

TESIS DOCTORAL



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

Evaluación de la productividad y sostenibilidad agrícola del cultivo mandarino con estrategias de riego deficitario controlado y agua regenerada a través de marcadores moleculares precoces del estado fisiopatológico de los cultivos

Autor/a:

D. David Auñón Calles

Directores/as:

Dr. D. Ángel Gil Izquierdo

Dr. D. Emilio Nicolás Nicolás

Dra. Dña. Cristina Romero Trigueros

Murcia, septiembre de 2025

TESIS DOCTORAL



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

Evaluación de la productividad y sostenibilidad agrícola del cultivo de mandarina con estrategias de riego deficitario controlado y agua regenerada a través de marcadores moleculares precoces del estado fisiopatológico de los cultivos

Autor/a:

D. David Auñón Calles

Directores/as:

Dr. D. Ángel Gil Izquierdo

Dr. D. Emilio Nicolás Nicolás

Dra. Dña. Cristina Romero Trigueros

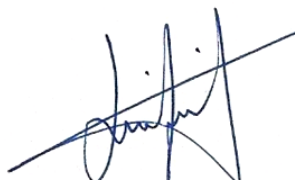
Murcia, septiembre de 2025

AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR DE LA TESIS **PARA SU PRESENTACIÓN**

El Dr. D. Ángel Gil Izquierdo, el Dr. D. Emilio Nicolás Nicolás y la Dra. Dña. Cristina Romero Trigueros como Directores⁽¹⁾ de la Tesis Doctoral titulada “Evaluación de la productividad y sostenibilidad agrícola del cultivo de mandarina con estrategias de riego deficitario controlado y agua regenerada a través de marcadores moleculares precoces del estado fisiopatológico de los cultivos” realizada por D. David Auñón Calles en el Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud, **autorizan su presentación a trámite** dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

Lo que firmo, para dar cumplimiento al, Real Decreto 99/2011, de 28 de enero, modificado por el R.D. 576/2023, de 4 de julio, por el que se regulan las enseñanzas oficiales de doctorado.

En Murcia a 25 de Septiembre de 2025



Ángel Gil Izquierdo



Emilio Nicolás Nicolás



Cristina Romero Trigueros

⁽¹⁾ Si la Tesis está dirigida por más de un Director tienen que constar y firmar ambos.

RESUMEN

La presente tesis doctoral analiza la productividad y sostenibilidad agrícola del cultivo de mandarino bajo estrategias de riego deficitario controlado y el uso de agua regenerada, evaluando el impacto de estos factores a través de marcadores moleculares precoces del estado fisiopatológico de los cultivos. El estudio se desarrolla en la Región de Murcia, una zona semiárida con alta presión sobre los recursos hídricos, y utiliza un enfoque multidisciplinar que combina análisis agronómicos, fisiológicos y moleculares para determinar cómo la calidad del agua y la gestión del riego afectan el crecimiento, rendimiento y calidad de los frutos, así como la respuesta metabólica de las plantas.

Los resultados muestran que el uso de agua regenerada salina y la aplicación de riego deficitario controlado pueden modificar significativamente la composición de aminoácidos, fitohormonas y oxilipinas en las hojas de mandarino, lo que se traduce en cambios en la tolerancia al estrés, el desarrollo vegetativo y la calidad de la cosecha. De los resultados obtenidos se puede extraer que ciertos fitoprostanos y fitofuranos pueden utilizarse como marcadores biológicos, permitiendo detectar de forma temprana el estrés oxidativo en las plantas, incluso antes de la aparición de síntomas visibles, lo que representa una herramienta útil para la gestión agronómica y la toma de decisiones en condiciones de escasez hídrica y salinidad.

En conclusión, la tesis demuestra la viabilidad del uso de agua regenerada en el riego de mandarinos, siempre que se realice un seguimiento intensivo para evitar daños en el suelo y los árboles. Además, identifica marcadores moleculares sensibles que pueden servir para anticipar problemas de estrés y optimizar las prácticas de riego y fertilización, contribuyendo así a una agricultura más sostenible y resiliente frente a los retos del cambio climático y la escasez de recursos hídricos.

ABSTRACT

This doctoral thesis analyses the agricultural productivity and sustainability of mandarin cultivation under controlled deficit irrigation strategies and the use of reclaimed water, evaluating the impact of these factors through early molecular markers of the pathophysiological state of the crops. The study is carried out in the Region of Murcia, a semi-arid area with high pressure on water resources, and uses a multidisciplinary approach that combines agronomic, physiological and molecular analyses to determine how water quality and irrigation management affect fruit growth, yield and quality, as well as the metabolic response of plants.

The results show that the use of saline reclaimed water and the application of controlled deficit irrigation can significantly modify the composition of amino acids, phytohormones and oxylipins in mandarin leaves, which translates into changes in stress tolerance, vegetative development and crop quality. From the results obtained, it can be extracted that certain phytoprostanes and phytofurans can be used as biological markers, allowing early detection of oxidative stress in plants, even before the appearance of visible symptoms, which represents a useful tool for agronomic management and decision-making in conditions of water scarcity and salinity.

In conclusion, the thesis demonstrates the feasibility of using reclaimed water in the irrigation of mandarins, provided that intensive monitoring is carried out to avoid damage to the soil and trees. In addition, it identifies sensitive molecular markers that can be used to anticipate stress problems and optimize irrigation and fertilization practices, thus contributing to a more sustainable and resilient agriculture in the face of the challenges of climate change and the scarcity of water resources.

PALABRAS CLAVE

Sequía, medio ambiente, agua reciclada, recursos hídricos, cítricos, mandarino, fitohormonas, aminoácidos, fitoprostanos, fitofuranos, riego deficitario, rendimiento de cultivos.

KEYWORDS

Drought, environment, recycled water, water resources, citrus, mandarin, phytohormones, amino acids, phytoprostanes, phytofurans, deficit irrigation, crop yield.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, deseo mostrar mi más sincero agradecimiento a mis directores de tesis por la paciencia que han tenido conmigo.

Al Profesor Thierry Durand y su equipo de la Universidad de Montpellier-IBMM por facilitarnos los patrones para la cuantificación de fitoprostanos y fitofuranos. Sin su colaboración una gran parte de esta tesis estaría vacía.

A José Antonio, por traerme a la UCAM y dejarme formar parte de esta familia. Siempre me has dicho que no te debo nada, pero te equivocas.

Agradezco profundamente todos los esfuerzos que han hecho mis padres para darme una educación, por creer en mí y por darme autonomía suficiente para cometer mis propios errores y poder aprender de ellos.

No puedo si no mostrar agradecimiento a mi esposa María José, aunque esté como un cencerro, siento que nunca podría haber elegido mejor compañera de viaje.

Quiero agradecer a mis hijos, Mario y Julio, el día a día a vuestro lado. Sé que no podré estar siempre ahí para vosotros, pero al menos en lo que dure mi vida prometo intentarlo. Consiga lo que consiga en este mundo nunca dudaré de que sois mis mayores logros.

A mis compañeras Pepa y Nuria, no puedo más que sentir gratitud y admiración ante vosotras, habéis sido para mí dos referentes de trabajo y principios.

A mis alumnos, promoción tras promoción a pesar del trabajo que me dan son el aliento que necesito cuando creo que no puedo más.

Por último, agradecer a todos los que de alguna manera han contribuido para bien o para mal a hacer de mí la persona que soy.

"La imaginación es más importante que el conocimiento. El conocimiento es limitado. La imaginación abarca el mundo".
Albert Einstein (1879-1955).

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	7
I - INTRODUCCIÓN	33
1.1. Previsiones de crecimiento demográfico.....	33
1.2. Disponibilidad de recursos hídricos.....	35
1.3. Estrategias y recursos hídricos alternativos.....	37
1.4. Capacidad de anticipación a los problemas derivados del estrés hídrico y salino	38
II - JUSTIFICACIÓN	43
2.1. Situación de los recursos hídricos en España.....	45
2.1.1. Aguas superficiales.....	45
2.1.2. Aguas subterráneas	47
2.2. Uso de aguas regeneradas y estrategias de riego deficitario	50
2.2.1. Agua regenerada.....	51
2.2.2. Estrategias de riego deficitario controlado.....	52
2.3. Regulación hormonal en condiciones de estrés hídrico y elevada salinidad	54
2.4. El cultivo de cítricos en condiciones de estrés hídrico y salino	57
2.5. Fitoprostanos y fitofuranos como biomarcadores de estrés	59
III - OBJETIVOS	65
IV - MATERIAL Y MÉTODO	69
4.1. Ensayo agronómico en mandarino	69
4.2. Reactivos.....	72
4.3. Análisis de aguas	73

4.4.	Análisis de nutrientes y metabolitos a nivel foliar	74
4.4.1.	Estado nutricional del cultivo	74
4.4.2.	Extracción de aminoácidos y determinación cromatográfica.....	74
4.4.2.1.	Preparación de muestras	75
4.4.2.2.	Análisis cromatográfico	76
4.4.3.	Determinación cualitativa y cuantitativa de fitohormonas	77
4.4.3.1.	Preparación de muestras	78
4.4.3.2.	Análisis cromatográfico	78
4.4.4.	Análisis de fitoprostanos y fitofuranos.....	79
4.4.4.1.	Preparación de muestras	80
4.4.4.2.	Análisis cromatográfico	80
4.5.	Funcionalidad del fotosistema II	81
4.6.	Parámetros agronómicos: crecimiento, rendimiento y calidad de los frutos	83
4.7.	Análisis estadístico	83
V -	RESULTADOS	87
5.1.	Condiciones Meteorológicas y Análisis de aguas	87
5.2.	Análisis de nutrientes y metabolitos a nivel foliar	90
5.1.1.	Estado nutricional del cultivo de mandarino	90
5.1.2.	Análisis de aminoácidos	94
5.1.3.	Análisis de fitohormonas.....	96
5.1.4.	Análisis de fitoprostanos y fitofuranos.....	115
5.1.4.1.	Resultados mensuales obtenidos para las distintas oxilipinas.....	115
5.1.4.2.	Evolución mensual individual de las oxilipinas en función del tratamiento	137
5.1.4.3.	Tratamiento estadístico de oxilipinas	148
5.3.	Funcionalidad del fotosistema II (PSDII)	162

5.4.	Parámetros agronómicos: crecimiento vegetativo, rendimiento y calidad de los frutos.....	164
VI -	DISCUSIÓN	169
6.1.	Macronutrientes y micronutrientes.....	169
6.1.1.	Elementos fitotóxicos	169
6.1.2.	Macronutrientes	171
6.1.3.	Micronutrientes.....	171
6.2.	Niveles de Aminoácidos y fitohormonas.....	172
6.3.	Evolución de oxilipinas en mandarino regado agua normal y reciclada salina. Influencia del estrés hídrico.....	174
6.4.	Rendimiento del fotosistema II (PSII).....	178
6.5.	Parámetros agronómicos.....	180
VII -	CONCLUSIONES.....	185
VIII -	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	189

SIGLAS Y ABREVIATURAS

A, tasa fotosintética neta
ABA, ácido abscísico
ACC, ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico
Ala, alanina
ANOVA, análisis de varianza
Arg, arginina
Asn, asparagina
B, boro
Br, bromuro
°Brix: grados Brix
°C: grados Celsius
Ca, calcio
Chl T, clorofila total
Ci, concentración interna de CO₂
Cis-Gly, cisteína-glicina
Cl⁻, cloruro
cm², centímetros cuadrados (superficie)
Cu, cobre
D, diámetro de fruto
dw, peso seco (dry weight)
dS m⁻¹: deciSiemens por metro (unidad de conductividad eléctrica)
EC_w, conductividad eléctrica del agua
ET_c, evapotranspiración del cultivo
ET₀, evapotranspiración de referencia
Fe, hierro
FN, número de frutos
Fv/Fm: fluorescencia variable/máxima de la clorofila
FW, agua de trasvase (Fresh Water)
FW-C, agua de trasvase, control (100% requerimiento hídrico)
FW-RDI, agua de trasvase, riego deficitario controlado
g, gramos
g cm⁻³, gramos por centímetro cúbico

GA1, giberelina 1
GA3, giberelina 3
GA4, giberelina 4
GABA, ácido gamma-aminobutírico
Glu, ácido glutámico
Gly, glicina
h, hora
ha, hectárea
His, histidina
IPA, isopentenil adenina
JA, ácido jasmónico
JC, contenido de jugo
K, potasio
kg ha⁻¹ año⁻¹, kilogramos por hectárea y por año
kPa, kilopascales
Leu, leucina
Li, litio
Met, metionina
meq L⁻¹, miliequivalentes por litro
Mg, magnesio
min, minuto
mM, milimolar
m³, metros cúbicos
mg, miligramos
mg L⁻¹, miligramos por litro
MI, índice de madurez
mL, mililitros
mm, milímetros
Mn, manganeso
N, nitrógeno
Na, sodio
ng g⁻¹, nanogramos por gramo
Ni, níquel
nM, nanomolar
NO₃⁻, nitrato
P, fósforo
pH, potencial de hidrógeno
Phe, fenilalanina

PO₄⁻, fosfato

Pro, prolina

PSII, fotosistema II

PT, espesor de la piel

qP, decaimiento fotoquímico

RDI, riego deficitario controlado (Regulated Deficit Irrigation)

RW, agua regenerada (Reclaimed Water)

RW-C, agua regenerada, control

RW-RDI, agua regenerada, riego deficitario controlado

s, segundo

S, azufre

SA, ácido salicílico

SAR_w, relación de absorción de sodio

SD, desviación estándar

Ser, serina

SO₄⁻, sulfato

SSC, sólidos solubles

TA, acidez titulable

Thr, treonina

tZ, trans-zeatina

Tyr, tirosina

Val, valina

V_c, dosel arbóreo (volumen de copa)

v/v, volumen sobre volumen

W, peso de fruto

w/v, peso sobre volumen

Zr, ribósido de zeatina

Zn, zinc

ΦPSII, eficiencia cuántica del fotosistema II

μl, microlitros

μmol mol⁻¹, micromoles por mol

μmol m⁻² s⁻¹, micromoles por metro cuadrado por segundo

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Crecimiento esperado de la población mundial	33
Figura 2. Velocidad anual de crecimiento de la población mundial.	34
Figura 3. Impacto del cambio climático en el sector agrícola de las principales regiones biogeográficas de Europa.....	36
Figura 4. Evolución de la situación de sequía en las últimas 6 décadas según el indicador SPI para la región de Murcia.	45
Figura 5. Situación del estado de la sequía hidrológica a diciembre de 2017, tres meses después de iniciado el estudio, según índice SPI para una escala temporal de 12 meses.....	46
Figura 6. Situación del estado de la sequía hidrológica a septiembre de 2018 según índice SPI para una escala temporal de 12 meses.....	47
Figura 7. Nivel de sobreexplotación de los acuíferos de la cuenca del Segura	49
Figura 8. Evolución de la situación de los acuíferos en el siglo XXI contextualizada en función de la zona climática a) y la prevalencia de áreas cultivada b).	50
Figura 9. Diafonía fitohormonal durante el estrés ambiental.	55
Figura 10. Mecanismos y protección frente al estrés ambiental por PGPR.....	56
Figura 11. Estructura química de las prostaglandinas A ₁ y deoxi-J ₂ y los fitoprostanos A ₁ , B ₁ , and deoxi-J ₁	60
Figura 12. Biosíntesis no enzimática de fitoprostanos y fitofuranos	61
Figura 13. Ubicación de la finca comercial de cítricos del ensayo.....	69
Figura 14. Vista panorámica de la parcela experimental de mandarino, el Canal del trasvase Tajo-Segura y la Estación Depuradora de Aguas Residuales (EDAR) de Molina de Segura Norte	71
Figura 15. Estructura química de los aminoácidos analizados.....	75
Figura 16. Estructura química de las diferentes fitohormonas analizados.	77
Figura 17. Estructura química de las diferentes fitohormonas analizados.	79

Figura 18. Gráfico de precipitaciones, temperaturas máximas y mínimas durante el periodo de estudio.	87
Figura 19. Gráfico de precipitaciones, temperaturas máximas y mínimas 15 días antes y después de la fecha del muestreo al inicio de la fase III (izquierda) y la cosecha (derecha).	88
Figura 20. Síntomas visibles de fitotoxicidad en hojas de mandarino.....	93
Figura 21. Niveles específicos para cada fitohormona registrados en los diferentes tratamientos. Septiembre 2017	98
Ilustración 22. Niveles específicos para cada fitohormona registrados en los diferentes tratamientos. Febrero 2018	101
Figura 23. Niveles específicos para cada fitohormona registrados en los diferentes tratamientos. Abril 2018	104
Figura 24. Niveles específicos para cada fitohormona registrados en los diferentes tratamientos. Mayo 2018	107
Figura 25. Niveles específicos para cada fitohormona registrados en los diferentes tratamientos. Julio 2018	110
Figura 26. Niveles específicos para cada fitohormona registrados en los diferentes tratamientos. Septiembre 2018	113
Figura 27. Fitoprostanos enantioméricos ent-16-epi-16-F _{1t} -PhytoP y ent-16-F _{1t} -PhytoP.....	115
Figura 28. Niveles específicos para cada fitoprostano y fitofurano registrados en los diferentes tratamientos. Septiembre 2017	118
Figura 29. Niveles específicos para cada fitoprostano y fitofurano registrados en los diferentes tratamientos. Febrero 2018	121
Ilustración 30. Niveles específicos para cada fitoprostano y fitofurano registrados en los diferentes tratamientos. Abril 2018	124
Figura 31. Niveles específicos para cada fitoprostano y fitofurano registrados en los diferentes tratamientos. Mayo 2018.....	127
Figura 32. Niveles específicos para cada fitoprostano y fitofurano registrados en los diferentes tratamientos. Julio 2018.....	130
Figura 33. Niveles específicos para cada fitoprostano y fitofurano registrados en los diferentes tratamientos. Julio 2018.....	133

Figura 34. Niveles acumulados por meses en los cuatro tratamientos para el análisis de fitoprostanos y fitofuranos.	136
Figura 35. Niveles de fitoprostanos encontrados en los muestreos para cada uno de los cuatro tratamientos.....	147
Figura 36. Niveles de fitofuranos encontrados en los muestreos para cada uno de los cuatro tratamientos.	148
Figura 37. Fitoprostanos candidatos a marcadores de estrés oxidativo en mandarino	178
Figura 38. Fitofuranos candidatos a marcadores de estrés oxidativo en mandarino	178

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Análisis físico-químicos de los dos tipos de agua de riego empleados....	88
Tabla 2. Elementos fitotóxicos en hojas de mandarino al inicio de la fase III de maduración del fruto para los dos tipos de agua de riego empleados.	91
Tabla 3. Macronutrientes en hojas de mandarino al inicio de la fase III de maduración del fruto para los dos tipos de agua de riego empleados.	91
Tabla 4. Micronutrientes en hojas de mandarino al inicio de la fase III de maduración del fruto para los dos tipos de agua de riego empleados.	92
Tabla 5. Análisis de aminoácidos en mandarino al inicio de la fase III de maduración del fruto.....	94
Tabla 6. Resultados de fitohormonas medidas en hoja. Septiembre 2017.....	96
Tabla 7. Resultados de fitohormonas medidas en hoja. Febrero 2018.....	99
Tabla 8. Resultados de fitohormonas medidas en hoja. Abril 2018	102
Tabla 9. Resultados de fitohormonas medidas en hoja. Mayo 2018	105
Tabla 10. Resultados de fitohormonas medidas en hoja. Julio 2018	108
Tabla 11. Resultados de fitohormonas medidas en hoja. Septiembre 2018.....	111
Tabla 12. Resultados de fitohormonas medidas en hoja en fase III	114
Tabla 13. Resultados medios y totales de fitoprostanos por tratamiento. Septiembre 2017.....	116
Tabla 14. Resultados medios y totales de fitofuranos por tratamiento. Septiembre 2017.....	117
Tabla 15. Resultados medios y totales de fitoprostanos por tratamiento. Febrero 2018.....	119
Tabla 16. Resultados medios y totales de fitofuranos por tratamiento. Febrero 2018.	120
Tabla 17. Resultados medios y totales de fitoprostanos por tratamiento. Abril 2018.	122

Tabla 18. Resultados medios y totales de fitofuranos por tratamiento. Abril 2018.	123
Tabla 19. Resultados medios y totales de fitoprostanos por tratamiento. Mayo 2018.	125
Tabla 20. Resultados medios y totales de fitofuranos por tratamiento. Mayo 2018.	126
Tabla 21. Resultados medios y totales de fitoprostanos por tratamiento. Julio 2018.	128
Tabla 22. Resultados medios y totales de fitofuranos por tratamiento. Julio 2018.	129
Tabla 23. Resultados medios y totales de fitoprostanos por tratamiento. Septiembre 2018.	131
Tabla 24. Resultados medios y totales de fitofuranos por tratamiento. Septiembre 2018.	132
Tabla 25. Total de fitoprostanos encontrado en los distintos muestreos resumidos por tratamiento.	134
Tabla 26. Total de fitofuranos encontrado en los distintos muestreos resumidos por tratamiento.	135
Tabla 27. Niveles registrados de 9-epi-9-D _{1t} -PhytoP en los distintos muestreos resumidos por tratamiento.	137
Tabla 28. Niveles registrados de 9-D _{1t} -PhytoP en los distintos muestreos resumidos por tratamiento.	138
Tabla 29. Niveles registrados de 9-F _{1t} -PhytoP en los distintos muestreos resumidos por tratamiento.	139
Tabla 30. Niveles registrados de 9-epi-9-D _{1t} -PhytoP en los distintos muestreos resumidos por tratamiento.	140
Tabla 31. Niveles registrados de 9-epi-9-L _{1t} -PhytoP en los distintos muestreos resumidos por tratamiento.	141
Tabla 32. Niveles registrados de 16-B _{1t} -PhytoP en los distintos muestreos resumidos por tratamiento.	142
Tabla 33. Niveles registrados de Ent-16-epi-16-F _{1t} -PhytoP + Ent-16-F _{1t} -PhytoP en los distintos muestreos resumidos por tratamiento.	143

Tabla 34. Niveles registrados de Ent-9-(RS)-12-epi-ST- Δ^{10} -13-PhytoF en los distintos muestreos resumidos por tratamiento.	144
Tabla 35. Niveles registrados de Ent-16-(RS)-13-epi-ST- Δ^{14} -9-PhytoF en los distintos muestreos resumidos por tratamiento.	145
Tabla 36. Niveles registrados de Ent-16-(RS)-9-epi-ST- Δ^{14} -10-PhytoF en los distintos muestreos resumidos por tratamiento.	146
Tabla 37. Prueba de comparación múltiple de Tukey. Fitoprostanos y fitofuranos totales.	149
Tabla 38. Prueba de comparación múltiple de Tukey. Fitoprostanos individuales.	151
Tabla 39. Prueba de comparación múltiple de Tukey. Fitofuranos individuales.	161
Tabla 40. Contenido en clorofila y funcionalidad del PSII en hojas de mandarina con y sin estrés hídrico y salino.	163
Tabla 41. Rendimiento y parámetros de calidad en la cosecha de mandarina para los tratamientos ensayados.	164

I – INTRODUCCIÓN

I - INTRODUCCIÓN

1.1. PREVISIONES DE CRECIMIENTO DEMOGRÁFICO

En 2025 la población mundial se estima en unos 8231 millones de personas y aunque a un ritmo cada vez más lento a nivel global se prevé que siga creciendo durante los próximos 50 o 60 años, alcanzando su pico máximo para el año 2080 con unos 10300 millones (Figura 1).

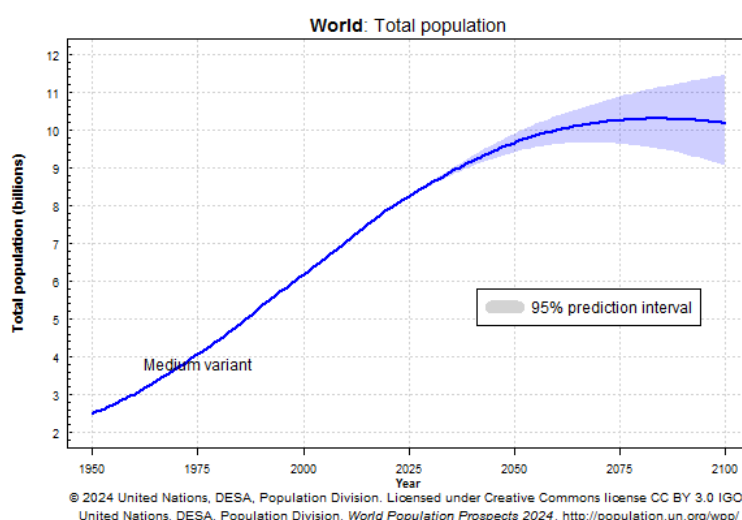


Figura 1. Crecimiento esperado de la población mundial

Fuente: World Population Prospects 2024. Department of Economic and Social Affairs. Population Division. United Nations.

<https://population.un.org/wpp/graphs?loc=900&type=Demographic%20Profiles&category=Line%20Charts>

Por zonas geográficas, en los países más desarrollados, un total de 63 países y áreas que contienen el 28 por ciento de la población mundial, el punto máximo se alcanzó en 2024, y se prevé que tras un retroceso en la tasa de crecimiento, esta se estabilice. En otros 48 países que contenían un 10 por ciento de la población en 2024, se prevé que alcancen su punto de máximo crecimiento entre 2025 y 2054, mientras que los 126 restantes continuarán aumentando el tamaño de su población hasta el año 2100.

A partir del año 2090, después de haber alcanzado un pico máximo en la población mundial, se proyecta una reducción progresiva de la población mundial, con una tasa de decrecimiento del 0,38% en 2100 debido principalmente a factores como la disminución de la natalidad, el envejecimiento poblacional y el aumento de la urbanización (Figura 2).

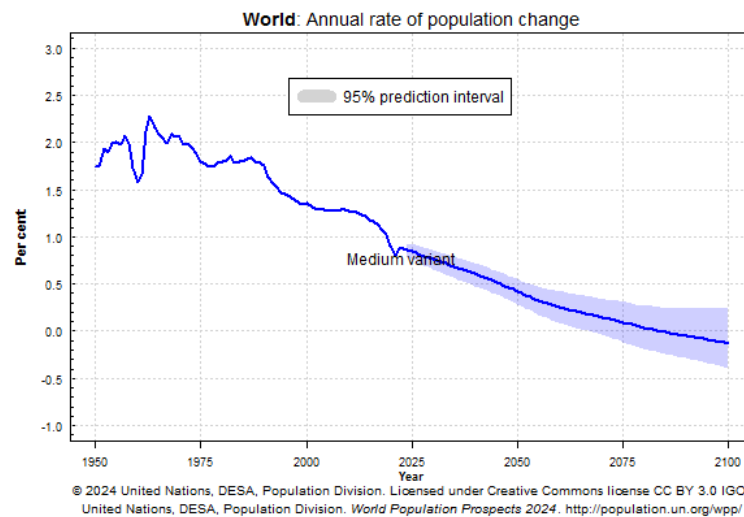


Figura 2. Velocidad anual de crecimiento de la población mundial.

Fuente: World Population Prospects 2024. Department of Economic and Social Affairs. Population Division. United Nations.

<https://population.un.org/wpp/graphs?loc=900&type=Demographic%20Profiles&category=Line%20Charts>

Esta estabilización o reducción de la población podría aliviar la presión sobre los recursos naturales y favorecer un desarrollo más sostenible. No obstante, y junto con la reducción en el desperdicio de alimentos entre otros objetivos, para satisfacer la creciente demanda de alimentos la agricultura necesitará producir al menos un 15% más en la próxima década (OECD/FAO, 2024), con el consiguiente aumento en el consumo de un recurso básico como es el de agua. De esta manera, el incremento de la productividad agrícola de una manera sostenible, conservando el agua y previniendo la contaminación del suelo es actualmente uno de los principales retos de la investigación agronómica a nivel de ecosistema (EEA, 2019).

1.2. DISPONIBILIDAD DE RECURSOS HÍDRICOS

Del 71% de agua presente en el planeta, tan solo el 2.5% del agua corresponde a agua dulce. De este reducido porcentaje el 68.7% se encuentra atrapada en glaciares y casquetes polares, un 30.1% pertenece a acuíferos subterráneos, y tan solo un 1.2% está en ríos, lagos y embalses, accesible para consumo humano. Una proporción importante de éste aproximadamente 0.03% del total del agua dulce disponible para consumo humano se emplea en la producción de alimentos. A escala mundial, la agricultura se perfila como el principal usuario de los recursos hídricos, con un 72 % del total de las extracciones de agua dulce, seguida del sector industrial (15 %), y el sector servicios (13 %) (FAO/ONU, 2024).

A pesar de que las zonas climáticas templadas siguen siendo las más productivas en cuanto a volumen, las zonas áridas y semiáridas del planeta concentran una gran cantidad de producción agrícola, gracias a unas condiciones climáticas que incluyen más de 300 días al año de sol. En cualquier caso y en gran parte por este motivo, estas zonas se caracterizan por un elevado estrés ambiental asociado principalmente a los altos niveles de radiación y a la escasez de agua. Esta falta de agua ha hecho que el avance tecnológico en el ámbito del regadío haya sido exponencial, con el fin de aprovechar hasta el último recurso disponible, fomentando la búsqueda de recursos hídricos alternativos, y asegurando así que la producción de alimentos sea suficiente para hacer frente al actual ritmo de crecimiento de la población.

El agua se considera el factor de producción más restrictivo, especialmente en regiones semiáridas, como la mediterránea, donde escasea y no siempre se halla accesible (Pedrero y col., 2015). A su vez, los pronósticos vigentes sobre el cambio climático indican que en el sur de Europa, el calor extremo y el descenso de las precipitaciones y de la disponibilidad hídrica limitarán aún más la productividad agrícola, debido a un aumento en la frecuencia e intensidad de los periodos de sequía (García-Galiano y col., 2015; FAO, 2016).

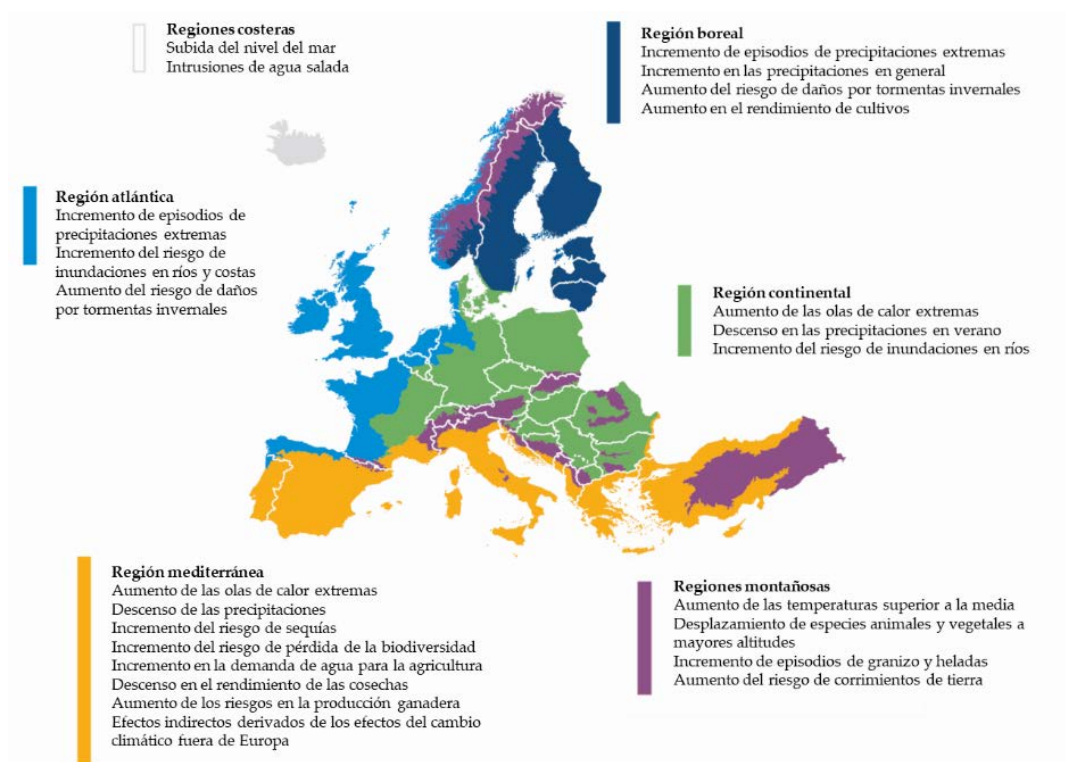


Figura 3. Impacto del cambio climático en el sector agrícola de las principales regiones biogeográficas de Europa.

Fuente: adaptado de *Climate change adaptation in the agriculture sector in Europe*. EEA Report No 04/2019

Medidas basadas en la conservación, el ahorro y una mejora en la eficiencia representan el enfoque óptimo a la gestión de los recursos en toda Europa. Sin embargo, la demanda en algunas regiones del sur sigue superando la disponibilidad, y la optimización de los recursos disponibles, y la regeneración y reutilización de aguas residuales como medidas para incrementar la oferta podrían resultar potencialmente más sostenibles que enfoques más tradicionales como la acumulación en embalses y los trasvases entre cuencas (EEA, 2009).

1.3. ESTRATEGIAS Y RECURSOS HÍDRICOS ALTERNATIVOS

El uso de fuentes de agua no convencionales como el agua regenerada (RW) junto con estrategias de riego deficitario controlado (RDC) podrían ser alternativas adecuadas para hacer frente a la limitación de los recursos.

