

UNIVERSIDAD POLITECNICA DE VALENCIA
ESCUELA POLITECNICA SUPERIOR DE GANDIA
Licenciatura en Ciencias Ambientales



UNIVERSIDAD
POLITECNICA
DE VALENCIA



ESCUELA POLITECNICA
SUPERIOR DE GANDIA

**“Compuestos fenólicos y flavonoides como
marcadores bioquímicos de la respuesta a estrés
abiótico en plantas tolerantes”**

TRABAJO FINAL DE CARRERA

Autor:

Pau Calatayud Vaello

Directores

Dra. Mónica Boscaiu Neagu

Dr. Óscar Vicente Meana

GANDIA 2010

"Aceptaría la posibilidad de crecimiento infinito de la economía, el día que uno de mis colegas economista pudiera demostrar que la Tierra misma podría crecer a un ritmo acorde."
Herman Daly, economista.

Índice

1 INTRODUCCIÓN.....	7
1.1 Estrés ambiental y estrés abiótico.....	8
1.2 Plantas adaptadas al estrés.....	9
- Plantas halófilas.....	9
- Plantas gipsófilas.....	10
- Plantas xerófilas.....	11
1.3 Zonas de estudio.....	12
- Zona salina.....	12
- Zona yesífera.....	18
- Zona semiárida.....	24
1.4 Compuestos fenólicos.....	28
1.5 Flavonoides.....	29
- Estructura química.....	29
- Biosíntesis.....	30
2 OBJETIVOS.....	33
2.1 Objetivo general del trabajo.....	34
2.2 Objetivos particulares del trabajo.....	35
3 MATERIAL Y MÉTODOS.....	36
3.1 Material vegetal.....	37
- Especies propias de suelo salino.....	37
- Especies propias de suelo yesífero.....	41
- Especies propias de suelo semiárido.....	43

- Especies que crecen en más de un tipo de suelo.....	44
3.2 Trabajo de campo.....	46
3.3 Trabajo de laboratorio.....	47
- Preparación de muestras en el laboratorio.....	47
- Preparación del extracto.....	47
- Medida de compuestos fenólicos.....	48
- Medida de flavonoides.....	52
3.4 Análisis estadístico.....	55
4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	56
4.1 Compuestos fenólicos.....	57
- Zona Saler.....	57
- Zona de Yesos.....	61
- Zona de Bétera.....	66
4.2 Flavonoides.....	67
- Zona Saler.....	67
- Zona de Yesos.....	71
- Zona de Bétera.....	75
5 CONCLUSIONES.....	77
5.1 Proporción de Flavonoides en el total de.....	78
Compuestos Fenólicos	
5.2 Variación de la proporción de Flavonoides.....	78
en Fenoles totales según muestreos	

5.3 Variación de la proporción Flavonoides/Fenoles.....	79
totales según la zona	
5.4 Cantidad total de Fenoles.....	79
5.5 Cantidad de Flavonoides.....	80
6 BIBLIOGRAFÍA.....	82
ANEXOS.....	86

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Estrés ambiental y estrés abiótico

El estrés abiótico se define como cualquier condición externa a los organismos vivos que reduce el crecimiento, supervivencia y fecundidad de una planta. Puede ser una sequía, una elevada salinidad del suelo, temperaturas extremas, escasez de luz o exceso de radiación, inundaciones, suelos ácidos, alcalinos, pobres en nutrientes, etc.

Los recursos del suelo requeridos para el crecimiento de las plantas se distribuyen de forma heterogénea con una gran variabilidad temporal y espacial (Jackson & Caldwell, 1993). Esta característica propia de los ecosistemas naturales puede tener consecuencias ecológicas, afectando al crecimiento de las plantas y al reparto de la biomasa entre raíces y parte aérea (Wijesinghe et al., 2005). En ambientes naturales, factores del microhábitat como luz, agua y nutrientes afectan al desarrollo de la planta y por tanto, examinar los nutrientes y las características de los microhábitat afectados por estrés abiótico puede ayudar a comprender la distribución espacial de las especies de estas zonas, ya que mediante la selección natural las plantas han adquirido una serie de mecanismos que les han permitido sobrevivir en situaciones adversas (Ortolà, 2003) y de esta forma adaptarse a estos ecosistemas.

El Servicio de Gestión del Territorio y Nutrición Vegetal de la FAO, estima que aproximadamente el 6% de los suelos de la tierra están afectados por la salinidad o la sodicidad. De los suelos cultivados actualmente 230 millones de Ha de las tierras de regadío, el 19.5% están afectadas por la sal y de las 1500 millones de Ha bajo agricultura de secano el 2.1% están afectadas por la sal en distintos grados. Estos son algunos de los motivos por los cuales es prioritario el estudio de la respuesta al estrés abiótico por ser una de las principales causas de reducción de las cosechas a nivel mundial.

Hasta el momento se han realizado estudios en condiciones artificiales en laboratorios con especies no tolerantes al estrés como *Arabidopsis thaliana*, con estos ensayos se han definido algunos mecanismos bioquímicos básicos de respuesta al estrés: homeostasis iónica, síntesis de metabolitos y proteínas, regulación de balance osmótico. No obstante los niveles de tolerancia al estrés abiótico, que tienen estas especies no son comparables a los de las plantas silvestres adaptadas a un tipo estrés como son los casos de las halófitas, gipsófitas, xerófitas. Por esta razón es especialmente interesante el estudio de los mecanismos de respuesta al estrés de las especies silvestres tolerantes en condiciones naturales, para poder estudiar las

variaciones en función de los cambios espaciales y temporales, teniendo en cuenta las características de sus hábitats, las condiciones climatológicas.

El estudio de estos mecanismos es complementario al realizado en el laboratorio con plantas no tolerantes, ayudara a avanzar en este campo.

1.2 Plantas adaptadas al estrés

La domesticación inicial y el posterior desarrollo de las plantas cultivadas a lo largo de la historia, al ser seleccionadas por caracteres como rapidez de crecimiento, acumulación de biomasa, o producción de frutos y semillas, no ha potenciado la tolerancia a estrés; al contrario, ha supuesto su disminución con respecto a sus predecesores silvestres, ya que la inhibición del crecimiento vegetativo y del desarrollo reproductivo es precisamente la respuesta al estrés más general e inmediata de las plantas, que desvían todos sus recursos (energía, precursores metabólicos, etc.) para sobrevivir a las condiciones adversas (Serrano & Gaxiola 1994; Zhu, 2001).

No obstante también existen plantas adaptadas de forma natural a condiciones de estrés. Esta vegetación especializada es capaz de sobrevivir y completar su ciclo biológico a pesar de estar sometida a estas condiciones adversas en sus hábitats respectivos.

- Plantas halófilas

Son plantas que viven en ambientes hipersalinos: zonas áridas, costas, diferentes profundidades de agua de mar, etc. Son las únicas plantas que pueden crecer y completar su ciclo biológico en estas condiciones son las denominadas halófilas, las cuales han desarrollado adaptaciones fisiológicas para subsistir con éxito en estos ambientes.

En la flora predominante de los suelos litorales encontramos pocas especies, pertenecientes a géneros cosmopolitas como *Sarcocornia*, *Spartina*, *Juncus*, *Plantago* y *Limonium*, estas han desarrollado adaptaciones fisiológicas para subsistir en estos ambientes, evitando así la competencia con las plantas glicófilas (plantas “dulces” o no halófilas) (Flowers et al., 1986).

Se diferencian de los halotolerantes en que son capaces de reproducirse y realizar sus funciones metabólicas de una manera más eficaz en presencia de altas concentraciones de sales que en su ausencia.

Las adaptaciones morfológicas y fisiológicas desarrolladas que les permiten balancear su presión osmótica en relación con el medio y resistir los efectos nocivos de la sal como por ejemplo:

-Acumulación de iones sodio y cloro para compensar las altas tensiones de succión del suelo (*Limonium*).

-Eliminación de sales por glándulas o por pelos vesiculares (*Armería, Limonium, Spartina*).

-Acumulación de grandes cantidades de agua para evitar las concentraciones de sal demasiado altas en el jugo celular; succulencia (*Salicornia, Suaeda, Halimione, etc.*)

Este tipo de vegetación ha sufrido una gran reescisión debido a que los ecosistemas en que habita se encuentran próximos a las zonas costeras, que en las últimas décadas han sufrido una gran presión urbanística. La legislación actual ha protegido algunas especies endémicas y propias de estos ecosistemas.

- **Plantas gipsófilas**

La vegetación gipsófila es una vegetación característica de los suelos yesosos. En estos suelos predominan iones de magnesio y calcio. Estos sulfatos pueden estar enriquecidos con cloruros, si son de origen marino y sodio si son de origen continental. Son comunidades vegetales dominadas por caméfitos, pequeños arbustos y gramíneas. A menudo encontramos una costra líquénica en estos suelos. Aunque dentro de la vegetación gipsófila podemos encontrar sutiles diferencias dependiendo de la naturaleza de los yesos que influyen en la composición florística de esta vegetación.

En los suelos de yesos podemos encontrar muchos endemismos. Las plantas que crecen sobre suelos yesíferos se consideran gipsófitas cuando son exclusivas de este tipo de sustratos, y gipsóvagas cuando aparecen en sustratos yesíferos pero crecen sobre distintos tipos de suelos (Palacio et al., 2007). Las gipsóvagas son plantas tolerantes a estrés que crecen sobre los suelos yesíferos debido a la baja competencia que existe aquí. (Gankin & Mayor 1964) consideran que muchas plantas

que se desarrollan en este tipo de hábitats son tolerantes a estrés pero muy poco competitivas.

Estos ecosistemas están muy amenazados debido a la extracción de yeso de estos suelos para la construcción, no obstante las comunidades vegetales gipsófilas ibéricas están consideradas como hábitats prioritarios, que se incluyen entre los más amenazados de Europa (Pueyo et al., 2007), y muchas gipsófitas están protegidas por leyes autonómicas, nacionales o internacionales.

- **Plantas xerófilas**

Las xerófitas son plantas que crecen donde el agua escasea la mayor parte del tiempo (Ortolà, 2003). Salvo hábitats especiales, como los mencionados anteriormente, la vegetación generalmente es de tipo climatófilo, es decir, su distribución está condicionada por las condiciones climatológicas mucho más que por las características edáficas de sus hábitats (Valladares, 2003).

Las plantas xerófitas han desarrollado una serie de mecanismos con objetivo evitar o eliminar las condiciones adversas, como:

- Limita pérdida de agua: Engrosamiento o cerosidad de la cutícula, menor número de estomas, estomas hundidos en una cámara, los estomas se abren de noche, pubescencia superficial, hojas enrolladas,
- Almacenaje de agua: Hojas suculentas, tallos suculentos, tubérculo carnoso.
- Ascenso de agua: Sistema radicular profundo y denso, sistema radical profundo, hasta la capa freática, sistema radicular muy extendido junto a la superficie, absorbe humedad superficial en estructuras foliares: tricoma.

En la cuenca Mediterránea el factor limitante es fundamentalmente la disponibilidad de agua. También los nutrientes son habitualmente escasos, considerándose también un recurso limitante, y el exceso de radiación es a menudo una importante fuente adicional de estrés para las plantas en estos ecosistemas.

1.3 Zonas de estudio

- Zona salina

El lugar escogido se encuentra en El Saler, en una zona llamada La Mallada Llarga. Presenta una vegetación muy poco estructurada en las zonas que fueron degradadas en el pasado, pero en cambio, el resto de la mallada conserva los mejores saladares de la Devesa y por esta razón este lugar fue escogido para el trabajo. Se caracteriza por:

▪ Marco territorial

El Parque Natural de la Albufera o La Albufera es un parque natural de la provincia de Valencia, como podemos ver en la Fig.1.3.1. Situado a unos 10 km al sur de la ciudad de Valencia. Representa uno de los ecosistemas húmedos litorales más importantes a nivel europeo. Está ubicada en el extremo Este del Sistema Ibérico, en el sector sur oriental de la cuenca neógeno-cuaternaria de la que forma parte la llanura aluvial de Valencia. El parque natural comprende el sistema formado por la Albufera propiamente dicha, su entorno húmedo, y el cordón litoral adyacente a ambos.

El parque natural ocupa parte de municipios de Alfafar, Albalat de la Ribera, Algemesí, Beniparrell, Massanassa, Catarroja, Albal, Silla, Sollana, Sueca, Sedaví y Cullera, con una superficie de 21.120 hectáreas.

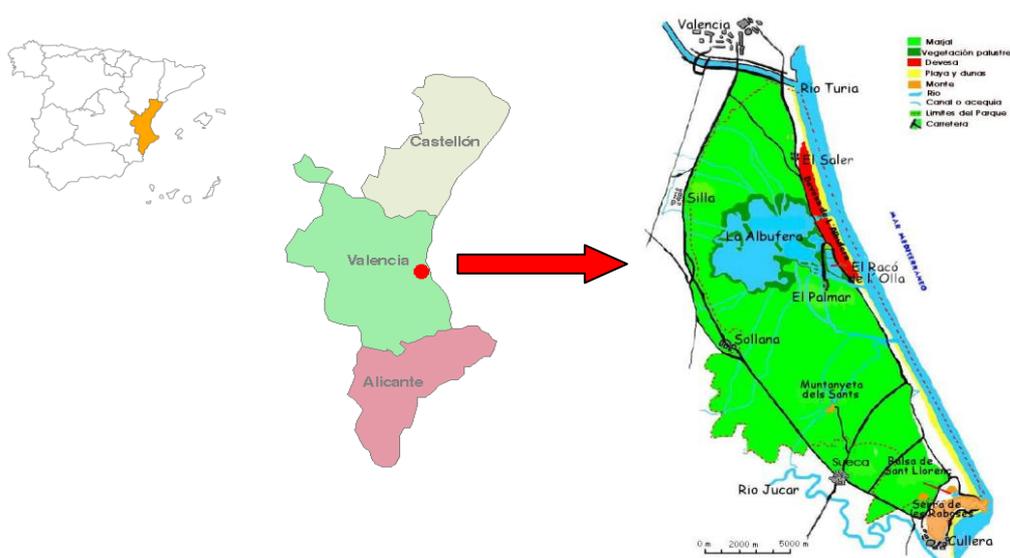


Figura 1.3.1 Localización del Parque Natural de la Albufera de Valencia.

El buen estado de conservación del ecosistema es debido a que desde el 1238 hasta 1927 fue propiedad y cazadero real, cediéndose al Ayuntamiento de Valencia. Las principales actividades económicas de la zona eran la pesca artesanal y la ganadería extensiva, por tanto las condiciones antes mencionadas se mantuvieron prácticamente invariables hasta el siglo XVIII, en el cual cambiaron debido al incremento de la agricultura de regadío en las zonas circundantes. El incremento del caudal del Río Xúquer ha derivado en un humedal que redujo considerablemente la salinidad de la laguna. Como consecuencia del incremento de agua dulce disponible se incrementó la superficie dedicada al cultivo del arroz. Las mayores agresiones empezaron en 1958, con la construcción del Camping del Saler. Así mismo estas agresiones desencadenaron otras intervenciones como el Parador de Turismo en 1964, y la aprobación definitiva del Plan de Ordenación del Monte de la Dehesa 1965.

En la actualidad el Parque Natural se halla seriamente degradado y a la vez amenazado por una fuerte presión antrópica, debido a su proximidad de varios núcleos urbanos de cierta envergadura y con sus consecuentes factores negativos como la alta densidad de población del territorio valenciano en su entorno inmediato, una fuerte industrialización, además de una creciente presión residencial y turística, etc.

Actualmente el sistema formado por el lago de la Albufera, su entorno húmedo y la restinga adyacente a ambos, adquirió el régimen jurídico de Parque Natural por Decreto 89/1986 de 8 de julio, del Consell de la Generalitat Valenciana. La importancia ecológica que presenta ha quedado puesta de manifiesto con la incorporación como área de especial protección en el ámbito comunitario e internacional. Constituye desde abril de 1991 una Zona de Especial Protección para las Aves (ZEPA) según la Directiva Aves (79/409/CEE), está incluida desde mayo de 1990 en la Lista de Humedales de Importancia Internacional del Convenio Ramsar y posee hábitats y especies recogidos en la Directiva comunitaria conocida como "Hábitats" (92/43/CEE).

▪ **Geomorfología**

El Parque Natural podemos distinguir cuatro grandes ambientes en el contexto del Parque, como podemos observar en la Fig.1.3.2:

- Restinga o Devesa: es una estrecha franja de costa arenosa que separa el lago del mar Mediterráneo, orientada NNO a SSE, de una longitud aproximada de 12 Km y de anchura variable, que oscila entre 1 y 1.5 Km.

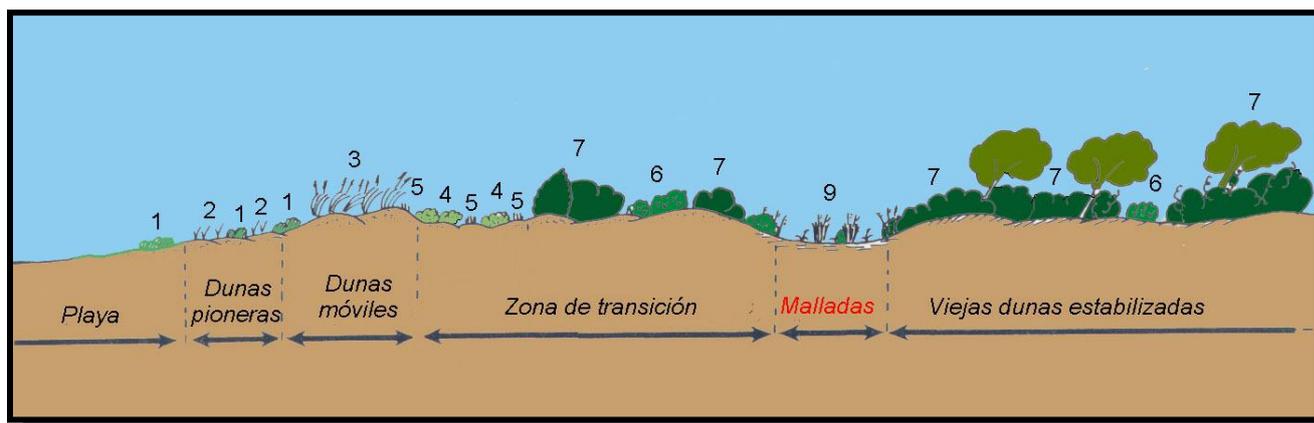


Figura 1.3.2 Reconstrucción de las unidades geomorfológicas de la Devesa (tomada de Herrero González, 2000).

En la restinga encontramos dunas entre estas encontramos depresiones de anchura variable que separan longitudinalmente las dunas de la alineación interior de la exterior y son conocidas localmente con el nombre de malladas. Alcanzan su máxima amplitud en el sector comprendido entre la Gola de Pujol y el Cortafuegos de la Calle. En ciertos tramos aparece subdividida por pequeñas alineaciones dunares transversales o longitudinales de pequeña altura, hasta cuatro metros de cota máxima. Se caracterizan por la proximidad del nivel freático y la existencia de una capa impermeable de naturaleza limosa en su base, lo que permite su encharcamiento temporal en la época de lluvias.

- Marjal: Incluye tierras que anteriormente formaban parte del lago y que ahora están dedicadas al cultivo del arroz. Sus cerca de 14.000 hectáreas son el área más extensa del Parque, representando las zonas llanas inundables y formando un paisaje agrario con gran significado histórico en el contexto valenciano. Aunque se trata de un medio antropizados y sometido a un régimen de explotación intensiva, el arrozal constituye un hábitat imprescindible para el funcionamiento del sistema ecológico de la Albufera y una actividad económica tradicional de la población de la zona.

El arrozal confiere una clara estacionalidad a todo el sistema, con las alternancias de inundación/deseccación de los campos y el crecimiento de la planta, que hacen variar considerablemente la extensión y características de la superficie inundada.

- Lago: tiene una superficie media de 2800 Ha, de las cuales 350 son de vegetación palustre. En él hay que diferenciar, de una parte, las aguas libres y, por otra, las orillas y matas, cuya conjunción posibilita el desarrollo de su característica

diversidad de comunidades vegetales y animales. La profundidad del lago es escasa, con una media inferior a los 80 cm, aunque en algunos puntos llega a alcanzar los 2 metros. El lecho del lago se compone, por lo general, de finos limos con un elevado contenido en materia orgánica.

- Monte: las zonas de montaña están escasamente representadas, únicamente cabe nombrar los relieves de origen cretácico situados en el término de Cullera (Cabeçol) y en el término de Sueca (relieve calcáreo dels Sants de la Pedra).

La zona seleccionada para este estudio es la denominada Mallada Llarga. Se encuentra entre el Cortafuegos de Pujol y la Gola de Pujol. Su superficie original fue parcialmente destruida por edificaciones y aparcamientos en su parte norte y posteriormente rellenada de arena”.

La zona seleccionada para este estudio es la denominada Mallada Llarga. Se encuentra entre el Cortafuegos de Pujol y la Gola de Pujol. Su superficie original fue parcialmente destruida por edificaciones y aparcamientos en su parte norte y posteriormente rellenada de arena.

▪ **Edafología**

En la Devesa de la Albufera dominan los suelos con textura arenosa, hidromorfismo y la salinidad. La acción de cada uno de estos tres factores por separado, o el efecto combinado de los mismos, establece la división de los suelos de la Devesa en tres grandes grupos:

α. Suelos arenosoles

Suelos predominantes en la Devesa, ocupando casi el 71%. Los Arenosoles se desarrollan sobre materiales no consolidados de textura arenosa, sin desarrollar estratificación ni incorporación de materia orgánica al sustrato.

En este caso será calcáreo al tratarse de una zona dunar. La ausencia de partículas finas (limos y arcillas) impide la formación de un complejo de cambio iónico, similar al de los suelos más evolucionados, siendo ésta una de las características diferenciadoras de este tipo de suelos.

La vegetación está fuertemente condicionada por las características físicas de este tipo de suelos, ya que la textura arenosa carece de capacidad de retención de agua y posee una gran facilidad de infiltración, sometiendo a la vegetación que habita sobre este sustrato a estrés hídrico

b. Suelos solonchaks gleicos

El material original constituido por cualquier material no consolidado, son suelos característicos de depresiones litorales o interiores.

