

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



TESIS DOCTORAL

ECOLOGIA DE LA FASE GAMETOFITICA Y ESPOROFITICA DE ESPECIES
TEMPLADAS DE HELECHOS RUPICOLAS DEL GENERO *ASPLENIUM* L.

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

Andrea Seral Puyoles

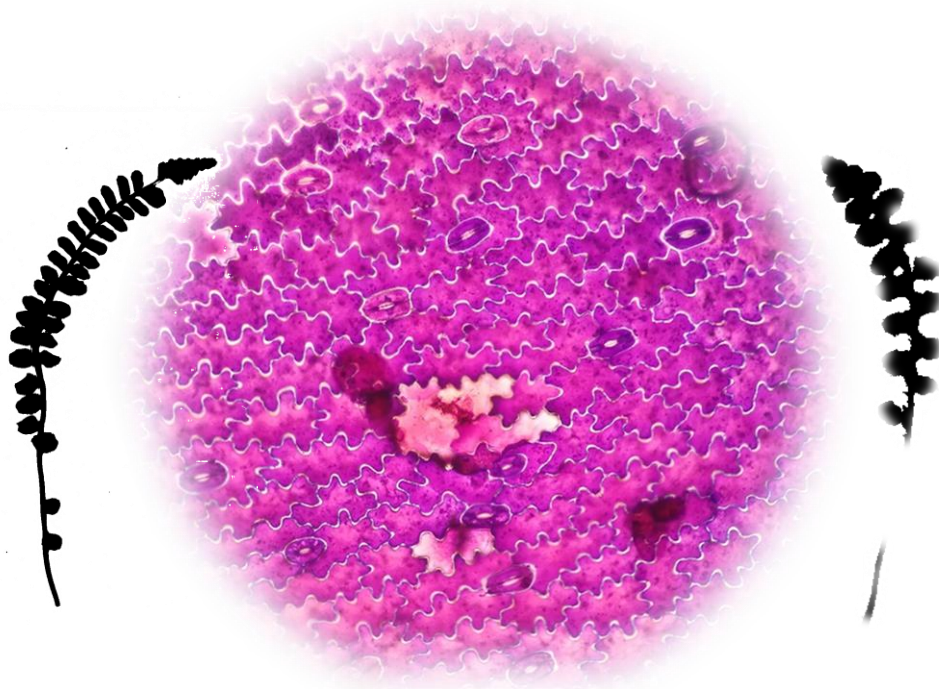
DIRECTORES

Antonio Murciano Cespedosa

María Vicent Fernández

Francisco José Cabezas Fuentes

ECOLOGIA DE LA FASE GAMETOFITICA Y
ESPOROFITICA DE ESPECIES TEMPLADAS DE
HELECHOS RUPICOLAS DEL GENERO *ASPLENIUM* L.



TESIS DOCTORAL

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

ANDREA SERAL PUYOLES

Directores

Antonio Murciano Cespedosa

María Vicent Fernández

Francisco José Cabezas Fuentes



Madrid, 2021.

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

AGRADEMIENTOS

Me hubiera gustado que Jose María hubiera podido leer este trabajo, al final he conseguido sacar algo adelante, él lo tenía claro yo no tanto. Finalmente, como tantas otras veces tenía razón y aquí estamos. El último periodo se me ha hecho bastante difícil ya que, en muchas ocasiones, me han faltado sus consejos, comprensión y el ánimo que continuamente me daba para continuar. Sin embargo, su recuerdo me ha ayudado a sacar fuerza y conseguir muy poco a poco salir adelante, se lo merecía. Llegados a este punto no voy a negar mi tristeza, esto lo comenzamos juntos y ahora ya no está, pero a la vez estoy contenta porque sea como sea he conseguido llegar al final y sé que él se sentiría tremendamente orgulloso. No tengo palabras para agradecer todo lo que Jose María hizo por mí, sin él no hubiera comenzado esta etapa, yo no estaría aquí y me aventuraría a decir que no sería la persona que soy hoy. Gracias por todo Jose María. Nunca te olvidaré.

A pesar de que Jose María ya no está, a él hubiera gustado saber que no he estado sola y que hay gente que me ha ayudado y acompañado y, por todo, les estaré eternamente agradecida (puedo afirmar que él también lo estaría).

Entre ellos cabe destacar la ayuda de mi tutor y director Antonio Murciano alias el esporangio de oro (este título lo obtuvo de manera más que merecida en la primera edición del curso de helechos). El esporangio siempre ha estado dispuesto a ayudarme cuando lo he necesitado y, sin sus aportes, este trabajo no hubiera podido salir adelante.

Además, quiero agradecer la ayuda y el compromiso que adquirieron María Vicent y Francisco Cabezas en aquel momento tanto complicado. Ambos no dudaron en ayudarme y convertirse en mis nuevos directores a pesar de la etapa crítica en la que me encontraba. Sin ellos tampoco estaría aquí. Gracias de corazón.

No podría olvidarme de Carmen Prada y Maria Puelles, mujeres buenas y fuertes donde las haya. Carmen siempre ha estado dispuesta a ayudarnos en todo lo que hemos necesitado, tanto a mí como al resto de mis compañeros/as y creo que desde que Jose María nos dejó para todos ha sido un pilar fundamental. Me alegro de haber podido conocer mejor a María Puelles, una persona encantadora, que siempre me recuerda lo mucho que Jose María confiaba en mí y no sabe lo que esto me anima y ayuda.

Agradecer las aportaciones inestimables que han realizado a este trabajo de Abel Sánchez, Francisco Conejero y Amaya de Cos Gandoy, las cuales han contribuido a desarrollar y asentar las bases estadísticas de este trabajo.

A todos/as los compañeros/as que a lo largo de los años han ido pasando por el laboratorio en especial a Rubén, Sonia, Sofía, Pablo, Blanca y Alexandra que hicieron que muchos días se convirtieran en verdaderos festivales del humor (en los que José María tímidamente también se animaba a participar) y más que un laboratorio eso pareciera el gabinete de una pitonisa. No sé qué habría hecho sin vosotros. Os echaré de menos.

A mi amigo, David Vaillo, por ser la vía de escape, de cervezas y risas al menos todos los jueves. También a Bea (la canaria), por ayudarme, mimarme y achucharme hasta casi el punto de sacarme las tripas por la boca.

A mis felinos preferidos, Maya y Michi (dos auténticas amenazas gatunas) por comportaros y ser (como dirían vuestros más apreciados dueños) verdaderas fieras peludas, tragaldabas, bestias insensatas y dos mininos ramplines e insolentes.

A mi pareja, Pedro por apoyarme en los momentos más difíciles, por sus múltiples intentos de organizarme (esto le habría encantado a Jose María ya que él también lo intentó), animarme a acabar con este proceso, rebajar mis niveles de drama (con su ayuda he pasado de reina a princesa del drama), a mejorar mi autoestima y hacerme ver que las cosas a veces no son tan difíciles como parecen.

Por último, quiero agradecer a mi familia, especialmente a mis padres y a mi tía Lola que ya no está y a la que le habría encantado saber que hoy el mundo es mejor que cuando nos dejó ya que ahora si no quieres no tienes por qué sufrir al marcharte. Gracias por vuestro por su apoyo incondicional, confianza y vuestro cariño. Os quiero.

¡GRACIAS JOSE MARÍA!

y a todos vosotros/as también

¡GRACIAS!

A Jose María

“Antes de ser nada somos.
Y cuando somos sufrimos.
Soñamos cuando dormimos
y al despertar todo es nada.
Y al final, cuando marchemos,
cansados y ya vencidos,
los que queden no dirán que somos,
si no que fuimos.”

J.A. Seral Allué

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN.....	5
○ Helechos leptosporangiados: historia evolutiva, ciclo biológico y distribución	5
➤ Historia evolutiva	5
➤ El ciclo biológico de los helechos leptosporangiados	7
➤ Distribución.....	9
○ El medio rupícola: características, adaptaciones y comunidades vegetales de rocas	11
○ Generalidades de la familia Aspleniaceae (clase Polypodiopsida): El género <i>Asplenium</i> L.	13
➤ Descripción, distribución y ecología de <i>Asplenium trichomanes</i> L. y <i>Asplenium ceterach</i> L.....	16
○ La germinación y el desarrollo gametofítico: Importancia de la modelización de ambos procesos biológicos.....	20
○ Anatomía ecológica: variables anatómicas con interés ecológico y su variación ambiental.....	25
OBJETIVOS.....	28
MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
○ Área de estudio y protocolo de muestreo	29
○ Protocolos de laboratorio	32
➤ Experimentos de germinación y desarrollo gametofítico	32
➤ Rasgos estomáticos	36
➤ Rasgos anatómicos de las pinnas y del peciolo.....	38
○ Desarrollo de modelos y análisis estadísticos	40
➤ Evaluación de los efectos del incremento de temperatura sobre la cinética de la germinación en <i>A. trichomanes</i> subsp. <i>quadrivalens</i> y <i>A. ceterach</i> bajo distintos escenarios de cambio climático.....	40
➤ Modelo determinista para el estudio de la evolución de las poblaciones de gametófitos sometidas a diferentes temperaturas.....	42
➤ Efecto del índice de aridez de Martonne (IAM) y altitud sobre los rasgos estomáticos de <i>A. trichomanes</i> subsp. <i>quadrivalens</i> y <i>A. ceterach</i> y de IAM sobre los rasgos anatómicos de <i>A. trichomanes</i> subsp. <i>quadrivalens</i>	47
RESULTADOS.....	49
○ Modelos de la cinética de germinación en <i>A. trichomanes</i> subsp. <i>quadrivalens</i> y <i>A. ceterach</i>	49
➤ Predicciones para distintos escenarios de cambio climático	52
○ Modelos deterministas para el análisis de la evolución del desarrollo gametofítico bajo diferentes temperaturas	53

○ Caracterización de los rasgos estomáticos en <i>A. trichomanes</i> subsp. <i>quadrivalens</i> y <i>A. ceterach</i>	59
➤ Comparación de los rasgos estomáticos entre <i>A. trichomanes</i> subsp. <i>quadrivalens</i> y <i>A. ceterach</i>	60
○ Efecto del índice de aridez (IAM) y de la altitud sobre los rasgos estomáticos en <i>A. trichomanes</i> subsp. <i>quadrivalens</i> y <i>A. ceterach</i>	62
○ Caracterización de los rasgos anatómicos de las pinnas y del peciolo en <i>A. trichomanes</i> subsp. <i>quadrivalens</i>	63
○ Efecto del índice de aridez de Martonne (IAM) sobre las variables anatómicas de las pinnas y del peciolo en <i>A. trichomanes</i> subsp. <i>quadrivalens</i>	65
DISCUSIÓN	66
○ Efecto del incremento de temperatura sobre la dinámica germinativa en <i>A. trichomanes</i> subsp. <i>quadrivalens</i> y <i>A. ceterach</i>	66
○ Modelos deterministas para el estudio de la evolución de las poblaciones de gametófitos a diferentes temperaturas.....	69
○ Efectos del índice de aridez de Martonne (IAM) y de la altitud sobre los rasgos estomáticos de <i>A. trichomanes</i> subsp. <i>quadrivalens</i> y <i>A. ceterach</i>	72
○ Efectos del índice de aridez de Martonne (IAM) sobre los rasgos anatómicos de las pinnas y del peciolo en <i>A. trichomanes</i> subsp. <i>quadrivalens</i>	76
CONCLUSIONES	79
BIBLIOGRAFÍA	81
ANEXOS	95

Índice de Tablas

Tabla 1. Especies del género <i>Asplenium</i> L. presentes en la Península Ibérica e Islas Baleares. Se muestra el hábito de cada una de las especies, así como la naturaleza del sustrato al que están asociadas. Datos extraídos de Salvo (1990).....	15
Tabla 2. Zonificación climática según IAM (índice de aridez de Martonne) (De Martonne, 1926).	30
Tabla 3. Localidades de recolección de AT (<i>A. trichomanes</i> subsp. <i>quadrivalens</i>), el IAM (índice de aridez De Martonne) y el número de individuos recolectados en cada población.	31
Tabla 4. Localidades de recolección de AC (<i>A. ceterach</i>), el IAM (índice de aridez de Martonne) y el número de individuos recolectados en cada población.	31
Tabla 5. Modelos teóricos ajustados para cada una de las variables respuesta analizadas.	41
Tabla 6. Modelos ajustados para las variables <i>GM</i> (germinación máxima, %) y <i>L</i> (periodo de latencia, días). En la tabla se muestra el logit para la variable <i>GM</i> y el modelo para la variable <i>L</i> , así como la devianza y R^2 explicada por los modelos.	50
Tabla 7. Valor medio y desviación estándar de T50 obtenido en cada taxón y temperatura. AT (<i>A. trichomanes</i> subsp. <i>quadrivalens</i>); AC (<i>A. ceterach</i>).	51
Tabla 8. Variación en <i>GM</i> (%) y <i>L</i> (días) en AT (<i>A. trichomanes</i> subsp. <i>quadrivalens</i>) y AC (<i>A. ceterach</i>) bajo los escenarios RCP4.5 y RCP8.5.	52
Tabla 9. Coeficientes α_i y $\frac{1}{\alpha_i}$ obtenidos para cada taxón (AT y AC), temperatura (20 y 26°C) y localidad (Corduente y Ponferrada).	53
Tabla 10. Valor del coeficientes $\frac{dy_i}{dt}$ de cada estado a los 25, 50, 75 y 10 días en ambos taxones (AT y AC), localidades (Corduente y Ponferrada) y temperaturas (20 y 26 °C). El coeficiente ha sido calculado con los valores de α_i y con el porcentaje estimado del número de individuos existente en cada estado e instante (25, 50, 75 y 100 días).	55
Tabla 11. Valores medios y desviación estándar para los rasgos D (Densidad estomática, estomas/mm ²), L (Longitud, µm) y PCI (Potencial de Conductancia Estomática) en AT (<i>A. trichomanes</i> subsp. <i>quadrivalens</i>) en las poblaciones muestreadas.....	59
Tabla 12. Valores medios y desviación estándar para los rasgos D (Densidad estomática, estomas/mm ²), L (Longitud, µm) y PCI (Potencial de Conductancia Estomática) en AC (<i>A. ceterach</i>) en cada una de las poblaciones muestreadas.....	59
Tabla 13. Efecto del predictor de la variable <i>T</i> (Taxon) sobre los rasgos estomáticos. D (Densidad estomática, estomas/mm ²), L (Longitud, µm) y PCI (Potencial de Conductancia Estomática) P-valor < 0,05(*); <0,01(**); < 0,001(***).....	60
Tabla 14. Valor medio y desviación estándar de cada uno de los rasgos estomáticos, D (Densidad estomática, estomas/mm ²), L (Longitud, µm) y PCI (Potencial de Conductancia Estomática) en AT (<i>A. trichomanes</i> subsp. <i>quadrivales</i>) y AC (<i>A. ceterach</i>) en las localidades de recolección comunes. Se muestra el p-valor de los test T-student. P-valor: NS (no significativo); <0,05(*); <0,01(**); <0.001(***).....	61
Tabla 15. Efectos de las variables IAM y altitud sobre los rasgos estomáticos D (Densidad, nº estomas/mm ²), L (Longitud, µm) y PCI (Potencial de conductancia estomática) en AT (<i>A. trichomanes</i> subsp. <i>quadrivalens</i>) y AC (<i>A. ceterach</i>). P-valor: NS (no significativo); <0,05(*); <0,01(**); <0.001(***).....	62
Tabla 16. Valor medio de cada uno de los rasgos anatómicos en cada población. Rasgos anatómicos: GC (Grosor cutícula adaxial, µm); GCR (Grosor relativo de la cutícula adaxial); GM (Grosor mesófilo, µm); GMR (Grosor relativo del mesófilo); GP (Grosor pinna, µm); AP (Área del peciolo, mm ²); AH (Área del haz vascular, mm ²); AHR (Área	

relativa del haz vascular); AX (Área del xilema, mm²); AXR (Área relativa del xilema).
 64

Tabla 17. Efecto del índice de aridez de Martonne (IAM) y su grado de significación sobre todas las variables anatómicas. Rasgos anatómicos: GC (Grosor cutícula adaxial, µm); GCR (Grosor relativo de la cutícula adaxial); GM (Grosor mesófilo, µm); GMR (Grosor relativo del mesófilo); GP (Grosor pinna, µm); AP (Área del peciolo, mm²); AH (Área del haz vascular, mm²); AHR (Área relativa del haz vascular); AX (Área del xilema, mm²); AXR (Área relativa del xilema). P-valor: NS (no significativo); <0,05(*); <0,01(**); <0.001(***)..... 65

Índice de Figuras

- Figura 1.** Ciclo biológico de un helecho: **(a)** fase filamentosa temprana; **(b)** fase filamentosa tardía; **(c)** filamento biseriado; **(d)** fase espatulada; **(e)** gametófito adulto bisexual; **(f)** fecundación intragametofítica; **(g)** esporófito adulto maduro; **(h)** esporangio. n= fase haploide; 2n= fase diploide. 8
- Figura 2.** Mapa de distribución de la riqueza de pteridófitos en la Península Ibérica e Islas Baleares. Las coloraciones rojas muestran las zonas con mayor riqueza de pteridófitos. Por el contrario, las zonas azules son zonas con poca riqueza de pteridófitos (Tomado de Moreno *et al.*, 2015). 10
- Figura 3.** Mapa de distribución de los dos taxones del género *Asplenium* en la Península Ibérica. **a)** Mapa de distribución de *Asplenium ceterach* (AC). **b)** Mapa de distribución de *Asplenium trichomanes* subsp. *quadrivalens* (AT). Mapas elaborados con datos procedentes de GBIF. Ilustraciones procedentes de Belmonte *et al.*, 2011. 19
- Figura 4.** Mapas con las localidades de recolección de AT (*A. trichomanes* subsp. *quadrivalens*) y AC (*A. ceterach*). En **a)** se muestran las localidades de AT (*A. trichomanes* subsp. *quadrivalens*) y en **b)** las de AC (*A. ceterach*). 29
- Figura 5.** Localidades de los individuos utilizados para llevar a cabo los experimentos de germinación y desarrollo gametofítico. En la figura se muestran los diagramas ombrotérmicos de ambas localidades. 32
- Figura 6.** Protocolo de laboratorio para registrar los rasgos estomáticos. 37
- Figura 7.** Estructura interna de las pinnas y del peciolo en *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens*. 39
- Figura 8.** Representación gráfica del modelo determinista para el estudio de la evolución de las poblaciones de gametófitos. **1)** Representa el sistema de ecuaciones válido para el primer periodo de tiempo $\left[0, -\frac{\log k}{\alpha_0}\right]$. **2)** Representa el sistema de ecuaciones válido a partir de $t = -\frac{\log k}{\alpha_0}$. En la figura se muestra las ecuaciones de velocidad de cambio entre estados y_i y las funciones de velocidad con la que varía (en número) cada uno de los estados del desarrollo $\frac{dy_i}{dt}$ 46
- Figura 9.** Cambios en el porcentaje de germinación en AT (*A. trichomanes* subsp. *quadrivalens*) y AC (*A. ceterach*) a lo largo de los días. La línea discontinua representa el porcentaje de germinación a 20 °C y la continua a 26 °C. En la figura **a)** se muestran los resultados de la cinética de germinación en *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* y en **b)** los resultados de la cinética de germinación en *A. ceterach*. 49

Listado de abreviaturas

AC	<i>Asplenium ceterach</i>
AH	Área del haz vascular (mm ²)
AHR	Área del haz vascular relativo al área del peciolo
AP	Área del peciolo (mm ²)
AT	<i>Asplenium trichomanes</i> subsp. <i>quadrivalens</i>
ΔT	Variación de temperatura
AX	Área del xilema (mm ²)
AXR	Área del xilema relativo al área del haz vascular
D	Densidad estomática (estomas/mm ²)
F0	Espora no germinada
F1	Espora germinada
F2	Fase filamentosa
F3	Fase espatulada
F4	Fase adulta vegetativa
GC	Grosor de la cutícula adaxial (μm)
GCR	Grosor de la cutícula adaxial relativa al grosor de la pinna
GEE	Ecuaciones de estimación generalizadas
GEI	Gases de efecto invernadero
GLM	Modelos lineales generalizados
GM	Germinación máxima (%)
GM	Grosor del mesófilo (μm)
GMR	Grosor relativo del mesófilo con respecto al grosor de la pinna
GP	Grosor de la pinna (μm)
IAM	Índice de aridez de Martonne
IPCC	Grupo intergubernamental de expertos sobre el cambio climático
L	Periodo de latencia (días)
L	Longitud estomática (μm)
PA	Precipitación anual (mm)
PCI	Potencial de conductancia estomática
RCP	Trayectoria de concentración representativa
T	Taxón
TBO	Azul de Toluidina
TMA	Temperatura media anual (°C)
T50	Tiempo necesario para alcanzar el 50% de germinación
v	Velocidad de germinación

RESUMEN

La familia Aspleniaceae Newman es una de las familias más diversas de helechos letosporangiados, cuenta con dos géneros, de los cuales *Asplenium* L. es el más diverso. A pesar de que la Península Ibérica es considerada una región secundaria de diversidad para los helechos, los taxones de hábito rupícola pertenecientes al género *Asplenium* son especialmente abundantes en esta región. Dos de los taxones más abundantes y frecuentes son *Asplenium trichomanes* subsp. *quadrivalens* D.E. Mey. y *Asplenium ceterach* L. Estos dos taxones, comparativamente con otros del género, pueden considerarse generalistas, ya que otros presentan requerimientos ecológicos más estrictos.

En este trabajo hemos evaluado los efectos de distintas variables ambientales relacionadas con la temperatura sobre rasgos de la cinética de germinación, el desarrollo gametofítico y rasgos funcionales del esporófito en *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* y *A. ceterach*, ya que cada una de estas etapas juega un papel fundamental en el establecimiento final de las especies. Para ello, se recolectaron en la Península Ibérica 65 individuos pertenecientes a 12 poblaciones de *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* y 55 individuos pertenecientes a 9 poblaciones de *A. ceterach*. En cada población se seleccionaron grietas expuestas, con una pendiente de 90° y orientación sur donde se recogieron al menos cuatro individuos de cada taxón.

En cuanto a la germinación se modelizó el efecto del incremento de temperatura sobre la germinación máxima, el periodo de latencia y la velocidad de germinación. En el desarrollo gametofítico se evaluó la influencia de la temperatura sobre las poblaciones de gametófitos en términos demográficos a lo largo del tiempo. Para ello se realizaron siembras de esporas de diferentes poblaciones a la temperatura media en verano actual (20°C) y la prevista en el escenario RCP8.5 (26°C) en verano, registrando cada 12 días el número de individuos existente en cada etapa de desarrollo.

Para modelizar el efecto del incremento de temperatura sobre los rasgos de la germinación se ajustaron Ecuaciones de Estimación Generalizadas. Con el objetivo de evaluar el efecto del incremento de temperatura sobre la evolución de las poblaciones de los gametófitos a lo largo del tiempo se elaboró un modelo de ecuaciones diferenciales que permitió calcular los siguientes coeficientes: la tasa de cambio entre fases del desarrollo, el tiempo medio necesario para que un individuo seleccionado al azar pasara de una etapa del desarrollo a la siguiente, el número de individuos existentes en cada estado e instante y la velocidad de cambio en número de individuos en cada estado a lo largo del tiempo.

En el esporófito se evaluó, en ambos taxones, el efecto del índice de aridez de Martonne y de la altitud sobre la densidad, longitud y potencial de conductancia estomáticas. Además, en *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* se evaluó el efecto del índice de aridez de Martonne sobre rasgos anatómicos de las pinnas y del peciolo. Para este fin se realizaron cortes anatómicos de pinnas y peciolos donde se midieron diferentes caracteres referentes a la cutícula, la pinna, el mesófilo y áreas del peciolo y del haz vascular, así como preparaciones epidérmicas que permitieran la medición estomática.

El incremento de temperatura generó un aumento en la germinación máxima, así como una reducción en el periodo de latencia en ambos taxones. Sin embargo, no se encontraron efectos significativos del incremento de temperatura sobre la velocidad de germinación. La germinación máxima fue mayor y el periodo de latencia menor en *A. ceterach* en ambos escenarios de temperatura. El aumento del rendimiento de la germinación fue mayor bajo el escenario RCP8.5, por lo tanto, podría conformarse como el más adaptativo para ambos taxones. En cuanto al desarrollo gametofítico, la tasa de paso entre estados y la velocidad de cambio en número fue mayor a 26°C en ambos taxones, y esta fue mayor en *A. ceterach*. Por el contrario, el tiempo medio necesario para que un individuo seleccionado al azar pasara de un estado del desarrollo al siguiente fue menor a 26 °C en ambos taxones, y su valor fue comparativamente menor en *A. ceterach* bajo ambas temperaturas. Por lo tanto, el incremento de temperatura favorecería el establecimiento tanto a nivel de espora como de gametófito en ambos taxones.

No se encontraron efectos generalizados del índice de aridez de Martonne sobre los rasgos estomáticos en ambos taxones, ni sobre los rasgos anatómicos de la pinna y del peciolo en *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens*. Por lo tanto, en el medio rupícola los gradientes ecológicos existentes a nivel microclimático podrían jugar un papel más importante en determinar los niveles de aridez. Sin embargo, sí se encontraron efectos de la altitud sobre los rasgos estomáticos en ambos taxones, concretamente en ambos se encontró un incremento en la densidad y en el potencial de conductancia estomática con la altitud, estrategia que se ha observado en otras especies.

Palabras clave: Cambio climático, Cinética de germinación, Desarrollo gametofítico, Índice de aridez de Martonne, Rasgos anatómicos, Rasgos estomáticos.

ABSTRACT

The Aspleniaceae Newman is one of the most diverse families of letosporangiate ferns. It comprises two genera, of which the genus *Asplenium* L. is the most diverse. Although the Iberian Peninsula is considered a secondary region of diversity for ferns, the rupicolous taxa belonging to the genus *Asplenium* are especially abundant in this region. Two of the most abundant and frequent taxa are *Asplenium trichomanes* subsp. *quadrivalens* D.E. Mey. and *Asplenium ceterach* L. Both can be considered generalists compared to others in the genus, as others have stricter ecological requirements.

In this work we evaluated the effects of different environmental variables related to temperature on germination kinetics, gametophytic development and sporophyte functional traits in *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* and *A. ceterach*, since each of these stages plays a fundamental role in the final establishment of species. For this purpose, 65 individuals belonging to 12 populations of *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* and 55 individuals belonging to 9 populations of *A. ceterach* were collected in the Iberian Peninsula. In each population, at least four individuals of each taxa were selected in exposed crevices with a 90° slope and south orientation.

Regarding germination, the effect of temperature increase on maximum germination, dormancy and germination speed was modelled. In gametophyte development, the influence of temperature on gametophyte populations was evaluated in terms of demography over time. For this purpose, spore sowings of different populations were carried out at the current average summer temperature (20°C) and the temperature predicted in the RCP8.5 scenario for summer (26°C), recording every 12 days the number of individuals at each stage of development.

Generalised Estimating Equations were fitted to model the effect of temperature increase on germination traits. A differential equation model was developed to assess the effect of temperature increase on the evolution of gametophyte populations over time. This model allowed us to calculate the following coefficients: the rate of change between developmental stages, the average time required for a randomly selected individual to move from one developmental stage to the next, the number of individuals at each stage and instant, and the rate of change in the number of individuals at each stage over time.

In the sporophyte, the effect of Martonne's aridity index and altitude on stomatal density, length and conductance potential was evaluated in both taxa. Moreover, in *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* the effect of Martonne's aridity index on anatomical features of the pinna and petiole was evaluated. For this purpose, anatomical sections of pinnae and petioles were made where different characters referring to cuticle, mesophyll and xylem areas were measured, as well as epidermal preparations allowing stomatal measurements.

The increase in temperature generated an increase in maximum germination, as well as a reduction in the dormancy period in both taxa. However, no significant effect of temperature increase on germination speed was found. Maximum germination was higher and dormancy shorter in *A. ceterach* at both 20 and 26°C. The increase in germination yield was higher under the RCP8.5 scenario, therefore, it could be considered as the most adaptive for both taxa. In terms of gametophytic development, the rate of passage between stages and the rate of change in number was higher at 26°C in both taxa, and was higher in *A. ceterach*. Therefore, increased temperature would favour establishment both at the level of germination and gametophytic development.

No generalised effects of the Martonne aridity index were found on either the stomatal traits of both taxa, or on the anatomical traits of the pinnae and petiole of *A. trichomanes* subsp. *quadrialeans*. This could indicate that in the rouspicolous environment, ecological gradients established at the microclimatic level may be more important in determining aridity levels. However, we did find effects of altitude on stomatal traits in both taxa, specifically we found an increase in density and potential stomatal conductance with altitude, a strategy that has been observed in other species.

Keywords: Anatomical traits, Climatic change, Gametophytic development, Germination kinetics, Martonne aridity index, Stomatal traits.

INTRODUCCIÓN

Helechos leptosporangiados: historia evolutiva, ciclo biológico y distribución

Historia evolutiva

Históricamente los pteridófitos, incluyendo licófitos y helechos se estudiaban de manera conjunta ya que, al ser los últimos organismos con esporas y carentes de semillas, se consideraba que estaban más emparentados con los licófitos que con los espermatófitos (Crane, 1985). Hoy en día se sabe que el grupo de los pteridófitos es parafilético y que los helechos están filogenéticamente más estrechamente relacionados con las plantas con semilla. De esta forma, en las clasificaciones actuales se reconoce una dicotomía basal ocurrida en el Devónico (hace 400 M.a) que originó dos clados hermanos en las plantas vasculares: los licófitos y los eufilófitos (helechos y espermatófitos) (Kenrick & Crane, 1997; Pryer *et al.*, 2004; Smith *et al.*, 2006).

Los helechos actuales se engloban dentro de la clase Polypodiopsida que, a su vez, se divide en cuatro subclases distintas: Polypodiidae (helechos leptosporangiados), Equisetidae (equisetos), Ophioglossidae (ofioglósidos) y Marattiidae (helechos maratioides) (PPG1, 2016).

Actualmente se reconocen cerca de 9000 especies dentro del grupo de los helechos leptosporangiados, situándolos como el grupo más abundante dentro de los helechos y en el segundo más diverso por detrás de las angiospermas. En el último sistema de clasificación publicado se reconocen hasta 44 familias distintas de Polypodiidae, entre las cuales se encuentra la familia Aspleniaceae, que engloba unas 760 especies (PPG1, 2016; Schneider *et al.*, 2004; Schuettpelz & Pryer, 2008; Smith *et al.*, 2006, 2008).

La aparición de los helechos leptosporangiados data del inicio del Carbonífero (360 M.a.), lo que provocó un incremento en la diversidad de las plantas terrestres (Nicklas *et al.*, 1983). Los registros fósiles y los análisis moleculares sugieren que sufrieron 3 episodios de diversificación. El primero tuvo lugar en el Carbonífero, el segundo en el Paleozoico-Mesozoico (250 M.a.) y el tercero al inicio del Cretácico (160 M.a.) (Lovis, 1978; Schuettpelz & Pryer, 2009). Previamente a la aparición de las angiospermas, los ecosistemas terrestres estaban dominados por plantas vasculares sin semilla y gimnospermas (Crane & Lidgard, 1989; Crane *et al.*, 1995). En estos ecosistemas los helechos eran un grupo de organismos muy abundante y diverso, tanto en formas de vida como en número de especies (Rothwell, 1999; Trivet, 1993). La diversificación de las

angiospermas durante el Cretácico implicó, por una parte, la modificación de los ecosistemas, generando paisajes más complejos y más heterogéneos y, por otra, la reducción de la diversidad de gimnospermas y de plantas vasculares sin semilla a los niveles ínfimos que observamos en la actualidad si lo comparamos con los números alcanzados en el pasado (Schneider *et al.*, 2004). Dentro de este efecto generalizado los helechos leptosporangiados han conseguido mantener cierta diversidad, ya que han sido capaces de adaptarse y explotar nichos ecológicos nuevos en los paisajes que se han ido generando tras la expansión y éxito de las angiospermas (Lovis, 1978; Schuettpelz & Pryer, 2009; Smith, 1972).

Dos de los eventos clave para que los helechos pudieran explotar las nuevas condiciones ecológicas fueron, en primer lugar, la aparición de un fotorreceptor especial con mayor sensibilidad a la luz, que habría permitido a los helechos vivir y diversificarse bajo el dosel de los bosques tropicales dominados por las angiospermas (Schneider *et al.*, 2004); y, en segundo lugar, la aparición de caracteres relacionados con el hábito epífita. Estas innovaciones se produjeron en la tercera radiación de los helechos, produciendo un incremento en su diversidad (Schuettpelz & Pryer, 2009).

El ciclo biológico de los helechos leptosporangiados

Para comprender la distribución, ecología y evolución de los organismos es necesario conocer y entender su ciclo biológico. El ciclo biológico de los helechos presenta una diferencia fundamental con el de las plantas con semilla lo que, en último término, hace que la ecología, distribución y evolución de estos dos grupos de plantas vasculares sean en ciertos aspectos diferentes.

El ciclo biológico de los helechos está compuesto por dos generaciones de vida completamente independientes: la fase gametofítica (fase haploide productora de gametos); y la fase esporofítica (fase diploide y productora de esporas). Esta última, es la fase dominante en el ciclo biológico.

El ciclo comienza con la germinación de la espora, posteriormente emerge la primera célula protálica. Subsiguientemente las divisiones transversales de esta célula dan lugar a un filamento. Las divisiones longitudinales de las células del filamento generan la siguiente fase del ciclo (fase espatulada), donde se genera la primera célula meristemática cuya actividad genera un gametófito adulto que en muchos casos es cordiforme. Finalmente, en los gametófitos cordiformes desarrollados, se forman los órganos sexuales (anteridios y arquegonios). Una vez producida la fecundación se forma el embrión cuyo desarrollo origina el esporófito. Este último por meiosis genera esporas haploides (**Figura 1**). Existen varios tipos de desarrollo morfológico que varían entre taxones (Atkinson, 1973; Nayar & Kaur, 1971).

Las esporas de los helechos homospóreos no tienen una diferenciación sexual prefijada, lo que ocasiona que los gametófitos presenten una alta flexibilidad en la expresión sexual. Por lo tanto, a partir de una espora se puede generar un gametófito bisexual, un gametófito unisexual masculino o un gametófito unisexual femenino. Esto genera que en los gametófitos puedan darse 3 sistemas de reproducción diferentes: (1) Fecundación intragametofítica, en el caso de que los gametófitos sean bisexuales; (2) Fecundación intergametofítica entre gametófitos unisexuales que provienen del mismo esporófito; (3) Fecundación intergametofítica entre dos gametófitos unisexuales que proceden de distintos esporófitos (Klekowski, 1972; Soltis & Soltis, 1987).

Por el momento, no se han encontrado los mecanismos genéticos responsables de determinar la expresión del sexo en los gametófitos. Hay autores que postulan que la expresión sexual está modulada por algunos factores ambientales como, por ejemplo, la

disponibilidad de nutrientes, la densidad poblacional gametofítica, la temperatura, los recursos hídricos y la luz (DeSoto *et al.*, 2008; Korpelainen, 1994; Pajarón *et al.*, 2015).

En cuanto a la ecología, se conoce que los gametófitos tienen cierta variabilidad morfológica que parece estar asociada con su adaptación a distintos hábitos, pudiéndose diferenciar dos tipos morfológicos principales: los cordiformes, que suelen ser anuales y de crecimiento rápido (típicos de zonas con escaso suelo y hojarasca); y, los acintados, de vida más larga, potencialmente perennes y capaces de producir bancos de gametófitos por reproducción vegetativa. Los primeros son típicos de taxones terrestres y los segundos de taxones epífitos (Farrar *et al.*, 2008; Watkins *et al.*, 2007).

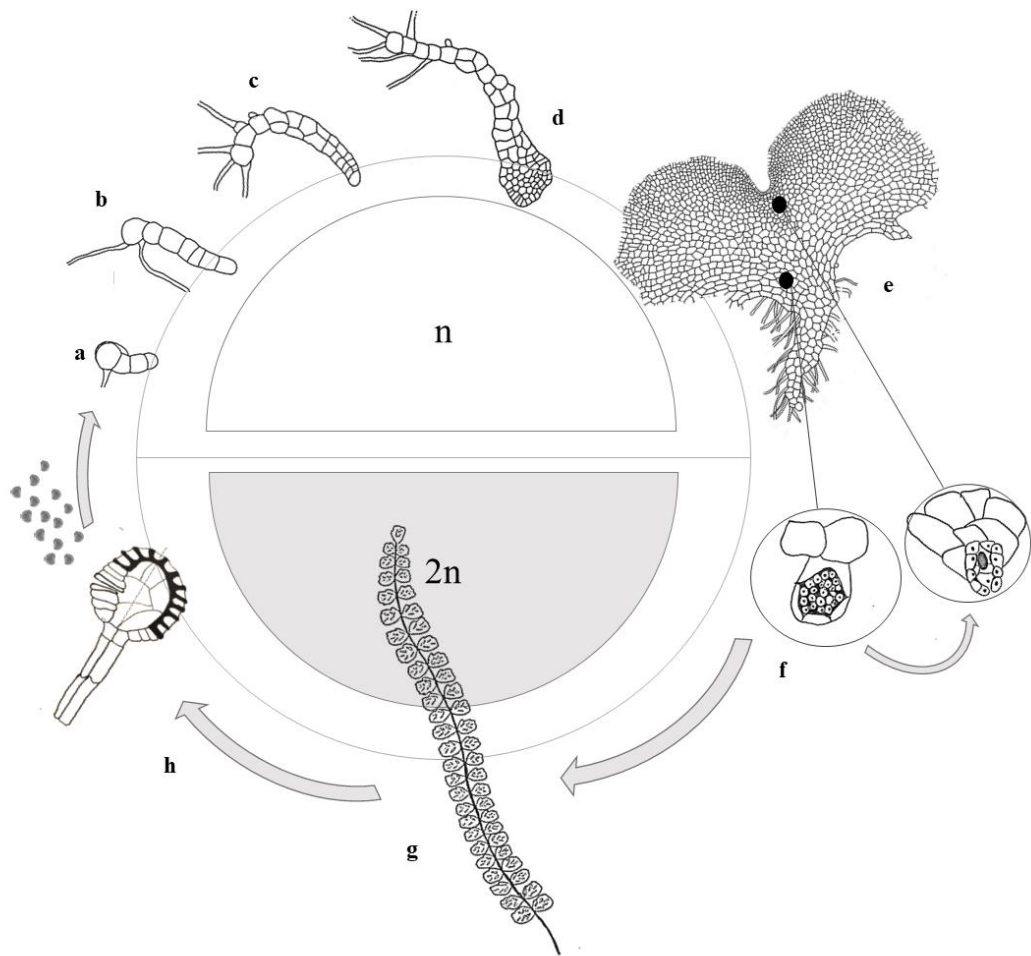


Figura 1. Ciclo biológico de un helecho: (a) fase filamentosa temprana; (b) fase filamentosa tardía; (c) filamento biseriado; (d) fase espatulada; (e) gametófito adulto bisexual; (f) fecundación intragametofítica; (g) esporófito adulto maduro; (h) esporangio. n = fase haploide; $2n$ = fase diploide.

Distribución

El pequeño tamaño de las esporas de los helechos hace que éstas puedan ser desplazadas por el viento recorriendo grandes distancias, por lo tanto, podría decirse que en lo que atañe a la dispersión, los helechos no presentan limitaciones. Esta dispersión permite conectar áreas disyuntas y colonizar lugares que se encuentran a grandes distancias, lo que explica que la proporción de taxones de helechos en las islas oceánicas sea mayor que en los continentes (Barrington, 1993; Moreno & Lobo, 2008; Page, 2002; Tryon, 1986). Por lo tanto, el territorio máximo en el que se pueden establecer nuevos individuos estará poco delimitado o predefinido. No obstante, la fase gametofítica impone fuertes restricciones en la distribución final de los esporófitos, siendo la etapa clave del ciclo, en la que se pierden la mayor parte de efectivos poblacionales (Watkins *et al.*, 2007; Werth & Cousens, 1990). Como consecuencia, los esporófitos se establecerán sólo en los lugares que cumplen con las condiciones óptimas para que tenga lugar el proceso reproductivo, a no ser que presenten reproducción vegetativa. La dispersión de pequeñas esporas a través del viento junto con la flexibilidad en la expresión sexual de los gametófitos, genera que los helechos sean un grupo de organismos considerados buenos colonizadores, debido a que la fecundación intragametofítica, permite que los helechos puedan establecerse en un nuevo territorio por la llegada de una única espora (Guo *et al.*, 2003; Page, 2002).