El uso del agua regenerada está experimentando un rápido desarrollo a nivel mundial, especialmente en regiones áridas y semiáridas, de manera que se espera que para el año 2030 un 1.66% del total del agua que consume el sector agrícola sea regenerada (Global Water Intelligence, 2017)

El RW puede ser beneficiosa para los cultivos dado que la presencia de macronutrientes (nitrógeno, fósforo y potasio) puede ayudar a reducir los requerimientos de fertilizantes, como el nitrato, dando lugar a importantes ahorros (Pedrero y col., 2015). También puede promover la actividad de las comunidades microbianas del suelo en los cultivos (Bastida y col., 2018) o la biomasa microbiana (Androver y col., 2012) en concordancia con la estrategia europea del Pacto Verde para promover la salud del suelo (IPCC, 2025). Sin embargo, el manejo inadecuado del riego con AR puede exacerbar los problemas de lixiviación de nutrientes (Romero-Trigueros y col., 2014). En cualquier caso, se requiere una gestión adecuada y cuidadosa del recurso, de manera que los requisitos mínimos de calidad para su segura utilización han sido regulados recientemente debido a la creciente importancia del agua regenerada como recurso alternativo (Eur-Lex 2020/741, 2020).

Por otra parte, la implementación del riego deficitario controlado (RDC), una práctica que persigue reducir la demanda de riego y mejorar la productividad optimizando los recursos disponibles, puede marcar una estrategia de ahorro de agua en aquellas zonas donde el suministro es limitado debido a condiciones extremas en la climatología. El riego deficitario controlado (RDC) implica la aplicación de volúmenes de agua inferiores a las necesidades máximas de evapotranspiración del cultivo (ET_c) durante los periodos fenológicos donde la planta muestra mayor tolerancia o menor sensibilidad al estrés hídrico, y satisfacer plenamente la demanda durante los periodos críticos de alta sensibilidad al déficit (Rai y col., 2022).

La aplicación de esta práctica requiere, por tanto, una evaluación cuidadosa de los requisitos imprescindibles de los cultivos en sus diferentes etapas de crecimiento y sus condiciones de contorno, como la evapotranspiración, las características del suelo y la climatología.

1.4. CAPACIDAD DE ANTICIPACIÓN A LOS PROBLEMAS DERIVADOS DEL ESTRÉS HÍDRICO Y SALINO

La aplicación de técnicas de restricción hídrica o el riego con aguas de elevada salinidad puede llevar consigo problemas que redunden en mermas en la calidad de los frutos y en el rendimiento de la producción de las cosechas, de manera que se hace imprescindible disponer de herramientas que permitan monitorizar el estado fisiopatológico de los cultivos y doten de capacidad de reacción a los agricultores y empresas relacionadas con el sector para enmendar los problemas surgidos antes incluso de las primeras manifestaciones fisiológicas y/o visuales.

En este sentido, la combinación de las herramientas agronómicas de fertirriego inteligente mediante RW junto con marcadores biomoleculares de detección precoz de sistema de cultivo podría suponer un avance en solución de problemas con la antelación suficiente a su aparición. Para ello, en esta tesis se pretende poner en valor una serie de marcadores moleculares avanzados en forma de modelo de reacción temprano frente a problemas agronómicos basados en el estudio combinado de hormonas vegetales, aminoácidos y de marcadores de estrés oxidativo (oxilipinas vegetales: fitoprostanos y fitofuranos).

La combinación de la medida de hormonas vegetales y aminoácidos permite visualizar el estado fisiológico del cultivo de mandarino, desde su desarrollo y crecimiento hasta su activación o inactivación metabólica dependiendo de las condiciones edafoclimáticas y agronómicas empleadas (Collado-González y col., 2014). El uso de marcadores de estrés oxidativo, fitoprostanos y fitofuranos, moléculas generadas por ataque de radicales libres sobre el ácido linolénico de las células vegetales a causa de estreses bióticos y abióticos están comenzando a ser muy empleado en agronomía como factor de diagnóstico temprano frente a estrategias agronómicas y de evolución de cultivos leñosos y hortofrutícolas

(Pincioli y col., 2018; Collado-González y col., 2015, 2016; García-García y col., 2019).

II – JUSTIFICACIÓN

II - JUSTIFICACIÓN

Como es sabido, la IPCC pronostica cambios en el clima caracterizados por un aumento en la frecuencia y la intensidad de fenómenos meteorológicos extremos como olas de calor, episodios graves de sequía o inundaciones tras lluvias torrenciales (IPCC, 2014).

Las plantas son organismos sésiles, por lo que deben adaptarse al medio y no pueden huir ni refugiarse de las condiciones ambientales adversas (Balfagón y col., 2022). En especial en regiones mediterráneas, el aumento de las temperaturas conllevará una mayor evapotranspiración y una menor pluviometría. Los cítricos presentan unas elevadas necesidades de riego (Balfagón y col., 2022), por lo que el cambio climático provocará en consecuencia, un aumento de las necesidades de riego para este cultivo. Los cítricos son uno de los tipos de cultivo más importantes en todo el mundo y España es el sexto productor mundial de cítricos frescos y es el primer exportador de naranjas, mandarinas y limones (Balfagón y col., 2022). En la actualidad, el productor de cítricos no tiene agua disponible para regar la totalidad de su finca y debe recurrir a restricciones hídricas programadas y/o a fuentes de agua alternativas, frecuentemente salinas.

En general, los rasgos específicos de los árboles que controlan e influyen en la floración, el desarrollo de los frutos, la abscisión y la maduración implican cambios metabólicos adaptativos señalados por diferentes hormonas que intervienen en diferentes momentos. Las respuestas hormonales dependen del genotipo y la etapa del desarrollo de la planta, de los factores que le generan estrés, el momento fenológico en que se producen, la gravedad de éstos y su duración.

La tolerancia de las plantas también depende del rendimiento del metabolismo de las plantas. La mayoría de las respuestas y adaptaciones parecen estar reguladas por los niveles hormonales y los cambios en la sensibilidad a ellas. En general, se considera que las fitohormonas forman parte del mecanismo de transmisión de señales producido por los estímulos ambientales (Balfagón Sanmartín, 2016). Por ejemplo, el ácido absícico (ABA) se considera el principal regulador de las respuestas de las plantas a la salinidad porque promueve la reducción del crecimiento, la senescencia de las hojas, el cierre de los estomas, el

ajuste osmótico, el aumento de la conductancia radicular y la inducción génica (Balfagón Sanmartín, 2016). En los cítricos maduros, el etileno exógeno que acelera el color se rompe a través de la degradación de la clorofila y la síntesis de carotenoides. Las citoquininas derivadas de las hojas (Zeatina) podrían desempeñar un papel en la estimulación del crecimiento de las yemas en árboles de hoja perenne (Hutton y van Staden, 1983). Ciertos aminoácidos están involucrados en la síntesis de hormonas y en los mecanismos de tolerancia al estrés abiótico. La metionina es un precursor esencial en la biosíntesis del ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) (Osorio Mora, 2000), leucina y prolina en la síntesis de giberelinas (Sonnino y Ruane 2017). La alanina, la arginina y la glicina intervienen en la síntesis de clorofila, mientras que la lisina, el ácido glutámico y la glicina en los sistemas de resistencia de las plantas (Castillo Sánchez, 2022). Hasta la fecha, existen pocos estudios previos que describan la relación del riego con el agua salina y su comportamiento metabólico en términos de perfil de fitohormonas (Khoshbakht y Asgharei, 2015; Mahmoud y col., 2021).

Al mismo tiempo, la variación en los niveles de oxilipinas, moléculas asociadas a procesos oxidativos consecuencia de las condiciones desfavorables podría resultar un claro indicador de los niveles de estrés a los que se encuentra sometida la planta, incluso antes de que comiencen a aparecer síntomas visibles (Lipan y col., 2020).

En este trabajo se busca asociar los cambios metabólicos en términos de fitohormonas, aminoácidos y oxilipinas en mandarinos regados con agua regenerada salina y en condiciones de restricción hídrica respecto a parámetros agronómicos.

Nuestra hipótesis es que tanto la calidad del agua como la aplicación de estrategias de riego deficitario controlado puede afectar los parámetros agronómicos en los mandarinos y que esto puede ponerse de manifiesto a través de la composición agrometabólica de las hojas.

2.1. SITUACIÓN DE LOS RECURSOS HÍDRICOS EN ESPAÑA

2.1.1. Aguas superficiales

La situación de los recursos hídricos superficiales en España se caracteriza por una gran desigualdad geográfica y estacional. Mientras que las regiones situadas al norte y noroeste de la península (Galicia, Cantábrico y Pirineos) se caracterizan por una alta pluviometría y una abundancia de ríos caudalosos como el Miño, Nalón y Ebro, el centro y sur peninsular (Castilla La Mancha, Andalucía y Murcia) cuentan con ríos con caudales más irregulares, como el Guadalquivir, Segura y Júcar, y sufren períodos de sequía prolongada alternados con lluvias torrenciales. Concretamente en la vertiente Mediterránea, que cuenta con cuencas pequeñas y una escasa capacidad de regulación natural, muestra una gran dependencia de embalses y trasvases para el abastecimiento y riego.

La evolución de los indicadores de sequía en el territorio español durante las pasadas seis décadas muestra una situación de alternancia de períodos extremadamente secos seguidos de etapas de normalidad hídrica (Figura 4). El impacto del cambio climático hace prever que estos episodios de escasez se acentúen, con el consiguiente perjuicio para la productividad agrícola.

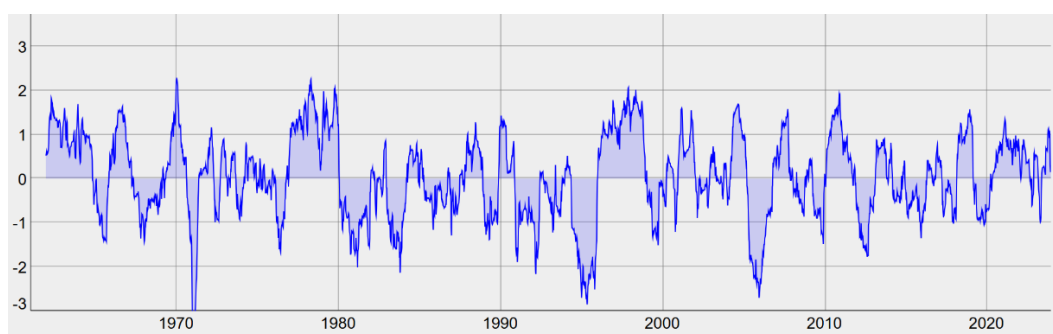


Figura 4. Evolución de la situación de sequía en las últimas 6 décadas según el indicador SPI para la región de Murcia.

Fuente: Base de datos histórica del CSIC (Vicente-Serrano y col, 2017)

En el año previo al estudio la situación de partida a diciembre de 2017 para la demarcación intercomunitaria del Segura era de emergencia teniendo en cuenta el número de desviaciones estándar de la precipitación caída respecto a la media normalizada a lo largo de los 12 meses anteriores (índice de precipitaciones estandarizado, SPI; McKee y col., 1993) según la base de datos histórica del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) (Figura 5).

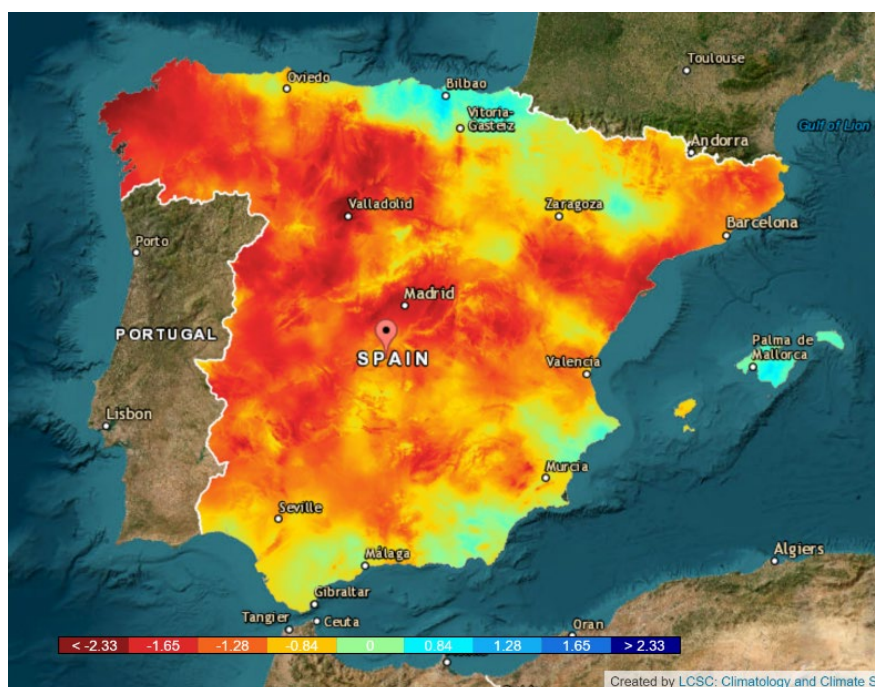


Figura 5. Situación del estado de la sequía hidrológica a diciembre de 2017, tres meses después de iniciado el estudio, según índice SPI para una escala temporal de 12 meses.

Fuente. Base de datos histórica del CSIC (Vicente-Serrano y col., 2017)

En el año hidrológico en curso durante el estudio la situación muestra una mejora respecto a los años previos. A finales de septiembre de 2018, el mes de conclusión de la toma de muestras, y con los datos disponibles para el caso de las distintas demarcaciones era la que se muestra en el mapa de la figura 6. A pesar de presentar un panorama de normalidad en la mayor parte de las cuencas, en los años sucesivos, cuencas como las del Júcar y Segura, después de un par de años (2022/24)

extremadamente secos, afrontaban el año hidrológico presente (2025) sin recursos suficientes como para considerar superados los problemas de escasez.

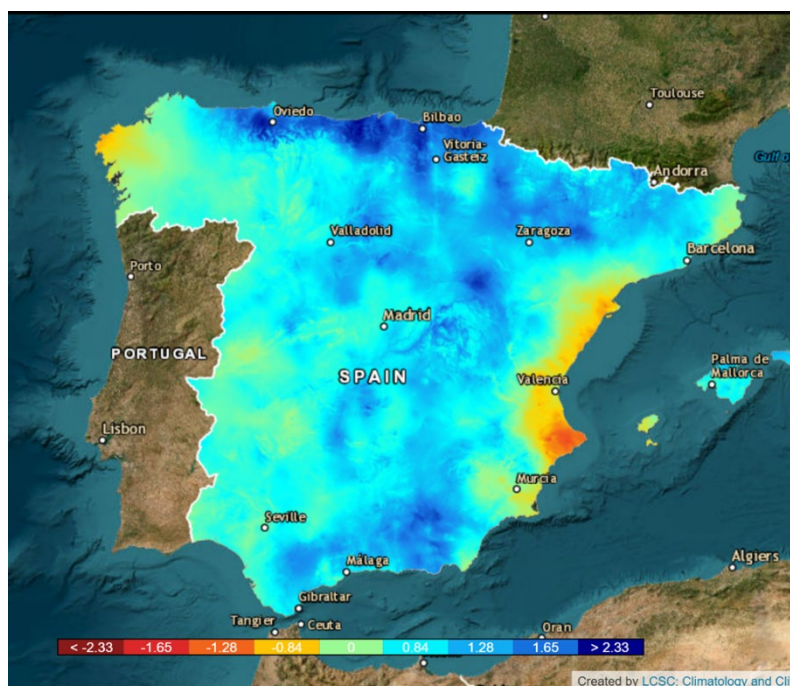


Figura 6. Situación del estado de la sequía hidrológica a septiembre de 2018 según índice SPI para una escala temporal de 12 meses.

Fuente. Base de datos histórica del CSIC (Vicente-Serrano y col., 2017)

2.1.2. Aguas subterráneas

El agua superficial representa en España un 74% del total del suministro de agua para el regadío, siendo la principal fuente, seguida del agua subterránea con un 24 % (López Geta, 2020).

España cuenta con más de 700 masas de agua subterránea identificadas oficialmente, con un volumen estimado de 30.000 hm³/año, aunque solo una parte es realmente aprovechable (Andreu Rodes y Fernández Mejuto, 2019). Tanto la cuenca del Guadiana, que cuenta con extensos acuíferos, como el levante y sureste peninsular (Murcia, Alicante y Almería), con acuíferos como el Campo de Cartagena y la Sierra de la Pila, dependen fuertemente de la explotación de sus

aguas subterráneas bien sea por aprovechamiento de manantiales naturales o a través de la perforación de pozos verticales o galerías de infiltración. Esta dependencia ha llevado a la superación de la capacidad de recarga natural ocasionando un descenso continuo en los niveles de los acuíferos, que en zonas costeras se ven hidrostáticamente compensado por la intrusión de aguas marinas afectando negativamente a la calidad del agua disponible para abastecimiento y riego (Navarro-Acosta, 1998; Argamasilla y col., 2017).

La demarcación del Segura (DHS) contabiliza unas 63 masas de agua subterránea, de las cuales el 60% se encuentra en mal estado desde el punto de vista cuantitativo. Un total de 54 masas de agua subterránea sufren presiones de tipo cuantitativo, 30 de las cuales con un índice superior al 100%, es decir se extrae anualmente un mayor volumen del que se puede reponer. En algunos casos ese índice supera con mucho la capacidad de recarga natural (Figura 7). Por otro lado, el análisis de la Confederación Hidrográfica del Segura (Sánchez y col., 2024) desvela la aparición de impacto por nutrientes en 24 zonas, principalmente por nitratos. Un total del 35% de las masas de agua subterránea, cubriendo una superficie de 5.457 km², el equivalente al 27% de la extensión total, presentan valores superiores a los límites de 50 mg/l, establecidos en la Directiva sobre Nitratos, cifra recientemente actualizada a 37.5 mg/l (Real Decreto 47/2022), llegando a alcanzar en algunas masas medias muy superiores a los valores límite. De las 21 masas con problemas de calidad química destacan tres, el Campo de Cartagena, en cuyo caso el problema termina llegando al Mar Menor, el Valle del Guadalentín, y las Vegas Media y Baja del Segura, que son las que aglutinan la mayor parte del regadío.

La elevada rentabilidad de los cultivos ha llevado a la sobreexplotación de las masas de agua subterránea provocado el agotamiento de los acuíferos por un uso más allá de las posibilidades de recarga natural. Al mismo tiempo las infiltraciones en el terreno de los retornos del riego han provocado la contaminación de manera difusa de algunas de las masas de agua existentes.

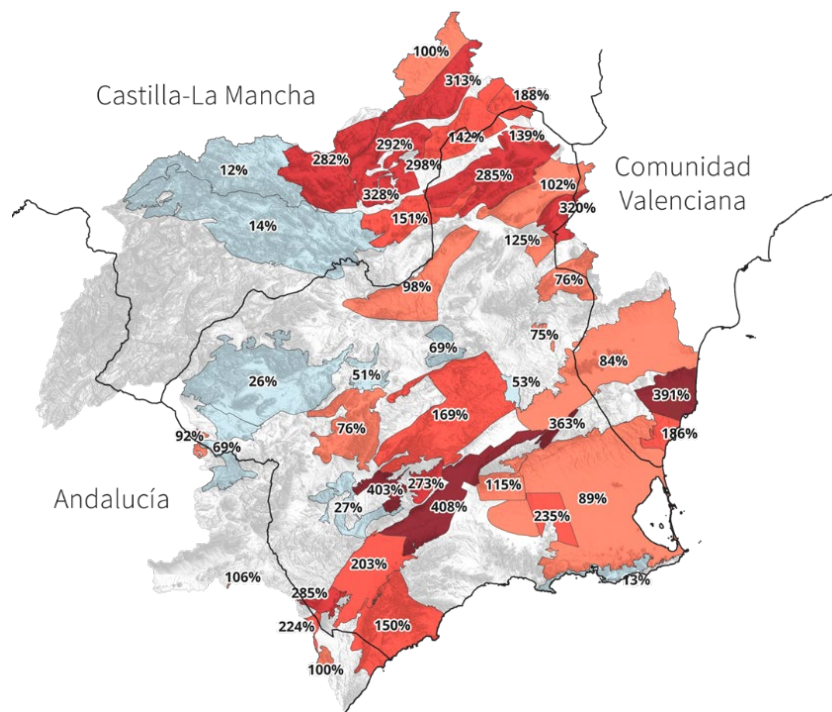


Figura 7. Nivel de sobreexplotación de los acuíferos de la cuenca del Segura

Fuente: mapa confeccionado con datos de la Confederación Hidrográfica del Segura. Cuando las extracciones se sitúan por encima del 80% del agua anual disponible y el nivel freático (medido por sensores piezométricos) baja, se considera que la masa de agua está sobreexplotada.

Lejos de constituir una problemática particular de una zona concreta de la Península Ibérica, un estudio publicado por Jasechko y colaboradores (2024) compilando datos de 170.000 pozos en un total de 1.693 sistemas acuíferos de más de 40 países que abarcan aproximadamente el 75% de las extracciones mundiales de agua subterránea, muestra una disminución generalizada de los recursos a un ritmo de 0.5 metros/años de media de descenso en el nivel freático durante las últimas cuatro décadas (Figura 8). Este descenso se ha ido acelerando a un ritmo mayor a partir del año 2000 en el 30% de los acuíferos, especialmente en las zonas hiperáridas, áridas y semiáridas con extensas zonas de cultivo.

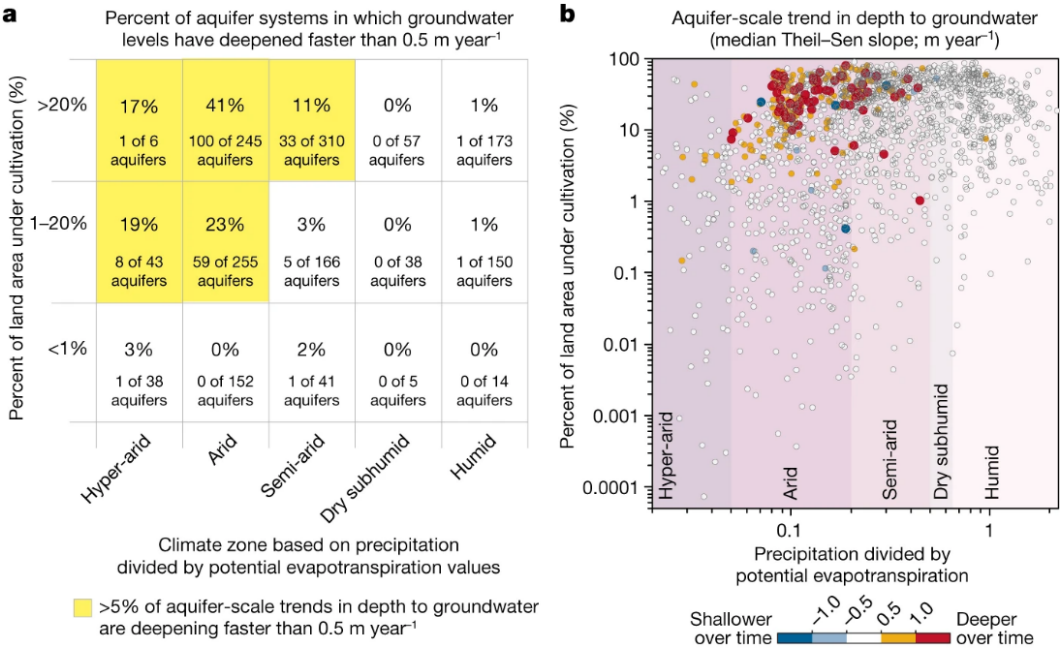


Figura 8. Evolución de la situación de los acuíferos en el siglo XXI contextualizada en función de la zona climática a) y la prevalencia de áreas cultivada b).

Fuente: adaptado de Jasechko y colaboradores (2024).

En España, cada vez más, y como consecuencia de la escasez del recurso agravada por el cambio climático y la contaminación de los acuíferos, se está recurriendo a otras fuentes de agua no convencionales, como son las aguas regeneradas (0,4 %) o las desalinizadas (1,6 %). Actualmente se riegan 57.142 ha con aguas depuradas y 20.550 ha con agua desalinizada. (López Geta y col., 2020; Alcalde Corcuera, 2025; Barceló y col., 2008)

2.2. USO DE AGUAS REGENERADAS Y ESTRATEGIAS DE RIEGO DEFICITARIO

En los últimos tiempos se han producido importantes limitaciones en el uso del agua para la agricultura, principalmente como consecuencia del crecimiento demográfico, el cambio climático y la tendencia hacia la agricultura de regadío (Martínez y col., 2008). El riego en las zonas de cultivo consume anualmente cerca

del 70% de los recursos hídricos renovables mundiales. La variabilidad climática, la reducción en la cantidad y calidad del agua, y la presión de otros sectores que compiten por el mismo recurso presentan un futuro de creciente demanda en el que la sostenibilidad dependerá de cambios en la política del agua y del avance hacia una agricultura inteligente que permita el aumento de la productividad con el menor consumo posible de recursos (Rai y col., 2022).

El uso de recursos hídricos alternativos y las técnicas para optimizar la productividad del agua han cobrado una vital importancia durante las dos últimas décadas (Gómez-Bellot col., 2021).

Estas estrategias suponen una reducción en el consumo de agua total necesario, y el uso de recursos alternativos de bajo costo energético como el agua reciclada (López y col., 2012; Quiroga, 2023, que permitiría adicionalmente reducir la presión sobre acuíferos y embalses, y conlleva como añadido el reciclaje de nutrientes como nitrógeno y fósforo.

2.2.1. Agua regenerada

El agua regenerada tiene un excelente potencial para convertirse, con una gestión adecuada, en una valiosa fuente de agua de riego. Debido a su composición, tiene además la posibilidad de influir positivamente en la nutrición de las plantas haciendo que la concentración de macronutrientes (N, P y K) se acerque a sus niveles óptimos para el crecimiento de las plantas, lo que también podría reducir las tasas de aplicación de fertilizantes (Nicolás y col., 2016). El riego con RW también podría favorecer la actividad de la comunidad microbiana del suelo (Bastida y col., 2018) o la biomasa microbiana (Adrover y col., 2012).

Por el contrario, un manejo inadecuado del riego con RW puede agravar los problemas de salinización secundaria y degradación del suelo a medio-largo plazo, y finalmente resultar en impactos negativos sobre la fisiología del cultivo, el crecimiento, la calidad de la cosecha y otros factores (Romero-Trigueros y col., 2017).

Los efectos perjudiciales de la salinidad en las plantas incluyen el estrés osmótico y la toxicidad iónica (Serrano, 1996). Concretamente las plantas de cítricos son altamente sensibles a las alteraciones osmóticas producidas por la escasez de

agua (Gómez-Cadenas y col., 1996). Existe en la actualidad, un gran número de estudios realizados en condiciones climáticas semiáridas mediterráneas, analizando los efectos de la adopción de estrategias de restricción hídrica en cítricos. Saitta y colaboradores (2021) hacen una breve descripción de muchos de ellos. No obstante, ninguno explora las características agrometabólicas ni las contrastan con las características productivas utilizando agua normal de riego y agua reciclada en condiciones de déficit hídrico.

Situada en el sureste de la Península Ibérica, la Región de Murcia es una región semiárida donde la gran demanda agrícola concurre con la escasez de precipitaciones, el agotamiento de las fuentes hídricas usuales, y el aumento en la salinización de los acuíferos. En concreto, el 93% del agua regenerada en Murcia supera los $2 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ de conductividad eléctrica y un 37% los $3 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$, según datos de ESAMUR (ESAMUR, 2017). La salinidad elevada está entre los factores ambientales más relevantes causantes de las mermas en la producción agrícola a nivel global y constituye uno de los desafíos más importantes para la futura sostenibilidad de los sistemas de producción bajo riego con AR en zonas semiáridas.

Entre los efectos más notorios de las elevadas concentraciones de fitotóxicos se encuentra el cierre estomático (Gimeno y col., 2012), que provoca una reducción en los niveles de CO_2 disponibles para la fotosíntesis (García-Sánchez y Syvertsen, 2006) y fomenta la acumulación de iones (Brumos y col., 2009; Mouhaya y col., 2010), y el deterioro foliar, que suele redundar en pérdidas en la producción total de fruta (Murkute y col., 2005). En consecuencia, el boro y la alta salinidad pueden comprometer la viabilidad del uso de agua regenerada a largo plazo en cítricos, siendo el problema mayor a medida que aumenta el tiempo de exposición a estos factores. Un conocimiento profundo de la función que desempeñan tanto fenología y capacidad fotosintética como el estado hídrico de la planta en la función fisiológica, y sus interacciones durante el ciclo de cultivo, es clave para evaluar la productividad de los árboles frutales (Mirás-Avalos y col., 2011).

2.2.2. Estrategias de riego deficitario controlado

La gestión eficiente del agua representa uno de los desafíos más críticos para la producción hortícola a nivel mundial, exacerbado por la creciente escasez de

recursos hídricos. El consumo agrícola global es la principal fuente de demanda de agua dulce, acaparando históricamente más de dos tercios del consumo total humano (Yang y col., 2022). Esta realidad impone la necesidad urgente de transformar las prácticas de riego, especialmente en regiones áridas y semiáridas, donde la optimización de los recursos hídricos es vital para la sostenibilidad del sector.

Como se ha comentado anteriormente, las prácticas tradicionales de cultivo implican la utilización excesiva de este recurso lo que conlleva una baja eficiencia en cuanto al aprovechamiento de un bien limitado. Esencialmente el riego deficitario controlado (RDC) consiste en reducir el riego, e incluso suprimirlo, en los momentos en que el cultivo es menos sensible al estrés hídrico, conservando únicamente el 100% de las cantidades requeridas por la evapotranspiración del cultivo sólo en los periodos en los que la ausencia de agua puede ocasionar pérdidas importantes. De esta manera se consigue una eficiencia en el uso y la productividad hídrica con pérdidas mínimas de rendimiento (Champaneri y col., 2024).

En el contexto de la creciente escasez de recursos hídricos en regiones semiáridas, el objetivo primordial del RDC se aleja de la tradicional maximización del rendimiento por unidad de tierra. En cambio, busca la maximización de la productividad del agua (WP) o la eficiencia en el uso del agua (WUE), cuantificada como la cantidad de producto comercializable obtenida por unidad de volumen de agua utilizada (kg/m^3) (Camacho-Ferre y Rodríguez, 2005).

La justificación económica de este enfoque se basa en la ley de rendimientos marginales decrecientes (Case y Fair, 1999), que indica que para un proceso productivo, añadir más de un factor productivo mientras se mantienen los otros constantes dará progresivamente menores incrementos en la producción por unidad (Samuelson y Nordhaus, 2001). En el olivar, por ejemplo, se ha observado que la eficiencia en el uso del agua para la producción de aceite es significativamente mayor bajo aportaciones reducidas de agua ($0.6 \text{ kg}/\text{m}^3$) en comparación con aportaciones cercanas a la demanda máxima ($0.15 \text{ kg}/\text{m}^3$). Esto demuestra que el agua adicional en la parte superior de la curva de producción genera un rendimiento marginalmente menor (Pérez-Rodríguez y col., 2022).

Por lo tanto, en situaciones de restricción hídrica, la aplicación estratégica del RDC permite optimizar el uso del recurso. El agua ahorrada puede ser destinada a irrigar superficies adicionales o utilizada para otros propósitos, lo que resulta en una estabilización de los ingresos del agricultor y un beneficio económico más amplio para la comunidad de usuarios de agua. Esta aproximación debe ser integrada con las políticas de gestión hídrica regionales, especialmente en cuencas donde existen restricciones administrativas claras sobre las dotaciones anuales de riego (como los 1,500 m³/ha en el olivar tradicional en Andalucía). La clave del éxito reside en la capacidad para realizar esta optimización sin provocar una reducción significativa e inaceptable de la producción (Pastor e Hidalgo, 2005).

El RDC es posible gracias a la existencia de una sensibilidad diferencial al estrés hídrico entre los procesos de crecimiento de la planta. Específicamente, el crecimiento vegetativo, la producción de brotes y hojas, es generalmente más sensible a la falta de agua que el crecimiento reproductivo, durante el desarrollo de frutos y semillas (Rai y col., 2022).

Al aplicar la restricción hídrica durante las fases de alta actividad vegetativa, la planta reduce su vigor, lo cual es altamente deseable en plantaciones modernas de alta densidad. Este control del crecimiento vegetativo reduce los requerimientos de poda. En frutales caducifolios, el crecimiento de los brotes es intenso al inicio de la temporada y se ralentiza a medida que el crecimiento del fruto se acelera. Limitar el agua en esta fase temprana logra restringir el crecimiento de los brotes sin afectar notablemente la expansión del fruto en etapas posteriores. De esta manera, el RDC actúa como un regulador fisiológico, canalizando los fotoasimilados y el agua que se habrían destinado al desarrollo excesivo del dosel arbóreo hacia el órgano de interés económico (Vélez. y col., 2012)

2.3. REGULACIÓN HORMONAL EN CONDICIONES DE ESTRÉS HÍDRICO Y ELEVADA SALINIDAD

Las hormonas vegetales juegan un papel crucial para garantizar un crecimiento adecuado de la planta y una adaptación a las condiciones cambiantes provocadas por entornos en constante evolución (El Sabagh y col., 2022)

Todos los rasgos específicos de las plantas que controlan e influyen en la morfología (Wang y Wang, 2022) la floración (Chandler, 2011), la abscisión foliar, y la maduración (Iqbal y col., 2017; Fenn y Giovannoni, 2021) y desarrollo de los frutos (Ciura y Kruk, 2018) implican cambios metabólicos señalizados por diferentes hormonas. Las respuestas hormonales dependerán del genotipo y la etapa de desarrollo de la planta en el momento en que se produce el estrés, la duración y gravedad de éste y los factores ambientales causantes.

La mayoría de las respuestas y adaptaciones parecen estar reguladas por los niveles y cambios hormonales en sensibilidad hacia los estímulos ambientales (Figura 9).