En la Comunidad Valenciana lo encontramos en el ámbito territorial costero, presentando una capa freática superficial salina, que provocan una fuerte concentración de sales solubles acumulándose en la parte superior del estrato, provocando una escasa implantación de especies vegetales, tan sólo especies halófilas

c. Suelos gleysoles calcáreos

El material original lo constituye un amplio rango de materiales no consolidados, principalmente sedimentos de origen fluvial, marino o lacustre, del Pleistoceno u Holoceno.

Localizados en zonas deprimidas mal drenado o zonas de marjales que no reciben aporte regular de sedimentos, la capa superficial puede tener un comportamiento similar al de suelos anaeróbicos.

Son suelos con exceso de humedad y suelen estar cubiertos con una vegetación natural pantanosa que puede usarse para pastizal extensivo. Una vez drenados pueden utilizarse para cultivos, agricultura de subsistencia o huertas. En los trópicos y subtrópicos se utilizan ampliamente para el cultivo del arroz.

▪ **Hidrología**

La cuenca hidrográfica de la Albufera se sitúa entre las de los ríos Turia, al Norte, y Júcar, al Sur. El lago funciona como un embalse natural de regulación de la cuenca, ocupando una superficie de 917 km².

La máxima elevación es de 1.042 m en el sector occidental y la altitud media de la cuenca es de alrededor de 150m. En ésta se puede diferenciar una zona alta, por encima de los 400 m y su uso fundamental forestal, una zona media entre los 20 m y los 400 m de uso agrícola (viñas y algarrobos) y una zona baja en la que predominan los cultivos de arroz, hortícolas y cítricos.

El drenaje de la cuenca al lago, se realiza fundamentalmente a través de seis barrancos, que son los siguientes ordenados de mayor a menor importancia: el barranco de Torrent o Chiva (417km²), Picassent (con una cuenca de 100 km²), de Montes (92km²), del Agua (42km²), Hondo (24km²), Berenguera (18km²), y, sobretodo.

▪ **Biogeografía y bioclimatología**

A nivel biogeográfico, atendiendo a la clasificación de Rivas-Martínez (2007), la unidad corológica que afecta a la comarca de La Plana es la que aparece en negrita:

Reino Holártic
Región Mediterránea
Subregión Mediterránea Occidental
Provincia Catalana-Provenzal-Balear
Subprovincia Valenciana
Sector Valenciano-Tarraconense
Distrito Huertano-Valenciano

En lo referente a la climatología, el clima de la zona es mediterráneo, se caracteriza por tener veranos largos y secos, otoños muy lluviosos, primaveras a veces lluviosas.

La temperatura media anual es de unos 17°C, la oscilación térmica es muy reducida debido a la cercanía al mar. Enero es el mes más frío con valores entorno a los 11°C, como vemos al observar en la Fig.1.3.3. El mes más cálido es Agosto con temperaturas medias cercanas a los 25°C.

Las precipitaciones medias anuales se sitúan cercanas a los 500 mm. Se puede hablar de un período lluvioso de 4 meses que corresponde al otoño y comienzos del invierno, donde suele concentrarse el 40-45 % de la precipitación total y

en muchas ocasiones estas se dan de forma torrencial debido a los fenómenos de gota fría.

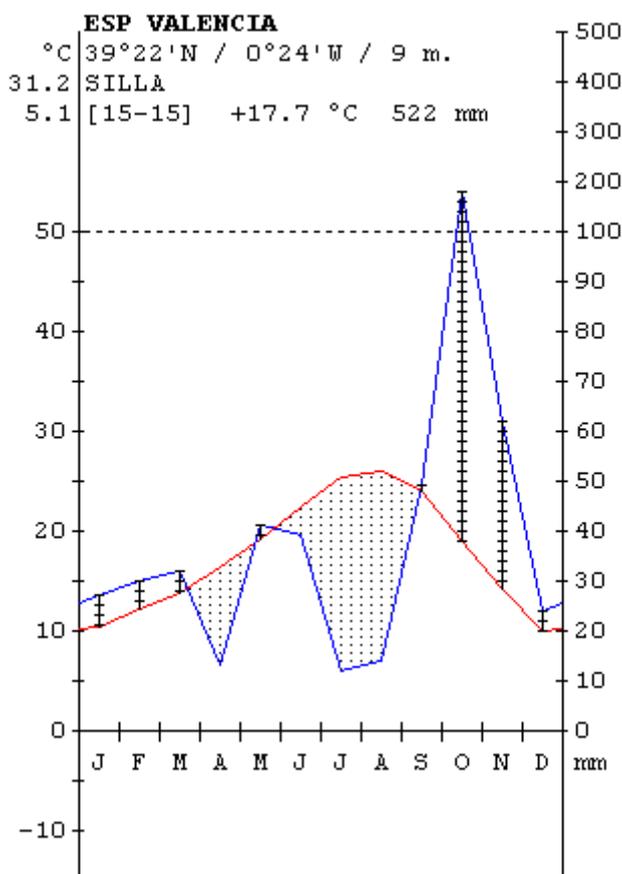


Figura 1.3.3. Diagrama climático de la estación más cercana a la zona salina (Fuente: www.globalbioclimatics.org).

- **Zona yesífera**

La zona escogida está situada en el municipio de Tuéjar, Fig. 1.3.4. Las parcelas seleccionadas para el estudio se sitúan en una ladera, han elegidas en esta zona por la variación de condiciones según la posición en la ladera. Se caracteriza por:

▪ **Marco Territorial**

El municipio de Tuejar se encuentra en la comarca de Los Serranos, situada en el interior de la provincia de Valencia. También conocida esta comarca con los nombres de La Serranía y de Alto Turia. Comprende el curso alto del río Turia y territorios adyacentes.

- **Edafología**

En la zona de Tuejar se dan suelos con horizonte argólico; con elevada concentración de arcillas, sobre calizas en escasa pendiente y en clima subhúmedo-seco. En topografías de mayores desniveles toman mayor importancia los aportes de ladera y la incorporación de materia orgánica, desapareciendo los horizontes argílicos. En las zonas de clima semiárido, con características topográficas y litológicas desfavorables aparecen intensos procesos erosivos, predominando los suelos esqueléticos) y los de tipo rególico

Los suelos predominantes en la zona de estudio son:

- a. Calcisoles

Son suelos en los cuales hay una acumulación secundaria sustancial de material calcáreo. Creados por la acumulación sedimentos aluviales, coluviales y eólicos de material meteorizado rico en bases.

Los Calcisoles están muy extendidos en zonas planas de ambientes áridos y semiáridos, con frecuencia asociados con materiales parentales altamente calcáreos. La vegetación es escasa, dominada por arbustos y árboles xerófitos, también puede estar acompañada pastos efímeros.

Tiene limitaciones para la utilización como suelo agrícola como, la pedregosidad de algunas zonas, y la presencia de horizontes petrocálcicos someros. Las zonas colimadas se usan preferentemente para pastizal con baja carga de ovejas y cabras.

- b. Cambisoles

Los cambisoles son suelos que presentan un grado de desarrollo mínimo, se manifiesta en la presencia de un horizonte superficial grueso, oscuro y rico en bases desarrollado sobre un subsuelo alterado procedente de depósitos de carácter eólico, aluvial o coluvial.

Están presentes en todo tipo de morfologías, climas y tipos de vegetación.

La débil o moderada alteración del material original, por la ausencia de cantidades apreciables de arcilla, materia orgánica y compuestos de hierro y aluminio, de origen aluvial, son sus principales características

Este tipo de suelo permite un gran número de usos agrícolas. Las limitaciones de esto son debido a la topografía, bajo espesor, pedregosidad. En zonas de elevada pendiente su uso queda reducido al forestal o pascícola.

c. Kastanozems

Suelos pardo oscuro ricos en materia orgánica, constituido por gran tipo de materiales no consolidados. Presentan carbonatos o arcillas en el horizonte B y acumulaciones de carbonatos o de yeso en el horizonte C.

Asociados a regiones de clima seco y cálido, en zonas de llano con una vegetación típica herbácea anual de poco porte.

En la agricultura se emplean para el cultivo de cereales de invierno. Las inundaciones y la erosión eólica o hídrica son sus principales limitaciones.

d. Luvisoles

Los Luvisoles son suelos que tienen mayor contenido de arcilla en el subsuelo que en la parte superficial del suelo como resultado de procesos pedogenéticos (especialmente migración de arcilla) que da como resultado un horizonte subsuperficial árgico. Los Luvisoles tienen arcillas de alta actividad en todo el horizonte árgico y alta saturación con bases a ciertas profundidades.

Se produce un lavado de arcilla de los horizontes superiores para acumularse en una zona más profunda.

Se desarrollan sobre una gran variedad de materiales no consolidados como depósitos glaciares, eólicos, aluviales y coluviales. Predominan en zonas llanas o con suaves pendientes de climas templados fríos o cálidos pero con una estación seca y otra húmeda, como en el clima mediterráneo de esta zona.

Cuando el drenaje interno es adecuado, presentan una gran potencialidad para un gran número de cultivos a causa de su moderado estado de alteración y su, generalmente, alto grado de saturación.

e. Regosoles

Los Regosoles se desarrollan sobre materiales no consolidados, alterados y de textura fina.

Presentes en las zonas climáticas sin permafrost y todas las alturas. Los Regosoles son comunes en áreas áridas y en regiones montañosas.

La evolución del perfil es mínima como consecuencia de su juventud, o de un lento proceso de formación por una prolongada sequedad.

Su uso y manejo varían muy ampliamente. Bajo regadío soportan una amplia variedad de usos, si bien los pastos extensivos de baja carga son su principal utilización. En zonas montañosas es preferible mantenerlos bajo bosque.

▪ **Hidrología**

La Serranía presenta una adaptación a la cuenca del Turia, el curso medio de este río recorre de la comarca de este a oeste, a él llegan diversos cursos afluentes, pero debido a la naturaleza angosta de su trazado, desempeña un papel menor del que se le podría atribuir a primera vista.

Esta comarca vinculada al Turia, donde este río presenta un papel secundario incluso respecto a alguno de sus afluentes, como sucede especialmente con Chelva/Tuéjar, denominaciones propias de su principal afluente.

El río Turia cruza Los Serranos en dirección NO-SE. Circula en algunos tramos entre calizas y margas, materiales que propician la infiltración y circulación de caudales subterráneos, lo que favorece la surgencia de numerosas fuentes y manantiales.

Las aguas del río Turia se recogen aquí en los embalses de Benagéber y en el de Loriguilla.

▪ **Biogeografía y bioclimatología**

La comarca de Los Serranos está englobada en la unidad corológica por la provincia Mediterránea Ibérica Central en su franja septentrional, y por la provincia

Catalana-Provenzal-Balear en el resto (Rivas-Martínez, 2007), afectando ésta a la mayor parte del territorio, en la que podríamos incluir nuestra zona de estudio:

Reino Holártico
Región Mediterránea
Subregión Mediterránea Occidental
Provincia Catalana-Provenzal-Balear
Subprovincia Valenciana
Sector Valenciano-Tarraconense
Distrito Suriano
Provincia Mediterránea Ibérica Central
Subprovincia Oroibérica
Sector Ibérico Maestracense
Distrito Javalambrense

El clima de la zona es mediterráneo xérico oceánico, caracterizado por presentar aridez estival.

En lo relativo a los datos climáticos se ha considerado la estación climatológica más próxima a las parcelas que la del municipio de Chelva.

La zona de estudio la situamos en el piso bioclimático mesomediterráneo, representando hasta altitudes de entre 900 m y 1000 m, ya que esta se encuentra a una altura de 700m respecto al nivel del mar.

El ombrotipo de Chelva se caracteriza por ser seco, aunque en estaciones vecinas es subhúmedo, así que se puede decir que el ombrotipo de la zona estudiada varía entre subhúmedo y seco.

La temperatura media anual tomada en la estación más cercana es de unos 15,5°C y la precipitación media de 483 mm, como podemos ver en la Fig.1.3.5.. Las temperaturas máximas se dan en el periodo estival coincidiendo con la temporada de sequía y hay un aumento de las precipitaciones en otoño y en primavera. Todas estas condiciones son típicas del clima mediterráneo.

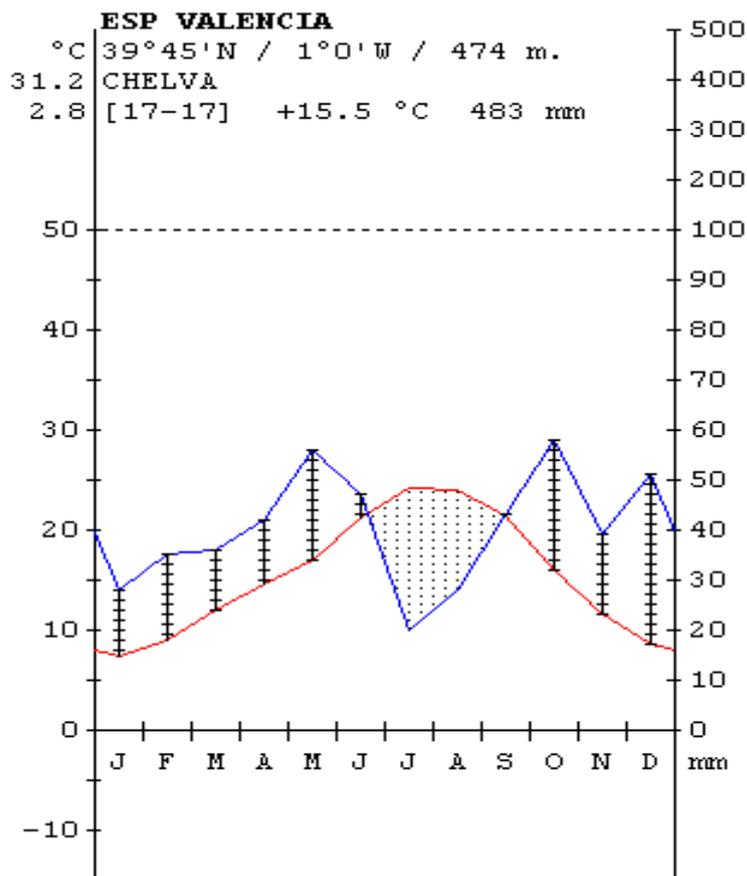


Figura 1. 3. 5. Diagrama climático de la estación más cercana a la zona yesífera(Fuente: www.globalbioclimatics.org).

- **Zona semiárida**

La parcela está situada en el término municipal de Serra, en la zona conocida como Portaceli o Porta Celi, en la Serra Calderona (Fig.1.3.6.), que forma parte de la comarca del Camp de Tria, en la provincia de Valencia. Se encuentra incluida en la partida “Pla de Colom”, área natural que consta de una extensión superior a 140 Ha, de las cuales aproximadamente 22 Ha aparecen como zona verde en el Plan General de Ordenación Urbana (PGOU), estando incluida la parcela en este último sector.

Se encuentra en un terreno sin gradientes de altura ni en las características del suelo, por ese motivo sólo se ha delimitado una parcela, al no estimarse diferencias significativas con las zonas próximas.

▪ **Marco territorial**

Parte de la Serra Calderona se incluyó en la Red Natura 2000, dentro de la Directiva Hábitats, como LIC en el año 1998, en el 2000 su protección legislativa se amplió al incluirse como zona ZEPA y es Parque Natural desde el año 2002. En la

sierra se encuentran también zonas BIC que protegen zonas de interés cultural, microrreserva de flora, bajo protección, y cuevas incluidas en el Catálogo de Cuevas de la Comunidad Valenciana.

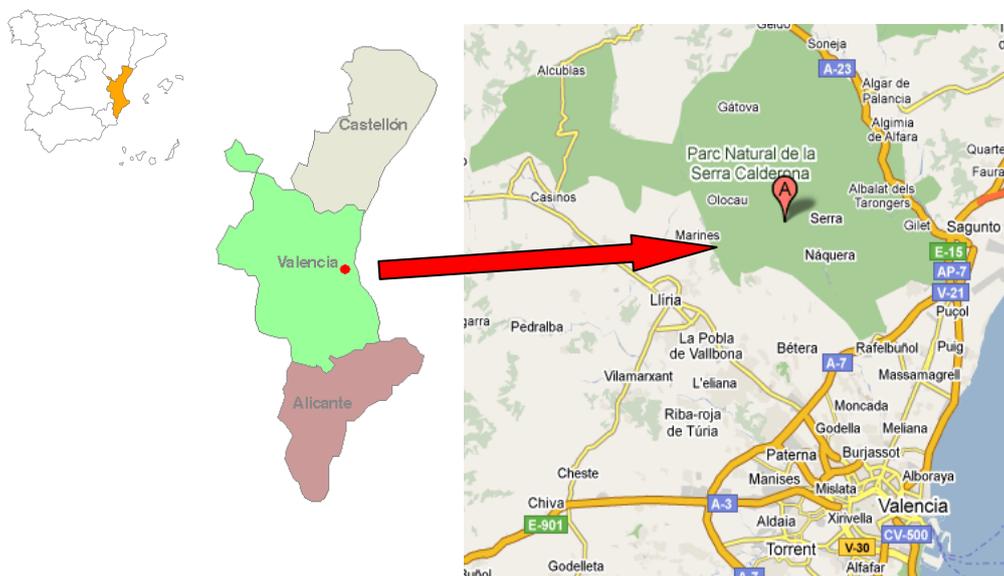


Figura 1.3.6. Localización de la zona de estudio en el término municipal de Bétera, Portaceli.

- **Geomorfología**

Esta sierra ocupa una vasta superficie que se desarrolla principalmente por debajo de los 1000 metros de altitud, con excepción del Montemayor, en el extremo noroccidental, donde se alcanza una cota de 1.015 metros sobre el nivel del mar. Otras alturas importantes son el Gorgo (907 metros), Rebalsadors (802 metros), Oronet (742 metros) y el Garbí (600 metros).

- **Edafología**

Los suelos están clasificados como calcisoles, y dentro de éstos, la zona de estudio pertenece a una asociación denominada calcisol pétrico y calcisol háplico.

- α. Calcisoles

Como ya se ha comentado anteriormente se trata de suelos con una I acumulación de caliza secundaria, el material original esta constituido por depósitos aluviales, coluviales o eólicos de materiales alterados ricos en bases.

Asociado con un clima árido o semiárido. El relieve es llano a colinado. La vegetación natural es de matorral o arbustiva de carácter xerófito junto a árboles y herbáceas anuales.

b. Calcisol pétrico

Son suelos fuertemente endurecidos dentro de los primeros 100 cm. Se definen dos modalidades:

Endopétrico: La cementación o endurecimiento está por debajo de los 50 cm.

Epipétrico: El fenómeno sucede en los primeros 50 cm.

c. Calcisol háplico

Cuando se desarrollan sobre calizas o dolomías se dan sobre terrenos abruptos, sufren a una intensa acción erosiva. Por eso a menudo están muy accidentados, lo que dificulta su uso. En las laderas y llanos sí alcanzan un cierto espesor y pueden soportar cultivos.

Pueden desarrollarse también sobre margas, en terrenos llanos. En este caso poseen una textura más limosa y una estructura más débil que los hace polvorientos cuando se encuentran secos. Además su espesor es mayor y la capacidad de retención de agua es más importante. Son aptos para cultivos de cereales y de regadío.

En la zona de estudio el suelo tiene usos agrícolas y forestales, gran parte de la superficie se encuentra urbanizada. La zona con dedicación forestal tiene pendientes suaves, presenta una vegetación de pinos y matorral. La zona con dedicación agrícola está formada por cultivos de secano.

▪ **Hidrología**

La red hidrográfica corresponde a tres cuencas principales: el río Palancia al norte, el barranco de Carraixet que atraviesa en dirección NO-SE y el río Turia al sur.

Como consecuencia de las ondulaciones del terreno se forman pequeños barrancos intermitentes conectados entre sí, pero que no desembocan en el barranco del Carraixet, sino que se pierden en depresiones del propio terreno. Estos cauces sólo llevan agua cuando se producen lluvias torrenciales, el resto del año están secos.

- **Biogeografía y bioclimatología**

La comarca donde aparece la zona de estudio está ubicada en la provincia Catalana-Provenzal-Balear (Rivas-Martínez, 2007):

Reino Holártico
Región Mediterránea
Subregión Mediterránea Occidental
Provincia Catalana-Provenzal-Balear
Subprovincia Valenciana
Sector Valenciano-Tarraconense
Distrito Turiano

El clima de esta zona es mediterráneo. El tipo de bioclima es xérico oceánico. El termotipo es mesomediterráneo inferior porque se sitúa entre el termomediterráneo y el mesomediterráneo. El ombrotipo de la zona es semiárido.

Típico del clima mediterráneo, como se ha comentado en las otras zonas, son los inviernos suaves, con la posibilidad de presencia de periodos de frío, y los veranos bastante calurosos (Fig.1.3.7.). Las precipitaciones suelen ser escasas, más abundantes en el otoño, pudiendo ser torrenciales si coinciden con el fenómeno de la gota fría. La estación veraniega es seca y dura entre 4 y 5 meses.

Las temperaturas alcanzan los valores máximos a finales de verano y los mínimos a principios de invierno. La temperatura media anual del lugar no la sabemos exactamente, pero en la estación más cercana es de 16,6°C y la precipitación media de 514mm.

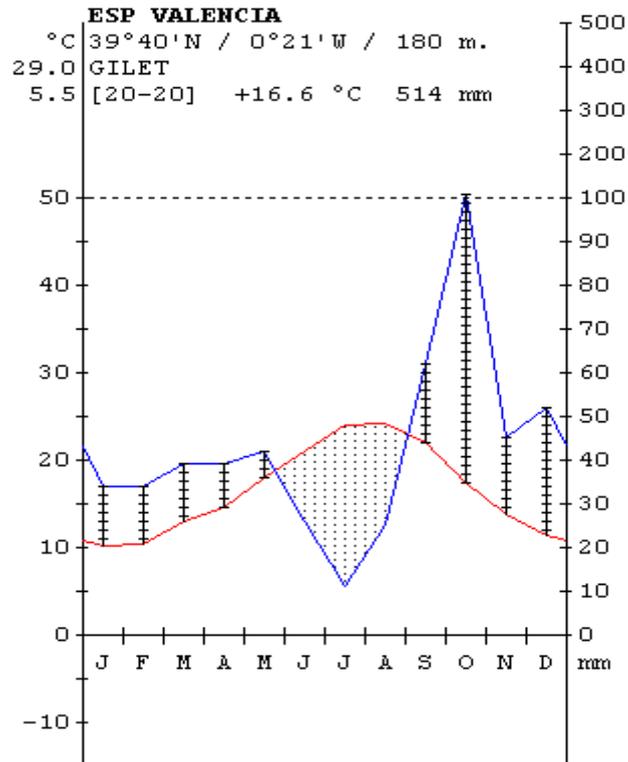


Figura 1.3.7. Diagrama ombrotérmico de la estación más cercana a la zona semiárida (Fuente: www.globalbioclimatics.org).

