



Universidad  
Rey Juan Carlos

**GRADO EN BIOLOGÍA**  
**Curso académico 2022/2023**  
**Trabajo Fin de Grado**

**¿Qué efectos tiene el calentamiento y la competencia en la  
respuesta adaptativa al estrés hídrico del arbusto gipsícola  
*Helianthemum squamatum*?**

**Autora: María José García López**

**Directoras: Silvia Matesanz García y Marina Ramos Muñoz**

© 2023 María José García López

Algunos derechos reservados

Este documento se distribuye bajo la licencia “Atribución-  
Compartir Igual 4.0 Internacional” de Creative Commons,  
disponible en [https://creativecommons.org/licenses/by-  
sa/4.0/deed.es](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/deed.es)

Resumen .....	3
Introducción .....	4
Materiales y métodos .....	6
Especie de estudio y poblaciones muestreadas .....	6
Diseño experimental.....	7
Recogida de rasgos funcionales .....	10
Análisis estadístico .....	11
Resultados .....	12
Biomasa reproductiva.....	12
Inicio de floración .....	15
Área foliar específica.....	18
Discusión .....	21
Respuestas plásticas a la sequía, calentamiento y competencia. ....	21
La presencia de otros estreses modifica la respuesta a la sequía.....	22
Plasticidad diferencial a la sequía .....	23
Diferenciación poblacional.....	24
Conclusiones .....	25
Líneas futuras de investigación .....	25
Agradecimientos.....	25
Bibliografía.....	26

## Resumen

Uno de los factores críticos en el establecimiento y persistencia de las poblaciones de plantas de la zona Mediterránea son las sequías intensas, especialmente durante el verano. Además, se espera que sean aún más pronunciadas debido al cambio climático. Por lo tanto, la capacidad de las plantas para tolerar, pero también para adaptarse a las nuevas condiciones climáticas será crucial para su supervivencia y persistencia a largo plazo. Esto será especialmente importante en comunidades de plantas con requisitos edáficos específicos como son las plantas que crecen exclusivamente en suelos de yeso, denominados gipsófitos estrictos. Estas especies se encuentran en climas áridos y poseen escasos mecanismos de dispersión, por lo que los procesos evolutivos *in situ* como la plasticidad fenotípica y la evolución por selección natural pueden ser cruciales para la supervivencia de estas especies. Aunque en los últimos años se ha estudiado como la plasticidad fenotípica y la evolución adaptativa son mecanismos clave para hacer frente al cambio climático, la mayoría de los enfoques experimentales han estudiado estos procesos evolutivos en ambientes univariados. Sin embargo, en condiciones naturales, los gipsófitos no solo hacen frente a la sequía, sino también a combinaciones de estreses tanto abióticos como bióticos. Estos estreses incluyen el aumento de temperatura causado por el cambio climático y la competencia intraespecífica que se da en estas comunidades. La presencia de calentamiento o competencia puede alterar la plasticidad a la sequía, induciendo respuestas aditivas, sinérgicas o antagónicas. Usando un experimento de jardín común utilizando 3 factores ambientales con dos niveles cada uno, (disponibilidad hídrica, temperatura y competencia) creamos ambientes multivariados con la especie *Helianthemum squamatum*, un gipsófito estricto endémico de la Península Ibérica y el norte de África. El objetivo de este trabajo es estudiar si la respuesta a la sequía se ve modificada por los otros factores abióticos y bióticos. En concreto, queremos estudiar si los patrones de plasticidad y la diferenciación poblacional a la sequía se ve modificada por el calentamiento y la competencia intraespecífica. Se seleccionaron 6 poblaciones que representan todo el rango de distribución de la especie, tanto climático como geográfico, de la especie en la Península Ibérica. Las condiciones estresantes generaron respuestas fenotípicas pasivas atribuidas a la limitación de recursos, como puede ser una disminución de la biomasa reproductiva cuando experimentan una baja disponibilidad hídrica. Pero también observamos respuestas activas y adaptativas que permiten tolerar el estrés, como puede ser una disminución del área foliar específica en condiciones de baja disponibilidad hídrica. En general, observamos plasticidad diferencial y diferenciación poblacional cuando las poblaciones son sometidas a la sequía. Sin embargo, cuando combinamos otro tratamiento con la disponibilidad hídrica, la diferenciación poblacional disminuye y la plasticidad es modificada. Nuestro estudio muestra que someter a los individuos a más de un factor modifica la respuesta plástica a la sequía y disminuye la diferenciación poblacional. Por tanto, con este

trabajo donde utilizando un enfoque más realista con ambientes multivariados conseguimos mejorar nuestra comprensión de cómo las poblaciones de gipsófitos responderán al cambio climático.

## Introducción

Una de las cuestiones de mayor importancia en los estudios ecológicos es entender cómo las diferentes poblaciones van a responder y persistir a las nuevas condiciones impuestas por el cambio climático (Bellard et al., 2012). En el caso de la Península Ibérica, la aridez está aumentando debido a la disminución de las precipitaciones en un 15,6% y el aumento de la temperatura de 1,5°C anual y 2,1°C en verano (Vicente-Serrano et al., 2014). Mediante el uso de modelos climáticos se ha estimado el aumento de las olas de calor, temperaturas mínimas y máximas y una disminución de las olas de frío (Viceto et al., 2019), generando condiciones de sequía que han aumentado desde 1950 (Cramer et al., 2018). Es bien sabido que la acción del ser humano ha contribuido de forma notable al cambio climático, siendo la cuenca mediterránea una de las zonas más sensibles a sus efectos negativos sobre la biodiversidad (IPCC,2022).

Una de las estrategias más habituales para mitigar los efectos del cambio climático es la migración hacia hábitats más favorables (Huntley,1991; Jump & Peñuelas, 2005). Sin embargo, esta migración puede verse limitada en aquellas especies que tengan requerimientos edáficos específicos, como es el caso de los gipsófitos estrictos, plantas restringidas a los suelos de yeso (sulfato cálcico dihidratado,  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) (Escudero et al., 2014). Los mecanismos dispersivos limitados de estas especies (Escudero et al., 2014), unido a la estructura espacial discontinua (estos suelos se encuentran en condiciones áridas y semiáridas, con una distribución natural fragmentada que se ha visto agravada por la interacción del ser humano; Matesanz et al., 2019), hace que migrar a zonas favorables sea difícil (Jump & Peñuelas, 2005; Blanco-Sánchez et al., 2023). Por ello, para la supervivencia de estas especies los procesos evolutivos *in situ* (plasticidad fenotípica y evolución adaptativa) que ocurran serán imprescindibles (Christmas et al., 2015; Matesanz et al., 2020a). La plasticidad fenotípica se define como la capacidad de un genotipo de producir más de un fenotipo funcionalmente distinto en respuesta a condiciones ambientales diferentes (West-Eberhard, 1989; Matesanz et al., 2019). La evolución adaptativa se define como un cambio en las frecuencias alélicas que afecta al fenotipo medio de una población y que es impulsado por la selección natural (Franks et al., 2014; Blanco-Sánchez et al., 2023). Ambos procesos pueden actuar de manera conjunta y dinámica, no son excluyentes (Nicotra et al., 2010). El estudio de estas respuestas en las poblaciones de plantas frente al cambio climático adquiere una gran importancia, debido a que la región mediterránea es reconocida como un punto caliente de biodiversidad (Matesanz & Valladares, 2014; Cramer et al., 2018). Además, los suelos yesíferos albergan un gran número de endemismos (Escudero et al., 2014).

Para conocer las respuestas de las poblaciones al cambio climático, se realizan aproximaciones con jardines comunes donde podemos estudiar patrones de diferenciación poblacional y plasticidad

fenotípica (Franks et al., 2014). En este tipo de experimentos se utilizan individuos de distintas poblaciones, es decir, diferentes genotipos, que se desarrollan bajo las mismas condiciones ambientales (De Villemereuil et al., 2020). Así, se pueden obtener pruebas de la existencia de diferenciación poblacional adaptativa, y si los experimentos de jardín común presentan varios ambientes o tratamientos experimentales se pueden, también, estudiar patrones de plasticidad (Matesanz et al., 2020a). Pero, además, los experimentos de jardín común pueden ser utilizados para predecir las respuestas de las poblaciones a las futuras condiciones ambientales, mediante la simulación y el control de las variables climáticas (Franks et al., 2014). En el caso del Mediterráneo, donde la sequía es uno de los factores principales en la persistencia y supervivencia de las poblaciones de plantas de estas zonas (Matesanz & Valladares, 2014). Con estas aproximaciones podemos identificar poblaciones o genotipos dentro de poblaciones preadaptados a la sequía (Matesanz et al., 2020b).

Frecuentemente, en los experimentos de jardín común, se modifica un factor experimental (De Frenne et al., 2011; Rahbarian et al., 2011; Blanco-Sánchez et al., 2023; Johnson et al., 2023). Pero es bien sabido que las plantas en hábitats mediterráneos semiáridos pueden experimentar simultáneamente sequía, pero también temperaturas altas (Valladares et al., 2004). Además, la respuesta a estos estreses abióticos puede ser modificada por la presencia de otros individuos que compitan por los mismos recursos. Un ejemplo de ello es cuando las plantas están sometidas a sequía, su inicio de floración se adelanta (Blanco-Sánchez et al., 2023), este es un mecanismo de escape a la sequía (Shavrukov et al., 2017), mientras que en presencia de competencia puede ser adaptativo retrasar el inicio de floración que permitiría a la planta individual una ventaja frente a sus competidores (Vermeulen, 2014).

Por ello, el estudio de las interacciones entre factores ambientales en el fenotipo o en la respuesta plástica (interacción ambiente por ambiente) es importante, ya que estas pueden resultar ser: interacciones sinérgicas (el efecto de los factores estresantes es superior que la suma de los efectos estudiados de forma individual), antagónicas (la combinación de los factores estresantes es menor que la suma de los efectos estudiados individualmente) o aditivas (la combinación de los factores estresantes es igual a la suma de sus efectos individuales) (Zandalinas & Mittler, 2022). Cabe destacar que existen pocos estudios que evalúen las respuestas de las plantas a una combinación de estreses. Mahalingam (2014) observó que estudios en plantas que incluían la combinación de estreses en estos organismos era tres veces menor que los estudios realizados sobre un solo estrés. Las aproximaciones experimentales en las que se modifican varios factores han demostrado que las plantas responden de forma distinta a una combinación de estreses y que esta respuesta no se puede deducir con el estudio de las respuestas al estrés por separado (Nadeem et al., 2023).

En este estudio, evaluamos la diferenciación entre poblaciones y los patrones de plasticidad fenotípica a la sequía del gipsófito *Helianthemum squamatum* (*H. squamatum*) y si estas respuestas se ven modificadas por la presencia simultánea de otros estreses bióticos (competencia intraespecífica) y

abióticos (temperatura). Debido a que las plantas están sometidas a varios factores estresantes en condiciones naturales, llevamos a cabo un experimento de jardín común donde manipulamos tres factores ambientales, con dos niveles cada uno de ellos. En este estudio, comparamos las respuestas fenotípicas de 6 poblaciones diferentes de *H. squamatum* que representan todo el rango climático y geográfico de la especie. Concretamente, planteamos las siguientes preguntas: 1) ¿Cuál es el efecto de la sequía en la respuesta fenotípica de las diferentes poblaciones?; 2) ¿La respuesta fenotípica a la sequía cambia con la presencia de otros factores, tanto abióticos como bióticos de otro estrés?; 3) ¿Existe diferenciación poblacional y esta varía en presencia de estreses simultáneos?

Esta aproximación experimental multivariada nos proporcionará información más realista de cómo van a responder las poblaciones de *H. squamatum* a ambientes complejos que simulan diferentes escenarios de cambio climático. Los resultados de este Trabajo Fin de Grado se enmarcarán con los Objetivos de Desarrollo Sostenible, concretamente con el objetivo nº 15: Proteger, restablecer y promover el uso sostenible de los ecosistemas terrestres, gestionar sosteniblemente los bosques, luchar contra la desertificación, detener e invertir la degradación de las tierras y detener la pérdida de biodiversidad.

Nuestras hipótesis son que las poblaciones de *H. squamatum* presentarán respuestas plásticas y diferenciación poblacional a la sequía y que esta será modificada por la presencia de otro factor ambiental (tanto bióticos como abióticos).