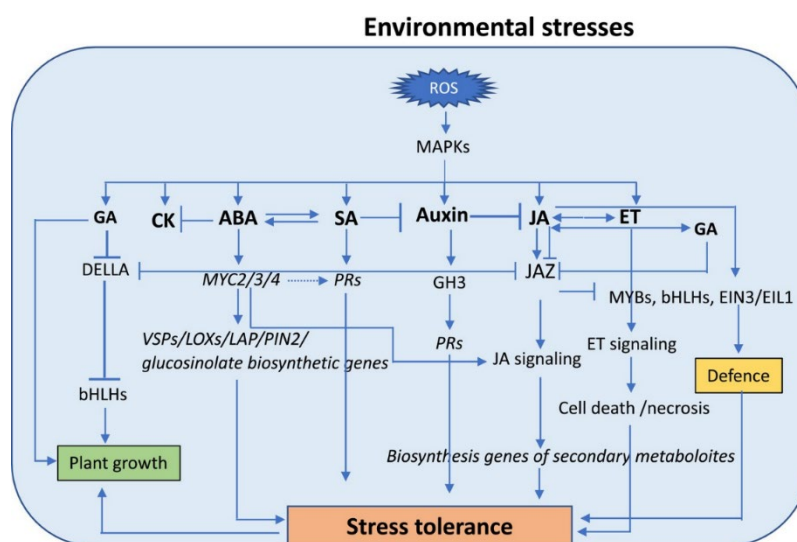


Figura 9. Diafonía fitohormonal durante el estrés ambiental.

Fuente: adaptado de Ali y col., 2024

Frente a un estrés ambiental se originan especies reactivas de oxígeno (ROS) que activan diferentes vías de señalización dando lugar a una compleja red de interacciones aditivas, antagónicas y sinérgicas, cruciales para coordinar la respuesta y gestionar los diversos procesos internos como el crecimiento y el desarrollo. Esta comunicación ocurre en múltiples niveles reguladores, incluida la transcripción de genes, la estabilidad de proteínas y la homeostasis hormonal, lo

que influye en la arquitectura general y la robustez del sistema inmunológico de la planta.

Hormonas como el ácido salicílico (SA), el ácido jasmónico (JA), las auxinas, las citoquininas (CK), el etileno (ET) y el ácido abscísico (ABA) son capaces de provocar interacciones a través de una red de vías interconectadas que implican efectos sobre la estabilidad de las proteínas, modificaciones químicas sobre estas, coactivación o represión de proteínas diana, expresión de genes involucrados en la activación de procesos posteriores, modulación de la concentración y estabilidad de las hormonas dentro de la planta, adaptación de las respuestas inmunitarias proporcionando resistencia al entorno e iniciando respuestas defensivas específicas, orquestando el equilibrio entre crecimiento y tolerancia al estrés, y para regular procesos como el desarrollo de las raíces y el fototropismo (Husen y Zhang, 2023).

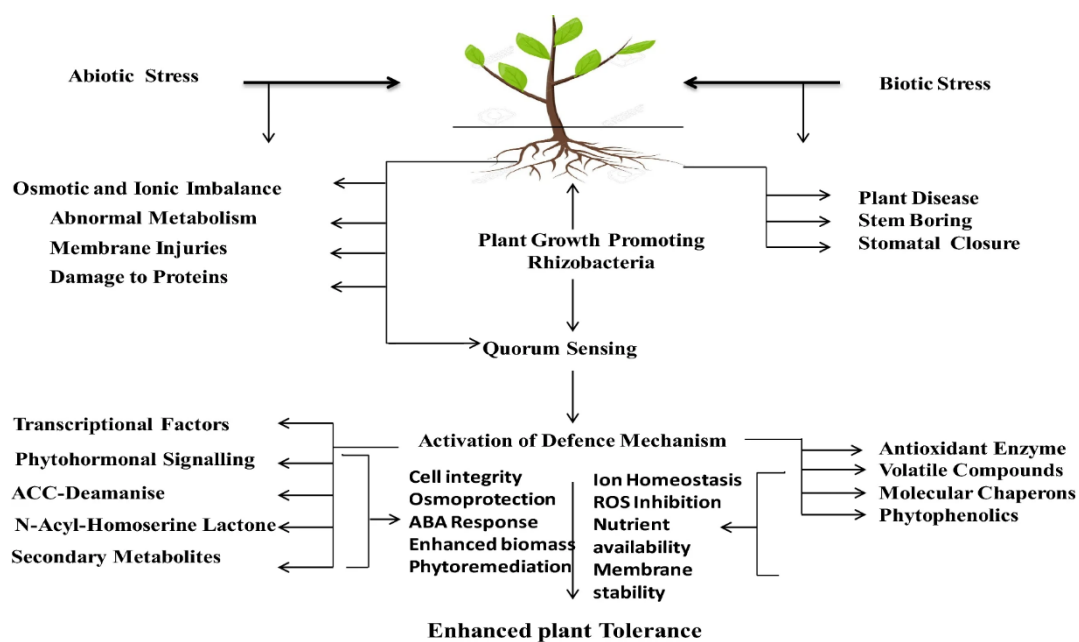


Figura 10. Mecanismos y protección frente al estrés ambiental por PGPR

Fuente: adaptado de Khan y colaboradores 2020.

A nivel molecular, la fisiología del RDC y el riego con agua regenerada está íntimamente ligada a la señalización hormonal en respuesta a la escasez de agua y

el estrés salina. Tanto el ácido abscísico (ABA) como el etileno y el ácido jasmónico (JA) actúan como moléculas clave en procesos de latencia, regulación osmótica e inhibición del crecimiento vegetativo (Murphy, 2015).

El estrés hídrico controlado induce la translocación y acumulación del ABA, lo que provoca el cierre parcial o total de los estomas. Este mecanismo reduce drásticamente la transpiración y, consecuentemente, permite a la planta conservar sus reservas hídricas. La inducción controlada de este proceso hormonal maximiza la eficiencia del uso del agua a nivel foliar. En condiciones de sequía severa el ABA puede promover la acumulación de etileno, hormona que participa en la abscisión de hojas y frutos, un mecanismo extremo utilizado por la planta para reducir la superficie de transpiración y el número de órganos que requieren agua.

Los efectos inhibitorios del ABA sobre el crecimiento son contrarrestados a menudo por las giberelinas. Esta relación antagónica es clave para que la planta equilibre la necesidad de conservación de agua impuesta por el ABA con los procesos de crecimiento esenciales favorecidos por giberelinas, auxinas y citoquinas (Murphy, 2015).

El objetivo final del riego con agua regenerada combinada con estrategias de riego deficitario controlado se enfocaría en provocar una señalización a través de la generación de fitohormonas suficiente para lograr la conservación de agua y la reducción vegetativa, pero manteniendo un potencial hídrico foliar por encima de un umbral que pudiera comprometer la actividad metabólica esencial o la expansión celular del fruto, de manera que no se produzca una bajada del rendimiento significativa.

2.4. EL CULTIVO DE CÍTRICOS EN CONDICIONES DE ESTRÉS HÍDRICO Y SALINO

El cultivo de cítricos (*Citrus* spp. Rutaceae), originario de las áreas tropicales y subtropicales de Asia (sureste asiático), China, India y el archipiélago de Malasia (MAPAMA, 2017), es actualmente uno de los cultivos comerciales más importantes a nivel internacional e incluyen una variedad de cultivos frutales extendidos actualmente por más de 140 países, siendo naranjas, limones, mandarinas y

pomelos los principales comercializados y consumidos principalmente como fruta fresca, jugo o concentrado.

Aunque la producción y exportación mundial de cítricos ha ido creciendo de manera constante durante las últimas tres décadas, la campaña 2025/26 ha resultado la más baja de los últimos años debido principalmente a las condiciones climáticas adversas.

España es el sexto productor mundial de cítricos frescos y es el primer exportador de naranjas, mandarinas y limones (Balfagón y col., 2022). La región de Murcia es la tercera comunidad autónoma en producción de mandarina en España, con una superficie productiva de unas 5000 hectáreas de un total de 5700 hectáreas (CARM, 2017) localizadas principalmente en el Campo de Cartagena, el Valle del Guadalentín y la Vega del Segura. Se cultivan principalmente clementinas (60%) y variedades híbridas tardías como Afourer, Nadorcott, Orri y Tangold.

Los cítricos presentan unas elevadas necesidades de riego (Balfagón y col., 2022), por lo que el cambio climático provocará en consecuencia, un aumento de las necesidades de riego para este cultivo.

Los cítricos, son sensibles al estrés hídrico y responden cerrando sus estomas para reducir la transpiración y minimizar la pérdida de agua. De este modo, la absorción de CO₂ y la fotosíntesis también se reducen, lo que puede desestabilizar la cadena de transporte de electrones y causar un mayor daño oxidativo dando lugar a la producción de más moléculas oxidativas como el H₂O₂. (Balfagón y col., 2022). Debido a la sequía, el estrés oxidativo afecta más gravemente a los procesos que tienen lugar en mitocondrias y cloroplastos (Mehak y col., 2022). En cloroplastos el estrés hídrico daña la lámina del tilacoide y reduce el contenido de clorofila total a y b (Shafqat y col., 2021). El daño en el contenido de clorofila está relacionado inversamente con la severidad y duración de las condiciones de déficit hídrico (Shafqat y col., 2021). Otro efecto de la escasez de agua es el aumento de la presión osmótica, que dificulta el mantenimiento del flujo de agua a los tejidos de la planta (Balfagón y col., 2022).

Los cítricos son uno de los cultivos, más significativos a nivel mundial, considerados sensibles a la salinidad (Al-Yassin, 2005) y a la acumulación de B (Grattan y col., 2015).

En cítricos, los efectos de la salinidad se han asociado a la acumulación de iones cloruro en los tejidos (Storey y Walker, 1999). La acumulación de cloruro en las hojas de las plantas de cítricos provoca una disminución progresiva del crecimiento de la planta (Bañuls y col., 1991) y una reducción de la fotosíntesis y la transpiración (Bañuls y col., 1991, Moya y col., 2002). De hecho, la salinidad induce una reducción de la clorofila (Aouad y col., 2015).

La respuesta de los cítricos al estrés incluye variaciones en la elasticidad de la pared celular, sobreacumulación de fitohormonas y aumento de la actividad antioxidante celular (Balfagón y col., 2022). Estas respuestas permiten a la planta sobreponerse a condiciones adversas, pero este esfuerzo fisiológico no está exento de costes y, cuando se prolonga en el tiempo, afecta negativamente al crecimiento del árbol y a la cosecha de frutos. De hecho, la falta de agua disponible afecta negativamente al crecimiento y a los procesos reproductivos de los cítricos, resultando en una menor producción (Romero y col., 2006).

A pesar de la reportada sensibilidad de las especies de cítricos a las limitaciones hídricas, es posible cultivar cítricos bajo déficit hídrico manteniendo la productividad y la calidad de la fruta (Pérez-Pérez y col., 2008). La tolerancia de la planta también depende del funcionamiento de su metabolismo. La mayoría de las respuestas y adaptaciones parecen estar reguladas por los niveles hormonales y los cambios en la sensibilidad a los mismos. En las células vegetales, los aminoácidos libres pueden tener varias funciones y beneficios, incluyendo; efectos semi-hormonales, osmoregulación y bioprotección, estabilidad de membrana, y frecuentemente como antioxidante para varios componentes celulares vulnerables incluyendo las membranas (Aghaye Noroozlo y col., 2019). Las fitohormonas juegan un papel crítico en la mitigación del estrés abiótico y pueden mejorar la tolerancia de las plantas (Mahmoud y col., 2021).

2.5. FITOPROSTANOS Y FITOFURANOS COMO BIOMARCADORES DE ESTRÉS

Los fitoprostanos y fitofuranos son un tipo de oxilipinas vegetales que se generan por la oxidación no enzimática del ácido α -linolénico, esencial en el mantenimiento de la fluidez de las membranas celulares.

Son el equivalente de las prostaglandinas y los isoprostanos que se forman en los animales (Medina y col., 2018), con anillos de cinco miembros y dos cadenas laterales.

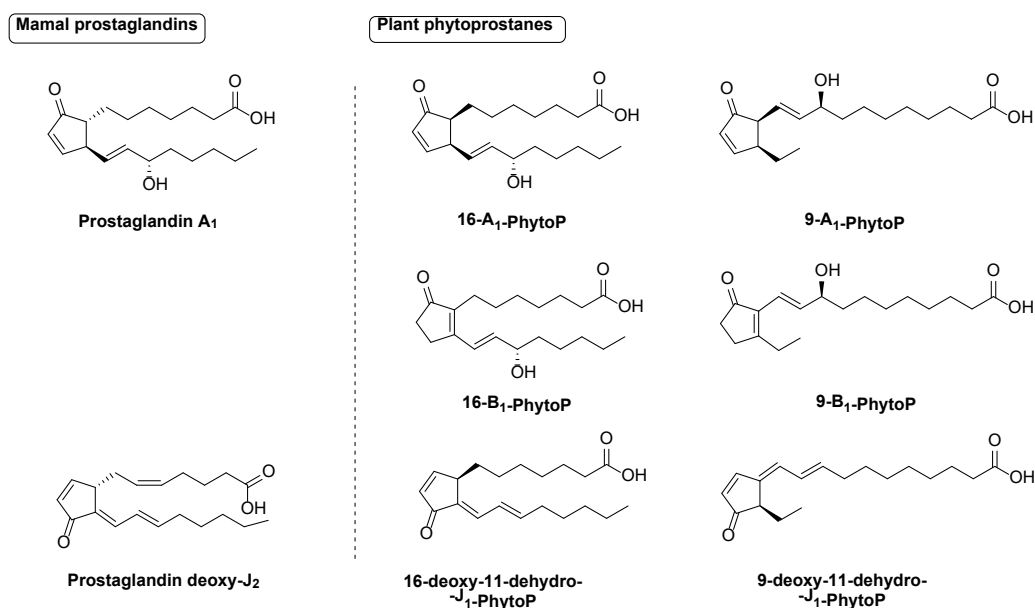


Figura 11. Estructura química de las prostaglandinas A₁ y deoxi-J₂ y los fitoprostanos A₁, B₁, and deoxi-J₁.

Fuente propia: reproducido de Medina y colaboradores (2018). Imagen creada con el programa ChemDraw Profesional versión 17.0

La generación excesiva de radicales libres concretamente en la membrana de los tilacoides cuando la planta está sufriendo algún tipo de agresión por factores como la escasez de agua, la temperatura o radiación UV extremas o el ataque de patógenos, da lugar a este tipo de estructuras, siendo cada vez más descritos en publicaciones recientes como compuestos de defensa de la planta frente a estreses bióticos y abióticos, lo que los ha llevado a la consideración de marcadores en la determinación del estrés oxidativo en cultivos como la almendra, el olivo, las nueces o las avellanas (Leontina y col., 2020; Mersni y col. 2024; Collado-González y col, 2015, 2016; Carrasco-Del Amor y col. 2015; Pino Ramon y col, 2019).

El comportamiento y la fisiología de estos compuestos es poco conocido, a diferencia de las oxilipinas de origen enzimático, precursoras del ácido jasmónico,

una hormona también vinculada al estrés oxidativo. Actualmente se desconoce si la producción de estos compuestos responde a una función metabólica programada. Sin embargo, como subproductos del daño celular, la presencia y concentración de fitoprostanos y fitofuranos puede ser considerada como indicativa del grado de estrés oxidativo y el daño lipídico en las plantas y en los alimentos de origen vegetal.

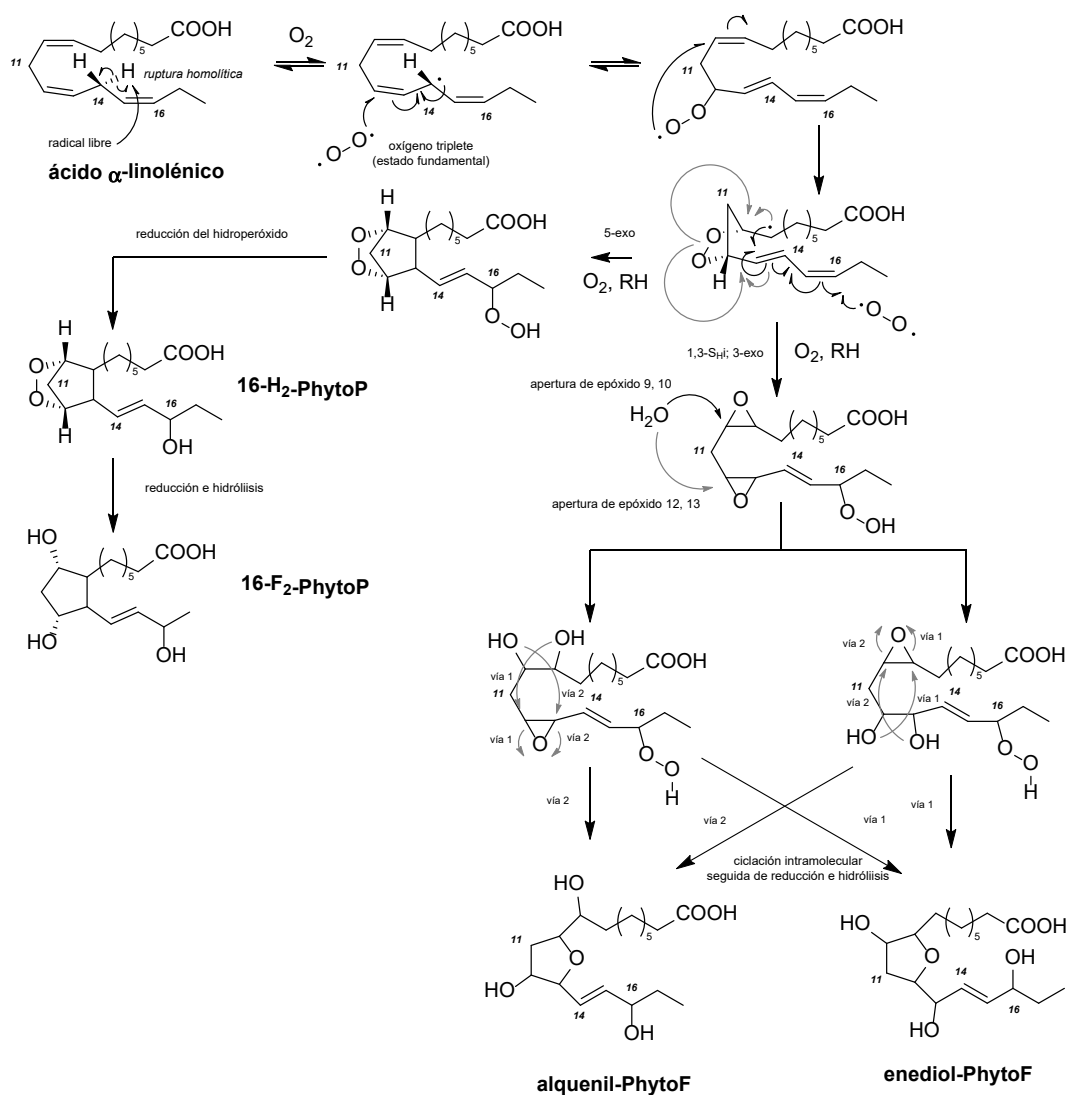


Figura 12. Biosíntesis no enzimática de fitoprostanos y fitofuranos

Fuente propia; adaptado de Leung y colaboradores (2022). Imagen creada con el programa ChemDraw Profesional versión 17.0

Existe un creciente número de estructuras fitoprostanoideas y fitofuranoides que se van descubriendo cada día y que son preparados mediante síntesis química orgánica como compuestos de referencia, por lo que mayormente la bibliografía disponible hace referencia a estudios meramente descriptivos y de presencia de los mismos en diferentes matrices alimentarias y de los posibles efectos que pudieran redundar en la salud humana (Medina y col., 2018). Sin embargo, se desconocen los efectos a nivel fisiológico y cuál es la función específica de cada uno de los mismos en la planta.

En general, los fitoprostanos representan un grado de oxidación normal de la molécula del ácido graso referente a un estrés oxidativo concreto en la planta. Como se ha comentado anteriormente, resultan de la peroxidación inicial del ácido α -linolénico. Sin embargo, los fitofuranos son compuestos de un mayor grado de oxidación y se generan por adición posterior de oxígeno molecular en entornos fisiológicos con más de un 21% de oxígeno, lo que indica un estrés extremo y una afectación patológica importante frente a condiciones abióticas o bióticas más radicales. Es por esto que una forma adecuada de visualizar el estrés oxidativo al cual está sometida una planta pueda resultar de la evaluación de los fitoprostanos y fitofuranos totales libres presentes en ella, y es el motivo por el que se plantea en la presente tesis su análisis concretamente en hojas de mandarina.

En este sentido se ha monitorizado el grado de estrés oxidativo que sufre el mandarina durante sus diferentes estados fenológicos regado con agua normal y agua reciclada salina al 100% y al 50% de sus necesidades hídricas a través de los niveles registrados de fitoprostanos y fitofuranos. Con ello pretendemos establecer si estos nuevos marcadores de estrés oxidativo son válidos para la detección precoz de problemas en el cultivo de mandarina incluso antes que el árbol lo pueda mostrar visiblemente y si alguna de estas oxilipinas pudiera servir de marcador de las evoluciones fisiológicas de este árbol leñoso.

Este estudio pretende aportar nuevas herramientas para el posible uso de agua regenerada en cultivos de cítricos como alternativa al agua normal combinado con estrategias de riego deficitario controlado en zonas donde el agua es un bien escaso manteniendo los parámetros de calidad y de comportamiento fisiológico del mandarina.

III – OBJETIVOS

III - OBJETIVOS

La presente Tesis Doctoral trata de analizar la respuesta agronómica y fisiológica de los cítricos al riego con aguas regeneradas (RW) combinado con estrategias de riego deficitario controlado (RDI) como factores de estrés abiótico a nivel molecular a través de un análisis foliar del cultivo.

Para ello se analizaron los efectos comparados del riego con agua de buena calidad frente a agua regenerada, sin restricciones y aplicando estrategias de riego deficitario controlado, sobre la fisiología de la planta, la producción y la calidad de la cosecha, y la acumulación de sales y disponibilidad de nutrientes a nivel foliar, empleando uno de los portainjertos más utilizados en el área Mediterránea: Citrange Carrizo, sensible a la salinidad y al exceso de boro.

Con el objeto de evaluar la respuesta agronómica y fisiológica del cultivo considerado, se ha hecho uso de herramientas agrofisiológicas de uso común para la evaluación del estado general del cultivo y de técnicas avanzadas de detección de moléculas que pudieran resultar, tras un análisis detallado, en marcadores biomoleculares efectivos del estado fisiopatológico del cultivo.

Los objetivos específicos fueron:

1. Evaluar la respuesta agronómica y metabólica del riego con RW y de la aplicación de estrategias de riego deficitario a medio largo plazo en cultivos de cítricos, analizando su influencia sobre el crecimiento y producción, así como, en la calidad de las cosechas obtenidas a través del análisis de aminoácidos y fitohormonas (Publicación 1).
2. Profundizar en el conocimiento de la respuesta molecular de los cítricos al RDI, prestando especial atención a la aplicación de estas estrategias como es el riego combinado con RW de elevada salinidad (Publicación 2).
3. Mejorar el conocimiento sobre la determinación de fitoprostanos y fitofuranos como marcadores de estrés oxidativo en el cultivo de cítricos, investigando su función como marcador de estrés oxidativo ligado a estrés abiótico en tipo de agua de riego y RDI, y su posible acción fisiológica en el mandarino. (Publicación 3).

IV - MATERIAL Y MÉTODO

IV -MATERIAL Y MÉTODO

4.1. ENSAYO AGRONÓMICO EN MANDARINO

Los ensayos de la Tesis doctoral se llevaron a cabo en una finca comercial de cítricos, localizada en el noreste de la región de Murcia, a 7 km de Molina de Segura (38°07'18''N, 1°13'15''W) (Figura 13) con un clima BSk, según la clasificación de Köppen-Geiger (Peel y col., 2007) durante el año 2018.

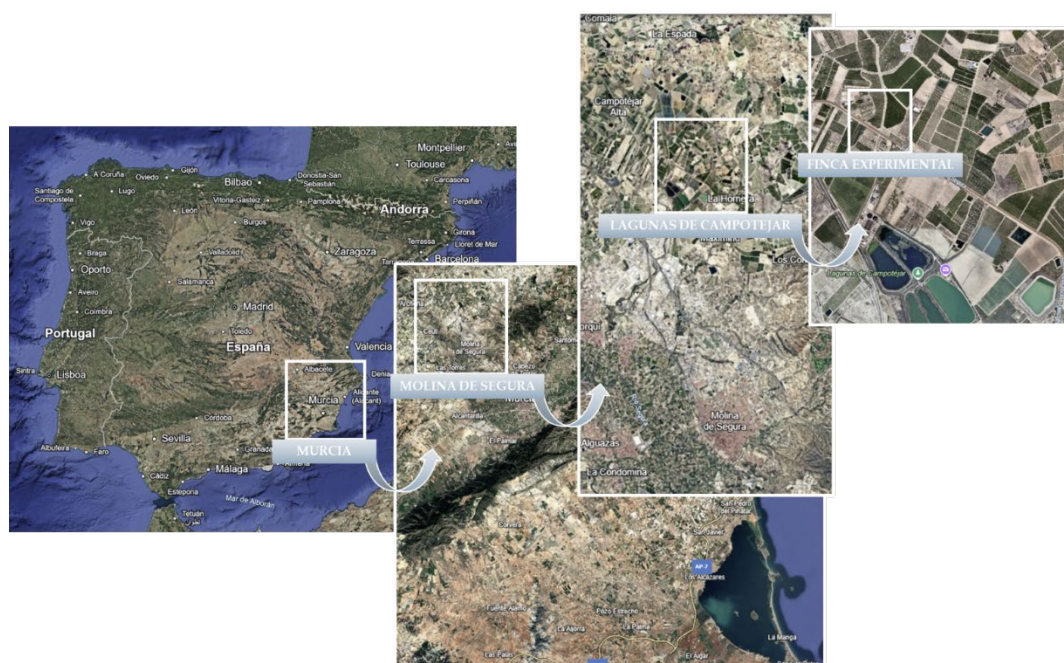


Figura 13. Ubicación de la finca comercial de cítricos del ensayo

Fuente: adaptado de Google Earth

La parcela experimental de 0.5 ha fue cultivada con un total de 96 árboles de mandarina (*Citrus clementina* cv Orogrande) plantados en el año 2000 injertados sobre Carrizo citrange (*Citrus sinensis* L. Obs. x *Poncirus trifoliata* L.) con un marco de plantación de 5 × 3.5 m. Los primeros 90 cm de profundidad del suelo presentaban una textura arcillosa típica de acuerdo con la clasificación taxonómica del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (Soil Survey Staff, 2014)

con una densidad aparente de 1.37 g cm^{-3} , lo que le confiere una alta capacidad de retención de agua y nutrientes.

Para el diseño experimental se estableció una distribución de la parcela en cuatro bloques, cada uno dividido en cuatro cuadrantes (4 réplicas por tratamiento), con un total de 12 árboles organizados en 3 filas adyacentes de 4 árboles en cada uno. De cada cuadrante los dos árboles centrales, en lo sucesivo llamados “árboles interiores”, se utilizaron para llevar a cabo las medidas y los diez restantes se consideraron árboles de guardia para eliminar posibles efectos de borde.

Los muestreos se llevaron a de manera trimestral durante la época de floración/cuajado, y mensual en la fase III de madurez del fruto, en la que la tasa de crecimiento es reducida y se producen cambios físicos y bioquímicos que conducen a la adquisición del color, sabor, aroma y textura óptimos para su consumo y comercialización (Iglesias y col., 2007).

El riego fue programado en base a la evapotranspiración del cultivo (ET_c) acumulada durante las semanas previas. Los valores de ET_c fueron estimados al multiplicar la evapotranspiración de referencia (ET_0), calculada con la metodología de Penman-Monteith (Allen y col., 1998), por un coeficiente de cultivo local y mensual de acuerdo con Nicolás y colaboradores (2016).

La parcela experimental fue regada con dos fuentes de agua diferentes desde el año 2007. La primera de ellas procedente del trasvase Tajo-Segura (FW), considerada de buena calidad agronómica, y la segunda de ellas proveniente de la estación depuradora de aguas residuales del Norte de Molina de Segura (RW), caracterizada por tener un elevado nivel de sales, boro y nutrientes (Figura 14).



Figura 14. Vista panorámica de la parcela experimental de mandarino, el Canal del trasvase Tajo-Segura y la Estación Depuradora de Aguas Residuales (EDAR) de Molina de Segura Norte

Fuente: adaptado de Google Earth.

Para ambas fuentes de agua y cultivo se establecieron dos tratamientos de riego; un tratamiento de riego control regado para satisfacer los requerimientos hídricos del cultivo (100% de la Evapotranspiración del cultivo, ETc) y otro de riego deficitario controlado (RDI) con idéntica dotación que el control durante todo el año excepto durante la segunda fase de acumulación de solutos y azúcares en el fruto, en la que se riega al 50% de la ETc al objeto de conseguir un déficit hídrico moderado.

Ambos tratamientos recibieron las mismas cantidades de fertilizante (N-P₂O₅-K₂O), aplicadas a través del sistema de riego por goteo (215-100-90 kg ha⁻¹ año⁻¹). El control de plagas y las podas se llevaron a cabo siguiendo las prácticas

usualmente utilizadas por los cultivadores de la zona, y no se permitía que las malas hierbas se desarrollasen dentro del huerto.

4.2. REACTIVOS

Los reactivos o-ftalaldehído (OPA), 2-mercaptoetanol, hidrogenofosfato disódico dihidratado y ácido propiónico, el antioxidante butilhidroxianisol (BHA) y el tampón Bis-Tris (bis(2-hidroxietil) amino-tris(hidroximetil)metano) se obtuvieron de Sigma-Aldrich (Madrid, España).

El hexano se obtuvo de Panreac (Castellar del Vallés, Barcelona, España), y todos los disolventes de grado LC-MS, metanol y acetonitrilo, se adquirieron indistintamente de J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, EE.UU.) y Sigma-Aldrich (St Louis, MO, EE.UU.).

El agua empleada para análisis se trató en un sistema de purificación de agua milli-Q de Millipore (Bedford, MA, EE. UU.).

La resina de intercambio catiónico Dowex (H^+) 50WX8-400 se adquirió de Sigma-Aldrich (Madrid, España). Los cartuchos de extracción en fase sólida (SPE) utilizados para la limpieza de muestras, Strata X-AW 100 mg/3 mL, fueron adquiridos de Phenomenex (Torrance, CA, EUA) y los cartuchos Sep-Pak® classic C_{18} de Waters (Milford, MA).

Los patrones utilizados en el análisis de aminoácidos L-alanina (Ala), L-arginina (Arg), L-asparagina (Asn), ácido L-aspartico (Asp), glicina (Gly), ácido L-glutámico (Glu), L-glutamina (Gln), L-histidina (His), L-isoleucina (Ile), leucina (Leu), L-metionina (Met), L-fenilalanina (Phe), L-serina (Ser), L-treonina (Thr), L-triptófano (Trp), L-tirosina (Tyr) y L-valina (Val) se obtuvieron de Sigma-Aldrich (Madrid, España).

Los patrones para la determinación de las fitohormonas ácido 1-aminociclopropanocarboxílico (ACC), trans-zeatina (tZ), trans-zeatina ribósido (Zr), isopentil adenina (IPA), y los ácidos giberélicos GA1, GA3 y GA4 se obtuvieron de Olchemim (Olomouc, República Checa), mientras que el ácido abscísico (ABA), ácido salicílico (SA), ácido jasmónico (JA), de Santa Cruz Biotechnologies (Dallas, Texas, EE.UU.)

Para la detección y cuantificación de fitoprostanos se utilizaron los siguientes compuestos: 9-*epi*-9-D_{1t}-PhytoP, 9-D_{1t}-PhytoP, 9-F_{1t}-PhytoP, 9-*epi*-9-F_{1t}-PhytoP, 9-L₁-PhytoP, 16-B₁-PhytoP, *ent*-16-*epi*-16-F_{1t}-PhytoP, *ent*-16-F_{1t}-PhytoP y los fitofuranos *ent*-16-(*RS*)-9-*epi*-ST- Δ^{14} -13-PhytoF, *ent*-16-(*RS*)-13-*epi*-ST- Δ^{14} -9-PhytoF y *ent*-9-(*RS*)-12-*epi*-ST- Δ^{10} -13-PhytoF, todos ellos proporcionados por el Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM) (Montpellier, Francia)(Guy y col., 2015; Cuyamendous y col., 2015; El Fangour y col., 2015). Todos los compuestos a los que se hace referencia como "ent" (enantiómero), se denominan así porque los materiales estándar proporcionados eran ópticamente puros. Sin embargo, los compuestos analizados, dado su origen, son mezclas racémicas, y no pudieron separarse en las condiciones de cromatografía utilizadas.

4.3. ANÁLISIS DE AGUAS

La calidad de las aguas empleadas para el riego en este ensayo se determinó mediante el análisis de los parámetros físico-químicos a partir de doce muestras de agua de cada fuente recolectadas mensualmente durante el año 2018. Las muestras se recogieron en botellas de vidrio y fueron transportadas en frío al laboratorio y almacenadas a 5 °C hasta su procesamiento.

La determinación de los cationes monovalentes sodio (Na^+) y potasio (K^+), los bivalentes calcio (Ca^{2+}) y magnesio (Mg^{2+}), y el contenido de boro total en cualquiera de sus estados de oxidación (B^0 , B^+ y B^{3+}) se llevó a cabo mediante espectrometría de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-ICAP 6500 DUO Thermo, Manchester, UK).

La cuantificación de los aniones cloruro (Cl^-), nitrato (NO_3^-), fosfato (PO_4^{3-}) y sulfato (SO_4^{2-}) se realizó mediante cromatografía iónica (Metrohm, Herisau, Switzerland).

Las conductividades eléctricas (ECw) y pH de las muestras tomadas se midieron utilizando respectivamente un medidor multiparamétrico Eutech™ PC-2700 (Thermo Fisher Scientific, Eutech Instruments, Singapur) y un pHmetro Crison 507 (Crison Instruments S.A., Barcelona, España).

