flores, frutos o semillas puede limitar el crecimiento vegetativo, y viceversa (Kozlowski 1992; Obeso 2002).

Por norma general, la proporción de recursos asignada a la reproducción, en detrimento de la cantidad de recursos asignados para el crecimiento vegetativo, aumenta con la edad de la planta (Lacey 1986; Lovett-Doust 1989). Teniendo en cuenta que la cantidad de módulos también se incrementa con la edad (Acosta *et al.* 1997), se podría decir que el potencial reproductivo de cada planta depende de cómo crecen sus módulos tanto en número como en tamaño (Acosta *et al.* 1997; López *et al.* 2001). Este fenómeno se puede explicar de dos maneras. Como se mencionaba en el segundo apartado de esta introducción, una mayor inversión reproductiva ayudaría a solventar las limitaciones de soporte impuestas por el crecimiento en tamaño de la planta. Lesley Lovett-Doust, por su parte, explica que la inversión reproductiva, a expensas de su crecimiento vegetativo, reduce la supervivencia y fecundidad en plantas pequeñas (Lovett-Doust 1989). Así, la selección actuaría a favor del crecimiento vegetativo en plantas jóvenes y de la inversión reproductiva en plantas mayores (Lovett-Doust 1989). No obstante, y como consecuencia de la naturaleza modular de las plantas, un incremento en la proporción de recursos asignados a las funciones reproductoras con la edad (o tamaño) se podría manifestar no sólo en el número de módulos dedicados a la reproducción, sino en las características fenotípicas de los mismos, incluso en ambas posibilidades (López *et al.* 2001).

Las medidas de inversión reproductiva están encaminadas a la caracterización de todas y cada una de las fases del proceso reproductivo. Así, hacen referencia a la producción de flores (*e.g.*, Levin y Clay 1984; Morin *et al.* 2007), producción de polen y primordios seminales (Lloyd y Bawa 1984), producción de frutos y semillas (*e.g.*, Kato y Hiura 1999; Dorken y Eckert 2001; Angert y Schemske 2005), viabilidad y germinabilidad de esas semillas (*e.g.*, García *et al.* 2000; Jump y Woodward 2003; Sugiyama 2003), y supervivencia de los nuevos individuos hasta la edad reproductiva (*e.g.*, Rey y Alcántara 2000). Cuantos más de estos estimadores se consideren mejor es la caracterización de la asignación reproductiva real de cada individuo. A su vez, en plantas perennes, esta estimación tendrá más exactitud cuantos más eventos reproductivos se caractericen.

4.4. Estrategias reproductivas: expresión sexual y rendimiento reproductivo

Es indudable que siempre existe un desajuste, de mayor o menor intensidad, entre la inversión reproductiva (cantidad de recursos destinados a reproducción) y el éxito reproductor (número final de descendientes). Este hecho se debe principalmente a dos factores: la existencia de fases reproductivas ajenas a la planta y la naturaleza secuencial del proceso reproductivo. En lo que

respecta a lo primero, las fases de polinización y de dispersión, y en consecuencia lo que ocurre tras ellas, están sujetas a eventualidades que, en principio, la planta no puede controlar (*e.g.*, Herrera *et al.* 1994). En cuanto a lo segundo, es frecuente que no todas las flores den lugar a frutos y que no todos estos den lugar a semillas viables (Angert 2006). Cada fase reproductiva está supeditada a las fases precedentes y, a su vez, condiciona las fases posteriores (Angert 2006). En este sentido, el rendimiento reproductivo estima la proporción de los recursos invertidos inicialmente por la planta que, tras las sucesivas fases reproductivas, dan lugar a semillas viables. En el Capítulo V de la presente memoria doctoral se investiga el rendimiento reproductivo en el acebuche (*Olea europaea* L.). En ese capítulo se pretende profundizar en la relación entre las distintas fases reproductivas y ahondar en las causas intrínsecas y extrínsecas (ambientales) que modulan cada fase del rendimiento reproductivo. Por ello, el estudio se enmarca en poblaciones periféricas, donde es presumible que el rendimiento reproductivo sea reducido como consecuencia su ubicación en hábitats marginales.

No obstante, la mayoría de las plantas son bisexuales (Yampolsky y Yampolsky 1922) con lo que el cálculo del rendimiento reproductivo no tiene en consideración la proporción de recursos que se asignan a la función masculina. Este hecho es de particular relevancia en especies que presentan monoecia o andromonoecia, especies en las que, indefectiblemente, un tipo de flores (las masculinas) no pueden dar lugar a frutos y semillas. Así, las mediciones de expresión sexual están encaminadas a valorar la proporción de recursos reproductivos que la planta asigna a cada función sexual en la primera fase de la reproducción, la floración (Lloyd y Bawa 1984). En el capítulo IV de la presente memoria doctoral se investigan los factores responsables de la expresión sexual del acebuche.

5. OBJETIVOS

El objetivo general de la presente memoria doctoral es estudiar la relación entre la variación fenotípica en el acebuche (*Olea europaea* L.) y el éxito reproductor de sus individuos.

Mediante una aproximación a tres escalas (intra-individual, inter-individual e inter-poblacional) se busca valorar la importancia en la variación fenotípica de: a) la modularidad; b) la plasticidad fenotípica; c) la ontogenia; d) la diferenciación (genética) entre individuos y poblaciones; y e) el ambiente local y regional. A continuación, se pretende investigar cómo esa variación fenotípica se relaciona con la capacidad de captación de recursos y el funcionamiento reproductivo de los distintos individuos.

Los objetivos específicos se han estructurado como capítulos que guardan el formato de artículo científico. Aún mostrando una cierta independencia, los diferentes capítulos persiguen investigar, en su conjunto, el objetivo general y se encuentran integrados en una discusión general (Capítulo VI). El orden de los capítulos responde al incremento en la complejidad de la escala en la que se aborda la variación fenotípica.

1. En el capítulo II, se pretende examinar si existe división de trabajo en el interior de la copa de los acebuches. Se abordan específicamente las siguientes preguntas: 1) ¿Optimiza la expresión de plasticidad el funcionamiento fotosintético en las capas más expuestas de la copa y en las más sombreadas? 2) ¿Comparten las hojas de estas dos capas los mismos patrones arquitecturales y fotosintéticos a lo largo del día? 3) ¿Poseen esos mismos patrones las hojas en las plantas de vivero cultivados en dos niveles de luz? 4) ¿Hay alguna evidencia de integración en la expresión local de plasticidad entre las capas más expuestas de la copa y las más sombreadas?

2. En el capítulo III, se tratan de caracterizar los efectos de posición en las inflorescencias del acebuche. Se plantean las siguientes preguntas: 1) ¿Depende la cantidad de flores que poseen las inflorescencias y el sexo de las mismas de la posición de las inflorescencias en las ramas? 2) ¿Se redistribuyen los sexos florales dentro de las inflorescencias cuando se elimina la flor apical? 3) ¿Cambian los efectos de posición en las inflorescencias del acebuche al eliminar hojas o inflorescencias en sus ramas floríferas?

3. En el capítulo IV, se persigue investigar qué factores son los responsables de la variación en la expresión sexual en el acebuche. Concretamente se trata de dar respuesta a cinco preguntas: 1) ¿Se ajusta la expresión sexual del acebuche a las predicciones del “modelo de la ventaja del tamaño”? 2) ¿Se relacionan las diferencias en la disponibilidad de luz entre distintas partes de las partes de la copa con la asignación sexual en cada una de ellas? 3) ¿Afectan los rasgos foliares morfofuncionales a la expresión sexual? 4) ¿Afectan los nutrientes del suelo a la expresión sexual? 5) ¿Afecta la inversión reproductiva en eventos reproductivos anteriores a la expresión sexual?

4. En el capítulo V, se persigue estudiar el rendimiento reproductivo en el acebuche en un contexto biogeográfico enfocado en poblaciones periféricas. Se abordan específicamente las siguientes cuestiones: 1) ¿Presentan todas las poblaciones periféricas de *O. europaea* un rendimiento reproductivo empobrecido? 2) ¿Qué componentes del rendimiento reproductivo presentan mayor variación entre poblaciones? 3) ¿En qué medida las posibles diferencias entre poblaciones se deben a las condiciones ambientales locales de cada una o a la divergencia entre los rasgos fenotípicos de sus individuos?

6. BIBLIOGRAFÍA

- Ackerly DD, Dudley SA, Sultan SE, Schmitt J, Coleman JS, Linder CR, Sandquist DR, Geber MA, Evans AS, Dawson TE, Lachowicz MJ (2000) The evolution of plant ecophysiological traits: recent advances and future directions. *Bioscience* 50:979-995
- Ackerly DD, Monson RK (2003) Waking the sleeping giant: the evolutionary foundations of plant function. *International Journal of Plant Sciences* 164:S1-S6
- Acosta FJ, Delgado JA, Lopez E, Serrano JM (1997) Functional features and ontogenetic changes in reproductive allocation and partitioning strategies of plant modules. *Plant Ecology* 132:71-76
- Adams CE, Huntingford FA (2004) Incipient speciation driven by phenotypic plasticity? Evidence from sympatric populations of Arctic charr. *Biological Journal of the Linnean Society* 81:611-618
- Agrawal AA (2001) Phenotypic plasticity in the interactions and evolution of species. *Science* 294:321-326
- Allsopp A (1967) Heteroblastic development in vascular plants. *Advances in morphogenesis* 6:127-171
- Angert AL (2006) Demography of central and marginal populations of monkeyflowers (*Mimulus cardinalis* and *M. lewisii*). *Ecology* 87:2014-2025
- Angert AL, Schemske DW (2005) The evolution of species' distributions: reciprocal transplants across the elevation ranges of *Mimulus cardinalis* and *M. lewisii*. *Evolution* 59:1671-1684
- Barrett SCH, Jesson LK, Baker AM (2000) The evolution and function of stylar polymorphisms in flowering plants. *Annals of Botany* 85:253-265
- Bazzaz FA (1991) Habitat selection in plants. *American Naturalist* 137:S116-S130
- Bradshaw AD (1965) Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Advances in Genetics* 13:115-155

- Charpentier A, Stuefer JF (1997) Functional specialization of ramets in *Scirpus maritimus* - Splitting the tasks of sexual reproduction, vegetative growth, and resource storage. *Plant Ecology* 141:129-136
- Coleman JS, McConnaughay KDM, Ackerly DD (1994) Interpreting phenotypic variation in plants. *Trends in Ecology & Evolution* 9:187-191
- Crispo E (2007) The Baldwin effect and genetic assimilation: revisiting two mechanisms of evolutionary change mediated by phenotypic plasticity. *Evolution* 61:2469-2479
- Crispo E (2008) Modifying effects of phenotypic plasticity on interactions among natural selection, adaptation and gene flow. *Journal of Evolutionary Biology* 21:1460-1469
- Culley TM, Klooster MR (2007) The cleistogamous breeding system: a review of its frequency, evolution, and ecology in angiosperms. *Botanical Review* 73:1-30
- de Kroon H, Huber H, Stuefer JF, van Groenendael JM (2005) A modular concept of phenotypic plasticity in plants. *New Phytologist* 166:73-82
- Delagrangé S, Messier C, Lechowicz MJ, Dizengremel P (2004) Physiological, morphological and allocational plasticity in understory deciduous trees: importance of plant size and light availability. *Tree Physiology* 24:775-784
- Diggle PK (1994) The expression of andromonoecy in *Solanum hirtum* (Solanaceae): phenotypic plasticity and ontogenetic contingency. *American Journal of Botany* 81:1354-1365
- Diggle PK (1995) Architectural effects and the interpretation of patterns of fruit and seed development. *Annual Review of Ecology and Systematics* 26:531-552
- Diggle PK (2002) A developmental morphologist's perspective on plasticity. *Evolutionary Ecology* 16:267-283
- Diggle PK (2003) Architectural effects on floral form and function: a review. En: *Deep morphology: toward a renaissance of morphology in plant systematics* (Eds. T. Stuessy T, Hörandl E, Mayer V). Koeltz, Königstein
- Diggle PK, Miller JS (2004) Architectural effects mimic floral sexual dimorphism in *Solanum* (Solanaceae). *American Journal of Botany* 91:2030-2040

- Donohue K (2003) Setting the stage: Phenotypic plasticity as habitat selection. *International Journal of Plant Sciences* 164:S79-S92
- Dorken ME, Eckert CG (2001) Severely reduced sexual reproduction in northern populations of a clonal plant, *Decodon verticillatus* (Lythraceae). *Journal of Ecology* 89:339-350
- Futuyma D.J. (1998) *Evolutionary Biology*. 3^a ed. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, EE.UU. 765 pags
- Futuyma DJ (2009) Natural selection and adaptation. En: *Evolution*. 2^a ed. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, EE.UU. 663 pags
- García D, Zamora R, Gómez JM, Jordano P, Hódar JA (2000) Geographical variation in seed production, predation and abortion in *Juniperus communis* throughout its range in Europe. *Journal of Ecology* 88:436-446
- García-Verdugo C, Granado-Yela C, Manrique E, de Casas RR, Balaguer L (2009) Phenotypic plasticity and integration across the canopy of *Olea europaea* subsp. *guanchica* (Oleaceae) in populations with different wind exposures. *American Journal of Botany* 96:1454-1461
- Geber MA, Griffen LR (2003) Inheritance and natural selection on functional traits. *International Journal of Plant Sciences* 164:S21-S42
- Ghalambor CK, McKay JK, Carroll SP, Reznick DN (2007) Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Functional Ecology* 21:394-407
- Haukioja E, Koricheva J (2000) Tolerance to herbivory in woody vs. herbaceous plants. *Evolutionary Ecology* 14:551-562
- Henriksson J (2001) Differential shading of branches or whole trees: survival, growth, and reproduction. *Oecologia* 126:482-486
- Herrera CM (2009) *Multiplicity in unity: plant subindividual variation and interactions with animals*. University Of Chicago Press, Chicago, EE.UU. 437 pags
- Herrera CM, Jordano P, Lopezsofia L, Amat JA (1994) Recruitment of a mast-fruited, bird-dispersed tree: bridging frugivore activity and seedling establishment. *Ecological Monographs* 64:315-344

- Herrera CM, Pérez R, Alonso C (2006) Extreme intraplant variation in nectar sugar composition in an insect-pollinated perennial herb. *American Journal of Botany* 93:575-581
- Howell CJ, Kelly D, Turnbull MH (2002) Moa ghosts exorcised? New Zealand's divaricate shrubs avoid photoinhibition. *Functional Ecology* 16:232-240
- Huether CA (1968) Exposure of natural genetic variability underlying the pentamerous corolla constancy in *Linanthus androsaceus* ssp. *androsaceus*. *Genetics* 60
- Imbert E (2002) Ecological consequences and ontogeny of seed heteromorphism. *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics* 5:13-36
- Jerling L (1985) Are plants and animals alike? A note on evolutionary plant population ecology. *Oikos* 45:150-153
- Jordano P (1995) Angiosperm fleshy fruits and seed dispersers: a comparative analysis of adaptation and constraints in plant-animal interactions. *American Naturalist* 145:163-191
- Jump AS, Woodward FI (2003) Seed production and population density decline approaching the range-edge of *Cirsium* species. *New Phytologist* 160:349-358
- Jurik TW, Chabot JF, Chabot BF (1979) Ontogeny of photosynthetic performance in *Fragaria virginiana* under changing light regimes. *Plant Physiology* 63:542-547
- Kato E, Hiura T (1999) Fruit set in *Styrax obassia* (Styracaceae): the effect of light availability, display size, and local floral density. *American Journal of Botany* 86:495-501
- Laland KN, Odling-Smee FJ, Feldman MW (1999) Evolutionary consequences of niche construction and their implications for ecology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96:10242-10247
- Lande R (1976) Natural selection and random genetic drift in phenotypic evolution. *Evolution* 30:314-334
- Lehrer M, Horridge GA, Zhang SW, Gadagkar R (1995) Shape vision in bees: innate preference for flower-like patterns. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 347:123-137

- Levin DA, Clay K (1984) Dynamics of synthetic *Phlox drummondii* populations at the species margin. *American Journal of Botany* 71:1040-1050
- Lewontin RC (1970) The units of selection. *Annual review of ecology and systematics* 1:1-18
- Lloyd DG (1984) Variation strategies of plants in heterogeneous environments. *Biological Journal of the Linnean Society* 21:357-385
- Lloyd DG, Bawa KS (1984) Modification of the gender of seed plants in varying conditions. *Evolutionary Biology* 17:255-338
- López F, Fungairino S, de la Heras P, Serrano J, Acosta F (2001) Age changes in the vegetative vs. reproductive allocation by module demographic strategies in a perennial plant. *Plant Ecology* 157:13-21
- Lovett-Doust L (1989) Plant reproductive strategies and resource allocation. *Trends in Ecology & Evolution* 4:230-234
- Moreno-Alías I, León L, de la Rosa R, Rapoport HF (2009) Morphological and anatomical evaluation of adult and juvenile leaves of olive plants. *Trees-Structure and Function* 23:181-187
- Morin X, Augspurger C, Chuine I (2007) Process-based modeling of species' distributions: what limits temperate tree species' range boundaries? *Ecology* 88:2280-2291
- Obeso JR, Herrera CM (1994) Inter- and intraspecific variation in fruit traits in co-occurring vertebrate-dispersed plants. *International Journal of Plant Sciences* 155:382-387
- Palmer AR, Strobeck C (1986) Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. *Annual Review of Ecology and Systematics* 17:391-421
- Palmer AR, Strobeck C (1997) Fluctuating asymmetry and developmental stability: heritability of observable variation vs. heritability of inferred cause. *Journal of Evolutionary Biology* 10:39-49
- Paul D (1998) Fitness: historical perspectives. En: *Keywords in evolutionary biology* (Eds. Keller EF, Lloyd EA). Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, EE.UU. 414 pags

- Pearcy RW, Muraoka H, Valladares F (2005) Crown architecture in sun and shade environments: assessing function and trade-offs with a three-dimensional simulation model. *New Phytologist* 166:791-800
- Petit RJ, Hampe A (2006) Some evolutionary consequences of being a tree. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 37:187-214
- Pigliucci M, Murren CJ (2003) Genetic assimilation and a possible evolutionary paradox: can macroevolution sometimes be so fast as to pass us by? *Evolution* 57:1455-1464
- Price TD, Qvarnstrom A, Irwin DE (2003) The role of phenotypic plasticity in driving genetic evolution. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 270:1433-1440
- Rey PJ, Alcántara JM (2000) Recruitment dynamics of a fleshy-fruited plant (*Olea europaea*): connecting patterns of seed dispersal to seedling establishment. *Journal of Ecology* 88:622-633
- Roy SK (1963) The variation of organs of individual plants. *Journal of Genetics* 58:147-176
- Rubio de Casas R, Vargas P, Pérez-Corona E, Manrique E, Quintana JR, García-Verdugo C, Balaguer L (2007) Field patterns of leaf plasticity in adults of the long-lived evergreen *Quercus coccifera*. *Annals of Botany* 100:325-334
- Ruohomaki K, Haukioja E, Repka S, Lehtila K (1997) Leaf value: effects of damage to individual leaves on growth and reproduction of mountain birch shoots. *Ecology* 78:2105-2117
- Sachs T, Novoplansky A, Cohen D (1993) Plants as competing populations of redundant organs. *Plant Cell and Environment* 16:765-770
- Sack L, Melcher PJ, Liu WH, Middleton E, Pardee T (2006) How strong is intracanalopy leaf plasticity in temperate deciduous trees? *American Journal of Botany* 93:829-839
- Salonen V, Lammi A (2001) Effects of root hemiparasitic infection on host performance: reduced flower size and increased flower asymmetry. *Ecoscience* 8:185-190
- Schlichting CD, Pigliucci M (1998) Phenotypic evolution: a reaction norm perspective. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, EE.UU. 340 pags

- Schlichting CD (2004) The role of phenotypic plasticity in diversification. En: Phenotypic plasticity: functional and conceptual approaches (Eds. DeWitt TJ, Scheiner SM). Oxford University Press, Oxford, Reino Unido. Pags 191-200
- Schmalhausen II (1949) Factors of evolution. University of Chicago Press, Chicago, EE.UU.
- Schmid B (1992) Phenotypic variation in plants. *Evolutionary Trends in Plants* 6:45-60
- Smith EA, Collette SB, Boynton TA, Lillrose T, Stevens MR, Bekker MF, Eggett D, St Clair SB (2011) Developmental contributions to phenotypic variation in functional leaf traits within quaking aspen clones. *Tree Physiology* 31:68-77
- Stearns SC (1976) Life-history tactics: a review of the ideas. *Quarterly Review of Biology* 51:3-47
- Sterck FJ, Bongers F (1998) Ontogenetic changes in size, allometry, and mechanical design of tropical rain forest trees. *American Journal of Botany* 85:266-272
- Stuefer JF (1998) Two types of division of labour in clonal plants: Benefits, costs and constraints. *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics* 1:47-60
- Stuefer JF, DeKroon H, During HJ (1996) Exploitation of environmental heterogeneity by spatial division of labour in a clonal plant. *Functional Ecology* 10:328-334
- Stuefer JF, During HJ, Schieving F (1998) A model on optimal root-shoot allocation and water transport in clonal plants. *Ecological Modelling* 111:171-186
- Sugiyama S (2003) Geographical distribution and phenotypic differentiation in populations of *Dactylis glomerata* L. in Japan. *Plant Ecology* 169:295-305
- Sultan SE (1987) Evolutionary implications of phenotypic plasticity in plants. *Evolutionary Biology* 21:127-178
- Van Valen L (1962) A study of fluctuating asymmetry. *Evolution* 16
- Valladares F, Niinemets U (2008) Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 39:237-257
- Via S (1993) Adaptive phenotypic plasticity: target or byproduct of selection in a variable environment? *American Naturalist* 142:352-365

- Violle C, Navas ML, Vile D, Kazakou E, Fortunel C, Hummel I, Garnier E (2007) Let the concept of trait be functional! *Oikos* 116:882-892
- Walbot V (1996) Sources and consequences phenotypic and genotypic plasticity in flowering plants. *Trends in Plant Science* 1:27-32
- Watkinson AR, White J (1986) Some life-history consequences of modular construction in plants. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 313:31-51
- Watson MA, Casper BB (1984) Morphogenetic constraints on patterns of carbon distribution in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 15:233-258
- West-Eberhard MJ (2003) *Developmental plasticity and evolution*. Oxford University Press, Oxford, Reino Unido
- White J (1979) The plant as a metapopulation. *Annual Review of Ecology and Systematics* 10: 109-145
- Whitman DW, Agrawal AA (2009) What is phenotypic plasticity and why is it important? En: *Phenotypic Plasticity of Insects*. Science Publishers, Enfield, Reino Unido. Pags 1-63
- Williams GC (1986) Retrospect on modular organisms. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 313:245-250
- Williams JL, Conner JK (2001) Sources of phenotypic variation in floral traits in wild radish, *Raphanus raphanistrum* (Brassicaceae). *American Journal of Botany* 88:1577-1581
- Yampolsky C, Yampolsky H (1922) Distribution of sex forms in the phanerogamic flora. *Bibliotheca Genetica* 3:1-62
- Yeh PJ, Price TD (2004) Adaptive phenotypic plasticity and the successful colonization of a novel environment. *American Naturalist* 164:531-542
- Zimmerman M (1988) Pollination biology of montane plants: relationship between rate of nectar production and standing crop. *American Midland Naturalist* 120:50-57

CAPÍTULO II

División espacio-temporal del trabajo dentro de la copa

Publicado en la revista *Plant, Cell and Environment* con el título: “Temporal matching among diurnal photosynthetic patterns within the crown of the evergreen sclerophyll *Olea europaea* L.”

RESUMEN

Los árboles son organismos modulares capaces de ajustar su morfología y la fisiología de sus hojas en respuesta a los gradientes de luz que se producen en el interior de sus copas. Sin embargo, aún no se ha comprobado formalmente hasta qué punto la variación fenotípica foliar dentro de las copas puede constituir una estrategia que permita optimizar la absorción de luz a nivel de toda la planta. En este trabajo se analizó la disposición de la superficie foliar fotosintética en las capas más expuestas y en las más sombreadas de un acebuche (*Olea europaea* L.). A continuación, se caracterizó cómo variaba esa superficie a lo largo de un día en ambas capas, considerando la trayectoria solar y suponiendo que las hojas no se movieron. Posteriormente se examinaron los efectos de esta variación de la superficie foliar en los procesos fotosintéticos. Las mismas medidas se realizaron en estaquillas provenientes del individuo analizado en campo y que fueron cultivadas en dos ambientes lumínicos diferentes (100% y 20% de la luz solar incidente). Estos niveles de luz eran equivalentes a los niveles que experimentaban las hojas de sol y las hojas de sombra del acebuche analizado en campo. La comparación entre las situaciones de campo y de vivero permite discutir si los patrones diarios de interceptación de luz y fijación de carbono, en ambientes expuestos y sombreados, se deben únicamente a la respuesta de las hojas a las condiciones lumínicas locales o si, por el contrario, existen mecanismos de coordinación entre poblaciones de hojas que experimentan ambientes de luz contrastados dentro de la copa. En la planta en condiciones naturales, los patrones de las hojas de sol en la interceptación de luz, fijación de carbono y acumulación de carbohidratos a lo largo del día se correlacionaron negativamente con los de las hojas de sombra. Sin embargo, estos patrones complementarios no se encontraron en sus clones en el vivero. La disparidad temporal entre las distintas posiciones de la copa surgió como consecuencia de la especialización de la conducta fotosintética a diferentes escalas espaciales y funcionales: nivel de copa (arquitectura de la planta) y nivel de hoja (balance de carbono). Los resultados de este trabajo sugieren que la rentabilidad a la hora de producir un nuevo módulo no deriva única y exclusivamente de los costes de su construcción o de la disponibilidad de luz, sino que también depende de su integración espacio-temporal en los procesos productivos a nivel de toda la copa.

Palabras clave: área de la silueta, carbohidratos no estructurales, hojas de sol, hojas de sombra, organismo modular, plasticidad fenotípica, radiación PAR, reparto de tareas, tasa de asimilación de CO₂.

Abreviaturas: $A_{\text{área}}$, tasa de asimilación instantánea de CO_2 por unidad de área; A_{masa} , tasa de asimilación instantánea de CO_2 por unidad de masa seca; A_{max} , tasa de asimilación fotosintética máxima; AQ, curva de asimilación fotosintética en respuesta a la luz; l-AQ, fase lineal de la AQ; LA, área foliar (del inglés “*Leaf Area*”); NSC, contenido total de carbohidratos no estructurales por unidad de masa seca (del inglés “*Non-Structural Carbohydrates*”); PAR, radiación fotosintéticamente activa a cielo descubierto (del inglés “*Photosynthetically Active Radiation*”); PARi, radiación PAR recibida directamente por las hojas; PSL, punto de saturación de luz; Q95-75-50, 95°-75°-50° funciones cuantiles, respectivamente; SAL, área de la silueta foliar (del inglés “*Silhouette Area of the Leaf blade*”); sat-AQ, fase de la AQ en condiciones de luz saturante; $tA_{\text{área}}$, asimilación diurna total de CO_2 por unidad de área; tA_{masa} , asimilación diurna total de CO_2 por unidad de masa seca; tPAR, radiación PAR diurna total a cielo descubierto; tPARi, radiación PAR diurna total recibida directamente por las hojas; %SAL, SAL como porcentaje de LA; ϕ , eficiencia fotosintética aparente.

1. INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente, las plantas se han descrito como colonias de módulos que se repiten y que desempeñan funciones fisiológicas similares, incluso idénticas (White 1979). En este sentido, la redundancia modular se ha interpretado como una estrategia pasiva cuya finalidad podría ser la de proteger a las plantas frente al envejecimiento y las perturbaciones, a costa del incremento en la autonomía de los módulos y la posibilidad de desecharlos (Sprugel *et al.* 1991; Henriksson 2001). Sin embargo, los beneficios funcionales para toda la planta parecen aumentar según se incrementa la población de módulos. Una población de módulos grande mejora la eficiencia en la búsqueda de recursos, optimizando el uso de los recursos disponibles mediante la exploración activa del medio y el crecimiento en direcciones más favorables (Silvertown y Gordon 1989; Bazzaz 1991; Augspurger y Bartlett 2003). El incremento en la población de módulos, sumado a la habilidad de expresar fenotipos alternativos (*i.e.*, la plasticidad fenotípica), ocasiona un aumento en las relaciones potenciales entre los módulos. Haciendo un paralelismo con los sistemas económicos, las colonias de insectos sociales o los animales modulares, aquellas sociedades que aumentan su tamaño en pro de un objetivo común se han de mantener unidas inevitablemente mediante una estrategia de división del trabajo que esté basada en la especialización de las unidades en tareas concretas y la coordinación entre ellas, lo que finalmente se traduce en un beneficio mayor para el conjunto de la sociedad (Durkheim 1893; Robinson 1992; Wahl 2002). Dentro del grupo de las plantas vasculares,

la división de trabajo sólo se ha descrito en angiospermas clonales (Stuefer *et al.* 1996; Stuefer 1998). En ambientes espacialmente heterogéneos, los módulos de las plantas clonales (*ramets*) desconectados se especializan en el recurso que es limitante. Sin embargo, los módulos interconectados (*i.e.*, aquellos que son capaces de intercambiar agua y fotoasimilados) son capaces de especializarse en aquel recurso que es localmente más abundante. La cooperación estrecha entre los módulos interconectados aumenta significativamente el rendimiento de toda la planta (*genet*) con el consiguiente aumento de su éxito reproductor (Stuefer *et al.* 1996; Stuefer 1998).

La sinergia entre la demografía modular y la plasticidad fenotípica parece ser de particular relevancia en el caso de los árboles. A pesar de que los árboles no forman un grupo natural, todos comparten una serie de atributos como son la alta modularidad, gran tamaño, longevidad, elevada inversión reproductiva, gran plasticidad fenotípica y elevada tolerancia fisiológica (Petit y Hampe 2006). Por ejemplo, estudios en condiciones naturales han demostrado que la exposición al viento puede provocar reordenamientos mecánicos e hidráulicos en las capas externas de la copa del árbol que ayudan a dar refugio a las capas internas (García-Verdugo *et al.* 2009). Sin embargo, la expresión de plasticidad dentro de las copas de los árboles no parece estar relacionada con el viento en la mayoría de los casos, sino con la luz (Sack *et al.* 2006). Las hojas de sol son, generalmente, más pequeñas y gruesas que las hojas de sombra, y presentan mayores tasas de asimilación fotosintética por unidad de área (Jurik *et al.* 1979; Valladares y Niinemets 2008). La plasticidad en la expresión de distintos ángulos foliares modula la calidad y cantidad de luz que se trasmite a través de la copa, lo que, en última instancia, eleva la captura de carbono de toda la planta (Uemura *et al.* 2006). Además, la plasticidad en la inclinación de los ángulos en las capas más externas permite la modificación del ambiente lumínico dentro de la copa ya que ayuda a suavizar la variabilidad en el ambiente lumínico que experimentan las hojas de las capas más internas (Rubio de Casas *et al.* 2007). Sin embargo, aunque todos estos signos de interacción entre módulos especializados apuntan hacia la existencia de reparto de tareas (espacial y/o temporal) entre módulos de una misma copa, no la confirman.

En este trabajo se investigó, en un individuo adulto de acebuche canario (*Olea europaea* L. subsp. *guanchica* P. Vargas *et al.*), el potencial reparto de tareas entre módulos que experimentaban ambientes luminosos en los dos extremos del gradiente de luz dentro de las copas o, lo que es lo mismo, entre la población de hojas más expuestas y las más sombreadas del árbol. Con ese fin, se ajustó el diseño empleado para caracterizar los fenómenos de división del trabajo en plantas clonales (Stuefer *et al.* 1996) para que fuera aplicable en árboles: se investigó el funcionamiento de los módulos interconectados (*i.e.*, estado habitual dentro de la copa de un árbol) y el funcionamiento

de los módulos desconectados experimentalmente (*i.e.*, estado fuera de una copa). Para ser más precisos, se investigó el funcionamiento de dos poblaciones de hojas interconectadas dentro de la copa y que experimentan diferentes ambientes de luz en campo (exposiciones de sol y sombra) y el funcionamiento de las poblaciones de hojas de las plantas de vivero (estaquillas) que fueron cultivados en dos ambientes de luz (tratamientos de sol y sombra). Primero se investigó cómo la planta disponía la superficie fotosintética foliar para capturar la luz a lo largo del día y, a continuación, se determinó cómo la variación diurna en esa superficie fotosintética afectó a la fijación de CO₂ y al contenido de carbohidratos en las hojas. La hipótesis de partida fue que la divergencia espacial de los dos ambientes de luz dentro de la copa, mediada por la especialización de sus hojas, permitiría la segregación temporal de los máximos de asimilación fotosintética en cada ambiente y, como consecuencia, la aparición de patrones de asimilación fotosintética complementarios dentro de la copa. Por el contrario, se esperaba que los patrones de interceptación de luz, de fijación de carbono y de acumulación de carbohidratos en las plantas de vivero reflejaran simplemente la disponibilidad de luz en cada momento, independientemente del tratamiento de luz, como consecuencia de su estado fuera de una copa.

Se abordaron específicamente las siguientes preguntas: 1) ¿Optimiza la expresión de plasticidad el funcionamiento fotosintético en las capas más expuestas de la copa y en las más sombreadas? 2) ¿Comparten las hojas de estas dos capas los mismos patrones arquitecturales y fotosintéticos a lo largo del día? 3) ¿Poseen las hojas en las plantas de vivero cultivados en dos niveles de luz esos mismos patrones? 4) ¿Hay alguna evidencia de integración en la expresión local de plasticidad entre las capas más expuestas de la copa y las más sombreadas?

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Especie, localización y diseño experimental

El acebuche canario, *Olea europaea* L. subsp. *guanchica* P. Vargas *et al.*, es una especie esclerófila de tamaño medio, endémica de las Islas Canarias. El presente estudio se realizó en un acebuche adulto y en plantas de tres años de edad que se obtuvieron a partir de estaquillas de ese mismo individuo y que fueron cultivadas en un vivero. Debido a la gran cantidad y complejidad de las medidas realizadas, el estudio se tuvo que restringir a un único árbol en concordancia con trabajos previos en que se efectuaban medidas similares (*e.g.*, Le Roux *et al.* 2001 y los estudios citados en ese trabajo). El acebuche analizado medía 3.5 m de alto y estaba localizado en Finca Amado, una

población natural de acebuches en la isla de La Palma (28°38' Norte, 17°46' Oeste). Las dimensiones de la planta se aproximaban a los valores medios descritos para la especie (García-Verdugo *et al.* 2009). La población de acebuches se encuentra en una planicie y el individuo elegido no estaba sombreado por las plantas adyacentes ni por ningún tipo de estructura.

Para el experimento de vivero se cortaron diez ramas maduras de la parte superior de la copa del individuo analizado en campo. Las ramas fueron transportadas al vivero (La Tahonilla, Tenerife, Islas Canarias), manteniéndolas húmedas y refrigeradas. De estas ramas se cortaron estaquillas de 10 cm. Dichas estaquillas fueron tratadas con hormonas de enraizamiento comerciales (0.06% de ácido indolbutírico y 0.08% de α -naftil-acetamida). Las estaquillas se plantaron en macetas de 50 litros que contenían un sustrato formado por 50% de tierra vegetal, 25% de turba y 25% de perlita (v/v; para más detalles véase García-Verdugo *et al.* 2009). La mitad de las estaquillas se mantuvieron en condiciones naturales de iluminación (tratamiento de sol) y la otra mitad se mantuvieron en condiciones de iluminación reducida (tratamiento de sombra). El tratamiento de sombra se logró gracias a una malla de sombreo que reducía un 80% la densidad de flujo de fotones fotosintéticos. Se escogió este nivel de sombreo ya que se corresponde con la reducción anual media causada por la copa de las esclerófilas mediterráneas (Balaguer *et al.* 2001; García-Verdugo 2009). Para controlar el potencial hídrico se colocaron, en siete tiestos, sensores de humedad Watermark WEM-II conectados a un registrador Watermark datalogger (Irrometer, Riverside, California, EE.UU.). Las plantas fueron regadas automáticamente cuando el potencial hídrico alcanzaba -10 KPa, con lo que se aseguraban condiciones óptimas para el crecimiento de las plantas y se evitaba el estrés hídrico (García-Verdugo *et al.* 2009). Se fertilizaron los tiestos dos veces al año con un fertilizante comercial líquido (NPK; 7:5:6). Para las medidas en vivero se escogieron, en cada tratamiento de iluminación, tres plantas de tres años y que medían aproximadamente 1.1 metros de altura.

En los días 27 y 29 de septiembre de 2008 se caracterizó, respectivamente, el funcionamiento de las hojas de las capas más expuestas de la copa (hojas de sol) y el de las hojas de las capas más sombreadas (hojas de sombra) en el individuo de campo, y el funcionamiento de las hojas de las plantas de vivero en los tratamientos de sol y sombra. Tanto en el campo como en el vivero se instaló un registrador U12 al que se acopló un sensor de luz PAR modelo S-LIA-M003 (Onset Computer Corp., Bourne, Massachusetts, EE.UU.). Este sistema registró la radiación activamente fotosintética a cielo descubierto (PAR, del inglés “*Photosynthetically Active Radiation*”; $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Se consideraron como hojas de sol aquellas completamente desarrolladas en la parte superior del sector sur de la copa, mientras que las hojas completamente

desarrolladas y ubicadas en la zona interior de la parte inferior del sector norte se consideraron como hojas de sombra (Sack *et al.* 2006; Rubio de Casas *et al.* 2007). En las plantas de vivero sólo se muestrearon las hojas de la parte superior de las plantas para evitar efectos de auto-sombreo, aunque la existencia de gradientes de luz en el interior de las plantas era improbable debido al tamaño reducido de las mismas. Aproximadamente cada 6 minutos se escogió al azar una hoja ($n = 318$), desde antes del amanecer (6:00 UTC+1) hasta bien entrada la noche (22:00 UTC+1), alternando entre hojas de sol y hojas de sombra en el campo ($n = 78$ por exposición) y entre tratamientos de luz y plantas en el vivero ($n = 81$ por tratamiento). En el lapso de 6 minutos de tiempo entre hojas se dibujó la silueta de cada hoja para calcular su área en el laboratorio, se midieron sus ángulos (Figura 1) y se midió la tasa de asimilación de CO₂ instantánea. Una vez se hubieron hecho estas medidas las hojas fueron recogidas y se extrajeron, con un sacabocados, dos discos de 30 mm² de cada una de ellas. Las hojas recolectadas se introdujeron inmediatamente en nitrógeno líquido y se conservaron en un arcón congelador a -80°C hasta que se cuantificaron los carbohidratos foliares. Bajo estas condiciones de refrigeración, cada fracción de carbohidratos se mantiene intacta (*i.e.*, no se producen transformaciones o degradaciones). Los discos foliares se pesaron en el laboratorio con una balanza de precisión Mettler Toledo, Greifensee, Suiza), se secaron en una estufa a 65°C durante 48 h, y se volvieron a pesar para calcular la relación entre el área foliar y la masa seca.

2.2. Medidas arquitecturales de las hojas

Con frecuencia se asume que la captación de luz por parte de una hoja está determinada única y exclusivamente por su área foliar (LA), o lo que es lo mismo, se asume que las hojas más grandes interceptan más luz que las hojas más pequeñas. Todas las hojas capturan el máximo de luz cuando sus rayos alcanzan el plano de la hoja perpendicularmente. Sin embargo, en hojas que no se mueven con el sol, esta situación (lámina foliar perpendicular a los rayos del sol) es anecdótica ya que, mientras que la hoja permanece estática, la posición del sol varía a lo largo del día y con las distintas estaciones del año. Se puede concluir entonces, que existe una reducción en la captación potencial de luz de la hoja durante la mayor parte del tiempo, y que esta se debe al desacople entre la posición del sol y la orientación de la hoja. De hecho, durante décadas se han propuesto diversos métodos para cuantificar la cantidad real de la hoja que, en un preciso momento, está recibiendo luz. En el presente estudio se emplea una versión modificada del área de la silueta foliar (Carter y Smith 1985; Smith *et al.* 1991) ajustado para hojas individuales (del inglés “*Silhouette Area of the Leaf blade*”; SAL), y que calcula el área foliar (LA) que se estaría viendo desde el sol en un preciso momento, ignorando los posibles solapamientos con otras hojas o ramas.

El área foliar (LA; cm²) se calculó a partir de las siluetas de las hojas ($n = 318$) usando un programa de edición de imágenes (Scion Image software; Scion Corp., Frederick, Maryland, EE.UU.). Para caracterizar correctamente la orientación de las 318 hojas muestreadas se midieron *in situ* tres ángulos de cada lámina foliar (α , β , γ ; Figura 1) usando un transportador de ángulos. La trayectoria solar de los días 27 y 29 de septiembre de 2008 se obtuvo mediante el siguiente programa: SP v1.7 (Mike Brackenridge, sunposition.info). A su vez, los planos de las 318 hojas se digitalizaron en AutoCAD 2007 (Autodesk Inc.), en archivos independientes y como cuadrados orientados (en función de los tres ángulos medidos) de dimensiones 1x1 cm². En el archivo correspondiente al plano de cada hoja se implementó la posición del sol en el momento preciso en que se tomaron sus medidas. El área resultante del cuadrilátero que se observaría desde el sol en el momento del muestreo (que oscila entre 0 y 1 cm²) se estimó gráficamente (Figura 1) y se multiplicó por el área foliar (LA) de cada hoja para calcular el área de la silueta foliar (SAL; cm²). Posteriormente la variable SAL se transformó a una variable de tipo porcentual (%SAL) que representara el porcentaje del área foliar real de cada hoja (LA) que recibía irradiación en el momento en que se muestreó.