## **Materiales y métodos**

### **Especie de estudio y poblaciones muestreadas**

La especie seleccionada para el estudio es *Helianthemum squamatum* (L.) Pers, un arbusto de pequeño tamaño (10-40 cm), diploide ( $2n= 10$ ) y perteneciente a la familia Cistaceae. Este caméfito de color verdoso-amarillento, posee tallos erectos o ascendente-erectos, hojas lanceoladas planas cubiertas de escamas plateadas, inflorescencia corimbiforme y flores actinomorfas, hermafroditas y pentámeras de color amarillo. Sus frutos son cápsulas que contienen semillas de pequeño tamaño (diámetro máx. 1,3mm) (Escudero, 1999; López, 2006). El crecimiento de *H. squamatum* se da entre los meses de marzo y mayo. Esta especie florece durante los meses de mayo y agosto, mostrando un patrón fenológico tardío (Palacio et al., 2014). *Helianthemum squamatum* crece exclusivamente en suelos yesíferos y a poca altitud (40-900m) (Escudero, 1999) y es una de las especies más dominante de los ecosistemas yesíferos de la Península Ibérica, distribuyéndose por la mitad este de la Península Ibérica (Figura 1) y con cierta presencia en el norte de África (Palacio et al., 2014). Este tipo de especie gipsícola, muestra una distribución discontinua debido a la forma irregular del sustrato en forma de islas (Escudero et al., 2014). La estructura de esta comunidad de plantas está formada por parches de plantas (Escudero et al., 2014), acompañadas por un suelo desnudo que presenta un gran desarrollo de musgos, líquenes, algas eucariotas, cianobacterias, etc. (Escudero et al., 2014).

Para realizar este estudio se muestrearon en 2020 seis poblaciones distintas que representan el gradiente climático y geográfico de la distribución de *Helianthemum squamatum* (Tabla 1, Figura 1) en la Península Ibérica. Estas poblaciones son Topares (Almería) (TOP), Belinchón (Cuenca) (BEL), Lazagurría (Navarra) (LAZ), Gelsa (Zaragoza) (GEL), Sax (Alicante) (SAX) y Sorbas (Almería) (SOR), siendo Topares la población con condiciones más frías, Lazagurría, la que más precipitación acumula y, por el contrario, la población de Sorbas es la más cálida y seca de todas (Tabla 1).

En cada localización se seleccionaron 20 individuos adultos y reproductivos. Las poblaciones seleccionadas contaban con un gran número de individuos y entre los individuos seleccionados se dejó una separación mínima de dos metros, para evitar muestrear individuos genéticamente emparentados. Los individuos estuvieron localizados en laderas con orientación sur, ya que en estas localizaciones la especie es más dominante y la comunidad de yesos es más representativa. De todos estos individuos se recogieron en sobres de papel, sus inflorescencias en época de fructificación (julio 2020) y posteriormente estos frutos fueron procesados en el laboratorio, para obtener sus semillas.

Tabla 1. Datos climáticos de las distintas poblaciones seleccionadas para el experimento. Los datos son una serie temporal mensual de temperatura y precipitación entre los años 1979-2013, obtenida con el modelo CHELSA (Karger et al., 2017).

<b>Población</b>	<b>Precipitación anual (mm)</b>	<b>Temp. media (°C)</b>	<b>Temp. máxima (°C)</b>	<b>Temp. mínima (°C)</b>
<b>Topares (Almería)</b>	394,94	12,39	21,91	4,48
<b>Belinchón (Cuenca)</b>	407,55	14,74	25,69	5,71
<b>Lazagurría (Navarra)</b>	723,30	13,46	21,43	6,42
<b>Gelsa (Zaragoza)</b>	348,39	15,59	25,15	7,46
<b>Sax (Alicante)</b>	353,28	15,69	24,28	8,37
<b>Sorbas (Almería)</b>	242,78	17,11	25,27	10,40

## **Diseño experimental**

Las semillas cogidas de cada población fueron mezcladas y sembradas. Para facilitar la germinación, antes de sembrar las semillas, se realizó una escarificación física con una lija de 500 Grit. (Pérez-García & González-Benito, 2006). Después, fueron sembradas en macetas de 0,5 L con sustrato de yeso de una cantera cercana (Yesos Ibéricos-Algiss S.A., Valdemoro, Madrid, Spain) el 3 de agosto de 2020 en el invernadero del Laboratorio de Cultivo de Organismos (CULTIVE) situado en el campus de Móstoles de la Universidad Rey Juan Carlos (URJC), donde las condiciones de humedad y temperatura son óptimas para la germinación. En octubre de ese mismo año, de cada maceta se eligió una planta que fue

trasplantada a una nueva maceta de 6L de capacidad también con sustrato de yeso. Estas macetas fueron trasladadas del invernadero a condiciones semi-naturales en la zona de aclimatación de CULTIVE de la URJC. En esta zona, las plantas se mantuvieron en buenas condiciones de humedad. Los tratamientos empezaron en febrero 2022, una vez alcanzado el segundo año de crecimiento de las plantas, cuando todos los individuos son adultos y reproductivos.

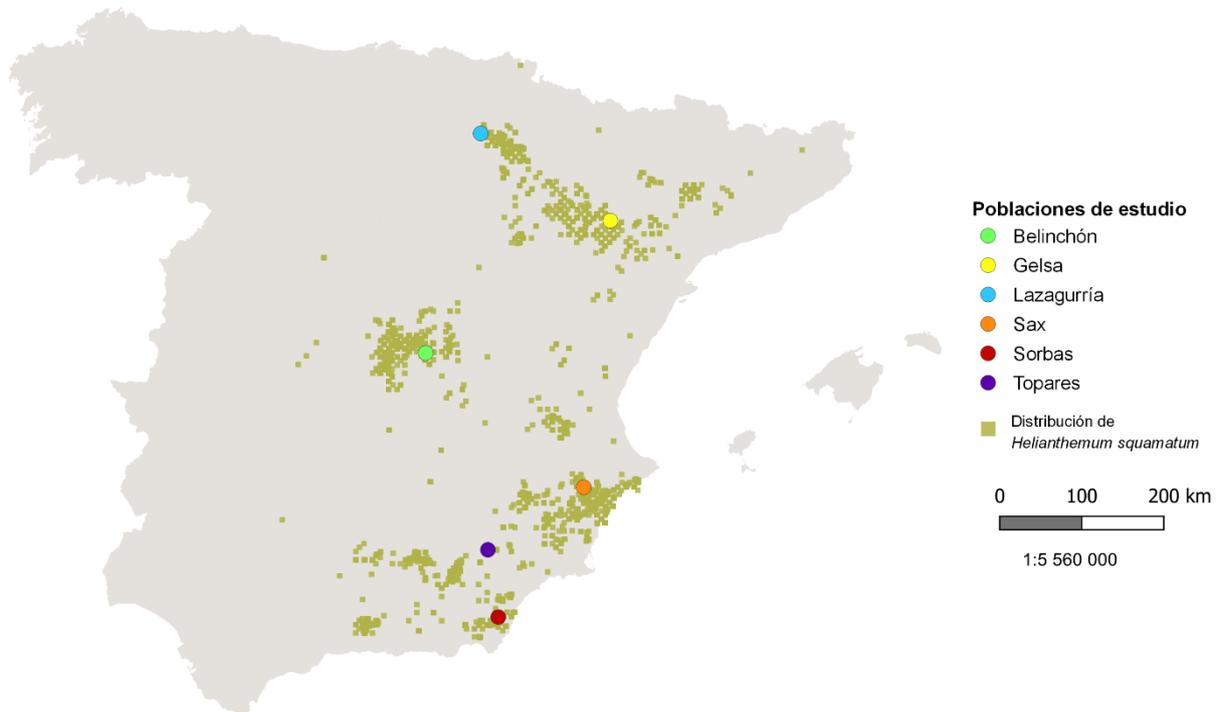


Figura 1. Mapa con la con la distribución de *H. squamatum* en la Península Ibérica y las poblaciones seleccionadas para realizar el estudio. Los cuadrados verdes muestran la distribución de la especie *H. squamatum* según datos de GBIF. Los puntos de colores son las poblaciones muestreadas para este estudio. Mapa con Sistema de referencia ETRS-89. Elipsoide: GRS80.

Realizamos un diseño totalmente factorial, generando un experimento con un total de 8 tratamientos a partir de la manipulación de 3 factores ambientales (disponibilidad hídrica, temperatura y competencia), cada uno de ellos con dos niveles. Cada uno de los tratamientos contó con 15 individuos de cada población obteniendo un total de 720 individuos muestrales ( $6 \text{ poblaciones} \times 2 \text{ niveles de disponibilidad hídrica} \times 2 \text{ niveles de temperatura} \times 2 \text{ niveles de competencia} \times 15 \text{ réplicas/población/tratamiento} = 720$  individuos muestrales, Figura 2).

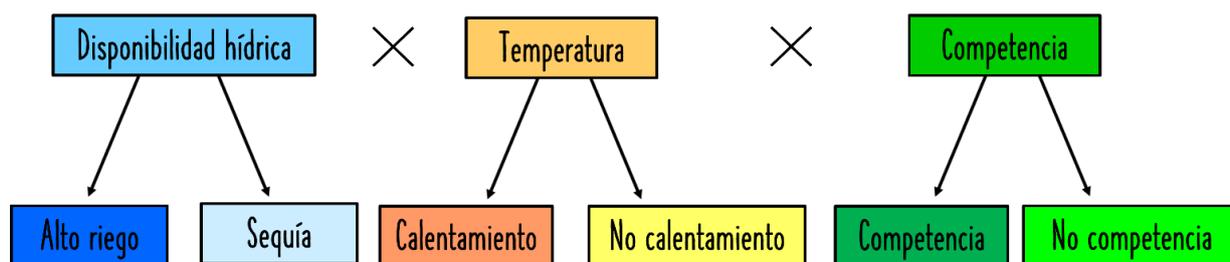


Figura 2. Esquema de los factores ambientales abióticos (disponibilidad hídrica y temperatura) y bióticos (competencia) que han sido manipulados en el experimento multivariado. Cada factor ambiental posee dos niveles. La combinación factorial de estos da como resultado un experimento con 8 tratamientos distintos, generando un gradiente de estrés.

Debido a que la sequía es el principal factor limitante en las poblaciones de plantas mediterráneas, modificamos la disponibilidad hídrica para la mitad de los individuos del experimento. Para ello, se emplearon 90 estructuras de exclusión de lluvia que permitieron eliminar la precipitación natural e implementar de forma robusta los tratamientos de disponibilidad hídrica (Figura 3A y 3B). Para implementar de forma correcta los tratamientos de disponibilidad hídrica, se utilizó un sistema de riego por goteo autocompensante (Rain Bird XB05PC; Rain Bird Corporation, CA, EE. UU.). Los tratamientos de disponibilidad hídrica (alto riego y sequía) son contrastados y tienen un sentido ecológico. Para los individuos experimentales que se les asignó el tratamiento de alta disponibilidad hídrica el sustrato se mantuvo al 100% de su capacidad de campo (25% contenido hídrico aproximadamente). Con este tratamiento simulamos periodos con una disponibilidad hídrica alta, como pueden ser primaveras lluviosas. Por otra parte, para el tratamiento de sequía el suelo de estas macetas poseía un 12,5% de contenido hídrico aproximadamente, simulando años donde la precipitación anual ha estado por debajo de la media. Estos valores corresponden a la humedad de suelo en condiciones naturales (Blanco-Sánchez et al., 2023). La humedad de las macetas fue controlada durante el experimento. Para ello, se midieron de forma aleatoria la humedad de 10 macetas de cada tratamiento 3 veces por semana con el medidor de humedad HH2 (Delta-T Devices, Cambridge, Reino Unido). La temperatura se manipuló utilizando estructuras de calentamiento (denominadas en inglés *Open top Chambers*, OTC, Figura 3C). Estas estructuras son cámaras hexagonales formadas por paredes transparentes de metacrilato (6 trapecios de medidas 65 cm de base, 42 cm del lado superior, 52 cm de altura). Estas estructuras son ampliamente utilizadas en experimentos donde se modifica la temperatura. (Molina-Montenegro et al., 2009). Se monitoreó la temperatura y humedad del aire dentro y fuera de las OTC mediante el uso de sensores (H21-USB, Onset Co., Bourne, MA, USA) que registran la humedad relativa y la temperatura del aire, tanto dentro como fuera de la OTC. Nuestro tratamiento de calentamiento simuló las predicciones promedio de calentamiento en escenarios de cambio climático (Maestre et al., 2013) aumentando la temperatura en 2,3 °C de media (datos no mostrados) respecto a las estructuras que no tenían OTC.

Con el objetivo de simular las densidades observadas ya que en condiciones naturales esta especie crece en parches densos (Matesanz et al., 2018), las macetas a las que se les asignó competencia intraespecífica, tenían una planta focal y un competidor conespecífico, (macetas con competencia, Figura 3D). Para el tratamiento de no competencia, en las macetas no se introdujo ningún competidor (macetas sin competencia). Los individuos competidores pertenecen a la zona de Yebra (Guadalajara). Se utilizaron individuos de esta población ya que se encuentra en una localidad donde las condiciones climáticas corresponden con la media de las condiciones climáticas de todas las poblaciones experimentales.

