

# Áreas marginales en ecosistemas alpinos: definición y valor evolutivo en un contexto de cambio climático

Javier Morente-López<sup>1,2\*</sup> , Carlos Lara-Romero<sup>1,3</sup>, Alfredo García-Fernández<sup>1</sup>, María Luisa Rubio Teso<sup>1</sup> , Samuel Prieto-Benítez<sup>4</sup> , José María Iriondo<sup>1</sup>

- (1) Área de Biodiversidad y Conservación, Dpto. de Biología, Geología, Física y Química Inorgánica, ESCET, Universidad Rey Juan Carlos, C/ Tulipán s/n, 28933 Móstoles, Madrid, Spain.
- (2) Departamento de Botánica, Ecología y Fisiología Vegetal, Facultad de Farmacia, Universidad de La Laguna, Entrada Campus Anchieta, 4, 38206 San Cristóbal de La Laguna, Santa Cruz de Tenerife, Spain.
- (3) Área de Ecología. Departamento de Ciencias de la Vida, Universidad de Alcalá (UAH), Edificio Ciencias, Campus Universitario, Alcalá de Henares, Crta. Madrid-Barcelona km 33.600, E-28805, Alcalá de Henares, Madrid, Spain.
- (4) Grupo de Ecotoxicología y Contaminación del Aire, Departamento de Medio Ambiente, CIEMAT, Av. Complutense, 40, 28040 Madrid, Spain.

\* Autor de correspondencia: Javier Morente-López [[javimorente@gmail.com](mailto:javimorente@gmail.com)]

> Recibido el 12 de febrero de 2021 - Aceptado el 29 de marzo de 2021

**Cómo citar:** Morente-López, J., Lara-Romero, C., García-Fernández, A., Rubio Teso, M.L., Prieto-Benítez, S., Iriondo, J.M. 2021. Áreas marginales en ecosistemas alpinos: definición y valor evolutivo en un contexto de cambio climático. *Ecosistemas* 30(1): 2178. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2178>

## Áreas marginales en ecosistemas alpinos: definición y valor evolutivo en un contexto de cambio climático

**Resumen:** En el contexto de cambio climático en el que nos encontramos, cada vez más poblaciones se ven sometidas a presiones selectivas extremas definitorias de una marginalidad ambiental. Determinar el valor evolutivo y el potencial adaptativo de las poblaciones marginales sigue siendo un reto de enorme importancia actualmente y tiene implicaciones directas sobre la conservación de la biodiversidad. Para afrontar este reto conviene considerar de manera integradora los principales factores que influyen en los procesos de adaptación evolutiva (diversidad genética, presiones selectivas y flujo genético). En este trabajo presentamos una hoja de ruta que parte de la definición del concepto de marginalidad ambiental a la integración de experimentos de campo y laboratorio, incluyendo la utilización de modelos de nicho ecológico, estudios genéticos y genómicos, experimentos de jardín común *in situ* y *ex situ*, simulaciones de flujo genético y siembras recíprocas, con el fin de determinar el potencial evolutivo que reside en poblaciones que habitan áreas ambientalmente marginales y, por tanto, también su valor de conservación. Para ello utilizamos como caso de estudio la investigación llevada a cabo con *Silene ciliata* en las poblaciones del Sistema Central. Nuestros estudios indican que algunas de las poblaciones que habitan en áreas marginales mantienen niveles considerables de diversidad genética y presentan claras evidencias de adaptación local. En consecuencia, estos resultados destacan el relevante valor de conservación que pueden tener las poblaciones marginales, especialmente en un contexto de cambio climático.

**Palabras clave:** adaptación; flujo genético; diversidad genética; presiones selectivas; *Silene ciliata*

## Marginal areas in alpine ecosystems: definition and evolutionary value in a context of climate change

**Abstract:** In the context of climate change, populations are increasingly being subjected to the extreme selective pressures that define environmental marginality. The determination of the evolutionary value and adaptive potential of marginal populations is still a challenge of great relevance and has direct implications on biodiversity conservation. To face this challenge, it is advisable to take into account the main factors that affect evolutionary adaptation (genetic diversity, selective pressures and gene flow). In this work, we present a roadmap that starts with the definition of the concept of environmental marginality and integrates field experiments with lab work, including the use of environmental niche models, genetic and genomic studies, *in situ* and *ex situ* common garden experiments, gene flow simulations and reciprocal sowings, to determine the evolutionary potential of populations that occur in environmentally marginal areas, and, thus, their conservation value. For this purpose, we used as a study case the research carried out on *Silene ciliata* populations in the Central System. Our studies show that some populations that occur in marginal areas keep significant high levels of genetic diversity and present clear evidences of local adaptation. Therefore, these results outline the relevant conservation value that marginal populations may have, especially in a context of climate change.

**Keywords:** adaptation; genetic flow; genetic diversity; selective pressures; *Silene ciliata*

## Introducción

### Respuesta de los organismos al cambio climático

Una de las principales respuestas de las especies frente al escenario actual de cambio climático es modificar su distribución geográfica, migrando a latitudes o altitudes superiores siguiendo su

nicho ambiental actual, lo que en muchos casos conlleva una reducción del área de ocupación (Thuiller 2004; Thomas et al. 2006; Gienapp et al. 2008; Thuiller et al. 2008; Thomas 2010; Gottfried et al. 2012; Pauli et al. 2012; Merow et al. 2014). Sin embargo, la migración puede no ser eficaz para algunas especies con movilidad limitada, ya que la tasa de cambio ambiental puede ser más rápida que su capacidad para dispersarse (Davis y Shaw 2001; Thuiller

2004; Thuiller et al. 2005; Dullinger et al. 2012). En tal caso, la única alternativa a la extinción es permanecer en el lugar ajustando el fenotipo a las nuevas condiciones ambientales mediante procesos de adaptación evolutiva (en adelante adaptación) y/o plasticidad fenotípica (Davis et al. 2005; Jump y Peñuelas 2005; Gienapp et al. 2008; Chuine 2010). La adaptación implica la acción de una fuerza selectiva que conforma un cambio genético y la modificación de uno o más rasgos específicos, incrementando la eficacia biológica en un hábitat determinado (Reeve y Sherman 1993; Kawecki y Ebert 2004). La plasticidad fenotípica se refiere a la capacidad de un individuo para expresar diferentes combinaciones de rasgos según el entorno predominante (Bradshaw 1965) y permite un ajuste más rápido al cambio climático que la adaptación evolutiva (Sultan 2000; Miner et al. 2005). Sin embargo, a largo plazo, las respuestas plásticas pueden ser insuficientes para mantener la eficacia biológica y solo la adaptación brindaría una oportunidad para que las poblaciones se mantuvieran adaptadas *in situ* durante períodos prolongados de tiempo (Bradshaw 1965; Bradshaw y Mcneilly 1991; Dewitt et al. 1998; de Jong 2005; Jump y Peñuelas 2005; Gienapp et al. 2008). No obstante, conviene mencionar que se ha documentado el carácter heredable de la plasticidad fenotípica, lo que haría que esta estrategia también se viese enmarcada dentro de la adaptación evolutiva (Matesanz et al. 2010; Franks y Hoffmann 2012).

### Factores que influyen sobre la adaptación evolutiva

Para comprender los procesos adaptativos es necesario estudiar conjuntamente los tres factores principales interconectados que influyen en el potencial adaptativo de las poblaciones: las presiones selectivas, la diversidad genética presente en las poblaciones y el flujo genético (Kawecki y Ebert 2004; Kawecki 2008; Blanquart et al. 2013).

La selección natural tiene lugar cuando se producen cambios en las frecuencias fenotípicas de las poblaciones debido a los efectos de las presiones selectivas (Endler 1986; Wade y Kalisz 1990). Las fuerzas de selección natural suelen variar en el espacio, generando interacciones genotipo-ambiente en relación con la eficacia biológica. En ausencia de otras fuerzas evolutivas, cuando existen presiones selectivas diferenciales sobre las poblaciones en ambientes heterogéneos, se espera que surjan patrones de adaptación local a lo largo de un mosaico geográfico (Thompson 2005; Blanquart et al. 2013).

La resiliencia de las especies a entornos cambiantes depende en gran medida de su diversidad genética (Lande y Shannon 1996; Frankham et al. 2002), ya que la disponibilidad de variación genética a lo largo del tiempo y la capacidad de que surjan nuevos alelos y permanezcan en las poblaciones influyen directamente en la aparición y selección de adaptaciones exitosas (Kawecki y Ebert 2004; Hancock et al. 2012). Por tanto, la reducción de la variación genética puede limitar los procesos de adaptación en las poblaciones (Barrett y Schluter 2007).

El flujo genético influye de manera directa en la diversidad y diferenciación genética de las poblaciones, la selección y, por lo tanto, en los procesos de adaptación evolutiva (Eckert et al. 2008; Hoffmann y Sgró 2011; Sexton et al. 2011; Kelly y Phillips 2019). El flujo genético puede facilitar los procesos de adaptación aumentando el tamaño efectivo de la población y disminuyendo la pérdida de diversidad genética, mejorando así la eficacia biológica (Lesica y Allendorf 1995; Eckert et al. 2008; Ohsawa e Ide 2008; Hardie y Hutchings 2010; Fedorka et al. 2012). Por otra parte, el flujo genético también puede homogeneizar las frecuencias alélicas y limitar la respuesta a la selección dentro de cada entorno (Hendry y Taylor 2004; Micheletti y Storfer 2020). En última instancia, el flujo genético favorecerá o dificultará la adaptación evolutiva a las condiciones locales según la naturaleza adaptativa o mal adaptativa de los nuevos alelos entrantes que se incorporen a las poblaciones (Lenormand 2002; Fitzpatrick y Reid 2019; Hoffmann et al. 2021) y

según la magnitud del flujo génico en relación con el tamaño de la población receptora. Por tanto, el valor evolutivo del flujo genético está directamente relacionado con las características de la fuente de origen del mismo y de la población receptora (Sexton et al. 2011).