1.4 Compuestos fenólicos

Los fenoles o compuestos fenólicos son compuestos orgánicos en cuyas estructuras moleculares contienen al menos un grupo fenol, un anillo aromático unido a al menos un grupo funcional hidroxilo. Muchos son clasificados como metabolitos secundarios de las plantas, aquellos productos biosintetizados en las plantas que poseen la característica biológica de ser productos secundarios de su metabolismo. En general son sintetizados por una vía biosintética: la vía del ácido shikímico o la vía del ácido malónico, o por las dos como en el caso de los flavonoides.

Los compuestos fenólicos de las plantas son un grupo heterogéneo de productos de unos 10.000 compuestos: algunos son solubles en solventes orgánicos, otros son glucósidos o ácidos carboxílicos solubles en agua, mientras tanto otros son polímeros muy grandes e insolubles.

De acuerdo con su diversidad química, los fenoles tienen funciones muy diversas en las plantas. Muchos son productos de defensa ante herbívoros y patógenos. Otros participan en el soporte mecánico a la planta, en la atracción de polinizadores y

dispersores de frutos, en la absorción la radiación ultravioleta, o actúan como agentes alelopáticos. (Taiz & Lincons, 2006)

1.5 Flavonoides

Los flavonoides representan una de las principales clases de fenoles vegetales. El esqueleto carbonado básico de los flavonoides contiene 15 átomos de carbono ordenado en dos anillos aromáticos unidos por un puente de tres carbonos. (Taiz & Lincons, 2006)

Se conocen mas de 5000 flavonoides distintos, normalmente son compuestos glicosilados (Dey & Harborne, 1997).

Funciones comunes son:

- Resistencia de las plantas a la fotooxidación de la luz ultravioleta del Sol, al comportarse como antioxidantes
- Defensa ante el herbivorismo, ya que a elevadas concentraciones son tóxicos
- Atracción de los animales polinizadores a través del color o el olor que dan a la planta o a sus flores
- Intervienen en el transporte de la hormona auxina

Los flavonoides han adquirido notoriedad pública por su actividad biológica en el hombre, que los consume con los vegetales. Poseen propiedades muy apreciadas en medicina, como antimicrobianos, anticancerígenos, disminución del riesgo de enfermedades cardíacas, entre otros efectos. También son conocidos por los cultivadores de plantas ornamentales, que manipulan el ambiente de las plantas para aumentar la concentración de flavonoides que dan el color a las hojas y a las flores.

Debido a las importantes funciones metabólicas que los flavonoides tienen en las plantas y en los animales, sus vías biosintéticas y mecanismos de regulación están siendo cuidadosamente estudiados.

- **Estructura química**

Dentro de los flavonoides, se reconocen 6 clases principales, según los grupos funcionales que posean:

- Chalconas
- Flavonas

- Flavonoles
- Flavandioles
- Antocianinas
- Taninos condensados

Algunos autores consideran también a las auronas, que otros integran a las chalconas. También hay otros derivados de los flavonoides que poseen modificaciones tales que no entran dentro de ninguna de estas clases principales.

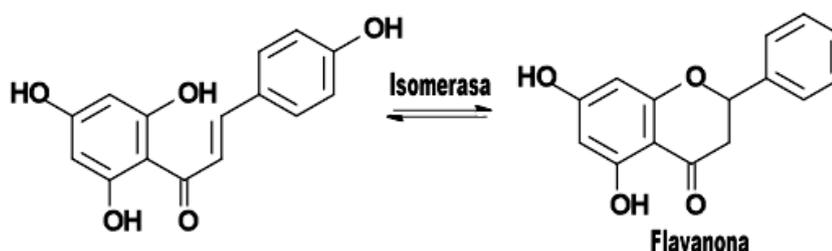


Figura 1.5.1 Flavonoides base y la acción de la enzima isomerasa
(Fuente:www.wikipedia.es)

Biosíntesis

Son sintetizados a partir de una molécula de fenilalanina y 3 de malonil-CoA, a través de lo que se conoce como "vía biosintética de los flavonoides", cuyo producto, la estructura base, se cicla gracias a una enzima isomerasa. La estructura base, un esqueleto C6-C3-C6, puede sufrir posteriormente muchas modificaciones y adiciones de grupos funcionales, por lo que los flavonoides son una familia muy diversa de compuestos, aunque todos los productos finales se caracterizan por ser polifenólicos y solubles en agua.

Aunque todas las especies comparten la vía biosintética central, poseen una gran variabilidad en la composición química de sus productos finales y en los mecanismos de regulación de su biosíntesis, por lo que la composición y concentración de flavonoides es muy variable entre especies y en respuesta al ambiente.

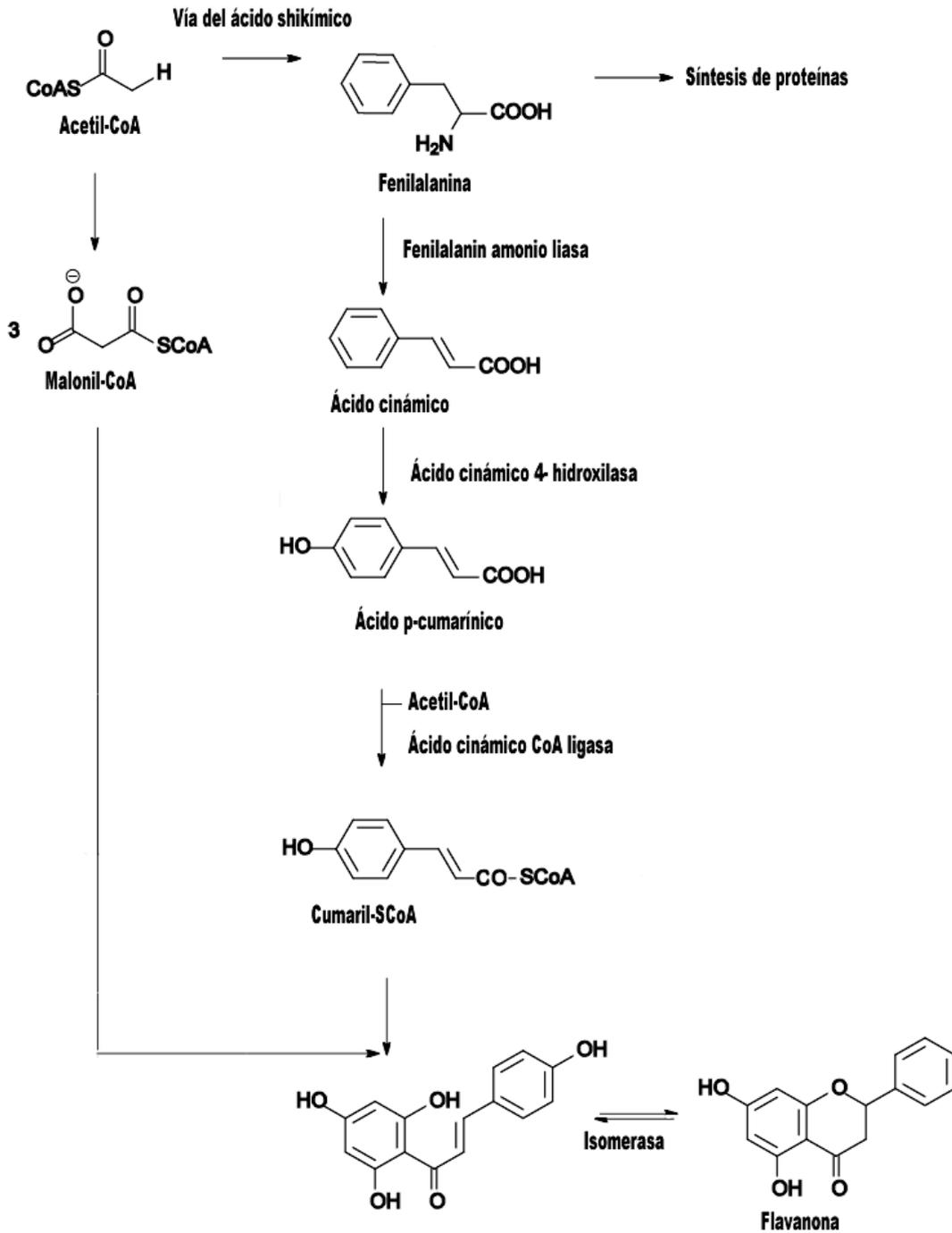


Figura 1.5.2. Ruta de biosíntesis de los flavonoides en las plantas.
 (Fuente:www.wikipedia.es)

La vía del ácido shikímico es dependiente de la luz.

La acción de la fenilalanina amonioliasa, que inicia la vía biosintética de los flavonoides, es fundamental para la vida de las plantas y por ello está estrictamente regulada. Entre otros factores, la fenilalanina amonioliasa es activada por la luz, y depende además de la concentración de diferentes hormonas vegetales. La actividad de la fenilalanina amonioliasa suele aumentar cuando a los vegetales se les somete a situaciones de estrés, como puede ser la falta de agua, infecciones fúngicas o bacterianas, radiaciones UV y el frío

La ciencia aplicada aprovechó el conocimiento de la biosíntesis y su regulación en muchos trabajos de ingeniería metabólica, en los que se buscó por ejemplo, aumentar la concentración de flavonoides beneficiosos en las plantas de consumo humano o de uso farmacéutico, modificar su concentración en flores ornamentales para cambiarles el color, e inhibir su producción en el polen para lograr la esterilidad de los híbridos de interés comercial. En lo que respecta a su producción, se ha desarrollado con éxito un cultivo de bacterias que sintetiza flavonoides de interés humano.

A pesar de estos avances aún queda mucho por investigar de los flavonoides, de su valor medicinal, y de su impacto en la nutrición y la salud humana y de los animales. También es necesario continuar la investigación de su estructura, su metabolismo y su biodisponibilidad, por lo que se esperan importantes progresos en este campo.

2OBJETIVOS

Este trabajo de final de carrera, es una pequeña parte de un proyecto mucho más amplio en cuanto extensión temporal, y a ensayos sobre indicadores bioquímicos. El objetivo de este, es el estudio de la respuesta al estrés abiótico de plantas silvestres tolerantes al estrés en su hábitat natural, en este gran proyecto se correlacionan distintos marcadores bioquímicos característicos de las distintas rutas de respuesta con las propiedades edafoclimáticas de estos hábitats (Proyecto CGL2008-00438/BOS del Ministerio de Ciencia e Innovación).

Algunos de los marcadores químicos y bioquímicos considerados en este proyecto son: la acumulación de iones mono y divalentes y de osmolitos, la síntesis de algunas proteínas frente al estrés como forma de defensa, activación de sistemas antioxidantes, tanto químicos como enzimáticos.

2.1 Objetivo general del trabajo

Se pretende estudiar el mecanismo de respuesta al estrés. Proponemos que los mecanismos de respuesta de las plantas adaptadas a condiciones de estrés en la naturaleza son más eficientes que los que operan en plantas no tolerantes (aunque compartan las mismas bases moleculares), y que estas diferencias cuantitativas están condicionadas o moduladas por las propiedades edafoclimáticas del hábitat donde se desarrollan las plantas, y por las variaciones espaciales y temporales de dichas propiedades. De acuerdo con esta idea, el proyecto pretende abordar el estudio de los mecanismos de tolerancia a estrés abiótico en un número representativo de especies de tres tipos de hábitats naturales sometidos a diferentes condiciones de estrés ambiental (elevada salinidad, suelos yesíferos y una zona árida). Para ello, se determinan los niveles de varios marcadores bioquímicos y enzimáticos característicos de distintas rutas de respuesta a estrés en plantas.

En este Trabajo Final de Carrera se determinarán algunos de los compuestos antioxidantes como son los compuestos fenólicos y los flavonoides.

2.2 Objetivos particulares del trabajo

- Determinación de los niveles de compuestos fenólicos totales en material vegetal de distintas especies silvestres, recolectado en las zonas experimentales seleccionadas en El Saler (suelo salino), Tuéjar (zona de yesos) y Porta Celi (zona árida) en el muestreo de verano, 2009. Se utilizará un método de ensayo previamente establecido en el laboratorio, usando el compuesto fenólico gálico como patrón.
- Determinación de los niveles de flavonoides totales, en el material descrito anteriormente, utilizando asimismo el ensayo establecido en el laboratorio, con el flavonoides catequina como patrón.
- Colaboración en la recogida y preparación de muestras vegetales, en las parcelas experimentales mencionadas anteriormente (muestreo otoño,2009).
- Determinación de los niveles de compuestos fenólicos totales y flavonoides totales como se ha descrito en los puntos anteriores del muestreo de otoño.
- Análisis estadísticos de los resultados y estudio comparativo por zonas, muestreos y taxones.
- Obtención de conclusiones a partir de los resultados obtenidos

3 MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Material vegetal

Los hábitats prioritarios según la Directiva Hábitat (Directiva 92/43/CEE).

- **Estepas salinas mediterráneas (Limoinietalia)**

Código Natura 2000: *1510

Código Corine-Biotopos: 15.18

Hábitat presente en el interior de la Península, con irradiaciones hacia las costas e islas mediterráneas

Formaciones ricas en plantas perennes que suelen presentarse sobre suelos temporalmente húmedos por agua salina, expuestos a una desecación estival extrema. Suelen aparecer asociadas a complejos salinos de cuencas endorreicas, donde ocupan las partes más secas. Estas comunidades también pueden aparecer en la banda más seca de marismas y saladares costeros.

Las formaciones de *Limoinietalia* están dominadas por especies del género *Limonium*, algunas son endémicas de la Comunidad Valenciana, como *Limonium dufourii*, *L. santapolense*.

Algunas de estas especies están protegidas bien por la legislación nacional o autonómica, como por ejemplo el *Limonium dufourii*.

Hábitat muy amenazado por la construcción en las zonas cercanas a la costa, y por la desecación de las zonas húmedas que provocan un cambio en las condiciones abióticas y con él un cambio en la flora del hábitat

Las especies que hemos utilizado para nuestro estudio de este hábitat son (imágenes extraídas del Herbari Virtual del Mediterrani Occidental):

Familia: Chenopodiaceae

Sarcocornia fruticosa (L.) A. J. Scott

Familia: CHENOPODIACEAE

Nombre común: Sosa alacranera, cirialera

Distribución: Mediterránea

Hábitat: Saladares abundantes en agua. Costa rocosa

Categoría IUCN: Poco preocupante

Ubicación: Zonas salina, parcelas 2 y 3



Familia: Compositae

Helichrysum stoechas (L.) Moench

Nombre común: Manzanilla bastarda, siempreviva

Distribución: Mediterránea

Hábitat: Tomillares abiertos y soleados, frecuentemente cercanos al mar.

También en cunetas

Categoría IUCN: Poco preocupante

Ubicación: Zona salina, parcela 1



Inula crithmoides L.

Nombre común: Salsona

Distribución: Plurirregional

Hábitat: Zonas litorales de suelos salinos

Categoría IUCN: Poco preocupante

Ubicación: Zonas salina, parcela 3



Familia: Cyperaceae

Schoenus nigricans L.

Nombre común: Junquillo negral

Distribución: Plurirregional

Hábitat: Suelos húmedos

Categoría IUCN: Poco preocupante

Ubicación: Zonas salina, parcela 1



Familia: Juncaceae

Juncus acutus L.

Nombre común: Junco, junco espinoso

Distribución: Plurirregional

Hábitat: Zonas húmedas y pantanosas

Categoría IUCN: Poco preocupante

Ubicación: Zonas salina, parcelas 1 y 2



Juncus maritimus Lam.

Nombre común: Junco marítimo

Distribución: Plurirregional

Hábitat: Zonas húmedas, pantanosas y marismas

Categoría IUCN: Poco preocupante

Ubicación: Zonas salina, parcela 2 y 3



Familia: Labiatae

Teucrium capitatum L.

Nombre común: Polio, tomillo macho, zamarrilla

Distribución: Plurirregional

Hábitat: Matorrales y pinares secos, frecuentes cerca del mar

Categoría IUCN: Poco preocupante

Ubicación: Zonas salina, parcela 1



Familia: Leguminosae

Ononis natrix L. subsp. ramosissima

Nombre común: Adonis, beluda, hierba culebra, melera, melosa, pegamoscas,

Distribución: Mediterránea-occidental

Hábitat: Lugares secos y soleados, márgenes de caminos, etc.

Categoría IUCN: Poco preocupante

Ubicación: Zonas salina, parcela 1



Familia: Plantaginaceae

Plantago crassifolia Forssk.

Nombre común: Plantago

Distribución: Mediterránea

Hábitat: Zonas húmedas costeras con suelos salinos

Categoría IUCN: Poco preocupante

Ubicación: Zonas salina, parcela 1 y 2



Familia: Plumbaginaceae

Limonium virgatum (Willd.) Fourr.

Nombre común: Limonio, siempreviva

Distribución: Mediterránea

Hábitat: Suelos salobres del litoral

Categoría IUCN: Poco preocupante

Ubicación: Zonas salina, parcela 2 y 3



- **Estepas sobre yeso (Gypsophiletalia)**

Código Natura 2000: *1520

Código Corine-Biotopo: 15.19

- Comunidades herbáceas o arbustivas sobre yesos, dominadas, en cada caso, por una o unas cuantas especies pertenecientes a los géneros *Limonium*, *Gypsophila*, *Ononis*, *Frankenia*, *Lygeumo* *Teucrium*.
- Estos sustratos se desarrollan a menudo en margas triásicas de la facies Keuper. En algunos tipos de margas del Mioceno con elevada conductividad, también se desarrolla un tipo de vegetación semejante.
- Es un hábitat de aspecto desértico e improductivo, por lo que ha determinado una escasa estima entre la población. También es muy erosionado por la implantación de Canteras y el sobre pastoreo excesivo. Las transformaciones agrarias a gran escala, que han convertido en cultivos de regadío miles de hectáreas de diferentes tipos de estepas. Y Debido al carácter impermeable de algunas capas del suelo, muchas estepas han sido transformadas en vertederos.

Las distintas especies que podemos encontrar en este hábitat son :

Familia: Caryophyllaceae

Gypsophila struthium Loefl. subsp. *hispanica* (Willk.) G. López

Nombre común: Albada, jabonera
Distribución: Iberolevantina
Hábitat: Matorrales secos gipsícolas
Categoría IUCN: LRlc
Ubicación: Zonas yesos , parcela 3



Familia: Cistaceae

Cistus clusii Dunal

Nombre común: Romero macho
Distribución: Mediterránea-occidental
Hábitat: Arenales litorales
Categoría IUCN: Poco preocupante
Ubicación: Zonas yesos, parcelas 1 y 3



Familia: Leguminosae

Anthyllis cytisoides L.

Nombre común: Albaida
Distribución: Mediterránea-occidental
Hábitat: Lugares soleados, cerca o dentro de los pinares
Ubicación: : Zonas yesos, parcelas 1, 2 y 3



Ononis tridentata L. subsp. angustifolia (Lange) Devesa et G. López

Nombre común: Arnacho, estrepa, garbancillo de conejo

Distribución: Ibero-levantina

Hábitat: Forma matorrales en suelos yesosos. Es indicador de la presencia de sulfato cálcico

Categoría IUCN: Poco preocupante

Ubicación: : Zonas yesos, parcelas 1,2 y 3



Familia: Plantaginaceae

Plantago albicans L.

Nombre común: Gitanilla, lantén blanquecino, resbala-muchachos

Distribución: Mediterránea-meridional

Hábitat: Márgenes de caminos y campos baldíos

Categoría IUCN: Poco preocupante

Ubicación: : Zonas yesos, parcelas 1



- **Zona Semiarida**

La parcela correspondiente a la zona semiárida de Portaceli en el término municipal de Bétera. Esta parcela no pertenece a ningún hábitat prioritario. Las especies que se han utilizado para llevar a cabo este estudio en la zona de yesos son las siguientes:

Familia: Gramineae

Stipa capensis Thunb.

Nombre común: Esparto

Distribución: Mediterránea-meridional

Hábitat: Prados secos y márgenes de caminos

Categoría IUCN: Poco preocupante

Ubicación: Zonas Bétera



Stipa tenacissima L.

Nombre común: Esparto

Distribución: Mediterránea-meridional

Hábitat: Tomillares y costa rocosa

Categoría IUCN: Poco preocupante

Ubicación: Zonas Bétera



Familia: Leguminosae

Dorycnium pentaphyllum Scop.

Familia: LEGUMINOSAE

Nombre común: Bocha, mijediega, socarrillo

Distribución: Mediterránea-occidental

Hábitat: Matorrales y pinares.

Categoría IUCN: Poco preocupante

Ubicación: Zona Bétera



- **Especies que crecen en más de un tipo de suelo**

En este grupo situaremos las plantas más cosmopolitas que las podemos encontrar en más de un ecosistema, son :

Familia: Cistaceae

Helianthemum syriacum (Jacq.) Dum. Cours.

Nombre común: Romero blanco

Distribución: Eurosiberiana de gran área

Hábitat: Matorrales claros en terrenos pedregosos y secos

Categoría IUCN: Poco preocupante

Ubicación: Zonas salina parcela 1, yesífera parcelas 1 y 2, semiárida



Familia: Labiatae

Rosmarinus officinalis L.