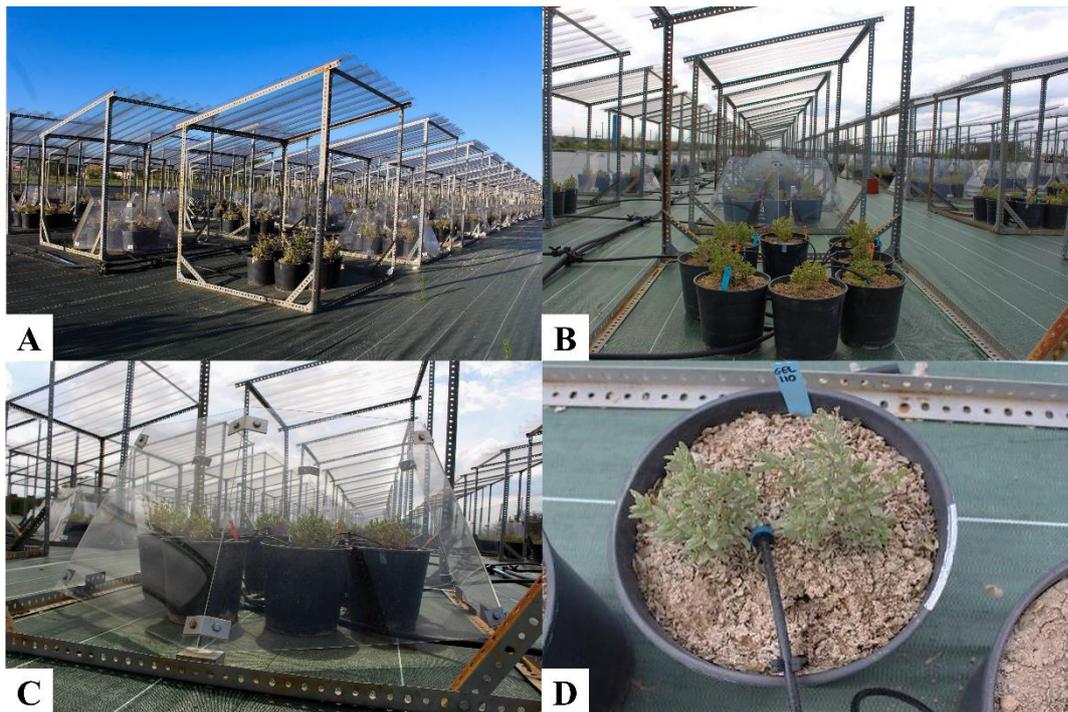


Figura 3. A y B) Estructuras de exclusión de lluvia con 8 individuos en cada una de ellas. C) Estructura de calentamiento (OTC). D) Maceta con competencia. Fotografías tomadas por Marina Ramos Muñoz.

Los tratamientos de disponibilidad hídrica y temperatura se implementaron desde finales de febrero hasta principios de julio mientras que el de competencia se implementó cuando se realizó el trasplante. Por tanto, hemos generado tratamientos que crean un gradiente de estrés, desde plantas individuales que crecen en condiciones de alto riego a temperatura ambiente y sin competencia (ambiente menos estresante) hasta plantas que crecieron en sequía, a una temperatura mayor a la del ambiente y además competían por los recursos con un individuo conespecífico (ambiente más estresante).

## Recogida de rasgos funcionales

En todos los individuos experimentales se midieron rasgos funcionales relacionados con la morfología de la hoja, la fenología y su eficacia biológica. En concreto, en este estudio nos centramos en el área foliar específica, el inicio de floración y la biomasa reproductiva.

La biomasa reproductiva es una medida de éxito reproductivo. Se recogió la biomasa aérea de cada individuo a finales de junio. Posteriormente, en el laboratorio se pesó esta biomasa usando una balanza de precisión (Mettler Toledo, Columbus, OH, USA).

El inicio de floración es un rasgo fenológico que se evaluó desde el inicio de la primera flor, diariamente, durante todo el experimento en todas las plantas (N = 720). Se anotó la fecha del inicio de floración de cada individuo. A partir de este dato y teniendo en cuenta los días transcurridos desde el inicio del experimento, calculamos el número de días hasta el comienzo de la floración. Todos los censos los realizó el mismo observador con el fin de evitar sesgos.

El área foliar específica (*specific leaf area*, SLA) es la relación entre el área foliar de la hoja fresca y el peso seco (cm<sup>2</sup>/mg). Para calcular este rasgo, se seleccionaron de forma aleatoria 5 hojas (sanas y bien desarrolladas) de cada individuo, se guardaron en bolsas transparentes de cierre hermético junto a papel de filtro humedecido. Posteriormente, fueron almacenadas en frío (4°C) y oscuridad durante aproximadamente 12 horas para conseguir la total hidratación de las hojas. Al día siguiente, se escanearon las hojas para calcular el área foliar con el programa Adobe Photoshop (Adobe Systems Inc., CA, USA). Para obtener el peso seco, las hojas estuvieron durante 48 horas a 60°C en la estufa para conseguir la deshidratación total de las hojas y estas se pesaron en una microbalanza de precisión (Mettler Toledo MX5 (precisión de 1µg; Mettler Toledo, Columbus, OH, USA) para obtener el peso seco medio de las 5 hojas de cada individuo.

## **Análisis estadístico**

Los análisis se llevaron a cabo con el software estadístico R (R Core Team, 2023). Se calculó la media, mediana, el valor mínimo y máximo de cada rasgo. Para evaluar el posible efecto de los distintos tratamientos y las interacciones entre ellos sobre los rasgos medidos, se realizaron modelos mixtos con máxima verosimilitud restringida (REML) utilizando la función lmer (paquete lme4; Bates et al., 2015). Dentro del modelo se incluyeron como factores fijos; población; los tratamientos y las interacciones entre ellos. La posición de los tejados se incluyó como factor aleatorio. Para maximizar el ajuste del modelo para los rasgos de biomasa reproductiva e inicio de floración se hizo una transformación mediante el uso de raíz cuadrada. Para obtener la significación de los factores fijos se usó la función Anova (paquete car; Fox & Weisberg, 2019), con suma de cuadrados tipo III y utilizando la aproximación de Kenward-Roger para estimar los grados de libertad (Kenward & Roger, 1997). En el modelo solo se incluyen interacciones que incluyan el tratamiento de disponibilidad hídrica, ya que este es nuestro tratamiento principal, debido a que la sequía es un factor crítico para la supervivencia y persistencia de estas especies (Pérez-García et al., 2018). Si el factor “Población” es significativo, indica que hay variación del rasgo (de base genética) entre las distintas poblaciones. Si el factor ambiental (disponibilidad hídrica, temperatura o competencia) posee un valor significativo existe plasticidad del rasgo al estar sometido al tratamiento. Si la interacción “Población×Disponibilidad hídrica” es

significativa las poblaciones responden de manera diferente a la sequía. Valores significativos para la interacción “Disponibilidad hídrica” con otro de los tratamientos, significará que la interacción entre ellos tiene un efecto sinérgico, antagónico o aditivo en el fenotipo. Por último, cuando las interacciones triples son significativas (“Población × Disponibilidad hídrica × Competencia” o “Población × Disponibilidad hídrica × Calentamiento”), la respuesta de las poblaciones a la sequía se ve modificada por la presencia de otro estrés. Para cada modelo, el  $R^2$  marginal, que representa la varianza explicada por los factores fijos, y el  $R^2$  condicional, que representa la varianza explicada tanto por los factores fijos como los aleatorios, se calculó usando la función `r.squaredGLMM` (paquete `MuMIn`; Barton, 2023).

## Resultados

Los resultados de los modelos se resumen en la Tabla 2. Cada uno de los factores ambientales provocó un efecto significativo en el fenotipo (Tabla 2). En las interacciones dobles también se obtuvieron efectos significativos (Tabla 2), mientras que en la biomasa reproductiva la presencia de calentamiento y/o competencia en combinación con la sequía tuvieron un efecto sinérgico, para los rasgos de inicio de floración y área foliar específica las poblaciones responden de manera diferente a la sequía. Además, observamos que la respuesta a la sequía de las diferentes poblaciones se ve modificada por la presencia del calentamiento en tres de los rasgos evaluados (interacción Población × Disponibilidad hídrica × Temperatura, Tabla 2) la interacción de las poblaciones con los dos factores abióticos (disponibilidad hídrica y calentamiento) modificó la respuesta plástica a la sequía en los tres rasgos. La respuesta a la sequía de las diferentes poblaciones solo se ve modificada por la presencia de la competencia en el inicio de floración y en el área foliar específica (interacción Población × Disponibilidad hídrica × Competencia, Tabla 2) la interacción de las poblaciones con la disponibilidad hídrica y la competencia (factor biótico) modificó también la respuesta plástica a la sequía. En todos los modelos el  $R^2$  condicional ( $R^2_c$ ) fue mayor que  $R^2$  marginal ( $R^2_m$ ) lo que indica que hay parte de la varianza que es explicada por los factores aleatorios.

### Biomasa reproductiva

Encontramos un efecto significativo de la sequía, el calentamiento y la competencia (Tabla 2). Los tres tratamientos causaron una reducción en la biomasa reproductiva media (Figura 4). En este caso, la sequía provocó la mayor reducción en la biomasa reproductiva (68,5%) de media, seguido de la competencia y el calentamiento. En los tres casos la población con mayor biomasa reproductiva fue Sorbas y la menor es Topares, esto coincide con la población más cálida y fría respectivamente.

No se observó plasticidad diferencial entre las poblaciones a la respuesta a la sequía, es decir, no observamos un efecto significativo de la interacción “Población × Disponibilidad hídrica” (Tabla 2), ya que todas responden de una forma similar al tratamiento de sequía. Hubo un efecto significativo de la interacción de la disponibilidad hídrica con el tratamiento de calentamiento (Tabla 2). Los individuos

sometidos a estos dos tratamientos simultáneos redujeron a la mitad la biomasa reproductiva respecto a los individuos que solo fueron estresados con el factor de disponibilidad hídrica, es decir, se produce un efecto sinérgico entre el tratamiento de disponibilidad hídrica y el tratamiento de calentamiento (Figura 5A). De igual forma, la interacción del tratamiento de disponibilidad hídrica con el tratamiento de competencia intraespecífica también produce un efecto combinado en el fenotipo (Figura 5B). La interacción de estos dos tratamientos reduce más de la mitad la biomasa reproductiva respecto a los individuos que solo fueron sometidos a sequía.

Tabla 2. Resultados de los modelos lineales mixtos donde se presentan los efectos de la población, tratamiento, interacción población tratamiento (dobles y triples) sobre los diferentes rasgos. El estadístico F y el P-valor se muestra para cada uno de los rasgos. Los términos significativos se muestran en negrita.  $R_{2m}$  y  $R_{2c}$ ,  $R_2$  marginal y condicional, respectivamente.

		<b>Biomasa reproductiva</b>	<b>SLA</b>	<b>Inicio de floración</b>
<b>Población</b>	<b>F</b>	49,814	14,935	20,023
	<b>P</b>	<b>1,13E-42</b>	<b>8,20E-14</b>	<b>1,942E-18</b>
<b>Disponibilidad hídrica</b>	<b>F</b>	527,935	330,365	8,284
	<b>P</b>	<b>9,577E-82</b>	<b>2,776E-58</b>	<b>0,004</b>
<b>Competencia</b>	<b>F</b>	265,918	6,393	5,42E+01
	<b>P</b>	<b>9,019E-49</b>	<b>0,012</b>	<b>6,45E-13</b>
<b>Temperatura</b>	<b>F</b>	31,346	25,052	5,812E+02
	<b>P</b>	<b>2,749E-07</b>	<b>2,967E-06</b>	<b>1,077E-39</b>
<b>Disponibilidad hídrica×Competencia</b>	<b>F</b>	9,292	1,284	0,747
	<b>P</b>	<b>0,002</b>	0,258	0,388
<b>Disponibilidad hídrica× Temperatura</b>	<b>F</b>	23,533	0,199	1,573
	<b>P</b>	<b>1.614E-06</b>	0.656	0.210
<b>Población× Disponibilidad hídrica</b>	<b>F</b>	1,731	2,352	2,795
	<b>P</b>	0,126	<b>0,039</b>	<b>0,017</b>
<b>Población× Disponibilidad hídrica× Temperatura</b>	<b>F</b>	2,732	2,640	2,254
	<b>P</b>	<b>0,003</b>	<b>3,74E-03</b>	<b>0,014</b>
<b>Población×Disponibilidad hídrica× Competencia</b>	<b>F</b>	1,613	1,991	2,196
	<b>P</b>	0,099	<b>0,032</b>	<b>0,017</b>
<b>Disponibilidad hídrica× Competencia× Temperatura</b>	<b>F</b>	3,228	0,585	1,147
	<b>P</b>	<b>0,040</b>	0,557	0,318
<b>R<sup>2</sup>m</b>		0,644	0,422	0,572
<b>R<sup>2</sup>c</b>		0,658	0,467	0,581

