



Universidad de Jaén

Facultad de Ciencias
Experimentales

Estudio de la calidad nutricional de la vegetación en hábitats de Sierra Morena poblados por cérvidos

Autor: José Luis Víbora Rodríguez

Grado: Biología

Fecha: 25/06/2025

CREEA



Universidad de Jaén



Facultad de
Ciencias Experimentales

Trabajo Fin de Grado

Estudio de la calidad nutricional de la vegetación en hábitats de Sierra Morena poblados por cérvidos

**Alumno/a: José Luis Víbora Rodríguez
Jaén, junio, 2025**

AGRADECIMIENTO

Quisiera hacer una mención especial a la Profa. Concepción Azorit Casas, que sin ella, sus ideas y entusiasmo no se habría podido llevar a cabo este TFG, aunque no pudo ver este proyecto finalizado, sus influencias y enseñanzas se ven reflejadas en cada parte de él. Este trabajo va también en su memoria, con gratitud y afecto.

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	1
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1. Interacción planta-herbívoro	5
1.2. Metabolitos secundarios en plantas	7
1.2.1. <i>Fenoles</i>	8
1.2.2. <i>Taninos</i>	11
1.3. Calidad nutricional de la vegetación	12
1.4. Selección de especies ramoneadas por herbívoros	14
1.4.1. <i>Rosa canina L.</i>	14
1.4.2. <i>Cistus albidus L.</i>	15
1.4.4. <i>Teucrium fruticans L.</i>	16
1.4.5. <i>Quercus rotundifolia L.</i>	16
1.4.6. <i>Olea europea var. sylvestris L.</i>	17
2. OBJETIVOS	17
3. MATERIALES Y MÉTODOS	18
3.1. Área de estudio	18
3.2. Diseño experimental	18
3.3. Procesamiento de las muestras	19
3.4. Determinación de polifenoles totales (PFT)	19
3.5. Determinación de taninos condensados (TC)	20
3.6. Determinación de carbono (C) y nitrógeno (N)	20
3.7. Análisis de datos	20
4. RESULTADOS	21
4.1. Determinación de concentración de fenoles	21
4.1.1. <i>Determinación de fenoles en la estación de otoño</i>	21
4.1.2. <i>Determinación de fenoles en la estación de invierno</i>	22
4.1.3. <i>Determinación de fenoles en la estación de primavera</i>	23
4.2. Determinación de taninos condensados	24
4.2.1. <i>Determinación de taninos condensados en la estación de otoño</i>	24
4.2.2. <i>Determinación de taninos condensados en la estación de invierno</i>	25
4.2.3. <i>Determinación de taninos condensados en la estación de primavera</i>	26
4.3. Datos de la calidad nutricional	28
4.3.1. <i>Datos de la calidad nutricional en la estación de otoño</i>	28
4.3.2. <i>Datos de la calidad nutricional en la estación de invierno</i>	29
4.3.3. <i>Datos de la calidad nutricional en la estación de primavera</i>	31
5. DISCUSIÓN	33
5.1. Variabilidad de fenoles y taninos en especies vegetales comidas por herbívoros en diferentes estaciones del año	33
5.2. Variaciones en la calidad nutricional de las hojas determinadas por la cantidad de C y N analizados	35

6. CONCLUSIÓN.....	36
7. BIBLIOGRAFÍA.....	37

RESUMEN

En este Trabajo Fin de Grado se analiza la respuesta de diversas especies vegetales al ramoneo de herbívoros en el ecosistema mediterráneo de Sierra Morena (Andújar). El objetivo es el estudio de metabolitos secundarios, principalmente fenoles totales y taninos condensados como método de defensa frente a la herbivoría, evaluando su variación estacional y su relación con el contenido de C y N, factores que afectan la calidad nutricional y palatabilidad de las hojas. Los resultados muestran que la mayoría de las especies incrementan significativamente su contenido en fenoles y taninos tras la herbivoría, especialmente en otoño e invierno, coincidiendo con periodos de mayor consumo de vegetación leñosa. En primavera, en cambio, la concentración de estos metabolitos es considerablemente menor, posiblemente por la abundancia de pastos. Además, se compararon los datos obtenidos de las plantas ramoneadoras con muestras control las cuales no sufrieron de herbivoría, observándose una tendencia en la que las muestras ramoneadas presentan una mayor cantidad de fenoles y taninos. Los índices C/N, N/FT y N/TC permitieron estimar la palatabilidad de las especies, revelando que los mayores niveles de N/FT y N/TC se presentan en primavera, cuando el estrés biótico es menor. Estos hallazgos evidencian cómo la interacción planta-herbívoro y las condiciones ambientales influyen en la cantidad de metabolitos secundarios y en la calidad nutritiva de la vegetación.

ABSTRACT

This Final degree project analyses response of several plant species to herbivore browsing in the Mediterranean ecosystem of Sierra Morena (Andújar). It focuses on the study of secondary metabolites, mainly total phenols and condensed tannins as a method of defence against herbivory, evaluating their seasonal variation and their relationship with C and N content, factors that affect the nutritional quality and palatability of the leaves. The results show that most species significantly increase their phenol and tannin content after herbivory, especially in autumn and winter, coinciding with periods of higher consumption of woody vegetation. In spring,

on the other hand, the concentration of these metabolites is considerably lower, possibly due to the abundance of grasses. In addition, data obtained from browsing plants were compared with control samples which did not undergo herbivory, showing a trend in which the browsed samples have a higher amount of phenols and tannins. The C/N, N/FT and N/TC indices allowed estimating the palatability of the species, revealing that the highest N/FT and N/TC levels occur in spring, when biotic stress is lower. These findings show how plant-herbivore interaction and environmental conditions influence the amount of secondary metabolites and the nutritional quality of the vegetation.

1. INTRODUCCIÓN

Las plantas se ven afectadas continuamente por una gran variedad de factores externos. Mientras que los factores bióticos incluyen interacción con otros organismos vivos como virus, bacterias, hongos, nematodos, plantas parásitas, insectos y herbívoros que pueden actuar como simbioses, parásitos, patógenos y competidores; los factores abióticos comprenden la temperatura, la humedad relativa, la luz, la disponibilidad de agua, nutrientes minerales, el O₂, y el CO₂, así como el viento, la radiación ionizante o los contaminantes antropogénicos que junto con el cambio climático global influyen en la supervivencia de las plantas y en la calidad nutricional de la vegetación (Schulze et al., 2002; Leisner, 2020).

A lo largo de millones años de interacciones entre herbívoros y plantas, se ha producido una coevolución conjunta en la que los herbívoros han ejercido una gran presión sobre las plantas mediante la herbivoría, desarrollando a lo largo de la evolución estrategias variadas (tanto físicas como químicas) para defenderse contra sus posibles depredadores, entre ellos los herbívoros, y así evitar ser consumidas (Agrawal, 2000; Ashraf, 2018).

Las plantas utilizan dos métodos distintos de defensa para hacer frente a la herbivoría, uno de ellos es el método indirecto, ocurre cuando las plantas interactúan con los enemigos de sus herbívoros para reducir la herbivoría (Heil 2008; Kessler & Heil 2011). Las plantas pueden producir recursos o atrayentes para acercar a enemigos naturales de los herbívoros, uno de los ejemplos más conocidos de defensa indirecta involucra interacciones en las que las plantas proporcionan alimento o refugio a las hormigas; estas hormigas, a su vez, atacan a los herbívoros, en beneficio de las plantas (Rico-Gray & Oliveira 2007). Otro ejemplo bien conocido ocurre cuando los olores volátiles emitidos por las plantas tras un ataque de herbívoros atraen a artrópodos parásitos y predadores (enemigos naturales) que atacan a los herbívoros, en beneficio de las plantas (Dicke & Baldwin 2010).

La otra manera para hacer frente a la herbivoría son los métodos de defensa directa, pudiendo encontrar distintos tipos, como las defensas estructurales, incluyendo características morfológicas y anatómicas que confieren una ventaja adaptativa a la planta al disuadir directamente a los herbívoros/insectos de alimentarse. Existen una gran variedad de métodos de defensa estructurales,

incluyendo desde protuberancias prominentes en la planta hasta cambios microscópicos en el grosor de la pared celular como resultado de la lignificación y suberificación. Las características estructurales como las espinas, los tricomas (pubescencia), el endurecimiento de las hojas (esclerofilia), la incorporación de minerales granulares en los tejidos de la planta y la ramificación divaricada (brotes con tallos delgados que se producen en ángulos axilares amplios) desempeñan un papel fundamental en la protección de las plantas contra los distintos tipos de herbívoros (Belete et al., 2018). A parte de los métodos estructurales, otra forma de defensa directa es la defensa química, como la producción de enzimas y proteínas anti-nutricionales para alterar la digestión del herbívoro, o un incremento en la producción de metabolitos secundarios (fenoles, terpenos, alcaloides) que actúan como disuasorios nutritivos, consiguiendo disminuir el ataque del herbívoro sobre la planta, en nuestro estudio profundizaremos en este último método (Azorín y Gómez, 2008; Camacho-Escobar et al., 2020).

No hay que olvidar la influencia de los factores abióticos (sequía, salinidad, contaminantes tóxicos) en el desarrollo de las plantas, estos factores son características recurrentes en casi todas las regiones climáticas del mundo. La viabilidad de las plantas en hábitats tanto secos como salinos depende de su capacidad para hacer frente a:

- Déficit de agua, provoca cambios perjudiciales en los componentes celulares, ya que la conformación biológicamente activa y, por lo tanto, el correcto funcionamiento de las proteínas y biomembranas dependen de una capa de hidratación intacta. Como consecuencia, un estrés osmótico severo puede provocar un deterioro en la síntesis de aminoácidos, el metabolismo de proteínas, el ciclo de Calvin en la fotosíntesis o la respiración, y puede causar el colapso del sistema metabólico celular (Larcher, 2001; Schulze et al., 2002).
- Restricción de la absorción de CO₂, los efectos negativos del estrés osmótico descritos anteriormente obligan a las plantas a minimizar la pérdida de agua; el crecimiento depende de la capacidad de encontrar el mejor equilibrio entre una baja transpiración y una alta tasa neta de fotosíntesis. Sin embargo, diversas especies vegetales muestran una reducción significativa en la tasa de asimilación bajo condiciones de estrés osmótico debido al cierre estomático (Koyro, 2006).

- Toxicidad por iones y desequilibrio de nutrientes en el caso de las plantas que viven en suelos salinos, presentan efectos específicos de los iones en membranas y proteínas. Por un lado, los cambios en el entorno iónico provocan alteraciones en el potencial de membrana, lo que puede llevar a la destrucción de las biomembranas. Por otro lado, la hidratación y la carga de las proteínas se ven negativamente afectadas, lo que favorece la deshidratación celular y reduce su actividad metabólica (Schulze et al., 2002). Estos efectos del estrés salino pueden ser mitigados por la función protectora de las chaperonas, la producción de solutos compatibles, etc.

Para hacer frente a estos problemas ambientales, las plantas han desarrollado una gran cantidad de adaptaciones, entre ellas, el uso de solutos compatibles (betaínas, aminoácidos, prolina, amidas, azúcares, alcoholes de azúcares y poliaminas) o mecanismos de respuesta antioxidante (sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos para disminuir la producción de los EROs (especies reactivas de oxígeno que especialmente han sido desarrollada en plantas halófitas) (Bueno, 2019).

1.1. Interacción planta-herbívoro

Las especies vegetales propias de climas mediterráneos están sometidas a condiciones climáticas variadas que cambian con la estacionalidad a lo largo del año y que implican diferentes grados de estrés principalmente en la época de verano, donde las plantas se ven sometidas a altas intensidades luminosas, altas temperaturas, déficit de agua en forma individual o combinada. Por otro lado, en ecosistemas mediterráneos, especialmente en el sur de la Península Ibérica, las plantas han co-evolucionado con los herbívoros bajo una alta presión de ramoneo (forma de alimentación en la que un herbívoro se alimenta de hojas, brotes tiernos o frutos) de plantas leñosas como los arbustos y de pastos u otras plantas pequeñas (Azorit et al., 2005, 2006, Velamazán, 2020).

A causa de esto, las plantas han desarrollado a lo largo de la evolución un gran número de respuestas tanto estructurales como químicas a causa de continuo ramoneo a los que se le añade los distintos factores medioambientales que rodean

a la planta. Las plantas pueden adaptarse, tolerar o resistir el ataque del patógeno (Figura 1.1).