Nombre común: Romero

Distribución: Mediterránea

Hábitat: Abundante desde el nivel del mar hasta las montañas. Zonas calcáreas

Categoría IUCN: Poco preocupante

Ubicación: Zonas salina parcela 1, yesífera parcelas 1, 2 y 3, semiárida



hymus vulgaris L. subsp. vulgaris

Nombre común: Tomillo

Distribución: Mediterránea

Hábitat: Matorrales secos y soleados sobre todo tipo de sustratos

Categoría IUCN: Poco preocupante

Ubicación: Zonas yesífera parcelas 1 y 3, y semiárida



3.2 Trabajo de campo

La delimitación de las zonas de estudio se ha hecho en base a la vegetación característica y una estimación de las características edafológicas.

En la zona salina situada en el Saler, concretamente en la Mallada Llarga se han seleccionado tres parcelas. La parcela 1 es la que menos salinidad presenta, la 2 salinidad intermedia y la 3 los valores más elevados, como se ha establecido en base a unas medidas iniciales realizadas con un conductímetro de campo.

La zona de yesos se encuentra dentro del término municipal de Tuejar, situada en una ladera. La división por parcelas, en tres concretamente, se ha realizado teniendo en cuenta el desnivel ya que en la parte más alta es donde hay menos yesos y en la parte más baja donde abundan más, debido al balance erosión deposición.

Por lo que respecta a la zona semiárida se sitúa en la proximidad de la localidad de Bétera, en este caso solo encontraremos una parcela, ya que no existía ningún gradiente edáfico que diferenciara una zona del terreno de otra.

Las parcelas miden 10x10m cada una, sobre el terreno está delimitado con estacas de madera, en las esquinas. También se cuadrículó, así poder llevar un seguimiento de la situación de las plantas y de los puntos de muestreo con la sonda, tomándose las coordenadas UTM de estos con un GPS.

De cada especie se muestrean hojas de cinco individuos , y de no existir tanto individuos el numero máximo posible. De encontrarse individuos del mismo taxón en distintas parcelas, se muestrearan con el fin de poder comparar los. Se han excluido del estudio las especies que se consideran raras o endémicas, también se han excluido las plantas anuales al realizarse muestreos en las distintas estaciones.

La identificación taxonómica de los distintos individuos se realiza con la ayuda de la clave de Mateo & Crespo (2001)

3.3 Trabajo de laboratorio

- Preparación de las muestras en el laboratorio

Tras la recogida de muestras en el campo, ya en el laboratorio, se separa las hojas de las partes más duras de la planta, a continuación se pesan y etiquetan. La parte blanda (hojas y flores) la dividiremos en dos fracciones una más pequeña de unos 5 gramos que irá a la estufa y una con el resto de material que se almacenara en el congelador. De las especies que no tengamos mucho material se mezclaran los distintos ejemplares.

La fracción más pequeña que se llevaran a la estufa donde se mantendrán unos días a 65°C para la eliminación de la humedad después de desecar se trituran , envasan y etiquetan convenientemente

La otra parte se llevaran al congelador correctamente etiquetadas y empaquetadas, donde se conservaran a una temperatura de -80°C.

El resto del material fresco se guarda a -80°C, conservándose así para los análisis de otros marcadores bioquímicos.

- Preparación del extracto

Realizamos el extracto a partir de material seco, pesamos 0,1g aproximadamente de cada ejemplar, este se machaca en un mortero hasta conseguir que el material se convierta en polvo. Se añade 1ml de etanol 80%, se tritura un poco más y se añade otro mililitro de etanol. El contenido del mortero se vierte en un tubo de ensayo con tapa, para finalizar se lava el mortero con otro mililitro de etanol para recoger los restos de material que quede en el mortero y se agregan al tubo de ensayo .

El tubo de ensayo con los 3 ml de etanol y el material totalmente triturado se deja en una balanza analítica agitándose durante unas 24 horas.

Tras 24 h se recoge el liquido sobrenadante del tubo de ensayo, se introduce en un tubos Eppendorf de 2 ml, se coloca en la centrifugadora durante 20 minutos. Después del centrifugado se vuelve recoger el líquido sobre nadante y se guarda en otro tubo Eppendorf esta vez de 1,5 ml, se etiqueta convenientemente.

De este Eppendorf se extrae la cantidad necesaria para realizar los análisis tanto de compuestos fenólicos como de flavonoides y el resto se conserva en el congelador a -20°C.

- **Medida de compuestos fenólicos**

Para la medida de compuestos fenólicos se han utilizado los protocolos de Marinova et. al (2005), sometiénolos a algunos ajustes y modificaciones de acuerdo al material disponible y a las necesidades particulares de detección de los aparatos de análisis del laboratorio, hallando al final as cantidades de compuestos fenólicos totales, expresadas como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de peso seco.

▪ **Reactivos y Preparación de los reactivos**

Los reactivos se preparan en grandes volúmenes de forma que queden almacenados y no se tengan preparar para cada análisis, de esta forma se elimina parte del error derivado de la utilización de diluciones. Estos son reactivos y su correspondiente preparación:

- a. Metanol al 80%: Se prepara una disolución de metanol al 80%. Se hace añadiendo 80 ml de metanol a 20 ml de agua milli-Q. Para conseguir más cantidad de disolución se cogen mayores cantidades, manteniendo las proporciones.
- b. Ácido gálico: Se prepara una disolución de ácido gálico a una proporción de 1/25. Para ello se cogen 40 µl de ácido gálico al 0,5% y se enrasa a 1000 µl añadiendo 960 µl de agua milli-Q. Esta disolución se conserva en nevera.
- c. Reactivo Folin: Se utiliza el reactivo comercial, no necesita ninguna preparación.
- d. Carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 15%: Se prepara una disolución de Na_2CO_3 al 15%. Para ello se añaden 15 g de Na_2CO_3 a 100 ml de agua

milli-Q. Para conseguir más cantidad de disolución se cogen mayores cantidades, manteniendo las proporciones.

▪ **Procedimiento**

El procedimiento que se lleva a cabo es el siguiente:

1º Se prepara un patrón de ácido gálico diluido de forma que podemos observar en la Tabla 3.3.1:

Tabla 3.3.1. Preparación de patrón

PREPARADO DEL PATRÓN							
Añadir	Blanco	Pto1	Pto 2	Pto 3	Pto 4	Pto 5	Pto 6
Ácido gálico (1/25) (µl)	0	20	30	40	60	80	100
Agua milli-Q (µl)	100	80	70	60	40	20	0

2º Se preparan los extractos para medirse de la forma que muestra la Tabla 3.3.2. . Se hacen 2 muestras por extracto con diferente concentración.

Tabla 3.3.2. Preparación de la muestras

PREPARACION DE LAS MUESTRAS			
Añadir	Blanco	Muestras 5	Muestras 50
Extracto concentrado (µl)	0	5	50
Metanol (80%) (µl)	100	95	50

3º I patrón y a las muestras preparadas se les añaden los reactivo de siguiendo el orden mostrado en la Tabla 3.3.3.

Tabla 3.3.3. Incorporación de los reactivos

INCORPORACIÓN DE LOS REACTIVOS	
Agua milli-Q (ml)	1,4 y agitar
Folin (µl)	100, agitar y en reposo durante 5 minutos a temperatura ambiente
Na ₂ CO ₃ (15%) (µl)	350, agitar y en reposo durante 1,5-2 horas a temperatura ambiente

El volumen final obtenido para cada muestra de patrón y de extractos será de 1950 μl .

- 4° Cuando estén listas las muestras se pasan a cubetas para medir en el espectrofotómetro. Se hace con la ayuda de una pipeta.
- 5° Se mide la absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 765 nm.
- 6° En ocasiones las concentraciones son demasiado altas y los resultados de absorbancia se salen del rango óptimo [0,1-1], por lo que hay que diluir las muestras 5 veces. Para ello se cogen 200 μl de muestra y se añaden 800 μl de agua milli-Q. Se mezcla bien y se vuelve a medir la absorbancia.
Es suficiente con que haya un valor, de la muestra de 20 o de la muestra de 50, dentro del rango óptimo.

El proceso entero se realiza par cada ensayo, incluyendo el patrón, para minimizar errores.

▪ **Cálculos**

Una vez obtenidos los datos de absorbancia con el espectrofotómetro, los datos obtenidos, se insertan en una tabla del programa informático Microsoft Excel(Fig. 3.3.1). Con los datos del patrón realizaremos una recta de calibrado, de la que obtendremos una ecuación de la recta y el error

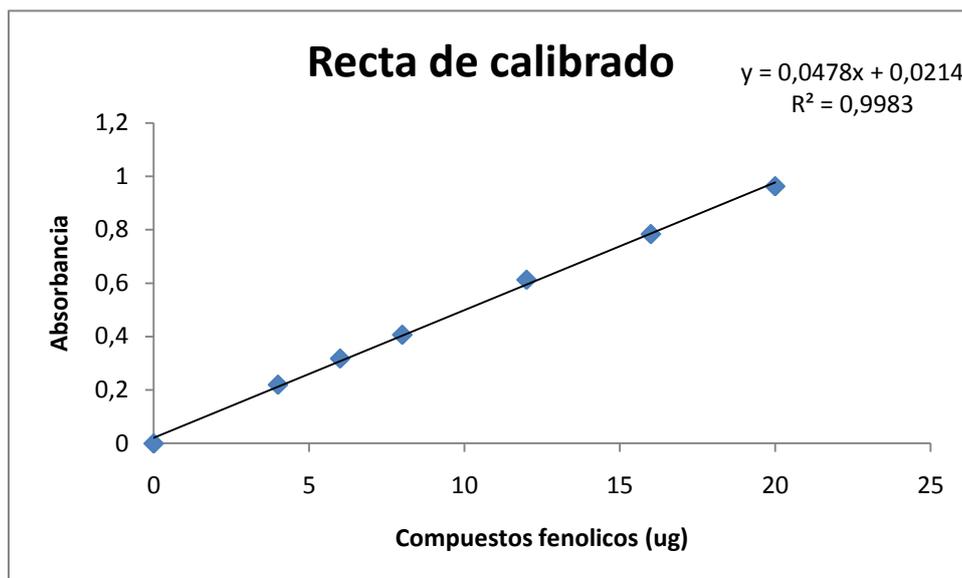


Figura 3.3.1 Ejemplo de gráfico con ecuación de la recta de calibrado.

A partir de la ecuación de la recta calculamos las concentraciones de las muestras, hasta llegar al resultado en mg/g peso seco tenemos que realizar diversos cálculos que son :

1º Ec. recta \rightarrow $Abs = aC_1 + b \rightarrow C_1 = (Abs - b) / a$ (μ g)

- a y b son variables de la ecuación de la recta de calibrado
- C es la concentración

2º La muestra puede ser de 5 μ l o 50 μ l de extracto concentrado:

$C_f = [C_1 \times (1/5) \times 3000] / g$ pesados de cada muestra (μ g/g peso seco)

Si la muestra tenía 50 μ l de extracto concentrado:

$C_f = [C_2 \times (1/50) \times 3000] / g$ pesados de cada muestra (μ g/g peso seco)

3º Como los valores en μ g/g peso seco son muy altos se dan en mg/g peso seco. Para ello se divide entre 1000.

4º Si tenemos para una planta los dos valores se halla la media.

- **Medida de flavonoides**

Los compuestos fenólicos se han medido en base a los protocolos de Zhishen *et al.* (1998), Kähkönen *et al.* (1999), Marinova *et al.* (2005) y Piccolella *et al.* (2008), aunque se han modificado y ajustado de acuerdo al material disponible y a las necesidades particulares de detección de los aparatos de análisis del laboratorio. Al final se determinan las cantidades de flavonoides totales, expresadas como “miligramos equivalentes de catequina por gramo de peso seco”.

▪ **Reactivos y Preparación de los reactivos**

- a. Metanol al 80%: La disolución de metanol al 80% es la misma que para el ensayo de compuestos fenólicos totales. Se hace añadiendo 80 ml de metanol a 20 ml de agua milli-Q.
- b. Catequina: Se prepara una disolución de catequina con una concentración de 100 mg/ml de etanol. Para ello se pesa la cantidad correspondiente de catequina y se diluye en etanol. De esta disolución se cogen 100 µl y se les añaden 9,9 ml de agua milli-Q, de forma que se obtiene una nueva disolución de catequina de concentración 100 µl/ml, que es con la que se trabaja. Esta disolución se conserva en nevera.
- c. Nitrito de sodio (NaNO_2) al 5%: Se prepara una disolución de NaNO_2 al 5%. Para ello se añaden 5g de NaNO_2 a 100 ml de agua milli-Q.
- d. Tricloruro de aluminio (AlCl_3) al 10%: Para obtener la disolución de AlCl_3 al 10% se diluyen 10g en 100 ml de agua milli-Q.
- f. Hidróxido de sodio (NaOH) 1M: Para conseguir la disolución de NaOH 1M se ponen 4g en 100 ml de agua milli-Q. Para conseguir más cantidad de disolución se cogen mayores cantidades, manteniendo las proporciones

▪ **Procedimiento**

- 1º Se utilizan los mismos extractos que para el análisis de compuestos fenólicos totales.

2° Se prepara un patrón en tubo Eppendorf de 1,5ml y se añadirá la de catequina (100µg/ml) de la forma mostrada en la tabla 3.3.4

Tabla 3.3.4. Preparación del patrón

PREPARADO DEL PATRÓN							
Añadir	Blanco	Pto1	Pto 2	Pto 3	Pto 4	Pto 5	Pto 6
Catequina (100 µg/ml) (µl)	0	20	50	100	150	200	300
Agua milli-Q (µl)	300	280	250	200	150	100	0

3° Al patrón y a las muestras preparadas se les añaden los reactivos en orden indicado en la tabla 3.3.5.

tabla 3.3.5. Preparación de los reactivos

INCORPORACIÓN DE LOS REACTIVOS	
Agua milly-Q (µl)	440
NaNO ₂ (5%) (µl)	30, agitar y en reposo 5 minutos a temperatura ambiente
AlCl ₃ (10%) (µl)	30 y mezclar
NaOH (1M) (µl)	200, añadiendo cada 30 segundos y mezclar

El volumen final obtenido para cada muestra de patrón y de extractos será de 1ml.

4° Cuando estén listas las muestras se pasan a cubetas de 1 ml , con ayuda de una pipeta para medir en el espectrofotómetro.

5° Se mide la absorbencia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 510.

6° En ocasiones las concentraciones son demasiado bajas y los resultados de absorbencia se salen del rango óptimo [0,1-1], por lo que hay que concentrar las muestras 3 veces. Para ello se añaden 150 µl de extracto diluido en lugar de 50 µl y se

lleva a 300 µl con agua milli-Q. El resto del proceso se sigue normalmente. Es suficiente con que haya un valor dentro del rango óptimo.

El proceso entero se repite cada día que se haga el análisis, incluido el patrón, para minimizar errores.

▪ Cálculos

Se pasan los datos de las absorbancias a tablas de Excel (Fig.3.3.2), una hoja por día de análisis. Con los datos del patrón se hace un gráfico, sobre él se dibuja la recta de calibrado y se calcula la ecuación de dicha recta.

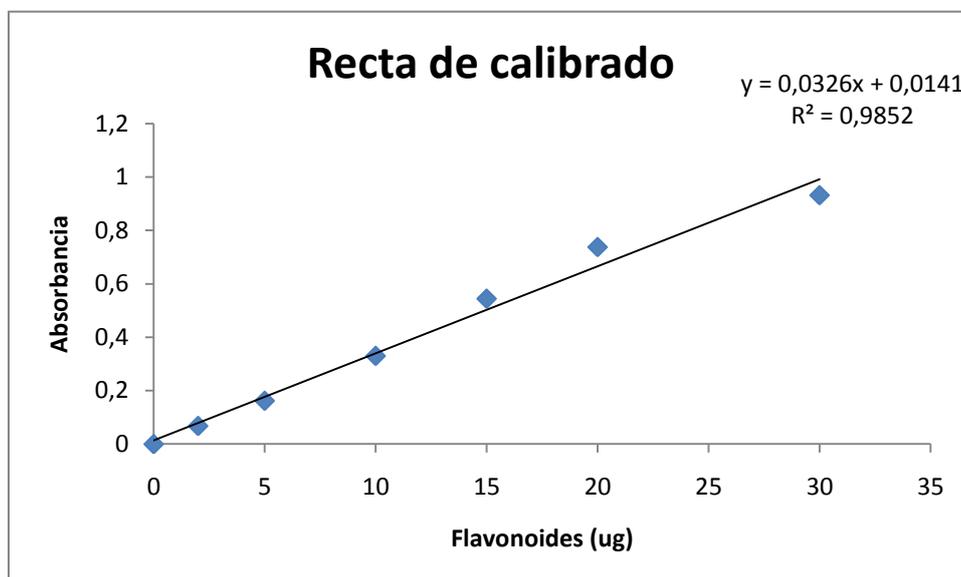


Figura 3.3.2 Ejemplo de gráfico con ecuación de la recta de calibrado.

Con la ecuación de la recta podemos calcular las concentraciones de las muestras, teniendo en cuenta los ajustes que hay que hacer para normalizar los resultados y obtener concentraciones en mg/g peso seco. Los pasos para los cálculos serían:

1º Ec. recta $\rightarrow \text{Abs} = aC_1 + b \rightarrow C = (\text{Abs} - b) / a$ (µg)

- a y b son variables de la ecuación de la recta de calibrado
- C es la concentración

2º Las muestras pueden tener 10 o 50 µl de extracto concentrado:

$C_f = [C \times (1/10) \times 3000] / \text{g pesados de cada muestra } (\mu\text{g/g peso seco})$

Si la muestra tenía 50 μl de extracto concentrado:

$C_f = [C \times (1/50) \times 3000] / \text{g pesados de cada muestra } (\mu\text{g/g peso seco})$

3° Como los valores en $\mu\text{g/g}$ peso seco son muy altos se dan en mg/g peso seco. Para ello se divide entre 1000.

4° Si tenemos para una planta los dos valores se halla la media.

3.4 Análisis estadístico

El contenido de compuestos fenólicos y de flavonoides expresado como valor medio de entre tres o cinco valores por especie, según su presencia en la zona y del muestreo al que nos refiramos.

Se han determinado los datos estadísticos con el análisis de varianza ANOVA, mediante el cual se detectan diferencias significativas entre los muestreos o las zonas, con un nivel de confianza del 95%. Si el valor es menor que 0.05 existe una diferencia significativa.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Compuestos fenólicos

Zona Saler

La Zona Salina corresponde con la Mallada Llarga de la Dehesa del Saler, está dividida en tres parcelas de muestreo como ya se ha señalado en el capítulo de material y métodos. Con respecto a las condiciones ambientales, existen claras diferencias en la humedad y la salinidad del suelo como lo indican los datos pluviométricos y los análisis de la conductividad, realizados por el equipo de edafología participantes en el proyecto. Es necesario precisar que las especies que podemos encontrar en la parcela 1 no son halófilas verdaderas, ya que esta parcela se ubica en el borde de la Mallada. Las tres únicas especies halófilas que penetran en esta zona son: *Juncus acutus* (Ja), *Schoenus nigricans* (Sn) y *Plantago crassifolia* (Pc). En los datos obtenidos mostrados en Tabla 4.1.1. podemos observar que de las especies: *Ononis natrix*, *Teucrium capitatum*, *Helianthemum syriacum*, *Helichrysum stoechas*, solo tenemos datos del muestreo de otoño al encontrarse en la estación de verano todos los ejemplares de estas especies en un estado de sequedad.

Podemos advertir que la variabilidad de contenido de compuestos fenólicos en los distintos ejemplares puede variar hasta 15 veces, teniendo la concentración más baja *Schoenus nigricans* y la más alta *Helianthemum syriacum*.

Tabla 4.1.1. Compuestos fenólicos Zona Saler parcela 1 (Las medidas en las marcadas con * consisten en tres repeticiones del mismo extracto)

Especie (Código)	Verano		Otoño	
	Media (mg/g peso seco)	SD	Media (mg/g peso seco)	SD
<i>Ononis natrix</i> (On)*	n.d	n.d	23,83*	0,032
<i>Teucrium capitatum</i> (Tc)	n.d	n.d	34,66	6,95
<i>Helianthemum syriacum</i> (Hsyr)	n.d	n.d	74,72	9,62
<i>Helichrysum stoechas</i> (Hsto)	n.d	n.d	48,75	7,38
<i>Rosmarinus officinalis</i> (Ro)	11,37	1,14	51,25	2,11
<i>Plantago crassifolia</i> (Pc)	21,66	3,93	21,66	2,11
<i>Schoenus nigricans</i> (Sn)	28,24	3,20	5,89	0,79
<i>Juncus acutus</i> (Ja)	19,98	3,91	11,83	1,93

Por lo que se refiere a la variación de los valores del muestreo de verano en *Plantago crasifolia* no se detecta ninguna variación, en *Rosmarinus officinalis* los valores son significativamente más altos en otoño, mientras que en el caso de *Juncus acutus* y *Schoenus nigricans* se detecta una clara bajada con respecto al verano como se ve en la Fig. 4.1.1. Según el análisis estadístico en el que hemos realizado un ANOVA considerando $\alpha=0,05$ la variación de *Juncus* y la de *Sarcornia* son significativas teniendo $p=0,01$ y $p=3,54E-07$.