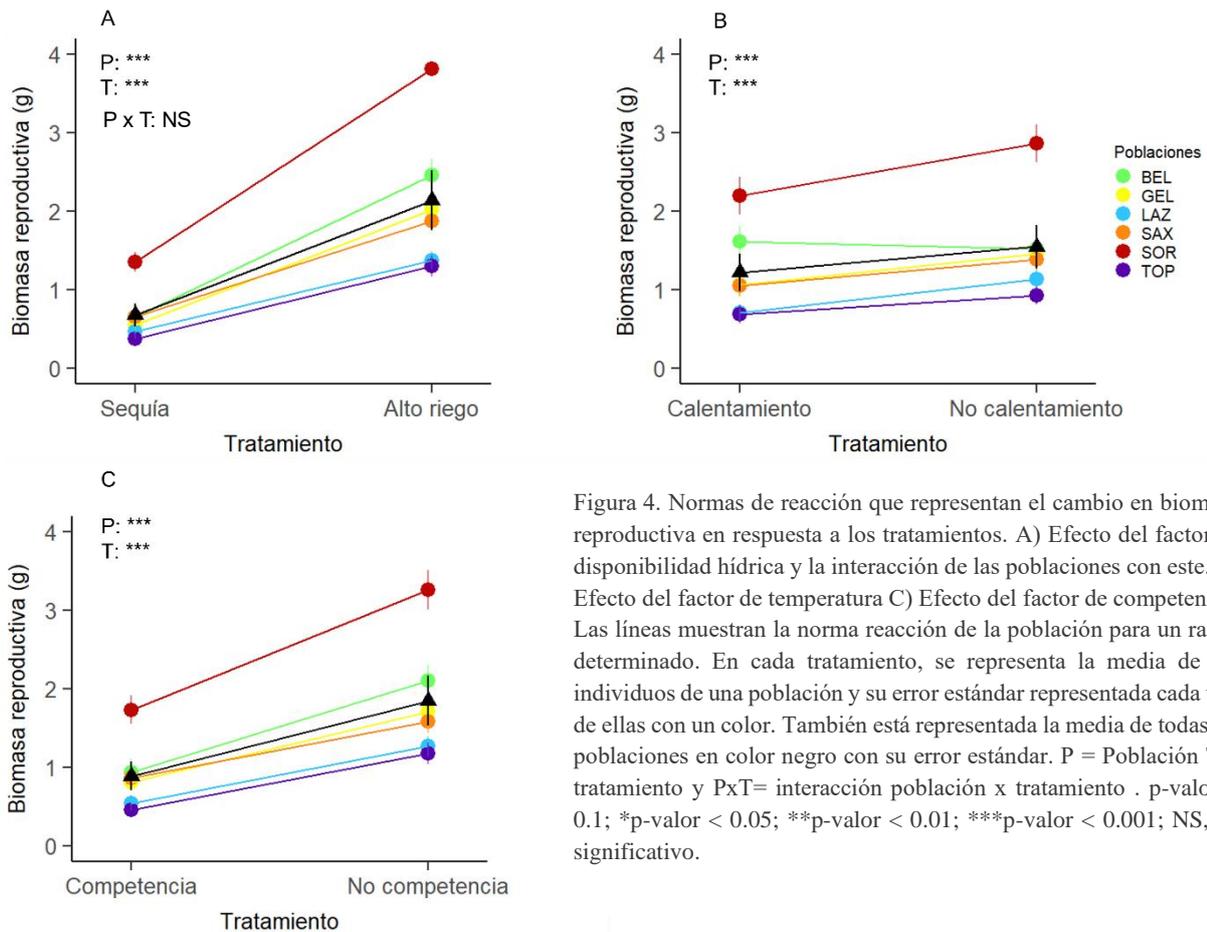


Figura 4. Normas de reacción que representan el cambio en biomasa reproductiva en respuesta a los tratamientos. A) Efecto del factor de disponibilidad hídrica y la interacción de las poblaciones con este. B) Efecto del factor de temperatura C) Efecto del factor de competencia. Las líneas muestran la norma reacción de la población para un rasgo determinado. En cada tratamiento, se representa la media de los individuos de una población y su error estándar representada cada una de ellas con un color. También está representada la media de todas las poblaciones en color negro con su error estándar. P = Población T = tratamiento y PxT= interacción población x tratamiento . p-valor < 0.1; \*p-valor < 0.05; \*\*p-valor < 0.01; \*\*\*p-valor < 0.001; NS, no significativo.

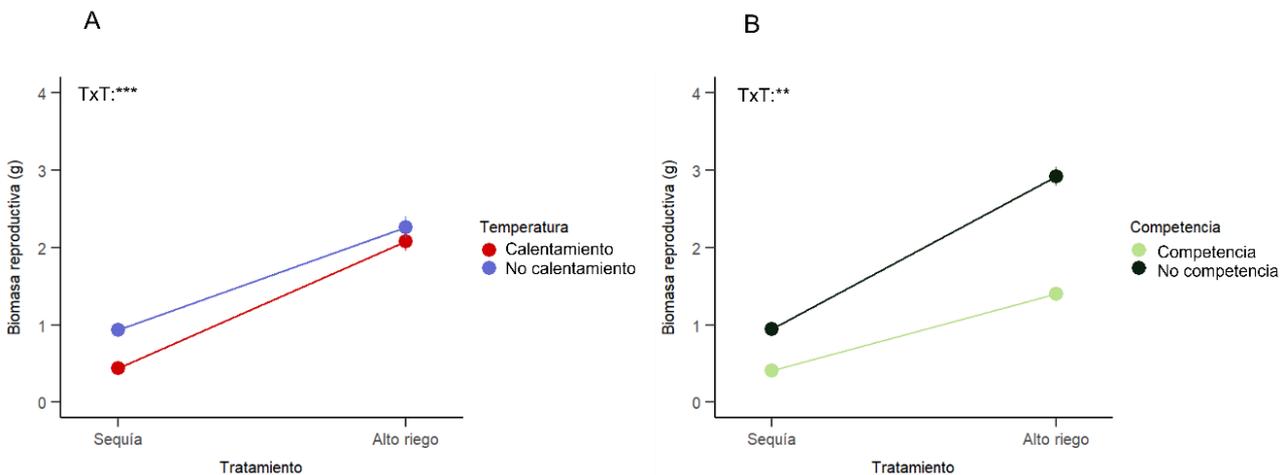


Figura 5. Normas de reacción que representan el cambio en biomasa reproductiva en respuesta a la combinación de tratamientos. A) Efecto de la interacción de la disponibilidad hídrica y temperatura. B) Efecto de la interacción de la disponibilidad hídrica y competencia. En cada tratamiento, se representa la media de los individuos que experimentaron cada tratamiento y su error estándar. TxT= interacción tratamiento x tratamiento. p-valor < 0.1; \*p-valor < 0.05; \*\*p-valor < 0.01; \*\*\*p-valor < 0.001.

La interacción de “Población × Disponibilidad hídrica × Temperatura” resultó significativa (Figura 6 y Tabla 2). Someter a las poblaciones a la combinación del calentamiento y la sequía reduce aún más la biomasa reproductiva respecto a los individuos que solo estuvieron sometidos a sequía. En presencia de más de un estrés se reduce la diferencia de Sorbas con el resto de las poblaciones (Figura 6B). Mientras que en presencia de sequía se ve una diferenciación poblacional, en la que Sorbas se separa de las demás (Figura 6A).

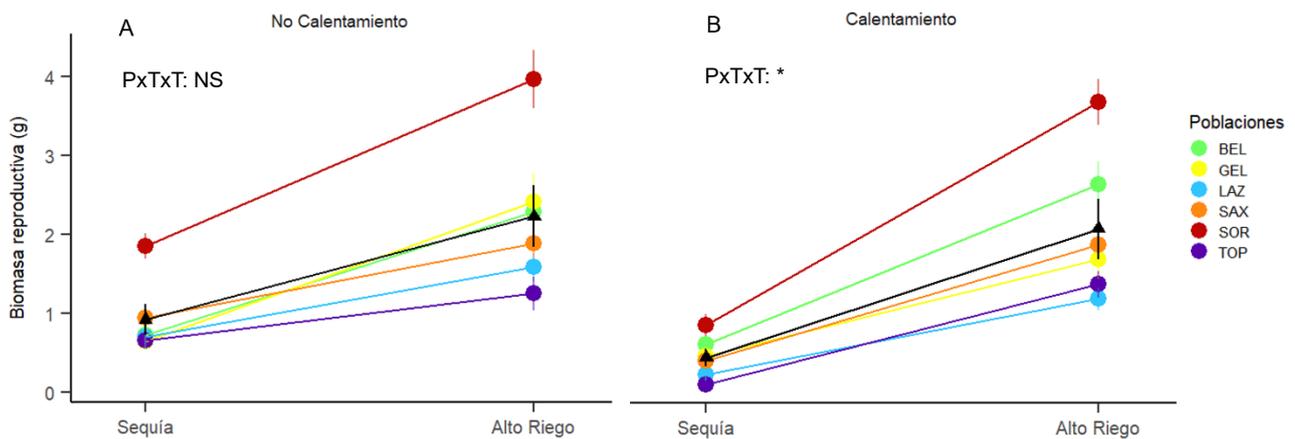


Figura 6. Normas de reacción que representan el cambio en biomasa reproductiva. A) Efecto de la interacción de los factores disponibilidad hídrica de y temperatura con las poblaciones. B) Efecto de la interacción de las poblaciones con el factor de disponibilidad hídrica. Las líneas muestran la norma reacción de la población para un rasgo determinado. En cada tratamiento, se representa la media de los individuos de una población y su error estándar. También está representada la media de todas las poblaciones en color negro con su error estándar. PxTxT= interacción población x tratamiento x tratamiento. p-valor < 0.1; \*p-valor < 0.05; \*\*p-valor < 0.01; \*\*\*p-valor < 0.001; NS, no significativo.

## Inicio de floración

Encontramos un efecto significativo de la sequía, el calentamiento y la competencia en el inicio de la floración de los individuos experimentales (Tabla 2). La sequía y calentamiento causaron un adelantamiento del inicio de la floración media (Figura 7A y 7C). En el caso de la competencia, se produce un retraso de la floración media (Figura 7B). En los tres casos la población con el inicio de floración más tardío es Lazagurría, la población más húmeda de todas. Cabe destacar que esta población no cambió su fenología en los dos tratamientos de disponibilidad hídrica. La interacción “Población × Disponibilidad hídrica” resultó ser significativa debido a que se observan respuestas diferentes al estrés que supone la sequía (Figura 7A). Las poblaciones de Topares y Sorbas presentaron una floración adelantada dos días y 2,5 días respectivamente. La interacción de los factores de disponibilidad hídrica con la competencia y con el calentamiento no resultaron significativas (Tabla 2).

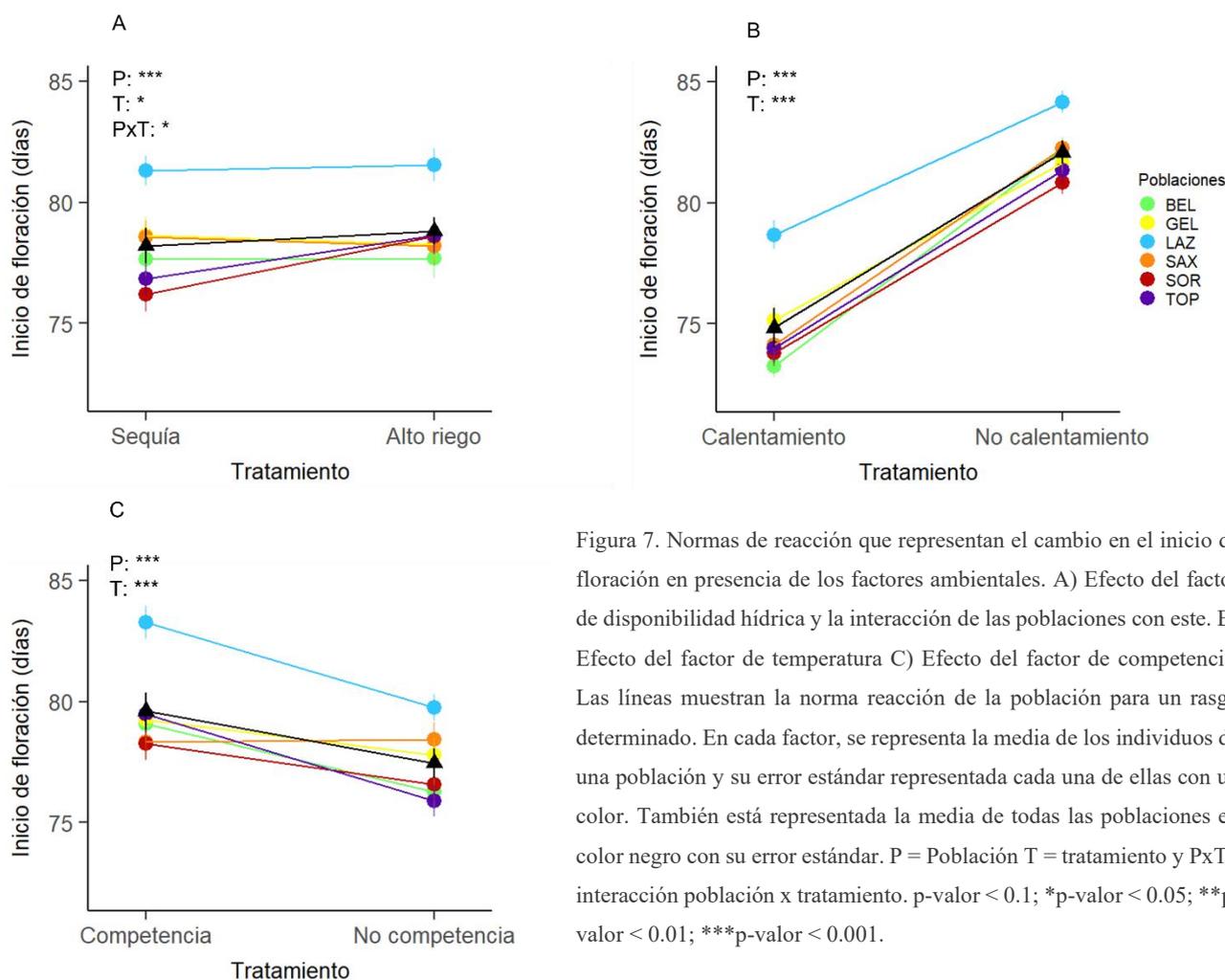


Figura 7. Normas de reacción que representan el cambio en el inicio de floración en presencia de los factores ambientales. A) Efecto del factor de disponibilidad hídrica y la interacción de las poblaciones con este. B) Efecto del factor de temperatura C) Efecto del factor de competencia. Las líneas muestran la norma reacción de la población para un rasgo determinado. En cada factor, se representa la media de los individuos de una población y su error estándar representada cada una de ellas con un color. También está representada la media de todas las poblaciones en color negro con su error estándar. P = Población T = tratamiento y PxT= interacción población x tratamiento. p-valor < 0.1; \*p-valor < 0.05; \*\*p-valor < 0.01; \*\*\*p-valor < 0.001.