En este contexto, la identificación de las presiones selectivas que dan lugar a procesos de selección, la cuantificación y caracterización de la diversidad y estructura genética, así como la identificación de flujo genético con valor adaptativo, son factores fundamentales a la hora de desentrañar los procesos de adaptación evolutiva a escala local (Hoffmann y Sgró 2011; Kawecki y Ebert 2004).

### Áreas marginales: definición y valor de conservación en el contexto del cambio climático

Las poblaciones que se sitúan en diferentes lugares dentro del rango de una especie pueden experimentar una variabilidad ambiental que causa diferencias demográficas, genéticas y fenotípicas entre ellas (Soule 1973; Gaston 2009; Hardie y Hutchings 2010; Pironon et al. 2015, 2017). A menudo, se asume que las condiciones ambientales son óptimas en el centro geográfico del área de distribución de una especie y subóptimas en la periferia (Brown 1984; Hoffmann y Blows 1994; Holt y Keitt 2005), lo que lleva a suponer que las poblaciones geográficamente periféricas son ecológicamente marginales. Sin embargo, esta suposición ha sido muy cuestionada (Soule 1973; Hardie y Hutchings 2010; Soley-Guardia et al. 2014; Pironon et al. 2015) y varios autores proponen definir áreas centrales y marginales dentro de las distribuciones de especies considerando la variabilidad ambiental y no solo la ubicación geográfica (e.g. Hargrove y Rotenberry 2011; Pouget et al. 2013; Pironon et al. 2017). Se espera que las poblaciones que habitan en áreas ambientalmente marginales (de ahora en adelante, "poblaciones marginales") experimenten condiciones ambientales más estresantes y, por tanto, sean más pequeñas, menos abundantes y más fragmentadas que las poblaciones ambientalmente óptimas (Kawecki 2008; Pironon et al. 2017). Esto puede conducir a una reducción del tamaño efectivo poblacional y un menor flujo de genes entre poblaciones y, en consecuencia, reducciones en los niveles de diversidad genética neutral y adaptativa a través de la deriva genética y la endogamia (Eckert et al. 2008; Kawecki 2008). Como resultado, las poblaciones marginales pueden acabar teniendo una significativa carga genética, es decir, individuos peor adaptados, debido a la pérdida de heterosis y la acumulación de alelos deletéreos en homocigosis. Por otro lado, cuando una población marginal es capaz de mantener una diversidad genética relevante, las presiones selectivas causadas por las condiciones ambientales estresantes pueden generar nuevas adaptaciones, lo que confiere a estas poblaciones un potencial evolutivo distinto (Kawecki 2008; Rolland et al. 2015; Abeli y Orsenigo 2018) y, por tanto, un valor adaptativo emergente.

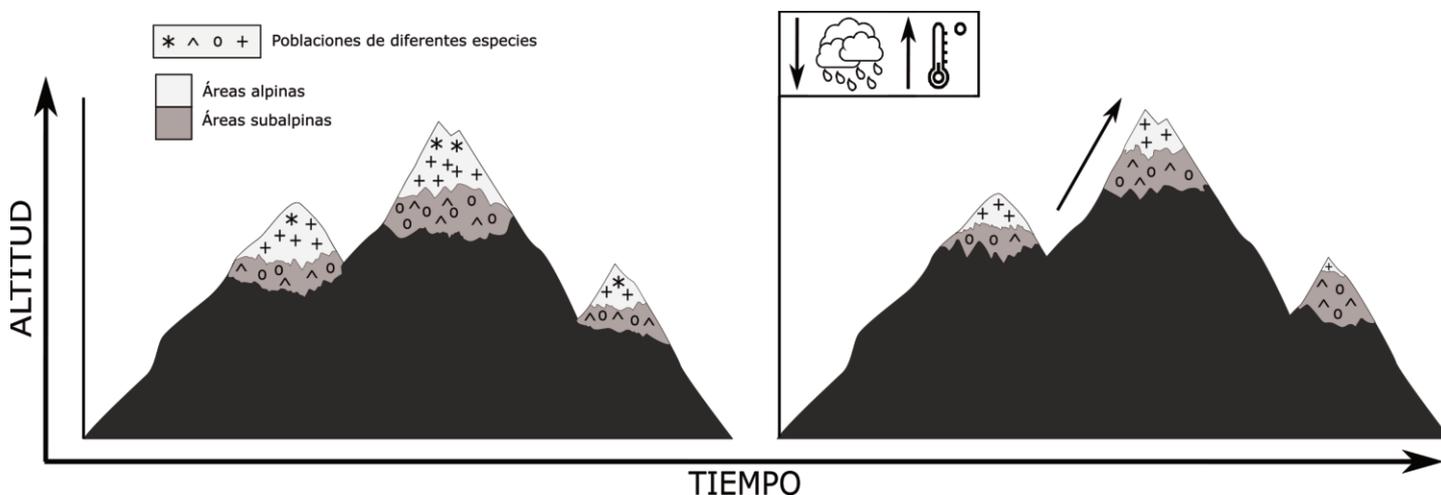
En las últimas décadas ha permanecido abierto un debate sobre el valor de conservación de las poblaciones que habitan áreas ambientalmente marginales (Millar y Libby 1991; Hunter y Hutchinson 1994; Lesica y Allendorf 1995; Abeli et al. 2014; Papuga et al. 2018), que, en gran medida, depende de la valoración de su potencial evolutivo (Vucetich y Waite 2003). Si las poblaciones marginales están genéticamente empobrecidas, pueden tener poca relevancia en términos de potencial evolutivo (Eckert et al. 2008). Por otro lado, si las poblaciones marginales mantienen una variación genética sustancial, pueden responder a las presiones selectivas y desempeñar un papel importante en la generación y mantenimiento de diversidad biológica (Channell y Lomolino 2000). Por lo tanto, el estudio de las presiones selectivas, la diversidad genética y el flujo genético puede brindarnos conocimientos útiles sobre los procesos evolutivos que están sucediendo en las poblaciones marginales.

## Ecosistemas alpinos y *Silene ciliata* como caso de estudio para la evaluación de procesos adaptativos en áreas marginales

Dadas las características inherentes de los sistemas montañosos, en estos hallamos importantes gradientes ecológicos responsables de la generación de ambientes óptimos y marginales para una especie, con independencia de que nos encontremos en el centro o en la periferia geográfica de su rango de distribución. Por ello constituyen un escenario excelente para analizar el valor evolutivo de las poblaciones ambientalmente marginales. El entorno montañoso se caracteriza por ser variable a escala local, ya que pequeños cambios de elevación pueden provocar grandes cambios de temperatura, humedad, y otras variables (Hovenden y Vander Schoor 2003; Körner 2003; Klinges y Scheffers 2021). Por lo tanto, las presiones selectivas que afectan a las plantas en estas áreas pueden cambiar a una escala relativamente pequeña (Herrera y Bazaga 2008). En los ecosistemas montañosos, las áreas espacialmente próximas, pero ambientalmente lejanas, posibilitan el flujo de genes entre poblaciones que habitan en ambientes diferentes (García-Fernández et al. 2012b; Lara-Romero et al. 2016a; Yang et al. 2016). Además, las plantas de montaña tienen límites de elevación superior e inferior definidos, con poblaciones adaptadas localmente a lo largo de gradientes ambientales pronunciados (Byars et al. 2007; Giménez-Benavides et al. 2007; Scheepens y Stöcklin 2013). En este contexto, se espera que las tasas de calentamiento climático proyectadas tengan un gran impacto en los ecosistemas de montaña (Körner 2003; Pepin et al. 2015), particularmente en las comunidades de plantas alpinas (Thuiller et al. 2005; Gottfried et al. 2012; Steinbauer et al. 2018). Los movimientos de las especies en respuesta al cambio climático son particularmente conspicuos en los ecosistemas alpinos, donde se está produciendo un desplazamiento ascendente de especies en distancias cortas (Gottfried et al. 2012; Pauli et al. 2012; Steinbauer et al. 2018). Sin embargo, para aquellas poblaciones que ya habi-