4.4. ANÁLISIS DE NUTRIENTES Y METABOLITOS A NIVEL FOLIAR

Para cuantificar nutrientes y metabolitos a nivel foliar al comienzo de la tercera fase de maduración del fruto, se recogieron, para cada tratamiento, veinte hojas de ramas no fructíferas en la parte central de cada árbol a primera hora de la mañana, se trasladaron al laboratorio refrigeradas en bolsas de plástico y fueron procesadas previamente a su análisis según el tipo de determinación.

4.4.1. Estado nutricional del cultivo

Para establecer el estado nutricional del cultivo se realizaron medidas sobre el contenido total en hoja de los macronutrientes nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio y azufre, y micronutrientes como el boro.

La determinación de cationes se llevó a cabo utilizando un espectrómetro de masas de plasma acoplado inductivamente ICP-ICAP 6500 DUO (Thermo, Manchester, UK) para el contenido total de boro (B), y los cationes sodio (Na^+), potasio (K^+), calcio (Ca^{2+}) y magnesio (Mg^{2+}), y un cromatógrafo iónico (Metrohm, Herisau, Suiza) en el caso de los aniones cloruro (Cl^-), nitrato (NO_3^-), fosfato (PO_4^{3-}) y sulfato (SO_4^{2-}).

El nitrógeno total se cuantificó mediante el método de Dumas, sensiblemente más rápido y seguro que el método Kjeldahl (Watson y col., 2006)

4.4.2. Extracción de aminoácidos y determinación cromatográfica

Un total de 17 aminoácidos proteinogénicos y no proteinogénicos, y un dipéptido (cisteína-glicina) se analizaron mediante cromatografía de líquidos de ultraaltaresolución acoplada a espectrometría de masas previa derivatización con carbamato de 6-aminoquinolil-N-succinimidilo (AQC) para facilitar su separación cromatográfica y cuantificación ya que el conjugado aumenta notablemente la ionización y la sensibilidad para su detección por espectrometría de masas.

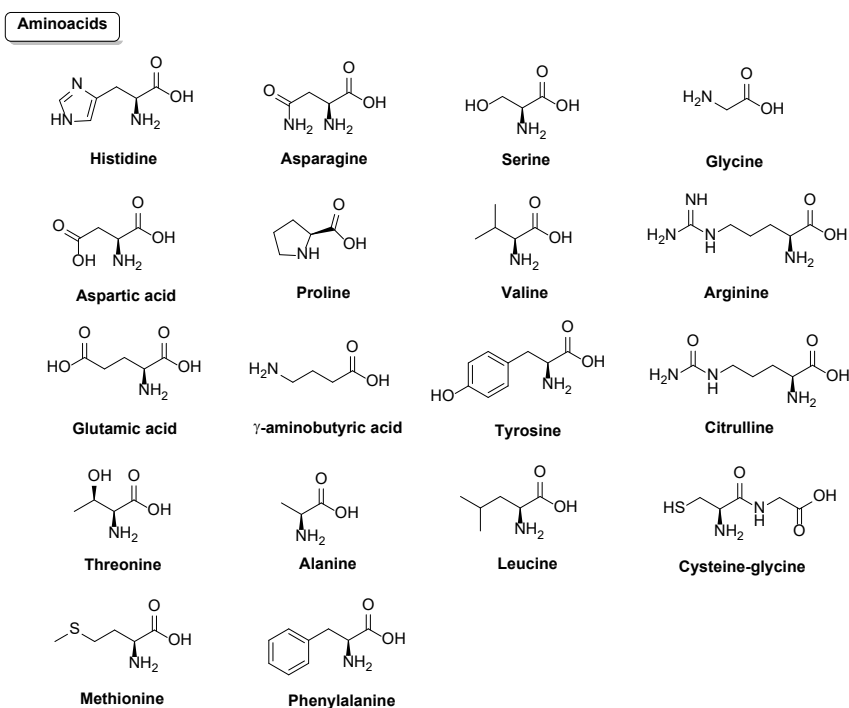


Figura 15. Estructura química de los aminoácidos analizados

Fuente propia: imagen creada con el programa ChemDraw Profesional versión 17.0

4.4.2.1. Preparación de muestras

La extracción de los aminoácidos libres en las muestras de hoja se llevó a cabo siguiendo un protocolo descrito con anterioridad por Collado-González y colaboradores (2014). Una muestra foliar representativa de cada tratamiento se trituró en un mortero con ayuda de nitrógeno líquido. La masa resultante se homogeneizó en una mezcla 1:1 (*v/v*) de metanol y agua con ayuda de una máquina de dispersión de alto rendimiento ULTRA-TURRAX® T10 (IKA, Staufen, Alemania). Los homogenizados se sometieron a ultrasonidos durante 1 minuto en un baño y se centrifugaron a 17900 G durante 10 minutos a una temperatura de 4°C, separando finalmente el sobrenadante. Previo a la determinación por cromatografía se sometió el sobrenadante a un proceso de derivatización de los aminoácidos libres contenidos utilizando columnas AccQ.Tag Ultra (Waters) tal y

como describe Gómez-Bellot y colaboradores (2022), Collado-González y colaboradores (2014), y Cerrillo y colaboradores (2015).

4.4.2.2. *Análisis cromatográfico*

El contenido total de aminoácidos se identificó y cuantificó mediante cromatografía líquida de ultra alta presión usando como detector un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo en tándem con ionización mediante electrospray (ESI) Agilent 6460 (UHPLC-ESI-QqQMS/MS)(Agilent Technologies, Waldbronn, Alemania). La adquisición y procesamiento de datos se realizó utilizando el software MassHunter versión B.04.00 de Agilent Technologies.

La separación cromatográfica se llevó a cabo inyectando un volumen de 20 μ L de muestra a través de una columna BEH C₁₈ (2.1 x 50 mm, 1.7 μ m) (Waters, Mildford, MA, EE.UU.) en modo gradiente usando como disolventes una mezcla 95:5 (*v/v*) de agua Milli-Q y acetonitrilo, ácido fórmico y acetato de amonio 5 mM en agua (10:6:84 *v/v/v*) como fase móvil A, y acetonitrilo acidificado con ácido fórmico (99.9: 0.1 *v/v*) como fase móvil B. El programa de elución consistió en un aumento gradual del contenido orgánico de la mezcla partiendo de un caudal isocrático de 0.5 mL min⁻¹ con una composición del 99.9% de fase móvil A entre 0-0.5 min, y disminuyendo progresivamente a un 90.9% A a los 5.7 min, un 78.8% A a los 7.7 min, 40.4% de A entre 8-10 min, 10% de A entre 10.01-12.00 min y recuperación de la composición inicial de 99.9% A entre 12.01-14.00 min.

Para detectar los aminoácidos derivatizados por espectrometría de masas (MS) se ionizaron los compuestos en modo positivo acoplando el cromatógrafo al detector a través de una fuente de electrospray (ESI) con una presión de nebulización de 40 psi, un flujo de gas de 9 L/min a una temperatura de 325 °C y con un voltaje de salida de 4000 V, focalizada por una corriente de chorro (AJT) de 11 L/min a una temperatura de 390 °C, y aplicando un voltaje de fragmentación de 1000 V para el monitoreo múltiple de los fragmentos (MRM). El tiempo de adquisición fue de 12 min para cada muestra. La transición MRM más abundante de cada analito se utilizó para cuantificar los aminoácidos en comparación con su correspondiente estándar auténtico. Las curvas de calibración de los estándares de cada aminoácido se generaron a partir de una disolución stock de los estándares de cada aminoácido disueltos en tampón Bis-Tris (pH 6.5) por diluciones sucesivas (Collado-Gonzalez y col., 2014).

4.4.3. Determinación cualitativa y cuantitativa de fitohormonas

Se analizaron un total de tres citoquinas, trans-zeatina, ribósido de transzeatina e isopentil adenina, tres giberelinas, GA1, GA3 y GA4, la auxina natural más común, el ácido indolacético, el precursor de etileno ácido 1-aminociclopropanocarboxílico ACC, y los ácidos abscísico (ABA), salicílico (SA) y jasmónico (JA) que desarrollan también roles cruciales durante el desarrollo y crecimiento de las plantas.

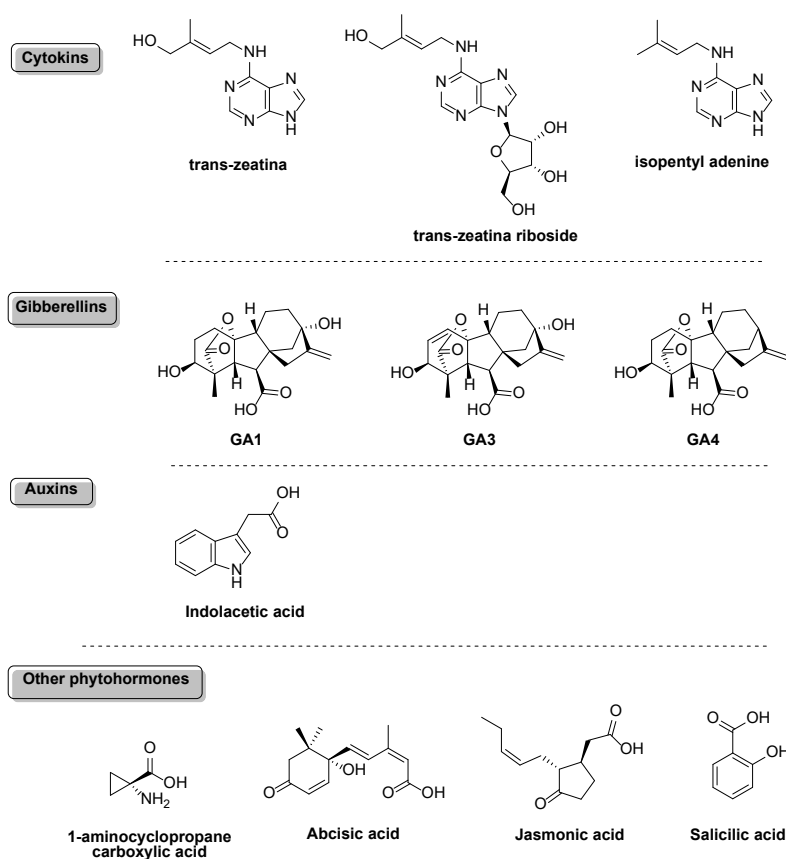


Figura 16. Estructura química de las diferentes fitohormonas analizadas.

Fuente propias: imagen creada con el programa ChemDraw Profesional versión 17.0

La determinación cualitativa y cuantitativa de las fitohormonas seleccionadas se llevó a cabo según el procedimiento descrito con anterioridad por Gómez-Bellot y colaboradores (2022).

4.4.3.1. *Preparación de muestras*

Se homogeneizaron 0.1 g de muestra reducida a polvo con 0.5 mL de una mezcla metanol al 80% en agua (*v/v*). La mezcla se centrifugó a 20.627 G durante 15 minutos a una temperatura de 4 °C y el sobrenadante se pasó a través de un cartucho de extracción en fase sólida Chromafix C₁₈ (Macherey, Nagel, Düren, Alemania). Las muestras eluidas se llevaron a sequedad en un concentrador a vacío SpeedVac (Thermo, Waltham, MA, EE.UU.). Los residuos secos se reconstituyeron con 200 µL de metanol al 80% en agua (*v/v*), se sonicaron durante 8 minutos y se filtraron a través de un filtro de poliétersulfona (PES) de 0.45 µm (Millipore, Madrid, España) previo a su inyección en un cromatógrafo líquido de ultraaltapresión con detector másico.

4.4.3.2. *Análisis cromatográfico*

La separación de las fitohormonas presentes en las muestras recogidas para su determinación cualitativa y cuantitativa se realizó a través de un sistema cromatográfico de ultra alta presión acoplado a un espectrómetro de masas con analizador de triple cuadrupolo 6460 de Agilent (UHPLC-ESI-QqQ-MS/MS) (Agilent Technologies, Waldbronn, Alemania) utilizando una columna analítica BEH C₁₈ (2.1 x 50 mm, 1.7 µm) (Waters, Mildford, MA, EE.UU.) utilizando las condiciones descritas en Gómez-Bellot y colaboradores (2022). La adquisición y el procesamiento de datos fueron realizados con la versión B.08.00 del software MassHunter (Agilent Technologies, Waldbronn, Alemania). La concentración de fitohormonas detectadas en las muestras de hoja se determinó a partir del área bajo la curva tomando como referencia curvas de concentración conocidas preparadas cada día a partir de los estándares comerciales.

4.4.4. Análisis de fitoprostanos y fitofuranos

De entre todos los fitoprostanos y fitofuranos descritos hasta la fecha se analizaron en las muestras de hojas de mandarino un total de ocho fitoprostanos (9-*epi*-9-D_{1t}-PhytoP; 9-D_{1t}-PhytoP; 9-F_{1t}-PhytoP; 9-*epi*-9-F_{1t}-PhytoP; 9-L₁-PhytoP; 16-B₁-PhytoP; *ent*-16-*epi*-16-F_{1t}-PhytoP; *ent*-16-F_{1t}-PhytoP) y tres fitofuranos (*ent*-16-(*RS*)-9-*epi*-ST- Δ^{14} -13-PhytoF, *ent*-16-(*RS*)-13-*epi*-ST- Δ^{14} -9-PhytoF y *ent*-9-(*RS*)-12-*epi*-ST- Δ^{10} -13-PhytoF).

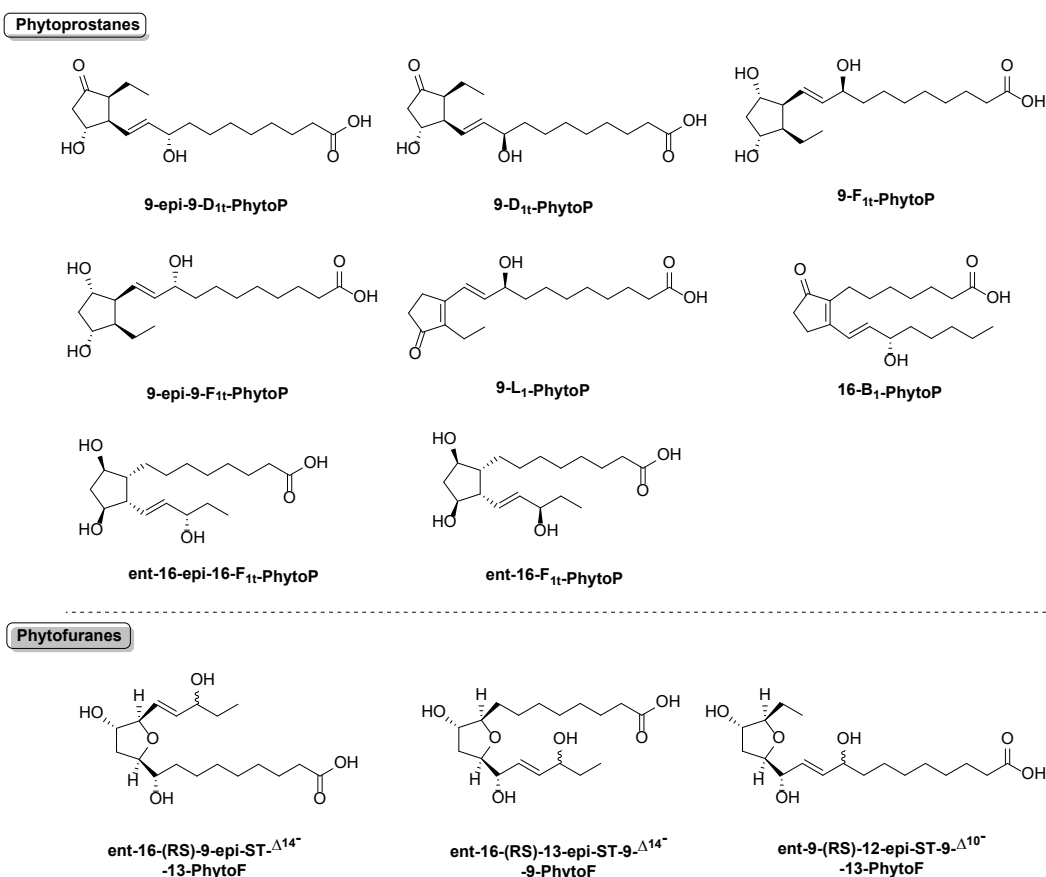


Figura 17. Estructura química de los diferentes fitoprostanos y fitofuranos analizados.

Fuente propia: Reproducido de Domínguez-Perles y colaboradores. Imagen creada con el programa ChemDraw Profesional versión 17.0

4.4.4.1. *Preparación de muestras*

La preparación de muestras se llevó a cabo siguiendo la metodología propuesta por Collado-González y colaboradores (2015) y Gómez-Bellot y colaboradores (2022), con pequeñas modificaciones. Para cada tratamiento la totalidad de las hojas recogidas por árbol se molieron con un molino ultracentrífugo Retsch ZM200 (Haan, Alemania) hasta obtener una muestra combinada fina y homogénea. Se colocaron dos gramos de esta muestra en un tubo de centrífuga al que se añadieron 10 ml de metanol conteniendo BHA como antioxidante (1 g/L) y se agitaron en un vortex para extraer los compuestos activos. A continuación, la mezcla se centrifugó a 4 °C durante 10 minutos a 2000 rpm. El sobrenadante se separó y se filtró a través de una columna de extracción en fase sólida C₁₈ Sep-Pak acondicionada previamente con 10 mL de metanol y 10 mL de agua. Del extracto recogido se tomó 1 mL y se diluyó secuencialmente con 10 mL de hexano, 2 mL de metanol y 2 mL de tampón BIS-TRIS (0.02 M, HCl, pH = 7), agitando vigorosamente después de cada adición. Posteriormente, se realizó una extracción en fase sólida (SPE) utilizando una columna Strata X-AW (100 mg/3 mL), preacondicionada con 2 mL de hexano, 2 mL de metanol y 2 mL de agua Milli-Q.

Una vez eliminados los compuestos no deseados, la columna se lavó con 2 mL de hexano, 2 mL de agua Milli-Q, 2 mL de una solución de metanol/agua Milli-Q (1:3 *v/v*) y 2 mL de acetonitrilo. Los fitoprostanos (PhytoP) y fitofuranos (PhytoF) retenidos en la columna se eluyeron con 1 ml de metanol y se secaron utilizando un sistema concentrador de vacío SpeedVac (Savant SPD121P, Thermo Scientific, MA, EE. UU.). A continuación, los extractos secos se reconstituyeron con 200 µl de una mezcla de disolventes agua Milli-Q/acetonitrilo (90:10, *v/v*), ambos conteniendo ácido fórmico al 0,01 % (*v/v*). Las muestras se sometieron a ultrasonidos durante 10 minutos, se filtraron a través de filtros de fluoruro de polivinilideno (PVDF) de 0,45 µm (Millipore, MA, EE. UU.) y se almacenaron a -80 °C hasta el momento del análisis.

4.4.4.2. *Análisis cromatográfico*

La separación y cuantificación de los PhytoPs y PhytoFs se realizó utilizando un cromatógrafo de líquidos de ultraaltapresión acoplado a un detector de

espectrometría de masas con tecnología de triple cuadrupolo UHPLC-QqQ-MS/MS 6460 (Agilent Technologies, Waldbronn, Alemania), tal y como se ha descrito anteriormente en Domínguez-Perles y colaboradores (2018, 2020). La columna analítica utilizada fue una BEH C₁₈ (2.1 × 50 mm, 1,7 μm) (Waters, Milford, MA, EE. UU.), y la temperatura de la columna se mantuvo a 6 °C. Las fases móviles consistieron en agua Milli-Q/ácido fórmico (99.99:0.01, *v/v*) (disolvente A) y metanol/ácido fórmico (99.99:0.01, *v/v*) (disolvente B). El volumen de inyección del extracto reconstituido fue de 20 μL, y la elución se realizó a un caudal de 0.2 mL/min utilizando el siguiente gradiente lineal: 60.0 % B a 0.00 min, 62.0 % B a 2.00 min, 62.5 % B a 4.00 min, 65.0 % B a 8.00 min y 60.0 % B a 8.01 min. Los parámetros de la fuente se establecieron de la siguiente manera: temperatura del gas: 325 °C, flujo de gas: 8 L/min, nebulizador: 30 psi, temperatura del gas de revestimiento: 350 °C, flujo de gas de chorro: 12 L/min, voltaje capilar: 3000 V y voltaje de boquilla: 1750 V. Los análisis se realizaron utilizando monitoreo de reacciones múltiples (MRM) en modo negativo, y la adquisición y el procesamiento de datos se realizaron utilizando el software MassHunter versión B.08.00 (Agilent Technologies, CA, EE. UU.).

La cuantificación de los PhytoPs y PhytoFs se realizó en base a una curva estándar preparada por doce diluciones sucesivas a partir de una disolución stock en metanol/agua (50:50 *v/v*) a una concentración de 1000 nM de los compuestos.

4.5. FUNCIONALIDAD DEL FOTOSISTEMA II

Para conocer el estado fisiológico de las hojas en la fase III de la maduración del fruto, se cuantificó, en primer término, el contenido de clorofila total y posteriormente se analizaron las siguientes variables fisiológicas:

- Tasa de fotosíntesis neta (A),
- Concentración interna de CO₂ (Ci),
- Fluorescencia de la clorofila (Fv/Fm),
- Eficiencia cuántica (ΦPSII) y
- Decaimiento fotoquímico (qP)

La medición de la tasa la fotosíntesis neta (A) se registró con un sistema de fotosíntesis portátil LI-6400 (Li-Cor, Lincoln, Nebraska, EE.UU.) equipado con un fluorímetro de cámara foliar LI-6400/40 y un inyector de CO₂ LICOR 6400-01.

Los principios de estas técnicas se basan en el hecho de que la energía luminosa absorbida por las moléculas de clorofila en los centros de reacción puede reemitirse en forma de fluorescencia. La combinación de mediciones de fluorescencia de clorofila junto con parámetros de intercambio neto de gases proporciona una buena manera de evaluar el rendimiento fotosintético en plantas estresadas (Jiménez y col., 1997) y comprender el comportamiento de la maquinaria fotosintética bajo estrés (Maxwell y Johnson, 2000).

Las mediciones se llevaron a cabo en tejido no dañado de hojas maduras debido a la mayor estabilidad y respuesta de sus tasas fotosintéticas. Las mediciones se realizaron en dieciséis hojas completamente expandidas por tratamiento, colocadas en una cubeta de hojas de 2 cm². La concentración de CO₂ en la cubeta se mantuvo en 400 μmol mol⁻¹ (concentración ≈ CO₂ ambiente). Las mediciones se realizaron a una intensidad de luz saturada de 1200 μmol m⁻² s⁻¹ y a temperatura ambiente. El flujo de aire se estableció en 300 μmol s⁻¹. El gradiente de concentración de vapor de agua hoja-aire osciló entre 0.75 y 2.0 kPa para todas las mediciones. Las mediciones se realizaron a media mañana (8:00-10:00 GMT) por dos razones principales: (i) para evitar altas temperaturas externas y la baja humedad y (ii) la conductancia estomática alcanza sus valores más altos en este momento (Romero-Trigueros y col., 2014).

La eficiencia fotosintética se calculó como la relación Fv/Fm (fluorescencia variable/fluorescencia máxima). ΦPSII es la fracción de luz absorbida por la clorofila asociada con el fotosistema II y utilizada para procesos fotoquímicos, y qP (desintegración fotoquímica) es la eficiencia de la hoja para eliminar electrones de los aceptores de quinona de PSII.

4.6. PARÁMETROS AGRONÓMICOS: CRECIMIENTO, RENDIMIENTO Y CALIDAD DE LOS FRUTOS

El dosel arbóreo se estimó a partir de la altura y perímetro de todos los árboles mediante un poste marcado a intervalos de medio metro en dos direcciones perpendiculares. Se empleó la fórmula propuesta por Hutchinson (1977), considerando cada árbol como unidad en forma piramidal.

Se evaluaron un total de ocho árboles internos de cada tratamiento para determinar el número de frutos por árbol (NF), el rendimiento en kilogramos (Y), y el peso (W) y diámetro (D) de los frutos. Los frutos se cosecharon a mediados de noviembre y la calidad de la cosecha se determinó a partir de 100 frutos por tratamiento seleccionados aleatoriamente a través de medidas del espesor de la corteza (PT) con un calibre digital, el contenido en jugo (JC) calculado como el peso del jugo exprimido por el peso de la fruta expresado en tanto por ciento, los sólidos solubles (SSC) a partir de una muestra de 50 ml de jugo mediante un refractómetro de mano (Atago N1, Tokio, Japón), la acidez titulable (TA) valorando 10 ml del jugo con hidróxido sódico 0.1 M de pH 8.1 (con un valorador automático) y el índice de madurez (MI), que afecta tanto a la madurez del fruto en el campo como a la percepción postcosecha del sabor (dulzura y acidez) por el consumidor, calculado como la relación entre SCC/TA. El color se midió en dos áreas del plano ecuatorial del fruto utilizando un medidor de color Minolta CR-300 utilizando una escala Chroma C* (Mc-Guiere, 1992)

4.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todas las medidas se realizaron por triplicado ($n=4$) y los valores recogidos corresponden a la media $\pm$ el error estándar o desviación estándar (SD). El análisis estadístico se realizó mediante un análisis ponderado de la varianza ANOVA utilizando el software estadístico Startgraphics Centurion XVI (versión 16; StatPoint Technologies Inc., Warrenton, Virginia, EE.UU.).

Las diferencias entre las medias se compararon mediante la prueba de rangos múltiples de Tukey, estableciendo el nivel de significación en $p < 0.05$. Se realizó un análisis de correlación de Pearson, considerando únicamente los parámetros que mostraron diferencias significativas entre los tratamientos (FW y RW). Según la dirección de la correlación entre los pares de variables, el coeficiente de Pearson puede tomar valores entre -1 y +1, indicando una correlación negativa o positiva, respectivamente.

V – RESULTADOS

V - RESULTADOS

5.1. CONDICIONES METEOROLÓGICAS Y ANÁLISIS DE AGUAS

Las condiciones climáticas fueron monitorizadas durante el periodo en que tuvo lugar el experimento para poder descartar cualquier estrés abiótico adicional que pudiera afectar significativamente a los resultados.

El registro de precipitaciones y la evapotranspiración de referencia ET_0 calculada resultaron favorables para el experimento durante el periodo de estudio, ofreciendo unos valores de 401.2 mm y 1393.8 mm respectivamente, sin periodos de escasez hídrica extrema o valores de temperaturas críticos (Figura 18) y con unas diferencias entre niveles que permitieron la aplicación de los programas de riego habituales sin variaciones significativas respecto a años anteriores.

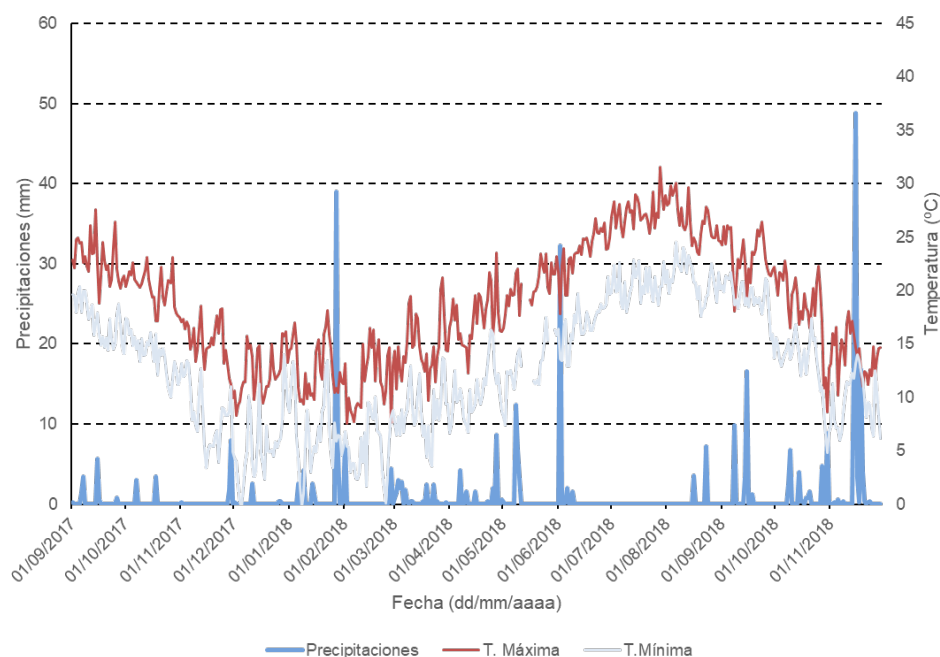


Figura 18. Gráfico de precipitaciones, temperaturas máximas y mínimas durante el periodo de estudio.

Fuente propia: elaborado a partir de la Base de datos Meteorológica AEMET-Open Data para la Estación Meteorológica de Molina de Segura. [Base de datos Meteorológica. Red principal Estaciones meteorológicas de AEMET](#)

La figura 19 muestra los registros meteorológicos correspondientes a los 15 días anteriores y posteriores a las fechas de muestreo de hojas al inicio de la fase III (fructificación rápida) y la cosecha.

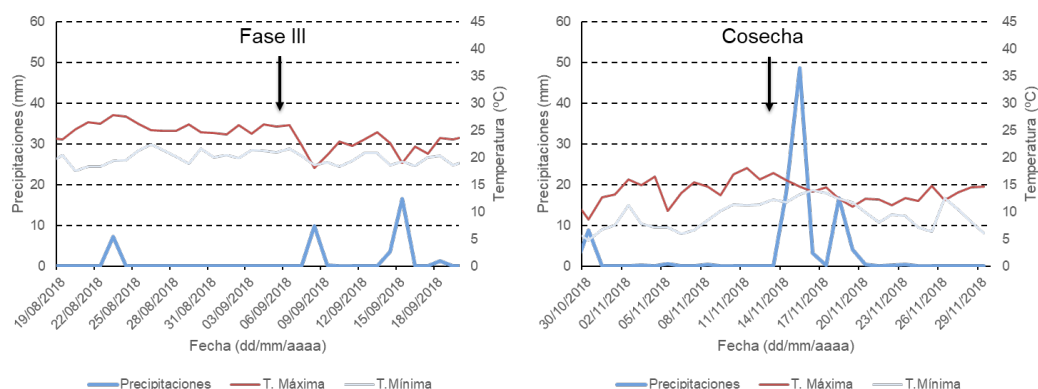


Figura 19. Gráfico de precipitaciones, temperaturas máximas y mínimas 15 días antes y después de la fecha del muestreo al inicio de la fase III (izquierda) y la cosecha (derecha).

Fuente propia: elaborado a partir de la Base de datos Meteorológica AEMET-Open Data para la Estación Meteorológica de Molina de Segura. [Base de datos Meteorológica. Red principal Estaciones meteorológicas de AEMET](#)

A continuación, se determinó la calidad del agua de riego a través de medidas de conductividad, pH y presencia de cationes y aniones inorgánicos. Los valores medios en las doce tomas de muestra de aguas realizadas en el periodo que comprendió el experimento, expresados en promedio $\pm$ SE (error estándar) se reflejan en la tabla 1.

Tabla 1. Análisis físico-químicos de los dos tipos de agua de riego empleados

Parámetro	Unidades	FW	RW
EC_w	$dS \cdot m$	1.38 ± 0.12	3.41 ± 0.13
SAR_w	$(meq \cdot L^{-1})^{0.5}$	3.35 ± 0.69	6.09 ± 1.89
pH		8.10 ± 0.03	7.73 ± 0.06
Ca^{2+}	$meq \cdot L^{-1}$	4.68 ± 0.70	7.35 ± 0.83
Mg^{2+}	$meq \cdot L^{-1}$	4.50 ± 5.02	8.27 ± 6.89

Tabla 1. (continuación)

<i>Parámetro</i>	<i>Unidades</i>	<i>FW</i>	<i>RW</i>
K^+	$mg \cdot L^{-1}$	15.76 ± 4.16	31.46 ± 3.37
Na^+	$meq \cdot L^{-1}$	7.19 ± 3.20	17.03 ± 4.10
B	$mg \cdot L^{-1}$	0.19 ± 0.04	0.60 ± 0.08
Cl^-	$meq \cdot L^{-1}$	6.35 ± 3.98	17.10 ± 3.63
NO_3^-	$mg \cdot L^{-1}$	3.89 ± 0.73	10.50 ± 2.27
PO_4^{3-}	$mg \cdot L^{-1}$	1.14 ± 1.58	2.86 ± 0.87
SO_4^{2-}	$meq \cdot L^{-1}$	7.92 ± 5.10	14.90 ± 6.20

EC_w: conductividad eléctrica; *SAR_w*: relación de absorción de sodio, calculado como $SAR_w = Na^+ / \sqrt{1/2 \cdot (Ca^{2+} + Mg^{2+})}$ (Oster, J.D. y colaboradores. 1980); *FW*: agua de trasvase; *RW*: agua reciclada

En el agua procedente del trasvase (FW), considerada de buena calidad, se encontró una conductividad eléctrica (*EC_w*) de 1.38 dS m^{-1} y una relación de absorción de sodio (*SAR_w*) de alrededor de 3.35 meq L^{-1} , mientras que para el agua reciclada (RW) los valores registrados fueron sensiblemente mayores (*EC_w* = 3.41 dS m^{-1} ; *SAR_w* = 6.09 meq L^{-1}). Valores por encima de un umbral de conductividad eléctrica de 1.4 dS m^{-1} , se han reportado como perjudiciales en el cultivo de cítricos (Maas, 1993; Iglesias y col., 2007), encontrándose una disminución promedio en el rendimiento de la cosecha de un 13% por cada aumento de 1 dS m^{-1} .

El pH resultó ser ligeramente más bajo en RW que en FW (8.10 y 7.73 respectivamente en promedio) y las concentraciones de los iones cuantificados Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , Cl^- , NO_3^- , PO_4^{3-} y SO_4^{2-} son, por término medio, dos veces más altas para RW que para FW.