Los helechos homospóreos tienen una distribución cosmopolita, aunque al igual que otros grupos de organismos presentan un patrón latitudinal de diversidad, encontrándose las cifras más altas en las regiones tropical y subtropical. En estas regiones se encuentran aproximadamente el 85% de las especies actuales. Este hecho se debe a la dependencia de la fase gametofítica a ambientes húmedos y con poco contraste climático (Kato, 1993; Moreno & Lobo, 2008; Page, 2002; Schuettpelz & Pryer, 2009).

La altitud es otro factor clave que determina tanto la riqueza como la rareza o peculiaridad de helechos. Dentro de una misma latitud, la mayor riqueza de especies y de endemismos se concentra en zonas de altitud media, en consecuencia, las regiones montañosas de los trópicos se presentan como hotspots de diversidad de helechos (Mehlreter *et al.*, 2010).

La región mediterránea es uno de los lugares del planeta con mayor diversidad vegetal y número de endemismos, sin embargo, esto no se cumple para los helechos (Given, 1993) aunque, en estas latitudes, son especialmente relevantes los helechos que habitan en el medio rupícola.

En la Península Ibérica existen aproximadamente 130 especies de pteridófitos (Moreno *et al.*, 2015; Salvo, 1990). En varios trabajos se han analizado las variables climáticas y topográficas que determinan la distribución espacial de su riqueza. El trabajo realizado por Moreno *et al.* (2015), en el que se analiza la distribución de la riqueza de pteridófitos en la Península Ibérica, mostró que factores como la precipitación media mensual, la altitud, el tipo de suelo, etc., son variables explicativas importantes en modular su distribución. Las altitudes medias o incluso altitudes altas son factores que afectan de manera positiva a la diversidad de especies de pteridófitos, este efecto es especialmente notable a partir de los 1500 m. Esto es debido a que la altitud aporta mayor heterogeneidad de ambientes (sobre todo en ambientes rupícolas). La mayor diversidad de helechos en la Península Ibérica se encuentra en la Cordillera Cantábrica y en los Pirineos, además la mayor diversidad de especies, sobre todo de la parte Este, queda explicada por factores históricos, ya que estas localizaciones actuaron como refugios glaciares de taxones centroeuropeos durante las glaciaciones del Pleistoceno (Moreno & Lobo, 2008; Vogel *et al.*, 1999). En la **Figura 2** se muestra la distribución de la riqueza de pteridófitos en la Península Ibérica (Moreno *et al.*, 2015).

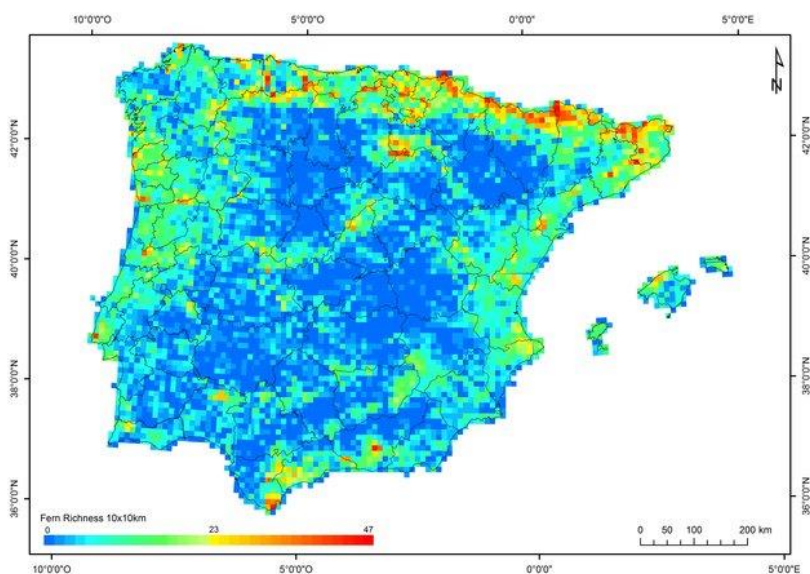


Figura 2. Mapa de distribución de la riqueza de pteridófitos en la Península Ibérica e Islas Baleares. Las coloraciones rojas muestran las zonas con mayor riqueza de pteridófitos. Por el contrario, las zonas azules son zonas con poca riqueza de pteridófitos (Tomado de Moreno *et al.*, 2015).

El medio rupícola: características, adaptaciones y comunidades vegetales de rocas

El hábitat rupícola presenta una serie de características estructurales que dificultan el establecimiento de muchas especies vegetales. La verticalidad de estos ambientes conlleva que la mayor parte del agua de lluvia recibida se pierda por escorrentía superficial, fenómeno que será más pronunciado cuanto mayor sea su grado de verticalidad. Además, el agua que penetra en la roca se suele perder rápidamente, por lo que, en muchas ocasiones, las raíces no tienen tiempo suficiente para absorberla (Larson *et al.*, 2000; Porembski, 2007). Estos ambientes también se caracterizan por no presentar una gran cantidad de sustrato y, además, cuando éste está disponible, presenta un bajo grado de desarrollo, lo que dificulta tanto el enraizamiento de muchas especies como la existencia de zonas adecuadas para el establecimiento de semillas, esporas o de cualquier otro tipo de propágulo (Larson *et al.*, 2000). Adicionalmente, suelen presentar un elevado contraste de temperatura y, sobre todo las zonas abiertas, están sometidas a la acción de fuertes vientos (Porembski, 2007; Scarano, 2002). Estos factores condicionan un ambiente xérico enclavado dentro de un medio circundante o matriz (normalmente más extenso), que en muchas ocasiones puede tener condiciones de humedad altas (Phillips, 1982; Sarthou & Villers, 1998). En consecuencia, comparativamente con el medio circundante, el medio rupícola puede considerarse más hostil, ya que impone fuertes restricciones ecológicas a las cuales muchos taxones no pueden hacer frente. A pesar de ello, son medios estables en los que existen zonas libres de competencia. Estos motivos hacen que los medios rupícolas alberguen gran cantidad de endemismos y que su vegetación asociada sea muy especializada (Buire *et al.*, 2020; Larson *et al.*, 2000; Porembski *et al.*, 1994; Torres *et al.*, 2007).

Las especies que aparecen asociadas a estos ambientes presentan una serie de síndromes adaptativos que les permiten hacer frente a estas condiciones extremas, es decir, a la falta de agua, suelo y al contraste de temperatura (Burke, 2002). Estas limitaciones físicas determinan que las comunidades de rocas presenten una baja cobertura vegetal y que estén formadas por especies que presentan tamaño pequeño y crecimiento lento (Pereira-Dias & Santos, 2015). Entre algunas de las adaptaciones morfoanatómicas o fisiológicas que presentan las plantas rupícolas podemos citar las siguientes: desarrollo de tejidos para el almacén de agua; cutículas gruesas; presencia de tricomas o escamas en la cara abaxial de las hojas para reflejar la luz y, de esta forma,

evitar el sobrecalentamiento. Además, muchas de ellas son plantas tolerantes a la desecación. Esta condición parece ser necesaria para ocupar determinados enclaves dentro del medio rupícola (Gaff, 1987; Larson *et al.*, 2000; Porembski, 2007).

Las peculiaridades del medio rupícola hacen que las comunidades de rocas sean muy interesantes desde el punto de vista biogeográfico, ecofisiológico, histórico y fitosociológico (Escudero & Pajarón, 1996; Peñas *et al.*, 2001). La composición de estas comunidades depende de factores que actúan a diferentes escalas espaciales y temporales. En primer lugar, su heterogeneidad geomorfológica y topográfica genera que a escalas pequeñas existan diferentes gradientes ecológicos (disponibilidad hídrica, naturaleza del sustrato, radiación, disponibilidad de suelo, etc.) que influyen en la densidad y en la diversidad que estos medios albergan (Cooper, 1997; Larson *et al.*, 2000). Por otro lado, a una escala más amplia la composición de las comunidades de roca está influenciada por el reino florístico que, a su vez, está determinado por cuestiones paleoclimáticas e históricas.

La región mediterránea es una de las regiones del planeta que alberga mayor diversidad vegetal, entre las causalidades de este hecho se encuentra la existencia de zonas montañosas e islas edáficas como, por ejemplo, los afloramientos rocosos de distinta naturaleza química. Estos medios han actuado como refugios de flora y fauna, y por este motivo, son puntos que albergan gran cantidad de endemismos y especies relictas. De hecho, en la Península Ibérica, los medios rupícolas que se encuentran en altitudes intermedias son los que presentan un mayor número de especies endémicas (Buire *et al.*, 2020; Gómez-Campo *et al.*, 1984; Peralta & Basconés, 1996).

Los dos taxones de estudio en este trabajo, *Asplenium trichomanes* subsp. *quadrivalens* D.E. Mey. (AT) y *Asplenium ceterach* L. (AC), son representantes de la clase de vegetación *Asplenieta trichomanis*. Esta clase de vegetación engloba comunidades vegetales que están constituidas por casmófitos o comófitos que aparecen asociados a rocas de naturaleza caliza o silíceas. Debido a su alta heterogeneidad son comunidades vegetales de difícil estudio (Heywood, 1954; Peñas *et al.*, 2001). Las características ecológicas de los dos taxones se detallan en el siguiente apartado.

Generalidades de la familia Aspleniaceae (clase Polypodiopsida): El género *Asplenium* L.

La familia Aspleniaceae es una de las familias más diversas de helechos leptosporangiados, cuenta con aproximadamente 760 especies clasificadas en dos géneros, *Asplenium* L. e *Hymenasplenium* Hayata (PPG1, 2016; Smith *et al.*, 2006). La mayor parte de las especies de la familia se engloban dentro del género *Asplenium* que cuenta con 700 especies, siendo con ello el género más diverso de helechos (Lin & Viane, 2013).

La familia Aspleniaceae tiene una distribución cosmopolita, siendo más frecuente en los trópicos. Desde el punto de vista ecológico, presenta especies capaces de colonizar gran diversidad de ambientes. La mayor parte de las especies tienen hábito terrestre y se encuentran en bosques húmedos de latitudes tropicales, otras son epífitas y, una gran parte son rupícolas (Schuettpelz & Pryer, 2008). Estas últimas son especialmente frecuentes en el hemisferio norte y, además, muchas de ellas son muy selectivas a sustratos de una naturaleza determinada (Kramer & Viane, 1990; Tryon & Tryon, 1982).

Los integrantes de la familia presentan una serie de caracteres que están presentes en la mayor parte de las especies, entre los que se pueden citar los siguientes: son especies de tamaño pequeño o mediano con peciolo generalmente corto, suberecto y no articulado; rizomas con numerosas escamas clatradas que pueden estar ciliadas o presentar glándulas en los márgenes; frondas monomorfas, generalmente 1-2 pinnadas, en ciertos casos simples, de membranosas a coriáceas y, frecuentemente, con indumento en la cara abaxial; las pínulas suelen estar cortamente pecioluladas o son sésiles y, su tamaño decrece hacia el ápice de la pinna; soros más o menos elongados e indusiados lateralmente, a veces largos (hasta 8 cm); esporas elipsoidales-esferoidales, monoletas y, frecuentemente, aladas, equinadas, reticuladas o perforadas; el sistema vascular del rizoma es una dictiostela, formada por dos haces vasculares en forma de C que confluyen a lo largo del peciolo dando lugar a un haz vascular con forma de X (Kramer & Viane, 1990; Schuettpelz & Pryer, 2008; Tryon & Tryon, 1982).

El género *Asplenium* tiene distribución cosmopolita. La riqueza de especies se distribuye de la siguiente forma: el 30% son neotropicales, el 22% africanas, el 33% asiáticas, el 10% se encuentran en el Pacífico y el 5% son europeas (Kramer & Viane, 1990).

En Europa existen aproximadamente 50 especies pertenecientes al género *Asplenium*. La mayor parte están asociadas al hábitat rupícola, en parte, debido a la abundancia de estos medios en la región mediterránea (Tutin *et al.*, 1993; Vogel *et al.*, 1999). Aproximadamente dos tercios de estas especies son calcícolas y un tercio calcífugas apareciendo asociadas a serpentininas. La mitad son diploides y la otra mitad tetraploides (Vogel *et al.*, 1999). La mayor parte de las especies del género son especies diagnósticas de la clase de vegetación *Asplenieta trichomanis* (Bystriakova *et al.*, 2015) y, a pesar de que la gran mayoría están asociadas al mismo tipo de hábitat, las distintas especies presentan diferentes tolerancias a gradientes climáticos; algunas de ellas, como AT y AC son especies generalistas en comparación con otras especies que habitan en el continente europeo, cuyos requerimientos ecológicos son más estrictos (Bystriakova *et al.*, 2015).

Aunque la región mediterránea es una de las de mayor diversidad vegetal del planeta, su importancia disminuye en lo referente a pteridófitos. Given (1993) la considera como una zona secundaria de diversidad para este grupo. En la Península Ibérica encontramos casi unas 130 especies de pteridófitos de las que aproximadamente el 15% pertenecen al género *Asplenium* (20 especies) (**Tabla 1**). Este último número supone a la vez el 40% de las especies de este género en Europa. Este elevado porcentaje probablemente responde a la asociación de las especies de *Asplenium* con medios rocosos calizos, especialmente abundantes en esta zona. La alta diversidad climática de la Península, así como su heterogeneidad topográfica también han sido propuestos como factores clave para comprender el establecimiento de numerosas especies de helechos en este territorio (Salvo, 1990; Sleep, 1983; Vogel *et al.*, 1999).

Como se observa en la **Tabla 1**, casi la totalidad de las aspleniáceas ibéricas están asociadas al hábitat rupícola, existiendo algunos casos aislados de especies que pueden aparecer tanto en el medio rupícola como en el terrestre dependiendo de la localización, como *Asplenium onopteris* L., *A. scolopendrium* L., y *A. fontanum* (L.) Bernh.

Tabla 1. Especies del género *Asplenium* L. presentes en la Península Ibérica e Islas Baleares. Se muestra el hábito de cada una de las especies, así como la naturaleza del sustrato al que están asociadas. Datos extraídos de Salvo (1990).

TAXON	HÁBITO	SUSTRATO
<i>Asplenium adiantum-nigrum</i> L.	Rupícola	Preferentemente silíceo
<i>Asplenium balearicum</i> Shivas.	Rupícola	Silíceo
<i>Asplenium billotii</i> F.W. Schultz	Rupícola	Preferentemente silíceo
<i>Asplenium celtibericum</i> Rivas Mart.	Rupícola	Calizo
<i>Asplenium ceterach</i> L.	Rupícola	Preferentemente calizo
<i>Asplenium fontanum</i> (L.) Bernh.	Rupícola/protosuelos	Calizo
<i>Asplenium foreziense</i> Héribaud	Rupícola	Silíceo
<i>Asplenium hemionitis</i> L.	Rupícola	Preferentemente calizo
<i>Asplenium majoricum</i> (Guérin) DC.	Rupícola	Calizo
<i>Asplenium marinum</i> L.	Rupícola	Acantilados marinos
<i>Asplenium obovatum</i> Viv.	Rupícola	Preferentemente silíceo
<i>Asplenium onopteris</i> L.	Rupícola/terrestre	Silíceo
<i>Asplenium petrarchae</i> DC.	Rupícola	Calizo
<i>Asplenium ruta-muraria</i> L.	Rupícola	Preferentemente calizo
<i>Asplenium sagittatum</i> (DC) Bange.	Rupícola	Preferentemente calizo
<i>Asplenium scolopendrium</i> L.	Rupícola/terrestre	Calizo
<i>Asplenium septentrionale</i> (L.) Hoffm.	Rupícola	Preferentemente calizos
<i>Asplenium subglandulosum</i> (Hook. & Grev.) Salvo, Prada & Díaz	Rupícola	Calizo
<i>Asplenium trichomanes</i> L.	Rupícola	Indiferente edáfico
<i>Asplenium viride</i> Hudson	Rupícola	Preferentemente calizo

Descripción, distribución y ecología de *Asplenium trichomanes* L. y *Asplenium ceterach* L.

Este trabajo se ha centrado en el estudio de diferentes aspectos ecológicos de las distintas etapas del ciclo biológico de dos taxones del género *Asplenium*: AT y AC. Ambos taxones son abundantes en las comunidades de roca de la región mediterránea y presentan un área de distribución relativamente amplia dentro de la Península Ibérica (**Figura 3**). Comparativamente con otros representantes del género, cuyos requerimientos ecológicos son más estrictos, sobre todo, en cuanto a la luz y la humedad, ambos taxones pueden considerarse generalistas, al aparecer en localizaciones con distintas características climáticas (Bystriakova *et al.*, 2015). Este hecho permite analizar la variación de ciertos rasgos autoecológicos entre distintas poblaciones que presentan diferentes condicionantes climáticos, lo que, en último término, nos permitirá detectar posibles estrategias adaptativas. La descripción de ambos taxones y sus requerimientos ecológicos se exponen a continuación.

***Asplenium trichomanes* L.**

Asplenium trichomanes es una especie subcosmopolita especialmente frecuente en zonas templadas o templado-cálidas del hemisferio norte. En el hemisferio sur sólo se encuentra localizada en determinados enclaves (Kramer & Viane, 1990; Lovis *et al.*, 1977; Salvo, 1990). En nuestra flora es muy frecuente, encontrándose a lo largo de todo el territorio peninsular y también en las Islas Baleares. En latitudes templadas europeas existe un centro de diversificación de la especie; concretamente en la flora ibérica se reconocen 6 subespecies, dos de las cuales son diploides: *A. trichomanes* subsp. *trichomanes* y *A. trichomanes* subsp. *inexpectans* Lovis; y, las otras cuatro, son tetraploides, *A. trichomanes* subsp. *pachyrachys* (Christ) Lovis & Reichst. *A. trichomanes* subsp. *hastatum* (Christ) Jessen, *A. trichomanes* subsp. *coriaceifolium* Rasbach, K. Rasbach, Reichst. & Bennert y *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* D.E. Mey. Esta última es la más abundante en el territorio peninsular. Excepto *A. trichomanes* subsp. *inexpectans* que sólo aparece en Mallorca, el resto de las subespecies se encuentran presentes en la Península (Nogueira & Ormonde, 1986; Pangua *et al.*, 1989; Sáez, 2000).

Las frondas de *A. trichomanes* son monomorfas, teniendo en la misma fronda la función productiva y reproductiva (trofosporófilos). El tamaño de las frondas oscila entre 7-25 cm. Éstas a su vez están divididas en pequeñas pinnas (frondas 1-pinnadas) cuyo tamaño decrece desde la base hasta el ápice de la fronda con excepción de la subespecie

inexpectans, donde las pinnas terminales son de igual tamaño al resto o incluso un poco mayores. Las pinnas miden unos 5mm de anchura, siendo más o menos asimétricas en todas las subespecies, excepto en la subespecie *pachyrachys* y la subespecie *hastatum*. En cuanto al raquis, éste es de color pardo-negruzco en todas las subespecies excepto en la subespecie *trichomanes* cuyo raquis es pardo-rojizo (Pangua *et al.*, 1989; Sáez, 2000). En muchas ocasiones para distinguir las subespecies hay que recurrir a caracteres esporales. Las esporas de *A. trichomanes* son flaviforme-venuladas y la principal diferencia entre las esporas de los taxones diploides y tetraploides es su tamaño, siendo en estas últimas mayor, por ejemplo, las esporas de la subespecie diploide *A. trichomanes* subsp. *trichomanes* presentan una longitud entre 29-36µm y, en la subespecie tetraploide *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* tienen una longitud entre 34-43µm (Lovis, 1964; Moran, 1982; Pangua *et al.*, 1989).

A. trichomanes es una de las especies más frecuente y abundante dentro de las comunidades de roca en nuestras latitudes, siendo indicadora de la clase de vegetación *Asplenieta trichomanis*, donde las plantas tienen que hacer frente a diferentes tipos de estrés que están relacionados con la disponibilidad hídrica, de nutrientes y las fluctuaciones de temperatura (Bystriakova *et al.*, 2015). Aunque aparece principalmente sobre grietas, de manera muy ocasional también puede aparecer sobre taludes (Moran, 1982). Es una especie capaz de soportar contrastes de temperaturas, ciertos niveles de insolación, colonizar sustratos de distinta naturaleza y, además, puede habitar en un rango altitudinal muy amplio que va desde el nivel del mar hasta las cumbres de más de 2900m (Bystriakova *et al.*, 2015; Vasheka *et al.*, 2019).

Las diferentes subespecies tienen ciertas peculiaridades en lo que respecta a su ecología, sobre todo en la naturaleza del sustrato en el que habitan. Las diferentes subespecies están adaptadas a sustratos de distinta naturaleza: cuatro de las subespecies son calcícolas (*A. trichomanes* subsp. *inexpectans*, *A. trichomanes* subsp. *pachyrachis*, *A. trichomanes* subsp. *hastatum* y *A. trichomanes* subsp. *coriaceifolium*); *A. trichomanes* subsp. *trichomanes* es calcífuga, apareciendo asociada a sustratos silíceos y serpentinas y, por último, *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens*, aparece en sustratos de distinta naturaleza, aunque, parece ser más frecuente en los sustratos calizos (Lovis *et al.*, 1977; Pangua *et al.*, 1989; Rasbach *et al.*, 1990).

***Asplenium ceterach* L.**

Asplenium ceterach es una especie que se encuentra distribuida por Europa, el norte de África, oriente próximo y también aparece en el este de China (Trewich *et al.*, 2002). En la Península Ibérica es una especie frecuente, siendo más abundante en el sur (Salvo, 1990). Se conocen citotipos diploides, tetraploides y hexaploides, que se asemejan en morfología, pero difieren en sus caracteres esporales y, lógicamente, en su número cromosómico (Lovis *et al.*, 1977; Pinter *et al.*, 2002). En la Península Ibérica sólo está presente el taxón tetraploide *Asplenium ceterach* subsp. *ceterach*, que, además, es la subespecie que presenta un área de distribución más amplia, encontrándose desde las Islas Canarias hasta el este de China. La subespecie diploide *A. ceterach* subsp. *bivalens* (D.E. Mey) Greuter & Burdet, tiene un área de distribución más reducida en el centro y este de Europa (Trewich *et al.*, 2002). Los citotipos hexaploides se encuentran presentes en Sicilia, Grecia y Chipre. La subespecie tetraploide, presenta un área de distribución más amplia, debido a que, comparativamente con el citotipo diploide, presenta una mayor capacidad colonizadora (Trewich *et al.*, 2002; Vogel *et al.*, 1999).

Asplenium ceterach posee un rizoma corto provisto de numerosas páleas ciliadas de color negruzco, las frondas son 1-pinnatipartidas, pueden alcanzar hasta 25 cm de longitud y son bastante gruesas. El haz es glabro y suele tener color verde oscuro, en cambio, el envés está completamente revestido por numerosas páleas marrones-doradas. Las pinnas son alternas y de borde entero o lobado. Las esporas son ovoides equinadoreticuladas (Nogueira & Ormonde, 1986; Salvo, 1990).

Asplenium ceterach, al igual que *A. trichomanes*, es una especie muy frecuente en las zonas rocosas de nuestras latitudes, siendo también indicadora de la clase de vegetación *Asplenetia trichomanis*. Es un helecho rupícola, hemicriptófito, que coloniza grietas de sustrato básico de anchura variable, a veces fuertemente insoladas, y es capaz de soportar altos niveles de sequedad en el sustrato (Salvo, 1990); de hecho, es una planta tolerante a la desecación y, por ello, presenta características morfológicas adaptativas que le permiten hacer frente a condiciones xéricas (Proctor & Tuba, 2002; Živković *et al.*, 2010). Esto determina que algunas características climáticas como, por ejemplo, una mayor continentalidad y una menor disponibilidad hídrica, sean variables que favorecen la presencia de la especie (Bystriakova *et al.*, 2015). Durante los periodos de sequía (periodo árido en la región mediterránea) AC es capaz de curvar sus frondas con el fin de reducir la superficie de las hojas dejando expuesto el envés que está recubierto de páleas

brillantes que reflejan la luz solar. Esta es una estrategia adaptativa en estas latitudes ya que con la curvatura de la fronda se reduce la pérdida de agua y se minimizan los daños producidos por las altas intensidades lumínicas (Shah *et al.*, 2019). Al igual que AT, también habita en un rango altitudinal amplio, desde el nivel del mar hasta cumbres de 2000m aproximadamente (Vasheka *et al.*, 2019).

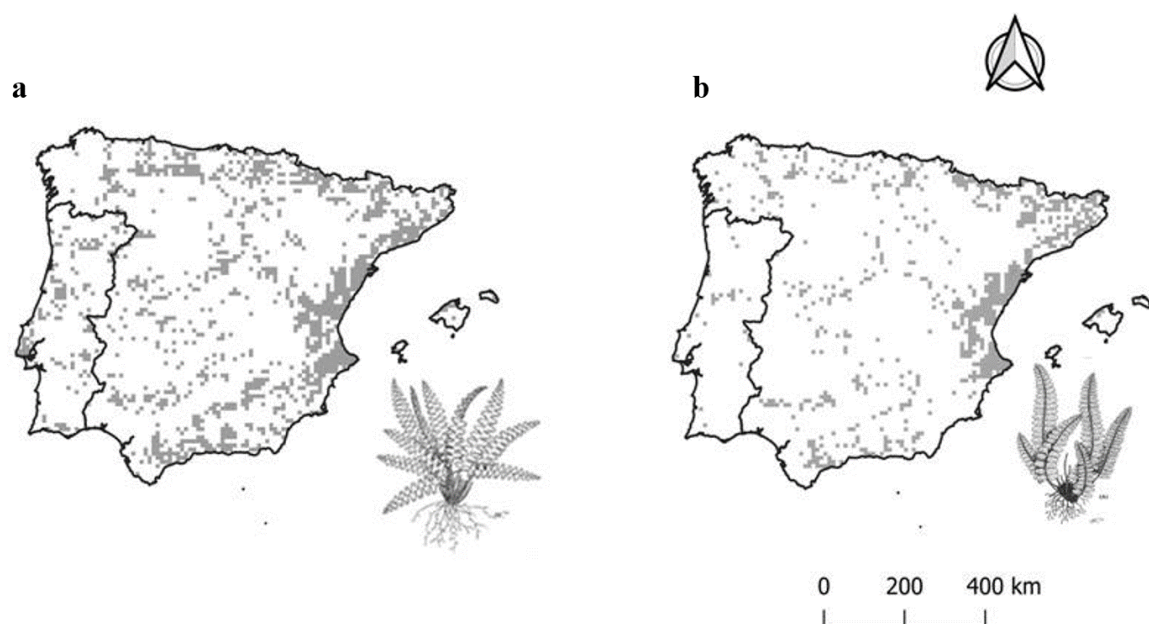


Figura 3. Mapa de distribución de los dos taxones del género *Asplenium* en la Península Ibérica. **a)** Mapa de distribución de *Asplenium ceterach* (AC). **b)** Mapa de distribución de *Asplenium trichomanes* subsp. *quadrivalens* (AT). Mapas elaborados con datos procedentes de GBIF. Ilustraciones procedentes de Belmonte *et al.*, 2011.

La germinación y el desarrollo gametofítico: Importancia de la modelización de ambos procesos biológicos

El calentamiento global junto con el resto de motores de cambio climático están provocando importantes cambios en las condiciones abióticas de todo el planeta. Estos cambios repercuten sobre el componente biótico (en sus múltiples escalas de organización biológica), provocando, entre otros, variaciones en la distribución de especies y extinciones (Bellard *et al.*, 2012; Thomas *et al.*, 2004; Walther, 2004). Estos hechos conllevan la reorganización de las interacciones que se producen entre los organismos y su entorno, generándose nuevos patrones de abundancia y nuevas relaciones entre especies, lo que provoca cambios en la estructura y, por ende, en el funcionamiento de los sistemas (Gilman *et al.*, 2010; Walther, 2010; Yang & Rudolf, 2010).

Se prevé que los efectos del cambio climático no sean homogéneos a lo largo de todo el planeta (McCarty, 2001). La localización geográfica de la cuenca mediterránea, así como sus particularidades climáticas, convierten a esta región en una de las más vulnerables frente al mismo (Benito-Garzón *et al.*, 2008; Giorgi, 2006; Giorgi & Lionello, 2008). De esta forma, se espera que los efectos del cambio climático sean particularmente severos sobre los ecosistemas mediterráneos de la cuenca mediterránea, que se verán afectados tanto por el incremento de temperatura como por la reducción de la precipitación, cuyos efectos serán más patentes durante los meses de verano. Además, el incremento de temperatura provocará un incremento en los niveles de evapotranspiración potencial lo que, en último término, incrementará los niveles de aridez (Doblas-Miranda *et al.*, 2015; Peñuelas *et al.*, 2017).

El calentamiento y la reducción de la disponibilidad hídrica provocados por el cambio climático tienen efectos directos sobre la vegetación (Alder *et al.*, 2009). De esta forma, se ha observado que el aumento de temperatura está generando tanto un incremento en la duración del periodo productivo como un adelantamiento en los eventos reproductivos en el hemisferio boreal (Minorsky, 2002; Notaro *et al.*, 2007). Sin embargo, el incremento de la aridez en la cuenca mediterránea, sobre todo durante la estación seca, podría conllevar un aumento de la tasa de mortalidad y una reducción en el crecimiento de algunas especies, lo que podría generar cambios en la estructura y el funcionamiento de estos sistemas tan diversos (Peñuelas *et al.*, 2017).

Los helechos son un componente importante de los ecosistemas terrestres tropicales y templados. La mayor parte de las especies, dada la naturaleza de su ciclo reproductivo, se asocian a ambientes tropicales húmedos y umbrosos, sin embargo, muchos otros han radiado a otras latitudes y son capaces de habitar en ambientes considerados xéricos, entre los que se encuentran el medio epífita y el medio rupícola (Hietz, 2010; Page, 2002; Vogel *et al.*, 1999; Watkins *et al.*, 2007). En algunos ambientes los helechos tienen un importante rol ecológico. Por ejemplo, algunos helechos pueden inhibir / favorecer el establecimiento de determinadas especies vegetales ejerciendo de esta forma un papel determinante en la modulación de la estructura, composición y funcionamiento de las comunidades (Gaxiola *et al.*, 2008; George & Bazzaz, 1999). A pesar de su importancia, el estudio de aspectos relacionados con su ecología sigue siendo escaso (Melhtreter *et al.*, 2010).

Los helechos, dada su dependencia tanto a la disponibilidad hídrica como a la temperatura, se consideran buenos indicadores del cambio climático (Benzing, 1998). Algunos estudios han mostrado que podrían ser particularmente sensibles a los futuros cambios del clima (Gabriel y Galán *et al.*, 2018a). En general se ha observado que muchas especies podrían sufrir una reducción drástica en sus áreas de distribución (Gasper *et al.*, 2020; Pouteau *et al.*, 2016).

Algunos autores proponen que las especies epífitas serán particularmente sensibles frente a futuros cambios del clima dado que parten de una situación inicial con escasa disponibilidad de nutrientes y de poca capacidad de retención de agua (Hsu *et al.*, 2014). Podría esperarse por tanto que las especies rupícolas, habida cuenta de que tienen que hacer frente a condiciones similares, se vieran afectadas de similar forma. No obstante, hay que destacar que el medio rupícola ha funcionado anteriormente y en algunas ocasiones como refugios tanto de fauna como de flora, aportando localizaciones seguras en el pasado. El entorno rupícola ofrece, además, unas localizaciones estables con poca competencia que en cierto modo genera enclaves “seguros”. Por otra parte, es frecuente que las especies presentes en estos medios posean adaptaciones que les permiten sobrevivir y hacer frente a condiciones xéricas, por lo que parece posible plantear un escenario futuro en el que las especies rupícolas se vean menos afectadas por el cambio climático que las de otros ambientes (García *et al.*, 2020).

Como se ha comentado, en el ciclo biológico de los helechos hay tres estructuras que juegan un papel importante en el éxito final de las especies a la hora de sobrevivir: espora, gametófito y esporófito. Conocer estas estructuras y los principales eventos que acaecen en las etapas en las que cada una de ellas aparece es por tanto de vital importancia para comprender la biología, la capacidad de responder frente a las variaciones ambientales y, en último termino, la vulnerabilidad de las distintas especies.

Los helechos tienen la capacidad de dispersar sus esporas a largas distancias debido al pequeño tamaño de éstas. Estas esporas podrán establecerse en lugares poco accesibles, como las grietas de los roquedos, lo que hace que sean potencialmente buenos colonizadores (Page, 2002). El rango máximo de distribución potencial de una especie será, por tanto, determinado por los lugares a los que una espora puede llegar. Sin embargo, dentro del rango máximo de distribución sólo algunas localizaciones presentarán los microambientes adecuados para que estas esporas consigan germinar y dar lugar al gametófito (Donohue *et al.*, 2010; Mehltreter *et al.*, 2010). Por lo tanto, los eventos que tienen lugar durante la germinación determinan la dinámica y estructura poblacional de las especies y, en último término, su rango de distribución potencial (Baskin & Baskin, 1988). Los factores ambientales que afectan a la germinación de las esporas de helechos son, entre otros, los siguientes: intensidad lumínica, disponibilidad de nutrientes, factores hormonales y temperatura (Gabriel y Galán *et al.*, 2018a; Pangua *et al.*, 2009; Rechenmacher *et al.*, 2010; Suo *et al.*, 2015).

La temperatura constituye un factor limitante para el establecimiento de las especies de helechos (Ranal, 1999). Las especies presentan diferentes respuestas frente a variaciones en este factor, este hecho, está relacionado con el hábitat que ocupan ya que tratan de maximizar la germinación en relación con las condiciones de su hábitat natural (Hill, 1971; Pangua *et al.*, 1994). Algunos estudios muestran que los cambios ambientales consecuencia del cambio climático podrían inhibir, retrasar, o potenciar la germinación (Milbau *et al.*, 2009; Walck *et al.*, 2011). Por lo tanto, las alteraciones en este proceso podrían afectar al reclutamiento de las poblaciones y, en consecuencia, a la dinámica poblacional y comunitaria. Por este motivo, el estudio de los rasgos funcionales relacionados con la germinación (Germinación Máxima, periodo de latencia, etc.) se conforma como el primer paso para comprender la ecología y distribución de las plantas, así como los efectos que podría tener el cambio climático sobre la dinámica poblacional

y, consecuentemente, sobre la futura distribución de las poblaciones de gametófitos en primer término y, de esporófitos, en último término.

El gametófito es la fase crítica del ciclo biológico de los helechos ya que en ella tiene lugar la reproducción sexual y, además, determina la selección de hábitat, el reclutamiento y, en último término, la evolución de las especies (Farrar *et al.*, 2008). Las diferencias en tamaño y estructura entre la fase gametofítica y esporofítica generan que sus ecologías sean totalmente diferentes, y que no se pueda comprender de forma íntegra la evolución y biogeografía de este grupo de organismos sin estudiar aspectos relacionados con la ecología de la fase gametofítica; sin embargo, a pesar de su importancia biológica, el conocimiento de muchos aspectos autoecológicos sigue siendo escaso (Watkins *et al.*, 2007).

Los gametófitos son individuos sencillos con nivel de organización talofítica. Están formados por una monocapa de células, carecen de sistemas efectivos para transportar el agua y, por este motivo, se mantienen en equilibrio constante con las condiciones ambientales externas (Page, 2002; Pittermann *et al.*, 2013). Por lo tanto, suelen estar asociados a lugares con elevada humedad ambiental, la cual les es necesaria no sólo para sobrevivir, sino también, para que tenga lugar la reproducción sexual (Page, 2002). A pesar de ello, dado que los helechos han radiado a zonas alejadas de los trópicos, se ha observado que algunos son tolerantes a la desecación, entre los cuales se encuentra el gametófito de *A. trichomanes* (Testo & Watkins, 2013; Watkins *et al.*, 2007). De hecho, algunos gametófitos pueden ser más tolerantes al estrés ambiental que los esporófitos, y establecerse en localizaciones donde los esporófitos no pueden sobrevivir (Peck *et al.*, 1990; Pittermann *et al.*, 2013). Sin embargo, en la fase gametofítica se pierden la mayor parte de los efectivos poblacionales y, por tanto, el estudio de la influencia de factores ambientales sobre las poblaciones de gametófitos en términos demográficos puede resultar clave para comprender su distribución y el reclutamiento de los esporófitos.

Muchos procesos biológicos están determinados por la temperatura, por ello, la realización de experimentos para evaluar la influencia del incremento en este factor sobre las distintas etapas del ciclo biológico de helechos es el primer paso para la posterior elaboración de modelos matemáticos. La modelización matemática es una herramienta clave para predecir la respuesta y la vulnerabilidad de las especies, comunidades y ecosistemas frente a futuros cambios del clima, por lo tanto, estos modelos pueden resultar de gran ayuda para establecer políticas de conservación que tengan el objetivo de

mitigar los efectos del cambio climático (Harrison *et al.*, 2006; Hossel *et al.*, 2003). Sin embargo, hay una escasez de información básica generada a nivel de especie. Esta falta de información sobre todo es patente en especies de helechos que habitan en ambientes templados (Gabriel y Galán *et al.*, 2018a; Sharpe, 2019). La peculiaridad del ciclo biológico de los helechos hace que sea necesario realizar modelos tanto sobre la germinación como en el posterior desarrollo de la fase gametofítica, lo que podría ayudar a predecir los futuros cambios de distribución y vulnerabilidad de las especies.

Anatomía ecológica: variables anatómicas con interés ecológico y su variación ambiental

Los estudios de anatomía ecológica en vegetales tratan de establecer las relaciones existentes entre los rasgos anatómicos de una planta y las condiciones ambientales donde ésta se encuentra enclavada (Binks *et al.*, 2016; Bosabalidis & Kofidis, 2002; Strauss-Debenedetti & Berlyn, 1994). Dado que la hoja es el principal órgano fotosintético y, además, es el que está en contacto más directo con el ambiente, generalmente es el órgano que presenta más variación plástica. La variación morfoanatómica de las hojas modifica su funcionalidad, lo que permite a las plantas adaptarse a distintos ambientes. De esta forma, los rasgos foliares se conforman como unos de los más informativos cuando el interés se centra en evaluar las estrategias adaptativas de las plantas (Dickson, 2000; Gratani, 2014; Ivanova, 2014; Li & Bao, 2014; Liu *et al.*, 2019; Ramírez-Valiente *et al.*, 2010).

Entre los componentes anatómicos de las hojas que pueden presentar plasticidad, se encuentran la cutícula, los estomas y el mesófilo. Las variaciones que observamos en las poblaciones serán las que han sido más adaptativas y podemos pensar que un elemento clave será que suponen el óptimo de expresión del rasgo que permite alcanzar la máxima rentabilidad en el uso del agua y/o maximizar la tasa fotosintética en función de las condiciones determinadas en las que se desarrolla la planta.

La cutícula, es una capa extracelular compuesta principalmente por un compuesto hidrofóbico, la cutina. Es el elemento de las hojas que se encuentra en contacto más directo con el ambiente, por lo tanto, se conforma como la primera barrera para la difusión de gases, agua y solutos, siendo su papel principal el control de la pérdida de agua para evitar la desecación (Riederer & Schreiber, 2001; Yeats & Rose, 2013). En algunos estudios se ha observado que el grosor de la cutícula puede variar en función de la radiación UV, la aridez y el estrés hídrico (Muniz *et al.*, 2018; Samir *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2014).

Los estomas son poros delimitados por dos células oclusivas que se localizan en la epidermis de las hojas y de los tallos. La función de los estomas es controlar el intercambio de gases (H_2O_v y CO_2) entre la atmósfera y el medio interno de la planta. Los rasgos estomáticos están altamente influenciados por las condiciones externas, de esta forma, se presentan como estructuras esenciales en modular la respuesta de las plantas frente a los cambios ambientales, con el último fin de maximizar la tasa fotosintética y el

uso efectivo de agua (Berry *et al.*, 2010; Buckley, 2005; Hetherington & Woodward, 2003; Holland & Richardson, 2009). Dada la influencia de los factores ambientales sobre los rasgos estomáticos, se consideran parámetros anatómicos esenciales para evaluar las estrategias adaptativas de las plantas a escalas espaciales amplias (Dzomeku *et al.*, 2016; Holland & Richardson, 2009; Hong *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2015).

