

RADIACIÓN ULTRAVIOLETA Y SEQUÍA: EFECTOS SOBRE LA FISIOLOGÍA Y LA DESCOMPOSICIÓN DE HOJARASCA DE ESPECIES ARBUSTIVAS MEDITERRÁNEAS EN EL CONTEXTO DEL CAMBIO CLIMÁTICO

Claudia M. Rodríguez Hidalgo

Per citar o enllaçar aquest document:

Para citar o enlazar este documento:

Use this url to cite or link to this publication:

<http://hdl.handle.net/10803/674244>

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

WARNING. Access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.

Radiación ultravioleta y sequía: Efectos
sobre la fisiología y la descomposición
de hojarasca de especies arbustivas
Mediterráneas en el contexto del
Cambio Climático

Claudia M. Rodríguez Hidalgo,
2020





TESIS DOCTORAL

**Radiación ultravioleta y sequía: Efectos sobre la fisiología y
la descomposición de hojarasca de especies arbustivas
Mediterráneas en el contexto del Cambio Climático**

Claudia M. Rodríguez Hidalgo

2020

Programa de doctorado en Medio ambiente

Dirigida por:

Dra. Dolors Verdaguer Murla

Dra. Laura Llorens Guasch

Memoria presentada para optar al título de doctora por la Universidad de Girona

Claudia M. Rodríguez Hidalgo

Radiación ultravioleta y sequía: efectos sobre la fisiología y la descomposición de hojarasca de especies arbustivas mediterráneas en el contexto del cambio climático
Tesis Doctoral, 2020

Programa de Doctorado en Medio Ambiente

Revisores: Dra. Dolors Verdaguer Murla y Dra. Laura Llorens Guasch

Universitat de Girona

Departamento de Ciencias Ambientales

Carrer M^a Aurèlia Capmany i Farners, 69

17003, Girona



La Dra. Dolors Verdaguer Murla y la Dra. Laura Llorens Guasch de la Universidad de Girona,

DECLARAMOS:

Que el trabajo titulado “*Radiación ultravioleta y sequía: Efectos sobre la fisiología y la descomposición de hojarasca de especies arbustivas Mediterráneas en el contexto del Cambio Climático*”, que presenta Claudia M. Rodríguez Hidalgo para la obtención del título de doctora, se ha realizado bajo nuestra dirección.

Y para que así conste y tenga los efectos oportunos, firmamos el presente documento.

Dra. Dolors Verdaguer Murla
Área de Fisiología Vegetal
Universidad de Girona

Dra. Laura Llorens Guasch
Área de Fisiología Vegetal
Universidad de Girona

La Doctoranda
Claudia M. Rodríguez Hidalgo

Girona, junio 2020

A mi amada familia,

Agradecimientos

Al escribir estas líneas de la tesis seguramente se me pasarán por alto muchos nombres ¡Lo siento! Son tantas personas a las que tengo que agradecer que no acabaría nunca.

Primero quiero expresar mi inmensa gratitud a mis tutoras, Dolors Verdaguer y Laura Llorens por depositar su confianza en mí para la realización de esta tesis doctoral. Han estado conmigo desde el primer muestreo en el campo hasta la escritura de la última letra de esta memoria. Gracias también a Anna Romaní por su valiosa contribución en este proyecto, gracias por cada palabra de aliento y motivación durante todo este tiempo. De igual forma, un especial agradecimiento a Encarnación Núñez y María Ángeles del Castillo, por su cálida acogida en la Universidad de la Rioja y por compartirme sus conocimientos durante mi corta estancia en Logroño. Gracias a Josep A. González y Joan Font por su incondicional colaboración en la parte experimental de la tesis.

Cómo olvidar agradecer también a Nuria Niell, quien estuvo muestreando conmigo en los más calurosos días de verano. Un especial agradecimiento también a las personas que colaboraron con el trabajo de laboratorio de esta tesis: Marta S., Anna D., Julia S., Marc A. y Elisabeth P.

Durante todo este largo proceso, siempre me encontré con gente buena, que me ha ayudado y guiado, comenzando en la UdG con mis “physiologirls” Laura D. y Lorena C. Gracias por siempre ayudarme a resolver mis “pequeñas preguntas” Gracias también por los momentos de despacho, gracias por, incluso, en algún momento, secar mis lágrimas ¡Que grandes son! Gracias también a Nuria P. y Jordi B., que también me ayudaron siempre que lo necesité. En donde esté, siempre los voy a recordar a todos con mucho cariño.

No puedo dejar de agradecer también a las personas en las que encontré una segunda familia en Girona. Mi Andre, comenzamos juntas esta aventura allá por el 2015, y desde ahí, he contado siempre con usted. Gracias por el cariño, por la compañía, por esos consejos y abrazos, que solo usted sabe dar. Mi Elita Boada, gracias por estar siempre conmigo apoyándome incondicionalmente, si 100 veces te necesité, 101 estuviste ahí para mí. Gracias por los viajes, las risas y todo el tiempo compartido. Mi Paito, a ti también gracias por todas las palabras de ánimo, por cada mensajito y por nuestro paseo navideño, eres una amiga genial. Aravind, gracias por todo el apoyo, por las risas, por lo paseos, por cada palabra de motivación y por hacerme ver que siempre hay algo positivo en cada situación. ¡Eres el mejor, Dr. Chiquitín! Gracias también al más genial compi de piso que he podido tener, Sergio, gracias por los consejos, asesorías y el cariño conmigo siempre. Cuanto cariño siento también al recordar a mi querido grupo de los jueves, gracias Mishel y Omid por hacer de mis jueves los días más esperados de la semana. Ha sido una verdadera bendición compartir este camino en Girona con personas tan extraordinarias. Gracias a todos ustedes, ha sido la mejor experiencia que he podido tener. ¡Los quiero tanto a todos!

Gracias también a los amigos con los que me encontré en algún momento durante este tiempo en la bella Girona: Sarita, Joss, Marito Alberto, Carito, Andrea R. gracias por el tiempo, por las salidas, las cervezas, gracias por todo.

Gracias a mis amigas y amigos de toda la vida, Majito, Kalaly, Magy, Rous Chave y Cris, por acompañarme en este camino, gracias por hacerme sentir su cariño, a pesar de los miles de kilómetros que nos separan.

Finalmente, el agradecimiento más grande, el que va más allá de las palabras, es para mi familia. A mis padres Claudio y Zoila, mis hermanos Sofi, Kati y Álvaro, a los niños que son la luz de mi vida, mis sobrinos, Dannita y Nicolás. Ustedes han sido siempre mi motor, volver a verlos y abrazarlos era mi motivación año tras año.

Índice de contenido

Índice de figuras.....	v
Índice de tablas.....	viii
Resumen.....	xi
Resum.....	xv
Abstract.....	xix

Capítulo I

Introducción.....	1
1.1 Cambio climático en la Cuenca Mediterránea.....	1
1.2 Respuestas fisiológicas, bioquímicas y fenológicas de las plantas frente a los cambios en la radiación UV y en la disponibilidad hídrica.	3
1.3 Cambios en el perfil fenológico y en la actividad antioxidante de los frutos frente a los cambios en la radiación UV.	8
1.4 Efecto la radiación UV y la precipitación en del proceso de descomposición de la hojarasca	16
1.5 Objetivos y estructura de la tesis.....	25

Capítulo II

Material y métodos.....	29
Estudio del efecto de la radiación UV y la disponibilidad de agua sobre las características bioquímicas y fisiológicas de las hojas de <i>Erica scoparia</i> , así como sobre su floración.	29
2.1 Lugar de estudio y diseño experimental.....	29
2.2 Toma de muestras.....	34
2.3 Análisis de campo y laboratorio.....	35
2.4 Análisis estadístico.....	39

Evaluación de la composición fenólica y la actividad antioxidante de frutos de <i>Prunus spinosa</i> madurados bajo diferentes condiciones de radiación UV.....	40
2.5 Lugar de estudio y diseño experimental	40
2.6 Tratamiento de radiación ultravioleta (UV)	42
2.7 Muestreo y extracción de compuestos fenólicos	44
2.8 Análisis estadístico	47
Estudio del proceso de descomposición de la hojarasca de <i>Arbutus unedo</i> y <i>Phillyrea angustifolia</i> bajo diferentes niveles de radiación UV y precipitación.	49
2.9 Lugar de estudio y diseño experimental	49
2.10 Recolección de la hojarasca.....	51
2.11 Técnica de las bolsas de descomposición y muestreo	51
2.12 Análisis realizados.....	54

Capítulo III

Resultados 63

Estudio del efecto de la radiación UV y la disponibilidad de agua sobre las características bioquímicas y fisiológicas de las hojas de <i>Erica scoparia</i> , así como sobre su floración.....	63
3.1 Parámetros bioquímicos	63
3.2 Parámetros fisiológicos.....	68
3.3 Parámetros relacionados con la floración de <i>E. scoparia</i>	69
Evaluación de la composición fenólica y la actividad antioxidante de frutos de <i>Prunus spinosa</i> madurados bajo diferentes niveles de radiación UV.....	72
3.4 Análisis del contenido de compuestos fenólicos, UACs y de la actividad antioxidante de la piel y de la pulpa de los frutos de <i>P. spinosa</i> ...	72
3.5 Efecto de la radiación UV sobre el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante en la piel y la pulpa de los frutos de <i>P. spinosa</i> .	73
3.6 Relación entre el contenido de fenoles, UACs y la actividad antioxidante de la piel y la pulpa de los frutos de <i>P. spinosa</i>	75

3.7	Relación entre el contenido en fenoles, UACs y la actividad antioxidante de los frutos de <i>P. spinosa</i> madurados bajo las diferentes condiciones de radiación UV.	75
	Estudio del proceso de descomposición de la hojarasca de <i>Arbutus unedo</i> y <i>Phillyrea angustifolia</i> bajo diferentes niveles de radiación UV y precipitación.	77
3.8	Descomposición de la hojarasca de <i>A. unedo</i> y <i>P. angustifolia</i> procedente de plantas que crecieron bajo diferentes niveles de radiación UV y precipitación (hojarasca pretratada)	77
3.9	Descomposición de la hojarasca de <i>A. unedo</i> y <i>P. angustifolia</i> procedente de plantas que crecieron en condiciones naturales (hojarasca natural)	91
3.10	Análisis global del efecto de los factores estudiados sobre el peso seco libre de cenizas (AFDW) remanente a los 347 días de descomposición.....	98

Capítulo IV

Discusión	101	
Estudio del efecto de la radiación UV y la disponibilidad de agua sobre las características bioquímicas y fisiológicas de las hojas de <i>Erica scoparia</i> , así como sobre su floración.	101	
4.1	Parámetros bioquímicos	101
4.2	Parámetros fisiológicos	105
4.3	Parámetros relacionados con la floración.....	107
Evaluación de la composición fenólica y la actividad antioxidante de frutos de <i>Prunus spinosa</i> madurados bajo diferentes niveles de radiación UV	108	
4.4	Diferencias entre el perfil fenólico y la actividad antioxidante de la piel y de la pulpa de los frutos de <i>P. spinosa</i>	108
4.5	Efecto del tratamiento de radiación UV sobre el perfil fenólico de la piel y la pulpa de los frutos de <i>P. spinosa</i>	110

4.6 Relación entre el contenido de fenoles y UACs y la actividad antioxidante de los frutos de *P. spinosa*. 113

Estudio del proceso de descomposición de la hojarasca de *Arbutus unedo* y *Phillyrea angustifolia* bajo diferentes niveles de radiación UV y precipitación. 115

4.7 Efecto de la especie en la descomposición de la hojarasca 115

4.8 Efectos indirectos (calidad inicial) de la radiación UV y/o de la precipitación sobre el proceso de descomposición de la hojarasca pretratada 118

4.9 Efectos directos de la radiación UV y/o de la precipitación sobre la descomposición de la hojarasca pretratada (pérdida de peso y actividad microbiana)..... 120

4.10 Efectos directos de la radiación UV y/o de la precipitación sobre la descomposición de la hojarasca natural (pérdida de peso y actividad microbiana)..... 122

4.11 Comparación de la descomposición de la hojarasca pretratada y la natural 123

4.12 Efecto global de la radiación UV y precipitación sobre la pérdida de peso de la hojarasca de las dos especies 124

4.13 Discusión general 126

Capítulo V

Conclusiones..... 130

Referencias 133

Anexos..... 159

Índice de figuras

Figura 1.1 Variación porcentual esperada del índice ultravioleta (UVI) a mediodía para el período 2085–2095 en relación a los valores de la última década	2
Figura 1.2 Cambio porcentual en la precipitación media anual para el periodo 2081-2100 en relación al periodo 1986-2005.....	2
Figura 2.1 Datos ambientales del período noviembre 2016 - octubre 2017 en que se realizó el estudio (Experimento 1).....	30
Figura 2.2 Imagen de una de las parcelas instaladas en la zona experimental....	31
Figura 2.3 Datos ambientales del período mayo-septiembre de 2018 en que se realizó el estudio (Experimento 2)	41
Figura 2.4 Cilindros de alambre cubiertos con distintos tipos de plástico para filtrar las diferentes longitudes de onda según la condición de radiación UV deseada, colocados en algunas ramas de <i>P. spinosa</i> con frutos.....	44
Figura 2.5 Datos ambientales en el periodo octubre 2017 - octubre 2018 (Experimento 3)	50
Figura 2.6 Bolsas de descomposición colocadas en una de las parcelas del experimento de radiación UV y precipitación.....	52
Figura 3.1 Media \pm SE (n = 9) del contenido en A) clorofila <i>a</i> , B) clorofila <i>b</i> , C) clorofila total <i>a</i> + <i>b</i> , D) carotenoides y E) relación clorofila <i>a</i> : clorofila <i>b</i> de las hojas de <i>E. scoparia</i> bajo diferentes condiciones de radiación UV y precipitación en primavera.....	66
Figura 3.2 Contenido de A) compuestos absorbentes de la radiación UV-B (UAC_{UV-B}) y B) compuestos absorbentes de la radiación UV-A (UAC_{UV-A}) de las hojas de <i>E. scoparia</i>	67
Figura 3.3 Valores de $\delta^{13}C$ en hojas de <i>E. scoparia</i> bajo los dos niveles de precipitación en cada una de las estaciones.....	68
Figura 3.4 Medidas de A) Transpiración (E) y B) conductancia estomática (gs) de las hojas de <i>E. scoparia</i> bajo los diferentes niveles de radiación UV en cada una de las estaciones.....	69

Figura 3.5 Medidas del A) diámetro y B) volumen (media \pm SE, n = 9) de las flores de <i>E. scoparia</i> bajo los diferentes niveles de radiación y precipitación en el mes de mayo	71
Figura 3.6 Porcentaje de flores funcionales en relación al número total de botones florales iniciales (diciembre 2016) para cada planta de <i>E. scoparia</i> bajo los diferentes niveles de radiación UV y precipitación en los distintos momentos de muestreo (desde el 25 de abril hasta el 6 de junio de 2017)	72
Figura 3.7 Contenido de A) carbono inicial, B) nitrógeno y C) relación C:N de la hojarasca pretratada de <i>A. unedo</i> bajo las diferentes condiciones de radiación UV y precipitación estudiadas	79
Figura 3.8 Contend de A) contenido de C de, B) contenido de N y C) relación C:N de la hojarasca al inicio del proceso de descomposición en <i>P. angustifolia</i> , bajo las diferentes condiciones de radiación UV estudiadas	80
Figura 3.9 Contenido de A) fibra bajo los diferentes niveles de radiación UV y precipitación y, B) celulosa bajo los diferentes niveles de radiación UV de la hojarasca pretratada de <i>P. angustifolia</i> a los 347 días de descomposición, de acuerdo a la interacción de factores mostrada en la tabla 3.7	81
Figura 3.10.- Biomasa fúngica y bacteriana en la hojarasca pretratada de <i>A. unedo</i> durante el proceso de descomposición considerando los diferentes niveles de radiación UV y para cada nivel de precipitación	84
Figura 3.11 Biomasa fúngica y bacteriana en la hojarasca pretratada de <i>P. angustifolia</i> durante el proceso de descomposición considerando los diferentes niveles de radiación y para cada nivel de precipitación	86
Figura 3.12 Actividad enzimática extracelular durante el proceso de descomposición de la hojarasca pretratada de <i>P. angustifolia</i> bajo los diferentes tratamientos de radiación UV dentro de cada nivel de precipitación	87
Figura 3.13 Porcentaje de peso seco libre de cenizas (AFDW) remanente de la hojarasca pretratada de <i>A. unedo</i> y <i>P. angustifolia</i> durante el proceso de descomposición bajo los diferentes tratamientos de radiación UV en cada nivel de precipitación.	90

Figura 3.14 Constante de descomposición de la hojarasca pretratada de <i>A. unedo</i> (A) y <i>P. angustifolia</i> (B) bajo el efecto de los tratamientos la radiación UV y de precipitación.....	91
Figura 3.15 Media \pm S.E (n=3) de A) el porcentaje de fibra, b) contenido de N y C) de la relación C:N de la hojarasca de <i>P. angustifolia</i> procedente de plantas crecidas bajo condiciones naturales al finalizar el estudio de descomposición, según los diferentes niveles de radiación UV y precipitación.....	93
Figura 3.16 Media \pm S.E (n=3) de la actividad enzimática extracelular de la hojarasca natural de <i>A. unedo</i> y <i>P. angustifolia</i> crecidas en condiciones naturales a los 347 días de estar expuesta a las distintas condiciones de radiación UV dentro de cada nivel de precipitación	96
Figura 3.17 Porcentaje de peso seco libre de cenizas (AFDW) remanente de la hojarasca natural de <i>A. unedo</i> durante el proceso de descomposición bajo los diferentes tratamientos de radiación UV ($p < 0.05$), independiente del tratamiento de precipitación	98
Figura 3.18 Porcentaje de peso seco libre de cenizas (AFDW) remanente al finalizar el estudio de descomposición, de A) la hojarasca de <i>A. unedo</i> y <i>P. angustifolia</i> y B) la hojarasca procedente de plantas de las dos especies sometidas previamente a un tratamiento de radiación UV y precipitación (pretratamiento) o procedente de plantas que crecieron en condiciones naturales (natural).....	99
Figura 3.19 Porcentaje de peso seco libre de cenizas (AFDW) de la hojarasca de las dos especies a los 347 días de descomposición, A) bajo las diferentes condiciones de radiación UV y B) de precipitación estudiadas	100

Índice de tablas

Tabla 2.1 Porcentaje (%) de radiación UV y densidad del flujo de fotones fotosintéticos (PPFD; 400-700 nm) transmitida por los filtros y que, por tanto, llega a las plantas, en relación a la ambiental, para cada una de las condiciones de radiación UV. Los flujos de radiación UV se expresan como radiación UV eritemática (UVE), espectro de acción generalizado de respuesta de la planta (GEN), función ponderada del crecimiento de la planta (PG), y radiación UVB y UVA sin ponderar.....	33
Tabla 2.2 Medias mensuales (de enero a octubre 2017) de las dosis ambientales de radiación UV a nivel del suelo ponderadas con el algoritmo de radiación UV eritemática (UVE), el espectro de acción generalizado de respuesta de la planta (GEN) y la función ponderada del crecimiento de la planta (PG), además de las radiaciones UV-B y UV-A no ponderadas y la densidad de flujo de fotones fotosintéticamente activa (PPFD) medida en la estación radiométrica de la Universidad de Girona.....	33
Tabla 2.3 Porcentaje de radiación UV y densidad del flujo de fotones fotosintéticos transmitida por los filtros y que, por tanto, llega a los frutos, en relación a la ambiental, para cada una de las condiciones de radiación UV. Los flujos de radiación UV se expresan como radiación UV eritemática, espectro de acción generalizado de respuesta de la planta, función ponderada del crecimiento de la planta (PG), y radiación UVB y UVA sin ponderar.....	433
Tabla 2.4 Medias mensuales (entre mayo y septiembre 2018) de la dosis de radiación UV que llega a nivel del suelo ponderadas con el algoritmo de radiación UV eritemática, el espectro de acción generalizado de respuesta de la planta y la función ponderada del crecimiento de la planta, además de las radiaciones UV-B y UV-A no ponderadas.....	43
Tabla 2.5 Cronograma de muestro y análisis realizados..	53

Tabla 2.6 Enzimas extracelulares ensayadas en hojarasca de <i>A. unedo</i> y <i>P. angustifolia</i> , número de la comisión de enzimas (E.C.), sustrato sintético utilizado y su concentración.....	59
Tabla 3.1 Parámetros bioquímicos y fisiológicos (media \pm S.E, n = 18 para los niveles de radiación UV, n = 27 para los niveles de precipitación y n = 54 para cada estación) medidos estacionalmente durante un año, en hojas de <i>E. scoparia</i> bajo diferentes condiciones de radiación UV y precipitación.....	64
Tabla 3.2 Parámetros relacionados con el tamaño de los botones florales de <i>E. scoparia</i> (media \pm S.E, n = 18 y n = 27 para los distintos niveles de radiación ultravioleta y precipitación, respectivamente, y n = 54 para cada momento de muestreo) medidos mensualmente durante 4 meses (de febrero a mayo).	70
Tabla 3.3 Contenido de compuestos fenólicos (media \pm S.E, n = 3) de los frutos de <i>P. spinosa</i> que maduraron bajo diferentes condiciones de radiación UV.	74
Tabla 3.4 Coeficiente de correlación de Pearson (n = 9) entre los compuestos absorbentes de la radiación UV (UAC), distintos grupos de fenoles y la actividad antioxidante de la piel y de la pulpa de los frutos de <i>P. spinosa</i> , utilizando los datos para las tres condiciones de radiación UV	75
Tabla 3.5.- Coeficiente de correlación de Pearson entre los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de los frutos de <i>P. spinosa</i> considerando los datos obtenidos para la piel y la pulpa.....	76
Tabla 3.7 Parámetros de calidad medidos en la hojarasca pretratada de <i>A. unedo</i> y <i>P. angustifolia</i> sometida a los distintos pretratamientos de radiación UV y/o precipitación.....	78
Tabla 3.6 Parámetros de calidad de la hojarasca pretratada de <i>A. unedo</i> y <i>P. angustifolia</i> , al inicio y al final del proceso de descomposición.....	78
Tabla 3.8 Biomasa microbiana y actividad enzimática extracelular inicial de β -glucosidasa (β G), celobiohidrolasa (CBH) y fenol-oxidasa (POX) en la hojarasca pretratada de <i>A. unedo</i> y <i>P. angustifolia</i>	82
Tabla 3.9 Efecto de la radiación UV, la precipitación, el tiempo de muestreo y sus interacciones sobre la biomasa microbiana y la actividad enzimática extracelular	

de la comunidad microbiana de la hojarasca de *A. unedo* y *P. angustifolia*. Cuando el efecto es significativo, se muestran los p-valores obtenidos en las ANOVAs trifactoriales aplicadas para cada especie. 83

Tabla 3.10 Valores del coeficiente de correlación de Pearson entre la biomasa microbiana y la actividad enzimática extracelular de la hojarasca pretratada de *A. unedo* (n=90) y de *P. angustifolia* (n=54) durante el proceso de descomposición. 89

Tabla 3.11 Significación obtenida en las ANOVAs realizadas para determinar el efecto de la radiación UV, la precipitación, el tiempo de muestreo y sus interacciones sobre el peso seco libre de cenizas (AFDW) remanente y la constante de descomposición (k) de la hojarasca pretratada de *A. unedo* y *P. angustifolia*. 90

Tabla 3.13 Efecto de los tratamientos de radiación UV, precipitación y su interacción sobre los parámetros relacionados con la calidad de la hojarasca natural de las plantas de las dos especies al finalizar el estudio de descomposición..... 92

Tabla 3.12 Parámetros de la calidad inicial y final de la hojarasca de *A. unedo* y *P. angustifolia* procedente de las plantas crecidas bajo condiciones naturales..... 92

Tabla 3.14 Biomasa microbiana y actividad enzimática inicial (media \pm S.E, n = 18) de la de la hojarasca natural de *A. unedo* y *P. angustifolia* 94

Tabla 3.15 Efecto de la radiación UV, la precipitación y su interacción sobre la biomasa y la actividad de la comunidad microbiana de la hojarasca natural de *A. unedo* y *P. angustifolia*..... 94

Tabla 3.16 Significación (p-valor) de la ANOVA de medidas repetidas y la ANCOVA aplicada para determinar el efecto de la radiación UV, la precipitación, el tiempo de muestreo y sus interacciones sobre el peso seco libre de cenizas (AFDW) remanente y la constante de descomposición (k), respectivamente, de la hojarasca natural de *A. unedo*, y la significación (p-valor) de la ANOVA bifactorial aplicada para determinar el efecto de los tratamientos en la hojarasca natural de *P. angustifolia* al final del experimento. (ns, no significativo). 97

Tabla 3.17 Efecto de los factores estudiados sobre el porcentaje de peso seco libre de cenizas (AFDW) remanente a los 347 días de descomposición.. 98

Resumen

De acuerdo a varios modelos de predicción climática, se estima que, en la Cuenca del Mediterráneo, a lo largo de este siglo, se producirá un incremento en la radiación ultravioleta (UV) y se reducirán los eventos de precipitación. La exposición de las plantas a estas variaciones en la radiación UV y la disponibilidad hídrica, puede causar alteraciones en su fisiología, desarrollo y reproducción. Sin embargo, estas alteraciones variarán en función de la capacidad de adaptación de las distintas especies y de las condiciones ambientales en las que se desarrollan. Aún hoy falta información para comprender como dichos factores abióticos pueden afectar la fisiología, la bioquímica foliar y la reproducción (en particular, la floración y la fructificación) de las especies vegetales Mediterráneas. Por otro lado, una mayor exposición de las plantas a la radiación UV bajo condiciones más secas puede modificar el ciclo del carbono y nitrógeno al alterar la descomposición de la hojarasca. De hecho, en los ecosistemas semiáridos, como muchas zonas del Mediterráneo, la radiación UV es un importante promotor de la descomposición de la hojarasca por fotodegradación. Sin embargo, el efecto de la radiación UV sobre la descomposición de la hojarasca es complejo y puede variar en función de la longitud de onda, siendo aún muy desconocido en los ecosistemas mediterráneos, y más aún si se pretende distinguir los efectos de la radiación UV-A y de la radiación UV-B. Considerando lo anterior, el objetivo principal de esta tesis es estudiar los efectos de la radiación UV (UV-A y UV-B) y de la disponibilidad hídrica sobre distintas especies esclerófilas típicas de los ecosistemas mediterráneos en su ambiente natural. En concreto, se pretende evaluar el efecto de: a) la radiación UV en combinación con dos niveles de precipitación sobre distintos parámetros bioquímicos y fisiológicos de las hojas, así como sobre parámetros relacionados con la floración, de plantas adultas de *Erica scoparia*, teniendo en cuenta los cambios estacionales, b) la radiación UV sobre el perfil fenólico y la actividad antioxidante de los frutos de *Prunus spinosa* y c) la radiación

UV combinada con dos niveles de precipitación sobre el proceso de descomposición de la hojarasca de *Arbutus unedo* y *Phillyrea angustifolia*.

Para alcanzar el primer objetivo, se trabajó en un experimento de campo situado en una comunidad arbustiva, donde se establecieron 18 parcelas de 3 x 3 m. Las parcelas fueron cubiertas con filtros de diferentes materiales con la finalidad de establecer tres condiciones del tratamiento de radiación UV (radiación UV ambiental o *UVBA*, sin radiación UV-B ambiental o *UVA* y sin radiación UV ambiental o *UV0*), que se combinaron con dos niveles de precipitación (natural y reducida: 10 – 30% inferior a la natural). Estacionalmente, durante un año, se midieron distintos parámetros bioquímicos (contenido de pigmentos fotosintéticos; compuestos absorbentes de la radiación UV, UACs; contenido de C y N) y fisiológicos (intercambio de gases; contenido relativo de agua, RWC y peso específico foliar, LMA) en las hojas de *E. scoparia*. Los parámetros morfológicos y biométricos (altura, diámetro, área, volumen y peso) de los botones florales (o de la flor) relacionados con la floración de *E. scoparia*, se analizaron mensualmente (entre febrero y mayo de 2018), y se realizó un seguimiento semanal del número de flores funcionales (entre abril y junio). Para alcanzar el segundo objetivo, se seleccionaron 3 zonas en los márgenes de una parcela de uso agrícola con un mínimo de 3 individuos de *P. spinosa* por zona que crecían de forma natural. Se construyeron cilindros metálicos que fueron cubiertos con diferentes filtros, con los que se consiguieron los niveles de radiación UV (*UVBA*, *UVA* y *UV0*), y se colocaron en diferentes ramas de los individuos de *P. spinosa*. Los cilindros se instalaron en mayo 2018, cuando los frutos estaban verdes, y se mantuvieron hasta el final de su maduración. En los frutos maduros se analizó el perfil fenólico y la actividad antioxidante para cada nivel de radiación UV. El estudio de la descomposición de la hojarasca de *A. unedo* y *P. angustifolia*, tercer objetivo de esta tesis, se realizó en el mismo experimento de campo en que se estudió el efecto de la radiación UV y la disponibilidad hídrica sobre la fisiología y la floración de las plantas de *E. scoparia* (primer objetivo de la tesis). Se recogió hojarasca de plantas de *A. unedo* y *P. angustifolia* que crecieron dentro de las parcelas (hojarasca

pretratada) y también de plantas que crecieron fuera de las parcelas, sin tratamiento de radiación UV y/o precipitación y se colocó en bolsas de descomposición dentro de cada parcela, bajo los distintos niveles de radiación UV y precipitación. El experimento de descomposición tuvo una duración de 347 días, y se realizaron varios muestreos en los cuales se analizó la calidad química, la actividad microbiana y la pérdida de peso de la hojarasca de las dos especies.

Los resultados obtenidos en relación al primer objetivo muestran que los parámetros fisiológicos y bioquímicos analizados en las hojas de *E. scoparia* fueron más sensibles a la radiación UV-A que a la radiación UV-B y dependieron en gran medida de las condiciones ambientales estacionales. En cambio, los parámetros estudiados relacionados con la floración de *E. scoparia*, concretamente con el tamaño de la flor, fueron más sensibles a la radiación UV-B. Estos efectos, sin embargo, variaron en función del nivel de precipitación. Concretamente, la radiación UV-A en condiciones de sequía incrementó el contenido foliar de pigmentos fotosintéticos, mientras que bajo precipitación natural redujo el contenido foliar de clorofilas. Por el contrario, en condiciones de déficit hídrico, la radiación UV-B produjo una acumulación de compuestos absorbentes de la radiación UV-A (UAC_{UV-A}) en las hojas de *E. scoparia*, independientemente de la estación. A nivel fisiológico, la radiación UV-A promovió un incremento de la transpiración foliar (E) y de la conductancia estomática (g_s) en invierno, coincidiendo con los meses con mayor precipitación acumulada, mientras que la fotosíntesis, el LMA y el RWC de las hojas no fueron sensibles a los tratamientos.

El perfil fenólico y la actividad antioxidante de las drupas de *P. spinosa* no fueron sensibles a las condiciones de radiación UV. Sin embargo, el perfil de compuestos fenólicos en la piel de las endrinas difirió del de la pulpa. El contenido de flavonoides fue superior en la piel, mientras que los ácidos hidroxicinámicos se encontraron en mayor proporción en la pulpa. En la piel destacó el contenido de flavonoles, especialmente quercetinas, que fue hasta 10 veces mayor que la de la pulpa y únicamente en la piel se encontraron antocianos.

Finalmente, los resultados obtenidos del tercer estudio muestran que en general, la hojarasca de *P. angustifolia* perdió un 6% más de peso que la de *A. unedo*. Los tratamientos de radiación UV y precipitación en que crecieron las plantas previamente a la recogida de la hojarasca afectaron su calidad inicial. En concreto, la radiación UV-A redujo el contenido inicial de N (mayor relación C:N) de la hojarasca. Esta reducción en la calidad inicial de la hojarasca pretratada se tradujo en una disminución del 3% de la pérdida de peso en comparación con la hojarasca procedente de las plantas que no habían estado sometidas a los tratamientos de radiación UV y precipitación. Durante el proceso de descomposición, la radiación UV-A promovió la fotodegradación de la celulosa y la lignina, especialmente en *P. angustifolia*, mientras que, en condiciones de precipitación natural, la radiación UV-B mostró un efecto inhibitorio de la biomasa fúngica y de la actividad extracelular de la β -glucosidasa y de la celobiohidrolasa. De forma global, los resultados indican que la radiación UV-B redujo la descomposición de la hojarasca, mientras que la radiación UV-A favoreció la pérdida de peso a través de la fotodegradación de la celulosa y la lignina. Por otro lado, la sequía ralentizó en un 5% la pérdida de peso de la hojarasca de las dos especies, independientemente de si la hojarasca provenía de plantas con o sin tratamiento previo.

Considerando los escenarios futuros de cambio climático en la Cuenca del Mediterráneo, los resultados de esta tesis sugieren que tanto la reproducción de las plantas de *E. scoparia*, como la descomposición de la hojarasca de *A. unedo* y *P. angustifolia*, podrían verse afectadas de forma significativa por el incremento de la radiación UV y la reducción de la precipitación que se espera que se produzcan a lo largo de este siglo. En concreto, la radiación UV-B y la sequía podrían reducir el tamaño floral, lo cual podría afectar la polinización. Por otro lado, el incremento de la radiación UV-B y de la sequía también podría reducir las tasas de descomposición de la hojarasca, principalmente en las especies con un contenido mayor de compuestos recalcitrantes (menor calidad), mientras que el incremento de la radiación UV-A favorecería la fotodegradación.

Resum

D'acord a diversos models de predicció climàtica, s'estima que a la Conca de la Mediterrània, al llarg d'aquest segle, es produirà un increment en la radiació ultraviolada (UV) i es reduiran els episodis de precipitació. L'exposició de les plantes a aquestes variacions en la radiació UV i en la disponibilitat d'aigua pot causar alteracions en la seva fisiologia, desenvolupament i reproducció. No obstant això, aquestes alteracions variaran en funció de la capacitat d'adaptació de les diferents espècies i de les condicions ambientals en què es desenvolupen. Encara avui falta informació per comprendre com aquests factors abiòtics (radiació UV i precipitació) poden afectar la fisiologia, la bioquímica foliar i la reproducció (en particular, la floració i la fructificació) de les espècies vegetals. D'altra banda, una major exposició de les plantes a la radiació UV sota condicions més seques pot modificar el cicle del carboni a l'alterar la descomposició de la fullaraca. De fet, en els ecosistemes semiàrids, com moltes zones de la Mediterrània, la radiació UV és un promotor important de la descomposició de la fullaraca per fotodegradació. No obstant això, l'efecte de la radiació UV sobre la descomposició de la fullaraca és complex i pot variar en funció de la longitud d'ona, essent encara molt desconegut en els ecosistemes mediterranis, més encara si es pretén distingir els efectes de la radiació UV-A i de la radiació UV-B. Atès l'anterior, l'objectiu principal d'aquest estudi és aportar informació sobre els efectes de la radiació UV (UV-A i UV-B) i de la disponibilitat hídrica sobre diferents espècies esclerofil·les típiques dels ecosistemes mediterranis en el seu ambient natural. En concret, es pretén avaluar l'efecte de: 1) la radiació UV en combinació amb dos nivells de precipitació sobre diferents paràmetres bioquímics i fisiològics, així com sobre paràmetres relacionats amb la floració de plantes adultes d'*Erica scoparia*, tenint en compte els canvis estacionals, 2) la radiació UV sobre el perfil fenòlic i l'activitat antioxidant dels fruits de *Prunus spinosa* i 3) la radiació UV combinada amb dos nivells de

precipitació sobre el procés de descomposició de la fullaraca d'*Arbutus unedo* i *Phillyrea angustifolia*.

Per assolir el primer objectiu es va treballar en un experiment de camp en on es van establir 18 parcel·les de 3 x 3 m, amb un mínim de tres individus d'*E. scoparia*, tres de *P. angustifolia* i un d'*A. unedo* per parcel·la. Les parcel·les es van cobrir amb filtres transparents de diferents materials amb la finalitat d'establir tres condicions de radiació UV (amb radiació UV ambiental o *UVBA*, sense radiació UV-B ambiental o *UVA* i sense radiació UV ambiental o *UV0*), les quals es van combinar amb dos nivells de precipitació (natural i reduïda: 10 - 30% inferior a la natural). L'any 2017, es van mesurar estacionalment diferents paràmetres bioquímics (contingut de pigments fotosintètics, compostos absorbents de la radiació UV o UACs, contingut de C i N) i fisiològics (intercanvi de gasos, contingut relatiu d'aigua o RWC i pes específic foliar o LMA). Per avaluar la floració d'*E. scoparia*, es van analitzar mensualment (entre febrer i maig de 2018) diferents paràmetres morfològics i biomètrics (alçada, diàmetre, àrea, volum i pes) dels botons florals (o de la flor), i es va realitzar un seguiment del número de flors funcionals entre abril i juny. Per assolir el segon objectiu, es van seleccionar 3 zones en els marges d'una parcel·la d'ús agrícola amb un mínim de 3 individus de *P. spinosa* que creixien de forma natural per zona. Es van construir cilindres metàl·lics coberts amb diferents filtres, per tal d'aconseguir els tres nivells de radiació UV (*UVBA*, *UVA* i *UV0*), i es van col·locar en diferents branques dels individus de *P. spinosa*. Els cilindres es van instal·lar per triplicat per cada nivell de radiació al maig 2018, quan els fruits estaven verds, i es van mantenir fins al final de la seva maduració (setembre). En els fruits madurs es va analitzar el perfil fenòlic i l'activitat antioxidant (pell i polpa per separat) per a cada nivell de radiació UV. L'estudi de la descomposició de la fullaraca d'*A. unedo* i *P. angustifolia*, tercer objectiu d'aquesta tesi, es va realitzar en el mateix experiment de camp en què es va estudiar l'efecte de la radiació UV i la disponibilitat hídrica sobre la fisiologia i la floració de les plantes d'*E. scoparia* (primer objectiu de la tesi). En concret, entre agost i setembre de 2017, es va recollir fullaraca de plantes d'*A. unedo* i *P.*

angustifolia que van créixer dins les parcel·les (fullaraca pretractada) i també de plantes que van créixer fora de les parcel·les, sense tractament de radiació UV i / o precipitació. La fullaraca de les dues espècies i de les dues procedències va ser col·locada en bosses de descomposició dins de cada parcel·la, sota els diferents nivells de radiació UV i precipitació, l'octubre de 2017. L'experiment de descomposició va tenir una durada de 347 dies, i es van realitzar diversos mostresos en els quals es va analitzar la qualitat química, l'activitat microbiana i la pèrdua de pes de la fullaraca de les dues espècies.

En general, els resultats obtinguts en relació al primer objectiu mostren que els paràmetres fisiològics i bioquímics analitzats en les fulles d'*E. scoparia* van ser més sensibles a la radiació UV-A que a la radiació UV-B i van dependre en gran mesura de les condicions ambientals estacionals. En canvi, els paràmetres estudiats relacionats amb la floració d'*E. scoparia*, concretament amb la mida de la flor, van ser més sensibles a la radiació UV-B. Aquests efectes, però, van variar en funció del nivell de precipitació. Concretament, la radiació UV-A en condicions de sequera va incrementar el contingut foliar de pigments fotosintètics, mentre que sota precipitació natural va reduir el contingut foliar de clorofil·les. Per contra, en condicions de dèficit hídric, la radiació UV-B va produir una acumulació de compostos absorbents de la radiació UV-A (UAC_{UV-A}) en les fulles d'*E. scoparia*, independentment de l'estació. A nivell fisiològic, la radiació UV-A va promoure un increment de la transpiració foliar (E) i de la conductància estomàtica (gs) a l'hivern, coincidint amb els mesos amb major precipitació acumulada, mentre que la fotosíntesi, el LMA i el RWC de les fulles no foren sensibles als tractaments.

El perfil fenòlic i l'activitat antioxidant de les drupes de *P. spinosa* no van ser sensibles a les condicions de radiació UV. No obstant això, el perfil de compostos fenòlics en la pell dels aranyons va diferir del de la polpa. El contingut de flavonoides va ser superior a la pell, mentre que els àcids hidroxicinàmics es van trobar en major proporció a la polpa. A la pell va destacar la concentració de flavonols, especialment quercetines, que va ser fins a 10 vegades superior que la de la polpa i únicament a la pell es van trobar antocians.

Finalment, els resultats obtinguts del tercer estudi mostren que, en general, la fullaraca de *P. angustifolia* va perdre un 6% més de pes que la d'*A. unedo* durant el període de descomposició estudiat (347 dies). Els tractaments de radiació UV i precipitació en què van créixer les plantes prèviament a la recollida de la fullaraca van afectar la seva qualitat inicial. En concret, la radiació UV-A va reduir el contingut inicial de N (major relació C:N) de la fullaraca i el seu efecte va ser superior en condicions de sequera. Aquesta reducció en la qualitat inicial de la fullaraca pretractada es va traduir en una disminució del 3% de la pèrdua de pes en comparació amb la fullaraca procedent de les plantes que no havien estat sotmeses als tractaments. Durant el procés de descomposició, la radiació UV-A va promoure la fotodegradació de la cel·lulosa i la lignina, especialment a la fullaraca de *P. angustifolia*, mentre que, en condicions de precipitació natural, la radiació UV-B va mostrar un efecte inhibitor de la biomassa fúngica i de l'activitat extracel·lular de la β -glucosidasa i de la celobiohidrolasa. De forma global, els resultats indiquen que la radiació UV-B va reduir la descomposició de la fullaraca, mentre que la radiació UV-A va afavorir la pèrdua de pes a través de la fotodegradació de la cel·lulosa i la lignina. D'altra banda, la sequera va alentir en un 5% la pèrdua de pes de la fullaraca de les dues espècies, independentment de si la fullaraca provenia de plantes amb o sense tractament previ.

Considerant els escenaris futurs de canvi climàtic a la Conca Mediterrània, els resultats d'aquesta tesi suggereixen que tant la reproducció de les plantes d'*E. scoparia*, com la descomposició de la fullaraca d'*A. unedo* i *P. angustifolia*, podrien veure's afectades de manera significativa per l'increment de la radiació UV i la reducció de la precipitació que s'espera que es produeixin al llarg d'aquest segle. En concret, la radiació UV-B i la sequera podrien reduir la mida de la flor, la qual cosa podria afectar la pol·linització. D'altra banda, l'increment de la radiació UV-B i de la sequera també podria reduir les taxes de descomposició de la fullaraca, principalment en les espècies amb un contingut major de compostos recalcitrants (menys qualitat), mentre que l'increment de la radiació UV-A beneficiaria la fotodegradació.

Abstract

According to climatic models on the Mediterranean Basin, an increase in the ultraviolet (UV) radiation reaching Mediterranean ecosystems, as well as drier conditions, are expected by the end of this century. Exposure of plants to different levels of UV radiation and water availability can cause alterations on their physiology, development and reproduction. However, these alterations could be different depending on plant adaptation capacity and the environmental conditions in which plants develop. Nowadays, there is a lack of information to understand how changes in these abiotic factors (UV radiation and rainfall) would affect plant physiology, biochemistry and reproduction (in particular, flowering and fruiting) of Mediterranean species. Plant exposure to higher doses of UV radiation under drier conditions might also modify the carbon cycle by altering litter decomposition. In fact, in semi-arid ecosystems, such as majority of the areas in the Mediterranean, UV radiation is an important driver of litter decomposition through photodegradation. However, the effect of UV radiation on leaf litter decomposition is complex and might vary depending on the UV wavelength. Consequently, the magnitude of this effect is still unknown, especially in Mediterranean ecosystems, and it is quite challenging to differentiate the effects of UV-A and UV-B radiation. Hence, the main objective of this thesis is to study the effects of UV (UV-A and UV-B) radiation and water availability on different sclerophyllous Mediterranean species in their natural environment. This global objective is split down into three specific objectives: a) to evaluate the effect of UV radiation combined with two rainfall levels on different biochemical and physiological leaf parameters, as well as on flowering-related parameters of adult *Erica scoparia* plants, taking into account seasonal changes; b) to analyze the effect of UV radiation on the phenolic profile and antioxidant activity of *Prunus spinosa* fruits and c) to assess the effect of UV radiation combined with two rainfall levels on the decomposition process of *Arbutus unedo* and *Phillyrea angustifolia* leaf litter.

To achieve the first objective, a field experiment was conducted in a shrub community. In 2011, eighteen plots of 3 m x 3 m grouped into three blocks were set up, containing each plot at least three plants of *E. scoparia* and *P. angustifolia* and one from *A. unedo*. These plots were covered with transparent filters made from different materials in order to establish three UV radiation conditions (with ambient UV radiation or *UVBA*, without ambient UV-B radiation or *UVA*, and without ambient UV radiation or *UV0*), and were combined with two levels of rainfall (natural and reduced: 10 - 30% lower than natural). In 2017, several leaf biochemical (content of photosynthetic pigments, UV-absorbing compounds (UACs) and C and N) and physiological parameters (gas exchange rates, relative water content (RWC) and mass area (LMA)) were seasonally measured in three *E. scoparia* plants per plot. To assess the effect of the treatments on the flowering capacity of *E. scoparia*, morphological and biometric parameters (height, diameter, area, volume and weight) of the flower buds (or flower) were analysed between February and May 2018 (on a monthly basis) and the number of functional flowers were recorded between April and June (on a weekly basis). To accomplish the second objective, three areas on the margins of an agricultural field with a minimum of three naturally growing *P. spinosa* plants were selected. Metal cylinders covered with different filters (according to the UV radiation levels: *UVBA*, *UVA* and *UV0*) were placed in different *P. spinosa* branches. In May 2018, three cylinders per zone were installed for each level of UV radiation in different individuals, when fruits were still green, being maintained until the end of ripening (September). In ripe fruits, the phenolic profile and antioxidant activity (skin and pulp separately) were analysed for each UV radiation level. Finally, to address the last objective, a study of the litter decomposition of *A. unedo* and *P. angustifolia* was carried out in the same experiment in which the physiology and flowering of *E. scoparia* plants (first objective) were studied. Specifically, between August and September 2017, senescent leaves were collected from *A. unedo* and *P. angustifolia* plants grown within the plots (pre-treated litter) and also from plants grown under natural conditions. In October 2017, leaf litter of the two species was placed in

decomposition bags inside each plot, under different levels of UV radiation and rainfall. The decomposition experiment lasted 347 days, and, according to a sampling schedule, a single litterbag was randomly selected from each plot and removed for analysis each sampling date. The chemical quality, the microbial activity and the mass loss of the litter of the two species were analysed in each single litterbag.

Overall, the results obtained regarding the first objective demonstrated that the physiological and biochemical parameters examined in the *E. scoparia* leaves are more sensitive to UV-A radiation than to UV-B radiation and that are highly dependent on seasonal environmental conditions. On the contrary, the parameters related to flowering, specifically flower size, were more sensitive to UV-B radiation, though these effects varied depending on the level of precipitation. Specifically, UV-A radiation under drought conditions increased the photosynthetic pigment content of leaves (chlorophylls and carotenoids), while under natural precipitation, the leaf chlorophyll content decreased. In contrast, under reduced rainfall, plant exposure to UV-B radiation stimulated the accumulation of UV-A-absorbing compounds (UAC_{UV-A}), regardless of the season. At the physiological level, UV-A radiation promoted an increase in the leaf transpiration (E) and stomatal conductance (gs) in winter, coinciding with the months with the highest accumulated precipitation. Net photosynthetic rates, LMA and RWC were not sensitive to treatments.

The phenolic profile and antioxidant activity of *P. spinosa* drupes were not sensitive to UV radiation conditions. However, the profile of phenolic compounds in the skin was different from that of the pulp. Indeed, while flavonoid content was higher in the skin, hydroxycinnamic acids were found in a greater proportion in the pulp. Hydroxycinnamic acids have a potent antioxidant function, which would be in accordance with the fact that the antioxidant activity of the pulp was almost double than that of the skin. In the skin, the concentration of flavonols, especially quercetins, was about 10 times higher than that of the pulp. Anthocyanins were only

found in the skin, and, among the four detected anthocyanins, the most abundant were the cyanidin-3-O-rutinoside and the peonidine-3-O-rutinoside.

Finally, the results obtained from the third study showed that the leaf litter mass loss of *P. angustifolia* was 6% higher than that of *A. unedo*. This was probably due to the higher biochemical quality of *P. angustifolia* litter (higher nitrogen content and lower C: N ratio) and to its greater microbial activity. The UV radiation and rainfall conditions in which plants grew before the leaf litter was collected affected the initial litter chemistry. Specifically, UV-A radiation promoted a reduction in the N content (higher C: N ratio) of the litter and this effect was superior under drought conditions. The low initial chemical quality of the pre-treated litter resulted in a 3% decrease of the mass loss compared to the litter from plants that were not previously subjected to the UV radiation and precipitation treatments. During the decomposition process, UV-A radiation stimulated cellulose and lignin photodegradation, especially in *P. angustifolia*. Conversely, under natural precipitation, UV-B radiation showed an inhibitory effect on fungal biomass and also on the β -glucosidase and cellobiohydrolase extracellular activities. Overall, results show that UV-B radiation reduced litter decomposition, while UV-A radiation stimulated litter mass loss through the stimulation of cellulose and lignin photodegradation. Furthermore, drier conditions slowed down litter mass loss by 5%, regardless of whether litter came from plants that had been pre-treated or not.

Considering future climate change predictions for the Mediterranean Basin, the results of this thesis suggest that the reproduction of *E. scoparia* plants, as well as the decomposition of the leaf litter of *A. unedo* and *P. angustifolia*, can be affected by the increase in UV radiation and the reduction in rainfall. Specifically, UV-B radiation and drought could reduce flower size, which, in turn, might affect pollination. On the other hand, the increase in UV-B radiation and drought could also reduce the decomposition rates of leaf litter, especially in species with a high leaf content of recalcitrant compounds (i.e., low litter chemical quality), while the increase in UV-A radiation might stimulate litter photodegradation.

Capítulo I

Introducción

1.1 Cambio climático en la Cuenca Mediterránea

La radiación ultravioleta (UV) es una parte de la región no ionizante del espectro electromagnético que comprende aproximadamente el 8-9% de la radiación solar total, tiene longitudes de onda dentro del rango de 100 a 400 nm y se divide en tres bandas: la radiación UV-A (315-400 nm), la radiación UV-B (280-315 nm) y la radiación UV-C (100-280 nm) (Hollósy 2002; Calbó et al. 2005). Debido a que la capa de ozono absorbe toda la radiación UV-C y una parte de la radiación UV-B, a la superficie terrestre solo le llega una pequeña proporción de UV-B y la radiación UV-A. En concreto, un 5% de la radiación UV que llega a la superficie terrestre es UV-B y un 95% es UV-A (Bais et al. 2019).

Debido al incremento de la actividad antropogénica, entre 1980 y 1990 aumentó de forma significativa la radiación UV-B que incidía en la superficie de la Tierra (McKenzie et al. 2011). Este incremento se debió, principalmente, a la liberación de clorofluorocarbonos (CFC), que destruyen el ozono estratosférico. Para limitar la reducción de la columna de ozono estratosférico, en 1986 se implementó exitosamente el Protocolo de Montreal (Bais et al. 2015), el cual prohibió el uso de dichas sustancias. En consecuencia, se frenó el declive de la capa de ozono y con ello el aumento de la radiación UV-B que llegaba a la Tierra (Ballaré et al. 2011). Sin embargo, los modelos climáticos prevén un incremento de la radiación ultravioleta (UV-B y UV-A) que llega a la Cuenca Mediterránea a lo largo de este siglo debido a la disminución en la nubosidad (Figura 1.1) que se espera como consecuencia del cambio climático (Bais et al. 2015, 2019)

Por otro lado, también se estima que durante este siglo la precipitación disminuya en muchas regiones de latitud media y subtropicales (IPCC 2014). De hecho, en la Cuenca Mediterránea se espera una fuerte reducción de las

precipitaciones (Figura 1.2), especialmente en verano (IPCC 2014), causada principalmente por una menor frecuencia de eventos de lluvia (Bussotti et al., 2014, Nardini, 2014). En consecuencia, en un futuro próximo, se prevé que las plantas mediterráneas no solo estén expuestas a un aumento de la radiación UV, sino también a una reducción de la precipitación.