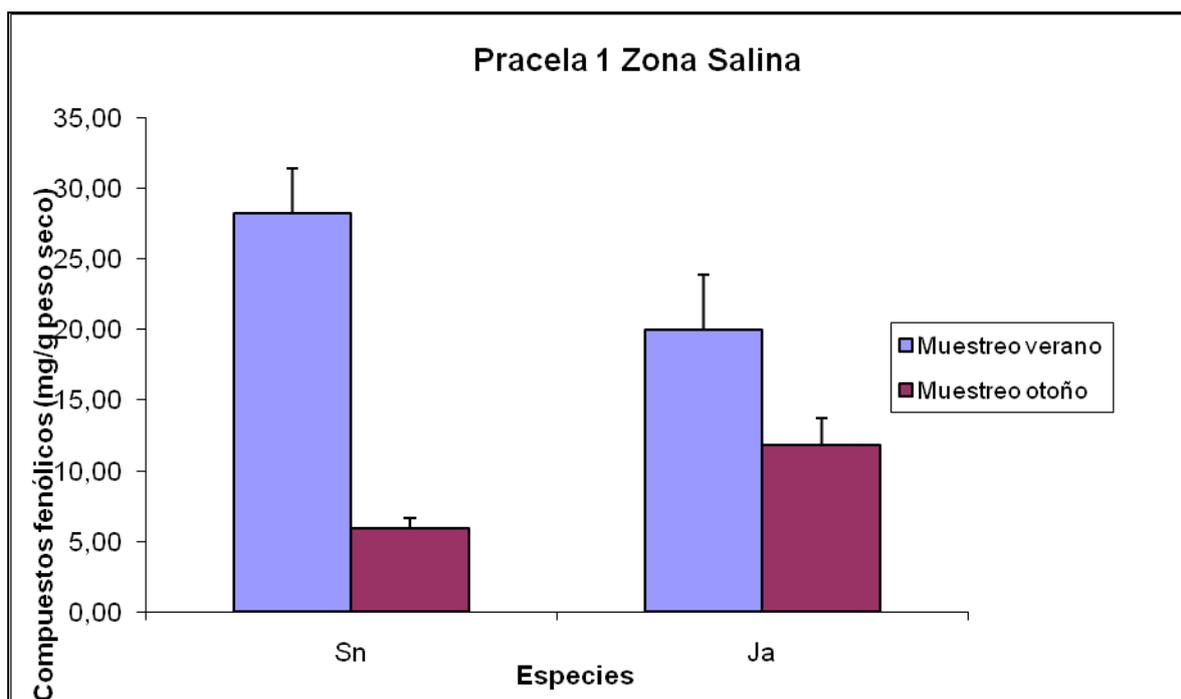


Figura 4.1.1. Compuestos fenólicos muestreo Zona Salina parcela 1

Por lo que se refiere a los muestreos en la segunda parcela de Saler con mayor salinidad, aquí si que podemos encontrar todas las especies en los dos muestreos como observamos en la Tabla 4.1.2., a excepción de *Limonium virgatum* solo tenemos muestras recolectadas en otoño.

Tabla 4.1.2. Compuestos fenólicos Zona Saler parcela 2

Especie (Código)	Verano		Otoño	
	Media (mg/g peso seco)	SD	Media (mg/g peso seco)	SD
<i>Plantago crassifolia</i> (Pc)	0,68	0,12	5,32	1,93
<i>Juncus acutus</i> (Ja)	0,65	0,05	8,27	0,36
<i>Juncus maritimus</i> (Jm)	6,52	2,45	7,95	0,27
<i>Limonium virgatum</i> (Lv)*	n.d	n.d	6,04*	0,065
<i>Sarcocornia fruticosa</i> (Sf)	13,94	2,62	8,29	0,23

Los valores registrados en *Plantago crassifolia* y *Juncus acutus* en las muestras de verano son muy bajos y consideramos que se pueden explicar por algún error experimental, en este caso se puede considerar como validos las mediciones en *Juncus maritimus* y *Sarcocornia fruticosa*. Como observamos en el gráfico referente a las especies *Juncus maritimus* y *Sarcocornia fruticosa*, en la primera se observa un ligero aumento concentración de compuestos fenólicos no llegando a ser significativo según el análisis estadístico de la muestra ($\alpha=0,05$ $p=0,23$), mientras que *Sarcocornia fruticosa* se aprecia una disminución clara de estos últimos, siendo esta significativa ya que $p= 0,0014$.

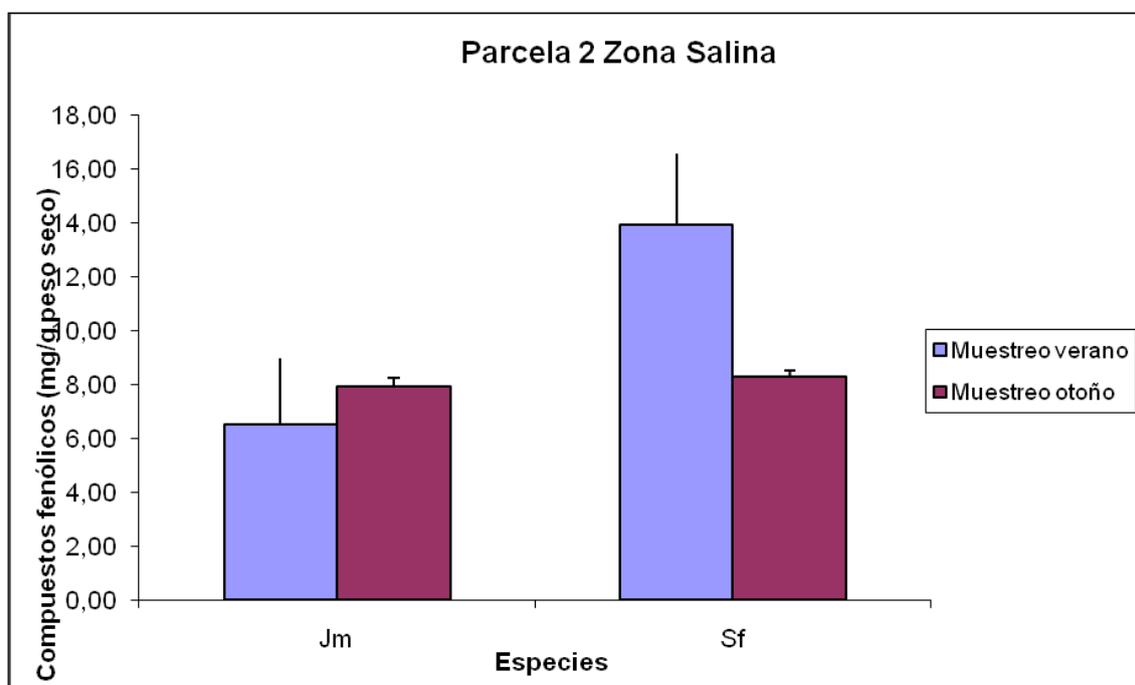


Figura 4.1.2. Compuestos fenólicos muestreo Zona Salina parcela 2

En la tercera parcela es donde encontramos un menor número de especies como observamos en la Tabla 4.1.3. tan solo una no la pudimos muestrear en verano al igual que en la parcela 2. En esta parcela el taxón con menor concentración de compuestos fenólicos es *Sarcocornia fruticosa* en el muestreo de otoño, coincidiendo también con la especie con mayor cantidad de compuestos fenólicos esta vez en el muestreo de verano .

Tabla 4.1.3. Compuestos fenólicos Zona Saler parcela 3

Especie (Código)	Verano		Otoño	
	Media (mg/g peso seco)	SD	Media (mg/g peso seco)	SD
<i>Sarcocornia fruticosa (Sf)</i>	17,55	1,49	5,07	0,71
<i>Juncus maritimus (Jm)</i>	12,80	2,64	8,64	0,76
<i>Limonium virgatum (Lv)*</i>	n.d	n.d	6,66*	0,05
<i>Inula crithmoides (Ic)</i>	6,48	1,50	7,53	1,52

Como datos más indicativos de esta zona presentamos la variación *Sarcocornia fruticosa* , en la que observamos, en la Fig. 4.1.3., que entre los dos muestreos existe un descenso considerable de los compuestos fenólicos de mas de 10 mg/g de peso seco siendo esta de mayor descenso de la especies muestreadas, en cambio en el *Juncus maritimus* observamos un aumento de la concentración de verano a la de otoño. Según el ANOVA las dos variaciones son significativas dando $p=1,53E-07$ y $p=0,0096$ respectivamente .

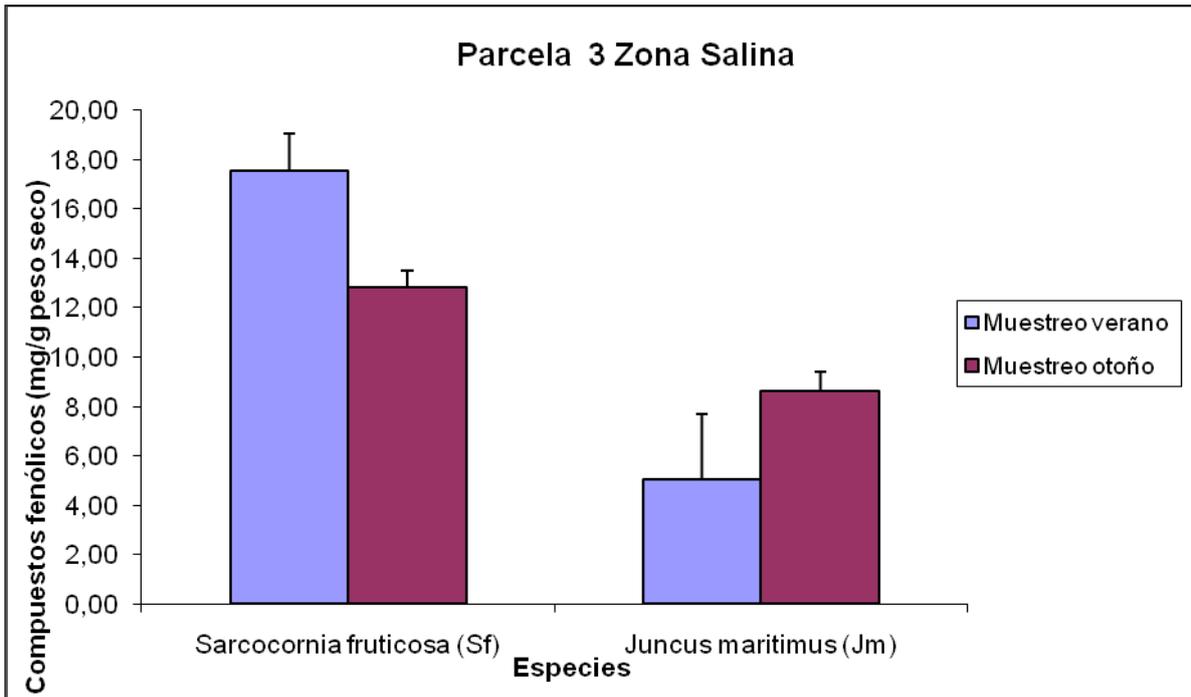


Figura 4.1.3. Compuestos fenólicos muestreo Zona Salina parcela 3

Por lo que respecta a las plantas que encontramos en las distintas parcelas, que son: *Plantago crassifolia*, *Juncus acutus*, *Sarcocornia fruticosa*, *Juncus maritimus* y *Limonium virgatum*, En caso de *Juncus acutus* y *Plantago crassifolia*, no podemos sacar ninguna conclusión ya que los valores de la parcela 2 son extremadamente bajos y supuestamente debidos a un error experimental, en cambio en *Sarcocornia fruticosa* y *Juncus maritimus* si que se observa un mayor contenido de compuestos fenólicos en las plantas de la zona 3 en concordancia con la mayor salinidad de esta zona.

Zona Yesos

En la zona de Tuejar se han considerado tres parcelas que a lo largo de una colina con un contenido diferente de yesos, siendo la parcela 1 la de menor contenido en yesos tiene, seguidamente la parcela 2 y, por último 3.

En esta zona las especies típicamente gipsófilas que podemos encontrar son; *Ononis tridentata* y *Gypsophyla struthium sp. hispanica*, la primera la encontramos en todas en las parcelas, mientras que la segunda en la zona encontramos en las parcelas 3. También encontraremos en esta zona plantas más cosmopolitas como *Rosmarinus officinalis* o *Thymus vulgaris*.

Como podemos comprobar en la Tabla 4.1.4. algunas especies sólo la hemos podido muestrear en el periodo de otoño, mientras que otras se ha tenido que reproducir el análisis del varios individuos mezclados ya que el material era muy escaso .

En general la cantidad de compuestos fenólicos es menor en el muestreo de otoño que en el de verano, dando la mayor variación en el caso de *Rosmarinus officinalis* que se reduce hasta 5 veces la cantidad, la concentración por taxón más baja la encontramos en *Helianthemum syriacum* en el muestreo de verano

Tabla 4.1.4. Compuestos fenólicos Zona Yesos parcela 1

Especie (Código)	Verano		Otoño	
	Media (mg/g peso seco)	SD	Media (mg/g peso seco)	SD
<i>Helianthemum syriacum (Hsyr)*</i>	10,97*	0,05	8,68*	0,10
<i>Plantago albicans (Pa)*</i>	n.d	n.d	56,56*	0,26
<i>Thymus vulgaris (Tv)</i>	n.d	n.d	46,88	14,41
<i>Cistus clusii (Cc) *</i>	10,97*	0,07	56,08*	0,22
<i>Ononis tridentata (Ot)</i>	11,14	1,81	10,23	0,75
<i>Anthyllis cyttisoides (Ac)</i>	n.d	n.d	51,12	3,81
<i>Rosmarinus officinalis (Ro)</i>	103,41	3,04	19,52	2,88

Como podemos corroborar de una forma gráfica, Figura 4.1.4, el descenso más significativo del muestreo de verano al de otoño, en cuanto a compuestos fenólicos se refiere lo encontramos en *Rosmarinus officinalis*, mientras que en *Helianthemum syriacum* y *Ononis tridentata* desciende pero de una forma mucho más leve, siendo esta según el ANOVA diferencia no es significativa al ser $p > 0,05$. *Cistus clusii* es la única especie donde notamos un aumento en otoño frente al verano.

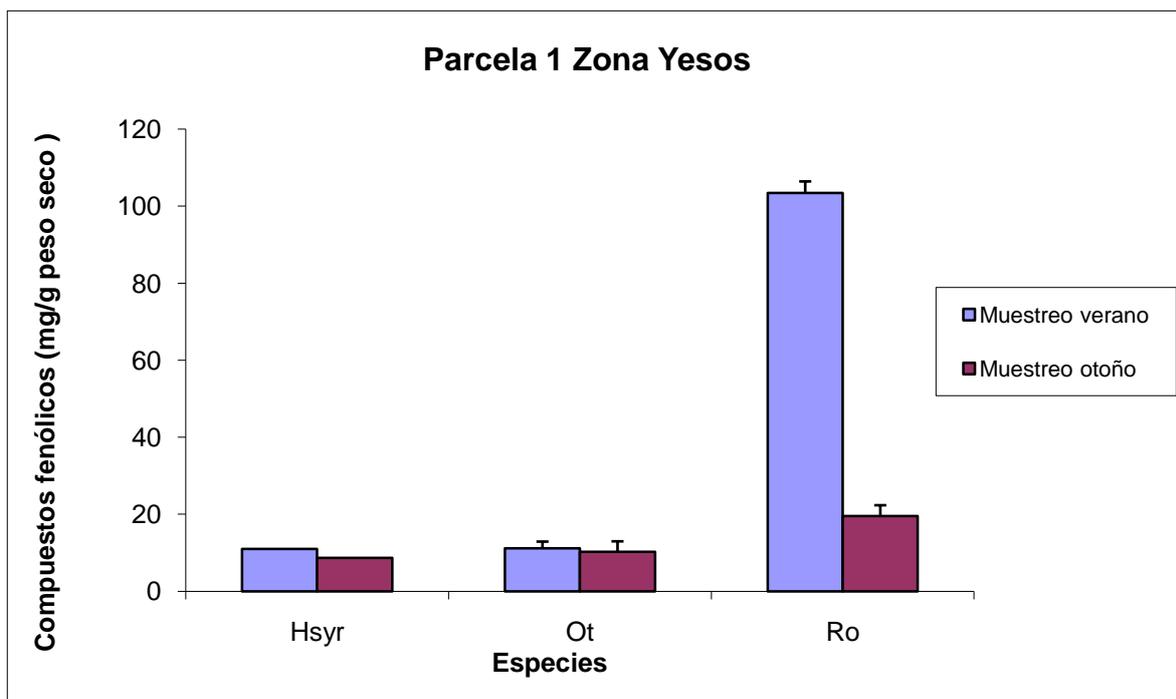


Figura 4.1.4. Compuestos fenólicos muestreo Zona Yesos parcela 1

Por lo que respecta a la parcela 2 observamos en los datos de la Tabla 4.1.5. las especies *Anthyllis cytissoides* y *Helianthemum syriacum* no se pudo recoger material durante el muestreo de verano, así como *Helianthemum syriacum* en otoño sólo se tomaron muestras de un solo individuo. En esta segunda parcela también podemos comprobar que la tendencia es que se reduce la cantidad de compuestos fenólicos de la primera muestra a la segunda.

Tabla 4.1.5. Compuestos fenólicos Zona Yesos parcela 2

Especie (Código)	Verano		Otoño	
	Media (mg/g peso seco)	SD	Media (mg/g peso seco)	SD
<i>Helianthemum syriacum</i> (Hsy)	n.d	n.d	87,59	9,94
<i>Ononis tridentata</i> (Ot)	10,35	0,53	9,34	1,43
<i>Anthyllis cytissoides</i> (Ac)	n.d	n.d	102,52	28,02
<i>Rosmarinus officinalis</i> (Ro)	39,84	9,97	33,69	3,56

Como se puede observar (Fig. 4.1.5) se produce un descenso en la cantidad de compuestos fenólicos en el caso de *Ononis tridentata* pero de una forma muy leve, de forma que el nivel de este es casi igual en los dos muestreos. En cambio el descenso en compuestos fenólicos en el caso de *Rosmarinus officinalis* del primer muestreo al segundo es más acusado. No obstante el análisis estadístico no revela que ninguna de las variaciones sea significativa al ser $p > 0,05$.

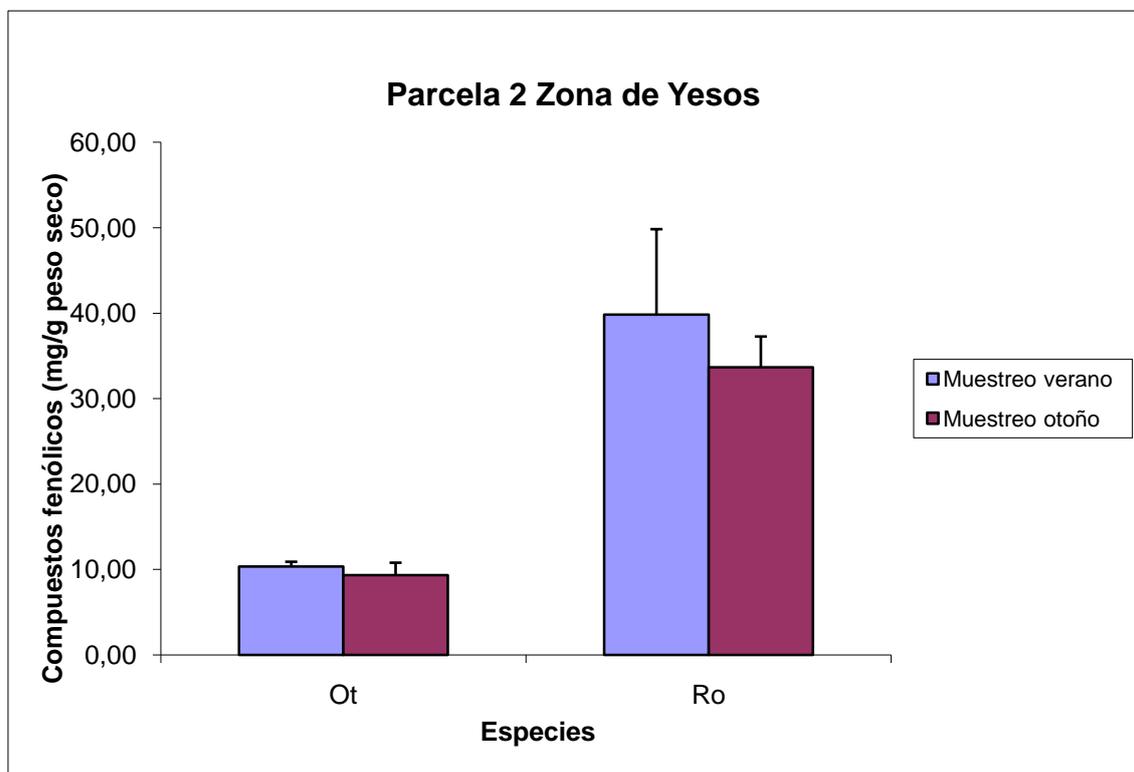


Figura 4.1.5. Compuestos fenólicos muestreo Zona Yesos parcela 2

En la parcela 3 encontramos un mayor número de especies, que en la parcela dos, ésta es la parcela con mayor cantidad de yesos, en algunas especies encontramos valores bastante altos de compuestos fenólicos como podemos comprobar en la Tabla 4.1.6, siendo *Cistus clusii* la especie con mayor cantidad de fenoles totales en el muestreo de verano y *Ononis tridentata* la especie que menos tiene en el muestreo de otoño.

En esta parcela se confirma la tendencia general de la zona de descenso de compuestos fenólicos en el muestreo de otoño con respecto al de verano.

Tabla 4.1.6. Compuestos fenólicos Zona Yesos parcela 3

Especie (Código)	Verano		Otoño	
	Media (mg/g peso seco)	SD	Media (mg/g peso seco)	SD
<i>Thymus vulgaris</i> (Tv)	n.d	n.d	66,22	2,67
<i>Cistus clusii</i> (Cc)	88,76	12,94	75,38	2,79
<i>Ononis tridentata</i> (Ot)	10,95	1,56	7,69	2,49
<i>Rosmarinus officinalis</i> (Ro)	74,85	16,11	58,75	8,73
<i>Gypsophyla struthium sp. Hispanica</i> (Gs)	21,62	4,57	15,22	4,18
<i>Helianthemum syriacum</i> (Hsyr)	n.d	n.d	69,31	3,56

Ahora observamos de una manera gráfica (Fig. 4.1.6.) lo que antes comentados como la cantidad de los fenoles disminuye en el muestreo de otoño, siendo en *Ononis tridentata* el que menos desciende y en el caso de *Rosmarinus officinalis* el que más desciende. No obstante aunque la tendencia sea el descenso, en la única especie en que la diferencia es significativa es en el caso de *Cistus clusii*, $p=0,047$.