Los factores ambientales como, por ejemplo, la concentración de CO₂, el estrés hídrico, la intensidad lumínica o la temperatura influyen sobre la longitud (L) y la densidad estomática (D) (Bartlett *et al.*, 2016; Beerling & Chaloner, 1997; Woodward, 1987; Xu *et al.*, 2007). Sin embargo, L es un rasgo menos plástico que D y, generalmente, la relación entre ambos caracteres es compensatoria, existiendo una correlación negativa entre ambos (Dittberner *et al.*, 2018; Holland & Richardson, 2009; Raven, 2014). A partir de ambos rasgos estomáticos básicos, se puede calcular el potencial de conductancia estomática (PCI), un parámetro adimensional que informa sobre la proporción de superficie transpirante que presentan las hojas (Holland & Richardson, 2009).

Los trabajos que han evaluado la variación de estos rasgos en helechos han mostrado que en general estos organismos, al igual que las angiospermas, son capaces de ajustar sus parámetros estomáticos a distintos ambientes, tanto en relación a la disponibilidad hídrica como a la transición sol-sombra y a la altitud (Atala *et al.*, 2012; Lavilla *et al.*, 2017; Vasheka *et al.*, 2019) lo que, en último término, genera que los helechos que están adaptados a distintos hábitos presenten diferencias en sus rasgos estomáticos. Así, por ejemplo, los helechos rupícolas presentan comparativamente mayor D y menor L que aquellos helechos que habitan en zonas con una mayor disponibilidad hídrica (Gabriel & Galán *et al.*, 2018b).

En el mesófilo o parénquima clorofílico tiene lugar el proceso fotosintético y, tanto su estructura interna como su grosor responden a cambios frente a las mismas condiciones ambientales (Matutano *et al.*, 2006; Vasheka *et al.*, 2019).

A pesar de que las hojas son el órgano que presenta mayor variabilidad plástica, ésta no es exclusiva de las hojas, sino que también se ha observado en tejidos de otros órganos como, por ejemplo, en la estructura de los vasos conductores del xilema (Gricar *et al.*, 2015; Stojnić *et al.*, 2018). El xilema es el tejido encargado del transporte de agua desde el suelo a la parte aérea de la planta. El proceso de transpiración que tiene lugar en la interfaz hoja-atmósfera, genera un gradiente hidráulico negativo que impulsa el agua desde el sustrato a los órganos aéreos a través del xilema. Por lo tanto, las relaciones

hídricas de las plantas con el ambiente están influenciadas por los rasgos anatómicos del sistema vascular, como, por ejemplo, el diámetro de los vasos xilemáticos o su área, rasgos que, además, afectan a su vulnerabilidad (Bayramzadeh *et al.*, 2008; Larter *et al.*, 2015; Villar & Castro, 1997).

La distribución de las plantas depende de un conjunto de variables bióticas y abióticas que, en su conjunto, determinan hiperespacios ambientales donde las plantas pueden desarrollarse y sobrevivir (Baughman *et al.*, 2019). Las especies que tienen un área de distribución amplia están sujetas a presiones ambientales que actúan a diferentes escalas espaciales (Martin *et al.*, 2017; Souza *et al.*, 2018). En primer lugar, están influenciadas por las características propias de las poblaciones en las que habitan como, por ejemplo, la precipitación, la temperatura, la existencia de un periodo árido, etc. Y, en segundo lugar, por los gradientes microecológicos existentes dentro de las poblaciones (profundidad del sustrato, calidad y cantidad de la luz, etc.) (Puglielli *et al.*, 2015; Siefert *et al.*, 2015; Souza *et al.*, 2018). Dada esta dualidad, es esperable que los rasgos anatómicos y/o morfológicos presenten variación tanto interpoblacional como intrapoblacional.

Aunque en otros grupos de plantas se han realizado numerosos estudios para determinar cómo consiguen adaptarse al medio a nivel anatómico, los estudios ecoanatómicos en helechos son escasos, a excepción de algunos trabajos que han evaluado la influencia de la transición luz/sombra sobre ciertos rasgos en algunas especies (Arens, 1997; Vasheka *et al.*, 2019). Se conoce que AT y AC muestran variabilidad anatómica y estomática intrapoblacional determinada por los diferentes niveles de exposición a la luz solar (Vasheka *et al.*, 2019).

A pesar de que los trabajos que analizan las variaciones anatómicas intrapoblacionales son numerosos, los trabajos centrados en analizar las variaciones anatómicas entre poblaciones naturales siguen siendo comparativamente más escasos para el conjunto de las plantas (Matutano *et al.*, 2006; Muniz *et al.*, 2018). Estos trabajos han mostrado que parte de la variación intraespecífica anatómica de las especies viene determinada por los condicionantes climáticos de las poblaciones en las que habitan los diferentes individuos de una misma especie.

OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo es evaluar el efecto de ciertos factores ambientales relacionados con la temperatura, sobre distintos rasgos funcionales en las diferentes etapas del ciclo de vida (espora, gametofítica y esporofítica) de *Asplenium trichomanes* subsp. *quadrivalens* y *Asplenium ceterach*.

De manera específica planteamos:

- 1- Evaluar la influencia del incremento de temperatura bajo dos escenarios de cambio climático (RCP4.5 y RCP8.5) sobre distintos rasgos de la germinación en poblaciones mediterráneas de AT y AC.
- 2- Elaboración de modelos matemáticos deterministas para el estudio de la evolución de las poblaciones de gametófitos bajo distintas temperaturas en poblaciones mediterráneas de AT y AC.
- 3- Evaluar la influencia del IAM y de la altitud sobre distintos rasgos funcionales estomáticos (D, L y PCI) en AT y AC.
- 4- Evaluar la influencia del IAM sobre los rasgos anatómicos de las pinnas y del peciolo en AT.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio y protocolo de muestreo

Se prospectaron individuos sanos y adultos (con presencia de estructuras reproductivas) de AT y AC en diferentes localidades de la Península Ibérica, representando cada localidad de recolección una población del taxón. Las muestras fueron recolectadas durante las primaveras de 2018 y 2019.

En cada localidad, el muestreo se realizó de forma sistemática, seleccionando varias grietas en cada población con una pendiente de 90°, con orientación sur y bien expuestas, ya que tanto la orientación, como la exposición de las grietas son factores que afectan a las variables de estudio (Pérez-Harguindeguy *et al.*, 2013; Salgado-Negret *et al.*, 2016). En cada población se recolectaron al menos 4 individuos localizados en diferentes grietas. Un individuo de cada población fue depositado en el herbario de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Complutense de Madrid (MACB) (**Anexo I**).

Se recolectaron un total de 65 individuos pertenecientes a 12 poblaciones de AT y 55 individuos pertenecientes a 9 poblaciones de AC. Las localidades de recolección de ambos taxones se muestran en la **Figura 4**.

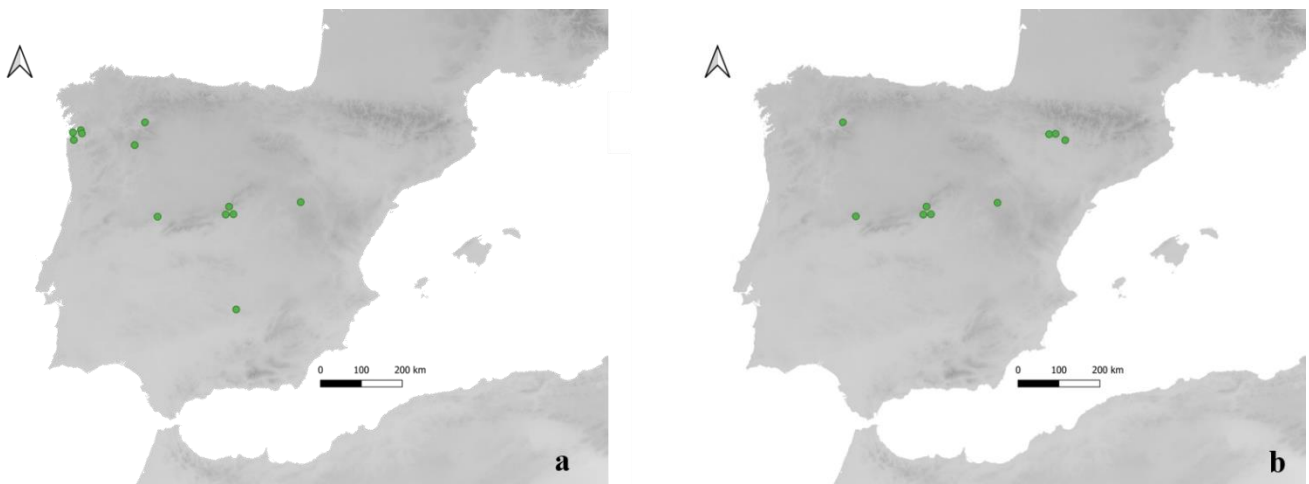


Figura 4. Mapas con las localidades de recolección de AT (*A. trichomanes* subsp. *quadrivalens*) y AC (*A. ceterach*). En **a)** se muestran las localidades de AT (*A. trichomanes* subsp. *quadrivalens*) y en **b)** las de AC (*A. ceterach*).

Para caracterizar climáticamente las poblaciones se utilizó el índice de aridez de Martonne (IAM), que se calculó mediante la siguiente fórmula (De Martonne, 1926):

$$\text{Índice de aridez de Martonne (IAM)} = \frac{PA}{TMA+10}$$

Dónde:

PA = Precipitación anual (mm)

TMA = Temperatura media anual (°C)

Los datos climáticos de PA y TMA fueron obtenidos de WorldClim con una resolución de 30s (Fick & Hijmans, 2017).

El valor obtenido al calcular el índice permite realizar una clasificación climática de las poblaciones según la zonificación que se muestra en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Zonificación climática según IAM (índice de aridez de Martonne) (De Martonne, 1926).

Valor IAM	CLIMA
>60	Per-húmedo
30-60	Húmedo
20-30	Sub-húmedo
15-20	Semiárido
5-15	Árido
0-5	Árido extremo

La información climática de las poblaciones y el número de individuos recolectados en cada una se muestran en la **Tabla 3** para AT y en la **Tabla 4** para AC.

Tabla 3. Localidades de recolección de AT (*A. trichomanes* subsp. *quadrivalens*), el IAM (índice de aridez De Martonne) y el número de individuos recolectados en cada población.

POBLACIÓN	PROVINCIA	IAM	CLIMA	NÚMERO DE INDIVIDUOS RECOLECTADOS
Aciberos	Zamora	51	Húmedo	6
Alberca, La	Salamanca	50,1	Húmedo	4
Cercedilla	Madrid	25,6	Sub-húmedo	4
Corduente	Guadalajara	19,9	Semiárido	5
Escorial, El	Madrid	19,8	Semiárido	5
Modariz	Pontevedra	63,5	Per-húmedo	6
Ponferrada	León	42,3	Húmedo	4
San Lorenzo de Calatrava	Ciudad Real	18,9	Semiárido	4
Torrelodones	Madrid	17,9	Semiárido	6
Tui	Pontevedra	63,6	Per-húmedo	10
Vigo	Pontevedra	69,7	Per-húmedo	7
Xunqueiras	Pontevedra	73,9	Per-húmedo	4

Tabla 4. Localidades de recolección de AC (*A. ceterach*), el IAM (índice de aridez de Martonne) y el número de individuos recolectados en cada población.

POBLACIÓN	PROVINCIA	IAM	CLIMA	NÚMERO DE INDIVIDUOS RECOLECTADOS
Alberca, La	Salamanca	50,1	Húmedo	5
Alquezar	Huesca	25,91	Sub-húmedo	6
Arguis	Huesca	38,6	Húmedo	6
Cercedilla	Madrid	25,6	Sub-húmedo	6
Corduente	Guadalajara	19,9	Semiárido	6
Escorial, El	Madrid	19,8	Semiárido	6
Nocito	Huesca	34,7	Húmedo	10
Ponferrada	León	42,3	Húmedo	5
Torrelodones	Madrid	17,9	Semiárido	5

Protocolos de laboratorio

Experimentos de germinación y desarrollo gametofítico

Para modelizar los efectos del incremento de temperatura sobre la germinación de las esporas y el desarrollo gametofítico, se utilizaron esporas de individuos prospectados en dos de las poblaciones de recolección, Ponferrada y Corduente. Ambas localidades se caracterizan por presentar clima mediterráneo con periodo árido durante el verano (**Figura 5**). De la totalidad de poblaciones de recolección, estas dos fueron seleccionadas ya que los individuos fueron recolectados aproximadamente en la misma fecha y, la edad de las esporas, es un factor intrínseco que afecta a la cinética de germinación (Gabriel y Galán & Prada, 2010).

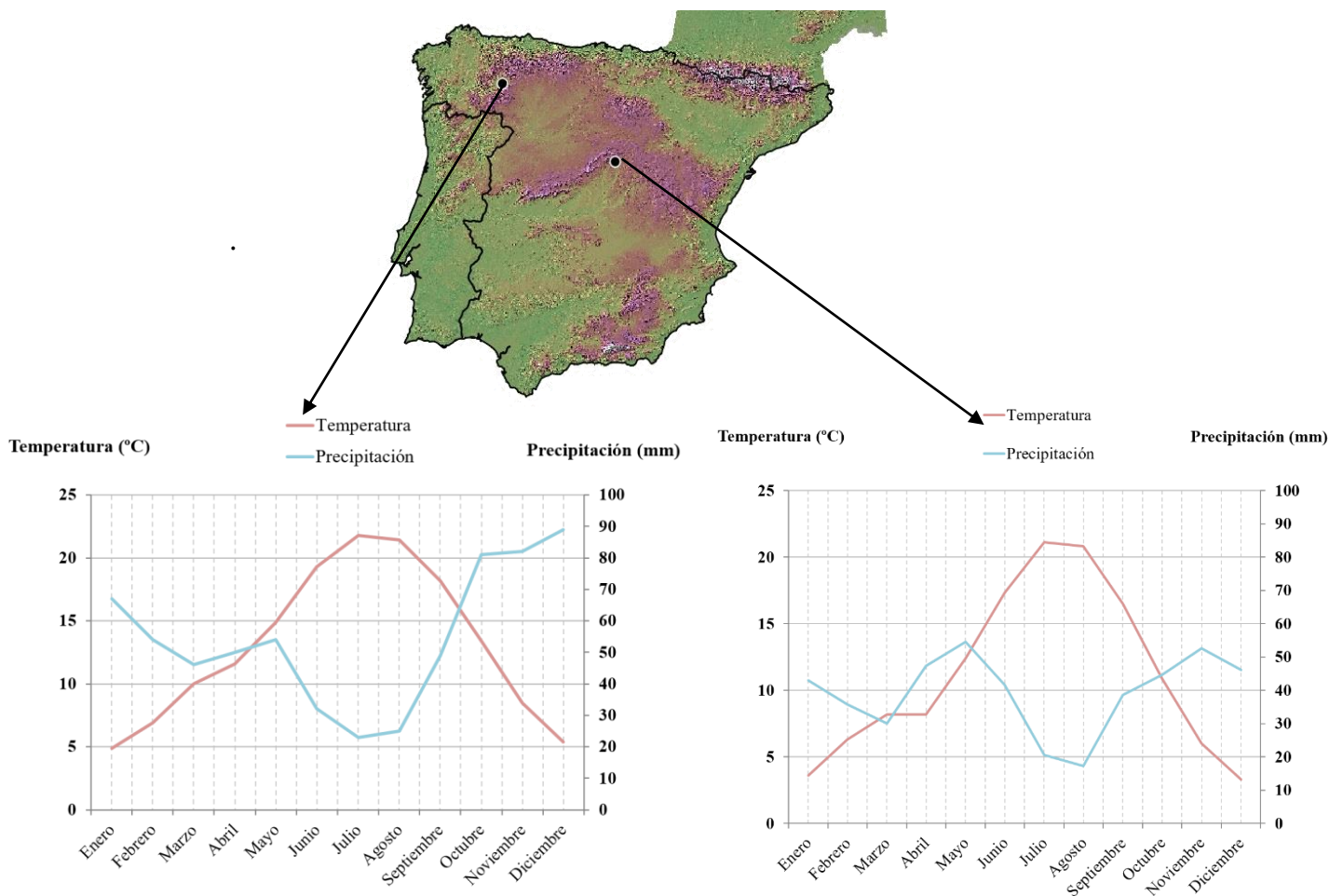


Figura 5. Localidades de los individuos utilizados para llevar a cabo los experimentos de germinación y desarrollo gametofítico. En la figura se muestran los diagramas ombrotérmicos de ambas localidades.

Para llevar a cabo los experimentos de germinación, de la totalidad de individuos recolectados se utilizaron 4 individuos por taxón y por población, por lo tanto, se sembraron esporas de 16 individuos, 8 por población y por taxón. De cada uno de los individuos recolectados se extrajeron esporas procedentes de 3 frondas seleccionadas aleatoriamente. Los individuos fueron recolectados en abril de 2019 en la localidad de Corduente y, en mayo de 2019 en la localidad de Ponferrada. Las esporas fueron sembradas en septiembre del mismo año por lo que su edad fue de 5 y 4 meses respectivamente.

Se realizaron cultivos multiesporicos en placas Petri de 6 cm de diámetro con agar mineral como medio de cultivo (Dyer, 1979). Dado que el objetivo del trabajo fue evaluar la influencia del incremento de temperatura sobre la cinética de germinación y el desarrollo gametofítico, el resto de variables ambientales que pueden afectar a ambos procesos se mantuvieron constantes: las placas se mantuvieron selladas para mantener la humedad y el fotoperiodo utilizado fue de 12 horas de luz con una irradiancia de $30 \pm 45 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

El grupo Intergubernamental de Expertos Frente al Cambio Climático (IPCC) fue creado en 1988 para evaluar las causas, consecuencias y estrategias de respuesta frente al mismo y estableció en su quinto informe distintos escenarios futuros para el año 2100 denominados Trayectorias de Concentración Representativas (RCPs) (IPCC, 2014). Estas trayectorias establecen distintos niveles de acumulación de gases de efecto invernadero (GEI) para el año 2100 en función de cambios en variables socioeconómicas, en los usos del suelo, variables tecnológicas y de emisión de gases de efecto invernadero; además, también contemplan la aplicación de distintas políticas frente al cambio climático. En el informe se establecen 4 RCPs: RCP2.6; RCP4.5; RCP6 y RCP8.5. Para evaluar la influencia del incremento de temperatura sobre la germinación de las esporas fueron seleccionados dos de los escenarios: RCP4.5 y RCP8.5. El escenario RCP4.5 representa un escenario de estabilización en el que la aplicación de políticas climáticas provocaría la estabilización de la concentración de gases de efecto invernadero. El RCP8.5 es el peor de los escenarios ya que contempla una emisión continua de gases de efecto invernadero, la dependencia del uso de combustibles basados en el carbono, el aumento de la utilización de las tierras de cultivo como consecuencia del incremento de la población y, además, no contempla la aplicación de políticas climáticas, lo que en último término

provocaría el incremento de la concentración de GEI (Riachi *et al.*, 2011; van Vuuren *et al.*, 2011).

Se espera que los efectos del cambio climático sean más pronunciados en ciertas regiones del planeta donde los regímenes de temperatura y precipitación siguen patrones opuestos (Zittis *et al.*, 2019). De esta forma, se prevé que la cuenca del Mediterráneo sea una de las zonas del planeta donde el incremento medio de temperatura sea mayor al incremento medio global, especialmente durante los meses de verano (Giorgi & Lionello, 2008; Lelieveld *et al.*, 2012).

Por lo tanto, para evaluar el efecto del incremento de temperatura en los escenarios RCP4.5 y RCP8.5 sobre la cinética de germinación y sobre el desarrollo gametofítico se seleccionaron las siguientes temperaturas extremas: 20°C como temperatura media actual representativa de los meses de verano, ya que la temperatura media actual durante este periodo es de 19,3°C y 20,4°C para las localidades de Corduente y Ponferrada respectivamente y, una temperatura de 26°C como representativa del escenario RCP8.5 para el año 2100 (+ 6°C) ya que las predicciones durante este periodo del año señalan un incremento de 5-6°C en la región de estudio (Strandberg *et al.*, 2014). Para evaluar el efecto del incremento de temperatura en el escenario RCP4.5 (+4°C) sobre la cinética de germinación se utilizaron los modelos ajustados con los datos experimentales obtenidos a 20 y 26°C. El ajuste de estos modelos se detalla en el siguiente apartado.

Cada uno de los experimentos fue replicado tres veces (taxón, temperatura y localidad), por lo tanto, el número total de placas sembradas fue 24. El porcentaje de germinación se registró cada tres días realizando un recuento aleatorio del número de esporas germinadas sobre 100 hasta que el porcentaje de germinación se estabilizó. Se consideró que las esporas germinaron cuando se observó el primer rizoide aparente (Gabriel y Galán & Prada, 2010). Para evitar posibles efectos de la posición de las placas dentro de la cámara de cultivo, después de cada observación las placas se colocaron aleatoriamente dentro de la cámara.

Los rasgos funcionales seleccionados para evaluar la influencia del incremento de temperatura sobre la cinética de germinación fueron tres: el porcentaje máximo de germinación (*GM*); el periodo de latencia medido en días (*L*), esta variable representa el retraso en días entre las curvas teóricas y experimentales, considerando que la velocidad de germinación es máxima desde el inicio; por último, se evaluó la velocidad de

germinación (v), esta última variable es la pendiente de la curva en el momento en la que la germinación es máxima, es decir, en el punto de inflexión de la curva.

La evolución en el desarrollo gametofítico fue evaluada sobre las mismas placas, para ello cada 12 días se registró el porcentaje de gametófitos que se encontraba en cada una de las etapas del desarrollo: F1(espora germinada); F2 (fase filamentosa); F3 (fase espatulada) y, por último, F4 (fase adulta vegetativa). Este seguimiento se realizó hasta que el porcentaje de gametófitos en la última de las etapas fue más o menos constante.

Rasgos estomáticos

Los rasgos estomáticos fueron registrados en todos los individuos recolectados de AT y AC. Por lo tanto, estos rasgos fueron medidos en la totalidad de individuos recolectados, 120 individuos, de 21 poblaciones de ambos taxones. Los rasgos estomáticos se registraron en una fronda madura por individuo. Dentro de cada una de las frondas se seleccionó la pinna situada en la parte media e izquierda de la lámina y, posteriormente, se realizó un raspado de la epidermis abaxial en la parte media de cada una de ellas. Las epidermis fueron teñidas con TBO (Azul de Toluidina) y, posteriormente, fueron observadas mediante un microscopio Nikon Eclipse Ci-L. Los rasgos estomáticos fueron registrados en un campo de 20X seleccionado al azar, el cual fue fotografiado mediante una cámara Nikon Digital SightDS-Fi2. Los rasgos estomáticos fueron medidos sobre estas fotografías utilizando el programa informático Piximetre versión 5.9. En la **Figura 6** se muestra el esquema del protocolo de laboratorio.

Los rasgos estomáticos analizados fueron los siguientes: L (μm); D (estomas/ mm^2) y PCI, el cual se calculó a partir de las dos primeras variables utilizando la siguiente fórmula (Holland & Richardson, 2009):

$$\text{PCI} = (L)^2 \times D \times 10^{-4}$$

Se realizó la medición de L en todos los estomas presentes en el campo fotografiado, no realizando las mediciones de L y no contabilizando para D aquellos estomas que no estaban completamente dentro del campo fotografiado.

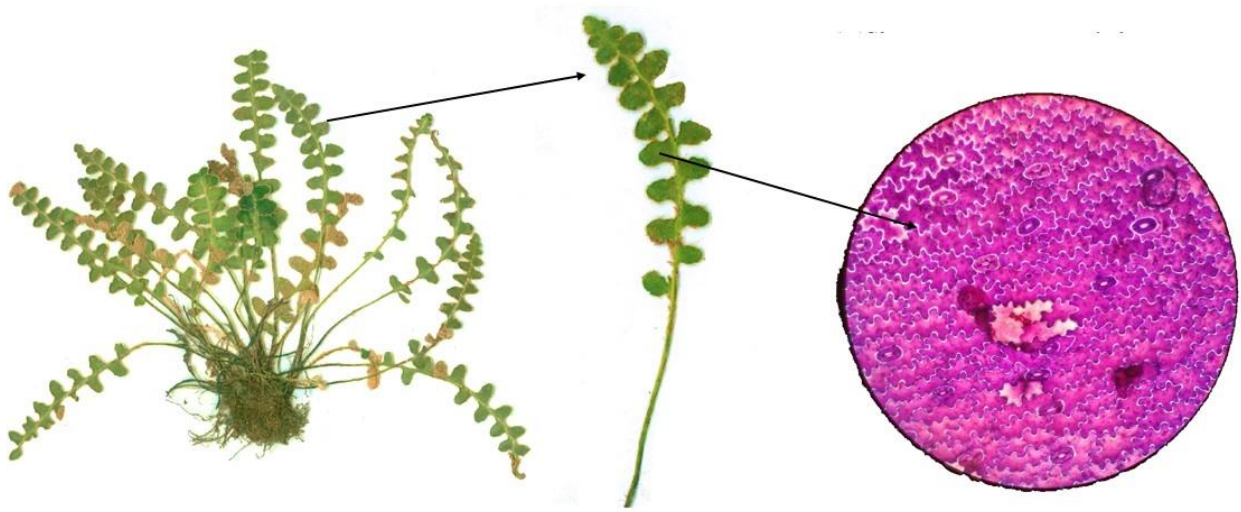


Figura 6. Protocolo de laboratorio para registrar los rasgos estomáticos.

Rasgos anatómicos de las pinnas y del peciolo

La variación de los rasgos anatómicos de las pinnas y de los peciolo sólo fue registrada en AT. En primer lugar, para realizar los cortes anatómicos, se seleccionó al azar una fronda madura (con estructuras reproductivas) y, posteriormente, se seleccionó la pinna situada en la parte media y derecha de la fronda. En las pinnas las secciones se realizaron en la parte media. Los cortes anatómicos de los peciolo se realizaron sobre la misma fronda y fueron realizados a 1 cm de la base del raquis. La fronda sobre la que se realizaron los cortes anatómicos fue la misma sobre la que se registraron las medidas de los rasgos estomáticos; sin embargo, para analizar la variación estomática se utilizó la pinna opuesta.

Previamente a la realización de las secciones, tanto las pinnas como los peciolo fueron rehidratados, debido a que los cambios en el contenido de agua generan cambios en la presión de turgor que pueden afectar a la medida de las variables anatómicas (Pérez-Harguindeguy *et al.*, 2013).

Las secciones se realizaron con un micrótopo de congelación obteniéndose cortes transversales de 20 µm de grosor. Posteriormente, fueron teñidos con TBO (Azul de Toluidina) y visualizados y fotografiados mediante un microscopio Nikon Eclipse Ci-L y una cámara Nikon Digital SightDS-Fi2.

La estructura interna de las pinnas de AT es sencilla. El mesófilo es homogéneo esponjoso con grandes espacios intracelulares entre las células clorofílicas. El mesófilo está delimitado por una epidermis y cutícula monoestratificadas. En el rizoma, el sistema vascular de AT está formado por una dictiostela compuesta por 2-4 meristelas. En la parte media del peciolo, el xilema presenta forma de X, este rasgo es típico de los integrantes de la familia Aspleniaceae (Kramer & Viane, 1990). El peciolo a 1 cm de la base del raquis (localización donde se realizaron las secciones) presenta una estructura monofascicular compuesta por xilema y por floema. El floema se dispone en la parte externa ocupando la mayor parte de la meristela. El xilema se localiza en la parte central de la meristela y, en este punto, está caracterizado por presentar una morfología en forma de T (**Figura 7**).

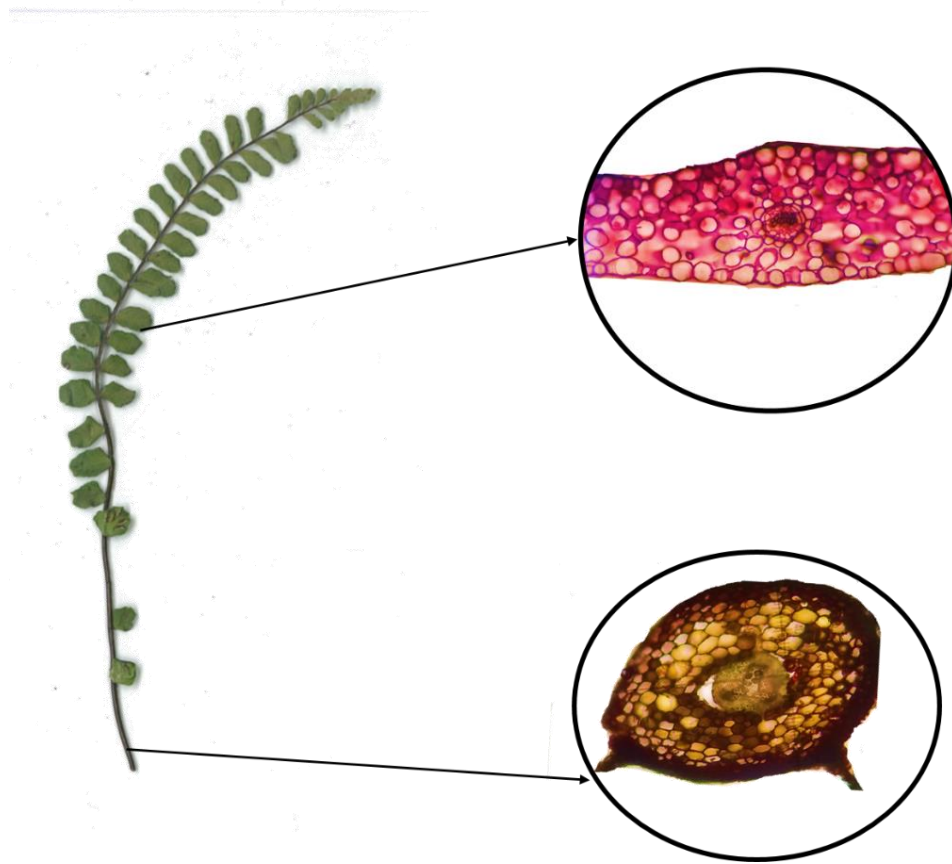


Figura 7. Estructura interna de las pinnas y del peciolo en *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens*.

Los rasgos anatómicos fueron medidos sobre las fotografías realizadas, para lo cual, se utilizó el programa informático Image J (Schneider *et al.*, 2012). Se registraron los siguientes rasgos anatómicos: **(1) En la pinna:** grosor total pinna (GP); grosor de la cutícula adaxial (GC); grosor relativo de la cutícula adaxial con respecto al grosor total de la pinna (GCR); grosor del mesófilo (GM) y grosor relativo del mesófilo con respecto al grosor total de la pinna (GMR). Debido a que estos rasgos pueden presentar variaciones a lo largo de la lámina se realizaron varias medidas en segmentos regulares (cada 50 μm aproximadamente) evitando los extremos y las zonas con venas principales (Pérez-Harguindeguy *et al.*, 2013). Finalmente, se obtuvo el valor medio de cada rasgo por pinna. Todas las variables anatómicas de las pinnas se expresan en μm . **(2) En el peciolo:** área del peciolo (AP); área del haz vascular (AH); área relativa del haz vascular con respecto al área total del peciolo (AHR); área del xilema (AX); área relativa del xilema con respecto al área total del haz vascular (AXR). Todas las variables anatómicas del peciolo se presentan en mm^2 .

Desarrollo de modelos y análisis estadísticos

Evaluación de los efectos del incremento de temperatura sobre la cinética de la germinación en *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* y *A. ceterach* bajo distintos escenarios de cambio climático

En primer lugar, los datos experimentales de germinación bajo todos los escenarios analizados (taxón, temperatura y población) fueron ajustados a una curva teórica de crecimiento sigmoideo mediante el uso del modelo de Gompertz:

$$y(t) = \frac{GM}{1 + e^{\frac{4v(L-t)}{GM} + 2}}$$

Donde:

$y(t)$: representa el % de germinación en el instante t .

GM : representa el máximo porcentaje de germinación.

L : representa el periodo de latencia medido en días.

v : representa la velocidad máxima de germinación.

El ajuste de los datos experimentales se realizó mediante regresión no lineal. Los parámetros se estimaron iterativamente por mínimos cuadrados mediante el método de Levenberg-Marquardt (Gill & Murray, 1978). El máximo número de iteraciones se fijó en 200. La tolerancia en la estimación de los coeficientes y en la suma de cuadrados de los residuos se fijó en 10^{-12} .

Dado que no observamos un efecto significativo de la población sobre ninguna de las variables, los datos experimentales se agruparon en un único conjunto de datos. Por lo tanto, se realizaron modelos para las variables GM , L y v , utilizando como variables predictivas el taxón (T) con dos niveles (*A. trichomanes* subsp. *quadrivalens*=1 y *A. ceterach*=0), la variación de temperatura (ΔT) y la interacción entre las dos variables ($\Delta T \cdot T$). Se realizaron regresiones logísticas para GM , debido a su carácter binomial (germinación/no germinación) y, para las variables L y v se ajustaron modelos de regresión lineal al tratarse de variables continuas. Los modelos fueron ajustados mediante el método backward stepwise regression, es decir, en primer lugar, se generaron los modelos más complejos introduciendo todas las variables explicativas: variación de temperatura (ΔT), la variable taxón (T) y, por último, la interacción de estas variables ($\Delta T \cdot T$) y, posteriormente, se generaron modelos más sencillos eliminando las variables

que presentaron los p-valores más altos no significativos. Los modelos teóricos ajustados aparecen en la **Tabla 5**.

Tabla 5. Modelos teóricos ajustados para cada una de las variables respuesta analizadas.

VARIABLE RESPUESTA	MODELO
L	$\beta_0 + \beta_1 \Delta T + \beta_2 \cdot T + \beta_3 \cdot \Delta T \cdot T$
v	$\alpha_0 + \alpha_1 \cdot \Delta T + \alpha_2 \cdot T + \alpha_3 \cdot \Delta T \cdot T$
GM	$\frac{1}{1+e^{-(logit)}}, \text{ donde } logit = \ln \left(\frac{GM}{1-GM} \right) = \beta_0 + \beta_1 \cdot \Delta T + \beta_2 \cdot T + \beta_3 \cdot \Delta T \cdot T$

Por otro lado, se analizó el tiempo necesario para alcanzar el 50% de germinación (T50) por taxón y por temperatura. Para llevar a cabo este análisis, en primer lugar, se testó la normalidad de esta variable en cada grupo (taxón y temperatura) mediante el uso del test de Shapiro-Wilk (Shapiro & Wilk, 1965). Dado que la variable siguió una distribución normal en todos los grupos (p-valor > 0,05), para comparar las medias de T50 entre el mismo taxón a distintas temperaturas (20 y 26°C) y, entre los dos taxones a la misma temperatura se realizaron pruebas T de Student.

Finalmente, para estimar los efectos del incremento de temperatura sobre GM , L y v bajo los dos escenarios RCP4.5 (+ 4°C) y RCP8.5 (+6°C) de cambio climático previstos durante la estación seca en la región mediterránea se utilizaron los modelos previamente ajustados.

Para realizar los análisis estadísticos se utilizó el programa informático STATA v.9 (StataCorp, 2005), utilizando un nivel de significación de 0,05.

Modelo determinista para el estudio de la evolución de las poblaciones de gametófitos sometidas a diferentes temperaturas

Se ha elaborado un modelo determinista compuesto por dos sistemas de ecuaciones que permite establecer los siguientes aspectos en la evolución demográfica de las poblaciones de gametófitos:

- 1- Tasa de cambio de un estado de desarrollo i al estado $i+1$.
- 2- Número de individuos existentes en cada estado e instante.
- 3- Velocidad con la que los gametófitos pasan del estado i al estado $i+1$.
- 4- Tiempo medio para que un individuo seleccionado al azar pase del estado de desarrollo i al estado $i+1$.

Para evaluar la evolución de las poblaciones a lo largo del tiempo se tuvieron en cuenta los siguientes estados: F0 (espora sin germinar); F1(espora germinada); F2 (filamento); F3 (espátula) y F4 (gametófito adulto vegetativo). De esta forma, para la construcción del modelo determinista se establecieron las siguientes proporciones:

$y_0(t)$: Número o proporción de esporas que permanecen sin germinar en el instante t .

$y_1(t)$: Número o proporción de esporas en el estado 1 en el instante t .

$y_2(t)$: Número o proporción de gametófitos en el estado 2 en el instante t .

$y_3(t)$: Número o proporción de gametófitos en el estado 3 en el instante t .

$y_4(t)$: Número o proporción de gametófitos en el estado 4 en el instante t .

Los coeficientes del modelo determinista y su interpretación biológica son los siguientes:

- α_i es la tasa de paso del estado i al estado $i+1$ o la tasa con la que dejan de estar en el estado i . También se puede interpretar como la tasa con la que crece en número el estado $i+1$.
- $\frac{dy_i}{dt}$ es la velocidad con la que varía, en número, la población de gametófitos en el estado i .
- $\frac{1}{\alpha_i}$ es la media de tiempo que hay que esperar para que un individuo en el estado i pase al estado $i+1$.

Para la elaboración de estos modelos, dado que tanto el alimento como el espacio no se contemplaron como factores limitantes, no se tuvo en cuenta la tasa de mortalidad de los gametófitos, ya que en ausencia de estas limitaciones se asume que en el último estado (F4) permanecerán durante un periodo prolongado de tiempo. Además, se asumieron tasas de cambio constantes entre estados. Teniendo en cuenta estas asunciones se estableció el siguiente modelo determinista compuesto por dos sistemas de ecuaciones y coeficientes constantes:

$$\begin{array}{ll}
 \left\{ \begin{array}{l} \frac{dy_0}{dt} = -\alpha_0 y_0 \\ \frac{dy_1}{dt} = \alpha_0 y_0 - \alpha_1 y_1 \\ \frac{dy_2}{dt} = \alpha_1 y_1 - \alpha_2 y_2 \\ \frac{dy_3}{dt} = \alpha_2 y_2 - \alpha_3 y_3 \\ \frac{dy_4}{dt} = \alpha_3 y_3 \\ y_0(0) = 1, y_1(0) = 0, y_2(0) = 0, y_3(0) = 0, y_4(0) = 0 \end{array} \right. & \mathbf{1} \quad t \in \left[0, -\frac{\log k}{\alpha_0} \right] \\
 \left\{ \begin{array}{l} \frac{dy_1}{dt} = -\alpha_1 y_1 \\ \frac{dy_2}{dt} = \alpha_1 y_1 - \alpha_2 y_2 \\ \frac{dy_3}{dt} = \alpha_2 y_2 - \alpha_3 y_3 \\ \frac{dy_4}{dt} = \alpha_3 y_3 \\ y_1\left(-\frac{\log k}{\alpha_0}\right), y_2\left(-\frac{\log k}{\alpha_0}\right), y_3\left(-\frac{\log k}{\alpha_0}\right), y_4\left(-\frac{\log k}{\alpha_0}\right) \end{array} \right. & \mathbf{2} \quad t \in \left[-\frac{\log k}{\alpha_0}, \infty \right)
 \end{array}$$

Supongamos que k es el número de esporas que no germinan, teniendo en cuenta que $y_0' = -\alpha_0 y_0$ es la velocidad con la que las esporas pasan al estado de germinación

$$(F1) \Rightarrow y_0 = e^{-\alpha_0 t} \Rightarrow k = e^{-\alpha_0 t} \Rightarrow t = -\frac{\log k}{\alpha_0}, \text{ será el tiempo necesario para que las}$$

esporas con capacidad para germinar hayan germinado. Es decir, el primer sistema de ecuaciones es válido para el intervalo de tiempo $\left[0, -\frac{\log k}{\alpha_0} \right]$, a partir de este momento,

la función permanecerá constante, es decir, no decrecerá y, por lo tanto, el segundo sistema de ecuaciones será válido a partir de $t = -\frac{\log k}{\alpha_0}$. En la **Figura 8** se muestra de

forma gráfica cada uno de los sistemas de ecuaciones que conforman el modelo determinista.