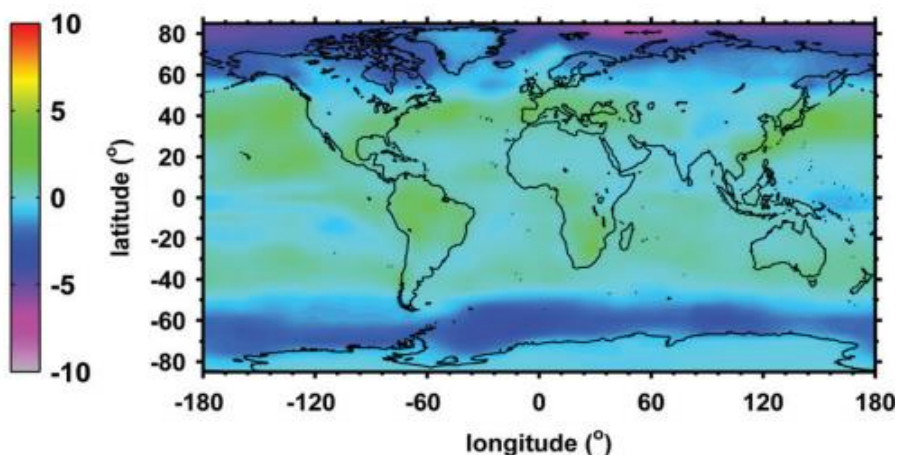


Figura 1.1 Variación porcentual esperada del índice ultravioleta (UVI) a mediodía para el período 2085–2095 en relación a los valores de la última década (2010-2020) (Bais et al. 2015).

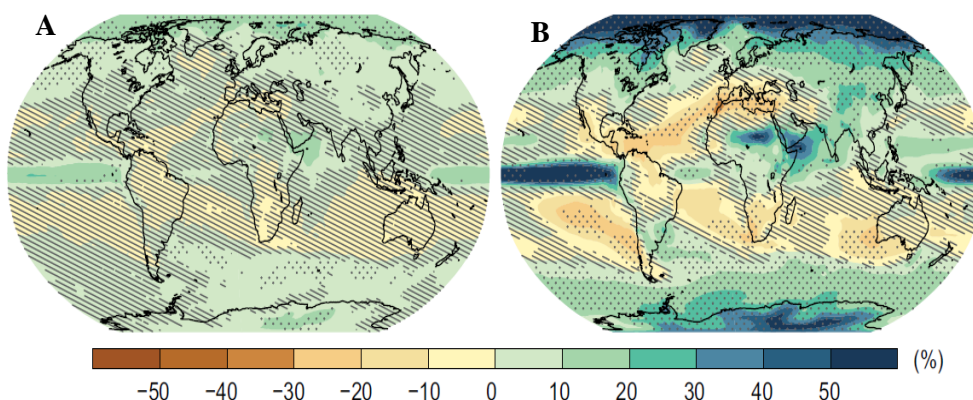


Figura 1.2 Cambio porcentual en la precipitación media anual para el periodo 2081-2100 en relación al periodo 1986-2005 con los escenarios A) RCP2.6 y B) RCP8.5 (derecha)(IPCC 2014). Las tramas punteadas indican las regiones donde, por lo menos, el 90% de los modelos concuerdan con el signo del cambio.

La exposición de las plantas a estas variaciones de radiación UV y disponibilidad de agua que se prevén en un futuro próximo, pueden causar alteraciones en sus características fisiológicas, bioquímicas y su reproducción (Caldwell et al. 2007; Ballaré et al. 2011). Sin embargo, aún no se cuenta con suficiente información para comprender como dichos factores abióticos pueden afectar a la reproducción de las plantas, tanto considerando la floración como la fructificación. Además, una mayor exposición a la radiación UV con distintos niveles de precipitación puede modificar el ciclo del carbono a través de alterar la descomposición de la hojarasca (Barnes et al. 2015; Bornman et al. 2019). De hecho, en los ecosistemas semiáridos, como muchas zonas del Mediterráneo, la radiación UV es un importante promotor de la descomposición de la hojarasca por fotodegradación (Brandt et al. 2009; Baker et al. 2015). Sin embargo, la magnitud de este efecto sigue siendo desconocida, especialmente en los ecosistemas mediterráneos.

1.2 Respuestas fisiológicas, bioquímicas y fenológicas (floración) de las plantas frente a los cambios en la radiación UV y en la disponibilidad hídrica.

1.2.1 Efecto de la radiación UV

El crecimiento y el desarrollo de la vegetación es muy sensible a los factores abióticos, tales como la radiación UV y la disponibilidad de agua (Wijewardana et al. 2016), los cuales pueden cambiar como consecuencia del cambio climático. Además, las diferentes longitudes de onda de la radiación UV (UV-B y UV-A) podrían tener un efecto diferente en el crecimiento y el desarrollo de las plantas. De hecho, la radiación UV-A puede tener efectos sobre las plantas diferentes de los desencadenados por la radiación UV-B (Verdaguer et al. 2017). Muchos trabajos han demostrado que la radiación UV-B causa daños al ADN, a las proteínas y a las membranas celulares, impide la actividad fotosintética, frena el crecimiento de las plantas y genera estrés oxidativo, es decir, un incremento de las especies reactivas

de oxígeno (ROS) (Jansen et al. 1998, 2008; Caldwell et al. 2007; Hideg et al. 2013). Las plantas responden a la exposición a los rayos UV (UV-B y UVA) fundamentalmente de dos maneras. La primera consiste en desarrollar estrategias para evitar o disminuir la radiación que llega a los tejidos fotosintéticos. En este sentido, se han descrito diferentes cambios morfológicos en las hojas, como el crecimiento de pelos, el engrosamiento de la cutícula y la epidermis y también el incremento del peso específico foliar o LMA (peso seco dividido por área foliar) (Jansen 2002; Paoletti 2005). El segundo tipo de respuesta consiste en activar los mecanismos de reparación y/o los sistemas antioxidantes de la planta. Los mecanismos antioxidantes permiten reducir las ROS (Agati y Tattini 2010), para evitar que reaccionen con los ácidos nucleicos, proteínas, lípidos de membrana, etc., alterando su función (Hideg et al. 2013). Las células vegetales presentan diferentes sistemas antioxidantes. Por ejemplo, los enzimáticos que tendrían lugar a través de enzimas específicas como la catalasa, superóxido dismutasa, etc., o los que se darían a través de compuestos capaces de reducir las ROS, como ciertos fenoles y algunos pigmentos fotosintéticos (Xu et al. 2010; Hideg et al. 2013; Rodríguez-Calzada et al. 2019). Los fenoles o compuestos fenólicos son moléculas orgánicas químicamente formadas por al menos un anillo aromático (fenol) o más (polifenoles) con un hidroxilo. Existe una gran variedad de estos compuestos pero los más importantes relacionados con la defensa de la planta frente a la radiación UV son los fenoles de bajo peso molecular, como los flavonoides y los ácidos fenólicos (Kotilainen et al. 2008), ya que gracias a su función antioxidante protegen el metabolismo celular de los efectos perjudiciales de las ROS (Paoletti 2005), pudiendo además actuar en las hojas como pantallas solares (Ballaré et al. 2011) al ser capaces de absorber la radiación UV (Agati y Tattini 2010). En relación a los pigmentos fotoprotectores, algunos carotenoides, como por ejemplo el β -caroteno, pueden neutralizar el oxígeno singlete y los radicales resultantes de la peroxidación lipídica (Munné-Bosch y Alegre 2000), mientras que otros pueden intervenir en la fotoprotección de los fotosistemas favoreciendo la disipación del exceso de energía en forma de calor, como sería por ejemplo el caso de algunas xantofilas (Demmig-

Adams 1990; Demmig-Adams et al. 2006; Klem et al. 2015). Según las condiciones de radiación UV, las plantas también activan mecanismos para reparar el ADN como la producción de enzimas (Alexieva et al. 2001; Wijewardana et al. 2016), por ejemplo fotoliasas, que inducen un proceso de fotoreactivación (proceso de reparación directa del ADN) de las células (Biever y Gardner 2016; Bornman et al. 2019).

A pesar de sus posibles efectos nocivos, cada vez más estudios indican que la radiación UV ambiental también actúa como un factor regulador del desarrollo vegetal (Hideg et al. 2013). Por ejemplo, se ha sugerido que la radiación UV-B puede actuar como una señal ambiental en relación a la fenología de las plantas (Strømme et al. 2018) y, conjuntamente con la radiación UV-A, podría mejorar la sincronización de la floración de las plantas y la maduración de los frutos de *Solanum lycopersicum* (Mariz-Ponte et al. 2018). Además, en árboles de *Populus tremula* se ha demostrado que la radiación UV-B está involucrada en las transiciones fenológicas, como, por ejemplo, las fechas de aparición de los botones florales (Strømme et al. 2019). A nivel morfológico, niveles de radiación UV-B por encima de los ambientales, pueden también reducir el tamaño de las flores y el número de anteras por flor (Kakani et al. 2003; Koti et al. 2004, 2005). Esto podría tener implicaciones en la polinización puesto que, en general, los polinizadores prefieren flores grandes y/o una alta densidad de flores (Barbir et al. 2014). Sin embargo, en otro trabajo se reportó que un aumento de la radiación UV-B indujo un incremento en el diámetro de las flores de la especie mediterránea *Malcolmia maritima*, sin afectar su producción floral (Petropoulou et al. 2001). Esta aparente contradicción en las respuestas de las plantas a la radiación UV-B sugiere que otros factores ambientales o genéticos, serían responsables de estas discrepancias (Llorens et al. 2015). Por tanto, es necesario incrementar los estudios en especies vegetales mediterráneas en condiciones naturales para poder entender como la radiación UV ambiental modula su desarrollo y, en particular, su reproducción.

1.2.2 Efecto de la disponibilidad hídrica

Estudios previos han demostrado que el déficit hídrico afecta la morfología, la fisiología, el crecimiento y la fenología de las plantas (Bussotti et al. 2014; Gratani et al. 2016), asociándose a un aumento de la peroxidación lipídica y a una disminución del contenido de clorofila, de la conductancia estomática y de la tasa fotosintética (Pierantozzi et al. 2013). No obstante, las plantas también han desarrollado mecanismos para resistir la sequía, evitando o minimizando sus efectos, ya sea a través de adaptaciones morfológicas o de cambios en su metabolismo (Valladares et al. 2004). A nivel morfológico, por ejemplo, algunas especies disminuyen su área foliar para reducir el área de transpiración, evitando así una excesiva pérdida de agua (Xu et al. 2010). Otra respuesta común es la disminución del crecimiento celular y de la fotosíntesis, generándose una reducción global de la biomasa vegetal (Valladares et al. 2004; Petrozza et al. 2014). En otras especies, aumenta la sensibilidad de los estomas al ácido abscísico (ABA) (Jiang y Hartung 2008), cerrándose en respuesta a ligeros descensos del contenido hídrico del suelo (Xu et al. 2010). Otra estrategia para hacer frente al déficit hídrico es aumentar la inversión en raíces para mejorar la absorción de agua (Verdaguer et al. 2011). Por otra parte, debido a que el estrés hídrico también puede dar lugar a la producción de ROS, a nivel bioquímico también se producen cambios, como, por ejemplo, la producción de fenoles que mitigan los efectos del estrés oxidativo (Johnová et al. 2016; Sun et al. 2016).

A nivel fenológico, y específicamente en relación a la fenología de la floración, se ha comprobado que la reducción de la disponibilidad de agua puede adelantar el momento de floración de las especies, lo cual les permite acortar sus ciclos de vida de forma adaptativa (Hwang et al. 2019). Además, las flores pueden tener distintas respuestas fisiológicas y morfológicas cuando están expuestas a la sequía, como la reducción de la producción de flores, tamaño y área floral (Borghi et al. 2019). Por ejemplo, en un estudio realizado en *Diplotaxis tenuifolia*, se comprobó que si las plantas son sometidas a déficit hídrico por algún tiempo se reduce significativamente el número de flores funcionales, el área y el diámetro

floral (Barbir et al. 2014). Esto también se ha observado en dos variedades de *Olea europaea* L. (arbequina y manzanilla) (Pierantozzi et al. 2013) y en otras especies mediterráneas, como por ejemplo *Erica multiflora* y *Globularia alypum* (Llorens y Peñuelas 2005). Por otro lado, en algunos estudios se ha reportado que el estrés por sequía mejora la tasa de floración (Wu et al. 2017) lo cual podría sugerir, al igual que en el caso de la radiación UV, que este es un mecanismo de la planta para asegurar su éxito reproductor antes de morir (Llorens et al. 2015). Comprender cómo distintos factores relacionados con el cambio climático afectarán la fenología de las plantas, y en particular su floración, nos ayudará a comprender las consecuencias de estos cambios sobre la productividad vegetal, el ciclo del carbono, la competencia entre especies, las cadenas alimentarias y otras funciones y del ecosistema (Rathcke y Lacey 1985; Tang et al. 2016).

1.2.3 Efecto interactivo de la radiación UV y la disponibilidad hídrica

Todavía falta información para poder comprender los efectos de la radiación UV en un entorno complejo donde las plantas están expuestas simultánea o secuencialmente a cambios en otros factores ambientales, como la disponibilidad hídrica, que pueden modificar su crecimiento y desarrollo (Bornman et al. 2019). Algunos estudios realizados en plantas mediterráneas sugieren que un incremento en la dosis de radiación UV podría mejorar el estado hídrico y el crecimiento de las plantas en condiciones de baja disponibilidad de agua (Bernal et al., 2015). Resultados similares se han observado en dos especies de pinos mediterráneos, *Pinus pinea* y *P. halepensis*, en los que el tratamiento con UV-B mejoró la tolerancia a la sequía (Paoletti 2005). A pesar de que hay numerosos estudios sobre el efecto de la radiación UV sobre el crecimiento vegetal, la mayoría de estos estudios se han realizado con especies de interés económico, existiendo relativamente pocos trabajos que se hayan centrado en especies forestales de interés ecológico y menos aún que hayan tenido en cuenta la posible interacción entre los niveles de radiación UV y de disponibilidad hídrica. Por ello, la información disponible sobre el efecto conjunto de la radiación UV y del déficit hídrico sobre

plantas mediterráneas bajo condiciones naturales es muy limitada (Nenadis et al. 2015; Verdaguer et al. 2018). La comprensión de las respuestas morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y fenológicas a los distintos tipos de estrés abiótico es imprescindible para la gestión futura de las especies vegetales mediterráneas y sus comunidades. Para el presente estudio, se ha seleccionado *Erica scoparia* porque es una de las especies nativas dominantes en los hábitats arbustivos mediterráneos (Ojeda et al., 1998). Además, esta especie es de interés ecológico porque tiene una elevada capacidad de rebrotar después de una perturbación (Herrera 1987), lo cual confiere una elevada resiliencia a la comunidad. Por otro lado, también es una especie de interés económico, al ser explotada para la producción, antes de escobas, de aquí su nombre, y actualmente para la realización de vallas, principalmente de jardín. No obstante, a pesar de su interés, los estudios realizados con esta especie son muy escasos, básicamente debido a la dificultad que presenta el trabajar con una especie de hojas muy pequeñas y de difícil manipulación.

Estas respuestas de la planta a nivel foliar, a la radiación UV y al déficit hídrico, pueden afectar de forma indirecta, a otros órganos de la planta, como los frutos (Jordan 2017). Sin embargo, la radiación UV también puede afectar directamente sus características bioquímicas (Solovchenko y Schmitz-Eiberger 2003; Berli et al. 2008, 2011; Matus et al. 2009; Jug y Rusjan 2012; Marfil et al. 2019).

1.3 Cambios en el perfil fenólico y en la actividad antioxidante de los frutos frente a los cambios en la radiación UV.

Los frutos son órganos específicos de las angiospermas diseñados para la protección y dispersión de las semillas (Seymour et al. 2013; Matus et al. 2019). Estos derivan típicamente de un ovario maduro que contiene las semillas, aunque también pueden incluir otros tejidos (Taiz et al. 2015). Los frutos pueden ser muy diversos y se agrupan según distintas características. Por ejemplo, pueden ser clasificados en: *agregados*, si provienen de varios carpelos separados de una sola flor, *múltiples*, si se originan a partir de los ovarios fusionados de varias flores

y *simples*, si provienen de un solo carpelo, o varios carpelos fusionados, sin ninguna parte floral adjunta (Beck 2010). También, se pueden clasificar en dehiscentes o indehiscentes, si liberan las semillas al madurar o las mantienen protegidas, respectivamente, o en secos o carnosos dependiendo de su composición y contenido hídrico. Dentro de los frutos carnosos, se distinguen las bayas como la uva, pseudobayas como el banano, pepónides como el pepino, hesperidios como la naranja, pomos como la manzana, trimas como la nuez, nuculanios como el níspero y drupas como la cereza (Seymour et al. 2013). En este trabajo se estudiarán los frutos de *Prunus spinosa*, también llamadas endrinas, que son frutos carnosos de tipo drupa monocarpelar (Gutián et al. 1993). Este tipo de frutos se caracteriza por tener el endocarpio (capa interna), vulgarmente llamado hueso, esclerenquimático; el mesocarpio (capa media) carnoso y el epicarpio (capa externa) glabro y lustroso (Seymour et al. 2013). El desarrollo de los frutos carnosos se inicia con la fertilización y se caracteriza por dos fases principales que preceden a la maduración del fruto: una fase de división celular que comienza poco después de la polinización y una fase de expansión celular que es responsable del aumento del tamaño del fruto (Gillaspy et al. 1993). Luego, a diferencia de los frutos secos que sufren lignificación, los frutos carnosos entran en un complejo proceso de maduración caracterizado por modificaciones metabólicas como la acumulación de azúcares solubles, la degradación de la pared celular y la síntesis de una amplia gama de compuestos secundarios de alto valor nutricional, como los fenoles (Knapp y Litt 2013; Kong et al. 2019). Por ejemplo, en un estudio realizado en cuatro cultivares de ciruela (*Prunus domestica*), durante el proceso de maduración de las drupas, disminuyó el contenido de ácidos totales y aumentó el contenido de algunos fenoles como los antocianos (Usenik et al. 2008). Los compuestos fenólicos de los frutos tienen una gran importancia desde el punto de vista ecológico porque atraen a organismos dispersores de las semillas (Grotewold 2006; Askari-Khorasgani y Pessaraki 2019), favoreciendo la reproducción de la planta. También son importantes los fenoles de los frutos porque algunos de ellos, como los antocianos, pueden ser disuasivos de herbívoros o pueden actuar como agentes antifúngicos

(Haminiuk et al. 2012). Por otro lado, estos compuestos fenólicos suelen ser muy apreciados para la salud por sus actividades antioxidantes, antitumorales, cardioprotectoras y antiinflamatorias (Naczk y Shahidi 2004; Keller 2015; Ursache et al. 2018; Askari-Khorasgani y Pessarakli 2019). Sin embargo, el perfil fenólico de los frutos de muchas especies, y especialmente en el caso de las especies silvestres, es desconocido.

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios biosintetizados principalmente a través de la vía del ácido shikímico (Jordan 2017). Sin embargo, en menor medida, también pueden obtenerse a través de la ruta de síntesis del ácido malónico, o por ambas rutas como en el caso de los flavonoides (Conde et al. 2008). Los fenoles se localizan en todos los órganos de las plantas, pero son abundantes en frutos y semillas (Kutchan et al. 2015). Se sintetizan durante el desarrollo normal de la planta, así como en respuesta a diferentes factores de estrés biótico y abiótico, como la radiación UV, entre otros (Naczk y Shahidi 2004). La estructura química de los fenoles consiste en uno o varios anillos bencénicos con al menos un grupo hidroxilo unido (Kutchan et al. 2015). Se pueden clasificar en diferentes grupos en función del número de anillos de benceno que presenten y de los elementos estructurales que unen estos anillos entre sí. De este modo, se diferencian en ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos y lignanos (Haminiuk et al. 2012; Kutchan et al. 2015).

En los frutos carnosos, especialmente en las drupas, como es el caso de *P. spinosa*, los principales grupos de compuestos fenólicos descritos hasta el momento son los ácidos fenólicos y los flavonoides (Mikulic-Petkovsek et al. 2016). Los ácidos fenólicos se pueden dividir en ácidos hidroxibenzoicos y ácidos hidroxicinámicos (Haminiuk et al. 2012). En los frutos carnosos, como las drupas y las bayas, son más abundantes los ácidos hidroxicinámicos (Figura 1.3) y dentro de este grupo, en términos de concentración, predominan los ácidos *p*-cumarico, cafeico y ferúlico (Manach et al. 2004). Los ácidos hidroxicinámicos se acumulan sobretodo en la pulpa de los frutos carnosos, aunque también están presentes en la piel y la semilla (Braidot et al. 2008). La síntesis de estos compuestos ocurre antes

de comenzar la maduración del fruto, y su concentración disminuye gradualmente conforme avanza este proceso (Teixeira et al. 2013a; Keller 2015).

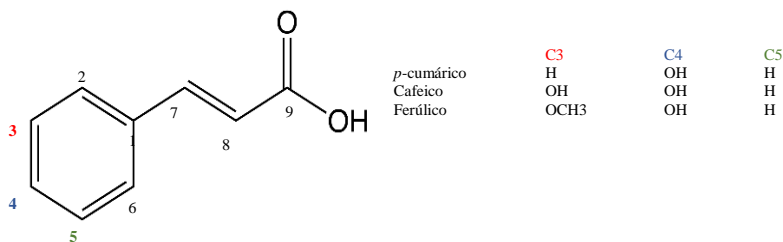


Figura 1.3 Estructura básica de un ácido hidroxicinámico y el nombre de sus glucósidos de acuerdo con sus sustituyentes en la posición 3' 4' y 5' (Adams 2006).

Los flavonoides son compuestos polifenólicos en los que dos anillos de benceno hidroxilados (A y B) están unidos por una cadena de tres carbonos que forma parte de un anillo (C) heterocíclico (Figura 1.4) (Teixeira et al. 2013a). En los frutos carnosos, especialmente drupas y bayas, los flavonoides se localizan sobre todo en la piel, comúnmente en las capas internas de la hipodermis, y en algunas capas de la cubierta de la semilla (Conde et al. 2008; Keller 2015). Dentro de los flavonoides se distinguen varios grupos, siendo los principales los antocianos, las proantocianidinas (taninos) y, en menor medida, los flavan-3-ols (catequinas) y los flavonoles simples (quercetinas y kaempferoles) (Braidot et al. 2008; Teixeira et al. 2013a).

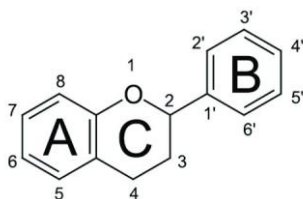


Figura 1.4 Estructura básica de un flavonoide (Teixeira et al. 2013a)

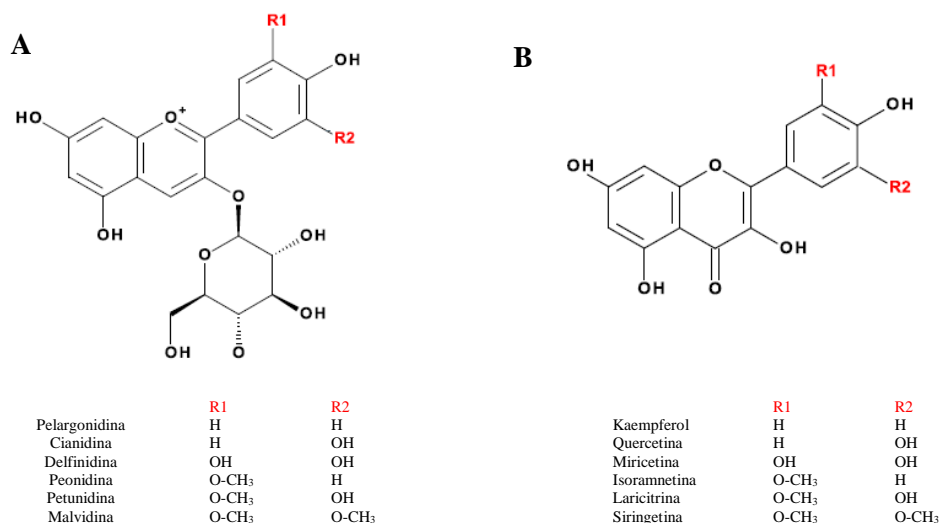


Figura 1.5 Estructura general de un antociano (A) y un flavonol (B), y los nombres de sus glucósidos de acuerdo a sus sustituyentes en la posición 3' y 5' (Adams 2006).

En los frutos carnosos, como las drupas de *P. spinosa* o *P. domestica* o bayas de *Vitis vinifera*, los principales grupos de flavonoides descritos son antocianos, flavonoles y flavanoles (Mikulic-Petkovsek et al. 2016). Los antocianos, en estos frutos, son responsables de su pigmentación roja, púrpura o azul y su acumulación comienza, generalmente, al inicio de la maduración, alcanzando su máxima concentración en las últimas fases de maduración de la fruta cuando se detiene su síntesis (Adams 2006; Teixeira et al. 2013a). En los frutos carnosos existen diferentes tipos de antocianos encontrándose, entre los más comunes, la delfinidina, cianidina, pelargonidina, malvidina, petunidina y peonidina (Figura 1.5A) (Haminiuk et al. 2012). En drupas y bayas, los flavonoles (Figura 1.5B) están representados principalmente por quercetinas y kaempferoles (Manach et al. 2004) y, según estudios realizados, principalmente con *V. vinifera*, su concentración varía ampliamente según la variedad (Teixeira et al. 2013a). La síntesis de flavonoles ocurre principalmente durante las primeras etapas del desarrollo de los frutos carnosos, como las bayas de *V. vinifera*, y termina cuando se inicia la maduración (Braidot et al. 2008). En el caso de *P. spinosa*, los pocos estudios realizados se

centran en determinar el perfil fenólico del fruto (Ruiz-Rodríguez et al. 2014; Veličković et al. 2014; Mikulic-Petkovsek et al. 2016; Popović et al. 2020). Sin embargo, en ninguno de estos estudios se describe la concentración de los distintos compuestos en las diferentes partes del fruto, como sí se ha estudiado en otras especies, como *V. vinifera* (Teixeira et al. 2013b; Jordan 2017), a pesar de que estos compuestos pueden tener diferentes funciones en los distintos tejidos del fruto (Del-Castillo-Alonso et al. 2016b).

1.3.1 Efecto de la radiación UV sobre el perfil fenólico de los frutos carnosos

Como se ha comentado antes, la exposición de las plantas a la radiación UV, especialmente la radiación UV-B, puede conducir a cambios en la morfología, fisiología y bioquímica de las plantas (sección 1.2) (Barnes et al. 2019). Sin embargo, las plantas, al estar inevitablemente expuestas a la radiación UV porque necesitan la luz solar para realizar la fotosíntesis, han desarrollado mecanismos para aclimatarse a ésta (Hideg et al. 2013). Además, como consecuencia del cambio climático, es posible que en un futuro próximo las plantas estén sometidas a dosis superiores de radiación UV. Por tanto, entender los mecanismos que las plantas, incluyendo los frutos, presentan para hacer frente a la radiación UV es de gran interés. Entre los mecanismos más importantes descritos en las plantas para responder a la radiación UV están: la acumulación de compuestos absorbentes de la radiación UV-B (UACs), la reparación del daño celular inducido por la radiación UV-B y la activación de sistemas antioxidantes (Rozema et al. 1997; Xu et al. 2010; Hideg et al. 2013; Rodríguez-Calzada et al. 2019). La respuesta de la planta a la radiación UV a nivel foliar puede afectar de forma indirecta las características bioquímicas de los frutos (Jordan 2017), aunque la radiación UV también puede afectar de forma directa a los frutos. Una de las rutas bioquímicas sensibles a la radiación UV en los frutos carnosos, como la uva, parece ser la ruta de los fenilpropanoides, involucrada en la producción de compuestos fenólicos y fenilpropanoides (Jordan 2017). Una de las funciones de los compuestos fenólicos en los frutos es la de actuar como antioxidantes, lo cual permitiría reducir las

especies reactivas de oxígeno (ROS) producidas por la incidencia de la radiación UV-B (Jacob et al. 2012; Liu et al. 2017). En concreto, la mayor actividad antioxidante en pomos de *Malus domestica* (Hagen et al. 2007) o en las drupas de *P. spinosa* (Popović et al. 2020) ha sido atribuida principalmente a su contenido en flavonoides (especialmente antocianos) y ácidos fenólicos. Diversos estudios realizados con los frutos de *Hordeum vulgare* (Mazza et al. 1999) o de *V. vinifera* (Berli et al. 2015; Alonso et al. 2016) sugieren que el incremento de la actividad antioxidante en los frutos tiene un papel importante en la tolerancia al aumento en la radiación UV-B natural.

En los frutos carnosos, como las bayas de *V. vinifera* (Kotilainen et al. 2008; Berli et al. 2011; Keller 2015; Del-Castillo-Alonso et al. 2016a) o los pomos de *Malus domestica* (Solovchenko y Schmitz-Eiberger 2003), los compuestos fenólicos más importantes relacionados con la defensa frente a la radiación UV son los ácidos hidroxicinámicos y los flavonoides (antocianos, flavanoles y flavonoles). La respuesta más común de los frutos a la radiación UV, UV-B y UV-A, es el incremento de flavonoides (especialmente flavonoles y, en menor medida antocianos) (Martínez-Lüscher et al. 2019), mientras que las variaciones de los compuestos restantes son más sutiles (Teixeira et al. 2013a; Jordan 2017). Dentro del grupo de los flavonoides, los flavonoles, especialmente las quercetinas, son compuestos que tienen un papel importante en la protección de los tejidos de los frutos frente a la radiación UV (Braidot et al. 2008; Teixeira et al. 2013a; Keller 2015). Las quercetinas son flavonoles dihidroxilados, los cuales se consideran más efectivos eliminando radicales libres y, en general, actuando como antioxidantes, que los flavonoles monohidroxilados, concretamente, los kaempferoles (Zietz et al. 2010). En consecuencia, las quercetinas pueden ser más efectivas para contrarrestar los efectos potencialmente nocivos de los radicales libres oxidativos producidos en los tejidos de la piel del fruto a causa de la exposición a la radiación UV-B (Ryan et al. 1998; Sroka 2005). No obstante, en la mayoría de estudios previos no se ha tenido en cuenta el efecto de la de la radiación UV sobre las diferentes fracciones

del fruto (piel y pulpa), a pesar de que las respuestas podrían ser diferentes (Del-Castillo-Alonso et al. 2019).

La mayoría de trabajos acerca del efecto de la radiación UV sobre el perfil fenólico de frutos han sido realizados en especies de uso comercial, como pomos de *M. domestica* (Solovchenko y Schmitz-Eiberger 2003) o bayas de *V. vinifera* (Berli et al. 2008, 2011; Matus et al. 2009; Jug y Rusjan 2012; Marfil et al. 2019). En la Cuenca Mediterránea, por ejemplo, la mayoría de trabajos que han estudiado el efecto de la radiación UV sobre la maduración de los frutos se han centrado en *V. vinifera*, tanto en plantas crecidas en condiciones naturales (Del-Castillo-Alonso et al. 2014, 2016b, 2019) como bajo condiciones controladas (Martínez-Lüscher et al. 2013, 2019). Algunos trabajos también se han realizado en *Solanum lycopersicum*, estudiándose el efecto de la radiación UV sobre el contenido de fenoles (Mariz-Ponte et al. 2019) o de carotenoides (Giuntini et al. 2005; Becatti et al. 2009). Desafortunadamente, los estudios realizados en especies autóctonas silvestres son muy limitados (Barros et al. 2010; Jordan 2017; Varga et al. 2017), a pesar de ser relevantes en la conservación de la biodiversidad y también por poseer propiedades antioxidantes que pueden tener un beneficios en la nutrición y la salud humana (Ruiz-Rodríguez et al. 2014). De hecho, los frutos de muchas especies arbustivas mediterráneas poseen un gran potencial como fuentes de compuestos bioactivos, como serían los compuestos fenólicos (Barros et al. 2010; Cosmulescu et al. 2017). En *P. spinosa*, por ejemplo, se ha detectado en sus frutos una concentración importante de ácidos hidroxicinámicos y flavonoides (Ruiz-Rodríguez et al. 2014; Veličković et al. 2014; Mikulic-Petkovsek et al. 2016; Popović et al. 2020). Sin embargo, no se han encontrado trabajos en donde se analice el efecto de la radiación UV sobre su perfil fenólico. Por esto, en este estudio se determinará cómo afecta la radiación UV al contenido de fenoles de los frutos de *P. spinosa* (o endrina), una de las especies silvestres típicas del mediterráneo. Los frutos de esta especie son de gran interés ecológico al servir de alimento a diferentes especies de animales, pero también son utilizados en la industria alimentaria y farmacéutica.

1.4 Efecto la radiación UV y la precipitación en del proceso de descomposición de la hojarasca

1.4.1 Relevancia y etapas del proceso de descomposición de la hojarasca

El proceso de descomposición de la hojarasca cumple un importante papel en los ciclos biogeoquímicos de los ecosistemas terrestres, ya que regula la velocidad a la que se reciclan los nutrientes, por ejemplo nitrógeno (N) y fósforo (P), y determina de forma importante el almacenamiento de carbono (C) y la fertilidad del suelo (Hewins et al. 2017; Bornman et al. 2019). Mediante este proceso, la materia orgánica muerta procedente de vegetales, animales y microorganismos se puede transformar en nutrientes inorgánicos directamente disponibles para las plantas (mineralización) y en dióxido de carbono (Imbert et al. 2004). El proceso de descomposición de la materia orgánica en el suelo se puede dividir en 3 etapas: lixiviación, fragmentación de la materia orgánica y degradación química (catabolismo) (Imbert et al. 2004; Bärlocher 2005; Tank et al. 2010). A través de la lixiviación, los compuestos solubles de la materia orgánica muerta (Bärlocher and Boddy 2016), como por ejemplo algunos compuestos fenólicos, azúcares solubles, aminoácidos (Waring y Running 2007), iones minerales y también pequeños compuestos orgánicos, se disuelven en el agua de lluvia y pasan al suelo (Mansfield 2005; Berg y McClaugherty 2014; Jones et al. 2018). La lixiviación está afectada por factores ambientales como la temperatura o la precipitación, y también depende de la especie vegetal de la que proviene la hojarasca, en algunas especies llegando a perder hasta el 30% de la masa original por lixiviación (Bärlocher 2005). La fragmentación es un proceso físico mediado, por el impacto de las gotas de lluvia en la hojarasca, por la abrasión debido los procesos erosivos (transporte de sedimentos) (Throop y Archer 2009) y en mayor medida, por organismos animales, siendo los más importantes los invertebrados presentes en el suelo (Waring y Running 2007). Los invertebrados, que comprenden desde nemátodos microscópicos hasta grandes lombrices de tierra, rompen y mezclan la hojarasca con el suelo mineral, aumentando la superficie y las oportunidades de colonización

para los microorganismos (Hole 1981; Imbert et al. 2004; Jones et al. 2018). Lin et al. (2019) menciona que la presencia de invertebrados hizo aumentar, en promedio, la pérdida de masa de la hojarasca de 19 especies de árboles perennifolios de hoja ancha en un 8.4%, la pérdida de carbono en un 11% y la pérdida de nitrógeno en un 14.4%. En la degradación química (catabolismo), juegan un papel importante los hongos y las bacterias presentes en el suelo. Estos microorganismos producen enzimas que intervienen en la descomposición de la hojarasca, principalmente de los polímeros que conforman las paredes celulares (celulosa, hemicelulosa y lignina) (Waring y Running 2007; Bärlocher y Boddy 2016; Jones et al. 2018). En este proceso de degradación química tiene lugar la liberación de CO₂, agua y nutrientes, o sea la mineralización (Schlesinger 1991; Imbert et al. 2004), y/o la producción por parte de los microorganismos de los ácidos húmicos (humificación) (Schlesinger 1991).

1.4.2 Factores bióticos que afectan la descomposición de la hojarasca

El proceso de descomposición de la hojarasca se ve afectado por distintos factores bióticos siendo especialmente relevantes la calidad de la hojarasca y los microorganismos del suelo. Se conoce que la calidad de la hojarasca, especialmente el contenido de lignina, la relación lignina/N y C/N, es un factor determinante de su descomposición, especialmente en las etapas avanzadas (Austin y Ballaré 2010; Song et al. 2013). De hecho, en algunos trabajos se sugiere que las tasas de descomposición de la hojarasca se correlacionan positivamente con su contenido inicial de N y negativamente con sus proporciones iniciales de C/N y lignina/N (Berg et al. 2010; Gao et al. 2019). Sin embargo, la calidad de la hojarasca varía ampliamente en función de la especie y de su estado de desarrollo (Imbert et al. 2004). Así, entre las especies mediterráneas, por ejemplo, la hojarasca de plantas perennifolias esclerófilas contiene altas concentraciones de compuestos orgánicos, como la lignina, resistentes a la degradación (carbono recalcitrante) y suele ser deficiente en nutrientes, con lo cual su descomposición es lenta. Por el contrario, la hojarasca de especies caducifolias, que es más rica en nutrientes (especialmente

N) y/o carbono fácilmente metabolizable (carbono lábil) (Aerts 1995; Martínez-Yrizar et al. 2007), es más fácil de descomponer para los microorganismos. Si los nutrientes presentes en la hojarasca, principalmente N, exceden los requisitos microbianos, éstos se liberarán a medida que avance la descomposición (mineralización), en cambio, si éstos limitan el crecimiento de los microorganismos del suelo, se retendrán (inmovilización) y pasarán a formar parte de la biomasa microbiana viva (Imbert et al. 2004; Waring y Running 2007).

La diversidad de los microorganismos descomponedores (hongos y bacterias) (Bokhorst y Wardle 2013) y las características de los invertebrados presentes en el suelo (Gessner et al. 2010) son factores importantes en el proceso de descomposición, ya que regulan directamente las tasas de descomposición y mineralización de la materia orgánica del suelo (Zhang et al. 2019). Aunque poco se sabe sobre cómo la interacción entre las comunidades microbianas afecta las tasas de descomposición (Zhang et al. 2019), estudios previos sugieren que, los hongos son los primeros colonizadores de la hojarasca (Boddy y Watkinson 1995; Boer et al. 2005), mientras que las bacterias, al ser menos móviles, la colonizarían más tarde (Berg y McLaugherty 2014). Así, al actuar primero los hongos, aumentarían la disponibilidad de sustrato para las bacterias, al descomponer los polisacáridos (Romaní et al. 2006). En cualquier caso, la función más importante de las bacterias y los hongos es la de producir una gran diversidad de enzimas extracelulares (Boddy y Watkinson 1995). Estas enzimas son claves en la descomposición de la materia orgánica del suelo al intervenir en su degradación, transformación y mineralización (Sinsabaugh 2010; Arnosti et al. 2014). De hecho, los datos de actividad de estas enzimas se usan como indicadores indirectos de la presencia de microorganismos en el suelo (Sinsabaugh et al. 2008) y son relevantes para determinar la composición y los cambios en la comunidad microbiana durante la descomposición de la hojarasca (Zhang et al. 2019). Las enzimas más ampliamente analizadas son las involucradas en la degradación de los compuestos más abundantes de la hojarasca, la celulosa y la lignina (Sinsabaugh et al. 2008). Estos compuestos, junto con pequeñas porciones de pectinas y almidón, forman la

fracción llamada fibra. La degradación de la lignina es un proceso fenol-oxidativo mediado principalmente por hongos (Boer et al. 2005; Schneider et al. 2012), que puede extenderse por largos períodos de tiempo (Mansfield 2005). Las enzimas involucradas en este proceso incluyen monooxigenasas (fenol-oxidasas, lacasas), dioxigenasas y peroxidasas (Sinsabaugh 2010). La celulosa suele estar asociada con restos de lignina y hemicelulosa (Mansfield 2005) y para su hidrólisis, los microorganismos, hongos y bacterias, producen enzimas extracelulares hidrolíticas como β -1,4-endoglucanasas y β -1,4-exoglucanasas (celobiohidrolasas) que actúan de forma sinérgica y que al final tienen como productos oligosacáridos como la celobiosa (Mansfield 2005; Berg y McClaugherty 2014). Estos productos, posteriormente, se hidrolizan en glucosa por la acción de la β -glucosidasa (Mansfield 2005; Berg y McClaugherty 2014) y finalmente son metabolizados a CO₂ por microorganismos aerobios, o a ácidos orgánicos y alcoholes por organismos anaerobios (Dickinson y Pugh 1975).

1.4.3 Factores abióticos que afectan la descomposición de la hojarasca en el contexto del cambio climático

Algunos de los factores ambientales que más afectan el proceso de descomposición en los ecosistemas áridos y semiáridos son: la temperatura (Bornman et al. 2015, 2019), la humedad del suelo (Tank et al. 2010; Allison et al. 2013; Prieto et al. 2019), la radiación solar (ultravioleta y visible) (Austin 2006; Gallo et al. 2006; Almagro et al. 2015) y la humedad relativa del aire (Dirks et al. 2010; Almagro et al. 2017). En la Cuenca Mediterránea, los niveles de dichos factores, de acuerdo a las predicciones de disminución de la nubosidad y de la cubierta vegetal como consecuencia del cambio climático (IPCC 2014), variarán en un futuro próximo. En concreto, se espera que la temperatura, la humedad relativa del aire y la incidencia de la radiación ultravioleta (UV) aumenten y que la precipitación disminuya (IPCC 2014). Estos cambios podrían afectar el proceso de descomposición de forma directa, a través de cambios en, por ejemplo, la degradación fotoquímica (Hewins et al. 2019) o en la abundancia microbiana

(biomasa bacteriana y fúngica), y/o de forma indirecta, a través de cambios en la calidad de las hojas (Bornman et al. 2015; Verdaguer et al. 2018; Díaz-Guerra et al. 2018). Sin embargo, hasta el momento, son pocos los estudios en los que se haya analizado el efecto de dichos factores de forma conjunta sobre el proceso de descomposición de la hojarasca de especies mediterráneas esclerófilas, y su importancia relativa en el proceso de descomposición no está clara (Allison et al. 2013; Prieto et al. 2019). Este tipo de estudios son de gran interés, puesto que cambios en el proceso de descomposición podrían traducirse en cambios en los ciclos biogeoquímicos y en el almacenamiento de carbono y nutrientes en el suelo (Sinsabaugh et al. 2002).

Efectos de la radiación UV

Los mecanismos a través de los cuales la radiación UV afecta la descomposición de la materia orgánica aún no están totalmente descritos (Song et al. 2013; Lin et al. 2015b), si bien se ha comprobado que la radiación UV puede afectar la descomposición de la hojarasca de forma directa y/o indirecta (Barnes et al. 2015; Bornman et al. 2015; Lin et al. 2015a) (Figura 1.6).

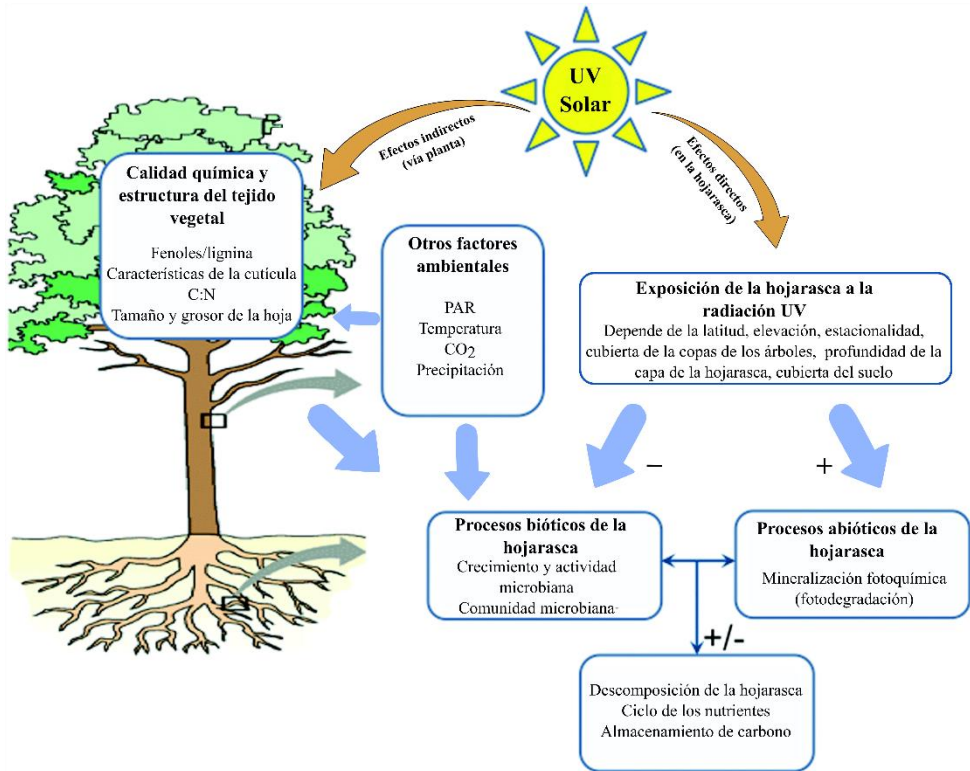


Figura 1.6 Efectos directos e indirectos de la radiación UV sobre la descomposición de la hojarasca terrestre, incluidas las posibles interacciones con otros factores ambientales (Adaptado de Bornman et al. 2015).

El efecto directo de la radiación UV (UV-B + UV-A) sobre la descomposición puede ser debido a cambios en la degradación fotoquímica (o fotodegradación) o en la abundancia, actividad y composición de las comunidades microbianas (Song et al. 2013; Bornman et al. 2015). En la fotodegradación, la radiación UV degrada directamente los componentes de la materia orgánica de la hojarasca, especialmente la lignina (Vargas et al. 2006; Day et al. 2007a; Ballaré et al. 2011; Austin et al. 2016), dando como resultado la liberación de compuestos volátiles, entre ellos el CO₂ o metano, y promoviendo la pérdida directa de carbono a la atmósfera sin incorporarse a la materia orgánica del suelo (Austin 2006). La radiación UV también podría tener un efecto sobre la descomposición de la hojarasca a través de la fotofacilitación (“fotoprimering”). La fotofacilitación o

exposición de las hojas muertas a la radiación solar justo antes de la abscisión, podría cambiar químicamente la calidad de la hojarasca, promoviendo la degradación de los compuestos recalcitrantes, como la lignina, y por tanto, facilitando su degradación microbiana (Barnes et al. 2015; Austin et al. 2016). La mayoría de estudios concluyen que la fotodegradación de la hojarasca es producida por la radiación UV-B, aunque existen evidencias que sugieren que la radiación UV-A también podría jugar un papel importante en este proceso (Austin 2006; Brandt et al. 2009; Austin y Ballaré 2010; King et al. 2012). El efecto de la degradación fotoquímica producida por la radiación UV se considera importante, principalmente, en ecosistemas con una elevada variabilidad climática, es decir, con una alternancia acusada entre los períodos secos y lluviosos (Ballaré et al. 2011), como los hábitats mediterráneos (Baker et al. 2015). De hecho, en un futuro próximo se espera que, en estos ecosistemas, una mayor incidencia de la radiación UV genere un incremento considerable de las tasas de descomposición (Gallo et al. 2009; Song et al. 2013), aunque faltan más estudios para corroborar esta hipótesis. Además, la radiación UV, especialmente la radiación UV-B, también podría afectar de forma directa y negativamente el desarrollo de bacterias y hongos al inhibir su crecimiento, su supervivencia y, en los hongos, también la producción de esporas (Duguay y Klironomos 2000; Caldwell et al. 2007; Zhou et al. 2015). Estos efectos de “fotoinhibición microbiana” debidos a la radiación UV-B generalmente se consideran el resultado de impactos perjudiciales sobre el ADN y sus procesos de reparación (Barnes et al. 2015).

Por otro lado, la radiación UV (UV-B + UV-A) actúa de forma indirecta en la descomposición de la hojarasca alterando la composición química (calidad) o las características (tamaño o espesor) de las hojas cuando la planta está en crecimiento (Barnes et al. 2015; Bornman et al. 2015; Verdaguer et al. 2018; Pieristè et al. 2020). Por ejemplo, en las hojas, la radiación UV-B puede inducir la acumulación de compuestos recalcitrantes difíciles de degradar o de compuestos protectores, como los fenoles, que podrían mantenerse hasta la senescencia y, por

tanto, podrían retardar o reducir la descomposición, pues los sustratos serían de difícil acceso para los descomponedores (Barnes et al. 2015).

En la mayoría de trabajos realizados hasta el momento, se han evaluado los efectos de la radiación UV ambiental de forma global, y en algunos de la radiación UV-B de forma específica, pero no se cuenta con suficiente información sobre cuál es el rol de la radiación UV-A en este proceso de descomposición (Pieristè et al. 2019).

En los ambientes mediterráneos, la mayoría de trabajos concluyen que la radiación solar (Henry et al. 2008), especialmente la radiación UV, incrementa las pérdidas de peso de la hojarasca debido a la degradación microbiana de compuestos como la celulosa (Baker et al. 2015) y la reducción del carbono lábil (Gaxiola y Armesto 2015). Además, esta fotodegradación sería mayor en especies caducifolias que en arbustos de hoja perenne (Gaxiola y Armesto 2015). En estos ecosistemas, también parece existir un efecto indirecto de la radiación UV, a través de la fotofacilitación que, de acuerdo a Lin et al. (2018), podría ser el principal responsable de la descomposición de la lignina y de la hemicelulosa. Sin embargo, también existe un estudio en donde no se encontró ningún efecto de la radiación UV sobre la descomposición de la lignina de la gramínea *Bromus diandrus*, mientras que se redujo la descomposición microbiana en las primeras etapas del proceso de descomposición (Lin et al. 2015b). Esto podría sugerir que el efecto neto de la radiación UV puede variar dependiendo de la especie y de otros factores ambientales (Brandt et al. 2007; Song et al. 2013; Barnes et al. 2015; Bornman et al. 2015). Por tanto, se requieren más estudios para comprender mejor la fotodegradación y su contribución en los procesos de descomposición (Lin et al. 2015b), especialmente de plantas esclerófilas mediterráneas.

Efectos de la sequía

En general, se considera que la sequía reduce las tasas de descomposición de la hojarasca, principalmente, al devenir el agua limitante para los organismos descomponedores. Esta limitación conlleva una modificación en la estructura y

función de las comunidades de los organismos que colonizan la hojarasca (LeRoy et al. 2014; Mora-Gómez et al. 2019). Concretamente, la sequía afecta la biomasa de hongos y bacterias, aunque parece que los hongos tienen una mayor tolerancia al déficit hídrico que las bacterias (Cornejo et al. 1994; Santonja et al. 2017). Por otro lado, la sequía también puede tener un efecto negativo en la descomposición al reducir la calidad de la hojarasca, básicamente al incrementar la relación C/N, el contenido de lignina, celulosa o cutina de las hojas (Allison et al. 2013; Hewins et al. 2019). Así mismo, la reducción de la precipitación reduciría la lixiviación de compuestos solubles (Santonja et al. 2015), lo cual reduciría la mineralización de los nutrientes en el suelo. Sin embargo, la dirección y la magnitud del efecto difiere entre las especies, dependiendo de la composición química de la hojarasca (Santonja et al. 2015), del clima local y del tipo de microorganismos del suelo (Couteaux et al. 1995).

En estudios realizados en el Mediterráneo, se ha descrito que la sequía redujo la tasas de descomposición de la hojarasca de praderas perennes (Almagro et al. 2015) y también en especies leñosas (Saura-Mas et al. 2012). En otros ecosistemas mediterráneos se redujo la pérdida de peso de la hojarasca entre un 15 y un 20%, acompañado de la reducción de la biomasa fúngica y bacteriana (Allison et al. 2013). A pesar de esto, los estudios realizados en especies mediterráneas esclerófilas son limitados. Por tanto, es importante ampliar este conocimiento y comprender mejor la influencia de la disponibilidad hídrica sobre la dinámica de las reservas y flujos de carbono y nutrientes en los ecosistemas mediterráneos (Waring and Running 2007).

Interacción radiación UV y sequía

Estudios previos sugieren que el efecto de la fotodegradación sobre la descomposición tiene, en general, mayor importancia cuando las condiciones de humedad son limitadas (Smith et al. 2010; Barnes et al. 2015; Bornman et al. 2015). En cambio, cuando la descomposición no está limitada por la humedad, una mayor exposición a la radiación UV-B disminuye las tasas de descomposición, debido a

su efecto negativo sobre la actividad microbiana (Smith et al. 2010). Una tendencia similar se ha observado en los pocos trabajos realizados en la Cuenca Mediterránea, en donde, al parecer, la radiación UV acelera la descomposición de la hojarasca, presumiblemente a través de la fotodegradación, cuando está combinada con reducida disponibilidad de agua, en donde la actividad microbiana tiende a ser baja (Almagro et al. 2015). Sin embargo, el efecto de la radiación UV sobre las tasas de descomposición de la hojarasca podría variar entre especies y entre ecosistemas. De hecho, en otros trabajos, también realizados en ecosistemas mediterráneos, se concluyó que la exposición a la radiación UV en condiciones de precipitación reducida, únicamente incrementa las pérdidas de carbono durante el proceso de descomposición de las especies caducifolias, pues la descomposición de arbustos de hoja perenne no mostró cambios (Gaxiola y Armesto 2015). Sin embargo, hasta donde conocemos, hay pocos estudios disponibles sobre el efecto interactivo de la radiación UV y la sequía sobre la descomposición de la hojarasca de especies mediterráneas, y aún menos centrados en especies esclerófilas. Por tanto, es esencial ampliar este conocimiento, sobre todo teniendo en cuenta que las especies esclerófilas mediterráneas están ya sometidas a altos niveles de radiación UV y déficit hídrico, para valorar cómo la variación en estos factores a consecuencia del cambio climático podría afectar los ciclos biogeoquímicos de dichas comunidades.