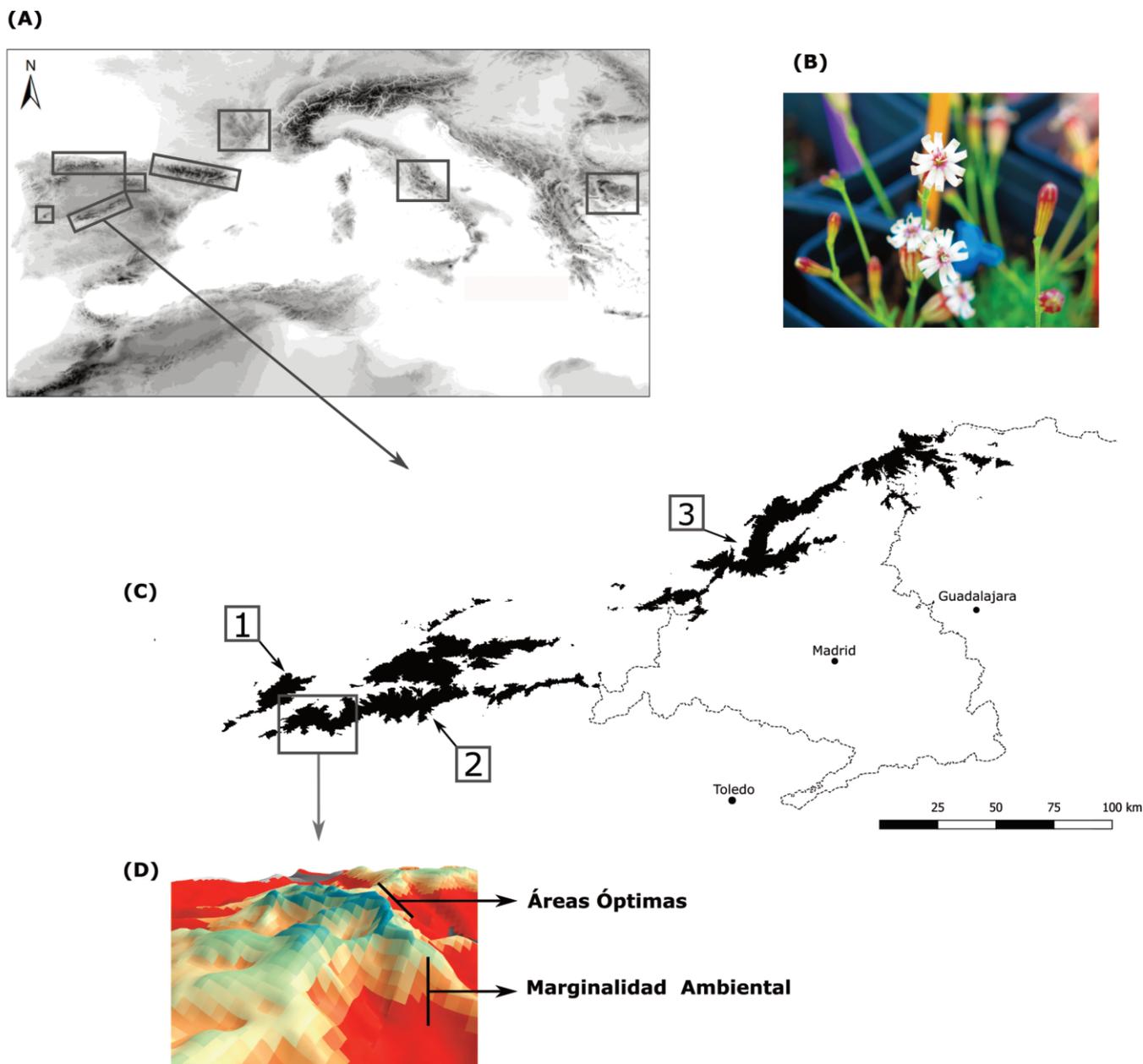
tan los picos de los sistemas montañosos alpinos, la migración hacia cotas más altas ya no es posible (Marris 2007; Steinbauer et al. 2018; Walther 2003; Walther et al. 2005) (Fig. 1). Esto puede resultar en la extinción de especies si las poblaciones no son capaces de adaptarse evolutivamente a las condiciones cambiantes.

*Silene ciliata* Pourret (Caryophyllaceae) es una planta alpina que constituye un excelente caso de estudio para procesos de adaptación evolutiva (Fig. 2B). Esta planta perenne de vida larga se encuentra en áreas por encima del límite arbóreo en las cadenas montañosas mediterráneas del sur de Europa, desde el Sistema Central de la península ibérica hasta el Macizo Central en Francia, los Apeninos en Italia y la Península Balcánica (Tutin et al. 1964; Kyrkou et al. 2015). Esta especie alcanza su distribución más meridional en el Sistema Central, permaneciendo aislada de las poblaciones más septentrionales de la península ibérica (Fig. 2A). Las poblaciones que habitan el Sistema Central alcanzan las cumbres de las montañas y, por lo tanto, el desplazamiento hacia cotas más altas ya no es posible. Su sistema de cruzamiento mixto (autogamia, geitonogamia y xenogamia facultativa), el corto rango de dispersión de sus semillas (Lara-Romero et al. 2014), su área de ocupación relativamente pequeña y el aislamiento de sus poblaciones pueden favorecer la aparición de patrones adaptativos locales. La especie presenta una dinámica demográfica que conduce a la extinción en su límite de elevación inferior, donde también se ha detectado evidencia de mayor depresión endogámica (Giménez-Benavides et al. 2008; Giménez-Benavides et al. 2011b; García-Fernández et al. 2012a; Lara-Romero et al. 2016a). En paralelo, se han identificado procesos de diferenciación genética y adaptación en estas mismas poblaciones relacionados con la germinación y el establecimiento de plántulas, la fenología de floración y la tolerancia a la sequía (Giménez-Benavides et al. 2007; Giménez-Benavides et al. 2011a; García-Fernández et al. 2013a; García-Fernández et al. 2014), lo cual podría dotarlas de potencial adaptativo.



**Figura 1.** Movimiento hacia mayores elevaciones y confinamiento en las cumbres de los hábitats alpinos en respuesta al cambio climático. Cuando las especies alcanzan la cima de las montañas como respuesta al cambio en las condiciones ambientales, ya no es posible encontrar más hábitats adecuados y la adaptación evolutiva es la única opción para que las especies sobrevivan en determinadas zonas. En el contexto de aumento de temperatura y disminución de precipitaciones debido al cambio climático, los ecosistemas alpinos están cambiando su rango altitudinal. En consecuencia, las poblaciones de especies alpinas se están volviendo escasas y fragmentadas, y por ello las especies que habitan estos ambientes se vuelven cada vez más raras y en riesgo de extinción. Las áreas blancas y grises representan áreas alpinas y subalpinas respectivamente. Los diferentes símbolos representan poblaciones de diferentes especies que habitan áreas alpinas y subalpinas, indicando que, con el paso del tiempo y la acción del cambio climático, una especie del área alpina se extingue y el resto experimentan cambios de abundancia.

**Figure 1.** Shift toward higher elevation and lockdown at the peaks of the alpine habitats in response to climate change. When the species reach the mountain peaks in response to change in environmental conditions, it is not possible to find additional suitable habitats and evolutionary adaptation is the only option for species to survive in certain areas. In the context of temperature increase and reduction of rainfall due to climate change, alpine ecosystems are changing their altitudinal range. Consequently, alpine species populations are becoming more scarce and fragmented, and the species that inhabit these environments become rarer and endangered. White and grey areas represent alpine and subalpine areas, respectively. The different symbols represent population of different species that inhabit alpine and subalpine areas. As time and the action of climate change progress, one alpine species becomes extinct and the rest experience changes in abundance.



**Figura 2.** A) Distribución de *S. ciliata*. B) Detalle de la flor de *S. ciliata*. C) Las poblaciones más meridionales de *Silene ciliata* se encuentran en el Sistema Central de la península ibérica. Este sistema montañoso de orientación suroeste-noreste está compuesto por tres sierras principales: (1) Béjar, (2) Gredos y (3) Guadarrama. D) En el Sistema Central existe un marcado gradiente ambiental para *S. ciliata*. Dentro de este gradiente que comúnmente encontramos en los ecosistemas alpinos se pueden identificar áreas ambientalmente óptimas y marginales para las especies. En estas últimas pueden emerger procesos de adaptación evolutiva atendiendo a determinadas presiones selectivas.

**Figure 2.** A) Distribution of *S. ciliata*, B) Detail of *S. ciliata* flower. C) The southernmost populations of *Silene ciliata* are found in the Central System of the Iberian Peninsula. This mountain system of southwest-northeast orientation is composed of three main mountain ranges: (1) Béjar, (2) Gredos and (3) Guadarrama. D) In the Central System a marked environmental gradient is found for *S. ciliata*. Within this gradient commonly found in alpine ecosystems, optimal and marginal areas for the species are found. In the latter, evolutionary adaptation processes may emerge attending specific selective pressures.

### Objetivos e hipótesis generales en el marco del estudio del valor adaptativo de las poblaciones marginales

El presente artículo resume los resultados de nuestra investigación reciente en ecosistemas alpinos con *S. ciliata* para destacar el potencial adaptativo que reside en poblaciones que habitan áreas ambientalmente marginales y, por tanto, también su valor de conservación, contextualizándolos en el marco de otros estudios desarrollados en ecosistemas alpinos. Presentamos una hoja de ruta para afrontar el estudio de procesos adaptativos de poblaciones que habitan áreas marginales utilizando un enfoque integrador y multidisciplinar, siguiendo los tres principales factores que influyen en los procesos adaptativos (diversidad genética, presiones selectivas y flujo genético) (Fig. 3). Hipotetizamos que las poblaciones que ha-

bitan áreas marginales son capaces de desarrollar procesos adaptativos en presencia de presiones selectivas derivadas de la marginalidad ambiental. Así pues, estas poblaciones desarrollarán diferenciaciones fenotípicas de base genética a pesar de su posible empobrecimiento genético derivado del aislamiento y la fragmentación. La diferenciación ambiental entre poblaciones marginales y óptimas se verá reflejada también en la estructura genética interpopulacional. En este contexto, hipotetizamos también que el potencial adaptativo de las poblaciones marginales estará condicionado al flujo genético con otras poblaciones y, en concreto, a su similitud ambiental, así como a las características genéticas de las poblaciones. En este sentido, esperamos un mayor incremento del potencial adaptativo cuanto mayor sea la similitud ambiental y la diversidad genética de las poblaciones receptora y de origen del flujo.