El razonamiento para la primera ecuación del primer sistema de ecuaciones sería el siguiente: $y_0(t)$ representa el número de plantas sin germinar en el instante t e $y_0(t+h)$ las que quedan sin germinar en el instante $t+h$, por tanto, $y_0(t+h) - y_0(t)$ será el número de las que han germinado en el periodo $[t, t+h]$.

Es razonable pensar que el número de esporas que han germinado en el periodo de tiempo indicado sea proporcional a las que había sin germinar en el instante t y al tiempo que ha transcurrido h . Por tanto, $y_0(t+h) - y_0(t) = -\alpha_0 y_0(t)h \Rightarrow$

$$\frac{y_0(t+h) - y_0(t)}{h} = -\alpha_0 y_0(t) \Rightarrow \lim_{h \rightarrow 0} \frac{y_0(t+h) - y_0(t)}{h} = -\lim_{h \rightarrow 0} \alpha_0 y_0(t) \Rightarrow y_0'(t) = -\alpha_0 y_0(t)$$

expresión que resulta ser la primera ecuación del modelo. Esta ecuación establece que la velocidad con la que germinan las esporas es proporcional al número de las que permanecen sin germinar. El signo negativo indica que el número de esporas que permanecen sin germinar disminuye con el paso del tiempo, por lo que la función es decreciente y su derivada debe ser negativa.

Razonando de manera análoga y teniendo en cuenta que para las distintas etapas del desarrollo (espora germinada, filamento, espátula y gametofito cordiforme vegetativo) existe velocidad de creación, se obtendrían las restantes ecuaciones del mencionado modelo.

El procedimiento para obtener las funciones solución del modelo (1), consiste en resolver el primer sistema, cuyas soluciones sólo serán válidas hasta $t = -\frac{\log k}{\alpha_0}$, posteriormente se resolverá el segundo sistema (2), cuyas soluciones serán válidas a partir de $t = -\frac{\log k}{\alpha_0}$. Es decir, las funciones solución del primer sistema formarán con las funciones solución del segundo, funciones partidas que serán las soluciones definitivas del modelo.

Las matrices de los sistemas que se analizan y conducen a las soluciones del modelo son las siguientes:

$$A = \begin{pmatrix} -\alpha_0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ \alpha_0 & -\alpha_1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \alpha_1 & -\alpha_2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \alpha_2 & -\alpha_3 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \alpha_3 & 0 \end{pmatrix} \quad B = \begin{pmatrix} -\alpha_1 & 0 & 0 & 0 \\ \alpha_1 & -\alpha_2 & 0 & 0 \\ 0 & \alpha_2 & -\alpha_3 & 0 \\ 0 & 0 & \alpha_3 & 0 \end{pmatrix}$$

Atendiendo a los valores propios y los vectores propios de estas matrices y calculando la solución general del sistema homogéneo que representa el modelo, se puede establecer la solución del mismo en cada uno de los casos.

Para el cálculo de los coeficientes α_i , obtenidos a partir de los datos experimentales aportados, se ha usado aproximación numérica de la derivada y el software Matlab (MATLAB, 2012). El uso de la aproximación numérica de la derivada permite el cálculo de α_i sin necesidad de conocer la solución explícita del modelo.

Para el cálculo de los valores y vectores propios de la matriz se ha usado el software Máxima (Máxima, 2014).

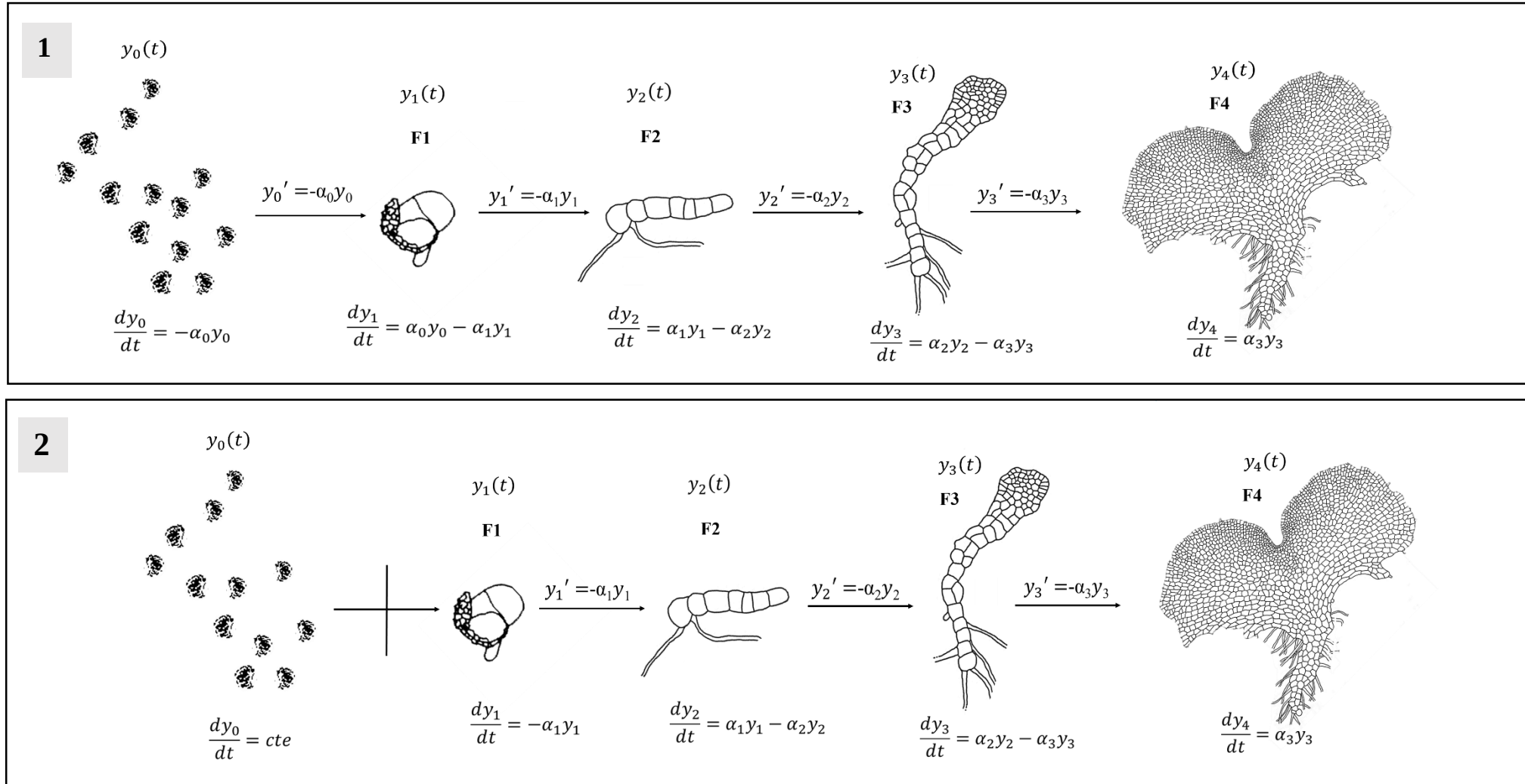


Figura 8. Representación gráfica del modelo determinista para el estudio de la evolución de las poblaciones de gametófitos. **1)** Representa el sistema de ecuaciones válido para el primer periodo de tiempo $\left[0, -\frac{\log k}{\alpha_0}\right]$. **2)** Representa el sistema de ecuaciones válido a partir de $t = -\frac{\log k}{\alpha_0}$. En la figura se muestra las ecuaciones de velocidad de cambio entre estados y_i' y las funciones de velocidad con la que varía (en número) cada uno de los estados del desarrollo $\frac{dy_i}{dt}$

Efecto del índice de aridez de Martonne (IAM) y altitud sobre los rasgos estomáticos de *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* y *A. ceterach* y de IAM sobre los rasgos anatómicos de *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens*

En primer lugar, se testó la normalidad y homocedasticidad de todas las variables anatómicas y estomáticas. Para realizar los análisis de normalidad se utilizó el test de Shapiro-Wilk (Shapiro & Wilk, 1965) y, para testar la homocedasticidad, el test de Levene (Levene, 1960). Todas las variables se ajustaron a una distribución normal ($p > 0,05$) y fueron homocedásticas ($p > 0,05$).

Frecuentemente, en los estudios ecológicos los datos están agregados en diferentes unidades espaciales y/o temporales. En nuestro caso, 65 individuos recolectados en 12 poblaciones en el caso de AT y 55 individuos pertenecientes a 9 poblaciones en el caso de AC. Es esperable que las mediciones realizadas dentro de una misma unidad espacial no sean independientes entre sí, por ejemplo, en nuestro caso, sería esperable que las medidas realizadas en diferentes individuos dentro de una misma población estuvieran correlacionadas (Hardin, 2005). Por lo tanto, para analizar el efecto de los predictores IAM y altitud sobre los rasgos estomáticos en AT y AC, y los efectos de IAM sobre los rasgos anatómicos en AT, se ajustaron Ecuaciones de Estimación Generalizadas (GEE). Estos modelos son una extensión de los modelos lineales generalizados (GLM) (Nelder & Wedderburn, 1972), pero a diferencia de estos últimos, las GEE permiten corregir la dependencia de los datos tomados en la misma unidad espacial y/o temporal. Este hecho hace que la utilización de GEE en diseños experimentales que presentan una estructura de datos agrupados permita obtener estimaciones más fiables (Zeger & Liang, 1986).

Para testar los efectos de los predictores IAM y altitud sobre los rasgos estomáticos D, L y PCI en ambos taxones se ajustaron 6 modelos GEE, tres por taxón y, para evaluar los efectos del predictor IAM sobre los 10 rasgos anatómicos de las pinnas y del peciolo en AT se ajustaron un total de 10 modelos GEE (uno por cada variable anatómica). Como función vínculo se utilizó la función identidad y como estructura de correlación la intercambiable. Los modelos GEE fueron ajustados en el programa informático STATA v.9, utilizando un nivel de significación de 0,05.

Por otro lado, para analizar las diferencias en los rasgos estomáticos entre los dos taxones para el conjunto de individuos recolectados se ajustaron modelos GEE utilizando la variable T (Taxón) con dos niveles ($A. trichomanes=1$ y $A. ceterach=0$). Además, se analizaron las diferencias en el valor medio de los rasgos estomáticos entre los dos taxones dentro de las poblaciones de recolección común, para ello se realizaron pruebas T de Student.

RESULTADOS

Modelos de la cinética de germinación en *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* y *A. ceterach*

La cinética de germinación en ambas especies bajo las dos temperaturas se muestra en la Figura 9.

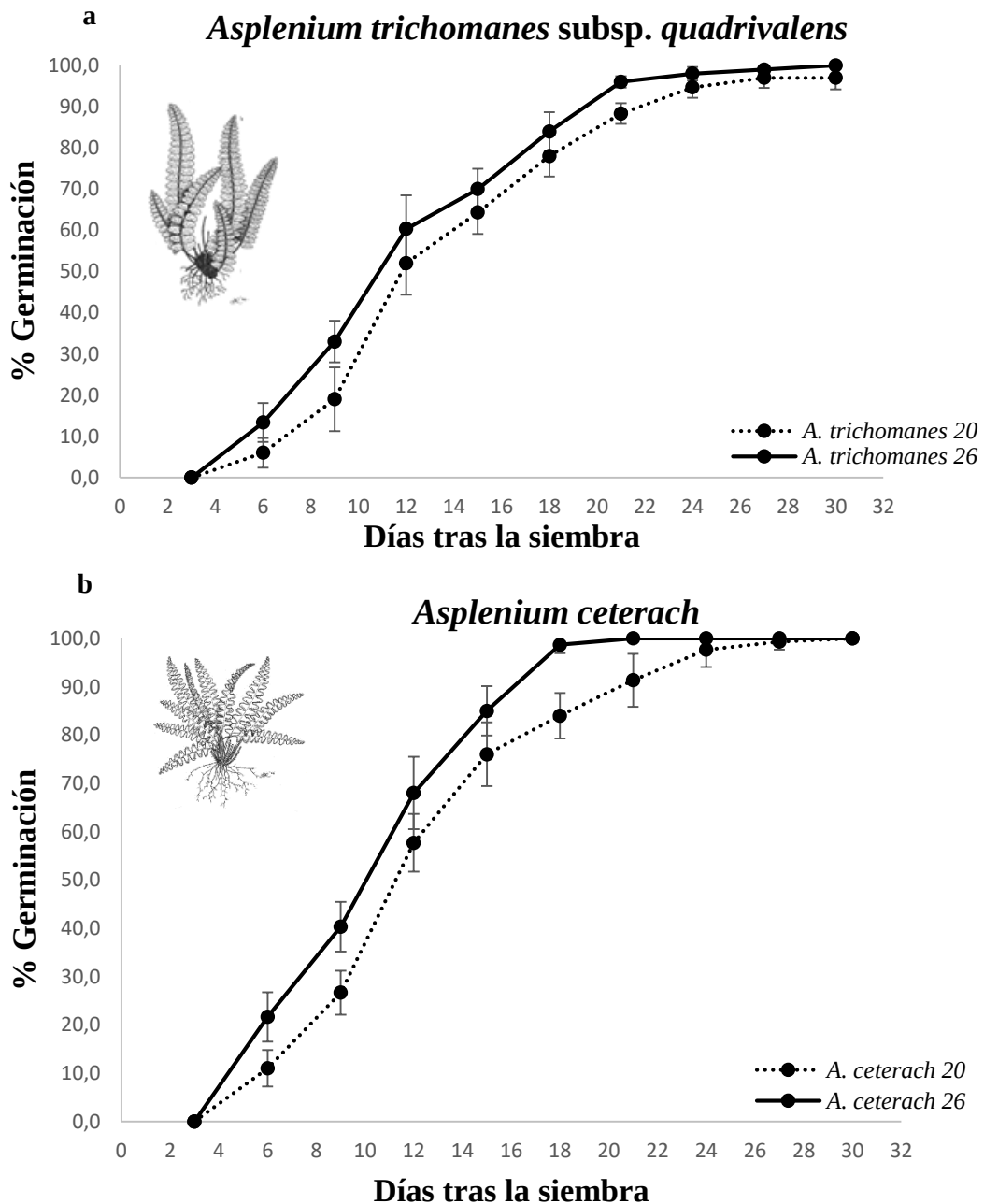


Figura 9. Cambios en el porcentaje de germinación en AT (*A. trichomanes* subsp. *quadrivalens*) y AC (*A. ceterach*) a lo largo de los días. La línea discontinua representa el porcentaje de germinación a 20 °C y la continua a 26 °C. En la figura **a)** se muestran los resultados de la cinética de germinación en *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* y en **b)** los resultados de la cinética de germinación en *A. ceterach*.

Los modelos realizados se muestran en el **Anexo II**. Las variables ΔT y T así como su interacción no ejercieron efectos significativos sobre la variable v (p -valor $> 0,05$). Sin embargo, ambas variables ejercieron efectos significativos sobre las variables GM y L , además, en esta última la interacción entre las dos variables ($\Delta T \cdot T$) también tuvo efectos significativos. En cuanto a GM , el incremento de temperatura ejerció un efecto significativamente positivo, lo que implica que el aumento de temperatura generó un incremento en el valor de la variable GM . La variable T ejerció un efecto significativamente negativo sobre GM , lo que implica que, en AT, GM es menor que en AC bajo las dos temperaturas.

La variable ΔT ejerció un efecto significativamente negativo sobre L . Este hecho implica que el incremento en la temperatura genera una reducción en el tiempo necesario para que se produzca la germinación, concretamente, por cada grado L se reduce en 0,13 días. Por otro lado, los efectos de la variable T fueron positivamente significativos, es decir, en AT, L es 6,2 unidades de tiempo mayor que en AC. Además, se encontró un efecto significativamente negativo de la interacción entre ΔT y E sobre esta variable, por lo tanto, el incremento en la temperatura presentó un efecto diferencial sobre la variable L en cada especie, siendo el efecto de este incremento 0,23 unidades menor en AT que en AC. Los modelos finales ajustados para GM y L se muestran en la **Tabla 6**.

Tabla 6. Modelos ajustados para las variables GM (germinación máxima, %) y L (periodo de latencia, días). En la tabla se muestra el logit para la variable GM y el modelo para la variable L , así como la devianza y R^2 explicada por los modelos.

Modelos ajustados para las variables de germinación		
Variable	logit (GM)/Modelo	Devianza/ R^2
GM	$-2,68 + 0,32 \Delta T - 0,81 T$	38,2%
L	$8,33 - 0,13 \Delta T + 6,2 T - 0,23 \Delta T \cdot T$	59,54%

En ambos taxones se encontraron diferencias significativas en T50 a 20°C y a 26°C, siendo T50 en ambos casos significativamente menor a 26 °C (p-valor < 0,05). También se encontraron diferencias significativas entre especies tanto a 20 °C como a 26 °C, siendo el valor de T50 significativamente menor en AC que en AT bajo las dos temperaturas (p-valor < 0,05). Los valores de T50 de cada taxón y temperatura se muestran en la **Tabla 7**.

Tabla 7. Valor medio y desviación estándar de T50 obtenido en cada taxón y temperatura. AT (*A. trichomanes* subsp. *quadrivalens*); AC (*A. ceterach*).

		ESPECIE	
		AT	AC
TEMPERATURA	20°C	12,8 ± 0,6	11,2 ± 0,6
	26°C	11,1 ± 0,8	9,8 ± 0,6

Predicciones para distintos escenarios de cambio climático

Dado que no encontramos efectos significativos de la variable ΔT sobre v no se calculó su variación bajo los dos escenarios de cambio climático analizados. Para determinar el valor de estas variables bajo los dos escenarios de cambio climático se utilizaron los modelos finales ajustados en la **Tabla 6**. La variación de GM y L bajo los escenarios RCP4.5 y RCP8.5 durante el periodo seco en AT y AC se muestra en la **Tabla 8**.

Tabla 8. Variación en GM (%) y L (días) en AT (*A. trichomanes* subsp. *quadrivalens*) y AC (*A. ceterach*) bajo los escenarios RCP4.5 y RCP8.5.

		RCP4.5 (4°C)	RCP8.5 (6°C)
ΔGM	AT	+ 3,7	+ 4,4
	AC	+ 1,7	+ 2,1
ΔL	AT	-1,4	-2,2
	AC	-0,5	-0,8

En ambos taxones los modelos generados predicen un incremento de GM bajo ambos escenarios. El aumento en GM será mayor en AT, ya que muestra más del doble de incremento en dicha variable que AC, tanto en el escenario RCP4.5 como en el RCP8.5. Concretamente, predicen un incremento en GM de +3,7 y + 4,4% en AT, mientras que en AC este incremento es de +1,7 y +2,1% respectivamente para los escenarios RCP4.5 y RCP8.5. Por el contrario, el incremento de temperatura augura una reducción en L en ambos taxones. En este caso, el efecto también será más pronunciado en AT, ya que en este taxón se observó una reducción de -1,4 y -2,2 días, mientras que en AC esta reducción fue de -0.5 y -0.8 días en los escenarios RCP4.5 y RCP8.5 respectivamente.

Modelos deterministas para el análisis de la evolución del desarrollo gametofítico bajo diferentes temperaturas

Las funciones y las gráficas obtenidas al resolver el modelo determinista compuesto por dos sistemas de ecuaciones para cada especie (AT y AC), localidad y temperatura se muestran en los **Anexos IIIA-H**. En la **Tabla 9** se muestran los valores de α_i y $\frac{1}{\alpha_i}$, es decir, la tasa de paso del estado i al estado $i+1$ y la media de tiempo necesario para que un individuo que se encuentra en el estado i pase al estado $i+1$. Además, se muestra el valor de k , es decir, el número de esporas que no germinan.

Tabla 9. Coeficientes α_i y $\frac{1}{\alpha_i}$ obtenidos para cada taxón (AT y AC), temperatura (20 y 26°C) y localidad (Corduente y Ponferrada).

Taxón/Localidad/Temperatura	COEFICIENTE								
	α_0	α_1	α_2	α_3	$\frac{1}{\alpha_0}$	$\frac{1}{\alpha_1}$	$\frac{1}{\alpha_2}$	$\frac{1}{\alpha_3}$	κ
AT/ Corduente/20°C	0,066	0,135	0,05	0,038	14,93	7,38	19,63	25,79	0,03
AC/Corduente/20°C	0,12	0,15	0,063	0,061	8,5	6,47	15,65	16,32	0,006
AT/Corduente/26°C	0,107	0,21	0,055	0,045	9,27	4,68	18,09	22,06	0
AC/Corduente/26°C	0,193	0,183	0,105	0,075	5,15	5,45	9,5	13,25	0
AT/Ponferrada/20°C	0,073	0,126	0,051	0,033	13,52	7,9	19,4	29,44	0,03
AC/Ponferrada/20°C	0,101	0,145	0,055	0,094	9,83	6,9	17,9	10,61	0
AT/Ponferrada/26°C	0,099	0,184	0,057	0,052	10,09	5,41	17,37	19,03	0,011
AC/Ponferrada/26°C	0,137	0,191	0,109	0,08	7,29	5,2	9,14	12,48	0

Como se observa en la **Tabla 9** α_0 , es decir, la tasa con la que las esporas pasan del estado F0 (espora no germinada) al estado F1(espora germinada), es mayor a 26°C que a 20°C tanto en AT como en AC en ambas localidades. Si comparamos esta tasa entre taxones, también se observa que es mayor en AC que en AT a ambas temperaturas y en las dos localidades. En cuanto a α_1 , se observa el mismo patrón general que en α_0 , es decir, un aumento en α_1 con el aumento de temperatura en ambos taxones y localidades. En este caso salvo a 26°C en Corduente, α_1 también es superior en AC en todos los casos. En cuanto a α_2 y α_3 se observa que ambas son superiores en AC que en AT en todos los casos (localidades y temperaturas), y se observa un incremento generalizado en ambos coeficientes a 26°C. Además, estas tasas, como se observa en la **Tabla 9**, tienden a reducirse a partir de α_1 , es decir, las tasas tienden a ser menores entre estados del desarrollo más avanzados.

El incremento de temperatura conllevó a una reducción del coeficiente $\frac{1}{\alpha_0}$, es decir, generó una reducción en el tiempo necesario para que un individuo seleccionado al azar pasara al estado de espora germinada (F1), este patrón fue observado en ambos taxones y este coeficiente fue menor en AC a ambas temperaturas tanto en Ponferrada como en Corduente. Sin embargo, no se observaron diferencias tan claras entre ambos taxones en el tiempo medio necesario para pasar del estado de espora germinada (F1) al de filamento (F2), siendo las tasas similares entre ambos taxones. En este caso se observó una reducción en $\frac{1}{\alpha_1}$ en ambos taxones y localidades a 26°C y este valor fue menor en AC en todos los casos salvo a 26°C en la población de Corduente. En cuanto al tiempo medio necesario para que un individuo seleccionado al azar pasara al estado espatulado ($\frac{1}{\alpha_2}$) y al tiempo medio necesario para pasar al estado cordiforme ($\frac{1}{\alpha_3}$), también se observó dicha reducción en ambos taxones y localidades salvo en el caso de AC en Ponferrada a 26°C que se observó un pequeño incremento en $\frac{1}{\alpha_3}$. Las diferencias más patentes entre ambos taxones se observaron a 26°C en el coeficiente $\frac{1}{\alpha_2}$ donde se observa una reducción más drástica en el tiempo medio necesario para pasar al estado espatulado en AC.

A partir de las funciones obtenidas, se calculó el porcentaje de individuos existente a los 25, 50, 75 y 100 días en cada estado en ambos taxones, localidades y temperaturas. Los valores obtenidos se muestran en el **Anexo IV**. A partir de estos valores y las tasas de paso del estado i al estado $i+1$ (α_i), se calculó la velocidad con la que varía el número de individuos en cada estado. Los valores obtenidos se muestran en la **Tabla 10**.

Tabla 10. Valor del coeficientes $\frac{dy_i}{dt}$ de cada estado a los 25, 50, 75 y 100 días en ambos taxones (AT y AC), localidades (Corduente y Ponferrada) y temperaturas (20 y 26 °C). El coeficiente ha sido calculado con los valores de α_i y con el porcentaje estimado del número de individuos existente en cada estado e instante (25, 50, 75 y 100 días).

	COEFICIENTE $\frac{dy_i}{dt}$																			
	$\frac{dy_0}{d25}$	$\frac{dy_1}{d25}$	$\frac{dy_2}{d25}$	$\frac{dy_3}{d25}$	$\frac{dy_4}{d25}$	$\frac{dy_0}{d50}$	$\frac{dy_1}{d50}$	$\frac{dy_2}{d50}$	$\frac{dy_3}{d50}$	$\frac{dy_4}{d50}$	$\frac{dy_0}{d75}$	$\frac{dy_1}{d75}$	$\frac{dy_2}{d75}$	$\frac{dy_3}{d75}$	$\frac{dy_4}{d75}$	$\frac{dy_0}{d100}$	$\frac{dy_1}{d100}$	$\frac{dy_2}{d100}$	$\frac{dy_3}{d100}$	$\frac{dy_4}{d100}$
AT/C/20°C	-1,26	-0,36	-0,86	1,27	0,6	-0,19	-0,24	-0,8	0,22	1	-0,19	0,17	-0,32	-0,64	0,98	-0,19	0,19	-0,13	-0,37	0,5
AC/C/20°C	-0,58	-0,68	-1,48	1,64	1,1	-0,072	-0,018	-0,78	-0,23	1,1	-0,072	0,072	-0,19	-0,21	0,4	-0,072	0,072	-0,037	-0,10	0,14
AT/C/26°C	-0,69	-0,65	-0,64	0,53	1,45	0	0	-0,6	-0,97	1,57	0	0	-0,32	-0,44	0,76	0	0	-0,1	-0,22	0,32
AC/C/26°C	-0,15	-0,61	-1,76	-0,08	2,6	0	0	-0,63	-0,37	1	0	0	-0,21	0	0,21	0	0	0	-0,037	0,037
AT/P/20°C	-1,17	-0,84	0,16	0,9	0,95	-0,21	-0,15	-0,82	-0,55	1,37	-0,21	0,21	-0,38	-0,6	0,96	-0,21	0,21	-0,076	-0,53	0,61
AC/P/20°C	-0,8	-0,98	-0,56	1,24	1,1	-0,06	-0,12	-0,82	-0,61	1,61	0	-0,01	-0,28	-0,31	0,60	0	0	-0,077	0,1	0,18
AT/P/26°C	-0,83	-0,75	-0,71	0,83	1,47	-0,1	0,1	-0,81	-1,2	1,47	-0,1	0,1	-0,22	-0,49	0,71	-0,1	0,1	-0,05	-0,2	0,27
AC/P/26°C	-0,43	-1	-1,15	0,14	2,7	0,1	-0,01	-0,4	-0,28	-0,77	0	0	-0,03	-0,17	0,20	0	0	0	-0,04	0,04

Como se observa en la **Tabla 10**, a los 25 días en la localidad de Corduente, la velocidad de cambio del estado F0 (espora no germinada) es mayor en AT que en AC tanto a 20°C como a 26°C, observándose una reducción de la velocidad de cambio de este estado a los 26°C en ambos taxones. En cuanto a F1(espora germinada), la velocidad de cambio en AC es mayor que en AT a 20°C, mientras que a 26°C ambos taxones presentan una velocidad de cambio similar.

La velocidad de cambio en los estados F2 (fase filamentosa), F3 (fase espatulada) y F4 (gametófito adulto vegetativo) es mayor en AC que en AT tanto a 20°C como a 26°C, salvo en el estado F3 a 26°C. Sin embargo, es destacable señalar que mientras que en AT existe velocidad de crecimiento en el número de individuos pertenecientes a F3 a 26°C, en AC ya se observa velocidad de decrecimiento. En cuanto a la velocidad de crecimiento en F4 se observa que es casi el doble en AC que en AT a 26°C, observándose un incremento más pronunciado en dicha velocidad en AC que en AT con respecto a 20°C.

A los 50 días a 20°C la velocidad de cambio en los primeros estados (F0 y F1), es mayor en AT que en AC y, además, esta velocidad es menor en ambos taxones a la existente a los 25 días. En ambos taxones a 26°C ya se observa la estabilización en términos de crecimiento en estas dos fases.

La velocidad de cambio en F2 es similar a los 50 días en ambos taxones y temperaturas. En cuanto a la F3 (fase espatulada) a 20°C, es reseñable destacar que mientras que en AT sigue existiendo velocidad de crecimiento, en AC ya existe un decrecimiento, por lo tanto, en este último taxon, hay un mayor número de individuos que están pasando a la fase F4 que los que están pasando a la fase F3. Sin embargo, a los 26°C en AT se observa un decrecimiento en el número de individuos pertenecientes a F3, por lo tanto, el aumento de temperatura estaría favoreciendo el incremento en la velocidad de desarrollo en AT, aunque seguiría siendo mayor en AC.

En cuanto a F4, en AT se observa un incremento de la velocidad de crecimiento a 26°C, mientras que en AC la velocidad es similar a ambas temperaturas. Esto es debido a que el incremento en este estado fue muy alto a los 25 días, por lo tanto, ya se observa una reducción en el crecimiento en número de individuos pertenecientes a esta fase a los 50 días.

A los 75 días, la velocidad de cambio en F3 y F4 es más alta en AT, lo que sería indicativo de que la velocidad del proceso de desarrollo en AC fue más rápida a ambas temperaturas, por ejemplo, en este punto, la velocidad de cambio en F4 es de 0,98 en AT y 0,4 en AC a 20°C. Además, en este punto, ya se observa una disminución en el estado F3 (fase espatulada) en AT a 20°C mientras que a los 50 días existía velocidad de crecimiento.

A los 75 días también se observa una reducción en la velocidad de crecimiento en F4 en ambos taxones y temperaturas, esta velocidad de crecimiento es menor en AC que en AT a ambas temperaturas, lo que sería indicativo de que la velocidad del desarrollo es mayor en AC que en AT tanto a 20 como a 26 °C. Este patrón también se observa a los 100 días, instante en el que la velocidad de cambio entre fases ya se ha reducido en ambos taxones y, por tanto, el proceso de desarrollo está llegando a la estabilización.

En cuanto a la velocidad de desarrollo de las esporas de la localidad de Ponferrada, también se observa tanto a 20 como a 26°C que la velocidad de cambio en F0 (espora no germinada) es mayor en AT que en AC a los 25 días, y que esta velocidad se reduce con el incremento de temperatura. En cuanto a F1 (espora germinada) se observa que la velocidad de cambio es similar entre ambos taxones tanto a 20 como a 26°C, pero en este caso es superior en ambos casos en AC.

En cuanto a las fases F2 (fase filamentosa), F3 (fase espatulada) y F4 (gametófitos cordiformes vegetativos), también se observa como en Corduente, que la velocidad de cambio es mayor en AC que en AT salvo, en F3 a los 26°C. Es destacable señalar que en general la velocidad de cambio es mayor en Corduente que en Ponferrada en ambos taxones a los 25 días. Por ejemplo, en Corduente mientras que en F2 de AT a 20°C existe velocidad de decrecimiento, en Ponferrada sigue existiendo velocidad de crecimiento. Además, por ejemplo, en la F2 de AT a 26°C en la localidad de Ponferrada, se observa una velocidad de decrecimiento mayor que en la localidad de Corduente porque el proceso de reducción comenzó antes en esta última.

La velocidad de decrecimiento en F2 en AC es mayor en Corduente que en Ponferrada tanto a 20 como a 26°C, pero como ocurre en Corduente, también se produce un incremento en la velocidad de cambio de este estado a los 26°C, por lo tanto, en esta localidad, el aumento de temperatura también estaría potenciando la velocidad de desarrollo.

En cuanto a F3, en ambos taxones y temperaturas en este instante existe velocidad de crecimiento en número. Esta velocidad de crecimiento es similar a 20 y 26°C en AT mientras que en AC es menor a 26°C. También se observa que la velocidad de crecimiento de F4 es mayor a 26 que a 20°C en ambos taxones, pero este incremento es más llamativo en AC, como ocurría en la localidad de Corduente.

A los 50 días se observa una reducción drástica de la velocidad de cambio en ambos taxones y temperaturas en F0 y F1. En cuanto a F2, se observa que, en ambos taxones y temperaturas, el número de individuos pertenecientes a esta fase se está reduciendo a una velocidad similar. En F3, se observa un incremento en la velocidad de cambio en AT a 26°C, mientras que en AC ya se observa una reducción, tanto a 20 como a 26°C.

A los 75 días, la velocidad de cambio en F0 y F1 es prácticamente estable en ambos taxones tanto a 20°C como a 26 °C. En cuanto a F2, se observa una disminución en la velocidad de decrecimiento en ambos taxones y temperaturas con respecto al instante 50. En F3 la velocidad de decrecimiento en AC es menor que en AT tanto a 20°C como a 26°C, y esta velocidad de decrecimiento es menor que en el instante 50 en todos los casos, salvo en AT a 20°C, que es similar a los 50 y 75 días. La velocidad de decrecimiento es similar en ambas localidades.

La velocidad de crecimiento de F4 a los 75 días es mayor en AT que en AC tanto a 20 como a 26 °C, y ya se observa una disminución de la velocidad de crecimiento de F4 con respecto al instante 50 en ambos taxones. La velocidad de crecimiento de F4 es similar en ambas localidades.

A los 100 días ya se observa una estabilización en el decrecimiento de F3, y también una reducción drástica en la velocidad de crecimiento de F4 en ambas especies y temperaturas, siendo menor en AC. Las velocidades de crecimiento son similares en las dos poblaciones.

Caracterización de los rasgos estomáticos en *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* y *A. ceterach*

Los valores medios y la desviación estándar de los rasgos estomáticos para el conjunto de los individuos de AT (n=65) y para los individuos de AC (n=55) fueron los siguientes respectivamente: D ($140,4 \pm 46,2$ estomas/mm²); L ($42,4 \pm 2,9$ μm); PCI ($25,3 \pm 8,7$); D ($192,4 \pm 30,4$ estomas/mm²); L ($33,5 \pm 4,2$ μm); PCI ($22 \pm 6,6$).

En las **Tablas 11 y 12** se muestran los valores medios y la desviación estándar de cada uno de los rasgos estomáticos en AT y AC en cada una de las poblaciones muestreadas.

Tabla 11. Valores medios y desviación estándar para los rasgos D (Densidad estomática, estomas/mm²), L (Longitud, μm) y PCI (Potencial de Conductancia Estomática) en AT (*A. trichomanes* subsp. *quadrivalens*) en las poblaciones muestreadas.

	RASGOS ESTOMÁTICOS		
	D	L	PCI
Aciberos	174 ± 49,3	42,5 ± 3,1	31,7 ± 9,7
Alberca, La	93,4 ± 18,3	40,9 ± 3,3	15,5 ± 2,9
Cercedilla	213,2 ± 12,9	38,8 ± 0,8	32,2 ± 3,2
Corduente	212,8 ± 18,8	42,4 ± 3,1	38,4 ± 5,9
Escorial, El	144,8 ± 15,1	41 ± 1,1	24,3 ± 2,2
Mondariz	102 ± 27,5	41,6 ± 1,2	15,2 ± 4,4
Ponferrada	147,7 ± 19,5	39,8 ± 1,5	23,4 ± 3,6
San Lorenzo de Calatrava	128,2 ± 8,6	46,2 ± 4	27,5 ± 4,3
Torrelodones	156,6 ± 9,6	45 ± 1,8	31,8 ± 9,7
Tui	111,8 ± 18,4	41,6 ± 1,4	19,2 ± 3,5
Vigo	98,9 ± 25,6	44,3 ± 3,2	19,4 ± 5,3
Xunqueiras	172 ± 35	43,8 ± 1,6	33,2 ± 8,2

Tabla 12. Valores medios y desviación estándar para los rasgos D (Densidad estomática, estomas/mm²), L (Longitud, μm) y PCI (Potencial de Conductancia Estomática) en AC (*A. ceterach*) en cada una de las poblaciones muestreadas.

	RASGOS ESTOMÁTICOS		
	D	L	PCI
Alberca, La	172,3 ± 10,8	33,4 ± 2,6	19,5 ± 3,7
Alquezar	195,8 ± 17,6	32,5 ± 1,7	20,7 ± 2,8
Arguis	170,5 ± 16,5	31,2 ± 3,1	16,9 ± 4,9
Cercedilla	204,6 ± 25	32,2 ± 2,8	21,5 ± 5,7
Corduente	226,7 ± 17,7	31,4 ± 1,9	22,4 ± 3,7
Escorial, El	213,5 ± 26,7	33,3 ± 2,9	23,8 ± 5,6
Nocito	189,8 ± 24	40,6 ± 2,9	31 ± 2,8
Ponferrada	141,4 ± 20,7	30,4 ± 2	13 ± 2,4
Torrelodones	208,8 ± 19,8	31,2 ± 2,1	20,6 ± 4,4

Comparación de los rasgos estomáticos entre *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* y *A. ceterach*

En la **Tabla 13** se muestran los modelos GEE ajustados utilizando como predictor la variable *T* con dos niveles (*A. trichomanes*=1 y *A. ceterach*=0). Como se observa en la Tabla13, en AT, *L* es 10,4 unidades significativamente mayor que en AC. Además, también se observa que la variable *PCI* es 5,3 unidades significativamente mayor en AT que en AC. Sin embargo, *D* es -47,4 unidades significativamente menor en AT que en AC. Por lo tanto, para el conjunto de individuos muestreados se observa que AT tiene un valor significativamente mayor en *L* y *PCI* que AC y un valor significativamente menor de *D* que AC.

Tabla 13. Efecto del predictor de la variable *T* (Taxon) sobre los rasgos estomáticos. *D* (Densidad estomática, estomas/mm²), *L* (Longitud, µm) y *PCI* (Potencial de Conductancia Estomática) P-valor < 0,05(*); <0,01(**); < 0,001(***)

RASGOS ESTOMÁTICOS	Efecto <i>T</i>	P- valor
L	10,4	<0,001***
D	-47,4	<0,001***
PCI	5,3	0,036*

En la **Tabla 14** se muestran los valores medios y la desviación estándar de AT y AC en las localidades de recolección común. Como se observa en la tabla, en tres de las localidades de recolección (La Alberca, El Escorial y Torrelodones), *D* presentó un valor medio significativamente mayor en AC que en AT. En el resto de las localidades las diferencias entre ambas especies no fueron estadísticamente significativas.

La variable *L*, presentó valores medios significativamente superiores en AT que en AC en todas las localidades de recolección común. Finalmente, AT presentó un valor significativamente mayor de *PCI* en Cercedilla, Corduente, Ponferrada y Torrelodones. No se encontraron diferencias significativas de *PCI* en La Alberca y El Escorial.

Tabla 14. Valor medio y desviación estándar de cada uno de los rasgos estomáticos, D (Densidad estomática, estomas/mm²), L (Longitud, μm) y PCI (Potencial de Conductancia Estomática) en AT (*A. trichomanes* subsp. *quadrivales*) y AC (*A. ceterach*) en las localidades de recolección comunes. Se muestra el p-valor de los test T-student. P-valor: NS (no significativo); <0,05(*); <0,01(**); <0.001(***)).

	RASGOS ESTOMÁTICOS								
	D			L			PCI		
	AT	AC	p-valor	AT	AC	p-valor	AT	AC	p-valor
Alberca, La	93,4 ± 18,3	172,3 ± 10,8	***	40,9 ± 3,3	33,4 ± 2,6	**	15,5 ± 2,9	19,5 ± 3,7	NS
Cercedilla	213,6 ± 12,9	204,6 ± 25	NS	38,8 ± 0,8	32,2 ± 2,8	**	32,2 ± 3,2	21,5 ± 5,7	**
Corduente	212,8 ± 18,8	226,7 ± 17,7	NS	42,4 ± 3,1	31,4 ± 1,9	***	38,4 ± 5,9	22,4 ± 3,7	**
Escorial, El	144,8 ± 15,1	213,5 ± 26,7	***	41 ± 1,1	33,3 ± 2,9	***	24,3 ± 2,2	23,8 ± 5,6	NS
Ponferrada	147,7 ± 20,7	141,4 ± 20,7	NS	39,8 ± 1,5	30,4 ± 2	***	23,4 ± 3,6	13 ± 2,4	**
Torrelodones	156,6 ± 9,6	208,8 ± 19,8	**	45 ± 1,8	31,2 ± 2,1	***	31,8 ± 9,7	20,6 ± 4,4	**

Efecto del índice de aridez (IAM) y de la altitud sobre los rasgos estomáticos en *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* y *A. ceterach*

Los efectos de las variables IAM y altitud sobre los rasgos estomáticos de AT y AC, así como su grado de significación se muestran en la **Tabla 15**.