2.3. Medidas de asimilación fotosintética

Se efectuaron 318 medidas ($n = 78$ por cada exposición en el campo, y $n = 81$ por cada tratamiento en el vivero) de la tasa de asimilación instantánea de CO₂ ($A_{\text{área}}$; $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ / A_{masa} ; $\mu\text{mol CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ s}^{-1}$) siguiendo el diseño experimental detallado anteriormente. Las medidas se realizaron a luz ambiente, conservando la orientación y ángulos de las hojas, con un medidor portátil de fotosíntesis (LI-6400, Li-COR, Lincoln, Nebraska, EE.UU.) acoplado a una cubeta transparente. Dicha cubeta registró la radiación fotosintéticamente activa que recibía directamente el plano de la hoja en el momento en que se estaban efectuando las medidas de asimilación fotosintética (PARI ; $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).

Para caracterizar la respuesta fotosintética media de las hojas de la exposición/tratamiento de sol y de las hojas de la exposición/tratamiento de sombra se realizaron 12 curvas de asimilación fotosintética en respuesta a la luz ($n = 3$ por cada exposición/tratamiento). Dichas curvas se efectuaron con una cubeta con una fuente de luz LED (LI-6400-02B, Li-COR, Lincoln, Nebraska, EE.UU.) conectada al sistema portátil de medición de fotosíntesis Li-Cor 6400, a intensidades crecientes de luz (0, 10, 50, 100, 150, 200, 300, 500, 750, 1000, 1500 y 2000 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Para la elaboración de las curvas la temperatura del aire y la concentración de CO₂ se mantuvieron constantes en el interior de la cubeta (a 20°C y 400 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol aire}^{-1}$,

respectivamente). Las curvas se ajustaron mediante regresiones no lineales (con un $R^2 > 0.90$ para todas las curvas) con el programa Sigma Plot 8.0 (SSPS Inc., Chicago, Illinois, EE.UU.) usando la ecuación de Mitscherlich (Potvin *et al.* 1990). Los parámetros ajustados de las curvas [tasa de asimilación fotosintética máxima (A_{max} ; $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), eficiencia fotosintética aparente (ϕ ; mol/mol) y punto de saturación de luz (PSL; $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)] se promediaron para cada exposición/tratamiento. El punto de saturación de luz representa el umbral que determina si la actividad fotosintética de la hoja se encuentra en la fase de incremento lineal en función de la luz (I-AQ) o en la fase de condiciones de luz saturante (sat-AQ).

2.4. Cuantificación de carbohidratos

Para la cuantificación de carbohidratos en hoja se midieron azúcares solubles (glucosa, fructosa, sacarosa y manitol) y almidón. En conjunto, estos carbohidratos engloban más del 95% del total de los carbohidratos no estructurales (NSC) en *Olea europaea* L. (Cataldi *et al.* 2000).

Las hojas congeladas se pulverizaron con la ayuda de un mortero. Para la extracción de los azúcares solubles se homogeneizaron 30 mg de hoja pulverizada en 0.45 ml de etanol-Hepes (80%) a 80°C durante 15 minutos y, después, la mezcla se centrifugó durante 10 minutos a 14.000 rpm. Se efectuó una segunda extracción en las mismas condiciones y una tercera en 0.9 ml de etanol-Hepes (50%). El precipitado de las anteriores extracciones se empleó para la posterior cuantificación de almidón como equivalentes de glucosa. El precipitado se resuspendió en 0.5 ml de tampón citrato 0.2 M (pH 4.6) y se calentó a 95°C, durante 15 minutos, para permitir la gelatinización de los gránulos de almidón. A continuación, se dejaron enfriar las muestras y se les añadió 30 μL de amiloglucosidasa de *Aspergillus niger* (Roche: Basilea, Suiza), que degradó el almidón a glucosa durante una noche en el termo-bloque (50°C). La cuantificación de carbohidratos se llevó a cabo mediante tres ensayos enzimáticos independientes y las subsiguientes medias colorimétricas: 1) ensayo para la cuantificación de glucosa proveniente de la digestión del almidón, 2) ensayo para la cuantificación de manitol, y 3) ensayo para la cuantificación de glucosa, fructosa y sacarosa. Para las cuantificaciones colorimétricas de cada fracción de carbohidratos no estructurales se siguieron las recomendaciones de los kits de ensayo de Megazyme Sacarosa/D-Fructosa/D-Glucosa y D-Mannitol (Megazyme International Ltd., Bray, Irlanda). Las medidas de incremento en absorbancia a 340 nm, como consecuencia del incremento en las muestras de NADPH o NADH (dependiendo de qué carbohidrato se estuviera cuantificando), se llevaron a cabo con un lector multi-placa Spectra Max 190 (Molecular Devices, Corp., Sunnyvale, CA, EE.UU.).

Todas las concentraciones de azúcares se dan por masa seca (mg g^{-1}). El contenido total de carbohidratos no estructurales de cada hoja se calculó sumando los equivalentes de carbono de cada carbohidrato medido en dichas hojas (NSC ; $\mu\text{mol Carbono g}^{-1}$). Es importante destacar que el contenido total de carbono no estructural en una hoja en un momento concreto es el resultado del carbono fijado previamente menos el carbono que se ha exportado.

2.5. Análisis de datos

Para modelizar los patrones diarios de todas las variables medidas se usaron regresiones cuantiles de tipo *B-Splines*. La regresión cuantil es un método que se emplea para estimar relaciones funcionales entre variables para todas las partes de la distribución de probabilidades (Koenker y Bassett 1978). Esta herramienta estadística se ha empleado desde hace años en distintas áreas de investigación (para una revisión véase Yu *et al.* 2003), aunque su aplicación en estudios de tipo ecológico es mucho más reciente (Cade y Noon 2003 y los estudios citados en ese trabajo). Las regresiones cuantiles se realizaron en R 2.8.1 (<http://www.r-project.org>), usando las librerías “quantreg” (Koenker 2009) y “splines” (Bates y Venables 2007).

Con objeto de investigar si la plasticidad optimiza el funcionamiento fotosintético en las capas de hojas más expuestas y en las más sombreadas (*i.e.*, estado habitual dentro de la copa de un árbol), se modelizaron los patrones diarios de las funciones correspondientes a los cuantiles 95°, 75° y 50° (Q95, Q75 y Q50 respectivamente) para las siguientes variables: porcentaje del área de la silueta foliar (%SAL), tasa de asimilación instantánea de CO_2 por unidad de área ($A_{\text{área}}$) y radiación PAR recibida directamente por las hojas (PARi).

El mismo procedimiento se llevó a cabo para caracterizar los efectos del estado fuera de una copa (estaquillas que experimentan dos ambientes de luz contrastados) en la disposición de la superficie fotosintética y en los patrones fotosintéticos: se modelizaron los patrones diarios de las funciones correspondientes a los cuantiles 95°, 75° y 50° para las variables %SAL, $A_{\text{área}}$, y PARi en las hojas de las plantas del tratamiento de sol y de las del tratamiento de sombra.

Para identificar evidencias de integración en la expresión local de la plasticidad se modelizó y comparó (mediante correlaciones simples) el patrón de variación del cuantil 95° (Q95) en las capas más expuestas y en las más sombreadas, y en hojas de las plantas en los tratamientos de sol y sombra en el vivero, de las siguientes variables: área de la silueta foliar (SAL), tasa de asimilación instantánea de CO_2 por unidad de masa seca (A_{masa}) y contenido total de carbohidratos no estructurales por unidad de masa seca (NSC). Para las correlaciones simples, se extrajeron valores

ajustados cada 10 minutos de las ecuaciones de regresión *B-spline* para el cuantil 95°. Estos valores se separaron en dos nuevas variables en función de la fase de la curva de asimilación fotosintética en respuesta a la luz a la que correspondieran (fase de crecimiento lineal o en condiciones de luz saturante). La variación a lo largo del día en SAL y A_{masa} podría indicar la inversión en área foliar y en componentes de tipo fotosintético/estructural, respectivamente, que se destina a la captura de luz y a la fijación carbono en cada hoja. El patrón diario de NSC en hojas es el resultado de la interacción entre los procesos de almacenamiento y exportación, y describe cuál de los dos procesos predomina a lo largo del tiempo.

3. RESULTADOS

Tanto el patrón diario de variación en el porcentaje del área de la silueta foliar (%SAL) en las hojas de sol de la planta analizada en campo, como el de radiación PAR recibida directamente por dichas hojas (PARi), mostraron una caída marcada a mediodía, cuando se alcanzaron los valores máximos de radiación PAR a cielo descubierto (Figura 2). Por el contrario, los patrones de las hojas de sombra para las mismas variables no mostraron tal caída (Figura 2). Sin embargo, en estas hojas de sombra, la proximidad entre las líneas descritas por los las funciones de los diferentes cuantiles apuntaron a la existencia de un máximo, sobre las 14:00 horas, en el porcentaje de área foliar expuesta (Figura 2). A su vez, el patrón diario de radiación PAR recibida por las hojas de sombra fue similar al descrito por el PAR a cielo descubierto, aunque sesgado hacia la mañana (Figura 2). Las hojas de sol alcanzaron porcentajes de área de la silueta foliar superiores al 70% desde las 8:00 hasta las 13:00 horas (intervalo de 5 horas) y desde las 16:00 hasta las 18:30 horas (intervalo de 2.5 horas). Así, el intervalo en el que un porcentaje elevado de cada hoja de las capas más externas estaba expuesto al sol fue dos veces más largo durante la mañana (cuando, en el hemisferio norte, el sol está en el este) que durante la tarde (cuando el sol está en el oeste). El patrón de variación diario de la tasa de asimilación instantánea de CO₂ por unidad de área ($A_{\text{área}}$) fue relativamente constante a lo largo del día, sin mostrar grandes oscilaciones, tanto en las hojas de sol como en las de sombra (Figura 2).

En condiciones de campo, la radiación PAR total recibida a lo largo del día por las hojas (tPARi) en las partes más expuestas de la copa fue 3.7 veces superior que en la capas más sombreadas (3.4 veces en el caso de la radiación PAR a cielo descubierto). La asimilación de CO₂ por unidad de área ($tA_{\text{área}}$) en las hojas de sol fue 1.9 veces superior a la de las hojas de sombra (Tabla 1). La tasa de asimilación fotosintética máxima (A_{max}) en las hojas de sol fue 1.2 veces

superior que en sombra, mientras que la eficiencia fotosintética aparente (φ) de las hojas de sombra fue 2.1 veces superior a la de las hojas de sol (Tabla 1). La intensidad de luz saturante para la fotosíntesis fue menor en las hojas de sombra (Tabla 1).

En la Tabla 2 se muestran los contenidos promedio de cada fracción de carbohidratos no estructurales medidos en las hojas de las exposiciones/tratamientos de sol y sombra. En el individuo analizado en campo, el patrón de variación diurna en el contenido total de carbohidratos (NSC) fue opuesto al de la variación en el área de la silueta foliar (SAL) y la tasa de asimilación instantánea de CO₂ por unidad de masa seca (A_{masa} ; Figura 3), *i.e.*, los momentos en los que se registraron los valores más altos en la concentración de carbohidratos foliares se produjeron en los momentos en los que las hojas tenían menor área expuesta al sol (SAL) y menor tasa de asimilación instantánea de CO₂ por unidad de masa seca (A_{masa}). A su vez, los patrones de variación diurnos de las tres variables fueron opuestos en las hojas de sol y las de sombra. Por consiguiente,

Los valores más altos en la concentración de carbohidratos foliares en las hojas de sol se detectaron en los momentos en los que las hojas de sombra presentaban los máximos de exposición al sol (SAL) y de asimilación fotosintética (A_{masa}), pero mínimos en sus concentraciones de carbohidratos foliares (Figura 3). Las hojas de sol exhibieron mayor superficie foliar absoluta al sol (SAL) y mayores tasas de asimilación (A_{masa}) durante la mañana en comparación con la tarde (Figura 3). Ya que, como se detallaba anteriormente, los valores del área relativa de la silueta (%SAL) de las hojas de sol fueron similares durante la mañana y la tarde (por encima del 70%; Figura 1), los valores mayores en el área foliar absoluta (SAL) durante la mañana se debieron a que las hojas orientadas al este presentaban un mayor área foliar (LA).

La duración a medio día de la fase de la fotosíntesis en condiciones de luz saturante (sat-AQ) fue diferente para las exposiciones de sol y sombra ya que, en la exposición de sombra, el punto de saturación de luz (PSL) se alcanzó más tarde por la mañana y antes por la tarde. En cualquier caso, todas las variables para las exposiciones de sol y sombra se subdividieron considerando el periodo más breve de luz saturante (*i.e.*, el periodo perteneciente a la exposición de sombra). Se asumió, entonces, que el periodo de fotosíntesis en el que la intensidad de luz no era limitante se produjo desde las 9:50 a las 18:10 horas UTC+1. Las correlaciones entre los valores diurnos de las hojas de sol y las de sombra en el área de la silueta foliar (SLA), la tasa de asimilación instantánea de CO₂ por unidad de masa seca (A_{masa}) y el contenido total de carbohidratos (NSC) arrojaron resultados dispares, dependiendo de la fase de la curva de asimilación de que se considerara. Así, los valores estimados para las hojas de sol y sombra en las

tres variables mencionadas fueron equivalente (*i.e.*, se correlacionaron positivamente) en la fase en la que la intensidad de luz aún era limitante para la fotosíntesis (l-AQ). Sin embargo, cuando la luz dejó de ser limitante (sat-AQ), los patrones de variación en las tres variables fueron complementarios entre las hojas de sol y las de sombra, *i.e.*, los valores de SAL, A_{masa} y NSC de las hojas de sol se correlacionaron negativamente con los de las de sombra. Todas las correlaciones fueron significativas ($p < 0.05$).

En el vivero, el patrón de variación diurno del porcentaje de área de la silueta foliar (%SAL) fue similar en las hojas de las plantas de ambos tratamientos de luz (sol y sombra), sin mostrar ningún descenso notable a medio día (Figura 4). De igual manera, los patrones de variación diurnos en la cantidad de radiación recibida por las hojas (PAR_i) y de asimilación fotosintética ($A_{\text{área}}$) fueron similares en las plantas de los dos tratamientos de luz (Figura 4). La cantidad diaria total de radiación PAR a cielo descubierto medida en el vivero fue el 60% de la medida en la población analizada en campo, como consecuencia de las diferencias en la localización y orientación en ambos emplazamientos. El total del PAR (tPAR_i) recibido por las plantas en el tratamiento de sol fue similar al PAR a cielo descubierto, pero 13 veces superior al tPAR_i de las plantas en el tratamiento de sombra (Tabla 1). Sin embargo, la asimilación diurna total de CO₂ por unidad de masa seca (tA_{masa}) en las plantas del tratamiento de sol fue tan sólo 1.2 veces superior a la de las plantas de sombra, y 3.1 veces por unidad de área (tA_{área}; Tabla 1). La intensidad de luz saturante fue inferior en condiciones de sombra (Tabla 1). La duración del periodo a mediodía en la que la intensidad de luz no era limitante para la fotosíntesis (sat-AQ) fue menor en el tratamiento de sombra. Una vez más, las variables SAL, A_{masa} y NSC de sol y sombra se dividieron para las correlaciones en función del periodo más breve de luz saturante (sat-AQ). El periodo de sat-AQ se produjo desde las 9:20 a las 16:10 horas UTC+1. En ambas fases de la curva de respuesta a la luz, las correlaciones para las tres variables entre los patrones diurnos de sol y sombra fueron positivas cuando fueron significativas (Tabla 3).

4. DISCUSIÓN

Durante mucho tiempo se ha investigado cómo las plantas se adaptan a diferentes niveles arquitecturales (hoja, rama y toda la copa) para mejorar su funcionamiento a lo largo de un día o de una estación del año (para una revisión véase Smith *et al.* 2004). En este trabajo se muestra, por primera vez y con datos de campo, la existencia de complementariedad en las respuestas a la variación en el ambiente lumínico entre poblaciones de hojas procedentes de capas situadas en los

extremos del gradiente lumínico en el interior de la copa. Los resultados de este estudio muestran que la divergencia en los patrones temporales dentro de la copa es posible gracias a la especialización del comportamiento fotosintético a escalas funcionales y espaciales diferentes: arquitectura de la planta a nivel de copa y balance de carbono a nivel de hoja.

La complementariedad funcional entre los módulos de sol y sombra se hizo aparente en condiciones de luz saturante, como sugieren las correlaciones negativas entre los valores de superficie foliar expuesta (SAL), asimilación (A_{masa}) y exportación de carbohidratos (NSC) de las hojas de dichos módulos (Figura 3). En el acebuche adulto crecido en campo, la expresión local de plasticidad se tradujo en diferencias arquitecturales significativas entre las capas más externas y las más internas. En las hojas de sol, el área foliar relativa expuesta al sol (%SAL) exhibió una caída marcada a mediodía, mientras que las hojas de sombra se dispusieron mayoritariamente de forma horizontal, con lo que alcanzaron su máximo de exposición a mediodía. Tal disposición de las hojas de sol permitió una asimilación de carbono constante a lo largo del día, independientemente de la variación en la intensidad de la luz solar (Figura 2). Lo más probable es que esta disposición en las hojas de las capas más expuestas contribuya a minimizar la depresión del mediodía que, aunque se ha observado en este trabajo, ha sido descrita como habitual en plantas mediterráneas (Tenhunen *et al.* 1981). Por el contrario, las hojas de sombra experimentaron una reducción de hasta la cuarta parte de la luz interceptada en las capas más externas y, sin embargo, sólo asimilaron dos veces menos (Tabla 1). Esta mayor eficiencia de las hojas de sombra fue consistente con el incremento de similar magnitud en su eficiencia fotosintética aparente y, probablemente, refleja la existencia de cierta especialización anatómica en el su parénquima fotosintético en respuesta a la falta de direccionalidad en la luz que reciben (Brodersen y Vogelmann 2007; Brodersen *et al.* 2008). La luz difusa, y no la luz directa, puede determinar la cantidad de carbono que fijan las hojas de sombra (Valladares y Pearcy 1998) y puede modular la expresión fenotípica de rasgos morfo-funcionales en especies mediterráneas (García-Verdugo *et al.* 2010). No obstante, otros factores, como ciertas limitaciones para la fotosíntesis, pueden afectar a la capacidad fotosintética en aquellos lugares de la copa donde la luz no es limitante (Díaz-Espejo *et al.* 2007). Estas limitaciones están relacionadas con el cierre estomático que se produce para reducir la transpiración en las hojas, así como con limitaciones en la conductancia del mesófilo (Moriana *et al.* 2002; Centritto *et al.* 2003).

Los resultados de este estudio sugieren que la planta incrementó su eficiencia en la captura de la luz al orientar las hojas de las capas más expuestas hacia las orientaciones en las que se encuentra la luz más productiva, en lugar de disponerlas horizontalmente. Las hojas de las capas más expuestas alcanzaron sus valores de máxima exposición por la mañana y por la tarde (Figura

2). Sin embargo, para poder comprender una estrategia a nivel de copa que tenga como objetivo maximizar la captura de luz, se ha de tener en cuenta la inversión de biomasa en las hojas, y no sólo sus ángulos. Las teorías de optimización sugieren que los recursos de la planta se han de distribuir de tal manera que la capacidad fotosintética sea proporcional a la luz que se intercepta (Field 1983; Farquhar 1989). Esto se puede conseguir, al menos en parte, si las hojas que se producen en las capas más expuestas son gruesas, con un número elevado de capas de parénquima y una inversión fuerte de nitrógeno en enzimas fotosintéticas (Murchie y Horton 1997; Niinemets *et al.* 2004). Los resultados de este trabajo sugieren que la estructura de la copa en las capas más externas se optimiza funcionalmente a través de ajustes a tres niveles distintos: al incrementar el porcentaje de área de la lámina foliar en la orientación más productiva (el este en la latitud del emplazamiento del estudio; Figura 2), al incrementar el tamaño de las hojas que están orientadas al este, y al incrementar las tasas de asimilación fotosintética por unidad de masa seca de esas hojas (Figura 3). En el presente estudio se asumió que la reducción de luz a través de la copa no era gradual, sino que existen dos ambientes de luz contrastados, tal y como sugiere el patrón de extinción de luz exponencial descrito por Uemura *et al.* (2006). En el que caso de que la extinción de la luz a través de la copa fuera gradual se podría estar sobre-estimando el grado de segregación de los procesos productivos a nivel de toda la copa, ya que cabría esperar una variación gradual de estos procesos entre los extremos en consonancia con la extinción lineal de la luz. Sin embargo, en el caso de que se den dos ambientes de luz contrastados, el funcionamiento de toda la copa resultaría del ajuste de los dos extremos tal y como se describe en este trabajo.

En las plantas del vivero no se observó ninguno de los patrones observados en el individuo muestreado en campo, a pesar de que fueran clones de este último (Tabla 3; Figura 4). Una diferencia relevante entre ambas situaciones y que podría explicar, al menos en parte, esta divergencia notable es que los módulos de sol y sombra en condiciones de campo estaban integrados dentro de la copa de un único árbol (estado habitual dentro de la copa), mientras que las plantas de vivero, en condiciones de sol y sombra, se cultivaron de manera independiente (estado fuera de la copa). De hecho, la diferencia entre la asimilación total de las hojas de sol y las hojas de sombra fue desproporcionadamente mayor en campo que en el vivero, incluso cuando la reducción lumínica en el tratamiento de sombra del invernadero fue más intensa que en las hojas de sombra en el individuo medido en campo (Tabla 1). Este hallazgo es consistente con trabajos previos que sugieren que la asimilación integrada de la copa se optimiza al producirse una mayor inversión en biomasa y nutrientes en las ramas de sol (Henriksson 2001; Sprugel 2002; Yoshimura 2010). Sin embargo, otras muchas causas podrían explicar la discrepancia en los resultados de campo y vivero (*e.g.*, diferencias en la disponibilidad de otros recursos que no fueran la luz, heterogeneidad

ambiental espacial y temporal o diferencias en la calidad de la luz). En resumen, los resultados de este trabajo indican que las implicaciones finales de la plasticidad fenotípica en el funcionamiento y desarrollo de las copas de los árboles sólo se puede observar en individuos adultos en condiciones de campo, tal y como recalcan otros autores (*e.g.* Wayne y Bazzaz 1993; Bouvet *et al.* 2005).

Los resultados de este trabajo también apuntan a que la especialización modular, mediada por la expresión local de plasticidad fenotípica, permite la aparición de estrategias complementarias, en contra de aproximaciones anteriores que consideraban que los módulos eran unidades redundantes que desempeñaban funciones fisiológicas similares, incluso idénticas (White 1979). El paso clave para confirmar la división del trabajo dentro de las copas de los árboles consiste en determinar en qué medida la complementariedad espacio-temporal de los patrones diarios de las hojas de sol y sombra implica coordinación entre los módulos y supone un beneficio neto a escala de individuo. En lo que concierne a la coordinación entre módulos, los efectos interactivos entre módulos interconectados que experimentan condiciones diferentes alteran la especialización de los mismos, y no parecen ser el mero resultado de interferencias espaciales o mecánicas (de Kroon *et al.* 2005). De hecho, parece que son mecanismos integrados a nivel de toda la copa que permiten la separación de tareas temporal o espacial entre módulos para lograr un cierto control sobre el estrés y la disponibilidad de recursos. Es probable que esta forma de división del trabajo inducida ambientalmente beneficie a plantas que experimentan una estructura parcheada de recursos complementarios y patrones estables de distribución de recursos a pequeña escala espacial (Stuefer 1998). El acebuche en condiciones de campo cumple esos requisitos: la disposición de sus hojas de sol y sombra dentro de la copa da lugar a diferentes ambientes lumínicos que son complementarios a lo largo del día, y estables a medio plazo, ya que se trata de una especie perenne cuyas hojas no se mueven siguiendo el sol.

5. CONCLUSIONES

La rentabilidad a la hora de producir un nuevo módulo no deriva única y exclusivamente de los costes de su construcción o de la disponibilidad de luz, sino que también depende de la integración espacio-temporal de dicho módulo en los procesos productivos a nivel de toda la copa. En este trabajo se muestra la existencia de complementariedad, a escala de todo el individuo, en procesos productivos como la interceptación de la luz, la fijación de carbono o la acumulación y exportación de carbohidratos. También se muestra que esta segregación temporal de tareas entre los dos sectores

de la copa es la consecuencia de la especialización local de las hojas, lo que supone ajustes coordinados en la arquitectura de la copa, en la inversión de biomasa y en el funcionamiento fotosintético. Aún así, otros estudios son necesarios para determinar la relevancia a nivel poblacional de estos patrones observados, en este trabajo, en un único individuo, y a escalas temporales mayores que un único día. De hecho, las consideraciones temporales pueden ser la base de futuros trabajos que pueden resultar de especial interés en especies perennes, como aquellos que investiguen 1) la situación de compromiso entre optimizar la orientación de las hojas para una fracción del día o para una estación del año, 2) las consecuencias para la *fitness* y 3) el significado de la división del trabajo entre módulos en la evolución crecimiento arborescente.

6. BIBLOGRAFÍA

- Augspurger CK, Bartlett EA (2003) Differences in leaf phenology between juvenile and adult trees in a temperate deciduous forest. *Tree Physiology* 23:517-525
- Balaguer L, Martínez-Ferri E, Valladares F, Pérez-Corona ME, Baquedano FJ, Castillo FJ , Manrique E (2001) Population divergence in the plasticity of the response of *Quercus coccifera* to the light environment. *Functional Ecology* 15:124-135
- Bates DM, Venables WN (2007) splines: regression spline functions and classes. R package version 2.5.1
- Bazzaz FA (1991) Habitat selection in plants. *American Naturalist* 137:S116-S130
- Bouvet JM, Vigneron P, Saya A (2005) Phenotypic plasticity of growth trajectory and ontogenic allometry in response to density for *Eucalyptus* hybrid clones and families. *Annals of Botany* 96:811-821
- Brodersen CR, Vogelmann TC (2007) Do epidermal lens cells facilitate the absorptance of diffuse light? *American Journal of Botany* 94:1061-1066
- Brodersen CR, Vogelmann TC, Williams WE, Gorton HL (2008) A new paradigm in leaf-level photosynthesis: direct and diffuse lights are not equal. *Plant Cell and Environment* 31:159-164

- Cade BS, Noon BR (2003) A gentle introduction to quantile regression for ecologists. *Frontiers in Ecology and the Environment* 1:412-420
- Carter GA, Smith WK (1985) Influence of shoot structure on light interception and photosynthesis in conifers. *Plant Physiology* 79:1038-1043
- Cataldi TRI, Margiotta G, Iasi L, Di Chio B, Xiloyannis C, Bufo SA (2000) Determination of sugar compounds in olive plant extracts by anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection. *Analytical Chemistry* 72:3902-3907
- Centritto M, Loreto F, Chartzoulakis K (2003) The use of low [CO₂] to estimate diffusional and non-diffusional limitations of photosynthetic capacity of salt-stressed olive saplings. *Plant Cell and Environment* 26:585-594
- de Kroon H, Huber H, Stuefer JF, van Groenendael JM (2005) A modular concept of phenotypic plasticity in plants. *New Phytologist* 166:73-82
- Díaz-Espejo A, Nicolás E, Fernández JE (2007) Seasonal evolution of diffusional limitations and photosynthetic capacity in olive under drought. *Plant Cell and Environment* 30:922-933
- Durkheim E (1893) *The division of labour in society*. Traducido al castellano por George Simpson en 1933. New York: The Free Press
- Farquhar GD (1989) Models of integrated photosynthesis of cells and leaves. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 323:357-367
- Field C (1983) Allocating leaf nitrogen for the maximization of carbon gain-leaf age as a control on the allocation program. *Oecologia* 56:341-347
- García-Verdugo C, Méndez M, Velázquez-Rosas N, Balaguer L (2010) Contrasting patterns of morphological and physiological differentiation across insular environments: phenotypic variation and heritability of light-related traits in *Olea europaea*. *Oecologia* 164:647-655
- García-Verdugo C, Granado-Yela C, Manrique E, de Casas RR, Balaguer L (2009) Phenotypic plasticity and integration across the canopy of *Olea europaea* subsp. *guanchica* (Oleaceae) in populations with different wind exposures. *American Journal of Botany* 96:1454-1461
- García-Verdugo C (2009) Procesos, mecanismos microevolutivos en el endemismo canario *Olea europaea* subsp. *guanchica*. Tesis Doctoral, Universidad Complutense de Madrid, España

- Hastie TJ (1991) Generalized additive models. En: Statistical Models in S (Eds. Chambers JM, Hastie TJ), Chapman y Hall, Londres, Reino Unido. Pags 249-307
- Henriksson J (2001) Differential shading of branches or whole trees: survival, growth, and reproduction. *Oecologia* 126:482-486
- Jurik TW, Chabot JF, Chabot BF (1979) Ontogeny of photosynthetic performance in *Fragaria virginiana* under changing light regimes. *Plant Physiology* 63:542-547
- Koenker R (2009) quantreg: quantile regression. R package version 4.30
- Koenker R, Bassett G (1978) Regression quantiles. *Econometrica* 46:33-50
- Le Roux X, Bariac T, Sinoquet H, Genty B, Piel C, Mariotti A, Girardin C, Richard P (2001) Spatial distribution of leaf water-use efficiency and carbon isotope discrimination within an isolated tree crown. *Plant Cell and Environment* 24:1021-1032
- Moriana A, Villalobos FJ, Fereres E (2002) Stomatal and photosynthetic responses of olive (*Olea europaea* L.) leaves to water deficits. *Plant Cell and Environment* 25:395-405
- Murchie EH, Horton P (1997) Acclimation of photosynthesis to irradiance and spectral quality in British plant species: chlorophyll content, photosynthetic capacity and habitat preference. *Plant Cell and Environment* 20:438-448
- Niinemets U, Tenhunen JD, Beyschlag W (2004) Spatial and age-dependent modifications of photosynthetic capacity in four Mediterranean oak species. *Functional Plant Biology* 31:1179-1193
- Pearcy RW, Yang WM (1996) A three-dimensional crown architecture model for assessment of light capture and carbon gain by understory plants. *Oecologia* 108:1-12
- Petit RJ, Hampe A (2006) Some evolutionary consequences of being a tree. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 37:187-214
- Potvin C, Lechowicz MJ, Tardif S (1990) The statistical analysis of ecological response curves obtained from experiments involving repeated measures. *Ecology* 71:1389-1400
- Robinson GE (1992) Regulation of division of labor in insect societies. *Annual Review of Entomology* 37:637-665

- Rubio de Casas R, Vargas P, Pérez-Corona E, Manrique E, Quintana JR, García-Verdugo C, Balaguer L (2007) Field patterns of leaf plasticity in adults of the long-lived evergreen *Quercus coccifera*. *Annals of Botany* 100:325-334
- Sack L, Melcher PJ, Liu WH, Middleton E, Pardee T (2006) How strong is intracanalopy leaf plasticity in temperate deciduous trees? *American Journal of Botany* 93:829-839
- Silvertown J, Gordon DM (1989) A framework for plant behavior. *Annual Review of Ecology and Systematics* 20:349-366
- Smith SD, Naumberg E, Niinemets U, Germino M (2004) Leaf to landscape. En: Photosynthetic adaptation chloroplast to landscape (Eds. Smith WK, Vogelmann TC, Critchley C), Springer, Nueva York, EE.UU. Pags 262–296
- Smith WK, Schoettle AW, Cui M (1991) Importance of the method of leaf-area measurement to the interpretation of gas-exchange of complex shoots. *Tree Physiology* 8:121-127
- Sprugel DG (2002) When branch autonomy fails: Milton's Law of resource availability and allocation. *Tree Physiology* 22:1119-1124
- Sprugel DG, Hinckley TM, Schaap W (1991) The theory and practice of branch autonomy. *Annual Review of Ecology and Systematics* 22:309-334
- Stuefer JF (1998) Two types of division of labour in clonal plants: benefits, costs and constraints. *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics* 1:47-60
- Stuefer JF, de Kroon H, During HJ (1996) Exploitation of environmental heterogeneity by spatial division of labour in a clonal plant. *Functional Ecology* 10:328-334
- Tenhunen JD, Lange OL, Braun M (1981) Midday stomatal closure in Mediterranean type sclerophylls under simulated habitat conditions in an environmental chamber. 2. Effect of the complex of leaf temperature and air humidity on gas exchange of *Arbutus unedo* and *Quercus ilex*. *Oecologia* 50:5-11
- Uemura A, Harayama H, Koike N, Ishida A (2006) Coordination of crown structure, leaf plasticity and carbon gain within the crowns of three winter-deciduous mature trees. *Tree Physiology* 26:633-641

- Valladares F, Niinemets U (2008) Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 39:237-257
- Valladares F, Pearcy RW (1998) The functional ecology of shoot architecture in sun and shade plants of *Heteromeles arbutifolia* M. Roem., a Californian chaparral shrub. *Oecologia* 114:1-10
- Wahl LM (2002) Evolving the division of labour: generalists, specialists and task allocation. *Journal of Theoretical Biology* 219:371-388
- Wayne PM, Bazzaz FA (1993) Birch seedlings responses to daily time courses of light in experimental forest gaps and shadehouses. *Ecology* 74:1500-1515
- Wei Y, Pere A, Koenker R, He XM (2006) Quantile regression methods for reference growth charts. *Statistics in Medicine* 25:1369-1382
- White J (1979) The plant as a metapopulation. *Annual Review of Ecology and Systematics* Vol. 10
- Yoshimura K (2010) Irradiance heterogeneity within crown affects photosynthetic capacity and nitrogen distribution of leaves in *Cedrela sinensis*. *Plant Cell and Environment* 33:750-758
- Yu KM, Lu ZD, Stander J (2003) Quantile regression: applications and current research areas. *Journal of the Royal Statistical Society - Series D: the Statistician* 52:331-350

7. FIGURAS Y TABLAS

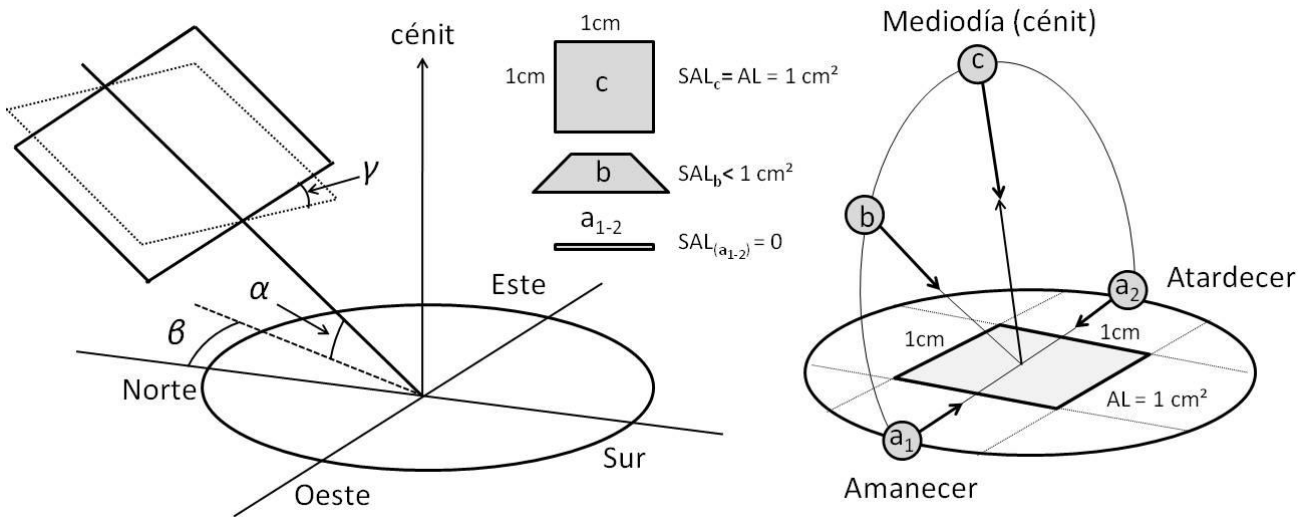


Figura 1. En la izquierda, los 3 ángulos de la lamina foliar (modificado a partir de Pearcy y Yang 1996): α , inclinación del nervio central con respecto a la horizontal; β , ángulo, en sentido horario, de la dirección del nervio central con respecto al norte (azimut); y γ , ángulo de la lamina foliar con respecto al nervio central. En la derecha, ejemplo de la variación en el área de la silueta foliar (SAL) en función de la posición del sol. Con objeto de simplificar, el plano del cuadrado cuyo lado mide 1 cm (que representa una hoja tipo con un área foliar $LA = 1 \text{ cm}^2$) se ha dispuesto horizontalmente. La trayectoria solar también se ha simplificado, de tal manera que el sol sale por el este (azimut 90°), se pone por el oeste (azimut 270°) y alcanza el cénit a mediodía. El plano horizontal de 1 cm^2 no recibe radiación directa del sol ni en el amanecer ni en el atardecer (situaciones a_1 y a_2 , respectivamente) porque dicho plano es horizontal a los rayos solares ($SAL_{(a_{1-2})} = 0$). Por el contrario, el plano horizontal intercepta el máximo de radiación solar posible cuando el sol se encuentra en el cénit (situación c) ya que los rayos solares son perpendiculares al plano de la hoja. En esta situación, el valor de SAL es equivalente al área foliar completa (LA), midiendo ambos en este ejemplo 1 cm^2 ($SAL_c = AL = 1 \text{ cm}^2$). Para el resto del día (e.g., en la situación b) los valores de SAL oscilarán entre 0 cm^2 (a_1 y a_2) y 1 cm^2 (c), como consecuencia del desacople entre la posición del sol y la orientación de la hoja. Como la trayectoria solar va de este a oeste y alcanza el cénit, el área que se observaría desde el sol (SAL) en cualquier momento entre el amanecer y el mediodía, o entre el mediodía y el atardecer, será un cuadrilátero particular (trapecio) con un valor de SAL inferior a 1 cm^2 ($SAL_b < 1 \text{ cm}^2$).

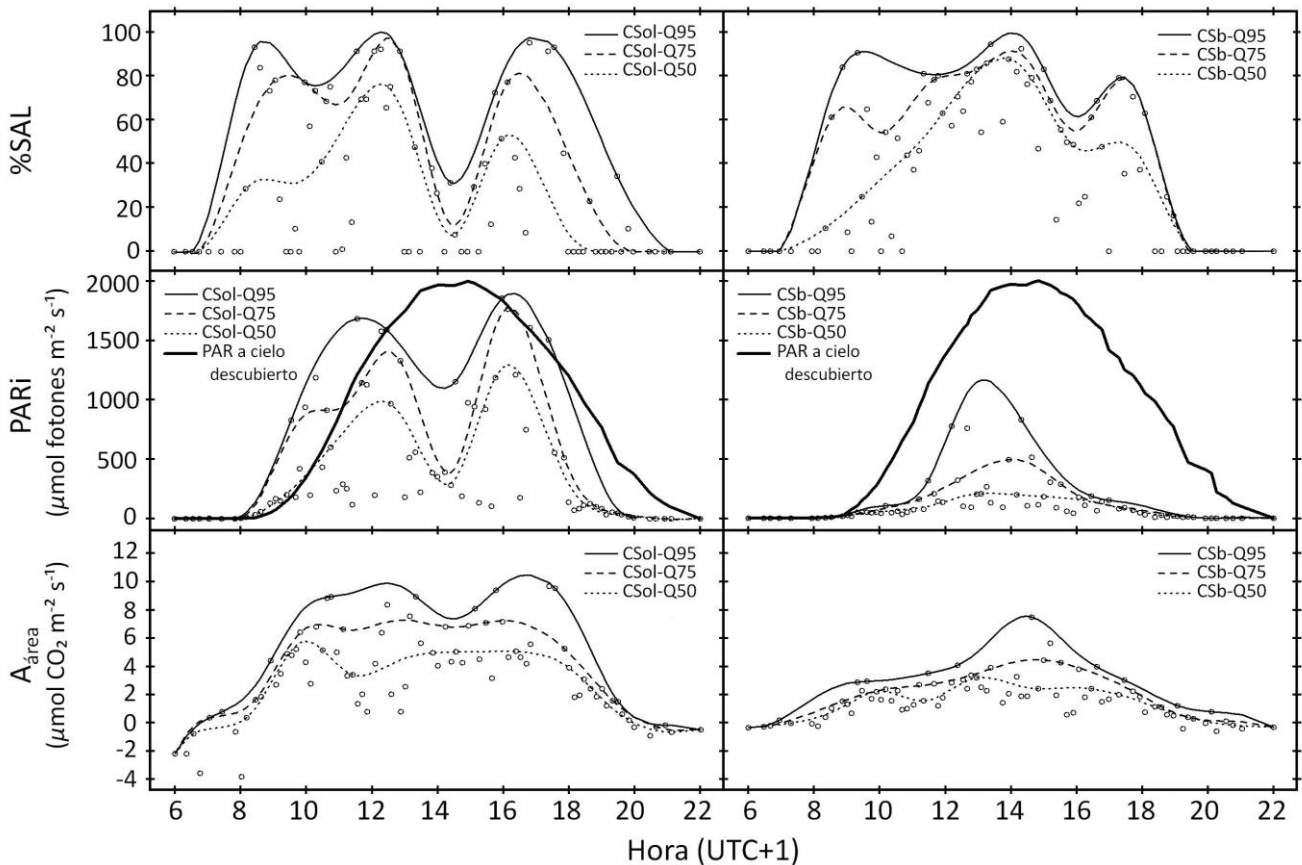


Figura 2. Patrones diarios de variación en condiciones de campo en el área de la silueta foliar (expresada como porcentaje; %SAL), en la radiación fotosintéticamente activa recibida directamente por las hojas (PARi) y en la tasa de asimilación de CO₂ por unidad de área (A_{área}). Las líneas de las regresiones cuantiles se modelizaron mediante *B-Splines* con 11 grados de libertad. Las líneas finas se corresponden con el cuantil 95° (Q95, línea continua), el cuantil 75° (Q75, línea discontinua) y el cuantil 50° (Q50, línea de puntos). Las líneas gruesas continuas representan la radiación PAR a cielo descubierto (PAR). Las gráficas de la izquierda representan los patrones para las hojas de sol (CSol) y las gráficas de la derecha para las hojas de sombra (CSb).