**Figura 3.** El valor de conservación de las poblaciones marginales todavía está en debate y depende estrechamente de su capacidad de adaptación. Se han descrito tres factores principales que influyen en los procesos adaptativos: disponibilidad de diversidad genética, actuación de presiones selectivas y flujo genético.

**Figure 3.** The conservation value of marginal populations is still under debate and closely depends on their adaptive potential. Three main factors that affect adaptive processes have been described: availability of genetic diversity, action of selective pressures and gene flow.

## Estudio multidisciplinar del valor adaptativo de las poblaciones marginales: el caso de *Silene ciliata*

A pesar de que el estudio de los procesos adaptativos y el marco conceptual de la adaptación han estado estrechamente relacionados con las poblaciones que habitan áreas marginales (e.g. Kawecki 2008; Sexton et al. 2009; Fréjaville et al. 2020), la capacidad de los procesos adaptativos para emerger en áreas marginales sigue sin estar clara y es probable que sea multifactorial y contexto-dependiente (García-Ramos y Kirkpatrick 1997; Barton 2001; Kawecki 2008; Blanquart et al. 2013; Ledoux et al. 2015). En este sentido, hemos desarrollado una serie de estudios multidisciplinarios e interconectados con el fin de desentrañar el potencial adaptativo de poblaciones de plantas alpinas mediterráneas que habitan en áreas ambientalmente marginales. Como primer paso delimitamos el concepto de marginalidad en ambientes alpinos, para luego estudiar los procesos adaptativos de *S. ciliata* en áreas marginales, cubriendo los principales factores que influyen en el potencial adaptativo (Fig. 3). De esta manera, pudimos esclarecer el valor evolutivo de algunas de las poblaciones que habitan áreas marginales y, por tanto, justificar su valor de conservación.

### Definición de marginalidad e identificación de presiones selectivas en el estudio de procesos adaptativos

El primer paso para comprender el valor de conservación de las poblaciones marginales es la identificación de las áreas marginales. Los modelos de nicho ecológico (conocidos por sus siglas en inglés ENM: *environmental niche models*) han sido ampliamente utilizados para estudiar los factores ambientales que determinan la distribución de especies y para proyectar el impacto que en ella provocará el cambio climático (Guisan y Thuiller 2005; Peterson et al. 2011). Sin embargo, los ENM pueden ser también una poderosa herramienta para identificar de manera precisa áreas ambientalmente marginales dentro del rango de distribución de una especie y para generar hipótesis sobre las variables ambientales más limitantes. En nuestro estudio, se utilizaron ENM para delimitar la dife-

renciación ambiental entre áreas marginales y óptimas e identificar las presiones selectivas que actúan sobre la distribución de *S. ciliata* a lo largo del Sistema Central (Fig. 2C) (Morente-López et al. 2020a). El ENM se construyó teniendo en cuenta exclusivamente las condiciones ambientales de las poblaciones del Sistema Central. Las áreas por debajo del primer tercil y por encima del segundo tercil en valores de idoneidad de hábitat obtenidos por medio del ENM fueron asignadas, respectivamente, como áreas marginales y óptimas dentro del rango de distribución de la especie (Fig. 2D). La presencia de la capa de nieve durante los meses de deshielo y la temperatura mínima del mes más frío fueron propuestos por el ENM seleccionado como los factores determinantes de la marginalidad ambiental. Estas variables están estrechamente relacionadas con la historia natural y las tendencias demográficas de la especie, afectando al momento y al éxito de etapas vitales cruciales como son la germinación y establecimiento de plántulas y la floración (Giménez-Benavides et al. 2005, 2007; Giménez-Benavides et al. 2011a; García-Fernández et al. 2014). El uso de ENM nos permitió confirmar la existencia de un mosaico de áreas óptimas y marginales a lo largo de la distribución de *Silene ciliata* en el Sistema Central. Las áreas marginales se corresponden con lugares a menor elevación mientras que las áreas óptimas se localizan en elevaciones mayores (Fig. 2D), independientemente de la ubicación geográfica más central o periférica.

### La diversidad genética como materia prima para que surjan los procesos adaptativos

Contrariamente a nuestras expectativas iniciales, nuestros estudios con marcadores moleculares neutrales no encontraron un mayor empobrecimiento genético en las poblaciones marginales de *S. ciliata* comparadas con las poblaciones óptimas situadas a mayor elevación (García-Fernández et al. 2012a; Lara-Romero et al. 2016b; Morente-López et al. 2018). Dado que se encontraron niveles sustanciales de diversidad genética, las poblaciones marginales estudiadas podrían mantener un elevado potencial evolutivo (Kawecki 2008; Rolland et al. 2015). Estudios previos sobre *S. ciliata* encontraron tamaños poblacionales pequeños, tasas demográficas negativas y bajo rendimiento reproductivo de poblaciones que habitan en áreas marginales, lo que puede parecer contradictorio con los niveles de diversidad genética similares a los encontrados en poblaciones en áreas óptimas (Giménez-Benavides et al. 2011b; Lara-Romero et al. 2014; Lara-Romero et al. 2016b). Además, en otro de nuestros estudios, encontramos que la simulación de flujo genético forzado por medio de movimiento de polen desde otras poblaciones mejoró ligeramente la germinación y la supervivencia de las plántulas en poblaciones marginales (Morente-López et al. 2020b), sugiriendo la presencia de una carga genética significativa. En otras especies de montaña se han detectado patrones similares de importantes niveles de diversidad genética en poblaciones marginales y efectos positivos del flujo genético en las poblaciones marginales (Wei et al. 2016; Yang et al. 2016; Tóth et al. 2019; Fassou et al. 2020; González-Díaz et al. 2020).

Teniendo todo esto en consideración, es importante distinguir entre patrones y procesos actuales y pasados. La última glaciación hizo que las plantas alpinas descendieran de los picos de las montañas, dejando toda la diversidad genética en los límites inferiores del gradiente de elevación (Knowles 2001; Tzedakis et al. 2002; Holderegger y Thiel-Egenter 2009). Al finalizar la última glaciación, el nicho ambiental óptimo se desplazó hacia cotas mayores. Esta hipótesis del efecto homogeneizador de las glaciaciones sobre la diversidad genética es compatible con los resultados obtenidos mediante modelos demográficos basados en coalescencia a partir de datos genómicos obtenidos de un estudio de secuenciación masiva (Lara-Romero et al. resultados sin publicar). Por otra parte, el flujo genético detectado entre poblaciones a diferentes elevaciones, favorece igualmente el mantenimiento de la diversidad genética en las poblaciones (Morente-López et al. 2018). Es posible que este proceso del pasado reciente haya sido responsable de la actual existencia de valores comparables de diversidad genética a lo largo

del gradiente de elevación, a pesar del evidente proceso de deterioro demográfico que sufren las poblaciones del límite inferior en las últimas décadas

### Determinación del efecto de las presiones selectivas sobre poblaciones marginales

El motor para que se manifiesten los procesos de adaptación local son las presiones selectivas espacialmente heterogéneas, que hacen que las poblaciones desarrollen diferencias genéticas de valor adaptativo. Atendiendo a dichas presiones selectivas, las poblaciones pueden mostrar tanto estructuración genética como diferenciación fenotípica de base genética, esta última estrechamente relacionada con el desarrollo de procesos de adaptación evolutiva (Kawecki 2008). Los patrones de estructura genética inducidos por el medio ambiente se pueden detectar utilizando marcadores neutrales, ya que la señal de selección puede extenderse a áreas del genoma más allá de los genes que están bajo selección (Shafer y Wolf 2013; Sexton et al. 2014; Kern y Hahn 2018). Sin embargo, en nuestro marco de estudio con *S. ciliata*, la estructura genética poblacional obtenida mediante microsatélites no fue capaz de detectar cambios genéticos relacionados con diferencias ambientales y, por tanto, con potenciales procesos adaptativos (Morente-López et al. 2018). Esto es de nuevo coherente con el flujo genético detectado entre poblaciones a diferentes elevaciones (Morente-López et al. 2018). En otras especies de montaña, los resultados del análisis de la estructura genética en un contexto de centro-periferia han mostrado una gran contexto-dependencia (Yang et al. 2016; Meng et al. 2019; Tóth et al. 2019; Adamo et al. 2020).

Como estos patrones son ciertamente más difíciles de detectar cuanto menor es el número de loci utilizados en el estudio, la falta de una señal ambiental en la estructura genética no excluye la existencia de procesos adaptativos. En este sentido, en un estudio paralelo del transcriptoma (RNA-seq) realizado con las mismas poblaciones de *S. ciliata* se identificó un conjunto de genes candidatos con una diferenciación en la frecuencia de alelos (Single Nucleotide Polymorphisms, en adelante SNPs) inusualmente alta entre ambientes marginales y óptimos (Sacristán-Bajo et al. 2019), lo que respalda la existencia de presiones selectivas de naturaleza ambiental. Muchos de estos genes candidatos están asociados con las rutas de desarrollo de la flor y procesos de respuesta al estrés abiótico (Sacristán-Bajo et al. 2019). Algunos de estos genes han sido nuevamente identificados como candidatos a encontrarse bajo selección en un estudio de secuenciación masiva de ADN aplicando métodos de detección de variantes genéticas sujetas a selección y de estructura genética (Lara-Romero, datos sin publicar).