Por último, hubo un efecto significativo en la interacción de las poblaciones con los tratamientos de disponibilidad hídrica y temperatura, y además de las poblaciones con los tratamientos de disponibilidad hídrica y competencia. En el primer caso (Figura 8) cuando las poblaciones solo están sometidas a estrés hídrico se produjo un adelantamiento del inicio de floración de la mayoría de las poblaciones. Cuando las poblaciones solo experimentan el estrés de calentamiento la floración se adelanta respecto a los individuos de las mismas poblaciones que fueron estresados con sequía. El efecto de los dos estreses modifica la respuesta de las poblaciones; Topares y Sorbas adelantan su inicio de floración; Lazagurría y Sax la retrasan y Belinchón y Gelsa mantienen valores parecidos respecto a los individuos que solo fueron estresados con un aumento de la temperatura. Aunque las diferencias poblacionales se mantienen respecto a la situación de experimentar únicamente sequía, Lazagurría aumenta la diferencia de su inicio de floración con el resto de las poblaciones cuando la sequía y el calentamiento se combinan.

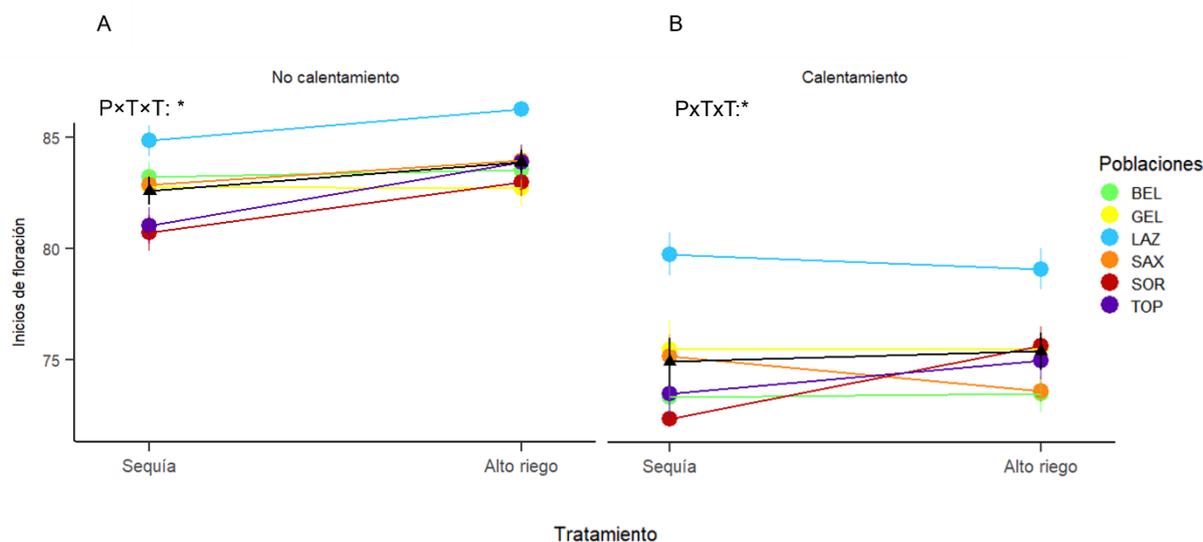


Figura 8. Normas de reacción que representan el cambio en el inicio de la floración. A) Efecto de la interacción de las poblaciones con el factor de disponibilidad hídrica. B) Efecto de la interacción de los factores disponibilidad hídrica y temperatura con las poblaciones. Las líneas muestran la norma reacción de la población para un rasgo determinado. En cada interacción, se representa la media de los individuos de una población y su error estándar, cada una representada. Cada población está representada por un color. También está representada la media de todas las poblaciones en color negro con su error estándar. PxTxT= interacción población x tratamiento x tratamiento . p-valor < 0.1; \*p-valor < 0.05; \*\*p-valor < 0.01; \*\*\*p-valor < 0.001; NS, no significativo.

El efecto de la sequía en individuos que no están sometidos a un competidor intraespecífico produce efectos diferentes en las poblaciones, (Figura 9) mientras que Gelsa y Sax retrasan su inicio de floración, las poblaciones de Sorbas y Topares adelantan la floración y las poblaciones de Belinchón y Lazagurría mantienen sus valores. El efecto de introducir un competidor retrasa la floración en la mayoría de las poblaciones y las diferencias poblacionales se reducen, exceptuando a Lazagurría, que mantiene cierta diferencia con el resto de los individuos. La combinación de los dos estreses produce el adelanto de la floración de la mayoría de las poblaciones. En este caso, la situación más estresante disminuye la diferencia entre poblaciones exceptuando la población de Lazagurría que aumenta sus diferencias respecto al resto de poblaciones.

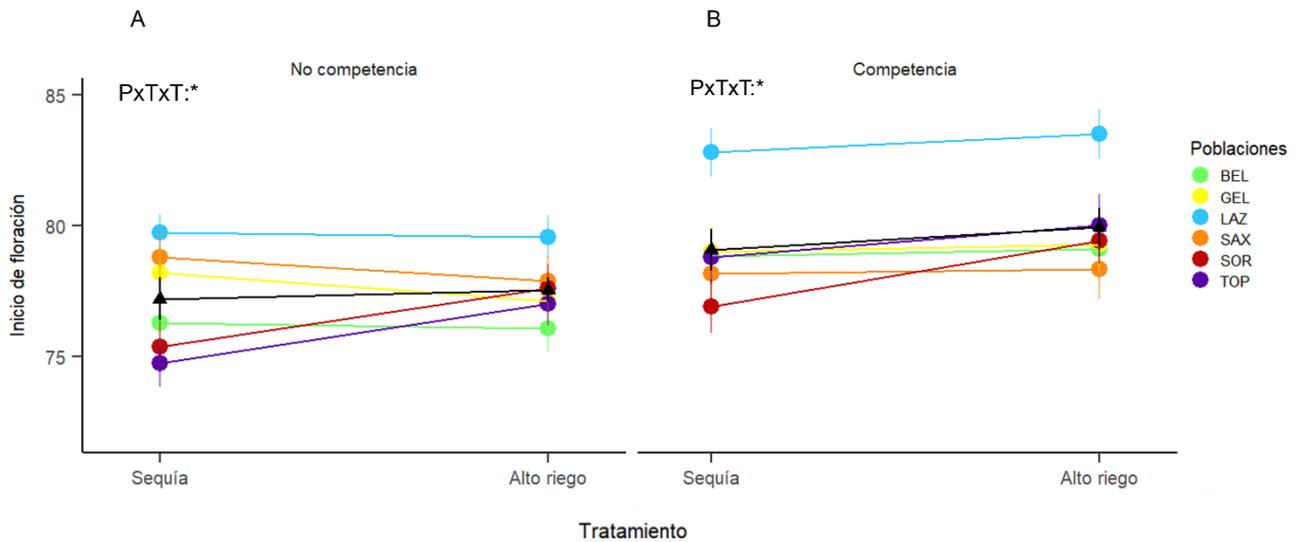


Figura 9. Normas de reacción que representan el cambio en el inicio de la floración. A) Efecto de la interacción de las poblaciones con el factor de disponibilidad hídrica. B) Efecto de la interacción de los factores disponibilidad hídrica y competencia con las poblaciones. Las líneas muestran la norma reacción de la población para un rasgo determinado. En cada tratamiento, se representa la media de los individuos de una población y su error estándar cada una de ellas representada por un color. También está representada la media de todas las poblaciones en color negro con su error estándar PxTxT= interacción población x tratamiento x tratamiento. p-valor < 0.1; \*p-valor < 0.05; \*\*p-valor < 0.01; \*\*\*p-valor < 0.001.

## Área foliar específica

Encontramos un efecto significativo de la sequía, el calentamiento y la competencia (Tabla 2) en el área foliar específica de los individuos experimentales. Los tres estreses causaron una reducción del área foliar específica media (Figura 10). La sequía provocó la mayor reducción del área foliar específica (12%) de media, seguido del calentamiento y la competencia. En los tres casos la población con menor área foliar específica es Lazagurría (la población más húmeda).

La interacción “Población× Disponibilidad hídrica” fue significativa, observando respuestas diferentes entre las poblaciones a la sequía. (Figura 10A). Las poblaciones más afectadas ante la sequía fueron Lazagurría y Sorbas, disminuyeron su área foliar específica un 14% y un 16% respectivamente. Las poblaciones de Gelsa y Belinchón disminuyeron su área foliar específica en torno un 10% respecto a las condiciones de alto riego. Por último, en las poblaciones de Sax y Topares la disminución de su área foliar específica no superó el 10%.

La interacción “Población× Disponibilidad hídrica× Competencia” resultó significativa (Tabla 2 y Figura 11). Estar sometido a sequía y competencia simultáneamente disminuye las diferencias poblacionales entre todas las poblaciones (Figura 11B). El efecto de sequía y competencia provocó efectos distintos en las poblaciones. En el caso de las poblaciones de Belinchón y Topares poseen una mayor área foliar específica comparados con los individuos que solo fueron estresados con sequía. Lazagurría se mantiene en valores muy parecidos respecto a la sequía y por el contrario Gelsa, Sax y

Sorbas (las tres poblaciones más cálidas) disminuyen su área foliar específica en la situación más estresante (Figura 11).