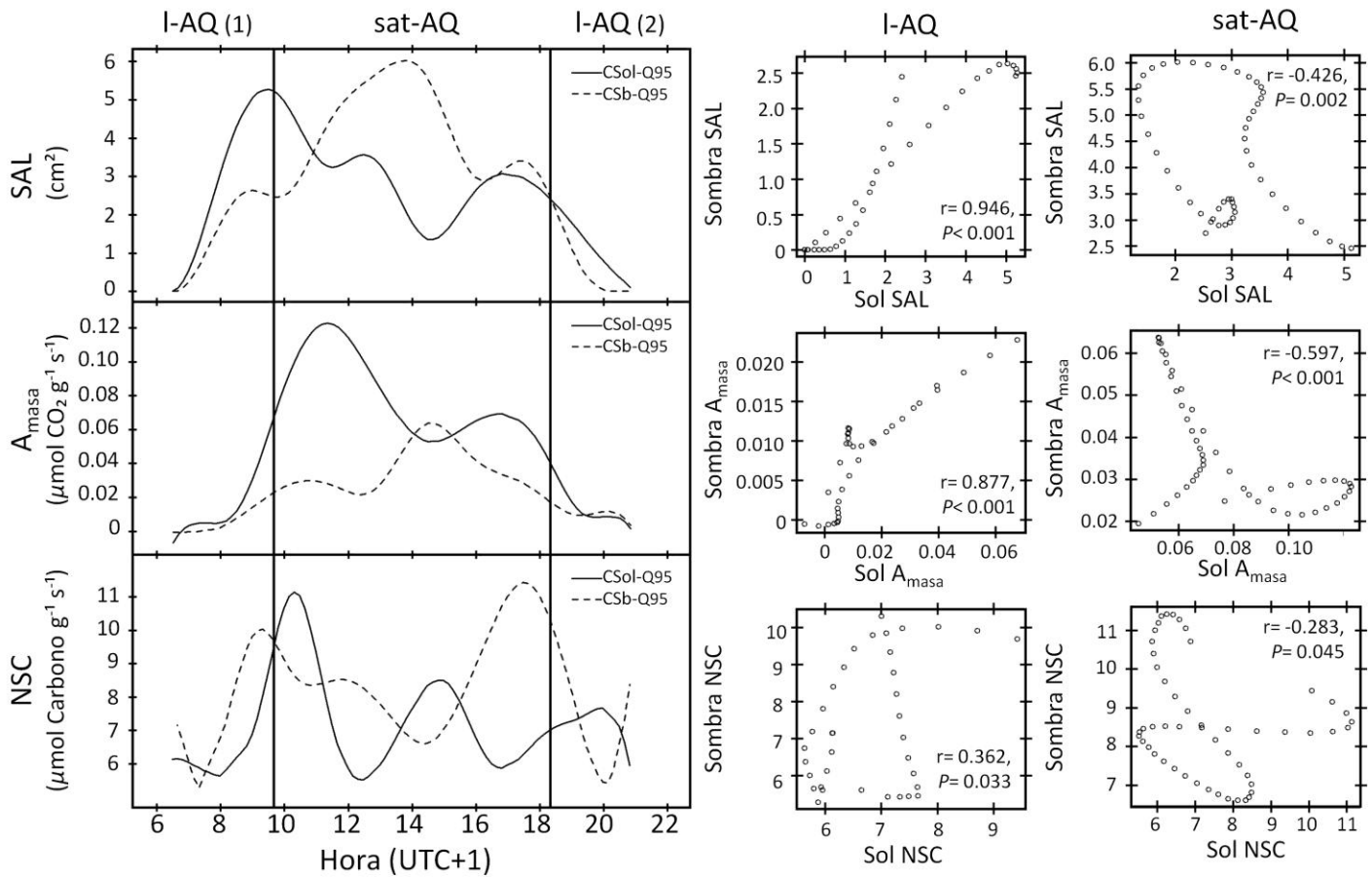


Figura 3. Las gráficas de la izquierda representan las *B-Splines* para el cuantil 95° en los modelos de regresión (Q95) en los patrones diurnos en condiciones de campo para las siguientes variables: área de la silueta foliar (SAL), tasa de asimilación instantánea de CO₂ por unidad de masa seca (A_{masa}) y contenido total de carbohidratos no estructurales por unidad de masa seca (NSC). Las líneas sólidas se corresponden con las hojas de sol (CSol) mientras que las discontinuas con las hojas de sombra (CSb). Desde las 09:50 horas hasta las 18:10 horas, la intensidad de la luz fue superior a la estimada para el punto de saturación de luz (PSL) en las hojas de sombra (91.2 μmol m⁻² s⁻¹). Los valores extraídos de las ecuaciones de regresión para este intervalo de tiempo se consideraron como pertenecientes al periodo en que la fotosíntesis se realizó en condiciones de luz saturante (sat-AQ). Durante los periodos comprendidos entre el amanecer y las 09:50 horas [I-AQ(1)] y entre las 18:10 horas y el atardecer [I-AQ(2)] la intensidad lumínica se encontraba por debajo del PSL, con lo que los valores extraídos de las ecuaciones de regresión para esos intervalos de tiempo se consideraron como pertenecientes al periodo en que la fotosíntesis se realizó en condiciones en que la luz era limitante (I-AQ). Las gráficas de menor tamaño son los diagramas de dispersión de las correlaciones entre los valores de sol y sombra para cada variable en la fase I-AQ (figuras en el medio, $n = 36$) y en la fase sat-AQ (figuras en la derecha, $n = 51$).

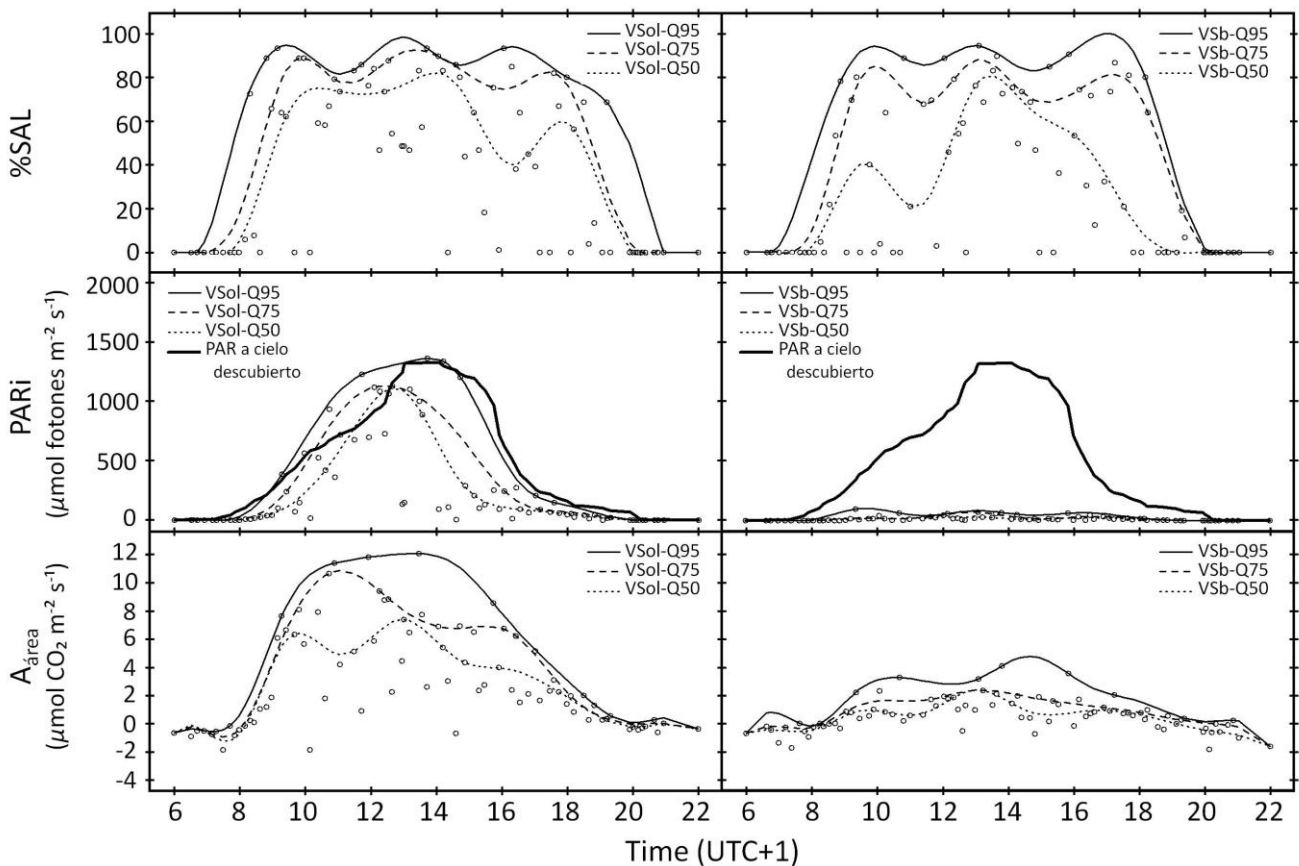


Figura 4. Patrones diarios de variación en vivero en el área de la silueta foliar (expresada como porcentaje; %SAL), en la radiación fotosintéticamente activa recibida directamente por las hojas (PARI) y en la tasa de asimilación de CO_2 por unidad de área ($A_{\text{área}}$). Las líneas de las regresiones cuantiles se modelizaron mediante B-Splines con 11 grados de libertad. Las líneas finas se corresponden con el cuantil 95° (Q95, línea continua), el cuantil 75° (Q75, línea discontinua) y el cuantil 50° (Q50, línea de puntos). Las líneas continuas gruesas representan la radiación PAR a cielo descubierto (PAR). Las gráficas de la izquierda representan los patrones para las hojas de sol (VSol) y las gráficas de la derecha para las hojas de sombra (VSb).

Emplazamiento	Expo/Trat	tA _{área}	tA _{masa}	tPARI	tPAR	Amax	φ	PSL
Campo	Sol	0.33	2.76	54.93	50.76	4.58 (± 0.98)	0.010 (± 0.001)	322.2 (± 60.8)
	Sombra	0.17	1.29	14.91		3.69 (± 1.18)	0.020 (± 0.004)	91.2 (± 10.4)
Vivero	Sol	0.33	1.51	31.27	29.89	8.24 (± 1.78)	0.008 (± 0.002)	465.8 (± 112.5)
	Sombra	0.11	1.27	2.24		3.80 (± 0.37)	0.011 (± 0.001)	256.9 (± 46.1)

Tabla 1. Valores de asimilación diurna total de CO₂ por unidad de área (tA_{área}; mol CO₂ m⁻² día⁻¹), asimilación diurna total de CO₂ por unidad de masa seca (tA_{masa}; mmol CO₂ g⁻¹ día⁻¹), radiación PAR diurna total recibida directamente por las hojas (tPARI; mol fotones m⁻² día⁻¹), radiación PAR diurna total a cielo descubierto (tPAR; mol fotones m⁻² día⁻¹), tasa de asimilación fotosintética máxima (Amax; μmol CO₂ m⁻² s⁻¹), eficiencia fotosintética aparente (φ; mol/mol) y punto de saturación de luz (PSL; μmol fotones m⁻² s⁻¹). Los valores de Amax y φ son valores promediados (n = 3 por emplazamiento y exposición/tratamiento). Los errores estándar se incluyen entre paréntesis (±ES).

Emplazamiento	Expo/Trat	Man	Glu	Fru	Sac	Alm	TCarb	TAzSol
Campo	Sol	61.6 (±1.5)	43.9 (±1.5)	7.0 (±0.7)	23.4 (±2.2)	31.2 (±1.9)	171.6 (±4.0)	138.6 (±3.8)
	Sombra	47.6 (±1.4)	53.1 (±2.0)	11.1 (±0.7)	28.7 (±3.0)	52.9 (±3.1)	191.2 (±5.6)	139.9 (±5.0)
Vivero	Sol	46.0 (±2.0)	48.5 (±2.7)	13.7 (±1.4)	24.5 (±3.4)	113.0 (±4.9)	245.5 (±7.6)	138.6 (±7.8)
	Sombra	48.4 (±2.8)	42.8 (±1.8)	9.4 (±0.6)	22.2 (±1.9)	15.5 (±1.5)	143.3 (±5.8)	129.9 (±6.0)

Tabla 2. Valores de manitol (Man), glucosa (Glu), fructosa (Fru), sacarosa (Sac), almidón (Alm), carbohidratos totales (TCarb) y azúcares solubles totales (TAzSol) promediados por exposición en el campo (n = 78) y por tratamiento en el invernadero (n = 81). Los errores estándar se incluyen entre paréntesis (±ES).

Variable	l-AQ (n = 51)	sat-AQ (n = 42)
SAL	r = 0.871 ***	r = 0.475 ***
A _{masa}	r = 0.974 ***	r = -0.054
NSC	r = 0.247	r = 0.311 *

Tabla 3. Área de la silueta foliar (SAL; cm²), tasa de asimilación instantánea de CO₂ por unidad de área basis (A_{masa}; μmol CO₂ g⁻¹ s⁻¹) y contenido total de carbohidratos no estructurales por unidad de masa seca (NSC; μmol Carbono g⁻¹) en la fase lineal (l-AQ) y en la fase en condiciones de luz saturante (sat-AQ) de la curva de respuesta fotosintética a la luz. Las correlaciones significativas entre los patrones de sol y sombra se indican con * (p < 0.05) y *** (p < 0.001).

CAPÍTULO III

Efectos de posición en el sexo floral dentro de las inflorescencias

RESUMEN

Es habitual encontrar que ciertas características de las flores varían de manera ordenada dentro de las inflorescencias. La variación posicional se ha estudiado principalmente en especies hermafroditas con inflorescencias indeterminadas, en las que se describe, en la mayor parte de los casos, una disminución próximo-distal en el tamaño de las flores y/o en la inversión en alguna de sus estructuras. Estos efectos de posición son el resultado de la competencia por recursos entre flores y de constricciones en el diseño de las inflorescencias. En este trabajo se investigan los efectos de posición en las inflorescencias determinadas (panículas) del acebuche (*Olea europaea* L.), un árbol andromonoico en el que las flores masculinas aparecen tras el aborto del pistilo en una flor hermafrodita cuando esta no dispone de recursos suficientes. Las flores hermafroditas y las flores masculinas se distribuyeron en las inflorescencias siguiendo un patrón atípico causado por la combinación entre la competencia por recursos y un fenómeno de dominancia apical. La posición que presentó mayor probabilidad de producir flores hermafroditas fue la apical, independientemente del patrón de ramificación de la inflorescencia y de su número de flores. La probabilidad de que se produjeran flores hermafroditas en el resto de posiciones fue mucho menor que para la apical, y disminuyó próximo-distalmente. Cuanto mayor fue la inflorescencia, mayor fue también la proporción de recursos retenidos por la flor apical. La eliminación de la flor apical no supuso un cambio en el patrón próximo-distal de asignación de recursos en el resto de las posiciones, sino el mero reparto (también próximo-distal) de los recursos que habría secuestrado dicha flor. La eliminación de hojas e inflorescencias en las ramas floríferas afectó a la proporción de flores hermafroditas en las inflorescencias de manera dispar, pero no modificó los efectos de posición dentro de las mismas. Si bien la transición desde el hermafroditismo hacia la andromonoecia en *O. europaea* fue posible gracias a la respuesta plástica de las flores ante la variabilidad en la cantidad de recursos disponibles (*i.e.*, la posibilidad del aborto ovárico), la competencia asimétrica entre las distintas posiciones de las inflorescencias podría representar una fase temprana en la transición hacia la monoecia. Los efectos de posición particulares de esta especie podrían favorecer una mayor eficiencia en la fecundación con polen de otras plantas o un incremento en las posibilidades de dispersión de semillas.

Palabras clave: andromonoecia, dominancia apical, efectos arquitecturales, flor hermafrodita, flor masculina, GLMM, panícula.

1. INTRODUCCIÓN

Las flores de una misma planta pueden diferir entre sí, de manera cualitativa y/o cuantitativa, tanto en caracteres estructurales como funcionales. (Diggle 1997, 2003; Ishii y Sakai 2001; Miller y Diggle 2003; Seifi *et al.* 2008). Esta variabilidad fenotípica intra-planta, lejos de ser aleatoria, suele seguir un orden (Watson *et al.* 1995; Diggle 1997). Diggle (2003) revisó numerosos trabajos en los que se describía la distribución de los rasgos florales dentro de inflorescencias indeterminadas de especies hermafroditas. El patrón que se describía en la gran mayoría de esos estudios era un decrecimiento, desde la base de la inflorescencia hacia el final de la misma, en el tamaño de las flores, el tamaño de las corolas, el número de pétalos, el tamaño de los ovarios, el número de primordios seminales y estambres, y/o el número de granos de polen. Hasta la fecha se han propuesto dos explicaciones, no excluyentes, para la existencia de estos efectos de posición. La primera defiende que los efectos de posición reflejan una respuesta plástica a la competencia entre las flores de las distintas posiciones de la inflorescencia por una cantidad de recursos limitada (Lloyd 1980; Stephenson 1981). En este sentido, todas las flores de la inflorescencia tienen el mismo potencial reproductivo, pero las flores que se producen en la región distal se forman más tarde y más lejos de la fuente de recursos que las de la región proximal y, por lo tanto, poseen una cierta desventaja que puede suponer una reducción de su tamaño o de su funcionamiento reproductivo (Ishii y Sakai 2001, 2002). El hecho de que los efectos de posición se mantengan, incluso después del control experimental de la competencia por recursos dentro de las inflorescencias, apunta a que existe una segunda fuente potencial de variación fenotípica floral: restricciones de tipo arquitectural inherentes al propio diseño de las inflorescencias (Wolfe 1992; Diggle 1995, 2003). Este efecto arquitectural podría estar causado por la existencia de limitaciones mecánicas en las estructuras de soporte de las inflorescencias o por limitaciones en el tejido vascular que aprovisiona a los diferentes órganos florales en las posiciones distales de las mismas (Wolfe 1992; Wolfe y Denton 2001). La importancia de cada uno de estos mecanismos en la variabilidad intra-inflorescencia difiere entre especies (Diggle 2003; Cao *et al.* 2011) y entre rasgos florales (Wolfe 1992; Diggle 1997; Ortiz *et al.* 2009).

Sin embargo, hay que ser cauteloso a la hora de aseverar que todos los efectos de posición en inflorescencias siguen una jerarquía próximo-distal. Por ejemplo, el patrón opuesto se describió en *Iris fulva* por Wesselingh y Arnold (2003), quienes sugirieron que un patrón de dominancia apical puede aparecer si los meristemas distales representan sumideros de recursos más potentes que los basales, o si producen hormonas que formen un gradiente a lo largo de la inflorescencia. Además, en plantas con antesis basipétala, la formación temprana de frutos en las posiciones

distales puede secuestrar recursos destinados en principio para la formación de las flores en posiciones proximales, causando, una vez más, un patrón de variación opuesto al típico. Por otra parte, también existen efectos de posición en inflorescencias cuya estructura no es lineal, como es el caso de capítulos (Torices y Méndez 2010), umbelas (Medrano *et al.* 2000) o cimbras (Buide 2008).

Como consecuencia de los efectos de posición, el énfasis en la función masculina o femenina puede cambiar de manera drástica dentro de las inflorescencias (Diggle 2003). La teoría de la asignación sexual (en inglés “*sex allocation theory*”; Charnov 1982) predice que la cantidad de recursos asignados a cada función en una flor concreta cambia en función de la cantidad de recursos disponibles (Charlesworth y Charlesworth 1981). Por lo tanto, si la cantidad de recursos disponibles disminuye próximo-distalmente, las flores deberían de presentar un sesgo hacia la masculinidad cada vez más acusado cuanto más lejos se produjeran en la inflorescencia (Mazer y Dawson 2001; Ishii y Sakai 2002). A la larga, esta situación podría conducir a una segregación funcional de sexos (Ashman y Hitchens 2000).

Sorprendentemente, se ha prestado muy poca atención a los efectos de posición dentro de las inflorescencias en especies no hermafroditas, como las monoicas, andromonoicas o ginomonoicas, donde las funciones masculina y femenina están separadas de manera discreta en distintas flores (no obstante véase Waller 1988; Waller y Steingraber 1995; Miller y Diggle 2003; Diggle y Miller 2004). En estas especies, se han encontrado ciertos patrones posicionales que recuerdan a la típica disminución en la asignación a la función femenina en flores hermafroditas de posiciones distales. Por ejemplo, las flores hermafroditas y masculinas se colocan, respectivamente, en las posiciones basales y distales de las inflorescencias en el género *Solanum* (Diggle y Miller 2004). Cuando la formación de frutos es un evento esporádico en determinadas posiciones como consecuencia de la ausencia sistemática de recursos para formarlos, la asignación óptima de recursos debería favorecer que se anulara la función femenina en esas flores y favorecer el salto a la andromonoecia (Primack y Lloyd 1980; Emms 1993). Así, como sugieren Torices y Méndez (2010), los efectos de posición en plantas no hermafroditas pudieron ser efectos de posición mediados por recursos que pasaron a ser efectos de posición arquitecturales.

El patrón de segregación de sexos en las inflorescencias determinadas (panículas) de *Olea europaea* L., un árbol andromonoico, no es el habitual. Por ello es necesario ampliar la óptica con la que se abordan los efectos de posición. Todas las flores de *O. europaea* son hermafroditas en su origen, de modo que las flores masculinas aparecen tras el aborto del pistilo como consecuencia de deficiencias nutricionales (Uriu 1959). Las flores de ambos sexos se colocan en posiciones

predecibles dentro de las panículas (Cuevas y Polito 2004; Seifi *et al.* 2008). La flor apical es frecuentemente hermafrodita mientras que las flores que se producen en las posiciones más cercanas a esta son masculinas la mayor parte de las veces (Cuevas y Polito 2004; Seifi *et al.* 2008). La probabilidad de encontrar una flor hermafrodita en el resto de posiciones de la inflorescencia es diversa, pero siempre inferior a la de la flor apical y mayor a la de las flores junto a la apical (Seifi *et al.* 2008). A la luz de estos datos, la segregación de sexos dentro de las inflorescencias de *O. europaea* parece que sigue un patrón de dominancia apical (*i.e.*, la flor que se produce en el ápice de la inflorescencia parece que limita la cantidad de recursos que llega a las posiciones que se encuentran por debajo de ella). Sin embargo, los mecanismos responsables de este efecto de posición en particular siguen sin estar claros.

En este estudio se diseccionaron las causas de la segregación sexual dentro de las inflorescencias del acebuche [*Olea europaea* L. var. *sylvestris* (Miller) Lehr.]. Se plantearon las siguientes preguntas: 1) ¿Depende la cantidad de flores que poseen las inflorescencias y el sexo de las mismas de la posición de las inflorescencias en las ramas? 2) ¿Se redistribuyen los sexos florales dentro de las inflorescencias cuando se elimina la flor apical? 3) ¿Cambian los efectos de posición en las inflorescencias del acebuche al eliminar hojas o inflorescencias en sus ramas floríferas?

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Especie y localización

El acebuche, *Olea europaea* L., es una especie andromonoica (Green 2002), *i.e.*, un mismo individuo posee tanto flores hermafroditas como masculinas. Las flores hermafroditas están constituidas por un cáliz pequeño y verdoso, cuatro pétalos blanquecinos, dos estambres con anteras grandes, y un pistilo. Las flores masculinas aparecen como consecuencia del aborto del ovario de una flor hermafrodita, en diferentes fases de su desarrollo, como consecuencia de déficits nutricionales o condiciones ambientales estresantes (Uriu 1959). Aproximadamente un mes antes de la floración se producen la mayoría de abortos del pistilo (Uriu 1959; Seifi *et al.* 2008).

Las flores se agrupan en inflorescencias axilares determinadas (panículas), en la porción de las ramas floríferas del crecimiento del año anterior (Uriu 1959). Todas las inflorescencias presentan un eje central que acaba en una única flor, la flor apical. En inflorescencias con 11 o más flores, generalmente, se desarrollan ramificaciones laterales cerca de la base de la inflorescencia (Figura 1; Tabla 1). Al igual que el eje principal, los ejes laterales acaban en una flor terminal y el

resto de flores se disponen de manera opuesta por pares. En un mismo individuo, existe una enorme variabilidad en el número de flores de sus inflorescencias y en los patrones de ramificación de las mismas (Tabla 1). Las dos inflorescencias que se producen en un nudo floral presentan el mismo patrón de ramificación y número de flores.

Este estudio se llevó a cabo en Aldea del Fresno, Madrid (40°20' Norte, 4°14' Oeste, 500 m sobre el nivel del mar), en los años 2008 y 2009. En esta localización, la lluvia acumulada anual es de 515 mm y la temperatura media anual es de 15.8 °C. La floración del acebuche en esta población se produce típicamente a mediados de mayo.

2.2. Manipulación de ramas e inflorescencias

Se seleccionaron en total 10 acebuches ($n = 5$ en 2008 y $n = 5$ en 2009) de tamaños similares (altura = 2.5 - 3.5 m y diámetro mayor = 5 - 6.5 m) y que presentaban intensidades de floración altas. El número de nudos florales en las ramas de estos acebuches osciló entre 3 y 8 (Tabla 1), con un valor promedio por árbol de entre 4.9 y 6.3 nudos florales (Tabla 1). En la orientación sur de la copa de cada árbol, y a una altura sobre el suelo de entre 1.5 y 2 m, se escogieron al azar de 40 a 52 ramas floríferas. Estas ramas carecían de crecimiento vegetativo lateral y estaban separadas sí por al menos dos órdenes de ramificación. Sólo se escogieron ramas en las que al menos dos tercios de sus nudos tenían inflorescencias. Se evitaron las ramas que presentaban crecimiento vegetativo entre los nudos florales. Tanto el marcaje como la manipulación de las ramas se efectuó a finales de abril, *i.e.*, antes del momento en el se producen la mayoría de abortos pistilares (Uriu 1959; Seifi 2008). En ese momento, las yemas florales ya habían comenzado a desarrollarse y era posible identificar tanto su patrón de ramificación como su número de flores. En cada árbol se asignaron de 10 a 13 ramas a uno de los 4 siguientes tratamientos experimentales: 1) eliminación de una de las dos inflorescencias por nudo floral, alternando lado en cada nudo (ElimInf); 2) eliminación de una de las dos hojas por nudo de la rama, alternando lado en cada nudo (ElimHojas); 3) eliminación de la flor apical de todas las inflorescencias de la rama mediante el uso de pinzas (ElimAp); y 4) sin manipulación (Control). Los tratamientos ElimInf y ElimHojas pretendían incrementar y disminuir, respectivamente, la cantidad de recursos disponibles que llegaban a las inflorescencias. El tratamiento ElimAp pretendía reducir la dominancia apical dentro de las inflorescencias.

Justo antes de que las flores se abrieran, a mediados de mayo de 2008 y 2009, se cortaron las ramas marcadas y se llevaron al laboratorio. Allí se anotó la posición de cada inflorescencia en las ramas, su patrón de ramificación, su número de flores y el sexo de cada flor en cada posición. La

posición de las flores dentro de las inflorescencias se categorizó usando el criterio de Seifi *et al.* (2008) (Figura 1).

2.3. Análisis de datos

Los efectos de posición en el sexo de las flores dentro de las inflorescencias de *Olea europaea* se investigaron mediante modelos lineales generalizados de efectos mixtos (GLMMs, del inglés “*generalized linear mixed-effects models*”). Los modelos de efectos mixtos son apropiados para el análisis de medidas agrupadas y, por lo tanto, auto-correlacionadas (Pinheiro y Bates 2000). Este es el caso de las flores del acebuche que se agrupan en inflorescencias, estas a su vez en nudos florales y ramas, y las ramas se agrupan en árboles. La selección de modelos se llevó a cabo siguiendo el criterio de Pinheiro y Bates (2000): primero se buscó la estructura óptima para el componente aleatorio y después la del componente fijo. Esto es, primero se compararon una serie de modelos que diferían en su estructura del componente aleatorio, pero que poseían los mismos componentes fijos, mediante un procedimiento de estimación basado en la máxima verosimilitud restringida (REML, del inglés “*restricted maximum likelihood*”). El componente fijo en estos modelos incluía todos los efectos principales, así como todas las interacciones posibles entre ellos (modelo conocido como modelo “más allá del óptimo”; Zuur *et al.* 2009). Una vez se encontró la estructura aleatoria óptima, se ajustó una batería de modelos con diferente estructura en el componente fijo. En este caso, los modelos se compararon usando un procedimiento basado en la máxima verosimilitud (ML, del inglés “*maximum likelihood*”) y se ordenaron jerárquicamente usando el criterio de información de Akaike (AIC, del inglés “*Akaike’s Information Criterion*”). El modelo final se ajustó usando una estimación de tipo REML. Todos los modelos de efectos mixtos se ajustaron usando el paquete “lme4” (Bates *et al.* 2011) en R 2.13 (<http://www.rproject.org>).

2.3.1. Análisis a nivel de rama

En primer lugar, se examinó si la posición de las inflorescencias en las ramas afectaba al número de flores que estas poseían. Para ello se compararon diferentes GLMMs con distribución de errores de tipo *poisson* y función de vínculo de tipo *log*. El modelo más complejo se formuló de la siguiente manera:

$$\text{Flores por inflorescencia} = \text{Nudo} * \text{NudosTotales} * \text{Año} + \text{NudoId (Rama (Individuo))}$$

donde: *Nudo* es un factor que especifica el nudo floral, empezando desde la base de la rama; *NudosTotales* es una variable que especifica el número total de nudos florales en la rama; *Año* es un factor con dos niveles (2008 y 2009); y *NudoId (Rama (Individuo))* es el término aleatorio que

especifica el efecto del nudo en el que se encontraba cada inflorescencia, anidado dentro de su rama, y esta anidada dentro del árbol al que pertenecía. En este modelo se incluyeron los datos de las ramas pertenecientes a los tratamientos ElimInf, ElimHojas y Control, ya que ninguno modificaba el número de flores en las inflorescencias o la estructura de nudos florales en las ramas.

A continuación se investigó si la posición de las inflorescencias en las ramas afectaba a la proporción de flores hermafroditas que estas poseían y si dicha proporción cambiaba en los tratamientos de defoliación y eliminación de inflorescencias. Para ello se compararon múltiples GLMMs con una distribución de errores de tipo *binomial* y una función de vínculo de tipo *logit*. El modelo más complejo se formuló de la siguiente manera:

$$propH = Nudo * NudosTotales * Año * Tratamiento + NudoId (Rama (Individuo))$$

donde: *propH* es una variable respuesta formada por dos vectores que especifican el número de flores hermafroditas y el número de flores masculina en cada inflorescencia (para más detalles véase Crawley 2007); y *Tratamiento* es un factor con tres niveles (ElimInf, ElimHojas y Control).

2.3.2. Análisis a nivel de inflorescencia

En primer lugar, se investigó si el sexo floral estaba influenciado por la posición de la flor dentro de la inflorescencia y si el patrón de distribución de sexos se veía alterado como consecuencia del incremento o la disminución de la cantidad de recursos que llegaba a las inflorescencias. Para ello se compararon diferentes GLMMs con una distribución de errores de tipo *binomial* y una función de vínculo de tipo *logit*. El modelo más complejo se formuló de la siguiente manera:

$$Sexo = PosTipo * Nudo * NudosTotales * Año * Tratamiento + NudoId (Rama (Individuo))$$

donde: *Sexo* es una variable binaria que especifica el sexo de la flor (1 = hermafrodita, 0 = masculina); y *PosTipo* es un factor que indica la posición de cada flor en cada tipo de inflorescencia. La estimación de la interacción entre la posición y el tipo de inflorescencia no es posible ya que no todos los tipos de inflorescencias poseen todas las posiciones, de modo que la variable *PosTipo* pretendía representar el efecto de dicha interacción.

En segundo lugar, se examinó si al quitar la flor apical de las inflorescencias el sexo de las flores en el resto de las posiciones se veía afectado mediante GLMMs con una distribución del error de tipo *binomial* y una función de vínculo de tipo *logit*. El modelo más complejo se formuló de la siguiente manera:

$$\text{Sexo} = \text{Apical} * \text{PosTipo} * \text{Nudo} * \text{NudosTotales} * \text{Año} * \text{Tratamiento} + \text{NudoId (Rama (Individuo))}$$

donde: *Apical* es un factor con dos niveles que especifica si la inflorescencia posee o no la flor apical o, lo que es lo mismo, si los datos provenían, respectivamente, del tratamiento Control o del tratamiento ElimAp.

3. RESULTADOS

El porcentaje promedio de flores hermafroditas por árbol osciló entre 1.8% y 75.3% (Tabla 1). El número de flores por inflorescencia en el conjunto de acebuches muestreado varió entre 1 y 29. No obstante, aproximadamente el 97% de las inflorescencias se clasificaron en 9 tipos basados en su número de flores y su patrón de ramificación (Tabla 1). La incidencia de estos 9 tipos de inflorescencia osciló entre el 1% (tipo 11a) y el 37% (tipo 9). El resto de inflorescencias (bajo la categoría de “Otras” en la Tabla 1) presentaron una incidencia menor al 1%. Las inflorescencias que presentaban ramificaciones terciarias no formaron parte de los tipos de inflorescencias más frecuentes (Tabla 1).

3.1. Análisis a nivel de rama

El número de flores por inflorescencia decreció desde la base de las ramas hacia su ápice (Figura 2a; Tabla 2). Las diferencias en el número de flores por inflorescencia entre ramas con distinto número de nudos florales fueron más acusadas en 2008. Todas las ramas tuvieron en 2008, de promedio, más inflorescencias que en 2009 (Figura 2a). El número de flores por inflorescencia en 2009 aumentó de manera significativa en todos los nudos de las ramas según estas incrementaban su número total de nudos (Figura 2a).

La eliminación de hojas en las ramas no tuvo un efecto marcado en la proporción de flores hermafroditas de sus inflorescencias (Figura 2b; Tabla 3). La eliminación de inflorescencias en las ramas supuso un incremento significativo en la proporción de flores hermafroditas en las inflorescencias restantes, aunque solamente en 2008 (Figura 2b). También en 2008, el efecto de este último tratamiento fue más marcado a medida que incrementaba el número de nudos totales de las ramas (Figura 2b).

3.2. Análisis a nivel de inflorescencia

El sexo floral sólo estuvo influenciado por la posición que la flor ocupaba dentro de las inflorescencias y por el número de flores en cada inflorescencia (Figura 3; Tabla 4). La flor apical presentó la probabilidad más alta de ser hermafrodita en todos los tipos de inflorescencias, excepto en los tipos 3 y 11b (Figura 3). La probabilidad de encontrar una flor hermafrodita en la posición apical se incrementó a medida que las inflorescencias poseían un número mayor de flores (Figura 3). No obstante, la flor apical en los tipos 11b y 19 presentó una probabilidad de ser hermafrodita menor de lo esperado por el patrón general descrito por el resto de inflorescencias. La probabilidad de encontrar flores hermafroditas en el resto de posiciones de las inflorescencias decreció desde la base de las mismas hasta la parte terminal en la mayor parte de las inflorescencias (Figura 3). La probabilidad de encontrar una flor hermafrodita en las posiciones inmediatamente inferiores a la apical fue cercana a cero, mientras que, en las posiciones basales de las inflorescencias más grandes, esta probabilidad superó el 10% (Figura 3). Sin embargo, el incremento en el número de flores por inflorescencia no supuso un incremento en la probabilidad promedio de que sus flores fueran hermafroditas. En el 89% de las inflorescencias (todas excepto los tipos 3, 5 y 19), el 8% de las flores por inflorescencia fueron hermafroditas (Figura 3).

La manipulación experimental de la proporción de hojas e inflorescencias en las ramas (*i.e.*, de la cantidad de recursos disponibles para las inflorescencias) tuvo un efecto significativo en la probabilidad de que se desarrollaran flores hermafroditas en la mayor parte de las posiciones de todos los tipos de inflorescencia (Figura 4; Tabla 4). Concretamente, la eliminación de inflorescencias de las ramas floríferas (tratamiento ElimInf) se tradujo en un incremento de dicha probabilidad, mientras que la eliminación de la mitad de las hojas (tratamiento ElimHojas) supuso una disminución (Figura 4). No obstante, los efectos del tratamiento ElimInf fueron de mayor intensidad que los del tratamiento ElimHojas (Figura 4). Los efectos en la manipulación la cantidad de recursos disponibles para las inflorescencias fueron mayores en las posiciones donde se desarrollaban flores hermafroditas con más probabilidad y menores en las posiciones que rara vez producían este tipo de flores (Figura 4; Tabla 4).

La eliminación de la flor apical no modificó el patrón espacial general de distribuciones de sexos en las inflorescencias (Tabla 5). Es decir, la probabilidad de encontrar flores hermafroditas siguió decreciendo próximo-distalmente. Sin embargo, la eliminación de la flor apical supuso un incremento en la probabilidad de que se produjeran flores hermafroditas en las posiciones restantes

de las inflorescencias (Figura 5; Tabla 5). Este incremento fue más acusado en las posiciones basales y disminuyó hacia la parte distal de las inflorescencias (Figura 5).

4. DISCUSIÓN

La disposición de flores hermafroditas y masculinas en las inflorescencias del acebuche (*Olea europaea* L.) mostró un patrón inusual: la flor apical fue frecuentemente hermafrodita, mientras que la probabilidad de que se produjeran flores hermafroditas en el resto de posiciones de la panícula disminuyó desde las posiciones más proximales a las más distales (Figura 3; Tabla 4). Aunque ya se sabía que los dos tipos de flores no se distribuían de forma aleatoria en las inflorescencias de *O. europaea* (Brooks 1948; Bouranis *et al.* 1999; Dimassi *et al.* 1999; Ateyyeh *et al.* 2000; Martín *et al.* 2005; Cuevas y Polito 2004; Seifi *et al.* 2008), no se habían investigado formalmente los mecanismos que subyacen de este patrón posicional tan inusual. Los resultados de este trabajo indican que la segregación de sexos florales en las inflorescencias de *O. europaea* está causada por la interacción entre la dominancia apical y la competencia por recursos.

La hipótesis inicial fue que los efectos de posición en las inflorescencias de *O. europaea* respondían a un proceso de dominancia apical. La dominancia apical implica que la posición terminal tiene acceso prioritario a los recursos y que por debajo de esta posición la asignación de los mismos está limitada o suprimida (Cline 1994, 1997; Dun *et al.* 2006). Los resultados de este estudio apoyan ambas condiciones en todos los tipos de inflorescencias analizados, a excepción de las inflorescencias de tipo 3 (Figura 3). Por otra parte, el análisis individualizado por cada tipo de inflorescencia permitió ampliar la comprensión de las características de la dominancia apical en las inflorescencias del acebuche. La probabilidad promedio por inflorescencia de que produjeran flores hermafroditas fue constante para la mayoría de los tipos de inflorescencias (del 8%; Figura 3), lo que sugiere que la asignación de recursos por parte de la planta fue idéntica para cada flor, independientemente del tipo de inflorescencia en el que se encontrara y de la posición que esta ocupara en la rama. No obstante, la probabilidad de que se formara una flor hermafrodita en la posición apical se incrementó según se incrementaba el número de flores por inflorescencia, mientras que el aborto del pistilo de las flores en el resto de posiciones siguió siendo frecuente (Figura 3; Tabla 4). Esto sugiere que la fuerza de la dominancia apical estuvo determinada por el tamaño de las inflorescencias, de modo que cuanto mayor era la cantidad de recursos que llegaba al conjunto de la inflorescencia mayor era la proporción de estos que asumía la flor apical.

Según la “hipótesis del desvío de nutrientes” (en inglés “*nutrient diversion hypothesis*”; Cline 1991, 1994), el meristemo apical se comporta como un potente sumidero de recursos por dos motivos: su nivel de hormonas y su alta tasa de crecimiento. La reducción o supresión de los recursos que llegan a los meristemas axilares por debajo del meristemo apical puede estar causada tanto por el aspecto hormonal de la dominancia apical como por el metabólico. Así, si la cantidad de recursos disponibles es limitada, se podría promover la aparición de fenómenos de dominancia apical, con el objetivo de fomentar el crecimiento lineal en lugar de la ramificación lateral (Lortie y Aarssen 1997). Los resultados de este estudio no encajaron con el aspecto hormonal de la dominancia apical, que establece que el ápice ejerce algún tipo de control sobre el resto de posiciones (Cline 1994, 1997; Dun *et al.* 2006), ya que la eliminación de la flor en esta posición no supuso la modificación de los efectos de posición en las posiciones restantes (Figura 5; Tabla 5). Así, la alta demanda metabólica del meristemo apical parece ser el aspecto de la dominancia apical responsable, en gran medida, de los efectos de posición en las inflorescencias de *O.europaea*. De hecho, en las inflorescencias determinadas o cerradas (como las panículas), el meristemo apical se transforma eventualmente en un meristemo floral que da lugar a la flor apical (Bennett y Leyser 2006), con lo que la flor apical podría verse beneficiada por producirse en esa posición tan ventajosa.

La manipulación de la cantidad de inflorescencias y hojas en las ramas floríferas modificó la proporción de flores hermafroditas en las inflorescencias de las mismas (Figura 2b; Tabla 3), aunque no supuso un cambio en el patrón general intra-inflorescencia en las posiciones de cada tipo de flor (Figura 4; Tabla 4). Uriu (1959) propuso que la eliminación de inflorescencias en las ramas de *O. europaea* reducía la proporción de flores masculinas en las inflorescencias restantes como consecuencia de la redistribución de la misma cantidad de foto-asimilados entre menos inflorescencias. A su vez, la eliminación de hojas suponía un incremento en la proporción de flores masculinas ya que se suprimían determinadas fuentes de foto-asimilados (Uriu 1959). Los resultados de este trabajo apoyan la primera afirmación tan sólo en el primero de los dos años muestreados y no respaldan la segunda en ningún año (Figura 2b; Tabla 3). El hecho de que la defoliación no tuviera efectos marcados en la expresión sexual puede tener dos explicaciones. En primer lugar, que el tratamiento no fue lo suficientemente severo como para inducir un mayor aborto ovárico del habitual, aunque con este tratamiento se eliminara la mitad de las hojas en las ramas floríferas. En segundo lugar, como propone Lavee *et al.* (1996, 1999), puede ser que los recursos que llegan a las ramas para la formación de las inflorescencias provengan de determinados lugares de almacenamiento de la planta en vez de tratarse de foto-asimilados de reciente adquisición. Esta segunda explicación podría aclarar, al menos parcialmente, por qué el tratamiento

de eliminación de inflorescencias fue mucho más marcado uno de los dos años (Figura 2b). *O. europaea* es una especie vecera, lo que significa que la planta consume gran parte de sus reservas en un año de abundante producción de frutos y, por lo tanto, suele presentar una fructificación escasa el año siguiente (Lavee *et al.* 1996, 1999). Sin embargo, no es frecuente observar una reducción abrupta en la floración de los años de descanso (Lavee *et al.* 1996, 1999), posiblemente porque la formación de flores es relativamente barata en comparación con la formación de frutos y permite mantener un cierto éxito reproductor a través del polen (Cuevas y Polito 2004). Aunque los datos recogidos para este estudio no permiten afirmar que el 2009 fuese un año vecero, tres resultados de este trabajo sí lo sugieren: 1) el tratamiento de eliminación de inflorescencias ese año no supuso un incremento en la proporción de flores hermafroditas en las inflorescencias restantes (Figura 2b; Tabla 3); 2) las inflorescencias fueron más pequeñas que en 2008 (Figura 2a; Tabla 2); y 3) hubo mayores diferencias en el tamaño de las inflorescencias entre ramas con distinto número de inflorescencias (Figura 2a; Tabla 2).