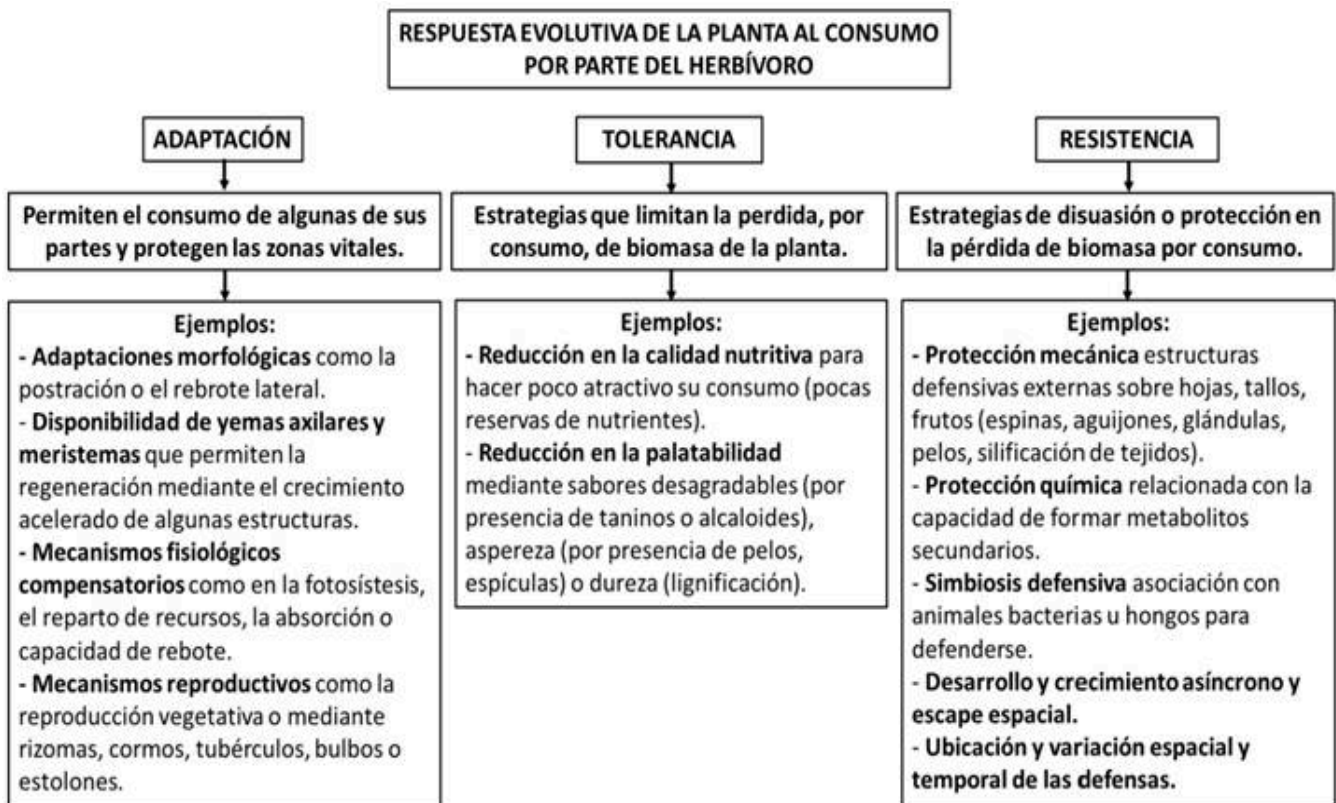


Figura 1.1. Respuesta de las plantas frente al ataque de herbívoros (Camacho-Escobar et al., 2020)

En este TFG nos centraremos en estudiar algunas de las estrategias químicas (producción de metabolitos secundarios) que la planta presenta como respuesta al ataque de los herbívoros, concretamente la producción de fenoles, que incluye a los taninos (Figura 1.2.).



Figura 1.2. Defensa estructurales y químicas que la planta produce para defenderse frente al herbívoro (Camacho-Escobar et al., 2020)

1.2. Metabolitos secundarios en plantas

La producción de metabolitos secundarios (terpenos, fenoles y alcaloides) en plantas constituyen el mundo de señales químicas a través del cual las plantas se relacionan con su entorno (Chen et al. 2022, Mostafa et al. 2022). Los compuestos polifenólicos totales (PFT) desempeñan un papel importante en prácticamente todas las interacciones que la planta tiene con su entorno, incluyendo a los herbívoros. Los taninos condensados (TC) son un tipo de polifenoles que se acumulan en muchas especies vegetales en respuesta a la herbivoría, afectando a la palatabilidad de las hojas que afectan al intestino de una gran variedad de herbívoros, desde insectos hasta mamíferos (Bernays et al. 1989; Peters and Constabel 2002). Los polifenoles muestran una gran actividad antioxidante y pueden ser utilizados por las plantas como mecanismos de protección contra el estrés abiótico y biótico (Ksouri et al. 2008, Anu et al. 2018). Así, el contenido total de polifenoles (de gran importancia biológica y ecológica) está relacionado con las

necesidades defensivas de las plantas y podría actuar como un indicador del grado de estrés experimentado por las plantas (Gil & Tuteja, 2010; Ashraf et al., 2018).

1.2.1. Fenoles

Los compuestos fenólicos están ampliamente distribuidos en la naturaleza, desempeñando un papel crucial en el correcto funcionamiento de las plantas. Su estructura química les confiere la capacidad de actuar como antioxidantes, actuando como captadores de radicales libres o activando enzimas que pueden neutralizar así a los EROs, e iones metálicos quelantes que pueden suponer un peligro para el metabolismo normal de la planta. Estas moléculas derivan del metabolismo del ácido siquímico y/o de los policétidos y terpenos. Debido a su alta reactividad, la mayoría de las veces se encuentran combinados con un ácido orgánico, un azúcar o con otra molécula de ellas mismas generando así un polímero (Alejandro, 2009). Los fenoles tienen un anillo de benceno, un grupo carboxílico y uno o varios grupos hidroxilo y/o metoxilo que les confiere la capacidad de aceptar radicales libres de carga negativa, aunque lo general es encontrarlos como ésteres o glucosilados y no en forma libre (Robbins, 2003; Vermerris & Nicholson, 2006).

Los compuestos fenólicos fueron clasificados en seis categorías, cada una subdividida en diferentes grupos y familias de compuestos para una completa organización de sus variaciones estructurales. Las primeras cinco categorías muestran una progresión en la complejidad de los esqueletos básicos de los miembros, mientras que la sexta categoría abarca los fenólicos híbridos como una clase separada de compuestos (Tsimogiannis & Oreopoulou, 2019). Existen varias formas de clasificación de fenoles. En función de su estructura química o en base a su esqueleto carbonatado. Los diferentes tipos de fenoles en función de su estructura química son: Ácidos fenólicos, Cumarinas, Flavonoides, **Taninos**, Lignanós y ligninas, Estilbenos.

Al tratarse de un grupo tan amplio es fácil de pensar que los diversos componentes surjan de gran número de rutas biosintéticas. Sin embargo, la fuente de los compuestos iniciales de las vías sintéticas son el metabolismo primario (glucólisis, formación de acetil-CoA y la vía de pentosas fosfato). Tanto el fosfoenolpiruvato de lo glucólisis como la eritrosa-4-fosfato del ciclo de las pentosas fosfato producen el ácido siquímico ($C_7H_{10}O_5$) a través de la vía del siquimato. Durante la última vía se producen los amoniacos aromáticos, donde se incluye la

L-fenilalanina. A partir de aquí comienza la vía de los fenilpropanoides, lo que da como resultado la formación de *p*-cumaroil CoA, y a partir de este se pueden producir fenil-propanoides, lignanos, coumarinas, benzoatos y taninos, cuando se condensan con moléculas de ácido malónico se sintetizan los flavonoides (Vermerris Wilfred & Nicholson, 2007). En la figura 1.3. Se puede observar un esquema simplificado de la síntesis y rutas conocidas de los fenilpropanoides.

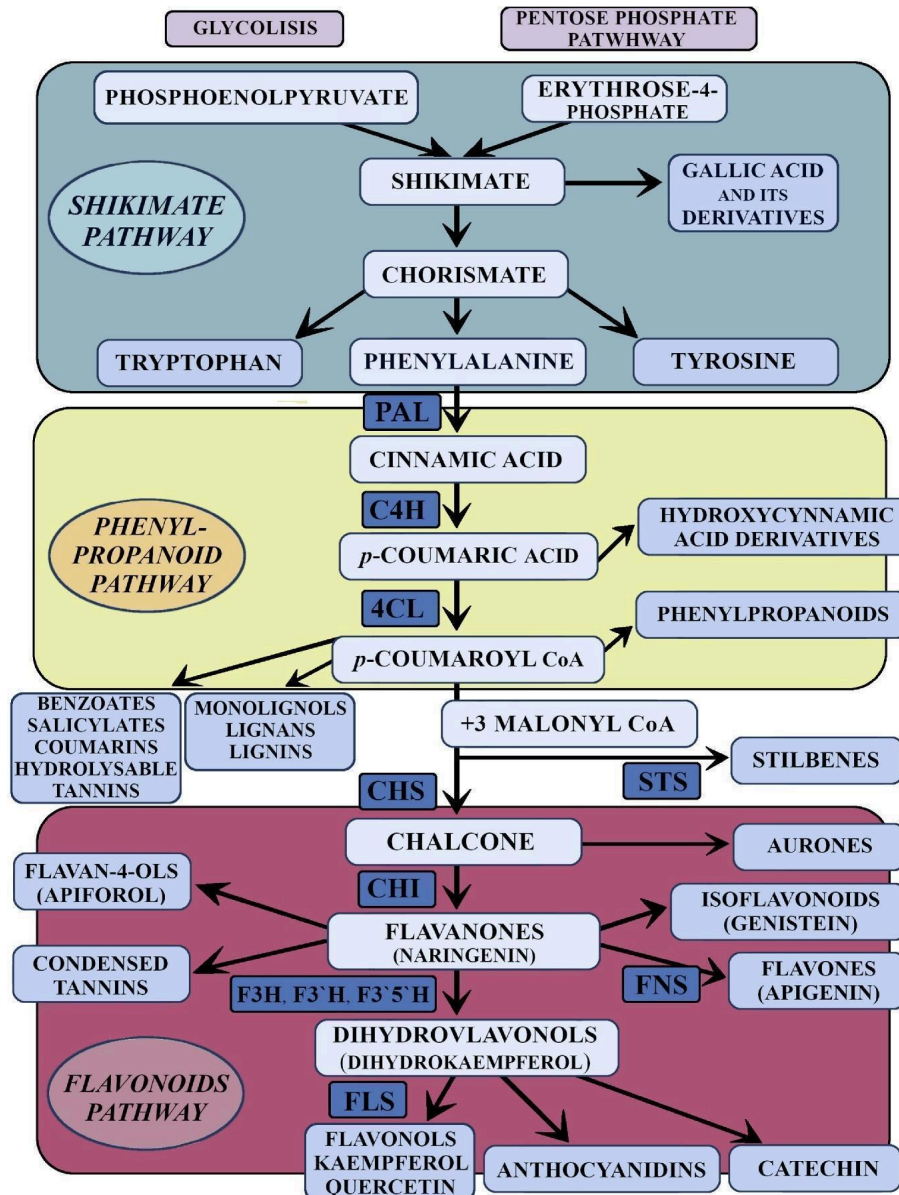


Figura 1.3. Esquema de síntesis de fenoles en plantas con nombres de los precursores y productos principales. PAL- fenilalanina amoniaco liasa. C4H- cinamato-4-hidroxilasa. 4CL- cumarato CoA ligasa. STS- estilbeno sintasa. CHS- chalcona sintasa. CHI- chalcona isomerasa. FNS- flavona sintasa. F3H- flavona-3-hidroxilasa. FLS- flavonol sintasa. (Cheynier et al., 2013), (Jiang et al., 2013).

Los compuestos fenólicos poseen una gran cantidad de propiedades y aplicaciones que pueden ser muy beneficiosas y útiles para el ser humano como puede ser:

- **Propiedades antioxidantes de los compuestos fenólicos:** ejerce su función antioxidantes al donar electrones a los radicales libres, de esta manera, estabilizan estas moléculas y previenen el daño celular, protegiendo a las células del estrés oxidativo. Las capacidades antioxidantes de los fenoles pueden aumentar la actividad de enzimas antioxidantes endógenas, que ayudan a neutralizar los radicales libres y a eliminar los productos de oxidación (Bukhari, 2022).
- **Propiedades nutracéuticas y beneficios para la salud:** Debido a la gran variedad de propiedades, los compuestos fenólicos han sido objeto de estudio debido a sus beneficios para la salud, entre ellos destacan:
 - Los ácidos fenólicos poseen propiedades antioxidantes, antimutagénicas, anticancerosas, antiinflamatorias y antimicrobianas (Temviriyankul et al., 2021).
 - Las cumarinas presentan un papel muy importante en el tratamiento de diversas enfermedades, como el dicumarol que es un anticoagulante usado en el tratamiento de la trombosis (Dewick, 2009), o la isocumarina bergenia que presenta una actividad antiviral contra el virus del VIH (El-Ansari et al., 2020).
 - Los flavonoides al ser un grupo tan extenso y abarcar tantos subgrupos presentan muchos beneficios diferentes, algunos de estos compuestos son las dihidrochalconas que tienen propiedades anticancerígena, antiinflamatoria, antioxidante, antimicrobiana, sobre el virus del VIH, actúa contra la malaria y es antialérgica (Karthikeyan et al., 2014).
 - Lignanós y ligninas, su importancia se debe principalmente en la aplicación en farmacéutica y nutricional ya que se ha descubierto que tienen una gran actividad antitrombótica, antioxidante, antimicrobiana, antitumoral y lo más importante inmunosupresor (Gaafar et al., 2013; Yousefzadi et al., 2010).