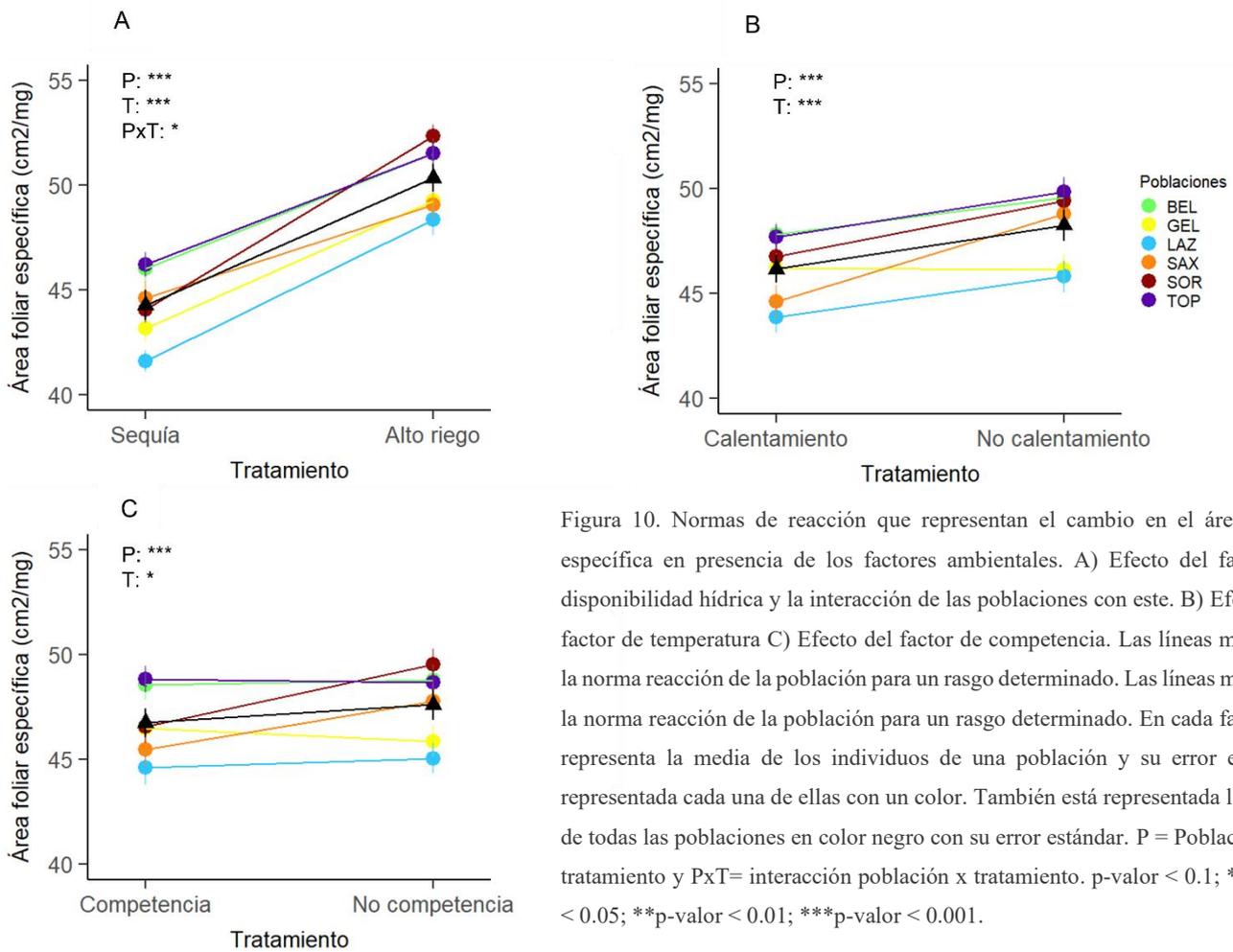


Figura 10. Normas de reacción que representan el cambio en el área foliar específica en presencia de los factores ambientales. A) Efecto del factor de disponibilidad hídrica y la interacción de las poblaciones con este. B) Efecto del factor de temperatura C) Efecto del factor de competencia. Las líneas muestran la norma reacción de la población para un rasgo determinado. Las líneas muestran la norma reacción de la población para un rasgo determinado. En cada factor, se representa la media de los individuos de una población y su error estándar representada cada una de ellas con un color. También está representada la media de todas las poblaciones en color negro con su error estándar. P = Población T = tratamiento y PxT= interacción población x tratamiento. p-valor < 0.1; \*p-valor < 0.05; \*\*p-valor < 0.01; \*\*\*p-valor < 0.001.

Por último, la interacción “Población× Disponibilidad hídrica× Temperatura” tuvo un efecto significativo en el área foliar específica (Tabla 2 y Figura 12). Que los individuos de las poblaciones estén sometidos a sequía y calentamiento disminuye su área foliar, más que cuando solo tienen sequía. Cuando las poblaciones se someten a los dos estreses (sequía y calentamiento) las diferencias poblacionales disminuyen. Lazagurría en todos los escenarios es la que menor área foliar tiene.

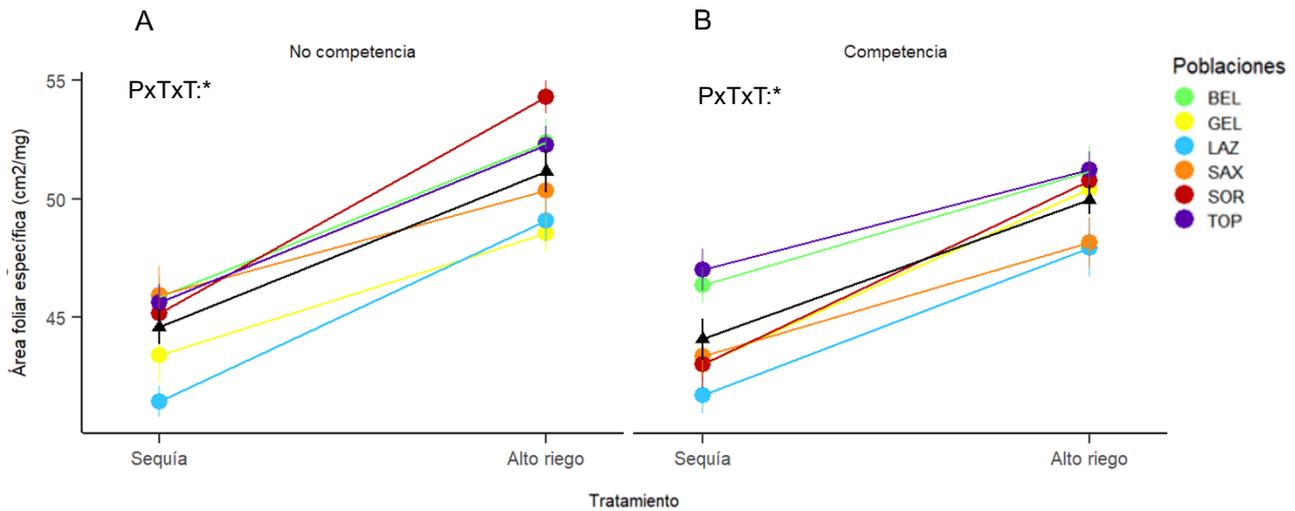


Figura 11. Normas de reacción que representan el cambio en el área foliar específica. A) Efecto de la interacción de las poblaciones con el factor de disponibilidad hídrica. B) Efecto de la interacción de los factores disponibilidad hídrica y competencia con las poblaciones. Las líneas muestran la norma reacción de la población para un rasgo determinado. En cada tratamiento, se representa la media de los individuos de una población y su error estándar. Cada población está representada por un color. También está representada la media de todas las poblaciones en color negro con su error estándar. PxTxT= interacción población x tratamiento x tratamiento. p-valor < 0.1; \*p-valor < 0.05; \*\*p-valor < 0.01; \*\*\*p-valor < 0.001.

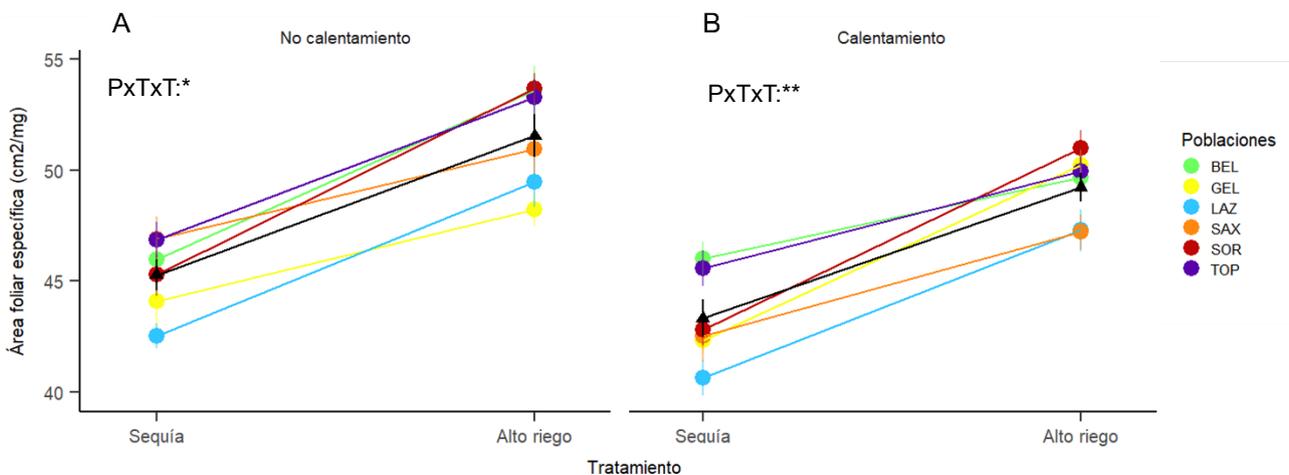


Figura 12. Normas de reacción que representan el cambio en el área foliar específica. A) Efecto de la interacción de las poblaciones con el factor de disponibilidad hídrica. B) Efecto de la interacción de los factores disponibilidad hídrica y temperatura con las poblaciones. Las líneas muestran la norma reacción de la población para un rasgo determinado. En cada tratamiento, se representa la media de los individuos de una población y su error estándar. Cada población está representada por un color. También está representada la media de todas las poblaciones en color negro con su error estándar. PxTxT significa la interacción de los dos factores ambientales con las poblaciones. p-valor < 0.1; \*p-valor < 0.05; \*\*p-valor < 0.01; \*\*\*p-valor < 0.001.

## **Discusión**

Los tres estreses disminuyeron la biomasa reproductiva y el área foliar específica. En el caso del inicio de floración, la sequía y el calentamiento adelantan la floración de los individuos experimentales mientras que la competencia la retrasa. La interacción de la sequía con otro de los factores ambientales produce un efecto sinérgico en la biomasa reproductiva, mientras que en el inicio de la floración y el área foliar específica no se observó ningún efecto significativo en la interacción de la sequía con los otros tratamientos. Lo que sí se observó en estos dos rasgos es una interacción “Población × Disponibilidad hídrica”, observando plasticidad diferencial de las poblaciones en estos rasgos. Por último, la interacción de las poblaciones con el tratamiento de disponibilidad hídrica y otro tratamiento ya sea un aumento de la temperatura o la competencia produce un cambio en la respuesta plástica a la sequía por parte de las poblaciones, además la diferenciación poblacional disminuye por la presencia de múltiples estreses. Por lo tanto, observamos que nuestras hipótesis se han cumplido.

### **Respuestas plásticas a la sequía, calentamiento y competencia.**

En este estudio se pone de manifiesto la existencia de respuestas plásticas en respuesta a la manipulación de tres factores ambientales, observándose tanto a nivel de éxito reproductivo como morfológico y fenológico.

Una disminución de la disponibilidad hídrica en nuestro caso resultó estar asociado a una disminución de la biomasa reproductiva de la planta. Estos resultados también lo han observado Farooq et al. (2012) y Eziz et al. (2017), esta disminución se debe a que las plantas en fase reproductiva invierten una gran cantidad de agua y energía (Karlsson & Méndez, 2005). El efecto de la sequía en el inicio de floración provocó un adelanto de este. Esto coincide con otros estudios (Fabre et al., 2011) donde un inicio de floración más temprano puede resultar ser un mecanismo de escape a la sequía (Shavrukov et al., 2017; Blanco-Sánchez et al., 2023). Por último, el efecto de la sequía provocó una disminución del área foliar específica. Este efecto ha sido observado en otros experimentos (Liu & Stützel, 2004; Xu & Leskovar, 2015), esto puede ser atribuido a la mejora de la eficiencia en el uso del agua en condiciones de estrés hídrico (Wright et al., 1994; Craufurd et al., 1999; Wellstein et al., 2017).

La modificación de la temperatura, en nuestro caso, un aumento de ella, produce una disminución de la biomasa reproductiva. Dorji et al. (2012) también observaron que una disminución de la biomasa reproductiva asociada a un aumento de la temperatura. El inicio de floración se adelantó como causa de un aumento de la temperatura. Este efecto también se ha visto en el estudio de Zhou & Wan, (2013) y Xu et al. (2009). Por último, también disminuye el área foliar específica. Zhu et al. (2020) observaron que esta respuesta puede contribuir a mejorar la transpiración de agua por parte de la planta, reduciendo la pérdida de humedad con el objetivo de adaptarse a un entorno con altas temperaturas.

Por último, la competencia intraespecífica provocó una disminución de la biomasa reproductiva, este efecto también se ha visto en otros estudios (Weigner, 1988; Rahman & Ungar, 1994), ya que un aumento de la densidad poblacional puede provocar que la planta no tenga la capacidad de soportar la competencia a la que se la está sometiendo (Weigner, 1988). También observamos una disminución del área foliar específica en presencia de competencia intraespecífica. Este resultado concuerda con otros estudios, donde observaron que las plantas que estaban en presencia de un competidor presentaron un área foliar específica menor (Puy et al., 2020). Esta estrategia se denominaría más conservadora, aumentando la capacidad de la planta a hacer frente al estrés (Puy et al., 2020). Además, la competencia intraespecífica supuso un efecto en los inicios de floración. En concreto, los individuos que crecieron en presencia de un conoespecífico, retrasaron los inicios de floración respecto a los individuos que no tenían competidor. Esta respuesta puede deberse a una mayor captura de recursos para obtener una mayor inversión en los órganos que permitiría a la planta individual una ventaja frente a sus competidores (Vermeulen, 2014).

Por tanto, como respuesta a los tratamientos podemos encontrar dos tipos de respuestas, respuestas fenotípicas pasivas como consecuencia de una limitación de recursos (Van Kleunen & Fischer, 2005) como puede ser la disminución de la biomasa reproductiva en condiciones de sequía. Pero, también hemos podido observar respuestas activas que pueden resultar adaptativas para tolerar el estrés que puede ser experimentar la falta de agua, un aumento de la temperatura o un competidor, como son disminuir el área foliar específica en condiciones de sequía o calentamiento.