No obstante, tras los tratamientos de eliminación de hojas e inflorescencias, la reasignación de recursos dentro de las inflorescencias varió entre posiciones (Figura 4; Tabla 4). El incremento de los recursos disponibles para las inflorescencias (*i.e.*, el tratamiento ElimInf) favoreció particularmente a las posiciones de las inflorescencias que ya producían flores hermafroditas con más frecuencia (Figura 4). Así, la posición apical fue la que secuestró la mayor proporción de recursos. En el resto de posiciones también se incrementó la probabilidad de producir flores hermafroditas, aunque en menor grado, siendo las más favorecidas las posiciones basales. En el caso de las inflorescencias en las ramas defoliadas, y aunque la reducción en la probabilidad de producir flores hermafroditas en ellas fue poco intensa, la posición más desfavorecida (donde se incrementó la probabilidad de aborto ovárico) fue la posición apical, seguida de las más basales en las inflorescencias de mayor tamaño (Figura 4; Tabla 4). Por otra parte, el excedente de recursos en las inflorescencias del tratamiento ElimAp (*i.e.*, los recursos que habría secuestrado la flor apical) se repartió de abajo a arriba, y este reparto diferencial fue más acusado cuanto más grande era la inflorescencia (Figura 5). Todos estos resultados sugieren que la competencia por una cantidad limitada de recursos está también involucrada en la aparición de los efectos de posición en las inflorescencias de *O. europaea*. Si esto efectivamente fuera así, cabría esperar que, ante una situación en la que los recursos que llegan a las inflorescencias fueran ilimitados, no hubiera aborto del pistilo en ninguna de sus flores. Seifi *et al.* (2008) muestran resultados que apuntan en esta dirección ya que encontraron que en los individuos de un pariente cultivado del acebuche (cultivariedad de olivo Frantoio) la producción de flores hermafroditas es del 100% en todas las

posiciones de sus inflorescencias, muy probablemente porque los suelos en los que crecían estos árboles se regaron y fertilizaron con frecuencia.

En concordancia con estudios anteriores (*e.g.*, Uriu 1959; Cuevas y Polito 2004), los resultados de este trabajo evidencian que el aborto del pistilo en *O.europaea* se produce como consecuencia de la competencia entre flores por un suministro limitado de recursos. Numerosos autores proponen que la transición del hermafroditismo a la andromonoecia pudo ser posible en muchas especies gracias a esta respuesta plástica en el desarrollo de las flores (*e.g.*, Diggle 1993). Sin embargo, este estudio también muestra que la competencia por recursos es asimétrica entre las flores de las inflorescencias, lo que puede representar una fase inicial de la transición hacia la monoecia. Torices y Méndez (2010) sugieren que los efectos de posición dentro de inflorescencias, que en origen estaban causados por la competencia por recursos, podrían evolucionar a efectos de posición arquitecturales. Ashman y Hitchens (2000) muestran evidencias de este escenario evolutivo en *Fragaria virginiana*, especie en la que se maximizan las funciones masculina y femenina mediante patrones de distribución de recursos diferentes en las inflorescencias de los individuos femeninos y los funcionalmente masculinos. En las inflorescencias de los dos tipos de plantas, el número de primordios seminales decrece próximo-distalmente. Sin embargo, en los individuos femeninos, la inversión en el gineceo de sus flores es mayor en las posiciones basales de las inflorescencias que en las distales, mientras que en los individuos funcionalmente masculinos, esta inversión es mucho menor y constante en todas las posiciones de sus inflorescencias. Así, determinadas presiones selectivas podrían conducir a un encasillamiento arquitectural de las funciones sexuales que se traduciría en la segregación posicional de las funciones masculina y femenina. Por ejemplo, la función femenina podría verse favorecida en las posiciones apicales de las inflorescencias por dos motivos. En primer lugar, el acebuche es una especie anemófila, con lo que las posiciones apicales de las inflorescencias (que son las más expuestas) podrían estar recibiendo mayor cantidad de polen de otras plantas y favoreces así la fecundación cruzada. En segundo lugar, la formación de frutos en la parte distal de las inflorescencias podría facilitar la extracción de los mismos por parte de las aves, lo que incrementaría sus posibilidades de dispersión.

5. CONCLUSIONES

Cada vez son más estudios que muestran que los efectos de posición dentro de las inflorescencias son un fenómeno ampliamente extendido en plantas, y que afecta a todas las fases del proceso reproductivo, desde la formación de primordios seminales y granos de polen hasta la producción de

semillas. Los resultados de este estudio no sólo añaden más evidencias en este sentido, sino que cuestionan la universalidad de los mecanismos propuestos hasta la fecha como los responsables de la aparición de efectos de posición. Los dos mecanismos mejor comprendidos son la competencia entre flores por una cantidad limitada de recursos y las constricciones de tipo arquitectural en el diseño de las inflorescencias. No obstante, estas conclusiones se han obtenido del estudio, casi en exclusiva, de especies hermafroditas con inflorescencias de crecimiento indeterminado. Por ello, no se debe descartar el concurso de otros mecanismos en especies no hermafroditas y en especies que presenten otros tipos de inflorescencias. Este estudio, por ejemplo, indica que determinados procesos relacionados con la dominancia apical están involucrados en la segregación espacial de flores hermafroditas y masculinas en *O. europaea*, una especie andromonoica con inflorescencias determinadas. Más estudios en esta línea podrían ayudar a ampliar el conocimiento de las presiones selectivas que motivan la aparición de efectos de posición dentro de las inflorescencias y de los mecanismos del desarrollo que están involucrados en las transiciones entre los distintos sistemas sexuales.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Ashman TL (1992) Indirect costs of seed production within and between seasons in a gynodioecious species. *Oecologia* 92:266-272
- Ashman TL, Hitchens MS (2000) Dissecting the causes of variation in intra-inflorescence allocation in a sexually polymorphic species, *Fragaria virginiana* (Rosaceae). *American Journal of Botany* 87:197-204
- Ateyyeh AF, Stosser R, Qrunfleh M (2000) Reproductive biology of the olive (*Olea europaea* L.) cultivar 'Nabali Baladi'. *Journal of Applied Botany-Angewandte Botanik* 74:255-270
- Bates, D., Maechler, M., and Dai, B. (2011) Linear-mixed-effects models using S4 classes. R package version 2.13.2
- Bell AD, Bryan A (2008) Plant form: an illustrated guide to flowering plant morphology. Timber Press, London, Reino Unido. 431 pags
- Bouranis DL, Kitsaki CK, Chorianopoulou SN, Aivalakis G, Drossopoulos JB (1999) Nutritional dynamics of olive tree flowers. *Journal of Plant Nutrition* 22:245-257

- Bennett T, Leyser O (2006) Something on the side: axillary meristems and plant development. *Plant Molecular Biology* 60:843-854
- Brooks RM (1948) Seasonal incidence of perfect and staminate olive flowers. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 52:213-218
- Buide ML (2008) Disentangling the causes of intrainflorescence variation in floral traits and fecundity in the hermaphrodite *Silene acutifolia*. *American Journal of Botany* 95:490-497
- Cao GX, Xue L, Li Y, Pan KW (2011) The relative importance of architecture and resource competition in allocation to pollen and ovule number within inflorescences of *Hosta ventricosa* varies with the resource pools. *Annals of Botany* 107:1413-1419
- Charlesworth D, Charlesworth B (1981) Allocation of resources to male and female functions in hermaphrodites. *Biological Journal of the Linnean Society* 15:57-74
- Charnov EL (1982) *The theory of sex allocation*. Princeton University Press, Princeton, Nueva Jersey, EE.UU. 355 Pags
- Cline MG (1991) Apical dominance. *Botanical Review* 57:318-358
- Cline MG (1994) The role of hormones in apical dominance. New approaches to an old problem in plant development. *Physiologia Plantarum* 90:230-237
- Cline MG (1997) Concepts and terminology of apical dominance. *American Journal of Botany* 84:1064-1069
- Crawley, M.J. (2007) *The R Book*. Wiley, London, Reino Unido. 950 pags
- Cuevas J, Polito VS (2004) The role of staminate flowers in the breeding system of *Olea europaea* (Oleaceae): an andromonoecious, wind-pollinated taxon. *Annals of Botany* 93:547-553
- de Casas RR, Vargas P, Pérez-Corona E, Manrique E, García-Verdugo C, Balaguer L (2011) Sun and shade leaves of *Olea europaea* respond differently to plant size, light availability and genetic variation. *Functional Ecology* 25:802-812
- Diggle PK (1993) Developmental plasticity, genetic variation, and the evolution of andromonoecy in *Solanum hirtum* (Solanaceae). *American Journal of Botany* 80:967-973

- Diggle PK (1995) Architectural effects and the interpretation of patterns of fruit and seed development. *Annual Review of Ecology and Systematics* 26:531-552
- Diggle PK (1997) Ontogenetic contingency and floral morphology: the effects of architecture and resource limitation. *International Journal of Plant Sciences* 158:S99-S107
- Diggle PK (2003) Architectural effects on floral form and function: a review. En: *Deep morphology: toward a renaissance of morphology in plant systematics* (Eds. Stuessy T, Hörandl E, Mayer V). Koeltz, Königstein
- Diggle PK, Miller JS (2004) Architectural effects mimic floral sexual dimorphism in *Solanum* (Solanaceae). *American Journal of Botany* 91:2030-2040
- Dimassi K, Therios I, Balatsos A (1999) The blooming period and self-fruitfulness in twelve Greek and three foreign olive cultivars. En: *International Symposium on Olive Growing* (Ed. Metzidakis I). International Society Horticultural Science, Lovaina, Bélgica. Pags 275-278
- Dun EA, Ferguson BJ, Beveridge CA (2006) Apical dominance and shoot branching. Divergent opinions or divergent mechanisms? *Plant Physiology* 142:812-819
- Emms SK (1993) Andromonoecy in *Zigadenus paniculatus* (Liliaceae): spatial and temporal patterns of sex allocation. *American Journal of Botany* 80:914-923
- García-Verdugo C, Granado-Yela C, Manrique E, de Casas RR, Balaguer L (2009) Phenotypic plasticity and integration across the canopy of *Olea europaea* subsp. *guanchica* (Oleaceae) in populations with different wind exposures. *American Journal of Botany* 96:1454-1461
- Green PS (2002) A revision of *Olea* L. (Oleaceae). *Kew Bulletin* 57:91-140
- Herrera CM, Perez R, Alonso C (2006) Extreme intraplant variation in nectar sugar composition in an insect-pollinated perennial herb. *American Journal of Botany* 93:575-581
- Ishii HS, Sakai S (2001) Effects of display size and position on individual floral longevity in racemes of *Nartheicum asiaticum* (Liliaceae). *Functional Ecology* 15:396-405
- Ishii HS, Sakai S (2002) Temporal variation in floral display size and individual floral sex allocation in racemes of *Nartheicum asiaticum* (Liliaceae). *American Journal of Botany* 89:441-446

- Lavee S, Rallo L, Rapoport HF, Troncoso A (1996) The floral biology of the olive: effect of flower number, type and distribution on fruitset. *Scientia Horticulturae* 66:149-158
- Lavee S, Rallo L, Rapoport HF, Troncoso A (1999) The floral biology of the olive - II. The effect of inflorescence load and distribution per shoot on fruit set and load. *Scientia Horticulturae* 82:181-192
- Lloyd DG (1980) Sexual strategies in plants. I. An hypothesis of sexual adjustment of maternal investment during one reproductive season. *New Phytologist* 86:69-79
- Lortie CJ, Aarssen LW (1997) Apical dominance as an adaptation in *Verbascum thapsus*: effects of water and nutrients on branching. *International Journal of Plant Sciences* 158:461-464
- Martín GC, Ferguson L, Sibbett GS (2005) Flowering, pollination, fruiting, alternate bearing, and abscission. En: *Olive Production Manual*. University of California (Eds. Sibbett GS, Ferguson L, Coviello JL, Lindstrand M), Agriculture and Natural Resources, Oakland, California, EE.UU. Pags 49–54
- Mazer SJ, Dawson KA (2001) Size-dependent sex allocation within flowers of the annual herb *Clarkia unguiculata* (Onagraceae): ontogenetic and among-plant variation. *American Journal of Botany* 88:819-831
- Medrano M, Guitian P, Guitian J (2000) Patterns of fruit and seed set within inflorescences of *Pancratium maritimum* (Amaryllidaceae): nonuniform pollination, resource limitation, or architectural effects? *American Journal of Botany* 87:493-501
- Miller JS, Diggle PK (2003) Diversification of andromonoecy in *Solanum* section *Lasiocarpa* (Solanaceae): the roles of phenotypic plasticity and architecture. *American Journal of Botany* 90:707-715
- Ortiz PL, Berjano R, Talavera M, Arista M (2009) The role of resources and architecture in modeling floral variability for the monoecious amphicarpic *Emex spinosa* (Polygonaceae). *American Journal of Botany* 96:2062-2073
- Pinheiro J.C. and Bates D.M. 2000. *Mixed effects models in S and S-Plus*. Springer, Berlin, Alemania. 528 pags

- Primack RB, Lloyd DG (1980) Andromonoecy in the New Zealand montane shrub Manuka, *Leptospermum scoparium* (Myrtaceae). *American Journal of Botany* 67:361-368
- Seifi E., Guerin J., Kaiser B. and Sedgley M. 2008. Inflorescence architecture of olive. *Scientia Horticulturae* 116: 273-279.
- Stephenson AG (1981) Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 12:253-279
- Torices R, Méndez M (2010) Fruit size decline from the margin to the center of capitula is the result of resource competition and architectural constraints. *Oecologia* 164:949-958
- Uriu K. 1959. Periods of pistil abortion in the development of the olive flower. *Proceeding of the American Society for Horticultural Science* 73: 194-202.
- Waller DM (1988) Plant morphology and reproduction. En: *Plant reproductive ecology: patterns and strategies* (Eds. Lovett-Doust J, Lovett-Doust L), Oxford University Press, Nueva York, EE.UU. Pags 203–227
- Waller DM, Steingraber DA (1995) Opportunities and constraints in the placement of flowers and fruits. En: *Plant stems: physiology and functional morphology* (Ed. Gartner BL), Academic Press, San Diego, California, EE.UU. Pags 51–73
- Watson MA, Geber MA, Jones CS (1995) Ontogenetic contingency and the expression of plant plasticity. *Trends in Ecology & Evolution* 10:474-475
- Wesselingh RA, Arnold ML (2003) A top-down hierarchy in fruit set on inflorescences in *Iris fulva* (Iridaceae). *Plant Biology* 5:651-660
- Williams JL, Conner JK (2001) Sources of phenotypic variation in floral traits in wild radish, *Raphanus raphanistrum* (Brassicaceae). *American Journal of Botany* 88:1577-1581
- Wolfe LM (1992) Why does the size of reproductive structures decline through time in *Hydrophyllum appendiculatum* (Hydrophyllaceae)? Developmental constraints vs. resource limitation. *American Journal of Botany* 79:1286-1290
- Wolfe LM, Denton W (2001) Morphological constraints on fruit size in *Linaria canadensis*. *International Journal of Plant Sciences* 162:1313-1316

7. FIGURAS Y TABLAS

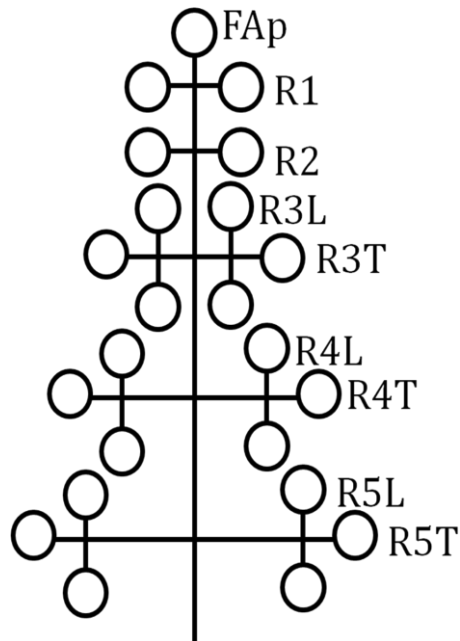


Figura 1. Descripción esquemática de una inflorescencia tipo con todas las posiciones: FAp: flor apical, R1: ramificación 1, R2: ramificación 2, R3T: posición terminal en la ramificación 3, R3L: posición lateral en la ramificación 3, R4T: posición terminal en la ramificación 4, R4L: posición lateral en la ramificación 4, R5T: posición terminal en la ramificación 5, R5L: posición lateral en la ramificación 5.

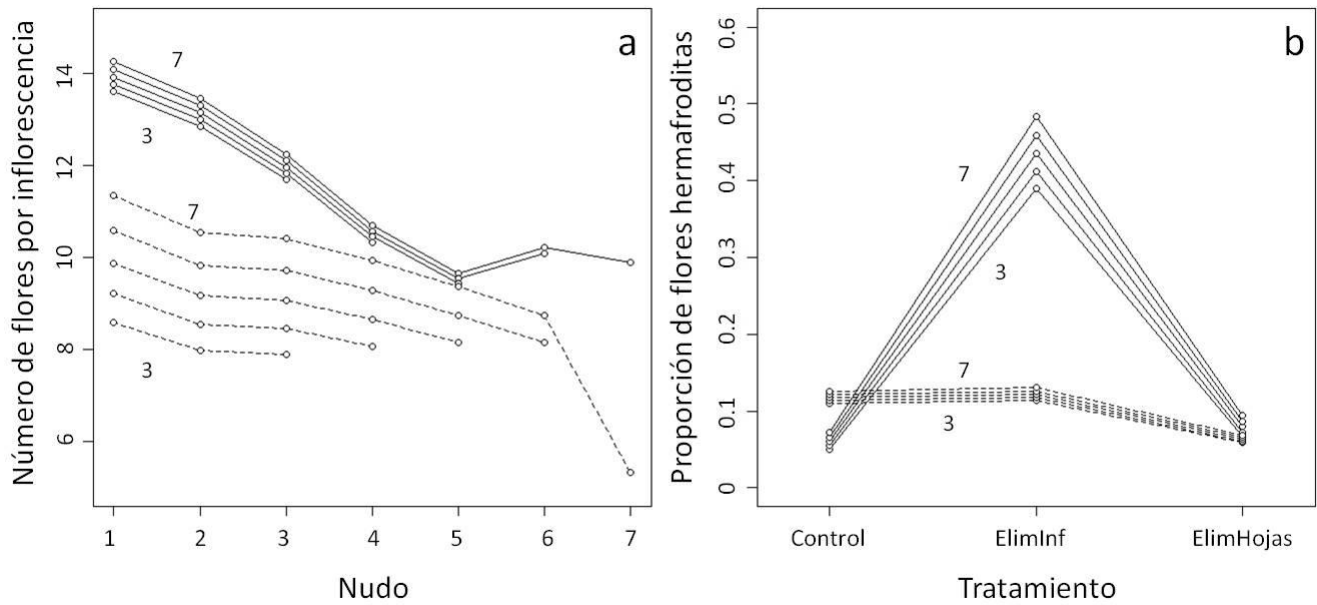


Figura 2. Resultados de los modelos lineales generalizados de efectos mixtos planteados para examinar la estructura de las ramas floríferas (a) y el efecto de la estructura de la rama florífera y la disponibilidad de recursos en la proporción de flores hermafroditas por inflorescencia (b). Las líneas continuas representan las predicciones para el año 2008 y las discontinuas para el 2009. Cada línea representa un tipo de rama de modo que los números dentro de los paneles indican el número total de nudos florales en dichas ramas.

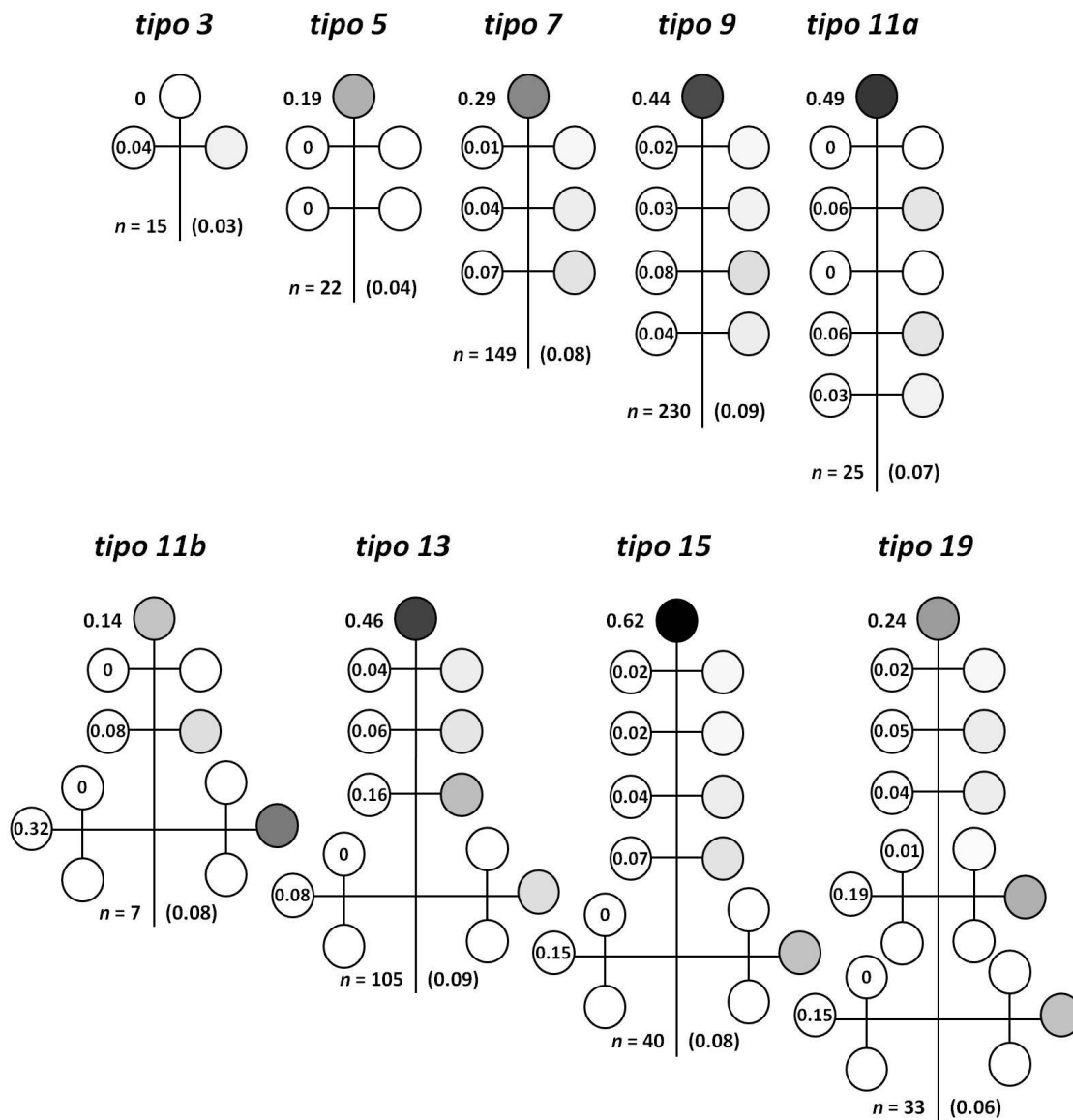


Figura 3. Resultados de los modelos lineales generalizados de efectos mixtos planteados para examinar, en las ramas Control, el efecto de la posición de la flor dentro de las inflorescencias en su sexo. Los números dentro de cada flor (fuera en el caso de las flores apicales) indican la probabilidad de encontrar una flor hermafrodita en dicha posición predicha por el mejor modelo. La escala de color representa gráficamente la misma información. La probabilidad promedio de encontrar flores hermafroditas en cada tipo de inflorescencia se indica entre paréntesis. El número de inflorescencias de cada tipo en las ramas Control también se señala.

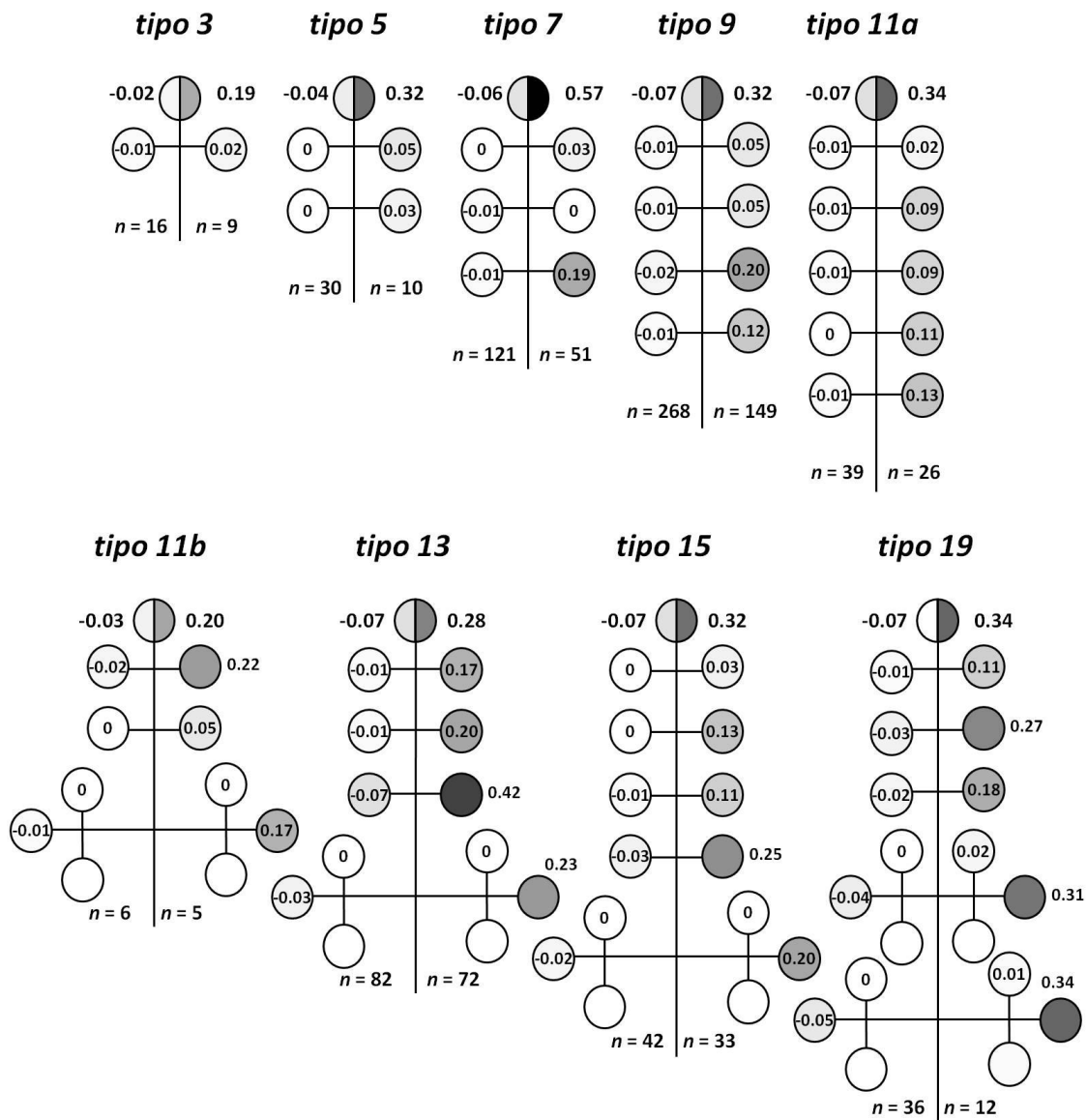


Figura 4. Resultados de los modelos lineales generalizados de efectos mixtos planteados para examinar, en las ramas en las que se manipuló experimentalmente la proporción de hojas e inflorescencias, el efecto de la posición de la flor dentro de las inflorescencias en su sexo. Los números dentro de cada flor indican la probabilidad de encontrar una flor hermafrodita en dicha posición predicha por el mejor modelo en las ramas del tratamiento ElimHojas (parte izquierda de las inflorescencias) y del tratamiento ElimInf (parte derecha). Dichas probabilidades se muestran fuera de las flores en las posiciones apicales y en aquellas posiciones con una probabilidad superior a 0.20. La escala de color representa gráficamente la misma información. El número de inflorescencias de cada tipo en las ramas de cada tratamiento también se señala.

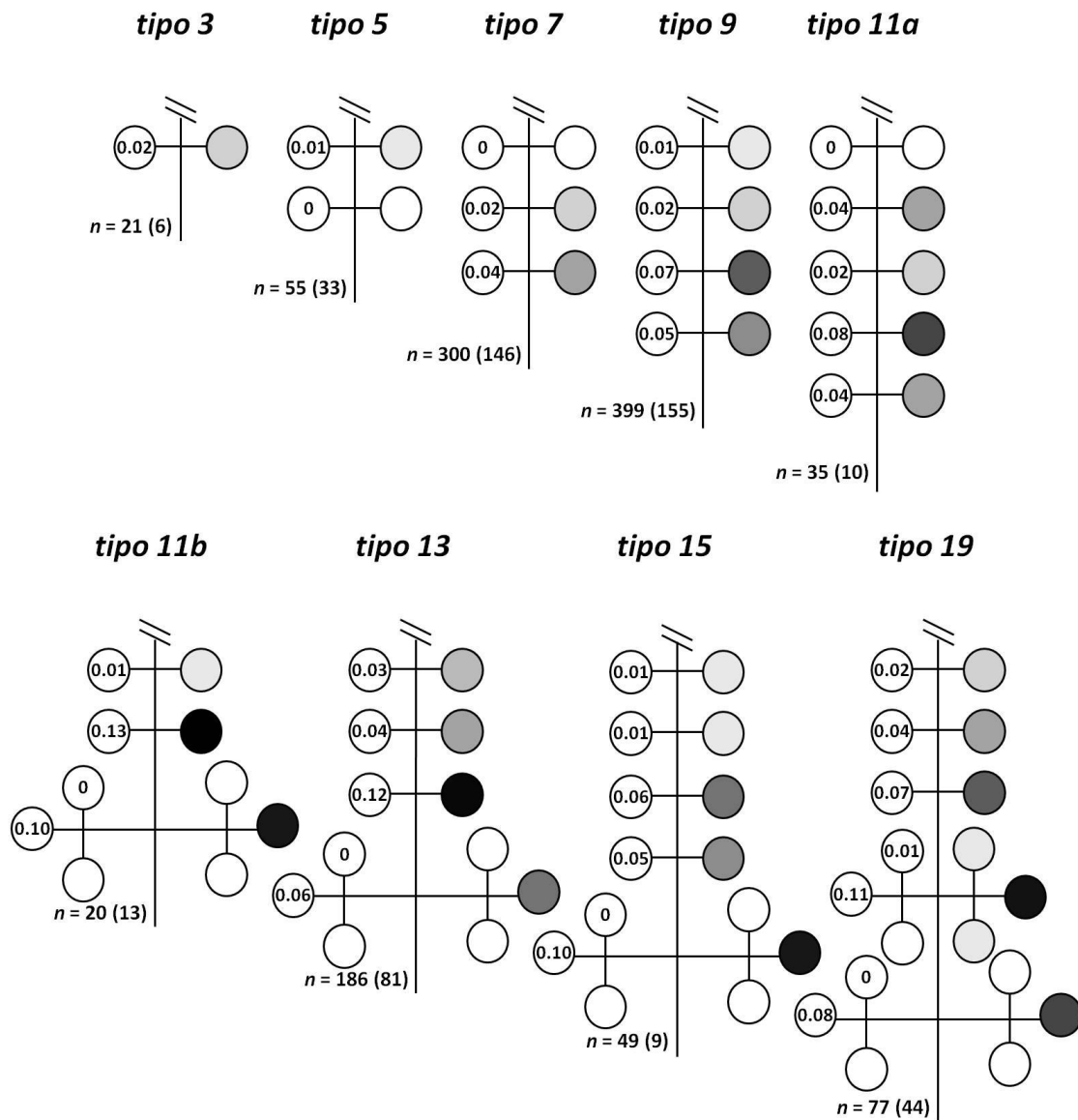


Figura 5. Resultados de los modelos lineales generalizados de efectos mixtos planteados para investigar el papel de la flor apical en la organización espacial de flores hermafroditas y masculinas en las inflorescencias de *Olea europaea*. Los números dentro de las flores indican el incremento predicho por el mejor modelo en la probabilidad de encontrar una flor hermafrodita en cada posición como consecuencia de la eliminación de la flor apical. La escala de color representa gráficamente la misma información. El número total de inflorescencias (Control más ElimAp) y el número de estas que pertenece al tratamiento ElimAp (entre paréntesis) están indicados.

Año	Individuo	Nudos florales	% flores hermafroditas	Inflorescencias										Total
				tipo 3	tipo 5	tipo 7	ipo 11a	tipo 9	tipo 13	ipo 11b	tipo 15	tipo 19	Otras	
2008	1	5.4 (3-8)	75.3 (\pm 1.3)	2	-	6	2	9	19	2	17	45	30	132
	2	5.0 (3-7)	27.6 (\pm 1.1)	3	7	41	10	73	48	7	12	6	4	211
	3	5.8 (3-8)	8.7 (\pm 0.6)	-	10	23	-	140	7	8	7	3	-	198
	4	5.3 (3-7)	30.7 (\pm 2.0)	4	6	4	1	18	8	20	18	1	5	85
	5	5.8 (3-8)	1.8 (\pm 0.4)	6	2	22	1	69	9	33	31	7	10	190
2009	6	5.3 (3-8)	8.7 (\pm 0.8)	4	4	13	9	56	68	7	23	37	11	232
	7	6.3 (3-8)	15.3 (\pm 0.7)	4	6	38	3	161	78	13	14	23	4	344
	8	4.9 (3-8)	26.1 (\pm 1.3)	8	41	117	1	39	8	-	-	-	3	217
	9	5.8 (3-8)	18.7 (\pm 1.0)	-	1	126	3	93	72	3	1	1	-	300
	10	6.2 (3-8)	2.8 (\pm 0.4)	15	18	82	1	158	23	7	1	2	1	308
				46	95	472	31	816	340	100	124	125	68	2217

Tabla 1. Número de inflorescencias muestreadas por individuo y estadísticos descriptivos para el total de nudos florales (media y rango) y el porcentaje de flores hermafroditas (media \pm error estándar). Las inflorescencias están clasificadas por su número de flores (tipo).

Efectos aleatorios	Varianza	DT			
Rama(Individuo)	0.025	0.158			
Individuo	0.011	0.107			
Efectos fijos	Estimador	ES	z-valor	Pr(> z)	
(Intercepto)	2.563	0.088	29.214	<0.0001	***
Nudo (2)	-0.057	0.032	-1.744	0.081	.
Nudo (3)	-0.151	0.033	-4.54	<0.0001	***
Nudo (4)	-0.287	0.038	-7.512	<0.0001	***
Nudo (5)	-0.389	0.046	-8.508	<0.0001	***
Nudo (6)	-0.333	0.058	-5.743	<0.0001	***
Nudo (7)	-0.365	0.067	-5.403	<0.0001	***
NudosTotales	0.012	0.014	0.834	0.404	
Año (2009)	-0.689	0.131	-5.258	<0.0001	***
Nudo (2) * Año (2009)	-0.018	0.047	-0.372	0.71	
Nudo (3) * Año (2009)	0.065	0.048	1.359	0.174	
Nudo (4) * Año (2009)	0.155	0.052	2.952	0.003	**
Nudo (5) * Año (2009)	0.198	0.059	3.323	0.001	***
Nudo (6) * Año (2009)	0.072	0.073	0.986	0.324	
Nudo (7) * Año (2009)	0.069	0.085	0.809	0.418	
NudosTotales * Año (2009)	0.058	0.02	2.881	0.004	**

Tabla 2. Resultados del mejor modelo lineal generalizado de efectos mixtos planteado para investigar la estructura de las ramas floríferas. Se muestra la varianza y la desviación típica (DT) estimadas para los efectos aleatorios. Los coeficientes estimados y su error estándar (ES), el z-valor y el p-valor [Pr(>|z|)] se muestran para los términos fijos, incluyendo las interacciones existentes entre las variables independientes. Mejor modelo: $Flores\ por\ inflorescencia = Nudo + NudosTotales + Año + Nudo:Año + NudosTotales:Año + NudoId (Rama\ Individuo)$

Efectos aleatorios	Varianza	DT			
NudoId (Rama(Individuo))	0.918	0.958			
Rama(Individuo)	1.252	1.119			
Individuo	2.87	1.694			
Efectos fijos	Estimador	ES	z-valor	Pr(> z)	
(Intercepto)	-2.176	0.924	-2.355	0.019	*
NudosTotales	-0.095	0.096	-0.994	0.32	
Tratamiento (ElimInf)	2.49	0.342	7.289	<0.0001	***
Tratamiento (ElimHojas)	0.296	0.35	0.846	0.397	
Año (2009)	0.487	1.325	0.367	0.713	
NudosTotales * Año (2009)	-0.039	0.133	-0.293	0.769	
Tratamiento (ElimInf) * Año (2009)	-2.448	0.448	-5.465	<0.0001	***
Tratamiento (ElimHojas) * Año (2009)	-0.976	0.456	-2.141	0.032	*

Tabla 3. Resultados del mejor modelo lineal generalizado de efectos mixtos planteado para investigar el efecto de la estructura de las ramas floríferas y la disponibilidad de nutrientes en la proporción de flores hermafroditas por inflorescencia. Se muestra la varianza y la desviación típica (DT) estimadas para los efectos aleatorios. Los coeficientes estimados y su error estándar (ES), el z-valor y el p-valor [Pr(>|z|)] se muestran para los términos fijos, incluyendo las interacciones existentes entre las variables independientes. Mejor modelo: $propH = NudosTotales + Año + Tratamiento + NudosTotales:Año + Tratamiento:Año + NudoId (Rama (Individuo))$

Efectos aleatorios	Varianza	DT			
NudoId (Rama(Individuo))	0.9915	0.9957			
Rama(Individuo)	2.4696	1.5715			
Individuo	5.4835	2.3417			
Efectos fijos	Estimador	ES	z-valor	Pr(> z)	
(Intercepto)	-2.3657	1.1562	-2.046	0.0408	*
PosTipo (FAp 11a)	1.9076	0.9522	2.003	0.0451	*
PosTipo (FAp 13)	2.6621	0.8844	3.01	0.0026	**
PosTipo (FAp 15)	2.329	0.9226	2.524	0.0116	*
PosTipo (FAp 19)	2.0937	0.9532	2.196	0.0281	*
PosTipo (FAp 3)	-0.0654	1.1126	-0.059	0.9531	.
PosTipo (FAp 5)	0.9441	0.9501	0.994	0.3204	.
PosTipo (FAp 7)	1.5593	0.883	1.766	0.0774	.
PosTipo (FAp 9)	2.2528	0.8738	2.578	0.0099	**
PosTipo (R1 11)	0.1007	1.002	0.101	0.9199	.
PosTipo (R1 11a)	-2.5964	1.0406	-2.495	0.0126	*
PosTipo (R1 13)	-0.3097	0.8838	-0.35	0.726	.
PosTipo (R1 15)	-2.2127	0.9361	-2.364	0.0181	*
PosTipo (R1 19)	-0.7918	0.9357	-0.846	0.3974	.
PosTipo (R1 3)	-2.6763	1.1766	-2.275	0.0229	*
PosTipo (R1 5)	-2.0242	1.0485	-1.931	0.0535	.
PosTipo (R1 7)	-2.2993	0.9173	-2.507	0.0122	*
PosTipo (R1 9)	-1.7219	0.8839	-1.948	0.0514	.
PosTipo (R2 11)	-1.8009	1.2343	-1.459	0.1445	.
PosTipo (R2 11a)	-1.0949	0.983	-1.114	0.2653	.
PosTipo (R2 13)	-0.1057	0.8837	-0.12	0.9048	.
PosTipo (R2 15)	-0.7319	0.9184	-0.797	0.4255	.
PosTipo (R2 19)	0.4484	0.9282	0.483	0.6291	.
PosTipo (R2 5)	-2.1715	1.0509	-2.066	0.0388	*
PosTipo (R2 7)	-0.7901	0.887	-0.891	0.3731	.
PosTipo (R2 9)	-1.624	0.884	-1.837	0.0662	.
PosTipo (R3L 11)	-13.4397	186.653	-0.072	0.9426	.
PosTipo (R3T 11)	-0.3117	1.0096	-0.309	0.7575	.
PosTipo (R3T 11a)	-1.0905	0.9838	-1.108	0.2677	.
PosTipo (R3T 13)	0.8489	0.8788	0.966	0.334	.