Con estos antecedentes, en este trabajo estudiaremos dos especies esclerófilas, *Arbutus unedo* y *Phillyrea angustifolia*, que se encuentran ampliamente distribuidas en las comunidades arbustivas de la Cuenca del Mediterráneo (Díaz-Guerra et al. 2019). Desde el punto de vista ecológico, estas dos especies son importantes, entre otras razones, porque son fuente de alimento para los animales (Rosalino et al. 2010), siendo también de interés para la industria alimentaria, sobre todo *A. unedo* (Tardío et al. 2002).

1.5 Objetivos y estructura de la tesis

Debido a que las variaciones en la incidencia de la radiación solar UV en la superficie terrestre conjuntamente con el incremento de episodios de sequía en la

Cuenca Mediterránea, a causa del cambio climático, puede afectar el funcionamiento de los ecosistemas, el objetivo principal de este estudio es aportar información sobre los efectos de la radiación UV y la sequía sobre distintas especies esclerófilas típicas de los ecosistemas mediterráneos y que crecen en el campo de forma natural. Para esto se han propuesto tres objetivos específicos:

1. Estudiar en plantas de *E. multiflora* crecidas bajo condiciones naturales y teniendo en cuenta la variación estacional, el efecto de la radiación UV y/o disponibilidad hídrica, sobre diferentes:
 - 1.1 Parámetros bioquímicos como son el contenido foliar en pigmentos fotosintéticos, los compuestos absorbentes de la radiación UV (UACs), y el contenido de carbono (C) y nitrógeno (N).
 - 1.2 Parámetros fisiológicos como son el intercambio de gases, el contenido relativo de agua y el peso específico foliar.
 - 1.3 Parámetros relacionados con la reproducción como son la morfología y producción de botones florales, y la producción de flores funcionales durante la primavera.

2. Evaluar del perfil fenólico y de la actividad antioxidante de los frutos de *Prunus spinosa* desarrollados bajo diferentes condiciones de radiación ultravioleta (UV)
 - 2.1 Evaluar el contenido y la naturaleza de los compuestos fenólicos presentes en la piel y en la pulpa de los frutos maduros de *P. spinosa*.
 - 2.2 Identificar los cambios en el perfil fenólico de la piel y la pulpa de los frutos de *P. spinosa* madurados bajo diferentes condiciones de radiación UV
 - 2.3 Valorar el efecto de la radiación UV sobre la actividad antioxidante de la piel y la pulpa de los frutos de *P. spinosa* y su relación con los compuestos fenólicos.

3. Estudiar del proceso de descomposición de la hojarasca de *A. unedo* y *P. angustifolia* bajo diferentes niveles de radiación UV y precipitación.
 - 3.1 Determinar las diferencias en el proceso de descomposición de la hojarasca de dos especies perennifolias esclerófilas mediterráneas, *A. unedo* y *P. angustifolia*, considerando su calidad inicial y la dinámica microbiana.
 - 3.2 Estudiar el efecto de la radiación UV (UV-B y UV-A) y/o de la reducción de la precipitación sobre la calidad inicial de la hojarasca de *A. unedo* y *P. angustifolia* (efecto indirecto), y su posterior efecto sobre la pérdida de peso durante el proceso de descomposición.
 - 3.3 Evaluar el efecto de la radiación UV (UV-B y UV-A) y/o de la reducción de la precipitación sobre la pérdida de peso y la actividad microbiana de la hojarasca en descomposición de *A. unedo* y *P. angustifolia* (efecto directo).

Para cumplir cada uno de los tres objetivos se propusieron tres experimentos que se detallan en el capítulo de material y métodos (Capítulo II), y cuyos resultados se muestran divididos por apartados en los capítulos de resultados (Capítulo III), discusión (Capítulo IV) y conclusiones (Capítulo V).

Capítulo II

Material y métodos

Estudio del efecto de la radiación UV y la disponibilidad de agua sobre las características bioquímicas y fisiológicas de las hojas de *Erica scoparia*, así como sobre su floración.

2.1 Lugar de estudio y diseño experimental

El estudio se llevó a cabo en la finca Can Vilallonga (41° 52' 48" N, 2° 54' 33" E), en el municipio de Cassà de la Selva (Girona, NE de la Península Ibérica), ubicada a 250 msnm. En esta finca predomina la vegetación mediterránea arbustiva, especialmente brezo de escobas (*Erica scoparia*), madroño (*Arbutus unedo*), y labiérnago (*Phillyrea angustifolia*), aunque, en menor proporción, también se pueden encontrar algunos pies de alcornoque (*Quercus suber*), pino piñonero (*Pinus pinea*) y pino marítimo (*Pinus pinaster*). El estudio se llevó a cabo desde diciembre 2016 hasta octubre 2017.

Los datos de precipitación, temperatura e irradiación solar global se obtuvieron de la estación meteorológica de Cassà de la Selva (177 msnm, 41° 87' N, 2° 93' E), situada a 3 km de distancia de la zona experimental (Figura 2.1). En cuanto a los datos de precipitación, el mes de enero de 2017 fue muy húmedo, mientras que los meses de primavera fueron más secos que en años anteriores (Fig. 2.1B). En concreto, la precipitación acumulada en marzo-abril en 2017 fue de 32.65 mm, cuando en 2016, 2015 y 2014 la precipitación acumulada fue de 55.5 mm, 54.7 mm y 47.7 mm, respectivamente. Además, en el 2017 no existió una variación significativa en cuanto a los datos de temperatura media mensual (°C), en comparación de los años 2016, 2015 y 2014. Por otro lado, los meses más calurosos fueron entre junio y agosto, coincidiendo con los picos de irradiación solar.

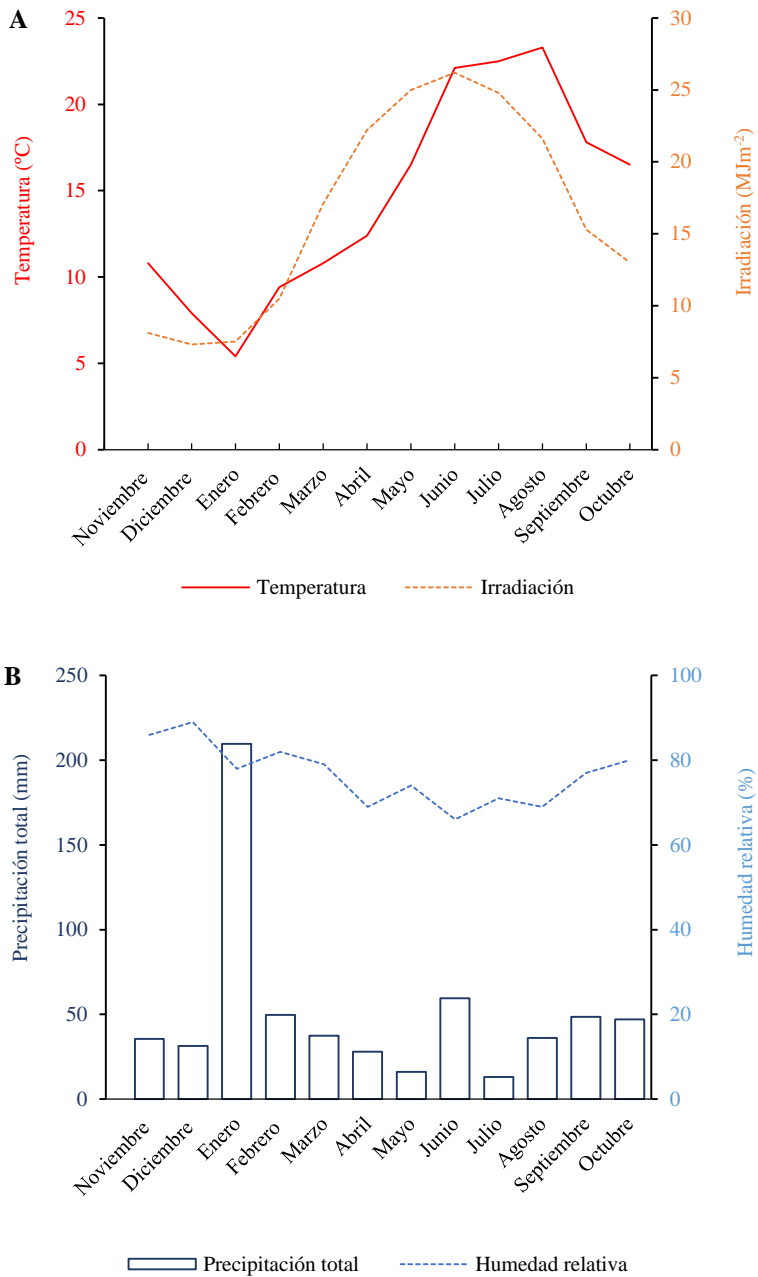


Figura 2.1 Datos ambientales del período noviembre 2016 - octubre 2017 en que se realizó el estudio. A) Media mensual de temperatura (°C) e irradiación solar global diaria (MJ m⁻²) y B) precipitación total mensual (mm) y media mensual de humedad relativa diaria (%).

En la finca, en agosto de 2011, se establecieron sobre vegetación natural 18 parcelas de 3 m de ancho x 3 m de largo y 1.5 m de altura en el centro de la parcela, agrupadas en tres bloques, en cada una de las cuales había un mínimo de 3 individuos de *E. scoparia*, 3 de *P. angustifolia* y 1 de *A. unedo*. Cada parcela fue construida con estructuras de metal, sobre las que se instalaron filtros transparentes, con la finalidad de establecer las distintas condiciones del tratamiento de radiación UV (Tabla 2.1). Los filtros tenían pequeñas perforaciones en la parte inferior para permitir la recolección del agua de lluvia en las canaletas plásticas (PVC) y se colocaron con una pendiente de 10° hacia el sur. En la cara sur de cada parcela se colocaron dos franjas de 40 cm del mismo filtro que el del techo para evitar la exposición directa de las plantas a la radiación solar (Figura 2.2). Se aplicó un diseño experimental de bloques completos al azar con tres niveles de radiación UV combinados con dos regímenes de precipitación. El experimento se replicó tres veces (3 bloques y en cada bloque 6 parcelas).



Figura 2.2 Imagen de una de las parcelas instaladas en la zona experimental. Las parcelas fueron construidas con estructuras de metal que soportaban plásticos que actuaban como filtros de distintas longitudes de onda dentro del rango de la radiación UV. El agua de lluvia se recogía a través de un canal y se almacenaba en tanques situados al lado de las parcelas.

En diciembre de 2016, en cada parcela se seleccionaron tres plantas de *E. scoparia*, y en estas plantas se marcaron 9 ramas de entre 4 y 6 cm de longitud: en 5 de ellas se realizó el seguimiento del número de flores funcionales durante la etapa de floración (abril-junio), mientras que las otras 4 se utilizaron para analizar la evolución mensual de la morfología (diámetro y altura) del botón floral (febrero, marzo y abril) hasta llegar a flor (mayo).

2.1.1 Tratamiento de radiación ultravioleta (UV)

El tratamiento de radiación UV consistió en la exposición de las parcelas a tres niveles de radiación UV: a) con radiación UV ambiental (UVBA o control), que se logró utilizando un filtro de metacrilato de 3 mm de espesor (MC0100XN, Polimer Tecnic, Girona, España) que transmite prácticamente toda la radiación UV (desde 280 hasta 400 nm); b) con exclusión de radiación UVB (280-315 nm), utilizando un filtro de poliéster (Melinex, Ponscosta, Valencia, España) que permite el paso solo de la radiación UV-A (315-400 nm) y c) con radiación UV casi nula (UV0), que se consiguió utilizando un filtro de policarbonato de 2 mm de espesor (PC0100UV, Polimer Tecnic, Girona, España) que excluye tanto la radiación UV-B como la radiación UV-A. La transmitancia en las bandas UV y visible de los distintos filtros se midió en el campo en días despejados, en distintos puntos dentro de las parcelas y a nivel del dosel de las plantas. Para esto, se utilizó un espectroradiómetro monocromador (SR9910, Irradian Ltd., Reino Unido). Los espectros de transmitancia de los filtros se obtuvieron comparando a mediodía los espectros medidos debajo de los filtros con los espectros medidos fuera de las parcelas (Tabla 2.1). Además, se obtuvo las dosis medias mensuales de radiación UV que recibieron las plantas (Tabla 2.2) de acuerdo con el método detallado en Nenadis et al. (2015).

Tabla 2.1 Porcentaje (%) de radiación UV y densidad del flujo de fotones fotosintéticos (PPFD; 400-700 nm) transmitida por los filtros y que, por tanto, llega a las plantas, en relación a la ambiental, para cada una de las condiciones de radiación UV. Los flujos de radiación UV se expresan como radiación UV eritemática (UVE), espectro de acción generalizado de respuesta de la planta (GEN), función ponderada del crecimiento de la planta (PG), y radiación UVB y UVA sin ponderar. ^a McKinlay (1987); ^b Caldwell (1971); ^c Flint & Caldwell (2003)

Radiación UV	Tipo de filtro	UVE ^a (%)	GEN ^b (%)	PG ^c (%)	UV-B (%)	UV-A (%)	PPFD (%)
UVBA	Metacrilato	78-83	76-82	80-85	78-83	81-86	85-89
UVA	Poliéster	4-8	1-3	24-28	1-3	32-44	76-85
UV0	Polycarbonato	4-6	4-7	4-5	4-6	5-6	72-87

Tabla 2.2 Medias mensuales (de enero a octubre 2017) de las dosis ambientales de radiación UV a nivel del suelo ponderadas con el algoritmo de radiación UV eritemática (UVE), el espectro de acción generalizado de respuesta de la planta (GEN) y la función ponderada del crecimiento de la planta (PG), además de las radiaciones UV-B y UV-A no ponderadas y la densidad de flujo de fotones fotosintéticamente activa (PPFD) medida en la estación radiométrica de la Universidad de Girona. ^a McKinlay (1987); ^b Caldwell (1971); ^c Flint & Caldwell (2003)

Mes	UVE ^a	GEN ^b	PG ^c	UV-B	UV-A	PPFD
	(kJ/m ² día)	(kJ/m ² día)	(kJ/m ² día)	(kJ/m ² día)	(MJ/m ² día)	(mol/m ² día)
Enero	0.65	0.47	8.97	4.35	0.33	13.82
Febrero	1.13	1.02	13.07	8.29	0.51	20.09
Marzo	2.47	2.78	23.14	19.05	0.93	35.41
Abril	3.64	4.44	30.49	28.18	1.31	48.38
Mayo	4.52	5.78	35.31	34.87	1.41	51.32
Junio	5.42	7.28	39.17	41.44	1.50	54.47
Julio	5.12	6.89	36.85	39.08	1.15	41.49
Agosto	4.44	5.92	32.44	33.99	1.19	43.46
Septiembre	2.81	3.47	23.31	21.75	0.77	28.88
Octubre	2.35	2.82	20.27	18.08	0.76	29.29

Los filtros fueron limpiados frecuentemente para evitar la acumulación de polvo. En el caso de los filtros de poliéster, estos fueron reemplazados de forma periódica para evitar su degradación y, en alguna ocasión, debido a su rotura a causa del fuerte viento.

2.1.2 Régimen de precipitación (P)

El tratamiento de precipitación se aplicó en dos niveles: a) precipitación ambiental (W) y b) reducción del 30% (10% en invierno) de la precipitación ambiental (D). Se decidió este porcentaje de reducción porque es el estimado para la región Mediterránea en un futuro próximo (IPCC 2014). En todas las parcelas, el agua de lluvia fue recogida en tanques graduados de 310 L por medio de canaletas plásticas (PVC) (Figura 2.2). En las parcelas con tratamiento de precipitación ambiental (W), toda el agua de lluvia recogida fue distribuida manualmente de forma homogénea en todo el terreno de la parcela después de cada evento de lluvia, mientras que en las parcelas con tratamiento de reducción de la precipitación (D) se aplicó solo una porción (30% o 10% en invierno) del total de agua recogida.

La humedad del suelo fue medida mensualmente utilizando un reflectómetro (Field Scout TDR300, Spectrum Technologies, Inc. USA) en tres puntos de cada parcela y se expresó como el porcentaje promedio de contenido volumétrico de agua. En general, las parcelas sometidas a una reducción de la precipitación (D) tuvieron un contenido de agua un 22% menor que las que recibieron toda la precipitación natural (W) a lo largo del experimento ($p < 0.05$, $n=36$). Concretamente, el contenido volumétrico de agua (%) del suelo en las parcelas que recibían la precipitación natural fue de 13.57 ± 0.49 %, mientras que aquellas con sequía fue 10.53 ± 0.38 % (Anexo 1).

2.2 Toma de muestras

El muestreo de la especie estudiada (*E. scoparia*) tuvo una duración de alrededor de una semana en cada estación y comenzó el 21 de enero de 2017 (invierno), el 14 de abril (primavera), el 27 de julio (verano) y el 31 de octubre (otoño), en días soleados entre 12:00 – 14:00 pm. Para los análisis de los distintos parámetros bioquímicos se recolectaron hojas de cada una de las 3 plantas marcadas por parcela, las cuales provenían de 3 ramas situadas en la parte superior de la copa, totalmente expuestas a la radiación solar y que habían crecido el año anterior (2016). Las muestras destinadas al análisis del contenido foliar de pigmentos y de

compuestos absorbentes de la radiación UV (UACs) fueron envueltas en papel de plata, inmediatamente congeladas con nitrógeno líquido, transportadas hasta el laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad de Girona y almacenadas en el congelador a -18 °C hasta su posterior análisis. Las muestras destinadas al análisis del contenido foliar de C, N e isótopos, contenido relativo de agua (RWC) y peso específico foliar (LMA) fueron almacenadas en bolsas de papel y analizadas en el laboratorio el mismo día del muestreo. Los parámetros relacionados con el intercambio de gases fueron medidos *in situ* en una rama de cada planta marcada (3 por parcela).

2.3 Análisis de campo y laboratorio

2.3.1 Seguimiento estacional de parámetros bioquímicos foliares

Contenido foliar de pigmentos fotosintéticos

Para determinar el contenido foliar en clorofilas y carotenoides de las hojas de *E. scoparia*, se trituró una muestra de 0.1 g de hojas frescas por planta con 10 mg de CaCO₃ en un mortero con la ayuda de 200 ml de nitrógeno líquido aproximadamente. La extracción se realizó añadiendo acetona 100% (1 ml) seguida de acetona 80% (7 ml) en alícuotas. Se centrifugó el extracto (5 minutos a 6000 rpm) y el sobrenadante se enrasó a 10 ml con solución de acetona 80%. Con un espectrofotómetro (Thermo Electron Corporation-Genesys 6, USA) se midió la absorbancia a 470, 663.6, 646.6 y 750 nm usando acetona 80% como blanco. Si el valor de la absorbancia a 750 nm (representa la turbidez de la muestra) era mayor de 0.05 se volvió a centrifugar. Para calcular el contenido de pigmentos fotosintéticos se aplicaron las ecuaciones expuestas en el trabajo de Porra (2002):

$$\text{Clorofila a } (\mu\text{g ml}^{-1}) = 12.25 (A_{663.6}) - 2.55 (A_{646.6})$$

$$\text{Clorofila b } (\mu\text{g ml}^{-1}) = 20.31 (A_{646.6}) - 4.91 (A_{663.6})$$

$$\text{Clorofila total } (\mu\text{g ml}^{-1}) = 17.76 (A_{646.6}) + 7.34 (A_{663.6})$$

$$\text{Carotenoides } (\mu\text{g ml}^{-1}) = \frac{100 (A_{470}) - 3.27 (\text{clorofila a}) - 104 (\text{clorofila b})}{227}$$

Los resultados se expresaron en mg de pigmento por cada gramo de peso seco foliar (DW, “*Dry Weight*”) utilizando la relación peso fresco/peso seco de las hojas obtenida para cada planta.

Contenido foliar de compuestos absorbentes de la radiación UV

Para la extracción de los compuestos absorbentes de la radiación UV (UAC, “*UV-Absorbing Compounds*”) solubles en metanol, se introdujeron 100 mg de hojas frescas por planta de *E. scoparia* en un tubo de plástico con 10 ml de una solución de HCl-metanol-agua (1:79:20) (Caldwell 1968) y se mantuvo en la oscuridad a 4°C durante 72 horas (Grifoni et al. 2016). Se tomó 1 ml del extracto y en un espectrofotómetro UV-vis (SHIMADZU-2501PC, Japón) se midieron los espectros de absorción a 280-315 nm y 315-400 nm. El contenido de compuestos absorbentes de la radiación UV (UAC) se determinó como el área bajo la curva de absorción (AUC, “*Area Under the Curve*”), desde 280 nm a 315 nm para los compuestos absorbentes de la radiación UV-B (UAC_{UVB}) y de 315 a 400 nm para los absorbentes de la radiación UV-A (UAC_{UVA}) por unidad de peso seco (DW).

Contenido foliar de carbono (C) y nitrógeno (N)

Una muestra de 4 mg (Sartorius 2MP, Alemania), de hojas secas (60°C durante 48 h) de cada planta de *E. scoparia*, previamente triturada con un molino de bolas (MM200 Retsch, Alemania), fue encapsulada en cápsulas de estaño (Sn) y enviada a la Universidad de California (UC Davis Stable Isotope Facility, Davis, EE. UU.) para la determinación tanto del contenido en carbono y nitrógeno como de los isótopos ¹⁵N y ¹³C. Allí se utilizó un analizador elemental (PDZ Europa ANCA-GSL, Sercon Ltd., Cheshire, UK) vinculado a un espectrómetro de masas de isótopos de flujo continuo. El contenido de C y N fue expresado como miligramos por cada gramo de peso seco de hojas. El valor $\delta^{15}\text{N}$ se expresó en relación al

nitrógeno atmosférico y el $\delta^{13}\text{C}$ con respecto al estándar PDB (Pee Dee Belemnite), de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\delta Z (\text{‰}) = \left(\frac{R \text{ muestra} - R \text{ referencia}}{R \text{ referencia}} \right) * 1000$$

donde Z: isótopo pesado de carbono o nitrógeno, y R: relación entre el isótopo más pesado y el más ligero ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ o $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) tanto para la muestra como para la referencia (Brand et al. 2014).

2.3.2 Seguimiento estacional de parámetros fisiológicos foliares

Intercambio de gases foliar

En el campo, las tasas de intercambio de gases en las hojas se midieron estacionalmente, aproximadamente, a 400 ppm de CO_2 utilizando un equipo portátil de análisis de gases por infrarrojos de circuito abierto (IRGA; CIRAS-2, PPsystems, Amesbury, Estados Unidos) conectado a una cámara de intercambio de gases para coníferas PLC3 (80 x 40 mm). Estas mediciones permitieron determinar la tasa de transpiración (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), la conductancia estomática (g_s , $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y la tasa fotosintética (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) de las hojas. La eficiencia en el uso del agua (WUE, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$) se obtuvo de la relación entre las tasas de fotosíntesis y transpiración. En verano, los datos de transpiración foliar fueron tan bajos que no pudieron ser determinados, con lo cual tampoco se pudo calcular el WUE para esta estación. Todos los datos obtenidos con el IRGA se corrigieron considerando el área de las hojas introducidas dentro de la pinza. Para ello las hojas se escanearon (Escaner Epson Perfection 1250, Estados Unidos), se eliminaron los objetos extraños mediante el programa de dibujo Photoshop, y con el programa de análisis de imágenes, ImageJ (Version 3.00, University of Texas, San Antonio, Estados Unidos), se calculó el área total de cada muestra.

Contenido relativo de agua y peso específico foliar

El contenido relativo de agua (RWC, “*Relative Water Content*”) se estimó a partir del peso fresco (FW, “*Fresh Weight*”), peso turgente (TW, “*Turgid weight*”) y peso seco (DW, “*Dry Weight*”) de la muestra, para lo cual se pesaron 0.1 g de hojas frescas para cada planta de *E. scoparia*, e inmediatamente se sumergieron en 5 ml de agua destilada y se guardaron en la oscuridad durante 24 horas a 4°C. Al cabo de este tiempo, se pesaron de nuevo las hojas para obtener el peso turgente (retirando previamente el agua que pudiese haber sobre la superficie de la hoja), luego se colocaron las hojas en la estufa durante 48 horas a 70 °C y finalmente se pesaron para obtener su peso seco. El RWC se calculó como:

$$\text{RWC} = \frac{(\text{FW} - \text{DW})}{(\text{TW} - \text{DW})} * 100$$

Para calcular el peso específico foliar (LMA, “*Leaf Mass Area*”) se escanearon las hojas (Escaner Epson Perfection 1250, Estados Unidos) antes de ser sumergidas en agua destilada y mediante el programa de dibujo Photoshop, utilizado para incrementar la nitidez y eliminar los objetos extraños, y el programa de análisis de imágenes, ImageJ (Version 3.00, University of Texas, San Antonio, Estados Unidos), se calculó el área total de cada muestra (0.1 g de hojas por planta). El LMA se calculó dividiendo el peso seco de las hojas por su área total.

2.3.3 Análisis de distintos parámetros relacionados con la floración

Al iniciar el estudio (diciembre 2016), se realizó el recuento de botones florales iniciales para cada una de las 5 ramas marcadas en las 3 plantas de *E. scoparia* seleccionadas para cada parcela. El recuento semanal del número de flores funcionales de cada rama comenzó el 25 de abril y terminó el 6 de junio (6 semanas). Las flores de *E. scoparia* son hermafroditas, así que se consideró que estas eran funcionales cuando estaban totalmente abierta y los estambres podían apreciarse claramente. A partir de los datos obtenidos se calculó el porcentaje de

flores funcionales en relación al número total de botones florales iniciales de cada rama y posteriormente, se calculó la media por planta.

De febrero a mayo de 2017, se realizó un seguimiento mensual (4 meses) de la evolución de la morfología de los botones florales para lo cual, en cada muestreo, se tomó una de las 4 ramas marcadas en cada planta (3 plantas por parcela) destinadas para este propósito y, en frío, fueron trasladadas al laboratorio. Una vez allí, se seleccionaron 15 botones florales de cada rama, se pesaron y escanearon (Epson Perfection 1250). Con el software ImageTool (Version 3.00, University of Texas, San Antonio, Estados Unidos) se determinó el diámetro (mm), altura (mm) y área (mm²) de cada botón (febrero-abril) o flor (mayo). El volumen (mm³) se estimó a partir del diámetro y la altura de cada botón o flor, considerando que el botón tiene una forma esférica y la flor tiene forma de cono.

2.4 Análisis estadístico

Para todos los análisis se utilizó el paquete estadístico SPSS (IBM SPSS statistics, Corporation, Chicago, Estados Unidos) usando los datos obtenidos para cada una de las tres plantas seleccionadas en cada parcela y considerando un nivel de significación $p \leq 0.05$. Previamente al análisis estadístico, el WUE y los porcentajes de flores funcionales fueron transformados logarítmicamente para cumplir el criterio de normalidad (Kolmogorov-Smirnov) y la homogeneidad de la varianza (test de Levene).

Para evaluar el efecto de los tratamientos de radiación ultravioleta (UV) y precipitación (P), así como de la variación estacional (T), sobre los parámetros bioquímicos y fisiológicos estudiados (excepto para el WUE), se usó un modelo lineal mixto (LMMs) con 3 factores fijos (UV, P, y estación) y un factor aleatorio (Bloque) con los datos de las cuatro estaciones. En el caso de los análisis de la eficiencia en el uso del agua (WUE), también se aplicó un modelo LMMS con tres factores 3 factores fijos (UV, P, y estación) y un factor aleatorio (Bloque) pero únicamente con los datos de invierno, primavera y otoño. Esto debido a que, en verano, en algunos casos el valor de E fue cero, por lo que no se pudieron calcular

los datos de WUE en esta estación. En el caso de existir un efecto significativo de los factores, se aplicó un modelo lineal general para cada estación seguido de una prueba post-hoc Tukey para determinar entre qué estaciones o condiciones de radiación UV había diferencias significativas. Para analizar el efecto de los tratamientos de radiación UV y precipitación, así como la variación en el tiempo sobre los parámetros morfológicos, así como sobre el porcentaje de flores funcionales en las distintas fechas de muestreo, también se utilizó ANOVAs de medidas repetidas. Cuando la interacción entre los factores fue significativa, se evaluó el efecto de uno de los factores dentro de los niveles de los otros factores mediante ANOVAs de uno o dos factores. Para evaluar si se produjo un efecto de la radiación UV o de la precipitación sobre el número inicial (diciembre) de botones florales cm^{-1} de rama, se aplicó una ANOVA de dos factores fijos (UV, P) y uno aleatorio (Bloque) utilizando las medias por planta.

Evaluación de la composición fenólica y la actividad antioxidante de frutos de *Prunus spinosa* madurados bajo diferentes condiciones de radiación UV

2.5 Lugar de estudio y diseño experimental

Este estudio se llevó a cabo en Girona (41°56'29.7"N 2°49'14.0"E, NE de la Península Ibérica), en una zona agrícola donde las parcelas estaban rodeadas de márgenes vegetados en los que *Prunus spinosa* (endrina) era muy abundante, así también se encontraban otras especies como *Rubus ulmifolius* (zarzamora) o *Phillyrea angustifolia* (labiérnago). De los distintos márgenes se escogió uno orientado al sur-este, de modo que las plantas tuvieran la máxima insolación diaria. En este margen, de unos 150 m de largo, se seleccionaron 3 zonas con un mínimo de 3 individuos de *P. spinosa* en cada una, y a los tres individuos seleccionados de cada zona se les aplicaron distintas condiciones de radiación UV. Para garantizar la total exposición de los frutos a la radiación solar, se podaron los tallos de otras plantas que podían hacerles sombra. El experimento se realizó de mayo a septiembre de 2018 y los datos ambientales de precipitación, temperatura e

irradiación solar global de este período se obtuvieron de la estación meteorológica de la misma ciudad de Girona (Figura 2.3).

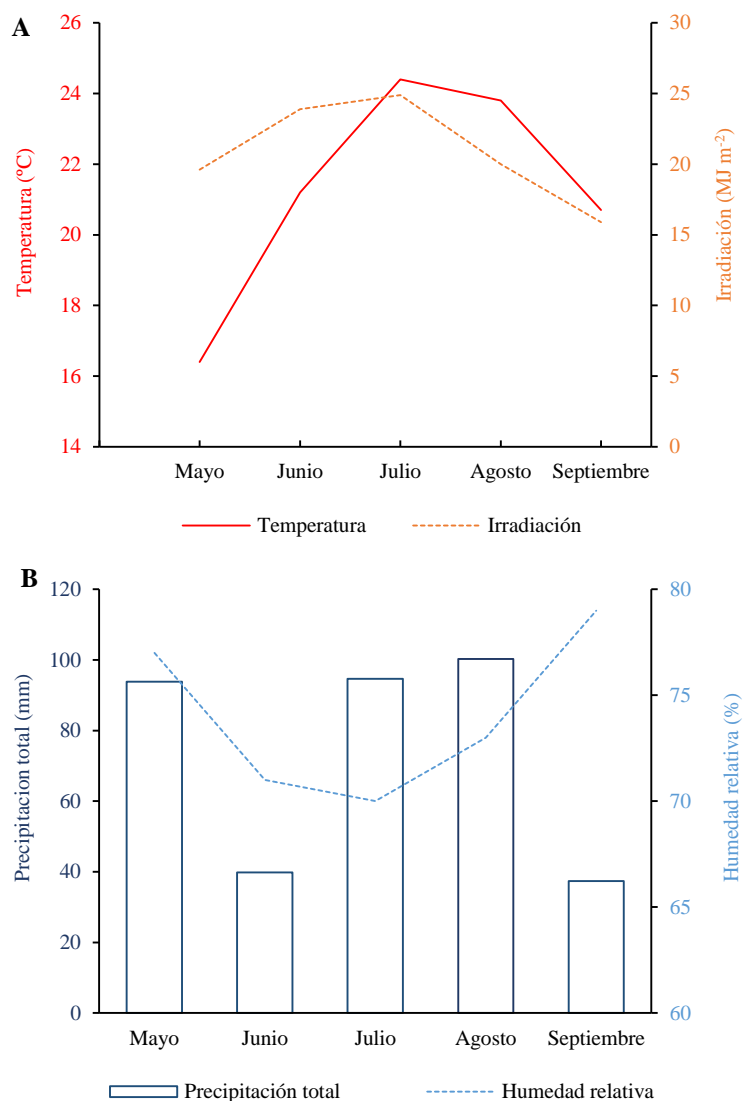


Figura 2.3 Datos ambientales del período mayo-septiembre de 2018 en que se realizó el estudio. A) Media mensual de la temperatura (°C) y de la irradiación solar global diaria (MJ m⁻²) y B) precipitación acumulada mensual (mm) y media mensual de la humedad relativa diaria (%).

2.6 Tratamiento de radiación ultravioleta (UV)

Para estudiar el efecto de la radiación UV ambiental sobre el perfil fenólico de frutos maduros de *P. spinosa*, se realizó un experimento de exclusión de la radiación UV utilizando distintos filtros. Estos filtros se montaron sobre estructuras cilíndricas (22 cm de largo y 7 cm de diámetro), realizadas con alambre y abiertas en ambos extremos, que se colocaron alrededor de las ramas, siempre evitando que las hojas o los mismos frutos tocaran los filtros (Figura 2.4). Las condiciones de radiación UV a las que se sometieron los frutos fueron: a) Radiación UV ambiental (condición UVBA): se utilizó un filtro de propileno-etileno fluorado (FEP) de 0.1 mm de grosor (Holscot Europe, Holanda) que transmite toda la radiación UV (280-400 nm). b) Exclusión de la radiación UVB (280-315 nm) (condición UVA): se utilizó un filtro de poliéster (Melinex, Ponscosta, Valencia, España) de 0.25 mm de grosor que solo transmite la radiación UVA (315-400 nm). c) Exclusión de la radiación UV ambiental (condición UV0): se empleó un filtro de diacetato de celulosa (Ultraphan URUV, Digefra, Alemania) que bloquea la radiación por debajo de 395 nm.

Los espectros de transmitancia de los filtros se obtuvieron comparando a mediodía los espectros medidos debajo de los filtros con los espectros medidos fuera de las parcelas (Tabla 2.3). Además, se obtuvo las dosis medias mensuales de radiación UV que recibieron las plantas (Tabla 2.4) de acuerdo con el método detallado en Nenadis et al. (2015).

Tabla 2.3 Porcentaje de radiación UV y densidad del flujo de fotones fotosintéticos (PPFD; 400-700 nm) transmitida por los filtros y que, por tanto, llega a los frutos, en relación a la ambiental, para cada una de las condiciones de radiación UV. Los flujos de radiación UV se expresan como radiación UV eritemática (UVE), espectro de acción generalizado de respuesta de la planta (GEN), función ponderada del crecimiento de la planta (PG), y radiación UVB y UVA sin ponderar. ^a McKinlay (1987); ^b Caldwell (1971); ^c Flint & Caldwell (2003).

Radiación UV	Tipo de filtro	UVE ^a (%)	GEN ^b (%)	PG ^c (%)	UV-B (%)	UV-A (%)	PPFD (%)
UVBA	FEP	82-84	81-82	86-87	82-83	87-88	93-94
UVA	Poliéster	4-8	1-3	24-28	1-3	32-44	76-85
UV0	Diacetato de celulosa	6-8	5-6	14-16	5-6	27-28	90-91

Tabla 2.4 Medias mensuales (entre mayo y septiembre 2018) de la dosis de radiación UV que llega a nivel del suelo ponderadas con el algoritmo de radiación UV eritemática (UVE), el espectro de acción generalizado de respuesta de la planta (GEN) y la función ponderada del crecimiento de la planta (PG), además de las radiaciones UV-B y UV-A no ponderadas y la densidad de flujo de fotones fotosintéticamente activa (PPFD) medida en la estación radiométrica de la Universidad de Girona. ^a McKinlay (1987); ^b Caldwell (1971); ^c Flint & Caldwell (2003)

Mes	UVE ^a (kJ/m ² día)	GEN ^b (kJ/m ² día)	PG ^c (kJ/m ² día)	UV-B (kJ/m ² día)	UV-A (MJ/m ² día)	PPFD (mol/m ² día)
Mayo	3,91	4,79	32,51	30,08	1,22	44,75
Junio	5,21	6,90	38,62	39,97	1,53	55,48
Julio	5,15	6,90	37,32	39,34	1,43	52,21
Agosto	3,94	5,14	29,93	30,31	1,17	43,03
Septiembre	3,09	3,90	24,66	23,82	0,93	35,08

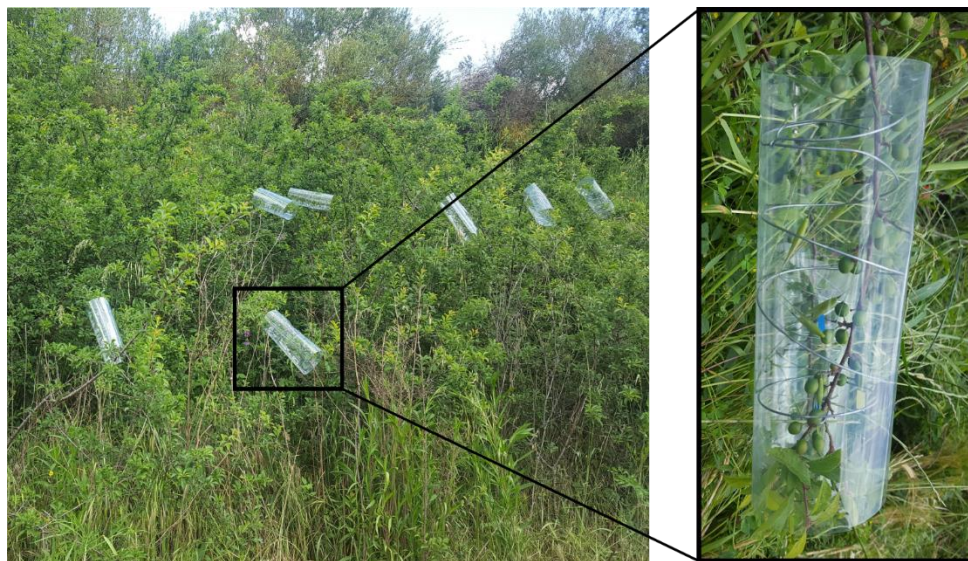


Figura 2.4 Cilindros de alambre cubiertos con distintos tipos de plástico para filtrar las diferentes longitudes de onda según la condición de radiación UV deseada, colocados en algunas ramas de *P. spinosa* con frutos.

Los cilindros se colocaron a mediados de mayo cuando los frutos estaban completamente verdes, tenían entre 7 y 9 mm de diámetro y pesaban entre 500 y 600 mg (peso fresco). En cada una de las tres zonas se colocaron tres cilindros (en tres individuos distintos) para cada nivel de radiación UV a estudiar, por tanto, en total, se colocaron 27 cilindros: 9 cilindros para la condición UVBA, 9 para UVA y 9 para UV0. A lo largo del experimento, los filtros en mal estado se fueron reemplazando por otros de nuevos.

2.7 Muestreo y extracción de compuestos fenólicos

Los frutos o endrinas fueron recolectados en septiembre 2018 (después de casi 4 meses) bajo las distintas condiciones de radiación UV), una vez habían madurado. Las endrinas de los cilindros de cada zona y condición de radiación UV se mezclaron para obtener una muestra compuesta. También se recogieron endrinas de las mismas zonas pero que habían madurado fuera de los cilindros, es decir, bajo condiciones naturales, y se usaron como control del efecto del filtro. Así, al final se

obtuvieron 3 muestras compuestas para cada condición de radiación UV, más 3 controles sin filtro. Las muestras fueron transportadas en una nevera portátil al laboratorio donde se guardaron en un ultracongelador (ElCold Lab-85, España) a -80°C hasta su análisis. Para su análisis, se separaron, manualmente, la piel, la pulpa y las semillas de los frutos y se congelaron, por separado, en nitrógeno líquido (-120°C). La pulpa y la piel se liofilizaron durante 48 y 24 horas, respectivamente, después, se trituraron en un molinete de bolas (MM200 Retsch, Alemania) durante 2 minutos a 20 Hz. Finalmente, la muestra triturada se almacenó en tubos de propileno de 15 ml sellados con papel parafilm.

Los compuestos fenólicos se extrajeron con una solución de HCl-metanol-agua (1:79:20). Para la piel se mezclaron 50 mg de muestra y 4 ml de solución, y para la pulpa, 200 mg de muestra y 2 ml de solución (Del-Castillo-Alonso et al. 2016b). Las muestras con la solución se mantuvieron en la oscuridad durante una noche a 4 °C. Después se centrifugaron (15 min, 6000 g y 4 °C) para obtener el sobrenadante (extracto fenólico) que, posteriormente, fue usado para el análisis del perfil fenólico, los compuestos absorbentes de la radiación UV y la actividad antioxidante.

Por otro lado, para conocer el porcentaje que representaba la piel, pulpa y semillas de los frutos de *P. spinosa*, se tomaron 20 frutos maduros frescos y se pesaron por separado las distintas fracciones. En concreto estos frutos pesaron de media $1,7 \pm 0,07$ gramos y la piel representó el $13 \pm 0,58$ %, la pulpa el $35 \pm 1,83$ % y el resto, que sería la semilla, un $53 \pm 2,10$ % del peso.

2.7.1 Análisis del perfil fenólico y de los compuestos absorbentes de la radiación UV

El análisis de los compuestos fenólicos de las muestras de piel y pulpa se realizaron por cromatografía líquida de ultra-alta resolución (UPLC) usando un Sistema LC Waters Acquity Ultra Performance (Waters Corporation, Milford, MA, EE. UU) acoplado a un espectrómetro de masas de alta resolución Microtof II (Bruker Daltonik, Bremen, Alemania) equipado con una fuente multimodo Apollo II

ESI/APCI y controlado por el software Bruker Daltonics DataAnalysis (Massachusetts, EE. UU). Se usó un módulo detector UV a 520 nm para los antocianos (*electrospray* en modo positivo) y a 324 nm para el resto de compuestos (*electrospray* en modo negativo). El potencial capilar se ajustó a 4 kV, la temperatura del gas de secado fue de 200 °C y su flujo de 9 L min⁻¹, el gas nebulizador se ajustó a 3,5 bar y 25 °C. Los espectros se adquirieron entre *m/z* 120 y 1505 en ambos modos (Del-Castillo-Alonso et al. 2016b).

El contenido de los compuestos fenólicos fue calculado a partir del tiempo de retención en los cronogramas obtenidos y relacionados con estándares comerciales. Se obtuvo las curvas de calibración de los siguientes compuestos estándar: Ácido cumárico ($y = 19626x$, $R^2 = 0.997$), Ácido cafeico ($y = 30729x$, $R^2=0.997$), Ácido ferúlico ($y = 22949x$, $R^2 = 0.998$), Quercetin ($y = 40632x$, $R^2=0.997$), Kaempferol ($y = 80304x$, $R^2=0.9964$), Isorhamnetin ($y = 82872x$, $R^2=0.999$), Apigenin ($y = 64044x$, $R^2=0.996$), Malvidin glucósido ($y = 51646x$, $R^2=0.995$). Los resultados obtenidos se expresaron como mg por 100g de peso seco (DW). El contenido de polifenoles totales se consideró como la suma del total de los compuestos analizados en este estudio.

Para el análisis del contenido de compuestos absorbentes de la radiación UV (UACs) se tomó 1 ml del extracto fenólico extraído anteriormente con la solución HCl-metanol-agua y con un espectrofotómetro Lambda 35 (Perkin-Elmer, Wilton, CT, EE. UU) se midió el espectro de absorción entre 280 y 400 nm. El contenido de UACs en las muestras se determinó como el área bajo la curva (AUC) de absorción entre 280 y 315 nm para compuestos absorbentes de la radiación UV-B (UAC_{UV-B}) y entre 315 y 400 nm para compuestos absorbentes de la radiación UV-A (UAC_{UV-A}).

2.7.2 Determinación de la actividad antioxidante de las muestras

La actividad antioxidante, tanto de la piel como de la pulpa, se determinó mediante el método del ABTS (2,2'- azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato) descrita en Re et al. (1999). Este método se basa en la formación de radicales catiónicos del

ABTS (ABTS^{•+}) al mezclar este compuesto con un oxidante, generalmente persulfato de potasio, dando la mezcla un color azul con una absorbancia máxima a 734 nm. Las moléculas antioxidantes del extracto fenólico de las muestras (piel o pulpa de endrina) reducen el radical a ABTS^{•+}, lo que se traduce en una disminución de su coloración y, por tanto, en una reducción de la absorbancia de la solución.

Para preparar la solución ABTS^{•+} se mezcló 88 µl K₂S₂O₈, 2.45 mM con 5 ml ABTS 7mM y se diluyó con etanol hasta conseguir una absorbancia de 0.7 ± 0.02 a 734 nm. El extracto fenólico de pulpa o piel de endrina se diluyó con metanol hasta encontrar la dilución adecuada en la que al mezclar 100 µl de extracto con 1 ml de ABTS^{•+} se inhibiera entre un 20-80% de la absorbancia de la solución de partida ABTS^{•+} (0.7 ± 0.02 a 734 nm). Una vez encontrada la dilución adecuada, se midió la absorbancia de la mezcla después de 4 minutos a 734 nm en un espectrofotómetro (Thermo Electron Corporation-Genesys 6, EE. UU) utilizando etanol como blanco. Se realizó una curva de calibración utilizando Trolox (2.5 mM) como estándar antioxidante. En la curva de calibración se usan los datos de concentración del trolox y el porcentaje de inhibición calculado con la siguiente formula:

$$\% \text{ inhibición} = 1 - \frac{\text{Abs. muestra}}{\text{Abs. ABTS}} * 100$$

La actividad antioxidante se expresa como (µM de Trolox Eq. g⁻¹ DW).

2.8 Análisis estadístico

La normalidad y homocedasticidad de las variables estudiadas se analizaron mediante el test de Kolmogorov-Smirnov y Levene, respectivamente. Las variables que no eran normales y las varianzas no homogéneas (en concreto, el contenido de compuestos absorbentes, de ácidos hidroxycinámicos y de flavonoides totales, así como la suma total de quercetinas y kaempferoles y la actividad antioxidante) fueron transformadas con logaritmo.

El efecto del tratamiento de radiación (UV) sobre el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de la piel y la pulpa de los frutos se evaluó aplicando ANOVAs de un factor para la piel y la pulpa por separado. En el caso de existir un efecto significativo de la radiación UV, se realizaron pruebas

post-hoc (Tukey) para determinar las diferencias entre las diferentes condiciones de radiación UV. Además, se realizó un ANOVA de un factor (Tipo de muestra) para identificar si había diferencias entre el perfil fenólico de la piel y de la pulpa. Se realizaron correlaciones de Pearson para determinar si había correlación entre las variables analizadas de la piel y de la pulpa, usando todos los datos. También se realizaron correlaciones dentro de cada nivel de radiación UV para determinar si los valores de los compuestos fenólicos encontrados en las endrinas estaban relacionados con la actividad antioxidante.

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico SPSS (IBM SPSS statistics, Corporation, Chicago, EE. UU). Para todos los análisis se consideró un nivel de significación $p \leq 0.05$, excepto en las correlaciones que también se tomó en cuenta un $p \leq 0.01$.

Estudio del proceso de descomposición de la hojarasca de *Arbutus unedo* y *Phillyrea angustifolia* bajo diferentes niveles de radiación UV y precipitación.

2.9 Lugar de estudio y diseño experimental

El estudio se llevó a cabo en las mismas parcelas que el experimento 1, ubicadas en una comunidad arbustiva de la finca de Can Vilallonga (41° 52' 48" N, 2° 54' 33" E) situada en el municipio de Cassà de la Selva (Girona, NE de la Península Ibérica). El experimento de descomposición se realizó con *Arbutus unedo* y *Phillyrea angustifolia*, al ser dos de las especies arbustivas dominantes de la comunidad y ser especies de amplia distribución en la Cuenca del Mediterráneo (Ollero et al. 2002).

Las parcelas de 3 m x 3 m fueron sometidas a 3 niveles de radiación UV utilizando diferentes filtros (Tabla 2.1 y 2.2) en combinación con dos niveles de precipitación: natural y reducción del 30% (10% en invierno). Cada uno de los tratamientos UV*P fueron replicados tres veces (3 bloques y en cada bloque 6 parcelas). Durante el tiempo en que duró el experimento, de octubre 2017 a octubre 2018, los datos mensuales de precipitación, temperatura e irradiación solar global (Figura 2.5) se obtuvieron de la estación meteorológica de Cassà de la Selva (177 msnm, 41° 87' N, 2° 93' E), situada a 3 km de distancia del lugar de estudio.

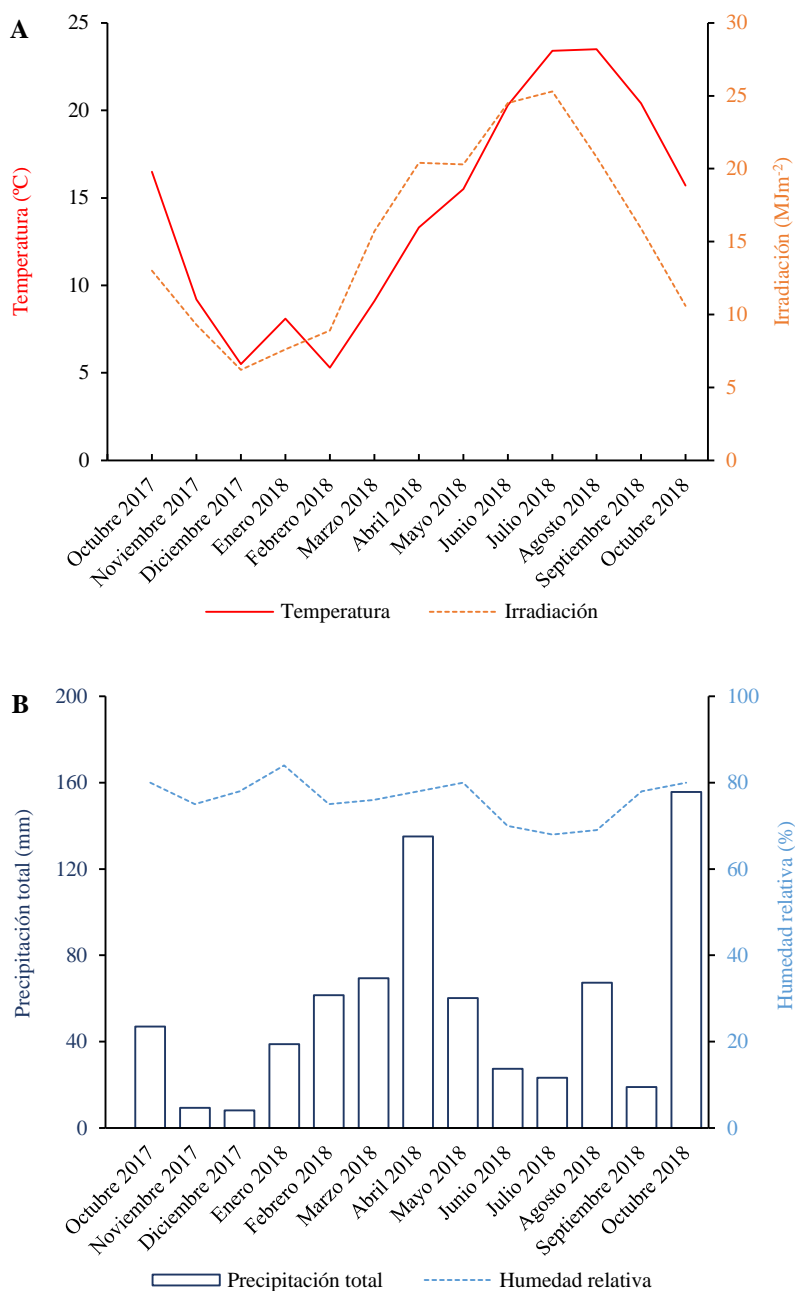


Figura 2.5 Datos ambientales en el periodo octubre 2017 - octubre 2018. A) Media mensual de temperatura (°C) e irradiación solar global diaria (MJ m⁻²) y B) precipitación acumulada mensual (mm) y media mensual de humedad relativa diaria (%).