- Estilbenos son importante ya que el consumo en el ser humano ha demostrado ser un importante agente protector contra el cáncer ya que es capaz de inhibir procesos celulares relacionados con la carcinogénesis (iniciación, promoción y progresión de tumores) (Hagiwara et al., 2012).
- **Aplicaciones industriales de los compuestos fenólicos:** Los fenoles destacan también por su potencial en la biotecnología y en diferentes ámbitos de la industrias, destacando sus usos en la industria alimentaria, textil y cosmética. En la industria alimenticia destacan debido a las restricciones del uso de aditivos alimentarios artificiales, utilizándolos como alternativa natural, actuando como conservante natural (Sordini et al., 2019). En la industria de la cosmética, también se utiliza como aditivos naturales como alternativa a los artificiales. Destacando su propiedad para absorber la radiación ultravioleta debido a la presencia de cromóforos, evitando de esta manera la penetración de esta radiación solar para nuestra piel (Soto et al., 2015). Por último, en la industria textil, uno de los principales problemas son los productos con gran carga de químicos que producen reacciones alérgicas asociados a tintes sintéticos. Por esta razón creció el interés por el uso de fenoles como colorantes naturales de alta capacidad de degradación (Bonet-Aracil et al., 2016).

1.2.2. *Taninos*

Los taninos son compuestos polifenólicos naturales presentes en frutas, verduras, cereales y semillas, producidos durante el metabolismo secundario de las plantas, caracterizados por su estructura rica en grupos hidroxilo y anillos aromáticos, lo que les permite formar enlaces estables con otras moléculas como proteínas y carbohidratos. Esto les confiere propiedades biológicas únicas con amplias aplicaciones para el ser humano. Se clasifica en dos grandes grupos: taninos hidrolizables, formados por ácidos fenólicos como el gálico o el elágico, que se degradan fácilmente por hidrólisis, y los taninos condensados, son los que tienen mayor importancia en nuestro estudio y se caracterizan por que son polímeros de flavan-3-oles siendo estos más resistentes a la degradación (Melo et al., 2023).

Los taninos se obtienen a raíz del metabolismo secundario de las plantas en respuesta a distintos estados de estrés, tanto biótico como abiótico. Estos son generados a través de vías biosintéticas (vía del ácido siquímico y vía del ácido mevalónico). Estas rutas utilizan azúcares fosforilados derivados de la fotosíntesis para producir compuestos fenólicos como el ácido gálico y el ácido elágico, que luego forman los taninos hidrolizables. También se produce fenilalanina, que entra en la vía de los flavonoides para originar taninos condensados (Melo et al., 2023)

Los taninos presentan un amplia variedad de aplicaciones, tanto biológicas como industriales y biotecnológicas. Estas son algunas de sus aplicaciones:

- **Aplicaciones biológicas y farmacológicas:** se han realizado un gran número de investigaciones destacando la actividad biológica frente al crecimiento bacteriano, su actividad antioxidantes y cicatrizantes. También tienen efecto sobre la proteasa NS3/4A del virus de la hepatitis, además puede inhibir los efectos citopáticos causados por el virus VIH (Ajala et al., 2014; Bueno et al., 2014; Vargas-Magaña et al., 2014).
- **Aplicaciones industriales y biotecnológicas:** en la industria alimentaria se utiliza como conservante natural y para aportar astringencia y estabilidad en bebidas como el vino. En cuanto a la biotecnología, su principal uso es el curtido del cuero, usándolo en conjunto con el colágeno para proteger y conservar pieles, pero también tiene otros uso como la fabricación de pegamentos para madera, espumas aislantes e incluso se usa en el tratamiento de aguas, eliminando contaminantes y colorantes mediante adsorción (Melo et al., 2023).

1.3. Calidad nutricional de la vegetación

Comprender cómo las plantas leñosas responden químicamente al ramoneo en los ecosistemas mediterráneos permitiría monitorear el estado de las plantas mediante el contenido de metabolitos secundarios y podría proporcionar información para minimizar los efectos negativos de la herbivoría; además, nos ayudaría a comprender cómo las comunidades vegetales responden a los cambios ambientales (Hester et al., 2009). Sin embargo, la respuesta química también puede variar con las estaciones, el ciclo de vida de la planta, el órgano estudiado (Brahmi et al., 2013), así como con la edad de las hojas (Rugna et al., 2008) y la intensidad del

daño causado por los herbívoros (Scogings et al., 2011). Tampoco hay mucha información sobre las variaciones conjuntas en el contenido de nutrientes y polifenoles de las hojas en respuesta al ramoneo en plantas leñosas de ecosistemas mediterráneos a lo largo de las estaciones.

Se debe explorar cómo el estrés debido a factores abióticos mediterráneos impulsa la variación de metabolitos secundarios, su relación con el contenido de nitrógeno y carbono, y sus variaciones estacionales. Dado que el ramoneo es un factor que impulsa la producción total de compuestos polifenólicos e influye en el estado nutricional y estructural de las plantas leñosas (Scogings et al., 2011), podría ocurrir que se produzca un aumento significativo en el contenido de compuestos polifenólicos en árboles ramoneados en comparación con los no ramoneados, sujetos a las mismas condiciones climáticas y ambientales.

Tanto los fenoles como los taninos actúan conjuntamente como defensas químicas de las plantas para prevenir o reducir los ataques de herbívoros a las plantas leñosas (Croteau et al., 2000). Sin embargo, la defensa química a veces parece ser ineficaz para disuadir el ramoneo de los rumiantes (Nosko et al., 2020), e incluso se ha descrito que el ramoneo intensivo y severo tiene el efecto contrario, provocando un aumento en las concentraciones de N o una reducción de PFT y TC en plantas individuales (Persson et al., 2005). Las plantas con un intenso ramoneo pueden caracterizarse por tejidos pobres en C y ricos en N (Scogings et al., 2011; Morrison et al., 2022). La presencia de hojas más ricas en nitrógeno que en metabolitos secundarios podría hacer que estas partes sean más palatables y más vulnerables al consumo por parte de los rumiantes. Por lo tanto, el nitrógeno, como indicador de la proteína total, se puede relacionar con el contenido de fenoles y taninos en una proporción N/PFT y N/TC, así como con la proporción de carbono-nitrógeno foliar (C/N) para evaluar las variaciones en la calidad nutricional y la palatabilidad (Palo et al., 1993). Si existe una variación estacional en la calidad nutricional, podría ayudar a explicar las diferencias en el comportamiento alimentario y la selección de plantas en un contexto amplio de interacción planta-herbívoro en un ecosistema mediterráneo.

1.4. Selección de especies ramoneadas por herbívoros

Aquí enumeramos las 6 especies objeto de estudio de este TFG. Todas las fotos han sido obtenidas del Catálogo Andaluz de Flora Vasculare (Blanca, Cabezudo, Cueto, Salazar, & Morales Torres, 2011).

1.4.1. *Rosa canina* L.



Fam. Rosaceae

Descripción:

Arbusto caducifolio de entre 1 a 3 metros de altura, presenta tallos verdes con espinas. Las hojas son imparipinnadas formadas de entre 5 a 7 folíolos. Flores de entre 2.5 a 4 cm. de diámetro con 5 pétalos de color blanco o rosa pálido.

Hábitat:

Propio de sotobosques, setos y orlas de bosques, presentes en alturas de entre 100–2100 m. Propia de todo el territorio español, Euroasia, noroeste africana y macaronésica.

Figura 1.4. Ficha de *Rosa Canina*

1.4.2. *Cistus albidus* L.



Fam. Cistaceae

Descripción:

Arbusto entre 0.5 a 1 m. de altura. Las hojas entre 5 a 10 cm. de longitud, son de hoja perenne. Flores de 5 cm. de diámetro de color blanco o rosado.

Hábitat:

Nativa (autóctona) de la cuenca mediterránea, sobre todo en la Península Ibérica, donde crece en terrenos ricos en cal, con clima cálido y seco a alturas de entre 50–1600 m

Figura 1.5. Ficha de *Cistus albidus*.

1.4.3. *Salvia rosmarinus* L.



Fam. Lamiaceae

Descripción:

Arbusto de hasta 200 cm, con tallos erectos o ascendentes. Las hojas son lineares de entre 10 a 40 mm. Presenta inflorescencia en racimos con flores de unos 5 mm de un color azul violeta pálido, rosa o blanco.

Hábitat:

Son Matorrales preferentemente basófilos, se pueden encontrar desde 0 a 1200 metros de altura. Propios de la cuenca mediterránea, presente en todo nuestro territorio.

Figura 1.6. Ficha de *Salvia rosmarinus*.

1.4.4. *Teucrium fruticans* L.



Fam. Lamiaceae

Descripción:

Arbusto de entre 50–150 cm, con tallos ramificados. Las hojas son pecioladas o ovaladas de entre 25–35 mm. Las flores presentan un cáliz de entre 10-12 mm de un color blanco–rosácea, lila o azulada.

Hábitat:

Propia de bosques y bosquetes esclerófilos, matorrales basófilos y acidófilos, también cultivada como ornamental, encontrándose en alturas de entre 0–1200 m. Originaria del mediterráneo occidental. Se encuentra en gran parte del territorio, aunque ausente en la parte más oriental.

Figura 1.7. Ficha de *Teucrium fruticans*.

1.4.5. *Quercus rotundifolia* L.



Fam. Fagaceae

Descripción:

Árbol monoico de hasta 20 m, a veces arbusto. Hojas adultas de entre 2-5 cm perennes con margen de entero a dentado-espinoso. Presenta Amentos masculinos de unos 3–8 cm. El fruto de unos 15-35 mm sentado, englobado hasta poco más de 1/3 por una cúpula, compuesta de escamas.

Hábitat:

Se puede encontrar en bosques y bosquetes esclerófilos, densos o adhesados, a veces mixtos, en todo tipo de sustratos, se encuentra a alturas de entre 0–1700. Propio de la zona mediterránea, encontrándose en la mayor parte de la territorio.

Figura 1.8. Ficha de *Quercus rotundifolia*.

1.4.6. *Olea europea* var. *sylvestris* L.



Figura 1.9. Ficha de *Olea europea* var. *sylvestris*.

2. OBJETIVOS

El objetivo principal es realizar un estudio sobre la calidad nutricional de determinadas especies vegetales consumidas por cérvidos dentro de nuestra área de estudio en Sierra de Andújar y a lo largo de la diferente estacionalidad en las zonas de experimentación.

Los objetivos específicos son los siguientes:

1. Selección de las especies objeto de estudio de la zonas de experimentación
2. Recogida de muestras (hojas) de zonas control y zonas de herbivoría
3. Determinar y comparar la concentración de metabolitos secundarios (fenoles y taninos) de las muestras de herbivoría y control en las diferentes estaciones del año (otoño, invierno y primavera)
4. Determinar y comparar la calidad nutricional de las especies vegetales seleccionadas (midiendo los niveles de C y N) de las muestras de herbivoría y control en las 3 estaciones del año mencionadas anteriormente

5. Estudiar la relación entre las concentraciones de metabolitos secundarios (fenoles y taninos) y los niveles de C y N.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Área de estudio

El área de estudio para las muestras de herbivoría y controles se encuentra en Lugar Nuevo, un monte público gestionado por el Organismo Autónomo de Parques Nacionales de Andalucía, situado en el Parque Natural de la Sierra de Andújar (38° 9' N 4° 3' W) con una superficie de unos 95 km².

Esta zona presenta características ambientales propias del clima mediterráneo con un alto grado de termicidad debido a la proximidad del Valle del Guadalquivir. Los suelos son pobres en nutrientes y de pH ácido, de origen principalmente pizarroso y granítico. Desde el punto de vista biogeográfico, se incluye en el sector Mariánico-Monchiquense de la provincia Luso-Extremadurese. (Azorit et al., 2012).

3.2. Diseño experimental

Realizamos nuestra investigación sobre distintas especies vegetales propias de la dieta de los cérvidos mediterráneos. Basándonos en estudios previos de Azorit et al., (2012), se obtuvo una lista de algunas de las especies arbustivas y leñosas propias de la dieta de los cérvidos, de las cuales finalmente utilizamos seis de las especies ramoneadas por herbívoros.

Se establecieron dos tipos distintos de muestras obtenidas en Lugar Nuevo, la primera de ellas son las muestras de herbivoría, es decir las muestras ramoneadas, el otro tipo corresponde a las muestras control, siendo estas aquellas las muestras no ramoneadas. Las hojas frescas fueron recolectadas en 3 estaciones diferentes, (otoño 2024, invierno 2025, y primavera 2025), para comprobar la variabilidad de los metabolitos en las diferentes estaciones a lo largo del año.