PosTipo (R3T 15)	-0.8103	0.92	-0.881	0.3785	
PosTipo (R3T 19)	-0.1317	0.9267	-0.142	0.887	
PosTipo (R3T 7)	-0.1453	0.8818	-0.165	0.8691	
PosTipo (R3T 9)	-0.0383	0.8741	-0.044	0.965	
PosTipo (R4L 13)	-4.5926	0.9496	-4.836	0	***
PosTipo (R4L 19)	-3.1625	0.936	-3.379	0.0007	***
PosTipo (R4T 11a)	-0.9418	0.9898	-0.951	0.3414	
PosTipo (R4T 13)	0.2412	0.8794	0.274	0.7838	
PosTipo (R4T 15)	0.3762	0.909	0.414	0.679	
PosTipo (R4T 19)	0.9152	0.9173	0.998	0.3184	
PosTipo (R4T 9)	-0.7682	0.8775	-0.875	0.3813	
PosTipo (R5L 15)	-4.4732	0.9459	-4.729	0	***
PosTipo (R5L 19)	-4.2685	0.9627	-4.434	0	***
PosTipo (R5T 11a)	-0.6113	0.9963	-0.613	0.5395	
PosTipo (R5T 15)	-0.0474	0.9083	-0.052	0.9584	
PosTipo (R5T 19)	1.1823	0.9184	1.287	0.198	
Tratamiento (ElimInf)	1.4608	0.297	4.919	0	***
Tratamiento (ElimHojas)	-0.3008	0.3003	-1.002	0.3166	

Tabla 4. Resultados del mejor modelo lineal generalizado de efectos mixtos planteado para investigar el efecto de la posición de las flores dentro de las inflorescencias en la organización de flores hermafroditas y masculinas. Se muestra la varianza y la desviación típica (DT) estimadas para los efectos aleatorios. Los coeficientes estimados y su error estándar (ES), el z-valor y el p-valor [$\Pr(>|z|)$] se muestran para los términos fijos, incluyendo las interacciones existentes entre las variables independientes. Mejor modelo: $Sexo = PosTipo + Tratamiento + NudoId$ (Rama (Individuo))

Efectos aleatorios	Varianza	DT			
NudoId (Rama(Individuo))	0.925	0.9618			
Rama(Individuo)	1.8131	1.3465			
Individuo	7.1661	2.677			
Efectos fijos	Estimador	ES	z-valor	Pr(> z)	
(Intercepto)	-4.8579	1.1678	-4.16	0	***
PosTipo (R1 11a)	-13.8513	1586.74	-0.009	0.993	
PosTipo (R1 13)	1.5776	0.7975	1.978	0.0479	*
PosTipo (R1 15)	0.4362	1.0268	0.425	0.6709	
PosTipo (R1 19)	1.0285	0.8728	1.178	0.2387	
PosTipo (R1 3)	0.6446	1.4089	0.458	0.6473	
PosTipo (R1 5)	-0.5595	1.1811	-0.474	0.6357	
PosTipo (R1 7)	-0.2217	0.8331	-0.266	0.7902	
PosTipo (R1 9)	0.3387	0.8038	0.421	0.6735	
PosTipo (R2 11b)	3.2294	0.934	3.458	0.0005	***
PosTipo (R2 11a)	1.7491	1.0526	1.662	0.0966	.
PosTipo (R2 13)	1.6694	0.7964	2.096	0.0361	*
PosTipo (R2 15)	0.7925	0.9875	0.803	0.4222	
PosTipo (R2 19)	1.7094	0.8617	1.984	0.0473	*
PosTipo (R2 5)	-0.0678	1.0453	-0.065	0.9483	
PosTipo (R2 7)	0.925	0.8054	1.148	0.2508	
PosTipo (R2 9)	1.0743	0.7937	1.354	0.1759	
PosTipo (R3L 11b)	-3.8724	1.6246	-2.384	0.0171	*
PosTipo (R3T 11b)	2.8753	0.89	3.231	0.0012	**
PosTipo (R3T 11a)	0.9963	1.1309	0.881	0.3783	
PosTipo (R3T 13)	3.1457	0.7874	3.995	0.0001	***
PosTipo (R3T 15)	2.0179	0.9128	2.211	0.0271	*
PosTipo (R3T 19)	2.405	0.851	2.826	0.0047	**
PosTipo (R3T 7)	1.5108	0.8021	1.884	0.0596	.
PosTipo (R3T 9)	2.3842	0.787	3.03	0.0024	**
PosTipo (R4L 13)	-2.4065	0.9149	-2.63	0.0085	**
PosTipo (R4L 19)	0.4629	0.8378	0.552	0.5806	
PosTipo (R4T 11a)	2.5667	0.989	2.595	0.0095	**
PosTipo (R4T 13)	2.0167	0.7925	2.545	0.0109	*
PosTipo (R4T 15)	2.0254	0.9242	2.192	0.0284	*

PosTipo (R4T 19)	3.0028	0.8376	3.585	0.0003	***
PosTipo (R4T 9)	1.7987	0.7898	2.277	0.0228	*
PosTipo (R5L 15)	-1.5154	1.0945	-1.385	0.1662	
PosTipo (R5L 19)	-1.7946	0.846	-2.121	0.0339	*
PosTipo (R5T 11a)	1.528	1.0529	1.451	0.1467	
PosTipo (R5T 15)	2.8613	0.8809	3.248	0.0012	**
PosTipo (R5T 19)	2.635	0.8442	3.121	0.0018	**
Tratamiento (ElimAp)	0.7203	0.2925	2.463	0.0138	*

Tabla 5. Resultados del mejor modelo lineal generalizado de efectos mixtos planteado para investigar el efecto de la flor apical en la organización espacial de flores hermafroditas y masculinas en las inflorescencias de *Olea europaea*. Se muestra la varianza y la desviación típica (DT) estimadas para los efectos aleatorios. Los coeficientes estimados y su error estándar (ES), el z-valor y el p-valor [$\Pr(>|z|)$] se muestran para los términos fijos, incluyendo las interacciones existentes entre las variables independientes. Mejor modelo: $Sexo = PosTipo + Apical + NudoId$ (Rama (Individuo))

CAPÍTULO IV

Fuentes de variación en la expresión sexual del acebuche

RESUMEN

La “teoría de la asignación sexual” señala que la variación en la expresión sexual permite a las plantas maximizar su éxito reproductor global, ya que posibilita que estas asignen recursos predominantemente a la función sexual que produce las mayores ganancias por unidad invertida. En este sentido, las plantas han de ser capaces de ajustar la inversión de recursos de manera diferencial entre las funciones femenina y la masculina, en consonancia con los cambios en sus reservas de recursos o las condiciones ambientales. En este trabajo se investigó la variación en la expresión sexual en el acebuche (*Olea europaea* L.), un árbol andromonoico, mediante modelos lineales generalizados de efectos mixtos, y a dos escalas: dentro de individuos y entre individuos. Las diferencias de expresión sexual entre diversas partes de la copa pueden deberse a la existencia de desigualdades en el ambiente lumínico que experimenta cada una, lo que puede motivar diferencias en el vigor de las ramas que producirán las inflorescencias y flores en cada sector. Las diferencias entre individuos se pueden deber, entre otras cosas, a las diferencias en la capacidad de cada planta para captar los recursos, a las diferencias en el tamaño de las plantas (*i.e.*, diferencias en el volumen de reservas que pueden destinar a reproducción) y a las diferencias en la cantidad de recursos disponibles en el medio para cada planta. En este trabajo no se encontró relación entre el ambiente lumínico que experimenta cada sector de las copas de los acebuches y la inversión reproductiva (número de inflorescencias por rama y número de flores en esas inflorescencias) o la expresión sexual (proporción de flores hermafroditas y masculinas). Sin embargo, los resultados de este trabajo resaltan la importancia de la economía de los recursos a la hora de encontrar diferencias en la expresión sexual entre individuos y entre eventos reproductivos en *O. europaea*, ya que el grado de feminidad aumentó en las plantas más grandes, en las plantas que producían hojas más eficientes a la hora de capturar luz (hojas con mayor área foliar, mayor área foliar específica y más horizontales), en las plantas que disponían de más nitrógeno y fósforo en el suelo, y en las plantas que habían hecho una menor inversión relativa en la producción de frutos en la primavera anterior.

Palabras clave: andromonoecia, ángulo foliar, área foliar, área foliar específica, inversión reproductiva, “modelo de la ventaja del tamaño”, nutrientes edáficos, sexo fenotípico, variación espacial, variación temporal.

1. INTRODUCCIÓN

Lloyd definió el “sexo fenotípico” de las plantas (del inglés “*phenotypic gender*”; Lloyd 1980a) como la inversión diferencial, por parte de las mismas, en las funciones masculina y femenina o, lo que es lo mismo, en polen y primordios seminales. Son muchas las opciones de modificación sexual en plantas (Lloyd y Bawa 1984), desde ajustes finos en especies hermafroditas hasta cambios abruptos de sexo en especies con sexualidad lábil, en las que sus individuos se pueden saltar, entre los diferentes eventos reproductivos, desde la absoluta masculinidad a la absoluta feminidad, y viceversa, (Lloyd 1980a; Policansky 1987). El ajuste sexual también ocurre en especies no hermafroditas, como en las andromonoicas (Emms 1993; Calvino y Galetto 2010), ginomonoicas (Bertin y Gwisc 2002; Wise *et al.* 2008) o monoicas (Freeman *et al.* 1981; Dorken y Barrett 2004). Según la “teoría de la asignación sexual” (del inglés “*sex allocation theory*”; Charnov 1982), esta variación en la expresión sexual permite a las plantas maximizar su éxito reproductor global ya que posibilita que apuesten, en cada momento, por la función sexual que produce las mayores ganancias por unidad invertida (Lloyd y Bawa 1984; de Jong y Klinkhamer 1994). En las últimas décadas, se ha prestado un enorme interés a la determinación de la extensión (*e.g.*, Jordano 1991, Herrera 2009), las causas (*e.g.*, Freeman *et al.* 1981; Lázaro y Méndez 2007) y el valor adaptativo (*e.g.*, de Jong y Klinkhamer 1994; Dai y Galloway 2012) de la modificación sexual en plantas.

La variabilidad sexual es el resultado de tres causas no excluyentes. En primer lugar, el componente genético juega un papel importante (Widén y Widén 1999; Dorken y Barrett 2004; Friedman y Barrett 2011). En segundo lugar, la variabilidad en la expresión sexual puede estar causada por las diferencias en tamaño o edad de las plantas. Según el “modelo de la ventaja del tamaño” (en inglés “*size-advantage model*”; Klinkhamer *et al.* 1997), las plantas más grandes deberían invertir más recursos en la función femenina, ya que un mayor tamaño implica una mayor reserva de recursos, y la producción de semillas es más costosa que la producción de polen (de Jong y Klinkhamer 1989; Cadet *et al.* 2004). En tercer y último lugar, la disponibilidad de recursos afecta, con frecuencia, al sexo fenotípico (Freeman *et al.* 1981; Klinkhamer *et al.* 1997; Cadet *et al.* 2004). Con respecto a esta última causa, se pueden encontrar diferencias en la expresión sexual de distintas plantas si existen diferencias en las condiciones ambientales que experimenta cada una, pero también si existen diferencias entre ellas en su capacidad de captar los recursos disponibles. Son muchos los estudios que han encontrado una relación directa entre la expresión sexual y el contenido hídrico del suelo (Freeman *et al.* 1981; Bertin 2007), la cantidad de nutrientes edáficos (Emms 1993; Wise *et al.* 2008), la intensidad de luz (Bertin 1982; Zimmerman 1991) o la densidad de plantas en los alrededores (Arista y Talavera 1997; Calvino y Galetto 2010). En general, estos

trabajos recogen que las condiciones de estrés causan un sesgo hacia la función masculina, que es la función considerada como más barata (Freeman *et al.* 1981). Sin embargo, hasta la fecha no se ha documentado ninguna conexión directa entre la expresión sexual y los caracteres vegetativos funcionales, pese a que está ampliamente aceptado que ha de existir una relación funcional entre el éxito reproductor de las plantas y muchos rasgos de tipo eco-fisiológico (Gratani y Bombelli 1999; Ackerly *et al.* 2000; Ackerly y Monson 2003). Por ejemplo, las plantas que producen hojas grandes, finas y horizontales capturan más luz que las plantas que producen hojas más pequeñas, más gruesas y más verticales. Así, los rasgos morfo-funcionales foliares que afectan a la asimilación de carbono pueden determinar la cantidad de recursos de los que dispone la planta para su crecimiento vegetativo y su reproducción y, por lo tanto, condicionar su éxito reproductor o *fitness* (Ackerly *et al.* 2000).

Hasta la fecha, la mayor parte de la investigación en el campo de la expresión sexual en plantas ha diseccionado los factores responsables de su variación entre individuos y/o poblaciones. Ya que las plantas parecen compuestas de unidades que se repiten, se piensa con frecuencia que estas unidades han de ser idénticas. Sin embargo, las plantas producen estas unidades en diferentes posiciones y en diferentes momentos, y ambos factores pueden causar variaciones en su fenotipo y función (Watson *et al.* 1995; Diggle 2003). Es por esto por lo que dos fuentes adicionales de variación en la expresión sexual (la variación temporal y espacial dentro de las propias plantas) se han estudiado con mucha menor intensidad. Un claro ejemplo de variación espacial en la expresión sexual se puede encontrar en la mayoría de las coníferas, ya que estas suelen producir los conos femeninos en las ramas de la parte superior de sus copas y los conos masculinos en las partes más bajas (Arista y Talavera 1997; Ne'eman *et al.* 2011). Esto es debido a que la producción de estructuras femeninas, y el futuro desarrollo de semillas, está más asegurado en aquellas ramas que son más vigorosas y que crecen en un ambiente lumínico más favorable en la parte superior de las copas, y menos en las ramas menos productivas en los sectores sombreados (Ross y Pharis 1987; Ne'eman *et al.* 2011). En cuanto a la variación temporal, la teoría predice que las plantas deberían ser capaces de ajustar su expresión sexual a lo largo de su vida, en consonancia con los cambios en sus reservas de recursos o las condiciones ambientales (Charnov 1982; Lloyd y Bawa 1984; Klinkhamer *et al.* 1997). La mayor parte de los datos que confirman esta hipótesis provienen de estudios sobre la modificación de la expresión sexual en el transcurso de un único evento reproductivo. Esta se debe a las fluctuaciones en los recursos disponibles (Lloyd 1980b) o a las variaciones en la expresión sexual del resto de plantas de la población (Brunet y Charlesworth 1995). En lo que respecta a la modificación de la expresión sexual entre diferentes eventos reproductivos, es sorprendente que la práctica totalidad de los trabajos se han realizado en un grupo

particular de especies (en inglés “*sex choosers*”) que son capaces cambiar radicalmente su sexo, de masculino a femenino, y viceversa (*e.g.*, Policansky 1987; Schlessman 1987, 1991; Sakai y Weller 1991; Zimmerman 1991). No obstante, estas especies suponen menos del 0.1% del total de las angiospermas (Schlessman 1987), de modo que todavía no existe una idea clara acerca de la magnitud de la variación de la expresión sexual entre años para la gran mayoría de especies (véase no obstante Jordano 1991; López-Almansa 2003; Lázaro y Méndez 2007).

En este trabajo se investiga la variación de la expresión sexual del acebuche (*Olea europaea* L.), una especie andromonoica. Concretamente se trató de dar respuesta a cinco preguntas: 1) ¿Se ajusta la expresión sexual del acebuche a las predicciones del “modelo de la ventaja del tamaño”? Es esperable que los acebuches más grandes presenten un sesgo hacia la feminidad, mientras que los más pequeños lo deberían de mostrar hacia la masculinidad. 2) ¿Se relacionan las diferencias en la disponibilidad de luz entre distintas partes de las partes de la copa con la asignación sexual en cada una de ellas? Cabría esperar que se produzcan menos flores, y que estas sean masculinas con más probabilidad, en las partes de la copa que reciben menos luz. 3) ¿Afectan los rasgos foliares morfo-funcionales a la expresión sexual? Es esperable que aquellos acebuches que produzcan hojas más eficientes a la hora de capturar la luz aumenten su feminidad. 4) ¿Afectan los nutrientes del suelo a la expresión sexual? Cabría esperar que se incremente la feminidad de los acebuches que crecen sobre suelos más ricos. 5) ¿Afecta la inversión reproductiva en eventos reproductivos anteriores a la expresión sexual? Es esperable que los acebuches que produzcan una gran cantidad de flores y frutos en un determinado año agoten gran parte de sus reservas de recursos para futuros eventos reproductivos y, por lo tanto, manifiesten mayor masculinidad en la primavera siguiente.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Especie y muestreo

Los acebuches (*Olea europaea* L.) son plantas leñosas, esclerófilas, de gran longevidad y andromonoicas (*i.e.*, cada planta produce, simultáneamente, flores hermafroditas y masculinas; Green 2002). Ambos tipos de flores se agrupan en panículas axilares. Las flores masculinas se originan como consecuencia del aborto del gineceo en una flor hermafrodita, en diferentes fases de su desarrollo (Uriu 1959). No existen diferencias entre ambos tipos de flores en la calidad o cantidad de polen de sus anteras (Cuevas y Polito 2004). El periodo de antesis se suele producir a mediados de la primavera y dura de dos a diez días (Griggs *et al.* 1975; Seifi 2008). La polinización

del acebuche se produce por medio del viento y, aunque la auto-polinización es posible, la fecundación cruzada se traduce en unos niveles mayores de fertilización (Cuevas 1992). El fruto es de tipo drupa, alberga una única semilla y es dispersado por aves (Rey y Alcántara 2000).

Con el fin de abarcar la mayor variación posible de la expresión sexual se eligieron ocho poblaciones de acebuche en la Península Ibérica y las Islas Canarias (Tabla 1). Estas poblaciones engloban una amplia variedad de las latitudes, alturas y ambientes en donde es posible encontrar el acebuche. Para este trabajo se escogieron un total de 10 individuos adultos por población ($n = 80$).

2.2. Mediciones del sexo fenotípico

2.2.1. *Expresión sexual dentro de individuos*

Las copas de los acebuches se dividieron en ocho sectores correspondientes a las partes superior e inferior de las cuatro orientaciones. En la primavera de 2007, justo antes del periodo de antesis, se recogieron 48 inflorescencias de cada árbol ($n = 6$ por sector). En el laboratorio se contó el número de flores por inflorescencia (nF) y se anotó el sexo de cada una de ellas. Se determinó el sexo de 32,410 flores en 2007 (6,604 masculinas y 25,806 hermafroditas). Este mismo protocolo se siguió en 2008 en los mismos 80 acebuches seleccionados el año anterior, y se determinó el sexo este año de 18,883 flores (3,501 masculinas y 15,382 hermafroditas). No obstante, no todos los acebuches florecieron en estos dos años (Tabla 1).

2.2.2. *Expresión sexual entre individuos*

Para poder describir correctamente la expresión sexual de cada planta, y así poder efectuar comparaciones entre ellas, se ha de tener en cuenta el sexo fenotípico de todas las plantas que se desean comparar (Lloyd 1980a). Por ello, para investigar la variación en el sexo fenotípico entre individuos se calculó, para cada árbol muestreado, el índice estandarizado G de feminidad fenotípica (Lloyd y Bawa 1984), usando la siguiente fórmula:

$$G_i = o_i / (o_i + p_i E)$$

donde: o_i es el número de flores que poseen primordios seminales (*i.e.*, flores hermafroditas); p_i es el número de flores que poseen polen (*i.e.*, flores hermafroditas y masculinas); y E es un factor de equivalencia que recoge la producción de estructuras masculinas y femeninas en todos los individuos estudiados. E se calculó de la siguiente manera:

$$E = \sum o_i / \sum p_i$$

Cuando se desea comparar el valor de G entre varias poblaciones o años, es recomendable calcular un único valor de E para todas las poblaciones y años (Primack y McCall 1986). De lo contrario, los valores de G pueden ser muy similares en distintas poblaciones aunque haya diferencias sustanciales entre las mismas (Dorken y Barrett 2003). En este trabajo se calculó un único valor de E para todos los árboles muestreados en todos los años de estudio ($E = 0.803$) usando para ello todas las flores en las que se determinó su sexo. Así, se calculó el valor de G para cada planta en el año 2007 (G_{07}) y en el 2008 (G_{08}). El cambio entre años en el sexo fenotípico de los acebuches que florecieron ambos años ($G_{07/08}$) se calculó como el valor absoluto de la resta entre G_{07} y G_{08} .

2.3. Mediciones de tamaño de la planta y de caracteres foliares morfo-funcionales

Para estimar el tamaño de las plantas se midió su diámetro mayor (D). Se prefirió el diámetro mayor a la altura de los árboles porque las copas de los acebuches suelen crecer en anchura pero no en altura. El muestreo de las hojas se efectuó durante el verano de 2007. Se eligieron, al azar, 20 hojas por árbol y se midió *in situ* su ángulo con respecto a la horizontal (Ang) usando un transportador de ángulos. A su vez, se recogieron al azar 30 hojas más por árbol de entre toda la copa, que se escanearon en el laboratorio. Así se pudo calcular el área foliar (LA; del inglés “*leaf area*”) a partir de las imágenes digitalizadas de las hojas usando el programa Scion Image (Scion Corp., MD). Las hojas recogidas se secaron en un horno a 65°C durante 48 h para poder estimar, a continuación, su masa seca en una balanza de precisión (Mettler Toledo, Greifensee, Suiza). Finalmente se calculó el área foliar específica (SLA; del inglés “*specific leaf area*”) como el cociente entre LA y la masa seca.

2.4. Mediciones de los nutrientes del suelo

Para calcular las concentraciones de nitrógeno total (N) y fósforo total (P) se recogieron aproximadamente 500 ml de suelo debajo de cada árbol seleccionado en este estudio. Las muestras de suelo se tomaron a una profundidad de entre 10 y 20 cm. Las muestras se secaron al aire, y se pasaron por un tamiz de 2 mm. Para la extracción de los nutrientes se agitaron 10 g de suelo tamizado en una solución de 100 ml de KCl 2 M, durante 1 h en un agitador mecánico a velocidad baja. Media hora después se centrifugó el sobrenadante durante 5 min a 3,500 rpm. A continuación se tomaron 20 ml de la suspensión y se almacenaron en un arcón congelador hasta la posterior cuantificación de los nutrientes. La medición de N y P se efectuó en un analizador automatizado Skalar San⁺⁺ (Skalar Analytical BV, Breda, Holanda).

2.5. Medición del rendimiento reproductivo en el año 2007

El rendimiento reproductivo de los árboles florecidos en el año 2007 se estimó mediante dos variables: la producción de flores (PF_{07}) y el *fruit set* (FS_{07}). Para ello, se evaluó la intensidad de floración en cada sector de cada árbol usando una escala con cuatro categorías, sobre un cuadrado de $1 \times 1 \text{ m}^2$: 0 (vegetativo, ninguna flor), 1 (baja, menos de 12 inflorescencias), 2 (media, entre 12 y 120 inflorescencias) y 3 (alta, más de 120 inflorescencias). A continuación se promedió la intensidad de floración por individuo y se multiplicó por su tamaño (D) para estimar la cantidad absoluta de flores que produjo (PF_{07}). A su vez, se marcaron 40 ramas floríferas en cada árbol ($n = 5$ por sector) en las que se contaron el número de inflorescencias (nI). A finales de agosto y principios de septiembre, antes de que se produjera la dispersión de los frutos, se contó el número de frutos maduros en las ramas marcadas. De este modo se pudo estimar la proporción de flores hermafroditas que dieron lugar a fruto (*i.e.*, el *fruit set*; FS_{07}) en cada árbol, calculando el cociente entre el número de frutos maduros en las ramas marcadas y la cantidad de flores hermafroditas estimadas en las mismas.

2.6. Análisis estadísticos

La variación de la expresión sexual en el acebuche se investigó mediante modelos lineales de efectos mixtos. El uso de este tipo de modelos se recomienda cuando los datos están agrupados, con lo que no son realmente independientes (Pinheiro y Bates 2000). Este es el caso de muestras agregadas dentro de individuos que, a su vez, están agregados en poblaciones (Cayuela *et al.* 2011). En este trabajo, cierta variabilidad aleatoria en la expresión sexual dentro de los individuos puede aparecer como consecuencia de la identidad de cada planta, mientras que la variabilidad aleatoria en el sexo fenotípico entre individuos se puede deber a que estos están agrupados en poblaciones que pueden experimentar distintas condiciones ambientales o poseer diversidades genéticas o estructuras de edad diferentes. Ya que cada acebuche se localiza en una única población, la identidad de la planta se anidó dentro de su población. En cada análisis, se compararon modelos con diferente estructura aleatoria para encontrar la estructura óptima de dicho componente. Para ello se usó un procedimiento de estimación basado en la máxima verosimilitud restringida (REML, del inglés “*restricted maximum likelihood*”; Zuur *et al.* 2009). Una vez se encontró la estructura óptima del componente aleatorio, se comparó una batería de modelos con diferente estructura en el componente fijo. En este caso, los modelos ajustados se compararon mediante un procedimiento basado en la máxima verosimilitud (ML, del inglés “*maximum likelihood*”) y se ordenaron jerárquicamente usando el criterio de información de Akaike (AIC, del inglés “*Akaike’s Information*

Criterion”). El modelo final se ajustó mediante una estimación de tipo REML. Ya que los árboles que producían flores difirieron entre años en cada población, especialmente en aquellas poblaciones con una proporción de árboles florecidos baja (Tabla 1), se ajustaron modelos independientes para cada año de estudio. Todos los modelos mixtos se ajustaron usando el paquete “lme4” (Bates *et al.* 2011) en R 2.13 (<http://www.rproject.org>).

2.6.1. Variabilidad dentro de individuos

Se investigó la variación en la proporción de flores hermafroditas ($propH$) entre los diferentes sectores de la copa y su relación con la inversión reproductiva en estos, i.e, el número de inflorescencias en sus ramas (nI) y el número de flores en esas inflorescencias (nF). Con este análisis se pretendía evaluar si la proporción de flores hermafroditas aumentaba, decrecía o no variaba si las diferentes partes de la copa producían más inflorescencias en sus ramas y/o más flores en sus inflorescencias. Para ello, en primer lugar se comparó la proporción de flores hermafroditas en los diferentes sectores de la copa. Se compararon diferentes modelos lineales generalizados de efectos mixtos con una distribución de errores de tipo *binomial* y una función de vínculo de tipo *logit*. El modelo más complejo se formuló de la siguiente manera:

$$propH = Orientación + Altura + Orientación \times Altura + Planta (Población)$$

donde: $propH$ es una variable respuesta formada por dos vectores que especifican el número de flores hermafroditas y el número de flores masculina en cada inflorescencia (para más detalles véase Crawley 2007); *Orientación* es un factor con cuatro niveles que especifica hacia donde está orientada cada parte de la copa (norte, este, sur y oeste); *Altura* es un factor con dos niveles que especifica si se trata de la parte superior o la inferior de cada orientación; y *Planta (Población)* es el término aleatorio que especifica el efecto de cada planta anidada dentro de cada una de las ocho poblaciones estudiadas.

Después se examinaron las diferencias en la inversión reproductiva entre las diferentes partes de la copa. Se compararon diferentes modelos lineales generalizados de efectos mixtos con una distribución de errores de tipo *poisson* y una función de vínculo de tipo *log*. Los modelos más complejos se formularon con la misma estructura que el modelo descrito con anterioridad, pero cambiando la variable respuesta por el número de flores por inflorescencia (nF) y el número de inflorescencias por rama (nI).

2.6.2. Variabilidad entre individuos

Se emplearon modelos lineales de efectos mixtos para identificar aquellas variables que tuvieron un efecto significativo sobre el índice estandarizado G de feminidad fenotípica de los acebuches estudiados. El modelo más complejo implementado para predecir G se formuló de la siguiente manera:

$$G_i = N + P + D + LA + SLA + Ang + Población$$

donde: G_i es el índice estandarizado G de feminidad fenotípica de cada árbol; N y P son la concentración, en el suelo debajo de cada acebuche, de nitrógeno total y de fósforo total, respectivamente; D es el diámetro mayor de cada copa; LA , SLA y Ang son el promedio por individuos de su área foliar, área foliar específica y ángulo foliar con respecto a la horizontal; y $Población$ es el término aleatorio que especifica el efecto de cada población. Por los motivos explicados anteriormente, se propuso un modelo independiente para cada año ($G_i = G_{07}$ o G_{08} , en función del año). Para evaluar si la inversión reproductiva en años anteriores afecta al sexo fenotípico de los acebuches se incluyeron en el modelo del año 2008 las variables *fruit set* (FS_{07}) y producción de flores (PF_{07}), como variables de efectos fijos. A su vez, se planteó un tercer modelo para investigar los factores responsables de la variación interanual de G ($G_i = G_{07/08}$). En este último modelo sólo se incluyeron aquellos acebuches que florecieron los dos años. Para los tres modelos se evaluó la colinealidad entre las variables independientes mediante el cálculo de la tolerancia, el índice de condición y el factor de inflación de la varianza de cada variable independiente. También se calculó el coeficiente de correlación de Pearson entre los valores observados y los predichos por los modelos, para evaluar la bondad de ajuste de los mismos (González *et al.* 2010). La contribución relativa de cada variable significativa en los tres modelos se evaluó mediante la partición jerárquica de la varianza del conjunto de variables independientes en los modelos (Chevan y Sutherland 1991) usando el paquete “hier.part” (Walsh y McNally 2009) en R 2.13.

3. RESULTADOS

3.1. Variabilidad dentro de individuos

La proporción de flores hermafroditas y la inversión reproductiva (*i.e.*, la cantidad de inflorescencias por rama y la cantidad de flores por inflorescencia) fue heterogénea dentro de las copas de los acebuches (Tabla 2; Figura 1). No obstante, no hubo relación entre la feminidad y la

inversión reproductiva en ningún sector (Tabla 2; Figura 1). La independencia entre el sexo fenotípico y la inversión reproductiva fue particularmente aparente en la orientación sur (año 2007) ya que, aunque la proporción de flores hermafroditas fue similar en las partes superior e inferior de esta orientación, en la parte superior se produjeron significativamente más inflorescencias con más flores que en la parte superior (Tabla 2; Figura 1).

3.2. Variabilidad entre individuos

Los valores del índice estandarizado G de feminidad fenotípica oscilaron entre 0.158 y 0.551 en 2007 y entre 0.185 y 0.555 en 2008, aunque el 75% de los acebuches mostraron valores de G comprendidos entre 0.45 y 0.55 (Figura 2). La mayor parte de los acebuches que florecieron ambos años no mostraron variaciones significativas en su G (Figura 3). Las variaciones interanuales más amplias se detectaron en acebuches que presentaban un sesgo hacia la masculinidad ($G < 0.05$; Figura 3).

3.3. Factores que afectan al sexo fenotípico

3.3.1. Sexo fenotípico en el año 2007

La feminidad de los acebuches se relacionó con tamaños de planta (D) mayores y con valores altos en la concentración de fósforo en el suelo (P), área foliar (LA) y área foliar específica (SLA), mientras que la masculinidad se relacionó con ángulos de las hojas (Ang) más verticales (Tabla 3). Según la partición jerárquica de la varianza en este modelo, la contribución relativa de los caracteres foliares morfo-funcionales fue del 64% (SLA = 51%, LA = 9% y Ang = 4%; Tabla 3). Las contribuciones relativas del tamaño de la planta (D) y de los nutrientes del suelo (P) fueron del 34% y del 2%, respectivamente (Tabla 3).

3.3.2. Sexo fenotípico en el año 2008

La feminidad de los acebuches se relacionó esta año también con los valores altos de concentración de fósforo en el suelo (P), área foliar (LA) y área foliar específica (SLA; Tabla 3). Además, las concentraciones altas de nitrógeno en el suelo (N) estuvieron relacionadas con la feminidad de los acebuches (Tabla 3). Las contribuciones relativas en el modelo final de los caracteres foliares morfo-funcionales y de los nutrientes del suelo fueron del 22% (SLA = 17% y LA = 5%), y del 18% (N = 11% y P = 7%), respectivamente (Tabla 3). La inversión reproductiva del año anterior tuvo efectos opuestos en función de la variable que se considerara. Los valores altos de producción de flores (PF_{07}) se relacionaron con la feminidad, mientras que los *fruit set* (FS_{07}) elevados se

relacionaron con la masculinidad (Tabla 3). Las contribuciones en el modelo final de PF₀₇ y de FS₀₇ fueron del 50% y del 10%, respectivamente (Tabla 3).

3.3.3. Variación interanual en el sexo fenotípico

Los acebuches más pequeños y los acebuches que produjeron hojas más pequeñas presentaron las variaciones interanuales de G más amplias (Tabla 3). Según la partición jerárquica de la varianza en este modelo, las contribuciones relativas del tamaño de los árboles (D) y del área foliar (LA) fueron del 88% y del 12%, respectivamente (Tabla 3).

4. DISCUSIÓN

Los resultados de este trabajo constatan empíricamente que el funcionamiento reproductivo de las plantas está directamente relacionado con determinados caracteres morfo-funcionales. En *Olea europaea* L., gran parte de la variación observada entre individuos en la expresión sexual se debió a la existencia de diferencias entre los mismos en sus rasgos morfo-funcionales foliares responsables de la canalización de la luz (Tabla 3). Estos rasgos foliares explicaron el 64% de la variación detectada en la expresión sexual en el primer año, y el 22% en el segundo (Tabla 3). El vínculo entre caracteres vegetativos y eficacia biológica es un aspecto central en ecología y evolución (Ackerly *et al.* 2000; Ackerly y Monson 2003; Geber y Griffen 2003; Violle *et al.* 2007). La expresión diferencial en rasgos fenotípicos concretos motiva diferencias entre plantas en su funcionamiento (Ackerly 2003). Dichos caracteres vegetativos son los responsables directos de la adquisición de recursos (luz, CO₂, agua y nutrientes) y de la regulación de las condiciones internas que modulan el metabolismo (*e.g.*, temperatura o el potencial hídrico), por lo que, finalmente, determinan las posibilidades de crecimiento vegetativo y supervivencia (Gratani y Bombelli 1999; Brodersen y Vogelmann 2007; van Zanten *et al.* 2010). Como consecuencia de esta vinculación funcional entre la expresión de determinados rasgos fenotípicos y el funcionamiento vegetativo de las plantas, se asume, aunque no se haya comprobado empíricamente, que esos mismos rasgos han de influir sobre el proceso reproductivo (tanto en la expresión sexual como en el rendimiento reproductivo). La consonancia encontrada en este trabajo entre fenotipos foliares que permiten una canalización de energía más eficaz (*i.e.*, hojas más grandes, más horizontales y con mayor SLA) y la preponderancia de flores hermafroditas (Tabla 3), y entre fenotipos que canalizan la energía de manera más limitada (*i.e.*, hojas pequeñas, más verticales y con menor SLA) y la preponderancia de

flores masculinas (Tabla 3), corrobora la existencia de un vínculo funcional entre la expresión sexual de cada individuo y sus rasgos morfológicos foliares vinculados a la captación de luz.

Por otra parte, los acebuches de mayor tamaño presentaron un sesgo hacia la feminidad, mientras que los acebuches de menor tamaño lo presentaron hacia la masculinidad (Tabla 3). Estos resultados apoyan la “hipótesis de la ventaja del tamaño” (del inglés “*size-advantage hypothesis*”; Klinkhamer *et al.* 1997). En el primer año, más de la tercera parte de la variabilidad encontrada en el sexo fenotípico entre individuos se atribuyó, en exclusiva, a su tamaño (Tabla 3). En el caso del segundo año de estudio, la mitad de dicha variabilidad se atribuyó a la producción de flores, que se calcula como una función del tamaño de la planta (Tabla 3). Se asume, con frecuencia, que la disponibilidad de recursos es más limitante para la producción de frutos que la de polen (de Jong y Klinkhamer 1989; Cadet *et al.* 2004). Este razonamiento explica por qué las plantas más grandes suelen incrementar su feminidad, ya que son las que disponen de mayores reservas (Charnov 1982; Lloyd y Bawa 1984; de Jong y Klinkhamer 1994; Klinkhamer *et al.* 1997). La diferencia en la cantidad de recursos necesarios para producir polen o frutos es especialmente notable en *O. europaea*, puesto que esta especie produce frutos con un elevado contenido en ácidos grasos. No obstante, el tipo de polinización y la forma de la copa pueden provocar que, en las tallas mayores, el incremento en la masculinidad sea más productivo que el de la feminidad. Estudios teóricos y observacionales demuestran que, para las especies entomófilas, es más productivo incrementar su feminidad a medida que aumentan su tamaño (Bickel y Freeman 1993; Klinkhamer *et al.* 1997). Sin embargo, en especies polinizadas por el viento, la función sexual que proporciona mayores ganancias, en términos de eficacia biológica, en las tallas mayores difiere según el tipo de copa (Bickel y Freeman 1993): para las especies anemófilas que presentan copas esféricas, como *O. europaea*, parece que es más rentable incrementar la función femenina, mientras que para las anemófilas de copas cilíndricas, la masculina. Esto último se debe a que la dispersión de polen se incrementa desproporcionadamente con el crecimiento en altura (Bickel y Freeman 1993).

No obstante, el crecimiento en tamaño tiene otras consecuencias. Por ejemplo, a medida que los árboles aumentan su volumen se incrementan las diferencias en los ambientes lumínicos entre las distintas partes de sus copas (Granado-Yela *et al.* 2011). Esto repercute diferencialmente en el vigor de sus ramas lo que, en última instancia, puede fomentar la aparición de divergencias espaciales en la cantidad de recursos que se destinan para la reproducción (y para cada función sexual) entre las diferentes partes de la planta (Arista y Talavera 1997; Ne'eman *et al.* 2011). Si en el acebuche, la cantidad de recursos disponibles para la reproducción se relaciona con la productividad del ambiente lumínico donde se desarrollan las distintas ramas de los árboles, cabría

esperar que el número de inflorescencias producidas las ramas, así como el número de flores de dichas inflorescencias y el porcentaje de estas que son hermafroditas, decreciera desde las ramas que se producen en el sector de la copa que recibe más luz (*i.e.*, el sector superior de la cara sur de la copa) hasta el sector más sombreado (*i.e.*, el sector inferior de la cara norte). Sin embargo, en este trabajo no se encontró dicho patrón (Figura 1; Tabla 2), y la expresión sexual no varió dentro de las copas en consonancia con la inversión en inflorescencias. De hecho, no se encontró ninguna vinculación entre el ambiente lumínico y la inversión en número de flores o la proporción de estas que fueron hermafroditas (Figura 1; Tabla 2).

Los resultados de este estudio también indican que la variación en la disponibilidad de nitrógeno y fósforo en el suelo se relacionó con la variación de la feminidad en el acebuche (Tabla 3), en consonancia con otros trabajos que señalan que la expresión sexual está limitada por la disponibilidad de nutrientes edáficos (Emms 1993; Fernández-Escobar *et al.* 2008; Wise *et al.* 2008; Burkle e Irwin 2009). Además, la producción de frutos (*i.e.*, el *fruit set*) en el año 2007 se relacionó positivamente con la masculinidad en el 2008 (Tabla 3), probablemente porque la inversión en la maduración de frutos en un determinado evento reproductivo, especialmente si son de naturaleza grasa, puede mermar los fondos de recursos disponibles para futuros eventos reproductivos y, por lo tanto, regular la expresión sexual (Delesalle 1989; Lázaro y Méndez 2007).

El grado de variación del sexo fenotípico entre acebuches, en los dos años de estudio, fue muy inferior al descrito para otras especies leñosas y anemófilas (Smith 1981; Allison 1991; Jordano 1991), en las que se suelen encontrar individuos con sexos fenotípicos intermedios e individuos funcionalmente masculinos o femeninos (no obstante véase Lázaro y Méndez 2007). Si bien la mayoría de los acebuches estudiados presentaron sexos fenotípicos similares y entorno a un valor intermedio (Figuras 2 y 3), se detectó una pequeña porción de acebuches que presentaban un cierto sesgo hacia la masculinidad (Figura 2). A su vez, el cambio inter-anual en el sexo fenotípico fue escaso para gran parte de los árboles analizados (Figura 3), en consonancia con lo descrito para otras especies leñosas (*e.g.*, Allison 1991; Jordano 1991; López-Almansa *et al.* 2003; Lázaro y Méndez 2007). Sin embargo, se encontró que los individuos que presentaban mayor sesgo hacia la masculinidad eran los que exhibían los cambios inter-anales más amplios (Figura 3). Los modelos de predicción del cambio inter-anual en el sexo fenotípico indicaron que la extensión de este estaba ligada al tamaño de la planta y a los rasgos foliares, lo que sugiere que el compromiso en la asignación entre crecimiento vegetativo o reproducción es más relevante en los acebuches más pequeños, probablemente por sus acopios de recursos más limitados y porque disponen de menor capacidad para capturar nuevos recursos (Kang 2007).

5. CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo enfatizan la relevancia de la economía de los recursos en la expresión sexual de *Olea europaea* L., ya que la variación en el sexo fenotípico entre individuos se debió a las diferencias entre los mismos en la eficacia de la captación de luz, en el volumen de reservas interno, en la disponibilidad de nutrientes edáficos y en la inversión de recursos en otros eventos reproductivos. Dos hipótesis, no excluyentes, tratan de explicar la ventaja evolutiva de la producción de flores masculinas en las especies andromonoicas (Vallejo-Marín y Rausher 2007a y b). La “hipótesis del aumento de la donación de polen” (del inglés, “*increased pollen donation hypothesis*”) sostiene que las flores masculinas son más eficaces a la hora de donar polen. Sin embargo, Cuevas y Polito (2004) no encontraron diferencias en la cantidad o calidad del polen de las flores hermafroditas y las masculinas de *O. europaea*. Por su parte, la “hipótesis de la redistribución de recursos” (del inglés, “*resource reallocation hypothesis*”) postula que la producción de flores masculinas permite la redistribución de los recursos que se destinarían a sus estructuras femeninas hacia otras facetas que puedan incrementar, en términos generales, su eficacia biológica. En este sentido, Uriu (1959) proporcionó las primeras evidencias de que, en *O. europaea*, la existencia de flores masculinas se debe a la ausencia de recursos, ya que comprobó que al eliminar inflorescencias en las ramas de *O. europaea*, se incrementaba la proporción de flores hermafroditas en las inflorescencias restantes como consecuencia de la redistribución de los mismos recursos entre menos flores. No obstante, la mayor parte de los individuos analizados en este trabajo mostraron sexos fenotípicos similares y en torno a un valor medio, lo que sugiere que el ajuste en la inversión reproductiva en la función femenina puede ser diferencialmente importante en las fases subsiguientes de formación de frutos y semillas, como propone Lloyd (1980b).