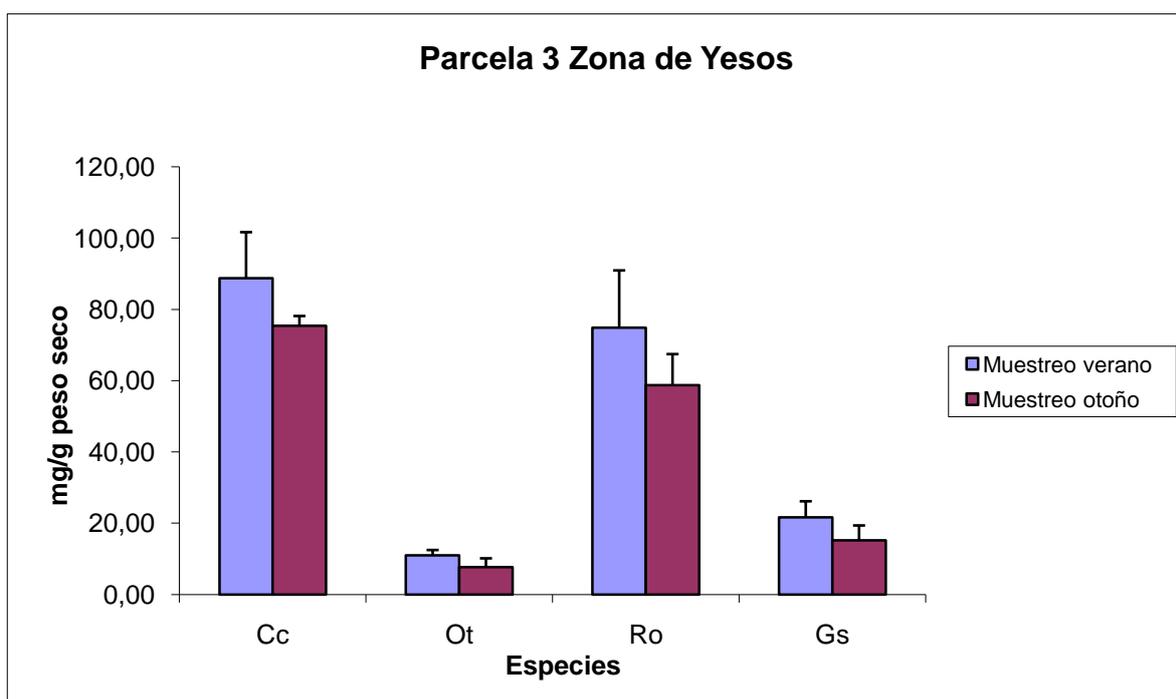


Figura 4.1.6. Compuestos fenólicos muestreo Zona Yesos parcela 3

Entre las especies que encontramos en las distintas parcelas de la Zona de Tuejar, está *Ononis tridentata* que tiene un comportamiento muy similar ya que siempre desciende la cantidad de fenoles pero en una pequeña cantidad siendo, en la parcela 3 en la que mas desciende la concentración y en la 1 en la que menos.

Rosmarinus officinalis también presente en las tres zonas tiene un comportamiento muy variable, con distintas concentraciones dependiendo de la zona, llegando a ser casi el triple en la parcela 1 que en la 2.

Zona Bétera

En la zona de Bétera sólo encontraremos una sola parcela que la consideraremos al no encontrar gradientes diferenciadores que invitaran a delimitar la zona en distintas parcelas, esta zona se considera semiárida en ella encontraremos distintas plantas características de estas zonas como; *Stipa tenacissima* (St) y *Stipa capensis* (Sc), con otras plantas más comunes.

Observando la tabla, podemos ver que *Helianthemum syriacum* es la especie con más cantidad de compuestos fenólicos, pese a que es en el muestreo de otoño, y que *Stipa capensis* es la especie con menos cantidad de compuestos fenólicos en el muestreo de otoño

Tabla 4.1.7. Compuestos fenólicos Zona Bétera

Especie (Código)	Verano		Otoño	
	Media (mg/g peso seco)	SD	Media (mg/g peso seco)	SD
<i>Rosmarinus officinalis</i> (Ro)	68,40	6,23	40,25	6,78
<i>Helianthemum syriacum</i> (Hsyr)*	n.d	n.d	71,59*	0,61
<i>Stipa tenacissima</i> (St)	16,51	1,86	5,66	0,82
<i>Dorycnium pentaphyllum</i> (Dp)*	57,24*	0,61	79,98*	0,81
<i>Stipa capensis</i> (Sc)	15,53	0,59	6,55	0,84

Al observar al gráfico vemos que como excepción del descenso de la concentración de compuestos fenólicos en los ejemplares de *Dorycnium pentaphyllum*, en el resto de taxones se ve un descenso de la concentración de estas sustancias. Cabe reseñar que en romero es en la especie que más disminuye la cantidad de compuestos fenólicos el verano a otoño.

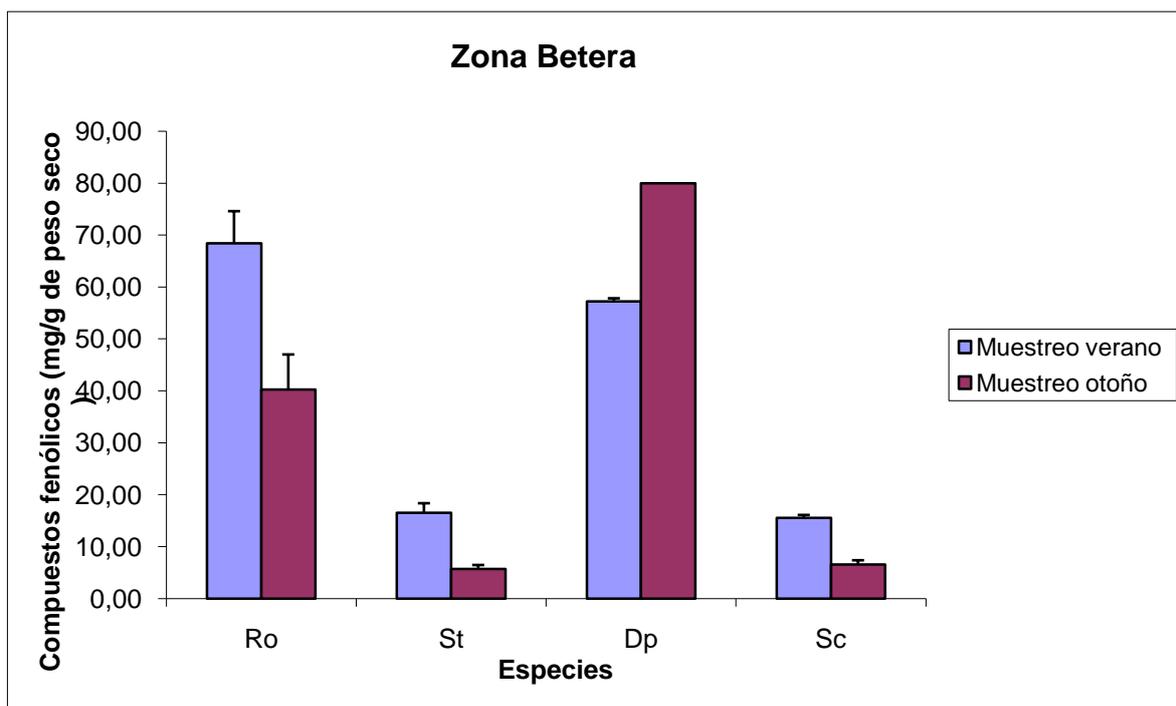


Figura 4.1.7. Compuestos fenólicos muestreo Zona Bétera

4.2 Flavonoides

Zona Saler

Como cabe recordar en la primera parcela de el Saler no se recogieron, algunas especies debido a su estado de sequedad durante el mes de julio cuando se realizo la recolección de plantas para su posterior análisis, en este caso el * también significa que el extracto se prepara a partir de varios individuos.

Al observar la tabla 4.2.1. concluimos que existen datos muy variable con una diferencia de casi 40 mg/g de peso seco entre el valor más alto y el más bajo. Los valores por debajo de 1mg/g de peso seco registrados en *Plantago crassifolia* y *Juncus acutus* no concuerdan con los valores obtenidos en la parcela 2 .

Tabla 4.2.1. Flavonoides Zona Salina parcela 1

Especie (Código)	Verano		Otoño	
	Media (mg/g peso seco)	SD	Media (mg/g peso seco)	SD
<i>Ononis natrix</i> (On)*	n.d	n.d	9,58	0,04
<i>Teucrium capitatum</i> (Tc)	n.d	n.d	13,99	0,89
<i>Helianthemum syriacum</i> (Hsyr)	n.d	n.d	39,30	4,82
<i>Helichrysum stoechas</i> (Hsto)	n.d	n.d	37,53	2,38
<i>Rosmarinus officinalis</i> (Ro)	12,50	0,67	37,97	2,91
<i>Plantago crassifolia</i> (Pc)	0,64	0,38	26,90	17,24
<i>Schoenus nigricans</i> (Sn)	15,92	1,49	11,17	1,56
<i>Juncus acutus</i> (Ja)	5,49	0,59	0,88	0,55

En el caso de *Schoenus nigricans* y *Juncus acutus*, la cantidad de flavonoides desciende en ambos casos en un valor próximo a los 5 mg/g de peso seco con respecto al muestreo de verano, como podemos corroborar en la Fig.4.2.1. Siendo la diferencia significativa entre muestreos en ambos casos según el análisis estadístico.

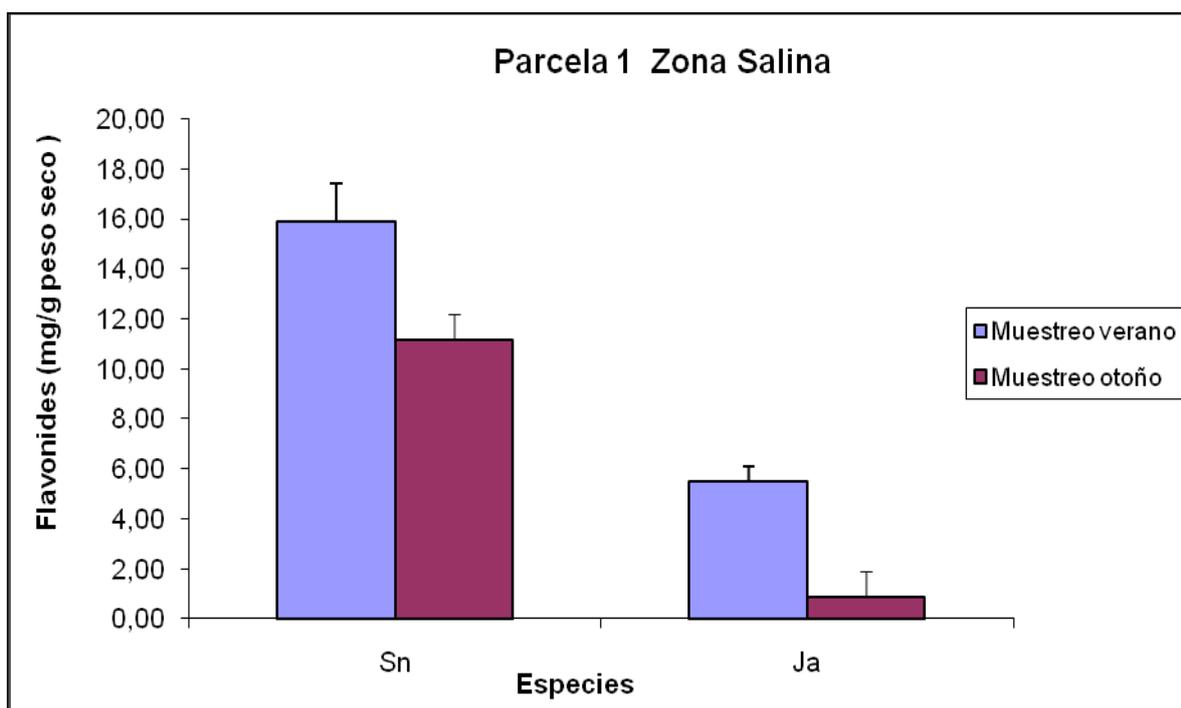


Figura 4.2.1. Flavonoides Zona Salina parcela 1

Por lo que se refiere a la segunda parcela del Saler encontramos datos de todas las especies en las dos muestras a excepción de *Limonium virgatum*. Esta da el valor más alto en el muestreo de otoño.

Las muestras del resto de especies tienen valores similares, como tendencia general descendiende la cantidad de flavonoides del muestreo de verano al de otoño, en distinta medida dependiendo el taxón al que nos refiramos.

Tabla 4.2.2. Flavonoides Zona Salina parcela 2

Especie (Código)	Verano		Otoño	
	Media (mg/g peso seco)	SD	Media (mg/g peso seco)	SD
<i>Plantago crassifolia</i> (Pc)	7,61	2,50	3,71	1,53
<i>Juncus acutus</i> (Ja)	3,06	0,58	3,42	0,06
<i>Juncus maritimus</i> (Jm)	5,29	2,06	4,79	0,38
<i>Limonium virgatum</i> (Lv)*	n.d	n.d	15,07	0,03
<i>Sarcocornia fruticosa</i> (Sf)	4,30	0,83	3,27	0,94

En el caso de *Juncus maritimus* y *Sarcocornia fruticosa* podemos observar que se produce un descenso de la concentración de flavonoides en los dos, produciéndose un descenso en el contenido de flavonoides mayor en el caso de *Sarcocornia fruticosa* como comprobamos en la imagen (Fig. 4.2.2.). No obstante la diferencia entre los muestreos no es significativa al ser la probabilidad mucho mayor de 0,05.

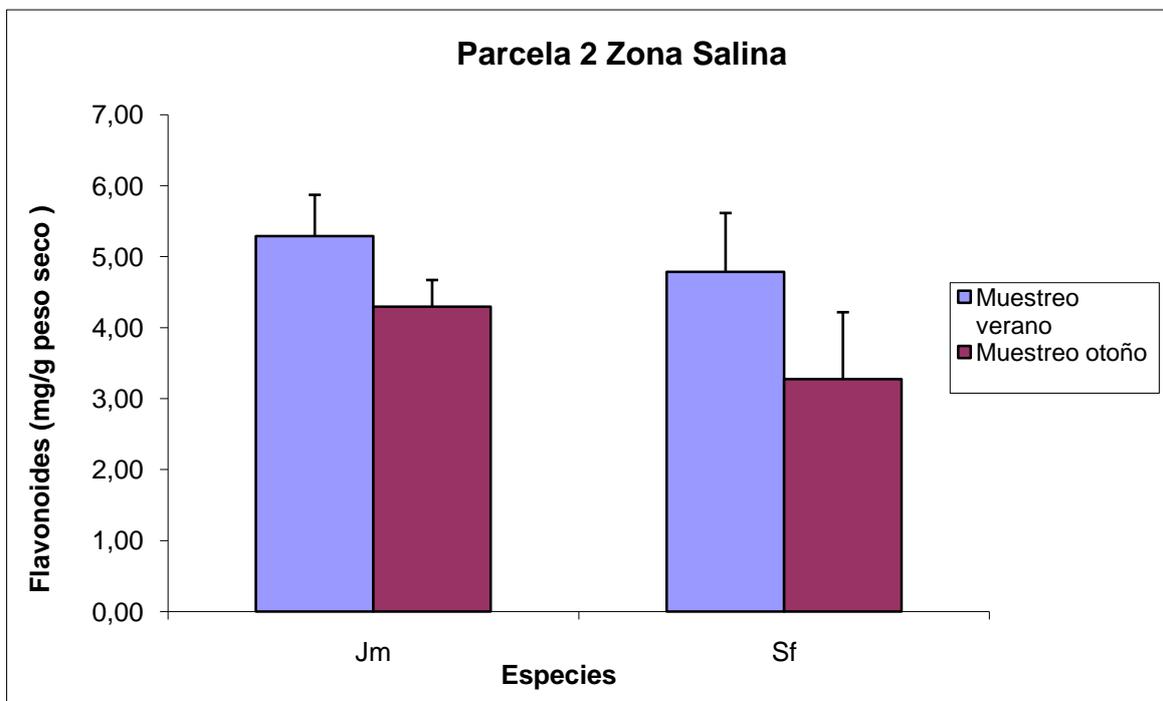


Figura 4.2.2. Flavonoides Zona Salina parcela 2

En la parcela 3 de la Zona Salina, como podemos observar en la tabla 4.2.3. la concentración de flavonoides en los distintos taxones aumenta en otoño, de una forma muy leve en el caso de *Juncus maritimus*, y de una forma más pronunciada en el caso de *Inula crithmoides* y *Sarcocornia fruticosa*, cuando lo lógico sería que descendiera la concentración de esta sustancia.

En esta parcela también debido al mal estado en la época estival del *Limonium virgatum* no se pudo recolectar.

Tabla 4.2.3. Flavonoides Zona Salina parcela 3

Especie (Código)	Verano		Otoño	
	Media (mg/g peso seco)	SD	Media (mg/g peso seco)	SD
<i>Sarcocornia fruticosa</i> (Sf)	3,10	0,94	4,79	0,38
<i>Juncus maritimus</i> (Jm)	4,44	2,16	4,82	0,76
<i>Limonium virgatum</i> (Lv)*	n.d	n.d	15,18*	0,07
<i>Inula crithmoides</i> (Ic)	4,49	2,12	6,21	1,35

Podemos observar en la Fig. 4.2.3. como la concentración de flavonoides aumenta respecto a verano en distintos taxones, en este caso en *Sarcocornia fruticosa* y *Juncus maritimus*, siendo el aumento de *Sarcocornia* bastante más pronunciada que la de *Juncus*.

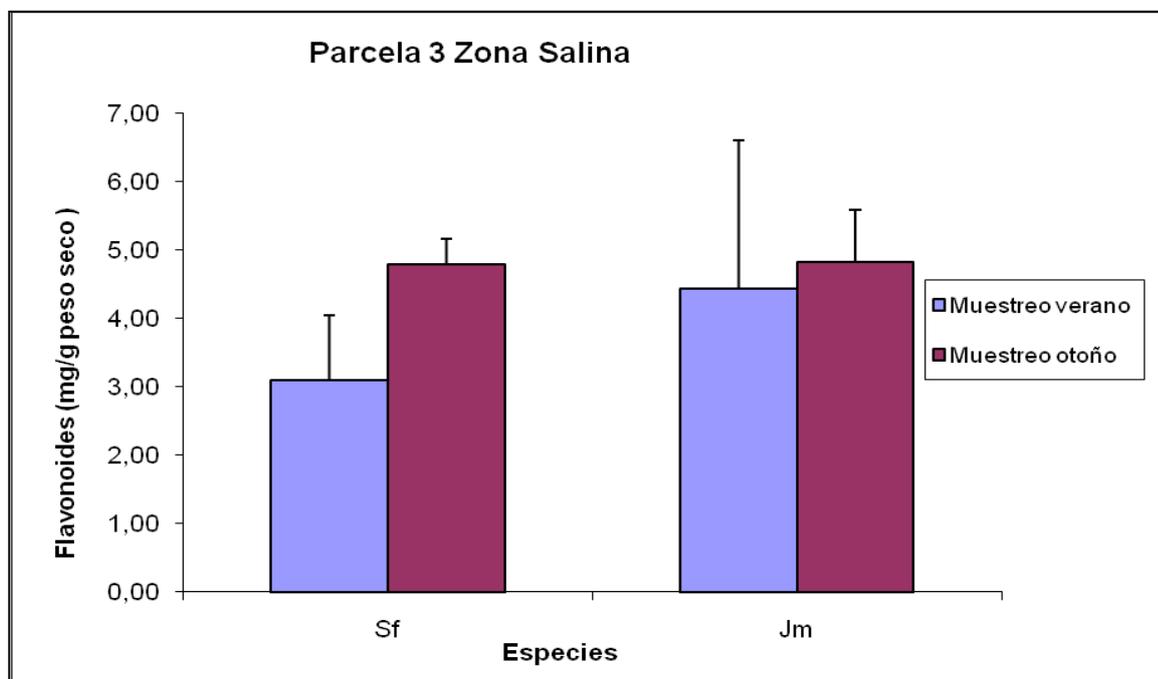


Figura 4.2.3. Flavonoides Zona Salina parcela 3

Zona Yesos

En la primera parcela encontramos un gran número de especies, algunas de ellas no pudieron ser muestreadas en la época estival debido a su sequedad. Dentro de estos taxones encontramos una gran variabilidad en lo que respecta al contenido de flavonoides, siendo *Rosmarinus officinalis* la especie con mayor concentración y *Ononis tridentata* la de menor concentración en el muestreo de verano.

Como podemos observar en la Tabla 4.2.4 en esta primera parcela del Saler, encontramos distintas especies como: *Helianthemum syriacum*, *Cistus clusii* u *Ononis tridentata*, en las que el valor del contenido de flavonoides del muestreo de otoño es superior al verano.

Tabla 4.2.4. Flavonoides Zona Yesos parcela 1

Especie (Código)	Verano		Otoño	
	Media (mg/g peso seco)	SD	Media (mg/g peso seco)	SD
<i>Helianthemum syriacum</i> (Hsyr) *	13,13*	0,94	21,43*	0,13
<i>Plantago albicans</i> (Pa) *	n.d	n.d	36,57*	0,41
<i>Thymus vulgaris</i> (Tv)	n.d	n.d	70,45	9,16
<i>Cistus clusii</i> (Cc) *	12,61*	0,07	57,91*	0,20
<i>Ononis tridentata</i> (Ot)	3,86	0,7	5,60	1,02
<i>Anthyllis cytissoides</i> (Ac)	n.d	n.d	29,58	6,35
<i>Rosmarinus officinalis</i> (Ro)	44,27	14,81	15,27	3,04

Rosmarinus officinalis como se puede comprobar en la Fig.4.2.4 es la única especie de la parcela 1 que disminuye la cantidad de flavonoides, en este taxón se reduce de una manera muy considerable, siendo en otoño la concentración una tercera parte respecto a la de verano, siendo esta diferencia significativo. En el caso de *Helianthemum syriacum* y *Ononis tridentata*, aunque a observando el gráfico parece que no exista prácticamente variación entre los muestreos el ANOVA no revela que $p < 0,05$.