3.3. Procesamiento de las muestras

Una vez se obtienen las hojas frescas, el primer paso fue almacenarlas en un horno a 65°C mínimo 48 horas. Una vez obtenido el peso seco (PS) se procedió a realizar el extracto metanólico, este se preparó según la metodología de Casas-Sánchez et al. (2007), con pequeñas modificaciones. Para ello se dejaron en remojo las muestras secas en un matraz de Erlenmeyer (250 ml) añadiendo metanol hasta que cubra por completo las hojas, para posteriormente colocarlas en un agitador orbital (sistema Optic ivymen Cod. 5312001 COMECTA-IVYMEN 100-240 V/50Hz Sevidel #:1145, Made in Spain) durante 24 horas a temperatura ambiente ($25 \pm 1^\circ\text{C}$). Los extractos se filtraron a través de papel de filtro Whatman n°1 (Sigma Aldrich, Francia). Estos extractos se almacenaron, en un pequeño frasco de topacio, en frigorífico a 4°C hasta su uso para realizar las determinaciones correspondientes.

3.4. Determinación de polifenoles totales (PFT)

El contenido de polifenoles se determinó utilizando el procedimiento de Folin-Ciocalteu como se describe en Edziri et al. (2019). Las muestras se diluyeron previamente con metanol (1:5) debido a las grandes cantidades de componentes fenólicos en las muestras. Los fenoles totales se determinaron mezclando 250 µl del extracto metanólico de cada muestra con 1 ml de agua destilada y 250 µl de reactivo de Folin-Ciocalteu. Después de 3 minutos de incubación, se agregaron 250 µl de Na_2CO_3 al 7%. El volumen final se ajustó a 5 ml con agua destilada y se mezcló bien, en agitador de tubos, luego se incubó durante 90 min a temperatura ambiente (25°C) en la oscuridad. La absorbancia del complejo azul resultante se midió a 765 nm en un espectrofotométrico UV-vis VARIAN Cary 4000 (EEUU). Se utilizó ácido gálico para hacer la curva estándar. El rango de la curva de calibración para el ácido gálico fue de 0-400 µg/ml. (Recta de la ecuación: $y = 0.0979x + 0.018$; coeficiente de correlación $r^2 = 0.9983$). Los PFT se expresaron como mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por gramo de peso seco (mg GAE/g PS).

3.5. Determinación de taninos condensados (TC)

Los taninos condensados (TC) se determinaron según el método de Julkunen-Titto (1985) con modificaciones menores. Doscientos μl de cada extracto previamente diluido (1:5), así como la solución estándar se mezclaron con 6 ml de ácido Vainillico al 4% disuelto en metanol, y luego se agregaron 3 ml de HCl (37%). La mezcla se incubó en la oscuridad, a temperatura ambiente, durante 20 min. La absorbancia se leyó a 500 nm en un espectrofotométrico UV-vis VARIAN Cary 4000 (EEUU). Se utilizó (+)-catequina para hacer la curva estándar (0.05-1 mg/ml; Recta de la ecuación: $y = 0.801x + 0.0555$; Coeficiente de correlación $r^2 = 0.9992$). Los resultados se expresaron como mg de equivalentes de catequina por gramo de peso seco (mg CEQ/g PS).

3.6. Determinación de carbono (C) y nitrógeno (N)

También se utilizaron hojas secas molidas (0.1 g PS) para la determinación de índices nutricionales. Se utilizó un analizador elemental (Leco TruSpec Micro CHN/CHNS/O) de Micro Dumas Combustion para el análisis elemental de nitrógeno (N) total y carbono (C) (Farina et al. 1991; Tellado et al. 2015). Luego, el N como indicador de proteína total se relacionó con el contenido de taninos en una relación N/TC para evaluar las variaciones en la calidad nutricional y la palatabilidad (Palo et al. 1993). También se evaluó la relación C/N de las hojas control y de herbivoría y la relación N/PFT. Este procedimiento fue realizado por el Centro de Instrumentación Científico-Técnica (CICT) de los Servicios Centrales de Apoyo a la Investigación de la Universidad de Jaén (UJA, MICINN, Junta de Andalucía, FEDER).

3.7. Análisis de datos

En todas las muestras se realizaron análisis de tres réplicas, y los datos representan la media \pm error estándar (ES). Las diferencias significativas entre las medias se determinaron mediante la prueba de rango múltiple de Tukey ($p < 0.05$; $p < 0.01$; $p < 0.001$) (utilizando el software Statgraphics Centurion v. 19, proporcionado por la Universidad de Jaén, España).

4. RESULTADOS

Se han realizado estudios de metabolitos secundarios (fenoles y taninos) de plantas controles y sometidas a herbivoría en diferentes estaciones del año 2024-25 (otoño, invierno y primavera) para determinar la variabilidad de estos compuestos y como la planta responde a la herbivoría en las diferentes estaciones del año. Así mismo, se ha determinado la calidad nutricional de muestras control y muestras de herbivoría analizando la cantidad de C y N, relación C/ N y relación de N con fenoles y taninos.

4.1. Determinación de concentración de fenoles

Se muestran la cantidad de fenoles en hojas controles y hojas comidas por herbívoros en diferentes estaciones del año.

4.1.1. Determinación de fenoles en la estación de otoño:

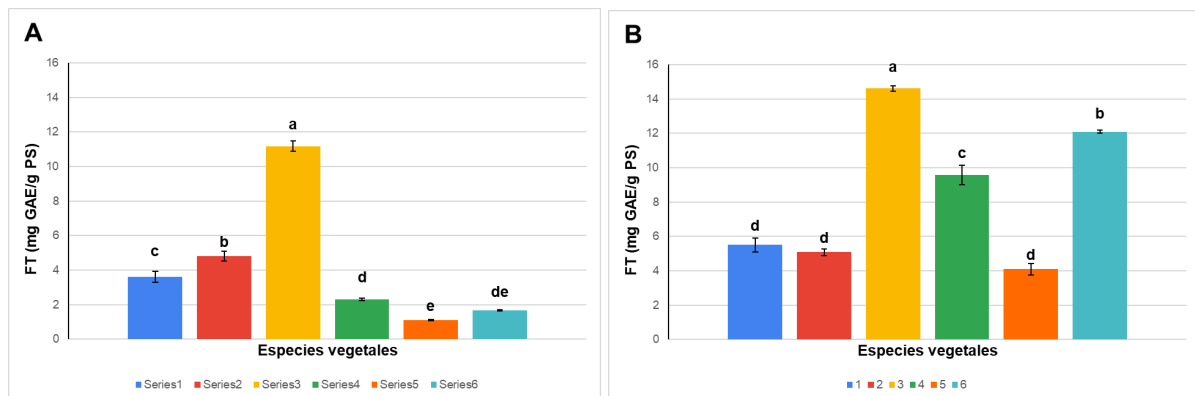


Figura 4.1.1. (A) Determinación de fenoles totales (FT) expresados en mg GAE/ g PS, en hojas control, y (B) en hojas ramoneadas, en la temporada de otoño en diferentes especies vegetales 1. *Rosa canina*, 2. *Cistus albidus*, 3. *Salvia rosmarinus*, 4. *Teucrium fruticans*, 5. *Quercus rotundifolia*, 6. *Olea europea var. sylvestris*. Los valores representan la media ± E.S. (n=3). Las diferentes letras encima de las barras representan diferencias significativas entre especies, analizadas mediante el test de Tukey ($p < 0.001$).

Se analizaron 6 muestras vegetales propias de la dieta de los cérvidos en Sierra Morena (Fig. 4.1.1). En la gráfica (A) se representa la concentración de fenoles en muestras de hojas no consumidas por herbívoros (Muestra control), donde la muestra 3 (*Salvia rosmarinus*) presenta una concentración de fenoles

mucho mayor al resto de especies vegetales (11.18 mg GAE/g PS) seguida por *Cistus albidus* (4.807 mg GAE/g PS) y *Rosa canina* (3.608 mg GAE/g PS). En la figura 4.1.1. (B) se muestra la concentración de fenoles de las mismas especies vegetales pero afectadas por el ramoneo, donde se puede observar un incremento significativo de fenoles en todas las muestras, a excepción de la especie 2 (*Cistus albidus*), que presenta valores similares entre las muestras control y muestras de herbivoría; por otro lado, hay que destacar el gran aumento de fenoles, sobre todo en las muestras 4 y 6 (*Teucrium fruticans*, y *Olea europea var. sylvestris*) cuyos valores suben a casi 10 y 12 mg GAE/g PS, respectivamente respecto al control que no supera los 2 mg GAE/g PS) en ambas especies.

4.1.2. Determinación de fenoles en la estación de invierno

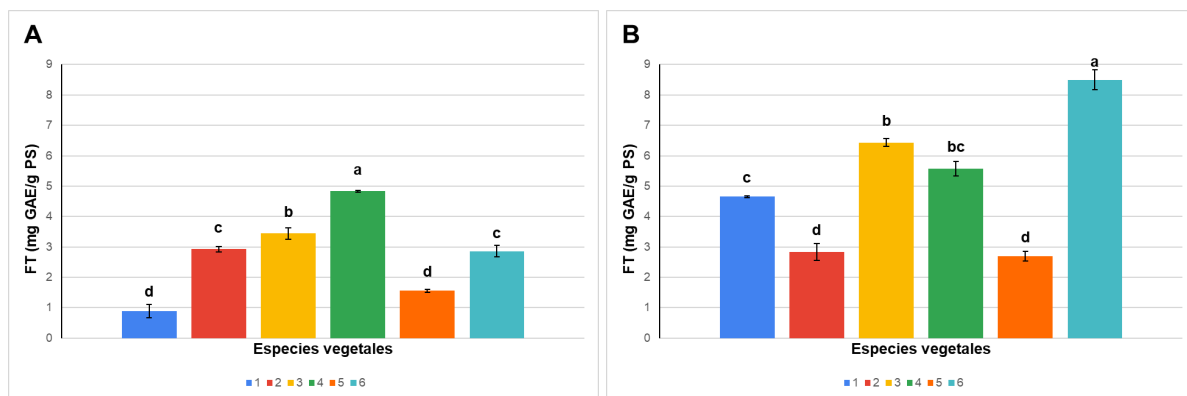


Figura 4.1.2. (A) Determinación de fenoles totales (FT) expresados en mg GAE/ g PS, en hojas control, y (B) en hojas ramoneadas, en la temporada de invierno en diferentes especies vegetales 1. *Rosa canina*, 2. *Cistus albidus*, 3. *Salvia rosmarinus*, 4. *Teucrium fruticans*, 5. *Quercus rotundifolia*, 6. *Olea europea var. sylvestris*. Los valores representan la media \pm E.S. (n=3). Las diferentes letras encima de las barras representan diferencias significativas entre especies, analizadas mediante el test de Tukey ($p < 0.001$).

En la figura 4.1.2. se puede observar la concentración de fenoles de las 6 muestras vegetales tanto en el control (Figura A), como en las muestras de herbivoría (Figura B) obtenidas durante el invierno. En general se observa una disminución de la concentración de fenoles respecto a la época de otoño, ya que ningún valor supera los 9 mg GAE/g PS. Sobre la concentración de fenoles de las muestras control (Figura A) cabría destacar la escasa concentración de la muestra 1 (*Rosa canina*) la cual presenta un valor de 0.883 mg GAE/g PS siendo esta aproximadamente un 82% menor que la muestra 4 (*Teucrium fruticans*) la cual tiene

un valor de 4.833 mg GAE/g PS. En la figura B se puede observar un notable aumento en el contenido de fenoles prácticamente en todas las especies vegetales, destacando el incremento de las muestras 1 y 6 (*Rosa canina* y *Olea europea var. sylvestris*) aumentado más de 5 veces su valor en el caso de *Rosa canina*, y en el caso de *Olea europea var. sylvestris* el valor se triplica con respecto a sus controles (Figura A).

4.1.3. Determinación de fenoles en la estación de primavera

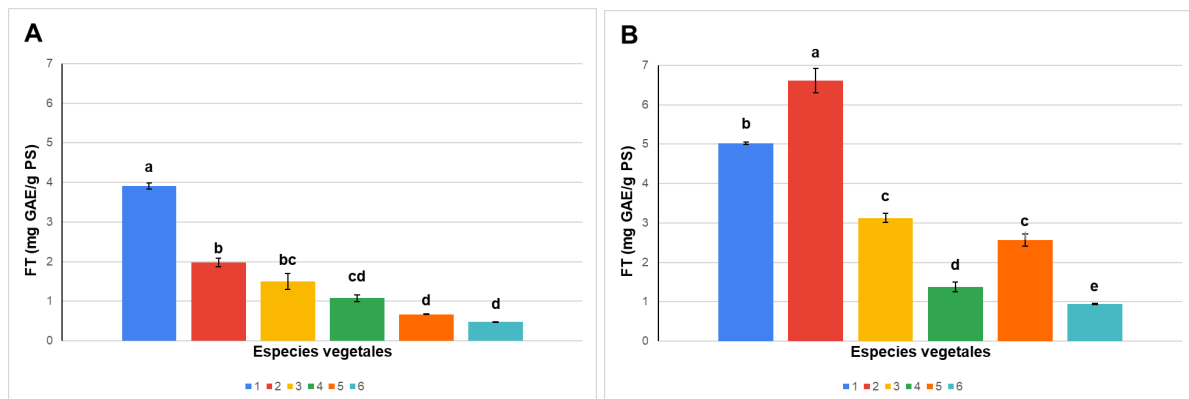


Figura 4.1.3. (A) Determinación de fenoles totales (FT) expresados en mg GAE/ g PS, en hojas control, y (B) en hojas ramoneadas, en la temporada de primavera en diferentes especies vegetales 1. *Rosa canina*, 2. *Cistus albidus*, 3. *Salvia rosmarinus*, 4. *Teucrium fruticans*, 5. *Quercus rotundifolia*, 6. *Olea europea var. sylvestris*. Los valores representan la media \pm E.S. (n=3). Las diferentes letras encima de las barras representan diferencias significativas entre especies, analizadas mediante el test de Tukey ($p < 0.001$).