6. BIBLIOGRAFÍA

- Ackerly DD, Dudley SA, Sultan SE, Schmitt J, Coleman JS, Linder CR, Sandquist DR, Geber MA, Evans AS, Dawson TE, Lachowicz MJ (2000) The evolution of plant ecophysiological traits: recent advances and future directions. *Bioscience* 50:979-995
- Ackerly DD (2003) Community assembly, niche conservatism, and adaptive evolution in changing environments. *International Journal of Plant Sciences* 164:S165-S184
- Ackerly DD, Monson RK (2003) Waking the sleeping giant: the evolutionary foundations of plant function. *International Journal of Plant Sciences* 164:S1-S6

- Arista M, Talavera, S (1997) Gender expression in *Abies pinsapo* Boiss, a Mediterranean fir. *Annals of Botany* 79:337-342
- Bates, D., Maechler, M., and Dai, B. (2011) Linear-mixed-effects models using S4 classes. R package version 2.13.2
- Bertin RI (1982) The ecology of sex expression in red buckeye. *Ecology*, 63:445-456
- Bertin RI (2007) Sex allocation in *Carex* (Cyperaceae): effects of light, water, and nutrients. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique* 85:377-384.
- Bertin RI, Gwise GM (2002) Floral sex ratios and gynomonoeicy in *Solidago* (Asteraceae). *Biological Journal of the Linnean Society* 77:413-422
- Brodersen CR, Vogelmann TC (2007) Do epidermal lens cells facilitate the absorptance of diffuse light? *American Journal of Botany* 94:1061-1066
- Brunet J, Charlesworth D (1995) Floral sex allocation in sequentially blooming plants. *Evolution* 49:70-79
- Bickel AM, Freeman DC (1993) Effects of pollen vector and plant geometry on floral sex ratio in monoecious plants. *American Midland Naturalist* 130:239-247
- Burkle LA, Irwin RE (2009) The effects of nutrient addition on floral characters and pollination in two subalpine plants, *Ipomopsis aggregata* and *Linum lewisii*. *Plant Ecology* 203:83-98
- Cadet C, Metz JAJ, Klinkhamer PGL (2004) Size and the not-so-single sex: disentangling the effects of size and budget on sex allocation in hermaphrodites. *American Naturalist* 164:779-792
- Calvino A, Galetto, L (2010) Variation in sexual expression in relation to plant height and local density in the andromonoecious shrub *Caesalpinia gilliesii* (Fabaceae). *Plant Ecology* 209:37-45
- Cayuela L, Ruiz-Arriaga S, Ozers CP (2011) Honeybees increase fruit set in native plant species important for wildlife conservation. *Environmental Management* 48:910-919
- Charnov EL (1982) *The theory of sex allocation*. Princeton University Press, Princeton, Nueva Jersey, EE.UU. 355 Pags

- Chevan A, Sutherland M (1991) Hierarchical partitioning. *American Statistician* 45: 90-96
- Crawley, M.J. (2007) *The R Book*. Wiley, London, Reino Unido. 950 pags
- Cuevas J (1992) Incompatibilidad polen-pistilo, procesos gaméticos y frutificación de cultivares de olivo (*Olea europaea* L.). Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba, España
- Cuevas J, Polito VS (2004) The role of staminate flowers in the breeding system of *Olea europaea* (Oleaceae): an andromonoecious, wind-pollinated taxon. *Annals of Botany* 93:547-553
- Dai C, Galloway LF (2012) Male flowers are better fathers than hermaphroditic flowers in andromonoecious *Passiflora incarnata*. *New Phytologist* 193:787-796
- de Casas RR, Vargas P, Pérez-Corona E, Manrique E, García-Verdugo C, Balaguer L (2011) Sun and shade leaves of *Olea europaea* respond differently to plant size, light availability and genetic variation. *Functional Ecology* 25:802-812
- de Jong TJ, Klinkhamer PGL (1989) Size-dependency of sex-allocation in hermaphroditic, monocarpic plants. *Functional Ecology* 3:201-206
- de Jong TJ, Klinkhamer PGL (1994) Plant size and reproductive success through female and male function. *Journal of Ecology* 82:399-402
- Delesalle VA (1989) Year-to-year changes in phenotypic gender in a monoecious cucurbit, *Apodanthera undulata*. *American Journal of Botany* 76:30-39
- Dorken ME, Barrett SCH (2003) Gender plasticity in *Sagittaria sagittifolia* (Alismataceae), a monoecious aquatic species. *Plant Systematics and Evolution* 237: 99-106
- Dorken, ME, Barrett SCH (2004) Phenotypic plasticity of vegetative and reproductive traits in monoecious and dioecious populations of *Sagittaria latifolia* (Alismataceae): a clonal aquatic plant. *Journal of Ecology* 92:32-44
- Emms SK (1993) Andromonoecy in *Zigadenus paniculatus* (Liliaceae): spatial and temporal patterns of sex allocation. *American Journal of Botany* 80:914-923
- Fernández-Escobar R, Ortiz-Urquiza A, Prado M, Rapoport HF (2008) Nitrogen status influence on olive tree flower quality and ovule longevity. *Environmental and Experimental Botany* 64:113-119

- Freeman DC, McArthur ED, Harper KT, Blauer AC (1981) Influence of environment on the floral sex ratio of monoecious plants. *Evolution* 35:194-197
- Friedman J, Barrett SCH (2011) Genetic and environmental control of temporal and size-dependent sex allocation in a wind-pollinated plant. *Evolution* 65:2061-2074
- García-Verdugo C, Granado-Yela C, Manrique E, de Casas RR, Balaguer L (2009) Phenotypic plasticity and integration across the canopy of *Olea europaea* subsp. *guanchica* (Oleaceae) in populations with different wind exposures. *American Journal of Botany* 96:1454-1461
- García-Verdugo C, Méndez M, Velázquez-Rosas N, Balaguer L (2010) Contrasting patterns of morphological and physiological differentiation across insular environments: phenotypic variation and heritability of light-related traits in *Olea europaea*. *Oecologia* 164:647-655
- Geber MA, Griffen LR (2003) Inheritance and natural selection on functional traits. *International Journal of Plant Sciences* 164:S21-S42
- González E, Muller E, Comin FA, González-Sanchís M (2010) Leaf nutrient concentration as an indicator of *Populus* and *Tamarix* response to flooding. *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics* 12: 257-266
- Granado-Yela C, García-Verdugo C, Carrillo K, De Casas RR, Kleczkowski LA, Balaguer L (2011) Temporal matching among diurnal photosynthetic patterns within the crown of the evergreen sclerophyll *Olea europaea* L. *Plant Cell and Environment* 34:800-810
- Gratani L, Bombelli A (1999) Leaf anatomy, inclination, and gas exchange relationships in evergreen sclerophyllous and drought semideciduous shrub species. *Photosynthetica* 37:573-585
- Green PS (2002) A revision of *Olea* L. (Oleaceae). *Kew Bulletin* 57:91-140
- Griggs WH, Hartmann HT, Bradley MV, Iwakiri BT, Whisler JE (1975) Olive pollination in California. California Agricultural Experiment Station, California, EE.UU. Volumen 869. 49 pags
- Hendrickx J. (2010) perturb: Tools for evaluating collinearity. R package version 2.04
- Herrera CM (2009) Multiplicity in unity: plant subindividual variation and interactions with animals. University Of Chicago Press, Chicago, EE.UU. 437 pags

- Jordano P (1991) Gender variation and expression of monoecy in *Juniperus phoenicea* (L.) (Cupressaceae). *Botanical Gazette* 152:476-485
- 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
- Klinkhamer PGL, deJong TJ, Metz H (1997) Sex and size in cosexual plants. *Trends in Ecology & Evolution* 12:260-265
- Korpelainen H (1998) Labile sex expression in plants. *Biological Reviews* 73:157-180
- Lázaro A, Méndez M (2007) Variation in sexual expression in the monoecious shrub *Buxus balearica* at different scales. *Plant Biology* 9:736-744
- Lloyd DG (1980a) Sexual strategies in plants. III. A quantitative method for describing the gender of plants. *New Zealand Journal of Botany* 18: 103-108
- Lloyd DG (1980b) Sexual strategies in plants. I. An hypothesis of sexual adjustment of maternal investment during one reproductive season. *New Phytologist* 86:69-79
- Lloyd DG, Bawa KS (1984) Modification of the gender of seed plants in varying conditions. *Evolutionary Biology* 17: 255-338.
- López-Almansa JC, Pannell JR, Gil L (2003) Female sterility in *Ulmus minor* (Ulmaceae): a hypothesis invoking the cost of sex in a clonal plant. *American Journal of Botany* 90:603-609
- Ne'eman G, Goubitz S, Werger MJA, Shmida A (2011) Relationships between tree size, crown shape, gender segregation and sex allocation in *Pinus halepensis*, a Mediterranean pine tree. *Annals of Botany* 108:197-206
- Pinheiro J.C. and Bates D.M. 2000. *Mixed effects models in S and S-Plus*. Springer, Berlín, Alemania. 528 pags
- Policansky D (1987) Sex choice and reproductive costs in jack-in-the-pulpit. *Bioscience* 37:476-481
- Primack RB, McCall C (1986) Gender variation in a red maple population (*Acer rubrum*; Aceraceae): a seven-year study of a 'polygamodioecious' species. *American Journal of Botany* 73: 1239-1248

- Rey PJ, Alcántara JM (2000) Recruitment dynamics of a fleshy-fruited plant (*Olea europaea*): connecting patterns of seed dispersal to seedling establishment. *Journal of Ecology* 88: 622-633
- Ross SD, Pharis RP (1987) Control of sex expression in conifers. *Plant Growth Regulation* 6:37-60
- Sakai AK, Weller SG (1991) Ecological aspects of sex expression in subdioecious *Schiedea globosa* (Caryophyllaceae). *American Journal of Botany* 78:1280-1288
- Schlessman MA (1987) Gender modification in North American Ginseng. *Bioscience* 37:469-475
- Schlessman MA (1991) Size, gender, and sex change in dwarf ginseng, *Panax trifolium* (Araliaceae). *Oecologia* 87:588-595
- Uriu K (1959) Periods of pistil abortion in the development of the olive flower. *Proceeding of the American Society for Horticultural Science* 73:194-202
- Vallejo-Marín M, Rausher MD (2007a) Selection through female fitness helps to explain the maintenance of male flowers. *American Naturalist* 169:563-568
- Vallejo-Marín M, Rausher MD (2007b) The role of male flowers in andromonoecious species: energetic costs and siring success in *Solanum carolinense* L. *Evolution* 61:404-412
- van Zanten M, Pons TL, Janssen JAM, Voisenek L, Peeters AJM (2010) On the Relevance and Control of Leaf Angle. *Critical Reviews in Plant Sciences* 29:300-316
- Violle C, Navas ML, Vile D, Kazakou E, Fortunel C, Hummel I, Garnier E (2007) Let the concept of trait be functional! *Oikos* 116:882-892
- Walsh C, McNally R (2009) hier.part: Hierarchical Partitioning. R package version 1.0-3
- Weiner J, Thomas SC (1986) Size variability and competition in plant monocultures. *Oikos* 47:211-222
- Weiner J, Campbell LG, Pino J, Echarte L (2009) The allometry of reproduction within plant populations. *Journal of Ecology* 97:1220-1233
- Widén M, Widén B (1999) Sex expression in the clonal gynodioecious herb *Glechoma hederacea* (Lamiaceae). *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique* 77:1689-1698

- Wise MJ, Coffey LE, Abrahamson WG (2008) Nutrient stress and gall flies interact to affect floral-sex ratio in gynomonoeious *Solidago altissima* (Asteraceae). *American Journal of Botany* 95:1233-1239
- Yampolsky C, Yampolsky . (1922) Distribution of sex forms in the phanerogamic flora. *Bibliotheca Genetica*, 3:1-62
- Zimmerman JK (1991) Ecological correlates of labile sex expression in the orchid *Catasetum viridiflavum*. *Ecology* 72:597-608
- Zuur AF, Ieno EN, Walker N, Saveliev AA, Smith GM (2009) *Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R*. Springer, Nueva York, EE.UU. 574 pags

7. FIGURAS Y TABLAS

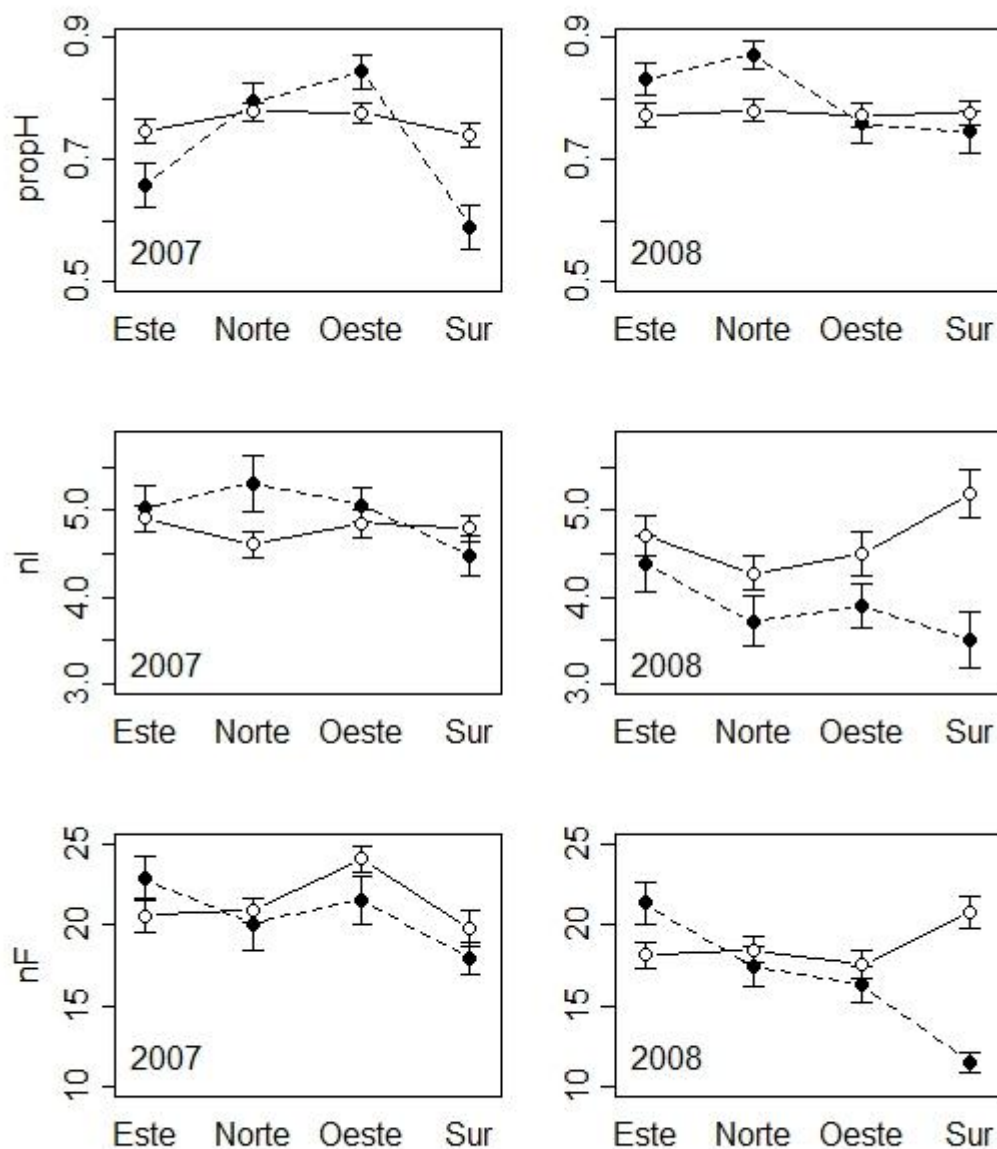


Figura 1. Valores observados (media \pm error estándar) en la proporción de flores hermafroditas (propH), el número de inflorescencias por rama (nI) el número de flores por inflorescencia (nF) en las cuatro orientaciones de las copas. Los círculos vacíos y rellenos representan, respectivamente, las partes superior e inferior en cada orientación.

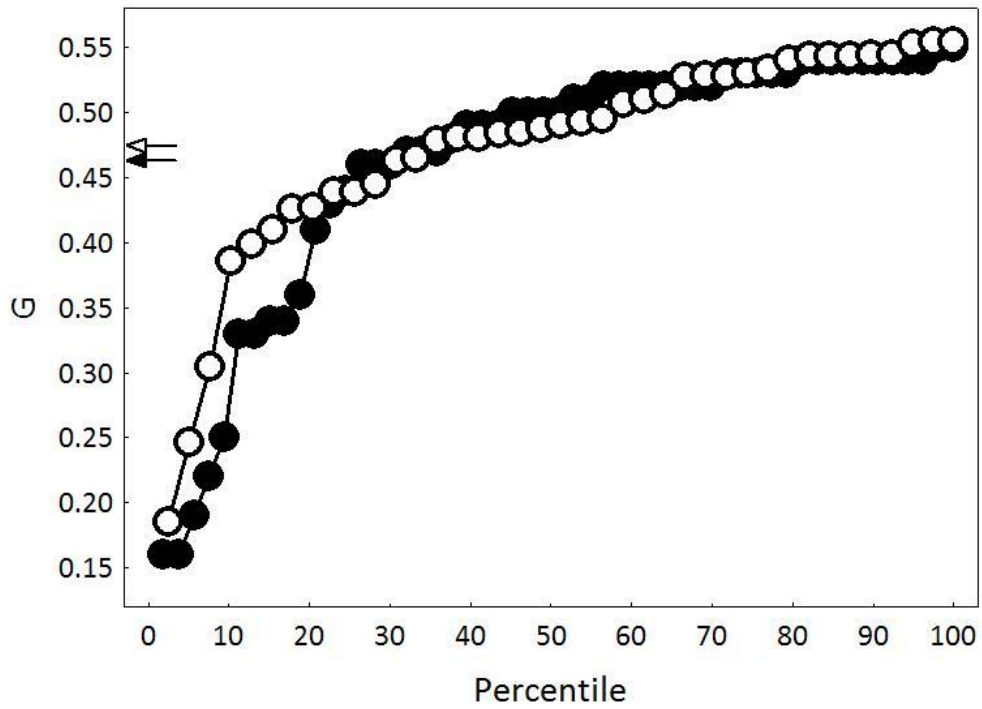


Figura 2. Proporción acumulada de individuos organizada por orden creciente en el índice estandarizado G de feminidad fenotípica en los años 2007 (círculos rellenos) y 2008 (círculos vacíos). Cada círculo representa un acebuche muestreado y el percentil asociado con cada uno indica el porcentaje del total de individuos muestreados en las ocho poblaciones que tuvieron un valor de G igual que el suyo o inferior en cada año. Las flechas señalan el valor promedio de G en cada año (flecha rellena para el 2007 y vacía para el 2008). El número de acebuches florecidos en 2007 fue de 53 y en 2008 de 39.

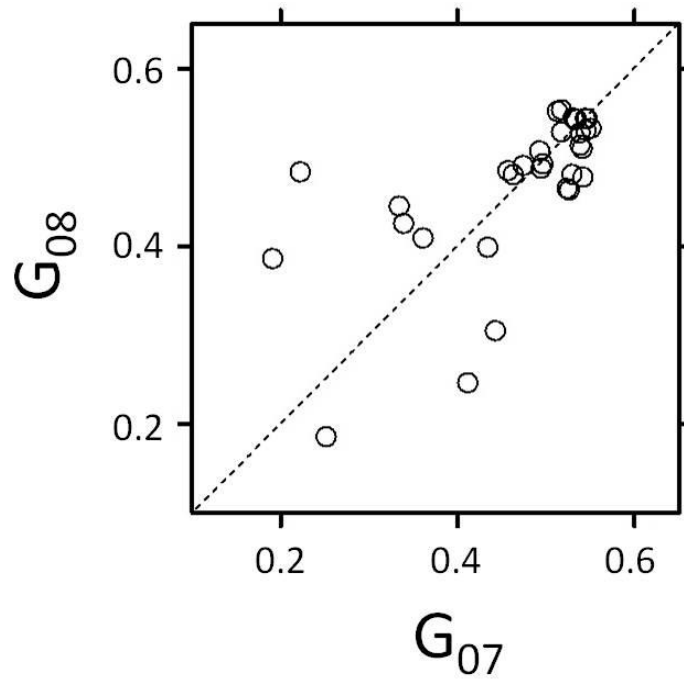


Figura 3. Variación interanual en el índice estandarizado G de feminidad fenotípica ($G_{07/08}$) en aquellos acebuches que florecieron ambos años. La línea discontinua muestra la ausencia de variación en G entre años.

Población	Coordenadas	Localización	Árboles florecidos (%)		Altitud (m)	Precip (mm)	T (°C)
			2007	2008			
San Antolín	43°26'N, 4°52'O	Península Ibérica	80	70	10	1152.1	13.2
Aldea del Fresno	40°20'N, 4°14'O	Península Ibérica	100	90	497	515	15.8
Anaga	28°32'N, 16°10'O	Islas Canarias (Tenerife)	80	20	420	363	19.4
El Río	28°08'N, 16°32'O	Islas Canarias (Tenerife)	30	0	415	111.5	21.3
Vallehermoso	28°11'N, 17°15'O	Islas Canarias (La Gomera)	50	10	331	367.9	19
Arure	28°08'N, 17°19'O	Islas Canarias (La Gomera)	30	60	831	321.2	17.7
Finca Amado	28°38'N, 17°46'O	Islas Canarias (La Palma)	100	70	359	627.4	18.2
San José	28°39'N, 17°46'O	Islas Canarias (La Palma)	60	70	88	323.6	20.4

Tabla 1. Coordenadas, altitud, variables climáticas (Precip: precipitación anual acumulada; T: temperatura media anual) y porcentaje de árboles florecidos en las ocho poblaciones estudiadas. Las variables climáticas fueron proporcionadas por el SIGA (Sistema de Información Geográfica Agraria del “Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino” de España; <http://sig.marm.es>).

<i>propH07</i>					<i>propH08</i>				
Efectos aleatorios	Varianza	DT			Efectos aleatorios	Varianza	DT		
Población	0.787	0.887			Población	1.58	1.257		
Planta(Población)	1.048	1.024			Planta(Población)	0.664	0.815		
Efectos fijos	Estimado	ES	z-valor	Pr(> z)	Efectos fijos	Estimado	ES	z-valor	Pr(> z)
(Intercepto)	1.079	0.383	2.816	0.005	(Intercepto)	2.098	0.518	4.049	0
Orientación (Norte)	0.397	0.116	3.411	0.001	Orientación (Norte)	0.21	0.138	1.523	0.128
Orientación (Sur)	0.104	0.094	1.103	0.27	Orientación (Sur)	-0.203	0.133	-1.52	0.128
Orientación (Oeste)	0.493	0.107	4.589	0	Orientación (Oeste)	-0.015	0.127	-0.122	0.903
Altura (Superior)	0.336	0.086	3.929	0	Altura (Superior)	-0.231	0.109	-2.106	0.035
Orientación (Norte) * Altura (Superior)	-0.262	0.134	-1.963	0.05	Orientación (Norte) * Altura (Superior)	0.012	0.155	0.075	0.94
Orientación (Sur) * Altura (Superior)	-0.061	0.12	-0.513	0.608	Orientación (Sur) * Altura (Superior)	0.427	0.156	2.74	0.006
Orientación (Oeste) * Altura (Superior)	-0.43	0.125	-3.431	0.001	Orientación (Oeste) * Altura (Superior)	0.203	0.148	1.366	0.172

<i>nI07</i>				<i>nI08</i>					
Efectos aleatorios	Varianza	DT		Efectos aleatorios	Varianza	DT			
Población	0.044	0.21		Población	0.041	0.202			
Planta(Población)	0.054	0.232		Planta(Población)	0.11	0.331			
Efectos fijos	Estimado	ES	z-valor	Pr(> z)	Efectos fijos	Estimado	ES	z-valor	Pr(> z)
(Intercepto)	1.448	0.087	16.694	<2e-16	(Intercepto)	1.311	0.116	11.267	<2e-16
Orientación (Norte)	-0.012	0.035	-0.35	0.726	Orientación (Norte)	0.036	0.089	0.407	0.684
Orientación (Sur)	-0.054	0.037	-1.449	0.147	Orientación (Sur)	-0.208	0.094	-2.216	0.027
Orientación (Oeste)	0.022	0.036	0.623	0.534	Orientación (Oeste)	-0.104	0.087	-1.204	0.229
					Altura (Superior)	0.024	0.075	0.314	0.754
					Orientación (Norte) * Altura (Superior)	-0.101	0.106	-0.955	0.339
					Orientación (Sur) * Altura (Superior)	0.307	0.113	2.708	0.007
					Orientación (Oeste) * Altura (Superior)	0.121	0.105	1.158	0.247
<i>nF07</i>				<i>nF08</i>					
Efectos aleatorios	Varianza	DT		Efectos aleatorios	Varianza	DT			
Población	0.195	0.442		Población	0.131	0.362			
Planta(Población)	0.099	0.314		Planta(Población)	0.051	0.226			
Efectos fijos	Estimado	ES	z-valor	Pr(> z)	Efectos fijos	Estimado	ES	z-valor	Pr(> z)
(Intercepto)	3.078	0.177	17.39	<2e-16	(Intercepto)	2.739	0.148	18.454	<2e-16
Orientación (Norte)	-0.116	0.035	-3.286	0.001	Orientación (Norte)	0.061	0.044	1.387	0.165
Orientación (Sur)	-0.069	0.033	-2.073	0.038	Orientación (Sur)	-0.159	0.05	-3.167	0.002
Orientación (Oeste)	0.081	0.035	2.349	0.019	Orientación (Oeste)	0.076	0.043	1.773	0.076
Altura (Superior)	-0.002	0.029	-0.075	0.94	Altura (Superior)	-0.008	0.037	-0.222	0.824
Orientación (Norte) * Altura (Superior)	0.1	0.042	2.39	0.017	Orientación (Norte) * Altura (Superior)	-0.044	0.052	-0.857	0.392
Orientación (Sur) * Altura (Superior)	0.07	0.042	1.675	0.094	Orientación (Sur) * Altura (Superior)	0.183	0.059	3.12	0.002
Orientación (Oeste) * Altura (Superior)	-0.063	0.041	-1.535	0.125	Orientación (Oeste) * Altura (Superior)	-0.11	0.053	-2.094	0.036

Tabla 2. Resultados de los modelos lineales de efectos mixtos propuestos para caracterizar la proporción de flores hermafroditas (propH), el número de inflorescencias por rama florífera (nI) y el número de flores por inflorescencia (nF) en las diferentes partes de la copa de los acebuches. Se muestran a la izquierda los mejores modelos para las tres variables en el 2007 y a la derecha los mejores modelos en el 2008. Se muestran también la varianza estimada y la desviación típica (DT) para los efectos aleatorios, y el coeficiente estimado (Estimador), su error estándar (ES), el valor de z (z-valor) y el valor de p [Pr(>|z|)] para los términos fijos, incluida la interacción cuando esta existió.

Variable dependiente	Ajuste del modelo	Correlación de Pearson	Términos independientes	Signo de la relación	Contribución relativa
G ₀₇	AIC = -54.39	R ² = 0.32 t = 4.92 g.l. = 51 P < 0.001 ***	P	+	2%
			D	+	34%
			LA	+	9%
			SLA	+	51%
			Ang	-	4%
G ₀₈	AIC = -18.30	R ² = 0.56 t = 6.19 g.l. = 30 P < 0.001 ***	N	+	11%
			P	+	7%
			LA	+	5%
			SLA	+	17%
			PF ₀₇	+	50%
			FS ₀₇	-	10%
G _{07/08}	AIC = -108.25	R ² = 0.20 t = 2.71 d.f. = 30 P < 0.001 ***	D	-	88%
			LA	-	12%

Tabla 3. Resultados de los modelos lineales de efectos mixtos propuestos para caracterizar la variación en el índice estandarizado G de feminidad fenotípica en los años 2007 (G₀₇) y 2008 (G₀₈), y para caracterizar la variación interanual en dicha variable (G_{07/08}). Las relaciones positivas indican que las plantas fueron más femeninas cuanto más altos fueron los valores de los términos independientes. Las relaciones negativas indican que las plantas fueron más masculinas para valores altos de las variables independientes. Ang: ángulo foliar; D: tamaño de la planta; FS₀₇: *fruit set* del año anterior (2007); PF₀₇: producción de flores del año anterior (2007); LA: área foliar; N: concentración de nitrógeno total en suelo; P: concentración de fósforo total en suelo; SLA: área foliar específica.

CAPÍTULO V

Determinantes del rendimiento reproductivo en poblaciones periféricas

RESUMEN

Se asume con frecuencia que las poblaciones periféricas se encuentran en hábitats ecológicamente marginales donde el rendimiento reproductivo se ve comprometido y, como consecuencia, el crecimiento poblacional es bajo o nulo. En este trabajo se comprueba si esta hipótesis es cierta en poblaciones periféricas de acebuche (*Olea europaea* L.) que se enmarcan en un amplio rango de ambientes y latitudes en el límite más occidental de la especie. A su vez, se plantea, como segunda hipótesis, que las diferencias en el rendimiento reproductivo entre poblaciones se explican mejor por las condiciones ambientales locales que por la divergencia poblacional en rasgos fenotípicos vegetativos. Para comprobar estas hipótesis se evaluó, en ocho poblaciones y durante tres años consecutivos, la proporción de individuos reproductivos, su intensidad de floración, la fructificación y la viabilidad de sus semillas. Los resultados proporcionan la certeza suficiente como para rechazar la primera hipótesis, ya que las poblaciones periféricas que se encuentran en localizaciones en las que las condiciones ambientales son similares al clima subtropical del Terciario, clima en el que los antepasados de *Olea* estuvieron bien adaptados, presentaron valores altos para todos los componentes medidos del rendimiento reproductivo, todos los años del estudio. En relación con la segunda hipótesis, la variación en el rendimiento reproductivo se debió principalmente a las condiciones ambientales locales. No obstante, los caracteres fenotípicos foliares también explicaron parte de la variación reproductiva encontrada, aunque en menor medida. También se encontró una relación notable entre el tamaño de los individuos y su rendimiento reproductivo. Sin embargo, esta relación no fue lineal, de modo que la ventaja reproductiva del tamaño se vio incrementada a medida que las plantas eran más grandes. Esta relación tan estrecha entre tamaño y rendimiento reproductivo sugiere que cualquier impacto que pudiera afectar a la jerarquía de tamaños de las poblaciones podría poner en serio compromiso la persistencia y la expansión de las poblaciones de acebuche en el límite de su distribución. En resumen, los resultados de este trabajo sugieren que los patrones reproductivos del acebuche no se debieron a la posición de las poblaciones periféricas dentro del área de distribución de la especie, sino a la interacción entre el clima local (como factor principal) y los rasgos fenotípicos de los individuos.

Palabras clave: frecuencia de floración, intensidad de floración, *fruit set*, viabilidad de semillas, población relict, límite fisiográfico, límite climático, hábitats marginales, límites de distribución.

1. INTRODUCCIÓN

Una gran cantidad de factores pueden ser responsables de la existencia de límites de distribución para las especies, incluyendo factores de tipo abiótico como el clima o la falta de hábitat adecuado, interacciones de tipo biótico con especies competidoras o enemigos naturales, falta de variabilidad genética o dinámicas poblacionales inestables (Gaston 1990, 2003; Sexton *et al.* 2009). Todos estos factores conducen a una predicción demográfica inequívoca en biogeografía: las poblaciones periféricas o marginales (es decir, aquellas en algún borde área de distribución de la especie), presentan rendimientos reproductivos empobrecidos y tasas poblacionales de crecimiento bajas o nulas (Lawton 1993; Gaston 2003; Vucetich y Waite 2003). En algunas situaciones, estas poblaciones pueden ser incluso “poblaciones sumidero”, cuya persistencia sólo es posible gracias a eventos de inmigración recurrentes (Pulliam 1988; Kawecki 2008).

La evaluación del rendimiento reproductivo en poblaciones periféricas es importante para la mejor comprensión de la ecología y la evolución de los límites de distribución (Sexton *et al.* 2009), la ecología del cambio climático (Hampe y Petit 2005) y la conservación de poblaciones relictas (Lesica y Allendorf 1995). Las poblaciones periféricas ocupan con frecuencia hábitats marginales en los que factores estresantes de tipo abiótico y/o biótico comprometen el rendimiento reproductivo y la supervivencia de sus individuos (Vucetich y Waite 2003; Kawecki 2008). Las condiciones estresantes afectan al rendimiento reproductivo tanto directa como indirectamente. Por ejemplo, el estrés ambiental puede causar deficiencias nutricionales, lo que afecta a la reproducción de las plantas de manera directa porque se detiene o impide el desarrollo de flores, frutos y semillas (Ne'eman *et al.* 2006), y de manera indirecta al alterar las recompensas florales (Muñoz *et al.* 2005) o la calidad y cantidad de polen (Lau y Stephenson 1994). Por otra parte, el incremento en los gastos energéticos de mantenimiento que se produce en ambientes estresantes supone una disminución del crecimiento vegetativo y del tamaño de la planta. A su vez, el tamaño de la planta está muy relacionado con el rendimiento reproductivo de la misma (*e.g.*, Samson y Werk 1986; Weiner *et al.* 2009; García-Verdugo 2011), ya que la cantidad de recursos de los que dispone una planta aumenta con el tamaño de la misma y, en consecuencia, las plantas de mayor tamaño se reproducen más frecuentemente y producen mayor cantidad de semillas (Kato y Hiura 1999). Sin embargo, plantas de tamaños similares pueden mostrar diferentes rendimientos reproductivos en función de las condiciones del lugar que habitan (Parra-Tabla y Bullock 2003; Méndez y Karlsson 2004; Hampe 2005). En este sentido, la interacción entre rasgos fenotípicos puede influir en la captación y utilización de recursos, la asignación de nutrientes y biomasa, el crecimiento individual, y, en última instancia, el éxito reproductor (Ackerly *et al.* 2000; Geber y Griffen, 2003). Por

ejemplo, aquellas plantas que se desarrollan bajo condiciones estresantes, como bajo sequía o altas irradiaciones, suelen formar hojas más pequeñas, gruesas y verticales que otras plantas que crecen en condiciones más benignas (Gratani y Bombelli 1999). Presumiblemente, estos rasgos fenotípicos foliares redundarán en un funcionamiento de la planta más limitado (Ackerly *et al.* 2000; Geber y Griffen 2003).

A pesar de la existencia de numerosos estudios que avalan que el rendimiento reproductivo de los individuos en poblaciones periféricas se ve reducido en comparación con el individuos de poblaciones en el centro del área de distribución, existen excepciones (Sagarin y Gaines 2002; Sexton *et al.* 2009). Son destacables dos de entre las diversas causas de estas inconsistencias en el patrón reproductivo en poblaciones periféricas. En primer lugar, las singularidades propias de las poblaciones periféricas ocasionan que su segregación en grupos homogéneos para su posterior comparación sea prácticamente imposible (Gaston 1990; Hampe y Petit 2005). Por ejemplo, es esperable que los factores limitantes de tipo abiótico y biótico difieran en los límites norte y sur (Hampe y Petit 2005; Gaston 2009). En segundo lugar, el descenso del rendimiento reproductivo se puede deber a la disminución en uno o varios de sus componentes, como la frecuencia o intensidad de floración (Levin y Clay 1984; Morin *et al.* 2007), la fecundidad (Dorken y Eckert 2001; Angert y Schemske 2005), o la viabilidad o germinabilidad de las semillas (García *et al.* 2000; Jump y Woodward 2003; Sugiyama 2003). Sin embargo, estos componentes no se deben analizar de manera independiente ya que el rendimiento reproductivo final es el resultado de la combinación de todos ellos, y la disminución en uno de los componentes se puede ver mitigado por el incremento en algún otro (Angert 2006). De hecho, las poblaciones periféricas pueden manifestar adaptaciones particulares a condiciones ambientales adversas que promuevan estas compensaciones reproductivas (Sexton *et al.* 2009).

El objetivo principal de este trabajo fue investigar si, en todos los casos, las poblaciones periféricas comparten un rendimiento reproductivo reducido. El límite occidental de distribución del acebuche mediterráneo (*Olea europaea* L.) proporciona un escenario inmejorable para la comparación entre poblaciones periféricas de distinta naturaleza. En primer lugar, el acebuche se encuentra tanto en límites climáticos como en fisiográficos. En el caso de los límites climáticos, ciertas poblaciones se encuentran en el límite de tolerancia térmica de la especie, impuesto por las temperaturas mínimas de invierno (Vargas y Kadereit 2001; Rubio de Casas *et al.* 2002), mientras que otras se localizan en regiones en el límite inferior de precipitaciones (Pansiot y Rebour, 1961). En segundo lugar, las subespecies de acebuche estudiadas en este trabajo constituyen un elemento característico de la flora mediterránea actual, aunque los análisis filo-geográficos sugieren que se diferenciaron dentro

del complejo *Olea* como consecuencia de los cambios climáticos en el Terciario y del aislamiento geográfico (Besnard *et al.* 2009). Sorprendentemente, y aunque en la región central de su distribución no existen localidades con condiciones ambientales similares a las condiciones ancestrales donde se diferenciaron, estas sí existen en ciertos límites fisiográficos de su distribución. En tercer y último lugar, estudios previos han caracterizado en profundidad el contexto genético y la variación fenotípica en estas poblaciones periféricas (García-Verdugo *et al.* 2009a y b; García-Verdugo *et al.* 2010a, b, c; Granado-Yela *et al.* 2011; Rubio de Casas *et al.* 2011), lo que podría ayudar en la interpretación de los patrones reproductivos de las mismas. En un número representativo de estas poblaciones, se evaluaron los componentes más importantes del rendimiento reproductivo: la proporción de individuos reproductivos, su intensidad de floración, el *fruit set* (término en inglés que hace referencia a la proporción de flores con función femenina que dan lugar a un fruto) y la viabilidad de semillas. Se abordaron específicamente las siguientes cuestiones: 1) ¿Presentan todas las poblaciones periféricas de *O. europaea* un rendimiento reproductivo empobrecido? 2) ¿Qué componentes del rendimiento reproductivo presentan mayor variación entre poblaciones? 3) ¿En qué medida las posibles diferencias entre poblaciones se deben a las condiciones ambientales locales de cada una o a la divergencia entre los rasgos fenotípicos de sus individuos?

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Especie de estudio y poblaciones

El género *Olea* es andromonoico, *i.e.*, cada planta produce de manera simultánea tanto flores hermafroditas como masculinas. Ambos tipos de flores se agrupan en panículas axilares y son polinizadas por medio del viento. Los frutos son de tipo drupa, poseen una única semilla en su interior y son dispersados por aves (Rey y Alcántara 2000). Este trabajo se llevó a cabo en los años 2007 a 2009, en ocho poblaciones del acebuche mediterráneo (*Olea europaea* L.) localizadas en la península Ibérica y las Islas Canarias (Figura 1; Tabla 1). Estas poblaciones fueron seleccionadas de un conjunto de once poblaciones caracterizadas genética y fenotípicamente en estudios previos (García-Verdugo *et al.* 2009a, b; García-Verdugo *et al.* 2010a, b, c; Granado-Yela *et al.* 2011; Rubio de Casas *et al.* 2011). Se escogieron aquellas poblaciones en el límite occidental de la distribución de la especie donde la vegetación estaba dominada por *O. europaea*, independientemente de si se trataba de poblaciones de la subespecie *europaea* L. (poblaciones ibéricas) o *guanchica* P. Vargas *et al.* (poblaciones canarias). De entre todas las que cumplieron

estos requisitos, sólo entraron a formar parte del estudio aquellas poblaciones en las que no existía introgresión de cultivares que pudiera ocultar los patrones naturales de variación fenotípica y genética (García-Verdugo *et al.* 2009a). Así, se muestrearon dos poblaciones periféricas en límites fisiográficos (FA y SJ; Figura 1) donde el contenido hídrico del suelo es diferencialmente alto, muy probablemente como consecuencia de la interceptación de agua de las nieblas (García-Verdugo *et al.* 2010a); dos poblaciones en el límite de tolerancia térmica de la especie (AF y SA; Figura 1) impuesto por las temperaturas mínimas en invierno (Rubio de Casas *et al.* 2002); y dos poblaciones en el límite inferior de precipitación (Pansiot y Rebour 1961) para la especie en la región más occidental de su distribución (RI y AR; Figura 1). En el diseño se incluyeron dos poblaciones adicionales para mejorar la robustez de los resultados (AN y VH; Figura 1). En cada población se eligieron al azar de 10 a 12 individuos adultos (*i.e.*, individuos que produjeron frutos en años anteriores).

2.2. Variables ambientales

En noviembre de 2007 se recogieron, en las ocho poblaciones, aproximadamente 500 ml de suelo debajo de cada árbol incluido en el estudio ($n = 86$). Las muestras de suelo se tomaron a una profundidad de 10 a 20 cm. La concentración de nitrógeno total (N) y fósforo total (P) se estimaron, tras la extracción de las muestras con cloruro de potasio (KCl) caliente, mediante análisis de flujo continuo en un analizador Skalar San⁺⁺ (Skalar Analytical BV, Breda, Holanda).

Para investigar las diferencias micro-ambientales entre las poblaciones canarias muestreadas se instaló, en cada una de ellas, un dispositivo registrador U12 conectado a un sensor PAR modelo S-LIA-M003 y a un sensor ECH₂OTM (Onset Computer Corp., MA, EE.UU.). También se instaló un sensor HOBO H8 de la misma compañía. Gracias a estos sensores se pudo registrar la radiación fotosintéticamente activa (PAR), el contenido hídrico del suelo a 50 cm de profundidad (HR suelo), la humedad relativa del aire (HR aire) y la temperatura del aire (T aire), cada 30 minutos desde agosto del 2006 hasta agosto del 2007 (para más detalles véase García-Verdugo *et al.* 2009b; 2010a).