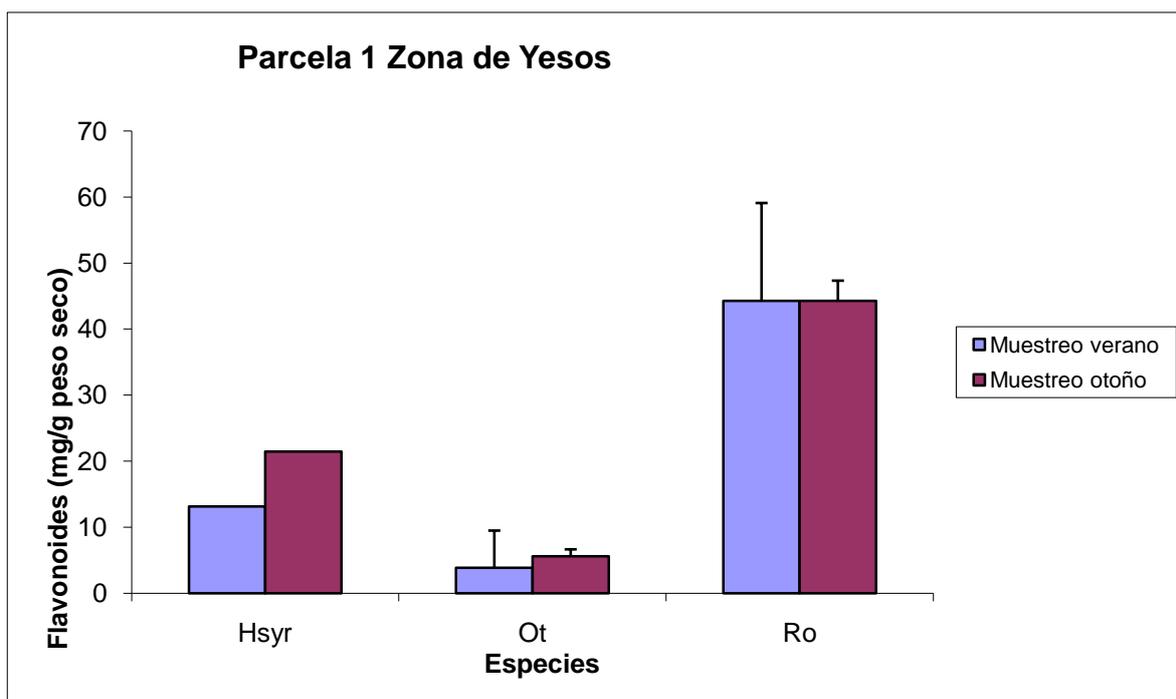


Figura 4.2.4. Flavonoides Zona Yesos parcela 1

En la parcela 2 encontramos un menor número de especies que en la uno. En el caso de *Ononis tridentata* que es una especie gipsófila, se obtiene el mismo patrón que en la parcela 1, ya que el valor que de la concentración de flavonoides en otoño es superior que en el de verano como vemos en la Tabla 4.2.5. En *Helianthemum syriacum* y *Anthyllis cytissoides*, no tenemos datos del primer muestreo así que no podemos realizar ningún análisis comparativo.

Tabla 4.2.5. Flavonoides Zona Yesos parcela 2

Especie (Código)	Verano		Otoño	
	Media (mg/g peso seco)	SD	Media (mg/g peso seco)	SD
<i>Helianthemum syriacum</i> (Hsy)	n.d	n.d	28,56	0,78
<i>Ononis tridentata</i> (Ot)	3,26	0,59	5,58	0,64
<i>Anthyllis cytissoides</i> (Ac)	n.d	n.d	26,96	2,44
<i>Rosmarinus officinalis</i> (Ro)	43,93	12,77	14,07	9,97

En el caso de *Rosmarinus officinalis* se produce una reducción de la concentración de los flavonoides como se puede apreciar en la Fig.4.2.5. Siendo en otoño casi una tercera parte de la concentración de verano, en lo que se refiere a *Ononis tridentata* la concentración de otoño es ligeramente superior a la de verano. Al realizar el ANOVA obtenemos $p = 0,014$ y $0,003$ respectivas por lo que la diferencia entre las muestras es significativa.

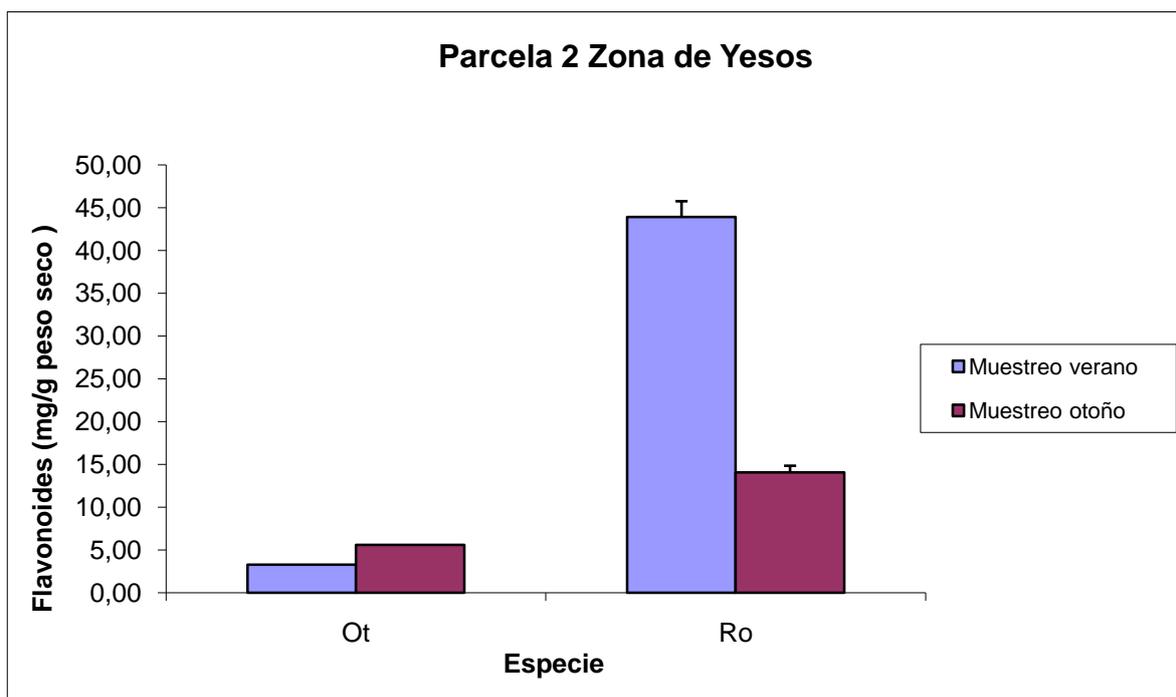


Figura 4.2.5. Flavonoides Zona Yesos parcela 2

Por lo que se refiere a la parcela 3 de la Zona de Yesos podemos encontrar a plantas gipsófilas como es el caso de *Ononis tridentata* y *Gypsophyla struthium sp. hispanica*, así como otras más cosmopolitas como el *Rosmarinus officinalis*. En esta parcela la única especie de que no se pudo muestrear en verano es *Thymus vulgaris* del resto tenemos datos de ambos muestreos como observamos en la Tabla 4.2.6.

Tabla 4.2.6. Flavonoides Zona Yesos parcela 3

Especie (Código)	Verano		Otoño	
	Media (mg/g peso seco)	SD	Media (mg/g peso seco)	SD
<i>Thymus vulgaris</i> (Tv)	n.d	n.d	40,84	0,48
<i>Cistus clusii</i> (Cc)	18,91	2,65	17,90	2,82
<i>Ononis tridentata</i> (Ot)	4,48	0,29	7,75	9,74
<i>Rosmarinus officinalis</i> (Ro)	36,19	12,51	33,16	6,13
<i>Gypsophyla struthium sp. Hispanica</i> (Gs)	10,60	1,53	2,72	1,16
<i>Helianthemum syriacum</i> (Hsyr)	n.d	n.d	69,31	3,56

La concentración más alta la encontramos en *Thymus vulgaris* en el muestreo de otoño y menor *Gypsophyla struthium sp. hispanica* en el muestreo de otoño.

Por lo que respecta a la variación de la concentración entre los dos muestreos, no podemos hallar un patrón claro; por un lado *Cistus clusii*, *Rosmarinus officinalis* y *Gypsophyla struthium sp. hispanica*, se produce un descenso en la concentración,

siendo en el caso de *Cistus muy leve el descenso y bastante pronunciado en Gypsophyla. Realizando el análisis estadístico concluimos que la única especie que sufre una variación significativa es Gypsophyla struthium sp. hispanica.*

Por otro lado encontramos Ononis tridentata en las que se produce un ligero aumento de la cantidad de flavonoides en el muestreo de otoño con respecto a los de verano, como observamos en la Figura 4.2.6.

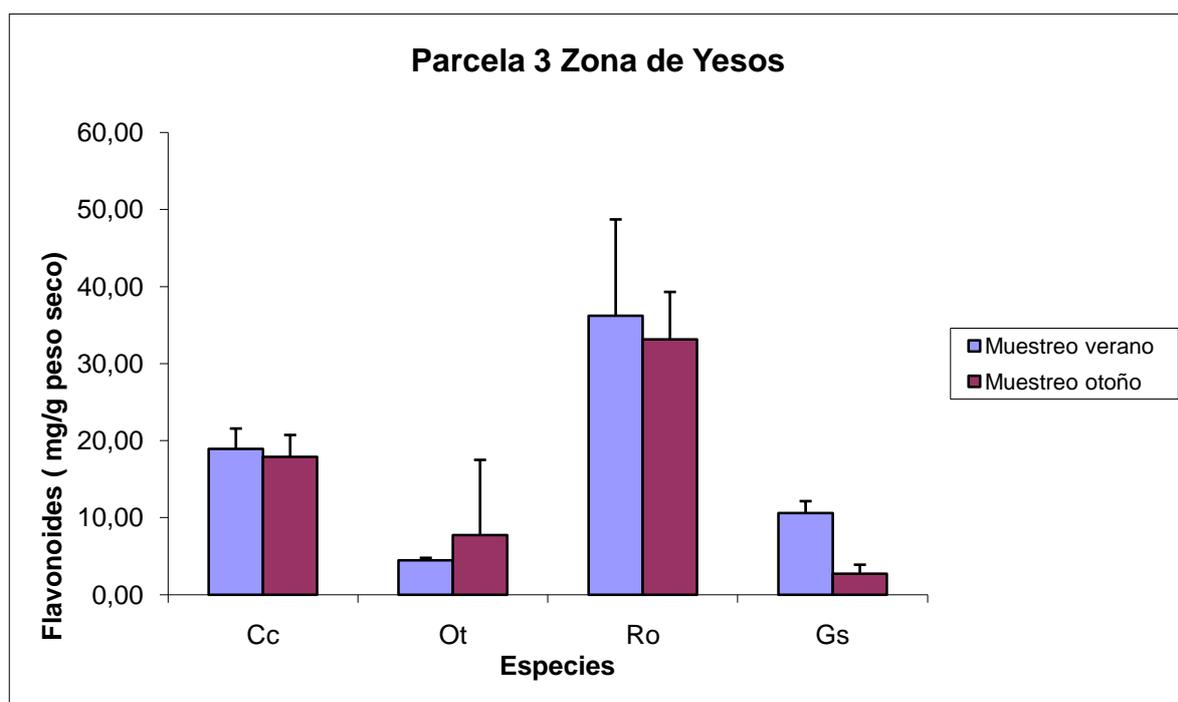


Figura 4.2.6. Flavonoides Zona Yesos parcela 3

Por lo que se refiere a las especies que encontramos en las distintas parcelas de la Zona de Yesos, *Ononis tridentata* está presente en las tres zonas teniendo unas concentraciones muy similares, no obstante la de la parcela 3 es un poco más alta. También la variación estacional es similar en las tres parcelas, ya que tiene una concentración más alta en otoño que verano.

En el caso de *Rosmarinus officinalis* también la encontramos en las tres parcelas en la 1 y 2 tiene comportamiento muy similar con concentraciones muy semejantes en verano como en otoño, así como la gran reducción que sufren entre los dos muestreos. Sin embargo en la tercera parcela tiene una concentración de flavonoides menor que los individuos de las parcelas 1 y 2, también la reducción de las cantidades de flavonoides es mucho menor.

Zona Bétera

La Zona de Bétera está considerada una zona semiárida, en la que solo existe una parcela ya que los distintos estudios realizados no muestran una variación en ningún gradiente para diferenciarla en distintas zonas.

En esta zona encontramos plantas típicas de este tipo de zonas como es el caso de las representantes del género *Stipa*.

Como podemos comprobar en la tabla en esta parcela tenemos un total de cinco especies, en la mayoría de ellas podemos ver como la concentración de flavonoides es ligeramente superior en el muestreo de otoño respecto al de verano como es el caso de *Stipa tenacissima*, *Dorycnium pentaphyllum* y *Stipa capensis*. En los casos del *Helianthemum syriacum* no podemos corroborar que esta tendencia se produzca al carecer del dato correspondiente a la muestra correspondiente a verano.

Tabla 4.2.7 Flavonoides Zona Bétera

Especie (Código)	Verano		Otoño	
	Media (mg/g peso seco)	SD	Media (mg/g peso seco)	SD
<i>Rosmarinus officinalis</i> (Ro)	54,27	12,22	36,25	11,71
<i>Helianthemum syriacum</i> (Hsyr)*	n.d	n.d	26,82*	0,46
<i>Stipa tenacissima</i> (St)	2,68	0,41	3,45	0,27
<i>Dorycnium pentaphyllum</i> (Dp)*	14,12*	0,70	14,71*	0,51
<i>Stipa capensis</i> (Sc)	3,89	0,29	4,00	0,29

Rosmarinus officinalis es en la única especie de esta zona en que la cantidad de flavonoides baja del primer muestreo al segundo, además lo hace de una forma bastante notoria. Además el ANOVA confirma que existe una variación significativa entre los distintos muestreos, realizando análisis estadísticos de los muestreos de las otras especies de muestreo obtenemos que en el caso de *Stipa tenacissima* también es significativa la diferencia, pero en el resto de casos no lo.

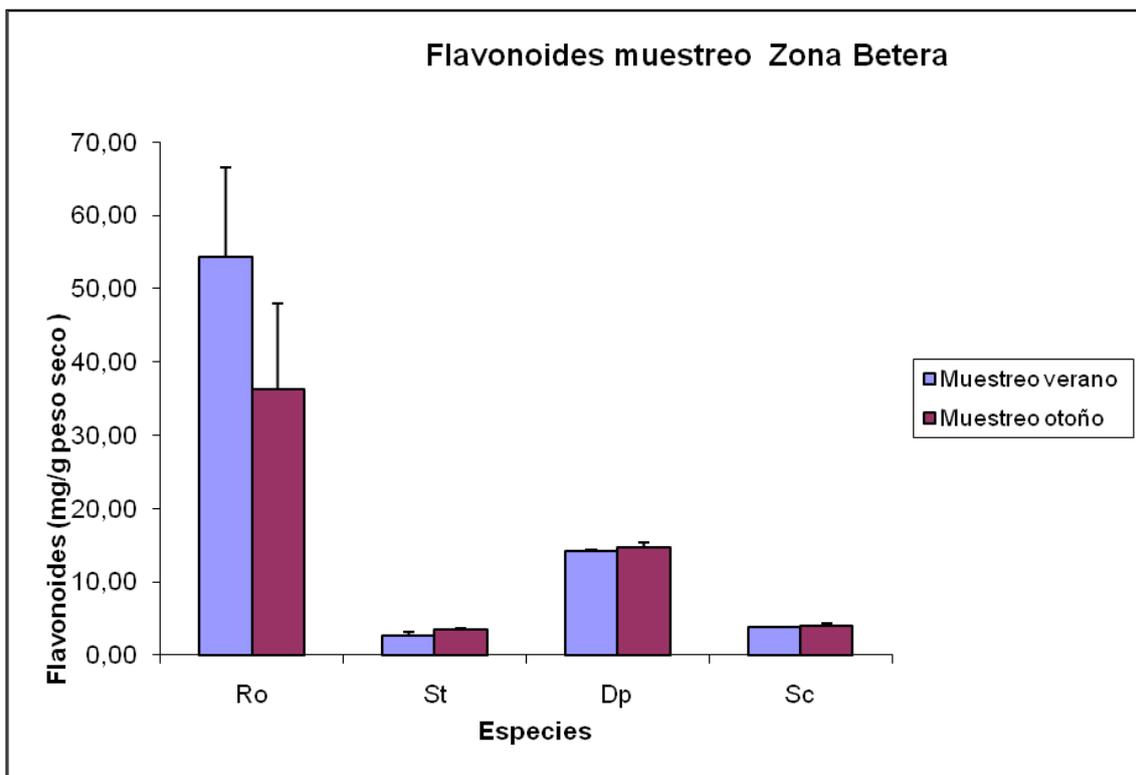


Figura 4.2.7. Flavonoides Zona Bétera

5 CONCLUSIONES

5.1 Proporción de Flavonoides en el total de Compuestos fenólicos

Se ha detectado una variación en la proporción Flavonoides/Compuestos fenólicos totales según los taxones.

- En algunas plantas, los flavonoides representan un porcentaje muy reducido del total de los compuestos fenólicos, como es el caso de *Sarcocornia fruticosa* con alrededor de un 7% de flavonoides, o *Plantago crassifolia*, con un 3% de flavonoides en sus fenoles totales.
- Otros taxones presentan proporciones bastante elevadas, como en el caso de *Juncus maritimus*, con un 70% de flavonoides, *Plantago albicans*, con un 60% de flavonoides en sus fenoles totales, *Thymus vulgaris*, con un 61%.
- Otras especies se encuentran en condiciones intermedias, como por ejemplo *Helianthemum syriacum* con un 40% de flavonoides.
- También existen un grupo de especies que su proporción es mayor 100% como es el caso de *Cistus clusii*. Esto se debe al hecho que la medición de estos compuestos no es directa sino de sus equivalentes: ácido gálico en caso de los fenoles y catequina en los flavonoides. Interpretamos que en estas especies el porcentaje de flavonoides sobre el total de fenoles es muy elevado.

5.2 Variación de la proporción de Flavonoides en Fenoles totales según muestreos

Se ha detectado una variación en la proporción Flavonoides/Compuestos fenólicos totales según los muestreos.

- En algunas las especies se ha registrado una variación de la proporción Flavonoides/Fenoles totales entre los dos muestreos en algunos casos a aumentado la proporción como es el caso de *Schoenus nigricans*, *Ononis tridentata* y *Helianthemum syriacum* . En otros casos se ha producido un descenso entre el muestreo de verano y otoño como en el caso de *Juncus acutus*, *Plantago crassifolia* y *Rosmarinus officinalis*.

- En la mayoría de los casos, el porcentaje de flavonoides es muy similar tanto en verano como en el de otoño como es el caso de *Cistus clusii* o *Juncus maritimus*.
- Cabe indicar que en algunas especies no se puede realizar analizar la variación de esta proporción debido a que faltan los datos del primer muestreo.

5.3 Variación de la proporción Flavonoides/Fenoles totales según la zona

- En lo que respecta a las distintas especies que encontramos en distintas parcelas en una misma zona refrendamos que tanto *Juncus acutus* como *Plantago crassifolia* que los podemos encontrar en las parcelas 1 y 2 de la Zona del Saler aumenta su proporción en la parcela 2 respecto de la 1. En el caso de *Ononis tridentata* que lo encontramos en las tres parcelas de la Zona de Yesos la proporción más alta la presenta en la parcela 3 mientras que la más baja en la parcela
- En lo que se refiere a las especies más cosmopolitas que encontramos en distintas zonas en el caso de *Helianthemum syriacum* encontramos la proporción más alta en la parcela 1 de la Zona de Yesos mientras que la más baja también la encontramos en la Zona de Yesos pero en la parcela 1. En el caso de *Rosmarinus officinalis* tiene la proporción más alta en la Zona de Bétera mientras que la más baja en la parcela 1 de la Zona de Yesos.

5.4 Cantidad total de Fenoles

- La concentración de compuestos fenólicos oscila entre 115 y 0,5mg/eq g peso seco.
- Se ha detectado variabilidad entre los muestreos, de forma que hay diferencias estadísticamente significativas.

En la zona de El Saler no podemos afirmar que exista alguna tendencia ya que en algunos casos aumenta y en otros desciende la concentración del primer muestreo al segundo.

En la Zona de Yesos sí que se puede afirmar que existe una tendencia general a la disminución del muestreo de verano al de otoño.

En la Zona de Bétera también se puede afirmar lo anterior con la excepción del *Dorycnium pentaphyllum* que aumenta la concentración de compuestos fenólicos en otoño con respecto a verano.

5.5 Cantidad de Flavonoides

- La concentración de flavonoides oscila entre 81 y 0,02mg/eq g peso seco.
- Se ha detectado variabilidad entre los muestreos, de forma que hay diferencias estadísticamente significativas.

En la zona de Salina al igual que ocurre con los compuestos fenólicos no podemos hablar de tendencia, ya que existen datos muy dispares en unas especies aumenta mientras que en otras desciende.

En la Zona de Yesos la tendencia general es que aumenta la cantidad de flavonoides entre el muestreo de verano y el de otoño, a excepción en el caso de *Rosmarinus officinalis*.

Por lo que respecta a la Zona Bétera las concentraciones se mantiene muy similar sufriendo un ligero ascenso en algunos casos en el muestreo de otoño

Como conclusión final podemos destacar que tanto la cantidad de compuestos fenólicos como de flavonoides es muy variable, no solamente de una especie a otra sino también dentro del mismo taxón. Sin embargo, en algunas especies se ha detectado una correlación entre los niveles de compuestos fenolicos y la salinidad. En las parcelas de mayor salinidad (*Juncus maritimus* y *Sarcocornia fruticosa*), presentan mayores niveles de compuestos fenólicos. La misma correlación se ha establecido en algunos casos (*Schoenus nigricans*, *Juncus acutus* o *Sarcocornia fruticosa*) comparando los dos muestreos: mayores niveles de compuestos fenólicos en verano, cuando la salinidad del suelo es considerablemente más elevada. Estos datos concuerdan con nuestra hipótesis de partida. Con respecto a los valores de los flavonoides la variación detectada es enorme, y no podemos definir ningún patrón de variación que se repita en los táxones presentes en más de una parcela.