En la figura 4.1.3. se representan los datos de concentración de fenoles de las seis muestras nombradas anteriormente; en la figura (A) se muestran los datos de controles mientras que en la Figura (B) los datos de herbivoría, ambos obtenidos durante los meses de primavera. En general se presentan datos para algunas especies inferiores a las muestras de otoño e invierno. En las muestras control, *Rosa canina* (especie 1), es la que presenta una mayor concentración de fenoles, mientras que *Olea europea var. sylvestris* (especie 6), es la que tiene una menor concentración, habiendo un diferencia de 3.435 mg GAE/ g PS entre ambas especies. En la figura (B), se puede apreciar cómo han aumentado todos los valores, destacando *Cistus albidus* (especie 2), con valores de 1.978 mg GAE/ g PS en (Figura A) a 6.618 mg GAE/ g PS en (Figura B), así mismo la especie 1 *Rosa canina* pasa de 3.909 en Figura A a 5.023 en Figura B.

4.2. Determinación de taninos condensados

Se muestran la cantidad de taninos condensados en muestras de hojas control y muestras de hojas comidas por herbívoros en diferentes estaciones del año, siendo en general valores muy inferiores a los datos obtenidos para fenoles.

4.2.1. Determinación de taninos condensados en la estación de otoño

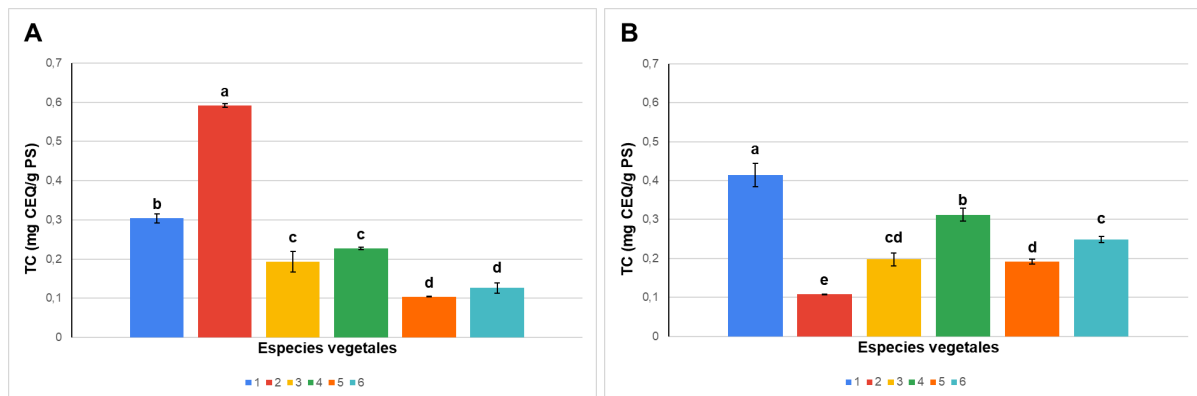


Figura 4.2.1. (A) Determinación de taninos condensados (TC) expresados en mg CEQ/ g PS, en hojas control, y (B) en hojas ramoneadas, en la temporada de otoño en diferentes especies vegetales 1. *Rosa canina*, 2. *Cistus albidus*, 3. *Salvia rosmarinus*, 4. *Teucrium fruticans*, 5. *Quercus rotundifolia*, 6. *Olea europea var. sylvestris*. Los valores representan la media \pm E.S. (n=3). Las diferentes letras encima de las barras representan diferencias significativas entre especies, realizados mediante el test de Tukey ($p < 0.001$).

Es bien conocido que los taninos son compuestos secundarios que se acumulan en las especies vegetales como protección de las plantas a la herbivoría. Se analizaron las hojas de 6 especies vegetales (en la estación de otoño) consumidas normalmente por herbívoros. En la figura 4.2.1. (A) se pueden observar los datos de taninos condensados en hojas no consumidos por herbívoros (muestras control) donde se puede observar que la especie *Cistus albidus* es la que presenta los valores más elevados (0.591 mg CEQ/g PS) siendo significativamente superiores al resto de las especies, seguida de *Rosa canina* que presenta la mitad de los valores mostrados por la especie anterior. El resto de las especies también presentan valores significativamente inferiores a *Cistus albidus*. En la gráfica 4.2.1.B se muestran el análisis de estas mismas especies consumidas por herbívoros, donde se puede observar que solo la especie *Cistus albidus* disminuye 1/6 los niveles de taninos, mientras que el resto de las especies mantienen niveles iguales

o ligeramente superiores a los valores obtenidos en los controles, por lo que la herbivoría ha incrementado en la mayoría de las especies la concentración de éstos

4.2.2. Determinación de taninos condensados en la estación de invierno

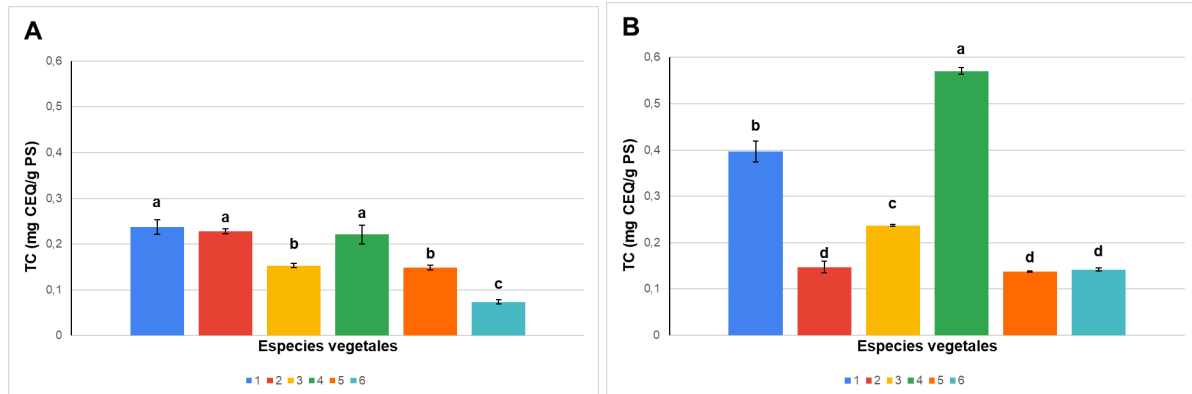


Figura 4.2.2. (A) Determinación de taninos condensados (TC) expresados en mg CEQ/ g PS, en hojas control, y (B) en hojas ramoneadas, en la temporada de invierno en diferentes especies vegetales 1. *Rosa canina*, 2. *Cistus albidus*, 3. *Salvia rosmarinus*, 4. *Teucrium fruticans*, 5. *Quercus rotundifolia*, 6. *Olea europea var. sylvestris*. Los valores representan la media \pm E.S. (n=3). Las diferentes letras encima de las barras representan diferencias significativas entre especies, realizados mediante el test de Tukey ($p < 0.001$).

La figura 4.2.2. (A) muestra los valores de taninos condensados en hojas control donde los datos no superan el valor de 0.3 mg CEQ/g PS, para ninguna de las 6 especies vegetales estudiadas. Se observa que los datos no presentan una gran diferencia de taninos condensados, teniendo las muestras 1, 2 y 4 (*Rosa canina*, *Cistus albidus* y *Teucrium fruticans*) prácticamente los mismos valores de taninos condensados; las muestras 3 y 5 (*Salvia rosmarinus* y *Quercus rotundifolia*) no presentan diferencias significativas, mientras que *Olea europea var. sylvestris*, presenta un valor algo menor al resto, siendo inferior al 0.1 mg CEQ/ g PS. En la figura 4.2.2. (B) se puede observar los valores de taninos condensados de las muestras de herbivoría (hojas ramoneadas) de los meses de invierno, comparándola con la figura (A). Se puede apreciar cómo a excepción de las muestras 2 (*Cistus albidus*), 5 (*Quercus rotundifolia*) y 6 (*Olea europaea var. sylvestris*) las cuales no presentan diferencias significativas entre ellas, el resto de las especies vegetales han aumentado su valor destacando el incremento de la especie 4 *Teucrium fruticans* que ha aumentado alrededor de un 160% comparando con la muestra control.

4.2.3. Determinación de taninos condensados en la estación de primavera

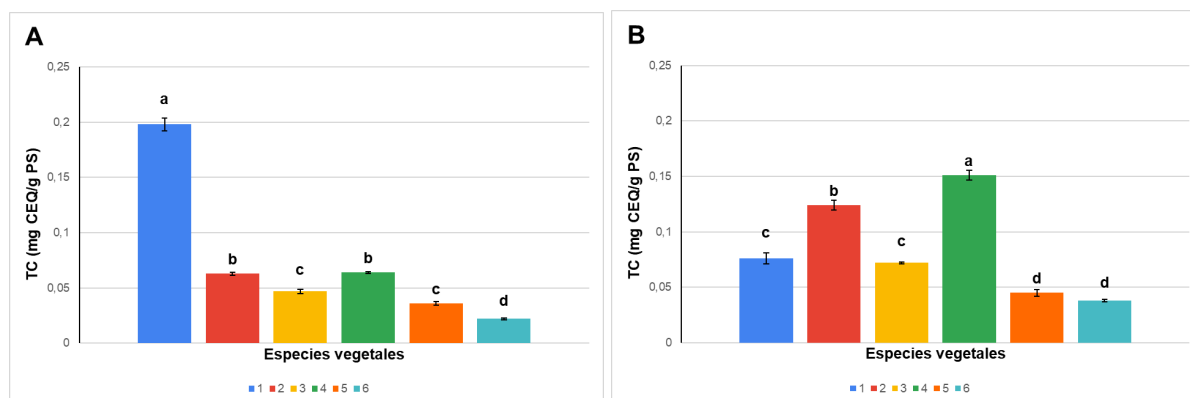


Figura 4.2.3. (A) Determinación de taninos condensados (TC) expresados en mg CEQ/ g PS, en hojas control, y (B) en hojas ramoneadas, en la temporada de primavera en diferentes especies vegetales 1. *Rosa canina*, 2. *Cistus albidus*, 3. *Salvia rosmarinus*, 4. *Teucrium fruticans*, 5. *Quercus rotundifolia*, 6. *Olea europea var. sylvestris*. Los valores representan la media \pm E.S. (n=3). Las diferentes letras encima de las barras representan diferencias significativas entre especies, realizados mediante el test de Tukey ($p < 0.001$).

La figura 4.2.3. representa los valores de taninos condensados analizados en las hojas de 6 especies vegetales propias de la dieta de los cérvidos, y recolectadas durante la estación de primavera. En la gráfica (A) se pueden observar los valores de taninos condensados de las muestras control, siendo la muestra 1 (*Rosa canina*) la que presenta el valor más alto, siendo alrededor de tres veces mayor que el segundo más alto (*Teucrium fruticans*), el resto de las especies presentan valores similares, aunque con diferencias significativas entre ellas. En la gráfica (B), están representados los valores de taninos condensados de las muestras de herbivoría (Hojas ramoneadas). Cabe destacar la gran disminución de taninos condensados en la muestra 1 (*Rosa canina*) reduciéndose un 60% aproximadamente en las muestras de herbivoría, sin embargo, las muestras 2, 3, y 4 son las que presentan los incrementos de TC más notables, siendo la especie 2 en la que se observa un incremento mayor triplicando prácticamente su valor con respecto a la muestras control.

4.3. Datos de la calidad nutricional

La calidad nutricional determinada mediante análisis del C y del N y la obtención de los índices C/N, N/FT, y N/TC fueron analizados en hojas de 6 especies vegetales, consumidas generalmente por herbívoros en las estaciones de otoño, invierno y primavera

4.3.1. Datos de la calidad nutricional en la estación de otoño:

Tabla 1. Resumen estadístico descriptivo de nitrógeno (N), carbono (C) (expresado en % del PS (peso seco)) y sus índices: (C/N), (N/FT), (N/TC) como índices de palatabilidad en la temporada de otoño de diferentes especies vegetales: 1. *Rosa canina*, 2. *Cistus albidus*, 3. *Salvia rosmarinus*, 4. *Teucrium fruticans*, 5. *Quercus rotundifolia*, 6. *Olea europea var. sylvestris*, en el lado izquierdo están representados los valores de las muestras control (Hojas no consumidas por herbívoros) mientras que en el lado derecho están las muestras de herbivoría (Hojas ramoneadas por herbívoros). Los valores representan la media \pm E.S. (n=3) y las diferentes letras representan la estadísticas obtenidas mediante el test de Tukey ($p < 0.001$).