Los resultados obtenidos en estos estudios genómicos son congruentes con la diferenciación fenotípica de base genética de las poblaciones. Así, nuestros estudios de genética cuantitativa apoyaron la acción de la selección divergente en poblaciones que habitan en condiciones ambientales contrastadas en los extremos del gradiente de elevación (Morente-López et al. 2019; Morente-López et al. 2020a). Estos estudios se basaron en la comparación entre diferenciación genética neutral ( $F_{st}$ ) y diferenciación genética de rasgos fenotípicos ( $P_{st}$ ) entre poblaciones, con el fin de inferir patrones de selección en ambientes contrastados (Merilä y Crnokrak 2001; Preite et al. 2015). En condiciones de jardín común encontramos un patrón de floración más tardía en poblaciones marginales en comparación con las óptimas, e identificamos el pico de floración como un carácter sometido a selección en el pasado (Morente-López et al. 2019). Los patrones de selección encontrados sobre los rasgos fenológicos son congruentes con los análisis de selección realizados en poblaciones naturales por Giménez-Benavides et al. (2011a). Estos resultados subrayan los efectos de las presiones selectivas presentes y pasadas sobre los fenotipos poblacionales, especialmente los relacionados con la fenología de la floración y, por tanto, los procesos adaptativos que los originaron.

### El flujo genético como fuerza que da forma a las respuestas adaptativas

El flujo genético entre poblaciones es una importante fuerza conformadora de los procesos adaptativos, afectando a la diversidad y estructuración genética poblacional y por tanto a la aparición y fijación de alelos adaptativos en las poblaciones. La marcada estructura genética geográfica encontrada en *S. ciliata* muestra el aislamiento entre poblaciones, especialmente entre poblaciones ubicadas en diferentes montañas (Morente-López et al. 2018). Esto es congruente con un patrón de aislamiento por distancia, que es el patrón más común de diferenciación genética en los estudios de genética del paisaje (Jenkins et al. 2010; Cushman et al. 2015), incluidas las plantas alpinas (e.g. Fu et al. 2018; Rogivue et al. 2018; Ren et al. 2020). Sin embargo, nuestros resultados también sugieren la presencia de niveles destacables de flujo genético dentro de cada montaña (García-Fernández et al. 2012b; Morente-López et al. 2018). Este sustancial flujo genético explica la baja diferenciación genética entre poblaciones dentro de la misma montaña y los altos niveles de diversidad genética dentro de las poblaciones encontrados. Otros estudios anteriores han encontrado patrones similares a lo largo de gradientes de elevación (Davis y Shaw 2001; Jump et al. 2009; Halbritter et al. 2015; Meng et al. 2019), lo que hace pensar que la presencia de flujo genético entre poblaciones a diferentes altitudes no es infrecuente en ecosistemas alpinos. Teniendo en cuenta que *S. ciliata* tiene una dispersión de semillas esencialmente barócora, en la que la distancia media de dispersión es menor de 1 m y que esta polinizada por sírfidos, abejorros y polillas, el flujo genético de esta especie tiene lugar esencialmente a través del movimiento de los polinizadores (Lara-Romero et al. 2014).

Se reconoce ampliamente que el flujo genético puede contrarrestar los efectos de la selección divergente (García-Ramos y Kirkpatrick 1997; Lenormand 2002; Yeaman y Whitlock 2011; Tigan y Friesen 2016; Hämälä et al. 2018) y que el flujo genético es más probable y más intenso entre áreas cercanas que a distancias más grandes (Sexton et al. 2009, 2014). Los efectos opuestos entre el flujo genético y las presiones de selección local pueden conducir a diferentes equilibrios de flujo genético - selección a diferentes elevaciones (Linhart y Grant 1996; García-Ramos y Kirkpatrick 1997). Nuestros estudios con *S. ciliata* muestran que la selección pasada y presente actuaron con éxito a pesar del importante flujo genético entre poblaciones que habitan áreas ambientalmente diferenciadas (García-Fernández et al. 2013a; Morente-López et al. 2018, 2019). Por lo tanto, parece que el gradiente ambiental en ecosistemas alpinos es lo suficientemente fuerte como para crear no solo presiones selectivas divergentes efectivas, sino también valores fenotípicos diferenciales en presencia de flujo genético.

A pesar de los niveles sustanciales de flujo genético encontrados entre poblaciones, todavía existen algunos niveles de aislamiento que generan una estructura genética y, en consecuencia, puede existir diferenciación fenotípica asociada a procesos neutrales como la deriva genética, los cuellos de botella o efectos fundadores. En uno de los pocos estudios realizados para testar el efecto diferencial del flujo genético con respecto a su origen, encontramos que la supervivencia de las plántulas resultantes del flujo genético entre poblaciones marginales fue mayor que la de plántulas resultantes del flujo genético de poblaciones óptimas a poblaciones marginales (Morente-López et al. 2020b). Ambas son etapas vitales cruciales para la especie ya que su mayor cuello de botella demográfico se encuentra en la fase de reclutamiento (Giménez-Benavides et al. 2008; Giménez-Benavides et al. 2011b). Las plantas recién reclutadas necesitan alcanzar un tamaño y un sistema radicular desarrollado para poder enfrentarse a la sequía estival y no perecer por estrés hídrico (Giménez-Benavides et al. 2008; Giménez-Benavides et al. 2011b). Este importante resultado apoya la idea de que las diferencias fenotípicas entre áreas óptimas y marginales no son el resultado del azar (i.e. deriva genética) sino que tienen un potencial adaptativo. Por lo tanto, el flujo genético entre poblaciones marginales proporciona a estas una mayor adecuación, al aumentar su

variación genética y proporcionar alelos favorables y/o combinaciones genéticas que son potencialmente adaptativas en tales áreas, ya que han sido desarrolladas bajo las mismas condiciones ambientales (Sexton et al. 2011). Los efectos del flujo genético sobre la eficacia biológica de los individuos pueden variar en función del origen de este flujo, y están directamente relacionados con el contraste en las presiones selectivas que actúan sobre las poblaciones conectadas (Sexton et al. 2011; Bachmann et al. 2020; Micheletti y Storfer 2020). Esto proporciona un apoyo adicional a la existencia de presiones selectivas contrastadas discutida anteriormente que actúan en las áreas marginales y óptimas estudiadas.

### Potencial adaptativo y valor evolutivo de las poblaciones marginales

Para estudiar el potencial adaptativo de poblaciones de manera directa, una de las principales herramientas es evaluar la eficacia biológica asociada a los patrones de diferenciación fenotípica de las poblaciones por medio de siembras trasladadas (Kawecki 2008). Esta metodología ha sido ampliamente utilizada en biología evolutiva con el fin de determinar patrones adaptativos en poblaciones bajo condiciones ambientales contrastadas (Blanquart et al. 2013; Halbritter et al. 2018). En este contexto, los resultados de los experimentos de siembra cruzada realizados con *S. ciliata* mostraron una mayor tasa de supervivencia de las plántulas procedentes de poblaciones marginales, tanto cuando eran sembradas en áreas óptimas como en áreas marginales. Esto indica una mayor capacidad de adaptación de las poblaciones marginales que de las poblaciones óptimas a las condiciones ambientales existentes en las fases de germinación y establecimiento (Morente-López et al. 2020b). Este hallazgo asegura y refuerza el potencial adaptativo presente en poblaciones marginales expuesto en puntos anteriores basado en la diversidad genética presente y la capacidad de las poblaciones de divergir fenotípicamente en respuesta a unas presiones selectivas dadas (García-Fernández et al. 2012a; Lara-Romero et al. 2016a; Morente-López et al. 2018). Por tanto, las poblaciones marginales tienen un valor evolutivo que puede ser muy relevante para la conservación de la especie (Channell 2004). Cabe señalar que nuestros resultados muestran que las poblaciones marginales y óptimas poseen adaptaciones diferenciales y que el acervo genético combinado es más valioso que cualquiera de los dos tomados por separado. El potencial de adaptación de las poblaciones marginales encontrado puede proporcionar resiliencia evolutiva en condiciones de cambio climático, no solo a ellas mismas sino a otras poblaciones incluyendo las óptimas. Por lo tanto, las poblaciones marginales deben considerarse en los esfuerzos de planificación de la conservación.

### Conclusiones

Nuestros estudios indican que las poblaciones que habitan en áreas marginales pueden mantener niveles considerables de diversidad genética fruto de procesos actuales y del pasado reciente, lo cual les permite desarrollar procesos de adaptación evolutiva.

A la luz de los resultados obtenidos utilizando *S. ciliata* como objeto de estudio y en el contexto de otros trabajos realizados en áreas marginales y ecosistemas alpinos, podemos concluir que el estudio de los patrones y procesos adaptativos en áreas marginales debe abordarse utilizando enfoques multidisciplinarios. Así mismo, es de gran importancia la combinación de estudios que engloben aproximaciones *ex situ* e *in situ*, combinando experimentos de campo con estudios de laboratorio. Estos enfoques deben contemplar diferentes rasgos, etapas de vida y poblaciones. En el presente estudio proponemos una hoja de ruta que engloba diferentes técnicas y procedimientos para lograr esta integración. Los resultados destacan el valor de conservación de las poblaciones marginales, ya que pueden albergar diversidad genética de valor adaptativo en condiciones de cambio climático. Queremos destacar las implicaciones directas sobre las estrategias de conservación que tiene este resultado y, por ende, el estudio del potencial adaptativo de poblaciones marginales desde una aproximación multidisciplinaria e integradora como la que proponemos en este trabajo.