2.10 Recolección de la hojarasca

Entre agosto y septiembre de 2017, se recogieron hojas senescentes de *A. unedo* y *P. angustifolia* que aún no habían caído al suelo. Con el fin de determinar si las condiciones de radiación UV y precipitación en que se desarrollaron las hojas tiene un efecto sobre el proceso de descomposición (historia de la hojarasca), una parte de las hojas se tomaron de las plantas que crecieron bajo los diferentes tratamientos de radiación UV y precipitación (a partir de ahora, hojarasca pretratada); y otra parte se recogieron de individuos de fuera de las parcelas y, por tanto, eran hojas que se habían desarrollado bajo condiciones naturales de radiación UV y precipitación (a partir de ahora, hojarasca natural). Durante el proceso de descomposición, ambos tipos de hojarasca (pretratada y natural) se sometieron a los mismos tratamientos de radiación UV y precipitación. Las hojas senescentes recolectadas, separadas de acuerdo a su especie, procedencia (pretratada, natural) y, en el caso de las hojas pretratadas, tratamiento de radiación UV y precipitación, fueron secadas al aire durante 7 días, pesadas y luego guardadas en la oscuridad en sobres de papel hasta la realización del experimento.

Para estudiar el proceso de descomposición de la hojarasca se utilizó la técnica de las bolsas de descomposición (Graça et al. 2005). Para *A. unedo*, se prepararon 144 bolsas, 72 se rellenaron con hojarasca pretratada y 72 con hojarasca natural. Para *P. angustifolia*, debido a que había poca hojarasca, se prepararon 54 bolsas, 36 se utilizaron para la hojarasca pretratada y 18 bolsas para natural. En cada una de las 18 parcelas del experimento de radiación UV y precipitación se colocaron 8 bolsas con hojarasca de *A. unedo*, 4 bolsas para la pretratada y 4 para la natural, y 3 bolsas con hojarasca de *P. angustifolia*, 2 para la pretratada y 1 bolsa para la natural.

2.11 Técnica de las bolsas de descomposición y muestreo

Las bolsas de descomposición (15 x 15 cm) fueron construidas con malla de polietileno de alta densidad (90% de transmitancia de radiación UV) con un tamaño de malla de 1,39 x 1,39 mm (MALMOSBL01, cristal, Macoglass, Valladolid,

España). Las bolsas que contenían 4 o 2 g de hojarasca secada al aire de *A. unedo* y *P. angustifolia*, respectivamente, fueron trasladadas en sobres individuales, para no perder material en el transporte, y colocadas dentro de las parcelas (Figura 2.6) el 26 de octubre de 2017, día en que se inició el experimento. Las bolsas se colocaron en contacto con el suelo y expuestas el máximo posible a la radiación solar. En caso de que hubiera alguna rama de la vegetación de dentro de las parcelas que sombreara las bolsas, ésta se cortó.



Figura 2.6 Bolsas de descomposición colocadas en una de las parcelas del experimento de radiación UV y precipitación junto a un individuo de *A. unedo*. Todas las bolsas se etiquetaron según la especie y procedencia de la hojarasca (pretratamiento o natural).

Las bolsas con hojarasca natural y pretratada de *A. unedo* se muestrearon a los 33, 117, 237 y 347 días después de ser colocadas en el experimento. Las bolsas con hojarasca pretratada de *P. angustifolia* se muestrearon a los 117 y 347 días de su colocación y las bolsas con la hojarasca natural solo se muestrearon una vez, al finalizar el experimento, a los 347 días (Tabla 2.5).

Las bolsas recogidas en los distintos muestreos se trasladaron cuidadosamente al laboratorio en bolsas de plástico individuales para evitar pérdidas de material durante el transporte. Allí fueron abiertas y se eliminaron a mano los restos de suelo, los invertebrados, u otro material orgánico diferente del de la muestra. Después la hojarasca remanente fue pesada, y subdividida en porciones considerando los distintos análisis a realizar en cada fecha de muestreo (Tabla 2.5). El material destinado al análisis de la actividad enzimática extracelular, biomasa de hongos y biomasa de bacterias fue separado en fresco, mientras que el resto de la hojarasca fue colocada en sobres de papel para la determinación del peso seco libre de cenizas (AFDW) y para los análisis de la calidad de la hojarasca.

Tabla 2.5 Cronograma de muestro y análisis realizados. El experimento de descomposición se inició el 26 de octubre del 2017.

Procedencia de la hojarasca	Especie	Análisis realizados	Tiempo de muestreo (días)				
			Inicial	33	117	237	347
Plantas pretratadas	<i>A. unedo</i>	% AFDW remanente	*	*	*	*	*
		Actividad enzimática	*	*	*	*	*
		Biomasa fúngica	*	*	*	*	*
		Biomasa bacteriana	*	*	*	*	*
		¹ Calidad hojarasca	*				*
	<i>P. angustifolia</i>	% AFDW remanente	*		*		*
		Actividad enzimática	*		*		*
		Biomasa fúngica	*		*		*
		Biomasa bacteriana	*		*		*
		¹ Calidad hojarasca	*		*		*
Plantas crecidas en condiciones naturales	<i>A. unedo</i>	% AFDW remanente	*	*	*	*	*
		Actividad enzimática					*
		Biomasa fúngica					*
		Biomasa bacteriana					*
		¹ Calidad hojarasca	*				*
	<i>P. angustifolia</i>	% AFDW remanente	*				*
		Actividad enzimática					*
		Biomasa fúngica					*
		Biomasa bacteriana					*
		¹ Calidad hojarasca	*				*

¹ La calidad de la hojarasca incluye el análisis del: contenido de carbono (C), nitrógeno (N), lignina, celulosa y fibra.

2.12 Análisis realizados

2.12.1 Peso seco remanente libre de cenizas (AFDW) o materia orgánica remanente

El peso seco remanente libre de cenizas (AFDW) se calculó de la hojarasca recogida en los distintos momentos según se indica en la Tabla 2.5. Así, una submuestra de la hojarasca inicial (4 g de *A. unedo* y 2 g de *P. angustifolia*) y de la hojarasca recogida de las bolsas en los distintos muestreos (2 g de *A. unedo* y 1 g de *P. angustifolia*) fue pesada (balanza analítica Sartorius 2MP, Alemania) y secada en la estufa (Memmert GmbH, Schwabach, Alemania) a 60 °C durante 48 h. Después se volvió a pesar y 100 mg de cada muestra se colocó en la mufla a 450 °C durante 4 horas para calcular el AFDW (Graça et al. 2005).

El resto de hojarasca se trituró en un molino de bolas (MM200 Retsch, Alemania) durante 2 minutos a 20 Hz y se guardó en tubos de polipropileno de 2ml para realizar los análisis relacionados con la calidad de la hojarasca.

Constante de descomposición (k)

La tasa de descomposición de la hojarasca de las dos especies y de las diferentes procedencias se estimó a partir de la constante de descomposición k (año⁻¹) que fue calculada mediante un modelo de decaimiento exponencial (Olson 1963). Se aplicó la función: $M_t = M_o * e^{-kt}$, donde M_t es el peso seco restante de las muestras en cada tiempo de muestreo (t), M_o el peso seco inicial y k el coeficiente de tasa de descomposición.

2.12.2 Calidad de la hojarasca

Como se detalla en la tabla 2.5, la composición química de la hojarasca (contenido de carbono (C), nitrógeno (N), lignina, celulosa y fibra) se analizó al inicio y al final del experimento y para cada especie y procedencia. Para el análisis del C y N se pesaron 4 mg de hojarasca seca y triturada, se encapsularon en cápsulas de estaño (Sn) y se enviaron a la Universidad de California (UC Davis Stable Isotope Facility,

Davis, Estados Unidos), donde realizaron los análisis mediante un analizador elemental (PDZ Europa ANCA-GSL, Sercon Ltd., Cheshire, Reino Unido) vinculado a un espectrómetro de masas de isótopos de flujo continuo. Los resultados se expresaron como $\mu\text{g C mg}^{-1}$ AFDW o $\mu\text{g N mg}^{-1}$ AFDW de hojarasca.

El contenido de fibra, celulosa y lignina fue determinado según el método propuesto por Gessner (2005a), basado en la eliminación progresiva de la materia orgánica de la muestra. Para determinar el contenido de fibra se realizó una primera eliminación de materia orgánica llevando a ebullición 250 mg de hojarasca seca triturada con 20 ml solución ácido-detergente (Ácido sulfúrico 0.5 M + bromuro de hexadeciltrimetilamonio [CTAB, 20 g l⁻¹]) durante 60 minutos. Después se filtró la solución en un crisol Gooch (Fisherscientific, España) y se pasó varias veces acetona a través del crisol para lavar el material orgánico restante. El crisol fue secado durante una noche a 105°C en la estufa, se enfrió y se pesó (W_o). El contenido de fibra ácido detergente (ADF) se calculó como la pérdida de peso durante este proceso en relación al peso inicial de la muestra:

$$\text{ADF (\%)} = \frac{W_o - W_c}{W_m} * 100$$

donde W_o es el peso del crisol con la materia orgánica restante (celulosa+lignina), W_c es el peso del crisol seco solo y W_m es el peso inicial de la muestra seca triturada. La segunda eliminación de materia orgánica se realizó añadiendo en cada crisol una solución de ácido sulfúrico al 72% durante 3 horas, de modo que la muestra siempre permaneciera cubierta de ácido, y luego se eliminó el ácido pasando a través del crisol agua caliente en abundancia. El crisol fue nuevamente secado durante una noche en la estufa a 105°C, enfriado y pesado (W_a). El contenido de celulosa ácido detergente (ADC) fue determinado como la pérdida de peso debido al 72% de tratamiento con H₂SO₄

$$\text{ADC (\%)} = \frac{W_o - W_c}{W_m} * 100$$

Finalmente, el crisol se introdujo en la mufla (550°C por 3h), se dejó enfriar y se pesó (W_i). El contenido de lignina ácido detergente (ADL) se representa como la pérdida de peso debido a la ignición y se calculó a partir de la siguiente ecuación

$$\text{ADL (\%)} = \frac{W_i - W_c}{W_m} * 100$$

El contenido de fibra, celulosa y lignina se expresó como porcentaje de AFDW.

2.12.3 Biomasa fúngica

Para determinar la biomasa fúngica de la hojarasca, se utilizó el método descrito por Gessner (2005b) en que se utiliza el ergosterol como indicador de la presencia de hongos, al ser el ergosterol uno de los compuestos más importantes de las membranas celulares fúngicas (Gessner y Newell 2002).

De las distintas muestras de hojarasca fresca, iniciales y de cada uno de los muestreos, se pesaron 250 (± 10) mg, los cuales se liofilizaron durante 24 horas en botes de plástico cubiertos de parafilm perforado para permitir la salida del vapor de agua. Después, las muestras se pesaron y se extrajo el ergosterol en un baño maría con una solución de KOH (0.14M en metanol) a 80 °C durante 30 minutos. En cada serie de análisis se incluyó un blanco con una solución de ergosterol de concentración conocida (30 mg l⁻¹). El extracto fue purificado mediante un sistema de filtración a presión usando unos cartuchos de extracción en fase sólida (Waters Sep-Pak®, Vac RC, tC18, 500 mg sorbente, Estados Unidos). El ergosterol retenido en los cartuchos fue eluido con isopropanol y almacenado en viales de vidrio a -20 °C hasta su análisis. La cuantificación del ergosterol se realizó mediante un equipo de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC analyser Waters corporation, Estados Unidos) equipado con una columna Nova-Pak C18, 4 µm (3.9 mm x 300 mm, Waters corporation, Estados Unidos). En cada serie de análisis se realizó una recta patrón de ergosterol para comparar los resultados. EL contenido de C fúngico se calculó teniendo en cuenta: a) el factor de corrección 182 propuesto por Gessner & Chauvet (1993) en el que se transforma el contenido de ergosterol (mg/g peso

seco) en biomasa seca fúngica (mg) y b) el contenido de C en la masa seca fúngica que se considera que representa el 43 % (Baldy y Gessner 2002).

2.12.4 Biomasa bacteriana

La abundancia bacteriana de la hojarasca se cuantificó mediante citometría de flujo siguiendo los procedimientos de Amalfitano & Fazi (2008) y Vivas et al. (2017). De cada muestra recogida (Tabla 2.6) se pesaron 0.5 g de hojarasca fresca, los cuales se trituraron en un molino de bolas (MM200 Retsch, Alemania), Posteriormente, se añadieron 125 ml de tampón acetato (50mM), y se mantuvo en agitación continua (agitador Heidolph Unimax 1010, Schwabach, Alemania) hasta obtener una solución homogénea. De esta solución, se tomó una muestra de 10 ml, se añadió 100µl de formaldehído para conservarla y se almacenó en refrigeración (4 °C) hasta su análisis.

Para su análisis, la muestra se diluyó (1:4) con una solución tampón esterilizada (NaCl 130 mM, Na₂HPO₄ 7 mM, NaH₂PO₄ 3 mM, formaldehído 37 %, pirofosfato de sodio decahidratado 99 %, y tween 20 0.5 %) que ayuda a separar las células (Amalfitano et al. 2009). Para favorecer aún más la separación de las células bacterianas, se agitó la muestra durante 30 minutos a 150 rpm (Heidolph Unimax 1010, Schwabach, Alemania) y se sonicó durante 2 minutos (40 W, 40KHz, Selecta, España), obteniéndose una solución de la cual se tomó una submuestra de 1 ml. Esta submuestra se purificó agregando 1 ml de Nicodenz (Optiprep, gradiente de densidad media, Estados Unidos) y después centrifugando (Thermo Scientific MicroCl 17R, Alemania) a 4 °C durante 90 minutos a 13300 rpm (17000 g). Luego, se procedió a separar 1 ml del sobrenadante y se diluyó (1:10) con la solución tampón esterilizada. Finalmente, de la solución anterior, se tomó una submuestra de 400 µl, se tiñó con 4 µl de SYTO13 (solución 5 mM, Fisher, Estados Unidos) y se incubó durante 15 minutos a oscuras. A cada una de las muestras de hojarasca se le añadió 10 µl de una solución de bolas de látex “beads” (Polysciences, 10⁶ beads ml⁻¹, diámetro 1.0 µm, Fisher, Estados Unidos), como estándar interno de referencia (Vivas et al. 2017), y se procedió al recuento

con el citómetro de flujo (Becton Dickinson FACSCalibur, Bélgica) equipado con un láser de argón (488 nm). La mayoría de datos fueron obtenidos a velocidad elevada “HI” y la concentración de la muestra se ajustó para mantener el recuento de eventos en 10000 s^{-1} .

El contenido de C bacteriano se dio como mg g^{-1} de peso seco de hojarasca, considerando que el biovolumen de una bacteria es de $0.1 \mu\text{m}^3$ (Theil-Nielsen et al., 1998) y que existen 0.22 g de C en cada cm^3 de biovolumen de bacterias (Bratbak y Dundas 1984).

2.12.5 Actividad enzimática extracelular

Se analizó la actividad de tres enzimas extracelulares relacionadas con el proceso de descomposición de la hojarasca. Dos de las enzimas son hidrolíticas, la celobiohidrolasa (CBH) que se relaciona con la degradación parcial de la celulosa en celobiosa, y la β -glucosidasa (βG) que participa en los últimos pasos de descomposición de la celulosa, degradando la celobiosa u oligómeros pequeños que contienen enlaces β -D-glucosa, obteniendo glucosa como producto. La otra enzima es oxidativa, la fenol-oxidasa y se relaciona con la degradación de la lignina. La actividad de las enzimas hidrolíticas se analizó mediante un método de fluorescencia, mientras que la actividad de la fenol-oxidasa se determinó mediante un ensayo colorimétrico, de acuerdo a los métodos detallados en Saiya-Cork et al. (2002) y German et al., (2012), con ligeras modificaciones. Todos los análisis de actividad enzimática se llevaron a cabo en condiciones de saturación, para lo cual se realizaron ensayos previos en los que, a partir de curvas de saturación, se determinaron las concentraciones del sustrato de cada una de las enzimas para alcanzar la saturación (Tabla 2.6). Las enzimas hidrolíticas se midieron utilizando el 4-methylumbelliferone (MUB) como referencia estándar.

Tabla 2.6 Enzimas extracelulares ensayadas en hojarasca de *A. unedo* y *P. angustifolia*, número de la comisión de enzimas (E.C.), sustrato sintético utilizado y su concentración (4-MUB = 4- methylumbelliferil, L-DOPA= L-3,4- dihidroxifenilalanina).

Enzima	Abreviación	Número E.C.	Sustrato sintético	Concentración de saturación del sustrato
β-glucosidasa	βG	3.2.1.21	4-MUB-β-D-glucopyranoside	200 μM
Celobiohidrolasa	CBH	3.2.1.91	4-MUB-β-D-cellobioside	200 μM
Fenol-oxidasa	POx	1.10.3.2	L-DOPA	25 mM

La actividad enzimática extracelular de las muestras se analizó inmediatamente después de su recolección (Tabla 2.5). En el laboratorio, 0.5 g de hojarasca fresca se trituraron en un molino de bolas (MM200 Retsch, Alemania), luego se añadió al homogenato 125 ml de tampón acetato (50 mM) a pH 6.2 (pH del suelo de las parcelas; Díaz-Guerra et al. 2018) y se mantuvo en agitación a 170 rpm (Heidolph Unimax 1010, Alemania). Después, se tomaron 200 μl de la muestra en suspensión y se colocaron en una microplaca oscura de 96 pocillos con 50 μl del sustrato enzimático correspondiente (Tabla 2.6). En el caso de las enzimas hidrolíticas, en la microplaca también se incluyeron los blancos (50 μl de tampón acetato + 200 μl de cada muestra en suspensión), 3 réplicas del control negativo (50 μl de sustrato enzimático + 200 μl de tampón acetato), los estándares quench (50 μl MUB, 10 μM + 200 μl de muestra en suspensión) y 3 réplicas de la referencia estándar (50 μl MUB, 10 μM + 200 μl de tampón acetato). La microplaca fue incubada en la oscuridad y a temperatura ambiente durante 2 horas para la β-glucosidasa y 4 horas para la celobiohidrolasa. Posteriormente, en cada micropozo, se añadió 10 μl de NaOH 1 M para parar la reacción y se midió la fluorescencia usando un lector de placas multimodo (TECAN Infinite® 200 PRO, Suiza) con 365nm de excitación y 450 nm de emisión. Finalmente, se realizaron las correcciones teniendo en cuenta el control negativo y los estándares quench, y se expresaron las actividades enzimáticas extracelulares como μmol MUB g AFDW⁻¹ h⁻¹.

Para los ensayos de fenol-oxidasa, en una microplaca transparente de 96 pocillos se añadieron 200 μl de cada muestra en suspensión con 50 μl del sustrato correspondiente (Tabla 2.6), se incluyeron los blancos (50 μl de tampón acetato + 200 μl de cada muestra en suspensión) y 3 réplicas de control negativo (50 μl del sustrato enzimático + 200 μl de tampón acetato). Después de 18 horas de incubación en oscuridad y a temperatura ambiente se midió la absorbancia a 450 nm usando el lector de placas multimodo (Infinite® 200 PRO, TECAN, Suiza). La actividad enzimática extracelular de fenol-oxidasa se expresó en $\mu\text{mol DIQC}$ (2,3-dihydroindole-5,6-quinone-2-carboxylate, producto de la degradación de L-DOPA) por cada gramo de peso seco libre de cenizas de la hojarasca ($\mu\text{mol DIQC g AFDW}^{-1} \text{ h}^{-1}$).

Los valores negativos de actividad enzimática extracelular fueron reemplazados por 0 para los análisis estadísticos.

Análisis estadísticos

Para el análisis de la calidad de la hojarasca pretratada se aplicó una ANOVA de 4 factores con especie (*A. unedo* y *P. angustifolia*), tiempo (inicio y a los 347 días de descomposición), tratamiento de radiación UV (UVBA, UVA y UV0) y tratamiento de precipitación (natural y reducida) como factores fijos (Anexo 3). No obstante, muchas de las interacciones con especie fueron significativas, analizándose, finalmente, los datos para cada especie por separado mediante ANOVAs trifactoriales. Para determinar si había diferencias entre especies en la calidad inicial de la hojarasca natural (procedente de fuera de las parcelas) se aplicó una ANOVA de un factor (especie), y para analizar el efecto de los tratamientos sobre la calidad de la hojarasca natural al finalizar el experimento se aplicó una ANOVA de dos factores (tratamiento de radiación UV y precipitación) para cada una de las especies por separado. También se realizó un ANOVA unifactorial para determinar las diferencias en la calidad inicial de la hojarasca pretratada y la hojarasca natural de las dos especies por separado (Anexo 2). Por otro lado, se testó si el experimento en sí (infraestructura) podía tener algún efecto sobre la calidad de la hojarasca de

las dos especies. En concreto, para cada especie, se compararon los parámetros de calidad inicial medidos en la hojarasca de las plantas crecidas en las parcelas experimentales con radiación UV ambiental (UVBA) y toda el agua de lluvia, con los datos obtenidos de la hojarasca natural de fuera de las parcelas experimentales mediante una ANOVA unifactorial (Ver anexo 4).

Para evaluar el efecto de los tratamientos de radiación UV y precipitación sobre la comunidad microbiana y la actividad enzimática extracelular en la hojarasca pretratada a lo largo del proceso de descomposición, se aplicó una ANOVA de medidas repetidas teniendo como factores fijos la radiación UV y la precipitación para cada especie por separado. También para valorar las diferencias iniciales entre ambas especies en cuanto a la comunidad microbiana de la hojarasca pretratada se realizó una ANOVA de un factor con especie como factor fijo. Para valorar la dinámica de la comunidad microbiana en la hojarasca natural se aplicó una ANOVA de un factor para determinar diferencias entre especies en la hojarasca al inicio del proceso y una ANOVA de dos factores (radiación UV y precipitación) para determinar para cada especie el efecto de los tratamientos sobre la hojarasca al finalizar el experimento.

Para evaluar el efecto de la radiación UV y la precipitación sobre la pérdida de peso de la hojarasca tratada de las dos especies y la hojarasca natural de *A. unedo*, se aplicó una ANOVA de medidas repetidas de dos factores (radiación UV y precipitación). Para valorar el efecto de los tratamientos sobre la pérdida de peso de la hojarasca natural de *P. angustifolia* se aplicó una ANOVA de dos factores usando los datos obtenidos a los 347 días. Para analizar el efecto de los tratamientos sobre la constante de descomposición (k) de la hojarasca pretratada de las dos especies y la natural de *A. unedo*, se aplicó una ANCOVA de dos factores fijos (radiación UV y precipitación) teniendo como covariable el día de muestreo.

Finalmente, considerando que el AFDW al final del experimento es un importante indicador de descomposición, se aplicó una ANOVA de 4 factores fijos: especie, procedencia de la hojarasca (pretratada o natural), tratamiento de radiación

UV y tratamiento de precipitación, para determinar el efecto de cada factor sobre la pérdida de peso a los 347 días de descomposición.

Cuando los efectos del tratamiento de radiación UV fueron significativos, se realizó una comparación post hoc mediante el test de Tukey para determinar las diferencias intra-factoriales. En el caso de existir interacciones entre los factores, se evaluó el efecto de un factor dentro de los niveles del otro factor aplicando ANOVAs.

También, se realizaron correlaciones de Pearson parciales entre los parámetros relacionados con la actividad microbiana de la hojarasca pretratada (biomasa microbiana y fúngica y actividades enzimáticas) con un nivel de significación de 0.01.

Todas las variables cumplieron las asunciones de normalidad y homocedasticidad analizadas mediante los tests de Shaphiro-Wilk y Levene, respectivamente, si bien, la variable tasa de descomposición, biomasa de hongos, biomasa de bacterias y la actividad de los tres enzimas ensayados fueron transformadas logarítmicamente. Para todos los análisis estadísticos se utilizó el programa “SPSS Statistics” para Windows versión 25 (IBM, Corporation, Chicago, Estados Unidos) considerando un nivel de significación $p \leq 0.05$.

Capítulo III

Resultados

Estudio del efecto de la radiación UV y la disponibilidad de agua sobre las características bioquímicas y fisiológicas de las hojas de *Erica scoparia*, así como sobre su floración.

La radiación UV, como factor individual, únicamente afectó el WUE de las plantas de *E. scoparia*, mientras que el régimen de precipitación modificó solo el contenido de C foliar. En cambio, se observó un efecto interactivo de la radiación UV con la precipitación en muchos de los parámetros (Tabla 3.1), incluidos los relacionados con la floración (Tabla 3.2). Además, muchas de estas interacciones dependieron de la estación. El factor bloque, solo tuvo un efecto significativo sobre la interacción entre la radiación UV y la precipitación en el WUE, por lo cual se descartó esta interacción y, por tanto, no aparece en la tabla de resultados.

3.1 Parámetros bioquímicos

EL contenido de pigmentos fotosintéticos de las hojas de *E. scoparia* varió en función de la estación y también debido a un efecto combinado de la radiación UV y de la precipitación en momentos puntuales del año (Tabla 3.1). En primavera, las hojas presentaron concentraciones menores de clorofila *a*, clorofila total y carotenoides. La interacción entre la radiación UV y la precipitación tuvo un efecto significativo sobre el contenido foliar de pigmentos fotosintéticos sólo en primavera. Así, bajo condiciones más secas, la radiación UV-A incrementó el contenido de clorofila *a* y clorofila total en un 26%, de clorofila *b* en un 33% y de carotenoides en un 20% en relación a los niveles de estos pigmentos en las hojas no expuestas a la radiación UV (UV0) (Figura 3.1).

Tabla 3.1 Parámetros bioquímicos y fisiológicos (media ± S.E, n = 18 para los niveles de radiación UV, n = 27 para los niveles de precipitación y n = 54 para cada estación) medidos estacionalmente durante un año, en hojas de *E. scoparia* bajo diferentes condiciones de radiación UV y precipitación. Las columnas p indican los p-valores obtenidos en el análisis estadístico (ANOVA de medidas repetidas) para cada uno de los factores. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los niveles de radiación UV o entre estaciones.

Parámetro	Radiación ultravioleta (UV)					Precipitación (P)					Estación (T)					Interacción
	UVBA	UVA	UV0	p	W	D	p	Invierno	Primavera	Verano	Otoño	p				
Cl a (mg g ⁻¹ DW)	1.85 ± 0.05	1.95 ± 0.05	1.88 ± 0.04	ns	1.89 ± 0.04	1.90 ± 0.04	ns	1.95 ± 0.05a	1.72 ± 0.05b	1.93 ± 0.05a	1.97 ± 0.05a	<0.001	UV*P*T			
Cl b (mg g ⁻¹ DW)	0.51 ± 0.02	0.53 ± 0.02	0.52 ± 0.02	ns	0.51 ± 0.01	0.52 ± 0.01	ns	0.43 ± 0.01d	0.48 ± 0.02c	0.60 ± 0.02a	0.56 ± 0.02b	<0.001	UV*P*T			
Cl t (a+b) (mg g ⁻¹ DW)	1.28 ± 0.03	1.35 ± 0.03	1.31 ± 0.03	ns	1.31 ± 0.03	1.32 ± 0.03	ns	1.34 ± 0.04a	1.20 ± 0.04b	1.35 ± 0.04a	1.37 ± 0.03a	<0.001	UV*P*T			
Car (mg g ⁻¹ DW)	0.72 ± 0.02	0.77 ± 0.02	0.74 ± 0.02	ns	0.74 ± 0.01	0.75 ± 0.01	ns	0.85 ± 0.02a	0.67 ± 0.02d	0.73 ± 0.02b	0.71 ± 0.01c	<0.001	UV*P*T			
Relación Cl a:Cl b	3.76 ± 0.09	3.78 ± 0.07	3.73 ± 0.08	ns	3.76 ± 0.06	3.75 ± 0.07	ns	4.63 ± 0.08a	3.65 ± 0.06b	3.21 ± 0.03d	3.54 ± 0.04c	<0.001	UV*P*T			
Relación Car:Cl t	0.57 ± 0.01	0.57 ± 0.01	0.57 ± 0.01	ns	0.57 ± 0.01	0.57 ± 0.01	ns	0.64 ± 0.01a	0.57 ± 0.01b	0.54 ± 0.00c	0.52 ± 0.00d	<0.001	UV*P			
UACuv-a (AUC mg ⁻¹ DW)	3.35 ± 0.07	3.45 ± 0.08	3.53 ± 0.09	ns	3.48 ± 0.07	3.41 ± 0.06	ns	3.14 ± 0.09c	3.27 ± 0.07bc	3.94 ± 0.09a	3.43 ± 0.09b	<0.001	UV*P			
UACuv-b (AUC mg ⁻¹ DW)	5.66 ± 0.15	5.24 ± 0.13	5.24 ± 0.18	ns	5.56 ± 0.13	5.20 ± 0.12	ns	4.97 ± 0.17c	5.28 ± 0.15b	6.31 ± 0.19a	4.97 ± 0.15c	<0.001	UV*P			
C (mg g ⁻¹ DW)	550.32 ± 1.62	551.53 ± 1.41	553.51 ± 2.49	ns	548.45 ± 1.19	555.12 ± 1.78	0.007	545.59 ± 3.10c	545.81 ± 1.70c	561.26 ± 1.59a	554.50 ± 1.06b	<0.001	UV*P			
N (mg g ⁻¹ DW)	12.01 ± 0.23	12.79 ± 0.24	11.95 ± 0.26	ns	12.15 ± 0.19	12.35 ± 0.21	ns	12.60 ± 0.29a	12.04 ± 0.26ab	11.57 ± 0.25b	12.79 ± 0.32a	<0.001	UV*P			
Relación C:N	47.01 ± 0.92	44.26 ± 0.87	47.86 ± 1.06	ns	46.39 ± 0.78	46.36 ± 0.81	ns	44.38 ± 0.96b	46.49 ± 1.03b	49.77 ± 1.17a	44.86 ± 1.16b	<0.001	UV*P			
δ ¹³ C (‰)	-28.43 ± 0.10	-28.03 ± 0.11	-28.49 ± 0.14	ns	-28.50 ± 0.09	-28.13 ± 0.10	ns	-28.06 ± 0.14a	-28.38 ± 0.12ab	-28.39 ± 0.13ab	-28.42 ± 0.15b	<0.001	P*T			
δ ¹⁵ N (‰)	-4.76 ± 0.18	-4.79 ± 0.16	-4.44 ± 0.20	ns	-4.65 ± 0.14	-4.68 ± 0.16	ns	-4.38 ± 0.20a	-4.44 ± 0.21a	-4.57 ± 0.22a	-5.26 ± 0.20b	<0.001	UV*P			
RWC (%)	78.20 ± 1.02	78.99 ± 1.21	79.18 ± 1.14	ns	79.21 ± 0.96	78.36 ± 0.88	ns	81.96 ± 1.36a	72.52 ± 1.59b	80.44 ± 0.83a	80.24 ± 0.86a	<0.001	UV*P			
LMA (mg cm ⁻²)	17.53 ± 0.27	17.05 ± 0.27	16.84 ± 0.27	ns	17.32 ± 0.22	16.95 ± 0.22	ns	17.90 ± 0.24ab	18.28 ± 0.29a	17.43 ± 0.29b	14.94 ± 0.20c	<0.001	UV*P			
E (mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)	1.71 ± 0.18	1.64 ± 0.14	1.40 ± 0.15	ns	1.69 ± 0.14	1.48 ± 0.12	ns	1.77 ± 0.11b	2.05 ± 0.19ab	1.13 ± 0.66c	2.41 ± 0.16a	<0.001	UV*P			
g (mmol m ⁻² s ⁻¹)	71.79 ± 7.88	68.72 ± 7.27	57.34 ± 6.38	ns	70.98 ± 6.20	60.92 ± 5.54	ns	115.85 ± 7.67a	50.46 ± 5.26b	1.13 ± 0.66c	96.35 ± 6.74a	<0.001	UV*P			
A (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	12.87 ± 0.69	13.46 ± 0.82	12.30 ± 0.75	ns	13.21 ± 0.61	12.55 ± 0.62	ns	15.63 ± 0.71a	16.16 ± 1.01a	7.37 ± 0.42c	12.34 ± 0.66b	<0.001	UV*P			
WUE (μmol CO ₂ mmol ⁻¹ H ₂ O)	9.48 ± 1.26ab	8.60 ± 0.81b	13.60 ± 2.13a	0.019	8.22 ± 1.21	9.68 ± 1.29	ns	13.14 ± 1.89a	12.14 ± 1.71a	-	6.36 ± 0.66b	<0.001	UV*P			

RWC: contenido relativo de agua, LMA: peso específico, Cl a: contenido de clorofila a, Cl b: contenido de clorofila b, Cl t: contenido de clorofila total (a+b), Car: contenido de carotenoides, UACuv-B: contenido en compuestos absorbentes de la radiación UV-B, UACuv-A: contenido en compuestos absorbentes de la radiación UV-A, C: contenido total de carbono, N: contenido total de nitrógeno, δ¹³C: delta ¹³C, δ¹⁵N: delta ¹⁵N, E: tasa de transpiración, g: conductancia estomática, A: tasa fotosintética, WUE: eficiencia del uso del agua, ns: no significativo. Los valores de WUE de verano no se pudieron calcular debido a las bajas tasas de transpiración (con valores de cero en muchos casos).

Por el contrario, con lluvia natural, el contenido foliar de clorofila *b* en las hojas disminuyó casi un 23% en las plantas expuestas sólo a la radiación UV-A en comparación a aquellas que no recibieron radiación UV. Además, las plantas que crecieron en las parcelas de exclusión de la radiación UV presentaron un contenido 20% menor de clorofila *a* y clorofila total, un 30% menos de clorofila *b* y una relación clorofila *a/b* un 14% mayor en condiciones de sequía que bajo precipitación natural. Lo opuesto ocurre cuando las plantas crecen expuestas sólo a la radiación UV-A, ya que, en estas plantas, la reducción de la precipitación incrementó aproximadamente en un 22% el contenido de clorofila *a*, clorofila total y carotenoides y en un 26% el contenido de clorofila *b* (Figura 3.1).

El contenido foliar de compuestos absorbentes de la radiación UV (UAC), varió en función de las condiciones estacionales. Así, en verano se observó un mayor contenido tanto de UAC_{UV-B} como de UAC_{UV-A} (Tabla 3.1). También, se observó un efecto interactivo entre la radiación UV y la precipitación sobre estos parámetros, el cual fue independiente de la estación. Bajo precipitación reducida, las hojas expuestas a la radiación natural (UVBA) mostraron un incremento en el contenido de UAC_{UV-A} de casi el 17% y el 22% en comparación con las hojas que crecieron expuestas sólo a radiación UV-A o bien sin radiación UV, respectivamente (Figura 3.2B). En cambio, en condiciones de precipitación natural, las hojas expuestas a la radiación UV natural (UVBA) y a la radiación UV-A mostraron una reducción del contenido de UAC_{UV-B} del 17% y del 11% en comparación con las plantas UV0, respectivamente (Figura 3.2A). Al mismo tiempo, las hojas que no recibieron radiación UV disminuyeron un 15% y casi un 20% el contenido de UAC_{UV-B} y UAC_{UV-A} , respectivamente, al crecer bajo una menor disponibilidad hídrica (Figura 3.2A, B). Las hojas expuestas sólo a la radiación UV-A también disminuyeron el contenido de UAC_{UV-A} en casi un 10% al crecer bajo condiciones más secas (Figura 3.2B). Por el contrario, las hojas expuestas a la radiación UV ambiental incrementaron en un 9% y en un 10% el

contenido de UAC_{UV-B} y UAC_{UV-A} , respectivamente, al reducirse la precipitación (Figura 3.2A, B).

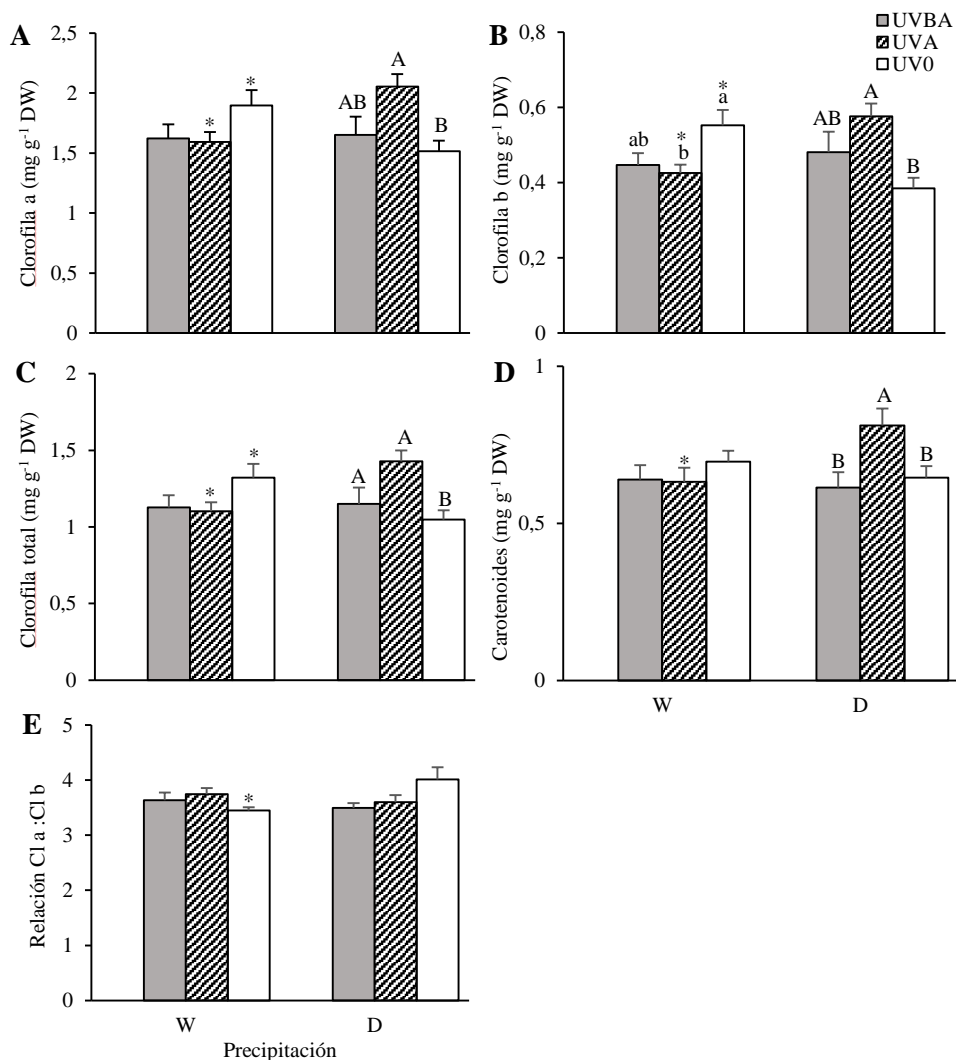


Figura 3.1 Media \pm SE (n = 9) del contenido en A) clorofila a, B) clorofila b, C) clorofila total a + b, D) carotenoides y E) relación clorofila a : clorofila b de las hojas de *E. scoparia* bajo diferentes condiciones de radiación UV y precipitación en primavera. Diferentes letras (minúsculas en W y mayúsculas en D) indican diferencias significativas entre condiciones de radiación UV dentro de cada nivel de precipitación y el asterisco (*) indica diferencias significativas entre los niveles de precipitación dentro de cada nivel de radiación UV. (UVBA: radiación UV ambiental, UVA: exclusión de la radiación UV-B, UV0: exclusión de la radiación UV; W: precipitación natural, D: reducción de la precipitación)

En cuanto al contenido foliar en carbono, se observó que, bajo condiciones más secas, las hojas contenían de media casi 7 mg g⁻¹ DW más de carbono (Tabla 3.1). Además, el contenido foliar de C y N también varió de acuerdo a las condiciones estacionales de forma que, en verano, se observó un contenido de C mayor y un contenido de N menor en las hojas, y por tanto, una relación C:N mayor que en el resto de estaciones (Tabla 3.1). Por otro lado, tanto el $\delta^{13}\text{C}$ como el $\delta^{15}\text{N}$ presentaron sus valores más bajos en otoño (Tabla 3.1) y precisamente solo en esta estación se observó un efecto significativo de la precipitación sobre el $\delta^{13}\text{C}$. Así, en otoño, las plantas que estuvieron bajo una menor disponibilidad hídrica mostraron valores de $\delta^{13}\text{C}$ alrededor de un 3% más altos que las que crecieron bajo precipitación natural (Figura 3.3). En el resto de estaciones la tendencia es similar, aunque no llega a ser estadísticamente significativa.

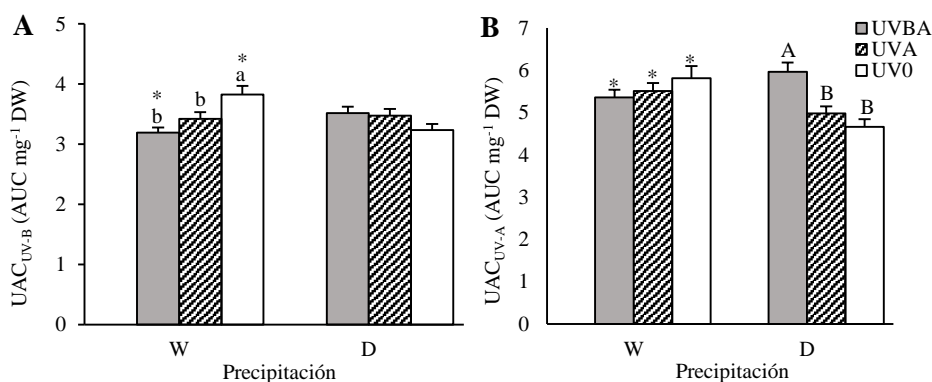


Figura 3.2 Contenido de A) compuestos absorbentes de la radiación UV-B ($\text{UAC}_{\text{UV-B}}$) y B) compuestos absorbentes de la radiación UV-A ($\text{UAC}_{\text{UV-A}}$) de las hojas de *E. scoparia* (media \pm SE, n = 36). Diferentes letras (minúsculas en W y mayúsculas en D) indican diferencias significativas entre condiciones de radiación UV dentro de cada nivel de precipitación y el asterisco (*) indica diferencias significativas entre los niveles de precipitación dentro de cada nivel de radiación UV. (UVBA: radiación UV ambiental, UVA: exclusión de la radiación UV-B, UV0: exclusión de la radiación UV; W: precipitación natural, D: reducción de la precipitación)

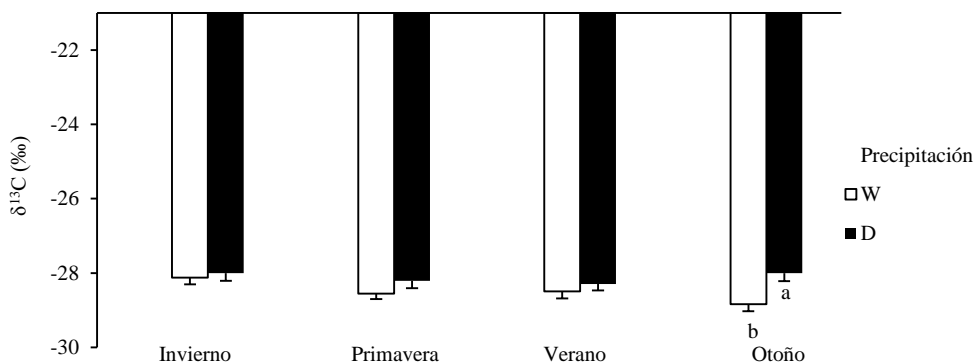


Figura 3.3 Valores de $\delta^{13}\text{C}$ (media \pm SE, $n=27$) en hojas de *E. scoparia* bajo los dos niveles de precipitación en cada una de las estaciones. Diferentes letras indican diferencias significativas entre las condiciones de precipitación para cada estación. (W: precipitación natural, D: reducción de la precipitación)

3.2 Parámetros fisiológicos

El contenido relativo de agua (RWC) y el peso específico (LMA) de las hojas de *E. scoparia* únicamente fueron sensibles a los cambios estacionales (Tabla 3.1). Así, las hojas tuvieron un RWC menor y un LMA mayor en primavera. Al igual que los parámetros anteriores, la transpiración (E), la conductancia estomática (g_s), la tasa fotosintética (A) y la eficiencia en el uso del agua (WUE) de las hojas de *E. scoparia* variaron estacionalmente y, los valores más bajos de estos parámetros (excepto en el caso de E y WUE para el cual no hay datos) se obtuvieron en verano (Tabla 3.1). No se observó ningún efecto del tratamiento de precipitación sobre el intercambio de gases foliar, mientras que la radiación UV afectó el WUE, de forma que las plantas que no recibieron radiación UV tuvieron un WUE un 37% y un 30% mayor que las que recibieron sólo radiación UV-A y radiación ambiental (UVBA), respectivamente (Tabla 3.1). Por otro lado, se observó que el efecto de la radiación UV sobre E y g_s varió en función de la estación (Tabla 3.1), debido a que la radiación UV sólo afectó de forma significativa a estos parámetros en invierno (Figura 3.4). En esta estación, las plantas expuestas sólo a la radiación UV-A mostraron una mayor transpiración foliar (42%) y una conductancia estomática más elevada (37%) en comparación con las plantas que no recibieron radiación UV

(Figura 3.4). La exposición de las plantas a la radiación UV-B no modificó de forma significativa el efecto de la radiación UV-A sobre estos parámetros.

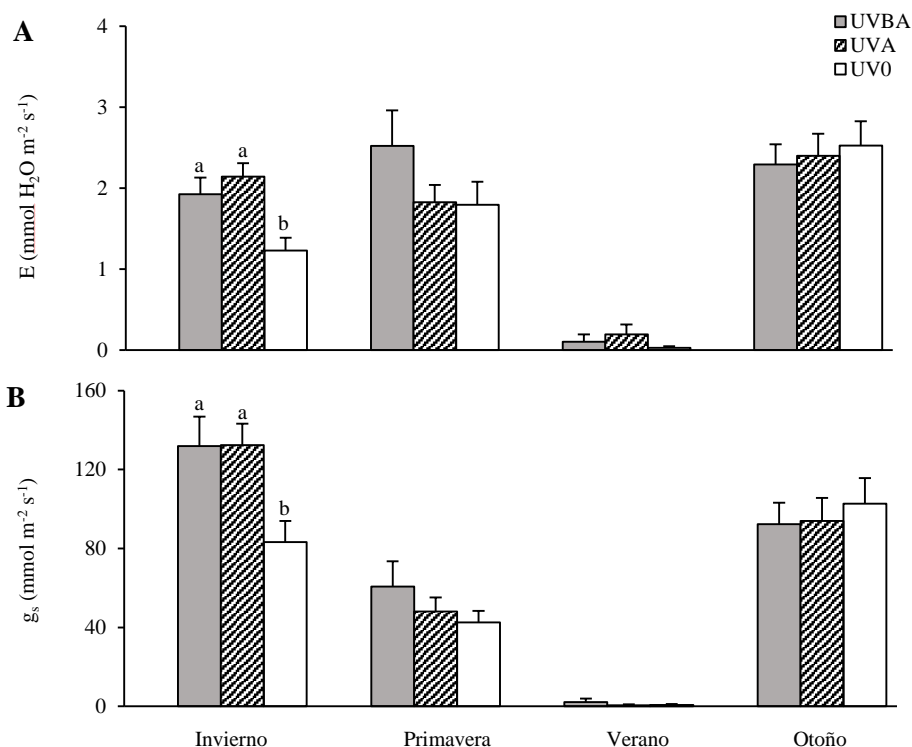


Figura 3.4 Medidas de A) Transpiración (E) y B) conductancia estomática (g_s) (media \pm SE, $n=18$) de las hojas de *E. scoparia* bajo los diferentes niveles de radiación UV en cada una de las estaciones. Diferentes letras indican diferencias significativas entre las condiciones de radiación UV en cada estación. (UVBA: radiación UV ambiental, UVA: exclusión de la radiación UV-B, UV0: exclusión de la radiación UV)

3.3 Parámetros relacionados con la floración de *E. scoparia*

No se detectó ningún efecto de los tratamientos de radiación UV y precipitación sobre la producción inicial de botones florales de *E. scoparia*, ni sobre los parámetros morfológicos de los botones florales a lo largo del periodo de estudio, excepto en el caso del diámetro y del volumen, para los cuales se observó una interacción significativa entre los dos tratamientos y el momento de muestreo (Tabla 3.2).

Tabla 3.2 Parámetros relacionados con el tamaño de los botones florales de *E. scoparia* (media \pm S.E, n = 18 y n = 27 para los distintos niveles de radiación ultravioleta y precipitación, respectivamente, y n = 54 para cada momento de muestreo) medidos mensualmente durante 4 meses (de febrero a mayo). Las columnas p-valor (p) indican los valores de significación obtenidos para cada factor en el análisis estadístico (ANOVA de medidas repetidas). En el caso del número de botones/cm iniciales, las columnas p-valor (p) indican los valores de significación obtenidos para cada factor en el análisis estadístico ANOVA de dos factores (UV*P).

Parámetro	Radiación ultravioleta (UV)			Precipitación (P)			Tiempo de muestreo (T)				Interacción	
	UVBA	UVA	UV0	W	D	p	Febrero	Marzo	Abril	Mayo		p
Diámetro (mm)	1.38 \pm 0.05	1.41 \pm 0.05	1.42 \pm 0.05	1.41 \pm 0.04	1.40 \pm 0.04	ns	0.91 \pm 0.01 a	1.17 \pm 0.01 b	1.60 \pm 0.02 c	1.93 \pm 0.02 d	<0.001	UV*T, UV*P*T
Altura (mm)	1.67 \pm 0.09	1.71 \pm 0.09	1.72 \pm 0.09	1.71 \pm 0.08	1.69 \pm 0.07	ns	0.95 \pm 0.01 a	1.21 \pm 0.01 b	1.72 \pm 0.02 c	2.91 \pm 0.05 d	<0.001	
Área del botón/flor (mm ²)	1.81 \pm 0.13	1.88 \pm 0.13	1.93 \pm 0.13	1.91 \pm 0.11	1.83 \pm 0.11	ns	0.70 \pm 0.01 a	1.17 \pm 0.02 b	2.20 \pm 0.05 c	3.43 \pm 0.09 d	<0.001	
Volumen (mm ³)	1.11 \pm 5.05	1.23 \pm 5.96	1.20 \pm 5.33	1.20 \pm 6.65	1.16 \pm 6.64	ns	0.21 \pm 0.12 a	0.43 \pm 0.28 b	1.17 \pm 0.92 c	2.91 \pm 2.12 d	<0.002	UV*P*T
Peso del botón/flor (mg)	1.26 \pm 0.19	1.14 \pm 0.06	1.40 \pm 0.21	1.19 \pm 0.06	1.35 \pm 0.18	ns	0.54 \pm 0.05 a	0.89 \pm 0.03 a	1.89 \pm 0.26 b	1.76 \pm 0.23 b	<0.001	
Número de botones/cm	6.64 \pm 0.62	6.11 \pm 0.60	7.41 \pm 0.78	6.17 \pm 0.39	7.27 \pm 0.66	ns	-	-	-	-	-	

Concretamente, se detectó que la interacción entre los dos tratamientos fue significativa únicamente para los valores obtenidos en mayo, cuando ya los botones florales habían pasado a ser flores. Así, al analizar los datos para este mes, se observó que, en condiciones de sequía, las flores expuestas a la radiación UV ambiental (UVBA) presentaron un diámetro y un volumen un 11% y un 30% menor, respectivamente, en comparación a las flores de las plantas expuestas sólo a la radiación UV-A (Figura 3.5A y B). Además, las flores de las plantas expuestas a la radiación UV ambiental presentaron un diámetro (7%) y volumen (casi 22%) menor al crecer bajo precipitación reducida (Figura 3.5).

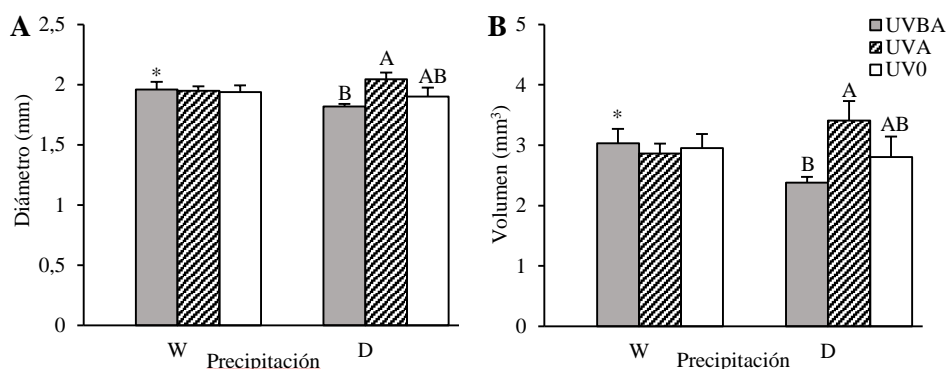


Figura 3.5 Medidas del A) diámetro y B) volumen (media \pm SE, $n = 9$) de las flores de *E. scoparia* bajo los diferentes niveles de radiación y precipitación en el mes de mayo. Diferentes letras (minúsculas en W y mayúsculas en D) indican diferencias significativas entre condiciones de radiación UV dentro de cada nivel de precipitación y el asterisco (*) indica diferencias significativas entre los niveles de precipitación dentro de cada nivel de radiación UV. (UVBA: radiación UV ambiental, UVA: exclusión de la radiación UV-B, UV0: exclusión de la radiación UV; W: precipitación natural, D: reducción de la precipitación)

Los tratamientos de radiación UV y precipitación no afectaron significativamente el porcentaje de flores funcionales en relación al número de botones florales iniciales de *E. scoparia* durante el seguimiento del periodo de floración realizado (Figura 3.6). En general, los máximos valores de flores funcionales se detectaron entre el 9 y 17 de mayo (129 y 137 días después del inicio de la aparición de los botones).