En AT la variable IAM no ejerció efectos significativos sobre ninguna de las variables estomáticas analizadas (P-valor > 0,05). Sin embargo, se encontró un efecto significativo de la variable altitud sobre D, L y PCI. Este efecto, fue significativamente positivo sobre D y PCI y, significativamente negativo sobre la variable L. Esto implica, que en localizaciones con mayor altitud AT tiende a presentar mayores valores tanto en D como PCI y, por el contrario, menores valores de L.

En AC se encontró un efecto significativamente negativo de la variable IAM sobre la variable D; sin embargo, IAM no ejerció efectos significativos sobre las variables PCI y L. Por lo tanto, en localizaciones con un mayor IAM (menos áridas) AC tiende a presentar menor número de estomas/mm². En AC, al igual que en AT, la altitud ejerció un efecto significativamente positivo sobre D y PCI; sin embargo, en este caso no se encontró un efecto significativo sobre la variable L.

Tabla 15. Efectos de las variables IAM y altitud sobre los rasgos estomáticos D (Densidad, n° estomas/mm²), L (Longitud, µm) y PCI (Potencial de conductancia estomática) en AT (*A. trichomanes* subsp. *quadrivalens*) y AC (*A. ceterach*). P-valor: NS (no significativo); <0,05(*); <0,01(**); <0.001(***)

		Intercepto	Efecto IAM	Efecto Altitud
AT	D	93,6	-0,05 NS	0,07***
	L	47,5	-0,04 NS	-0,004*
	PCI	22,8	-0,06 NS	0,007*
AC	D	236,9	-1,9***	0,02*
	L	30,9	0,004 NS	0,008 NS
	PCI	22,8	-0,07 NS	0,008 *

Caracterización de los rasgos anatómicos de las pinnas y del peciolo en *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens*

Los valores medios y la desviación estándar de los rasgos anatómicos para el conjunto de los individuos ($n = 65$) fueron los siguientes: GP ($189,04 \pm 47,06 \mu\text{m}$); GC ($4,41 \pm 1,1 \mu\text{m}$); GCR ($0,025 \pm 0,0008$); GM ($137 \pm 33,3 \mu\text{m}$); GMR ($0,73 \pm 0,05$); AP ($0,27 \pm 0,9 \text{ mm}^2$); AH ($0,026 \pm 0,015 \text{ mm}^2$); AHR ($0,08 \pm 0,019$); AX ($0,006 \pm 0,002 \text{ mm}^2$); AXR ($0,26 \pm 0,1$).

En la **Tabla 16** se muestran los valores medios y la desviación estándar de cada uno de los rasgos anatómicos tanto de las pinnas como del peciolo dentro de cada una de las poblaciones muestreadas.

Tabla 16. Valor medio de cada uno de los rasgos anatómicos en cada población. Rasgos anatómicos: GC (Grosor cutícula adaxial, μm); GCR (Grosor relativo de la cutícula adaxial); GM (Grosor mesófilo, μm); GMR (Grosor relativo del mesófilo); GP (Grosor pinna, μm); AP (Área del peciolo, mm^2); AH (Área del haz vascular, mm^2); AHR (Área relativa del haz vascular); AX (Área del xilema, mm^2); AXR (Área relativa del xilema).

		RASGOS ANATÓMICOS									
		GC	GCR	GM	GMR	GP	AP	AH	AHR	AX	AXR
San Lorenzo de Calatrava	Aciberos	5,6 ± 0,72	0,026 ± 4,8x10 ⁻³	150,9 ± 28,9	0,68 ± 0,05	218,9 ± 31,6	0,24 ± 0,05	0,02 ± 5x10 ⁻³	0,08 ± 9x10 ⁻³	0,007 ± 1,5x10 ⁻³	0,36 ± 0,009
	Alberca, La	3,6 ± 0,46	0,02 ± 3x10 ⁻³	128,72 ± 11,5	0,7 ± 0,03	180, 5 ± 11,8	0,41 ± 0,05	0,035 ± 3,6x10 ⁻³	0,083 ± 3x10 ⁻³	0,0052 ± 4x10 ⁻³	0,15 ± 0,0015
	Cercedilla	4,05 ± 0,52	0,015 ± 1x10 ⁻³	194,6 ± 18,8	0,74 ± 0,03	263,4 ± 22,35	0,36 ± 0,042	0,032 ± 5x10 ⁻³	0,088 ± 8x10 ⁻³	0,0072 ± 1,6x10 ⁻³	0,22 ± 0,013
	Corduente	5,34 ± 1,5	0,025 ± 0,01	157,1 ± 30,3	0,73 ± 0,06	213,76 ± 29,5	0,37 ± 0,06	0,025 ± 5x10 ⁻³	0,068 ± 8,2x10 ⁻³	0,0074 ± 1,7x10 ⁻³	0,29 ± 0,044
	Escorial, El	4,58 ± 0,32	0,021 ± 0,017	160,76 ± 3,9	0,77 ± 0,022	208,5 ± 5,1	0,34 ± 0,011	0,034 ± 3x10 ⁻³	0,09 ± 9,5x10 ⁻³	0,0074 ± 3,6x10 ⁻³	0,23 ± 0,11
	Mondariz	2,87 ± 0,57	0,017 ± 3 x10 ⁻³	117,75 ± 28,9	0,7 ± 4x10 ⁻³	168,6 ± 40,6	0,25 ± 0,04	0,021 ± 5x10 ⁻³	0,085 ± 8x10 ⁻³	0,0067 ± 1x10 ⁻³	0,32 ± 0,035
	Ponferrada	3,64 ± 0,35	0,024 ± 1,7x10 ⁻³	116,5 ± 15,35	0,76 ± 4,1x10 ⁻³	154,7 ± 21,36	0,23 ± 0,09	0,013 ± 4x10 ⁻³	0,06 ± 8x10 ⁻³	0,0035 ± 1,5x10 ⁻³	0,25 ± 0,038
	Torreldones	5,2 ± 0,45	0,031 ± 0,038	114,5 ± 13	0,68 ± 0,057	165, 75 ± 6,9	0,28 ± 0,024	0,018 ± 3x10 ⁻³	0,066 ± 2,4x10 ⁻³	0,0048 ± 3,3x10 ⁻³	0,24 ± 0,15
	Tui	5,2 ± 1,1	0,042 ± 8,2x10 ⁻³	129,3 ± 33,92	0,9 ± 8x10 ⁻³	169,4 ± 43,73	0,32 ± 7x10 ⁻³	0,025 ± 6x10 ⁻³	0,094 ± 0,08	0,009 ± 2x10 ⁻³	0,4 ± 0,046
	Vigo	3,9 ± 0,48	0,017 ± 4,3x10 ⁻³	128,11 ± 29	0,56 ± 4,2x10 ⁻²	184,3 ± 54,75	0,1 ± 0,03	0,01 ± 3x10 ⁻³	0,075 ± 0,020	0,003 ± 1,3x10 ⁻³	0,25 ± 0,1
Xunqueiras	4 ± 0,78	0,03 ± 9x10 ⁻³	105,44 ± 11,24	0,76 ± 5x10 ⁻³	140,1 ± 16,66	0,27 ± 2x10 ⁻³	0,025 ± 7x10 ⁻³	0,09 ± 2,6x10 ⁻²	0,005 ± 8x10 ⁻⁴	0,23 ± 0,04	
		3,13 ± 0,3	0,016 ± 1x10 ⁻³	139 ± 5,7	0,73 ± 0,039	191,45 ± 6,18	0,2 ± 0,04	0,07 ± 0,01	0,04 ± 5x10 ⁻³	0,002 ± 6x10 ⁻³	0,03 ± 0,004

Efecto del índice de aridez de Martonne (IAM) sobre las variables anatómicas de las pinnas y del peciolo en *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens*.

El efecto de la variable IAM fue negativo sobre todas las variables anatómicas excepto para AXR. Esto implica que un incremento del valor de la variable IAM (poblaciones con menor aridez), genera una disminución en el valor de todas las variables anatómicas excepto en AXR. Sin embargo, el efecto de esta variable sobre los rasgos anatómicos únicamente fue significativo para los siguientes rasgos: GC, AP, AH y AX, no encontrándose un efecto significativo de la variable IAM sobre el resto de rasgos anatómicos. En la **Tabla 17** se muestra el estimador del efecto de IAM sobre todas las variables anatómicas y su grado de significación.

Tabla 17. Efecto del índice de aridez de Martonne (IAM) y su grado de significación sobre todas las variables anatómicas. Rasgos anatómicos: GC (Grosor cutícula adaxial, μm); GCR (Grosor relativo de la cutícula adaxial); GM (Grosor mesófilo, μm); GMR (Grosor relativo del mesófilo); GP (Grosor pinna, μm); AP (Área del peciolo, mm^2); AH (Área del haz vascular, mm^2); AHR (Área relativa del haz vascular); AX (Área del xilema, mm^2); AXR (Área relativa del xilema). P-valor: NS (no significativo); $<0,05(*)$; $<0,01(**)$; $<0.001(***)$.

RASGOS ANATÓMICOS	Efecto IAM	P- valor
GC	-0,022	0,05*
GCR	$-7,67 \times 10^{-5}$	0,302 NS
GM	-0,33	0,287 NS
GMR	$-3,5 \times 10^{-4}$	0,383 NS
GP	-0,34	0,459 NS
AP	$-2,10 \times 10^{-3}$	0,024*
AH	$-1,89 \times 10^{-4}$	0,040 *
AHR	$-8,66 \times 10^{-5}$	0,678 NS
AX	$-4,77 \times 10^{-5}$	0,014 *
AXR	$3,79 \times 10^{-4}$	0,617 NS

DISCUSIÓN

Efecto del incremento de temperatura sobre la dinámica germinativa en *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* y *A. ceterach*

La germinación de las esporas es el primer evento fenológico en el ciclo de vida de los helechos. Como se ha comentado, los eventos que acaecen en esta etapa, determinan en primer término el reclutamiento a nivel poblacional, así como la dinámica de las subsiguientes etapas de su ciclo biológico (Gabriel y Galán *et al.*, 2018a). En lo que atañe a este grupo de organismos (dado que no presentan limitación en la dispersión), es la existencia de microhábitats adecuados para que se produzca la germinación lo que determina la futura distribución de las subsiguientes etapas. Dentro de los factores que influyen en la dinámica de la germinación, la temperatura es uno de los principales, ejerciendo un papel fundamental en el establecimiento de las especies, el crecimiento y el desarrollo (Koger *et al.*, 2004; Ranal, 1999; Watkins *et al.*, 2007). En este trabajo hemos modelizado los efectos del incremento de temperatura sobre parámetros de la germinación en AT y AC.

En ambos taxones la temperatura ejerció un efecto positivo sobre la germinación máxima y un efecto negativo sobre el periodo de latencia, esto implica que un incremento de temperatura generó un aumento en la tasa de germinación, al mismo tiempo que produjo una reducción en el tiempo necesario para que ésta tuviese lugar. La germinación máxima fue mayor en AC que en AT bajo todas las temperaturas y, en cuanto al periodo de latencia, éste fue mayor en AT en todos los casos. Del mismo modo, el incremento de temperatura provocó diferencias significativas en T50, siendo esta variable significativamente menor a 26°C que a 20°C en ambos taxones y, significativamente menor en AC que en AT a ambas temperaturas.

La influencia de la temperatura ejerce un efecto diferencial sobre los parámetros de la germinación de las especies (Baskin & Baskin, 1988). De esta forma, se ha observado que el incremento de temperatura puede potenciar, inhibir o no afectar al proceso germinativo (Gabriel y Galán *et al.*, 2018a; Milbau *et al.*, 2009; Walck *et al.*, 2011). Este efecto diferencial, refleja las diferentes adaptaciones de las especies a sus hábitats, ya que éstas, tratan de maximizar el rendimiento de la germinación atendiendo a su entorno natural (Hill, 1971; Ranal, 1999). Ambos taxones muestran un aumento en el rendimiento de la germinación frente a un aumento de temperatura, lo que sería reflejo de los requerimientos ecológicos que se observan en la fase esporofítica de su ciclo biológico.

Como se ha comentado, ambos taxones están adaptados a ciertos niveles de insolación y sequedad en el sustrato (caracteres compartidos por otras especies que están adaptadas al medio rupícola), este hecho es sobre todo patente en AC, que es una especie tolerante a la desecación y adaptada a tolerar unas temperaturas superiores que AT (Salvo, 1990; Shah *et al.*, 2019; Vasheka *et al.*, 2019), lo que podría explicar que el valor en la germinación máxima sea mayor y el periodo de latencia menor en AC que en AT frente al aumento de temperatura.

Además, ambos taxones (comparativamente con otros taxones del género) pueden considerarse generalistas, apareciendo en diversos nichos climáticos y presentando una distribución relativamente amplia, de hecho, ambos están adaptados a vivir en localizaciones con contrastes de temperatura marcados (Bystriacova *et al.*, 2015). En este caso estaríamos observando que en los taxones con un área de distribución más amplia y más generalistas la temperatura a la que germinan las esporas no supone un factor limitante (al menos en el rango de temperatura analizado) cosa que sí es esperable en aquellas especies con requerimientos ecológicos más estrictos (Gabriel & Galán *et al.*, 2018a; Testo & Watkins, 2013; Watkins *et al.*, 2007). Incluso podríamos decir con nuestros resultados que un hipotético aumento en las temperaturas favorecería la capacidad adaptativa de los taxones estudiados en lo referente a su potencial de germinación. De esta forma, en estos taxones, el reclutamiento a nivel de la germinación podría estar limitado por otros factores ambientales, principalmente, con factores relacionados con la disponibilidad hídrica, este hecho sería sobre todo patente durante la estación seca en las zonas con clima mediterráneo (Walck *et al.*, 2011).

Otro dato que apoya este resultado es el obtenido al evaluar las consecuencias de dos posibles escenarios de cambio climático. Ambos taxones mostraron mayor incremento de la germinación máxima bajo el escenario RCP8.5. Además, este incremento fue mayor en AT que en AC. La reducción del periodo de latencia también fue mayor bajo el escenario RCP8.5 en ambos taxones y, esta reducción fue más pronunciada en AT. Por lo tanto, el escenario RCP8.5 sería el que supondría un mayor incremento en el potencial de germinación en ambos taxones y, por ello, se conformaría como el más adaptativo en lo que atañe a su potencial de germinación. El hecho de que el incremento en la germinación máxima y la reducción del periodo de latencia en AT sea comparativamente mayor que en AC podría deberse a que esta última especie presenta un rendimiento en la germinación más alto a 20 °C, por lo tanto, su margen de incremento es

menor. Todo esto indica que bajo el escenario RCP8.5 no se habría alcanzado el máximo rango de temperatura para provocar una reducción en el potencial de germinación en estos taxones, lo que podría suponer un incremento en la colonización de ambos en los dos futuros hipotéticos.

Modelos deterministas para el estudio de la evolución de las poblaciones de gametófitos a diferentes temperaturas

La fase gametofítica es la fase más efímera del ciclo biológico de los helechos, a pesar de ello, es una fase de vital importancia ya que en ella tiene lugar la reproducción sexual y, además, es la fase en la que se pierden la mayor parte de efectivos poblacionales (Watkins *et al.*, 2007). Los requerimientos ecológicos para su desarrollo, supervivencia y reproducción determinan, en último término, su establecimiento, pero también la futura distribución de la subsiguiente etapa del ciclo biológico, es decir, la fase esporofítica (Mehlreter *et al.*, 2010; Page, 2002). Por lo tanto, el estudio de la influencia de factores ambientales sobre el desarrollo del gametófito, así como la modelización de la evolución de las poblaciones en términos demográficos, puede resultar muy útil para comprender la distribución y la abundancia de la fase esporofítica.

En este estudio hemos elaborado un modelo determinista que nos ha permitido calcular una serie de coeficientes útiles para evaluar la evolución de las poblaciones de gametófitos en AT y AC en términos demográficos, y comparar los parámetros obtenidos a dos temperaturas diferentes (20 y 26°C), evaluando de esta forma, el efecto de esta variable sobre la evolución temporal en las poblaciones de gametófitos.

Estos modelos nos permitieron calcular el coeficiente α_i , es decir, la tasa de paso del estado i al estado $i + 1$ o la tasa con la que dejan de estar en el estado i . Los resultados obtenidos muestran que la tasa de paso entre F0 (espora sin germinar) y F1 (espora germinada), es mayor a 26°C que a 20°C en ambos taxones y, además, que esta tasa es mayor en AC que en AT. El mismo patrón general se observó con el resto de los coeficientes ($\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3$), es decir, la tasa de paso de F1 (espora germinada) a F2 (filamento), de F2 (filamento) a F3 (espátula) y de F3 (espátula) a F4 (gametófito adulto cordiforme vegetativo). Esto implica que el aumento de temperatura estaría incrementando la tasa de paso entre estados, potenciándose de esta forma el desarrollo gametofítico en ambos taxones y, además, estas tasas serían mayores en AC que en AT tanto a 20 °C como a 26°C.

Este mismo hecho es apoyado con los resultados obtenidos para el coeficiente $\frac{1}{\alpha_i}$, es decir, la media de tiempo necesario para que un individuo seleccionado al azar pase del estado i al estado $i+1$. Este coeficiente de manera generalizada se redujo con el aumento de temperatura en ambos taxones y poblaciones. Por lo tanto, el incremento de temperatura generó una reducción en el tiempo medio necesario para que un individuo seleccionado al azar pasara del estado i al estado $i+1$. El valor de este coeficiente fue menor en AC que en AT a ambas temperaturas. Con todo ello, el incremento de temperatura potenciaría el proceso de desarrollo gametofítico generando, por un lado, un incremento en la tasa de paso entre estados, pero también, reduciendo el tiempo medio necesario para pasar de una fase de desarrollo a la siguiente. Este hecho se observó en ambas poblaciones y ambos taxones. Además, esto también quedó apoyado por los resultados obtenidos en el coeficiente $\frac{dy_i}{dt}$, es decir, la velocidad de cambio en número de las diferentes fases del desarrollo, de esta forma a 26°C la velocidad con la que los gametófitos llegaron a F4 fue mayor, sobre todo en AC.

La temperatura es uno de los factores ambientales más limitantes en determinar la distribución de las especies vegetales. Los helechos, como otras plantas, tratan de maximizar tanto la germinación como el desarrollo gametofítico de acuerdo a las condiciones de su hábitat natural (Ranal, 1999). A pesar de que en otras especies de helechos se ha observado que el aumento de temperatura podría afectar a la cinética de germinación de las esporas, al desarrollo gametofítico y causar importantes reducciones en el área de distribución en algunas especies (Gabriel y Galan *et al.*, 2018a; Gasper *et al.*, 2020; Testo & Watkins, 2013), los resultados obtenidos con estos modelos van en consonancia con lo obtenido en el apartado anterior, es decir, en estos taxones, el incremento de temperatura favorecería el desarrollo gametofítico, incrementando la tasa de paso entre estados, reduciendo el tiempo medio necesario para que un individuo pase al siguiente estado y favoreciendo que el tiempo necesario para alcanzar la última fase se reduzca. Por lo tanto, el incremento de temperatura previsto en el escenario RCP8.5 (+6°C), podría potenciar el establecimiento de ambos taxones a nivel de la fase gametofítica. Como en el caso de la germinación de las esporas, en AC, comparativamente con AT, se observaron tasas más altas de paso entre estados y un menor tiempo necesario para que un individuo seleccionado al azar pasara de un estado del desarrollo al siguiente, esto podría ser reflejo de las diferentes ecologías de ambos

taxones, ya que AC soporta mayores temperaturas y está asociado a poblaciones que normalmente presentan mayor continentalidad (Bystriakova *et al.*, 2015).

En conclusión, estos modelos pueden conformarse como una primera aproximación para el estudio de la evolución de las poblaciones de gametófitos en términos demográficos a lo largo del tiempo y podrían ser útiles para evaluar los efectos de no sólo la temperatura, sino también de otros factores limitantes en el establecimiento de la fase gametófitica, por lo tanto, podrían ser herramientas apropiadas, sobre todo, en especies que se encuentran en declive o en peligro. Por otro lado, cabe destacar que, en el futuro, sería importante evaluar y modelizar la tasa de paso al estado adulto sexual, así como la tasa de producción de esporófitos a diferentes temperaturas.

Efectos del índice de aridez de Martonne (IAM) y de la altitud sobre los rasgos estomáticos de *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* y *A. ceterach*

Los estomas pueden responder a cambios ambientales a corto plazo (apertura/cierre) o a largo plazo, mediante el ajuste de sus rasgos estomáticos (Brodrribb & McAdam, 2013; Daszkowska-Golec & Szarejko, 2013). Por este motivo, estos últimos se ven influenciados por variables ambientales tales como: la temperatura (Hill *et al.*, 2015; Wu *et al.*, 2018; Zheng *et al.*, 2013), la concentración de CO₂ (Woodward & Kelly, 1995; Xu *et al.*, 2016), la luz (Vasheka *et al.*, 2019; Wild & Wolf, 1980) o la disponibilidad hídrica (Li *et al.*, 2017; Xu & Zhou, 2008). En este trabajo se ha evaluado la influencia del IAM y la altitud sobre L, D y PCI en AT y AC.

En primer lugar, los modelos GEE ajustados para el conjunto de individuos recolectados utilizando la variable *T* (Taxón) como predictora, mostró que AC presenta un valor significativamente mayor de D que AT. Por el contrario, AT presentó un valor significativamente mayor en L y PCI.

Dentro de las poblaciones de recolección común, el valor de L fue significativamente mayor en AT en todas las poblaciones. En cuanto a D, fue significativamente mayor en AC sólo en tres de las localidades (La Alberca, El Escorial y Torreldones), no encontrándose diferencias significativas entre los dos taxones en las tres poblaciones restantes. El valor de PCI fue significativamente mayor en AT en 4 de las localidades (Cercedilla, Corduente, Ponferrada y Torreldones), no encontrándose diferencias significativas entre los taxones en El Escorial y La Alberca.

La longitud estomática se ha asociado con la velocidad de respuesta de los estomas frente a cambios en las condiciones ambientales (Drake *et al.*, 2013; Hetherington & Woodward, 2003). De tal forma, que la posesión de estomas más pequeños y numerosos puede suponer una ventaja para aquellas especies que están adaptadas a ambientes xéricos. Esta combinación (estomas más pequeños y numerosos), les permite responder con mayor velocidad frente a fluctuaciones climáticas, por lo tanto, implican mayor velocidad de cierre estomático frente a la disminución de la disponibilidad hídrica y, por ende, una mayor velocidad de apertura ante condiciones ambientales favorables, lo que, en último término, sería un rasgo adaptativo para aumentar el uso eficiente de agua y el rendimiento fotosintético en entornos más extremos. Además, estos rasgos también se han asociado al mayor enfriamiento de las hojas por transpiración. En helechos se ha

observado que las especies asociadas a ambientes más áridos presentan mayor D y una menor L; así los helechos rupícolas, comparativamente con las especies de otros hábitats, presentan mayor D y menor L, lo que se conformaría como una adaptación al hábitat rupícola que, comparativamente con el ambiente circundante, puede considerarse un medio más extremo (Gabriel y Galán *et al.*, 2018b; Giday *et al.*, 2013; Hetherington & Woodward, 2003; Pearce *et al.*, 2006).

Por lo tanto, los resultados obtenidos reflejan las diferencias en los requerimientos ecológicos de ambos taxones. Como se ha comentado a lo largo de este trabajo, AC es una especie termófila e incluso tolerante a la desecación, con una tendencia a ocupar rocas más expuestas y localizaciones más cálidas que AT, que comparativamente suele encontrarse en localizaciones más húmedas (Salvo, 1990; Vasheka *et al.*, 2019). Esto podría explicar que AC presente un valor significativamente mayor en D y menor en L que AT, lo que le permitiría responder de forma más rápida y efectiva frente a los cambios ambientales, rentabilizando el uso del agua y maximizando la tasa fotosintética en los momentos en que las condiciones ambientales son adecuadas. Sin embargo, AT presentó mayor valor de PCI. Esto parece indicar que las diferencias en PCI entre ambos taxones están determinadas por las diferencias en L, un rasgo menos plástico y típico de cada especie (Holland & Richardson, 2009). Esto podría indicar que AC, comparativamente con AT, está más adaptada a condiciones de mayor aridez.

En cuanto al efecto de la variable IAM sobre los rasgos estomáticos, sólomente ejerció efectos sobre D en AC. El efecto sobre esta variable fue estadísticamente negativo, de tal forma, que niveles menores de aridez conllevan menores valores de D. Los efectos de variables relacionadas con el estrés hídrico parecen no ejercer una respuesta universal sobre los rasgos estomáticos de las especies vegetales e incluso en ocasiones no se ha encontrado una relación de la variación de los rasgos estomáticos frente a distintos niveles de aridez (Bertolino *et al.*, 2019; Liu *et al.*, 2006; Skelton *et al.*, 2016). Sin embargo, una de las respuestas más extendidas es el aumento de D y la disminución de L en respuesta a un aumento de aridez (Galmés *et al.*, 2007; Pearce *et al.*, 2006; Xu & Zhou, 2008). La respuesta de D en AC estaría en consonancia con esta estrategia general, y, por tanto, frente a mayores niveles de aridez, AC respondería mediante el incremento de D, que de forma general es un rasgo más plástico que L (Holland & Richardson, 2009). Sin embargo, dicho incremento no sería suficiente para incrementar el PCI bajo estas condiciones más áridas. Esta adaptación supone una capacidad de mayor velocidad de

cierre de los estomas bajo niveles altos de estrés hídrico, lo que ha permitido una mayor supervivencia en zonas más áridas por haberle permitido realizar un uso más eficiente de agua.

Aunque algunos autores han observado la modificación de rasgos estomáticos en respuesta a cambios a nivel macroclimático (Lavilla *et al.*, 2017), en nuestro trabajo únicamente hemos encontrado variaciones en D en AC como consecuencia del incremento de IAM. En ambos taxones y en otros estudios se ha encontrado variabilidad intrapoblacional en respuesta a distintos niveles de exposición solar. Con los resultados de nuestro trabajo no podemos concretar a qué nivel se están dando estas modificaciones morfológicas en las poblaciones de AT y AC en respuesta a distintos niveles de aridez (Vasheka *et al.*, 2019).

Es muy probable que sean los gradientes ecológicos que se establecen a nivel microclimático lo que tiene mayor importancia a la hora de determinar los niveles de estrés hídrico en un medio como el rupícola y, por tanto, variables como la profundidad de sustrato, su naturaleza, inclinación, etc. serían claves para determinar dichos niveles. Además, es posible que a nivel macroclimático las diferencias de pluviosidad entre poblaciones (que determinan en parte los niveles de aridez) podrían no jugar un papel tan importante en el medio rupícola, ya que la mayor parte del agua de lluvia se pierde por escorrentía superficial y, por ende, las diferencias en pluviosidad podrían quedar anuladas entre poblaciones, siendo factores relacionados con el microclima los que presentan mayor influencia en determinar los niveles de aridez (Larson *et al.*, 2000; Seral *et al.*, 2017).

Muchos estudios han mostrado que el incremento en la concentración de CO₂ presenta un efecto negativo sobre D y la conductancia estomática (Franks & Beerling, 2009; Teng *et al.*, 2009; Wagner *et al.*, 2005). La presión parcial de CO₂ disminuye cuando se incrementa la altitud (Holland & Richardson, 2009), como respuesta general, las especies tienden a incrementar D para generar un incremento en la conductancia estomática con el fin de incrementar la captura de CO₂ cuando es más escaso y, de esta forma, maximizar la tasa fotosintética.

Los efectos de la altitud sobre PCI en ambos taxones fueron positivos, de tal forma que un incremento en la altitud supuso un incremento en la conductancia estomática; como se ha comentado, esta estrategia podría permitir incrementar el proceso

fotosintético bajo presiones parciales de CO₂ menores, lo que ha sido observado en otras especies (Holland & Richardson, 2009; Hovenden & Brodribb, 2000; Kofidis *et al.*, 2003). El incremento en PCI en ambos taxones se produjo a través del incremento significativo de la variable D con la altitud. Esta es la estrategia que ha sido más adaptativa en muchas especies (Kao & Chang, 2001; Liu *et al.*, 2020). En AC no se encontraron efectos significativos de la altitud sobre L, mientras que en AT se encontró un efecto negativo de la altitud sobre este rasgo. Esto podría indicar que, en AT, L y D, presentan una relación compensatoria, relación que es común entre estas dos variables. Sin embargo, en AC, el incremento en D podría producirse por la reducción del tamaño de las células epidérmicas en lugar de la disminución de L.

Efectos del índice de aridez de Martonne (IAM) sobre los rasgos anatómicos de las pinnas y del peciolo en *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens*

Como se ha comentado, el objetivo de la anatomía ecológica consiste en establecer relaciones entre los rasgos anatómicos de las plantas con variables climáticas (Binks *et al.*, 2016; Bosabalidis & Kofidis, 2002; Strauss-Debenedetti & Berlyn, 1994). En este estudio se ha evaluado el efecto del IAM sobre distintos rasgos anatómicos tanto de las pinnas como del peciolo en AT. En primer lugar, porque es un taxón que está ampliamente distribuido por la Península Ibérica y, por lo tanto, las poblaciones están sometidas a distintos niveles de aridez impuestos por el macroclima y, en segundo lugar, porque los estudios que evalúan la variación de rasgos anatómicos en poblaciones naturales de helechos son prácticamente inexistentes.

La variable IAM ejerció un efecto negativo sobre la totalidad de las variables anatómicas de las pinnas (GP, GC, GCR, GM y GMR), lo que implica que un incremento en el valor de la variable IAM supuso una disminución del valor de estos rasgos, es decir, AT presenta en localizaciones más áridas, mayores valores de los rasgos anatómicos de las pinnas. Sin embargo, únicamente sobre GC el efecto de IAM fue estadísticamente significativo ($p\text{-valor} < 0,05$).

La cutícula, junto con los estomas, es una de las principales barreras encargadas de mantener el estatus hídrico de las plantas evitando la deshidratación y, de esta forma, protegiéndolas frente al estrés hídrico (Bueno *et al.*, 2020; Schuster *et al.*, 2016; Yeats & Rose, 2013). En algunos estudios se ha observado que el grosor y la composición de la cutícula varían en función de variables ambientales como, por ejemplo, los niveles de estrés hídrico, el cual genera un incremento en su grosor (Kosma *et al.*, 2009). Además, se ha observado que existe una relación inversa entre el grosor de la cutícula y la transpiración, de tal forma que cutículas más gruesas implican menores tasas transpiracionales (DeLucia & Berlyn, 1984).

Por estos motivos, un aumento en el grosor de la cutícula de las pinnas en AT podría implicar una adaptación de este taxón a poblaciones con mayores niveles de aridez (Silva *et al.*, 2014). Sin embargo, habría sido esperable que la fracción relativa de la pinna ocupada por la cutícula se hubiera visto afectada de forma significativa por IAM, ya que es la que determina las tasas transpiracionales (DeLucia & Berlyn, 1984) y, por tanto, se hubiera esperado observar un incremento de GCR en poblaciones más áridas.

En el mesófilo o parénquima clorofílico tiene lugar el proceso fotosintético y tanto su estructura como su grosor pueden variar frente a condiciones de estrés hídrico, por lo tanto, cabría esperar que en AT el grosor del mesófilo se viera afectado por las condiciones de aridez; sin embargo, no se observó un efecto significativo de la variable IAM sobre GM y GMR.

Por lo tanto, teniendo en cuenta estos resultados, la variable IAM no modula de manera general la variación en los rasgos anatómicos de las pinnas en *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens*. No obstante, se ha observado que las pinnas de esta especie muestran plasticidad fenotípica en función de las condiciones lumínicas (sol/sombra) a nivel intrapoblacional (Vasheka *et al.*, 2019), por ello (al igual que ocurría con los rasgos estomáticos), los factores ambientales que se establecen a nivel microclimático podrían tener un papel más importante en modular la anatomía foliar de AT. Es probable que la variación anatómica en AT se deba fundamentalmente a los gradientes microclimáticos que caracterizan a estos ambientes (Larson *et al.*, 2000).

En cuanto a los rasgos del peciolo, sólo se encontraron efectos significativos del IAM sobre el AP, AH y AX, no observándose efectos significativos de IAM sobre los rasgos relativos (AHR y AXR). El xilema es el tejido encargado de transportar el agua de forma pasiva desde el suelo hasta la parte aérea de la planta, y tanto la aridez como las heladas pueden provocar la pérdida de su funcionalidad por cavitación, de tal forma, que existe una relación entre las variaciones anatómicas del xilema y las condiciones climáticas (Hacke & Sperry, 2001; Plavcová & Hacke, 2012). Por este motivo, también se hubiera esperado que sobre los rasgos relativos del xilema y del haz vascular la variable IAM hubiera ejercido un efecto significativo y, que, en localizaciones con mayor aridez, tanto AHR y AXR fuesen menores con el último fin de mantener su funcionalidad bajo condiciones más áridas. Sin embargo, es probable que hubiese sido más importante analizar el número de vasos existentes por área, así como su diámetro en lugar del área total, ya que son rasgos clave para evitar la cavitación (Mauseth & Stevenson, 2004; Pittermann & Sperry, 2003; Schreiber *et al.*, 2015).

Como conclusiones generales, sobre todas las variables anatómicas en las que IAM ejerció un efecto significativo, éste fue negativo y afectó a todos los rasgos absolutos excepto GM, es decir, en localizaciones más áridas el valor absoluto de los rasgos anatómicos es mayor. Esto podría deberse a que los helechos rupícolas podrían presentar una mayor productividad, incrementada por la temperatura máxima del mes más cálido,

que suele ser mayor en las poblaciones con menor IAM (Seral *et al.*, 2017). Sin embargo, no encontramos un efecto sobre los rasgos relativos, que son los que pueden conformarse como los más importantes a la hora de determinar las diferencias adaptativas entre individuos que habitan en distintas poblaciones. Por lo tanto, como se ha comentado para los rasgos estomáticos, podría ser que el estrés hídrico influyera en los rasgos anatómicos de este taxón, pero, que este estrés estuviera impuesto a nivel microclimático.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos tanto para la variación de los rasgos estomáticos en AT y AC y de los rasgos anatómicos de las pinnas y del peciolo en AT en relación a IAM, en un futuro, sería más adecuado realizar estudios a nivel microclimático en distintas poblaciones que presenten distintos niveles de aridez, evaluando la influencia de variables microclimáticas. De esta forma, se podría realizar una partición de la varianza para analizar la variabilidad tanto a nivel intrapoblacional como interpoblacional y, por tanto, analizar la influencia de las variables macroclimáticas y microclimáticas en la anatomía de especies de helechos rupícolas, ya que es muy probable que gran parte de la varianza se imponga a nivel microclimático y, por este motivo, los efectos de la variable IAM a nivel macroclimático hayan quedado enmascarados.

CONCLUSIONES

1. La germinación máxima se incrementó con el aumento de temperatura en ambos taxones. Sin embargo, el periodo de latencia en *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* y *A. ceterach* se redujo con dicho incremento. Esto implica que un incremento de temperatura genera un incremento en el potencial de germinación en ambos taxones, aumentando su capacidad adaptativa.
2. *Asplenium ceterach* presentó un valor mayor de germinación máxima, un menor periodo de latencia y un menor valor de T50 frente al incremento de temperatura. Esto reflejaría las diferencias ecológicas entre ambos taxones, ya que *A. ceterach* está adaptada a soportar ambientes comparativamente más calidos que *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens*.
3. El incremento en la germinación máxima y la reducción en el periodo de latencia fue más pronunciado bajo el escenario RCP8.5, por lo tanto, este escenario se conforma como el más adaptativo en ambos taxones.
4. El incremento de temperatura provocó un incremento en las tasas de cambio $\alpha_0, \alpha_1, \alpha_2$ y α_3 tanto en *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* como en *A. ceterach*. Además, este aumento generó una reducción en el tiempo medio necesario para que un individuo seleccionado al azar pasara del estado i al estado $i+1$ ($\frac{1}{\alpha_i}$) y, también, un incremento en la velocidad con la que los gametófitos llegaron a la última fase de desarrollo (F4). Por lo tanto, el incremento de temperatura podría incrementar la capacidad adaptativa a nivel del gametófito en ambos taxones favoreciendo su establecimiento.
5. Las tasas de cambio entre estados α_i fueron mayores en *A. ceterach* que en *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens*, por el contrario, el tiempo medio necesario para que un individuo seleccionado al azar pasara del estado i al estado $i+1$ ($\frac{1}{\alpha_i}$) fue menor en *A. ceterach* a ambas temperaturas, al igual que la velocidad con la que se alcanzó la ultima fase del desarrollo. Esto podría ser indicativo de las diferencias ecológicas de ambos taxones, ya que *A. ceterach* esta adaptado a soportar mayores niveles de temperatura.
6. *Asplenium ceterach* presenta una mayor densidad estomática y menor longitud estomática que *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens*, este hecho podría deberse a la diferencia en los requerimientos ecológicos de ambos taxones. La posesión de menor longitud estomática y mayor densidad estomática en *A. ceterach* permite

responder de forma más rápida a las condiciones ambientales. Esta estrategia es semejante a la observada en especies de ambientes xéricos.

7. El índice de aridez de Martonne no ejerció un efecto general sobre los rasgos estomáticos de *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* y *A. ceterach*, por lo tanto, los gradientes ecológicos existentes a nivel microclimático, podrían desempeñar un papel más importante en modular estos rasgos en ambos taxones.
8. Tanto en *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* como en *A. ceterach* la altitud ejerció un efecto positivo sobre la densidad estomática y el potencial de conductancia estomática. Esta estrategia ha sido observada en otras especies y permitiría incrementar la captura de CO₂ ante la disminución de la presión parcial de CO₂ con un incremento de la altitud.
9. La variable IAM sólo ejerció un efecto significativamente negativo sobre los rasgos absolutos en *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens*. Esto podría indicar que en poblaciones con menor IAM la productividad de *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* es mayor. Sin embargo, no encontramos un efecto sobre las variables relativas, que podrían ser las más importantes en determinar la adaptación de *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* al ambiente.
10. La variable IAM no ejerce efectos generalizados en las variables estomáticas de *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* y *A. ceterach* ni en las variables anatómicas relativas de las pinnas y del peciolo en *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens*. Por tanto, es probable que los gradientes microclimáticos existentes en el medio rupícola sean los que determinen los niveles de aridez y, así la variación de estos rasgos sea mayor a nivel intrapoblacional que a nivel interpoblacional. De esta forma, el efecto de IAM, podría haber quedado emascarado.