Especies	OTOÑO									
	CONTROL					HERBIVORÍA				
	N (% PS)	C (% PS)	C/N	N/FT	N/TC	N (% PS)	C (% PS)	C/N	N/FT	N/TC
1. <i>Rosa canina</i>	1,070 \pm 0,004 d	45,010 \pm 0,083 d	42,065 \pm 0,056 b	0,296 \pm 0,006 d	3,521 \pm 0,013 d	1,55 \pm 0,003 b	45,73 \pm 0,041 d	29,503 \pm 0,063 d	0,281 \pm 0,007 b	3,738 \pm 0,012 f
2. <i>Cistus albidus</i>	1,456 \pm 0,003 b	46,023 \pm 0,063 c	31,609 \pm 0,067 d	0,302 \pm 0,003 d	2,460 \pm 0,012 e	2,05 \pm 0,006 a	48,26 \pm 0,076 bc	23,541 \pm 0,013 e	0,403 \pm 0,001 a	18,988 \pm 0,011 a
3. <i>Salvia rosmarinus</i>	2,423 \pm 0,003 a	41,922 \pm 0,097 e	17,301 \pm 0,033 e	0,216 \pm 0,002 e	12,513 \pm 0,011 a	1,30 \pm 0,001 d	53,41 \pm 0,071 a	41,084 \pm 0,086 a	0,088 \pm 0,001 d	6,577 \pm 0,062 c
4. <i>Teucrium fruticans</i>	1,267 \pm 0,005 c	44,212 \pm 0,095 d	34,895 \pm 0,042 c	0,548 \pm 0,003 c	5,564 \pm 0,026 c	2,02 \pm 0,008 a	47,39 \pm 0,078 cd	23,460 \pm 0,069 e	0,210 \pm 0,004 b	6,465 \pm 0,039 d
5. <i>Quercus rotundifolia</i>	1,470 \pm 0,001 b	47,017 \pm 0,071 b	31,984 \pm 0,056 cd	1,339 \pm 0,001 a	14,154 \pm 0,010 a	1,53 \pm 0,006 bc	48,42 \pm 0,054 bc	31,647 \pm 0,052 c	0,374 \pm 0,006 a	7,963 \pm 0,064 b
6. <i>Olea europaea var. sylvestris</i>	1,033 \pm 0,001 d	49,709 \pm 0,073 a	48,121 \pm 0,051 a	0,614 \pm 0,007 b	8,172 \pm 0,036 b	1,48 \pm 0,002 c	49,44 \pm 0,083 b	33,405 \pm 0,038 b	0,122 \pm 0,004 c	5,944 \pm 0,082 e

En el caso del nitrógeno (muestras control), *Salvia rosmarinus* es la que presenta valores más elevados, seguido de *Quercus rotundifolia* y *Cistus albidus* con valores no inferiores al 1% en las 6 especies vegetales. El contenido de C siempre es superior al contenido de N, presentando valores entre 41 a 49 % de PS entre las diferentes especies, siendo el valor más elevado

de C el de *Olea europea var. sylvestris*, mientras que *Salvia rosmarinus* presenta el menor valor. El índice (C/N) presenta una gran variabilidad entre especies, lo que más destaca es el bajo índice de *Salvia rosmarinus* siendo este valor prácticamente 3 veces más pequeño que *Olea europea var. sylvestris* (que tiene el valor más alto). En cuanto a la proporción de N/ FT, se puede observar como el valor de *Quercus rotundifolia* es muy superior al resto, siendo este más del doble que el segundo más alto (*Olea europea var. sylvestris*). En el caso de la proporción de N/TC tenemos a *Quercus rotundifolia* y a *Salvia rosmarinus*, los cuales tienen unos valores más altos que el resto, seguido de *Olea europea var. sylvestris* el cual es más de un 40% inferior a las 2 especies mencionadas anteriormente. En cuanto a las muestras de herbivoría, se presentan grandes diferencias entre el C y el N desde el punto de vista cuantitativo. En el caso del C/N hay más variabilidad entre muestras, siendo *Salvia rosmarinus* significativamente superior al resto de especies vegetales, seguido de *Olea europea var. sylvestris*. En el caso de N/FT, lo que más destaca es lo inferior que es el valor de *Salvia rosmarinus* con respecto al resto, siendo este un 78.2 % inferior a *Cistus albidus* el cual tiene el valor más alto. Sobre los valores de N/TC destaca el valor de *Cistus albidus* (18.98) y el valor más bajo para *Rosa canina* (3.73) existiendo diferencias significativas entre todas 6 especies vegetales

4.3.2. Datos de la calidad nutricional en la estación de invierno

Tabla 2. Resumen estadístico descriptivo de nitrógeno (N), carbono (C) (expresado en % del peso seco (P.S.)) y sus índices: (C/N), (N/FT), (N/TC) como índices de palatabilidad en la temporada de invierno de diferentes especies vegetales: 1. *Rosa canina*, 2. *Cistus albidus*, 3. *Salvia rosmarinus*, 4. *Teucrium fruticans*, 5. *Quercus rotundifolia*, 6. *Olea europea var. sylvestris*, en el lado izquierdo están representados los valores de las muestras control (Hojas no consumidas por herbívoros) mientras que en el lado derecho están las muestras de herbivoría (Hojas ramoneadas por herbívoros). Los valores representan la media \pm E.S. (n=3) y las diferentes letras, representan las diferencias significativas entre especies, realizados mediante el test de Tukey ($p < 0.001$).

Especies	INVIERNO									
	CONTROL					HERBIVORÍA				
	N (% PS)	C (% PS)	C/N	N/FT	N/TC	N (% PS)	C (% PS)	C/N	N/FT	N/TC
1. Rosa canina	1,23±0 e	43,578±0,050 f	35,458±0,041 c	1,384±0,009 a	5,192±0,021 f	1,824±0,006 c	42,223±0,029 d	23,148±0,068 d	0,391±0,002 c	4,603±0,022 d
2. Cistus albidus	2,018±0,006 b	43,825±0,026 e	21,717±0,083 e	0,690±0,001 c	8,849±0,031 e	2,048±0,003 b	46,198±0,012 c	22,557±0,033 d	0,723±0,006 a	13,950±0,016 a
3. Salvia rosmarinus	1,373±0,008 d	51,696±0,037 a	37,651±0,050 b	0,398±0,007 f	8,990±0,045 d	1,409±0,005 d	51,246±0,033 a	36,370±0,022 b	0,219±0,0005 e	5,944±0,029 e
4. Teucrium fruticans	2,868±0,003 a	44,645±0,029 d	15,566±0,019 f	0,593±0,001 d	12,988±0,024 b	2,143±0,008 a	45,968±0,057 c	21,450±0,061 e	0,384±0,004 d	3,757±0,039 f
5. Quercus rotundifolia	1,747±0,008 c	45,643±0,054 c	26,126±0,024 d	1,124±0,008 b	11,757±0,085 c	1,269±0,006 e	46,222±0,012 c	36,423±0,084 a	0,471±0,006 b	9,259±0,064 c
6. Olea europaea var. sylvestris	1,241±0,006 e	47,85±0,023 b	38,557±0,028 a	0,434±0,003 e	16,927±0,052 a	1,401±0,005 d	48,147±0,094 b	34,366±0,096 c	0,164±0,003 f	9,897±0,045 b

En relación a las muestras control, en los datos de nitrógeno, destaca *Teucrium fruticans* (2.868% de PS) siendo esta significativamente superior al resto de especies vegetales, seguida de *Cistus albidus* disminuyendo un 30% con respecto a la muestra 4. En el caso de los valores de carbono, se distinguen diferencias significativas entre todas las especies, siendo el valor más alto para *Salvia rosmarinus*. Como se puede observar en los datos de C/N como *Teucrium fruticans* tiene un valor significativamente menor que el resto de datos (15.566), habiendo una diferencia de más del doble con respecto al valor más alto que presenta *Olea europea var. sylvestris*. En el caso de N/FT tanto el valor de *Rosa canina* como el de *Quercus rotundifolia* (1.384 y 1.124 respectivamente) son superiores al resto de valores. Con respecto a los valores de N/TC tenemos a *Olea europea var. sylvestris* con el valor más alto (16.927), seguido de *Teucrium fruticans* y *Quercus rotundifolia*, después se encuentra *Salvia rosmarinus* y *Cistus albidus* con diferencias significativas entre ellas, finalizando con el valor más pequeño *Rosa canina* (5.192) siendo aproximadamente $\frac{1}{3}$ del valor más alto. Sobre los datos de herbivoría, el C y el N, presentan datos similares al control pero con diferencias significativas entre las distintas muestras, tanto en el caso del control como de la herbivoría. Como se puede observar en la proporción C/N se pueden distinguir 2 grupos de datos, las especies *Salvia rosmarinus*, *Quercus rotundifolia* y *Olea europea var. sylvestris*, que presentan unos índices superiores a 30, y las especies *Rosa canina*, *Cistus albidus* y *Teucrium fruticans* con índices inferiores a 30. En la columna N/FT, se puede apreciar una gran variabilidad de datos, siendo *Cistus albidus* la que presenta valores significativamente superiores al resto (0.723), el resto de las especies vegetales tienen valores

significativamente inferiores. En el caso de N/TC, *Cistus albidus* tiene un valor significativamente superior al resto (13.950) seguido de *Quercus rotundifolia* y *Olea europea var. sylvestris*, con valores parecidos entre sí (9.2 y 9.8 respectivamente), en cuanto al resto de especies, estas presentan índices que oscilan entre 3 a 5.

4.3.3. Datos de la calidad nutricional en la estación de primavera

Tabla 3. Resumen estadístico descriptivo de nitrógeno (N), carbono (C) (expresado en % del peso seco (P.S.)) y sus índices: (C/N), (N/FT), (N/TC) como índices de palatabilidad en la temporada de primavera de diferentes especies vegetales: 1. *Rosa canina*, 2. *Cistus albidus*, 3. *Salvia rosmarinus*, 4. *Teucrium fruticans*, 5. *Quercus rotundifolia*, 6. *Olea europea var. sylvestris*, En el lado izquierdo están representados los valores de las muestras control (Hojas no consumidas por herbívoros), mientras que en el lado derecho están las muestras de herbivoría (Hojas ramoneadas por herbívoros). Los valores representan la media ± E.S. (n=3) y las diferentes letras expresan las diferencias significativas entre especies, realizados mediante el test de Tukey ($p < 0.001$).

Especies	PRIMAVERA									
	CONTROL					HERBIVORÍA				
	N (% PS)	C (% PS)	C/N	N/FT	N/TC	N (% PS)	C (% PS)	C/N	N/FT	N/TC
1. <i>Rosa canina</i>	2,086±0,023 b	41,942±0,046 e	20,106±0,037 e	0,533±0,009 f	10,535±0,029 e	2,620±0,005 a	44,291±0,070 f	16,904±0,121 e	0,521±0,016 e	34,473±0,019 b
2. <i>Cistus albidus</i>	2,445±0,071 a	43,693±0,075 d	17,870±0,087 f	1,236±0,011 d	38,809±0,071 b	1,487±0,005 e	45,721±0,035 d	30,744±0,140 b	0,224±0,012 f	11,991±0,019 d
3. <i>Salvia rosmarinus</i>	1,639±0,050 c	50,402±0,049 a	30,751±0,073 b	1,097±0,004 e	34,872±0,061 c	1,666±0,009 d	50,330±0,067 a	30,210±0,219 b	0,532±0,012 d	23,138±0,048 c
4. <i>Teucrium fruticans</i>	2,007±0,038 b	46,196±0,082 bc	23,017±0,048 d	1,865±0,008 c	31,359±0,081 d	2,388±0,003 b	45,186±0,080 e	18,922±0,118 d	1,737±0,014 b	15,814±0,014 d
5. <i>Quercus rotundifolia</i>	1,343±0,028 d	45,538±0,026 c	33,907±0,099 a	2,016±0,008 b	37,305±0,084 b	1,401±0,005 f	46,155±0,024 c	32,944±0,141 a	0,546±0,033 c	31,133±0,014 b
6. <i>Olea europaea var. sylvestris</i>	1,66±0,012 c	47,492±0,098 b	28,609±0,029 c	3,502±0,007 a	75,454±0,095 a	2,073±0,008 c	48,802±0,036 b	23,541±0,108 c	2,2006±0,032 a	54,552±0,049 a

En relación a las muestras control se puede observar que los valores de N son muy inferiores a los valores de C, como se puede observar para las 2 estaciones estudiadas anteriormente (otoño e invierno) existiendo diferencias significativas para la mayoría de especies vegetales. En cuanto a los índices C/N el valor de *Cistus albidus* es significativamente inferior al resto de muestras, siendo el valor más alto el que presenta (*Quercus rotundifolia*) un 47.3 % mayor a *Cistus albidus*. En el caso de N/FT destaca la gran diferencia que existe entre el valor más bajo de *Rosa canina* (0.533) y el valor más alto de la muestra 6 *Olea europaea var. sylvestris* (3.502), con los valores de N/TC pasa algo similar, ya que al igual que en los datos de N/FT, *Rosa canina*

es la que presenta el valor más bajo (10.535) mientras que *Olea europea var. sylvestris* demuestra el valor más alto (75.454). En las muestras de herbivoría, los valores de C presentan ligeros aumentos en sus índices con respecto a los controles, aunque no para todas las especies vegetales. En el caso de C/N donde los datos están divididos en los valores más bajos que son de las muestras 1 y 4 (16.9 y 18.92) seguidos de la muestra 6 encontrándose en un punto medio (23.541), y por último los valores más altos que pertenecen a las muestras 2, 3 y 5 (30.74; 30.21 y 32.94 respectivamente). En el caso de N/FT se puede observar como la especie *Olea europea var. sylvestris* es la que tiene un valor más alto (2,2) seguido de *Teucrium fruticans* (1.73), el resto de las especies vegetales presentan valores inferiores a 1. Sobre los datos de N/TC destaca el alto nivel de *Olea europea var. sylvestris* (54.552), seguido de *Rosa canina* y *Quercus rotundifolia* siendo estos aproximadamente un 40% más bajo que la especie vegetal 6, también destacan los valores más bajos de *Cistus albidus* y *Teucrium fruticans* siendo estos 1/4 más pequeños que *Olea europea var. sylvestris*.