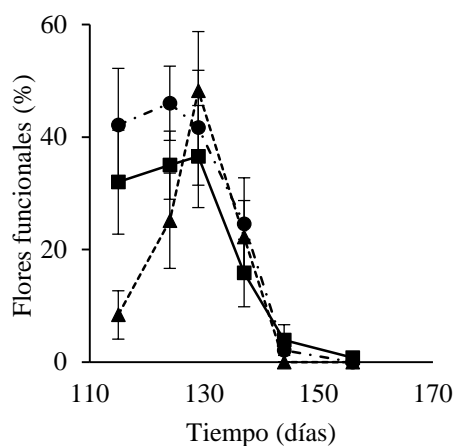
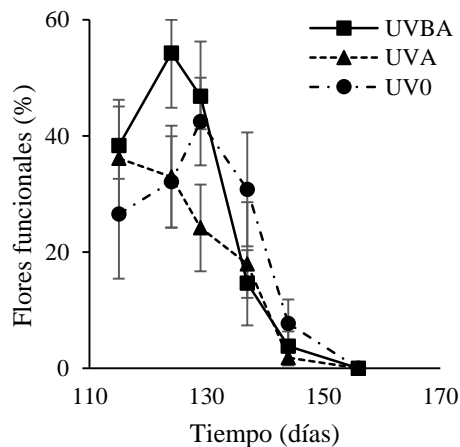
Precipitación natural*Precipitación reducida*

Figura 3.6 Porcentaje de flores funcionales ($n = 9$) en relación al número total de botones florales iniciales (diciembre 2016) para cada planta de *E. scoparia* bajo los diferentes niveles de radiación UV y precipitación en los distintos momentos de muestreo (desde el 25 de abril hasta el 6 de junio de 2017). (UVBA: radiación UV ambiental, UVA: exclusión de la radiación UV-B, UV0: exclusión de la radiación UV)

Evaluación de la composición fenólica y la actividad antioxidante de frutos de *Prunus spinosa* madurados bajo diferentes niveles de radiación UV

3.4 Análisis del contenido de compuestos fenólicos, UACs y de la actividad antioxidante de la piel y de la pulpa de los frutos de *P. spinosa*

El contenido de UACs, de fenoles totales y la actividad antioxidante de la piel de los frutos de *P. spinosa* fue diferente al de la pulpa (Tabla 3.3). En relación a los UACs, la piel presentó un 30% menos UAV_{UV-B} que la pulpa y su actividad antioxidante fue la mitad que la de la pulpa. En relación a los compuestos fenólicos en la piel y en la pulpa se encontraron ácidos hidroxicinámicos, flavonoles y flavonas y solo en la piel se detectaron antocianos. En general, el total de fenoles fue inferior en la piel que, en la pulpa, presentando la pulpa casi el doble que la piel. Dentro del grupo de ácidos hidroxicinámicos se determinaron 5 compuestos,

y todos ellos se encontraron en menor cantidad en la piel que en la pulpa, presentando, en general, la pulpa unas 3.5 veces más ácidos hidroxicinámicos que la piel. Si bien, las dos fracciones tuvieron como compuesto mayoritario el ácido 3-O-cafeoilquínico, éste estuvo seguido por el ácido 3-O-feruloilquínico en la piel, y el ácido 4-O-cafeoilquínico en la pulpa. En la piel, destacó la concentración de flavonoles que fue hasta 10 veces mayor que la de la pulpa. Entre los flavonoles, el contenido de quercetinas y kaempferoles fue 9 y 47 veces superior en la piel que, en la pulpa, respectivamente, siendo la relación quercetinas/kaempferoles inferior en la piel que en la pulpa. En la piel se identificaron 13 flavonoles y 7 en la pulpa. El flavonol más abundante en la piel y en la pulpa fue la quercetina-3-O-pentósido, y el contenido de los distintos flavonoles descritos fue superior en la piel que, en la pulpa, excepto para la quercetina ramnosil-hexósido y la quercetina acetilrutinosido, para las cuales la piel y la pulpa presentaron concentraciones similares. En la pulpa, y no en la piel, la flavona apigenina pentósido fue muy abundante. Como se ha comentado, únicamente en la piel se encontraron antocianos, en concreto 4, de los cuales los más abundantes fueron cianidina-3-O-rutinósido y peonidina-3-O-rutinósido.

3.5 Efecto de la radiación UV sobre el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante en la piel y la pulpa de los frutos de *P. spinosa*

En general, la radiación UV no afectó el perfil fenólico de la piel y la pulpa de las endrinas de *P. spinosa*. No obstante, se detectaron diferencias significativas en un compuesto fenólico individual de la pulpa, posiblemente debido a la variabilidad encontrada entre muestras (Tabla 3.3). En concreto, la pulpa de los frutos que maduraron con radiación UVA tuvo un contenido en quercetin-3-O-rutinósido un 30% superior que la encontrada en la pulpa de los frutos que no recibieron radiación UV (UV0). Esta misma tendencia, aunque marginalmente significativa, se observó para el contenido de kaempferol-3-O-glucósido y para la suma total de kaempferoles de la pulpa (Tabla 3.3).

Tabla 3.3 Contenido de compuestos fenólicos (media \pm S.E, n = 3) de los frutos de *P. spinosa* que maduraron bajo diferentes condiciones de radiación UV. La columna p-valor (*p*) indica los valores de significación obtenidos en el análisis estadístico (ANOVA). Diferentes letras indican diferencias significativas entre los niveles del tratamiento de radiación UV.

Compuesto	Piel		Pulpas		Piel		Pulpas		<i>p</i>		
	UVB	UV	UVB	UV	UVB	UV	UVB	UV			
UAC _{UVB} (mg ⁻¹ DW)	15.62 \pm 0.57	22.22 \pm 2.87	0.033	16.51 \pm 0.77	15.29 \pm 0.60	15.08 \pm 1.54	ns	23.71 \pm 3.05	27.19 \pm 1.50	15.77 \pm 7.27	ns
UAC _{UV} A (mg ⁻¹ DW)	16.97 \pm 0.71	16.79 \pm 2.28	ns	18.35 \pm 1.40	16.14 \pm 1.11	16.41 \pm 1.19	ns	17.39 \pm 1.88	20.41 \pm 2.00	12.58 \pm 6.27	ns
UAC _{UV} B (mg ⁻¹ DW)	32.26 \pm 1.20	38.61 \pm 5.06	ns	34.51 \pm 1.88	22.76 \pm 9.99	31.17 \pm 2.68	ns	40.67 \pm 4.87	47.11 \pm 3.29	28.05 \pm 13.39	ns
Ácidos hidroxibenzoicos (mg 100 g ⁻¹ DW)	222.23 \pm 18.41	793.38 \pm 52.95	<0.001	231.01 \pm 16.78	235.62 \pm 23.16	200.07 \pm 53.63	ns	808.36 \pm 46.08	852.75 \pm 68.29	719.03 \pm 149.08	ns
Cateol-O- hexósido	2.49 \pm 0.26	15.21 \pm 2.28	<0.001	2.51 \pm 0.14	2.80 \pm 0.52	2.14 \pm 0.64	ns	14.35 \pm 1.48	16.35 \pm 4.85	14.92 \pm 5.97	ns
Ácido 3-O-p-coumarilquinico	13.56 \pm 1.57	70.72 \pm 6.95	<0.001	15.52 \pm 1.07	14.91 \pm 1.07	10.26 \pm 2.73	ns	75.63 \pm 3.12	79.71 \pm 12.60	56.83 \pm 16.22	ns
Ácido 3-O-caffeoilquinico	166.72 \pm 14.19	576.06 \pm 33.13	<0.001	173.50 \pm 14.97	175.87 \pm 18.46	150.79 \pm 40.72	ns	588.67 \pm 34.37	613.64 \pm 32.14	525.88 \pm 94.39	ns
Ácido 4-O- caffeoilquinico	11.71 \pm 1.02	75.34 \pm 6.39	<0.001	10.85 \pm 2.07	12.43 \pm 1.26	11.85 \pm 2.43	ns	74.02 \pm 9.68	81.43 \pm 9.20	70.58 \pm 16.75	ns
Ácido 3-O-ferulilquinico	27.75 \pm 2.31	56.04 \pm 7.54	<0.001	28.62 \pm 1.93	25.03 \pm 7.26	25.03 \pm 7.26	ns	55.69 \pm 3.57	61.62 \pm 15.33	50.82 \pm 20.14	ns
Flavonoles (mg 100 g ⁻¹ DW)	68.55 \pm 5.59	6.53 \pm 0.78	<0.001	80.10 \pm 13.53	63.68 \pm 7.08	66.08 \pm 8.45	ns	13.57 \pm 7.03	16.46 \pm 1.90	11.68 \pm 0.24	ns
Kaempferol-3-O-glucósido	7.51 \pm 0.93	0.24 \pm 0.03	<0.001	8.80 \pm 2.59	7.21 \pm 1.42	6.52 \pm 0.54	ns	0.22 \pm 0.05	0.32 \pm 0.03	0.16 \pm 0.03	0.057
Kaempferol-3-O-rutinosido	3.92 \pm 0.14	nd	-	3.99 \pm 0.08	3.70 \pm 0.17	4.08 \pm 0.40	ns	nd	nd	nd	-
Quercetina	0.81 \pm 0.08	nd	-	0.96 \pm 0.23	0.69 \pm 0.05	0.77 \pm 0.11	ns	nd	nd	nd	-
Quercetina-3-O-pentósido	27.18 \pm 2.05	1.83 \pm 0.25	<0.001	32.50 \pm 4.38	24.41 \pm 2.11	24.63 \pm 2.37	ns	1.74 \pm 0.02	2.44 \pm 0.57	1.31 \pm 0.33	ns
Quercetina-3-O-ramósido	2.99 \pm 0.23	nd	<0.001	3.35 \pm 0.56	2.70 \pm 0.18	2.91 \pm 0.38	ns	nd	nd	nd	-
Quercetina-3-D-galactósido	1.46 \pm 0.32	nd	0.001	1.88 \pm 0.84	1.37 \pm 0.54	1.14 \pm 0.33	ns	nd	nd	nd	-
Quercetina-3-O-glucósido	3.55 \pm 0.61	0.14 \pm 0.02	<0.001	4.52 \pm 1.64	3.00 \pm 0.47	3.13 \pm 0.89	ns	0.15 \pm 0.06	0.17 \pm 0.02	0.09 \pm 0.02	ns
Quercetina pentosil hexósido	10.44 \pm 0.55	1.51 \pm 0.20	<0.001	10.78 \pm 0.99	9.90 \pm 1.20	10.64 \pm 0.99	ns	1.51 \pm 0.31	1.97 \pm 0.41	1.04 \pm 0.13	ns
Quercetina-3-O-rutinosido	8.04 \pm 0.83	0.57 \pm 0.05	<0.001	9.76 \pm 1.84	7.50 \pm 1.33	6.86 \pm 0.91	ns	0.58 \pm 0.04 ab	0.71 \pm 0.07 a	0.43 \pm 0.07 b	0.050
Quercetina hexosil-ramósido	0.60 \pm 0.05	nd	-	0.61 \pm 0.04	0.65 \pm 0.16	0.55 \pm 0.04	ns	nd	nd	nd	-
Quercetina ramnosil-hexósido	1.16 \pm 0.39	1.61 \pm 0.27	ns	0.92 \pm 0.36	0.71 \pm 0.08	1.85 \pm 1.16	ns	1.59 \pm 0.35	2.11 \pm 0.65	1.14 \pm 0.33	ns
Quercetina acetyl rutinosido	0.77 \pm 0.35	0.54 \pm 0.10	ns	0.58 \pm 0.34	0.39 \pm 0.11	1.33 \pm 1.04	ns	0.57 \pm 0.14	0.73 \pm 0.24	0.32 \pm 0.08	ns
Isohammetina-3-O-rutinosido	0.12 \pm 0.02	nd	-	0.15 \pm 0.04	0.13 \pm 0.04	0.08 \pm 0.02	ns	nd	nd	nd	-
Suma de Quercetinas (mg 100 g ⁻¹ DW)	57.03 \pm 4.68	6.34 \pm 0.67	<0.001	65.78 \pm 10.76	52.26 \pm 6.63	53.06 \pm 6.76	ns	6.58 \pm 1.24	7.81 \pm 0.97	4.62 \pm 0.61	ns
Suma de Kaempferoles (mg 100 g ⁻¹ DW)	11.43 \pm 0.95	0.24 \pm 0.03	<0.001	12.79 \pm 2.51	10.91 \pm 1.47	10.59 \pm 0.94	ns	0.22 \pm 0.05	0.32 \pm 0.03	0.16 \pm 0.03	0.057
Suma quercetinas/suma kaempferoles (µM of Trolox Eq. g ⁻¹ DW)	5.02 \pm 0.20	28.20 \pm 2.13	<0.001	4.55 \pm 0.28	4.84 \pm 0.40	5.01 \pm 0.44	ns	31.55 \pm 3.98	24.39 \pm 3.24	28.65 \pm 3.88	ns
Flavonoles (mg 100 g ⁻¹ DW)	1.41 \pm 0.11	7.38 \pm 0.52	<0.001	1.30 \pm 0.14	1.33 \pm 0.09	1.59 \pm 0.32	ns	7.12 \pm 1.07	7.89 \pm 0.98	7.12 \pm 0.95	ns
Apigénina pentósido	113.36 \pm 10.40	-	-	124.80 \pm 17.77	107.42 \pm 14.64	107.88 \pm 25.87	ns	nd	nd	nd	-
Antocianos (mg 100 g ⁻¹ DW)	27.77 \pm 3.69	nd	-	31.10 \pm 5.51	22.69 \pm 1.67	29.52 \pm 10.49	ns	nd	nd	nd	-
Cianidina-3-O-glucósido	39.13 \pm 2.35	nd	-	41.61 \pm 1.07	35.17 \pm 1.30	40.60 \pm 7.15	ns	nd	nd	nd	-
Cianidina-3-O-rutinosido	11.14 \pm 2.16	nd	-	13.14 \pm 4.82	10.55 \pm 3.62	9.75 \pm 4.05	ns	nd	nd	nd	-
Peonidina-3-O-glucósido	35.32 \pm 4.29	nd	-	38.95 \pm 6.45	39.02 \pm 9.99	28.00 \pm 6.31	ns	nd	nd	nd	-
Peonidina-3-O-rutinosido	405.55 \pm 17.86	807.28 \pm 53.00	<0.001	435.91 \pm 23.10	406.72 \pm 34.01	374.02 \pm 34.31	ns	821.94 \pm 44.39	869.21 \pm 67.57	730.71 \pm 149.05	ns
Fenoles Totales (mg 100 g ⁻¹ DW)	10.86 \pm 0.57	23.71 \pm 2.31	<0.001	11.26 \pm 1.05	11.32 \pm 0.49	10.00 \pm 1.41	ns	22.67 \pm 2.82	26.94 \pm 1.62	21.51 \pm 6.72	ns
Actividad Antioxidante (µM of Trolox Eq. g ⁻¹ DW)											

UAC, compuestos absorbentes de la radiación UV, ns: no significativo, nd: no detectado

3.6 Relación entre el contenido de fenoles, UACs y la actividad antioxidante de la piel y la pulpa de los frutos de *P. spinosa*.

Al estudiar la relación entre el contenido total de los distintos grupos de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de piel y pulpa (Tabla 3.4), se encontró una correlación positiva entre el total de ácidos hidroxicinámicos (Tac) de la piel y los compuestos absorbentes de la radiación UV (UAC_{UV-A} y UAC_{UV-B}) de la pulpa. A su vez, el Tac de la pulpa también se correlacionó positivamente con los UAC_{UV-B} de la piel. El Tac de piel y pulpa mostró una correlación positiva, mientras que el Tac de la pulpa también se correlacionó negativamente con el total de flavonoles y la suma de quercetinas de la piel. Por último, la actividad antioxidante de la pulpa se correlacionó positivamente con la de la piel (Tabla 3.4).

Tabla 3.4 Coeficiente de correlación de Pearson (n = 9) entre los compuestos absorbentes de la radiación UV (UAC), distintos grupos de fenoles y la actividad antioxidante de la piel y de la pulpa de los frutos de *P. spinosa*, utilizando los datos para las tres condiciones de radiación UV. (** $p < 0.01$, * $p < 0.05$, ns: no significativo)

		Pulpa						
		UAC _{UV-B}	UAC _{UV-A}	Tac	Tflav	SQue	SKae	Act.Antiox
Piel	UAC _{UV-B}	ns	ns	0.734*	ns	ns	ns	ns
	UAC _{UV-A}	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Tac	0.708*	0.758*	0.939**	ns	ns	ns	ns
	Tflav	ns	ns	-0.678*	ns	ns	ns	ns
	Tan	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	SQue	ns	ns	-0.698*	ns	ns	ns	ns
	SKae	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	ActAntiox	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0.750*

UAC: Compuestos absorbentes de la radiación UV, Tac: Total ácidos hidroxicinámicos, Tflav: Total flavonoles, Tan: total antocianos, Sque: suma de quercetinas, Ske: suma de kaempferoles, ActAntiox: actividad antioxidante.

3.7 Relación entre el contenido en fenoles, UACs y la actividad antioxidante de los frutos de *P. spinosa* madurados bajo las diferentes condiciones de radiación UV.

La actividad antioxidante de piel y pulpa de los frutos de *P. spinosa* que maduraron sin radiación UV no se correlacionó con el contenido en UACs, ni con el contenido de ninguno de los grupos de compuestos fenólicos descritos. En cambio, la

actividad antioxidante de los frutos que recibieron radiación UV-A o radiación UV ambiental (UVBA) se correlacionó positivamente con el contenido en UAC_{UV-B} y en ácidos hidroxicinámicos, y, negativamente, con el contenido de flavonoles, antocianos, quercetinas y kaempferoles (Tabla 3.5).

Tabla 3.5.- Coeficiente de correlación de Pearson (n = 6, excepto para el total de antocianos en que n = 3) entre los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de los frutos de *P. spinosa* considerando los datos obtenidos para la piel y la pulpa. (** $p < 0.01$, * $p < 0.05$, ns: no significativo)

Compuestos fenólicos	Actividad antioxidante		
	UV0	UVA	UVBA
UAC_{UV-B}	ns	0.958**	0.959**
UAC_{UV-A}	ns	ns	ns
Total ácidos hidroxicinámicos	ns	0.920**	0.923**
Total flavonoles	ns	-0.950**	-0.892*
Total antocianos	ns	-0.956**	-0.883*
Sque	ns	-0.942**	-0.894*
Ske	ns	-0.955**	-0.869*

UAC: Compuestos absorbentes de la radiación UV, Sque: suma de quercetinas, Ske: suma de kaempferoles. (UVBA: radiación UV ambiental, UVA: exclusión de la radiación UV-B, UV0: exclusión de la radiación UV)

Estudio del proceso de descomposición de la hojarasca de *Arbutus unedo* y *Phillyrea angustifolia* bajo diferentes niveles de radiación UV y precipitación.

3.8 Descomposición de la hojarasca de *A. unedo* y *P. angustifolia* procedente de plantas que crecieron bajo diferentes niveles de radiación UV y precipitación (hojarasca pretratada)

3.8.1 Calidad de la hojarasca pretratada

Diferencias entre especies

Los porcentajes de fibra, celulosa y lignina de la hojarasca de *A. unedo* fueron un 56 %, 45 % y 43 %, respectivamente, superiores a los de *P. angustifolia*, además, la hojarasca de *A. unedo* presentó un contenido inferior de C y N, un 2 % y 21 %, respectivamente, y valores superiores de C:N que la de *P. angustifolia* (Tabla 3.6). En relación al factor tiempo, en *A. unedo* y *P. angustifolia* el porcentaje de fibra, lignina y celulosa fue superior al finalizar el proceso de descomposición que, al inicio, aunque disminuyó el contenido de C (Tabla 3.6). En la hojarasca de *A. unedo*, también disminuyó el contenido de N y aumentó la relación C:N al finalizar el estudio a los 347 días.

Efecto de los tratamientos de radiación UV y/o precipitación

Los tratamientos de radiación UV y precipitación no afectaron el contenido de fibra, celulosa o de lignina de la hojarasca de *A. unedo*, pero sí que afectaron al contenido de C, N y la relación C:N. Así, al inicio del experimento y bajo precipitación natural, el mayor contenido de C se midió en las hojas senescentes que habían crecido sin radiación UV, y disminuyó gradualmente al someterse a UVA y UVBA (Tabla 3.7A).

Tabla 3.6 Parámetros de calidad (media \pm S.E, n = 18) de la hojarasca pretratada de *A. unedo* y *P. angustifolia*, al inicio y al final del proceso de descomposición. La columna p-valor (*p*) indica los valores de significación obtenidos en los análisis estadísticos aplicados para valorar el efecto especie (ANOVAs de 4-factores) y el efecto tiempo para cada especie (ANOVAs de 3 factores) (ns = no significativo).

Parámetro	Efecto especie <i>P. angustifolia</i>		Efecto tiempo para <i>A. unedo</i>		Efecto tiempo para <i>P. angustifolia</i>	
	<i>A. unedo</i>	<i>p</i>	0	347	0	347
Fibra (%)	53.79 \pm 1.22	<0.001	48.12 \pm 1.25	59.46 \pm 0.88	30.33 \pm 0.64	38.79 \pm 0.88
Celulosa (%)	26.35 \pm 0.99	<0.001	21.16 \pm 0.75	31.54 \pm 0.57	15.33 \pm 0.42	21.11 \pm 0.67
Lignina (%)	25.09 \pm 0.86	<0.001	20.74 \pm 0.77	29.45 \pm 0.45	14.58 \pm 0.39	20.40 \pm 0.50
C (mg/g AFDW)	522.57 \pm 2.24	<0.001	534.32 \pm 1.94	510.82 \pm 0.83	541.87 \pm 1.27	525.21 \pm 2.25
N (mg/g AFDW)	5.78 \pm 0.16	<0.001	6.12 \pm 0.22	5.44 \pm 0.22	7.53 \pm 0.15	7.17 \pm 0.19
Relación C:N	92.65 \pm 2.31	<0.001	89.18 \pm 3.01	96.11 \pm 3.38	72.49 \pm 1.64	74.06 \pm 1.96

Tabla 3.7 Parámetros de calidad (media \pm S.E, n = 12 para radiación UV y n = 18 para precipitación) medidos en la hojarasca pretratada de *A. unedo* y *P. angustifolia* sometida a los distintos pretratamientos de radiación UV y/o precipitación. La columna p-valor (*p*) indica los valores de significación obtenidos en los análisis estadísticos (ANOVAs de 3 factores). La columna Interacción indica las interacciones significativas entre los tres factores estudiados (tiempo, radiación UV y precipitación). Diferentes letras indican diferencias significativas entre los niveles del tratamiento de radiación UV (ns = no significativo).

Especie	Parámetro	Radiación UV (UV)			Precipitación (P)			Interacción
		UVBA	UV0	UV1	W	D	<i>p</i>	
<i>A. unedo</i>	Fibra (%)	52.19 \pm 1.85	54.74 \pm 1.93	54.44 \pm 2.58	55.25 \pm 1.55	52.33 \pm 1.86	ns	ns
	Celulosa (%)	25.99 \pm 1.82	25.95 \pm 1.70	27.12 \pm 1.76	26.75 \pm 1.33	25.95 \pm 1.51	ns	ns
	Lignina (%)	25.35 \pm 1.65	24.79 \pm 1.46	25.13 \pm 1.47	25.67 \pm 1.14	24.52 \pm 1.30	ns	ns
	C (mg/g AFDW)	518.69 \pm 3.39 c	522.68 \pm 3.64 b	526.33 \pm 4.54 a	521.56 \pm 3.29	523.58 \pm 3.13	ns	T*UV*P
	N (mg/g AFDW)	5.88 \pm 0.25 a	5.29 \pm 0.16 b	6.17 \pm 0.36 a	5.67 \pm 0.20	5.89 \pm 0.27	ns	UV*P
	Relación C:N	90.01 \pm 3.88 b	99.60 \pm 2.480 a	88.33 \pm 4.78 b	93.88 \pm 3.14	91.42 \pm 3.45	ns	UV*P
<i>P. angustifolia</i>	Fibra (%)	32.80 \pm 1.27b	34.80 \pm 1.62ab	36.09 \pm 1.70a	34.81 \pm 1.47	34.31 \pm 1.06	ns	T*UV*P
	Celulosa (%)	17.37 \pm 0.59b	17.33 \pm 1.12b	19.95 \pm 1.31a	18.37 \pm 0.91	18.06 \pm 0.88	ns	T*UV
	Lignina (%)	17.11 \pm 0.85ab	16.66 \pm 1.02b	18.70 \pm 1.12a	17.66 \pm 0.80	17.32 \pm 0.86	ns	ns
	C (mg/g AFDW)	529.39 \pm 2.33 b	536.11 \pm 3.93 a	535.12 \pm 3.34 ab	536.77 \pm 2.62	530.31 \pm 2.60	0.003	T*UV
	N (mg/g AFDW)	7.40 \pm 0.19 ab	6.95 \pm 0.10 b	7.71 \pm 0.26 a	7.51 \pm 0.16	7.20 \pm 0.18	ns	T*UV
	Relación C:N	72.04 \pm 1.82 ab	77.43 \pm 1.56 a	70.35 \pm 2.65 b	72.17 \pm 1.81	74.38 \pm 1.78	ns	T*UV

Además, el contenido de C de la hojarasca de *A. unedo* de las parcelas UVA y UVBA fue mayor en las parcelas en que se redujo el aporte de agua de lluvia, ocurriendo lo contrario en la hojarasca de las plantas crecidas sin radiación UV (Figura 3.7A). Por otro lado, el contenido de N y la relación C:N de la hojarasca de *A. unedo* también fue sensible a los tratamientos, y a su interacción, pero en este caso los resultados no dependieron del tiempo (Tabla 3.7).

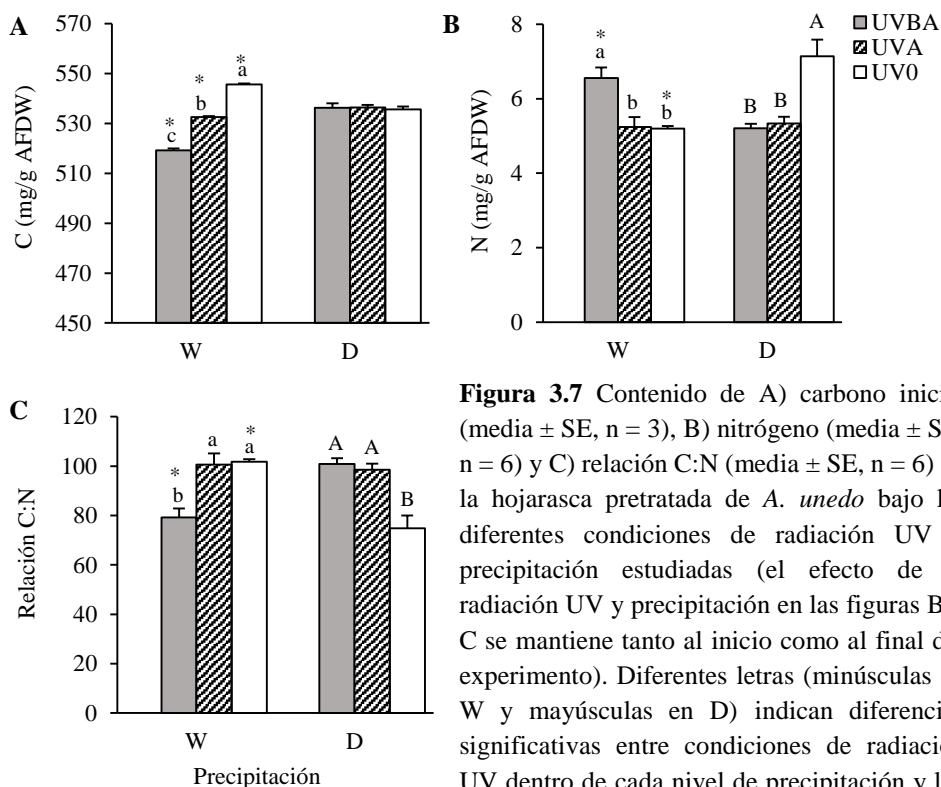


Figura 3.7 Contenido de A) carbono inicial (media \pm SE, n = 3), B) nitrógeno (media \pm SE, n = 6) y C) relación C:N (media \pm SE, n = 6) de la hojarasca pretratada de *A. unedo* bajo las diferentes condiciones de radiación UV y precipitación estudiadas (el efecto de la radiación UV y precipitación en las figuras B y C se mantiene tanto al inicio como al final del experimento). Diferentes letras (minúsculas en W y mayúsculas en D) indican diferencias significativas entre condiciones de radiación UV dentro de cada nivel de precipitación y los asteriscos (*) indican diferencias significativas entre los niveles de precipitación dentro de cada nivel de radiación UV. (UVBA: radiación UV ambiental, UVA: exclusión de la radiación UV-B, UV0: exclusión de la radiación UV; W: precipitación natural, D: reducción de la precipitación)

Así, en condiciones de precipitación natural, el mayor contenido de N y la menor relación C:N se encontró en la hojarasca de *A. unedo* perteneciente a plantas que habían crecido expuestas a toda la radiación (UVBA). En cambio, en

condiciones más secas, el mayor contenido de N y la menor relación C:N se encontró en la hojarasca proveniente de plantas que habían crecido en ausencia de radiación UV (UV0) (Figura 3.7B, C).

En *P. angustifolia*, la hojarasca de las plantas crecidas sólo bajo radiación UV-A mostró un mayor contenido inicial de C que la de las parcelas UVBA, mientras que la hojarasca de las parcelas UV0 mostró valores intermedios (Figura 3.8A). En cambio, también solo al inicio del experimento, la concentración de N fue menor y la relación C:N mayor para la hojarasca de las parcelas UVA que para la de las parcelas UVBA y UV0 (Figura 3.8B, C).

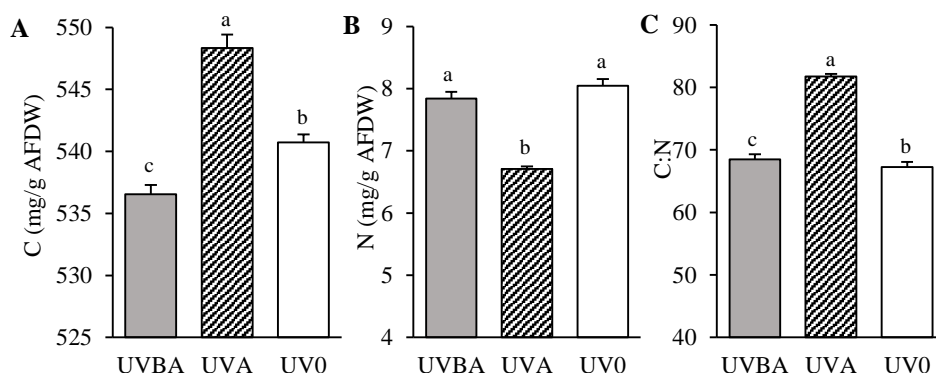


Figura 3.8 Contenido (media \pm SE, n= 3) de A) contenido de C de, B) contenido de N y C) relación C:N de la hojarasca al inicio del proceso de descomposición en *P. angustifolia*, bajo las diferentes condiciones de radiación UV estudiadas. Diferentes letras (minúsculas en W y mayúsculas en D) indican diferencias significativas entre condiciones de radiación UV. Condiciones de radiación UV (UVBA: radiación UV ambiental, UVA: exclusión de la radiación UV-B, UV0: exclusión de la radiación UV)

En *P. angustifolia*, a diferencia de *A. unedo*, el tratamiento de radiación UV modificó el contenido de fibra de la hojarasca, pero este efecto varió en función del nivel de precipitación y del tiempo (Tabla 3.7). Así, a los 347 días, la hojarasca que recibió toda el agua de lluvia presentó un 3.8% menos de fibra al descomponerse con radiación UV ambiental que sin radiación UV (Figura 3.9A). Este efecto también se observó bajo condiciones de precipitación reducida, pero en este caso, la hojarasca de las parcelas UVBA también tuvo un contenido menor de

fibra que la de las parcelas UV0 y UV-A, indicando un efecto específico de la radiación UV-B. También se observó que el contenido de fibra de la hojarasca de las parcelas UV0 fue superior cuando recibió toda la precipitación natural (Figura 3.9A).

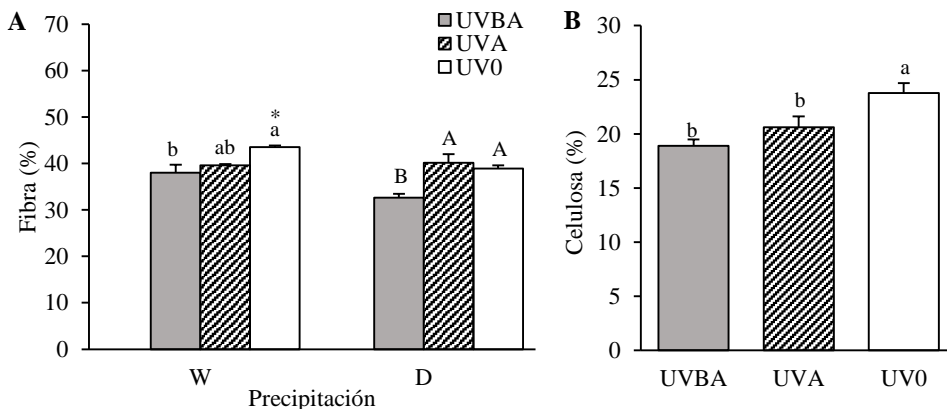


Figura 3.9 Contenido de A) fibra (media \pm SE, n= 3) bajo los diferentes niveles de radiación UV y precipitación y, B) celulosa (media \pm SE, n= 6) bajo los diferentes niveles de radiación UV de la hojarasca pretratada de *P. angustifolia* a los 347 días de descomposición, de acuerdo a la interacción de factores mostrada en la tabla 3.7. Diferentes letras indican diferencias significativas entre condiciones de radiación UV dentro de cada nivel de precipitación, y los asteriscos (*) indican diferencias significativas entre los niveles de precipitación dentro de cada nivel de radiación UV. (UVBA: radiación UV ambiental, UVA: exclusión de la radiación UV-B, UV0: exclusión de la radiación UV, W: precipitación natural, D: reducción de la precipitación)

En *P. angustifolia*, el contenido de celulosa y lignina de la hojarasca también fue sensible a los tratamientos (Tabla 3.7). El contenido de celulosa, al igual que el contenido de fibra, solo fue distinto entre los niveles de radiación UV al finalizar el experimento. Así, la hojarasca de las parcelas UVBA y UVA tuvo menos celulosa que la de las parcelas sin radiación UV, estos resultados fueron independientes de la precipitación, e indican un efecto de la radiación UV-A (Figura 3.9B). En cuanto a la lignina, independientemente del tiempo y de la precipitación, la hojarasca de las parcelas UVA tuvo valores un 11% inferiores que la de las parcelas sin radiación UV, no diferenciándose de éstas la hojarasca de las parcelas UVBA (Tabla 3.7).

3.8.2 Dinámica de la comunidad microbiana en la hojarasca pretratada

Al inicio del proceso de descomposición no se detectaron diferencias significativas en la biomasa de bacterias de la hojarasca de las dos especies. En cambio, la biomasa de hongos en *P. angustifolia* fue casi el doble de la de *A. unedo*. La hojarasca de *P. angustifolia* también presentó mayor actividad enzimática extracelular (aproximadamente, el triple de actividad β -Glucosidasa (β G), el doble de actividad celobiohidrolasa (CBH) y unas diez veces más de actividad fenol-oxidasa (POX)) que *A. unedo* (Tabla 3.8).

Tabla 3.8 Biomasa microbiana y actividad enzimática extracelular inicial (media \pm S.E, n = 18) de β -glucosidasa (β G), celobiohidrolasa (CBH) y fenol-oxidasa (POX) en la hojarasca pretratada de *A. unedo* y *P. angustifolia*. La columna p-valor (*p*) indica los valores de significación obtenidos en los análisis estadísticos (ANOVAs) (ns = no significativo).

Parámetro	Especie		
	<i>A. unedo</i>	<i>P. angustifolia</i>	<i>p</i>
Biomasa fúngica (mg C/g AFDW)	0.23 \pm 0.04	0.45 \pm 0.07	0.010
Biomasa bacteriana (mg C/g AFDW)	1.91 \pm 0.12	1.74 \pm 0.12	ns
β G (μ mol MUF/g AFDW*h)	2.44 \pm 0.30	6.13 \pm 0.68	<0.001
CBH (μ mol MUF/g AFDW*h)	0.27 \pm 0.01	0.44 \pm 0.02	<0.001
POX (μ mol DIQC/g AFDW*h)	0.25 \pm 0.09	2.48 \pm 0.38	<0.001

Los tratamientos de radiación UV y precipitación afectaron la biomasa fúngica y bacteriana en diferentes momentos del proceso de descomposición de la hojarasca de *A. unedo*, lo cual explicaría las interacciones significativas obtenidas entre los distintos factores, aunque, no afectaron el nivel de actividad de las enzimas analizados para esta especie (Tabla 3.9). En cambio, en *P. angustifolia*, los tratamientos de radiación UV y precipitación afectaron prácticamente todos los parámetros analizados a lo largo del proceso de descomposición (Tabla 3.9).

Tabla 3.9 Efecto de la radiación UV, la precipitación, el tiempo de muestreo y sus interacciones sobre la biomasa microbiana y la actividad enzimática extracelular de la comunidad microbiana de la hojarasca de *A. unedo* y *P. angustifolia*. Cuando el efecto es significativo, se muestran los p-valores obtenidos en las ANOVAs trifactoriales aplicadas para cada especie (β G, β -glucosidasa; CBH, celobiohidrolasa; POX, fenol-oxidasa; ns = no significativo).

Especie	Parámetro	Radiación UV (UV)	Precipitación (P)	Tiempo de muestreo (T)	Interacción
<i>A. unedo</i>	Biomasa fúngica (mg C/g AFDW)	ns	ns	0.015	UV*P*T
	Biomasa bacteriana (mg C/g AFDW)	ns	ns	<0.001	UV*T; P*T
	β G (μ mol MUF/g AFDW*h)	ns	ns	<0.001	
	CBH (μ mol MUF/g AFDW*h)	ns	ns	0.016	
	POX (μ mol DIQC/g AFDW*h)	ns	ns	ns	
<i>P. angustifolia</i>	Biomasa fúngica (mg C/g AFDW)	0.001	ns	<0.001	UV*P
	Biomasa bacteriana (mg C/g AFDW)	0.042	<0.001	<0.001	UV* T; P*T UV*P*T
	β G (μ mol MUF/g AFDW*h)	ns	0.007	<0.001	UV*T; P* T UV*P*T
	CBH (μ mol MUF/g AFDW*h)	ns	ns	<0.001	-
	POX (μ mol DIQC/g AFDW*h)	<0.001	ns	<0.001	UV*P; UV*T; P*T; UV*P*T

En la hojarasca pretratada de *A. unedo*, la biomasa de hongos tendió, en global, a incrementar a medida que avanzaba el proceso de descomposición, siendo el valor promedio al inicio de 0.23 mg C/g AFDW y a los 347 días de 0.92 mg C/g AFDW. No obstante, el efecto de los tratamientos varió a lo largo de los distintos días de muestreo (Figura 3.10), lo cual explicaría la triple interacción encontrada (Tabla 3.9). Así, a los 33 días de iniciar el experimento, en las parcelas que recibieron toda el agua de lluvia, la biomasa de hongos fue superior en la hojarasca de *A. unedo* de las parcelas UV0 que en la de las parcelas UVA y UVBA, mientras que, a los 237 días, la hojarasca de las parcelas UVA fue la que mostró un menor contenido de hongos (Figura 3.10A).

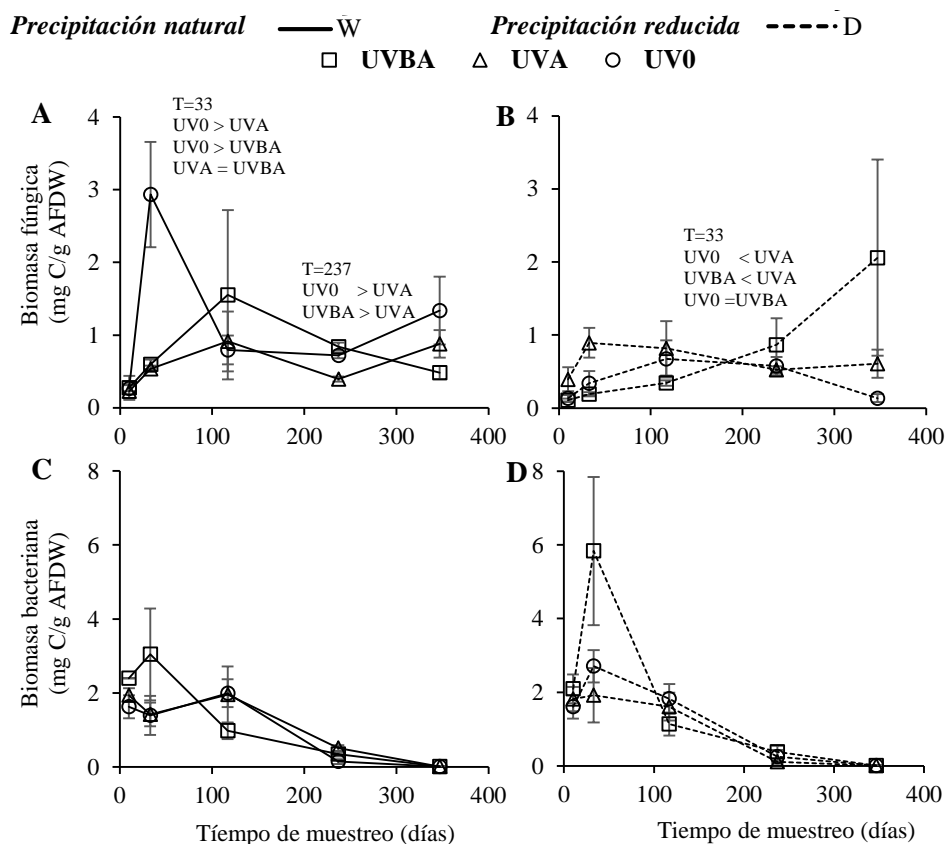


Figura 3.10.- Biomasa fúngica (A, B) y bacteriana (C, D) en la hojarasca pretratada de *A. unedo* durante el proceso de descomposición considerando los diferentes niveles de radiación UV (UVBA: radiación UV ambiental, UVA: exclusión de la radiación UV-B, UV0: exclusión de la radiación UV) y para cada nivel de precipitación (Izquierda: precipitación natural (W), derecha: precipitación reducida (D)).

En las parcelas que recibieron menos agua de lluvia, a los 33 días, la hojarasca expuesta a la radiación UVA mostró, en cambio, la mayor cantidad de biomasa fúngica (Figura 3.10B). También a los 33 días, la hojarasca de las parcelas UV0 y UVBA tuvo mayor biomasa fúngica bajo condiciones de precipitación natural que bajo condiciones más secas. En relación a la biomasa bacteriana de la hojarasca de *A. unedo*, ésta fue superior a la de hongos al inicio del proceso de descomposición, pero, conforme avanzó el tiempo, fue disminuyendo, llegando a valores cercanos a 0.01 mg C/g AFDW a los 347 días (Figura 3.10). No obstante, a los 33 días, independientemente del tratamiento de precipitación, la biomasa de

bacterias incrementó en la hojarasca de las parcelas UVBA en relación a las de UVA, aunque este incremento fue solo marginalmente significativo (Figura 3.10C, D).

En cuanto a la actividad de las enzimas analizadas en la hojarasca de *A. unedo*, es notable que no se viera afectada por los tratamientos de radiación UV y/o precipitación aplicados. Solo se detectaron cambios en la actividad β -glucosidasa y celobiohidrolasa a lo largo del proceso de descomposición (Tabla 3.9). Específicamente, la actividad β -glucosidasa de la hojarasca de *A. unedo* disminuyó de 2.44 ± 0.30 hasta 0.71 ± 0.09 $\mu\text{mol MUF/g AFDW}^*\text{h}$ durante el proceso de descomposición, mientras que la actividad de la celobiohidrolasa, incrementó ligeramente de $0,27 \pm 0.01$ a 0.44 ± 0.09 $\mu\text{mol MUF/g AFDW}^*\text{h}$.

En el caso de la hojarasca de *P. angustifolia*, en global, la colonización fúngica incrementó durante el proceso de descomposición desde 0.44 mg C/g AFDW al inicio hasta 3.38 mg C/g AFDW después de 347 días (Tabla 3.9, Figura 3.11A, B). Por otro lado, al analizar la interacción entre los tratamientos de radiación UV y precipitación (Tabla 3.9), se obtuvo que, en general, en condiciones de precipitación natural, la hojarasca de *P. angustifolia* de las parcelas UVA y UV0 tenía una colonización fúngica mayor que la de las parcelas UVBA. Además, la hojarasca que se descompuso bajo el tratamiento de exclusión de radiación UV (UV0) tuvo 67% menos de biomasa fúngica cuando se descomponía en las parcelas con precipitación reducida que en las parcelas con precipitación natural (Figura 3.11 A, B). La biomasa bacteriana, por otro lado, disminuyó progresivamente mientras avanzó el proceso de descomposición de la hojarasca de *P. angustifolia*, presentando al finalizar el estudio valores cercanos a cero. No obstante, al inicio, una menor aportación de agua de lluvia favoreció la colonización bacteriana. Con el transcurso del tiempo, la diferencia en la biomasa bacteriana entre las condiciones de precipitación desapareció, si bien, a los 117 días aún se observó dicha diferencia en la hojarasca de las parcelas UVBA (Fig. 3.11C, D).

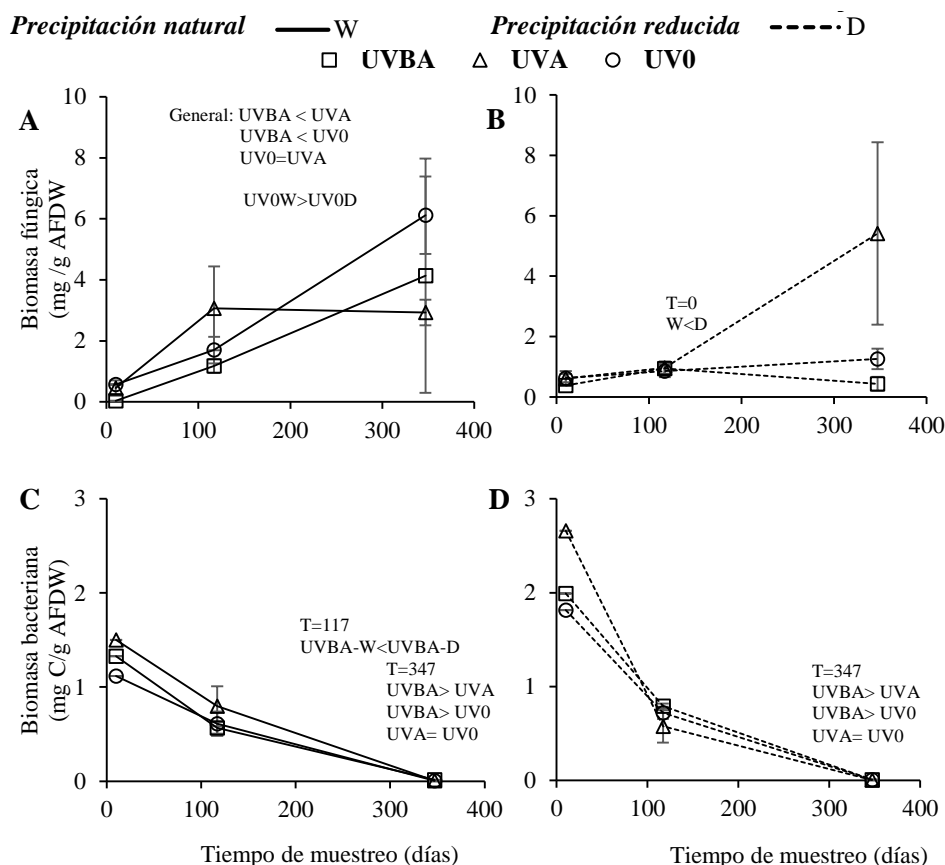


Figura 3.11 Biomasa fúngica (A, B) y bacteriana (C, D) en la hojarasca pretratada de *P. angustifolia* durante el proceso de descomposición considerando los diferentes niveles de radiación (UVBA: radiación UV ambiental, UVA: exclusión de la radiación UV-B, UV0: exclusión de la radiación UV) y para cada nivel de precipitación (Izquierda: precipitación natural (W), derecha: precipitación reducida (D)).

En general, la actividad β -glucosidasa en la hojarasca de *P. angustifolia* incrementó durante el proceso de descomposición, aunque en las parcelas bajo precipitación reducida solo aumentó en la hojarasca que recibió radiación UVA (Figura 3.12B). Además, puntualmente, al inicio de la descomposición, la actividad β -glucosidasa de la hojarasca de las parcelas UV0 fue inferior a la de las parcelas UVA bajo precipitación natural y a la de las parcelas UVBA bajo precipitación reducida (Figura 3.12A, B).

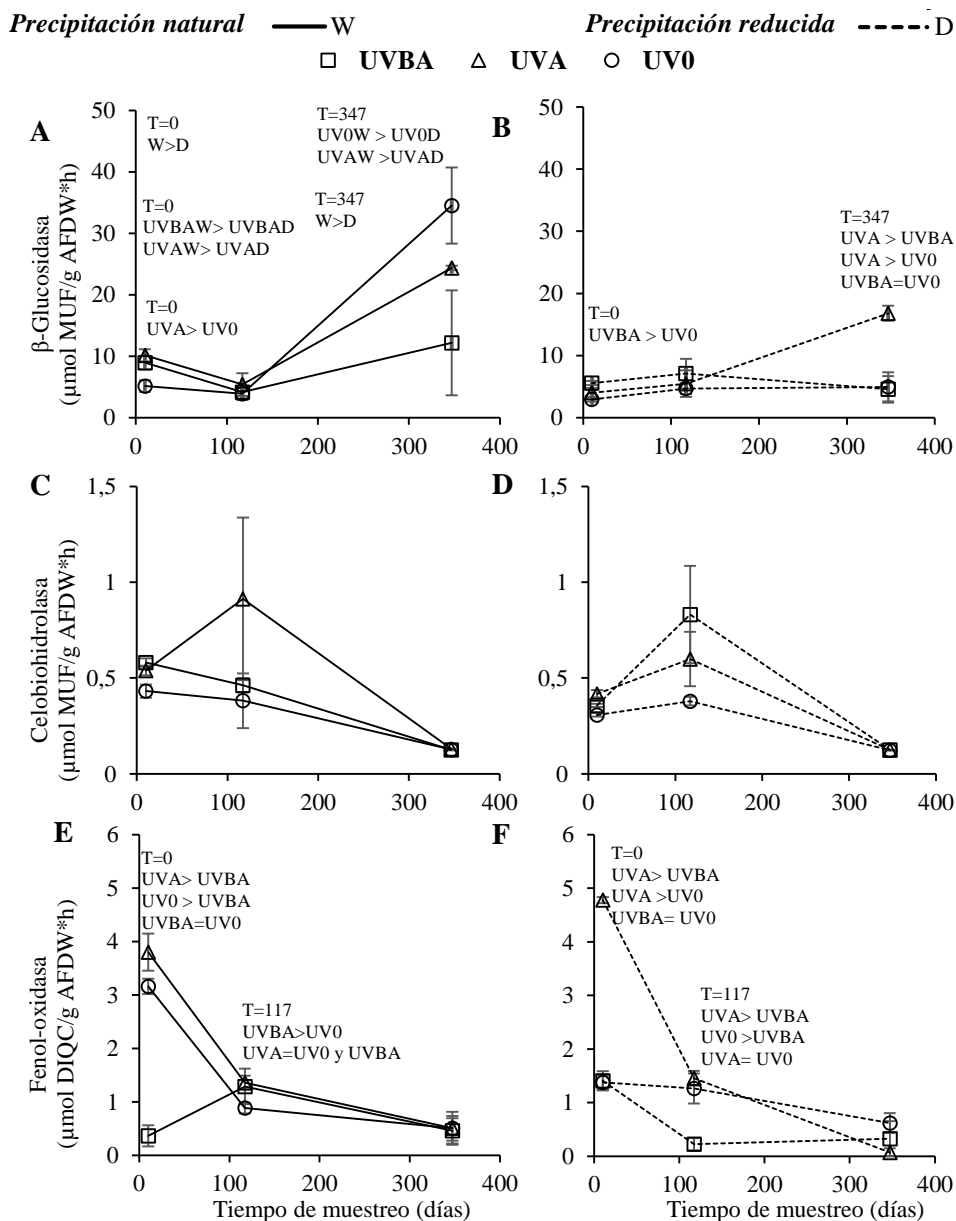


Figura 3.12 Actividad enzimática extracelular durante el proceso de descomposición de la hojarasca pretratada de *P. angustifolia* bajo los diferentes tratamientos de radiación UV (UVBA: radiación UV ambiental, UVA: exclusión de la radiación UV-B, UV0: exclusión de la radiación UV) dentro de cada nivel de precipitación (Izquierda: precipitación natural (W), derecha precipitación reducida (D)).