2.3. Medición de tamaño de los árboles y los rasgos fenotípicos foliares

El tamaño de la planta se estimó mediante la medición de su altura (Alt) y el diámetro mayor de su copa (D), en consonancia con estudios anteriores en *O. europaea* (García-Verdugo *et al.* 2009b; García-Verdugo 2011). Las hojas fueron muestreadas durante el verano de 2007 para asegurar que estuvieran perfectamente desarrolladas. En 10 hojas por individuo, se midió el ángulo de su nervio

central con la horizontal (Ang) usando un transportador de ángulos. También se recogieron, al azar, 30 hojas por árbol y se escanearon en el laboratorio. Las hojas escaneadas se analizaron con el programa Scion Image (Scion Corp., MD, EE.UU.) para calcular su área foliar (LA, del inglés “*leaf area*”). Las hojas se secaron a continuación en una estufa a 65 ° C y durante 48 h, y se pesaron con una balanza de precisión (Mettler Toledo, Greifensee, Suiza) para estimar su masa seca. El área foliar específica (SLA, del inglés “*specific leaf area*”) se calculó como el cociente entre el área foliar (LA) y la masa seca.

2.4. Medición del rendimiento reproductivo

El rendimiento reproductivo de cada árbol se caracterizó siguiendo la producción secuencial de flores, frutos y semillas. La proporción de árboles que produjeron flores (árboles reproductivos; propF) por población ($n = 8$) y año ($n = 3$) se calculó como el cociente entre los árboles con flores y el total de árboles muestreados en la población. La frecuencia de floración de cada individuo (FF) se calculó dividiendo el número de años que este había producido flores entre los años de muestreo ($n = 3$). La intensidad de floración de cada árbol (IF) se evaluó justo antes del periodo de máxima antesis, a finales de mayo y principios de junio, en los años 2007 a 2009. Para controlar por la potencial floración asimétrica en las copas de los árboles, estas se dividieron en octantes, *i.e.*, las cuatro orientaciones divididas entre parte superior e inferior. Se definió una escala categórica para evaluar la intensidad de la floración que se aplicó en una área de 1x1 m² superpuesta sobre cada octante: 0 = vegetativo (ninguna inflorescencia); 1 = baja (menos de 12 inflorescencias); 2 = media (entre 12 y 120 inflorescencias); 3 = alta (más de 120 inflorescencias). Algunos individuos no tenían ramas en algunos octantes de modo que se ponderó la intensidad de floración para cada individuo (IF) mediante el cociente entre la suma de las puntuaciones en la escala de floración de los octantes presentes en el individuo y el valor máximo que podría tener con esos octantes.

En los años 2007 y 2008 se recolectaron de 12 a 48 inflorescencias en los árboles florecidos. En el laboratorio, se contaron las flores en dichas inflorescencias y se anotó su sexo para calcular la proporción de flores hermafroditas (propH). Se anotó el sexo de 32,410 flores en el primer año y de 18,883 en el segundo. Para estimar la proporción de flores hermafroditas que producían fruto en esos mismos años (*i.e.*, el *fruit set*), se marcaron de 10 a 40 ramas por árbol en todas sus orientaciones y se contó el número de inflorescencias que estas presentaban. A finales de agosto y principios de septiembre, justo antes de que se produjera la dispersión de frutos (Rey y Alcántara 2000), se contaron los frutos maduros en las ramas marcadas. El *fruit set* (FS) de cada individuo se

calculó como el cociente entre el número de frutos maduros en las ramas marcadas y el número de flores hermafroditas estimadas para esas ramas.

En octubre de 2007, se recogieron aproximadamente 20 frutos de toda la copa en cada árbol florecido ese año. Se eliminó su pulpa y se almacenaron en un lugar seco y en oscuridad. Los endocarpos se rompieron mecánicamente para extraer las semillas y estas se sumergieron en agua durante 12 horas para facilitar la extracción de los embriones. Se evaluó la viabilidad de dichos embriones mediante la prueba del tetrazolio (Nachlas *et al.* 1960; Egley y Chandler 1983). La proporción de semillas viables en cada árbol (SV) se calculó como el cociente entre las semillas con embriones viables y el total de semillas recogidas en cada individuo. Se consideró que una semilla era viable cuando el embrión se tiñó totalmente, o cuando se tiñeron las partes esenciales para la germinación (Leist y Krämer 2003).

El rendimiento reproductivo relativo (RRR) de cada acebuche se estimó usando la siguiente expresión: $RRR = FF \times IF \times propH \times FS$ (versión modificada de la propuesta por Méndez 1997). En esta ecuación se incluyeron los valores promedio de cada variable para todos los años en los que se midieron (*i.e.*, tres años en el caso de FF e IF, y dos en el caso de propH y FS). Todos los componentes del lado derecho de la fórmula son cocientes cuyos valores oscilan entre 0 y 1, de modo que RRR también oscila entre 0 y 1. Para estimar el rendimiento reproductivo absoluto de cada individuo (RRA) se incluyó el tamaño de la planta en la ecuación mediante la sustitución de IF por la producción de flores ($PF = IF \times D$). La producción de flores (PF) es una estima de la cantidad absoluta de flores producida por el árbol, de modo que $RRA = FF \times PF \times propH \times FS$.

2.5. Análisis de datos

Los análisis comprendieron dos niveles complementarios en función del conjunto de datos utilizado (niveles poblacional e individual). A nivel poblacional se efectuaron tres tipos de análisis. En primer lugar se investigaron las diferencias en los componentes del rendimiento reproductivo entre las poblaciones de estudio. Se incluyeron las ocho poblaciones en este análisis, aunque eso supusiera un incremento en el error de tipo II (*i.e.*, no detectar diferencias entre poblaciones cuando realmente existían), ya que las poblaciones canarias no son realmente independientes. En segundo lugar, se examinó la contribución de cada componente en el rendimiento reproductivo de cada población. En tercer lugar, se investigó la relación entre las condiciones ambientales locales y la reproducción en las poblaciones de las islas Canarias. A nivel individual, se examinó la asociación potencial entre el rendimiento reproductivo de cada individuo, sus rasgos fenotípicos y las propiedades del suelo en el que crecían.

2.5.1. *Análisis a nivel poblacional*

Se examinaron las diferencias en la proporción de árboles florecidos (propF) entre poblaciones y años mediante pruebas de la G (Sokal y Rohlf 1995). El análisis conjunto de las diferencias entre poblaciones y años en la intensidad de floración (IF) no fue posible debido a que muchos árboles de algunas poblaciones no florecieron todos los años. En su lugar se examinaron las diferencias en IF entre poblaciones para cada año por separado, usando análisis de la varianza (ANOVA) de un factor. La normalidad de los datos se comprobó mediante la prueba de Shapiro-Wilks y la homogeneidad de las varianzas mediante la prueba de Levene. Por otra parte, se realizó un ANOVA de medidas repetidas para cada población, con el año como factor entre sujetos. Para cumplir con los supuestos del análisis se efectuó una transformación de los datos de IF por rangos. Las diferencias en *fruit set* (FS) entre años también se analizaron para cada población por separado por el mismo razonamiento explicado con anterioridad, tras confirmar la normalidad en la distribución de los valores de FS, mediante pruebas de la t para muestras pareadas (Zar 1999). Como los promedios de los valores de FS por poblaciones estuvieron altamente correlacionados entre años (véase el apartado de Resultados), y la población de VH presentó sólo un individuo florecido en 2008, la existencia de diferencias significativas en FS entre poblaciones se comprobó exclusivamente para el año 2007, mediante una prueba de Brown-Forsythe. Las diferencias concretas entre poblaciones en FS se examinaron mediante la prueba *a posteriori* de Games-Howell para comparaciones múltiples. En último lugar, se examinaron las diferencias entre poblaciones en la viabilidad de semillas (SV) mediante pruebas de la G.

Se investigó la influencia en los componentes reproductivos de las variables micro-ambientales caracterizadas en las poblaciones canarias mediante modelos de regresión por mínimos cuadrados parciales en SPSS 16.0 (SPSS Inc., IL, EE.UU.). Para ser más precisos, se examinó el papel de la radiación PAR, el contenido hídrico del suelo (HR suelo), la temperatura del aire (T aire) y la humedad relativa del aire (HR aire) durante los meses anteriores a cada una de las fases fenológicas reproductivas en el 2007. Sanz-Cortés *et al.* (2002) describen que, en *O. europaea*, la emergencia y desarrollo de las yemas reproductivas, el desarrollo de las inflorescencias y la floración ocurren desde diciembre hasta mayo, el desarrollo de los frutos desde mayo hasta octubre, y la maduración de los mismos desde septiembre hasta diciembre. Así, los valores promediados de las variables micro-ambientales para cada uno de esos tres periodos del año se usaron como variables predictoras de IF, FS y SV.

La importancia relativa, en cada población, de cada componente analizado en el rendimiento reproductivo absoluto (RRA) se analizó siguiendo el procedimiento descrito por Mott (1966). La varianza de cada componente, así como la covarianza entre cada par de componentes, se obtuvo en datos transformados logarítmicamente. Tras la transformación logarítmica se consiguió la aditividad en la expresión del RRA, de modo que la varianza del logaritmo de ARP era igual a la suma de las varianzas de las transformaciones logarítmicas de los componentes más dos veces la covarianza entre cada par de componentes (Mott 1966). Tanto las varianzas como las covarianzas se estandarizaron al expresarlas como porcentaje de la varianza en el logaritmo de ARP. Así, la magnitud de la varianza y la covarianza estandarizada para cada componente permitió estimar su contribución a la variabilidad en RRA entre las plantas muestreadas en cada población.

2.5.2. Análisis a nivel individual

La relación entre la frecuencia de floración y el tamaño de la planta (Alt y D), los caracteres foliares (Ang, SLA y LA) y los nutrientes en el suelo (N y P) se investigó mediante una regresión ordinal múltiple en SPSS 16.0 (SPSS Inc., IL, EE.UU.). Para ello, se creó una variable dependiente ordinal con cuatro categorías (de 0 a 3) que resumían la frecuencia de floración (*i.e.*, la cantidad de veces que cada árbol muestreado produjo flores de los tres años muestreados) y se incluyeron como variables independientes todas las descritas con anterioridad. Se realizó un test de paralelismo para comprobar que todas las categorías respuesta presentaron coeficientes de pendiente similares.

El efecto en los componentes del rendimiento reproductivo (IF, FS y SV) del tamaño de la planta (Alt y D), los caracteres foliares (Ang, SLA y LA) y los nutrientes en el suelo (N y P), se examinó mediante un análisis de redundancia en CANOCO 4.5 para Windows (ter Braak y Smilauer 2002). La significación estadística del modelo resultante de esta ordenación se comprobó mediante una prueba de permutaciones de Monte Carlo con 9,999 permutaciones.

La relación entre el tamaño de la planta (D) y el rendimiento reproductivo relativo (RRR) se examinó mediante modelos de regresión en GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, CA, EE.UU.). La comparación de modelos se basó en el procedimiento basado en el criterio de información de Akaike (AIC, Burnham y Anderson 2002), de modo que se eligió aquel modelo que presentó menor valor de AIC. Además se realizó un test de máxima verosimilitud para corroborar que las diferencias entre modelos eran significativas.

3. RESULTADOS

3.1. Variación del rendimiento reproductivo a nivel poblacional

Se encontraron diferencias significativas entre las poblaciones estudiadas en todos los componentes del rendimiento reproductivo, a excepción de en la intensidad de floración. La proporción de árboles florecidos osciló entre 0.08 y 1 (Tabla 2). Se encontraron diferencias significativas en esta variable entre poblaciones ($\chi^2_7 = 14.47$, $p < 0.05$), aunque no entre años ($\chi^2_2 = 2.15$, $p = 0.34$). La única población en la que todos los individuos seleccionados florecieron todos los años fue la población de FA, situada en la isla de La Palma, en el límite fisiográfico del límite de distribución del acebuche. Las poblaciones de SA, en el límite térmico pero bajo condiciones ambientales oceánicas, y de FA presentaron las proporciones de árboles florecidos más altas de entre las medidas, mientras que las poblaciones de RI, en el límite de lluvias, y de VH mostraron las proporciones más bajas. En cada población, la proporción de árboles florecidos varió significativamente entre años en las poblaciones de AN ($G_2 = 8.33$, $p < 0.01$), AF ($G_2 = 5.84$, $p < 0.05$) y SJ ($G_2 = 5.63$, $p < 0.05$).

La intensidad de floración (IF) osciló entre 0 y 1 (Tabla 2). No se detectaron diferencias significativas entre poblaciones o años en esta variable. La población de SJ fue la única en la que se encontró una variación significativa en la intensidad de floración entre años ($F_{1, 3} = 16.667$, $p = 0.027$).

Los valores de *fruit set* (FS) oscilaron entre 0 y 0.16 (Tabla 2). Los valores de *fruit set* en cada población apenas variaron entre años, como muestra la correlación significativa entre los valores promedio por población de FS en el año 2007 y en el año 2008 ($r = 0.93$, $n = 8$, $p < 0.001$). En el año 2007, se encontraron diferencias significativas entre poblaciones en el *fruit set*. Según el análisis *a posteriori* de Games-Howell, una de las poblaciones de la isla de La Palma (la población de SJ, que se encuentra en el límite fisiográfico de la especie pero en un ambiente mediterráneo que se asemeja a un clima sub-tropical), presentó los valores más altos de FS, seguida por ambas poblaciones en la Península Ibérica (*i.e.*, las poblaciones de AF y SA), que se encuentran en el límite térmico. Las otras cuatro poblaciones en el resto de las islas, incluyendo las dos en el límite de lluvias, presentaron valores promedio de FS de cero o próximos a cero (Tabla 2). No se encontraron diferencias significativas dentro de poblaciones entre el *fruit set* de 2007 ni en el de 2008.

La proporción de semillas viables (SV) osciló entre 0 y 0.92 (Tabla 2). Se encontraron diferencias significativas en SV entre poblaciones ($G_6 = 58.93$, $p < 0.001$). Las poblaciones de AN, AR y FA mostraron los valores más altos de SV ($G_1 = 22.51$, $p < 0.001$), mientras que las poblaciones de AF y RI mostraron los más bajos ($G_1 = 8.53$, $p < 0.01$).

Los resultados de las regresiones por mínimos cuadrados parciales (Tabla 3), usadas para analizar la influencia de las condiciones micro-ambientales en las fases fenológicas clave para cada componente reproductivo, arrojaron la existencia de un componente de regresión significativo para cada variable respuesta. La intensidad de floración (IF) se relacionó positivamente con la humedad relativa del aire (HR aire) y negativamente con la radiación PAR en los meses previos a la floración. Estas dos variables micro-ambientales retuvieron el 85.1% de la información contenida en ese componente de la regresión. El *fruit set* (FS) se relacionó positivamente con el contenido hídrico en el suelo (HR suelo) y la temperatura del aire (T aire) en los meses previos a la formación de frutos. Ambas variables recogieron el 96.4% de la información contenida en el componente significativo de la regresión. La viabilidad de semillas (SV) se relacionó positivamente con la radiación PAR y negativamente con la temperatura del aire en los meses previos a la producción de semillas. Estas dos variables retuvieron el 79.9% de la información del componente de la regresión. En todos los casos, el componente significativo de las regresiones recogió una alta proporción de la varianza explicada (82.6% en IF, 72.8% en FS y 80% en SV).

En todas las poblaciones, la mayor parte de la variabilidad en el rendimiento reproductivo absoluto se debió a las diferencias entre sus individuos en la producción de flores, a excepción de en una de las poblaciones de la isla de La Palma, la población de FA, donde la mayor parte de la variabilidad se debió a las diferencias entre plantas en su *fruit set* (Tabla 4). Es importante destacar que la mayor parte de la variabilidad en la producción de flores se puede deber a las diferencias en el tamaño de los acebuches en cada población y que la población de FA fue la población con los árboles más grandes.

3.2. Variación del rendimiento reproductivo a nivel individual

Los resultados de la regresión ordinal indican que la frecuencia de floración se relacionó positivamente con la concentración de nitrógeno total en el suelo (N), el tamaño de las plantas (D), y el área foliar (LA) y el área foliar específica (SLA) de las mismas (Tabla 5). El modelo fue capaz de clasificar correctamente el 66.7% de los árboles que florecieron los tres años muestreados, el 62.5% de los que florecieron dos y el 69% de los que no florecieron ningún año. Los árboles que

florecieron un único año se clasificaron más frecuentemente en el grupo de los que florecieron dos (41.7%) que en el grupo en el que no florecieron ninguno (25%).

Tanto la ordenación en sí como el primer eje canónico producido por el análisis de redundancia fueron significativos ($F = 5.09$, $p < 0.001$ y $F = 24.24$, $p < 0.001$ respectivamente; Figura 3). La selección hacia delante de variables identificó las siguientes como significativas en la ordenación de los componentes reproductivos: N ($F = 2.71$, $p < 0.05$), D ($F = 17.93$, $p < 0.001$) y LA ($F = 3.91$, $p < 0.05$). La suma de los valores propios canónicos en el modelo simplificado (*i.e.*, aquel que sólo incluía las tres variables que fueron significativas) explicó el 27.9% de la varianza de los datos. El primer eje de la ordenación explicó el 25.5% de la varianza y se relacionó positivamente con D ($r = 0.84$) y N ($r = 0.34$). El segundo eje explicó el 2.4% de la varianza y se relacionó positivamente con LA ($r = 0.67$). Las variables D y N se relacionaron positivamente con todos los componentes del rendimiento reproductivo incluidos en la ordenación (FI, FS y VS; Figura 2).

Los modelos de regresión empleados para analizar la relación entre el tamaño de la planta y el rendimiento reproductivo relativo (RRR) indicaron que una relación de tipo no lineal era más probable que una de tipo lineal (Figura 3), ya que el modelo lineal arrojó un valor de AIC significativamente mayor que el de todos los modelos no lineales implementados (AIC modelo lineal: - 436.57; AIC modelo lineal segmentado: -446.59; AIC modelo cuadrático: - 442.32; y AIC modelo exponencial: - 442.55). Los valores de Δ AIC indicaron que la probabilidad de que los modelos no lineales fueran la elección correcta sobre el modelo lineal era del 95% (del 99% en el caso de la regresión lineal segmentada).

4. DISCUSIÓN

Este trabajo evidencia que la condición de ser una población periférica en *Olea europaea*, lejos de tener un significado único en términos de crecimiento y reproducción, tiene múltiples significados distintos. En particular, los resultados aquí recogidos ilustran las poblaciones geográficamente periféricas no tienen por qué ser necesariamente poblaciones marginales en cuanto a las condiciones de sus hábitats, con lo que su rendimiento reproductivo no ha de verse comprometido de manera obligatoria. Aquí se muestran poblaciones de acebuche que presentan rendimientos reproductivos altos (Tabla 2) pese a enfrentarse a fuertes barreras fisio-gráficas (como es el caso del océano Atlántico en las poblaciones de FA y SJ en la isla de La Palma), o pese a estar ubicadas en su límite térmico como elementos relictos en refugios de hábitat costeros (como la población de SA en en

norte de la Península Ibérica). En ambas situaciones, la influencia oceánica ocasiona que el clima en el que se desarrollan los acebuches se asemeje al clima sub-tropical reinante en el Terciario, clima al que los antecesores del género *Olea* estaban bien adaptados (Terral *et al.* 2004). Sorprendentemente, el acebuche, que sobrevivió a los periodos glaciares en refugios de hábitat riparios y resistió a la variabilidad y el calentamiento post-glacial (Terral *et al.* 2004), responde diferencialmente mejor ante condiciones climáticas que se asemejan a las ancestrales, tanto en términos de crecimiento vegetativo (García-Verdugo *et al.* 2010c) como en su rendimiento reproductivo (este trabajo). En estas poblaciones se encontraron, todos los años, valores por encima del 70% en la probabilidad de floración (de hecho, en la mayoría de los casos esos valores estuvieron por encima del 90%) y valores altos en el resto de componentes del rendimiento reproductivo (Tabla 2). Esta inversión sustancial en reproducción sexual en poblaciones periféricas podría explicar, al menos en parte, los altos valores de diversidad genética encontrados en estas poblaciones en otros trabajos (Rubio de Casas *et al.* 2006; García-Verdugo *et al.* 2009a, 2010b). No obstante, los patrones dispersivos varían notablemente entre las poblaciones en el límite fisiográfico y la población relictas. Mientras que la existencia de un flujo genético amplio entre las poblaciones canarias, mediado principalmente por la dispersión de semillas, ocasiona unos niveles de diferenciación genética moderados entre dichas poblaciones (García-Verdugo *et al.* 2010b), el aislamiento reproductivo prolongado en el refugio de hábitat costero ha ocasionado una divergencia genética marcada de dicha población con respecto a las poblaciones más cercanas (Rubio de Casas *et al.* 2006).

La mayor parte de la variación en el rendimiento reproductivo entre poblaciones, como muestran las regresiones por mínimos cuadrados parciales (Tabla 3), se debió a las diferencias en las condiciones climáticas de las zonas que habitan. En condiciones de estrés, las especies de plantas longevas priorizan su crecimiento y mantenimiento sobre su reproducción (Silvertown *et al.* 1993). Así, las inversiones reproductivas grandes deberían ser más frecuentes en ambientes favorables y ser cada vez más esporádicas cuando las condiciones ambientales son menos favorables (*e.g.*, Waite y Hutchings 1982; Lovett-Doust 1989). En la población de RI, en el límite de precipitaciones, los acebuches presentaron tamaños menores (Figura 3) y fueron menos fecundos que en el resto de poblaciones hasta el punto de que menos del 30% de ellos fue capaz de producir flores en la mayoría de los años muestreados (Tabla 2). En condiciones aparentemente menos estresantes, tanto en el límite de temperaturas en la población de AF como en el límite de precipitaciones en la población de AR, se alternaron los años en los que la mayor parte de los individuos produjeron flores con años en los que solamente algunos florecieron (Tabla 2). Por otra parte, el rendimiento reproductivo extremadamente pobre registrado en la población de VH (Tabla 2) sugiere que las

condiciones estresantes no sólo se registran en poblaciones periféricas y que el número de dimensiones ambientales que determinan el nicho real de la especie es probablemente tan grande que dificulta la identificación precisa de las poblaciones en el límite ambiental de su distribución. Este resultado inesperado hace hincapié, una vez más, en la necesidad de diferenciar la dimensión geográfica de la ambiental. Esta distinción es particularmente relevante en la modelización de las distribuciones de las especies, en las que generalmente se asume que los procesos geográficos son dominantes sobre los ambientales (Elith y Leathwick 2009).

Las fluctuaciones ambientales a escala local durante las diferentes fases del proceso reproductivo, principalmente en el periodo de formación de los frutos, fueron responsables de ciertos patrones erráticos en el rendimiento reproductivo (Tabla 3). Por ejemplo, todo el proceso reproductivo se vio comprometido en ciertas poblaciones como consecuencia de unas condiciones ambientales particularmente extremas justo después de la antesis (véase el valor de FS de cero o cercano a cero en las poblaciones de RI, VH y AR todos los años, y en la población de AN en 2008). Los resultados aquí expuestos indican que la escasa disponibilidad hídrica en el suelo a mediados del verano estuvo relacionada con valores especialmente bajos de *fruit set* (Tabla 3), en concordancia con lo sugerido por otros autores en olivos (*e.g.*, Palese *et al.* 2010), los parientes cultivados del acebuche. Por ello, esta variable puede jugar un papel decisivo en ciertos tipos de límites de distribución. Las diferencias locales en la cantidad de nutrientes en el suelo también contribuyeron a la variación en el rendimiento reproductivo entre individuos (Tabla 5). Se sabe que los nutrientes edáficos influyen sobre el rendimiento reproductivo de muchas especies (Nams *et al.* 1993). No obstante, la fuerte relación encontrada en este trabajo entre la concentración de nitrógeno edáfico y el tamaño de la planta no permite separar los efectos directos de los nutrientes del suelo sobre la reproducción de los indirectos (Tabla 5). En cualquier caso, llama la atención que las mismas variables ambientales (la radiación PAR y la temperatura del aire) tuvieron efectos opuestos sobre los componentes de fecundidad y viabilidad de semillas (Tabla 5). Este resultado proporciona un mecanismo potencial por el cual se pueden encontrar diferencias entre distintas localidades en el rendimiento reproductivo y advierte de la necesidad de usar observaciones de todos los componentes reproductivos, y no sólo uno, a la hora de hacer interpretaciones acerca de la viabilidad de determinadas poblaciones (Angert 2006).

El rendimiento reproductivo de *Olea europaea* estuvo fuertemente influenciado por el tamaño de los individuos (Figuras 2 y 3; Tablas 4 y 5). En consonancia con otros trabajos en especies leñosas, el tamaño de los acebuches se relacionó con la frecuencia de floración (Thomas 1996; Philipp y Nielsen 2010), la intensidad de floración (Philipp y Nielsen 2010) y la fecundidad (Abrahamson y

Layne 2002). Por consiguiente, el tamaño de los árboles estuvo relacionado con el rendimiento reproductivo relativo y el absoluto (Figura 3; Tabla 4). No obstante, la relación entre el tamaño de los acebuches y su rendimiento reproductivo no fue lineal (Figura 3). Esto supone que la ventaja reproductiva del tamaño se vio incrementada a medida que las plantas eran más grandes. Dicha ventaja podría ser la consecuencia de las ganancias exponenciales en la capacidad para capturar recursos en las plantas de mayor tamaño (Barot *et al.* 2005). La ventaja que confiere el tamaño a la hora de capturar recursos se conoce desde hace tiempo en plantas que compiten por la luz, ya que las plantas más grandes sombream a las más pequeñas y por ello son capaces de absorber mucha más luz en términos absolutos (Weiner y Thomas 1986; Weiner 1990; Falster y Westoby 2003). Sin embargo, el tamaño puede ser ventajoso en sí mismo ya que las plantas más grandes son capaces de optimizar el uso de los recursos disponibles mediante la búsqueda activa de los recursos y el crecimiento en direcciones favorables (Silvertown y Gordon 1989; Bazzaz 1991; Augspurger y Bartlett 2003), o mediante la explotación de ventanas temporales de luz complementarias (Granado-Yela *et al.* 2011). En las poblaciones periféricas de acebuche, y como consecuencia de la importancia del tamaño en la capacidad reproductiva de los mismos, las perturbaciones de origen natural o humano que afecten a la composición de clases de tamaños en las mismas podrían causar su desaparición.

En cualquier caso, la relación entre el tamaño y la reproducción es modulada, probablemente, por factores a pequeña escala como distribución irregular de los recursos y las características individuales (Parra-Tabla y Bullock 2003; Hampe 2005). Los resultados de este estudio muestran que aquellos acebuches que presentaban hojas más grandes y con mayores valores de SLA producían flores más frecuentemente (Tabla 5). La relación entre estos caracteres vegetativos y los valores de éxito reproductor puede ser debida a dos causas: que estos rasgos fenotípicos foliares reflejan unas condiciones ambientales favorables o que suponen un ajuste fenotípico efectivo por parte de la planta que contribuye positivamente a una mayor captura de carbono.

5. CONCLUSIONES

El acebuche mediterráneo (*O. europaea* L.) en su límite de distribución más occidental se enfrenta a diferentes situaciones: límites de tipo fisio-gráfico, donde, pese a que presenta un rendimiento reproductivo elevado, no se puede expandir como consecuencia del océano; límites de tipo histórico, donde las sucesivas generaciones que han surgido de la reproducción en estas poblaciones han estado confinadas de manera prolongada en un hábitat de refugio; y límites de tipo climático,

donde los acebuches manifiestan un rendimiento reproductivo bajo como consecuencia de las condiciones ambientales sub-óptimas de los hábitats que ocupan. Evidentemente, estos escenarios no representan situaciones permanentes o estacionarias. Al contrario, el rendimiento reproductivo poblacional en estas poblaciones periféricas determina la capacidad de respuesta de la especie a los cambios ambientales (Hampe y Petit, 2005). Los datos de este trabajo sugieren que, en un escenario de cambio climático, las poblaciones estudiadas pueden convertirse o bien en frente de avance de la especie o bien frente de retroceso, dependiendo de la población periférica en concreto de la que se trate. Basándose en las predicciones climáticas regionales para los años 2011-2040 (Brunet *et al.* 2009), es esperable que las poblaciones en aquellos límites impuestos por la isoterma de la temperatura mínima (Rubio de Casas *et al.* 2002) pasen a ser frentes de expansión para la especie. Las poblaciones de estudio en este límite térmico mostraron dos escenarios contrastados: poblaciones divergentes genéticamente como consecuencia de su aislamiento y que presentan un rendimiento reproductivo alto (población de SA; Rubio de Casas *et al.*, 2006), y poblaciones menos diferenciadas, con un rendimiento reproductivo irregular pero con un flujo genético con otras poblaciones mucho más importante (población de AF). Por el contrario, la reducción predicha en las predicciones de cambio climático en la precipitación anual (*cf.* Brunet *et al.* 2009) tendrá, probablemente, efectos severos en aquellas poblaciones canarias que se desarrollan actualmente en el límite de precipitaciones. Así, es esperable que este límite de distribución pase a ser el frente de retroceso del rango de la especie. Como consecuencia de la relación entre el tamaño de las plantas y su éxito reproductivo, cualquier modificación natural o antrópica en la jerarquía de tamaños en las poblaciones periféricas reduciría, seguramente, las posibilidades de persistencia o expansión de dichas poblaciones. No obstante, este trabajo también muestra que los mismos factores ambientales pueden tener efectos opuestos en los componentes reproductivos relacionados con la fecundidad y la viabilidad de las semillas. Por lo tanto, el efecto neto de estas contribuciones parciales será decisivo para la viabilidad de las poblaciones de acebuche ante condiciones ambientales cada vez más sub-óptimas.

6. BIBLIOGRAFÍA

Abrahamson WG, Layne JN (2002) Relation of ramet size to acorn production in five oak species of xeric upland habitats in south-central Florida. *American Journal of Botany* 89:124-131

Ackerly DD, Monson RK (2003) Waking the sleeping giant: the evolutionary foundations of plant function. *International Journal of Plant Sciences* 164:S1-S6

- Ackerly DD, Dudley SA, Sultan SA, Schmitt J, Coleman JS, Linder CR, Sandquist DR, Geber MA, Evans AS, Dawson TE, Lechowicz MJ (2000) The evolution of plant ecophysiological traits: recent advances and future directions. *BioScience* 50:979-995
- Angert AL (2006) Demography of central and marginal populations of monkeyflowers (*Mimulus cardinalis* and *M-lewisii*). *Ecology* 87:2014-2025
- Angert AL, Schemske DW (2005) The evolution of species' distributions: reciprocal transplants across the elevation ranges of *Mimulus cardinalis* and *M. lewisii*. *Evolution* 59:1671-1684
- Augspurger CK, Bartlett EA (2003) Differences in leaf phenology between juvenile and adult trees in a temperate deciduous forest. *Tree Physiology* 23:517-525
- Barot S, Mitja D, Miranda I, Meija GD, Grimaldi M (2005) Reproductive plasticity in an Amazonian palm. *Evolutionary Ecology Research* 7:1051-1065
- Bazzaz FA (1991) Habitat selection in plants. *American Naturalist* 137:S116-S130
- Besnard G, De Casas RR, Christin PA, Vargas P (2009) Phylogenetics of *Olea* (Oleaceae) based on plastid and nuclear ribosomal DNA sequences: Tertiary climatic shifts and lineage differentiation times. *Annals of Botany* 104:143-160
- Binkley D, Vitousek P (1989) Soil nutrient availability En: *Plant physiological ecology: field methods and instrumentation* (Eds. Pearcy RW, Ehleringer JR, Mooney HA, Rundel PW). Chapman & Hall, Londres, Reino Unido. Pags 75-96
- Brunet M, Casado M, Castro M, Galán P, López J, Martín J, Pastor A, Petisco E, Ramos P, Ribalaygua J, Rodríguez E, Sanz I, Torres L (2009) Generación de escenarios regionalizados de cambio climático para España. Agencia Estatal de Meteorología, Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, España. Pags 158
- Burnham KP, Anderson DR (2002) *Model selection and multi-model inference: a practical information-theoretic approach*, 2a ed. Springer-Verlag, Nueva York, EE.UU. 488 pags
- Dorken ME, Eckert CG (2001) Severely reduced sexual reproduction in northern populations of a clonal plant, *Decodon verticillatus* (Lythraceae). *Journal of Ecology* 89:339-350
- Egley GH, Chandler JM (1983) Longevity of weed seeds after 5.5 years in the stoneville 50-year buried-seed study. *Weed Science* 31:264-270

- Falster DS, Westoby M (2003) Plant height and evolutionary games. *Trends in Ecology & Evolution* 18:337-343
- García D, Zamora R, Gómez JM, Jordano P, Hodar JA (2000) Geographical variation in seed production, predation and abortion in *Juniperus communis* throughout its range in Europe. *Journal of Ecology* 88:436-446
- García-Verdugo C (2011) Intracanalopy plasticity under strong wind conditions in the wild olive tree (*Olea europaea* L.): a conserved response between closely related taxa? *Trees-Structure and Function* 25:509-518
- García-Verdugo C, Fay MF, Granado-Yela C, Casas RR, Balaguer L, Besnard G, Vargas P (2009a) Genetic diversity and differentiation processes in the ploidy series of *Olea europaea* L.: a multiscale approach from subspecies to insular populations. *Molecular Ecology* 18:454-467
- García-Verdugo C, Granado-Yela C, Manrique E, De Casas RR, Balaguer L (2009b) Phenotypic plasticity and integration across the canopy of *Olea europaea* subsp. *guanchica* (Oleaceae) in populations with different wind exposures. *American Journal of Botany* 96:1454-1461
- García-Verdugo C, Méndez M, Velázquez-Rosas N, Balaguer L (2010a) Contrasting patterns of morphological and physiological differentiation across insular environments: phenotypic variation and heritability of light-related traits in *Olea europaea*. *Oecologia* 164:647-655
- García-Verdugo C, Forrest AD, Fay MF, Vargas P (2010b) The relevance of gene flow in metapopulation dynamics of an oceanic island endemic, *Olea europaea* subsp. *guanchica*. *Evolution* 64:3525-3536
- García-Verdugo C, Forrest AD, Balaguer L, Fay MF, Vargas P (2010c) Parallel evolution of insular *Olea europaea* subspecies based on geographical structuring of plastid DNA variation and phenotypic similarity in leaf traits. *Botanical Journal of the Linnean Society* 162:54-63
- Gaston KJ (1990) Patterns in the geographical ranges of species. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* 65:105-129
- Gaston KJ (2003) The structure and dynamics of geographic ranges. Oxford University Press, Oxford, Reino Unido. 278 pags

- Gaston KJ (2009) Geographic range limits: achieving synthesis. *Proceedings of the Royal Society B* 276:1395-1406
- Geber MA, Griffen LR (2003) Inheritance and natural selection on functional traits. *International Journal of Plant Sciences* 164:S21-S42
- Granado-Yela C, García-Verdugo C, Carrillo K, Rubio de Casas R, Kleczkowski LA, Balaguer L (2011) Temporal matching among diurnal photosynthetic patterns within the crown of the evergreen sclerophyll *Olea europaea* L. *Plant Cell and Environment* 34:800-810
- Gratani L, Bombelli A (1999) Leaf anatomy, inclination, and gas exchange relationships in evergreen sclerophyllous and drought semideciduous shrub species. *Photosynthetica* 37:573-585
- Guisan A, Thuiller W (2005) Predicting species distribution: offering more than simple habitat models. *Ecology Letters* 8:993-1009
- Hampe A (2005) Fecundity limits in *Frangula alnus* (Rhamnaceae) relict populations at the species' southern range margin. *Oecologia* 143:377-386
- Hampe A, Petit RJ (2005) Conserving biodiversity under climate change: the rear edge matters. *Ecology Letters* 8:461-467
- Janzen DH (1978) Seeding patterns of tropical trees. En: *Tropical trees as living systems* (Eds. Tomlinson PB, Zimmerman MH). Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido. Pags 83–128
- Jump AS, Woodward FI (2003) Seed production and population density decline approaching the range-edge of *Cirsium* species. *New Phytologist* 160:349-358
- Kato E, Hiura T (1999) Fruit set in *Styrax obassia* (Styracaceae): the effect of light availability, display size, and local floral density. *American Journal of Botany* 86:495-501
- Kawecki TJ (2008) Adaptation to marginal habitats. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 39:321-342
- Lau TC, Stephenson AG (1994) Effects of soil-phosphorus on pollen production, pollen size, pollen phosphorus-content, and the ability to sire seeds in *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae). *Sexual Plant Reproduction* 7:215-220

- Lawton JH (1993) Range, population abundance and conservation. *Trends in Ecology & Evolution* 8:409-413
- Leist N, Krämer S (2003) ISTA Working Sheets on Tetrazolium Testing. ISTA, Zurich
- Lesica P, Allendorf FW (1995) When are peripheral populations valuable for conservation? *Conservation Biology* 9:753-760
- Levin DA, Clay K (1984) Dynamics of synthetic *Phlox drummondii* populations at the species margin. *American Journal of Botany* 71:1040-1050
- Lovett-Doust J (1989) Plant reproductive strategies and resource-allocation. *Trends in Ecology & Evolution* 4:230-234
- Méndez M (1997) Sources of variation in seed mass in *Arum italicum*. *International Journal of Plant Sciences* 158:298-305
- Méndez M, Karlsson PS (2004) Between-population variation in size-dependent reproduction and reproductive allocation in *Pinguicula vulgaris* (Lentibulariaceae) and its environmental correlates. *Oikos* 104:59-70
- Mott DG (1966) The analysis of determination in population systems. En: *Systems Analysis in Ecology* (Ed. Watt KEF). Academic Press, Nueva York, EE.UU. Pags 179-194
- Morin X, Augspurger C, Chuine I (2007) Process-based modeling of species' distributions: what limits temperate tree species' range boundaries? *Ecology* 88:2280-2291
- Muñoz A, Celedon-Neghme C, Cavieres LA, Arroyo MTK (2005) Bottom-up effects of nutrient availability on flower production, pollinator visitation, and seed output in a high-Andean shrub. *Oecologia* 143:126-135
- Nachlas MM, Margulies SI, Seligman AM (1960) Sites of electron transfer to tetrazolium salts in the succinoxidase system. *Journal of Biological Chemistry* 235:2739-2743
- Nams VO, Folkard NFG, Smith JNM (1993) Effects of nitrogen-fertilization on several woody and nonwoody boreal forest species. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique* 71:93-97

- Ne'eman G, Ne'eman R, Ellison AM (2006) Limits to reproductive success of *Sarracenia purpurea* (Sarraceniaceae). *American Journal of Botany* 93:1660-1666
- Norton DA, Kelly D (1988) Mast seeding over 33 years by *Dacrydium cupressinum* Lamb. (rimu) (Podocarpaceae) in New Zealand: the importance of economies of scale. *Functional Ecology* 2:399-408
- Palese AM, Nuzzo V, Favati F, Pietrafesa A, Celano G, Xiloyannis C (2010) Effects of water deficit on the vegetative response, yield and oil quality of olive trees (*Olea europaea* L., cv Coratina) grown under intensive cultivation. *Scientia Horticulturae* 125:222-229
- Pansiot FP, Rebour H (1961) Improvement in Olive Cultivation. FAO Agricultural Studies, FAO, Roma.
- Parra-Tabla V, Bullock SH (2003) Exploring the limiting causes of fruit production in the tropical tree *Ipomoea wolcottiana* Rose (Convolvulaceae). *Plant Ecology* 166:107-115
- Philipp M, Nielsen LR (2010) Reproductive ecology of *Scalesia cordata* (Asteraceae), an endangered species from the Galapagos Islands. *Botanical Journal of the Linnean Society* 162:496-503
- Pigott CD (1989) Factors controlling the distribution of *Tilia cordata* Mill at the northern limits of its geographical range. IV. Estimated ages of the trees. *New Phytologist* 112:117-121
- Pulliam HR (1988) Sources, sinks, and population regulation. *American Naturalist* 132:652-661
- Rey PJ, Alcántara JM (2000) Recruitment dynamics of a fleshy-fruited plant (*Olea europaea*): connecting patterns of seed dispersal to seedling establishment. *Journal of Ecology* 88:622-633
- Rubio de Casas R, Balaguer L, Manrique E, Pérez ME, Vargas P (2002) On the historical presence of the wild olive [*Olea europaea* L. var. *sylvestris* (Miller) Lehr. (Oleaceae)] in the Eurosiberian region of the Iberian Peninsula. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 59:342-344
- Rubio de Casas R, Besnard G, Schonswetter P, Balaguer L, Vargas P (2006) Extensive gene flow blurs phylogeographic but not phylogenetic signal *Olea europaea* L. *Theoretical and Applied Genetics* 113:575-583

Rubio de Casas R, Vargas P, Pérez ME, Manrique E, García-Verdugo C, Balaguer L (2011) Sun and shade leaves of *Olea europaea* respond differently to plant size, light availability and genetic variation. *Functional Ecology* 25: 802-812

Sagarin RD, Gaines SD (2002) The 'abundant centre' distribution: to what extent is it a biogeographical rule? *Ecology Letters* 5:137-147

Samson DA, Werk KS (1986) Size-dependent effects in the analysis of reproductive effort in plants. *American Naturalist* 127:667-680

Sanz-Cortés F, Martínez-Calvo J, Badenes ML, Bleiholder H, Hack H, Llacer G, Meier U (2002) Phenological growth stages of olive trees (*Olea europaea*). *Annals of Applied Biology* 140:151-157

Sexton JP, McIntyre PJ, Angert AL, Rice KJ (2009) Evolution and ecology of species range limits. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 40:415-436

Silvertown J, Gordon DM (1989) A framework for plant behavior. *Annual Review of Ecology and Systematics* 20:349-366

Silvertown J, Franco M, Pisanty I, Mendoza A (1993) Comparative plant demography – relative importance of life-cycle components to the finite rate of increase in woody and herbaceous perennials. *Journal of Ecology* 81:465-476

Sokal RR, Rohlf FJ (1995) *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*, 3a ed. W. H. Freeman and Co., Nueva York, EE.UU. 937 pags

Sugiyama S (2003) Geographical distribution and phenotypic differentiation in populations of *Dactylis glomerata* L. in Japan. *Plant Ecology* 169:295-305

ter Braak CJF, Smilauer P (2002) *CANOCO reference manual and CanoDraw for Windows User's guide: software for canonical ordination, version 4.5*. Microcomputer Power, Ithaca, Nueva York, EE.UU.