BIBLIOGRAFÍA

- Alder, P.B., Leiker, J. & J.M. Levine. 2009. Direct and indirect effects of climate change on a prairie plant community. *PLoS ONE*, 4(9): e6887. DOI: [10.1371/journal.pone.0006887](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006887).
- Arens, N.C. 1997. Responses of leaf anatomy to light environment in the tree fern *Cyathea caracasana* (Cyatheaceae) and its application to some ancient seed ferns. *PALAIOS*, 12(1): 84-94. DOI: [10.2307/3515296](https://doi.org/10.2307/3515296).
- Atala, C., Saldaña, A. & E. Navarrete. 2012. Stomatal frequency and gas exchange differs in two *Blechnum* species (Pteridophyta, Blechnaceae) with contrasting ecological breadth. *Gayana Botanica*, 69(1): 161-166. DOI: [10.4067/S0717-66432012000100016](https://doi.org/10.4067/S0717-66432012000100016).
- Atkinson, L.R. 1973. The gametophyte and family relationships. *Journal of the Linnean Society of London Botany*, 67: 73-90.
- Barrington, D.S. 1993. Ecological and historical factors in fern biogeography. *Journal of Biogeography*, 20(3): 275-280. DOI: [10.2307/2845635](https://doi.org/10.2307/2845635).
- Bartlett, M.K., Klein, T., Jansen, S., Choat, B. & L. Sack. 2016. The correlations and sequence of plant stomatal, hydraulic, and wilting response to drought. *PNAS*, 113(46): 13098-12103. DOI: [10.1073/pnas.1604088113](https://doi.org/10.1073/pnas.1604088113).
- Baskin, J.M. & C.C. Baskin. 1988. Endemism in rock outcrop plant communities of unglaciated Eastern United States: An evaluation of the roles of the edaphic, genetic and light factors. *Journal of Biogeography*, 5(5/6): 829-840. DOI: [10.2307/2845343](https://doi.org/10.2307/2845343).
- Baughman, O.W., Agneray, A.C., Forister, M.L., Kilkenny, F.F., Espeland, E.K., Fiegner, R., Horning, M.E., Johnson, R.C., Thomas, N.K., Ott, J., Bradley, J. & E.A. Leger. 2019. Strong patterns of intraspecific variation and local adaptation in Great Basin plants revealed through a review of 75 years of experiments. *Ecology and Evolution*, 9(11): 6259-6275. DOI: [10.1002/ece3.5200](https://doi.org/10.1002/ece3.5200).
- Bayramzadeh, V., Funada, R. & T. Kubo. 2008. Relationships between vessel element anatomy and physiological as well as morphological traits of leaves in *Fagus crenata* seedlings originating from different provenances. *Trees*, 22: 217-224. DOI: [10.1007/s00468-007-0178-3](https://doi.org/10.1007/s00468-007-0178-3).
- Beerling, D.J. & W.G. Chaloner. 1997. Evolutionary responses of stomatal density to global CO₂ change. *Biological Journal of the Linnean Society*, 48(4): 343-353. DOI: [10.1016/0024-4066\(93\)90005-9](https://doi.org/10.1016/0024-4066(93)90005-9).
- Bellard, C., Bertelsmeier, C., Leadley, P., Thuiller, W. & F. Courchamp. 2012. Impacts of climate change on the future of biodiversity. *Ecology Letters*, 15(4): 365-377. DOI: [10.1111/j.1461-0248.2011.01736.x](https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01736.x).
- Belmonte, R., Pajarón, S. & E. Pangua. 2011. Helechos de la provincia de Albacete. *Sabuco*, 8: 9-68.
- Benito-Garzón, M., Sánchez de Dios, R. & H. Sainz Ollero. 2008. Effects of climate change on the distribution of Iberian tree species. *Applied Vegetation Science*, 11(2): 169-178. DOI: [10.3170/2008-7-18348](https://doi.org/10.3170/2008-7-18348).
- Benzing, D.H. 1998. Vulnerabilities of tropical forest to climate change: the significance of resident epiphytes. *Climatic Change*, 39: 519-540. DOI: [10.1023/A:1005312307709](https://doi.org/10.1023/A:1005312307709).
- Berry, J.A., Beerling, D.J. & P.J. Franks. 2010. Stomata: key players in the earth system, past and present. *Current Opinion in Plant Ecology*, 13(3): 232-239. DOI: [10.1016/j.pbi.2010.04.013](https://doi.org/10.1016/j.pbi.2010.04.013).
- Bertolino, L.T., Caine, R.S. & J.E. Gray. 2019. Impact of stomatal sensity and morphology on water-use efficiency in a changing world. *Frontiers in Plant Science*, 10: 225. DOI: [10.3389/fpls.2019.00225](https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00225).

- Binks, O., Meir, P., Rowland, L., Lola da Costa, A.C., Vasconcelos, S.S., Ribeiro de Oliveira, A.A., Ferreira, L. & M. Mencuccini. 2016. Limited acclimation in leaf anatomy to experimental drought in tropical rainforest trees. *Tree Physiology*, 36(12): 1550–1561. DOI: [10.1093/treephys/tpw078](https://doi.org/10.1093/treephys/tpw078).
- Bosabalidis, A.M. & G. Kofidis. 2002. Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive cultivars. *Plant Science*, 163(2): 375-379. DOI: [10.1016/S0168-9452\(02\)00135-8](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00135-8).
- Brodribb, T.J. & S.A.M. McAdam. 2013. Absciscic acid mediates a divergence in the drought response of two conifers. *Plant Physiology*, 162(3): 1370-1377. DOI: [10.1104/pp.113.217877](https://doi.org/10.1104/pp.113.217877).
- Buckley, T.N. 2005. The control of stomata by water balance. *New Phytologist*, 168(2): 275-292. DOI: [10.1111/j.1469-8137.2005.01543.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01543.x).
- Bueno, A., Sancho-Knapik, D., Gil-Pelegrín, E., Leide, J., Peguero-Pina, J.J., Burghardt, M. & M. Riederer. 2020. Cuticular wax coverage and its transpiration barrier properties in *Quercus coccifera* L. leaves: does the environment matter? *Tree Physiology*, 40(7): 827-840. DOI: [10.1093/treephys/tpz110](https://doi.org/10.1093/treephys/tpz110).
- Buira, A., Cabezas, F. & C. Aedo. 2020. Disentangling ecological traits related to plant endemism, rarity and conservation status in the Iberian Peninsula. *Biodiversity and Conservation*, 29: 1937-1958. DOI: [10.1007/s10531-020-01957-z](https://doi.org/10.1007/s10531-020-01957-z).
- Burke, A. 2002. Island–matrix relationships in Nama Karoo inselberg landscapes. Part I: Do inselbergs provide a refuge for matrix species? *Plant Ecology*, 160: 79-90. DOI: [10.1023/A:1015899729968](https://doi.org/10.1023/A:1015899729968).
- Bystriakova, N., Peregrym, M. & S. Dragicevic. 2015. Effect of environment on distributions of rock ferns in the Mediterranean climate: the case of the genus *Asplenium* in Montenegro. *Flora*, 215: 84-91. DOI: [10.1016/j.flora.2015.07.003](https://doi.org/10.1016/j.flora.2015.07.003).
- Cooper, A. 1997. Plant species coexistence in cliff habitats. *Journal of Biogeography*, 24(4): 483-94. DOI: [10.1111/j.1365-2699.1997.00128.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.1997.00128.x).
- Crane, P. 1985. Phylogenetic relationships in seed plants. *Cladistics*, 1(4): 329-348. DOI: [10.1111/j.1096-0031.1985.tb00432.x](https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.1985.tb00432.x).
- Crane, P.R. & S. Lidgard. 1989. Angiosperm diversification and paleolatitudinal gradients in cretaceous floristic diversity. *Science*, 246(4930): 675-678. DOI: [10.1126/science.246.4930.675](https://doi.org/10.1126/science.246.4930.675).
- Crane, P.R., Friis, E. & K. Pedersen. 1995. The origin and early diversification of angiosperms. *Nature*, 374: 27-33. DOI: [10.1038/374027a0](https://doi.org/10.1038/374027a0).
- Daszkowska-Golec, A. & I. Szarejko. 2013. Open or close the gate - stomata action under the control of phytohormones in drought stress conditions. *Frontiers Plant Science*, 13(4): 138. DOI: [10.3389/fpls.2013.00138](https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00138).
- DeLucia, E.H. & G.P. Berlyn. 1984. The effect of increasing elevation on leaf cuticle thickness and cuticular transpiration in balsam fir. *Canadian Journal of Botany*, 62(11): 2423-2431. DOI: [10.1139/b84-331](https://doi.org/10.1139/b84-331).
- De Martonne, E. 1926. Aréisme et indice d'aridité. *Comptes Rendus de L'Académie des Sciences*, 182: 1395-1398.
- DeSoto, L., Quintanilla, L.G. & M. Méndez. 2008. Environmental sex determination in ferns: effects of nutrient availability and individual density in *Woodwardia radicans*. *Journal of Ecology*, 96(6): 1319-1327. DOI: [10.1111/j.1365-2745.2008.01425.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2008.01425.x).
- Dickson, W.C. 2000. Integrative plant anatomy. Academic Press, San Diego, 533 p.

- Dittberner, H., Kirte, A., Mettler-Altmann, T., Wber, A.P.N., Monroe, G. & J. de Meaux. 2018. Natural variation in stomata size contributes to the local adaptation of water-use efficiency in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Ecology*, 27(20): 4052-4065. DOI: [10.1111/mec.14838](https://doi.org/10.1111/mec.14838).
- Doblas-Miranda, E., Martínez-Vilalta, J., Lloret, F., Álvarez, A., Ávila, A., Bonet, F.J., Brotons, L., Castro, J., Curiel Yuste, J., Díaz, M., Ferrandis, P., García-Hurtado, E., Iriondo, J.M., Keenan, T.F., Latron, J., Llusà, J., Loepfe, L., Mayol, M., Moré, G., Moya, D., Peñuelas, J., Pons, X., Poyatos, R., Sardans, J., Sus, O., Vallejo, V.R., Vayreda, J. & J. Retana. 2015. Reassessing global change research priorities in mediterranean terrestrial ecosystems: how far have we come and where do we go from here? *Global Ecology and Biogeography*, 24(1): 25-43. DOI: [10.1111/geb.12224](https://doi.org/10.1111/geb.12224).
- Donohue, K., Rubio de Casas, R., Brughardt, L., Kovach, K. & G. Willis. 2010. Germination, postgermination adaptation, and species ecological ranges. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 41: 293-319. DOI: [10.1146/annurev-ecolsys-102209-144715](https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-102209-144715).
- Drake, P.L., Froend, R.H. & P.J. Franks. 2013. Smaller, faster stomata: sacaling of stomatal size, rate response and stomatal conductance. *Journal of Experimental Botany*, 64(2): 495-505. DOI: [10.1093/jxb/ers347](https://doi.org/10.1093/jxb/ers347).
- Dyer, A. 1979. The culture of fern gametophytes for experimental investigation. In: Dyer, A. (eds.), *The experimental biology of ferns*: 254-305. Academic Press, London, United Kingdom. DOI: [10.1080/00219266.1983.9654495](https://doi.org/10.1080/00219266.1983.9654495).
- Dzomeku, B.M., Sarkordie-Addo, J., Kodjo, D.S. & R. Bam. 2016. Responses of leaf stomatal parameters to induced water stress and its relationship with stomatal conductance in false orn Plantain. *International Journal of Plant & Soil Science*, 12(2): 1-14. DOI: [10.9734/IJPSS/2016/25101](https://doi.org/10.9734/IJPSS/2016/25101).
- Escudero, A. & S. Pajarón. 1996. La vegetación rupícola del Moncayo silíceo. Una aproximación basada en análisis canónicos de correspondencias. *Lazaroa*, 16: 105-132.
- Farrar, D.R., Dassler, C., Watkins, J.E. & C. Skelton. 2008. Gametophyte ecology. In T.A. Ranker & C.H. Haufler (eds.), *Biology and evolution of ferns and lycophytes* (pp. 222-256). Cambridge: Cambridge University Press. DOI: [10.1017/CBO9780511541827.010](https://doi.org/10.1017/CBO9780511541827.010).
- Fick, S.E. & R.H. Hijmans. 2017. WorldClim 2: new 1km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*, 37(12): 4302-4315. DOI: [10.1002/joc.5086](https://doi.org/10.1002/joc.5086).
- Franks, P.J. & D.J. Beerling. 2009. Maximum leaf conductance driven by CO₂ effects on stomatal size and density over geologic time. *PNAS*, 106(25): 10343-10347. DOI: [10.1073/pnas.0904209106](https://doi.org/10.1073/pnas.0904209106).
- Gabriel y Galán, J.M. & C. Prada. 2010. Pteridophyte spores viability. In: Fernández, H., Kumar, A. & Revilla, M.A. (eds.), *Working with ferns: issues and applications*: 193-205. Springer, New York, United States of America.
- Gabriel y Galán, J.M., Murciano, A., Sirvent, L., Sánchez, A. & J.E. Watkins. 2018a. Germination fitness of two temperate epiphytic ferns shifts under increasing temperatures and forest fragmentation. *PLoS ONE*, 13: e0197110. DOI: [10.1371/journal.pone.0197110](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197110).
- Gabriel y Galán, J.M., Seral, A., Murciano, A., Anjós, R., Cuevas-Fernández, F.B., Fernández, P. & T. Pinto. 2018b. Ecomorphology of stomata in temperate ferns under contrasting environments. In Fernández, H. (ed.), *Current Advances in Fern Research*. Springer, Cham. DOI: [10.1007/978-3-319-75103-0_22](https://doi.org/10.1007/978-3-319-75103-0_22).
- Gaff, D.F. 1987. Desiccation tolerant plants in South America. *Oecologia*, 74(1): 133-136. DOI: [10.1007/bf00377357](https://doi.org/10.1007/bf00377357).

- Galmés, J., Flexas, J., Savé, R. & H. Medrano. 2007. Water relations and stomatal characteristics of Mediterranean plants with different growth forms and leaf habits: responses to water stress and recovery. *Plant and Soil*, 290: 139-155. DOI: [10.1007/s11104-006-9148-6](https://doi.org/10.1007/s11104-006-9148-6).
- García, M.B., Domingo, D., Pizarro, M., Font, X., Gómez, D. & J. Ehrlén. 2020. Rocky habitats as microclimatic refuges for biodiversity. A close-up thermal approach. *Environmental and Experimental Botany*, 170: 103886. DOI: [10.1016/j.envexpbot.2019.103886](https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.103886).
- Gaspar, A.L., Salgado-Gritti, G., Russi, C.H., Schwartz, E. & A.V. Rodrigues. 2020. Expected impacts of climate change on tree ferns distribution and diversity patterns in subtropical Atlantic Forest. *Perspectives in Ecology and Conservation*, 19(3): 369-378. DOI: [10.1101/2020.01.16.909614](https://doi.org/10.1101/2020.01.16.909614).
- Gaxiola, A., Burrows, L. & D. Coomes. 2008. Tree ferns facilitate seedling regeneration in a productive lowland temperate rainforest. *Oecología*, 155(2): 325-335. DOI: [10.1007/s00442-007-0915-8](https://doi.org/10.1007/s00442-007-0915-8).
- George, L.O. & F.A. Bazzaz. 1999. The fern understory as an ecological filter: growth and survival of canopy-tree seedling. *Ecology*, 80(3): 846-856. DOI: [10.2307/177022](https://doi.org/10.2307/177022).
- Giday, H., Kjaer, K.H., Fanourakis, D. & C.O. Ottosen. 2013. Smaller stomata require less severe leaf drying to close: a case study in *Rosa hydrida*. *Journal of Plant Physiology*, 170(15): 1309-1316. DOI: [10.1016/j.jplph.2013.04.007](https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.04.007).
- Gill, P. E. & W. Murray. Algorithms for the solution of the nonlinear least-squares problem. *SIAM. Journal on Numerical Analysis*, 15(5): 977-992. DOI: [10.1137/0715063](https://doi.org/10.1137/0715063).
- Gilman, S.E., Urban, M.C., Tewksbury, J., Gilchrist, G.W. & R.D. Holt. 2010. A framework for community interactions under climate change. *Trends in Ecology and Evolution*, 25(6): 325-331. DOI: [10.1016/j.tree.2010.03.002](https://doi.org/10.1016/j.tree.2010.03.002).
- Giorgi, F. 2006. Climate changes hot-spots. *Geophysical Research Letters*, 33(8): L08707. DOI: [10.1029/2006GL025734](https://doi.org/10.1029/2006GL025734).
- Giorgi, F. & P. Lionello. 2008. Climate change projections for the Mediterranean region. *Global and Planetary Change*, 63(2/3): 90-104. DOI: [10.1016/j.gloplacha.2007.09.005](https://doi.org/10.1016/j.gloplacha.2007.09.005).
- Given, D.R. 1993. Changing aspects of endemism and endangerment in pteridophyta. *Journal of Biogeography*, 20(3): 293-302. DOI: [10.2307/2845638](https://doi.org/10.2307/2845638).
- Gómez-Campo, C., Bermúdez-de Castro, L., Cagiga, M.J. & M.D. Sánchez-Yelamo. 1984. Endemism in the Iberian Peninsula and Balearic Islands. *Webbia*, 38(1): 709-714. DOI: [10.1080/00837792.1984.10670341](https://doi.org/10.1080/00837792.1984.10670341).
- Gratani, L. 2014. Plant phenotypic plasticity in response to environmental factors. *Advances in Botany*, 4: 1-17. DOI: [10.1155/2014/208747](https://doi.org/10.1155/2014/208747).
- Gricar, J., Prislan, P., De Luis, M., Gryc, V., Hacurová, J., Vavrčík, H. & K. Cufar. 2015. Plasticity in variation of xylem and phloem cell characteristics of Norway spruce under different local conditions. *Frontiers Plant Science*, 6: 270. DOI: [10.3389/fpls.2015.00730](https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00730).
- Guo, Q., Kato, M. & R.E. Ricklefs. 2003. Life history, diversity and distribution: a study of Japanese pteridophytes. *Ecography*, 26(2): 129-138. DOI: [10.1034/j.1600-0587.2003.03379.x](https://doi.org/10.1034/j.1600-0587.2003.03379.x).
- Hacke, U.G. & J.S. Sperry. 2001. Functional and ecological xylem anatomy. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 4(2): 97-115. DOI: [10.1078/1433-8319-00017](https://doi.org/10.1078/1433-8319-00017).
- Hardin, J.W. 2005. Generalized Estimating Equations (GEE). In: B.S. Everitt & D.C. Howell (eds.), *Encyclopedia of Statistics in Behavioral Science* vol. 2 (pp 721-729). Chichester. DOI: [10.1002/0470013192.bsa250](https://doi.org/10.1002/0470013192.bsa250).

- Harrison, P.A., Berry, P.M., Butt, N. & M.G. New. 2006. Modelling climate change impacts on species' distributions at the European scale: Implications for conservation policy. *Environmental Science & Policy*, 9(2): 116-128. DOI: [10.1016/j.envsci.2005.11.003](https://doi.org/10.1016/j.envsci.2005.11.003).
- Hetherington, A.M. & F.I. Woodward. 2003. The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature*, 424: 901-908. DOI: [10.1038/nature01843](https://doi.org/10.1038/nature01843).
- Heywood, W.H. 1954. El concepto de asociación en las comunidades rupícolas. *Anales del Instituto A.J. Cavanilles*, 11: 463-481.
- Hietz, P. 2010. Fern adaptations to xeric environments. In K. Mehlreter, L.R Walker & J.M. Sharpe (eds.), *Fern Ecology* (pp. 140-176). Cambridge. Cambridge University Press. DOI: [10.1017/CBO9780511844898.006](https://doi.org/10.1017/CBO9780511844898.006).
- Hill, R.H. 1971. Comparative habitat requirements for spore germination and prothallial growth of three ferns in southeastern Michigan. *American Fern Journal*, 61(4): 171-182. DOI: [10.2307/1546298](https://doi.org/10.2307/1546298).
- Hill, K.E., Guerin, G.R., Hill, R.S. & J.R. Watling. 2015. Temperature influences stomatal density and maximum potential water loss through stomata of *Dodonaea viscosa* subsp. *angustissima* along a latitude gradient in southern Australia. *Australian Journal of Botany*, 62(8): 657-665. DOI: [10.1071/BT14204](https://doi.org/10.1071/BT14204).
- Holland, R. & A.D. Richardson. 2009. Stomatal length correlates with elevation of growth in four temperate species. *Journal of Sustainable Forestry*, 28(1/2): 63-73. DOI: [10.1080/10549810802626142](https://doi.org/10.1080/10549810802626142).
- Hong, T., Han, L. & H.D. He. 2018. Characteristics and correlations of leaf stomata in different *Aleurites montana* provenances. *PLoS ONE*, 13(12): e0208899. DOI: [10.1371/journal.pone.0208899](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208899).
- Hossel, J.E., Ellis, N.F., Harley, M.J. & I.R. Hepburn. 2003. Climate change and nature conservation: Implications for policy and practice in Britain and Ireland. *Journal for Nature Conservation*, 11(1): 67-73. DOI: [10.1078/1617-1381-00034](https://doi.org/10.1078/1617-1381-00034).
- Hovenden, M.J. & T. Brodribb. 2000. Altitude of origin influences stomatal conductance and therefore maximum assimilation rate in Southern Beech, *Nothofagus cunninghamii*. *Australian Journal of Plant Physiology*, 27(5): 451-456. DOI: [10.1071/PP99164](https://doi.org/10.1071/PP99164).
- Hsu, R.C.C., Oostermeijer, J.G.B. & J.H.D. Wolf. 2014. Adaptation of a widespread epiphytic fern to simulated climate change conditions. *Plant Ecology*, 215(8): 889-897. DOI: [10.1007/s11258-014-0340-0](https://doi.org/10.1007/s11258-014-0340-0).
- IPCC. 2014. Climate change synthesis report. contribution of working groups I, II, and III to the fifth assessment report of the Intergovernmental. Panel on Climate Change. Geneva, Switzerland. DOI: [10013/epic.45156.d001](https://doi.org/10.10013/epic.45156.d001).
- Ivanova, L.A. 2014. Adaptive features of leaf structure in plants of different ecological groups. *Russian Journal of Ecology*, 45(2): 107-115. DOI: [10.1134/S1067413614020027](https://doi.org/10.1134/S1067413614020027).
- Kao, W.Y. & K.W. Chang. 2001. Altitudinal trends in photosynthetic rate and leaf characteristics of *Miscanthus* populations from central Taiwan. *Australian Journal of Botany*, 49(4): 509-514. DOI: [10.1071/BT00028](https://doi.org/10.1071/BT00028).
- Kato, M. 1993. Biogeography of ferns: dispersal and vicariance. *Journal of Biogeography*, 20(3): 265-274. DOI: [10.2307/2845634](https://doi.org/10.2307/2845634).
- Kenrick, P. & P.R. Crane. 1997. The origin and early evolution of plants on land. *Nature*, 389: 33-39. DOI: [10.1038/37918](https://doi.org/10.1038/37918).
- Klekowski, E.J. 1972. Evidence against genetic self-incompatibility in homosporous fern *Pteridium aquilinum*. *Evolution*, 26(1): 66-73. DOI: [10.1111/j.1558-5646.1972.tb00174.x](https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1972.tb00174.x).

- Kofidis, G., Bosabalidis, A.M. & M. Maustakas. 2003. Contemporary seasonal and altitudinal variations of leaf structural features in Oregano (*Origanum vulgare* L.). *Annals of Botany*, 92(5): 635-645. DOI: [10.1093/aob/mcg180](https://doi.org/10.1093/aob/mcg180).
- Koger, C.H., Reedy, K.N. & D.H. Poston. 2004. Factors affecting seed germination, seedling emergence and survival of texasweed (*Caperonia palustris*). *Weed Science*, 52(6): 989-995. DOI: [10.1614/WS-03-139R2](https://doi.org/10.1614/WS-03-139R2).
- Korpelainen, H. 1994. Growth, sex determination and reproduction of *Dryopteris filix-mas* (L.) Schott gametophytes under varying nutritional conditions. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 114(4): 357-366. DOI: [10.1111/j.1095-8339.1994.tb01840.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1994.tb01840.x).
- Kosma, D.K., Bourdens, B., Bernard, A., Parsons, E.P., Lü, S., Joubès, J. & M.A. Jenks. 2009. The impact of water deficiency on leaf cuticle lipids of *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 151(4):1918-1929. DOI: [10.1104/pp.109.141911](https://doi.org/10.1104/pp.109.141911).
- Kramer, K.U. & R. Viane. 1990. Aspleniaceae. In: Kramer, K.U. & P.S. Green (eds.), Pteridophytes & Gymnosperms. In: Kubitzki, K. (eds.), The families and genera of vascular plants. Springer Verlag. Berlin. I: 52-57 pp.
- Larson, D.W., Matthes, U. & P.E. Kelly. 2000. Cliff ecology: pattern and process in Cliff ecosystems. Cambridge Studies in Ecology. Cambridge University Press, Cambridge.
- Larter, M., Brodribb, T.J., Pfautsch, S., Burlett, R., Cochard, H. & S. Delzon. 2015. Extreme aridity pushes trees to their physical limits. *Plant Physiology*, 168(3): 804-807. DOI: [10.1104/pp.15.00223](https://doi.org/10.1104/pp.15.00223).
- Lavilla, M., Seral, A., Murciano, A., Molino, S., De la Fuente, P. & J.M. Gabriel y Galán. 2017. Stomatal traits in Iberian populations of *Osmunda regalis* (Osmundaceae, Polypodiopsida) and its relationship with bioclimatic variables. *Acta Botanica Malacitana*, 42(1): 5-13. DOI: [10.24310/abm.v42i1.3029](https://doi.org/10.24310/abm.v42i1.3029).
- Lelieveld, J., Hadjinicolaou, P., Kostopoulou, E., Chenoweth, J., El Maayar, M., Giannakopoulos, C., Hannides, C., Lange, M.A., Tanarhte, M., Tyrlis, E. & E. Zoplaki. 2012. Climate change and impacts in the Eastern Mediterranean and the Middle East. *Climatic Change*, 114: 667-687. DOI: [10.1007/s10584-012-0418-4](https://doi.org/10.1007/s10584-012-0418-4).
- Levene, H. 1960. Robust tests for equality of variances. *Ingram Olkin; Harold Hotelling; et al.*, (eds.), Contributions to Probability and Statistics: Essays in Honor of Harold Hotelling. Stanford University Press.
- Li, F.L. & W.K. Bao. 2014. Elevational trends in leaf size of *Compylotopis polyantha* in the arid Minijang River Valley, SW China. *Journal of Arid Environments*, 108: 1-9. DOI: [10.1016/j.jaridenv.2014.04.011](https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2014.04.011).
- Li, Y., Li, H., Li, Y. & S. Zhang. 2017. Improving water-use efficiency by decreasing stomatal conductance and transpiration rate to maintain higher ear photosynthetic rate in drought-resistant wheat. *The Crop Journal*, 5(3): 231-239. DOI: [10.1016/j.cj.2017.01.001](https://doi.org/10.1016/j.cj.2017.01.001).
- Lin, Y.-X. & R. Viane. 2013. Aspleniaceae. In: Wu, Z.-Y., Raven, P.H., Hong, D.-Y. (eds.), Flora of China. Vol. 2-3. Science Press/ Missouri Botanical Garden Press, Beijing and St. Louis, pp. 267-316.
- Liu, C., Li, Y., Xu, L., Chen, Z. & H. Nianpeng. 2019. Variation in leaf morphological, stomatal, and anatomical traits and their relationships in temperate and subtropical forests. *Scientific Reports*, 9: 5803. DOI: [10.1038/s41598-019-42335-2](https://doi.org/10.1038/s41598-019-42335-2).
- Liu, D., Liu, J., Cao, J., Bai, J. & R. Shi. 2006. Stomatal distribution and character analysis of the leaf epidermis of jujube under drought stress. *Journal of Anhui Agricultural Science*, 34: 1315-1318.

- Liu, W., Zhen, L. & D. Qu. 2020. Variation in leaf traits at different altitudes reflects the adaptive strategy of plants to environmental changes. *Ecology and Evolution*, 10(5): 8166-8175. DOI: [10.1002/ece3.6519](https://doi.org/10.1002/ece3.6519).
- Lovis, J.D. 1964. The taxonomy of *Asplenium trichomanes* in Europe. *The British Fern Gazette*, 9: 147-160.
- Lovis, J.D., Rasbach, K. & J.J. Schneller. 1977. *Asplenium azoricum* and others ferns of the *A. trichomanes* group from the Azores. *American Fern Journal*, 67(3): 81-93. DOI: [10.2307/1546770](https://doi.org/10.2307/1546770).
- Lovis, J.D. 1978. Evolutionary patterns and processes in ferns. *Advances in Botanical Research*, 4: 229-415. DOI: [10.1016/S0065-2296\(08\)60371-7](https://doi.org/10.1016/S0065-2296(08)60371-7).
- Martin, A.R., Rapidel, B., Roupsard, O., Van den Meersche, K., Filho, E., Barrios, M. & E.I. Marney. 2017. Intraspecific trait variation across multiple scales: the leaf economics spectrum in coffee. *Functional Ecology*, 31(3): 604-612. DOI: [10.1111/1365-2435.12790](https://doi.org/10.1111/1365-2435.12790).
- MATLAB and Statistics Toolbox Release 2012, The MathWorks, Inc., Natick, Massachusetts, United States.
- Matutano, D., Franca, C. & F. Rubio. 2006. Leaf anatomy variation within and between three “restringa” populations of *Erythroxylum ovalifolium* Peyr. (Erythroxylaceae) in Southeast Brazil. *Brazilian Journal of Botany*, 29(2): 209-215. DOI: [10.1590/S0100-84042006000200002](https://doi.org/10.1590/S0100-84042006000200002).
- Mauseth, J.D. & J.F. Stevenson. 2004. Theoretical considerations of vessel diameter and conductive safety in populations of vessels. *International Journal of Plant Sciences*, 165(3): 359-368. DOI: [10.1086/382808](https://doi.org/10.1086/382808).
- Maxima, a computer algebra system. 2014. <https://maxima.sourceforge.io/>
- McCarty, J.P. 2001. Ecological consequences of climate change. *Conservation Biology*, 15: 320-331. DOI: [10.1046/j.1523-1739.2001.015002320.x](https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2001.015002320.x)
- Mehltreter, K., Walker, L.R. & J.M. Sharpe. 2010. Fern ecology. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom. DOI: [10.1017/CBO9780511844898](https://doi.org/10.1017/CBO9780511844898).
- Milbau, A., Graae, B.J., Shevtsova, A. & I. Nijs. 2009. Effects of a warmer climate on seed germination in the subarctic. *Annals of Botany*, 104(2): 287-296. DOI: [10.1093/aob/mcp117](https://doi.org/10.1093/aob/mcp117).
- Minorsky, P.V. 2002. The hot and the classic. *Plant Physiology*, 4(1): 1421-2. DOI: [10.1104/pp.900042](https://doi.org/10.1104/pp.900042).
- Moran, R.C. 1982. The *Asplenium trichomanes* complex in the United States and adjacent Canada. *American Fern Journal*, 72(1): 5-11. DOI: [10.2307/1547078](https://doi.org/10.2307/1547078).
- Moreno, J.C. & L.M. Lobo. 2008. Iberian–Balearic fern regions and their explanatory variables. *Plant Ecology*, 198(2): 149-167. DOI: [10.1007/s11258-007-9392-8](https://doi.org/10.1007/s11258-007-9392-8).
- Moreno, J.C., Pataro, L. & S. Pajarón. 2015. Atlas de los pteridófitos de la Península Ibérica e Islas Baleares. *Acta Botánica Malacitana*, 40: 5-55. DOI: [10.24310/abm.v40i0.2540](https://doi.org/10.24310/abm.v40i0.2540).
- Muniz, L.F., Bombo, A.B., Filartiga, A.L. & B. Appezzato-da-Glória. 2018. Can climate and soil conditions change the morpho-anatomy among individuals from different localities? A case study in *Aldama grandiflora* (Asteraceae). *Brazilian Journal of Biology*, 78(4): 706-7017. DOI: [10.1590/1519-6984.174636](https://doi.org/10.1590/1519-6984.174636).
- Nayar, B.K. & S. Kaur. 1971. Gametophytes of homosporous ferns. *The Botanical Review*, 37: 295-396. DOI: [10.1007/BF02859157](https://doi.org/10.1007/BF02859157).
- Nelder, J.A. & R.W.N. Wedderburn. 1972. Generalized Linear Models. *Journal of the Royal Statistical Society*, 135(3): 370-384. DOI: [10.2307/2344614](https://doi.org/10.2307/2344614).

- Niklas, K., Tiffney, B. & A. Knoll. 1983. Patterns in vascular land plant diversification. *Nature*, 303: 614-616. DOI: [10.1038/303614a0](https://doi.org/10.1038/303614a0).
- Nogueira, I. & J. Ormonde. 1986. *Asplenium*. In Castroviejo et al. (eds), Flora Ibérica. 1: 90-104. Real Jardín Botánico, CSIC. Madrid.
- Notaro, M., Vavrus, S. & Z. Liu. 2007. Global vegetation and climate change due to future increase in CO₂ as projected by a fully coupled model with dynamic vegetation. *Journal of Climate*, 20(1): 70-90. DOI: [10.1175/JCLI3989.1](https://doi.org/10.1175/JCLI3989.1).
- Page, C.N. 2002. Ecological strategies in fern evolution: a neopteridological overview. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 119(1/2): 1-33. DOI: [10.1016/S0034-6667\(01\)00127-0](https://doi.org/10.1016/S0034-6667(01)00127-0).
- Pajarón, S., Pangua, E., Quintanilla, L.G. & A. Jiménez. 2015. Influence of water availability on gender determination of gametophytes in a diploid–polyploid complex of a xerophytic fern genus. *AoB PLANTS*, 7: 1-11. DOI: [10.1093/aobpla/plv047](https://doi.org/10.1093/aobpla/plv047).
- Pangua, E., Prada, C. & A. Marquina. 1989. Las subespecies de *Asplenium trichomanes* L. en la Península Ibérica e Islas Baleares. *Botanica Complutensis*, 14: 87-108.
- Pangua, E., Lindsay, S. & A. Dyer. 1994. Spore germination and gametophyte development in three species of *Asplenium*. *Annals of Botany*, 73(6): 587-593. DOI: [10.1006/anbo.1994.1073](https://doi.org/10.1006/anbo.1994.1073).
- Pangua, E., Belmonte, R. & S. Pajarón. 2009. Germination and reproductive biology in salty conditions of *Asplenium marinum* (Aspleniaceae), a European coastal fern. *Flora*, 204(9): 673-684. DOI: [10.1016/j.flora.2008.09.007](https://doi.org/10.1016/j.flora.2008.09.007).
- Pearce, D.W., Millard, S., Bray, D.F. & S.B. Rood. 2006. Stomatal characteristics of riparian poplar species in a semi-arid environment. *Tree Physiology*, 26(2): 211-218. DOI: [10.1093/treephys/26.2.211](https://doi.org/10.1093/treephys/26.2.211).
- Peck, J.H., Peck, C.J. & D.R. Farrar. 1990. Influences of life history attributes on formation of local and distant fern populations. *American Fern Journal*, 80(4): 126-142. DOI: [10.2307/1547200](https://doi.org/10.2307/1547200).
- Peñas, J., Caballero, J., Valle Tendero, F. & J.F. Mota. 2001. Comunidades vegetales rupícolas del sudeste ibérico (sierra de Los Filabres). *Lazaroa*, 22: 95-107.
- Peñuelas, J., Sardans, J., Filella, I., Estiarte, M., Llusia, J., Ogaya, R., Carnicer, J., Bartrons, M., Rivas-Ubach, A., Grau, O., Peguero, G., Margalef, O., Plas, S., Stefanescu, C., Asensio, D., Preece, C., Lei, L., Verger, A., Rico, L., Barbeta, A., Achotegui-Castells, A., Gargallo-Garriga, A., Sperlich, D., Farré-Armengol, G., Fernández-Martínez, M., Daijun, L., Zhang, C., Urbina, F., Camino-Serrano, M., Vives, M., Nadal- Sala, D., Sabaté, S., Gracia, C.A. & J. Terradas. 2017. Assessment of the impacts of climate change on Mediterranean terrestrial ecosystems based on data from field experiments and long-term monitored field gradients in Catalonia. *Environmental and Experimental Botany*, 152: 49-59. DOI: [10.1016/j.envexpbot.2017.05.012](https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.05.012).
- Peralta, J. & J.C. Basconés. 1996. Comunidades rupícolas de Navarra. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 54: 512-520.
- Pereira-Dias, F. & M. Santos. 2015. Adaptive strategies against water stress: a study comparing leaf morphoanatomy of rupicolous and epiphytic species of Gesneriaceae. *Brazilian Journal of Botany*, 38: 911-919. DOI: [10.1007/s40415-015-0180-8](https://doi.org/10.1007/s40415-015-0180-8).

- Pérez-Harguindeguy, N., Díaz, S., Garnier, E., Lavorel, S., Poorter, H., Jaureguiberry, P., Bret-Harte, M.S., Cornwell, W.K., Craine, J.M., Gurvich, D.E., Urcelay, C., Veneklaas, J.E., Reich, P.B., Poorter, L., Wright, I.J., Ray, P., Enrico, L., Pausas, J.G., de Vos, A.C., Buchmann, N., Funes, G., Quétier, F., Hodgson, J.G., Thompson, K., Morgan, H.D., ter Steege, H., Van der Heijden, M.G.A., Sack, L., Blonder, B., Poschlod, P., Vaieretti, M.V., Conti, G., Staver, A.C., Aquino, S. & J.H.C. Cornelissen. 2013. New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany*, 61(3): 167-234. DOI: [10.1071/BT12225](https://doi.org/10.1071/BT12225).
- Phillips, D.L. 1982. Life-forms of granite outcrops. *American Midland Naturalist*, 107(1): 206-208. DOI: [10.2307/2425205](https://doi.org/10.2307/2425205).
- Pinter, I., Bakker, F., Barret, J., Cox, C., Gibby, M., Henderson, S., Morgan-Richards, M., Rumsey, F., Trewick, S., Schneider, H. & J. Vogel. 2002. Phylogenetic and biosystematic relationships in four highly disjunct polyploid complexes in the subgenera *Ceterach* and *Phyllitis* in *Asplenium* (Aspleniaceae). *Organisms, Diversity and Evolution*, 2(4): 299-311. DOI: [10.1078/1439-6092-00050](https://doi.org/10.1078/1439-6092-00050).
- Pittermann, J. & J. Sperry. 2003. Tracheid diameter is the key trait determining the extent of freezing-induced embolism in conifers. *Tree Physiology*, 23(13): 907-914. DOI: [10.1104/pp.105.067900](https://doi.org/10.1104/pp.105.067900).
- Pittermann, J., Brodersen, C. & J.E. Watkins. 2013. The physiological resilience of fern sporophytes and gametophytes: advances in water relations offer new insights into an old lineage. *Frontiers in Plant Science*, 5(4): 285. DOI: [10.3389/fpls.2013.00285](https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00285).
- Plavcová, L. & U.G. Hacke. 2012. Phenotypic and developmental plasticity of xylem in hybrid poplar saplings subjected to experimental drought, nitrogen fertilization, and shading. *Journal of Experimental Botany*, 63(18): 6481-6491. DOI: [10.1093/jxb/ers303](https://doi.org/10.1093/jxb/ers303).
- Porembski, S., Martinelli, R., Ohlemüller, R. & W. Barthlott. 1994. Vegetation of rock outcrops in Guinea: granite inselbergs, sandstone table mountains, and ferricretes-remarks on species numbers and endemism. *Flora*, 189(4): 315-326. DOI: [10.1016/S0367-2530\(17\)30612-6](https://doi.org/10.1016/S0367-2530(17)30612-6).
- Porembski, S. 2007. Tropical inselbergs: habitat types, adaptive strategies and diversity patterns. *Revista Brasileira de Botânica*, 30(4): 579-586. DOI: [10.1590/S0100-84042007000400004](https://doi.org/10.1590/S0100-84042007000400004).
- Pouteau, R., Meyer, J.-Y., Blanchard, P., Nitta, J., Terorotua, M. & R. Taputuarai. 2016. Fern species richness and abundance are indicators of climate change on high-elevation islands: evidence from an elevational gradient on Tahiti (French Polynesia). *Climatic Change*, 138: 143-156. DOI: [10.1007/s10584-016-1734-x](https://doi.org/10.1007/s10584-016-1734-x).
- Proctor, M.C.F. & Z. Tuba. 2002. Poikilohydry and homoiophy: antithesis or spectrum of possibilities? *New Phytologist*, 156(3): 327-349. DOI: [10.1046/j.1469-8137.2002.00526.x](https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2002.00526.x).
- Pryer, K., Schuettpelz, E., Wolf, P., Schneider, H., Smith, A. & R. Cranfill. 2004. Phylogeny and evolution of ferns (Monilophytes) with a focus on the early Leptosporangiate divergences. *American Journal of Botany*, 91(10): 1582-1598. DOI: [10.3732/ajb.91.10.1582](https://doi.org/10.3732/ajb.91.10.1582).
- Pteridophyte Phylogeny Group (PPG1), 2016. A community-derived classification for extant lycophytes and ferns. *Journal of Systematics and Evolution*, 54(6): 563-603. DOI: [10.1111/jse.12229](https://doi.org/10.1111/jse.12229).
- Puglielli, G., Crescente, M.F., Frattaroli, A.R. & L. Gratani. 2015. Morphological, anatomical and physiological leaf trait plasticity of *Sesleria nitida* (Poaceae) in open vs shaded conditions. *Polish Journal of Ecology*, 1(1): 10-22. DOI: [10.3161/15052249PJE2015.63.1.002](https://doi.org/10.3161/15052249PJE2015.63.1.002).