### **La presencia de otros estreses modifica la respuesta a la sequía**

La interacción de la disponibilidad hídrica con la temperatura o la competencia resultaron ser significativos únicamente en uno de los rasgos analizados, la biomasa reproductiva. En los dos casos encontramos una interacción sinérgica, es decir, el efecto de los dos tratamientos es superior a la suma de los dos estreses individuales (Zandalinas & Mittler, 2022). La interacción de la sequía y el aumento de la temperatura provocó un efecto sinérgico. Esta interacción ha sido observada en Zandalinas y Mittler (2022), mostrando que someter a los individuos a múltiples estreses produce un mayor efecto perjudicial en el crecimiento de las plantas (Mittler, 2006; Zandalinas & Mittler, 2022). Zandalinas et al. (2017) afirma que la combinación de estos dos estreses provoca un mayor daño, provocando una disminución de su eficacia biológica. La sequía combinada con la competencia también ha sido estudiada, Lorts y Lasky (2020) ha estudiado los efectos de someter a una baja disponibilidad hídrica y competencia a *Arabidopsis thaliana*, demostrando que experimentar la combinación de los dos estreses provoca una menor tasa de supervivencia de la especie de estudio y que, por lo tanto, la respuesta a un factor ambiental abiótico puede ser modificada por la presencia de uno biótico.

## **Plasticidad diferencial a la sequía**

La interacción de las distintas poblaciones de una especie con el factor de disponibilidad hídrica ha sido estudiada por otros autores, varios ejemplos de ello son Zhang et al. (2004); Xiao et al. (2009); Matesanz et al. (2020a). Dependiendo del rasgo esta interacción resulta ser significativa en el área foliar específica y en el inicio de floración, mientras que no resultó serlo en la biomasa reproductiva. Pero, además, en nuestro estudio añadimos un segundo estrés ambiental. La combinación de estos puede hacer que las poblaciones respondan de manera distinta (SpeiBer et al., 2022).

En el caso de la biomasa reproductiva, las poblaciones no mostraron plasticidad diferencial, es decir, las poblaciones mostraron la misma plasticidad en forma de normas de reacción paralelas, demostrando que la expresión fenotípica de las poblaciones a lo largo del gradiente fue similar. Las poblaciones más secas y cálidas mostraron una mayor biomasa reproductiva. La población de Sorbas, que mantiene diferencias con el resto de los individuos muestra que en condiciones de sequía la población del clima más seco posee más tolerancia a esta situación (Xiao et al., 2009). Sin embargo, la combinación de dos tratamientos abióticos sí que provoca una respuesta plástica diferencial, en la misma dirección, una mayor disminución de la biomasa reproductiva al igual que Mittler (2006).

En el caso del inicio de floración, cuando las poblaciones son sometidas a la sequía, encontramos plasticidad diferencial (normas de reacción no paralelas). Cuatro de las poblaciones muestran normas de reacción más planas, son menos plásticas, mientras que las poblaciones pertenecientes a la provincia de Almería, Sorbas y Topares, adelantan su inicio de floración (la cálida y la más fría respectivamente), son más plásticas, y además esta plasticidad parece ser adaptativa, ya que un inicio de floración más temprano en situaciones adversas permite completar la reproducción y producir semillas antes de que las condiciones sean demasiado duras (Aronson et al., 1992; Matesanz et al., 2020a). El efecto combinado de la sequía y el aumento de la temperatura modifica la respuesta plástica de la sequía, las poblaciones de Sax y Lazagurría muestran un retraso en este rasgo. Que en las poblaciones se dé una posible plasticidad no adaptativa (retraso del inicio de la floración) manifiesta que la expresión de la variabilidad genética depende del ambiente (Gibert et al., 2019). La interacción de un factor biótico, en este caso, la adición de un competidor intraespecífico también modifica la respuesta a la sequía. La presencia de un competidor provoca el retraso del inicio de floración y la combinación de ellos promueve una menor plasticidad. Observamos que, en este caso, tenemos un mayor número de normas de reacción más planas, esto puede deberse a que cada uno de los estreses provoca una respuesta contraria, la sequía promueve adelantar el inicio de floración, mientras que la competencia puede resultar adaptativo retrasar la floración. Por lo tanto, la combinación de varios factores ambientales limitará las respuestas unidireccionales que hay frente a un único estrés, debido a la compensación. Además, mientras más factores ambientales estresantes ocurran al mismo tiempo, las plantas tendrán menos posibilidades de poder soportarlos todos (SpeiBer et al., 2022).

Por último, cuando las poblaciones son sometidas a la sequía (“Población×Disponibilidad hídrica”) también encontramos plasticidad diferencial en el área foliar específica. Todas las poblaciones disminuyen el área foliar específica. Zhang et al. (2004) encontraron que las poblaciones que más modificaron este rasgo (un área foliar específica más pequeña) en situación de sequía fueron las pertenecientes a los climas más secos. En nuestro caso, esto no ha pasado, pero si encontramos un patrón climático, las tres poblaciones más cálidas tienen valores más bajos de su área foliar específica exceptuando Lazagurría. Que exista variación adaptativa entre poblaciones, puede sugerirnos que existe un potencial de adaptación a las condiciones ambientales (Hamann et al., 2016), que exista una respuesta plástica adaptativa facilita la persistencia de las poblaciones y se reduzcan las probabilidades de extinción en el escenario de cambio climático (Nicotra et al., 2010). Una combinación de los dos estreses disminuye mayoritariamente más el área foliar que en el caso único de estar sometidas a la sequía. En este caso sí vemos un patrón climático, exceptuando a Lazagurría. Las poblaciones más cálidas poseen valores más bajos y muy parejos entre ellas. Para finalizar, la combinación de la sequía con la introducción de un competidor produce cambios en el área foliar específica. Todas las poblaciones muestran respuestas muy plásticas y encontramos un patrón climático. Las poblaciones más húmedas y frías aumentan el área foliar específica respecto a las condiciones de baja disponibilidad hídrica, optan por una estrategia más adquisitiva de recursos (Puy et al., 2020). Las poblaciones más cálidas y secas disminuyen más aún su área foliar específica expresando valores de área foliar específica similares entre poblaciones. Cuando el área foliar específica disminuye en condiciones de competencia, los individuos optan por una estrategia conservadora, permitiendo hacer frente al estrés y promover la coexistencia con otros individuos (Puy et al., 2020). Esta estrategia además promueve la resistencia a factores ambientales estresantes (Maracahipes et al., 2018).

## **Diferenciación poblacional**

En este estudio debido al uso de un experimento de jardín común nos permite observar si existe diferenciación poblacional. Hay muchos estudios que ven diferenciación poblacional (Heschel et al., 2004; Volis et al., 2015; Matesanz et al., 2020b; Bachofen et al., 2021). En nuestro caso también encontramos diferenciación poblacional en los tres rasgos, las poblaciones poseen valores distintos entre ellas en cada uno de los rasgos. En el caso de la biomasa reproductiva observamos de forma más clara que la población más seca de todas ellas, Sorbas, es la que mantiene diferencias con el resto de las poblaciones mostrando que poseer unas condiciones parejas a las que supone el estrés le permite tolerar esta situación a favor de las observaciones Xiao et al. (2009). Someter las poblaciones a un ambiente más realista multivariado, disminuyó estas diferencias poblacionales. Por ello conocer las respuestas y las diferencias poblacionales de una especie en condiciones más realistas, nos pueden permitir tomar decisiones sobre futuras estrategias de conservación. En el caso de los gipsófitos esto puede tener un gran peso ya que un gran porcentaje de ellas están categorizadas en amenaza o peligro de extinción según criterios de la UICN (Escudero et al., 2014).

## Conclusiones

Las conclusiones generales que podemos extraer de este estudio son:

- La sequía, pero también el calentamiento y la competencia modificaron la expresión fenotípica en las poblaciones estudiadas de *H. squamatum*. Observándose tanto a nivel morfológico, fenológico como a nivel de éxito reproductivo (*fitness*).
- Algunas de las respuestas fenotípicas generadas por las distintas condiciones estresantes las podemos catalogar como respuestas pasivas, atribuidas a la limitación de recursos. Sin embargo, observamos respuestas fenotípicas activas, consideradas adaptativas para tolerar el estrés impuesto.
- La combinación de más de un tratamiento provoca una respuesta diferente y que esta respuesta no se puede deducir con el estudio de las respuestas por separado. Estos efectos no fueron aditivos sino sinérgicos: la presencia de calentamiento y competencia modificó fuertemente la respuesta fenotípica a la sequía.
- La diferenciación poblacional bajo condiciones de sequía se redujo fuertemente en presencia de calentamiento y competencia.
- Nuestros resultados resaltan la importancia de evaluar las respuestas fenotípicas de las poblaciones de plantas en ambientes más realistas y multivariados para inferir su persistencia futura frente a las nuevas condiciones de cambio climático.

## Líneas futuras de investigación

Tras realizar este estudio, futuros trabajos de investigación que se podrían plantear serían los siguientes:

- Estudiar la heredabilidad que presentan estos rasgos, además de analizar la selección directa e indirecta y la correlación entre distintos rasgos y como varía en presencia de diferentes estreses o factores.
- Realizar estudios de plasticidad fenotípica y diferenciación poblacional en otras especies clave de las comunidades gipsícolas como *Lepidium subulatum*, *Thymus lacaitae* Pau, *Centaurea hyssoifolia* Vahl o *Teucrium pumilum* Loefl. ex L. a diversas condiciones estresantes como la baja disponibilidad hídrica y el aumento de temperaturas, no sólo de manera única, sino combinadas.

## Agradecimientos

Tras la realización de este Trabajo Fin de Grado, únicamente tengo palabras de agradecimiento hacia todas las personas que han estado apoyándome desde el principio de este.

En primer lugar, me gustaría darles las gracias a mis directoras, Silvia Matesanz y Marina Ramos Muñoz, por la oportunidad, por su confianza, por su ayuda, su apoyo desde el minuto uno y por todos los conocimientos aprendidos durante la realización de este trabajo. Gracias por acompañarme y guiarme

en el último tramo de este camino. No me puedo olvidar de Mario Blanco Sánchez el tercer miembro de este increíble equipo, y de todas las personas del Área de Biodiversidad y Conservación y del Grado en Biología que colaboraron en el estudio.

Me gustaría también agradecer a todos los compañeros y amigos que he conocido y que me llevo de estos 4 años, gracias por el apoyo y por hacerme disfrutar de la Biología.

Finalmente, me gustaría agradecer a mi familia sin los cuales nada de esto habría sido posible. Muchísimas gracias por vuestro constante apoyo desde el día en que decidí continuar mi formación académica matriculándome en el Grado en Biología.

## Bibliografía

- Aronson, J., Kigel, J., Shmida, A., & Klein, J. (1992). Adaptive phenology of desert and Mediterranean populations of annual plants grown with and without water stress. *Oecologia*, 89: 17-26.
- Bartoń K (2023). *\_MuMIn: Multi-Model Inference\_*. R package versión 1.47.5, <<https://CRAN.R-project.org/package=MuMIn>>.
- Bates, D., Maechler, M., Bolker, B., Walker, S. (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67:1-48.
- Bellard, C., Bertelsmeier, C., Leadley, P., Thuiller, W., & Courchamp, F. (2012). Impacts of climate change on the future of biodiversity. *Ecology Letters*, 15: 365-377.
- Blanco-Sánchez, M., Franks, S. J., Ramos-Muñoz, M., Pías, B., Ramírez-Valiente, J. A., Escudero, A., & Matesanz, S. (2023). Contrasting adaptive trait variation in response to drought in two Mediterranean shrubs. *Environmental and Experimental Botany*, 208: 105253-105263.
- Christmas, M. J., Breed, M. F., & Lowe, A. J. (2015). Constraints to and conservation implications for climate change adaptation in plants. *Conservation Genetics*, 17: 305-320.
- Cramer W, Guiot J, Fader M, Garrabou J, Gattuso J-P, Iglesias A, Lange MA, Lionello P, Lla-sat MC, Paz S, Peñuelas J, Snoussi M, Toreti A, Tsimplis MN, Xoplaki E (2018) Climate change and interconnected risks to sustainable development in the Mediterranean. *Nature Climate Change* 8: 972-980.
- Craufurd, P., Wheeler, T., Ellis, R. S., Summerfield, R. J., & Williams, J. C. (1999). Effect of Temperature and Water Deficit on Water-Use Efficiency, Carbon Isotope Discrimination, and Specific Leaf Area in Peanut. *Crop Science*, 39:, 136–142.
- De Frenne, P., Brunet, J., Shevtsova, A., Kolb, A., Graae, B. J., Chabrerie, O., Andersson, S., Decocq, G., De Schrijver, A., Diekmann, M., Gruwez, R., Heinken, T., Hermy, M., Nilsson, C., Stanton, S. M., Tack, W., Willaert, J., & Verheyen, K. (2011). Temperature effects on forest herbs