En relación al efecto del tratamiento de precipitación, tanto al inicio como al final del experimento, la actividad de la β -glucosidasa fue superior en la hojarasca de *P. angustifolia* de las parcelas sometidas a precipitación natural en comparación con las de precipitación reducida. Esto fue así especialmente para las parcelas UBVA y UVA al inicio, y UV0 y UVA al final (Figura 3.12A, B).

La actividad de las enzimas celobiohidrolasa y fenol-oxidasa, a diferencia de la β -glucosidasa, fue menor, en general, al final del proceso de descomposición de la hojarasca de *P. angustifolia* (Figura 3.12C-F). Solo la actividad fenol-oxidasa fue sensible a los tratamientos aplicados. Al inicio del estudio, la actividad fenol-oxidasa fue inferior en la hojarasca de las parcelas con radiación UV ambiental que en la de las parcelas con UVA, independientemente de la precipitación (Figura 3.12E, F). En cambio, también al inicio, la actividad fenol-oxidasa de la hojarasca de las parcelas UV0 varió según la disponibilidad hídrica, siendo ésta superior a la de la hojarasca de las parcelas UVBA en condiciones de precipitación natural e inferior a la de la hojarasca de las parcelas UVA bajo precipitación reducida (Figura 3.12E, F).

Al analizar las correlaciones entre la biomasa microbiana y la actividad enzimática, la biomasa fúngica de la hojarasca de *A. unedo* se correlacionó positivamente con la actividad enzimática de la celobiohidrolasa (Tabla 3.10). En cambio, la biomasa fúngica de la hojarasca de *P. angustifolia* se correlacionó positivamente con la actividad de la β -glucosidasa, mientras que su biomasa bacteriana se correlacionó, también positivamente, con la actividad de la fenol-oxidasa (Tabla 3.10).

Tabla 3.10 Valores del coeficiente de correlación de Pearson entre la biomasa microbiana y la actividad enzimática extracelular de la hojarasca pretratada de *A. unedo* (n=90) y de *P. angustifolia* (n=54) durante el proceso de descomposición. (β G: β -glucosidasa, CBH: celobiohidrolasa, POX: fenol-oxidasa) (ns = no significativo). ** p < 0.01

Parámetro	<i>A. unedo</i>		<i>P. angustifolia</i>	
	Biomasa fúngica	Biomasa bacteriana	Biomasa fúngica	Biomasa bacteriana
β G (μ mol MUF/g AFDW*h)	ns	ns	0.538**	ns
CBH (μ mol MUF/g AFDW*h),	0.468**	ns	ns	ns
POX (μ mol DIQC/g AFDW*h),	ns	ns	ns	0.639**

3.8.3 Peso seco libre de cenizas (AFDW) remanente y constante de descomposición (k) de la hojarasca pretratada

La materia orgánica o AFDW remanente y la constante de descomposición de la hojarasca de *A. unedo* y *P. angustifolia* mostraron respuestas distintas a los tratamientos de radiación UV y/o precipitación (Tabla 3.11). En *A. unedo*, el AFDW remanente incrementó en los primeros muestreos y después disminuyó hasta llegar al 97% al finalizar el estudio (a los 347 días) (Figura 3.13A, B). Además, la pérdida de peso difirió en la hojarasca de las parcelas UVBA según el nivel de precipitación recibido, perdiendo más materia orgánica la hojarasca bajo precipitación natural (Figura 3.13A, B). En *P. angustifolia*, la pérdida de peso fue superior que en *A. unedo* (Figura 3.13), llegando a tener al finalizar el estudio, un 89%, en promedio, de AFDW remanente (Figura 3.13C, D). No obstante, esta reducción fue superior bajo precipitación natural que, con precipitación reducida, alcanzando valores a los 347 días de 86% y 93%, respectivamente (Figura 3.13C, D), lo cual podría explicar la interacción significativa entre tiempo de muestreo y precipitación observada en *P. angustifolia* (Tabla 3.11).

Tabla 3.11 Significación (*p*-valor) obtenida en las ANOVAs realizadas para determinar el efecto de la radiación UV, la precipitación, el tiempo de muestreo y sus interacciones sobre el peso seco libre de cenizas (AFDW) remanente y la constante de descomposición (*k*) de la hojarasca pretratada de *A. unedo* y *P. angustifolia* (ns = no significativo).

Especie	Parámetro	Radiación UV (UV)	Precipitación (P)	Tiempo de muestreo (T)	Interacción
<i>A. unedo</i>	AFDW (%)	ns	0.033	<0,001	UV*P
	<i>k</i> (año ⁻¹)	ns	ns	-	ns
<i>P. angustifolia</i>	AFDW (%)	ns	ns	<0,001	P*T
	<i>k</i> (año ⁻¹)	0.046	0.004	-	ns

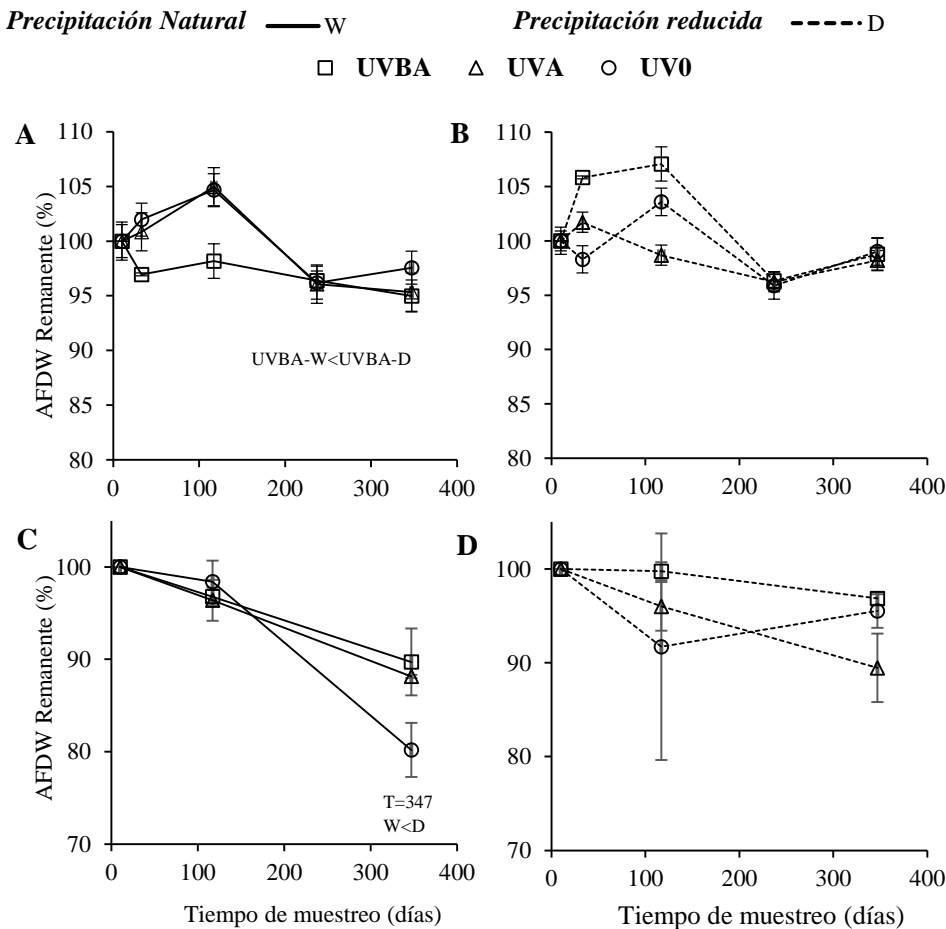


Figura 3.13 Porcentaje de peso seco libre de cenizas (AFDW) remanente de la hojarasca pretratada de *A. unedo* (A y B) y *P. angustifolia* (C y D) durante el proceso de descomposición bajo los diferentes tratamientos de radiación UV en cada nivel de precipitación (UVBA: radiación UV ambiental, UVA: exclusión de la radiación UV-B, UV0: exclusión de la radiación UV; W: precipitación natural, D: reducción de la precipitación).

La constante de descomposición de la hojarasca *A. unedo* no se vio afectada por los tratamientos de radiación UV y/o precipitación (Tabla 3.11, Figura 3.14A). En cambio, la constante de descomposición de la hojarasca de *P. angustifolia*, fue menor para la hojarasca de las parcelas UVBA que para la de las UV0 (Figura 3.14B) y, en general, también fue inferior para la hojarasca de las parcelas con sequía en comparación con la de las que la recibieron toda (Figura 3.14B).

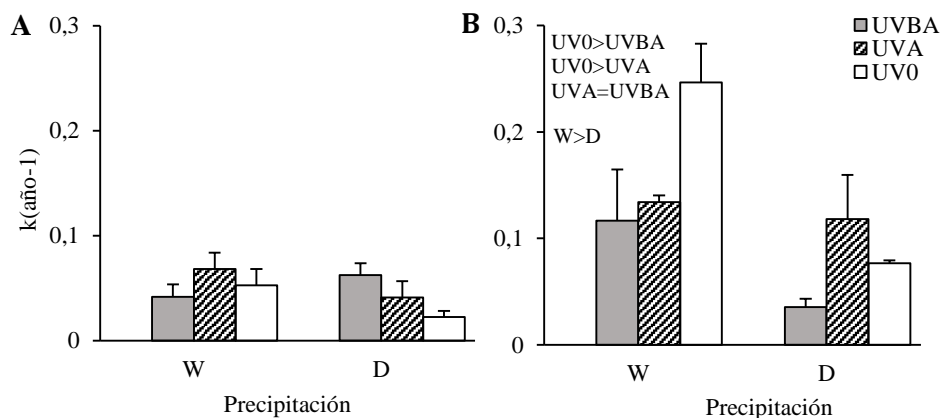


Figura 3.14 Constante de descomposición (media \pm S.E, n = 3) de la hojarasca pretratada de *A. unedo* (A) y *P. angustifolia* (B) bajo el efecto de los tratamientos la radiación UV y de precipitación. (UVBA: radiación UV ambiental, UVA: exclusión de la radiación UV-B, UV0: exclusión de la radiación UV; W: precipitación natural, D: reducción de la precipitación)

3.9 Descomposición de la hojarasca de *A. unedo* y *P. angustifolia* procedente de plantas que crecieron en condiciones naturales (hojarasca natural)

3.9.1 Calidad de la hojarasca natural

La hojarasca de *A. unedo* tuvo más fibra, más celulosa y más lignina que la de *P. angustifolia*, tanto al inicio como al final del proceso de descomposición (Tabla 3.12). Además, la hojarasca de *A. unedo*, al inicio y al finalizar el experimento tuvo menos N, y una relación C:N superior que la de *P. angustifolia*. Al finalizar el tiempo de descomposición, en la hojarasca natural de las dos especies se observó una disminución significativa del contenido de C, independientemente del tratamiento de precipitación (Tabla 3.12).

Tabla 3.12 Parámetros (media \pm S.E, n = 18) de la calidad inicial y final de la hojarasca de *A. unedo* y *P. angustifolia* procedente de las plantas crecidas bajo condiciones naturales. La columna *p* indica el *p*-valor obtenido a partir de las ANOVAs unifactoriales realizadas para evaluar las diferencias entre especies. Los compuestos foliares (fibra, celulosa y lignina) se expresan como porcentaje de peso seco libre de cenizas (AFDW) de la hojarasca (ns: no significativo).

Parámetro	Efecto especie			Efecto tiempo para <i>A. unedo</i>			Efecto tiempo para <i>P. angustifolia</i>		
	<i>A. unedo</i>	<i>P. angustifolia</i>	<i>p</i>	0	347	<i>p</i>	0	347	<i>p</i>
	Fibra (%)	55,62 \pm 1,20	42,45 \pm 0,99	<0,001	49,19 \pm 0,58	62,05 \pm 0,86	<0,001	39,48 \pm 0,18	45,41 \pm 1,73
Celulosa (%)	28,24 \pm 0,95	24,20 \pm 0,96	<0,001	23,47 \pm 0,64	33,01 \pm 0,79	<0,001	20,97 \pm 0,61	27,44 \pm 1,61	<0,001
Lignina (%)	27,72 \pm 0,89	20,60 \pm 1,09	<0,001	23,19 \pm 0,63	32,26 \pm 0,66	<0,001	16,11 \pm 0,50	25,09 \pm 1,60	<0,001
C (mg/g AFDW)	523,62 \pm 1,39	523,59 \pm 2,56	ns	529,36 \pm 0,19	517,87 \pm 2,00	<0,001	531,57 \pm 2,26	515,61 \pm 3,80	0,001
N (mg/g AFDW)	6,43 \pm 0,07	8,29 \pm 0,15	<0,001	6,57 \pm 0,01	6,29 \pm 0,13	ns	8,30 \pm 0,04	8,27 \pm 0,29	ns
Relación C:N	81,72 \pm 0,94	63,91 \pm 1,25	<0,001	80,52 \pm 0,11	82,91 \pm 1,85	ns	64,02 \pm 0,06	63,81 \pm 2,53	ns

Tabla 3.13 Efecto de los tratamientos de radiación UV, precipitación y su interacción sobre los parámetros relacionados con la calidad de la hojarasca natural de las plantas de las dos especies al finalizar el estudio de descomposición (a los 347 días). Se muestra la significación (*p*-valor) obtenida en las ANOVAs de dos factores aplicadas. Los compuestos foliares (fibra, celulosa y lignina) se expresan como porcentaje de peso seco libre de cenizas (AFDW) de la hojarasca (ns: no significativo).

Parámetro	<i>A. unedo</i>			<i>P. angustifolia</i>		
	Radiación UV (UV)	Precipitación (P)	Interacción (UV*P)	Radiación UV (UV)	Precipitación (P)	Interacción (UV*P)
	Fibra (%)	ns	ns	ns	0,014	ns
Celulosa (%)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Lignina (%)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C (mg/g AFDW)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
N (mg/g AFDW)	ns	ns	ns	ns	ns	0,037
Relación C:N	ns	ns	ns	ns	ns	0,030

Por otro lado, después de 347, días los tratamientos de radiación UV y precipitación no afectaron a la calidad de la hojarasca natural de *A. unedo*, (Tabla 3.13). En cambio, sí afectaron el contenido de fibra, de N y a la relación C:N de la hojarasca *P. angustifolia* (Tabla 3.13). Concretamente, el contenido de fibra de la hojarasca de *P. angustifolia* bajo precipitación natural fue menor en la hojarasca procedente de las parcelas UVBA que en las otras dos (Figura 3.15A). Por otro lado, cuando la hojarasca se descompuso sin radiación UV, el contenido de N fue superior, y por tanto la relación C:N inferior, en las parcelas que recibieron toda el agua de lluvia en comparación con las que recibieron menos agua (Figura 3.15B, C).

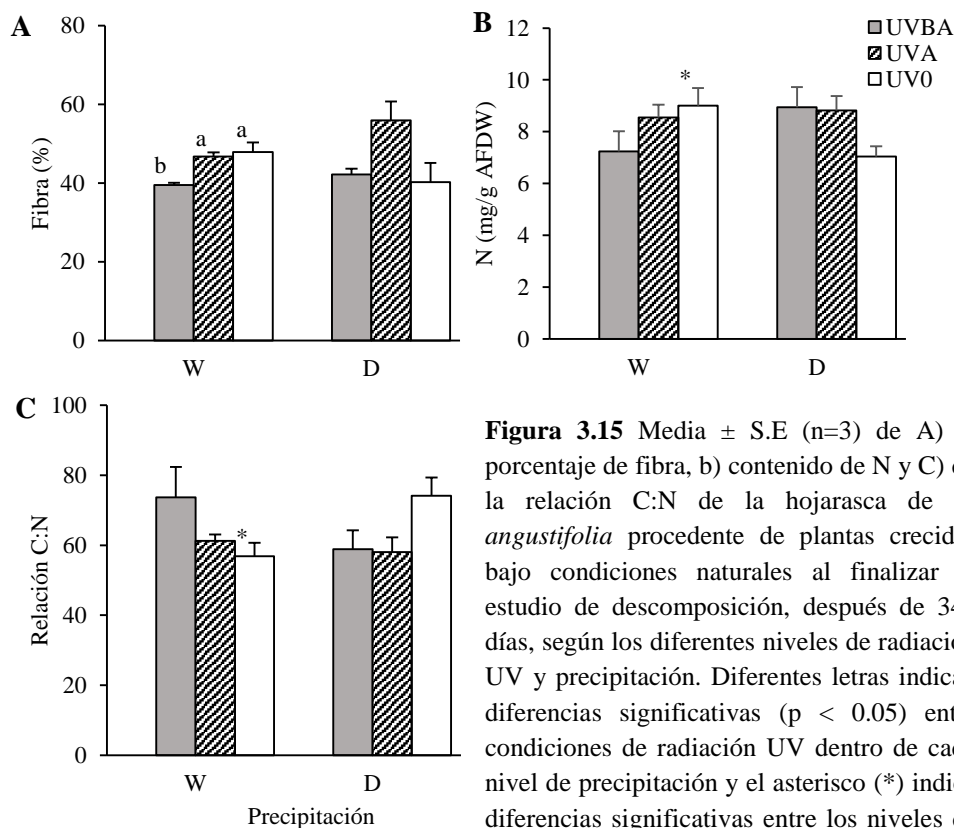


Figura 3.15 Media \pm S.E (n=3) de A) el porcentaje de fibra, b) contenido de N y C) de la relación C:N de la hojarasca de *P. angustifolia* procedente de plantas crecidas bajo condiciones naturales al finalizar el estudio de descomposición, después de 347 días, según los diferentes niveles de radiación UV y precipitación. Diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre condiciones de radiación UV dentro de cada nivel de precipitación y el asterisco (*) indica diferencias significativas entre los niveles de precipitación dentro de cada nivel de radiación UV. (UVBA: radiación UV ambiental, UVA: exclusión de la radiación UV-B, UV0: exclusión de la radiación UV; W: precipitación natural, D: reducción de la precipitación).

Radiación UV y precipitación en la descomposición de hojarasca de *A. unedo* y *P. angustifolia* 93

3.9.2 Dinámica microbiana de la hojarasca natural

Al finalizar el estudio de descomposición, a los 347 días, la biomasa de hongos en la hojarasca de ambas especies fue muy superior a la de bacterias, sobre todo para *P. angustifolia* (Tabla 3.14). Además, *P. angustifolia* presentó valores mucho más elevados de actividad β -glucosidasa y celobiohidrolasa que *A. unedo*. Por el contrario, la hojarasca de *A. unedo* tuvo casi un 95% más biomasa de bacterias que la de *P. angustifolia* (Tabla 3.14).

Tabla 3.14 Biomasa microbiana y actividad enzimática inicial (media \pm S.E, n = 18) de la hojarasca natural de *A. unedo* y *P. angustifolia*. La columna p-valor (*p*) indica los valores de significación obtenidos en las ANOVAs unifactoriales (β G, β -glucosidasa; CBH, celobiohidrolasa; POX, fenol-oxidasa; ns, no significativo).

Parámetro	<i>A. unedo</i>	<i>P. angustifolia</i>	<i>p</i>
Biomasa fúngica (mg C/g AFDW)	0.73 \pm 0.18	2.05 \pm 0.36	0.002
Biomasa bacteriana (mg C/g AFDW)	0.006 \pm 0.0005	0.0003 \pm 0.00006	<0.001
β G (μ mol MUF/g AFDW*h)	1.57 \pm 0.25	21.93 \pm 3.89	<0.001
CBH (μ mol MUF/g AFDW*h)	0.16 \pm 0.02	4.77 \pm 1.25	0.001
POX (μ mol DIQC/g AFDW*h)	0.31 \pm 0.14	0.60 \pm 0.15	ns

Tabla 3.15 Efecto de la radiación UV, la precipitación y su interacción sobre la biomasa y la actividad de la comunidad microbiana de la hojarasca natural de *A. unedo* y *P. angustifolia*. Se muestra la significación (*p*-valor) obtenida a partir de las ANOVAs aplicadas (β G: β -glucosidasa, CBH: celobiohidrolasa, POX: fenol-oxidasa, ns: no significativo).

Parámetro	<i>A. unedo</i>			<i>P. angustifolia</i>		
	Radiación UV (UV)	Precipitación (P)	Interacción (UV*P)	Radiación UV (UV)	Precipitación (P)	Interacción (UV*P)
Biomasa fúngica (mg C/g AFDW)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Biomasa bacteriana (mg C/g AFDW)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
β G (μ mol MUF/g AFDW*h)	0.042	ns	ns	0.043	0.047	ns
CBH (μ mol MUF/g AFDW*h)	ns	ns	ns	0.05	0.046	ns
POX (μ mol DIQC/g AFDW*h)	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Los tratamientos de radiación UV y precipitación no afectaron la biomasa fúngica ni bacteriana de la hojarasca de las dos especies. Al final del período de descomposición estudiado (Tabla 3.15). En cuanto a la actividad enzimática extracelular, la radiación UV-B tuvo un efecto negativo sobre la actividad β -glucosidasa de la hojarasca de *A. unedo* y *P. angustifolia*, disminuyéndola un 66% y en un 70%, respectivamente, en las parcelas UVBA en relación a las parcelas UV-A (Figura 3.16A, D).

La actividad celobiohidrolasa también fue menor (un 85%) en la hojarasca de *P. angustifolia* de las parcelas UVBA en comparación a la de las parcelas UV-A (Figura 3.16E). Por otro lado, la actividad β -glucosidasa y celobiohidrolasa de la hojarasca de *P. angustifolia* fue casi el doble o más del doble, respectivamente, en las parcelas sometidas a precipitación natural que en la de las parcelas con precipitación reducida (Figura 3.16D, E). No se encontró ningún efecto de los tratamientos sobre la actividad enzimática de la fenol-oxidasa en ninguna de las dos especies (Tabla 3.15, Figura 3.16C, F).

3.9.3 Peso seco libre de cenizas (AFDW) remanente y constante de descomposición (k) de la hojarasca natural

El AFDW remanente de la hojarasca de *A. unedo* disminuyó, en general, un 9% a los 347 días de descomposición (Tabla 3.16, Figura 3.17). Además, la hojarasca de las parcelas UVA perdió más materia orgánica que las parcelas UV0, independientemente del tratamiento de precipitación (Figura 3.17). Para *P. angustifolia*, al no tener suficiente hojarasca, solo se realizó un único muestreo al finalizar el estudio, y se encontró que la hojarasca había perdido casi el 13% de su peso original, no observándose ningún efecto de los tratamientos (Tabla 3.16).

Tabla 3.16 Significación (p-valor) de la ANOVA de medidas repetidas y la ANCOVA aplicada para determinar el efecto de la radiación UV, la precipitación, el tiempo de muestreo y sus interacciones sobre el peso seco libre de cenizas (AFDW) remanente y la constante de descomposición (k), respectivamente, de la hojarasca natural de *A. unedo*, y la significación (p-valor) de la ANOVA bifactorial aplicada para determinar el efecto de los tratamientos (radiación UV y precipitación) en la hojarasca natural de *P. angustifolia* al final del experimento. (ns, no significativo).

Especie	Parámetro	Radiación UV (UV)	Precipitación (P)	Tiempo de muestreo (T)	Interacción
<i>A. unedo</i>	AFDW (%)	0.015	ns	<0.001	ns
	k (año ⁻¹)	ns	ns	-	ns
<i>P. angustifolia</i>	AFDW (%)	ns	ns	-	ns
	k (año ⁻¹)	-	-	-	-

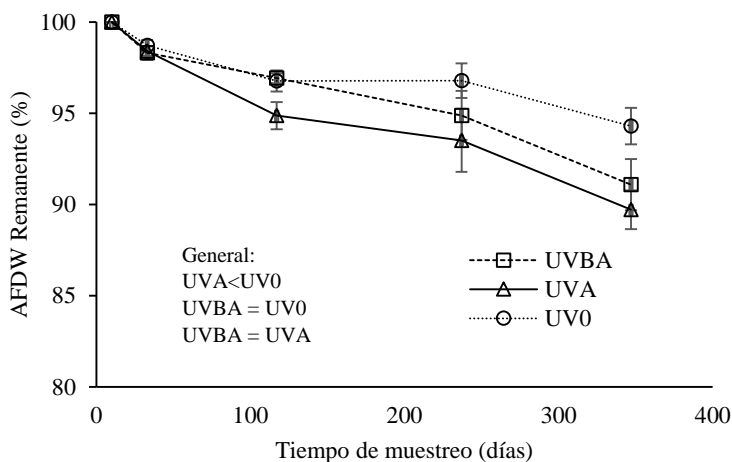


Figura 3.17 Porcentaje de peso seco libre de cenizas (AFDW) remanente de la hojarasca natural de *A. unedo* durante el proceso de descomposición bajo los diferentes tratamientos de radiación UV ($p < 0.05$), independiente del tratamiento de precipitación. (UVBA: radiación UV ambiental, UVA: exclusión de la radiación UV-B, UV0: exclusión de la radiación UV)

3.10 Análisis global del efecto de los factores estudiados sobre el peso seco libre de cenizas (AFDW) remanente a los 347 días de descomposición.

Los cuatro factores estudiados: especie, procedencia de la hojarasca (pretratada o naturales), tratamiento de radiación UV y tratamiento de precipitación, afectaron el AFDW remanente de forma independiente, puesto que la interacción entre los factores no fue significativa (Tabla 3.17).

Tabla 3.17 Efecto de los factores estudiados sobre el porcentaje de peso seco libre de cenizas (AFDW) remanente a los 347 días de descomposición. Se muestran los valores de significación (p -valor) para cada uno de los cuatro factores considerados en las ANOVAs (ns: no significativo).

Fuente de variación	p
Especie	<0.001
Procedencia de la hojarasca	0.006
Radiación UV (UV)	0.037
Precipitación (P)	<0.001
Interacciones	ns

La hojarasca de *P. angustifolia* se descompuso más rápido que la de *A. unedo*, llegando a perder, a los 347 días, hasta el 12% de su peso original, a diferencia de *A. unedo* que solo perdió un 6% en el mismo período (Figura 3.18A). Además, la hojarasca de las plantas pretratadas se descompuso un 3% más lentamente que la hojarasca de las plantas que habían crecido de forma natural (Figura 3.18B). En cuanto al efecto global de la radiación UV, se obtuvo que la pérdida de peso de la hojarasca descompuesta en las parcelas con radiación UV-A fue hasta un 5% superior que la de las parcelas con radiación UV ambiental (UVBA) (Figura 3.19A). Por otro lado, el déficit hídrico (D) redujo hasta en un 5% la descomposición de la hojarasca de las dos especies, en comparación con la hojarasca que recibió toda el agua de lluvia (Figura 3.19B).

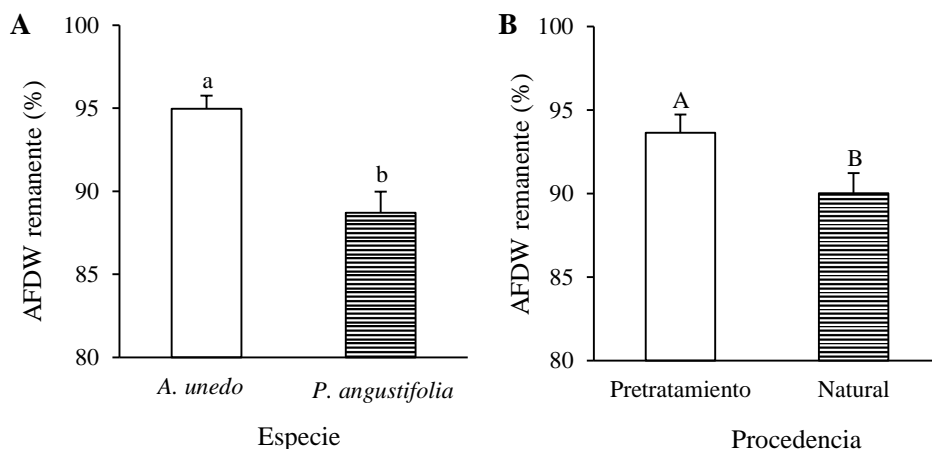


Figura 3.18 Porcentaje de peso seco libre de cenizas (AFDW) remanente (n = 18) al finalizar el estudio de descomposición, a los 347 días, de A) la hojarasca de *A. unedo* y *P. angustifolia* y B) la hojarasca procedente de plantas de las dos especies sometidas previamente a un tratamiento de radiación UV y precipitación (pretratamiento) o procedente de plantas que crecieron en condiciones naturales (natural). Diferentes letras indican diferencias significativas entre especies ($p < 0.05$).

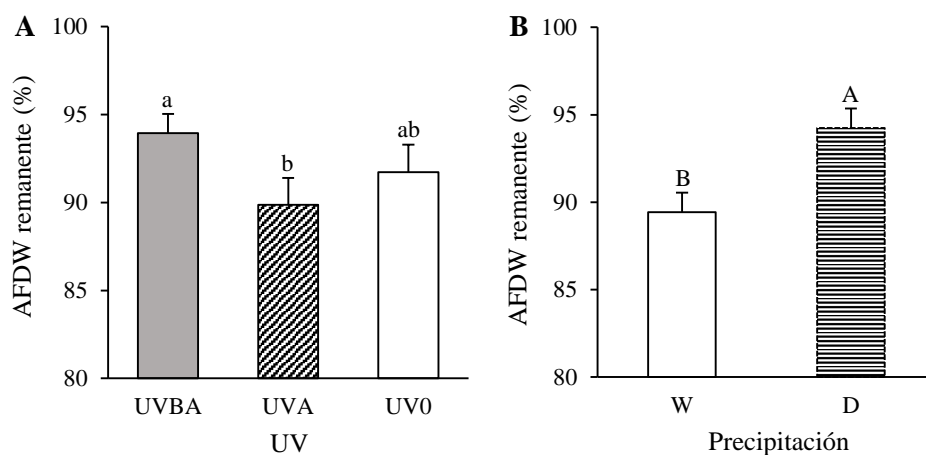


Figura 3.19 Porcentaje de peso seco libre de cenizas (AFDW) de la hojarasca de las dos especies a los 347 días de descomposición, A) bajo las diferentes condiciones de radiación UV y B) de precipitación estudiadas. Diferentes letras indican diferencias significativas entre los distintos niveles de cada tratamiento ($p < 0.05$). (UVBA: radiación UV ambiental, UVA: exclusión de la radiación UV-B, UV0: exclusión de la radiación UV; W: precipitación natural, D: reducción de la precipitación).

Capítulo IV

Discusión

Estudio del efecto de la radiación UV y la disponibilidad de agua sobre las características bioquímicas y fisiológicas de las hojas de *Erica scoparia*, así como sobre su floración.

4.1 Parámetros bioquímicos

En primavera, concretamente a mitad de abril, se observaron en las hojas de *E. scoparia*, los valores más bajos de clorofilas y carotenoides de todas las estaciones. Esto podría ser debido a que la primavera del año de estudio, en comparación con las precedentes, fue muy seca (ver material y métodos). Además, en esta estación, al reducir en un 30% la precipitación, la exposición de las plantas a la radiación UVA (sin radiación UV-B) incrementó el contenido foliar de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total y carotenoides, lo que explicaría las interacciones entre los tratamientos de radiación UV y precipitación encontrados (Fig. 3.1). Estos resultados son contrarios a los encontrados en el mismo experimento en *Arbutus unedo* y *Phillyrea angustifolia* bajo los mismos tratamientos, donde no se observaron cambios en el contenido de clorofila y carotenoides foliares (Verdaguer et al. 2018). Posiblemente, esto sea debido a que *E. scoparia* estuvo cerca de 3 años más que *A. unedo* y *P. angustifolia* bajo los tratamientos, lo que podría significar que las plantas de *E. scoparia* atravesaron por un proceso de aclimatación a las diferentes condiciones de radiación UV y/o precipitación a largo plazo. De hecho, en estudios previos se sugirió que el incremento del contenido de clorofilas en respuesta a la radiación UV-A podría ser atribuido en parte al ajuste del aparato fotosintético durante la aclimatación a intensidades de luz elevadas (Lichtenthaler y Babani 2004; Štroch et al. 2015). Por otro lado, en estudios de laboratorio realizados en plantas de *Hordeum vulgare* (Štroch et al. 2015) y *Brassica oleracea*

(Moreira-Rodríguez et al. 2017), sometidas a radiación UV-A (8 y 7.16 W/m², respectivamente) también se observó que una redirección del flujo de carbono hacia la biosíntesis de clorofilas y carotenoides específicos. De todas maneras, faltan estudios para determinar el efecto interactivo de la radiación UV-A y la disponibilidad hídrica sobre el contenido de clorofilas. En relación a los carotenoides, su incremento probablemente estaría relacionado con la capacidad que tiene la radiación UV-A de promover, en algunas especies, la protección del aparato fotosintético en condiciones de estrés abiótico (Verdaguer et al. 2017), en este caso estrés hídrico. Dicha protección se ha relacionado con la activación de la disipación del exceso de energía en forma de calor a través del ciclo de las xantofilas o el aumento de los niveles de compuestos absorbentes de la radiación UV y/o antioxidantes (Demmig-Adams et al. 2006; Joshi et al. 2007; Klem et al. 2015). Por el contrario, bajo condiciones naturales de lluvia, las hojas expuestas a la radiación UV-A disminuyeron el contenido de clorofila *b* (y clorofila *a*, aunque el efecto no llegó a ser significativo). Estudios previos han relacionado la disminución en el contenido de clorofilas en respuesta a la exposición a la radiación UV-A con un incremento en el contenido de metabolitos secundarios, como flavonoides, con el fin de evitar daños en los fotosistemas (Close et al. 2003; Klem et al. 2015).

En cuanto al efecto de la precipitación, se observó que en ausencia de radiación UV, las hojas de las plantas de *E. scoparia* sometidas a déficit hídrico redujeron el contenido de clorofila. La reducción en el contenido foliar de pigmentos fotosintéticos se ha descrito como una estrategia común en muchas especies para hacer frente al déficit hídrico (Mafakheri et al. 2010; Sarker y Oba 2018; Oraee y Tehranifar 2020; Prgomet et al. 2020). Además, estudios previos muestran que, bajo condiciones de estrés hídrico, la reducción de clorofila *b* es mayor que la de clorofila *a* y por tanto incrementa la relación clorofila *a*/clorofila *b* (Ashraf y Harris 2013; Prgomet et al. 2020), lo cual concuerda con los resultados encontrados en nuestro trabajo. Sin embargo, otros estudios, como por ejemplo los realizados en *A. unedo* y *P. angustifolia* que coexistían en el mismo experimento

con *E. scoparia* (Verdaguer et al. 2018) o en *Prunus dulcis* (Prgomet et al. 2020), no se han observado cambios significativos en el contenido de clorofilas en respuesta a la sequía. Por otro lado, en un trabajo realizado en 6 especies mediterráneas se observó una disminución de la relación clorofila *a*/clorofila *b* (Bernal et al. 2013). Por tanto, la disparidad de resultados sugiere que la respuesta de las plantas a la sequía depende de la especie y/o de la intensidad del déficit hídrico, y/o del grado de adaptación de la especie a dicho estrés.

De acuerdo con lo esperado, el contenido foliar de compuestos absorbentes de la radiación UV (UAC) fue superior en verano (julio), coincidiendo con la época en que los ecosistemas mediterráneos reciben una mayor incidencia de radiación UV (Tabla 2.2) y están expuestas a un mayor estrés hídrico (Manrique 2003; Munné-Bosch y Peñuelas 2004). Esto está de acuerdo con trabajos previos donde se describe un incremento de los UAC cuando las plantas reciben radiación UV, especialmente UV-B (Kolb et al. 2001; Bernal et al. 2013; Grifoni et al. 2016).

En el presente estudio también se observó un efecto interactivo entre los tratamientos de radiación UV y precipitación sobre los UACs, independiente de la estación. Concretamente, la radiación UV-B estimuló la producción de compuestos absorbentes de la radiación UV-A (UAC_{UV-A}) en condiciones de sequía. Este efecto sinérgico de la sequía y la radiación UV-B sobre la acumulación de UACs también se ha descrito en *Trifolium repens* (Hofmann et al. 2003). En un experimento de exclusión de la radiación UV llevado a cabo con *Vitis vinifera*, Grifoni et al. (2016) sugirieron que el hecho de que la radiación UV-B determine una síntesis preferencial de UAC_{UV-A} , en lugar de UAC_{UV-B} , podría indicar que los mecanismos de defensa de la planta para contrarrestar el estrés inducido por la radiación UV-B están orientados a aumentar los compuestos fenólicos que actúan como antioxidantes, principalmente flavonoides, los cuales tienen su espectro de máxima absorción en la región de la radiación UV-A. Además, en estudios realizados también en especies mediterráneas como *A. unedo* (Nenadis et al. 2015; Díaz-Guerra et al. 2019) o *Quercus suber* (Díaz-Guerra et al. 2019) o en otras especies, como *Petroselinum crispum* (Beggs y Wellmann 1994), se concluyó que la

radiación UV-B fue más eficiente que la radiación UV-A induciendo la acumulación de flavonoles, especialmente quercetinas.

En el presente estudio también se observó que las plantas de *E. scoparia* expuestas a la radiación UV-A disminuyeron los UAC_{UV-B} en condiciones de precipitación natural, lo cual se relacionaría con una reducción en el contenido foliar de clorofilas (aunque ésta sólo fue significativa para la clorofila *b*). Estos resultados estarían de acuerdo con los encontrados en un estudio previo con *Laurus nobilis*, en el que el contenido foliar de determinadas quercetinas y kaempferoles disminuyó al exponer las plantas a un incremento en la radiación UV-A coincidiendo con la activación de otros mecanismos de fotoprotección, como la reducción de los pigmentos fotosintéticos y un aumento en la disipación del exceso de energía en forma de calor, especialmente en condiciones de baja disponibilidad hídrica (Bernal et al. 2015). En cuanto el efecto de la precipitación, en *E. scoparia* se ha observado que en condiciones de radiación UV ambiental (UV-B + UV-A), el déficit hídrico produjo un incremento de UACs (UAC_{UV-B} y UAC_{UV-A}), mientras que lo contrario ocurrió en ausencia de radiación UV. Estos resultados apoyan la hipótesis de que la radiación UV y la sequía tienen un efecto sinérgico en la acumulación de UACs, al menos en *E. scoparia*.

Como ya se ha comentado, la incidencia de la radiación UV y otros factores de estrés como la sequía pueden incrementar la asignación del carbono recién asimilado por las plantas a la producción de metabolitos, especialmente flavonoides, para que las plantas puedan hacer frente a las condiciones de estrés (Bornman et al. 2015). Esta podría ser la razón por la que, tanto en respuesta a la reducción de la precipitación como a las condiciones ambientales de verano, se observó una mayor acumulación de carbono en las hojas, coincidiendo en verano con un mayor contenido en compuestos absorbentes de la radiación UV. Este incremento de carbono explicaría el aumento de la relación C:N foliar, junto con la disminución del contenido de las hojas en nitrógeno, que normalmente ocurre bajo estrés hídrico (Gargallo-Garriga et al. 2015) debido a la limitación en la adquisición de nitrógeno por parte de la planta (Peri et al. 2012). Estos resultados están de

acuerdo con los obtenidos en otros estudios de déficit hídrico realizados en especies mediterráneas, como por ejemplo *Globularia alypum* y *Erica multiflora* (Sardans et al. 2008), aunque en un estudio previo realizado en el mismo experimento no se encontró ningún efecto significativo de la sequía sobre el contenido de carbono de las hojas de *Phillyrea angustifolia* y *Arbutus unedo*, mientras que el contenido foliar en nitrógeno incrementó (*P. angustifolia*) o no se modificó (*A. unedo*) (Díaz-Guerra et al. 2018).

4.2 Parámetros fisiológicos

El contenido foliar de isótopos estables como el $\delta^{13}\text{C}$ (relacionado con la eficiencia en el uso agua) y el $\delta^{15}\text{N}$ (relacionado con las fuentes de N de la planta) (Llorens et al. 2003; Squeo y Ehleringer 2004) están normalmente relacionados positivamente (Peri et al. 2012). Así, valores bajos de $\delta^{13}\text{C}$ estarían relacionados con una baja eficiencia en el uso del agua (WUE) (Peri et al. 2012; Magaña Ugarte et al. 2019). En este estudio, las plantas de *E. scoparia* mostraron valores ligeramente inferiores de $\delta^{13}\text{C}$ en otoño (octubre) en comparación con el resto de estaciones, probablemente porque en este mes incrementó la precipitación y, por tanto, las plantas redujeron el WUE. Esto coincide con los datos de WUE foliar obtenidos *in situ* a través del análisis del intercambio de gases. Además, en esta estación, las plantas que se desarrollaron con una menor disponibilidad de agua mostraron valores más altos de $\delta^{13}\text{C}$, lo cual indica una mayor eficiencia en el uso del agua. En un estudio previo, realizado en el mismo experimento, pero con *A. unedo* y *P. angustifolia*, no se observó ningún efecto del régimen de precipitación sobre el contenido de $\delta^{13}\text{C}$ (Díaz-Guerra et al. 2018). Por otro lado, en otoño también se observaron los valores más bajos $\delta^{15}\text{N}$, lo cual sería esperable pues, en algunos estudios se sugiere que generalmente los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de las hojas de la planta disminuyen con el aumento de la precipitación (Craine et al. 2009; Peri et al. 2012), probablemente debido a la movilización de "N más ligero" para la nutrición de la planta (Craine et al. 2009). La disminución de $\delta^{15}\text{N}$ cuando existe alta

precipitación podría reflejar una fuerte limitación y una baja disponibilidad de N en el suelo (Peri et al. 2012).

En cuanto a los parámetros relacionados con el intercambio de gases, como era de esperar, en verano, las plantas redujeron drásticamente la conductancia estomática (g_s), la fotosíntesis neta (A) y la transpiración (E), la cual en algunos casos fue tan baja que fue imposible medirla, al igual que la eficiencia en el uso del agua (WUE). Del resto de estaciones, los valores más bajos de WUE fueron observados en otoño, junto a los valores más altos de E y g_s , lo cual coincide con un valor menor de $\delta^{13}C$. Estos resultados sugieren que *E. scoparia* sería una especie que evitaría la sequía, ya que en verano previene el déficit hídrico cerrando los estomas y disminuyendo la pérdida de agua por transpiración (y, por tanto, la asimilación de carbono). Estos resultados son similares a los observados en otras especies mediterráneas como *E. multiflora* (Llorens et al. 2003), *Pistacia lentiscus* o *P. angustifolia* (Altieri et al. 2015) Por otro lado, el tratamiento de precipitación no tuvo ningún efecto significativo sobre el intercambio de gases foliar de *E. scoparia*, mientras que la radiación UV-A redujo significativamente la WUE independientemente de la estación. Por tanto, no se han encontrado evidencias de que en *E. scoparia* la radiación UV-A mejore el WUE en condiciones de sequía, como se ha observado en otras especies mediterráneas (Bernal et al. 2015; Verdaguer et al. 2017, 2018). En invierno (enero), la radiación UV-A incrementó la E y la g_s foliar, probablemente debido a que este mes fue el más lluvioso del año, y a que la radiación UV-A promovería un mayor gasto de agua de las plantas de *E. scoparia*. Por otro lado, los tratamientos de radiación UV y precipitación no tuvieron ningún efecto significativo sobre el contenido relativo de agua (RWC) y el peso específico foliar (LMA) de las hojas de *E. scoparia*. Estos resultados son contrarios a los esperados, pero están en línea con los antes encontrados en un estudio realizado en el mismo experimento, pero en *A. unedo* y *P. angustifolia* (Verdaguer et al. 2018). La poca sensibilidad del RWC a los niveles de radiación UV o al déficit hídrico, en el caso de estas especies mediterráneas, podría atribuirse a que, de acuerdo a Martínez-Vilalta et al. (2019), este es un parámetro estable y

sólo varía cuando hay un déficit hídrico muy marcado. Por otro lado, la estabilidad del LMA podría estar relacionado con la edad de la planta y con el proceso de adaptación que ha sufrido la planta al desarrollarse en condiciones climáticas mediterráneas, con alta incidencia de radiación UV y déficit hídrico.

4.3 Parámetros relacionados con la floración

En este estudio, los tratamientos de radiación UV y precipitación no afectaron la producción de botones florales (número de flores/cm de tallo) iniciales ni tampoco la producción de flores funcionales de *E. scoparia* durante el periodo de floración estudiado. Sin embargo, bajo condiciones de sequía, la exposición de las plantas a la radiación UV-B redujo el diámetro y volumen de las flores de *E. scoparia*. Algo similar se observó en otros estudios en donde el incremento de la radiación UV-B redujo el tamaño de la flor (Kakani et al. 2003; Koti et al. 2005). Una reducción en el tamaño de la flor podría afectar la polinización ya que se ha visto que los polinizadores prefieren flores grandes (Essenberg 2012; Barbir et al. 2014; Llorens et al. 2015). En cuanto al efecto de la precipitación, la flores de las plantas que fueron sometidas a la sequía tuvieron menor diámetro y volumen en condiciones de radiación UV ambiental (UV-B + UV-A). Este efecto de la sequía ya fue reportado en otros estudios realizados, por ejemplo, en dos variedades de *Olea europaea* L. (arbequina y manzanilla) (Pierantozzi et al. 2013), en especies de cultivo como *Diploaxis tenuifolia* (Barbir et al. 2014) o en especies silvestres mediterráneas como *Erica multiflora* y *Globularia alypum* (Llorens y Peñuelas 2005). La reducción en el tamaño de las flores en ningún caso se vio compensada por una mayor producción de flores, como sí se ha visto en otros estudios en especies mediterráneas (Llorens y Peñuelas 2005).

Evaluación de la composición fenólica y la actividad antioxidante de frutos de *Prunus spinosa* madurados bajo diferentes niveles de radiación UV

4.4 Diferencias entre el perfil fenólico y la actividad antioxidante de la piel y de la pulpa de los frutos de *P. spinosa*

En este trabajo se ha estudiado el contenido de flavonoides (flavonoles, flavonas y antocianos) y de derivados de los ácidos hidroxicinámicos en la piel y en la pulpa de frutos de *P. spinosa* (endrinas), ya que, de acuerdo a estudios previos, son las clases más abundantes de compuestos fenólicos en los endrinas silvestres procedentes del Mediterráneo (Guimarães et al. 2013; Ruiz-Rodríguez et al. 2014) o de otros ecosistemas europeos (Veličković et al. 2014; Mikulic-Petkovsek et al. 2016; Popović et al. 2020). Hasta donde conocemos, éste es el primer estudio en que se analiza por separado el perfil fenólico de la piel y de la pulpa de las endrinas de *P. spinosa*. Los resultados muestran que, como era de esperar, el contenido de fenoles difirió entre la piel y la pulpa de las endrinas, siendo el contenido de flavonoides superior en la piel, mientras que los ácidos hidroxicinámicos se encontraron en mayor proporción en la pulpa. Estos resultados están de acuerdo con los descritos previamente en otras especies con frutos tipo drupa, como *Prunus persica* (Tomás-Barberán et al. 2001), en bayas, como *Vitis vinifera* (Teixeira et al. 2013a) o en *Solanum lycopersicum* (Živanović et al. 2017), lo que sugiere que la síntesis de fenoles estaría regulada de forma diferente en la piel y en la pulpa. Esta regulación diferencial podría ser debida tanto a factores internos como externos, puesto que las células de la piel están sometidas a condiciones ambientales muy diferentes de las de la pulpa.

En cuanto al contenido de ácidos hidroxicinámicos, en estudios realizados en drupas de *P. spinosa* se observó que el derivado del ácido hidroxicinámico con mayor concentración era el ácido 3-O-cafeoilquínico, también llamado ácido neoclorogénico (Guimarães et al. 2013; Mikulic-Petkovsek et al. 2016; Popović et al. 2020). Estos resultados concuerdan con los obtenidos en las endrinas de *P.*

spinosa, tanto en la piel como en la pulpa, aunque en esta última la concentración de 3-O-cafeoilquínico fue casi cuatro veces superior. Se desconoce la función del ácido 3-O-cafeoilquínico, si bien su gran abundancia en la pulpa (llegando a representar el 71% de todos los compuestos descritos en ésta), y el hecho de que la actividad antioxidante de la pulpa sea casi el doble de la de la piel, sugiere que su función puede ser antioxidante, lo cual estaría en línea con los resultados obtenidos previamente en esta misma especie (Mikulic-Petkovsek et al. 2016) o en otras (Teixeira et al. 2013b). El principal mecanismo de acción antioxidante de los ácidos hidroxicinámicos es a través de su capacidad para neutralizar radicales libres, la cual está vinculada a su capacidad de donar hidrógeno o electrones y a la estabilidad de los radicales fenoxilo resultantes (Jacob et al. 2012). Sin embargo, también se han sugerido otros mecanismos de acción, como la quelación de metales de transición, como el cobre o el hierro, los cuales son catalizadores del estrés oxidativo (Teixeira et al. 2013b). Por otro lado, los ácidos hidroxicinámicos son particularmente efectivos en la absorción de la radiación UV-B (Landry et al. 1995; Kolb et al. 2001), lo cual también podría explicar su abundancia en la piel (54% de los compuestos fenólicos descritos).

El contenido de flavonoides, y particularmente de flavonoles, tanto quercetinas como kaempferoles, fue superior en la piel que en la pulpa, lo cual estaría de acuerdo con otros estudios realizados en otras especies como *Solanum lycopersicum* (Živanović et al. 2017) o *M. domestica* (Merzlyak et al. 2002). El hecho de que el contenido de quercetinas y kaempferoles sea mayor en la piel que en la pulpa probablemente sea debido a que la piel es la primera barrera de defensa que tiene el fruto frente a los distintos factores bióticos o abióticos como serían, por ejemplo, los patógenos o la radiación UV. Las quercetinas son consideradas moléculas antioxidantes más eficaces en la eliminación de radicales libres que los kaempferoles (Ryan et al. 1998; Sroka 2005; Zietz et al. 2010). Por lo tanto, las quercetinas podrían ser más efectivas para contrarrestar los efectos potencialmente nocivos de los radicales libres oxidativos producidos en el tejido vegetal cuando está sometido a un factor estresante, como podría ser la radiación UV-B (Ryan et

al. 1998). No obstante, el hecho de que la relación quercetinas/kaempferoles sea mucho menor en la piel que en la pulpa indica que proporcionalmente la piel tiene un mayor contenido en kaempferoles, los cuales son más eficaces en la absorción de la radiación UV que las quercetinas (Nenadis et al. 2015).