- Ramírez-Valiente, J.A., Sánchez-Gómez, D., Aranda, I. & F. Valladares. 2010. Phenotypic plasticity and local adaptation in leaf ecophysiological traits of 13 contrasting cork oak populations under different water availabilities. *Tree Physiology*, 30(5): 618-627. DOI: [10.1093/treephys/tpq013](https://doi.org/10.1093/treephys/tpq013).
- Ranal, M. 1999. Effects of temperature on spore germination in some fern species from semideciduous mesophytic forest. *American Fern Journal*, 89(2): 149-158. DOI: [10.2307/1547349](https://doi.org/10.2307/1547349).
- Rasbach, H., Rasbach, K., Reichstein, T. & H.W. Bennert. 1990. *Asplenium trichomanes* subsp. *coriaceifolium*, a new subspecies and two new intraspecific hybrids of the *A. trichomanes* complex (Aspleniaceae, Pteridophyta). I. Nomenclature and typification. *Willdenowia*, 19(2): 471-474.
- Raven, J.A. 2014. Speedy small stomata? *Journal of Experimental Botany*, 65(6): 1415-1424. DOI: [10.1093/jxb/eru032](https://doi.org/10.1093/jxb/eru032).
- Rechenmacher, C., Schmitt, J.L. & A. Droste. 2010. Spore germination and gametophyte development of *Cyathea atrovirens* (Langsd. & Fisch.) Domin (Cyatheaceae) under different pH conditions. *Brazilian Journal of Biology*, 70(4): 1155-1160. DOI: [10.1590/S1519-69842010000600004](https://doi.org/10.1590/S1519-69842010000600004).
- Riachi, K., Rao, S., Vho, C., Vadim, C., Fischer, G., Kindermann, G., Nakicenovic, N. & P. Rafaj. 2011. RCP 8.5-A scenario of comparatively high greenhouse gas emissions. *Climatic Change*, 109: 33-57. DOI: [10.1007/s10584-011-0149-y](https://doi.org/10.1007/s10584-011-0149-y).
- Riederer, M. & L. Schreiber. 2001. Protecting against water loss: analysis of the barrier properties of plant cuticles. *Journal of Experimental Botany*, 52(363): 2023-2032. DOI: [10.1093/jxb/erx302](https://doi.org/10.1093/jxb/erx302).
- Rothwell, G.W. 1999. Fossils and ferns in the resolution of land plant phylogeny. *The Botanical Review*, 65(3): 188-218. DOI: [10.1007/BF02857629](https://doi.org/10.1007/BF02857629).
- Sáez, L. 2000. El complex d' *Asplenium trichomanes* L. (Aspleniaceae, Pteridophyta) al nord-est de la Península Ibèrica. *Orsis: Organismes i sistemes*, 15: 27-43.
- Salgado-Negret, B., Paz, H., Pulido, E.M., Cabrera, M., Ruíz, C., López, J.P., Stiles, F.G., Parra, J.L., Ramírez, M.P., Urbina, N., Zamudio, J.E., Herrera-Collazos, E.E., Maldonado-Ocampos, J.A., DoNascimento, C., González, M.A., Baptiste, M.D., Ruíz, C.A & H. García. 2016. La ecología funcional como aproximación al estudio, manejo y conservación de la biodiversidad: protocolos y aplicaciones. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá, D.C. ISBN: [978-958-8889-67-2](https://doi.org/978-958-8889-67-2).
- Salvo, E. 1990. Guía de helechos de la Península Ibérica y Baleares. Ediciones pirámide. Madrid.
- Samir, A.T., Fernández, C., Greff, S., Derridj, A., Gauquelin, T. & J.P. Mevy. 2011. Inter-population variability of leaf morpho-anatomical and terpenoid patterns of *Pistacia atlantica* Desf. ssp. *atlantica* growing along an aridity gradient in Algeria. *Flora*, 206(4): 397-405. DOI: [10.1016/j.flora.2010.08.002](https://doi.org/10.1016/j.flora.2010.08.002).
- Sarthou, C. & J. Villers. 1998. Epilithic plant communities on inselbergs in French Guiana. *Journal of Vegetation Science*, 9(6): 847-860. DOI: [10.2307/3237050](https://doi.org/10.2307/3237050).
- Scarano, F.R. 2002. Structure, function and floristic relationships of plant communities in stressful habitats marginal to the Brazilian Atlantic Rainforest. *Annals of Botany*, 90(4): 517-524. DOI: [10.1093/aob/mcf189](https://doi.org/10.1093/aob/mcf189).
- Schneider, H., Schuettpelz, E., Pryer, K.M., Cranfill, R., Magallon, S. & R. Lupia. 2004. Ferns diversified in the shadow of angiosperms. *Nature*, 428: 553-557. DOI: [10.1038/nature02361](https://doi.org/10.1038/nature02361).
- Schneider, C.A., Rasband, W.S. & K.W. Eliceiri. 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, (7): 671-675. DOI: [10.1038/nmeth.2089](https://doi.org/10.1038/nmeth.2089).

- Schreiber, S.G., Hacke, U.G. & A. Hamann. 2015. Variation of xylem vessel diameters across a climate gradient: insight from a reciprocal transplant experiment with a widespread boreal tree. *Functional Ecology*, 29(13): 1392-1401. DOI: [10.1111/1365-2435.12455](https://doi.org/10.1111/1365-2435.12455).
- Schuettelpelz, E. & K.M. Pryer. 2008. Fern phylogeny. In: Ranker, T.A. & C.H. Haufler (eds.), *Biology and evolution of ferns and lycophytes*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 395-416.
- Schuettelpelz, E. & K.M. Pryer. 2009. Evidence for a Cenozoic radiation of ferns in an angiosperm-dominated canopy. *Proceeding of the National Academy of Sciences*, 106(27): 11200-11205. DOI: [10.1073/pnas.0811136106](https://doi.org/10.1073/pnas.0811136106).
- Schuster, A.C., Burghardt, M., Alfarhan, A., Bueno, A., Hedrich, R., Leide, J., Thomas, J. & M. Riederer. 2016. Effectiveness of cuticular transpiration barriers in a desert plant at controlling water loss at high temperatures. *AoB Plants*, 28(8): plw027. DOI: [10.1093/aobpla/plw027](https://doi.org/10.1093/aobpla/plw027).
- Seral, A., Murciano, A., Molino, S., De la Fuente, P. & J.M. Gabriel y Galán. 2017. Functional ecology of fronds in iberian saxicolous ferns. *Acta Botanica Malacitana*, 42(1): 101-110. DOI: [10.24310/abm.v42i1.3093](https://doi.org/10.24310/abm.v42i1.3093).
- Shah, S.N., Ahmand, M., Zafar, M., Ullah, F., Zaman, W., Mazumdar, J., Khuram, I. & S.M. Khan. 2019. Leaf micromorphological adaptations of resurrection ferns in Northern Pakistan. *Flora*, 255: 1-10. DOI: [10.1016/j.flora.2019.03.018](https://doi.org/10.1016/j.flora.2019.03.018).
- Shapiro, S.S. & M.B. Wilk. 1965. An analysis of variance test for normality (Complete Samples). *Biometrika*, 54(3/4): 591-611. DOI: [10.2307/2333709](https://doi.org/10.2307/2333709).
- Sharpe, J.M. 2019. Fern ecology and climatic change. *Indian Fern Journal*, 36: 179-199.
- Siefert, A., Violle, C., Chalmandrier, L., Albert, C., Taudiere, A., Fajardo, A., Aarssen, L., Baraloto, C., Carlucci, M.B., Cianciaruso, M.V., Dantas, V., De Bello, F., Duarte, L.D.S., Fonseca, C.R., Freschet, G.T., Gaucherand, S., Gross, N., Hikosaka, K., Jackson, B., Jung, V., Kamiyama, C., Katabuchi, M., Kembel, S.W., Kichenin, E., Kraft, N.J.B., Lagerström, A., Le Bagousse-Pinguet, Y., Li, Y., Manson, N., Messier, J., Nakashizuka, T., Overton, J.M.C., Peltzer, D.A., Pérez-Ramos, I.M., Pillar, V.D., Prentice, H.C., Richardson, S., Sasaki, T., Schamp, B.S., Schöb, C., Shipley, S., Sundqvist, M., Sykes, M.T., Vandewalle, M. & D.A. Wardle. 2015. A global meta-analysis of the relative extent of intraspecific trait variation in plant communities. *Ecology Letters*, 18(12): 1406-1419. DOI: [10.1111/ele.12508](https://doi.org/10.1111/ele.12508).
- Silva, H., Sagardia, S., Ortiz, M., Franck, N., Opazo, M., Quiroz, M., Baginsky, C. & C. Tapia. 2014. Relationships between leaf anatomy, morphology, and water use efficiency in *Aloe vera* (L) Burm f. as a function of water availability. *Revista Chilena de Historia Natural*, 87: 13. DOI: [10.1186/s40693-014-0013-3](https://doi.org/10.1186/s40693-014-0013-3).
- Skelton, R.P., Brodribb, T.J., McAdam, S.A.M. & P.J. Mithchell. 2016. Gas exchange recovery following natural drought is rapid unless limited by loss of leaf hydraulic conductance: evidence from an evergreen Woodland. *New Phytologist*, 215(4): 1399-1412. DOI: [10.1111/nph.14652](https://doi.org/10.1111/nph.14652).
- Sleep, A. 1983. On the genus *Asplenium* in the Iberian Peninsula. *Acta Botanica Malacitana*, 8: 11-46.
- Smith, A.R. 1972. Comparision of fern and flowering plant distributions with some evolutionary interpretations for ferns. *Biotropica*, 4(1): 4-9. DOI: [10.2307/2989639](https://doi.org/10.2307/2989639).
- Smith, A.R., Pryer, K.M., Schuettelpelz, E., Korall, P., Schneider, H. & P.G. Wolf. 2006. A classification for extant ferns. *Taxon*, 55(3): 705-731. DOI: [10.2307/25065646](https://doi.org/10.2307/25065646).

- Smith, A.R., Pryer, K.M., Schuettpelz, E., Korall, P., Schneider, H. & P.G. Wolf. 2008. Fern classification. In T.A. Ranker & C.H. Hauffler (eds.), *Biology and evolution of ferns and lycophytes* (pp. 417-467). Cambridge: Cambridge University Press.
- Soltis, D.E. & P.S. Soltis. 1987. Polyploidy and breeding systems in homosporous pteridophyta: a reevaluation. *The American Naturalist*, 130(2): 219-232. DOI: [10.1086/284706](https://doi.org/10.1086/284706).
- Souza, M.L., Duarte, A.A., Lovato, M.B., Fagundes, M., Valladares, F. & J.P. Lemos-Filho. 2018. Climatic factors shaping intraspecific leaf trait variation of a neotropical tree along a rainfall gradient. *PLoS ONE*, 12: e0208512. DOI: [10.1371/journal.pone.0208512](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208512).
- StataCorp. 2005. *Stata Statistical Software: Release 9*. College Station, TX: StataCorp LP.
- Stojnić, S., Suchocka, M., Benito-Garzón, M., Torres-Ruiz, J.M., Cochard, H., Bolte, A., Coccozza, C., Cvjetković, B., De Luis, M., Martínez-Vilalta, J., Ræbild, A., Tognetti, R. & S. Delzon. 2018. Variation in xylem vulnerability to embolism in European beech from geographically marginal populations. *Tree Physiology*, 38(2): 173-185. DOI: [10.1093/treephys/tpx128](https://doi.org/10.1093/treephys/tpx128).
- Strandberg, G., Barring, L., Hansson, U., Jansson, C., Jones, C., Kjellström, E., Kolax, M., Kupiainen, M., Nikulin, G., Samuelsson, P., Ullersting, A. & A.U. Wang. 2014. CORDEX scenarios for Europe from the Rossby Centre regional climate model RCA4. *Report Meteorology and Climatology*, 116: 1-84.
- Strauss-Debenedetti, S. & G.P. Berlyn. 1994. Leaf anatomical responses to light in five tropical Moraceae of different successional status. *American Journal of Botany*, 81(12): 1582-1591. DOI: [10.2307/2445336](https://doi.org/10.2307/2445336).
- Suo, J., Qi, Z., Chen, S. & L. Shi. 2015. Fern spore germination in response to environmental factors. *Frontiers in Biology*, 10(4): 358-376. DOI: [10.1007/s11515-015-1342-6](https://doi.org/10.1007/s11515-015-1342-6).
- Teng, N., Jin, B., Wang, Q., Hao, H., Ceulemans, R., Kuang, T. & J. Lin. 2009. No detectable maternal effects of elevated CO₂ on *Arabidopsis thaliana* over 15 generations. *PLoS ONE*, 4(6): e6035. DOI: [10.1371/journal.pone.0006035](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006035).
- Testo, W.L. & J.E. Watkins. 2013. Understanding mechanisms of rarity in pteridophytes: competition and climate change threaten the rare fern *Asplenium scolopendrium* var. *americanum* (Aspleniaceae). *American Journal of Botany*, 100(1): 2261-2270. DOI: [10.3732/ajb.1300150](https://doi.org/10.3732/ajb.1300150).
- Thomas, C.D., Cameron, A., Green, R.E., Bakkenes, M., Beaumont, L.J., Collingham, Y.C., Erasmus, B.F.N., Ferreira de Siqueira, M., Grainger, A., Hannah, L., Hughes, L., Huntley, B., Van Jaarsveld, A.S., Midgley, G.F., Miles, L., Ortega-Huerta, M.A., Peterson, A.T., Phillips, O.L. & S.E. Williams. 2004. Extinction risk from climate change. *Nature*, 427: 145-148. DOI: [10.1038/nature02121](https://doi.org/10.1038/nature02121).
- Torres, K., Opazo, B.M. & F. Rubio. 2007. Species composition and biogeographic relations of the rock outcrop flora on the high plateau of Itatiaia, SE-Brazil. *Revista Brasileira de Botânica*, 30(4): 623-639. DOI: [10.1590/S0100-84042007000400008](https://doi.org/10.1590/S0100-84042007000400008).
- Trewick, S.A., Morgan-Richards, M., Russell, S.J., Henderson, S., Rumsey, F.J., Pintér, I., Barrett, J.A., Gibby, M. & J.C. Vogel. 2002. Polyploidy, phylogeography and Pleistocene refugia of the rockfern *Asplenium ceterach*: evidence from chloroplast DNA. *Molecular Ecology*, 11(10): 2003-2012. DOI: [10.1046/j.1365-294X.2002.01583.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2002.01583.x).
- Trivet, M.L. 1993. An architectural analysis of *Archaeopteris*, a fossil tree with pseudomonopodial and opportunistic adventitious growth. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 111(3): 301-329. DOI: [10.1006/bojl.1993.1022](https://doi.org/10.1006/bojl.1993.1022).
- Tryon, R.M. & A.F. Tryon. 1982. *Ferns and allied plants, with special reference to tropical America*. Springer-Verlag, New York. 857 pp.

- Tryon, R. 1986. The biogeography of species, with special reference to ferns. *Botanical Review*, 52(2): 117-156. DOI: [10.1007/BF02860999](https://doi.org/10.1007/BF02860999).
- Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M., Webb, D.A. (eds.), 1993. *Flora Europaea* (Vol. 1). Cambridge University Press, Cambridge. 52: 117-156.
- Van Vuuren, D.P., Edmonds, J., Riachi, K., Thomson, A., Hibbard, K., Hurt, G.C., Kram, T., Krey, V., Lamarque, J-F., Masuri, T., Meinshausen, M., Nakicenovic, N., Smith, S.J. & S.K. Rose. 2011. The representative concentration pathways: an overview. *Climatic Change*, 109: 5-31. DOI: [10.1007/s10584-011-0148-z](https://doi.org/10.1007/s10584-011-0148-z).
- Vasheka, O., Gratani, L. & G. Puglielli. 2019. Leaf physiological and structural plasticity of two *Asplenium* (Aspleniaceae) species coexisting in sun and shade conditions. *Plant Ecology and Evolution*, 152(3): 426-436. DOI: [10.5091/plecevo.2019.1525](https://doi.org/10.5091/plecevo.2019.1525).
- Villar, P. & P. Castro. 1997. Stem xylem features in three *Quercus* (Fagaceae) species along a climatic gradient in NE Spain. *Trees*, 12: 90-96. DOI: [10.1007/PL00009701](https://doi.org/10.1007/PL00009701).
- Vogel, J.C., Rumsey, F.J., Schneller, J.J., Barrett, J.A. & M. Gibby. 1999. Where are the glacial refugia in Europe? Evidence from pteridophytes. *Biological Journal of the Linnean Society*, 66(1): 23-37. DOI: [10.1111/j.1095-8312.1999.tb01915.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1999.tb01915.x).
- Wagner, F., Dilcher, D.L. & H. Visscher. 2005. Stomatal frequency responses in hardwood-swamp vegetation from Florida during 60-year continuous CO₂ increase. *American Journal of Botany*, 92(4): 690-695. DOI: [10.3732/ajb.92.4.690](https://doi.org/10.3732/ajb.92.4.690).
- Walck, J.L., Hidayati, S.N., Dixon, K.W., Thompson, K.E.N. & P. Poschlod. 2011. Climate change and plant regeneration from seed. *Global Change Biology*, 17(6): 2145-2161. DOI: [10.1111/j.1365-2486.2010.02368.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2010.02368.x).
- Walther, G.R. 2004. Plants in a warmer world. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 6(3): 169-185. DOI: [10.1078/1433-8319-00076](https://doi.org/10.1078/1433-8319-00076).
- Walther, G.R. 2010. Community and ecosystem responses to recent climate change. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 365(1549): 2019-2024. DOI: [10.1098/rstb.2010.0021](https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0021).
- Wang, R., Yu, G., He, N., Wang, Q., Zhao, N., Xu, Z. & J. Ge. 2015. Latitudinal variation of leaf stomatal traits from species to community level in forests: linkage with ecosystem productivity. *Scientific Reports*, 5: 14454. DOI: [10.1038/srep14454](https://doi.org/10.1038/srep14454).
- Watkins, J.E., Mack, M.K. & S.S. Mulkey. 2007. Gametophyte ecology and demography of epiphytic and terrestrial tropical ferns. *American Journal of Botany*, 94(4): 701-708. DOI: [10.3732/ajb.94.4.701](https://doi.org/10.3732/ajb.94.4.701).
- Werth, C.R. & M.I. Cousens. 1990. Summary: the contribution of population studies on ferns. *American Fern Journal*, 80(4): 183-190. DOI: [10.2307/1547207](https://doi.org/10.2307/1547207).
- Wild, A. & G. Wolf. 1980. The effect of different light intensities on the frequency and size of stomata, the size of cells, the number, size and chlorophyll content of chloroplasts in the mesophyll and the guard cells during the ontogeny of primary leaves of *Sinapis alba*. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 97(4): 325-342. DOI: [10.1016/S0044-328X\(80\)80006-7](https://doi.org/10.1016/S0044-328X(80)80006-7).
- Woodward, F.I. 1987. Stomatal numbers are sensitive to increases in CO₂ from preindustrial levels. *Nature*, 327: 617-618. DOI: [10.1038/327617a0](https://doi.org/10.1038/327617a0).
- Woodward, F.I. & C.K. Kelly. 1995. The influence of CO₂ concentration on stomatal density. *New Phytologist*, 131(3): 311-327. DOI: [10.1111/j.1469-8137.1995.tb03067.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1995.tb03067.x).

- Wu, G., Liu, H., Hua, L., Luo, Q., Lin, Y., He, P., Feng, S., Liu, J. & Q. Ye. 2018. Differential responses of stomata and photosynthesis to elevated temperature in two co-occurring subtropical forest tree species. *Frontiers Plant Science*, 9: 467. DOI: [10.3389/fpls.2018.00467](https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00467).
- Xu, H., Li, Y., Xu, G. & T. Zou. 2007. Ecophysiological response and morphological adjustment of two Central Asian desert shrubs towards variation in summer precipitation. *Plant, Cell and Environment*, 30(4): 399-409. DOI: [10.1111/j.1365-3040.2006.001626.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2006.001626.x).
- Xu, Z. & G. Zhou. 2008. Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass. *Journal of Experimental Botany*, 59(12): 3317-3325. DOI: [10.1093/jxb/ern185](https://doi.org/10.1093/jxb/ern185).
- Xu, Z., Jiang, Y., Jia, B. & G. Zhou. 2016. Elevated-CO₂ Response of Stomata and Its Dependence on Environmental Factors. *Frontiers Plant Science*, 13(7): 657. DOI: [10.3389/fpls.2016.00657](https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00657).
- Yang, L.H. & V.H.W. Rudolf. 2010. Phenology, ontogeny and the effects of climate change on the timing of species interactions. *Ecology Letters*, 13(1): 1-10. DOI: [10.1111/j.1461-0248.2009.01402.x](https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2009.01402.x).
- Yeats, T.H. & J.K.C. Rose. 2013. The formation and function of plant cuticles. *Plant Physiology*, 163(1): 5-20. DOI: [10.1104/pp.113.222737](https://doi.org/10.1104/pp.113.222737).
- Zeger, S.L. & K.Y. Liang. 1986. Longitudinal data analysis for discrete and continuous outcomes. *Biometrics*, 42(1): 121-130. DOI: [10.2307/2531248](https://doi.org/10.2307/2531248).
- Zheng, Y., Xu, M., Hou, R., Shen, R., Qiu, S. & Z. Ouyang. 2013. Effects of experimental warming on stomatal traits in leaves of maize (*Zea mays* L.). *Ecology and Evolution*, 3(9): 3095-3111. DOI: [10.1002/ece3.674](https://doi.org/10.1002/ece3.674).
- Zittis, G., Hadjinicolaou, P., Klangidou, M., Proestos, Y. & J. Lelieveld. 2019. A multi-model-scenario, and multi-domain analysis of regional climate projections for the Mediterranean. *Regional Environmental Change*, 19: 2621-2635. DOI: [10.1007/s10113-019-01565-w](https://doi.org/10.1007/s10113-019-01565-w).
- Živković, S., Popović, M., Grubišić, D., Dragišić-Maksimović, J. & I. Momčilović. 2010. Dehydration-related changes of peroxidase and polyphenol oxidase activity in fronds of the resurrection fern *Asplenium ceterach* L. *Archives of Biological Sciences*, 62(4): 1071-1081. DOI: [10.2298/ABS1004071Z](https://doi.org/10.2298/ABS1004071Z).

ANEXOS

ANEXO I- Lista de material biológico depositado en el herbario MACB. El material se ha ordenado por taxón y provincia.

***Asplenium trichomanes* subsp. *quadrivalens*:** **Ciudad Real:** San Lorenzo de Calatrava, 38°28'36''N 3°48'11.20''O, 811m, *Gabriel y Galán et al.*, 12 mayo 2018. **Guadalajara:** Corduente, 40°49'43''N 2°00'01''O, 1033 m, *Gabriel y Galán et al.*, 20 abril 2019. **León:** Ponferrada, 42°32'14''N 6°34'56''O, 519m, *Vázquez*, 18 mayo 2019. **Madrid:** Cercedilla, 40°45'36.72''N 4°03'47.69''O, 1454m, *Gabriel y Galán et al.*, 4 mayo 2018. El Escorial, 40°36'42''N 4°07'10''O, 967m, *Gabriel y Galán et al.*, 7 junio 2018. Torreloredones, 40°34'42''N 3°56'12''O, 907m, *Gabriel y Galán et al.*, 19 abril 2018. **Pontevedra:** Mondariz, 42°14'13''N 8°27'26''O, 60m, *Alfaya & Seral*, 28 marzo 2018. Tui, 42°04'49''N 8°40'54''O, 575m, *Alfaya & Seral*, 24 abril 2019. Vigo, 42°15'20''N 8°42'08''O, 100m, *Alfaya & Seral*, 25 abril 2019. Xunqueiras, 42°17'35''N 8°29'17''O, 380m, *Alfaya & Seral*, 26 marzo 2018. **Salamanca:** La Alberca, 40°28'31''N 6°08'26''O, 950 m, *Gabriel y Galán et al.*, 3 abril 2018. **Zamora:** Aciberos, *Gabriel y Galán et al.*, 28 mayo 2019.

***Asplenium ceterach*:** **Guadalajara:** Corduente, 40°49'43''N 2°00'01''O, 1033 m, *Gabriel y Galán et al.*, 20 abril 2019. **Huesca:** Alquezar, 40°36'42''N 4°07'10''O, 967m, *Seral*, 27 marzo 2019. Arguis, 40°36'42''N 4°07'10''O, 967m, *Seral*, 12 junio 2018. Nocito, 40°36'42''N 4°07'10''O, 967m, *Seral*, 12 junio 2018. **León:** Ponferrada, 42°32'14''N 6°34'56''O, 519m, *Vázquez*, 18 mayo 2019. **Madrid:** Cercedilla, 40°45'36.72''N 4°03'47.69''O, 1454m, *Gabriel y Galán et al.*, 4 mayo 2018. El Escorial, 40°36'42''N 4°07'10''O, 967m, *Gabriel y Galán et al.*, 7 junio 2018. Torreloredones, 40°34'42''N 3°56'12''O, 907m, *Gabriel y Galán et al.*, 19 abril 2018. **Salamanca:** La Alberca, 40°28'31''N 6°08'26''O, 950 m, *Gabriel y Galán et al.*, 3 abril 2018.

ANEXO II- En la tabla se muestran los efectos de las variables ΔT (variación de temperatura, °C), T (Taxón) y su interacción ($\Delta T \cdot T$) sobre las variables de la cinética de germinación v (velocidad de germinación), GM (germinación máxima, %) y L (periodo de latencia, días). P-valor: NS (no significativo); <0,05(*); <0,01(**); <0.001(***)).

Variable	Efecto ΔT	P-valor	Efecto T	P-valor	Efecto $\Delta T \cdot T$	P-valor
Modelo 1 v						
v	0,21	0,09 NS	7,26	0,09 NS	-0,36	0,056 NS
Modelo 1 GM						
GM	0,52	<0,001***	4,51	0,02*	-0,25	0,16NS
Modelo 2 GM						
GM	0,32	<0,001***	-0,81	< 0,001***		
Modelo 1 L						
L	-0,13	0,008*	6,2	0,01*	-0,23	0,03

Anexo III-A. Funciones obtenidas para *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* (AT) en la localidad de Corduente a 20°C. Se muestran las funciones obtenidas al resolver el sistema de ecuaciones diferenciales, así como las gráficas que muestran la evolución del número de gametófitos en cada estado a lo largo del tiempo.

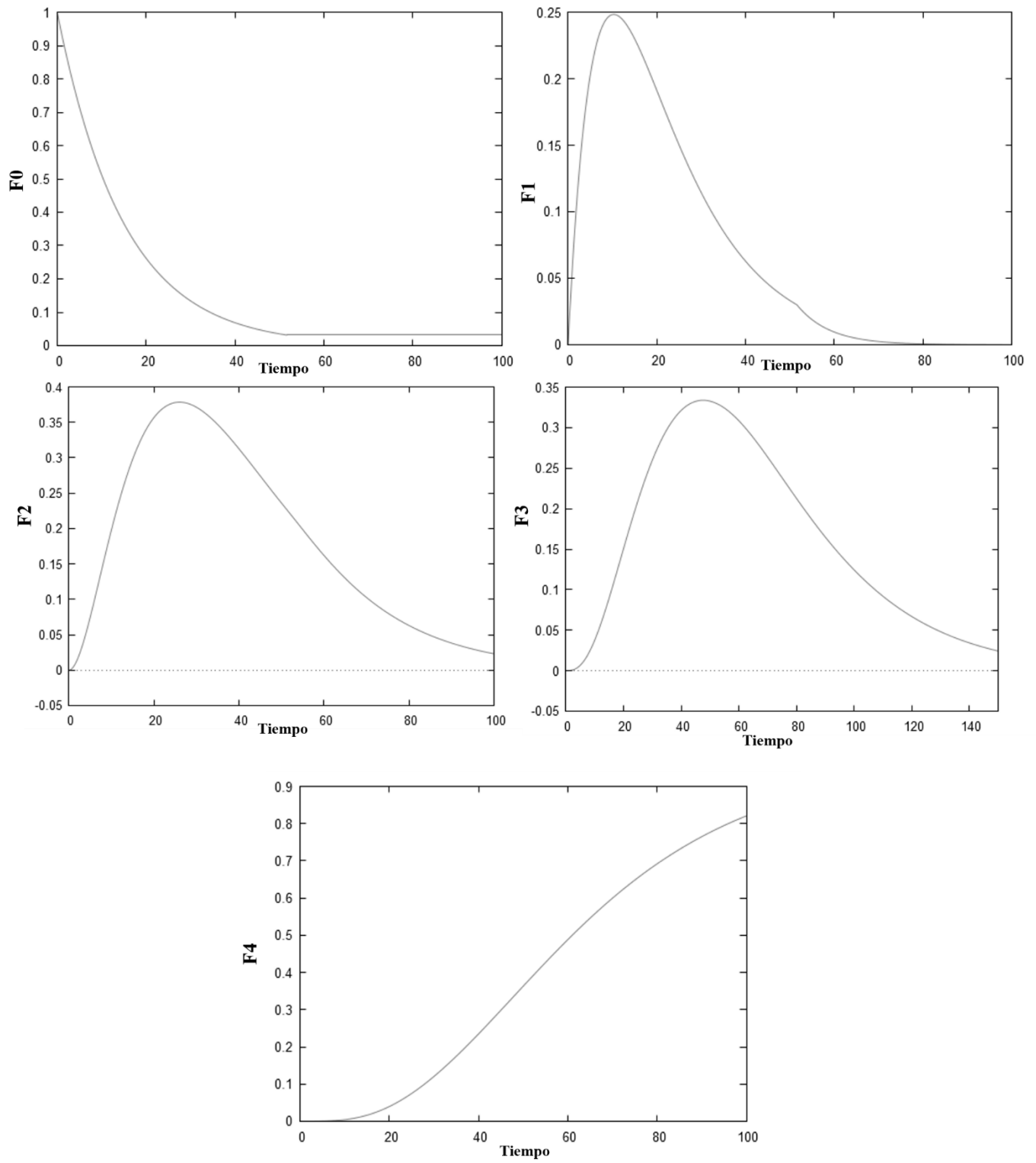
$$y_0(t) = \begin{cases} e^{-0,066t} & t \leq 51,6 \\ 0,03 & t > 51,6 \end{cases} \quad \lim_{t \rightarrow \infty} y_0(t) = 0,03$$

$$y_1(t) = \begin{cases} 0,9e^{-0,066t} - 0,9e^{-0,135t} & t \leq 51,6 \\ 32,4e^{-0,135t} & t > 51,6 \end{cases} \quad \lim_{t \rightarrow \infty} y_1(t) = 0$$

$$y_2(t) = \begin{cases} 6,7e^{-0,05t} - 8,3e^{-0,066t} + 1,6e^{-0,135t} & t \leq 51,6 \\ 3,8e^{-0,05t} - 51,9e^{-0,135t} & t > 51,6 \end{cases} \quad \lim_{t \rightarrow \infty} y_2(t) = 0$$

$$y_3(t) = \begin{cases} 13,9e^{-0,038t} - 28,1e^{-0,05t} + 14,9e^{-0,066t} - 0,8e^{-0,135t} & t \leq 51,6 \\ 10,7e^{-0,038t} - 15,8e^{-0,05t} + 27,4e^{-0,135t} & t > 51,6 \end{cases} \quad \lim_{t \rightarrow \infty} y_3(t) = 0$$

$$y_4(t) = \begin{cases} -13,9e^{-0,038t} + 21,4e^{-0,05t} - 8,65e^{-0,066t} + 0,24e^{-0,135t} + 0,99 & t \leq 51,6 \\ -10,7e^{-0,038t} + 12e^{-0,05t} - 7,83e^{-0,135t} + 0,97 & t > 51,6 \end{cases} \quad \lim_{t \rightarrow \infty} y_4(t) = 0,97$$



Anexo AIII-B. Funciones obtenidas para *A. ceterach* (AC) en la localidad de Corduente a 20°C. Se muestran las funciones obtenidas al resolver el sistema de ecuaciones diferenciales, así como las gráficas que muestran la evolución del número de gametófitos en cada estado a lo largo del tiempo.

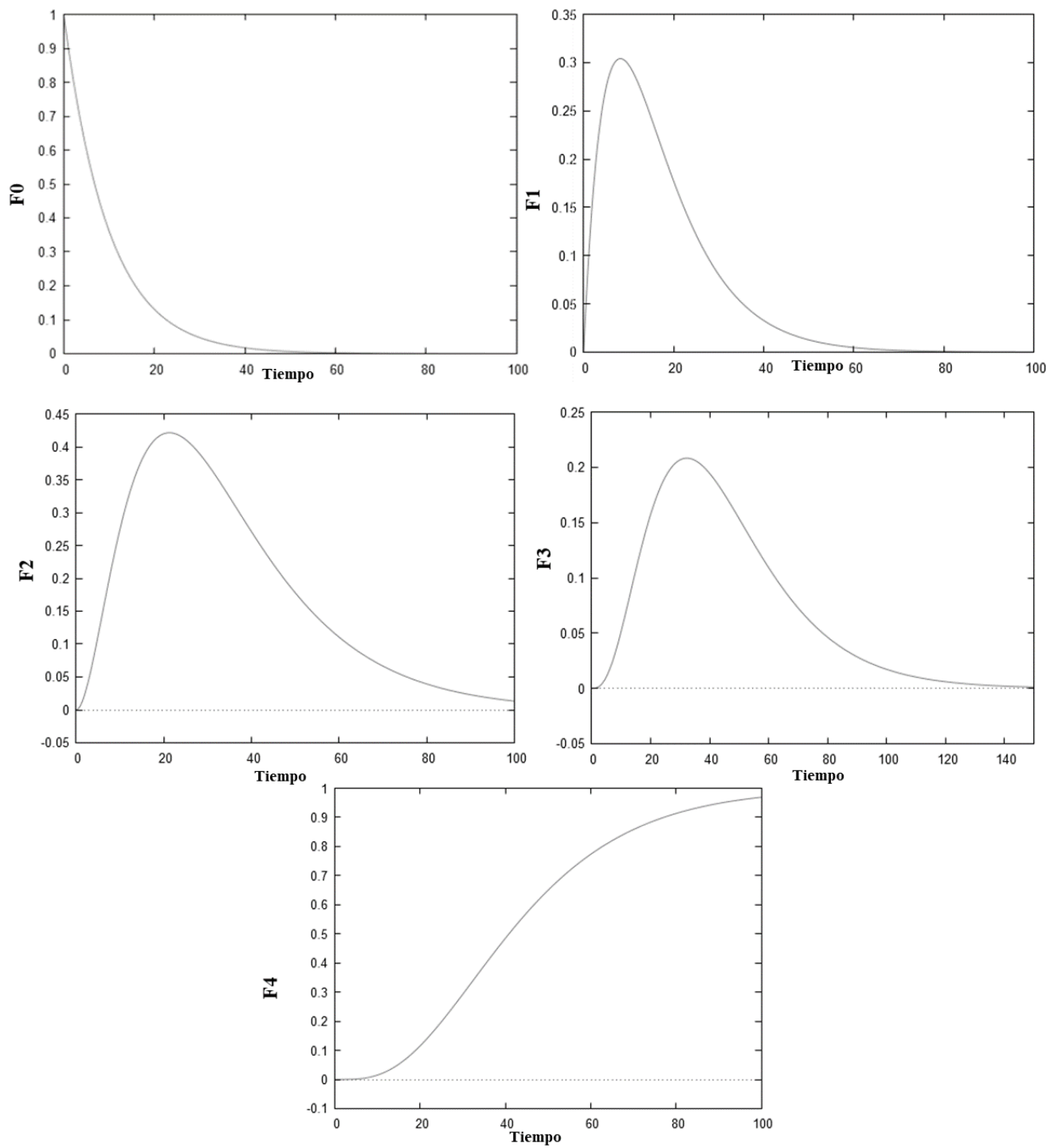
$$y_0(t) = \begin{cases} e^{-0,12t} & t \leq 42,6 \\ 0,006 & t > 42,6 \end{cases} \quad \lim_{t \rightarrow \infty} y_0(t) = 0,006$$

$$y_1(t) = \begin{cases} 3,2e^{-0,12t} - 3,2e^{-0,15t} & t \leq 42,6 \\ 12,2e^{-0,15t} & t > 42,6 \end{cases} \quad \lim_{t \rightarrow \infty} y_1(t) = 0$$

$$y_2(t) = \begin{cases} 3,7e^{-0,063t} - 9,2e^{-0,12t} + 5,4e^{-0,15t} & t \leq 42,6 \\ 3,4e^{-0,063t} - 20,8e^{-0,15t} & t > 42,6 \end{cases} \quad \lim_{t \rightarrow \infty} y_2(t) = 0$$

$$y_3(t) = \begin{cases} 85e^{-0,061t} - 9,7e^{-0,063t} + 10,4e^{-0,12t} - 3,7e^{-0,15t} & t \leq 42,6 \\ 77,3e^{-0,061t} - 82,4e^{-0,063t} + 14,2e^{-0,15t} & t > 42,6 \end{cases} \quad \lim_{t \rightarrow \infty} y_3(t) = 0$$

$$y_4(t) = \begin{cases} -85e^{-0,061t} + 88e^{-0,063t} - 5,4e^{-0,12t} + 1,5e^{-0,15t} + 0,99 & t \leq 42,6 \\ -77,3e^{-0,061t} + 80e^{-0,063t} - 5,6e^{-0,15t} + 0,99 & t > 42,6 \end{cases} \quad \lim_{t \rightarrow \infty} y_4(t) = 0,99$$



Anexo III-C. Funciones obtenidas para *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* (AT) en la localidad de Corduente a 26°C. Se muestran las funciones obtenidas al resolver el sistema de ecuaciones diferenciales, así como las gráficas que muestran la evolución del número de gametófitos en cada estado a lo largo del tiempo.