5. DISCUSIÓN

5.1. Variabilidad de fenoles y taninos en especies vegetales comidas por herbívoros en diferentes estaciones del año

Cuando la concentración de fenoles y taninos aumenta en grandes cantidades en aquellas hojas que sirven de alimento para herbívoros, se considera que estas especies vegetales activarán su metabolismo secundario en detrimento del metabolismo primario, haciendo que estos metabolitos secundarios tales como los fenoles y los taninos actúen como disuasorios nutritivos para herbívoros, de manera que las hojas incrementarían su toxicidad otorgando un sabor amargo (Ashraf et al., 2018). Los metabolitos secundarios por un lado, son un importante factor en la defensa frente al estrés abiótico (Ksouri et al., 2008), y también juegan un papel crucial en las interacciones planta-herbívoro (Nosko et al. 2020).

Los estudios realizados en las 3 estaciones del año durante el 2024-25 (otoño-invierno-primavera) demuestran una cierta variabilidad estacional en cuanto al contenido de fenoles y taninos, dependiendo del mayor o menor consumo de especies vegetales por parte de los herbívoros, así mismo las cantidades de fenoles y taninos son superiores en hojas ramoneadas respecto a hojas no consumidas por herbívoros (hojas control) en la mayoría de las especies objeto de este estudio, lo que está de acuerdo con estudios preliminares hechos en Sierra de Andújar para cérvidos (Azorit et al., 2012).

En relación a nuestros datos, se pudo observar como en los meses de primavera la concentración de fenoles y taninos tanto de muestras ramoneadas como las muestras control es inferior a la concentración que se puede observar en los meses de otoño e invierno, siendo en el caso de los fenoles totales menos de la mitad de los valores en los meses de primavera con respecto a las demás estaciones, y en taninos condensados, la diferencia es mayor, siendo los datos de primavera tres veces menor en comparación al resto de estaciones. Esto puede ser debido a que en los meses de primavera, predomina una gran variedad de especies vegetales, entre ellas las plantas herbáceas, siendo los meses con el mayor consumo de pasto por parte de los ungulados. Mientras que en los meses de otoño e invierno predomina el consumo de brotes, plantas leñosas y en el caso de otoño

también frutos como la bellota (Azorit et al., 2012; Scogings et al., 2011). Por lo que era de esperar que haya una mayor cantidad de ramoneo sobre las especies vegetales estudiadas en los meses de otoño e invierno y por ende una mayor concentración de fenoles y taninos, siendo en septiembre el mes donde más podría predominar el ramoneo sobre las especies leñosas ya que tras un verano muy seco, no hay pasto, y los rumiantes se alimentan de la vegetación que tienen a su disposición (Azorit et al., 2012; Scogings et al., 2011; Nosko et al., 2020) como se puede observar en los datos presentados en este estudio, siendo otoño la estación con la mayor concentración de fenoles y taninos.

Respecto a las especies vegetales analizadas, *Salvia rosmarinus* y *Olea europaea var. sylvestris* son las que presentan mayores incrementos de fenoles en la estación de otoño, esta última especie también destaca en invierno, mientras que en primavera hay que resaltar el incremento de la especie *Cistus albidus* respecto a los valores que presentan en los controles. Por otro lado, los taninos son siempre inferiores a los valores obtenidos para fenoles y no tan claros en algunas especies, no obstante, hay que destacar a la especie *Rosa canina* en otoño, *Teucrium fruticans* en invierno, y *Cistus albidus* y *Teucrium fruticans* en primavera como las especies que presentan los incrementos más elevados de taninos respecto a las hojas no ramoneadas por herbívoros.

Hay que tener en cuenta que las muestras que han sufrido herbivoría a causa de ramoneo de los ungulados, también han sufrido estrés abiótico (sequía, calor, temperaturas extremas sobre todo durante el verano) lo que contribuiría al aumento de metabolitos secundarios en general. Como se puede observar en las figuras presentadas en los apartados 4.1. y 4.2. se puede apreciar un incremento en la concentración tanto de fenoles como de taninos en las especies de herbivoría, aunque esto no se puede generalizar para todas las especies estudiadas ya que algunas muestras no ramoneadas por herbívoros presentan valores mayores que las muestras sometidas a herbivoría. La mayor o menor accesibilidad de los cérvidos a la vegetación y el mayor o menor consumo por parte de estos ungulados junto con el estrés abiótico pueden explicar que en algunas especies el incremento de metabolitos secundarios no se pueda observar tan claramente en las especies ramoneadas.

5.2. Variaciones en la calidad nutricional de las hojas determinadas por la cantidad de C y N analizados

En estudios realizados previamente (Azorit et al., 2012) se ha demostrado que hay multitud de factores que afectan a la selección de dieta en las distintas especies de cérvidos, no solo la accesibilidad del alimento o las características del individuo (sexo, tamaño corporal o estados fisiológicos) son importantes, ya que también los atributos nutricionales de las plantas cuentan, de manera que los cérvidos seleccionan las plantas en función del requerimiento metabólico (Azorit et al., 2012).

En nuestro estudio, (Tablas 1, 2 y 3) los valores de C son un 95% más elevados que los valores de N, no existiendo grandes diferencias entre las distintas estaciones analizadas (otoño-invierno-primavera). En el caso del C no se aprecia mucha variabilidad, oscilando el porcentaje en P.S. entre 44 y 53% , el análisis entre las distintas estaciones presenta una media de alrededor un 46.5% destacando algunas especies con un mayor porcentaje de carbono, como puede ser *Salvia rosmarinus* y *Olea europaea var. sylvestris*. Si comparamos las muestra ramoneadas y las muestras control no se pueden observar grandes cambios, ni entre estaciones ni entre especies vegetales. Solo en algunas especies vegetales se puede encontrar un ligero incremento de C entre especies ramoneadas respecto a los controles.

Cuando se analiza la relación C/N si puede apreciarse cambios significativos tanto entre estaciones como entre especies vegetales. Habría que destacar *Olea europaea var. sylvestris* en otoño e invierno y *Quercus rotundifolia* en primavera con los mayores índices en controles, mientras que en herbivoría *Salvia rosmarinus* en otoño, *Salvia rosmarinus* y *Quercus rotundifolia* en invierno y primavera son los que presentan los valores más elevados. Los índices elevados indican que hay una gran cantidad de C disponible para la especie vegetal, en estos casos parte de este C irá destinado a activar el metabolismo secundario, desviándose parte del C para la síntesis de fenoles y taninos (Scogings et al., 2011; Nosko et al., 2020). Los valores de C/N también representa la palatabilidad de la especie vegetal, ya que valores de C/N bajos tienen una mayor palatabilidad y es más digestible para los herbívoros, mientras que valores altos de C/N tiene una menor calidad nutricional siendo también menos digeribles y con una menor palatabilidad. Las especies vegetales

responden al ataque de los herbívoros produciendo hojas con menor palatabilidad y menos digestivas como mecanismos de defensa frente a herbívoros (Li et al., 2021).

En cuanto a la palatabilidad también son interesantes los índices N/FT y N/TC donde se puede observar unos valores muy superiores en primavera con respecto al resto de estaciones, siendo en el caso de N/FT tres veces mayor en los meses de primavera que en el resto de las estaciones, al igual que N/TC siendo 3.5 veces superior en primavera. El hecho de que en primavera la presencia de pastos diversifique la biodiversidad de la zonas estudiadas en Sierra de Andújar, pueden explicar que la vegetación estudiada por nosotros (especies principalmente leñosas) sean menos atacadas por herbívoros en esta estación del año, y que los valores de N se eleven ya que no hay que desviar tanto C para la síntesis de fenoles y taninos.

6. CONCLUSIÓN

1) El estrés causado por el ramoneo de los herbívoros provoca variaciones en el contenido de metabolitos secundarios y su relación con el contenido de nitrógeno y carbono en las especies vegetales estudiadas, observando cambios tanto estacionales como variaciones con respecto a las muestras control no ramoneadas.

2) Se ha podido observar un aumento claro de los niveles de fenoles y taninos de la mayoría de muestras vegetales que han sido ramoneadas con respecto a las muestras control, apreciándose también como las cantidades de fenoles son mucho mayores que las de taninos en las hojas de las distintas especies vegetales.

3) En cuanto a las variaciones estacionales, se ve una clara diferencia entre la cantidad de fenoles y taninos observados en otoño e invierno con respecto a los meses de primavera, siendo estos más bajos, posiblemente debido al incremento de la variedad vegetal y como los cérvidos tienen un mayor preferencia por consumir pastos que especies leñosas.

4) Estas variaciones redundan en la calidad nutricional y la palatabilidad de las plantas, a pesar de que el % en PS de C y N no varía ampliamente entre hojas ramoneadas y no ramoneadas, si se ha podido observar diferencias en el caso de la palatabilidad (C/N, N/FT y N/TC), encontrando cambios significativos tanto entre estaciones como entre especies vegetales.

5) En el caso de C/N se han observado más variaciones en función de la especie estudiada.

6) Los valores de N/FT y N/TC presentan un claro aumento en primavera con respecto a otoño e invierno, ya que, al tener un menor nivel de estrés biótico, no hay tanto gasto metabólico para la síntesis de fenoles y taninos, elevándose así los niveles de N, crucial para aumentar la calidad de la alimentación.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Agrawal, A. A. (2000). Overcompensation of plants in response to herbivory and the by-product benefits of mutualism. *Trends in Plant Science*, 5(7), 309–313. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(00\)01679-4](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01679-4)
- Ajala, O. S., Jukov, A., & Ma, C. M. (2014). Hepatitis C virus inhibitory hydrolysable tannins from the fruits of *Terminalia chebula*. *Fitoterapia*, 99(1), 117–123. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2014.09.014>
- Alejandro, G. N. M. (2009). Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. Universidad Autónoma de Querétaro. *Rev Acad*, 1, 1-4.
- Anu S., Ajila E., Nishad V.M., Sandhya S.M., William Arputha Sundar A.S. (2018). Health benefits of polyphenolic compounds. *Indo American Journal of Pharmaceutical Science* 05: 11564-11569.
- Ashraf, M. A., Iqbal, M., Rasheed, R., Hussain, I., Riaz, M., & Arif, M. S. (2018). Environmental Stress and Secondary Metabolites in Plants: An Overview. *Plant Metabolites and Regulation under Environmental Stress*, 153–167. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812689-9.00008-X>
- Azorit, C. (2006). El ciervo ibérico. *Cervus elaphus hispanicus* en Sierra Morena. *Investigación y Ciencia* 361: 32-35.