### Agradecimientos

Todo este trabajo ha sido posible gracias al apoyo recibido por medio de diferentes proyectos que han permitido la financiación de multitud de estudios. Agradecemos al Ministerio de Ciencia e Innovación la financiación recibida para los proyectos EVA (CGL2016-77377), AdAptA (CGL2012-44528) y LIMITES (CGL2009-07229) y a la Comunidad de Madrid y a la Universidad Rey Juan Carlos por el proyecto GAFE (M2178 – GAFE-SC). También queremos dar las gracias a la multitud de colaboradores que han hecho posible todos los estudios que aquí se exponen y en especial a Cristina García (Universidad de Liverpool), Rob P. Anderson (City College of New York), Jamie Kass (Instituto de Ciencia y Tecnología de Okinawa) y Niek Scheepens (Universidad de Goethe), por su inestimable ayuda en diferentes estudios que se engloban en este artículo. También queremos agradecer la inestimable ayuda de multitud de alumnos de la Universidad Rey Juan Carlos que, a través de la realización de prácticas, trabajos de fin de grado y trabajos de fin de máster han hecho posible el llevar a cabo la enorme cantidad de trabajo de invernadero, laboratorio y campo requerido para el desarrollo de estos proyectos.

### Contribución de los autores

Javier Morente-Lopez: Conceptualización, Investigación, Redacción – borrador inicial, Carlos Lara-Romero: Conceptualización, Investigación, Redacción – revisión y edición, Supervisión, Alfredo García-Fernández: Investigación, Revisión y edición, María Luisa Rubio Teso: Investigación, Revisión y edición, Samuel Prieto-Benítez: Investigación, Revisión y edición, José María Iriondo: Conceptualización, Investigación, revisión y edición, Supervisión.

### Referencias

- Abeli, T., Orsenigo, S. 2018. The importance of marginal population hotspots of cold-adapted species for research on climate change and conservation. *Journal of Biogeography* 45: 977-985.
- Abeli, T., Gentili, R., Mondoni, A., Orsenigo, S., Rossi, G. 2014. Effects of marginality on plant population performance. *Journal of Biogeography* 41: 239-249.
- Adamo, M., Mammola, S., Noble, V., Mucciarelli, M. 2020. Integrating multiple lines of evidence to explore intraspecific variability in a rare endemic alpine plant and implications for its conservation. *Plants* 9(9), 1160.
- Bachmann, J.C., Rensburg, A.J. van, Cortazar-Chinarro, M., Laurila, A., Buskirk, J. Van. 2020. Gene flow limits adaptation along steep environmental gradients. *American Naturalist* 195: E67-E86.
- Barrett, R.D.H., Schluter, D. 2007. Adaptation from standing genetic variation. *Trends in Ecology and Evolution* 23: 38-44.
- Barton, N.H. 2001. Adaptation at the edge of a species' range. *Special Publication-British Ecological Society* 14: 365-392.
- Blanquart, F., Kaltz, O., Gandon, S. 2013. A practical guide to measuring local adaptation. *Ecology Letters* 16: 1195-1205.
- Bradshaw, A.D. 1965. Evolutionary Significance of Phenotypic Plasticity in Plants. *Advances in Genetics* 13: 115-155.
- Bradshaw, A.D., Mcneilly, T. 1991. Evolutionary Response to Global Climatic Change. *Annals of Botany* 67: 5-14.
- Brown, J.H. 1984. On the Relationship between Abundance and Distribution of Species. *The American Naturalist* 124: 255-279.
- Byars, S.G., Papst, W., Hoffmann, A.A. 2007. Local adaptation and cogeographical selection in the alpine plant, *Poa hiemata*, along a narrow altitudinal gradient. *Evolution* 61: 2925-2941.
- Channell, R. 2004. The conservation value of peripheral populations: the supporting science. En: *Proceedings of the species at risk 2004 pathways to recovery conference*, Victoria, British Columbia, pp. 1-17. Disponible en: <https://www.arlis.org/docs/vol1/69415913/>
- Channell, R., Lomolino, M. V. 2000. Dynamic biogeography and conservation of endangered species. *Letters to Nature* 403: 84-86.
- Chuine, I. 2010. Why does phenology drive species distribution? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 365: 3149-3160.

- Cushman, S., Storfer, A., Waits, L. 2015. *Landscape genetics: concepts, methods, applications*. Wiley-Blackwell.
- Davis, M.B., Shaw, R.G. 2001. Range Shifts and Adaptive Responses to Quaternary Climate Change. *Science* 292: 673-679.
- Davis, M.B., Shaw, R.G., Etterson, J.R. 2005. Evolutionary Responses to Changing Climate. *Ecology* 86: 1704-1714.
- De Jong, G. 2005. Evolution of Phenotypic Plasticity: Patterns of Plasticity and the Emergence of Ecotypes. *New Phytologist* 166: 101-118.
- Dewitt, T.J., Sih, A., Wilson, D.S. 1998. Costs and limits of phenotypic plasticity. *Trends in Ecology and Evolution* 13: 77-81.
- Dullinger, S., Willner, W., Plutzar, C., Englisch, T., Moser, D., Ertl, S., Essl, F., Niklfeld, H. 2012. Post-glacial migration lag restricts range. *Global Ecology and Biogeography* 21: 829-840.
- Eckert, C.G., Samis, K.E., Lougheed, S.C. 2008. Genetic variation across species' geographical ranges: The central-marginal hypothesis and beyond. *Molecular Ecology* 17: 1170-1188.
- Ender, J.A. 1986. *Natural selection in the wild*. Monographs in Population Biology 21. Princeton University Press. Princeton, NJ, Estados Unidos.
- Fassou, G., Kougioumoutzis, K., Iatrou, G., Trigas, P., Papanotiropoulos, V. 2020. Genetic diversity and range dynamics of *Helleborus odoratus* subsp. *cyclophyllus* under different climate change scenarios. *Forests* 11: 620.
- Fedoraka, K.M., Winterhalter, W.E., Shaw, K.L., Brogan, W.R., Mousseau, T.A. 2012. The role of gene flow asymmetry along an environmental gradient in constraining local adaptation and range expansion. *Journal of Evolutionary Biology* 25: 1676-1685.
- Fitzpatrick, S.W., Reid, B.N. 2019. Does gene flow aggravate or alleviate maladaptation to environmental stress in small populations? *Evolutionary Applications* 12: 1402-1416.
- Frankham, R., Briscoe, D.A., Ballou, J.D. 2002. *Introduction to conservation genetics*. Cambridge university press. Cambridge, Reino Unido.
- Franks, S.J., Hoffmann, A.A. 2012. Genetics of climate change adaptation. *Annual Review of Genetics* 46: 185-208.
- Fréjaville, T., Vizcaino-Palomar, N., Fady, B., Kremer, A., Benito Garzón, M. 2020. Range margin populations show high climate adaptation lags in European trees. *Global Change Biology* 26: 484-495.
- Fu, P.-C., Ya, H.-Y., Liu, Q.-W., Cai, H.-M., Chen, S.-L. 2018. Out of Refugia: Population Genetic Structure and Evolutionary History of the Alpine Medicinal Plant *Gentiana lawrencei* var. *farreri* (Gentianaceae). *Frontiers in Genetics* 9: 564.
- García-Fernández, A., Iriondo, J.M., Escudero, A. 2012a. Inbreeding at the edge: Does inbreeding depression increase under more stressful conditions? *Oikos* 121: 1435-1445.
- García-Fernández, A., Segarra-Moragues, J.G., Widmer, A., Escudero, A., Iriondo, J.M. 2012b. Unravelling genetics at the top: Mountain islands or isolated belts? *Annals of Botany* 110: 1221-1232.
- García-Fernández, A., Iriondo, J.M., Bartels, D., Garci, A. 2013a. Response to artificial drying until drought-induced death in different elevation populations of a high-mountain plant. *Plant Biology* 15: 93-100.
- García-Fernández, A., Iriondo, J.M., Escudero, A., Fuertes Aguilar, J., Nieto Feliner, G. 2013b. Genetic patterns of habitat fragmentation and past climate-change effects in the Mediterranean high-mountain plant *Armeria caespitosa* (Plumbaginaceae). *American Journal of Botany* 100: 1641-1650.
- García-Fernández, A., Escudero, A., Lara-Romero, C., Iriondo, J.M. 2014. Effects of the duration of cold stratification on early life stages of the Mediterranean alpine plant *Silene ciliata*. *Plant Biology* 17: 344-350.
- García-Ramos, G., Kirkpatrick, M. 1997. Genetic Models of Adaptation and Gene Flow in Peripheral Populations. *Evolution* 51(1): 21.
- Gaston, K.J. 2009. Geographic range limits : achieving synthesis. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 276: 1395-1406.
- Gienapp, P., Teplitsky, C., Alho, J.S., Mills, J.A., Merilä, J. 2008. Climate change and evolution: Disentangling environmental and genetic responses. *Molecular Ecology* 17: 167-178.
- Giménez-Benavides, L., Escudero, A., Pérez-García, F. 2005. Seed germination of high mountain Mediterranean species: Altitudinal, interpopulation and interannual variability. *Ecological Research* 20: 433-444.
- Giménez-Benavides, L., Escudero, A., Iriondo, J.M. 2007. Local adaptation enhances seedling recruitment along an altitudinal gradient in a high mountain mediterranean plant. *Annals of Botany* 99: 723-734.
- Giménez-Benavides, L., Escudero, A., Iriondo, J.M. 2008. What shapes the altitudinal range of a high mountain Mediterranean plant? Recruitment probabilities from ovule to seedling stage. *Ecography* 31: 731-740.
- Giménez-Benavides, L., García-Camacho, R., Iriondo, J.M., Escudero, A. 2011a. Selection on flowering time in Mediterranean high-mountain plants under global warming. *Evolutionary Ecology* 25: 777-794.
- Giménez-Benavides, L., Albert, M.J., Iriondo, J.M., Escudero, A. 2011b. Demographic processes of upward range contraction in a long-lived Mediterranean high mountain plant. *Ecography* 34: 85-93.
- González-Díaz, P., Gazol, A., Valbuena-Carabaña, M., Sangüesa-Barreda, G., Moreno-Urbano, A., Zavala, M.A., Julio Camarero, J. 2020. Remaking a stand: Links between genetic diversity and tree growth in expanding Mountain pine populations. *Forest Ecology and Management* 472: 118244.
- Gottfried, M., Pauli, H., Futschik, A., Akhalkatsi, M., Barančok, P., Benito Alonso, J.L., Coldea, G. et al. 2012. Continent-wide response of mountain vegetation to climate change. *Nature Climate Change* 2: 111-115.
- Guisan, A., Thuiller, W. 2005. Predicting species distribution : offering more than simple habitat models. *Ecology Letters* 8(9): 993-1009.
- Halbritter, A.H., Billeter, R., Edwards, P.J., Alexander, J.M. 2015. Local adaptation at range edges: Comparing elevation and latitudinal gradients. *Journal of Evolutionary Biology* 28: 1849-1860.
- Halbritter, A.H., Fior, S., Keller, I., Billeter, R., Edwards, P.J., Holderegger, R., Karrenberg, S., et al. 2018. Trait differentiation and adaptation of plants along elevation gradients. *Journal of Evolutionary Biology* 31: 784-800.
- Hämälä, T., Mattila, T.M., Savolainen, O. 2018. Local adaptation and ecological differentiation under selection, migration and drift in *Arabidopsis lyrata*. *Evolution* 72(7): 1373-1386.
- Hancock, A.M., Jarymowycz, L.B., Sperone, F.G., Toomajian, C., Roux, F., Bergelson, J. 2012. Adaptation to Climate Across the *Arabidopsis thaliana* Genome. *Science* 334(6052):83-6.
- Hardie, D.C., Hutchings, J.A. 2010. Evolutionary ecology at the extremes of species' ranges. *Environmental Reviews* 18: 1-20.
- Hargrove, L., Rotenberry, J.T. 2011. Breeding success at the range margin of a desert species : implications for a climate-induced elevational shift. *Oikos* 120: 1568-1576.
- Hendry, A.P., Taylor, E.B. 2004. How much of the variation in adaptive divergence can be explained by gene flow? An evaluation using lake-stream stickleback pairs. *Evolution* 58(10): 2319-2331.
- Herrera, C.M., Bazaga, P. 2008. Population-genomic approach reveals adaptive floral divergence in discrete populations of a hawk moth-pollinated violet. *Molecular Ecology* 17: 5378-5390.
- Hoffmann, A.A., Blows, M.W. 1994. Species borders: ecological and evolutionary perspectives. *Trends in Ecology and Evolution* 9(6): 223-227.
- Hoffmann, A.A., Sgró, C.M. 2011. Climate change and evolutionary adaptation. *Nature* 470: 479-485.
- Hoffmann, A.A., Miller, A.D., Weeks, A.R. 2021. Genetic mixing for population management: From genetic rescue to provenancing. *Evolutionary Applications* 14(3): 634-652.
- Holderegger, R., Thiel-Egenter, C. 2009. A discussion of different types of glacial refugia used in mountain biogeography and phylogeography. *Journal of Biogeography* 36: 476-480.
- Holt, R.D., Keitt, T.H. 2005. Species ' Borders : A Unifying Theme in Ecology. *Oikos* 108: 3-6.
- Hovenden, M.J., Vander Schoor, J.K. 2003. Nature vs nurture in the leaf morphology of Southern beech , *Nothofagus cunninghamii* (Nothofagaceae). *New Phytologist* 161(2): 585-594.
- Hunter, M.L., Hutchinson, A. 1994. The Virtues and Shortcomings of Parochialism: Conserving Species That Are Locally Rare , but Globally Common. *Conservation Biology* 8: 1163-1165.
- Jenkins, D.G., Carey, M., Czerniewska, J., Fletcher, J., Hether, T., Jones, A., Knight, S. et al. 2010. A meta-analysis of isolation by distance: Relic or reference standard for landscape genetics? *Ecography* 33: 315-320.
- 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.
- Jump, A.S., Mátyás, C., Peñuelas, J. 2009. The altitude-for-latitude disparity in the range retractions of woody species. *Trends in Ecology and Evolution* 24: 694-701.
- Kawecki, T.J. 2008. Adaptation to Marginal Habitats. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 39: 321-342.