En cuanto al contenido de antocianos, el antociano mayoritario en los frutos de *P. spinosa* fue la cianidina-3-rutinósido, lo cual está de acuerdo con resultados anteriores obtenidos en la misma especie (Ruiz-Rodríguez et al. 2014; Mikulic-Petkovsek et al. 2016). Los glucósidos de cianidina son los responsables del color rojo de algunos frutos, como por ejemplo las bayas de *V. vinifera* (Veberic et al. 2015), pero si se acumulan en gran abundancia el tono del color puede cambiar a negruzco, como es el caso de las drupas de *P. spinosa* (Mikulic-Petkovsek et al. 2016). Esta coloración de los frutos, desde el punto de vista ecológico, tiene una gran importancia porque atrae a organismos dispersores de las semillas (Grotewold 2006; Askari-Khorasgani y Pessarakli 2019) favoreciendo la reproducción de la planta (Haminiuk et al. 2012). Además, en general, los antocianos son de gran interés para el sector agroalimentario, debido a su impacto en las características sensoriales de los productos alimenticios gracias a su coloración natural intensa que va desde naranja y rojo hasta azul y púrpura, y por sus beneficios para la salud como antioxidantes (de la Rosa et al. 2010; Gonzalez de Mejia et al. 2020)

4.5 Efecto del tratamiento de radiación UV sobre el perfil fenólico de la piel y la pulpa de los frutos de *P. spinosa*

Las plantas protegen sus órganos aéreos de la radiación UV, principalmente, acumulando en los tejidos epidérmicos diferentes tipos de compuestos fenólicos, como los ácidos hidroxicinámicos y los flavonoides (Burchard et al. 2000; Kotilainen et al. 2008; Keller 2015). En este estudio, no se observaron diferencias en el contenido de ácidos hidroxicinámicos en los frutos de *P. spinosa* (piel o pulpa) madurados con o sin radiación UV ambiental, o sin radiación UV-B. De acuerdo con estos resultados, estudios previos con *V. vinifera*, concretamente con la piel de las uvas, tampoco observaron que la radiación UV afectara el contenido de ácidos

hidroxicinámicos, o si lo hacía, era de forma muy sutil (Kolb et al. 2001; Berli et al. 2011; Del-Castillo-Alonso et al. 2016b). En parte, esta respuesta podría ser debida a la elevada cantidad de fenoles que presentan las especies mediterráneas, las cuales, durante el verano, que es cuando los frutos de muchas especies, entre ellas *P. spinosa* y *V. vinifera*, maduran, deben hacer frente a condiciones de alta radiación solar, altas temperaturas y poca disponibilidad hídrica (Manrique 2003; Munné-Bosch y Peñuelas 2004). De hecho, el contenido en estos compuestos en las endrinas analizadas en este estudio es hasta 2 veces superior al descrito en diferentes genotipos de *P. spinosa* que crecieron en las montañas serbias (Popović et al. 2020) caracterizadas por un clima continental moderado (Radovanović et al. 2013). De todas maneras, en la piel del tomate, *S. lycopersicum*, se describió un notable incremento del ácido cafeico cuando recibía radiación UV-B y UV-A (Živanović et al. 2017). Por tanto, no se puede descartar un efecto especie específico de la radiación UV en la síntesis de ácidos hidroxicinámicos, ni que la síntesis de estos compuestos provocada por la radiación UV-B no pueda verse, a su vez, afectada por otros factores, como por ejemplo la presencia de ácido abscísico (ABA) (Berli et al. 2011). El ABA es una fitohormona que participa en la activación de la defensa de los tejidos contra los efectos potencialmente dañinos de la radiación UV-B, aparentemente al desencadenar la biosíntesis de fenoles (Berli et al. 2011).

En la piel de los frutos de *P. spinosa* no se observaron cambios en el contenido total de flavonoides (flavonoles y antocianos) en respuesta al tratamiento de radiación UV. Estos resultados son contrarios a los obtenidos en otros experimentos de exclusión de la radiación UV realizados con frutos de *V. vinifera*, en donde se observó un incremento, en la piel, del contenido de flavonoles, especialmente de los glucósidos de quercetinas y kaempferoles (Liu et al. 2015), cuando los frutos estaban expuestos a la radiación UV-B natural (Berli et al. 2011; Gregan et al. 2012; Del-Castillo-Alonso et al. 2016b; Martínez-Lüscher et al. 2019) o en otros experimentos de aumento de la radiación UV (Matus et al. 2009; Martínez-Lüscher et al. 2014; Liu et al. 2015). Resultados similares también se

observaron en la piel de pomos de *M. domestica* cuando fueron sometidas a radiación UV-B artificial (Solovchenko y Schmitz-Eiberger 2003). Estos resultados indican que la respuesta a la radiación UV de los flavonoides de la piel varía en función de la especie. No obstante, claramente hace falta aumentar el número de especies estudiadas, especialmente especies silvestres de la Cuenca del Mediterráneo y de interés ecológico como *P. spinosa*. Por otro lado, se conoce que la actividad antioxidante de los flavonoles depende de su grado de hidroxilación, es decir, del número de grupos hidroxilos unidos al anillo B aromático (Sroka 2005), siendo la actividad antioxidante de los flavonoles dihidroxilados (quercetinas) superior a la de los monohidroxilados (kaempferoles e isorhamnetinas) (Zietz et al. 2010). En algunos trabajos se ha detectado un incremento en el contenido de flavonoles dihidroxilados, pero también de monohidroxilados, en la piel de los frutos expuestos a la radiación UV-B (Martínez-Lüscher et al. 2014). Sin embargo, en nuestro estudio, la proporción relativa de estos flavonoles no fueron afectados por la radiación UV, probablemente debido a que tanto la piel como la pulpa de los frutos de *P. spinosa* cuentan con un elevado contenido constitutivo de quercetinas y kaempferoles lo cual relativiza la importancia de aumentar su contenido bajo los niveles de radiación UV ambiental (Del-Castillo-Alonso et al. 2016b).

En este estudio, la radiación UV no afectó el contenido de los antocianos detectados en la piel de las endrinas. En *V. vinifera*, que es la especie mayoritariamente estudiada en este tipo de estudios, los resultados son dispares. Así, por ejemplo, Martínez-Lüscher et al. (2014) tampoco encontraron ningún efecto de la radiación UV-B sobre la acumulación de antocianos en la piel de las uvas, mientras que en otros estudios se detectó un incremento significativo (Matus et al. 2009; Martínez-Lüscher et al. 2019). En otros casos, se observó un efecto de la radiación UV- B sobre el contenido de antociano de la piel solo al inicio de la maduración de las uvas en plantas crecidas en condiciones de laboratorio (Kataoka et al. 2003) o en condiciones de campo en el Mediterráneo (Del-Castillo-Alonso et al. 2016b), el cual desapareció al final del proceso de maduración (Kataoka et al.

2003; Del-Castillo-Alonso et al. 2016b). Se ha sugerido que la mayor acumulación de antocianos, relacionada con la exposición a la radiación UV, se produce al inicio de la maduración cuando la enzima flavonol-3-O-glucosiltransferasa (UFGT, específica en la síntesis de antocianos) comienza a expresarse (Boss et al. 1996). Las diferencias en los resultados sugieren que las variaciones en el perfil de antocianos, en respuesta a la incidencia de la radiación UV, dependen de las características genéticas de cada especie o cultivar (Castellarin et al. 2006), y del estado de desarrollo del fruto (Del-Castillo-Alonso et al. 2016b).

Actualmente existen pocos trabajos en que se estudie el efecto de la radiación UV en la pulpa de los frutos, centrándose la mayoría en la piel, o en el fruto entero. Sin embargo, las respuestas de la pulpa y las semillas a la radiación UV pueden ser diferentes a las de la piel (Del-Castillo-Alonso et al. 2019). En este estudio, dos flavonoles glucosilados encontrados en la pulpa fueron sensibles a la radiación UV. Concretamente, los frutos expuestos a la radiación UV-A incrementaron significativamente el contenido de quercetina-3-O-rutinósido y marginalmente el contenido de kaempferol-3-O-glucósido en la pulpa en relación a los frutos madurados sin radiación UV ambiental. En otros estudios, aunque hechos con hojas de diversas especies, también se ha encontrado que la radiación UV-A afecta la síntesis de flavonoles (Verdaguer et al. 2017).

4.6 Relación entre el contenido de fenoles y UACs y la actividad antioxidante de los frutos de *P. spinosa*.

Según los resultados de las correlaciones, los ácidos hidroxicinámicos de la piel de las endrinas se correlacionan positivamente con los UACs y ácidos hidroxicinámicos de la pulpa; por tanto, la síntesis de estos compuestos, en la piel y en la pulpa, podría estar coordinada. Hasta donde conocemos, este es el primer estudio en que se describen dichos resultados, y, por tanto, faltaría más información para esclarecer su significado. En esta misma línea, la actividad antioxidante de la piel está correlacionada positivamente con la de la pulpa, lo cual podría ser debido a la función antioxidante de los ácidos hidroxicinámicos, ya que son los compuestos

más abundantes, tanto en la piel como en la pulpa de las endrinas. Finalmente, la correlación negativa observada entre el total de ácidos hidroxicinámicos de la pulpa y el total de flavonoles y quercetinas de la piel sugiere que el alto contenido concentraciones de ácidos hidroxicinámicos en la pulpa podrían ser la causa de las tasas relativamente moderadas de biosíntesis de flavonoides en la piel, al competir ambos tipos de compuestos fenólicos por los mismos precursores (Kolb et al. 2001; Del-Castillo-Alonso et al. 2016a).

Los resultados de las correlaciones teniendo en cuenta la piel y la pulpa de las endrinas de *P. spinosa* maduras bajo las distintas condiciones de radiación UV, muestran que la actividad antioxidante no se correlaciona con el contenido de UACs ni de compuestos fenólicos cuando los frutos maduraron sin radiación UV ambiental (UV0). Estos resultados serían esperables, puesto que el contenido de compuestos fenólicos está relacionado con la radiación UV, especialmente con la radiación UV-B (Burchard et al. 2000; Kotilainen et al. 2008; Keller 2015). En cambio, cuando recibieron radiación UV-A o radiación UV ambiental (UV-B + UV-A), la actividad antioxidante estuvo correlacionada positivamente con el contenido total de ácidos hidroxicinámicos y de UAC_{UV-B} , lo cual sugiere que, a pesar de no haber diferencias significativas entre los niveles de radiación UV, la exposición a la radiación UV generaría una estrecha relación entre el contenido de ácidos hidroxicinámicos y UAC_{UV-B} y la actividad antioxidante de los frutos. Curiosamente, la actividad antioxidante de los frutos que maduraron bajo radiación UV-A y radiación UV ambiental también se correlacionó negativamente con el contenido de flavonoles (quercetinas y kaempferoles) y antocianos. Esto resultados estarían en línea de lo comentado anteriormente, sugiriendo que la actividad antioxidante de las endrinas sería debida, principalmente, a los ácidos hidroxicinámicos y no a los flavonoles o antocianos.

Estudio del proceso de descomposición de la hojarasca de *Arbutus unedo* y *Phillyrea angustifolia* bajo diferentes niveles de radiación UV y precipitación.

4.7 Efecto de la especie en la descomposición de la hojarasca

La calidad o composición química de la hojarasca afecta en gran medida el proceso de descomposición, y por tanto, varía éste en función de la especie (Imbert et al. 2004). En este estudio, la hojarasca de *P. angustifolia*, independientemente de su procedencia, presentó un contenido menor de celulosa, lignina y una relación C: N baja (mayor contenido de nitrógeno), en comparación con la de *A. unedo* (Tabla 3.6, 3.12). Además, a los 347 días de descomposición, la hojarasca de *P. angustifolia* perdió un 6% más peso que la de *A. unedo* (Figura 3.18A). Por tanto, nuestros resultados concuerdan con los descritos anteriormente en otras especies, en cuanto a que las tasas de descomposición son menores cuando la hojarasca tiene niveles altos de lignina, un bajo contenido de N o una mayor dureza (Gessner y Chauvet 1994; Martínez-Yrizar et al. 2007), como sería el caso de *A. unedo*. En la hojarasca de *P. angustifolia* un bajo contenido de lignina y un elevado contenido de N podría facilitar su descomposición biótica (Almagro et al. 2017), posiblemente al quedar cubierta la demanda microbiana de N y encontrarse los compuestos orgánicos más accesibles a los microorganismos al presentar un bajo contenido de lignina (Prieto et al. 2019).

Durante el proceso de descomposición, el porcentaje de fibra, celulosa y lignina de la hojarasca pretratada y natural aumentó en las dos especies (Tabla 3.6, 3.12), lo cual podría relacionarse con una disminución de los compuestos lábiles dando lugar a un incremento en el porcentaje de compuestos recalcitrantes. De hecho, en ambas especies, e independientemente de si la hojarasca fue pretratada o no, el contenido de carbono disminuyó (Tabla 3.6, 3.12), lo que sugiere que hubo una pérdida de compuestos solubles, como azúcares, durante la etapa de lixiviación, probablemente combinado con la acción de microorganismos oportunistas de rápido crecimiento (Berg y McLaugherty 2014). En la hojarasca pretratada de *A.*

unedo, al finalizar el estudio, la relación C:N fue mayor al disminuir el N, lo cual, está de acuerdo con los resultados obtenidos por Prieto et al. (2019) en su estudio de descomposición de la hojarasca de *Helianthemum squamatum*, en donde sugiere que durante la descomposición se mineraliza el N. En cambio, la hojarasca de *P. angustifolia*, de ambas procedencias (Tabla 3.6, 3.12), no mostró cambios en el contenido de N a través del tiempo, lo cual podría indicar una inmovilización neta de N por parte de los microorganismos del suelo (Henry et al. 2008).

Por otro lado, aunque la hojarasca de *P. angustifolia* se descompuso más rápidamente que la de *A. unedo*, las diferencias entre especies descritas al inicio para la calidad química se mantuvieron al final del estudio, independientemente de la procedencia de la hojarasca, lo cual refuerza el papel de las características específicas de la hojarasca de cada especie durante la descomposición, al menos durante las primeras etapas, ya que al finalizar el estudio quedó más del 85% de la materia orgánica por descomponer en ambas especies. Este porcentaje de pérdida de peso está dentro de lo esperable, pues, en general, la descomposición de las especies perennes esclerófilas es un proceso lento, especialmente en ecosistemas semiáridos, como muchas zonas del Mediterráneo. Por ello, los experimentos de descomposición tienen una duración mínima de 12 meses y los porcentajes de pérdida de peso varían entre 5 y 40% (Gallardo y Merino 1993; Cortez et al. 2007; Gliksman et al. 2018; Pereira et al. 2019). De hecho, en un estudio comprobaron que la descomposición de hemicelulosa y celulosa en la hojarasca de especies esclerófilas se produjo principalmente durante los primeros 540 días, mientras que la descomposición de la lignina tuvo lugar principalmente después de 630 días (Zhang et al. 2019).

A parte de la calidad química de la hojarasca, en la regulación del proceso de descomposición también es importante la actividad microbiana, es decir, los tipos de descomponedores microbianos y su actividad enzimática (Bokhorst y Wardle 2013; López-Mondéjar et al. 2016; Zhang et al. 2019). En este sentido, la elevada actividad enzimática hallada en la hojarasca de *P. angustifolia*, al inicio y

al final del experimento, también podría justificar su mayor pérdida de peso durante el periodo de estudio en comparación con la de *A. unedo* (Tabla 3.8, 3.14). En las dos especies, la biomasa fúngica tendió a aumentar durante el proceso de descomposición estudiado, mientras que la tendencia de la biomasa bacteriana fue la contraria. Estos resultados están en línea con otros estudios en donde se ha observado una mayor contribución de la biomasa bacteriana al inicio de la descomposición (Mora-Gómez et al. 2016). Este rápido crecimiento bacteriano en las primeras etapas de descomposición estaría relacionado con el uso eficiente de polisacáridos simples, lo cual pudo haber limitado el aumento de la biomasa fúngica por la competencia por los compuestos solubles disponibles de la hojarasca (Romaní et al. 2006). Sin embargo, también hay trabajos en donde la tendencia de crecimiento microbiana es contraria, pues en ellos describen que la biomasa bacteriana en la hojarasca aumenta con el tiempo mientras que la biomasa fúngica decrece (Šnajdr et al. 2011), posiblemente porque los hongos, al actuar primero, aumentarían la disponibilidad de sustrato para las bacterias, al descomponer los polisacáridos (Romaní et al. 2006). Las diferencias encontradas entre nuestro estudio y otros trabajos podría atribuirse a que la colonización de hongos y bacterias depende del tipo de hojarasca (Šnajdr et al. 2011). De hecho, en anteriores trabajos se ha sugerido que las comunidades microbianas en la hojarasca en descomposición están fuertemente influenciadas por las características de cada tipo de hojarasca, como su composición química (Santonja et al. 2018; Zhang et al. 2019).

En cuanto a la actividad enzimática extracelular, la biomasa fúngica de la hojarasca de *A. unedo* estuvo correlacionada con la actividad enzimática de la celobiohidrolasa (Tabla 3.10), lo cual sugiere que estos microorganismos usaron más efectivamente la celulosa. La actividad β -glucosidasa de la hojarasca de *A. unedo* fue elevada al inicio de la descomposición pero casi imperceptible al final del estudio, posiblemente porque sus actividad está relacionada con el contenido de sacáridos solubles de la hojarasca, más abundantes al principio de la descomposición (Sinsabaugh et al. 2002). En *P. angustifolia* curiosamente, la biomasa fúngica se correlacionó con la actividad de la β -glucosidasa, mientras que

la biomasa bacteriana con la actividad de fenol-oxidasa (Tabla 3.10) lo que podría significar que, en esta especie, los hongos producen enzimas para degradar principalmente los glúcidos más solubles y las bacterias tendrían cierto papel en la degradación de la lignina a través de la fenol-oxidasa, especialmente en las primeras etapas de descomposición donde su biomasa fue más abundante. Este papel de algunas comunidades bacterianas en la degradación del complejo lignocelulósico ya se ha sugerido en anteriores trabajos (Vicuña et al. 1993; Boer et al. 2005; Sinsabaugh 2010; Mora-Gómez et al. 2016), sin embargo, para llegar a la completa degradación de la lignina se requiere la acción de los hongos (Vicuña et al. 1993). Resultados similares se observaron en la descomposición de otras especies forestales como *Quercus mongolica*, *Juglans mandshurica*, *Acer mono*, y *Larix gmelinii*, en donde cada tipo de hojarasca se caracterizó por una comunidad fúngica específica, y por tanto, diferentes patrones de producción de enzimas extracelulares (Zhang et al. 2019). Estos resultados sugieren que la producción de enzimas extracelulares depende del tipo de microorganismo, sus requerimientos de nutrientes y sus interacciones (Brandt et al. 2010).

En cualquier caso, debido a que la hojarasca de las dos especies se encontraba en etapas tempranas de descomposición, al finalizar el estudio, es probable que la colonización de las comunidades microbianas y su consecuente producción de enzimas extracelulares cambie en fases más avanzadas del proceso (Mora-Gómez et al. 2016).

4.8 Efectos indirectos (calidad inicial) de la radiación UV y/o de la precipitación sobre el proceso de descomposición de la hojarasca pretratada

Los tratamientos de radiación UV y precipitación a los que estuvieron sujetas las hojas durante su desarrollo afectaron de forma diferente la calidad inicial de la hojarasca, básicamente el contenido en N y la relación C:N de las dos especies, pues no se observaron diferencias en el contenido de fibra, lignina y celulosa. No obstante, en un estudio previo, realizado con las mismas especies y bajo los mismos

tratamientos, no se observó ningún efecto de los tratamientos sobre el contenido de C, N y la relación C:N de la hojarasca (Díaz-Guerra et al. 2018). Posiblemente, esto sea debido a que en el trabajo de Díaz-Guerra et al. (2018) las plantas solo habían estado entre 2 y 4 años bajo los tratamientos, mientras que en el presente estudio llevaban 7 años, pudiéndose atribuir los cambios encontrados en este estudio, principalmente en el contenido de N y la relación C:N, a un proceso de aclimatación a largo plazo de las plantas a las diferentes condiciones de radiación UV y precipitación.

Los resultados obtenidos, sugieren que la exposición de las plantas a la radiación UV-B tendría un efecto positivo sobre la calidad inicial de la hojarasca de las dos especies, al incrementar el contenido en N (baja relación C:N), aunque en *A. unedo*, esto sucedió solo en condiciones de lluvia natural (Figura 3.7B, C y 3.8B, C). El incremento en N inicial en la hojarasca bajo radiación UV-B fue reportado también en *Triticum aestivum* (Yue et al. 1998). Sin embargo, también existen trabajos en los cuales el aumento en la radiación UV-B redujo el contenido de N en la hojarasca (Zhou et al. 2018), o no tuvo ningún efecto, como en ciertos arbustos de ecosistemas subantárticos (Pancotto et al. 2003). De hecho, en general, se considera que la radiación UV-B reduciría el contenido de N debido a su efecto inhibitorio de la actividad nitrato reductasa y de otras enzimas claves del metabolismo del N (Xu y Zhou 2004). La diferencia en los resultados probablemente se deba a que los efectos indirectos de la radiación UV-B sobre la composición química de la hojarasca difieren entre especies, ecosistemas y enfoques experimentales (Pancotto et al. 2003). Por otro lado, en las dos especies, se encontró un efecto negativo de la radiación UV-A sobre la calidad de la hojarasca, al disminuir el contenido de N (mayor relación C:N), aunque este efecto se observó solo bajo precipitación reducida en el caso de la hojarasca de *A. unedo* (Figura 3.7B, C y 3.8B, C). Estos resultados no estarían de acuerdo con algunos trabajos previos donde se sugiere que la radiación UV-A promueve la acumulación del N foliar (Weih et al. 1998; Verdaguer et al. 2017). La disminución del contenido en nitrógeno observada en el presente estudio podría indicar una menor absorción

de N por parte de las raíces, disminuyendo su concentración en los tejidos, lo cual estaría de acuerdo con efecto que tiene el déficit hídrico sobre el nitrógeno (Gargallo-Garriga et al. 2015).

A pesar del efecto positivo de la radiación UV-B sobre la calidad química inicial, en general, la hojarasca pretratada de las dos especies tuvo un menor contenido de N inicial (alta relación C:N) en relación a la hojarasca natural (Anexo 2). Esto indica que el efecto negativo de la radiación UV-A sobre el contenido de N fue más importante que el efecto positivo de la radiación UV-B a la hora de determinar la calidad inicial de la hojarasca pretratada de las dos especies.

4.9 Efectos directos de la radiación UV y/o de la precipitación sobre la descomposición de la hojarasca pretratada (pérdida de peso y actividad microbiana)

Los cambios descritos en la calidad inicial de la hojarasca pretratada de las dos especies en respuesta a los tratamientos de radiación UV y precipitación se mantuvieron al finalizar el estudio de descomposición en *A. unedo*, pero no en *P. angustifolia*. En *A. unedo*, un mayor contenido en N en la hojarasca bajo radiación UV-B y precipitación natural podría estar de acuerdo con la tendencia que tiene la hojarasca expuesta a la radiación UV ambiental y lluvia natural a perder más peso, sobre todo en los momentos iniciales (Figura 3.13A), lo cual también podría relacionarse con una mayor biomasa de bacterias (Figura 3.10C). Dado que la descomposición microbiana puede ser ralentizada por la radiación UV-B (Duguay y Klironomos 2000; Caldwell et al. 2007; Zhou et al. 2015), los resultados obtenidos podrían explicarse por un mayor efecto positivo de la radiación UV-B para descomponer la materia orgánica comparado con su efecto negativo sobre la actividad microbiana (Pieristè et al. 2019). En cambio, en la hojarasca de *A. unedo* de las parcelas que recibían radiación UV-A y menos agua de lluvia, aunque disminuyó el contenido de N en la hojarasca (Figura 3.7), la colonización de hongos fue superior, al inicio de la descomposición (Figura 3.11A, B). Probablemente, en estas condiciones (radiación UV-A y precipitación reducida), y solo al inicio de la

descomposición, exista un mayor efecto de la fotodegradación de la materia orgánica, con lo cual la comunidad fúngica pudo acceder a los sustratos más fácilmente (Baker et al. 2015), aunque esto no se reflejó en la pérdida de peso.

En *P. angustifolia*, el efecto observado de la radiación UV y la precipitación sobre el contenido inicial de N y la relación C:N de la hojarasca desapareció al final del proceso de descomposición (Tabla 3.7). Sin embargo, al finalizar el estudio se observó que la radiación UV-B redujo el contenido de fibra de la hojarasca de *P. angustifolia* especialmente en condiciones de sequía (Figura 3.9A). Esto coincide con trabajos previos en que se sugiere que bajo condiciones de sequía, los efectos de la fotodegradación son más evidentes (Smith et al. 2010; Barnes et al. 2015; Bornman et al. 2015; Almagro et al. 2017). Además, curiosamente se observó que la radiación UV-A también intervino en la fotodegradación, en este caso de la lignina y celulosa de la hojarasca de *P. angustifolia* (Tabla 3.7, Figura 3.9), independientemente del nivel de precipitación. En algunos trabajos realizados en campo, en bosques templados húmedos (Pieristè et al. 2019) o en condiciones controladas de laboratorio en especies de uso comercial (Li et al. 2016) se ha sugerido que la radiación UV-A tendría un papel importante en la fotodegradación, especialmente de la celulosa. De hecho, en un trabajo reciente realizado con 3 especies (una leñosa, un arbusto frutescente y una herbácea) propias de un ecosistema árido se sugiere que la radiación UV-A sería el principal impulsor de la fotodegradación abiótica (Day y Bliss 2019). No obstante, en otros trabajos, también realizados en ecosistemas áridos, solo se han encontrado pequeños efectos de la radiación UV-A sobre la lignina u otros compuestos, como la celulosa (Brandt et al. 2007, 2010; Day et al. 2007b; King et al. 2012). Esto sugiere que el grado de fotodegradación de la hojarasca debido a la radiación UV-A depende de la especie, y tiempo de descomposición (King et al. 2012). Por tanto, el efecto concreto de la radiación UV-B y UV-A en la fotodegradación de los compuestos recalcitrantes (fibra, lignina y celulosa) no están totalmente descritos, por lo cual se necesitan más estudios que examinen estos efectos no solo sobre el contenido de lignina sino también en su estructura química (Wang et al. 2015).

Por otro lado, también se observó un efecto interactivo entre la radiación UV-B y la precipitación sobre la actividad microbiana de la hojarasca de *P. angustifolia*, de forma que, bajo precipitación natural, la radiación UV-B limitó el aumento de la biomasa fúngica (Figura 3.11A) a lo largo del proceso de descomposición, lo que está de acuerdo con el efecto fotoinhibidor de la radiación UV-B sobre los hongos descrito en estudios previos (Caldwell et al. 2007; Barnes et al. 2015).

En la hojarasca de *P. angustifolia*, la precipitación también afectó el proceso de descomposición, de forma que, al finalizar el estudio, la sequía redujo la pérdida de peso de la hojarasca (Figura 3.14 C, D), lo cual también está de acuerdo con una mayor actividad de β -glucosidasa (Figura 3.12 A) y con la reducción de la constante de descomposición (k) de la hojarasca de esta especie bajo precipitación reducida (Tabla 3.11, Figura 3.14B). Estos resultados son los esperados pues, en la mayoría de trabajos se reportan tasas menores de descomposición cuando existe limitación de agua (LeRoy et al. 2014; Mora-Gómez et al. 2019). En concreto, en otros estudios realizados en la región Mediterránea se describió que la sequía redujo la tasa de descomposición de la hojarasca de especies herbáceas en un 34% (Almagro et al. 2015), al igual que en especies leñosas como el roble mediterráneo (Saura-Mas et al. 2012), principalmente en los primeros meses de descomposición debido a que los compuestos solubles se lixivian con más dificultad bajo condiciones de sequía.

4.10 Efectos directos de la radiación UV y/o de la precipitación sobre la descomposición de la hojarasca natural (pérdida de peso y actividad microbiana)

No se encontró ningún efecto de los tratamientos de radiación UV y/o precipitación sobre la calidad (Tabla 3.13) o la biomasa de microorganismos (Tabla 3.14) durante la descomposición de la hojarasca natural de *A. unedo*, observándose solo un efecto negativo de la radiación UV-B sobre la actividad β -glucosidasa al final del experimento (Figura 3.16A), aunque no se tradujo en una menor pérdida de peso

(Figura 3.17). En cambio, en *P. angustifolia*, los efectos de los tratamientos descritos estarían en línea con los descritos para la hojarasca pretratada. En concreto, la radiación UV-B promovió la degradación de la fibra en condiciones de precipitación natural (Figura 3.15A), y limitó la actividad extracelular de β -glucosidasa y de celobiohidrolasa (Figura 3.16D, E). Además, la sequía también disminuyó la actividad extracelular de la β -glucosidasa y de la celobiohidrolasa en la hojarasca natural, igual como se había comentado para la hojarasca pretratada. Por tanto, estos resultados indican que el factor especie es determinante en el proceso de descomposición, mientras que las condiciones ambientales en que se desarrollan las plantas pueden modular este proceso en determinadas especies, como sucede en el caso de *A. unedo* en este estudio.

4.11 Comparación de la descomposición de la hojarasca pretratada y la natural

Los resultados obtenidos al comparar el proceso de descomposición de la hojarasca pretratada y natural ponen de relieve que las condiciones ambientales en las que se desarrollan las plantas pueden afectar la calidad química de las hojas y, en consecuencia, alterar el proceso de descomposición, como se ha comentado en otros artículos (Barnes et al. 2015; Bornman et al. 2015). Así, la hojarasca de *A. unedo* y *P. angustifolia* recogida de las plantas que crecieron en condiciones naturales, es decir, con radiación UV ambiental y precipitación natural (Tabla 3.13), fue menos sensible a la fotodegradación que la hojarasca de las plantas pretratadas (Tabla 3.7), posiblemente por el elevado contenido de compuestos recalcitrantes difíciles de degradar, como lignina y celulosa, de las primeras (Zhou et al. 2018). Además, como ya se explicó en la sección 4.8, la hojarasca pretratada tuvo menor calidad, concretamente, menor contenido inicial de N (alta relación C:N) en comparación de la natural (Anexo 2), lo cual podría haber influido negativamente en la descomposición (Hewins et al. 2019; Prieto et al. 2019) al limitar la actividad microbiana (Santonja et al. 2015). De hecho, las comunidades microbianas suelen necesitar extraer fuentes externas de N (es decir, materia

orgánica del suelo) para poder degradar el material vegetal de baja calidad (Averill y Waring 2018). Los resultados anteriores estarían de acuerdo con el hecho de que la pérdida de peso en la hojarasca pretratada al finalizar el proceso de descomposición fue un 3% menor que la pérdida de peso de la hojarasca natural (Figura 3.18B). Estos resultados sugieren que, al menos en las primeras etapas de descomposición, el contenido de N inicial de la hojarasca podría ser más importante para determinar la pérdida de peso durante el proceso de descomposición que el contenido de compuestos recalcitrantes, ya que, al finalizar el estudio, la hojarasca pretratada se descompuso menos que la natural, a pesar de tener menor contenido de celulosa y lignina (Tabla 3.6, 3.12). Esto probablemente se deba a que en las primeras etapas de descomposición es más evidente la descomposición microbiana (Zhang et al. 2019), favorecida por un mayor contenido de N de la hojarasca natural, mientras que la degradación de la lignina, a través de la fotodegradación (Henry et al. 2008; King et al. 2012), se hace más evidente en las etapas avanzadas de la descomposición (Bornman et al. 2019). Aunque en la hojarasca pretratada, especialmente de *P. angustifolia*, se vio algún indicio de fotodegradación (Figura 3.9A, B), esto no se reflejó en la pérdida de peso (Figura 3.18B).

Las diferencias entre la hojarasca natural y la hojarasca proveniente de las parcelas con radiación UV ambiental (UVBA) y precipitación natural podrían atribuirse al diseño experimental en sí, es decir al efecto de los filtros y de la gestión del riego. En concreto, en *A. unedo* solo varió el contenido en C y en *P. angustifolia* el contenido en fibra, celulosa y celulosa (Anexo 4), no variando en ninguna de las dos especies el contenido en N, ni la relación C:N, parámetros que, como se ha visto, son determinantes en la descomposición de la hojarasca.

4.12 Efecto global de la radiación UV y precipitación sobre la pérdida de peso de la hojarasca de las dos especies

El análisis global de la pérdida de peso de la hojarasca (pretratada y natural) de las dos especies, no se observó una interacción entre el efecto de la radiación UV y el nivel de precipitación, al menos durante las primeras etapas del proceso de

descomposición estudiadas. Así, después de 347 días de descomposición se observó que la radiación UV-B, independientemente de la precipitación, ralentizó hasta el 5% la pérdida de peso de la hojarasca (Figura 3.19A). Según algunos estudios, la radiación UV-B tendría un efecto inhibitor de la descomposición a través de la limitación de la actividad microbiana (Duguay y Klironomos 2000; Pancotto et al. 2003). En nuestro estudio, esto estaría en consonancia, básicamente, con la disminución de la biomasa fúngica en la hojarasca de *P. angustifolia* pretratada (Figura 3.11B) y la inhibición de la actividad extracelular de algunas enzimas en la hojarasca natural de *A. unedo* y *P. angustifolia* (3.16A, D, E). En algunos trabajos se sugiere que en los ecosistemas forestales donde los descomponedores determinan la velocidad de descomposición, el efecto de la fotomineralización directa (fotodegradación) podría ser anulado por la capacidad de la radiación UV-B de inhibir la actividad microbiana (Pieristè et al. 2020). Además, las plantas que crecen en presencia de radiación UV-B tienden a acumular compuestos fenólicos en los tejidos vegetales como se ha visto en *A. unedo* (Verdaguer et al. 2018) para evitar que los fotones UV-B lleguen a moléculas sensibles en los tejidos interiores, y mantenerlos en la hojarasca, afectando negativamente la descomposición (Yue et al. 1998; Agati y Tattini 2010; Ballaré et al. 2011; Barnes et al. 2015). Sin embargo, en otros estudios se sugiere que la fotodegradación es un controlador importante de la descomposición de la hojarasca en ambientes semiáridos (Austin 2006; Bornman et al. 2015), como algunos de los ecosistemas mediterráneos (Baker et al. 2015). De hecho, en nuestro trabajo, aunque no es significativo, la hojarasca que se descompuso con radiación UV-A tendió a perder más peso que la que recibió radiación UV-B (Figura 3.19A). Esto estaría de acuerdo con la capacidad que se observó de la radiación UV-A para descomponer compuestos recalcitrantes como lignina y celulosa (Tabla 3.7, Figura 3.9B). Incluso en algún trabajo se ha sugerido que la radiación UV-A sería el principal impulsor de la fotodegradación abiótica (Day y Bliss 2019). La diferencia de nuestros resultados con los anteriormente publicados, probablemente sea debida a que la descomposición de estas dos especies esclerófilas mediterráneas (*A. unedo* y *P. angustifolia*) se encontraba en

las primeras etapas, y según Bornman et al. (2019), la descomposición de la hojarasca por fotodegradación solo se hace evidente en etapas avanzadas del proceso de descomposición. Por tanto, un estudio de mayor duración (al menos dos años) hubiese sido necesario para comprender mejor los efectos de la radiación UV-B y UV-A en la descomposición.

Por otro lado, como era de esperar, el tratamiento de sequía también ralentizó la pérdida de peso de la hojarasca de las dos especies (concretamente en un 5%) después de 347 días de descomposición (Figura 3.19B). Esta reducción en la pérdida de peso es inferior a la encontrada en otros estudios realizados en especies mediterráneas. Concretamente, en los primeros meses de descomposición, la sequía redujo la tasas de descomposición de la hojarasca de diferentes arbustos en un 18% (Prieto et al. 2019) y de especies herbáceas perennes en un 34% (Almagro et al. 2015).

Probablemente, las diferencias entre estudios se deban a que, como se ha dicho, las tasas de descomposición dependen de la especie de la que proviene la hojarasca de las condiciones ambientales en las que las plantas se desarrollan y los factores ambientales que intervienen en el proceso de descomposición. Por otro lado, el efecto de la sequía podría ser más significativo en fases más avanzadas del proceso de descomposición, pues, como ya se ha comentado, la degradación de la hojarasca se encontraba en las primeras fases.

4.13 Discusión general

Las plantas, entre ellas las especies mediterráneas, generalmente, responden a las variaciones en los niveles de radiación UV (Bornman et al. 2019) y disponibilidad hídrica (Caser et al. 2019) a través de cambios bioquímicos y fisiológicos. En el presente estudio, las respuestas de aclimatación de las plantas de *E. scoparia* a la radiación UV-A y UV-B fueron diferentes y estuvieron moduladas por la precipitación, lo cual coincide con estudios previos realizados con otras especies mediterráneas, como *Arbutus unedo*, *Quercus suber* o *P. angustifolia* (Nenadis et al.

2015; Verdaguer et al. 2018; Díaz-Guerra et al. 2019). A nivel reproductivo, las plantas de *E. scoparia* expuestas a la combinación de radiación UV-B y condiciones más secas desarrollaron flores más pequeñas, probablemente para reducir el área de exposición a la radiación UV, por otro lado, la construcción y el mantenimiento de las flores requiere agua y carbohidratos, (Wu et al. 2017), lo cual sugiere que la sequía también podría haber limitado el desarrollo de las flores de *E. scoparia*. Esta reducción del tamaño de las flores en respuesta al estrés producido por la radiación UV-B y déficit hídrico podría también afectar la polinización (Essenberg 2012; Barbir et al. 2014; Llorens et al. 2015) comprometiendo su reproducción. A nivel bioquímico, cuando las plantas de *E. scoparia* crecieron expuestas a radiación UV-A bajo precipitación reducida incrementaron el contenido foliar de carotenoides, probablemente para proteger el aparato fotosintético (Joshi et al. 2007; Verdaguer et al. 2017). En cambio, al crecer expuestas a la radiación UV-B y precipitación reducida incrementaron el contenido en compuestos absorbentes de la radiación UV-A (UAC_{UV-A}), probablemente flavonoides, debido a su capacidad para actuar como antioxidantes y contrarrestar así el posible estrés inducido por la combinación de radiación UV-B y sequía (Grifoni et al. 2016). Estas respuestas a nivel foliar de las plantas, podrían afectar de forma indirecta las características bioquímicas de los frutos (Jordan 2017), además del efecto directo que puede ejercer la radiación UV sobre estas características (Solovchenko y Schmitz-Eiberger 2003; Berli et al. 2008, 2011; Matus et al. 2009; Jug y Rusjan 2012; Marfil et al. 2019). Sin embargo, en nuestro estudio del perfil fenólico de las drupas de *Prunus spinosa*, no se observaron variaciones significativas en la concentración de flavonoides y ácidos hidroxycinámicos cuando los frutos maduraron bajo distintas condiciones de radiación UV. Por tanto, no se observó un efecto directo de la radiación UV sobre la composición de fenoles de las drupas de *P. spinosa*, aunque no se puede descartar un efecto indirecto en caso de que las plantas hubiesen crecido expuestas a las distintas condiciones de radiación UV. Por otro lado, la radiación UV también puede afectar al proceso de descomposición de la hojarasca de forma directa o bien

de forma indirecta a través de la modificación de las características bioquímicas de las hojas (Barnes et al. 2015; Bornman et al. 2015). En el presente estudio, la radiación UV-A afectó la descomposición de forma indirecta, al disminuir la calidad de la hojarasca, concretamente su contenido en N (relación C:N elevada), efecto que fue intensificado por la sequía y que se tradujo en una reducción de la pérdida de peso al final del periodo de descomposición estudiado. La radiación UV-B, en cambio, disminuyó de forma directa la descomposición de la hojarasca debido a su efecto inhibitorio de la actividad microbiana (Duguay y Klironomos 2000; Pancotto et al. 2003). La radiación UV-A también tuvo un efecto directo sobre la descomposición de la hojarasca al estimular la fotodegradación de la celulosa y la lignina, lo que explicaría la tendencia a acelerar la pérdida de peso durante el proceso de descomposición observada, especialmente, en la hojarasca con un menor contenido de compuestos recalcitrantes, como la lignina. Aunque en anteriores estudios ya se sugirió que la radiación UV-A puede tener un efecto importante en la degradación de la hojarasca (Brandt et al. 2007, 2010; King et al. 2012; Day y Bliss 2019; Pieristè et al. 2019), hasta donde conocemos, este sería uno de los pocos trabajos realizados en especies esclerófilas mediterráneas que distingue los efectos de la radiación UV-A y UV-B sobre la descomposición de la hojarasca en ecosistemas forestales naturales.

En resumen se podría decir que al igual que se ha observado en otras especies mediterráneas (Paoletti 2005; Bussotti et al. 2014; Verdaguer et al. 2018; Díaz-Guerra et al. 2019), *E. scoparia* y *P. spinosa* son especies altamente adaptadas a las condiciones climáticas mediterráneas, habiendo desarrollado diferentes estrategias bioquímicas y fisiológicas para hacer frente a la radiación UV-B y UV-A ambiental, muchas de las cuales estarían moduladas por la disponibilidad hídrica. Sin embargo, un incremento en la radiación UV combinado con una intensificación de la sequía podría, en un futuro, tener implicaciones sobre el desarrollo de las plantas y su capacidad competitiva, lo cual podría acabar afectando el funcionamiento del ecosistema. Por ejemplo, en el caso de *E. scoparia*, la reducción

en el tamaño de sus flores cuando las plantas crecieron expuestas a la radiación UV-B junto con una menor disponibilidad hídrica no pareció verse compensada por una mayor producción de flores, lo cual podría afectar la polinización de las flores y limitar, a la larga, la reproducción de las plantas, comprometiendo la supervivencia de la especie (Llorens y Peñuelas 2005). Otro proceso importante que podría verse considerablemente afectado por el cambio climático es el ciclo del carbono, del nitrógeno y de otros elementos esenciales, concretamente en su incorporación en el suelo. Por un lado, debido a una posible reducción de las tasas de descomposición de la hojarasca al aumentar la radiación UV-B y la sequía, principalmente en las especies con un contenido foliar mayor de compuestos recalcitrantes (menor calidad de la hojarasca), y, por otro lado, a un efecto estimulador de la fotodegradación de la hojarasca al aumentar la radiación UV-A. Este efecto estimulador de la fotodegradación podría modificar sustancialmente los flujos de carbono al acelerar su retorno a la atmósfera (King et al. 2012). El retorno de carbono a la atmósfera se daría principalmente a través de la producción abiótica de dióxido de carbono (Brandt et al. 2009), monóxido de carbono y metano (McLeod et al. 2008), especialmente en regiones semiáridas (King et al. 2012) como en muchas zonas del Mediterráneo. Sin embargo, el efecto neto de la radiación UV sobre la descomposición de la hojarasca de las especies mediterráneas estudiadas dependerá del balance neto entre el efecto inhibitorio de la radiación UV-B y el efecto estimulador de la radiación UV-A bajo condiciones más secas.

Capítulo V

Conclusiones

Estudio del efecto de la radiación UV y la disponibilidad de agua sobre las características bioquímicas y fisiológicas de las hojas de *Erica scoparia*, así como sobre su floración.

- ~ La mayor parte de los efectos de los tratamientos de radiación UV y precipitación sobre los parámetros bioquímicos y fisiológicos analizados fueron sensibles a los cambios en las condiciones ambientales estacionales.
- ~ Las hojas de las plantas *E. scoparia* muestran diferentes estrategias bioquímicas para hacer frente a la radiación UV-B y UV-A, y dichas respuestas están moduladas por el nivel de precipitación. En condiciones de déficit hídrico, el sistema de defensa de la planta para protegerse de la radiación UV-A estaría basado en la acumulación de pigmentos fotosintéticos, especialmente carotenoides, mientras que para hacer frente a la radiación UV-B, la defensa estaría dirigida a incrementar el contenido foliar de UAC_{UV-A} .
- ~ Las respuestas fisiológicas de las hojas de *E. scoparia* a la reducción de la disponibilidad hídrica sugieren que dicha especie desarrollaría una estrategia evitadora de la sequía, consistente en cerrar los estomas y disminuir la transpiración, a pesar de comprometer la asimilación de carbono, en la estación más seca y calurosa, el verano.
- ~ Los parámetros fisiológicos y bioquímicos de las hojas de *E. scoparia* son más sensibles a la radiación UV-A y dependen en gran medida de las condiciones ambientales estacionales, mientras que los parámetros relacionados con la floración, concretamente con el tamaño de la flor, son más sensibles al efecto de la radiación UV-B. Sin embargo, en la mayoría de los casos, estos efectos son función del nivel de precipitación.

- ~ La radiación UV-B y la baja disponibilidad hídrica tienen un papel sinérgico sobre el tamaño floral, reduciéndolo, lo cual en un futuro podría afectar la polinización de esta especie.

Evaluación de la composición fenólica y actividad antioxidante de frutos de *Prunus spinosa* madurados bajo diferentes niveles de radiación UV

- ~ El perfil fenólico de los frutos maduros de *P. spinosa* difiere según se trate de la piel o de la pulpa. En la piel, la diversidad y el contenido de flavonoles (quercetinas y kaempferoles) es superior que, en la pulpa, mientras que los antocianos solo se han detectado en la piel. No obstante, en ambas fracciones (piel y pulpa) los compuestos fenólicos predominantes son los ácidos hidroxicinámicos.
- ~ El contenido y la naturaleza de los fenoles descritos en los frutos maduros de *P. spinosa* es insensible a las distintas condiciones de radiación UV ensayadas en este estudio, posiblemente por ser una especie mediterránea con altos niveles constitutivos de estos compuestos.
- ~ La actividad antioxidante de los frutos maduros de *P. spinosa*, tanto de la piel como de la pulpa, dependería básicamente del contenido de ácidos hidroxicinámicos, y no del contenido de flavonoles. La maduración de los frutos bajo radiación UV-A o UV ambiental favorecería la relación entre los ácidos hidroxicinámicos y la actividad antioxidante de los frutos.
- ~ Un contenido elevado de ácidos hidroxicinámicos en la pulpa de los frutos maduros de *P. spinosa* podría comprometer la acumulación de flavonoles en la piel de dichos frutos.

Estudio del proceso de descomposición de la hojarasca de *Arbutus unedo* y *Phillyrea angustifolia* bajo diferentes niveles de radiación UV y precipitación.

- ~ Los resultados de este trabajo refuerzan la idea de que la descomposición de las hojas es un proceso que depende de la especie y de sus características

químicas. Así, se descompondría más rápidamente, al menos al principio del proceso, la hojarasca con un menor contenido de compuestos recalcitrantes y con un contenido en N suficiente para cubrir la demanda microbiana, como sería el caso de *P. angustifolia*. Además, este mismo patrón especie-dependiente lo seguirían los microorganismos con la producción de enzimas específicos dependiendo de la calidad de la hojarasca.

- ~ La radiación UV-A tiene dos efectos sobre el proceso de descomposición: el primero sería un efecto indirecto negativo, ya que, conjuntamente con la sequía, disminuye la calidad inicial de la hojarasca (reduce el N e incrementa la relación C:N), lo cual reduce la pérdida de peso y, posiblemente, altera el ciclo del N del ecosistema al quedar inmovilizado el N en la hojarasca. El segundo, sería un efecto directo, modulado positivamente por la sequía, sobre la fotodegradación de compuestos recalcitrantes, como la celulosa y la lignina, lo cual acelera la pérdida de peso, al menos durante los primeros meses del proceso de descomposición. Los dos efectos estarían modulados también por el contenido de compuestos recalcitrantes en la hojarasca.
- ~ En la hojarasca de *A. unedo* y *P. angustifolia*, la radiación UV-B tiene un efecto inhibitorio de la actividad de los microorganismos y de su capacidad de producir enzimas necesarias para la descomposición.
- ~ Los resultados obtenidos indican que el factor especie es determinante en el proceso de descomposición, si bien las condiciones ambientales en que crecen las plantas modularían este proceso.
- ~ Considerando los escenarios futuros de cambio climático en la Cuenca del Mediterráneo, el incremento de la radiación UV-B y la sequía reducirían las tasas de descomposición de la hojarasca, principalmente en las especies con un mayor contenido de compuestos recalcitrantes (menor calidad). A la vez, el incremento de la radiación UV-A podría favorecer la fotodegradación de la hojarasca, lo cual podría modificar sustancialmente los flujos de carbono. Sin embargo, el resultado final dependerá del balance entre ambos efectos.

Referencias

- Adams DO (2006) Phenolics and ripening in grape berries. *Am J Enol Vitic* 57:249-256.
- Aerts R (1995) The advantages of being evergreen. *Trends Ecol Evol* 10:402-407.
- Agati G, Tattini M (2010) Multiple functional roles of flavonoids in photoprotection. *New Phytol* 186:786-793.
- Alexieva V, Sergiev I, Mapelli S, Karanov E (2001) The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell Environ* 24:1337-1344.
- Allison SD, Lu Y, Weihe C, et al (2013) Microbial abundance and composition influence litter decomposition response to environmental change. *Ecology* 94:714-725.
- Almagro M, Maestre FT, Martínez-López J, et al (2015) Climate change may reduce litter decomposition while enhancing the contribution of photodegradation in dry perennial Mediterranean grasslands. *Soil Biol Biochem* 90:214-223.
- Almagro M, Martínez-López J, Maestre FT, Rey A (2017) The Contribution of Photodegradation to Litter Decomposition in Semiarid Mediterranean Grasslands Depends on its Interaction with Local Humidity Conditions, Litter Quality and Position. *Ecosystems* 20:527-542.
- Alonso R, Berli FJ, Piccoli P, Bottini R (2016) Ultraviolet-B radiation, water deficit and abscisic acid: a review of independent and interactive effects on grapevines. *Theor Exp Plant Physiol* 28:11-22.
- Altieri S, Mereu S, Cherubini P, et al (2015) Tree-ring carbon and oxygen isotopes indicate different water use strategies in three Mediterranean shrubs at Capo Caccia (Sardinia, Italy). *Trees - Struct Funct* 29:1593-1603.
- Amalfitano S, Fazi S (2008) Recovery and quantification of bacterial cells associated with streambed sediments. *J Microbiol Methods* 75:237-243. 4

- Amalfitano S, Stefano F, Puddu A (2009) Flow cytometric analysis of benthic prokaryotes attached to sediment particles. *J Microbiol Methods* 79:246-249.
- Arnosti C, Bell C, Moorhead DL, et al (2014) Extracellular enzymes in terrestrial, freshwater, and marine environments: Perspectives on system variability and common research needs. *Biogeochemistry* 117:5-21.
- Ashraf M, Harris PJC (2013) Photosynthesis under stressful environments: An overview. *Photosynthetica* 51:163-190.
- Askari-Khorasgani O, Pessarakli M (2019) Fruit quality and nutrient composition of grapevines: a review. *J Plant Nutr* 42:2133-2150.
- Austin AT (2006) Plant litter decomposition in a semi-arid ecosystem controlled by photodegradation. *Nature* 442:555-558.
- Austin AT, Ballaré CL (2010) Dual role of lignin in plant litter decomposition in terrestrial ecosystems. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107:4618-4622.
- Austin AT, Méndez MS, Ballaré CL (2016) Photodegradation alleviates the lignin bottleneck for carbon turnover in terrestrial ecosystems. *Proc Natl Acad Sci* 113:4392-4397.
- Averill C, Waring B (2018) Nitrogen limitation of decomposition and decay: How can it occur? *Glob Chang Biol* 24:1417-1427.
- Bais AF, Bernhard G, McKenzie RL, et al (2019) Ozone-climate interactions and effects on solar ultraviolet radiation. *Photochem Photobiol Sci* 18:602-640.
- Bais AF, McKenzie RL, Bernhard G, et al (2015) Ozone depletion and climate change: Impacts on UV radiation. *Photochem Photobiol Sci* 14:19-52.
- Baker NR, Allison SD, Frey SD (2015) Ultraviolet photodegradation facilitates microbial litter decomposition in a Mediterranean climate. *Ecology* 96:1994-2003.
- Baldy V, Gessner M. (2002) Towards a budget of leaf litter decomposition in a first-order woodland stream. *Comptes Rendus l'Académie des Sci - Ser III - Sci la Vie* 320:747-758.
- Ballaré CL, Caldwell MM, Flint SD, et al (2011) Effects of solar ultraviolet radiation on terrestrial ecosystems. Patterns, mechanisms, and interactions

- with climate change. *Photochem Photobiol Sci* 10:226-241.
- Barbir J, Dorado J, Fernández-Quintanilla C, et al (2014) Wild rocket - effect of water deficit on growth, flowering, and attractiveness to pollinators. *Acta Agric Scand Sect B Soil Plant Sci* 64:482-492.
- Bärlocher F (2005) Leaching. En: Graça MAS, Bärlocher F, Gessner MO (eds) *Methods to Study Litter Decomposition: A Practical Guide*. Springer, The Netherlands, p 329.
- Bärlocher F, Boddy L (2016) Aquatic fungal ecology - How does it differ from terrestrial? *Fungal Ecol* 19:5-13.
- Barnes PW, Throop HL, Archer SR, et al (2015) Sunlight and Soil–Litter Mixing: Drivers of Litter Decomposition in Drylands. En: Lüttge U, Beyschlag W (eds) *Progress in Botany*. Springer, Germany, pp 273-302.
- Barnes PW, Williamson CE, Lucas RM, et al (2019) Ozone depletion, ultraviolet radiation, climate change and prospects for a sustainable future. *Nat Sustain* 2:569-579.
- Barros L, Carvalho AM, Morais JS, Ferreira ICFR (2010) Strawberry-tree, blackthorn and rose fruits: Detailed characterisation in nutrients and phytochemicals with antioxidant properties. *Food Chem* 120:247-254.
- Becatti E, Petroni K, Giuntini D, et al (2009) Solar UV-B radiation influences carotenoid accumulation of tomato fruit through both ethylene-dependent and independent mechanisms. *J Agric Food Chem* 57:10979-10989.
- Beck CB (2010) *An introduction to plant structure and development: plant anatomy for the twenty-first century, Second*. Cambridge University Press, Cambridge, UK
- Beggs CJ, Wellmann E (1994) Photocontrol of flavonoid biosynthesis. En: Kendrick RE, Kronenberg GHM (eds) *Photomorphogenesis in Plants, Second Edi*. Kluwer Academic Publishers, pp 733-751.
- Berg B, Davey MP, de Marco A, et al (2010) Factors influencing limit values for pine needle litter decomposition: A synthesis for boreal and temperate pine forest systems. *Biogeochemistry* 100:57-73.