6 BIBLIOGRAFÍA

FLOWERS, T.J., HAJIBAGHERI, M.A., CLIPSON, N.J.W. (1986). Halophytes. *The Quarterly Review of Biology* 61: 313–337.

GANKIN, R., MAJOR, J. (1964). *Arctostaphylos myrtifolia*, its biology and relationship to the problem of endemism. *Ecology* 45: 792–808.

HERRERO GONZÁLEZ, F.J. (2000). Recuperación ecológica y paisajística de las malladas de la Devesa de la Albufera de Valencia. Trabajo fin de carrera. EUITA, Valencia.

JACKSON, R.B., CALDWELL, M.M. (1993). Geostatistical patterns of soil heterogeneity around individual perennial plants. *Journal of Ecology* 81: 683-692.

KÄHKÖNEN, M.P. *et al.* (1999). Antioxidant activity of plants extracts containing phenolics compounds. *J. Agric. Food Chem*, 47: 3954-3962.

MARINOVA, D. *et al.* (2005). Total phenolics and total flavonoids in bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 40: 255-260.

MATEO SANZ, G., CRESPO, M.B. (2001). Manual para la identificación de la flora valenciana. 2ª edición. Gómez Coll, Valencia.

ORTOLÀ, A. (2003). *Ecofisiologia vegetal. Introducció a la fisiologia de l'estrés*. Ed. UPV, Valencia.

PALACIO, S., ESCUDERO, A., MONTSERRAT-MARTÍ, G., MAESTRO, M., MILLA, R., ALBERT, M.J. (2007). Plants living on gypsum: beyond the specialist model. *Annals of Botany*, 1-11.

PICOLELLA, S. *et al.* (2008). Antioxidant Properties of Sour Cherries (*Prunus cerasus* L.): Role of Colorless Phytochemicals from the Methanolic Extract of Ripe Fruits. *J Agric Food Chem*, Mar 26; 56 (6): 1928-35. Epub, Feb 27.

PUEYO, Y., ALADOS, C.L., MAESTRO, M., KOMAC, B. (2007). Gypsophile vegetation patterns under a range of soil properties induced by topographical position. *Plant Ecology* 189: 301-311.

RIVAS-MARTÍNEZ, S. (2007). Globalbioclimatics. www.globalbioclimatics.org

SERRANO, R. & GAXIOLA, R. (1994). Microbial models and salt stress tolerance in plants. *Critical Rev. Plant Sci.* 13: 121–138.

TAIZ, L., ZEIGER, E. (2006). *Fisiología vegetal (Volumen I y II)*. Ed. Publicacions de la Universitat Jaume I, Castellón.

VALLADARES, F. (2003). Light heterogeneity and plants: from ecophysiology to species coexistence and biodiversity. *Progress Bot.* 64:439–471.

WIJESINGHE, D.K., JOHN, E.A., HUTCHINGS, M.J. (2005). Does pattern of soil resource heterogeneity determine plant community structure? An experimental investigation. *Journal of Ecology* 93: 99-112

ZHISHEN, J. *et al.* (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry*, 64: 555-559.

ZHU, J. K. (2001). Plant salt tolerance. *Trends Plant Sci.* 6: 66–71.

Páginas web consultadas:

<[http:// www.es.wikipedia.org/wiki/Albufera](http://www.es.wikipedia.org/wiki/Albufera)>(Consulta, Marzo 2010)

<[http:// www.es.wikipedia.org/wiki/Fenol](http://www.es.wikipedia.org/wiki/Fenol)>(Consulta, Marzo 2010)

<[http:// www.es.wikipedia.org/wiki/Flavonoide](http://www.es.wikipedia.org/wiki/Flavonoide)>(Consulta, Marzo 2010)

<[http://
www.es.wikipedia.org/wiki/Parque_Natural_de_la_Sierra_Calderona](http://www.es.wikipedia.org/wiki/Parque_Natural_de_la_Sierra_Calderona)>(Consulta, Marzo 2010)

<[http:// www.es.wikipedia.org/wiki/Vegetaci%C3%B3n_gips%C3%B3fila](http://www.es.wikipedia.org/wiki/Vegetaci%C3%B3n_gips%C3%B3fila)>(Consulta, Marzo 2010)

<[http:// www.estaciones.ivia.es](http://www.estaciones.ivia.es)> (Consulta, Marzo 2010)

<[http:// www.estaciones.ivia.es](http://www.estaciones.ivia.es)>(Consulta, Abril 2010)

<[http:// www.globalclimatics.org](http://www.globalclimatics.org)>(Consulta, Abril 2010)

<[http:// www.herbarivirtual.uib.es](http://www.herbarivirtual.uib.es)> (Consulta, Abril 2010)

<http://www.mma.es/portal/secciones/biodiversidad/rednatura2000/documentos_rednatura/index.htm>(Consulta, Abril 2010)

<<http://www.unex.es/edafo/FAOInicio.htm>>(Consulta, Abril 2010)

ANEXOS

Tabla Anexo 1. Leyenda de los códigos de las especies

Código	Especie	Código	Especie
On	<i>Ononis natrix</i>	lc	<i>Inula crithmoides</i>
Tc	<i>Teucrium capitatum</i>	St	<i>Stipa tenacissima</i>
Ro	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Cc	<i>Cistus clusii</i>
Hsy	<i>Helianthemum syriacum</i>	Pa	<i>Plantago albicans</i>
Hsto	<i>Helichrysum stoechas</i>	Ot	<i>Ononis tridentata</i>
Pc	<i>Plantago crassifolia</i>	Ac	<i>Anthyllis cytissoides</i>
Sn	<i>Schoenus nigricans</i>	Gs	<i>Gipsophyla struthium sp. hispanica</i>
Sf	<i>Sarcocornia fruticosa</i>	Tv	<i>Thymus vulgaris</i>
Jm	<i>Juncus maritimus</i>	Dp	<i>Dorycnium pentaphyllum</i>
Ja	<i>Juncus acutus</i>	Sc	<i>Stipa capensis</i>
Lv	<i>Limonium virgatum</i>		

Tabla Anexo 2 Compuestos fenólicos Zona Saler

Compuestos fenólicos (mg/g peso seco)			
Código	Zona	Verano	Otoño
On*	1	n.d	23,82*
On*	1	n.d	23,81*
On*	1	n.d	23,87*
Tc1	1	n.d	37,05
Tc2	1	n.d	32,79
Tc3	1	n.d	26,15
Tc4	1	n.d	42,63
Tc5	1	n.d	n.d
Hsy1	1	n.d	85,42
Hsy2	1	n.d	66,77
Hsy3	1	n.d	71,98
Hsto1	1	n.d	6,93
Hsto2	1	n.d	7,62
Hsto3	1	n.d	n.d
Ro1	1	10,06	59,57
Ro2	1	12,09	50,42
Ro3	1	11,97	40,32
Ro4	1	n.d	51,90
Ro5	1	n.d	54,04
Pc1	1	27,17	66,31

Compuestos fenólicos (mg/g peso seco)			
Código	Zona	Verano	Otoño
Pc2	1	25,49	14,96
Pc3	1	21,21	22,15
Pc5	1	28,82	18,31
Sn1	1	32,00	5,60
Sn2	1	31,18	5,23
Sn3	1	27,38	7,07
Sn4	1	25,82	6,30
Sn5	1	24,83	5,27
Ja 1	1	21,11	12,58
Ja2	1	24,85	14,24
Ja3	1	15,79	9,25
Ja4	1	18,16	10,63
Ja5	1	n.d	12,46
Sf1	2	12,90	8,76
Sf2	2	12,88	8,11
Sf3	2	12,90	8,72
Sf4	2	18,61	8,31
Sf5	2	12,41	7,57
Pc1	2	0,81	4,40
Pc2	2	0,70	8,17
Pc3	2	0,50	4,76
Pc4	2	0,64	3,10
Pc5	2	0,75	6,17
Jm1	2	3,37	8,08
Jm2	2	8,23	7,50
Jm3	2	8,15	8,18
Jm4	2	8,49	8,09
Jm5	2	4,36	7,89
Ja1	2	0,73	8,67
Ja2	2	0,65	8,03
Ja3	2	0,62	8,64
Ja4	2	0,62	8,15
Ja5	2	n.d	7,88
Lv*	2	n.d	6,03*
Lv*	2	n.d	5,98*
Lv*	2	n.d	6,11*
Lv*	3	n.d	6,65*
Lv*	3	n.d	6,62*
Lv*	3	n.d	6,71*
Jm1	3	10,28	8,30
Jm2	3	10,81	8,35
Jm3	3	13,68	9,80

Compuestos fenólicos (mg/g peso seco)			
Código	Zona	Verano	Otoño
Jm4	3	12,34	7,82
Jm5	3	16,88	8,94
Ic1	3	7,99	8,21
Ic2	3	5,27	6,86
Ic3	3	5,11	5,39
Ic4	3	7,55	7,72
Ic5	3	n.d	9,44
Sf1	3	17,95	5,38
Sf2	3	17,97	5,83
Sf3	3	19,34	4,76
Sf4	3	17,23	4,00
Sf5	3	15,25	5,36

Tabla Anexo 3 Compuestos fenólicos Zona Yesos

Compuestos fenólicos (mg/g peso seco)			
Código	Zona	Verano	Otoño
Hsyr*	1	11,01*	8,68*
Hsyr*	1	10,91*	8,76*
Hsyr*	1	10,95*	8,57*
Pa*	1	n.d	56,5*
Pa*	1	n.d	56,34*
Pa*	1	n.d	56,85*
Tv	1	n.d	30,67
Tv 1+2+5	1	n.d	58,26
Tv3+4	1	n.d	51,72
Cc*	1	10,97*	56,17*
Cc*	1	10,9*	56,24*
Cc*	1	11,05*	55,83*
Ot1	1	11,69	10,16
Ot2	1	12,01	11,06
Ot3	1	10,90	9,07
Ot4	1	12,93	10,69
Ot5	1	8,18	10,16
Ac1	1	n.d	50,14
Ac2	1	n.d	47,90
Ac3	1	n.d	55,33
Ro1	1	104,83	17,78
Ro2	1	115,24	21,99
Ro3	1	103,91	15,31

Compuestos fenólicos (mg/g peso seco)			
Código	Zona	Verano	Otoño
Ro4	1	84,30	21,68
Ro5	1	108,78	20,81
Ot1	2	10,88	7,95
Ot2	2	10,23	10,45
Ot3	2	10,67	7,67
Ot4	2	10,49	10,75
Ot5	2	9,51	9,88
Ac1+3	2	n.d	97,73
Ac2+5	2	n.d	107,90
Ac4	2	n.d	101,92
Ro1	2	27,93	34,28
Ro2	2	34,32	37,85
Ro3	2	39,28	28,04
Ro4	2	54,45	33,46
Ro5	2	43,25	34,80
Hsyr1	2	n.d	95,69
Hsyr2	2	n.d	80,56
Hsyr3+4	2	n.d	96,55
Hsyr5	2	n.d	77,56
Ot1	3	12,36	10,14
Ot2	3	12,03	8,43
Ot3	3	8,70	9,77
Ot4	3	9,97	5,09
Ot5	3	n.d	5,00
Hsyr1+2	3	n.d	71,83
Hsyr3	3	n.d	66,79
Cc1	3	96,85	76,78
Cc2	3	73,03	75,29
Cc3	3	76,36	71,20
Cc4	3	97,59	78,23
Cc5	3	99,96	73,25
Ro1	3	55,56	53,37
Ro2	3	68,50	53,46
Ro3	3	91,96	50,74
Ro4	3	83,40	65,96
Ro5	3	n.d	70,23
Gs1	3	26,00	n.d
Gs2	3	18,75	19,52
Gs3	3	20,75	10,69
Gs4	3	26,55	17,94
Gs5	3	16,05	12,75
Tv 1+2	3	n.d	69,25

Compuestos fenólicos (mg/g peso seco)			
Código	Zona	Verano	Otoño
Tv 3+4	3	n.d	64,28
Tv5	3	n.d	65,12

Tabla Anexo 4 Compuestos fenólicos Zona Bétera

Compuestos fenólicos (mg/g peso seco)		
Código	Verano	Otoño
Ro1	69,55	43,20
Ro2	68,87	40,10
Ro3	77,53	29,77
Ro4	65,50	48,32
Ro5	60,55	39,88
Hsyr*	n.d	71,97
Hsyr*	n.d	70,89
Hsyr*	n.d	71,91
St1	15,33	6,98
St2	15,54	5,92
St3	18,66	5,23
St4	n.d	5,14
St5	n.d	5,04
Dp*	57,39*	80,89*
Dp*	56,57*	79,73*
Dp*	57,76*	79,32*
Sc1	15,65	7,14
Sc2	16,04	5,95
Sc3	14,89	n.d

Tabla Anexo 5 Flavonoides Zona Saler

Flavonoides (mg/g peso seco)			
Código	Zona	Verano	Otoño
On1*	1	n.d	9,57*
On1*	1	n.d	9,51*
On1*	1	n.d	9,5*
Tc1	1	n.d	13,87
Tc2	1	n.d	13,09
Tc3	1	n.d	15,22
Tc4	1	n.d	13,78
Tc5	1	n.d	n.d
Hsyr1	1	n.d	34,77

Flavonoides (mg/g peso seco)			
Código	Zona	Verano	Otoño
Hsyr2	1	n.d	38,76
Hsyr3	1	n.d	44,37
Hsto1	1	n.d	3,47
Hsto2	1	n.d	4,34
Hsto3	1	n.d	n.d
Ro1	1	13,28	35,37
Ro2	1	12,09	41,87
Ro3	1	12,14	38,71
Ro4	1	n.d	34,80
Ro5	1	n.d	39,10
Pc1	1	1,22	8,29
Pc2	1	1,27	6,89
Pc3	1	2,01	20,53
Pc4	1	1,62	6,64
Pc5	1	1,81	24,90
Sn1	1	15,33	10,56
Sn2	1	15,88	9,78
Sn3	1	17,48	13,51
Sn4	1	17,13	11,96
Sn5	1	13,77	10,03
Ja 1	1	5,84	0,79
Ja2	1	4,61	0,02
Ja3	1	5,74	0,88
Ja4	1	5,77	1,17
Ja5	1	n.d	1,51
Sf1	2	4,80	3,22
Sf2	2	4,41	1,96
Sf3	2	3,14	4,11
Sf4	2	5,27	2,83
Sf5	2	3,85	4,25
Pc1	2	10,61	3,41
Pc2	2	7,07	6,16
Pc3	2	4,21	2,68
Pc4	2	6,73	2,27
Pc5	2	9,43	4,06
Jm1	2	4,04	5,01
Jm2	2	6,45	4,34
Jm3	2	2,83	5,26
Jm4	2	5,03	4,85
Jm5	2	8,10	4,47
Ja1	2	3,92	3,41
Ja2	2	2,64	3,36

Flavonoides (mg/g peso seco)			
Código	Zona	Verano	Otoño
Ja3	2	2,80	3,40
Ja4	2	2,86	3,38
Ja5	2	n.d	3,52
Lv*	2	n.d	15,05*
Lv*	2	n.d	15,04*
Lv*	2	n.d	15,09*
Lv*	3	n.d	15,2*
Lv*	3	n.d	15,11*
Lv*	3	n.d	15,24*
Jm1	3	2,40	5,34
Jm2	3	4,87	5,36
Jm3	3	3,91	5,41
Jm4	3	3,08	3,83
Jm5	3	7,94	4,16
Ic1	3	5,47	6,48
Ic2	3	3,71	7,29
Ic3	3	1,95	3,89
Ic4	3	6,81	6,40
Ic5	3	n.d	6,99
Sf1	3	3,49	5,01
Sf2	3	4,55	4,34
Sf3	3	2,69	5,26
Sf4	3	2,61	4,85
Sf5	3	2,18	4,47

Tabla Anexo 5 Flavonoides Zona Yesos

Flavonoides (mg/g peso seco)			
Código	Zona	Verano	Otoño
Hsyr*	1	12,98*	21,39*
Hsyr*	1	12,27*	21,58*
Hsyr*	1	14,13*	21,33*
Pa*	1	n.d	36,49
Pa*	1	n.d	37,02
Pa*	1	n.d	36,20
Tv	1	n.d	66,06
Tv 1+2+5	1	n.d	64,31
Tv3+4	1	n.d	80,98
Cc*	1	12,59*	57,75*
Cc*	1	12,69*	58,13*

Flavonoides (mg/g peso seco)			
Código	Zona	Verano	Otoño
Cc*	1	12,54*	57,86*
Ot1	1	4,86	6,44
Ot2	1	3,40	3,96
Ot3	1	3,80	5,52
Ot4	1	4,20	5,61
Ot5	1	3,06	6,48
Ac1	1	n.d	27,47
Ac2	1	n.d	24,56
Ac3	1	n.d	36,73
Ro1	1	52,38	18,26
Ro2	1	29,08	16,48
Ro3	1	59,25	15,85
Ro4	1	27,57	10,16
Ro5	1	53,06	14,61
Ot1	2	4,13	4,64
Ot2	2	3,45	5,72
Ot3	2	3,14	6,36
Ot4	2	3,02	5,36
Ot5	2	2,54	5,79
Ac1+3	2	n.d	24,47
Ac2+5	2	n.d	29,35
Ac4	2	n.d	27,07
Ro1	2	31,52	15,20
Ro2	2	31,03	11,50
Ro3	2	51,63	10,93
Ro4	2	60,40	16,58
Ro5	2	45,08	16,12
Hsyr1	2	n.d	28,68
Hsyr2	2	n.d	26,70
Hsyr3+4	2	n.d	30,30
Hsyr5	2	n.d	27,51
Ot1	3	4,80	4,70
Ot2	3	4,48	4,31
Ot3	3	4,54	4,73
Ot4	3	4,09	2,00
Ot5	3	n.d	3,26
Hsyr1+2	3	n.d	24,17
Hsyr3	3	n.d	27,27
Cc1	3	19,57	20,24
Cc2	3	14,79	20,44
Cc3	3	21,63	18,91
Cc4	3	20,51	14,10

Flavonoides (mg/g peso seco)			
Código	Zona	Verano	Otoño
Cc5	3	18,07	15,81
Ro1	3	21,32	26,79
Ro2	3	30,37	30,29
Ro3	3	46,95	29,35
Ro4	3	46,12	40,57
Ro5	3	n.d	38,80
Gs1	3	11,30	n.d
Gs2	3	12,97	3,64
Gs3	3	9,73	1,91
Gs4	3	9,63	3,79
Gs5	3	9,35	1,55
Tv 1+2	3	n.d	40,56
Tv 3+4	3	n.d	41,40
Tv5	3	n.d	40,57

Tabla Anexo 6 Flavonoides Zona Yesos

Flavonoides (mg/g peso seco)			
Código	Zona	Verano	Otoño
Hsyr*	1	12,98*	21,39*
Hsyr*	1	12,27*	21,58*
Hsyr*	1	14,13*	21,33*
Pa*	1	n.d	36,49
Pa*	1	n.d	37,02
Pa*	1	n.d	36,20
Tv	1	n.d	66,06
Tv 1+2+5	1	n.d	64,31
Tv3+4	1	n.d	80,98
Cc*	1	12,59*	57,75*
Cc*	1	12,69*	58,13*
Cc*	1	12,54*	57,86*
Ot1	1	4,86	6,44
Ot2	1	3,40	3,96
Ot3	1	3,80	5,52
Ot4	1	4,20	5,61
Ot5	1	3,06	6,48
Ac1	1	n.d	27,47
Ac2	1	n.d	24,56
Ac3	1	n.d	36,73
Ro1	1	52,38	18,26
Ro2	1	29,08	16,48

Flavonoides (mg/g peso seco)			
Código	Zona	Verano	Otoño
Ro3	1	59,25	15,85
Ro4	1	27,57	10,16
Ro5	1	53,06	14,61
Ot1	2	4,13	4,64
Ot2	2	3,45	5,72
Ot3	2	3,14	6,36
Ot4	2	3,02	5,36
Ot5	2	2,54	5,79
Ac1+3	2	n.d	24,47
Ac2+5	2	n.d	29,35
Ac4	2	n.d	27,07
Ro1	2	31,52	15,20
Ro2	2	31,03	11,50
Ro3	2	51,63	10,93
Ro4	2	60,40	16,58
Ro5	2	45,08	16,12
Hsyr1	2	n.d	28,68
Hsyr2	2	n.d	26,70
Hsyr3+4	2	n.d	30,30
Hsyr5	2	n.d	27,51
Ot1	3	4,80	4,70
Ot2	3	4,48	4,31
Ot3	3	4,54	4,73
Ot4	3	4,09	2,00
Ot5	3	n.d	3,26
Hsyr1+2	3	n.d	24,17
Hsyr3	3	n.d	27,27
Cc1	3	19,57	20,24
Cc2	3	14,79	20,44
Cc3	3	21,63	18,91
Cc4	3	20,51	14,10
Cc5	3	18,07	15,81
Ro1	3	21,32	26,79
Ro2	3	30,37	30,29
Ro3	3	46,95	29,35
Ro4	3	46,12	40,57
Ro5	3	n.d	38,80
Gs1	3	11,30	n.d
Gs2	3	12,97	3,64
Gs3	3	9,73	1,91
Gs4	3	9,63	3,79
Gs5	3	9,35	1,55

Flavonoides (mg/g peso seco)			
Código	Zona	Verano	Otoño
Tv 1+2	3	n.d	40,56
Tv 3+4	3	n.d	41,40
Tv5	3	n.d	40,57

Tabla Anexo 6 Flavonoides Zona Bétera

Flavonoides (mg/g peso seco)		
Código	Verano	Otoño
Ro1	68,31	43,55
Ro2	55,71	19,87
Ro3	63,39	30,01
Ro4	44,50	49,87
Ro5	39,45	37,94
Hsyr*	n.d	26,33
Hsyr*	n.d	27,25
Hsyr*	n.d	26,88
St1	3,15	3,59
St2	2,39	3,50
St3	2,50	3,50
St4	n.d	2,98
St5	n.d	3,68
Dp*	13,86	14,14
Dp*	14,91	15,13
Dp*	13,59	14,87
Sc1	4,53	4,20
Sc2	3,95	3,79
Sc3	3,20	n.d