Incluso los niveles de *B*, cuya asimilación a través de las raíces tiene lugar a través de un transporte activo que implica un consumo adicional de energía en detrimento del crecimiento potencial de la planta (Navarro-Pérez y col., 2024), en el agua reciclada fue más de 3 veces mayor que en el FW.

5.2. ANÁLISIS DE NUTRIENTES Y METABOLITOS A NIVEL FOLIAR

Para conocer el estado nutricional de la hoja de mandarina se midieron las concentraciones foliares de elementos fitotóxicos (Na^+ , Cl^- , B , Li^+ , Br^-), macronutrientes (N , P , K , Ca , S , Mg) y micronutrientes (Cu , Zn , Mn , Fe , Ni) para los árboles de mandarina en los tratamientos empleados.

Igualmente se determinaron los niveles de aminoácidos y fitohormonas, y el contenido de oxilipinas (fitoprostanos y fitofuranos) presentes resultado del estrés oxidativo, producidos por los árboles al ser irrigados con ambas fuentes de agua y en condiciones de riego deficitario controlado o satisfaciendo el 100% de sus necesidades hídricas.

Los resultados numéricos de estos análisis se ofrecen en los epígrafes siguientes.

5.1.1. Estado nutricional del cultivo de mandarina

El estado nutricional se determinó a partir de los valores de macronutrientes, micronutrientes y elementos fitotóxicos, medidos en hoja de mandarina para cada uno de los tratamientos al inicio de la fase III de maduración del fruto.

Los valores medios obtenidos para las dos calidades de agua, de buena calidad (FW), procedente del trasvase, y reciclada (RW) con un contenido salino superior, se reflejan en las tablas 2, 3 y 4.

Los valores se presentan como la media de las medidas $\pm$ SD (desviación estándar). Los valores en la misma fila seguidos de diferentes letras son significativamente diferentes en $p < 0.05$ según el análisis de varianza unidireccional (ANOVA) y la prueba de rango múltiple de Tukey.

Tabla 2. Elementos fitotóxicos en hojas de mandarina al inicio de la fase III de maduración del fruto para los dos tipos de agua de riego empleados.

	<i>FW</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW</i>	<i>RW-RDI</i>
<i>Na</i>⁺ (% <i>dw</i>)	0.05 ± 0.03 a	0.03 ± 0 a	0.05 ± 0.01 a	0.09 ± 0.07 a
<i>Cl</i>⁻ (% <i>dw</i>)	0.40 ± 0.18 ab	0.23 ± 0.02 a	0.98 ± 0.17 b	1.92 ± 0.18 c
<i>Br</i>⁻ (% <i>dw</i>)	0.0038 ± 0 a	0.0048 ± 0a	0.008 ± 0 b	0.01 ± 0 c
<i>Li</i>⁺ (mg · Kg⁻¹)	6.81 ± 0.44 a	-	10.48 ± 0.83 b	-
<i>B</i> (mg · Kg⁻¹)	83.64 ± 11.54 a	61.99 ± 4.51 a	169.91 ± 6.70 a	182.46 ± 62.33 a

Tabla 3. Macronutrientes en hojas de mandarina al inicio de la fase III de maduración del fruto para los dos tipos de agua de riego empleados.

	<i>FW</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW</i>	<i>RW-RDI</i>
<i>N total</i> (% <i>dw</i>)	2.09 ± 0.08 a	-	1.91 ± 0.07 a	-
<i>P</i> (% <i>dw</i>)	0.09 ± 0 a	-	0.08 ± 0 a	-
<i>K</i>⁺ (% <i>dw</i>)	1.01 ± 0.11a	-	0.88 ± 0.03 a	-
<i>Ca</i>²⁺ (% <i>dw</i>)	4.07 ± 0.06 a	-	3.08 ± 0.11 a	-
<i>Mg</i>²⁺ (% <i>dw</i>)	0.39 ± 0.02 a	-	0.38 ± 0.01 a	-
<i>S</i> (% <i>dw</i>)	0.24 ± 0.01 b	-	0.21 ± 0.01 a	-
<i>NO</i>₃⁻ (% <i>dw</i>)	0.34 ± 0.43 a	-	0.84 ± 0.25 a	-
<i>PO</i>₄³⁻ (% <i>dw</i>)	1.62 ± 0.15 a	-	2.23 ± 0.61 a	-
<i>SO</i>₄²⁻ (% <i>dw</i>)	1.48 ± 0.45 a	-	2.27 ± 0.09 a	-

Tabla 4. Micronutrientes en hojas de mandarino al inicio de la fase III de maduración del fruto para los dos tipos de agua de riego empleados.

	<i>FW</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW</i>	<i>RW-RDI</i>
<i>Zn²⁺</i> (<i>mg · Kg⁻¹</i>)	12.70 ± 0.83 a	13.44 ± 3.21 a	11.14 ± 0.55 a	10.71 ± 2.27 a
<i>Fe</i> (<i>mg · Kg⁻¹</i>)	138.27 ± 5.67 a	125.19 ± 34.85 a	97.47 ± 17.12 a	95.12 ± 0.84 a
<i>Mn</i> (<i>mg · Kg⁻¹</i>)	38.54 ± 1.31 a	32.83 ± 0 a	37.61 ± 1.22 a	35.65 ± 0 a
<i>Ni³⁺</i> (<i>mg · Kg⁻¹</i>)	0.93 ± 0.07 a	0.70 ± 0.14 a	1.09 ± 0.07 a	0.81 ± 0.01ab

A pesar de la elevada concentración salina del agua reciclada (RW), la concentración de sodio en hojas de mandarina fue de un 0.05% (RW) y 0.09% (RW-RDI) (Tabla 2), por debajo de los valores umbrales de 0.10 – 0.25% a partir de los cuales se han encontrado síntomas de fitotoxicidad (Boman, 1993; Romero-Trigueros y col., 2014) acompañados de una merma del rendimiento en cítricos.

El déficit hídrico no produjo un aumento en el contenido de iones Cl^- en el caso de riego con FW. Sin embargo, en las hojas de mandarina de los árboles regados con agua reciclada se encontraron valores medios de cloruro de 0.98% y 1.92% en peso seco (RW y RW-RDI), más del doble que en los árboles regados con agua de trasvase (FW) y cinco veces más en el caso de riego deficitario (Tabla 2). En cualquier caso, los valores son superiores a los 0.7% y 0.6% (dw) encontrados por Ferguson y Grattan (2015) y Romero-Trigueros y colaboradores (2014) como valores límite a partir de los que se observa una reducción en la productividad del cultivo. Estas elevadas cantidades de Cl^- produjeron síntomas de toxicidad visibles, en forma de pequeñas manchas circulares oscuras aisladas.

También se encontraron valores superiores de boro, litio y bromuro en las muestras pertenecientes a árboles regados con agua reciclada (Tabla 2) para ambos regímenes hídricos. En el caso del boro la concentración en hojas de mandarina regadas con RW fue algo más dos veces mayor que para las hojas de árboles bajo el tratamiento FW.

En cuanto a los síntomas visibles de fitotoxicidad, hay autores que indican que los niveles de toxicidad aparecen cuando el nivel de sodio en la hoja alcanza el 0,10-

0,25% de su peso seco (Al-Yasin, 2004), cuando la concentración de boro cae en el rango de 250-260 mg kg⁻¹ de peso seco (Gratan et al. 2015) o cuando las concentraciones foliares de boro superan los 200 mg kg⁻¹ de peso seco (Syvertsen y col., 2014).

En el caso concreto de este ensayo, las concentraciones encontradas de elementos fitotóxicos produjeron síntomas de toxicidad visibles en las hojas de los tratamientos regados con AR, con pequeñas, oscuras y circulares manchas, como se observa en la figura 20:



Figura 20. Síntomas visibles de fitotoxicidad en hojas de mandarino

Fuente propia.

Igualmente, los valores encontrados para el Li fueron un 54% mayores en las hojas de mandarina regadas con RW, con valores de 6,81 y 10,48 mg kg⁻¹ para el FW y el RW, respectivamente. Sin embargo, solo las hojas que contenían más de 12 mg. kg⁻¹ mostraron síntomas de toxicidad por litio (Bradford, 1961).

Aunque en el tratamiento con RW se registraron concentraciones más altas de los macroelementos analizados ((N, P, K, Ca, S, Mg), los árboles regados con RW no mostraron niveles significativamente más altos de ninguno de estos iones a nivel foliar, a excepción del azufre (Tabla 3), cuyo contenido menor podría explicar los efectos encontrados en el crecimiento de los árboles y el rendimiento de los cultivos.

No se observaron diferencias significativas entre tratamientos para las concentraciones de los micronutrientes analizados (Tabla 4).

5.1.2. Análisis de aminoácidos

Los aminoácidos pueden ser una buena fuente de nitrógeno para la absorción y utilización de las plantas, además pueden tener efectos estimulantes sobre el crecimiento de las raíces y los brotes y desempeñan un papel en la protección de los componentes celulares en situaciones de estrés (Aghaye Noroozlo y colaboradores, 2019). En este ensayo se identificaron 18 aminoácidos libres en hojas de mandarino sometidos a estrés hídrico y salino.

Los valores medios obtenidos en fase III de madurez del fruto para las dos fuentes de agua, de buena calidad (FW), y reciclada (RW), y para los dos regímenes de riego establecidos, 100% de las necesidades hídricas y riego deficitario controlado con un aporte del 50% en las fases críticas del cultivo, se encuentran recogidos en la tabla 5

Los valores se presentan como la media de las medidas $\pm$ SD (desviación estándar) en ng g^{-1} . Los valores en la misma fila seguidos de diferentes letras son significativamente diferentes en $p < 0.05$ según el análisis de varianza unidireccional (ANOVA) y la prueba de rango múltiple de Tukey.

Tabla 5. Análisis de aminoácidos en mandarino al inicio de la fase III de maduración del fruto.

	<i>FW</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW</i>	<i>RW-RDI</i>
<i>Ala</i>	32882.48 $\pm$ 79.43 c	24786.13 $\pm$ 402.39 b	10915.8 $\pm$ 1318.94 a	5572.52 $\pm$ 37.10 a
<i>Pro</i>	10994.35 $\pm$ 869.71 b	9069.19 $\pm$ 157.03 ab	5293.10 $\pm$ 907.42 a	5912.08 $\pm$ 1009.55 a
<i>Tyr</i>	2450.24 $\pm$ 1010.53 a	2835.07 $\pm$ 99.94 a	2597.48 $\pm$ 237.78 a	1411.12 $\pm$ 362.41 a
GABA	1411.76 $\pm$ 332.79 b	1022.87 $\pm$ 171.65 ab	816.86 $\pm$ 108.39 ab	421.62 $\pm$ 151.21 a
<i>Ser</i>	1119.24 $\pm$ 73.54 b	733.02 $\pm$ 19.27 ab	618.00 $\pm$ 257.05 ab	546.98 $\pm$ 7.86 a
<i>Cys-Gly</i>	422.40 $\pm$ 60.68 a	209.03 $\pm$ 4.33 a	321.83 $\pm$ 39.09 a	1782.96 $\pm$ 999.73 a
<i>Leu</i>	878.17 $\pm$ 287.30 b	608.33 $\pm$ 69.40 ab	334.27 $\pm$ 113.42 ab	129.2 $\pm$ 25.82 a
<i>Arg</i>	95.79 $\pm$ 35.23 a	81.07 $\pm$ 19.65 a	654.13 $\pm$ 575.74 a	499.99 $\pm$ 123.82 a
<i>Asn</i>	242.63 $\pm$ 63.50 a	170.93 $\pm$ 54.04 a	267.72 $\pm$ 108.00 a	94.82 $\pm$ 40.18 a

Tabla 5. (continuación)

	<i>FW</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW</i>	<i>RW-RDI</i>
<i>Asn</i>	242.63 ± 63.50 a	170.93 ± 54.04 a	267.72 ± 108.00 a	94.82 ± 40.18 a
<i>Glu</i>	303.21 ± 48.85 b	174.83 ± 63.47ab	136.36 ± 30.72 a	54.55 ± 18.63 a
<i>Val</i>	150.8 ± 63.34 a	168.20 ± 22.24 a	150.05 ± 25.31 a	156.32 ± 17.61 a
<i>Met</i>	89.47 ± 5.46 b	93.91 ± 0.71 b	48.74 ± 9.92 a	64.68 ± 2.23 a
<i>Asp</i>	128.61 ± 18.51 b	67.64 ± 27.30 a	65.39 ± 11.64 a	34.40 ± 7.06 a
<i>Gly</i>	112.07 ± 3.15 a	67.59 ± 3.43 a	50.38 ± 40.17 a	43.13 ± 9.23 a
<i>Phe</i>	46.41 ± 25.42 a	49.33 ± 12.98 a	27.35 ± 4.46 a	42.99 ± 10.94 a
<i>Cit</i>	25.90 ± 16.16 a	32.65 ± 2.99 a	22.57 ± 8.71 a	28.59 ± 0.01 a
<i>Thr</i>	25.22 ± 4.51 a	21.23 ± 2.18 a	25.18 ± 0.17 a	37.94 ± 16.48 a
<i>His</i>	14.33 ± 0.63 a	13.29 ± 2.95 a	14.02 ± 1.83 a	13.89 ± 2.71 a

En términos generales, el tratamiento control presentó el mayor contenido de aminoácidos libres, no proteicos y disminuyó a medida que se aumentó el nivel de estrés en este orden $FW \geq FW-RDI \geq RW \geq RW-RDI$, con un contenido total de aminoácidos de 51399.08 ng g⁻¹, 40211.31 ng g⁻¹, 22367.23 ng g⁻¹ y 16856.78 ng g⁻¹ en peso seco de hoja respectivamente.

5.1.3. Análisis de fitohormonas

Se determinó el contenido de 11 fitohormonas en hojas sanas maduras de mandarino regado bajo diferentes condiciones de estrés salino e hídrico durante el periodo de estudio. En la tabla 6 se presentan los resultados medios obtenidos correspondientes a los análisis de hojas de mandarino en el muestreo del mes de septiembre de 2017.

Tabla 6. Resultados de fitohormonas medidas en hoja. Septiembre 2017

		Tratamiento			
Fecha	29/09/2017	FW-C	FW-RDI	RW-C	RW-RDI
		Concentración (ng g ⁻¹)			
Citoquinas	Trans-zeatina	211.239 ± 8.807	266.758 ± 5.926	343.314 ± 16.433	361.589 ± 11.987
	Trans-zeatina ribósido	no detectado	no detectado	no detectado	no detectado
	Isopentil adenina	36.340 ± 1.842	36.117 ± 1.55	34.337 ± 0.63	47.431 ± 2.257
Giberelinas	GA1	no detectado	no detectado	no detectado	no detectado
	GA3	no detectado	no detectado	no detectado	no detectado
	GA4	no detectado	no detectado	0.100 ± 0.008	0.095 ± 0.003
Auxinas	Ácido indolacético	43.55 ± 4.510	44.589 ± 2.751	87.31 ± 3.510	91.929 ± 3.218

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

Tabla 6. (continuación)

		<i>Tratamiento</i>			
<i>Fecha</i>	<i>29/09/2017</i>	<i>FW-C</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW-C</i>	<i>RW-RDI</i>
		<i>Concentración (ng g⁻¹)</i>			
<i>Precursor de etileno</i>	<i>ACC</i>	1915.141 ± 122.681	1727.09 ± 32.889	5498.943 ± 600.18	4890.799 ± 622.199
<i>Otras fitohormonas</i>	<i>Ácido abcísico</i>	<i>no detectado</i>	<i>no detectado</i>	<i>no detectado</i>	<i>no detectado</i>
	<i>Ácido jasmónico</i>	6.028 ± 0.031	6.08 ± 0.123	8.041 ± 0.145	9.358 ± 0.271
	<i>Ácido salicílico</i>	69.141 ± 10.11	11.179 ± 0.236	14.83 ± 1.275	27.711 ± 3.917

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

De manera gráfica los niveles de fitohormonas registrados durante el mes de septiembre de 2017 se muestran en la figura 21.

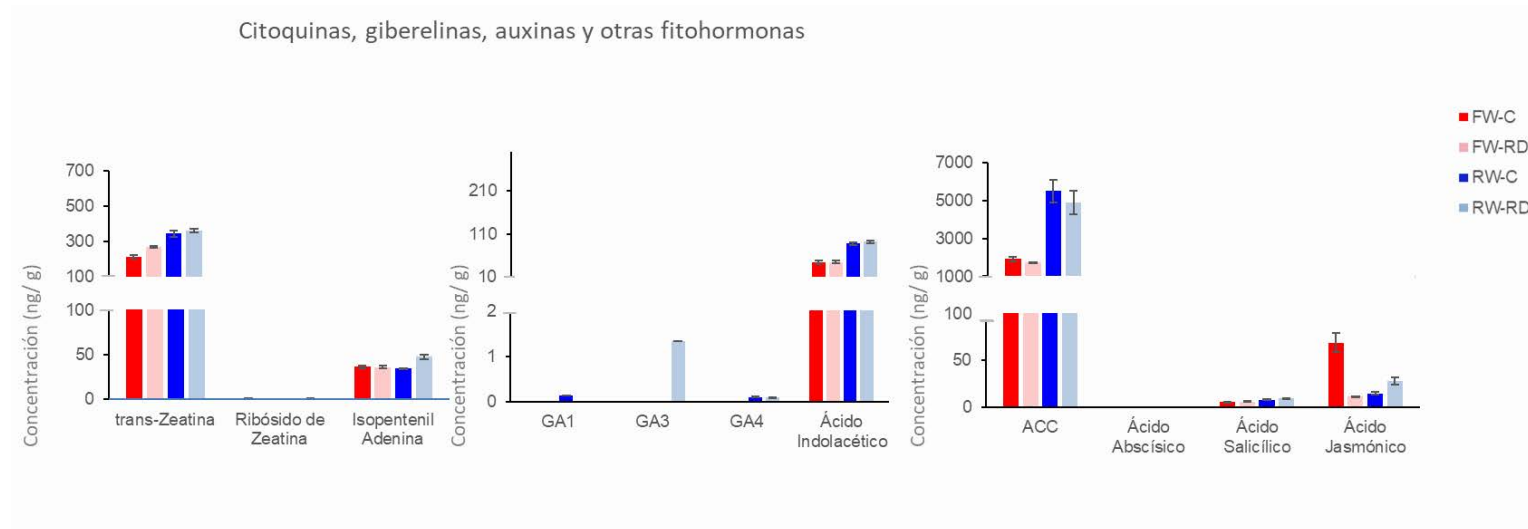


Figura 21. Niveles específicos para cada fitohormona registrados en los diferentes tratamientos. Septiembre 2017

En la tabla 7 se presentan los resultados medios para las distintas fitohormonas correspondientes a los análisis de hojas de mandarino en el muestreo del mes de febrero de 2018.

Tabla 7. Resultados de fitohormonas medidas en hoja. Febrero 2018

		Tratamiento			
Fecha	15/02/2018	FW-C	FW-RDI	RW-C	RW-RDI
		Concentración (ng g ⁻¹)			
Citoquinas	Trans-zeatina	537.310 ± 9.505	522.526 ± 9.009	565.101 ± 21.925	555.347 ± 28.853
	Trans-zeatina ribósido	15.512 ± 3.092	4.196 ± 0.390	no detectado	no detectado
	Isopentil adenina	24.954 ± 1.729	44.76 ± 3.523	85.847 ± 0.775	50.629 ± 1.613
Giberelinas	GA1	no detectado	no detectado	no detectado	no detectado
	GA3	22.433 ± 1.589	32.948 ± 1.944	60.817 ± 6.879	52.654 ± 5.439
	GA4	0.193 ± 0.014	0.113 ± 0.006	0.460 ± 0.073	0.818 ± 0.123
Auxinas	Ácido indolacético	153.358 ± 2.403	146.287 ± 3.944	194.119 ± 4.302	208.946 ± 13.188

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

Tabla 7. (continuación)

		<i>Tratamiento</i>			
<i>Fecha</i>	<i>15/02/2018</i>	<i>FW-C</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW-C</i>	<i>RW-RDI</i>
		<i>Concentración (ng g⁻¹)</i>			
<i>Precursor de etileno</i>	<i>ACC</i>	1837.97 ± 33.841	1939.67 ± 26.066	3773.396 ± 370.317	4632.771 ± 324.78
<i>Otras fitohormonas</i>	<i>Ácido abcísico</i>	0.605 ± 0.084	0.299 ± 0.028	0.515 ± 0.079	0.462 ± 0.060
	<i>Ácido jasmónico</i>	10.596 ± 0.330	8.699 ± 0.568	11.96 ± 0.576	10.036 ± 0.316
	<i>Ácido salicílico</i>	5.032 ± 0.664	6.153 ± 0.556	17.888 ± 1.313	17.309 ± 2.971

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

De manera gráfica los niveles de fitohormonas registrados durante el mes de febrero de 2018 se muestran en la figura 22.

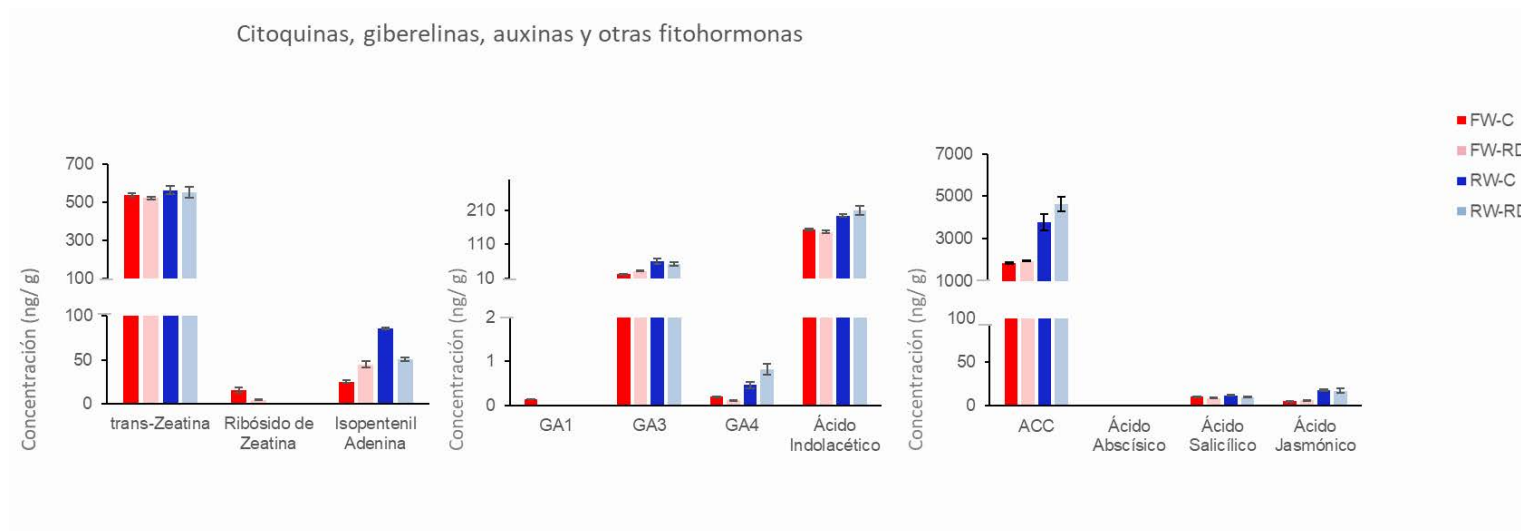


Ilustración 22. Niveles específicos para cada fitohormona registrados en los diferentes tratamientos. Febrero 2018

En la tabla 8 se presentan los resultados medios para las distintas fitohormonas correspondientes a los análisis de hojas de mandarino en el muestreo del mes de abril de 2018.

Tabla 8. Resultados de fitohormonas medidas en hoja. Abril 2018

		Tratamiento			
Fecha	18/04/2018	FW-C	FW-RDI	RW-C	RW-RDI
		Concentración (ng g ⁻¹)			
Citoquinas	Trans-zeatina	589.183 ± 7.220	547.098 ± 8.806	612.553 ± 20.123	531.393 ± 8.566
	Trans-zeatina ribósido	5.731 ± 1.151	1.046 ± 0.022	5.965 ± 0.618	5.632 ± 0.580
	Isopentil adenina	32.198 ± 2.539	32.006 ± 2.412	32.332 ± 1.640	25.544 ± 0.887
Giberelinas	GA1	no detectado	no detectado	no detectado	no detectado
	GA3	0.527 ± 0.079	0.393 ± 0.057	0.657 ± 0.114	0.34 ± 0.041
	GA4	0.078 ± 0.005	0.255 ± 0.011	0.116 ± 0.02	0.114 ± 0.003
Auxinas	Ácido indolacético	143.803 ± 0.687	129.133 ± 4.213	173.163 ± 9.047	146.813 ± 0.787

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

Tabla 8. (continuación)

		<i>Tratamiento</i>			
<i>Fecha</i>	<i>18/04/2018</i>	<i>FW-C</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW-C</i>	<i>RW-RDI</i>
		<i>Concentración (ng g⁻¹)</i>			
<i>Precursor de etileno</i>	<i>ACC</i>	2623.878 ± 55.825	2735.952 ± 29.943	2781.602 ± 136.994	2737.04 ± 84.115
<i>Otras fitohormonas</i>	<i>Ácido abcísico</i>	0.861 ± 0.227	0.747 ± 0.053	0.258 ± 0.035	0.368 ± 0.063
	<i>Ácido jasmónico</i>	12.763 ± 1.371	41.102 ± 5.415	51.069 ± 6.918	43.885 ± 7.548
	<i>Ácido salicílico</i>	7.423 ± 0.088	6.732 ± 0.268	7.99 ± 0.193	7.216 ± 0.272

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

De manera gráfica los niveles de fitohormonas registrados durante el mes de abril de 2018 se muestran en la figura 23.

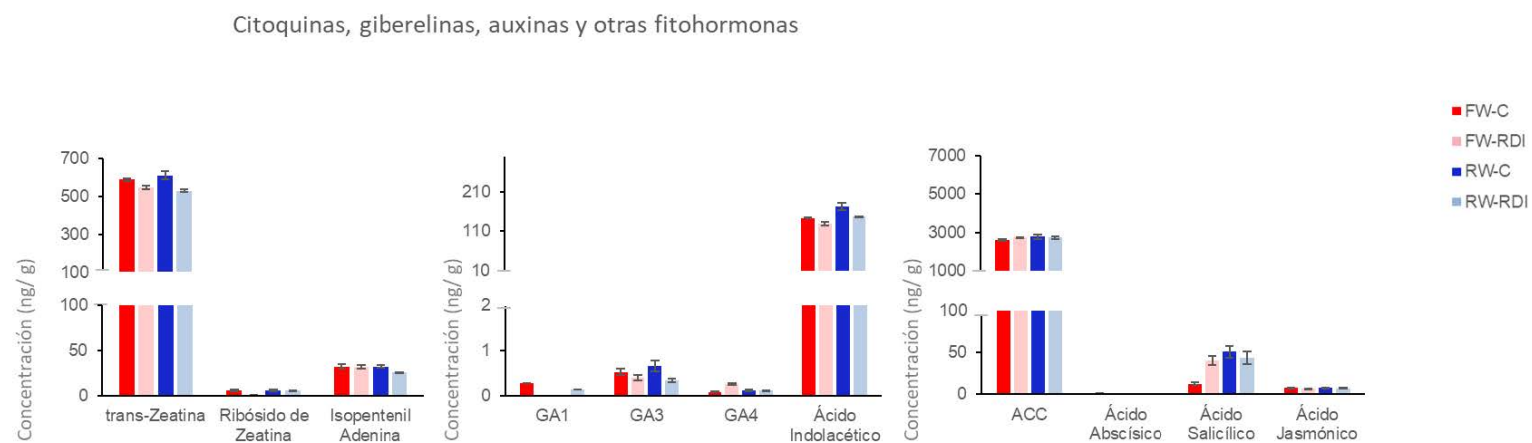


Figura 23. Niveles específicos para cada fitohormona registrados en los diferentes tratamientos. Abril 2018

En la tabla 9 se presentan los resultados medios para las distintas fitohormonas correspondientes a los análisis de hojas de mandarino en el muestreo del mes de mayo de 2018.

Tabla 9. Resultados de fitohormonas medidas en hoja. Mayo 2018

		Tratamiento			
Fecha	23/05/2018	FW-C	FW-RDI	RW-C	RW-RDI
		Concentración (ng g ⁻¹)			
Citoquinas	Trans-zeatina	588.958 ± 14.073	584.149 ± 19.673	714.633 ± 31.074	683.247 ± 20.245
	Trans-zeatina ribósido	27.659 ± 2.982	9.343 ± 0.263	no detectado	15.553 ± 1.742
	Isopentil adenina	0.456 ± 0.042	0.911 ± 0.102	0.537 ± 0.045	0.379 ± 0.036
Giberelinas	GA1	no detectado	no detectado	0.24 ± 0.032	no detectado
	GA3	no detectado	no detectado	no detectado	0.208 ± 0.023
	GA4	0.106 ± 0.011	0.079 ± 0.006	0.105 ± 0.014	0.084 ± 0.009
Auxinas	Ácido indolacético	161.422 ± 4.336	120.517 ± 6.545	249.325 ± 5.071	234.27 ± 12.018

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

Tabla 9. (continuación)

		<i>Tratamiento</i>			
<i>Fecha</i>	<i>23/05/2018</i>	<i>FW-C</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW-C</i>	<i>RW-RDI</i>
		<i>Concentración (ng g⁻¹)</i>			
<i>Precursor de etileno</i>	<i>ACC</i>	2350.177 ± 102.190	1569.578 ± 45.672	3914.582 ± 371.812	3732.445 ± 284.081
<i>Otras fitohormonas</i>	<i>Ácido abcísico</i>	0.887 ± 0.080	1.149 ± 0.045	0.632 ± 0.042	0.654 ± 0.092
	<i>Ácido jasmónico</i>	24.480 ± 2.717	24.686 ± 4.561	37.120 ± 4.090	29.006 ± 2.358
	<i>Ácido salicílico</i>	5.983 ± 0.345	5.232 ± 0.105	5.981 ± 0.182	10.784 ± 1.402

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

De manera gráfica los niveles de fitohormonas registrados durante el mes de mayo de 2018 se muestran en la figura 24.

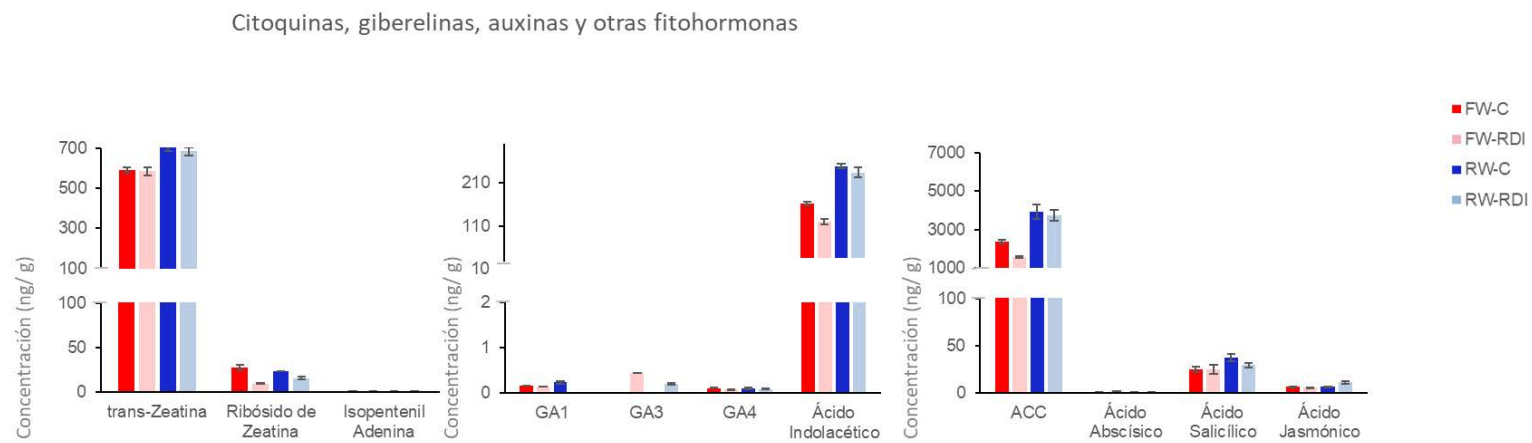


Figura 24. Niveles específicos para cada fitohormona registrados en los diferentes tratamientos. Mayo 2018

En la tabla 10 se presentan los resultados medios para las distintas fitohormonas correspondientes a los análisis de hojas de mandarino en el muestreo del mes de julio de 2018.

Tabla 10. Resultados de fitohormonas medidas en hoja. Julio 2018

		Tratamiento			
Fecha	30/07/2018	FW-C	FW-RDI	RW-C	RW-RDI
		Concentración (ng g ⁻¹)			
Citoquinas	Trans-zeatina	716.936 ± 29.808	572.799 ± 9.154	499.222 ± 10.52	805.798 ± 16.894
	Trans-zeatina ribósido	no detectado	no detectado	no detectado	no detectado
	Isopentil adenina	0.598 ± 0.062	0.997 ± 0.11	1.054 ± 0.078	0.717 ± 0.03
Giberelinas	GA1	no detectado	no detectado	no detectado	no detectado
	GA3	no detectado	no detectado	0.138 ± 0.002	no detectado
	GA4	0.179 ± 0.022	0.042 ± 0.002	0.046 ± 0.002	0.059 ± 0.005
Auxinas	Ácido indolacético	100.917 ± 1.301	71.831 ± 5.922	191.887 ± 9.5	165.123 ± 7.749

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

Tabla 10. (continuación)

		<i>Tratamiento</i>			
<i>Fecha</i>	<i>30/07/2018</i>	<i>FW-C</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW-C</i>	<i>RW-RDI</i>
		<i>Concentración (ng g⁻¹)</i>			
<i>Precursor de etileno</i>	<i>ACC</i>	1634.536 ± 28.163	1386.419 ± 119.442	3060.656 ± 177.615	3031.443 ± 162.341
<i>Otras fitohormonas</i>	<i>Ácido abcísico</i>	0.33 ± 0.061	0.187 ± 0.002	0.166 ± 0.011	0.215 ± 0.017
	<i>Ácido jasmónico</i>	4.593 ± 0.782	7.195 ± 1.303	32.861 ± 2.798	14.813 ± 1.151
	<i>Ácido salicílico</i>	10.439 ± 1.142	10.506 ± 1.714	5.338 ± 0.232	11.625 ± 0.404

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

De manera gráfica los niveles de fitohormonas registrados durante el mes de julio de 2018 se muestran en la figura 25.