- Kawecki, T.J., Ebert, D. 2004. Conceptual issues in local adaptation. *Ecology Letters* 7: 1225-1241.
- Kelly, E., Phillips, B. 2019. How many and when? Optimising targeted gene flow for a step change in the environment. *Ecology Letters* 22: 447-457.
- Kern, A.D., Hahn, M.W. 2018. The Neutral Theory in Light of Natural Selection. *Molecular Biology and Evolution* 65: 054304.
- Klinges, D.H., Scheffers, B.R. 2021. Microgeography, not just latitude, drives climate overlap on mountains from tropical to polar ecosystems. *American Naturalist* 197(1), 000-000.
- Knowles, L.L. 2001. Did the pleistocene glaciations promote divergence? Tests of explicit refugial models in montane grasshoppers. *Molecular Ecology* 10: 691-701.
- Körner, C. 2003. *Alpine Plant Life. Functional Plant Ecology of High Mountain Ecosystems*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin, Alemania.
- Kyrkou, I., Iriondo, J.M., García-Fernández, A. 2015. A glacial survivor of the alpine Mediterranean region: phylogenetic and phylogeographic insights into *Silene ciliata* Pourr. (Caryophyllaceae). *PeerJ* 3: e1193.
- Lande, R., Shannon, S. 1996. The role of genetic variation in adaptation and population persistence in a changing environment. *Evolution* 216: 434-437.
- Lara-Romero, C., Robledo-Arnuncio, J.J., García-Fernández, A., Iriondo, J.M. 2014. Assessing intraspecific variation in effective dispersal along an altitudinal gradient: A test in two Mediterranean high-mountain plants. *PLoS ONE* 9(1), e87189.
- Lara-Romero, C., García-Fernández, A., Robledo-Arnuncio, J.J., Roumet, M., Morente-López, J., López-Gil, A., Iriondo, J.M. 2016a. Individual spatial aggregation correlates with between-population variation in fine-scale genetic structure of *Silene ciliata* (Caryophyllaceae). *Heredity* 116: 417-423.
- Lara-Romero, C., de la Cruz, M., Escribano-Ávila, G., García-Fernández, A., Iriondo, J.M. 2016b. What causes conspecific plant aggregation? Disentangling the role of dispersal, habitat heterogeneity and plant-plant interactions. *Oikos* 125: 1304-1313.
- Ledoux, J.B., Aurelle, D., Bensoussan, N., Marschal, C., Féral, J.P., Garrabou, J. 2015. Potential for adaptive evolution at species range margins: Contrasting interactions between red coral populations and their environment in a changing ocean. *Ecology and Evolution* 5: 1178-1192.
- Lenormand, T. 2002. Gene flow and the limits to natural selection. *Trends in Ecology and Evolution* 17: 183-189.
- Lesica, P., Allendorf, F.W. 1995. When Are Peripheral Populations Valuable for Conservation? *Conservation Biology* 9: 753-760.
- Linhart, Y.B., Grant, M.C. 1996. Evolutionary Significance of Local Genetic Differentiation in Plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 27: 237-277.
- Marris, E. 2007. The escalator effect. *Nature Reports Climate Change* 1, 94-96.
- Matesanz, S., Gianoli, E., Valladares, F. 2010. Global change and the evolution of phenotypic plasticity in plants. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1206: 35-55.
- Meng, H., Wei, X., Jiang, M. 2019. Contrasting elevational patterns of genetic variation in *Euptelea pleiospermum* along mountains at the core and edges of its latitudinal range. *Plant Ecology* 220: 13-28.
- Merilä, J., Crnokrak, P. 2001. Comparison of genetic differentiation at marker loci and quantitative traits. *Journal of Evolutionary Biology* 14: 892-903.
- Merow, C., Smith, M.J., Edwards, T.C., Guisan, A., McMahon, S.M., Normand, S., Thuiller, W., et al. 2014. What do we gain from simplicity versus complexity in species distribution models? *Ecography* 37: 1267-1281.
- Micheletti, S.J., Storfer, A. 2020. Mixed support for gene flow as a constraint to local adaptation and contributor to the limited geographic range of an endemic salamander. *Molecular Ecology* 29: 4091-4101.
- Millar, C.I., Libby, W.J. 1991. Strategies for conserving clinal, ecotypic, and disjunct population diversity in widespread species. *Genetics and conservation of rare plants* 149: 170.
- Miner, B.G., Sultan, S.E., Morgan, S.G., Padilla, D.K., Relyea, R.A. 2005. Ecological consequences of phenotypic plasticity. *Trends in Ecology and Evolution* 20: 685-692.
- Morente-López, J., García, C., Lara-Romero, C., García-Fernández, A., Draper, D., Iriondo, J.M. 2018. Geography and environment shape landscape genetics of mediterranean alpine species *Silene ciliata* Poir. (Caryophyllaceae). *Frontiers in Plant Science* 9:1698.
- Morente-López, J., Scheepens, J.F., Lara-Romero, C., Ruiz-Checa, R., Tabarés, P., Iriondo, J.M. 2019. Past selection shaped phenological differentiation among populations at contrasting elevations in a Mediterranean alpine plant. *Environmental and Experimental Botany* 170: 103894.
- Morente-Lopez, J., Kass, J.M., Lara-Romero, C., Serra-Diaz, J.M., Soto-Correa, J.C., Anderson, R.P., Iriondo, J.M. 2020a. Ecological niche models as hypothesis generators of functional genetic differentiation and potential local adaptation in a Mediterranean alpine ecosystem. *bioRxiv*.
- Morente-López, J., Lara-Romero, C., García-Fernández, A., Rubio Teso, M.L., Prieto-Benítez, S., Iriondo, J.M. 2020b. Gene flow effects on populations inhabiting marginal areas: origin matters. *Journal of Ecology* 109(1), 139-153.
- Ohsawa, T., Ide, Y. 2008. Global patterns of genetic variation in plant species along vertical and horizontal gradients on mountains. *Global Ecology and Biogeography* 17(2), 152-163.
- Papuga, G., Gauthier, P., Pons, V., Farris, E., Thompson, J.D. 2018. Ecological niche differentiation in peripheral populations: A comparative analysis of eleven Mediterranean plant species. *Ecography* 41(10), 1650-1664.
- Pauli, H., Gottfried, M., Dullinger, S., Abdaladze, O., Akhalkatsi, M., Alonso, J.L.B., Coldea, G., et al. 2012. Recent plant diversity changes on Europe's mountain summits. *Science* 336: 353-355.
- Pepin, N., Bradley, R.S., Diaz, H.F., Baraer, M., Caceres, E.B., Forsythe, N., Fowler, H., et al. 2015. Elevation-dependent warming in mountain regions of the world. *Nature Climate Change* 5: 424-430.
- Peterson, A.T., Soberón, J., Pearson, R.G., Anderson, R.P., Martínez-Meyer, E., Nakamura, M., Araujo, M.B. 2011. *Ecological niches and geographic distributions*. Princeton University Press. Princeton, NJ, Estados Unidos. 328 pp.
- Pironon, S., Villellas, J., Morris, W.F., Doak, D.F., García, M.B. 2015. Do geographic, climatic or historical ranges differentiate the performance of central versus peripheral populations? *Global Ecology and Biogeography* 24: 611-620.
- Pironon, S., Papuga, G., Villellas, J., Angert, A.L., García, M.B., Thompson, J.D. 2017. Geographic variation in genetic and demographic performance: new insights from an old biogeographical paradigm. *Biological Reviews* 92: 1877-1909.
- Pouget, M., Youssef, S., Migliore, J., Juin, M., Médail, F., Baumel, A. 2013. Phylogeography sheds light on the central – marginal hypothesis in a Mediterranean narrow endemic plant. *Annals of Botany* 112: 1409-1420.
- Preite, V., Stöcklin, J., Armbruster, G.F.J., Scheepens, J.F. 2015. Adaptation of flowering phenology and fitness-related traits across environmental gradients in the widespread *Campanula rotundifolia*. *Evolutionary Ecology* 29: 249-267.
- Reeve, H.K., Sherman, P.W. 1993. Adaptation and the Goals of Evolutionary Research. *The Quarterly Review of Biology* 68(1): 1-32.
- Ren, G., Mateo, R.G., Conti, E., Salamin, N. 2020. Population Genetic Structure and Demographic History of *Primula fasciculata* in Southwest China. *Frontiers in Plant Science* 11: 00986.
- Rogivue, A., Graf, R., Parisod, C., Holderegger, R., Gugerli, F. 2018. The phylogeographic structure of *Arabis alpina* in the Alps shows consistent patterns across different types of molecular markers and geographic scales. *Alpine Botany* 128: 35-45.
- Rolland, J., Lavergne, S., Manel, S. 2015. Combining niche modelling and landscape genetics to study local adaptation: A novel approach illustrated using alpine plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 17: 491-499.
- Sacristán-Bajo, S., García-Fernández, A., Iriondo, J.M., Lara-Romero, C. 2019. Transcriptome assembly and polymorphism detection in *Silene ciliata* (Caryophyllaceae). *Plant Genetic Resources* 17(5), 452-455.
- Scheepens, J.F., Stöcklin, J. 2013. Flowering phenology and reproductive fitness along a mountain slope: Maladaptive responses to transplantation to a warmer climate in *Campanula thyrsoidea*. *Oecologia* 171: 679-691.
- Sexton, J.P., McIntyre, P.J., Angert, A.L., Rice, K.J. 2009. Evolution and ecology of species range limits. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 40: 415-436.
- Sexton, J.P., Strauss, S.Y., Rice, K.J. 2011. Gene flow increases fitness at the warm edge of a species' range. *PNAS* 108: 11704-11709.
- Sexton, J.P., Hangartner, S.B., Hoffmann, A.A. 2014. Genetic isolation by environment or distance: Which pattern of gene flow is most common? *Evolution* 68: 1-15.