Terral JF, Badal E, Heinz C, Roiron P, Thiebault S, Figueiral I (2004) A hydraulic conductivity model points to post-Neogene survival of the Mediterranean olive. *Ecology* 85:3158-3165

Thomas SC (1996) Relative size at onset of maturity in rain forest trees: a comparative analysis of 37 Malaysian species. *Oikos* 76:145-154

Vargas P, Kadereit JW (2001) Molecular fingerprinting evidence (ISSR, Inter-Simple Sequence Repeats) for a wild status of *Olea europaea* L. (Oleaceae) in the Eurosiberian North of the Iberian Peninsula. *Flora* 196:142-152

Vucetich JA, Waite TA (2003) Spatial patterns of demography and genetic processes across the species' range: null hypotheses for landscape conservation genetics. *Conservation Genetics* 4:639-645

Waite S, Hutchings MJ (1982) Plastic energy allocation patterns in *Plantago coronopus*. *Oikos* 38:333-342

Weiner J (1990) Asymmetric competition in plant populations. *Trends in Ecology & Evolution* 5:360-364

Weiner J, Thomas SC (1986) Size variability and competition in plant monocultures. *Oikos* 47:211-222

Weiner J, Campbell LG, Pino J, Echarte L (2009) The allometry of reproduction within plant populations. *Journal of Ecology* 97:1220-1233

Zar JH (1999) *Biostatistical Analysis*, 4a ed. Prentice Hall, Nueva Jersey, EE.UU. 929 pags

7. FIGURAS Y TABLAS

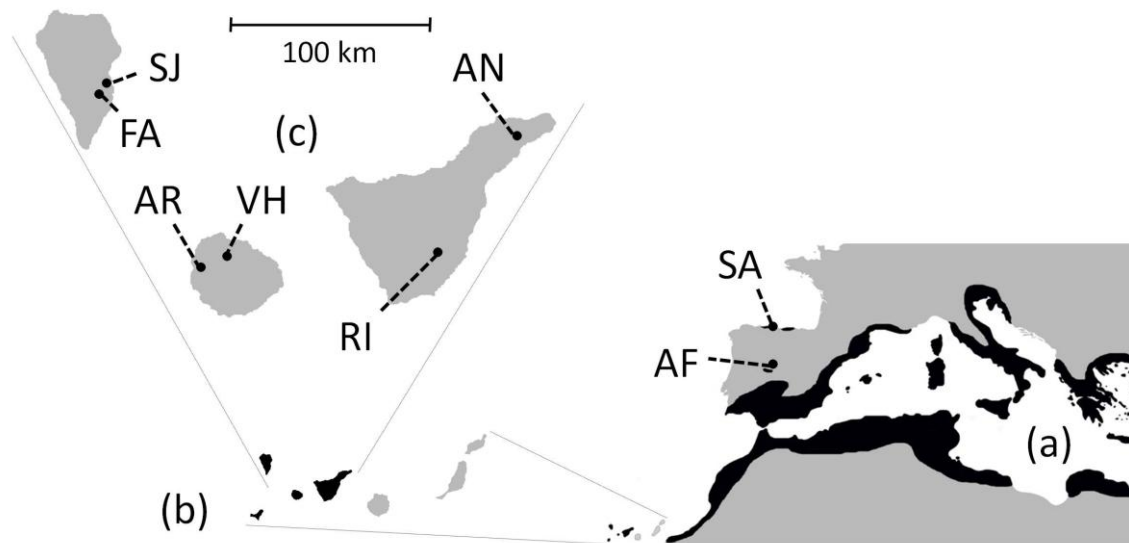


Figura 1. Mapa de **a** distribución del acebuche (*Olea europaea* L.) en la región occidental de la cuenca del Mediterráneo e Islas Canarias (modificado de Rubio de Casas *et al.* 2006) en el que se indican las dos poblaciones ibéricas (SA y AF) **b** distribución del acebuche canario, **c** poblaciones en las islas de Tenerife (AN y RI), La Gomera (VH y AR) y La Palma (FA y SJ; modificado de García-Verdugo *et al.* 2010a). AF: Aldea del Fresno; AN: Anaga; AR: Arure; FA: Finca Amado; RI: El Río; SA: San Antolín; SJ: San José; VH: Vallehermoso.

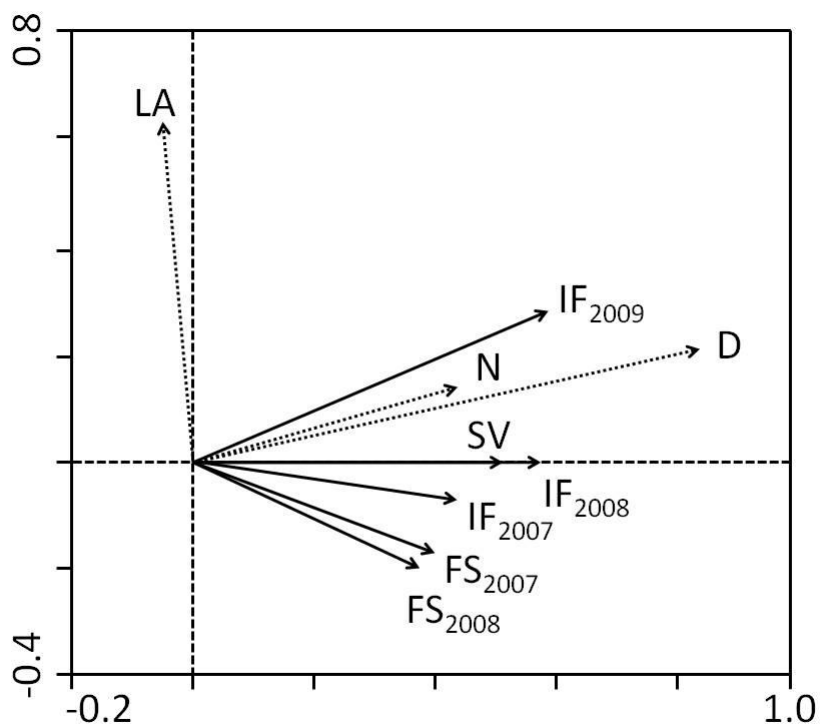


Figura 2. *Bi-plot* que resume el efecto del tamaño de las plantas, sus caracteres foliares y los nutrientes edáficos sobre los diferentes componentes del rendimiento reproductivo, según el análisis de redundancia. Únicamente tres variables ambientales fueron significativas tras el proceso de selección de variables hacia adelante. IF: intensidad de floración; FS: *fruit set*; SV: semillas viables; N: concentración total de nitrógeno; D: diámetro mayor de la copa; LA: área foliar.

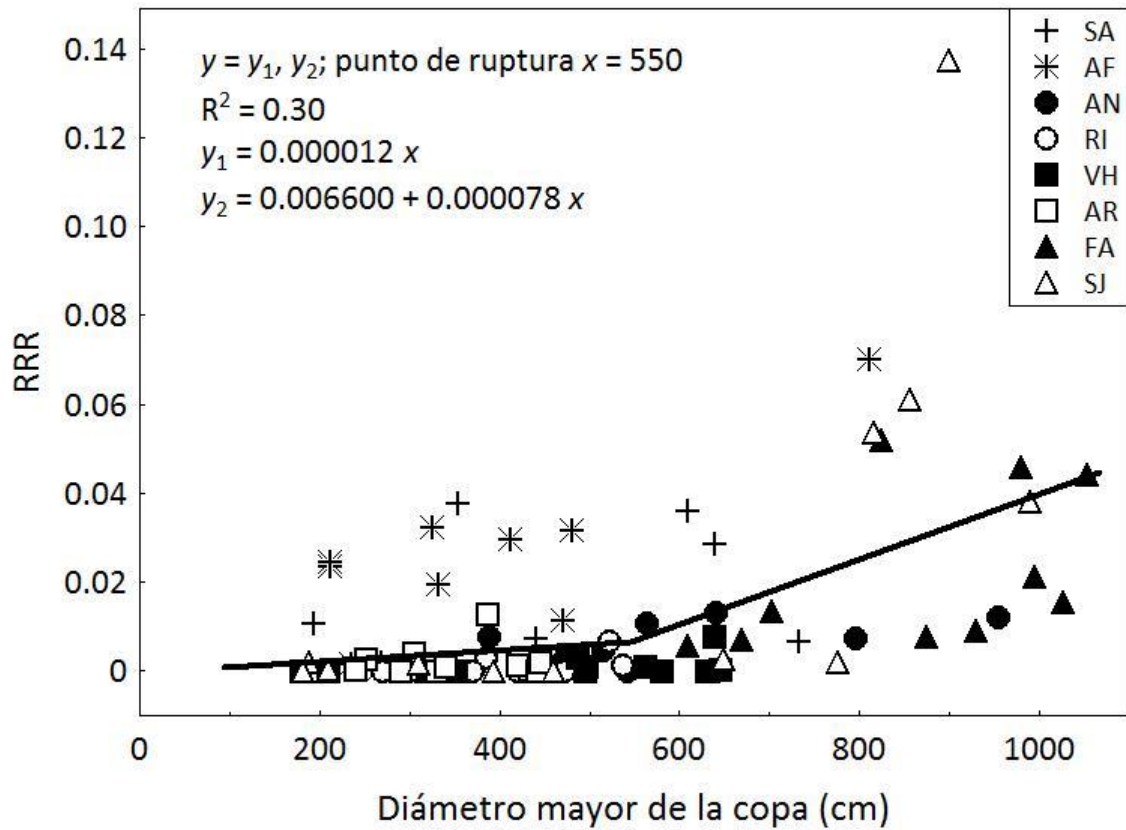


Figura 3. Regresión lineal segmentada que describe la relación entre el tamaño de los acebuches y su rendimiento reproductivo relativo. El tamaño de los individuos fue estimado a través del diámetro mayor de sus copas (D) mientras que el rendimiento reproductivo relativo (RRR) se calculó usando la fórmula siguiente: $RRR = FF \times IF \times propH \times FS$. FF: frecuencia de floración; IF: intensidad de floración; propH: proporción de flores hermafroditas; FS: *fruit set*.

Población (código)	Coordenadas	Altitud (m)	EPT (mm)	Precip (mm)	T (°C)	TM (°C)	Tm (°C)
Aldea del Fresno (AF)	40°20'N, 4°14'O	497	72	515	15.8	38.7	-1.4
Anaga (AN)	28°32'N, 16°10'O	420	75	363	19.4	30.9	11.8
Arure (AR)	28°08'N, 17°19'O	831	70	321	17.7	37	7.7
Finca Amado (FA)	28°38'N, 17°46'O	359	70	627	18.2	32.8	9.5
El Río (RI)	28°08'N, 16°32'O	415	85	112	21.3	35	12
San Antolín (SA)	43°26'N, 4°52'O	10	58	1152	13.2	25.9	0.5
San José (SJ)	28°39'N, 17°46'O	88	80	324	20.4	28.8	12.6
Vallehermoso (VH)	28°11'N, 17°15'O	331	73	368	19	29.7	10.8

Tabla 1. Coordenadas, altitud y variables climáticas en las ocho poblaciones estudiadas. Las variables climáticas fueron proporcionadas por el SIGA (Sistema de Información Geográfica Agraria del Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino de España; <http://sig.marm.es>). EPT: evapotranspiración potencial de Thornthwaite; Precip: precipitación acumulada anual; T: temperatura media anual; TM temperatura media de las máximas; Tm temperatura media de las mínimas.

Año	AF	AN	AR	FA	RI	SA	SJ	VH
propF								
2007	1	0.9	0.364	1	0.273	0.8	0.917	0.583
2008	0.9	0.4	0.727	1	0.273	0.8	0.667	0.083
2009	0.4	0.909	0.643	1	0.583	0.9	0.917	0.273
IF								
2007	0.783 ± 0.252 (10)	0.620 ± 0.309 (9)	0.514 ± 0.241 (4)	0.617 ± 0.197 (10)	0.250 ± 0.144 (3)	0.806 ± 0.259 (8)	0.744 ± 0.308 (11)	0.929 ± 0.101 (7)
2008	0.630 ± 0.232 (9)	0.750 ± 0.215 (4)	0.566 ± 0.289 (8)	0.825 ± 0.169 (10)	0.750 ± 0.220 (3)	0.667 ± 0.318 (8)	0.483 ± 0.406 (8)	0.500 ± 0.000 (1)
2009	0.764 ± 0.214 (4)	0.713 ± 0.304 (9)	0.440 ± 0.344 (6)	0.933 ± 0.161 (10)	0.458 ± 0.287 (6)	0.676 ± 0.309 (9)	0.843 ± 0.349 (11)	0.657 ± 0.397 (3)
FS								
2007	0.060 ± 0.031 (10)	0.013 ± 0.010 (7)	0.005 ± 0.006 (4)	0.020 ± 0.023 (10)	0.004 ± 0.004 (3)	0.041 ± 0.027 (8)	0.107 ± 0.044 (4)	0 (5)
2008	0.067 ± 0.038 (8)	0 (4)	0.002 ± 0.003 (4)	0.031 ± 0.030 (7)	0 (3)	0.020 ± 0.018 (7)	0.080 ± 0.041 (3)	0 (1)
SV								
2007	0.235 ± 0.115	0.518 ± 0.383	0.643 ± 0.171	0.597 ± 0.199	0.045 ± 0.064	0.367 ± 0.261 (6/85)	0.355 ± 0.107	0

Tabla 2. Valores poblacionales en los años de estudio de la proporción de árboles florecidos (propF), intensidad de floración (IF), *fruit set* (FS) y semillas viables (SV). Se incluye la desviación típica (\pm DT) cuando los valores son promedios poblacionales, así como el tamaño de la muestra entre paréntesis. En el caso de la variable SV, el primer número entre paréntesis indica el número de árboles en los que se recogieron frutos y el segundo el número de frutos totales recogidos en la población). AF: Aldea del Fresno; AN: Anaga; AR: Arure; FA: Finca Amado; RI: El Río; SA: San Antolín; SJ: San José; VH: Vallehermoso.

	IF	FS	SV
	pComp 1	pComp 1	pComp 1
PAR	-0.524	0.161	0.619
HR suelo	-0.166	0.731	0.276
T aire	0.348	0.656	-0.645
RH aire	0.759	-0.1	0.353
R²	0.826	0.728	0.8
p	0.012	0.031	0.016

Tabla 3. Resultados de las regresiones por mínimos cuadrados parciales en los que se implementaron la intensidad de la floración (IF), el *fruit set* (FS) y semillas viables (SV) en 2007 en las poblaciones de las Islas Canarias como variables dependientes, y las cuatro variables que describen el micro-ambiente en esos estados fenológicos como variables independientes. pComp 1: peso de cada variable en el primer componente de la regresión (aquellos pesos superiores a 0.20 se indican en negrita); R²: proporción de la varianza en la variable respuesta explicada por el componente de la regresión. PAR: radiación fotosintéticamente activa; HR suelo: contenido hídrico del suelo a 50 cm de profundidad; HR aire: humedad relativa del aire; T aire: temperatura del aire.

Aldea del Fresno				El Río					
	propF	PF	propH	FS		propF	PF	propH	FS
propF.....	1.27				propF.....	0.80			
PF.....	11.66	50.72			PF.....	14.61	67.16		
propH.....	1.98	12.07	1.84		propH.....	1.15	9.62	0.86	
FS.....	-2.39	12.14	0.46	10.25	FS.....	0.46	4.07	0.85	0.42

Anaga				San Antolín					
	propF	PF	propH	FS		propF	PF	propH	FS
propF.....	0.75				propF.....	0.66			
PF.....	10.06	44.42			PF.....	10.97	51.99		
propH.....	2.04	15.67	2.00		propH.....	0.99	8.19	0.60	
FS.....	0.66	14.42	3.34	6.65	FS.....	2.26	12.02	3.19	9.12

Arure				San José					
	propF	PF	propH	FS		propF	PF	propH	FS
propF.....	0.81				propF.....	0.43			
PF.....	12.93	64.03			PF.....	5.61	39.74		
propH.....	1.30	11.62	0.92		propH.....	1.00	5.39	0.80	
FS.....	0.61	6.37	0.51	0.92	FS.....	2.44	28.75	2.70	13.13

Finca Amado				Vallehermoso					
	propF	PF	propH	FS		propF	PF	propH	FS
propF.....	0.00				propF.....	0.56			
PF.....	0.00	8.39			PF.....	11.80	75.01		
propH.....	0.00	0.30	0.05		propH.....	0.90	10.72	0.81	
FS.....	0.00	21.32	0.57	69.37	FS.....	0.02	0.15	0.02	0.00

Tabla 4. Porcentaje de varianza en el rendimiento reproductivo absoluto (RRA), por poblaciones, explicado por cada uno de sus componentes. Se muestra la varianza (en negrita; en las diagonales) y la covarianza ($\times 2$; debajo de la diagonal) de los datos transformados logarítmicamente. Proporción de árboles florecidos (propF); producción de flores (PF), proporción de flores hermafroditas (propH) y *fruit set* (FS).

		Intervalo de confianza del 95%			Error estándar	Estadístico de Wald	p
		Estimador	Límite inferior	Límite superior			
Umbral	Categoría = 0	8.92	2.31	15.54	3.38	6.99	0.008
	Categoría= 1	10.13	3.23	17.03	3.52	8.29	0.004
	Categoría= 2	12.3	4.76	19.83	3.85	10.23	0.001
Variable	N	0.23	0.07	0.39	0.08	8.22	0.004
	P	-0.13	-0.37	0.1	0.12	1.23	0.268
	D	0.01	0	0.02	0	5.79	0.016
	Alt	0	0	0.01	0	0.14	0.706
	LA	0.01	-0.01	0	0	4.08	0.043
	SLA	0.79	0.11	1.46	0.35	5.19	0.023
	Ang	0.09	-0.01	0.18	0.05	2.92	0.087

Tabla 5. Resultados de la regresión ordinal múltiple. Las variables independientes incluidas en el modelo fueron los nutrientes en el suelo (N y P), tamaño de la planta (Alt y D) y los caracteres foliares (LA y SLA). Las variables N, D, LA y SLA fueron significativas en el modelo (en negrita). La interpretación de los coeficientes del modelo es compleja debido a la naturaleza de la función de vínculo (tipo *Cauchit*). No obstante, los valores positivos en los coeficientes indican una relación positiva entre las variables independientes y la frecuencia de floración, de modo que cuanto mayor sea el valor del coeficiente mayor es la probabilidad de que el individuo se reprodujera con más frecuencia.

CAPÍTULO VI

Discusión general y conclusiones

1. DISCUSIÓN GENERAL

A lo largo de los diferentes capítulos de la presente memoria doctoral se han identificado relaciones de diversa naturaleza entre la variación fenotípica en el acebuche (*Olea europaea* L.) y el éxito reproductor de sus individuos.

En los dos primeros capítulos se señala que la expresión de variación fenotípica modular, tanto en módulos vegetativos (Capítulo II) como en módulos reproductivos (Capítulo III), puede causar la aparición de fenotipos modulares funcionalmente distintos dentro de una misma planta. En el Capítulo II se describe que dicha segregación funcional en módulos vegetativos puede afectar al balance total de carbono de la planta lo que, en última instancia, afectaría a su potencial reproductivo. En el capítulo III se detalla que segregación funcional en módulos reproductivos puede suponer la segregación espacial efectiva de las funciones sexuales masculina y femenina, lo que podría favorecer la fecundación por polen de otras plantas y/o la dispersión de semillas. En los dos últimos capítulos se subraya que la existencia de variación fenotípica entre individuos ayuda a explicar las diferencias que se encuentran entre los mismos en su funcionamiento reproductivo. Concretamente, la variabilidad encontrada entre acebuches en la expresión sexual (Capítulo IV) y el rendimiento reproductivo (Capítulo V) se explica, al menos en parte, por las diferencias entre los mismos en su tamaño y en la capacidad de sus hojas para la captura de luz.

Variación fenotípica y funcional de módulos vegetativos y reproductivos

“What constitutes the parts is defined by the whole that is being considered. Moreover, parts acquire properties by virtue of being parts of a particular whole, properties they do not have in isolation or as parts of another whole”; Levins y Lewontin 1985.

Los distintos módulos de una planta, independientemente de su naturaleza, se producen en posiciones y momentos diferentes, lo que puede propiciar la aparición de variantes fenotípicas en los mismos, como se muestra en los Capítulos II y III. Este fenómeno, conocido como contingencia ontogenética (Diggle 1997) es el responsable, por ejemplo, de que se observe frecuentemente una reducción en las dimensiones o el número de las estructuras reproductivas de las flores, desde las bases de las inflorescencias hacia sus ápices (véase Diggle 2003). Cada flor se produce en una posición concreta de la arquitectura de la inflorescencia y esto motiva desigualdades en la accesibilidad a los recursos entre ellas (Diggle 1997, 2003). De igual manera, como consecuencia de la contingencia ontogenética, puede aparecer cierta variabilidad fenotípica entre módulos vegetativos. Por ejemplo, las hojas que se desarrollan en las capas más expuestas de los árboles

suelen ser más pequeñas, más gruesas y más verticales que las que se producen en las partes menos expuestas, ya que las primeras se producen en ambientes de alta irradiación y las segundas en ambientes de baja irradiación (Jurik *et al.* 1979; Sack *et al.* 2006; Valladares y Niinemets 2008). La existencia de variación fenotípica modular (particularmente si supone variabilidad funcional) pone en entredicho la interpretación del crecimiento modular de las plantas basada en la producción redundante de estructuras (White 1979; Watkinson y White 1986).

Los resultados del Capítulo III sugieren que la segregación de las funciones sexuales dentro de las inflorescencias del acebuche se debe a un fenómeno de dominancia apical. *O. europaea* es una especie andromonoica, lo que supone que, mientras todas sus flores poseen polen (tanto las flores hermafroditas como las masculinas), solamente algunas producen primordios seminales (las flores hermafroditas). Los resultados de este capítulo indican que los acebuches invirtieron una cantidad concreta de recursos por cada flor que produjeron, pero que la competencia por dichos recursos fue desigual entre las diferentes flores que componían cada inflorescencia. Así, las flores que se produjeron en la posición apical fueron las que secuestraron una mayor proporción de los recursos que llegaron a la inflorescencia. Esto se tradujo en que las flores apicales tuvieron una probabilidad mayor de ser hermafroditas, y que dicha probabilidad aumentó a medida que aumentaba la cantidad de flores en la inflorescencia. En el resto de posiciones de las panículas, la probabilidad de producir flores hermafroditas decreció desde la base hacia el ápice, probablemente porque las posiciones basales se encuentran más próximas a la fuente de recursos (*i.e.*, la rama). En consonancia con lo que describen otros autores (*e.g.*, Ashman y Hitchens 2000; Diggle y Miller 2004), los efectos de posición dentro de las inflorescencias descritos en este capítulo reflejan que la sinergia entre la plasticidad modular y la heterogeneidad en el reparto de recursos puede suponer una segregación espacial de las funciones sexuales masculina y femenina. A su vez, la segregación sexual tan particular en las panículas de los acebuches sugiere que esta podría tener efectos relevantes en el funcionamiento reproductivo de la planta. En concreto, la producción preferente de flores hermafroditas en las posiciones más expuestas de las inflorescencias (*i.e.*, las posiciones apicales) podría favorecer una mayor eficiencia en la fecundación con polen de otras plantas o un incremento en las posibilidades de dispersión de semillas por aves.

Los resultados del Capítulo II, por su parte, sugieren que la sinergia entre la plasticidad modular (en rasgos foliares) y la heterogeneidad en el ambiente lumínico no sólo conlleva la aparición de módulos funcionalmente diferentes sino que, además, puede promover la aparición de estrategias cooperativas entre los distintos módulos, y que estas pueden incrementar la efectividad en la captura de recursos. Hasta la fecha, la aparición de estrategias cooperativas sólo había sido

documentada en plantas clonales. En estas plantas, la coordinación entre módulos que crecen en ambientes heterogéneos permite su especialización diferencial, *i.e.*, un reparto de tareas (Stuefer *et al.* 1996; Stuefer 1998). Como consecuencia de la división de trabajo, la captura de recursos en el conjunto de la planta clonal aumenta (Stuefer *et al.* 1996; Stuefer 1998) lo que, presumiblemente, propicia un mayor potencial reproductivo. Al igual que las plantas clonales, los árboles manifiestan alta plasticidad modular y sus módulos se desarrollan en ambientes herterogéneos (Petit y Hampe 2006; Rubio de Casas *et al.* 2007; García-Verdugo *et al.* 2009). No obstante, se asume que la variación en el fenotipo foliar dentro de las copas de los árboles se debe únicamente a la aparición de gradientes ambientales en el interior de las mismas, especialmente a la reducción lumínica inherente al crecimiento volumétrico como se explicaba con anterioridad (Sack *et al.* 2006). Sin embargo, en el Capítulo II se describe que la expresión de diferentes fenotipos foliares en las capas más expuestas y las más sombreadas de la copa de un acebuche, permitió que los patrones diarios de captación de luz, fijación de carbono y exportación de carbohidratos en dichas capas fueran complementarios entre sí a lo largo del día. Estos resultados sugieren que las variaciones en el fenotipo de las hojas dentro de la copa (que suponen variaciones en el balance diario de carbono), no se deben únicamente a la respuesta de las mismas a las condiciones lumínicas locales. Por el contrario, apuntan a la existencia de mecanismos de coordinación entre poblaciones de hojas que experimentan ambientes de luz contrastados dentro de la copa. Esta hipótesis se corroboró en este mismo capítulo gracias al estudio de los mismos patrones diarios en las plantas clonadas en el vivero y que se desarrollaron en ambientes equivalentes a los experimentados en las capas más expuestas y más sombreadas del acebuche en campo. Dichas plantas, probablemente porque no tenían posibilidad de coordinarse entre ellas ya que no estaban interconectadas, no manifestaron patrones complementarios, sino que su respuesta fenotípica y fotosintética fue similar y proporcional a las condiciones lumínicas de los tratamientos aplicados en el vivero.

En el capítulo IV también se muestran resultados que sugieren que las respuestas fenotípicas y funcionales en las distintas partes de las copas de los acebuches no siempre evidencian una mera respuesta a las condiciones ambientales en cada una de ellas. En este capítulo se investigó si existía una relación directa entre la productividad del ambiente lumínico donde se desarrollaban las distintas ramas del acebuche y la cantidad de recursos que se destinaron para la reproducción. En la mayor parte de las coníferas, la expresión sexual está segregada de manera muy patente entre distintas partes de sus copas (Ross y Pharis 1987; Arista y Talavera 1997; Ne'eman *et al.* 2011), y muchos autores vinculan dicha segregación sexual a la divergencia en los ambientes lumínicos entre las distintas partes de la copa, sugiriendo que las ramas más vigorosas de la parte superior aseguran la disponibilidad de recursos y por eso se ve favorecida la producción de estructuras femeninas y las

subsiguiente semillas, mientras que en las inferiores los recursos son más limitados con lo que se promueve la producción de estructuras masculinas (Arista y Talavera 1997; Ne'eman *et al.* 2011). Por ello, la hipótesis que se planteó en el Capítulo IV fue que el número de inflorescencias producidas las ramas de los acebuches, así como el número de flores de dichas inflorescencias y el porcentaje de estas que son hermafroditas, debería decrecer desde las ramas que se producen en el sector de las copas que recibe más luz (*i.e.*, el sector superior de la cara sur de la copa) hasta el sector más sombreado (*i.e.*, el sector inferior de la cara norte). Sin embargo, no se encontró, en ninguno de los años estudiados, una sintonía entre la disponibilidad de luz y la inversión en flores (y su sexo). Estos resultados sugieren que los recursos que cada planta invierte en reproducción no dependen de la productividad del ambiente en cada región de su copa sino, más bien, de los recursos de los que dispone en otros sitios de reserva. De hecho, el análisis a nivel de rama del reparto de recursos en el Capítulo III, también indica que los recursos que destinan a la producción de flores, y de sus estructuras sexuales, no son los de adquisición reciente por las hojas de las propias ramas, sino que provienen de otros lugares diferentes de la planta. No obstante, estos resultados no permitieron explicar la variación observada en la inversión reproductiva en los distintos sectores de las copas de los acebuches. En el caso de las coníferas, una explicación alternativa a la segregación sexual mediada por la disponibilidad de luz es que la producción de las estructuras masculinas por debajo de las femeninas disminuye la auto-polinización e incrementa la polinización por polen de otras plantas (Faegri y Van der Pijl 1979; Ne'eman *et al.* 2011).

Variación fenotípica inter-individual, expresión sexual y rendimiento reproductivo

“The organism is the consequence of a historical process that goes on from the moment of conception until the moment of death; at every moment gene, environment, chance, and the organism as a whole are all participating”; Levins y Lewontin 1985.

En los Capítulos IV y V de la presente memoria doctoral se describe cómo el funcionamiento reproductivo en *Olea europaea* L., tanto en términos de expresión sexual (Capítulo IV) como de rendimiento reproductivo (Capítulo V), pone de manifiesto la economía de recursos de cada planta. Esta economía de recursos, en plantas longevas como el acebuche, presenta tres facetas que actúan simultáneamente: la disponibilidad de recursos en el medio (*i.e.*, condiciones ambientales locales y regionales), la eficacia en la captura de dichos recursos (*i.e.*, expresión de fenotipos más o menos eficientes en dicha tarea) y la gestión histórica de los recursos (*i.e.*, sucesivas decisiones de inversión en crecimiento vegetativo y reproducción).

Son muchos los trabajos que han demostrado correlaciones entre la variabilidad ambiental y el funcionamiento reproductivo en diversas especies de plantas. Por ejemplo, la expresión sexual puede variar en función del contenido hídrico del suelo (Freeman *et al.* 1981; Bertin 2007), la cantidad de nutrientes edáficos (Emms 1993; Wise *et al.* 2008), la intensidad de luz (Bertin 1982; Zimmerman 1991) o la densidad de plantas en los alrededores (Arista y Talavera 1997; Calvino y Galetto 2010). Por su parte, los diferentes componentes del rendimiento reproductivo, como la frecuencia o intensidad de floración (Levin y Clay 1984; Morin *et al.* 2007), la fecundidad (Dorken y Eckert 2001; Angert y Schemske 2005), o la viabilidad o germinabilidad de las semillas (García *et al.* 2000; Jump y Woodward 2003; Sugiyama 2003), también pueden variar en consonancia con las características ambientales. Los resultados de los Capítulos IV y V destacan la importancia, en *O. europaea*, de la heterogeneidad en los nutrientes edáficos, así como el papel crucial de las condiciones ambientales que preceden a la floración, la fructificación y la formación de semillas. Sin embargo, en ninguno de los trabajos que, hasta la fecha, han investigado la vinculación entre las condiciones ambientales y el funcionamiento reproductivo, se examinan las posibles diferencias entre las plantas en la eficacia de captura de los distintos recursos. En los Capítulos IV y V se describe que la existencia de variación fenotípica entre individuos en los caracteres funcionales foliares relacionados con la canalización de la energía fue capaz de explicar gran parte de la variación observada en su expresión sexual y rendimiento reproductivo. Concretamente, la expresión de fenotipos foliares más eficientes (propios de ambientes más favorables) se relacionó directamente con la feminidad de las plantas y los rendimientos reproductivos más altos. Estos resultados subrayan la importancia de los ajustes fenotípicos por parte de las plantas a la hora de determinar su grado de adecuación al medio en el que se desarrollan. Por ello, la incorporación de medidas de eficacia en la captura de recursos en estudios sobre la biología reproductiva de las plantas podría ayudar, por ejemplo, a mejorar las predicciones de los modelos de funcionamiento reproductivo, a encontrar diferencias inter-poblacionales en la expresión de variación fenotípica de rasgos funcionales e, incluso, a señalar posibles procesos de adaptación local en determinadas poblaciones.

No obstante, en las plantas perennes (particularmente en las longevas) parece crucial la gestión de los recursos que efectúan a lo largo de sus vidas, y que pasa, inevitable, por establecimiento de una estrategia de inversión. En términos generales, se podría decir que las plantas acumulan recursos (faceta ya descrita en el párrafo anterior) para luego invertirlos en crecimiento, mantenimiento, defensa y reproducción. En lo que se refiere a la última faceta, la reproducción, la gran mayoría de las plantas poseen simultáneamente las funciones femenina y masculina (Yampolsky y Yampolsky 1922), con lo que han de decidir el reparto entre cada una de

ellas. Charnov (1982) y Bazzaz (1997), entre otros, generaron un cuerpo teórico gracias el que, si se consideran el agua, los nutrientes minerales y los foto-asimilados como las divisas con que las plantas compran eficacia biológica, se puede predecir la evolución de los patrones de asignación de recursos que optimizan la eficacia biológica en un ambiente concreto. No obstante, las condiciones del medio siempre están sujetas, en mayor o menor medida, a una cierta incertidumbre, de modo que es frecuente que cambie la oferta ambiental, por lo que es necesario que se establezcan vínculos o compromisos entre las distintas funciones de la planta. De hecho, se han descrito multitud de vínculos de diversa naturaleza como la relación entre el tamaño de la semilla y el número de semillas, o entre inversión en defensa y reproducción (véase Ávila-Sakar *et al.* 2001 y los estudios citados en este trabajo). Por su parte, los resultados del Capítulo IV señalan que la producción de frutos limitó la inversión reproductiva en el siguiente evento reproductivo, mientras que tanto en ese Capítulo como en el Capítulo V, se destaca que el funcionamiento reproductivo de *O. europaea* estuvo tremendamente condicionado por el tamaño de la planta (*i.e.*, compromiso entre inversión en crecimiento y reproducción).

2. CONCLUSIONES

La especialización funcional coordinada de las hojas dentro de la copa permite la división de tareas en *Olea europaea* L. El ajuste morfo-fisiológico foliar favorece que las hojas de sol asimilen más durante la mañana y la tarde, y que las de sombra asimilen más a medio día. Esta segregación temporal se traduce en la aparición de un patrón complementario de exportación de carbohidratos, lo que puede incrementar el rendimiento fotosintético del conjunto de la planta a lo largo del día.

La segregación sexual dentro de las inflorescencias de *O. europaea* se debe a fenómenos de dominancia apical y competencia intra-inflorescencia por una cantidad finita de recursos reproductivos, lo que se traduce en que las flores que se producen en las posiciones de las panículas que reciben más recursos (la apical y, en menor grado, las basales) tienen más probabilidades de desarrollarse como hermafroditas.

Los recursos afectan al proceso reproductivo (concretamente a la expresión sexual y el rendimiento reproductivo) en *O. europaea* de tres maneras diferentes. En primer lugar, la heterogeneidad en la distribución de los recursos, a escala local y regional, motiva la aparición de diferencias reproductivas entre individuos. En segundo lugar, existe una relación directa entre la expresión de caracteres fenotípicos morfo-funcionales y la expresión sexual y el rendimiento

reproductivo. En tercer lugar, ambos aspectos reproductivos están relacionados con el tamaño de la planta puesto que este resume la cantidad de recursos almacenados por la misma y las posibilidades de captación de nuevos recursos.

No todas las poblaciones periféricas de *O. europaea* se encuentran en hábitats marginales para la especie. La influencia oceánica en determinados enclaves finícolas permite que el rendimiento reproductivo de los acebuches no se vea reducido drásticamente. No obstante, como consecuencia de la estrecha vinculación entre el tamaño de los acebuches y su funcionamiento reproductivo, cualquier alteración (natural o antrópica) en la jerarquía de tamaños en poblaciones finícolas podría precipitar su extinción o limitar su expansión en un marco de cambio climático.

3. BIBLIOGRAFÍA

- Angert AL, Schemske DW (2005) The evolution of species' distributions: reciprocal transplants across the elevation ranges of *Mimulus cardinalis* and *M. lewisii*. *Evolution* 59:1671-1684
- Arista M, Talavera, S (1997) Gender expression in *Abies pinsapo* Boiss, a Mediterranean fir. *Annals of Botany* 79:337-342
- Ashman TL, Hitchens MS (2000) Dissecting the causes of variation in intra-inflorescence allocation in a sexually polymorphic species, *Fragaria virginiana* (Rosaceae). *American Journal of Botany* 87:197-204
- Ávila-Sakar G, Krupnick GA, Stephenson AG (2001) Growth and resource allocation in *Cucurbita pepo* ssp *texana*: effects of fruit removal. *International Journal of Plant Sciences* 162:1089-1095
- Bazzaz F (1997) Allocation of resources in plants: state of the science and critical questions. En: *Plant resource allocation* (Eds. Bazzaz F, Grace J). Academic Press, Nueva York, EE.UU. Pags 1-37
- Bertin RI (1982) The ecology of sex expression in red buckeye. *Ecology*, 63:445-456
- Bertin RI (2007) Sex allocation in *Carex* (Cyperaceae): effects of light, water, and nutrients. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique* 85:377-384.

- Calvino A, Galetto, L (2010) Variation in sexual expression in relation to plant height and local density in the andromonoecious shrub *Caesalpinia gilliesii* (Fabaceae). *Plant Ecology* 209:37-45
- Charnov EL (1982) The theory of sex allocation. Princeton University Press, Princeton, Nueva Jersey, EE.UU. 355 Pags
- Diggle PK (1997) Ontogenetic contingency and floral morphology: the effects of architecture and resource limitation. *International Journal of Plant Sciences* 158:S99-S107
- Diggle PK (2003) Architectural effects on floral form and function: a review. En: Deep morphology: toward a renaissance of morphology in plant systematics (Eds. T. Stuessy T, Hörandl E, Mayer V). Koeltz, Königstein
- Diggle PK, Miller JS (2004) Architectural effects mimic floral sexual dimorphism in *Solanum* (Solanaceae). *American Journal of Botany* 91:2030-2040
- Dorken ME, Eckert CG (2001) Severely reduced sexual reproduction in northern populations of a clonal plant, *Decodon verticillatus* (Lythraceae). *Journal of Ecology* 89:339-350
- Emms SK (1993) Andromonoecy in *Zigadenus paniculatus* (Liliaceae): spatial and temporal patterns of sex allocation. *American Journal of Botany* 80:914-923
- Faegri I, Van der Pijl L (1979) The principles of pollination ecology. 3ª ed. Pergamon Press, Oxford, Reino Unido. 244 pags
- Freeman DC, McArthur ED, Harper KT, Blauer AC (1981) Influence of environment on the floral sex ratio of monoecious plants. *Evolution* 35:194-197
- García D, Zamora R, Gómez JM, Jordano P, Hódar JA (2000) Geographical variation in seed production, predation and abortion in *Juniperus communis* throughout its range in Europe. *Journal of Ecology* 88:436-446
- García-Verdugo C, Granado-Yela C, Manrique E, de Casas RR, Balaguer L (2009) Phenotypic plasticity and integration across the canopy of *Olea europaea* subsp. *guanchica* (Oleaceae) in populations with different wind exposures. *American Journal of Botany* 96:1454-1461
- Jump AS, Woodward FI (2003) Seed production and population density decline approaching the range-edge of *Cirsium* species. *New Phytologist* 160:349-358

- Jurik TW, Chabot JF, Chabot BF (1979) Ontogeny of photosynthetic performance in *Fragaria virginiana* under changing light regimes. *Plant Physiology* 63:542-547
- Levin DA, Clay K (1984) Dynamics of synthetic *Phlox drummondii* populations at the species margin. *American Journal of Botany* 71:1040-1050
- Levins R, Lewontin C (1985) *The Dialectical Biologist*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, EE.UU. 303 pags
- Morin X, Augspurger C, Chuine I (2007) Process-based modeling of species' distributions: what limits temperate tree species' range boundaries? *Ecology* 88:2280-2291
- Ne'eman G, Goubitz S, Werger MJA, Shmida A (2011) Relationships between tree size, crown shape, gender segregation and sex allocation in *Pinus halepensis*, a Mediterranean pine tree. *Annals of Botany* 108:197-206
- Petit RJ, Hampe A (2006) Some evolutionary consequences of being a tree. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 37:187-214
- Ross SD, Pharis RP (1987) Control of sex expression in conifers. *Plant Growth Regulation* 6:37-60
- Rubio de Casas R, Vargas P, Pérez-Corona E, Manrique E, Quintana JR, García-Verdugo C, Balaguer L (2007) Field patterns of leaf plasticity in adults of the long-lived evergreen *Quercus coccifera*. *Annals of Botany* 100:325-334
- Sack L, Melcher PJ, Liu WH, Middleton E, Pardee T (2006) How strong is intracanalopy leaf plasticity in temperate deciduous trees? *American Journal of Botany* 93:829-839
- Stuefer JF, DeKroon H, During HJ (1996) Exploitation of environmental heterogeneity by spatial division of labour in a clonal plant. *Functional Ecology* 10:328-334
- Stuefer JF (1998) Two types of division of labour in clonal plants: benefits, costs and constraints. *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics* 1:47-60
- Sugiyama S (2003) Geographical distribution and phenotypic differentiation in populations of *Dactylis glomerata* L. in Japan. *Plant Ecology* 169:295-305
- Valladares F, Niinemets U (2008) Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 39:237-257

- Watkinson AR, White J (1986) Some life-history consequences of modular construction in plants. Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences 313:31-51
- White J (1979) The plant as a metapopulation. Annual Review of Ecology and Systematics 10: 109-145
- Wise MJ, Coffey LE, Abrahamson WG (2008) Nutrient stress and gall flies interact to affect floral-sex ratio in gynomonocious *Solidago altissima* (Asteraceae). American Journal of Botany 95:1233-1239
- Yampolsky C, Yampolsky H (1922) Distribution of sex forms in the phanerogamic flora. Bibliotheca Genetica 3:1-62
- Zimmerman JK (1991) Ecological correlates of labile sex expression in the orchid *Catasetum viridiflavum*. Ecology 72:597-608

“It always seems impossible until it's done” (Nelson Mandela)