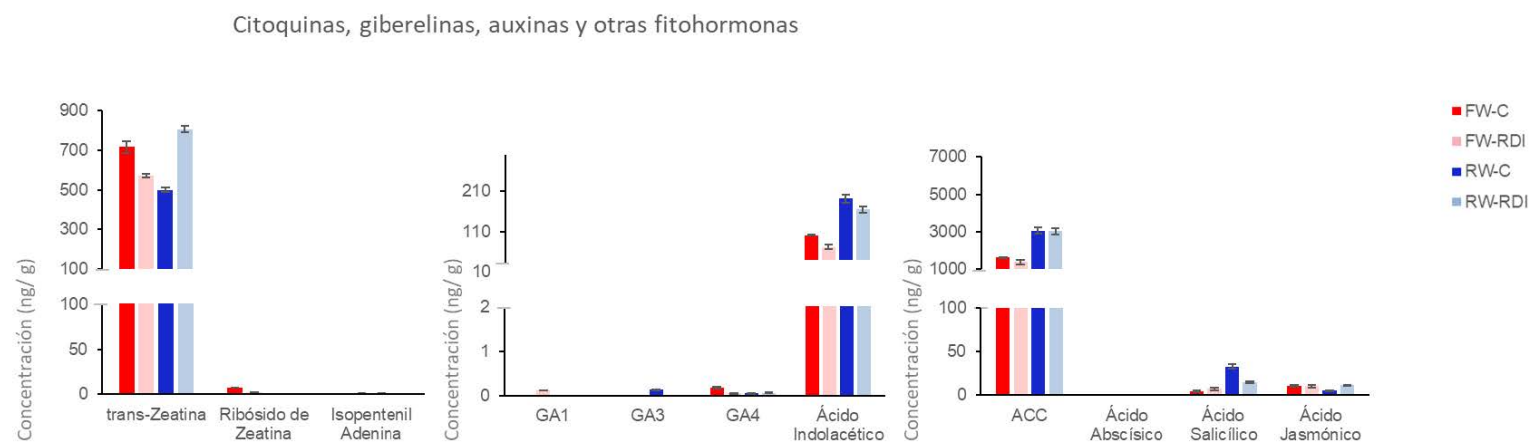


Figura 25. Niveles específicos para cada fitohormona registrados en los diferentes tratamientos. Julio 2018

En la tabla 11 se presentan los resultados medios para las distintas fitohormonas correspondientes a los análisis de hojas de mandarino en el muestreo del mes de septiembre de 2018.

Tabla 11. Resultados de fitohormonas medidas en hoja. Septiembre 2018

		Tratamiento			
Fecha	03/09/2018	FW-C	FW-RDI	RW-C	RW-RDI
		Concentración (ng g ⁻¹)			
Citoquinas	Trans-zeatina	709.38 ± 25.225	593.089 ± 81.518	959.748 ± 66.428	1189.218 ± 35.943
	Trans-zeatina ribósido	2.023 ± 0.318	5.538 ± 0.574	no detectado	2.086 ± 0.022
	Isopentil adenina	0.142 ± 0.003	no detectado	0.146 ± 0.002	0.19 ± 0.014
Giberelinas	GA1	no detectado	no detectado	no detectado	no detectado
	GA3	no detectado	no detectado	0.135 ± 0.006	0.198 ± 0.008
	GA4	95.638 ± 2.524	61.117 ± 4.831	71.976 ± 17.814	106.327 ± 8.821
Auxinas	Ácido indolacético	no detectado	no detectado	no detectado	0.037 ± 0.001

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

Tabla 11. (continuación)

		<i>Tratamiento</i>			
<i>Fecha</i>	<i>03/09/2018</i>	<i>FW-C</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW-C</i>	<i>RW-RDI</i>
		<i>Concentración (ng g⁻¹)</i>			
<i>Precursor de etileno</i>	<i>ACC</i>	2563.843 ± 68.857	1593.050 ± 239.84	3813.638 ± 744.409	3662.170 ± 117.295
<i>Otras fitohormonas</i>	<i>Ácido abcísico</i>	0.077 ± 0.009	0.143 ± 0.026	1.706 ± 0.291	1.655 ± 0.170
	<i>Ácido jasmónico</i>	127.657 ± 3.416	53.996 ± 8.128	253.956 ± 26.250	83.076 ± 14.601
	<i>Ácido salicílico</i>	4.949 ± 0.120	7.287 ± 0.876	5.285 ± 0.225	7.417 ± 0.680

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

De manera gráfica los niveles de fitohormonas registrados durante el mes de septiembre de 2018 se muestran en la figura 26.

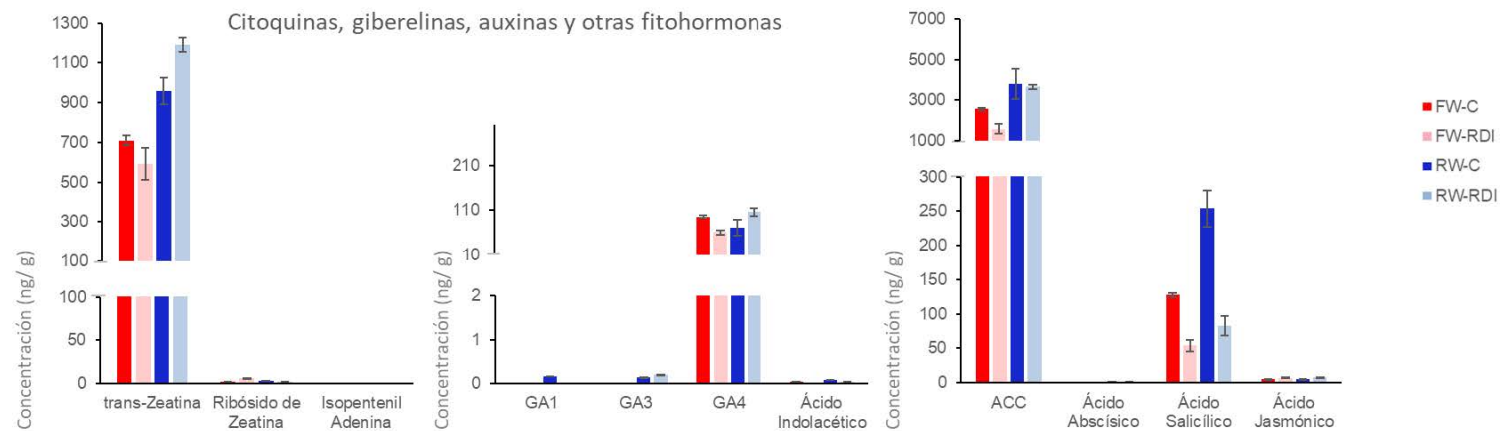


Figura 26. Niveles específicos para cada fitohormona registrados en los diferentes tratamientos. Septiembre 2018

A modo resumen los resultados medios $\pm$ SD de las 11 fitohormonas analizadas en fase III de maduración del fruto para los cuatro tratamientos se recogen en la tabla 12 organizados de mayor a menor ocurrencia expresados en ng g⁻¹ en peso seco de hoja.

Tabla 12. Resultados de fitohormonas medidas en hoja en fase III

	<i>FW</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW</i>	<i>RW-RDI</i>
<i>ACC</i>	2563.84 $\pm$ 344.29 ab	2262.61 $\pm$ 431.68 a	1664.96 $\pm$ 78.98 a	3662.17 $\pm$ 586.48 b
<i>tZ</i>	709.38 $\pm$ 126.13 a	827.96 $\pm$ 35.62 ab	1150.7 $\pm$ 43.23 b	1189.22 $\pm$ 179.71 b
<i>SA</i>	127.66 $\pm$ 17.08 a	77.03 $\pm$ 10.97 a	253.96 $\pm$ 131.25 a	83.08 $\pm$ 73.01 a
<i>GA4</i>	95.64 $\pm$ 12.62 ab	61.12 $\pm$ 24.15 ab	20.59 $\pm$ 4.56 a	106.33 $\pm$ 44.10 b
<i>JA</i>	4.95 $\pm$ 0.60 a	4.76 $\pm$ 0.25 a	5.29 $\pm$ 1.13 a	5.57 $\pm$ 1.66 a
<i>Zr</i>	1.35 $\pm$ 1.62 a	3.69 $\pm$ 3.79 a	0.87 $\pm$ 1.51 a	1.39 $\pm$ 1.21 a
<i>ABA</i>	0.08 $\pm$ 0.04a	0.1 $\pm$ 0.12a	2.54 $\pm$ 0.25b	1.1 $\pm$ 0.13ab
<i>IPA</i>	0.1 $\pm$ 0.08 a	0.04 $\pm$ 0.06 a	0.15 $\pm$ 0.01 a	0.19 $\pm$ 0.07 a
<i>GA3</i>	<i>no detectado</i>	<i>no detectado</i>	0.09 $\pm$ 0.08 a	0.13 $\pm$ 0.12 a
<i>IAA</i>	0.01 $\pm$ 0.02 a	<i>no detectado</i>	0.02 $\pm$ 0.04 a	0.04 $\pm$ 0.01 a

ACC, 1-aminocicloproano-1-carboxílico; *tZ*, trans-Z eatina; *SA*, ácido salicílico; *GA4* y *GA3*, giberelinas 4 y 3; *JA*, ácido jasmónico; *ABA*, ácido abscísico; *Zr*, zeatina ribósido; *IPA*, isopendil adenina; *IAA*, ácido indolacético. Los valores en la misma fila seguidos de letras diferentes son estadísticamente significativos a $p < 0.05$ de acuerdo con el análisis ANOVA de una vía y el test de rangos múltiples de Tukey.

Los diferentes tratamientos de riego produjeron cambios significativos en las concentraciones de ACC, *tZ*, GA4 y ABA. La giberelina GA1 no fue detectada en ningún caso.

Del total de fitohormonas identificadas en hoja, el ACC fue la más abundante en todos los tratamientos y su concentración máxima en las condiciones más extremas de estrés empleadas (RW-RDI). La concentración de ABA, hormona del estrés por excelencia fue mayor en los tratamientos RW y RW-DI.

5.1.4. Análisis de fitoprostanos y fitofuranos

5.1.4.1. Resultados mensuales obtenidos para las distintas oxilipinas.

Se analizaron un total de ocho fitoprostanos (9-*epi*-9-D₁₁-PhytoP; 9-D₁₁-PhytoP; 9-F₁₁-PhytoP; 9-*epi*-9-F₁₁-PhytoP; 9-L₁₁-PhytoP; 16-B₁₁-PhytoP; *ent*-16-*epi*-16-F₁₁-PhytoP; *ent*-16-F₁₁-PhytoP) y tres fitofuranos (*ent*-16-(RS)-9-*epi*-ST-Δ¹⁴-13-PhytoF, *ent*-16-(RS)-13-*epi*-ST-Δ¹⁴-9-PhytoF; *ent*-9-(RS)-12-*epi*-ST-Δ¹⁰-13-PhytoF), en hojas de mandarino regados en diferentes condiciones de estrés, salinidad y restricción hídrica, recogidas durante todo el periodo en estudio.

Los fitoprostanos *ent*-16-*epi*-16-F₁₁-PhytoP y *ent*-16-F₁₁-PhytoP se cuantificaron conjuntamente al no ser posible separar sus picos cromatográficamente debido a su naturaleza enantiomérica (Figura 27) y no utilizar una columna quiral en el método.

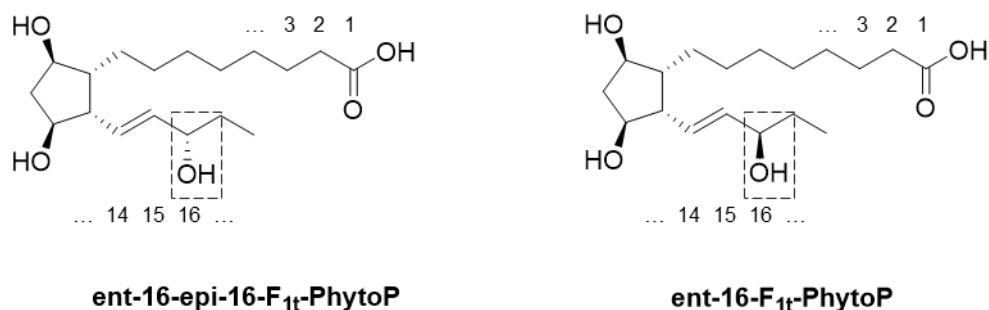


Figura 27. Fitoprostanos enantioméricos *ent*-16-*epi*-16-F₁₁-PhytoP y *ent*-16-F₁₁-PhytoP

Todas las oxilipinas analizadas en hojas de mandarino fueron detectadas por encima del límite de cuantificación establecido en el método previamente descrito.

En las tablas que siguen se recogen los resultados medios obtenidos en cada muestreo para estas moléculas y los distintos tratamientos de riego

En las tablas 13 y 14 se muestra el contenido medio por fitoprostano y fitofurano, y la suma total por tipo de compuesto registrado para el mes de septiembre de 2017.

Tabla 13. Resultados medios y totales de fitoprostanos por tratamiento. Septiembre 2017.

<i>Fitoprostano</i>	<i>Tratamiento</i>			
<i>Fecha: 09/09/2017</i>	<i>FW-C</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW-C</i>	<i>RW-RDI</i>
<i>9-epi-9-D₁₁-PhytoP</i>	0.487 ± 0.009	0.509 ± 0.009	0.505 ± 0.011	0.445 ± 0.007
<i>9-D₁₁-PhytoP</i>	0.396 ± 0.019	0.41 ± 0.016	0.343 ± 0.02	0.274 ± 0.008
<i>9-F₁₁-PhytoP</i>	4.272 ± 0.313	4.679 ± 0.311	2.877 ± 0.308	1.803 ± 0.159
<i>9-epi-9-F₁₁-PhytoP</i>	3.657 ± 0.231	3.977 ± 0.312	2.681 ± 0.225	1.697 ± 0.075
<i>9-L₁-PhytoP</i>	0.216 ± 0.007	0.208 ± 0.004	0.196 ± 0.004	0.199 ± 0.001
<i>16-B₁-PhytoP</i>	0.309 ± 0.002	0.287 ± 0.002	0.272 ± 0.001	0.272 ± 0.001
<i>Ent-16-epi-16-F₁₁-PhytoP</i> + <i>Ent-16-F₁₁-PhytoP</i>	0.167 ± 0.002	0.161 ± 0.002	0.167 ± 0.002	0.157 ± 0.001
<i>Total fitoprostanos</i>	9.503 ± 0.566	10.23 ± 0.655	7.042 ± 0.565	4.848 ± 0.25

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

Tabla 14. Resultados medios y totales de fitofuranos por tratamiento. Septiembre 2017.

<i>Fitofurano</i>	<i>Tratamiento</i>			
<i>Fecha: 09/09/2017</i>	<i>FW-C</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW-C</i>	<i>RW-RDI</i>
<i>Ent-9-(RS)-12-epi-ST-Δ^{10}-13-PhytoF</i>	29.356 $\pm$ 2.452	31.184 $\pm$ 1.267	12.484 $\pm$ 2.488	3.369 $\pm$ 0.587
<i>Ent-16-(RS)-13-epi-ST-Δ^{14}-9-PhytoF</i>	0.263 $\pm$ 0.026	0.41 $\pm$ 0.018	0.231 $\pm$ 0.022	0.129 $\pm$ 0.006
<i>Ent-16-(RS)-9-epi-ST-Δ^{14}-10-PhytoF</i>	7.666 $\pm$ 0.312	8.184 $\pm$ 0.331	6.862 $\pm$ 0.742	9.719 $\pm$ 0.197
<i>Total fitofuranos</i>	37.285 $\pm$ 2.328	39.779 $\pm$ 1.571	19.577 $\pm$ 2.925	13.216 $\pm$ 0.436

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

De manera gráfica, los niveles registrados de cada compuesto individual para el mes de septiembre de 2017 se pueden apreciar en la figura 28.

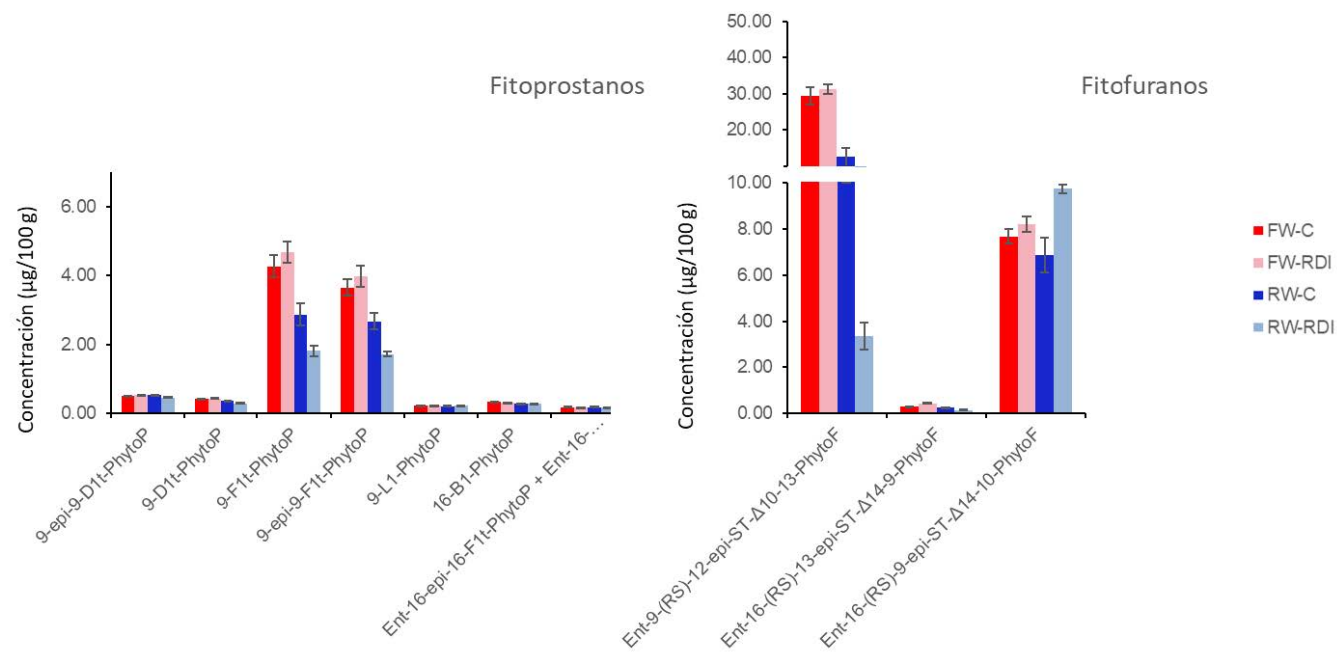


Figura 28. Niveles específicos para cada fitoprostano y fitofurano registrados en los diferentes tratamientos. Septiembre 2017

Los resultados medios de fitoprostanos y fitofuranos correspondientes a cada tratamiento durante el mes de febrero de 2018 se encuentran recogido en las tablas 15 y 16.

Tabla 15. Resultados medios y totales de fitoprostanos por tratamiento. Febrero 2018.

<i>Fitoprostano</i>	<i>Tratamiento</i>			
<i>Fecha: 15/02/2018</i>	<i>FW-C</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW-C</i>	<i>RW-RDI</i>
<i>9-epi-9-D₁₁-PhytoP</i>	0.435 ± 0.007	0.442 ± 0.007	0.461 ± 0.001	0.429 ± 0.007
<i>9-D₁₁-PhytoP</i>	0.252 ± 0.012	0.256 ± 0.017	0.301 ± 0.002	0.21 ± 0.004
<i>9-F₁₁-PhytoP</i>	5.671 ± 0.675	2.821 ± 0.365	3.14 ± 0.155	1.879 ± 0.309
<i>9-epi-9-F₁₁-PhytoP</i>	3.483 ± 0.441	1.638 ± 0.104	1.648 ± 0.05	1.39 ± 0.104
<i>9-L₁-PhytoP</i>	0.237 ± 0.007	0.224 ± 0.004	0.204 ± 0.002	0.191 ± 0.0
<i>16-B₁-PhytoP</i>	0.31 ± 0.007	0.282 ± 0.002	0.282 ± 0.001	0.274 ± 0.001
<i>Ent-16-epi-16-F₁₁-PhytoP</i> + <i>Ent-16-F₁₁-PhytoP</i>	0.163 ± 0.001	0.16 ± 0.003	0.16 ± 0.001	0.156 ± 0.0
<i>Total fitoprostanos</i>	10.551 ± 1.144	5.823 ± 0.486	6.195 ± 0.123	4.529 ± 0.417

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

Tabla 16. Resultados medios y totales de fitofuranos por tratamiento. Febrero 2018.

<i>Fitofurano</i>	<i>Tratamiento</i>			
<i>Fecha: 15/02/2018</i>	<i>FW-C</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW-C</i>	<i>RW-RDI</i>
<i>Ent-9-(RS)-12-epi-ST-Δ^{10}-13-PhytoF</i>	16.101 $\pm$ 1.153	14.722 $\pm$ 4.121	24.764 $\pm$ 2.668	5.902 $\pm$ 0.103
<i>Ent-16-(RS)-13-epi-ST-Δ^{14}-9-PhytoF</i>	0.358 $\pm$ 0.049	0.29 $\pm$ 0.054	0.415 $\pm$ 0.054	0.231 $\pm$ 0.027
<i>Ent-16-(RS)-9-epi-ST-Δ^{14}-10-PhytoF</i>	12.32 $\pm$ 0.551	17.718 $\pm$ 0.741	15.201 $\pm$ 0.856	16.852 $\pm$ 0.532
<i>Total fitofuranos</i>	28.778 $\pm$ 1.133	32.73 $\pm$ 3.467	40.381 $\pm$ 2.099	22.985 $\pm$ 0.404

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

Los niveles registrados de cada compuesto individual para el mes de febrero de 2018 se pueden apreciar en la figura 29.

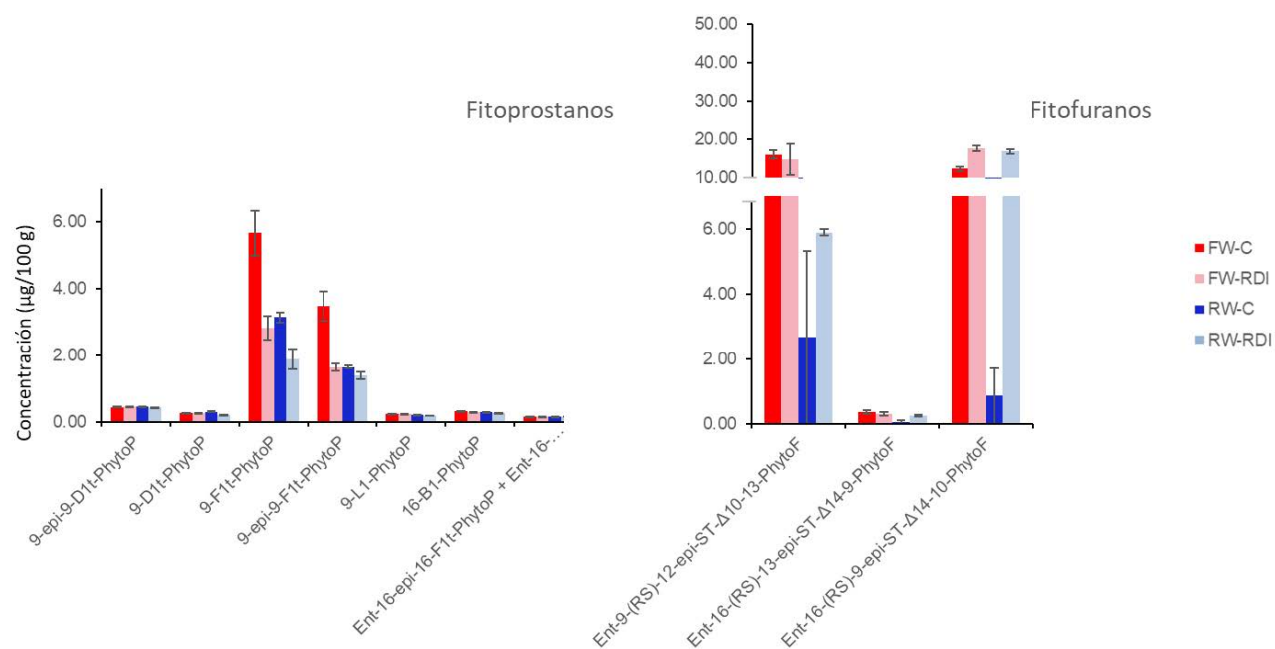


Figura 29. Niveles específicos para cada fitoprostano y fitofurano registrados en los diferentes tratamientos. Febrero 2018

En las tablas 17 y 18 se resume el contenido medio por compuesto y la suma total para el análisis de fitoprostanos y fitofuranos registrado durante el mes de abril de 2018.

Tabla 17. Resultados medios y totales de fitoprostanos por tratamiento. Abril 2018.

<i>Fitoprostanos</i>	<i>Tratamiento</i>			
<i>Fecha: 18/04/2018</i>	<i>FW-C</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW-C</i>	<i>RW-RDI</i>
<i>9-epi-9-D₁₁-PhytoP</i>	0.387 ± 0.004	0.418 ± 0.003	0.373 ± 0.0	0.382 ± 0.001
<i>9-D₁₁-PhytoP</i>	0.174 ± 0.005	0.21 ± 0.002	0.157 ± 0.0	0.169 ± 0.001
<i>9-F₁₁-PhytoP</i>	2.212 ± 0.337	2.011 ± 0.412	0.082 ± 0.015	0.52 ± 0.067
<i>9-epi-9-F₁₁-PhytoP</i>	1.119 ± 0.067	1.273 ± 0.077	0.585 ± 0.005	0.773 ± 0.031
<i>9-L₁-PhytoP</i>	0.201 ± 0.003	0.185 ± 0.0	0.185 ± 0.0	0.189 ± 0.0
<i>16-B₁-PhytoP</i>	0.292 ± 0.004	0.268 ± 0.0	0.268 ± 0.0	0.268 ± 0.0
<i>Ent-16-epi-16-F₁₁-PhytoP</i> + <i>Ent-16-F₁₁-PhytoP</i>	0.177 ± 0.002	0.166 ± 0.003	0.190 ± 0.003	0.169 ± 0.0
<i>Total fitoprostanos</i>	4.562 ± 0.405	4.531 ± 0.463	1.84 ± 0.02	2.469 ± 0.089

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

Tabla 18. Resultados medios y totales de fitofuranos por tratamiento. Abril 2018.

<i>Fitofurano</i>	<i>Tratamiento</i>			
<i>Fecha: 18/04/2018</i>	<i>FW-C</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW-C</i>	<i>RW-RDI</i>
<i>Ent-9-(RS)-12-epi-ST-Δ^{10}-13-PhytoF</i>	4.057 ± 1.147	18.423 ± 2.201	4.426 ± 1.105	3.116 ± 0.725
<i>Ent-16-(RS)-13-epi-ST-Δ^{14}-9-PhytoF</i>	0.166 ± 0.014	0.725 ± 0.080	0.019 ± 0.003	0.094 ± 0.015
<i>Ent-16-(RS)-9-epi-ST-Δ^{14}-10-PhytoF</i>	0.077 ± 0.019	0.293 ± 0.039	0.06 ± 0.017	0.015 ± 0.002
<i>Total fitofuranos</i>	4.299 ± 1.142	19.441 ± 2.260	4.505 ± 1.124	3.225 ± 0.712

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

Los niveles medios medidos para cada compuesto durante el mes de abril de 2018 se pueden apreciar en la figura 30.

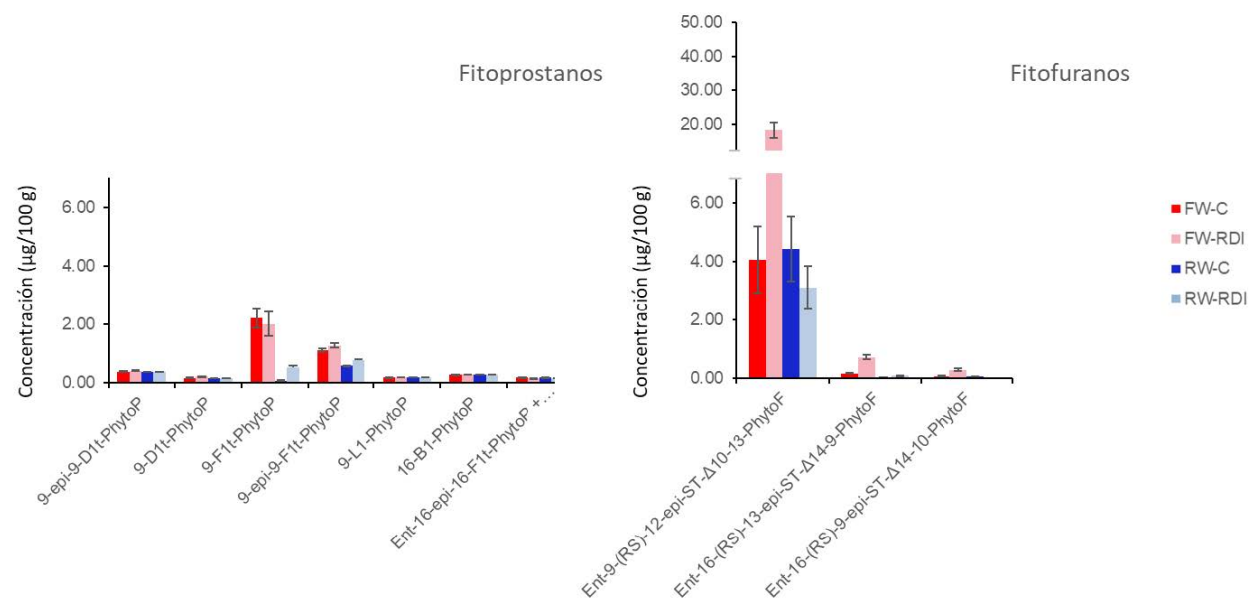


Ilustración 30. Niveles específicos para cada fitoprostano y fitofurano registrados en los diferentes tratamientos. Abril 2018

En las tablas 19 y 20 se resume el contenido medio y total de fitoprostanos y fitofuranos registrado durante el mes de mayo de 2018.

Tabla 19. Resultados medios y totales de fitoprostanos por tratamiento. Mayo 2018.

<i>Fitoprostano</i>	<i>Tratamiento</i>			
<i>Fecha: 23/05/2018</i>	<i>FW-C</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW-C</i>	<i>RW-RDI</i>
<i>9-epi-9-D₁₁-PhytoP</i>	0.382 ± 0.003	0.405 ± 0.002	0.419 ± 0.004	0.401 ± 0.002
<i>9-D₁₁-PhytoP</i>	0.176 ± 0.007	0.196 ± 0.005	0.278 ± 0.013	0.235 ± 0.01
<i>9-F₁₁-PhytoP</i>	1.891 ± 0.447	3.246 ± 0.173	6.081 ± 0.582	2.872 ± 0.329
<i>9-epi-9-F₁₁-PhytoP</i>	1.132 ± 0.117	1.516 ± 0.061	2.564 ± 0.185	1.448 ± 0.09
<i>9-L₁-PhytoP</i>	0.188 ± 0.001	0.191 ± 0.0	0.187 ± 0.0	0.188 ± 0.0
<i>16-B₁-PhytoP</i>	0.269 ± 0.001	0.273 ± 0.0	0.271 ± 0.001	0.271 ± 0.0
<i>Ent-16-epi-16-F₁₁-PhytoP</i> + <i>Ent-16-F₁₁-PhytoP</i>	0.187 ± 0.005	0.178 ± 0.001	0.154 ± 0.0	0.155 ± 0.0
<i>Total fitoprostanos</i>	4.226 ± 0.57	6.004 ± 0.232	9.955 ± 0.782	5.568 ± 0.429

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

Tabla 20. Resultados medios y totales de fitofuranos por tratamiento. Mayo 2018.

<i>Fitofurano</i>	<i>Tratamiento</i>			
<i>Fecha: 23/05/2018</i>	<i>FW-C</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW-C</i>	<i>RW-RDI</i>
<i>Ent-9-(RS)-12-epi-ST-Δ^{10}-13-PhytoF</i>	1.76 ± 0.610	3.282 ± 1.137	2.444 ± 0.194	<i>no detectado</i>
<i>Ent-16-(RS)-13-epi-ST-Δ^{14}-9-PhytoF</i>	0.19 ± 0.025	0.394 ± 0.037	0.537 ± 0.022	0.27 ± 0.025
<i>Ent-16-(RS)-9-epi-ST-Δ^{14}-10-PhytoF</i>	0.371 ± 0.074	0.163 ± 0.046	0.006 ± 0.0	0.004 ± 0.001
<i>Total fitofuranos</i>	2.321 ± 0.632	3.839 ± 1.155	2.987 ± 0.194	0.275 ± 0.026

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

Gráficamente, los resultados para cada compuesto medidos durante el mes de mayo de 2018 se pueden apreciar en la figura 31.