- assessed by warming and transplant experiments along a latitudinal gradient. *Global Change Biology*, 17: 3240-3253.
- De Villemereuil, P., Gaggiotti, O. E., & Goudet, J. (2020). Common garden experiments to study local adaptation need to account for population structure. *Journal of Ecology*, 110: 1005-1009.
- Dorji, T., Totland, Ø., Moe, S. R., Hopping, K. A., Pan, J., & Klein, J. A. (2012). Plant functional traits mediate reproductive phenology and success in response to experimental warming and snow addition in Tibet. *Global Change Biology*, 19: 459–472.
- Escudero, A., Somolinos, R., Olano, J. M., & Rubio, A. (1999). Factors controlling the establishment of *Helianthemum squamatum*, an endemic gypsophile of semi-arid Spain. *Journal of Ecology*, 87: 290–302.
- Escudero, A., Palacio, S., Maestre, F. T., & Luzuriaga, A. L. (2014). Plant life on gypsum: a review of its multiple facets. *Biological Reviews*, 90: 1–18.
- Eziz, A., Yan, Z., Tian, D., Han, W., Tang, Z., & Fang, J. (2017). Drought effect on plant biomass allocation: A meta-analysis. *Ecology and Evolution*, 7: 11002-11010.
- Fabre, T. B., Secada, Y., Chaveco, O., Boudet, A. M. M., Gómez, Y., Meriño, Y., Reyes, J. C., Ojeda, C., Tornes, N., & Barroso, L. (2011). Respuesta a la sequía de genotipos de frijol común utilizando diferentes índices de selección. *Centro agrícola*, 38: 69-73.
- Farooq, M., Hussain, M., Wahid, A., & Siddique, K. H. M. (2012). Drought stress in plants: an overview. Plant responses to drought stress: From morphological to molecular features, 1-33.
- Franks, S. J., Weber, J. J., & Aitken, S. N. (2014). Evolutionary and plastic responses to climate change in terrestrial plant populations. *Evolutionary Applications*, 7: 123-139.
- Gibert, P., Debat, V., & Ghalambor, C. K. (2019). Phenotypic plasticity, global change, and the speed of adaptive evolution. *Current opinion in insect science*, 35: 34-40.
- Hamann, E., Kesselring, H., Armbruster, G. F. J., Scheepens, J. F., & Stöcklin, J. (2016). Evidence of local adaptation to fine- and coarse-grained environmental variability in *Poa alpina* in the Swiss Alps. *Journal of Ecology*, 104: 1627–1637.
- Huntley, B. (1991). How Plants Respond to Climate Change: Migration Rates, Individualism and the Consequences for Plant Communities. *Annals of Botany*, 67: 15–22.
- IPCC, 2022: Climate Change 2022: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [H.-O. Pörtner, D.C. Roberts, M. Tignor, E.S. Poloczanska, K. Mintenbeck, A. Alegría, M. Craig, S. Langsdorf, S. Löschke, V. Möller, A. Okem, B. Rama (eds.)]. Cambridge University Press. Cambridge University Press, Cambridge, UK and New York, NY, USA, 3056 pp.,.

- John Fox and Sanford Weisberg (2019). An {R} Companion to Applied Regression, Third Edition. Thousand Oaks CA: Sage. URL: <https://socialsciences.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion/>
- Johnson, S. B., Tittes, S., & Franks, S. J. (2023). Rapid, nonparallel genomic evolution of *Brassica rapa* (field mustard) under experimental drought. *Journal of Evolutionary Biology*, 36: 550-562.
- Jump, A. S., & Peñuelas, J. (2005). Running to stand still: adaptation and the response of plants to rapid climate change. *Ecology Letters*, 8: 1010–1020.
- Karlsson, P. S., & Méndez, M. (2005). The Resource Economy of Plant Reproduction. In *Reproductive Allocation in Plants*. pp. 1–49.
- Kenward, M. G., & Roger, J. H. (1997). *Small Sample Inference for Fixed Effects from Restricted Maximum Likelihood*. Author (s): Michael G . Kenward and James H . Roger Published by : International Biometric Society Stable URL : <https://www.jstor.org/stable/2533558> REFERENCES Linked references. *Biometrics*, 53: 983–997.
- Liu, F., & Stützel, H. (2004). Biomass partitioning, specific leaf area, and water use efficiency of vegetable amaranth (*Amaranthus* spp.) in response to drought stress. *Scientia Horticulturae*, 102: 15-27.
- López, G. 2006. Castroviejo, S., Acedo, A., Cirujano, S., Laínz, M., Montserrat,P., Morales, R., Muñoz Garmendia, F., Navarro, C., Paiva, J. & Soriano, C. (eds). *Flora ibérica* 3: 365-421. Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid.
- Lorts, C. M., & Lasky, J. R. (2020). Competition × drought interactions change phenotypic plasticity and the direction of selection on *Arabidopsis* traits. *New Phytologist*, 227: 1060-1072.
- Maestre, F. T., Escolar, C., de Guevara, M. L., Quero, J. L., Lázaro, R., Delgado-Baquerizo, M., ... & Gallardo, A. (2013). Changes in biocrust cover drive carbon cycle responses to climate change in drylands. *Global change biology*, 19: 3835-3847.
- Mahalingam, R. (2014). Consideration of Combined Stress: A Crucial Paradigm for Improving Multiple Stress Tolerance in Plants. En *Springer eBooks* (pp. 1-25).
- Maracahipes, L., Carlucci, M. B., Lenza, E., Marimon, B. S., Marimon, B. H., Guimarães, F. A., & Cianciaruso, M. V. (2018). How to live in contrasting habitats? Acquisitive and conservative strategies emerge at inter- and intraspecific levels in savanna and forest woody plants. *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics*, 34: 17–25.
- Matesanz, S., & Valladares, F. (2014). Ecological and evolutionary responses of Mediterranean plants to global change. *Environmental and Experimental botany*, 103: 53-67.

- Matesanz, S., Ramos-Muñoz, M., Blanco-Sánchez, M., García-Fernández, A., Escudero, A. 2019. Migración, variabilidad genética y plasticidad fenotípica en especies de plantas de yesos y su papel en la respuesta al cambio climático. *Ecosistemas* 28: 48-59.
- Matesanz, S., Ramos-Muñoz, M., Blanco-Sánchez, M., & Escudero, A. (2020a). High differentiation in functional traits but similar phenotypic plasticity in populations of a soil specialist along a climatic gradient. *Annals of Botany*, 125: 969-980.
- Matesanz, S., Ramos-Muñoz, M., Moncalvillo, B., Teso, M. L. R., De Dionisio, S. L. G., Romero, J. L., & Iriondo, J. M. (2020b). Plasticity to drought and ecotypic differentiation in populations of a crop wild relative. *Aob Plants*, 12.
- Mittler, R. (2006). Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in plant science*, 11(1), 15-19.
- Molina-Montenegro, M. A., Briones, R., & Cavieres, L. A. (2009). Does global warming induce segregation among alien and native beetle species in a mountain-top?. *Ecological Research*, 24: 31-36.
- Nadeem, H., Khan, A., Gupta, R., Hashem, M., Alamri, S., Siddiqui, M. A., & Ahmad, F. (2023). Stress combination: When two negatives may become antagonistic, synergistic or additive for plants? *Pedosphere*, 33: 287-300.
- Nicotra, A. B., Atkin, O. K., Bonser, S. P., Davidson, A. M., Finnegan, E. J., Mathesius, U., Poot, P., Purugganan, M. D., Richards, C. L., Valladares, F., & Van Kleunen, M. (2010). Plant phenotypic plasticity in a changing climate. *Trends in Plant Science*, 15: 684–692.
- Palacio, S., Azorín, J., Montserrat-Martí, G., & Ferrio, J. P. (2014). The crystallization water of gypsum rocks is a relevant water source for plants. *Nature Communications*, 5: 4660.
- Pérez-García, F., & González-Benito, M. E. (2006). Seed germination of five *Helianthemum* species: Effect of temperature and presowing treatments. *Journal of Arid Environments*, 65: 688-693.
- Pérez-García, F. J., Akhiani, H., Parsons, R. L., Silcock, J. L., Kurt, L., Özdeniz, E., Spampinato, G., Del Río, S., Salmerón-Sánchez, E., Sola, F., Merlo, M. E., Martínez-Hernández, F., Mendoza-Fernández, A. J., Garrido-Becerra, J. A., & Mota, J. F. (2018). A first inventory of gypsum flora in the Palearctic and Australia. *Mediterranean botany*, 39: 35-49. <https://doi.org/10.5209/mbot.59428>
- Puy, J., De Bello, F., Dvořáková, H., Medina, N. G., Latzel, V., & Carmona, C. P. (2020). Competition-induced transgenerational plasticity influences competitive interactions and leaf decomposition of offspring. *New Phytologist*, 229: 3497-3507.

- R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rahbarian, R., Khavari-Nejad, R. A., Balestrini, R., Bagheri, A., & Najafi, F. (2011). Drought Stress Effects on Photosynthesis, Chlorophyll Fluorescence and Water Relations in Tolerant and Susceptible Chickpea (*Cicer Arietinum* L.) Genotypes. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 53.
- Rahman, M., & Ungar, I. A. (1994). The effect of competition and salinity on shoot growth and reproductive biomass of *Echinochloa crus-galli*. *Aquatic Botany*, 48: 343-353.
- Shavrukov, Y., Kurishbayev, A., Jatayev, S., Shvidchenko, V., Zotova, L., Koekemoer, F., De Groot, S., Soole, K. L., & Langridge, P. (2017). Early Flowering as a Drought Escape Mechanism in Plants: How Can It Aid Wheat Production? *Frontiers in Plant Science*, 8.
- Speißer, B., Wilschut, R. A., & Van Kleunen, M. (2022). Number of simultaneously acting global change factors affects composition, diversity and productivity of grassland plant communities. *Nature communications*, 13: 7811.
- Valladares, F., Aranda, I., & Sánchez-Gómez, D. (2004). La luz como factor ecológico y evolutivo para las plantas y su interacción con el agua. *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante*, 335-369.
- Vermeulen, P. B. (2014). On selection for flowering time plasticity in response to density. *New Phytologist*, 205: 429–439.
- Vicente-Serrano, S. M., López-Moreno, J. I., Beguería, S., Lorenzo-Lacruz, J., Sanchez-Lorenzo, A., Beguería, S., Azorin-Molina, C., Morán-Tejeda, E., Revuelto, J., Trigo, R. M., Coelho, F., & Espejo, F. J. J. (2014). Evidence of increasing drought severity caused by temperature rise in southern Europe. *Environmental Research Letters*, 9: 044001.
- Viceto, C., Pereira, S., & Rocha, A. (2019). Climate Change Projections of Extreme Temperatures for the Iberian Peninsula. *Atmosphere*, 10: 229.
- Wellstein, C., Poschlod, P., Gohlke, A., Chelli, S., Campetella, G., Rosbakh, S., Canullo, R., Kreyling, J., Jentsch, A., & Beierkuhnlein, C. (2017). Effects of extreme drought on specific leaf area of grassland species: A meta-analysis of experimental studies in temperate and sub-Mediterranean systems. *Global Change Biology*, 23: 2473-2481.
- West-Eberhard, M. J. (1989). Phenotypic Plasticity and the Origins of Diversity. *Annual review of ecology and systematics*, 20; 249-278.
- Wright, G. J., Rao, R. R., & Farquhar, G. D. (1994). Water-Use Efficiency and Carbon Isotope Discrimination in Peanut under Water Deficit Conditions. *Crop Science*, 34: 92-97.

- Xiao, X., Yang, F., Zhang, S., Korpelainen, H., & Li, C. (2009). Physiological and proteomic responses of two contrasting *Populus cathayana* populations to drought stress. *Physiologia Plantarum*, 136: 150–168.
- Xu, C., & Leskovar, D. I. (2015). Effects of *A. nodosum* seaweed extracts on spinach growth, physiology and nutrition value under drought stress. *Scientia Horticulturae*, 183: 39-47.
- Xu, Z., Hu, T., Wang, K., Zhang, Y., & Junren, X. (2009). Short-term responses of phenology, shoot growth and leaf traits of four alpine shrubs in a timberline ecotone to simulated global warming, Eastern Tibetan Plateau, China. *Plant Species Biology*, 24: 27-34.
- Zandalinas, S. I., Mittler, R., Balfagón, D., & Gómez-Cadenas, A. (2017). Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. *Physiologia Plantarum*, 162: 2-12.
- Zandalinas, S. I., & Mittler, R. (2022). Plant responses to multifactorial stress combination. *New Phytologist*, 234: 1161-1167.
- Zhang, X., Zang, R., & Li, C. (2004). Population differences in physiological and morphological adaptations of *Populus davidiana* seedlings in response to progressive drought stress. *Plant Science*, 166: 791-797.
- Zhou, J., & Wan, S. (2013). Independent effects of warming and nitrogen addition on plant phenology in the Inner Mongolian steppe. *Annals of Botany*, 111: 1207-1217.
- Zhu, J., Zhu, H., Cao, Y., Li, J., Zhu, Q. M., Yao, J., & Xu, C. (2020). Effect of simulated warming on leaf functional traits of urban greening plants. *BMC Plant Biology*, 20.