- Azorit, C. (2005). La importancia de la gestión de los ciervos en Sierra Morena Oriental. *Anales de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental (RACVAO)* 18: 15-21.
- Azorit, C., Tellado, S., Oya, A., & Moro, J. (2012). Seasonal and specific diet variations in sympatric red and fallow deer of southern Spain: A preliminary approach to feeding behaviour. *Animal Production Science*, 52(8), 720–727. <https://doi.org/10.1071/AN12016>
- Belete, T. (2018). Defense Mechanisms of Plants to Insect Pests: From Morphological to Biochemical Approach. *Trends in Technical & Scientific Research*, 2(2). <https://doi.org/10.19080/TTSR.2018.02.555584>
- Bernays EA, Chapman RF. (1994). Host-plant selection by phytophagous insects. Chapman & Hall, New York
- Blanca G., Cabezudo B., Cueto M., Salazar C. & Morales Torres C. (2011, eds.). Flora Vasculare de Andalucía Oriental. Universidades de Almería, Granada, Jaén y Málaga, Granada
- Bonet-Aracil, M. Á., Díaz-García, P., Bou-Belda, E., Sebastiá, N., Montoro, A., & Rodrigo, R. (2016). UV protection from cotton fabrics dyed with different tea extracts. *Dyes and Pigments*, 134, 448–452. <https://doi.org/10.1016/J.DYEPIG.2016.07.045>
- Brahmi, F., Mechri, B., Dhibi, M., & Hammami, M. (2013). Variations in phenolic compounds and antiradical scavenging activity of *Olea europaea* leaves and fruits extracts collected in two different seasons. *Industrial Crops and Products*, 49, 256–264. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2013.04.042>
- Bueno, F. G., Panizzon, G. P., Mello, E. V. S. D. L., Lechtenberg, M., Petereit, F., Mello, J. C. P. De, & Hensel, A. (2014). Hydrolyzable tannins from hydroalcoholic extract from *Poincianella pluviosa* stem bark and its wound-healing properties: Phytochemical investigations and influence on in vitro cell physiology of human keratinocytes and dermal fibroblasts. *Fitoterapia*, 99, 252–260. <https://doi.org/10.1016/J.FITOTE.2014.10.007>
- Bueno, M. (2019). Adaptation to halophytes to different habitats” in the book “Seed dormancy and Germination” Jiménez López, J.C. (ed.) Editorial: Intech Open. London, UK, vol. 1, pp. 97-119. doi:10.5772/intechopen.87056
- Bukhari, S. N. A. (2022). Dietary Polyphenols as Therapeutic Intervention for Alzheimer’s Disease: A Mechanistic Insight. *Antioxidants*, 11(3). <https://doi.org/10.3390/ANTIOX11030554>,
- Camacho-Escobar, M. A., Ramos-Ramos, D. A., Ávila-Serrano, N. Y., Sánchez-Bernal, E. I., López-Garrido, S. J. (2020). Las defensas físico-químicas

de las plantas y su efecto en la alimentación de los rumiantes. *Terra Latinoamericana*, 38(2), 443–453. <https://doi.org/10.28940/TERRA.V38I2.629>

Casas-Sanchez, J., Asuncion Alsina, M., & Herrlein, M. K. (n.d.). *Interaction between the antibacterial compound, oleuropein, and model membranes*. <https://doi.org/10.1007/s00396-007-1693-x>

Chen, D., Mubeen, B., Hasnain, A., Rizwan, M., Adrees, M., Naqvi, S. A. H., Iqbal, S., Kamran, M., El-Sabrout, A. M., Elansary, H. O., Mahmoud, E. A., Alaklabi, A., Sathish, M., & Din, G. M. U. (2022). Role of Promising Secondary Metabolites to Confer Resistance Against Environmental Stresses in Crop Plants: Current Scenario and Future Perspectives. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2022.881032>,

Cheyrier, V., Comte, G., Davies, K. M., Lattanzio, V., & Martens, S. (2013). Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant Physiology and Biochemistry*, 72, 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.05.009>

Croteau, R. & Kutchan, T.M. & Lewis, N.G.. (2000). Natural products (secondary metabolites), in *Biochemistry and molecular biology of plants* (eds B. Buchanan, W. Gruissem and R. Jones). American Society of Plant Physiologists, Rockville. 1250-1318.

Cuantificación de Fenoles y Flavonoides en Extractos. (n.d.). Retrieved June 22, 2025, from <https://studylib.es/doc/5920348/cuantificaci%C3%B3n-de-fenoles-y-flavonoides-totales-en-extrac...>

Dewick, P. M. (2009). *Medicinal natural products: A biosynthetic approach* (3rd edition). Wiley, A John Wiley and Sons, Ltd., Publication.

Dicke, M., & Baldwin, I. T. (2010). The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: beyond the “cry for help.” *Trends in Plant Science*, 15(3), 167–175. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.12.002>

Edziri, H., Jaziri, R., Chehab, H., Verschaeve, L., Flamini, G., Boujnah, D., Hammami, M., Aouni, M., & Mastouri, M. (2019). A comparative study on chemical composition, antibiofilm and biological activities of leaves extracts of four Tunisian olive cultivars. *Heliyon*, 5(5). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01604>

El-Ansari, M. A., Ibrahim, L. F., & Sharaf, M. (2020). Anti-HIV activity of some natural phenolics. *Herba Polonica*, 66(2), 34-43. <https://doi.org/10.2478/hepo-2020-0010>

Farina, A., Piergallini, R., Doldo, A., Salsano, E. P., & Abballe, F. (1991). The determination of C-H-N by an automated elemental analyzer. *Microchemical*

Journal, 43(3), 181–190. [https://doi.org/10.1016/S0026-265X\(10\)80003-7](https://doi.org/10.1016/S0026-265X(10)80003-7)

Frederickson, M. E. (2008). Rico-Gray, V. & P. S. Oliveira, 2007. The Ecology and Evolution of Ant-Plant Interactions. *Écoscience*, 15(2), 290–291. <https://doi.org/10.1080/11956860.2008.11649126>

Gaafar, A. A., Salama, Z. A., Askar, M. S., El-Hariri, D. M., & Bakry, B. A. (2013). In Vitro antioxidant and antimicrobial activities of Lignan flax seed extract (*Linum usitatissimum*, L.). *International Journal Pharmacy Science Review Research* 23(2), 291-297

Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12), 909–930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>

Gómez García, D., & Azorín, J. (2008). Estrategias de las plantas frente al consumo por los herbívoros. *Pastos Del Pirineo*, 75–109. <https://digital.csic.es/handle/10261/100502>

Hagiwara, K., Kosaka, N., Yoshioka, Y., Takahashi, R. U., Takeshita, F., & Ochiya, T. (2012). Stilbene derivatives promote Ago2-dependent tumour-suppressive microRNA activity. *Scientific Reports*, 2. <https://doi.org/10.1038/SREP00314>,

Heil, M. (2008). Indirect defence via tritrophic interactions. *New Phytologist*, 178(1), 41–61. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2007.02330.X>,

Hester, A. J., Bergman, M., Iason, G. R., & Moen, J. (2006). Impacts of large herbivores on plant community structure and dynamics. *Large Herbivore Ecology, Ecosystem Dynamics and Conservation*, 97–141. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511617461.006>

Jiang, X., Liu, Y., Li, W., Zhao, L., & Meng, F. (2013). Tissue-Specific, Development-Dependent Phenolic Compounds Accumulation Profile and Gene Expression Pattern in Tea Plant. *PLoS ONE*, 8(4), 62315. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062315>

Julkunen-Tiitto, R. (1985). Phenolic Constituents in the Leaves of Northern Willows: Methods for the Analysis of Certain Phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33(2), 213–217. https://doi.org/10.1021/JF00062A013/ASSET/JF00062A013.FP.PNG_V03

Karthikeyan, C., Narayana Moorthy, N. S. H., Ramasamy, S., Vanam, U., Manivannan, E., Karunagaran, D., & Trivedi, P. (2014). Advances in Chalcones with Anticancer Activities. *Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery*, 10(1), 97–115. <https://doi.org/10.2174/1574892809666140819153902>,

Kessler, A., & Heil, M. (2011). The multiple faces of indirect defences and their agents of natural selection. *Functional Ecology*, 25(2), 348–357.

<https://doi.org/10.1111/J.1365-2435.2010.01818.X>

- Koyro, H. W. (2006). Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of the potential cash crop halophyte *Plantago coronopus* (L.). *Environmental and Experimental Botany*, 56(2), 136–146. <https://doi.org/10.1016/J.ENVEXPBOT.2005.02.001>
- Ksouri, R., Megdiche, W., Falleh, H., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Smaoui, A., & Abdelly, C. (2008). Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *Comptes Rendus - Biologies*, 331(11), 865–873. <https://doi.org/10.1016/J.CRVI.2008.07.024>,
- Larcher W (2001) *Ökophysiologie der Pflanzen*, 5th edn. Eugen Ulmer-Verlag, Stuttgart
- Leisner, C. P. (2020). Review: Climate change impacts on food security- focus on perennial cropping systems and nutritional value. *Plant Science*, 293, 110412. <https://doi.org/10.1016/J.PLANTSCI.2020.110412>
- Li, Z., Jiang, H., Yan, H., Jiang, X., Ma, Y., & Qin, Y. (2021). Carbon and nitrogen metabolism under nitrogen variation affects flavonoid accumulation in the leaves of *Coreopsis tinctoria*. *PeerJ*, 9, e12152. <https://doi.org/10.7717/PEERJ.12152/SUPP-1>
- Melo, L. F. M. de, Aquino-Martins, V. G. de Q., Silva, A. P. da, Oliveira Rocha, H. A., & Scortecci, K. C. (2023). Biological and pharmacological aspects of tannins and potential biotechnological applications. *Food Chemistry*, 414. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135645>
- Morrison, J. A., Roche, B., & Veatch-Blohm, M. (2022). Woody plant secondary chemicals increase in response to abundant deer and arrival of invasive plants in suburban forests. *Ecology and Evolution*, 12(4). <https://doi.org/10.1002/ECE3.8814>,
- Mostafa, S., Wang, Y., Zeng, W., & Jin, B. (2022). Plant Responses to Herbivory, Wounding, and Infection. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(13). <https://doi.org/10.3390/IJMS23137031>,
- Nosko, P., Roberts, K., Knight, T., & Marcellus, A. (2020). Growth and chemical responses of balsam fir saplings released from intense browsing pressure in the boreal forests of western Newfoundland, Canada. *Forest Ecology and Management*, 460. <https://doi.org/10.1016/J.FORECO.2019.117839>
- Persson, I. L., Danell, K., & Bergström, R. (2005). Different moose densities and accompanied changes in tree morphology and browse production. *Ecological Applications*, 15(4), 1296–1305. <https://doi.org/10.1890/04-0499>

- Peters, D. J., & Constabel, C. P. (2002). Molecular analysis of herbivore-induced condensed tannin synthesis: Cloning and expression of dihydroflavonol reductase from trembling aspen (*Populus tremuloides*). *Plant Journal*, 32(5), 701–712. <https://doi.org/10.1046/J.1365-313X.2002.01458.X>,
- Robbins, R. J. (2003). Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(10), 2866–2887. <https://doi.org/10.1021/JF026182T>,
- Rugna A., Ricco R., Gurni A., Wagner M. (2008). Variación en el contenido de los polifenoles foliares en *Smilax campestris* Griseb. -Smilacaceae- según grado de desarrollo. *Latin American Journal of Pharmacy* 27: 247-249.
- Schulze ED, Beck E, Müller-Hohenstein K (2002) *Pflanzenökologie*. Spektrum Akademischer, Heidelberg
- Scogings, P. F., Hjältén, J., & Skarpe, C. (2011). Secondary metabolites and nutrients of woody plants in relation to browsing intensity in African savannas. *Oecologia*, 167(4), 1063–1073. <https://doi.org/10.1007/S00442-011-2042-9>,
- Sordini, B., Veneziani, G., Servili, M., Esposto, S., Selvaggini, R., Loreface, A., & Taticchi, A. (2019). A quanti-qualitative study of a phenolic extract as a natural antioxidant in the frying processes. *Food Chemistry*, 279, 426–434. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.029>
- Soto, M. L., Falqué, E., & Domínguez, H. (2015). Relevance of Natural Phenolics from Grape and Derivative Products in the Formulation of Cosmetics. *Cosmetics* 2015, Vol. 2, Pages 259-276, 2(3), 259–276. <https://doi.org/10.3390/COSMETICS2030259>
- Tellado, S., Orpez, R., Muñoz-Cobo, J., & Azorit, C. (2015). Fecal-FT-NIRS as a Noninvasive Tool for Assessing Diet Quality of Mediterranean Deer. *Rangeland Ecology & Management*, 68(1), 92–99. <https://doi.org/10.1016/J.RAMA.2014.12.003>
- Temviriyankul, P., Kittibunchakul, S., Trisonthi, P., Inthachat, W., Siriwan, D., & Suttisansanee, U. (2021). Analysis of phytonutrients, anti-mutagenic and chemopreventive effects of tropical fruit extracts. *Foods*, 10(11). <https://doi.org/10.3390/FOODS10112600>,
- Thomas Palo, R., Gowda, J., & Högborg, P. (1993). Species height and root symbiosis, two factors influencing antiherbivore defense of woody plants in East African savanna. *Oecologia*, 93(3), 322–326. <https://doi.org/10.1007/BF00317873>,
- Tsimogiannis, D., & Oreopoulou, V. (2019). Classification of Phenolic Compounds in Plants. *Polyphenols in Plants*, 263–284. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813768-0.00026-8>

- Vargas-Magaña, J. J., Torres-Acosta, J. F. J., Aguilar-Caballero, A. J., Sandoval-Castro, C. A., Hoste, H., & Chan-Pérez, J. I. (2014). Anthelmintic activity of acetone–water extracts against *Haemonchus contortus* eggs: Interactions between tannins and other plant secondary compounds. *Veterinary Parasitology*, 206(3–4), 322–327. <https://doi.org/10.1016/J.VETPAR.2014.10.008>
- Velamazán, M., Perea, R., & Bugalho, M. N. (2020). Ungulates and ecosystem services in Mediterranean woody systems: A semi-quantitative review. *Journal for Nature Conservation*, 55, 125837. <https://doi.org/10.1016/J.JNC.2020.125837>
- Vermerris, W., & Nicholson, R. (2006). Phenolic compound biochemistry. *Phenolic Compound Biochemistry*, 1–276. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5164-7/COVER>
- Yousefzadi, M., Sharifi, M., Behmanesh, M., Moyano, E., Bonfill, M., Cusido, R. M., & Palazon, J. (2010). Podophyllotoxin: Current approaches to its biotechnological production and future challenges. *Engineering in Life Sciences*, 10(4), 281–292. <https://doi.org/10.1002/ELSC.201000027>