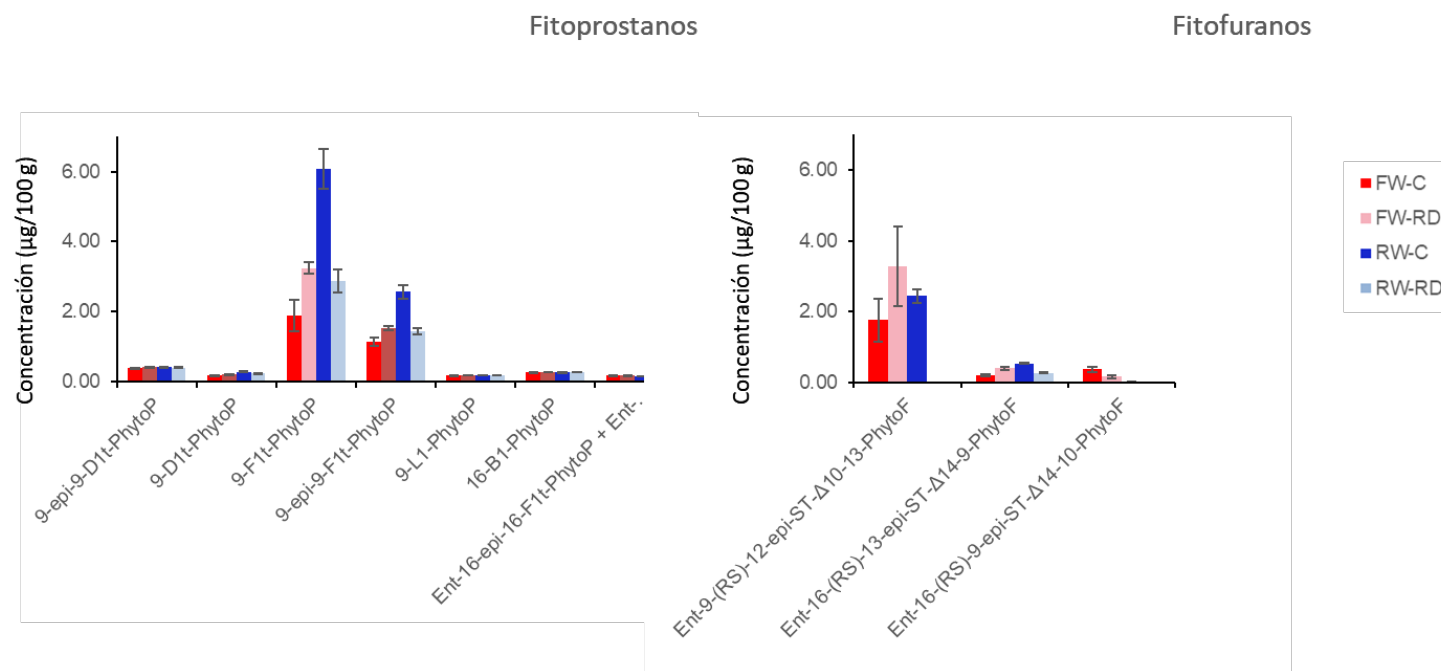


Figura 31. Niveles específicos para cada fitoprostano y fitofurano registrados en los diferentes tratamientos. Mayo 2018

En las tablas 21 y 22 se resume el contenido medio y total de fitoprostanos y fitofuranos registrado durante el mes de julio de 2018.

Tabla 21. Resultados medios y totales de fitoprostanos por tratamiento. Julio 2018.

<i>Fitoprostano</i>	<i>Tratamiento</i>			
<i>Fecha: 30/07/2018</i>	<i>FW-C</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW-C</i>	<i>RW-RDI</i>
<i>9-epi-9-D₁₁-PhytoP</i>	0.747 ± 0.096	0.469 ± 0.007	0.472 ± 0.034	1.069 ± 0.165
<i>9-D₁₁-PhytoP</i>	0.682 ± 0.086	0.339 ± 0.016	0.338 ± 0.062	1.28 ± 0.222
<i>9-F₁₁-PhytoP</i>	33.141 ± 8.050	4.995 ± 0.779	11.226 ± 3.740	37.056 ± 5.538
<i>9-epi-9-F₁₁-PhytoP</i>	19.901 ± 5.965	1.946 ± 0.125	8.697 ± 2.761	31.816 ± 5.752
<i>9-L₁-PhytoP</i>	0.708 ± 0.128	0.235 ± 0.008	0.243 ± 0.02	0.721 ± 0.083
<i>16-B₁-PhytoP</i>	0.827 ± 0.131	0.323 ± 0.011	0.334 ± 0.023	0.847 ± 0.098
<i>Ent-16-epi-16-F₁₁-PhytoP</i> + <i>Ent-16-F₁₁-PhytoP</i>	0.166 ± 0.0	0.163 ± 0.002	0.177 ± 0.002	0.186 ± 0.006
<i>Total fitoprostanos</i>	56.173 ± 14.452	8.47 ± 0.900	21.488 ± 6.638	72.974 ± 11.794

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

Tabla 22. Resultados medios y totales de fitofuranos por tratamiento. Julio 2018.

<i>Fitofurano</i>	<i>Tratamiento</i>			
<i>Fecha: 30/07/2018</i>	<i>FW-C</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW-C</i>	<i>RW-RDI</i>
<i>Ent-9-(RS)-12-epi-ST-Δ^{10}-13-PhytoF</i>	93.808 $\pm$ 25.919	32.364 $\pm$ 8.333	143.981 $\pm$ 26.408	260.552 $\pm$ 47.51
<i>Ent-16-(RS)-13-epi-ST-Δ^{14}-9-PhytoF</i>	1.634 $\pm$ 0.273	1.182 $\pm$ 0.361	0.550 $\pm$ 0.028	1.290 $\pm$ 0.231
<i>Ent-16-(RS)-9-epi-ST-Δ^{14}-10-PhytoF</i>	0.090 $\pm$ 0.013	0.030 $\pm$ 0.010	0.032 $\pm$ 0.005	0.036 $\pm$ 0.009
<i>Total fitofuranos</i>	95.532 $\pm$ 25.982	33.575 $\pm$ 8.687	144.563 $\pm$ 26.379	261.878 $\pm$ 47.665

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

Los niveles totales para cada compuesto medidos durante el mes de julio de 2018 se pueden apreciar en la figura 32.

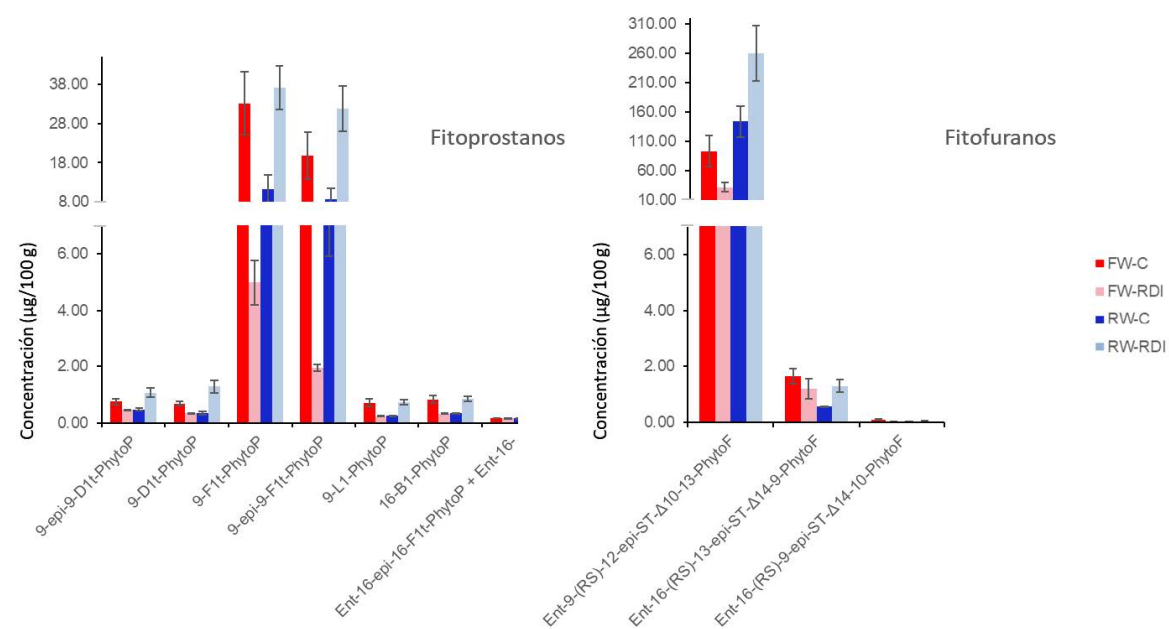


Figura 32. Niveles específicos para cada fitoprostano y fitofurano registrados en los diferentes tratamientos. Julio 2018

Los valores medios registrados para fitoprostanos y fitofuranos en función del tratamiento correspondientes a las muestras procesadas en el mes de septiembre de 2018 se muestran en las tablas 23 y 24.

Tabla 23. Resultados medios y totales de fitoprostanos por tratamiento. Septiembre 2018.

<i>Fitoprostano</i>	<i>Tratamiento</i>			
<i>Fecha: 03/09/2018</i>	<i>FW-C</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW-C</i>	<i>RW-RDI</i>
<i>9-epi-9-D₁₁-PhytoP</i>	0.398 ± 0.008	0.496 ± 0.012	0.553 ± 0.017	0.471 ± 0.016
<i>9-D₁₁-PhytoP</i>	0.180 ± 0.006	0.392 ± 0.024	0.556 ± 0.039	0.401 ± 0.030
<i>9-F₁₁-PhytoP</i>	0.747 ± 0.139	3.458 ± 0.244	6.484 ± 0.660	6.113 ± 1.020
<i>9-epi-9-F₁₁-PhytoP</i>	1.003 ± 0.110	3.056 ± 0.349	5.483 ± 0.959	2.727 ± 0.425
<i>9-L₁-PhytoP</i>	0.187 ± 0.003	0.215 ± 0.0	0.227 ± 0.004	0.200 ± 0.002
<i>16-B₁-PhytoP</i>	0.269 ± 0.0	0.295 ± 0.003	0.300 ± 0.002	0.283 ± 0.002
<i>Ent-16-epi-16-F₁₁-PhytoP</i> + <i>Ent-16-F₁₁-PhytoP</i>	0.249 ± 0.011	0.191 ± 0.002	0.27 ± 0.022	0.180 ± 0.003
<i>Total fitoprostanos</i>	3.033 ± 0.252	8.103 ± 0.624	13.873 ± 1.655	10.376 ± 1.281

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

Tabla 24. Resultados medios y totales de fitofuranos por tratamiento. Septiembre 2018.

<i>Fitofurano</i>	<i>Tratamiento</i>			
<i>Fecha: 03/09/2018</i>	<i>FW-C</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW-C</i>	<i>RW-RDI</i>
<i>Ent-9-(RS)-12-epi-ST-Δ^{10}-13-PhytoF</i>	13.164 $\pm$ 1.962	14.057 $\pm$ 2.496	13.551 $\pm$ 4.310	10.288 $\pm$ 2.749
<i>Ent-16-(RS)-13-epi-ST-Δ^{14}-9-PhytoF</i>	0.135 $\pm$ 0.001	0.273 $\pm$ 0.033	0.758 $\pm$ 0.178	0.525 $\pm$ 0.069
<i>Ent-16-(RS)-9-epi-ST-Δ^{14}-10-PhytoF</i>	6.745 $\pm$ 1.048	10.358 $\pm$ 0.429	7.192 $\pm$ 1.091	10.281 $\pm$ 0.302
<i>Total fitofuranos</i>	20.044 $\pm$ 1.770	24.688 $\pm$ 2.612	21.501 $\pm$ 3.426	21.094 $\pm$ 2.930

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

Los resultados medios para cada compuesto medidos durante el mes de septiembre de 2018 se encuentran graficados en la figura 33

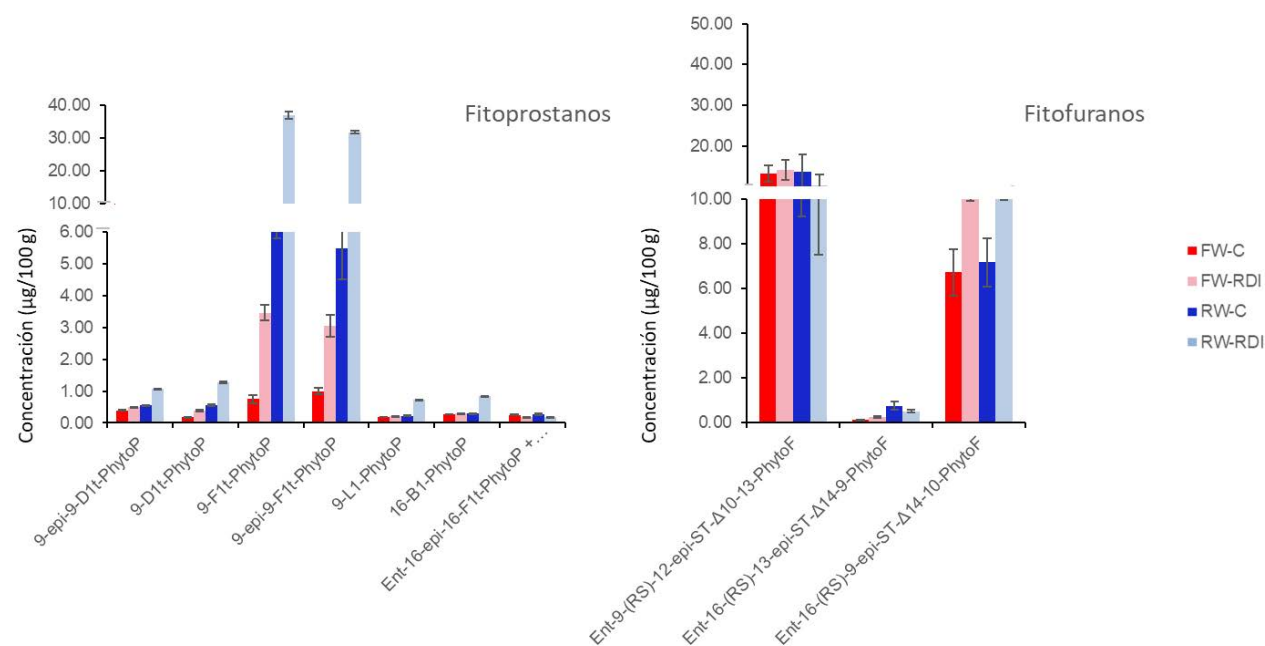


Figura 33. Niveles específicos para cada fitoprostano y fitofurano registrados en los diferentes tratamientos. Julio 2018

5.1.5.1. Resultados totales obtenidos por meses para las distintas oxilipinas y los distintos tratamientos.

Resumiendo, en las tablas 25 y 26 se recogen los valores registrados para el total de fitoprostanos y fitofuranos por meses en cada tratamiento

Tabla 25. Total de fitoprostanos encontrado en los distintos muestreos resumidos por tratamiento.

<i>Total fitoprostanos</i>	<i>Tratamiento</i>			
	<i>FW-C</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW-C</i>	<i>RW-RDI</i>
<i>Septiembre 2017</i>	9.503 ± 0.566	10.23 ± 0.655	7.042 ± 0.565	4.848 ± 0.250
<i>Febrero 2018</i>	10.551 ± 1.144	5.823 ± 0.486	6.195 ± 0.123	4.529 ± 0.417
<i>Abril 2018</i>	4.562 ± 0.405	4.531 ± 0.463	1.84 ± 0.020	2.469 ± 0.089
<i>Mayo 2018</i>	4.226 ± 0.570	6.004 ± 0.232	9.955 ± 0.782	5.568 ± 0.429
<i>Julio 2018</i>	56.173 ± 14.452	8.47 ± 0.900	21.488 ± 6.638	72.974 ± 11.794
<i>Septiembre 2018</i>	3.033 ± 0.252	8.103 ± 0.624	13.873 ± 1.655	10.376 ± 1.281

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

Tabla 26. Total de fitofuranos encontrado en los distintos muestreos resumidos por tratamiento.

<i>Total fitoprostanos</i>	<i>Tratamiento</i>			
	<i>FW-C</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW-C</i>	<i>RW-RDI</i>
<i>Septiembre 2017</i>	37.285 ± 2.328	39.779 ± 1.571	19.577 ± 2.925	13.216 ± 0.436
<i>Febrero 2018</i>	28.778 ± 1.133	32.73 ± 3.467	40.381 ± 2.099	22.985 ± 0.404
<i>Abril 2018</i>	4.299 ± 1.142	19.441 ± 2.260	4.505 ± 1.124	3.225 ± 0.712
<i>Mayo 2018</i>	2.321 ± 0.632	3.839 ± 1.155	2.987 ± 0.194	0.275 ± 0.026
<i>Julio 2018</i>	95.532 ± 25.982	33.575 ± 8.687	144.563 ± 26.379	261.878 ± 47.665
<i>Septiembre 2018</i>	20.044 ± 1.770	24.688 ± 2.612	21.501 ± 3.426	21.094 ± 2.93

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

Atendiendo a los resultados de los análisis en cada muestreo la evolución mensual que se observa en la figura 34 muestra un perfil cualitativo mantenido, a excepción del mes de julio, independientemente del tipo de agua utilizada, de trasvase (FW), de buena calidad, o reciclada (RW), de mayor salinidad, así como del régimen de riego establecido en cada momento (C: 100% del requerimiento hídrico (C) o déficit hídrico controlado (RDI).

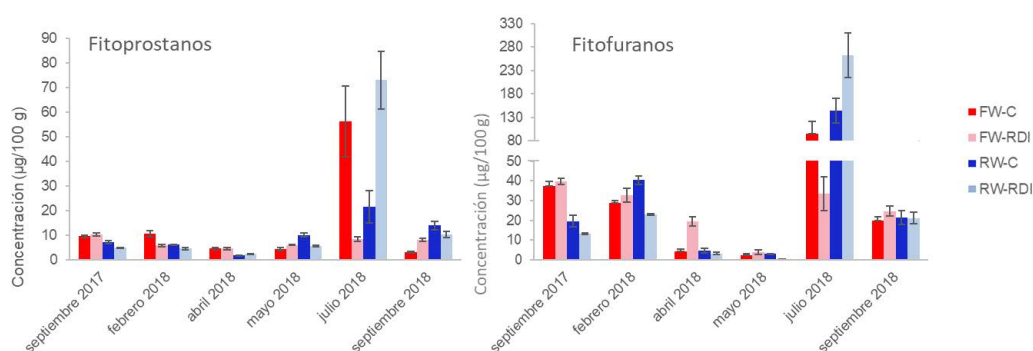


Figura 34. Niveles acumulados por meses en los cuatro tratamientos para el análisis de fitoprostanos y fitofuranos.

En todos los meses sin excepción se encuentran valores superiores de fitofuranos, compuestos con un grado de oxidación mayor que el de los fitoprostanos, y a excepción del muestreo del mes de julio los niveles tanto de fitoprostanos como de fitofuranos son menores en mandarinos regados con agua regenerada y un déficit hídrico del 50% (RW-RDI)

Cabe destacar la alta afectación de oxilipinas de ambos tipos, correspondientes al mes de julio con respecto al resto de meses del año. Esto se debe al estado de saturación de estrés oxidativo de los árboles debido a las condiciones extremas climáticas y de estrés abiótico que se generan en esta fase fenológica del año.

5.1.4.2. Evolución mensual individual de las oxilipinas en función del tratamiento

En las tablas siguientes se muestra la evolución mensual de cada fitoprostano y cada fitofurano para los cuatro tratamientos con agua de distintas calidades y distinto régimen de riego.

Tabla 27. Niveles registrados de 9-*epi*-9-*D*₁₁-PhytoP en los distintos muestreos resumidos por tratamiento.

9- <i>epi</i> -9- <i>D</i> ₁₁ -PhytoP	Tratamiento			
	FW-C	FW-RDI	RW-C	RW-RDI
Septiembre 2017	0.487 ± 0.009	0.509 ± 0.009	0.505 ± 0.011	0.445 ± 0.007
Febrero 2018	0.435 ± 0.007	0.442 ± 0.007	0.461 ± 0.001	0.429 ± 0.007
Abril 2018	0.387 ± 0.004	0.418 ± 0.003	0.373 ± 0.0	0.382 ± 0.001
Mayo 2018	0.382 ± 0.003	0.405 ± 0.002	0.419 ± 0.004	0.401 ± 0.002
Julio 2018	0.747 ± 0.096	0.469 ± 0.007	0.472 ± 0.034	1.069 ± 0.165
Septiembre 2018	0.398 ± 0.008	0.496 ± 0.012	0.553 ± 0.017	0.471 ± 0.016

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

Tabla 28. Niveles registrados de 9-D₁₁-PhytoP en los distintos muestreos resumidos por tratamiento.

9-D ₁₁ -PhytoP	Tratamiento			
	FW-C	FW-RDI	RW-C	RW-RDI
Septiembre 2017	0.396 ± 0.019	0.41 ± 0.016	0.343 ± 0.020	0.274 ± 0.008
Febrero 2018	0.252 ± 0.012	0.256 ± 0.017	0.301 ± 0.002	0.21 ± 0.004
Abril 2018	0.174 ± 0.005	0.21 ± 0.002	0.157 ± 0.0	0.169 ± 0.001
Mayo 2018	0.176 ± 0.007	0.196 ± 0.005	0.278 ± 0.013	0.235 ± 0.010
Julio 2018	0.682 ± 0.086	0.339 ± 0.016	0.338 ± 0.062	1.28 ± 0.222
Septiembre 2018	0.18 ± 0.006	0.392 ± 0.024	0.556 ± 0.039	0.401 ± 0.030

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

Tabla 29. Niveles registrados de 9-F₁₁-PhytoP en los distintos muestreos resumidos por tratamiento.

9-F ₁₁ -PhytoP	Tratamiento			
	FW-C	FW-RDI	RW-C	RW-RDI
Septiembre 2017	4.272 ± 0.313	4.679 ± 0.311	2.877 ± 0.308	1.803 ± 0.159
Febrero 2018	5.671 ± 0.675	2.821 ± 0.365	3.14 ± 0.155	1.879 ± 0.309
Abril 2018	2.212 ± 0.337	2.011 ± 0.412	0.082 ± 0.015	0.52 ± 0.067
Mayo 2018	1.891 ± 0.447	3.246 ± 0.173	6.081 ± 0.582	2.872 ± 0.329
Julio 2018	33.141 ± 8.050	4.995 ± 0.779	11.226 ± 3.74	37.056 ± 5.538
Septiembre 2018	0.747 ± 0.139	3.458 ± 0.244	6.484 ± 0.660	6.113 ± 1.020

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

Tabla 30. Niveles registrados de 9-*epi*-9-*D*₁₁-PhytoP en los distintos muestreos resumidos por tratamiento.

9- <i>epi</i> -9- <i>F</i> ₁₁ -PhytoP	Tratamiento			
	FW-C	FW-RDI	RW-C	RW-RDI
Septiembre 2017	3.657 ± 0.231	3.977 ± 0.312	2.681 ± 0.225	1.697 ± 0.075
Febrero 2018	3.483 ± 0.441	1.638 ± 0.104	1.648 ± 0.05	1.39 ± 0.104
Abril 2018	1.119 ± 0.067	1.273 ± 0.077	0.585 ± 0.005	0.773 ± 0.031
Mayo 2018	1.132 ± 0.117	1.516 ± 0.061	2.564 ± 0.185	1.448 ± 0.090
Julio 2018	19.901 ± 5.965	1.946 ± 0.125	8.697 ± 2.761	31.816 ± 5.752
Septiembre 2018	1.003 ± 0.110	3.056 ± 0.349	5.483 ± 0.959	2.727 ± 0.425

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

Tabla 31. Niveles registrados de 9-epi-9-L₁-PhytoP en los distintos muestreos resumidos por tratamiento.

9-L ₁ -PhytoP	Tratamiento			
	FW-C	FW-RDI	RW-C	RW-RDI
Septiembre 2017	0.216 ± 0.007	0.208 ± 0.004	0.196 ± 0.004	0.199 ± 0.001
Febrero 2018	0.237 ± 0.007	0.224 ± 0.004	0.204 ± 0.002	0.191 ± 0.0
Abril 2018	0.201 ± 0.003	0.185 ± 0.0	0.185 ± 0.0	0.189 ± 0.0
Mayo 2018	0.188 ± 0.001	0.191 ± 0.0	0.187 ± 0.0	0.187 ± 0.0
Julio 2018	0.708 ± 0.128	0.235 ± 0.008	0.243 ± 0.020	0.721 ± 0.083
Septiembre 2018	0.187 ± 0.0	0.215 ± 0.002	0.227 ± 0.004	0.2 ± 0.002

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

Tabla 32. Niveles registrados de 16-B₁-PhytoP en los distintos muestreos resumidos por tratamiento.

16-B ₁ -PhytoP	Tratamiento			
	FW-C	FW-RDI	RW-C	RW-RDI
Septiembre 2017	0.309 ± 0.002	0.287 ± 0.002	0.272 ± 0.001	0.272 ± 0.001
Febrero 2018	0.31 ± 0.007	0.282 ± 0.002	0.282 ± 0.001	0.274 ± 0.001
Abril 2018	0.292 ± 0.004	0.268 ± 0.0	0.268 ± 0.0	0.268 ± 0.0
Mayo 2018	0.269 ± 0.001	0.273 ± 0.0	0.271 ± 0.001	0.271 ± 0.0
Julio 2018	0.827 ± 0.131	0.323 ± 0.011	0.334 ± 0.023	0.847 ± 0.098
Septiembre 2018	0.269 ± 0.0	0.295 ± 0.003	0.3 ± 0.002	0.283 ± 0.002

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

Tabla 33. Niveles registrados de *Ent-16-epi-16-F₁₁-PhytoP* + *Ent-16-F₁₁-PhytoP* en los distintos muestreos resumidos por tratamiento.

<i>Ent-16-epi-16-F₁₁-PhytoP</i> <i>Ent-16-F₁₁-PhytoP</i>	<i>Tratamiento</i>			
	<i>FW-C</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW-C</i>	<i>RW-RDI</i>
<i>Septiembre 2017</i>	0.167 ± 0.002	0.161 ± 0.002	0.167 ± 0.002	0.157 ± 0.001
<i>Febrero 2018</i>	0.163 ± 0.001	0.16 ± 0.003	0.16 ± 0.001	0.156 ± 0.0
<i>Abril 2018</i>	0.177 ± 0.002	0.166 ± 0.003	0.19 ± 0.003	0.169 ± 0.0
<i>Mayo 2018</i>	0.187 ± 0.005	0.178 ± 0.001	0.154 ± 0.0	0.155 ± 0.0
<i>Julio 2018</i>	0.166 ± 0.0	0.163 ± 0.002	0.177 ± 0.002	0.186 ± 0.006
<i>Septiembre 2018</i>	0.249 ± 0.011	0.191 ± 0.002	0.27 ± 0.022	0.18 ± 0.003

FW: riego con agua de buena calidad; *RW*: agua reciclada; *C*: 100% del requerimiento hídrico; *RDI*: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

Tabla 34. Niveles registrados de *Ent-9-(RS)-12-epi-ST- Δ^{10} -13-PhytoF* en los distintos muestreos resumidos por tratamiento.

<i>Ent-9-(RS)-12-epi-ST-Δ^{10}-13-PhytoF</i>	<i>Tratamiento</i>			
	<i>FW-C</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW-C</i>	<i>RW-RDI</i>
<i>Septiembre 2017</i>	29.356 $\pm$ 2.452	31.184 $\pm$ 1.267	12.484 $\pm$ 2.488	3.369 $\pm$ 0.587
<i>Febrero 2018</i>	16.101 $\pm$ 1.153	14.722 $\pm$ 4.121	24.764 $\pm$ 2.668	5.902 $\pm$ 0.103
<i>Abril 2018</i>	4.057 $\pm$ 1.147	18.423 $\pm$ 2.201	4.426 $\pm$ 1.105	3.116 $\pm$ 0.725
<i>Mayo 2018</i>	1.76 $\pm$ 0.610	3.282 $\pm$ 1.137	2.444 $\pm$ 0.194	0 $\pm$ 0
<i>Julio 2018</i>	93.808 $\pm$ 25.919	32.364 $\pm$ 8.333	143.981 $\pm$ 26.408	260.552 $\pm$ 47.51
<i>Septiembre 2018</i>	13.164 $\pm$ 1.962	14.057 $\pm$ 2.496	13.551 $\pm$ 4.310	10.288 $\pm$ 2.749

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

Tabla 35. Niveles registrados de Ent-16-(RS)-13-epi-ST- Δ^{14} -9-PhytoF en los distintos muestreos resumidos por tratamiento.

<i>Ent-16-(RS)-13-epi-ST-Δ^{14}-9-PhytoF</i>	<i>Tratamiento</i>			
	<i>FW-C</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW-C</i>	<i>RW-RDI</i>
<i>Septiembre 2017</i>	0.263 $\pm$ 0.026	0.41 $\pm$ 0.018	0.231 $\pm$ 0.022	0.129 $\pm$ 0.006
<i>Febrero 2018</i>	0.358 $\pm$ 0.049	0.29 $\pm$ 0.054	0.415 $\pm$ 0.054	0.231 $\pm$ 0.027
<i>Abril 2018</i>	0.166 $\pm$ 0.014	0.725 $\pm$ 0.08	0.019 $\pm$ 0.003	0.094 $\pm$ 0.015
<i>Mayo 2018</i>	0.190 $\pm$ 0.025	0.394 $\pm$ 0.037	0.537 $\pm$ 0.022	0.270 $\pm$ 0.025
<i>Julio 2018</i>	1.634 $\pm$ 0.273	1.182 $\pm$ 0.361	0.550 $\pm$ 0.028	1.290 $\pm$ 0.231
<i>Septiembre 2018</i>	0.135 $\pm$ 0.001	0.273 $\pm$ 0.033	0.758 $\pm$ 0.178	0.525 $\pm$ 0.069

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

Tabla 36. Niveles registrados de *Ent-16-(RS)-9-epi-ST- Δ^{14} -10-PhytoF* en los distintos muestreos resumidos por tratamiento.

<i>Ent-16-(RS)-9-epi-ST-Δ^{14}-10-PhytoF</i>	<i>Tratamiento</i>			
	<i>FW-C</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW-C</i>	<i>RW-RDI</i>
<i>Septiembre 2017</i>	7.666 $\pm$ 0.312	8.184 $\pm$ 0.331	6.862 $\pm$ 0.742	9.719 $\pm$ 0.197
<i>Febrero 2018</i>	12.32 $\pm$ 0.551	17.718 $\pm$ 0.741	15.201 $\pm$ 0.856	16.852 $\pm$ 0.532
<i>Abril 2018</i>	0.077 $\pm$ 0.019	0.293 $\pm$ 0.039	0.06 $\pm$ 0.017	0.015 $\pm$ 0.002
<i>Mayo 2018</i>	0.371 $\pm$ 0.074	0.163 $\pm$ 0.046	0.006 $\pm$ 0.0	0.004 $\pm$ 0.001
<i>Julio 2018</i>	0.09 $\pm$ 0.013	0.03 $\pm$ 0.010	0.032 $\pm$ 0.005	0.036 $\pm$ 0.009
<i>Septiembre 2018</i>	6.745 $\pm$ 1.048	10.358 $\pm$ 0.429	7.192 $\pm$ 1.091	10.281 $\pm$ 0.302

FW: riego con agua de buena calidad; RW: agua reciclada; C: 100% del requerimiento hídrico; RDI: riego deficitario controlado, 50% del requerimiento hídrico.

De manera gráfica los resultados de los fitoprostanos y fitofuranos individuales para los distintos tratamientos se muestran en las figuras 35 y 36.