- Berg B, McClaugherty C (2014) *Plant Litter*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg
- Berli F, D'Angelo J, Cavagnaro B, et al (2008) Phenolic composition in grape (*Vitis vinifera* L. cv. Malbec) ripened with different solar UV-B radiation levels by capillary zone electrophoresis. *J Agric Food Chem* 56:2892-2898.
- Berli FJ, Alonso R, Beltrano J, Bottini R (2015) High-altitude solar UV-B and abscisic acid sprays increase grape berry antioxidant capacity. *Am J Enol Vitic* 66:65-72.
- Berli FJ, Fanzone M, Piccoli P, Bottini R (2011) Solar UV-B and ABA Are Involved in Phenol Metabolism of *Vitis vinifera* L. Increasing Biosynthesis of Berry Skin Polyphenols. *J Agric Food Chem* 59:4874-4884.
- Bernal M, Llorens L, Badosa J, Verdaguer D (2013) Interactive effects of UV radiation and water availability on seedlings of six woody Mediterranean species. *Physiol Plant* 147:234-247.
- Bernal M, Verdaguer D, Badosa J, et al (2015) Effects of enhanced UV radiation and water availability on performance, biomass production and photoprotective mechanisms of *Laurus nobilis* seedlings. *Environ Exp Bot* 109:264-275.
- Biever JJ, Gardner G (2016) The relationship between multiple UV-B perception mechanisms and DNA repair pathways in plants. *Environ Exp Bot* 124:89-99.
- Boddy L, Watkinson SC (1995) Wood decomposition, higher fungi, and their role in nutrient redistribution. *Can J Bot* 73:S1377-S1383.
- Boer W, Folman LB, Summerbell RC, Boddy L (2005) Living in a fungal world: Impact of fungi on soil bacterial niche development. *FEMS Microbiol Rev* 29:795-811.
- Bokhorst S, Wardle DA (2013) Microclimate within litter bags of different mesh size: Implications for the «arthropod effect» on litter decomposition. *Soil Biol Biochem* 58:147-152.
- Borghi M, Perez de Souza L, Yoshida T, Fernie AR (2019) Flowers and climate change: a metabolic perspective. *New Phytol* 224:1425-1441.

- Bornman JF, Barnes PW, Robinson SA, et al (2015) Solar ultraviolet radiation and ozone depletion- ecosystems. 88-107.
- Bornman JF, Barnes PW, Robson TM, et al (2019) Linkages between stratospheric ozone, UV radiation and climate change and their implications for terrestrial ecosystems. *Photochem Photobiol Sci* 18:681-716.
- Boss PK, Davies C, Robinson SP (1996) Analysis of the Expression of Anthocyanin Pathway Genes. *Plant Physiol* 111:1059-1066.
- Braidot E, Zancani M, Petrusa E, et al (2008) Transport and accumulation of flavonoids in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Plant Signal Behav* 3:626-632.
- Brand WA, Coplen TB, Vogl J, et al (2014) Assessment of international reference materials for isotope-ratio analysis (IUPAC technical report). *Pure Appl Chem* 86:425-467.
- Brandt LA, Bonnet C, King JY (2009) Photochemically induced carbon dioxide production as a mechanism for carbon loss from plant litter in arid ecosystems. *J Geophys Res Biogeosciences* 114:1-13.
- Brandt LA, King JY, Hobbie SE, et al (2010) The role of photodegradation in surface litter decomposition across a grassland ecosystem precipitation gradient. *Ecosystems* 13:765-781.
- Brandt LA, King JY, Milchunas DG (2007) Effects of ultraviolet radiation on litter decomposition depend on precipitation and litter chemistry in a shortgrass steppe ecosystem. *Glob Chang Biol* 13:2193-2205.
- Bratbak G, Dundas I (1984) Bacterial dry matter content and biomass estimations. *Appl Environ Microbiol* 48:755-7
- Burchard P, Bilger W, Weissenböck G (2000) Contribution of hydroxycinnamates and flavonoids to, epidermal shielding of UV-A and UV-B radiation in developing rye primary leaves as assessed by ultraviolet-induced chlorophyll fluorescence measurements. *Plant, Cell Environ* 23:1373-1380.
- Bussotti F, Ferrini F, Pollastrini M, Fini A (2014) The challenge of Mediterranean sclerophyllous vegetation under climate change: From acclimation to adaptation. *Environ Exp Bot* 103:80-98.

- Calbó J, Pagès D, González J-A (2005) Empirical studies of cloud effects on UV radiation: A review. *Rev Geophys* 43:RG2002.
- Caldwell MM (1971) Solar UV irradiation and the growth and the development of higher plants. *Photophysiology* 131-177.
- Caldwell MM (1968) Solar Ultraviolet Radiation as an Ecological Factor for Alpine Plants. *Ecol Monogr* 38:243-268.
- Caldwell MM, Bornman JF, Ballaré CL, et al (2007) Terrestrial ecosystems, increased solar ultraviolet radiation, and interactions with other climate change factors. *Photochem Photobiol Sci* 6:252-266.
- Caser M, Chitarra W, D'Angiolillo F, et al (2019) Drought stress adaptation modulates plant secondary metabolite production in *Salvia dolomitica* Codd. *Ind Crops Prod* 129:85-96.
- Castellarin SD, Di Gaspero G, Marconi R, et al (2006) Colour variation in red grapevines (*Vitis vinifera* L.): Genomic organisation, expression of flavonoid 3'-hydroxylase, flavonoid 3',5'-hydroxylase genes and related metabolite profiling of red cyanidin-/blue delphinidin-based anthocyanins in berry skin. *BMC Genomics* 7:1-17.
- Close D, McArthur C, Paterson S, et al (2003) Photoinhibition: A link between effects of the environment on eucalypt leaf chemistry and herbivory. *Ecology* 84:2952-2966.
- Conde C, Delrot S, Gerós H (2008) Physiological, biochemical and molecular changes occurring during olive development and ripening. *J Plant Physiol* 165:1545-1562.
- Cornejo FH, Varela A, Wright SJ (1994) Tropical Forest Litter Decomposition under Seasonal Drought: Nutrient Release, Fungi and Bacteria. *Oikos* 70:183.
- Cortez J, Garnier E, Pérez-Harguindeguy N, et al (2007) Plant traits, litter quality and decomposition in a Mediterranean old-field succession. *Plant Soil* 296:19-34.
- Cosmulescu S, Trandafir I, Nour V (2017) Phenolic acids and flavonoids profiles of extracts from edible wild fruits and their antioxidant properties. *Int J Food*

Prop 20:3124-3134.

- Couteaux MM, Bottner P, Berg B (1995) Litter Decomposition, Climate and Litter Quality. *Trends Ecol Evol* 10:63-66.
- Craine JM, Elmore AJ, Aida MPM, et al (2009) Global patterns of foliar nitrogen isotopes and their relationships with climate, mycorrhizal fungi, foliar nutrient concentrations, and nitrogen availability. *New Phytol* 183:980-992.
- Day TA, Bliss MS (2019) A spectral weighting function for abiotic photodegradation based on photochemical emission of CO₂ from leaf litter in sunlight. *Biogeochemistry* 146:173-190.
- Day TA, Zhang ET, Ruhland CT (2007a) Exposure to solar UV-B radiation accelerates mass and lignin loss of *Larrea tridentata* litter in the Sonoran Desert. *Plant Ecol* 193:185-194.
- Day TA, Zhang ET, Ruhland CT (2007b) Exposure to solar UV-B radiation accelerates mass and lignin loss of *Larrea tridentata* litter in the Sonoran Desert. *Plant Ecol* 193:185-194.
- de la Rosa LA, Alvarez-Parrilla E, González-Aguilar GA (2010) Fruit and vegetable phytochemicals: Chemistry, nutritional value, and stability. Blackwell Publishing, Iowa, USA, p 367.
- Del-Castillo-Alonso MÁ, Castagna A, Csepregi K, et al (2016a) Environmental Factors Correlated with the Metabolite Profile of *Vitis vinifera* cv. Pinot Noir Berry Skins along a European Latitudinal Gradient. *J Agric Food Chem* 64:8722-8734.
- Del-Castillo-Alonso MÁ, Diago MP, Monforte L, et al (2014) Effects of UV exclusion on the physiology and phenolic composition of leaves and berries of *Vitis vinifera* cv. Graciano. *J Sci Food Agric* 95:409-416.
- Del-Castillo-Alonso MÁ, Diago MP, Tomás-Las-Heras R, et al (2016b) Effects of ambient solar UV radiation on grapevine leaf physiology and berry phenolic composition along one entire season under Mediterranean field conditions. *Plant Physiol Biochem* 109:374-386.
- Del-Castillo-Alonso MÁ, Monforte L, Tomás-Las-Heras R, et al (2019) Phenolic

- characteristics acquired by berry skins of *Vitis vinifera* cv. Tempranillo in response to close-to-ambient solar ultraviolet radiation are mostly reflected in the resulting wines. *J Sci Food Agric* 100:401-409.
- Demmig-Adams B (1990) Carotenoids and photoprotection in plants: A role for the xanthophyll zeaxanthin. *BBA - Bioenerg* 1020:1-24.
- Demmig-Adams B, Ebbert V, Mellman DL, et al (2006) Modulation of PsbS and flexible vs sustained energy dissipation by light environment in different species. *Physiol Plant* 127:670-680.
- Díaz-Guerra L, Llorens L, Julkunen-Tiitto R, et al (2019) Leaf biochemical adjustments in two Mediterranean resprouter species facing enhanced UV levels and reduced water availability before and after aerial biomass removal. *Plant Physiol Biochem* 137:130-143.
- Díaz-Guerra L, Verdaguer D, Gispert M, et al (2018) Effects of UV radiation and rainfall reduction on leaf and soil parameters related to C and N cycles of a Mediterranean shrubland before and after a controlled fire. *Plant Soil* 424:503-524.
- Dickinson CH, Pugh GJF (1975) *Biology of Plant Litter Decomposition*. Academic Press INC. (London) LTD., London, p 142.
- Dirks I, Navon Y, Kanas D, et al (2010) Atmospheric water vapor as driver of litter decomposition in Mediterranean shrubland and grassland during rainless seasons. *Glob Chang Biol* 16:2799-2812.
- Duguay KJ, Klironomos JN (2000) Direct and indirect effects of enhanced UV-B radiation on the decomposing and competitive abilities of saprobic fungi. *Appl Soil Ecol* 14:157-164.
- Essenberg CJ (2012) Explaining variation in the effect of floral density on pollinator visitation. *Am Nat* 180:153-166. <https://doi.org/10.1086/666610>
- Flint SD, Caldwell MM (2003) A biological spectral weighting function for ozone depletion research with higher plants. *Physiol Plant* 117:137-144.
- Gallardo A, Merino J (1993) Leaf decomposition in two Mediterranean ecosystems of southwest Spain: influence of substrate quality. *Ecology* 74:152-161.

- Gallo ME, Porras-Alfaro A, Odenbach KJ, Sinsabaugh RL (2009) Photoacceleration of plant litter decomposition in an arid environment. *Soil Biol Biochem* 41:1433-1441.
- Gallo ME, Sinsabaugh RL, Cabaniss SE (2006) The role of ultraviolet radiation in litter decomposition in arid ecosystems. *Appl Soil Ecol* 34:82-91.
- Gao J, Han H, Kang F (2019) Factors controlling decomposition rates of needle litter across a chronosequence of Chinese pine (*Pinus tabulaeformis* Carr.) forests. *Polish J Environ Stud* 28:91-102.
- Gargallo-Garriga A, Sardans J, Pérez-Trujillo M, et al (2015) Warming differentially influences the effects of drought on stoichiometry and metabolomics in shoots and roots. *New Phytol* 207:591-603.
- Gaxiola A, Armesto JJ (2015) Understanding litter decomposition in semiarid ecosystems: linking leaf traits, UV exposure and rainfall variability. *Front Plant Sci* 6:1-9.
- German DP, Marcelo KRB, Stone MM, Allison SD (2012) The Michaelis-Menten kinetics of soil extracellular enzymes in response to temperature: A cross-latitudinal study. *Glob Chang Biol* 18:1468-1479.
- Gessner MO (2005a) Proximate Lignin and Cellulose. En: Graça MA, Bärlocher F, Gessner MO (eds) *Methods to Study Litter Decomposition*. Springer, Dordrecht, Berlin/Heidelberg, pp 115-120.
- Gessner MO (2005b) Ergosterol as a Measure of Fungal Biomass. En: Graça MA, Bärlocher F, Gessner MO (eds) *Methods to Study Litter Decomposition*. Springer, Dordrecht, Dordrecht, pp 189-195.
- Gessner MO, Chauvet E (1993) Ergosterol-to-Biomass Conversion Factors for Aquatic Hyphomycetes. *Appl Environ Microbiol* 59:502-7.
- Gessner MO, Chauvet E (1994) Importance of Stream Microfungi in Controlling Breakdown Rates of Leaf Litter Stable URL : <http://www.jstor.org/stable/1939639> . Importance of stream microfungi I. *Ecol Soc Am* 75:1807-1817
- Gessner MO, Newell SY (2002) Biomass, growth rate, and production of

- filamentous fungi in plant litter. En: Christon HJ (ed) Manual of environmental microbiology. ASM Press, pp 390-408.
- Gessner MO, Swan CM, Dang CK, et al (2010) Diversity meets decomposition. *Trends Ecol Evol* 25:372-380.
- Gillaspy G, Ben-David H, Gruissem W (1993) Fruits: a developmental perspective. *Plant Cell* 5:1439-1455.
- Giuntini D, Graziani G, Lercari B, et al (2005) Changes in carotenoid and ascorbic acid contents in fruits of different tomato genotypes related to the depletion of UV-B radiation. *J Agric Food Chem* 53:3174-3181.
- Gliksman D, Navon Y, Dumbur R, et al (2018) Higher rates of decomposition in standing vs. surface litter in a Mediterranean ecosystem during the dry and the wet seasons. *Plant Soil* 428:427-439.
- Gonzalez de Mejia E, Zhang Q, Penta K, et al (2020) The Colors of Health: Chemistry, Bioactivity, and Market Demand for Colorful Foods and Natural Food Sources of Colorants. *Annu Rev Food Sci Technol* 11:145-182.
- Graça MAS, Bärlocher F, Gessner MO (2005) Methods to study litter decomposition: A practical guide. Springer, New York :
- Gratani L, Catoni R, Varone L (2016) Evergreen species response to mediterranean climate stress factors. *IForest* 9:946-953.
- Gregan SM, Wargent JJ, Liu L, et al (2012) Effects of solar ultraviolet radiation and canopy manipulation on the biochemical composition of Sauvignon Blanc grapes. *Aust J Grape Wine Res* 18:227-238.
- Grifoni D, Agati G, Bussotti F, et al (2016) Different responses of *Arbutus unedo* and *Vitis vinifera* leaves to UV filtration and subsequent exposure to solar radiation. *Environ Exp Bot* 128:1-10.
- Grotewold E (2006) The genetics and biochemistry of floral pigments. *Annu Rev Plant Biol* 57:761-780.
- Guimarães R, Barros L, Dueñas M, et al (2013) Characterisation of phenolic compounds in wild fruits from Northeastern Portugal. *Food Chem* 141:3721-3730.

- Gutián J, Gutián P, Sánchez JM (1993) Reproductive biology of two *Prunus* species (Rosaceae) in the Northwest Iberian Peninsula. *Plant Syst Evol* 185:153-165.
- Hagen SF, Borge GIA, Bengtsson GB, et al (2007) Phenolic contents and other health and sensory related properties of apple fruit (*Malus domestica* Borkh., cv. Aroma): Effect of postharvest UV-B irradiation. *Postharvest Biol Technol* 45:1-10.
- Haminiuk CWI, Maciel GM, Plata-Oviedo MSV, Peralta RM (2012) Phenolic compounds in fruits - an overview. *Int J Food Sci Technol* 47:2023-2044.
- Henry HAL, Brizgys K, Field CB (2008) Litter decomposition in a California annual grassland: Interactions between photodegradation and litter layer thickness. *Ecosystems* 11:545-554.
- Herrera J (1987) Biología reproductiva de algunas especies del matorral de Doñana. *An del Jardín Botánico Madrid* 44:483-497.
- Hewins DB, Id HL, Barnes PW, et al (2019) Early exposure to UV radiation overshadowed by precipitation and litter quality as drivers of decomposition in the northern Chihuahuan Desert. 1-14.
- Hewins DB, Sinsabaugh RL, Archer SR, Throop HL (2017) Soil–litter mixing and microbial activity mediate decomposition and soil aggregate formation in a sandy shrub-invaded Chihuahuan Desert grassland. *Plant Ecol* 218:459-474.
- Hideg É, Jansen MAK, Strid Å (2013) UV-B exposure, ROS, and stress: Inseparable companions or loosely linked associates? *Trends Plant Sci* 18:107-115.
- Hofmann RW, Campbell BD, Bloor SJ, et al (2003) Responses to UV-B radiation in *Trifolium repens* L. - Physiological links to plant productivity and water availability. *Plant, Cell Environ* 26:603-612.
- Hole FD (1981) Effects of animals on soil. *Geoderma* 25:75-112.
- Hollósy F (2002) Effects of ultraviolet radiation on plant cells. *Micron* 33:179-197.
- Hwang K, Susila H, Nasim Z, et al (2019) Arabidopsis ABF3 and ABF4 Transcription Factors Act with the NF-YC Complex to Regulate SOC1

- Expression and Mediate Drought-Accelerated Flowering. *Mol Plant* 12:489-505.
- Imbert JB, Blanco JA, Castillo FJ (2004) Gestión forestal y ciclos de nutrientes en el marco del cambio global. En: *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante*. EGRAF, S. A., Madrid, pp 479-506.
- IPCC (2014) *Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability Part A: Global and Sectoral Aspects*. Cambridge University Press, New York.
- Jacob JK, Tiwari K, Correa-Betanzo J, et al (2012) Biochemical Basis for Functional Ingredient Design from Fruits. *Annu Rev Food Sci Technol* 3:79-104.
- Jansen MAK (2002) Ultraviolet-B radiation effects on plants: Induction of morphogenic responses. *Physiol Plant* 116:423-429.
- Jansen MAK, Gaba V, Greenberg BM (1998) Higher plants and UV-B radiation: Balancing damage, repair and acclimation. *Trends Plant Sci* 3:131-135.
- Jansen MAK, Hectors K, O'Brien NM, et al (2008) Plant stress and human health: Do human consumers benefit from UV-B acclimated crops? *Plant Sci* 175:449-458.
- Jiang F, Hartung W (2008) Long-distance signalling of abscisic acid (ABA): The factors regulating the intensity of the ABA signal. *J Exp Bot* 59:37-43.
- Johnová P, Skalák J, Saiz-Fernández I, Brzobohatý B (2016) Plant responses to ambient temperature fluctuations and water-limiting conditions: A proteome-wide perspective. *Biochim Biophys Acta - Proteins Proteomics* 1864:916-931.
- Jones JM, Heath KD, Ferrer A, et al (2018) Wood decomposition in aquatic and terrestrial ecosystems in the tropics: Contrasting biotic and abiotic processes. *FEMS Microbiol Ecol* 95:1-13.
- Jordan BR (2017) The Effects of Ultraviolet-B on *Vitis vinifera* – How Important Is UV-B for Grape Biochemical Composition? En: Jordan BR (ed) *UV-B Radiation and Plant Life: Molecular Biology to Ecology*. CAB International, Wallingford, pp 44–160.

- Joshi PN, Ramaswamy NK, Iyer RK, et al (2007) Partial protection of photosynthetic apparatus from UV-B-induced damage by UV-A radiation. *Environ Exp Bot* 59:166-172.
- Jug T, Rusjan D (2012) Advantages and disadvantages of UV-B radiations on Grapevine (*Vitis* sp.). *Emirates J Food Agric* 24:576-585.
- Kakani VG, Reddy KR, Zhao D, Mohammed AR (2003) Effects of ultraviolet-B radiation on cotton (*Gossypium hirsutum* L.) morphology and anatomy. *Ann Bot* 91:817-826.
- Kataoka I, Sugiyama A, Beppu K (2003) Role of ultraviolet radiation in accumulation of anthocyanin in berries of 'Gros Colman' grapes (*Vitis vinifera* L.). *J Japanese Soc Hortic Sci* 72:1-6.
- Keller M (2015) *The Science of Grapevines: Anatomy and Physiology*, Second. Elsevier, Washington, USA.
- King JY, Brandt LA, Adair EC (2012) Shedding light on plant litter decomposition: Advances, implications and new directions in understanding the role of photodegradation. *Biogeochemistry* 111:57-81.
- Klem K, Holub P, Štroch M, et al (2015) Ultraviolet and photosynthetically active radiation can both induce photoprotective capacity allowing barley to overcome high radiation stress. *Plant Physiol Biochem* 93:74-83.
- Knapp S, Litt A (2013) Fruit—an angiosperm innovation. En: Seymour GB, Poole M, Giovannoni JJ, Tucker GA (eds) *The Molecular Biology and Biochemistry of Fruit Ripening*. John Wiley & Sons, Inc., Oxford, UK.
- Kolb CA, Kaser MA, Kopecky J, Zotz G (2001) Effects of natural intensities of visible and ultraviolet radiation on. *Plant Physiol* 127:863-875.
- Kong J, Berger M, Colling A, et al (2019) Epigenetic regulation in fleshy fruit: perspective for grape berry development and ripening. En: Cantu D, Walker MA (eds) *The grape genome*. Springer, Cham, Switzerland, pp 167-197.
- Koti S, Reddy KR, Kakani VG, et al (2004) Soybean (*Glycine max*) pollen germination characteristics, flower and pollen morphology in response to enhanced ultraviolet-B radiation. *Ann Bot* 94:855-864.

- Koti S, Reddy KR, Reddy VR, et al (2005) Interactive effects of carbon dioxide, temperature, and ultraviolet-B radiation on soybean (*Glycine max* L.) flower and pollen morphology, pollen production, germination, and tube lengths. *J Exp Bot* 56:725-736.
- Kotilainen T, Tegelberg R, Julkunen-Tiitto R, et al (2008) Metabolite specific effects of solar UV-A and UV-B on alder and birch leaf phenolics. *Glob Chang Biol* 14:1294-1304.
- Kutchan TM, Gershenzon J, Møller BL, Gang DR (2015) Natural Products. En: Buchanan BB, Grisse W, Jones RL (eds) *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, Second. John Wiley & Sons, Ltd., pp 1132-1206
- Landry LG, Chapple CCS, Last RL (1995) *Arabidopsis* mutants lacking phenolic sunscreens exhibit enhanced ultraviolet-B injury and oxidative damage. *Plant Physiol* 109:1159-1166.
- LeRoy CJ, Wymore AS, Davis R, Marks JC (2014) Indirect influences of a major drought on leaf litter quality and decomposition in a southwestern stream. *Fundam Appl Limnol* 184:1-10.
- Li Y, Huang H, Wu G, et al (2016) The effects of UV-A on dry rice straw decomposition under controlled laboratory conditions. 11:2568-2582
- Lichtenthaler H, Babani F (2004) Light Adaptation and Senescence of the Photosynthetic Apparatus. *Chlorophyll a Fluoresc A Signat Photosynth* 713-736.
- Lin D, Wang F, Fanin N, et al (2019) Soil fauna promote litter decomposition but do not alter the relationship between leaf economics spectrum and litter decomposability. *Soil Biol Biochem* 136:107519.
- Lin Y, Karlen SD, Ralph J, King JY (2018) Short-term facilitation of microbial litter decomposition by ultraviolet radiation. *Sci Total Environ* 615:838-848.
- Lin Y, King JY, Karlen SD, Ralph J (2015a) Using 2D NMR spectroscopy to assess effects of UV radiation on cell wall chemistry during litter decomposition. *Biogeochemistry* 125:427-436.
- Lin Y, Scarlett RD, King JY (2015b) Effects of UV photodegradation on

- subsequent microbial decomposition of *Bromus diandrus* litter. *Plant Soil* 395:263-271.
- Liu H, Cao X, Liu X, et al (2017) UV-B irradiation differentially regulates terpene synthases and terpene content of peach. *Plant Cell Environ* 40:2261-2275.
- Liu L, Gregan S, Winefield C, Jordan B (2015) From UVR8 to flavonol synthase: UV-B-induced gene expression in Sauvignon blanc grape berry. *Plant, Cell Environ* 38:905-919.
- Llorens L, Badenes-Pérez FR, Julkunen-Tiitto R, et al (2015) The role of UV-B radiation in plant sexual reproduction. *Perspect Plant Ecol Evol Syst* 17:243-254.
- Llorens L, Peñuelas J (2005) Experimental evidence of future drier and warmer conditions affecting flowering of two co-occurring mediterranean shrubs. *Int J Plant Sci* 166:235-245.
- Llorens L, Peñuelas J, Filella I (2003) Diurnal and seasonal variations in the photosynthetic performance and water relations of two co-occurring Mediterranean shrubs, *Erica multiflora* and *Globularia alypum*. *Physiol Plant* 118:84-95.
- López-Mondéjar R, Zühlke D, Becher D, et al (2016) Cellulose and hemicellulose decomposition by forest soil bacteria proceeds by the action of structurally variable enzymatic systems. *Sci Rep* 6:1-12.
- Mafakheri A, Siosemardeh A, Bahramnejad B, et al (2010) Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. *Aust J Crop Sci* 4:580-585.
- Magaña Ugarte R, Escudero A, Gavilán RG (2019) Metabolic and physiological responses of Mediterranean high-mountain and alpine plants to combined abiotic stresses. *Physiol Plant* 165:403-412.
- Manach C, Scalbert A, Morand C, et al (2004) Polyphenols: Food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr* 79:727-747.
- Manrique E (2003) Los pigmentos fotosintéticos, algo más que la captación de luz para la fotosíntesis. *Ecosistemas Rev científica y técnica Ecol y medio*

Ambient 12:7.

- Mansfield SD (2005) Extracellular fungal hydrolytic enzyme activity. En: Graça MA, Bärlocher F, Gessner MO (eds) *Methods to Study Litter Decomposition: A Practical Guide*. Springer, Dordrecht, pp 239-248
- Marfil C, Ibañez V, Alonso R, et al (2019) Changes in grapevine DNA methylation and polyphenols content induced by solar ultraviolet-B radiation, water deficit and abscisic acid spray treatments. *Plant Physiol Biochem* 135:287-294.
- Mariz-Ponte N, Martins S, Gonçalves A, et al (2019) The potential use of the UV-A and UV-B to improve tomato quality and preference for consumers. *Sci Horti (Amsterdam)* 246:777-784.
- Mariz-Ponte N, Mendes RJ, Sario S, et al (2018) Tomato plants use non-enzymatic antioxidant pathways to cope with moderate UV-A/B irradiation: A contribution to the use of UV-A/B in horticulture. *J Plant Physiol* 221:32-42.
- Martínez-Lüscher J, Brillante L, Kurtural SK (2019) Flavonol profile is a reliable indicator to assess canopy architecture and the exposure of red wine grapes to solar radiation. *Front Plant Sci* 10:1-15.
- Martínez-Lüscher J, Morales F, Delrot S, et al (2013) Short- and long-term physiological responses of grapevine leaves to UV-B radiation. *Plant Sci* 213:114-122.
- Martínez-Lüscher J, Sánchez-Díaz M, Delrot S, et al (2014) Ultraviolet-B Radiation and Water Deficit Interact to Alter Flavonol and Anthocyanin Profiles in Grapevine Berries through Transcriptomic Regulation. *Plant Cell Physiol* 55:1925-1936.
- Martinez-Vilalta J, Anderegg WRL, Sapes G, Sala A (2019) Greater focus on water pools may improve our ability to understand and anticipate drought-induced mortality in plants. *New Phytol* 223:22-32.
- Martínez-Yrizar A, Núñez S, Búrquez A (2007) Leaf litter decomposition in a southern Sonoran Desert ecosystem, northwestern Mexico: Effects of habitat and litter quality. *Acta Oecologica* 32:291-300.
- Matus JT, Loyola R, Vega A, et al (2009) Post-veraison sunlight exposure induces

- MYB-mediated transcriptional regulation of anthocyanin and flavonol synthesis in berry skins of *Vitis vinifera*. *J Exp Bot* 60:853-867.
- Matus JT, Ruggieri V, Romero FJ, et al (2019) Status and prospects of systems biology in grapevine research. En: Cantu D, Walker MA (eds) *The grape genome*. Springer, Cham, Switzerland, pp 137-166.
- Mazza CA, Battista D, Zima AM, et al (1999) The effects of solar ultraviolet-B radiation on the growth and yield of barley are accompanied by increased DNA damage and antioxidant responses. *Plant, Cell Environ* 22:61-70.
- McKenzie RL, Aucamp PJ, Bais AF, et al (2011) Ozone depletion and climate change: impacts on UV radiation. *Photochem Photobiol Sci* 10:182.
- McKinlay AF (1987) Reference action spectrum for ultraviolet induced erythema in human skin. *CIE-journal* 6:17-22.
- McLeod AR, Fry SC, Loake GJ, et al (2008) Ultraviolet radiation drives methane emissions from terrestrial plant pectins. *New Phytol* 180:124-132.
- Merzlyak MN, Solovchenko AE, Chivkunova OB (2002) Patterns of pigment changes in apple fruits during adaptation to high sunlight and sunscald development. *Plant Physiol Biochem* 40:679-684. 0
- Mikulic-Petkovsek M, Stampar F, Veberic R, Sircelj H (2016) Wild *Prunus* Fruit Species as a Rich Source of Bioactive Compounds. *J Food Sci* 81:C1928-C1937.
- Mora-Gómez J, Boix D, Duarte S, et al (2019) Legacy of Summer Drought on Autumnal Leaf Litter Processing in a Temporary Mediterranean Stream. *Ecosystems*.
- Mora-Gómez J, Elosegi A, Duarte S, et al (2016) Differences in the sensitivity of fungi and bacteria to season and invertebrates affect leaf litter decomposition in a Mediterranean stream. *FEMS Microbiol Ecol* 92:1-13.
- Moreira-Rodríguez M, Nair V, Benavides J, et al (2017) UVA, UVB light, and methyl jasmonate, alone or combined, redirect the biosynthesis of glucosinolates, phenolics, carotenoids, and chlorophylls in broccoli sprouts. *Int J Mol Sci* 18:1-20.

- Munné-Bosch S, Alegre L (2000) Changes in carotenoids, tocopherols and diterpenes during drought and recovery, and the biological significance of chlorophyll loss in *Rosmarinus officinalis* plants. *Planta* 210:925-931.
- Munné-Bosch S, Peñuelas J (2004) Drought-induced oxidative stress in strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) growing in Mediterranean field conditions. *Plant Sci* 166:1105-1110.
- Naczki M, Shahidi F (2004) Extraction and analysis of phenolics in food. *J Chromatogr A* 1054:95-111.
- Nenadis N, Llorens L, Koufogianni A, et al (2015) Interactive effects of UV radiation and reduced precipitation on the seasonal leaf phenolic content/composition and the antioxidant activity of naturally growing *Arbutus unedo* plants. *J Photochem Photobiol B Biol* 153:435-444.
- Ollero HS, Carlos J, Saiz M (2002) Flora vascular endémica española. En: La diversidad biológica de España. Pearson Educación, Madrid, pp 175-195
- Olson JS (1963) Energy Storage and the Balance of Producers and Decomposers in Ecological Systems Published by : Ecological Society of America Linked references are available on JSTOR for this article : *Ecology* 44:322-331.
- Oraei A, Tehranifar A (2020) Evaluating the potential drought tolerance of pansy through its physiological and biochemical responses to drought and recovery periods. *Sci Hortic (Amsterdam)* 265:109225.
- Pancotto VA, Sala OE, Cabello M, et al (2003) Solar UV-B decreases decomposition in herbaceous plant litter in Tierra del Fuego, Argentina: Potential role of an altered decomposer community. *Glob Chang Biol* 9:1465-1474.
- Paoletti E (2005) UV-B and Mediterranean forest species: Direct effects and ecological consequences. *Environ Pollut* 137:372-379.
- Pereira S, Burešová A, Kopecký J, et al (2019) Litter traits and rainfall reduction alter microbial litter decomposers: the evidence from three Mediterranean forests. *FEMS Microbiol Ecol* 95:168.
- Peri PL, Ladd B, Pepper DA, et al (2012) Carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$)

- stable isotope composition in plant and soil in Southern Patagonia's native forests. *Glob Chang Biol* 18:311-321.
- Petropoulou Y, Georgiou O, Psaras GK, Manetas Y (2001) Improved flower advertisement, pollinator rewards and seed yield by enhanced UV-B radiation in the Mediterranean annual *Malcolmia maritima*. *New Phytol* 152:85-90.
- Petrozza A, Santaniello A, Summerer S, et al (2014) Physiological responses to Megafol® treatments in tomato plants under drought stress: A phenomic and molecular approach. *Sci Hortic (Amsterdam)* 174:185-192.
- Pierantozzi P, Torres M, Bodoira R, Maestri D (2013) Water relations, biochemical - physiological and yield responses of olive trees (*Olea europaea* L. cvs. Arbequina and Manzanilla) under drought stress during the pre-flowering and flowering period. *Agric Water Manag* 125:13-25.
- Pieristè M, Chauvat M, Kotilainen TK, et al (2019) Solar UV-A radiation and blue light enhance tree leaf litter decomposition in a temperate forest. *Oecologia* 191:191-203. <https://doi.org/10.1007/s00442-019-04478-x>
- Pieristè M, Neimane S, Solanki T, et al (2020) Ultraviolet radiation accelerates photodegradation under controlled conditions but slows the decomposition of senescent leaves from forest stands in southern Finland. *Plant Physiol Biochem* 146:42-54.
- Popović BM, Blagojević B, Ždero Pavlović R, et al (2020) Comparison between polyphenol profile and bioactive response in blackthorn (*Prunus spinosa* L.) genotypes from north Serbia-from raw data to PCA analysis. *Food Chem* 302.
- Porra RJ (2002) The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. *Photosynth Res* 73:149-156.
- Prgomet I, Pascual-Seva N, Morais MC, et al (2020) Physiological and biochemical performance of almond trees under deficit irrigation. *Sci Hortic (Amsterdam)* 261:108990.
- Prieto I, Almagro M, Bastida F, Querejeta JI (2019) Altered leaf litter quality exacerbates the negative impact of climate change on decomposition. *J Ecol*

107:2364-2382.

- Radovanović BC, Anđelković ASM, Radovanović AB, Anđelković MZ (2013) Antioxidant and antimicrobial activity of polyphenol extracts from wild berry fruits grown in Southeast Serbia. *Trop J Pharm Res* 12:813-819.
- Rathcke B, Lacey EP (1985) Phenological Patterns of Terrestrial Plants. *Annu Rev Ecol Syst* 16:179-214.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, et al (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26:1231-1237.
- Rodríguez-Calzada T, Qian M, Strid Å, et al (2019) Effect of UV-B radiation on morphology, phenolic compound production, gene expression, and subsequent drought stress responses in chili pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Physiol Biochem* 134:94-102.
- Romaní AM, Fischer H, Mille-Lindblom C, Tranvik LJ (2006) Interactions of bacteria and fungi on decomposing litter: Differential extracellular enzyme activities. *Ecology* 87:2559-2569.
- Rosalino LM, Rosa S, Santos-reis M, et al (2010) The role of carnivores as Mediterranean seed dispersers. *Ann Zool Fenn* 47:195-205.
- Rozema J, Tosserams M, Nelissen HJM, et al (1997) Stratospheric ozone reduction and ecosystem processes: enhanced UV-B radiation affects chemical quality and decomposition of leaves of the dune grassland species *Calamagrostis epigeios*. *Plant Ecol* 128:285-294.
- Ruiz-Rodríguez BM, de Ancos B, Sánchez-Moreno C, et al (2014) Wild blackthorn (*Prunus spinosa* L.) and hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) fruits as valuable sources of antioxidants. *Fruits* 69:61-73.
- Ryan KG, Markham KR, Bloor SJ, et al (1998) UVB Radiation induced increase in quercetin : kaempferol ratio in wild-type and transgenic lines of petunia. *Photochem Photobiol* 68:323-330.
- Saiya-Cork KR, Sinsabaugh RL, Zak DR (2002) The effects of long term nitrogen deposition on extracellular enzyme activity in an *Acer saccharum* forest soil.

- Soil Biol Biochem 34:1309-1315.
- Santonja M, Fernandez C, Gauquelin T, Baldy V (2015) Climate change effects on litter decomposition: intensive drought leads to a strong decrease of litter mixture interactions. *Plant Soil* 393:69-82.
- Santonja M, Fernandez C, Proffit M, et al (2017) Plant litter mixture partly mitigates the negative effects of extended drought on soil biota and litter decomposition in a Mediterranean oak forest. *J Ecol* 105:801-815.
- Santonja M, Foucault Q, Rancon A, et al (2018) Contrasting responses of bacterial and fungal communities to plant litter diversity in a Mediterranean oak forest. *Soil Biol Biochem* 125:27-36.
- Sardans J, Peñuuelas J, Estiarte M, Prieto P (2008) Warming and drought alter C and N concentration, allocation and accumulation in a Mediterranean shrubland. *Glob Chang Biol* 14:2304-2316.
- Sarker U, Oba S (2018) Drought stress enhances nutritional and bioactive compounds, phenolic acids and antioxidant capacity of *Amaranthus* leafy vegetable. *BMC Plant Biol* 18:258.
- Saura-Mas S, Estiarte M, Peñuuelas J, Lloret F (2012) Effects of climate change on leaf litter decomposition across post-fire plant regenerative groups. *Environ Exp Bot* 77:274-282.
- Schlesinger WH (1991) *Bio geochemistry: An Analysis of Global Change*. Academic Press, London
- Schneider T, Keiblinger KM, Schmid E, et al (2012) Who is who in litter decomposition Metaproteomics reveals major microbial players and their biogeochemical functions. *ISME J* 6:1749-1762.
- Seymour GB, Østergaard L, Chapman NH, et al (2013) Fruit development and ripening. *Annu Rev Plant Biol* 64:219-241.
- Sinsabaugh RL (2010) Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. *Soil Biol Biochem* 42:391-404.
- Sinsabaugh RL, Carreiro MM, Alvarez S (2002) Enzyme and microbial dynamics of litter decomposition. En: Burns RG, Dick RP (eds) *Enzymes in the*

- Environment. Activity, Ecology, and Application. Marcel Dekker, INC., New York, pp 249-266.
- Sinsabaugh RL, Lauber CL, Weintraub MN, et al (2008) Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale. *Ecol Lett* 11:1252-1264.
- Smith WK, Gao W, Steltzer H, et al (2010) Moisture availability influences the effect of ultraviolet-B radiation on leaf litter decomposition. *Glob Chang Biol* 16:484-495.
- Šnajdr J, Cajthaml T, Valášková V, et al (2011) Transformation of *Quercus petraea* litter: Successive changes in litter chemistry are reflected in differential enzyme activity and changes in the microbial community composition. *FEMS Microbiol Ecol* 75:291-303.
- Solovchenko A, Schmitz-Eiberger M (2003) Significance of skin flavonoids for UV-B-protection in apple fruits. *J Exp Bot* 54:1977-1984.
- Song X, Peng C, Jiang H, et al (2013) Direct and Indirect Effects of UV-B Exposure on Litter Decomposition: A Meta-Analysis. *PLoS One* 8:e68858.
- Squeo F a, Ehleringer JR (2004) Isótopos estables: una herramienta común para la ecofisiología vegetal y animal. *Fisiol Ecológica en Plantas Mec y Respuestas a Estrés en los Ecosistemas* 59-80
- Sroka Z (2005) Antioxidative and antiradical properties of plant phenolics. *Zeitschrift fur Naturforsch - Sect C J Biosci* 60:833-843.
- Štroch M, Materová Z, Vrábl D, et al (2015) Protective effect of UV-A radiation during acclimation of the photosynthetic apparatus to UV-B treatment. *Plant Physiol Biochem* 96:90-96.
- Strømme C, Sivadasan U, Nissinen K, et al (2019) Interannual variation in UV-B and temperature effects on bud phenology and growth in *Populus tremula*. *Plant Physiol Biochem* 134:31-39.
- Strømme CB, Julkunen-Tiitto R, Olsen JE, Nybakken L (2018) The dioecious *Populus tremula* displays interactive effects of temperature and ultraviolet-B along a natural gradient. *Environ Exp Bot* 146:13-26.
- Sun C, Gao X, Chen X, et al (2016) Metabolic and growth responses of maize to

- successive drought and re-watering cycles. *Agric Water Manag* 172:62-73.
- Taiz L, Zeiger E, Møller IM, Murphy A (2015) *Plant Physiology and Development*. Sinauer Associates, Oxford, UK
- Tang J, Körner C, Muraoka H, et al (2016) Emerging opportunities and challenges in phenology: A review. *Ecosphere* 7:1-17.
- Tank JL, Rosi-Marshall EJ, Griffiths NA, et al (2010) A review of allochthonous organic matter dynamics and metabolism in streams. *J North Am Benthol Soc* 29:118-146.
- Tardío J, Pascual H, Morales R (2002) *Alimentos silvestres de Madrid: Guía de plantas y setas de uso alimentario tradicional en Ia Comunidad de Madrid*. La Librería, Madrid, España
- Teixeira A, Eiras-Dias J, Castellarin SD, Gerós H (2013a) Berry phenolics of grapevine under challenging environments. *Int J Mol Sci* 14:18711-18739.
- Teixeira J, Gaspar A, Garrido EM, et al (2013b) Hydroxycinnamic acid antioxidants: An electrochemical overview. *Biomed Res Int* 2013:.
- Throop HL, Archer SR (2009) Resolving the Dryland Decomposition Conundrum: Some New Perspectives on Potential Drivers. En: Lüttge U, Beyschlag W, Büdel B, Francis D (eds) *Progress in botany*, 70.^a edn. Springer, Berlin, Heidelberg, pp 171-194.
- Tomás-Barberán FA, Gil MI, Cremin P, et al (2001) HPLC - DAD - ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums. *J Agric Food Chem* 49:4748-4760.
- Ursache F-M, Botez E, Stănciuc N (2018) Investigations on thermal degradation of prunus spinosa phytochemicals by fluorescence spectroscopy and inactivation kinetics. *Ann Univ Dunarea Jos Galati Fascicle VI-Food Technol* 42:122-136.
- Usenik V, Kastelec D, Veberič R, Štampar F (2008) Quality changes during ripening of plums (*Prunus domestica* L.). *Food Chem* 111:830-836.
- Valladares F, Vilagrosa A, Peñuelas J, et al (2004) Estrés hídrico: ecofisiología y escalas de la sequía. En: Valladares F (ed) *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante*. Ministerio de Medio Ambiente, Madrid, España, pp

165-192.

- Varga E, Domokos E, Fogarasi E, et al (2017) Polyphenolic compounds analysis and antioxidant activity in fruits of *Prunus spinosa* L. *Acta Pharm Hung* 87:19-25.
- Vargas DN, Bertiller MB, Ares JO, et al (2006) Soil C and N dynamics induced by leaf-litter decomposition of shrubs and perennial grasses of the Patagonian Monte. *Soil Biol Biochem* 38:2401-2410.
- Veberic R, Slatnar A, Bizjak J, et al (2015) Anthocyanin composition of different wild and cultivated berry species. *LWT - Food Sci Technol* 60:509-517.
- Veličković JM, Kostić DA, Stojanović GS, et al (2014) Phenolic composition, antioxidant and antimicrobial activity of the extracts from *Prunus spinosa* L. fruit. *Hem Ind* 68:297-303.
- Verdaguer D, Díaz-Guerra L, Font J, et al (2018) Contrasting seasonal morphological and physio-biochemical responses to UV radiation and reduced rainfall of two mature naturally growing Mediterranean shrubs in the context of climate change. *Environ Exp Bot* 147:189-201.
- Verdaguer D, Jansen MAK, Llorens L, et al (2017) UV-A radiation effects on higher plants: Exploring the known unknown. *Plant Sci* 255:72-81.
- Verdaguer D, Vilagran J, Lloansi S, Fleck I (2011) Morphological and physiological acclimation of *Quercus coccifera* L. seedlings to water availability and growing medium. *New For* 42:363-381.
- Vicuña R, González B, Seelenfreund D, et al (1993) Ability of natural bacterial isolates to metabolize high and low molecular weight lignin-derived molecules. *J Biotechnol* 30:9-13.
- Vivas Z, Perujo N, Freixa A, Romaní AM (2017) Changes in bacterioplankton density and viability in the Tordera river due to the input of effluents from waste water treatment plants. *Limnetica* 36:461-475.
- Wang J, Liu L, Wang X, Chen Y (2015) The interaction between abiotic photodegradation and microbial decomposition under ultraviolet radiation. *Glob Chang Biol* 21:2095-2104.

- Waring RH, Running SW (2007) Forest ecosystems: analysis at multiple scales, Third Edit. Elsevier.
- Weih M, Johanson U, Gwynn-Jones D (1998) Growth and nitrogen utilization in seedlings of mountain birch (*Betula pubescens* ssp. *tortuosa*) as affected by ultraviolet radiation (UV-A and UV-B) under laboratory and outdoor conditions. *Trees - Struct Funct* 12:201-207.
- Wijewardana C, Henry WB, Gao W, Reddy KR (2016) Interactive effects on CO₂, drought, and ultraviolet-B radiation on maize growth and development. *J Photochem Photobiol B Biol* 160:198-209.
- Wu P, Wu C, Zhou B (2017) Drought Stress Induces Flowering and Enhances Carbohydrate Accumulation in *Averrhoa carambola*. *Hortic Plant J* 3:60-66.
- Xu Z, Zhou G (2004) Research advance in nitrogen metabolism of plant and its environmental regulation. *J Appl Ecol* 15:511-516.
- Xu Z, Zhou G, Shimizu H (2010) Plant responses to drought and rewatering. *Plant Signal Behav* 5:649-654.
- Yue M, Li Y, Wang X (1998) Effects of enhanced ultraviolet-B radiation on plant nutrients and decomposition of spring wheat under field conditions. *Environ Exp Bot* 40:187-196.
- Zhang W, Yang K, Lyu Z, Zhu J (2019) Microbial groups and their functions control the decomposition of coniferous litter: A comparison with broadleaved tree litters. *Soil Biol Biochem* 133:196-207.
- Zhou G, Wei F, Qiu X, et al (2018) Influence of enhanced ultraviolet-B radiation during rice plant growth on rice straw decomposition with nitrogen deposition. *Sci Rep* 8:14512.
- Zhou G, Zhang J, Mao J, et al (2015) Mass loss and chemical structures of wheat and maize straws in response to ultraviolet-B radiation and soil contact. *Sci Rep* 5:14851.
- Zietz M, Weckmüller A, Schmidt S, et al (2010) Genotypic and climatic influence on the antioxidant activity of flavonoids in kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*). *J Agric Food Chem* 58:2123-2130.

Živanović B, Vidović M, Milić Komić S, et al (2017) Contents of phenolics and carotenoids in tomato grown under polytunnels with different UV-transmission rates. Turkish J Agric For 41:113-120.

Anexos

Anexo 1 Media \pm S.E. (n=3) del contenido volumétrico de agua (%) del suelo durante el periodo de muestreo (2017) de las parcelas en condiciones de precipitación natural (W) y reducción de la precipitación (D) teniendo en cuenta los distintos niveles de radiación UV.

Mes	Tratamiento de precipitación	
	W	D
Enero	17,37 \pm 1,6	13,25 \pm 1,22
Febrero	23,28 \pm 1,33	17,57 \pm 1,39
Marzo	22,55 \pm 1,66	16,95 \pm 1,34
Abril	18,35 \pm 1,12	13,1 \pm 1,04
Mayo	10,94 \pm 0,98	9,15 \pm 0,99
Junio	10,94 \pm 0,98	9,15 \pm 0,99
Julio	7,58 \pm 0,62	7,11 \pm 0,69
Agosto	5,97 \pm 0,6	5,15 \pm 0,61
Septiembre	7,59 \pm 0,76	6,22 \pm 0,58
Octubre	8,5 \pm 0,71	6,26 \pm 0,41

Anexo 2 Comparación de la calidad inicial de la hojarasca natural y pretratada de *A. unedo* y *P. angustifolia*. La columna *p* (p-valor) indica la significación resultante del análisis estadístico ANOVA unifactorial (ns, no significativo).

Parámetro	<i>A. unedo</i>			<i>P. angustifolia</i>		
	Pretratada	Natural	<i>p</i>	Pretratada	Natural	<i>p</i>
Fibra (%)	48,12 \pm 1,25	49,19 \pm 0,58	ns	30,33 \pm 0,64	39,48 \pm 0,18	<0,001
Celulosa (%)	21,16 \pm 0,75	23,47 \pm 0,64	0,025	15,33 \pm 0,42	20,97 \pm 0,61	<0,001
Lignina (%)	20,74 \pm 0,77	23,19 \pm 0,63	0,019	14,58 \pm 0,39	16,11 \pm 0,05	<0,001
C (mg/g AFDW)	534,32 \pm 1,94	529,36 \pm 0,19	0,016	541,87 \pm 1,27	531,57 \pm 2,26	<0,001
N (mg/g AFDW)	6,12 \pm 0,22	6,57 \pm 0,01	0,046	7,53 \pm 0,15	8,30 \pm 0,04	<0,001
Relación C:N	89,18 \pm 3,01	80,52 \pm 0,11	0,007	72,49 \pm 1,64	64,02 \pm 0,06	<0,001

Anexo3 p-valor (*p*) resultante del anéposlisis estadístico ANOVA de 4 factores: tiempo (T), especie (E), radiación UV (UV) y precipitación (P) aplicada en la calidad de la hojarasca pretratada.

Parámetro	T	E	UV	P	T*E	T*UV	T*P	E*UV	E*P	UV*P	T*E*UV	T*E*P	T*UV*P	E*UV*P	T*E*UV*P
Fibra (%)	<0.001	<0.001	0.018	0.042	ns	ns	ns	ns	ns	0.035	ns	0.029	ns	ns	ns
Celulosa (%)	<0.001	<0.001	0.008	ns	<0.001	ns	ns	ns	ns	0.006	ns	ns	ns	ns	ns
Lignina (%)	<0.001	<0.001	ns	ns	0.011	ns	ns	ns	ns	0.088	ns	ns	ns	ns	ns
C (mg/g AFDW)	<0.001	<0.001	<0.001	0.048	0.003	0.018	0.030	ns	<0.001	0.001	0.004	ns	ns	ns	0.006
N (mg/g AFDW)	<0.001	<0.001	<0.001	ns	ns	ns	ns	ns	0.047	<0.001	0.008	ns	ns	<0.001	ns
Relación C:N	0.012	<0.001	<0.001	ns	ns	ns	ns	ns	ns	<0.001	0.002	ns	ns	<0.001	ns

Anexo 4 Comparación de la calidad inicial (media \pm S.E) de la hojarasca con pretratamiento de radiación UV ambiental (UVBA) y precipitación natural (W) con la hojarasca procedente de plantas que crecieron en condiciones naturales. La columna p-valor (*p*) indica los valores de significación obtenidos en los análisis estadísticos (ANOVAs) (ns, no significativo).

Parámetro	<i>A. unedo</i>			<i>P. angustifolia</i>		
	Pretratada	Natural	<i>p</i>	Pretratada	Natural	<i>p</i>
Fibra (%)	49,68 \pm 3,48	49,18 \pm 1,69	ns	27,37 \pm 0,02	39,48 \pm 1,06	< 0.001
Celulosa (%)	22,18 \pm 2,28	23,47 \pm 1,85	ns	15,73 \pm 0,05	20,97 \pm 1,88	< 0.001
Lignina (%)	21,81 \pm 2,26	23,18 \pm 1,83	ns	14,88 \pm 0,4	16,11 \pm 1,05	0.039
C (mg/g AFDW)	519,17 \pm 0,86	529,36 \pm 0,55	0.001	538,11 \pm 0,17	531,57 \pm 6,58	ns
N (mg/g AFDW)	6,62 \pm 0,07	6,57 \pm 0,02	ns	8,07 \pm 0,01	8,3 \pm 0,11	ns
Relación C:N	78,39 \pm 0,78	80,52 \pm 0,31	ns	66,64 \pm 0,15	64,01 \pm 0,18	ns