$$y_0(t) = e^{-0,107t}$$

$$\lim_{t \rightarrow \infty} y_0(t) = 0$$

$$y_1(t) = e^{-0,107t} - e^{-0,21t}$$

$$\lim_{t \rightarrow \infty} y_1(t) = 0$$

$$y_2(t) = 2,8e^{-0,05t} - 4,14e^{-0,107t} + 1,38e^{-0,21t}$$

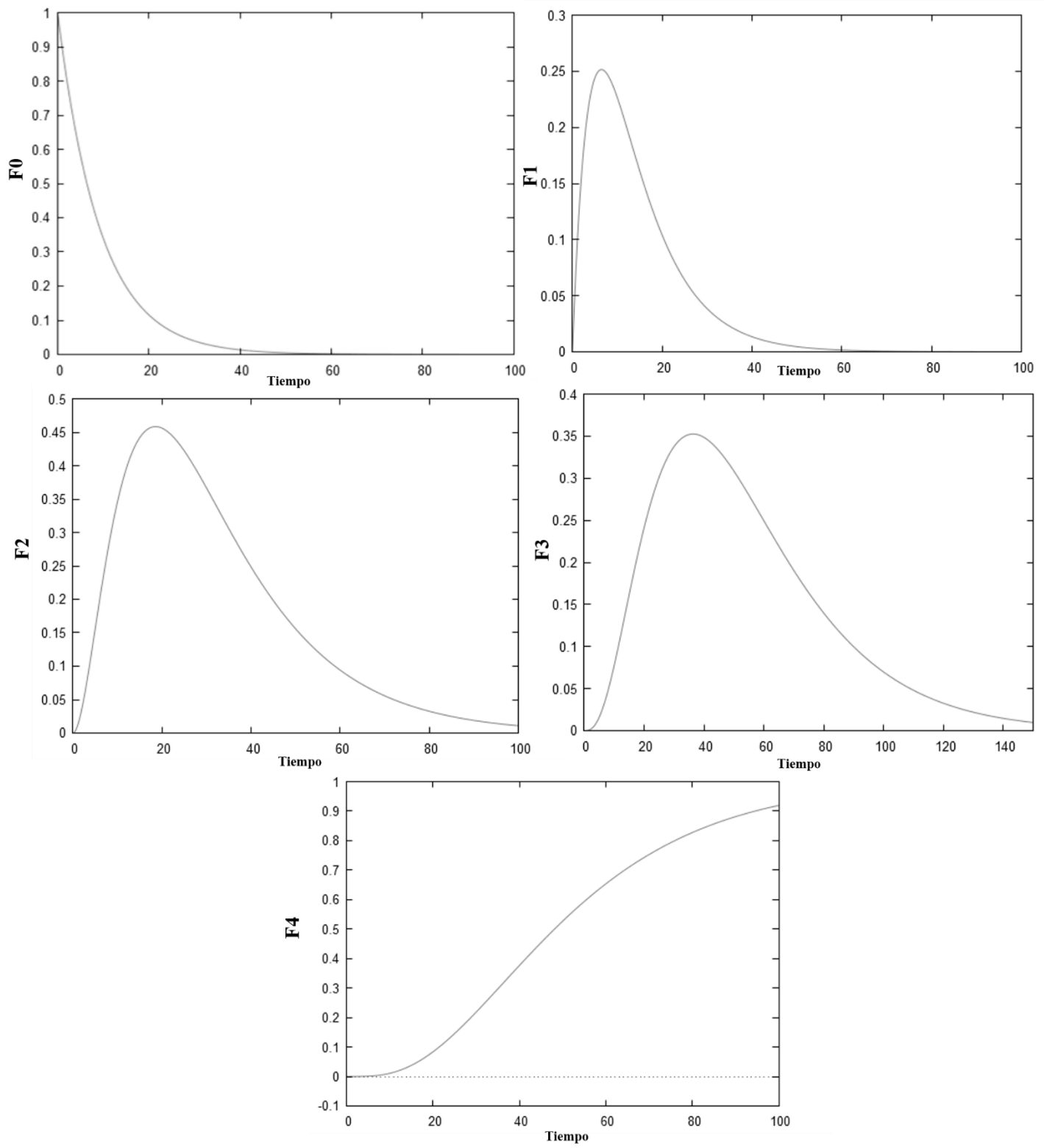
$$\lim_{t \rightarrow \infty} y_2(t) = 0$$

$$y_3(t) = 12,2e^{-0,045t} - 15,4e^{-0,055t} + 3,7e^{-0,107t} - 0,45e^{-0,21t}$$

$$\lim_{t \rightarrow \infty} y_3(t) = 0$$

$$y_4(t) = -12,2e^{-0,045t} + 12,7e^{-0,055t} - 1,5e^{-0,107t} - 0,0095e^{-0,21t} + 1$$

$$\lim_{t \rightarrow \infty} y_4(t) = 1$$



Anexo III-D. Funciones obtenidas para *A. ceterach* (AC) en la localidad de Corduente a 26°C. Se muestran las funciones obtenidas al resolver el sistema de ecuaciones diferenciales, así como las gráficas que muestran la evolución del número de gametófitos en cada estado a lo largo del tiempo.

$$y_0(t) = e^{-0,193t}$$

$$\lim_{t \rightarrow \infty} y_0(t) = 0$$

$$y_1(t) = 18,2e^{-0,183t} - 18,2e^{-0,193t}$$

$$\lim_{t \rightarrow \infty} y_1(t) = 0$$

$$y_2(t) = 5,16e^{-0,105t} - 42,8e^{-0,183t} + 37,6e^{-0,193t}$$

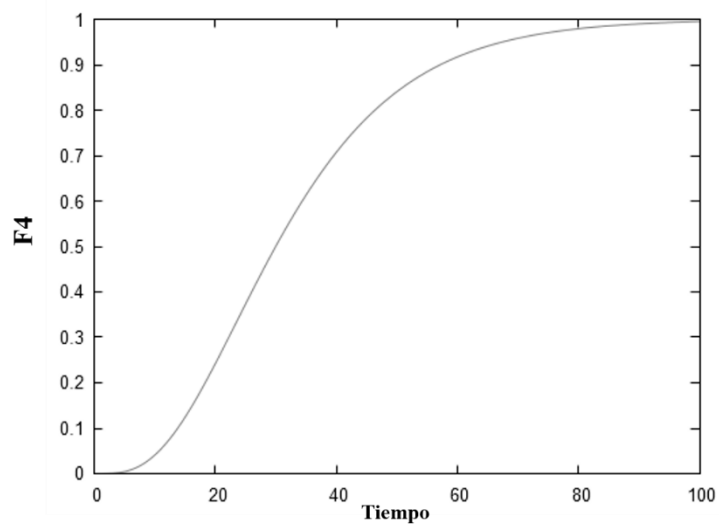
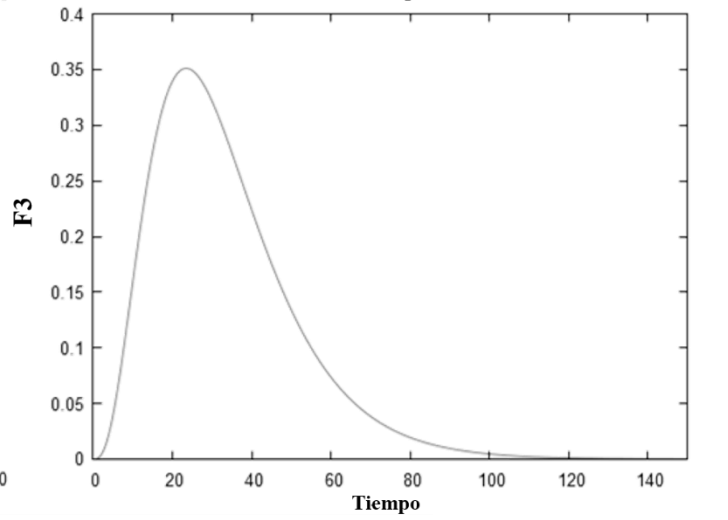
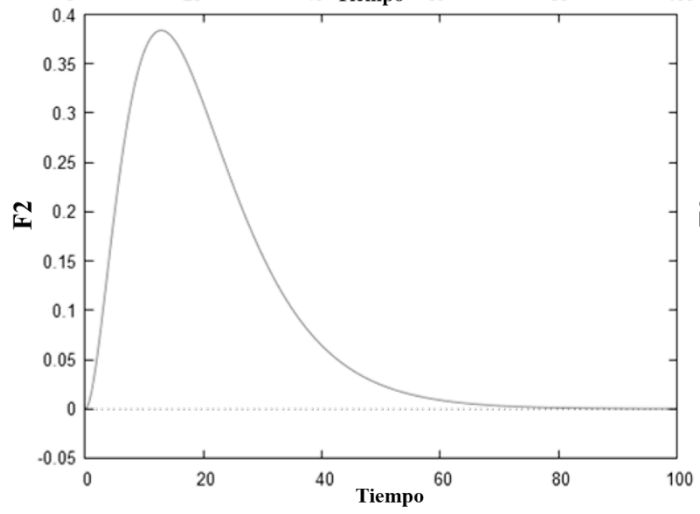
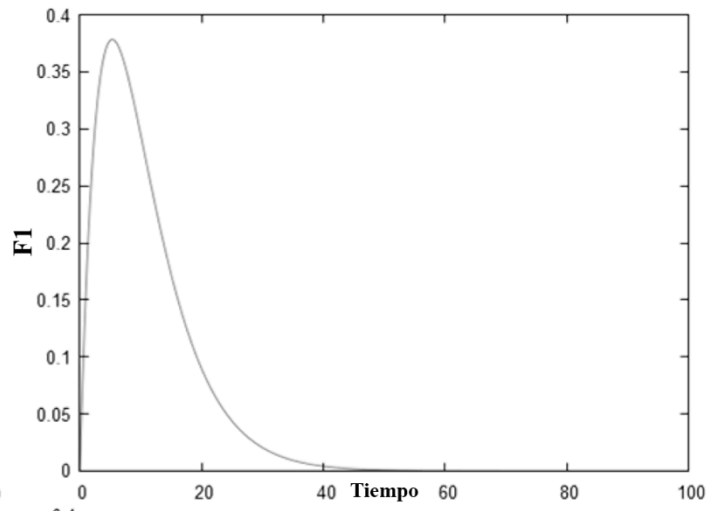
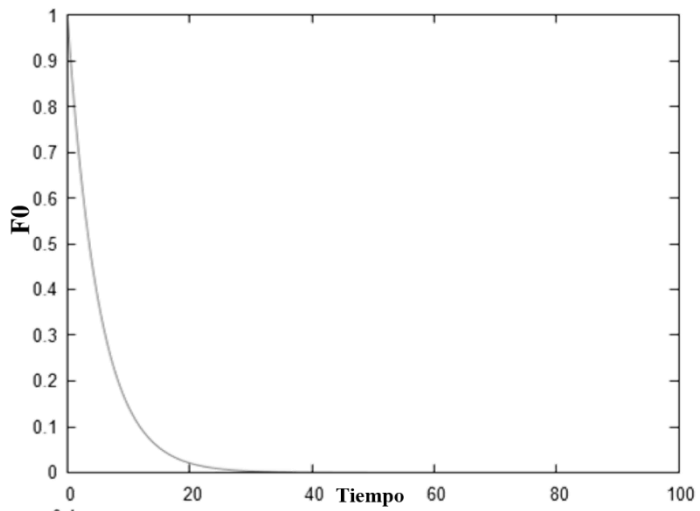
$$\lim_{t \rightarrow \infty} y_2(t) = 0$$

$$y_3(t) = 9,8e^{-0,075t} - 18,2e^{-0,105t} + 41,8e^{-0,183t} - 33,5e^{-0,193t}$$

$$\lim_{t \rightarrow \infty} y_3(t) = 0$$

$$y_4(t) = -9,8e^{-0,075t} + 13e^{-0,105t} - 17,2e^{-0,183t} + 13e^{-0,193t} + 1$$

$$\lim_{t \rightarrow \infty} y_4(t) = 1$$



Anexo III-E. Funciones obtenidas para *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* (AT) en la localidad de Ponferrada a 20°C. Se muestran las funciones obtenidas al resolver el sistema de ecuaciones diferenciales, así como las gráficas que muestran la evolución del número de gametófitos en cada estado a lo largo del tiempo.

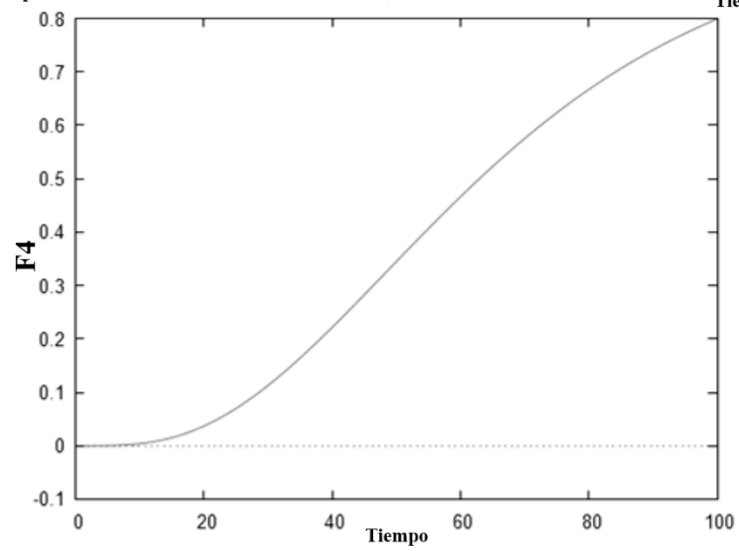
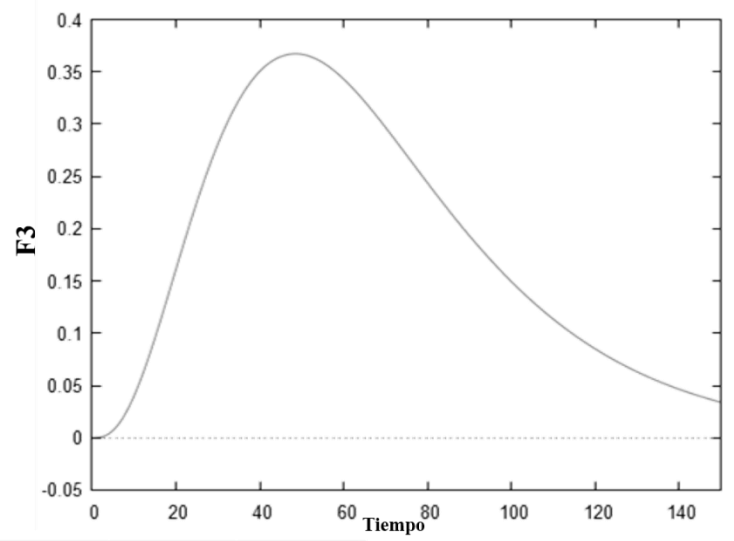
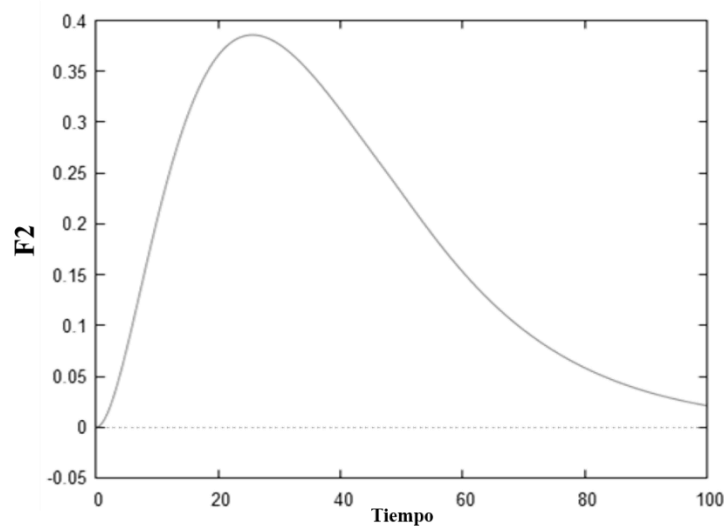
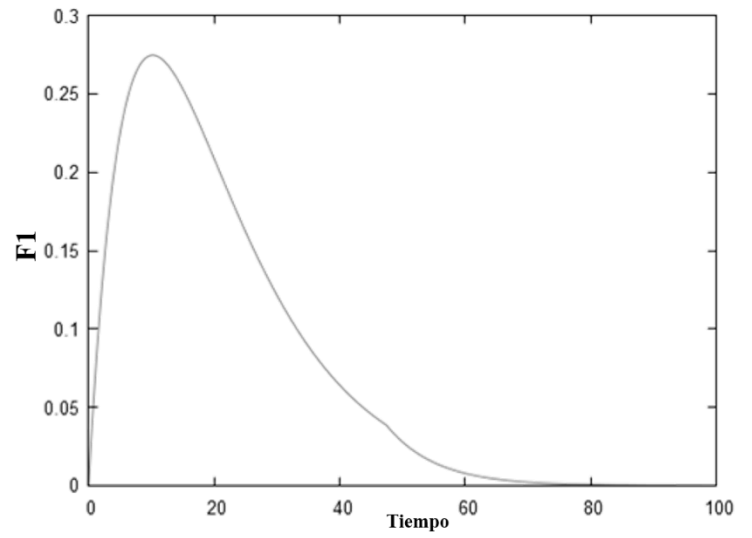
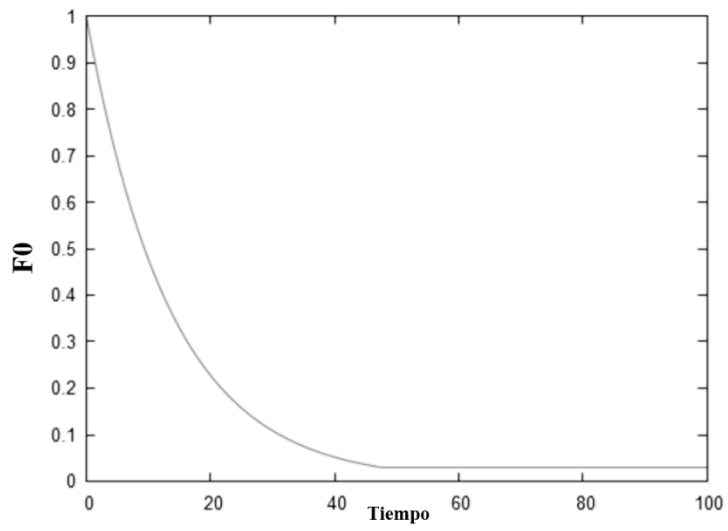
$$y_0(t) = \begin{cases} e^{-0,073t} & t \leq 47,4 \\ 0,03 & t > 47,4 \end{cases} \quad \lim_{t \rightarrow \infty} y_0(t) = 0,03$$

$$y_1(t) = \begin{cases} 1,4e^{-0,073t} - 1,4e^{-0,126t} & t \leq 47,4 \\ 15,6e^{-0,126t} & t > 47,4 \end{cases} \quad \lim_{t \rightarrow \infty} y_1(t) = 0$$

$$y_2(t) = \begin{cases} 5,5e^{-0,051t} - 7,9e^{-0,073t} + 2,4e^{-0,126t} & t \leq 47,4 \\ 3,6e^{-0,051t} - 26,3e^{-0,126t} & t > 47,4 \end{cases} \quad \lim_{t \rightarrow \infty} y_2(t) = 0$$

$$y_3(t) = \begin{cases} 7,45e^{-0,033t} - 16,3e^{-0,051t} + 10,15e^{-0,073t} - 1,3e^{-0,126t} & t \leq 47,4 \\ 6,3e^{-0,033t} - 10,7e^{-0,051t} + 14,6e^{-0,126t} & t > 47,4 \end{cases} \quad \lim_{t \rightarrow \infty} y_3(t) = 0$$

$$y_4(t) = \begin{cases} -7,45e^{-0,033t} + 10,7e^{-0,051t} - 4,6e^{-0,073t} + 0,35e^{-0,126t} + 1 & t \leq 47,4 \\ -6,3e^{-0,033t} + 7e^{-0,051t} - 3,9e^{-0,126t} + 0,96 & t > 47,4 \end{cases} \quad \lim_{t \rightarrow \infty} y_4(t) = 0,96$$



Anexo III-F. Funciones obtenidas para *A. ceterach* (AC) en la localidad de Ponferrada a 20°C. Se muestran las funciones obtenidas al resolver el sistema de ecuaciones diferenciales, así como las gráficas que muestran la evolución del número de gametófitos en cada estado a lo largo del tiempo.

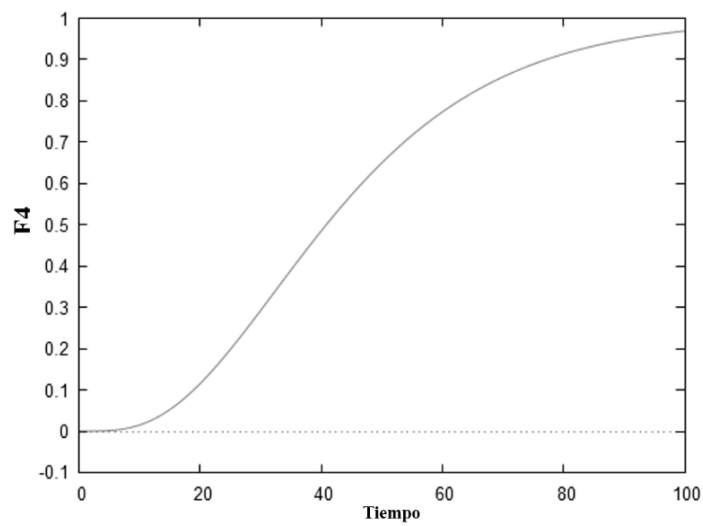
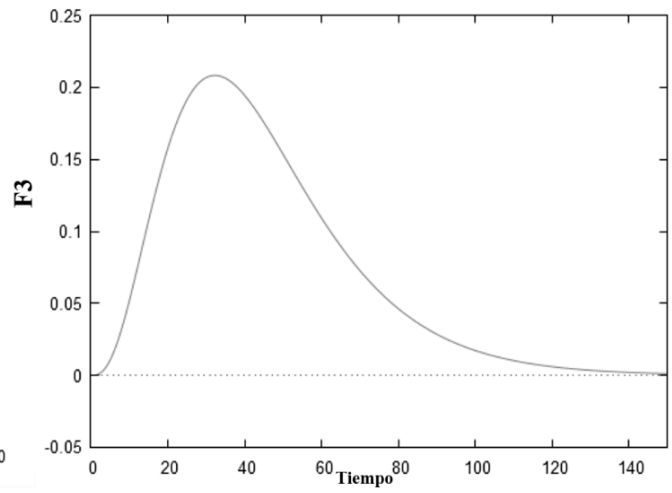
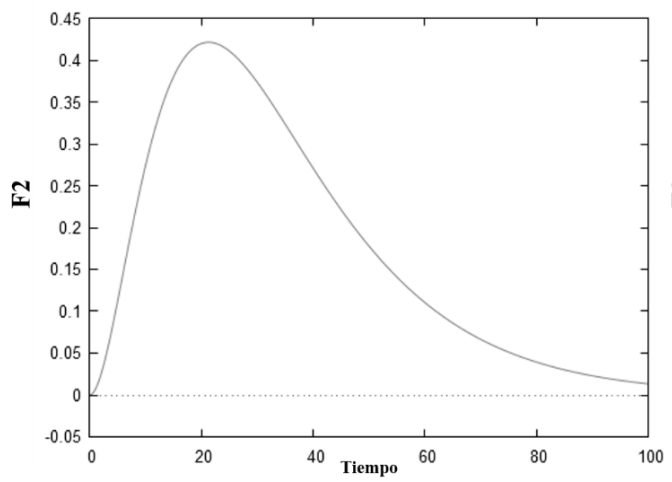
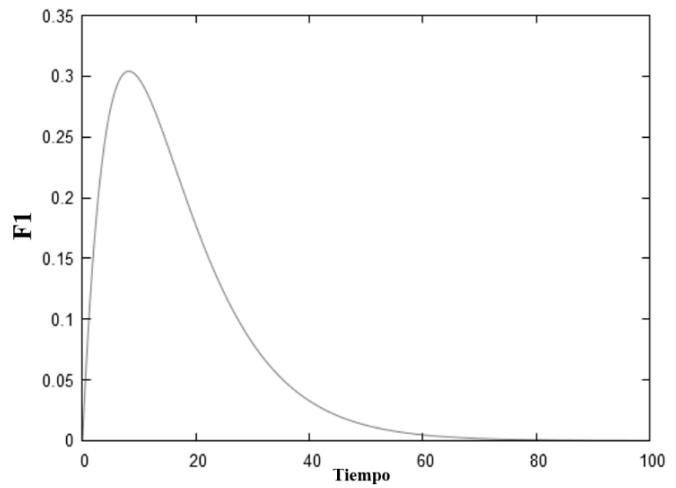
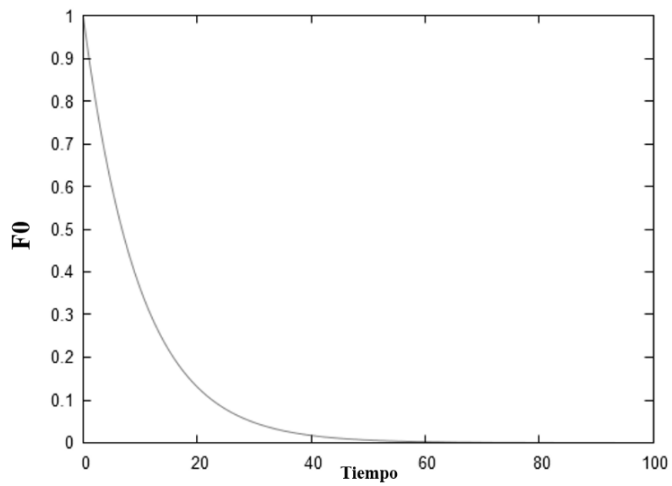
$$y_0(t) = e^{-0,101t} \qquad \lim_{t \rightarrow \infty} y_0(t) = 0$$

$$y_1(t) = 2,3e^{-0,101t} - 2,3e^{-0,145t} \qquad \lim_{t \rightarrow \infty} y_1(t) = 0$$

$$y_2(t) = 3,6e^{-0,055t} - 7,3e^{-0,101t} + 3,8e^{-0,145t} \qquad \lim_{t \rightarrow \infty} y_2(t) = 0$$

$$y_3(t) = 5,2e^{-0,055t} - 56e^{-0,094t} + 54,8e^{-0,101t} - 4,1e^{-0,145t} \qquad \lim_{t \rightarrow \infty} y_3(t) = 0$$

$$y_4(t) = -8,8e^{-0,055t} + 56e^{-0,094t} - 50,8e^{-0,101t} + 2,6e^{-0,145t} + 1 \qquad \lim_{t \rightarrow \infty} y_4(t) = 1$$



Anexo III-G. Funciones obtenidas para *A. trichomanes* subsp. *quadrivalens* (AT) en la localidad de Ponferrada a 26°C. Se muestran las funciones obtenidas al resolver el sistema de ecuaciones diferenciales, así como las gráficas que muestran la evolución del número de gametófitos en cada estado a lo largo del tiempo.

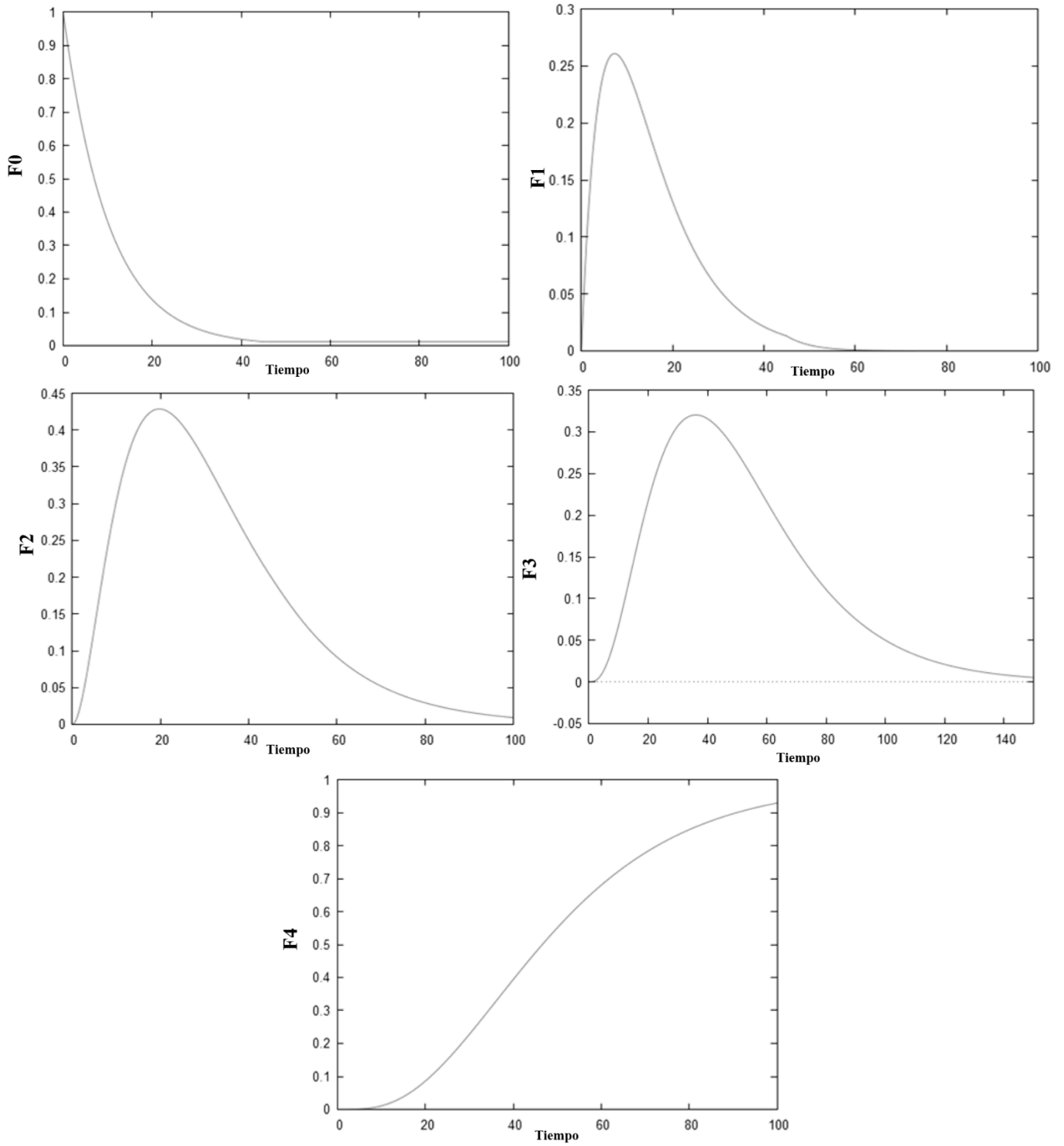
$$y_0(t) = \begin{cases} e^{-0,099t} & t \leq 44,9 \\ 0,011 & t > 44,9 \end{cases} \quad \lim_{t \rightarrow \infty} y_0(t) = 0,011$$

$$y_1(t) = \begin{cases} 1,16e^{-0,099t} - 1,16e^{-0,184t} & t \leq 44,9 \\ 53,2e^{-0,184t} & t > 44,9 \end{cases} \quad \lim_{t \rightarrow \infty} y_1(t) = 0,$$

$$y_2(t) = \begin{cases} 3,5e^{-0,057t} - 5,14e^{-0,099t} + 1,7e^{-0,184t} & t \leq 44,9 \\ 2,9e^{-0,057t} - 77,24e^{-0,184t} & t > 44,9 \end{cases} \quad \lim_{t \rightarrow \infty} y_2(t) = 0$$

$$y_3(t) = \begin{cases} 34,2e^{-0,052t} - 39,8e^{-0,057t} + 6,4e^{-0,099t} - 0,73e^{-0,184t} & t \leq 44,9 \\ 29,9e^{-0,052t} - 33,6e^{-0,057t} + 33,6e^{-0,184t} & t > 44,9 \end{cases} \quad \lim_{t \rightarrow \infty} y_3(t) = 0$$

$$y_4(t) = \begin{cases} -34,2e^{-0,052t} - 36,35e^{-0,057t} - 3,4e^{-0,099t} + 0,2e^{-0,184t} + 1 & t \leq 44,9 \\ -29,9e^{-0,052t} + 30,7e^{-0,057t} - 9,5e^{-0,184t} + 0,988 & t > 44,9 \end{cases} \quad \lim_{t \rightarrow \infty} y_4(t) = 0,988$$



Anexo III-H. Funciones obtenidas para *A. ceterach* (AC) en la localidad de Ponferrada a 26°C. Se muestran las funciones obtenidas al resolver el sistema de ecuaciones diferenciales, así como las gráficas que muestran la evolución del número de gametófitos en cada estado a lo largo del tiempo.

$$y_0(t) = e^{-0,137t}$$

$$\lim_{t \rightarrow \infty} y_0(t) = 0$$

$$y_1(t) = 2,5e^{-0,137t} - 2,5e^{-0,191t}$$

$$\lim_{t \rightarrow \infty} y_1(t) = 0$$

$$y_2(t) = 11,5e^{-0,109t} - 17,3e^{-0,137t} + 5,8e^{-0,191t}$$

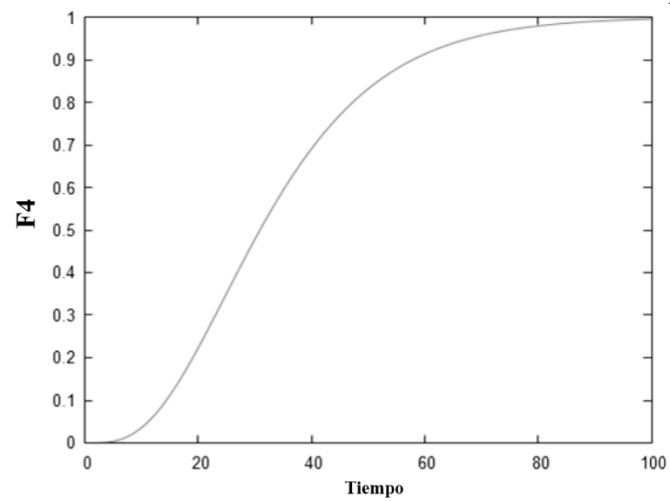
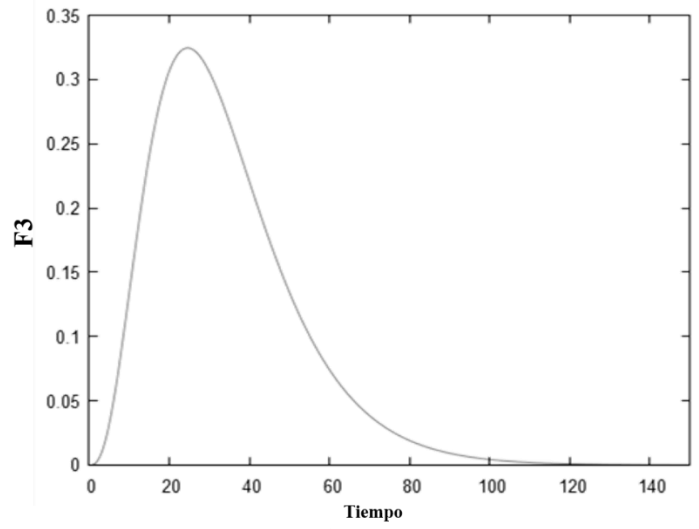
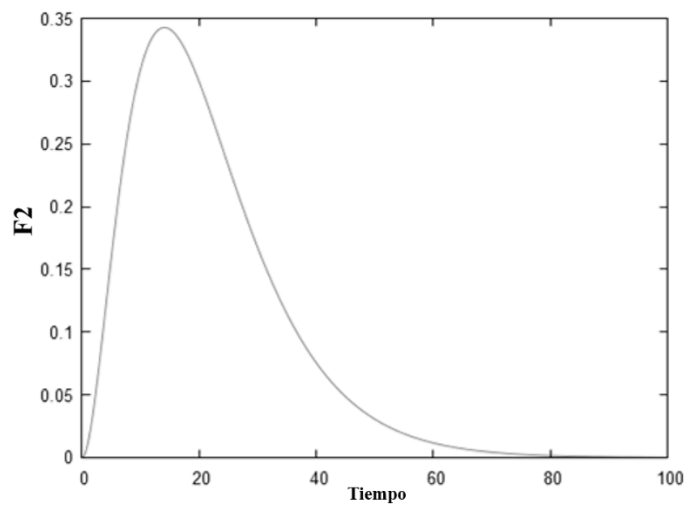
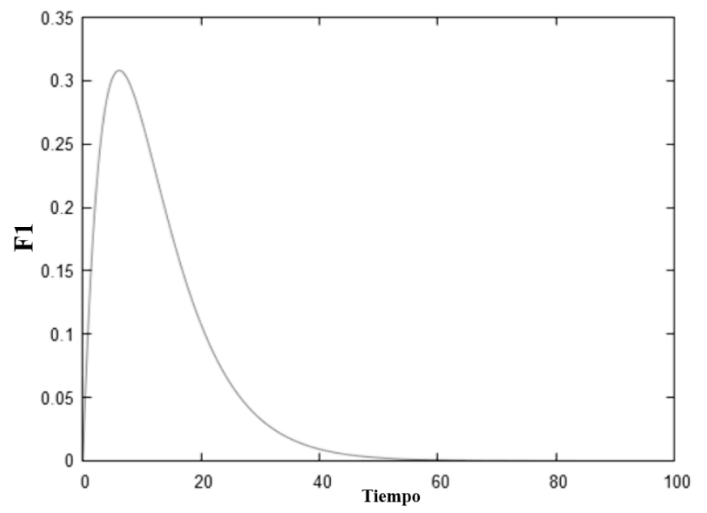
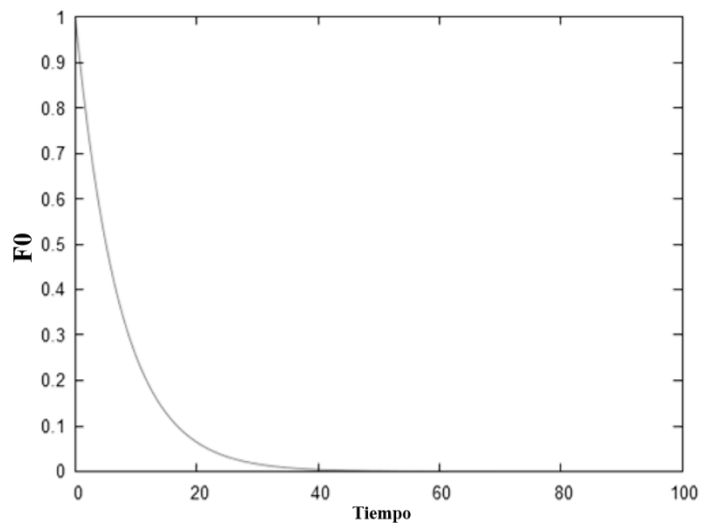
$$\lim_{t \rightarrow \infty} y_2(t) = 0$$

$$y_3(t) = 15,5e^{-0,08t} - 43e^{-0,109t} + 33,3e^{-0,137t} - 5,7e^{-0,191t}$$

$$\lim_{t \rightarrow \infty} y_3(t) = 0$$

$$y_4(t) = -15,5e^{-0,08t} + 31,5e^{-0,109t} - 19,5e^{-0,137t} + 2,4e^{-0,191t} + 1$$

$$\lim_{t \rightarrow \infty} y_4(t) = 1$$



Anexo IV. Porcentaje de individuos existentes en cada estado a los 25, 50, 75 y 100 días en AT (*A. trichomanes* subsp. *quadrivalens*) y AC (*A. ceterach*), en las poblaciones de Corduente (C) y Ponferrada (P) a 20 y 26°C. Los valores han sido obtenidos utilizando las funciones solución tras resolver el sistema de ecuaciones diferenciales. F0 (% esporas sin germinar), F1 (% esporas germinadas), F2 (% individuos en estado filamentoso), F3 (% individuos en estado espatulado) y F4 (% de individuos en estado cordiforme adulto presexual).

		% INDIVIDUOS							
		AT/C/20°C	AC/C/20°C	AT/C/26°C	AC/C/26°C	AT/P/20°C	AC/P/20°C	AT/P/26°C	AC/P/26
F0	$y_0(25)$	19,2	4,9	6,5	0,8	16,1	8	8,4	3,2
	$y_0(50)$	3	0,6	0	0	3	0,6	1,1	0,1
	$y_0(75)$	3	0,6	0	0	3	0	1,1	0
	$y_0(100)$	3	0,6	0	0	3	0	1,1	0
F1	$y_1(25)$	12	8,4	6,4	4,2	16,6	12,3	8,6	6
	$y_1(50)$	3,2	0,6	0	0	2,9	1,3	0,5	0,3
	$y_1(75)$	0,1	0	0	0	0	0,1	0	0
	$y_1(100)$	0	0	0	0	0	0	0	0
F2	$y_2(25)$	37,4	43,5	39,7	24	36,3	42,6	40,2	24,3
	$y_2(50)$	24,5	13,9	12	6	23,3	18,5	16	3,1
	$y_2(75)$	6,9	3	6,4	2	7,6	5,4	4	0,3
	$y_2(100)$	2,6	0,6	2	0	1,5	1,4	0,9	0
F3	$y_3(25)$	15,8	18	32,3	35	28,9	25,4	28,1	31,4
	$y_3(50)$	27	18	35	13,8	41,8	17,2	28,3	13,4
	$y_3(75)$	25,8	6,6	17	2,8	29,8	6,4	13,8	2,6
	$y_3(100)$	13,3	2,3	7,3	0,5	18,5	2	5,3	0,5
F4	$y_4(25)$	15,6	24,2	15,1	36	2,1	11,7	14,7	35,1
	$y_4(50)$	43,3	66,9	53	80,2	29	62,4	54,1	86,6
	$y_4(75)$	55,2	89,2	76,6	95,2	59,6	88,1	82,2	97,1
	$y_4(100)$	81,1	96,5	90,7	99,5	77	96,6	93,3	99,5