- Shafer, A.B.A., Wolf, J.B.W. 2013. Widespread evidence for incipient ecological speciation: A meta-analysis of isolation-by-ecology. *Ecology Letters* 16: 940-950.
- Soley-Guardia, M., Radosavljevic, A., Rivera, J.L., Anderson, R.P. 2014. The effect of spatially marginal localities in modelling species niches and distributions. *Journal of Biogeography* 41: 1390-1401.
- Soule, M. 1973. The epistasis cycle: a theory of marginal populations. *Annual review of ecology and systematics* 4: 165-187.
- Steinbauer, M.J., Grytnes, J.A., Jurasinski, G., Kulonen, A., Lenoir, J., Pauli, H., Rixen, C. et al. 2018. Accelerated increase in plant species richness on mountain summits is linked to warming. *Nature* 556: 231-234.
- Sultan, S.E. 2000. Diverse modes of plasticity Plasticity for functional traits. *Trends in Plant Science* 5: 537-542.
- Thomas, C.D. 2010. Climate, climate change and range boundaries. *Diversity and Distributions* 16: 488-495.
- Thomas, C.D., Franco, A.M.A., Hill, J.K. 2006. Range retractions and extinction in the face of climate warming. *Trends in Ecology and Evolution* 21(8):7-8.
- Thompson, J.N. 2005. *The geographic mosaic of coevolution*. University of Chicago Press. Chicago, Estados Unidos.
- Thuiller, W. 2004. Patterns and uncertainties of species' range shifts under climate change. *Global Change Biology* 10: 2020-2027.
- Thuiller, W., Lavorel, S., Araújo, M.B., Sykes, M.T., Prentice, I.C. 2005. Climate change threats to plant diversity in Europe. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)* 102: 8245-8250.
- Thuiller, W., Albert, C., Araujo, M.B., Berry, P.M., Cabeza, M., Guisan, A., Hickler, T. et al. 2008. Predicting global change impacts on plant species distributions: Future challenges. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 9: 137-152.
- Tigano, A., Friesen, V.L. 2016. Genomics of local adaptation with gene flow. *Molecular Ecology* 25: 2144-2164.
- Tóth, E.G., Tremblay, F., Housset, J.M., Bergeron, Y., Carcaillet, C. 2019. Geographic isolation and climatic variability contribute to genetic differentiation in fragmented populations of the long-lived subalpine conifer *Pinus cembra* L. in the western Alps. *BMC Evolutionary Biology* 19(1):1-17.
- Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., Moore, D.M., Valentine D.H., Walters, S.M., Webb, D.A. (eds.) 1964-1980. *Flora Europaea*, Vols. 1-5, Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido.
- Tzedakis, P.C., Lawson, I.T., Frogley, M.R., Hewitt, G.M., Preece, R.C. 2002. Buffered tree population changes in a quaternary refugium: Evolutionary implications. *Science* 297: 2044-2047.
- Vucetich, J.A., Waite, T.A. 2003. Spatial patterns of demography and genetic processes across the species' range: Null hypotheses for landscape conservation genetics. *Conservation Genetics* 4: 639-645.
- Wade, M.J., Kalisz, S. 1990. The causes of natural selection. *Evolution* 44: 1947-1955.
- Walther, G.-R. 2003. Plants in a warmer world. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 6: 169-185.
- Walther, G.-R., Beißner, S., Burga, C.A. 2005. Trends in the upward shift of alpine plants. *Journal of Vegetation Science* 16(5), 541-548.
- Wei, X., Sork, V.L., Meng, H., Jiang, M. 2016. Genetic evidence for central-marginal hypothesis in a Cenozoic relict tree species across its distribution in China. *Journal of Biogeography* 43: 2173-2185.
- Yang, A., Dick, C.W., Yao, X., Huang, H. 2016. Impacts of biogeographic history and marginal population genetics on species range limits: A case study of *Liriodendron chinense*. *Scientific Reports* 6(1): 1-12.
- Yeaman, S., Whitlock, M.C. 2011. The genetic architecture of adaptation under migration-selection balance. *Evolution* 65: 1897-1911.