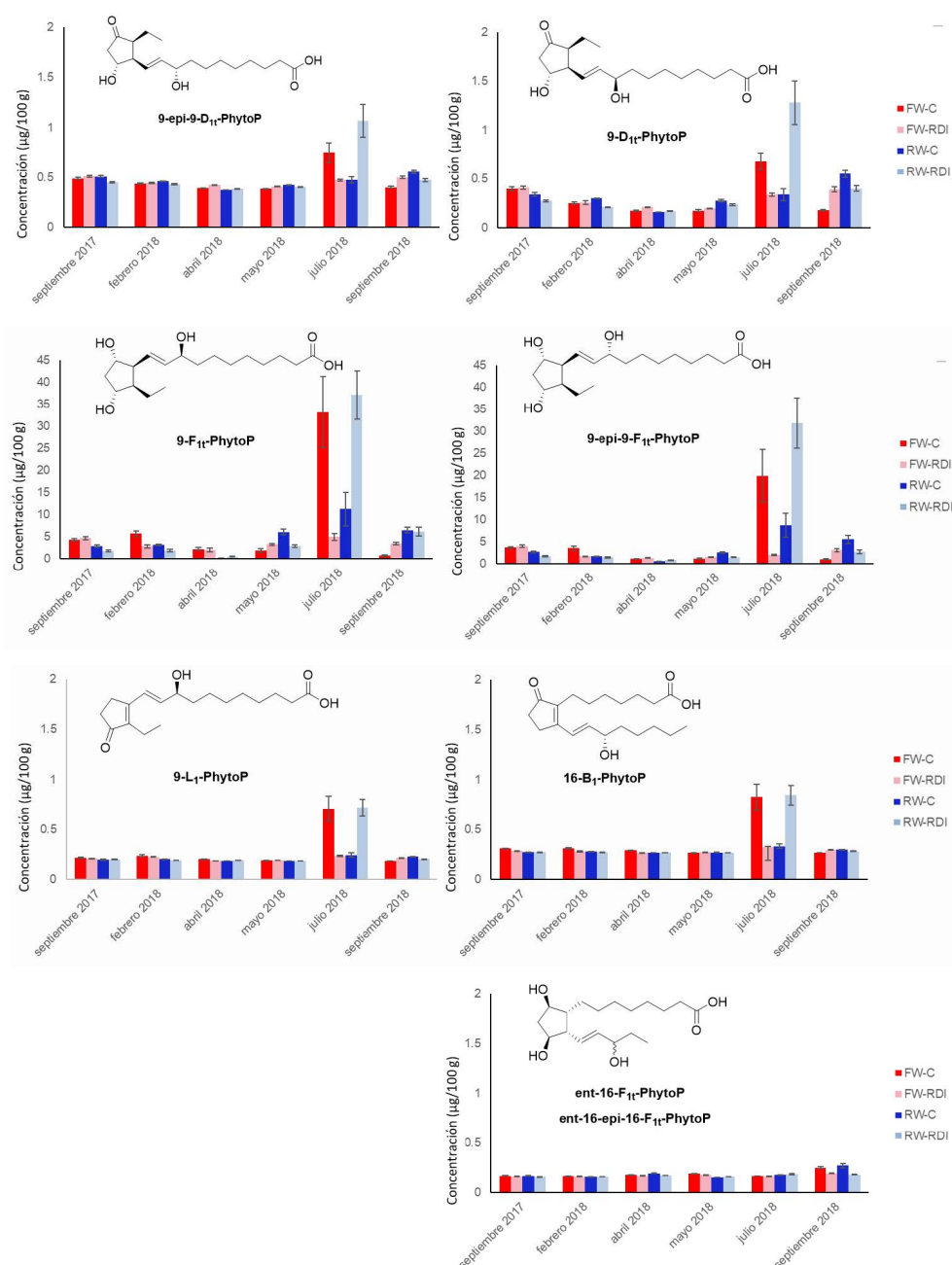


Figura 35. Niveles de fitoprostanos encontrados en los muestreos para cada uno de los cuatro tratamientos

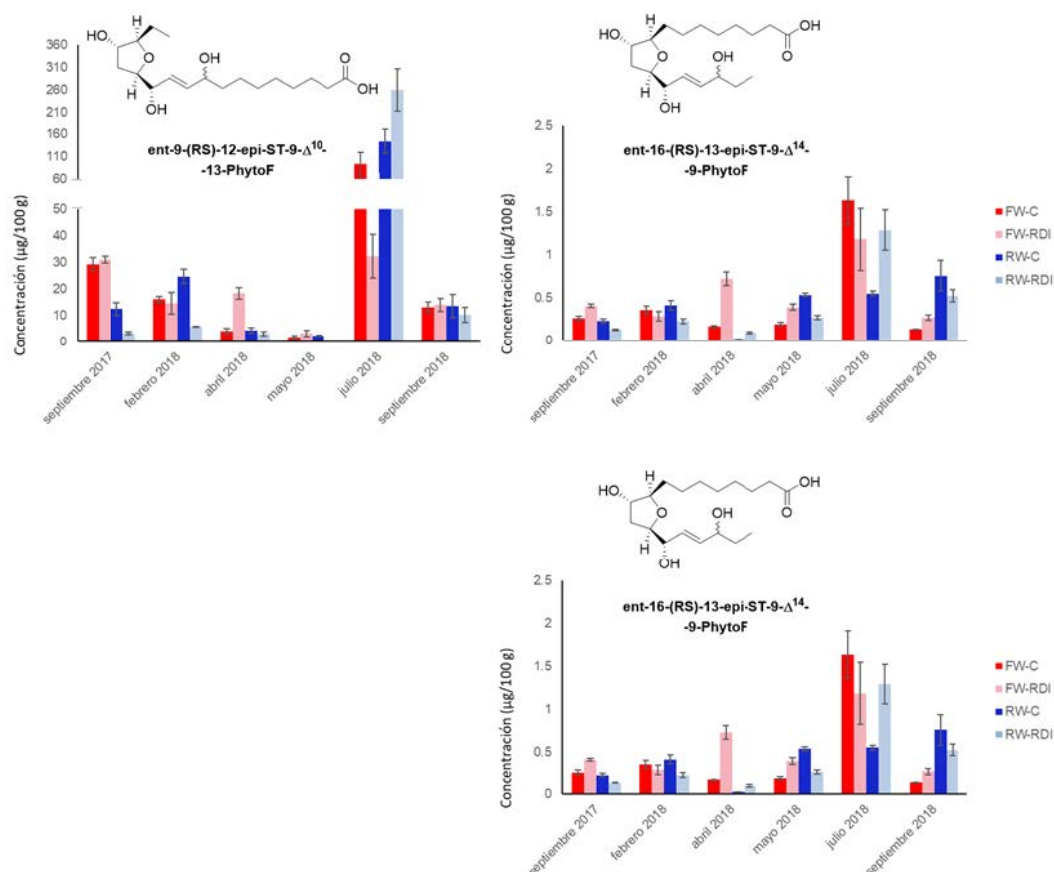


Figura 36. Niveles de fitofuranos encontrados en los muestreos para cada uno de los cuatro tratamientos.

5.1.4.3. Tratamiento estadístico de oxilipinas

Para establecer la significancia del grado de estrés oxidativo que sufre el mandarino durante sus diferentes estados fenológicos en relación con la calidad del agua, de buena calidad (FW) procedente del trasvase, o reciclada (RW), de mayor salinidad, y el correspondiente régimen de riego, 100% y 50% de sus necesidades hídricas, se llevó a cabo un análisis intragrupos del total de fitoprostanos y fitofuranos, e individualmente para cada uno de los compuestos analizados.

La comparativa entre medias en función de tipo de compuesto, tratamiento concreto y mes de muestreo se muestra en la tabla 37.

Tabla 37. Prueba de comparación múltiple de Tukey. Fitoprostanos y fitofuranos totales.

	<i>Fitoprostanos totales</i>	<i>Fitofuranos totales</i>
Sep. 2017 FW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	ns	**
Sep. 2017 FW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	ns	*
Sep. 2017 RW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	*	**
Sep. 2017 RW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	*	**
Feb. 2018 FW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	ns	**
Feb. 2018 FW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	*	**
Feb. 2018 RW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	ns	**
Feb. 2018 RW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	*	*
Feb. 2018 RW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	*	**
Abr. 2018 FW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	*	**
Abr. 2018 FW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	*	**
Abr. 2018 RW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	*	**
Abr. 2018 RW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	*	**
May. 2018 FW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	*	**
May. 2018 FW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	*	**
May. 2018 FW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	*	**
May. 2018 RW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	*	**
Jul. 2018 RW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	*	**
Sep. 2018 FW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	*	**
Sep. 2018 FW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	*	**
Sep. 2018 RW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	ns	**
Sep. 2018 RW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	ns	**

Atendiendo al análisis estadístico intragrupos, no se encontró ninguna significancia en cada momento fenológico del año en el que se realizó la medida, tanto con el agua de buena calidad como con el agua reciclada y tanto en condiciones de riego al 100% o al 50% para ambos tipos de agua (Tabla 37).

Cabe reseñar que, a pesar de no haber significancia establecida per se, sí que se observa una tendencia a disminuir el contenido de fitoprostanos y fitofuranos en los mandarinos regados con agua reciclada salina al 50% en todos los meses del año medidos menos en julio donde el comportamiento es diferente merced a la fase fenológica del año caracterizada por una alta radiación solar, altas temperaturas y un mayor fotoperiodo diario, condiciones que conllevan una alta evapotranspiración y un altísimo estrés oxidativo para los árboles.

De igual manera se analizó el comportamiento de cada uno de los fitoprostanos y fitofuranos individualmente con el objetivo de conocer su comportamiento frente a las variables establecidas y si existe la posibilidad de que alguno de estos compuestos resultara candidato a la detección precoz de estrés oxidativo frente a los estreses abióticos planteados para su futuro uso en aplicaciones de tratamientos agronómicos y agromoleculares.

Los resultados del análisis estadístico se muestran a continuación en la tabla 38 para los fitoprostanos y la tabla 39 para los fitofuranos.

Tabla 38. Prueba de comparación múltiple de Tukey. Fitoprostanos individuales.

	<i>9-epi-9-D1t-PhytoP</i>	<i>9-D1t-PhytoP</i>	<i>9-F1t-PhytoP</i>	<i>9-epi-9-F1t-PhytoP</i>	<i>9-L1t-PhytoP</i>	<i>16-B1-PhytoP</i>	<i>ent-16-epi-16-F1t-PhytoP + ent-16-F1t-PhytoP</i>
Sep. 2017 FW-C vs Jul. 2018 RW-C	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*
Sep. 2017 FW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	ns	*	ns	ns	*	ns	ns
Sep. 2017 FW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns
Sep. 2017 RW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	ns	*	ns	*	*	*	ns
Sep. 2017 RW-C vs Jul. 2018 FW-C	ns	ns	ns	ns	*	*	ns
Sep. 2017 RW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	ns	*	*	*	*	*	**

Tabla 38. (continuación).

	<i>9-epi-9-D1t-PhytoP</i>	<i>9-D1t-PhytoP</i>	<i>9-F1t-PhytoP</i>	<i>9-epi-9-F1t-PhytoP</i>	<i>9-L1t-PhytoP</i>	<i>16-B1-PhytoP</i>	<i>ent-16-epi-16-F1t-PhytoP + ent-16-F1t-PhytoP</i>
Sep. 2017 RW-RDI vs Jul. 2018 FW-C	ns	ns	ns	ns	*	*	ns
Sep. 2017 FW-C vs Sep. 2018 RW-C	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*
Sep. 2017 FW-RDI vs Sep. 2018 RW-C	ns	ns	ns	ns	ns	ns	**
Feb. 2018 FW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns
Feb. 2018 FW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	ns	*	ns	*	ns	*	ns
Feb. 2018 FW-RDI vs Jul. 2018 FW-C	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns

Tabla 38. (continuación).

	<i>9-epi-9-D1t-PhytoP</i>	<i>9-D1t-PhytoP</i>	<i>9-F1t-PhytoP</i>	<i>9-epi-9-F1t-PhytoP</i>	<i>9-L1t-PhytoP</i>	<i>16-B1-PhytoP</i>	<i>ent-16-epi-16-F1t-PhytoP + ent-16-F1t-PhytoP</i>
Feb. 2018 RW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	ns	*	ns	ns	ns	ns	Ns
Feb. 2018 RW-C vs Jul. 2018 FW-C	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns
Feb. 2018 RW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	ns	ns	ns	*	*	*	ns
Feb. 2018 RW-RDI vs Jul. 2018 FW-C	ns	ns	ns	ns	*	*	ns
Feb. 2018 RW-RDI vs Julio 2018 RW-RDI	ns	**	*	*	*	*	ns
Feb. 2018 FW-C vs Sep. 2018 RW-C	ns	ns	ns	ns	ns	ns	**

Tabla 38. (continuación).

	<i>9-epi-9-D1t-PhytoP</i>	<i>9-D1t-PhytoP</i>	<i>9-F1t-PhytoP</i>	<i>9-epi-9-F1t-PhytoP</i>	<i>9-L1t-PhytoP</i>	<i>16-B1-PhytoP</i>	<i>ent-16-epi-16-F1t-PhytoP + ent-16-F1t-PhytoP</i>
Feb. 2018 FW-RDI vs Sep. 2018 RW-C	ns	ns	ns	ns	ns	ns	**
Feb. 2018 RW-C vs Sep. 2018 RW-C	ns	ns	ns	ns	ns	ns	**
Feb. 2018 RW-RDI vs Sep. 2018 FW-C	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*
Feb. 2018 RW-RDI vs Sep. 2018 RW-C	ns	ns	ns	ns	ns	ns	**
Feb. 2018 FW-C vs Jul. 2018 FW-C	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns
Abr. 2018 FW-C vs Jul. 2018 FW-C	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns

Tabla 38. (continuación).

	<i>9-epi-9-D1t-PhytoP</i>	<i>9-D1t-PhytoP</i>	<i>9-F1t-PhytoP</i>	<i>9-epi-9-F1t-PhytoP</i>	<i>9-L1t-PhytoP</i>	<i>16-B1-PhytoP</i>	<i>ent-16-epi-16-F1t-PhytoP + ent-16-F1t-PhytoP</i>
Abr. 2018 FW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	*	**	*	*	*	*	ns
Abr. 2018 FW-RDI vs Jul. 2018 FW-C	ns	ns	ns	ns	*	*	ns
Abr. 2018 FW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	*	**	*	*	*	*	ns
Abr. 2018 RW-C vs Jul. 2018 FW-C					*		ns
Abr. 2018 RW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	*	**	*	*	*	*	ns
Abr. 2018 RW-RDI vs Jul. 2018 FW-C	ns	ns	ns	ns	*	*	ns

Tabla 38. (continuación).

	<i>9-epi-9-D1t-PhytoP</i>	<i>9-D1t-PhytoP</i>	<i>9-F1t-PhytoP</i>	<i>9-epi-9-F1t-PhytoP</i>	<i>9-L1t-PhytoP</i>	<i>16-B1-PhytoP</i>	<i>ent-16-epi-16-F1t-PhytoP + ent-16-F1t-PhytoP</i>
Abr. 2018 RW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	*	**	*	*	*	*	ns
Abr. 2018 RW-RDI vs Sep. 2018 FW-C	ns	ns	ns	ns	ns	*	*
Abr. 2018 RW-RDI vs Sep. 2018 RW-C	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*
May. 2018 FW-C vs Jul. 2018 FW-C	ns	ns	ns	ns	*	*	ns
May. 2018 FW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	*	**	*	*	*	*	ns
May. 2018 FW-RDI vs Jul. 2018 FW-C	ns	ns	ns	ns	*	*	ns

Tabla 38. (continuación).

	<i>9-epi-9-D1t-PhytoP</i>	<i>9-D1t-PhytoP</i>	<i>9-F1t-PhytoP</i>	<i>9-epi-9-F1t-PhytoP</i>	<i>9-L1t-PhytoP</i>	<i>16-B1-PhytoP</i>	<i>ent-16-epi-16-F1t-PhytoP + ent-16-F1t-PhytoP</i>
May. 2018 FW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	*	**	ns	*	*	*	ns
May. 2018 RW-C vs Jul. 2018 RW-C	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns
May. 2018 RW-C vs Jul. 2018 RW-C	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns
May. 2018 RW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	*	*	ns	*	*	*	ns
May. 2018 RW-RDI vs Jul. 2018 RW-C	ns	ns	ns	ns	*	*	ns
May. 2018 RW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	*	**	ns	*	*	*	ns

Tabla 38. (continuación).

	<i>9-epi-9-D1t-PhytoP</i>	<i>9-D1t-PhytoP</i>	<i>9-F1t-PhytoP</i>	<i>9-epi-9-F1t-PhytoP</i>	<i>9-L1t-PhytoP</i>	<i>16-B1-PhytoP</i>	<i>ent-16-epi-16-F1t-PhytoP + ent-16-F1t-PhytoP</i>
May. 2018 RW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	*	**	ns	*	*	*	ns
May. 2018 FW-RDI vs Sep. 2018 RW-C	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*
May. 2018 FW-C vs Sep. 2018 RW-C	ns	ns	ns	ns	ns	ns	**
May. 2018 RW-RDI vs Sep. 2018 FW-C	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*
Jul. 2018 FW-DRI vs Jul. 2018 RW-RDI	*	*	ns	ns	ns	ns	ns
Sep. 2018 FW-C vs Jul. 2018 FW-C	ns	ns	ns	ns	*	*	ns

Tabla 38. (continuación).

	<i>9-epi-9-D1t-PhytoP</i>	<i>9-D1t-PhytoP</i>	<i>9-F1t-PhytoP</i>	<i>9-epi-9-F1t-PhytoP</i>	<i>9-L1t-PhytoP</i>	<i>16-B1-PhytoP</i>	<i>ent-16-epi-16-F1t-PhytoP + ent-16-F1t-PhytoP</i>
Sep. 2018 FW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	ns	**	*	*	*	*	ns
Sep. 2018 FW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	ns	*	ns	ns	ns	*	ns
Sep. 2018 RW-C vs Jul. 2018 FW-C	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*
Sep. 2018 RW-C vs Jul. 2018 FW-RDI	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*
Sep. 2018 RW-C vs Jul. 2018 RW-C	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*
Sep. 2018 RW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns

Tabla 38. (continuación).

	<i>9-epi-9-D1t-PhytoP</i>	<i>9-D1t-PhytoP</i>	<i>9-F1t-PhytoP</i>	<i>9-epi-9-F1t-PhytoP</i>	<i>9-L1t-PhytoP</i>	<i>16-B1-PhytoP</i>	<i>ent-16-epi-16-F1t-PhytoP + ent-16-F1t-PhytoP</i>
Sep. 2018 RW-RDI vs Julio 2018 RW-RDI	ns	*	ns	*	*	*	ns
Sep. 2018 RW-RDI vs Jul. 2018 FW-C	ns	ns	ns	ns	*	*	ns
Sep. 2018 FW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	ns	*	ns	ns	ns	*	ns
Sep. 2018 RW-C vs Jul. 2018 FW-C	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*

Tabla 39. Prueba de comparación múltiple de Tukey. Fitofuranos individuales.

	<i>Ent-9-(RS)- 12-epi-ST- Δ^{10-13}- PhytoF</i>	<i>Ent-16-(RS)- 13-epi-ST- Δ^{14-9}- PhytoF</i>	<i>Ent-16-(RS)- 9-epi-ST- Δ^{14-10}- PhytoF</i>
Sep. 2017 FW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	*	ns	**
Sep. 2017 FW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	*	ns	**
Sep. 2017 RW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	**	ns	**
Sep. 2017 RW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	**	ns	**
Feb. 2018 FW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	**	ns	**
Feb. 2018 FW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	**	ns	**
Feb. 2018 RW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	**	ns	**
Feb. 2018 RW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	**	ns	**
Abr. 2018 FW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	**	ns	**
Abr. 2018 FW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	**	ns	ns
Abr. 2018 RW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	**	ns	**
Abr. 2018 RW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	**	ns	**
Abr. 2018 FW-RDI vs Sep. 2018 RW-C	ns	ns	**
May. 2018 FW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	**	ns	**
May. 2018 FW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	**	ns	**
May. 2018 RW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	**	ns	**
May. 2018 RW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	**	ns	**
Sep. 2018 FW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	ns	ns	**
Sep. 2018 FW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	**	ns	**
Sep. 2018 RW-C vs Jul. 2018 RW-RDI	**	ns	ns
Sep. 2018 RW-RDI vs Jul. 2018 RW-RDI	**	ns	**
Sep. 2018 RW-RDI vs Jul. 2018 RW-C	**	ns	**

Tomando en consideración en primer lugar al grupo de los siete fitoprostanos individuales analizados, todos presentan un comportamiento de significación no relevante en cuanto al comportamiento intragrupo en la mayoría, es decir en cuanto a las variaciones de cada uno de estos compuestos frente a los dos tipos de aguas de riego (buena calidad y reciclada) y los dos tipos de regímenes de riego. Únicamente, los fitoprostanos 9-*epi*-9-D₁₁-PhytoP y 9-D₁₁-PhytoP fueron capaces de mostrar significación en el intragrupo correspondiente a julio 2018 en los mandarinos regados al 50% en déficit hídrico con agua de buena calidad frente a agua reciclada (Tabla 38).

En cuanto a las variaciones intergrupo correspondiente a la diferentes meses en los que se han realizado las medidas durante el año del experimento cinco de los siete fitoprostanos analizados presentan un comportamiento muy similar al de los fitoprostanos y fitofuranos totales con grado de significación en todos los meses incluyendo los tipos y grados de riego de la mayoría de los meses con respecto a julio donde se produjeron las condiciones más extremas desde el punto de vista de estreses abióticos (Tabla 38).

No obstante, los fitoprostanos *ent*-16-*epi*-16-F₁₁-PhytoP + *ent*-16-F₁₁-PhytoP presentan un comportamiento intergrupo de los diferentes meses tratados con respecto a Julio menor que los citados anteriormente y un grado más variado y alto de significación estadística entre los meses de Septiembre 2017 y Septiembre 2018, Febrero 2018 y Septiembre 2018, Abril 2018 y Septiembre 2018, y Mayo 2018 y Septiembre 2018 implicando la mayoría todas la interacciones en cuanto a los dos regímenes y tipos de aguas de riego.

5.3. FUNCIONALIDAD DEL FOTOSISTEMA II (PSDII)

Para conocer el estado fisiológico de las hojas en la fase III de la maduración del fruto, se cuantificó el contenido de clorofila total y se analizaron las variables fisiológicas: Tasa de fotosíntesis neta (A), concentración interna de CO₂ (Ci), fluorescencia de la clorofila (Fv/Fm), eficiencia cuántica (ΦPSII) y decaimiento fotoquímico (qP).

Los resultados se muestran a continuación en la tabla 40. Los valores en la misma fila seguidos de diferentes letras son significativamente diferentes en $p < 0.05$

según el análisis de varianza unidireccional (ANOVA) y la prueba de rango múltiple de Tukey.

Tabla 40. Contenido en clorofila y funcionalidad del PSII en hojas de mandarino con y sin estrés hídrico y salino.

	<i>FW</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW</i>	<i>RW-RDI</i>
<i>Chl T</i>	2.84 ± 0.31 d	2.17 ± 0.39 c	1.63 ± 0.49 b	0.94 ± 0.37 a
<i>Coef a/b</i>	3.01 ± 0.38 a	3.15 ± 0.20 a	3.12 ± 0.62 a	2.96 ± 0.61a
<i>A</i>	4.75 ± 1.38 a	4.08 ± 1.76a	5.38 ± 0.85 a	3.71 ± 0.76a
<i>Ci</i>	111.93 ± 16.12a	118.51 ± 65.03 ab	213.98 ± 124.49 bc	303.86 ± 125.97 c
<i>Fv/Fm</i>	0.41 ± 0.13 a	0.41 ± 0.04 a	0.38 ± 0.07a	0.52 ± 0.06 a
<i>φPSII</i>	0.11 ± 0.01a	0.12 ± 0.02a	0.09 ± 0.01a	0.09 ± 0.01a
<i>qP</i>	0.29 ± 0.12a	0.30 ± 0.01a	0.27 ± 0 a	0.17 ± 0.03a

Chl T: clorofila total en hoja ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ FM); *Coef a/b*: relación Clorofila a/clorofila b, *A*: tasa fotosintética neta; *Ci*: concentración interna de CO_2 ($\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$); *Fv/Fm*, fluorescencia de la clorofila; *φPSII*: eficiencia cuántica del fotosistema II; *qP* deterioro fotoquímico.

En este estudio, el contenido de clorofila total (a + b) presentó diferencias entre tratamientos. En relación al estrés hídrico, el contenido de total de clorofila en FW-RDI resultó un 24% menor que en FW, mientras que bajo estrés salino el contenido de clorofila en RW-RDI resultó un 42% menor que RW (Tabla 40).

El cociente entre clorofila a, responsable del color verde intenso en los tejidos, y clorofila b, responsable del color verde amarillo en los tejidos, se mantuvo similar en los tratamientos. La tasa de fotosíntesis neta tampoco disminuyó en ninguna situación de estrés. El estrés hídrico no modificó la concentración interna de CO_2 (Ci), sin embargo con el estrés salino la Ci fue entre 2 y 3 veces mayor en RW y RW-RDI respecto al control.

En lo referente a los restantes parámetros de funcionalidad del fotosistema II, la fluorescencia de la clorofila (*Fv/Fm*), la eficiencia del fotosistema II (*φPSII*), y el decaimiento fotoquímico (*qP*) no presentaron modificaciones en las condiciones de este ensayo.

5.4. PARÁMETROS AGRONÓMICOS: CRECIMIENTO VEGETATIVO, RENDIMIENTO Y CALIDAD DE LOS FRUTOS

Para evaluar la eficiencia productiva del cultivo en diferentes condiciones de estrés, se evaluó el dosel arbóreo (V_c), el rendimiento (Y) de los frutos cosechados como peso total y número de frutos por planta (FN), peso (W), diámetro (D) y color de los frutos, espesor de la piel (PT), firmeza (F), contenido de jugo (JC) y de sólidos solubles (SSC), acidez titulable (TA) y el índice de madurez (MI)

Los resultados medios $\pm$ SD se recogen a continuación en la tabla 41. Los valores en la misma fila seguidos de diferentes letras son significativamente diferentes en $p < 0.05$ según el análisis de varianza unidireccional (ANOVA) y la prueba de rango múltiple de Tukey.

Tabla 41. Rendimiento y parámetros de calidad en la cosecha de mandarino para los tratamientos ensayados.

	<i>FW</i>	<i>FW-RDI</i>	<i>RW</i>	<i>RW-RDI</i>
<i>V_c</i> (m^3)	20.26 $\pm$ 1.79 b	17.60 $\pm$ 2.43 a	18.18 $\pm$ 2.60 ab	15.70 $\pm$ 2.44 a
<i>Y</i>	75.74 $\pm$ 12.54 b	66.13 $\pm$ 12.78 ab	58.18 $\pm$ 13.53 ab	41.18 $\pm$ 9.13 a
<i>FN</i>	809.77 $\pm$ 134.09 b	643.93 $\pm$ 124.48 b	720.88 $\pm$ 167.71 b	347.48 $\pm$ 76.06 a
<i>W</i> (g)	93.53 $\pm$ 16.13 ab	102.69 $\pm$ 18.44b	80.70 $\pm$ 5.68 a	118.50 $\pm$ 16.55 c
<i>D</i> (mm)	60.04 $\pm$ 4.44 ab	62.05 $\pm$ 4.20 bc	56.47 $\pm$ 1.97 a	64.27 $\pm$ 3.70 c
<i>PT</i> (mm)	3.02 $\pm$ 0.40 c	2.52 $\pm$ 0.51 b	1.57 $\pm$ 0.23 a	2.46 $\pm$ 0.39 b
<i>Color</i> (a)	20.06 $\pm$ 6.55 b	13.33 $\pm$ 6.94 ab	8.31 $\pm$ 7.87 a	14.76 $\pm$ 6.70 ab
<i>F</i> (N)	84.2 $\pm$ 3.67a	84.00 $\pm$ 4.2 a	86.27 $\pm$ 2.81 ab	87.87 $\pm$ 2.88 b
<i>JC</i> (ml)	42.93 $\pm$ 4.88 b	47.73 $\pm$ 6.66 bc	38.67 $\pm$ 5.57 a	53.20 $\pm$ 7.48 c
<i>SSC</i> ($^{\circ}$Brix)	11.56 $\pm$ 0.94 a	11.19 $\pm$ 0.23 a	11.61 $\pm$ 0.47 a	12.87 $\pm$ 0.79 b
<i>TA</i> (%)	1.41 $\pm$ 0.11 c	0.96 $\pm$ 0.07 a	0.99 $\pm$ 0.08 a	1.29 $\pm$ 0.10 b
<i>MI</i>	8.23 $\pm$ 0.83 a	11.75 $\pm$ 0.90 a	11.83 $\pm$ 0.98 a	10.03 $\pm$ 0.89 b

Comparados con el control (FW) el dosel arbóreo de los árboles regados con agua reciclada (salina) resultó en una disminución de un 13%. Disminuciones similares se registraron asociadas al estrés hídrico (RDI) asociado al régimen de riego.

El rendimiento presentó diferencias entre tratamientos (Tabla 41). Solo RW-RDI se diferenció significativamente del control, rindiendo un 46% menos con valores de 41.18 y 75.74 kg.pl⁻¹ respectivamente. Los tratamientos FW-RDI y RW presentaron valores de rendimiento de 66,13 y 58,18 k.pl⁻¹ que representan un 13 % y 23% con respecto al control (FW).

El número, peso y diámetro de los frutos se mantuvo similar en los tratamientos regados con agua de buena calidad (FW). Contrariamente, los tratamientos regados con agua reciclada (RW) presentaron importantes diferencias. Los árboles de RW-RDI produjeron menor número de frutos pero de mayor tamaño (peso y diámetro) que los de RW, con esto, entre ambos no hubo diferencias en el rendimiento pero si en sus componentes.

Bajo estrés hídrico la calidad de los frutos no se vio mayormente afectada a excepción de PT y TA (Tabla 41), mientras que el RW modificó la calidad de los frutos. RW produjo gran cantidad de frutos pero con piel más delgada, menor porcentaje de jugo, sólidos solubles y acidez titulable que los frutos de RW-RDI.

En base a los resultados de color, puede observarse que todos los frutos cosechados están entre el amarillo y el naranja, pero según su grado de madurez responden al siguiente orden: FW ≥ RW-RDI ≥ FW-RDI ≥ RW.

El espesor de la piel fue máximo en el tratamiento testigo, intermedio bajo restricciones hídricas FW-RDI y RW-RDI, y mínimo únicamente bajo estrés salino RW. La firmeza del fruto fue máxima en RW-DI diferenciándose de la firmeza de los frutos de árboles regados con agua de mayor calidad FW y FW-RDI.

VI – DISCUSIÓN

VI -DISCUSIÓN

6.1. MACRONUTRIENTES Y MICRONUTRIENTES

A partir de las diferencias en los valores encontrados para las concentraciones en hoja de mandarino al inicio de la fase III de maduración del fruto al someter a los árboles a tratamientos con agua de buena calidad (FW), procedente del trasvase, y con agua ciclada (RW), procedente de la estación depuradora de aguas residuales del Norte de Molina de Segura, se logró determinar la influencia de la elevada salinidad de ésta en el estado fisiopatológico de ambos cultivos.

Al inicio de la etapa III de maduración del fruto se midieron las concentraciones foliares tanto de elementos fitotóxicos (Na^+ , Cl^- , B , Li^+ , Br^-), como de macronutrientes (N , P , K , Ca , S , Mg) y micronutrientes (Cu , Zn , Mn , Fe , Ni) para los árboles regados con ambas calidades de agua FW y RW (Tablas 2, 3 y 4).

6.1.1. Elementos fitotóxicos

A pesar de que el agua reciclada presentó en los análisis una alta concentración salina, la concentración de Na^+ en hojas de mandarino regadas con esta fuente de agua, 0.5% en peso seco (Tabla 2) fue inferior a los valores a partir de los cuales se han reportado síntomas de toxicidad y reducción del rendimiento en el cultivo de cítricos, entre 0.10 – 0.25% (Boman, 1993; Romero-Trigueros y col., 2014). En cualquier caso, en el presente experimento, las concentraciones foliares de Na^+ resultaron similares para ambos tratamientos, al contrario de lo observado por Pérez-Pérez y colaboradores (2015), y en concordancia con los resultados obtenidos por Nicolás y colaboradores (2016) en experimentos con árboles de mandarina regados con RW durante una serie de 6 temporadas consecutivas. Según los autores, esto podría deberse a que un buen suministro de K^+ en el suelo puede reducir la absorción de Na^+ por parte del árbol, limitando el transporte de este ion fitotóxico de las raíces a las hojas. También podría explicarse por el hecho de que el citrange 'Carrizo' (*Citrus sinensis* × *Poncirus trifoliata*) es un portainjertos excluidor de Na^+ .

La concentración de Cl^- en el caso de RW resultó ser más del doble que la de FW con valores medios 0.98% y 0.40% en peso seco respectivamente. Ferguson y Grattan (2005) sugirieron que el Cl^- foliar se vuelve tóxico en los árboles de cítricos cuando alcanza el 0.7 % en peso seco. Boman (1993) observó un retraso del crecimiento al 1.5% de Cl^- foliar y toxicidad a una concentración foliar del 1%. En Romero-Trigueros y colaboradores (2014), se identificó una fitotoxicidad inducida por sal del 0,6% como el umbral a partir del cual se produce una reducción del rendimiento en los cultivos de cítricos. El hecho de que el patrón utilizado como portainjertos es capaz de excluir los iones Na^+ pero no los iones Cl^- puede explicar el alto contenido de este anión observado en las hojas de mandarina regadas con RW (Pérez-Pérez et al., 2015).

En el caso del *B*, la concentración en las hojas de mandarina regadas con RW fue dos veces mayor que en el tratamiento FW, con valores medios de 83.64 y 169.91 mg kg⁻¹ respectivamente. El tratamiento RW superó el umbral de daño de 100 mg kg⁻¹ establecido por Romero-Trigueros y colaboradores (2014), provocando alteraciones en la concentración mineral de las hojas que resultaron en deficiencias nutricionales visibles. La absorción de *B* a través de las raíces de las plantas se produce mediante transporte activo y dependiente de energía por medio de un sistema de absorción de alta afinidad (Grattan y col., 2015), lo que supone para la planta un consumo adicional de energía que resulta en detrimento del potencial de crecimiento de las plantas. De la misma manera, los valores de Br^- de 0.09 y 0.21 mg kg⁻¹ encontrados, un 133% más altos en RW que en FW podrían suponer una reducción en el crecimiento de los árboles (Martin y col., 1956).

El contenido de Li^+ fue un 54% mayor en las hojas de mandarina regadas con RW, con valores de 6.81 y 10.48 mg kg⁻¹ para el FW y el RW, respectivamente. El Li^+ reduce el crecimiento de las plantas al interferir con numerosos procesos fisiológicos, alterando el metabolismo de las plantas y reduciendo la calidad de los alimentos (Bradford, 1961). Sin embargo, solo las hojas que contenían más de 12 mg kg⁻¹ mostraron síntomas de toxicidad por litio.

6.1.2. Macronutrientes

Aunque los análisis físico-químicos de RW mostraron concentraciones más altas de los macroelementos analizados (N total, NO_3^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-}), no se encontraron valores significativamente más altos de ninguno de estos iones en los árboles regados con RW, excepto en el caso del S (Tabla 3) en que se obtuvo una menor concentración. Dados los niveles encontrados para los otros iones, este efecto podría deberse a una posible competencia entre la captación de Cl^- , N , y P , ya observada con anterioridad en cítricos por Cámara y colaboradores (2004). El menor contenido de iones S en RW contribuiría a explicar los efectos encontrados en el crecimiento de los árboles y el rendimiento de los cultivos. Estudios recientes han demostrado que el S es importante para el crecimiento adecuado, las actividades metabólicas y el desarrollo de las plantas. El S es uno de los macronutrientes más esenciales requeridos por las plantas, ya que es un componente importante de aminoácidos como la cisteína y la metionina y de muchos metabolitos como vitaminas esenciales, ésteres y derivados de azufrados (Abou Seeda y col., 2020).

6.1.3. Micronutrientes

Los valores encontrados para las concentraciones de micronutrientes no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos en las concentraciones de los micronutrientes analizados (Tabla 4). Los contenidos de Zn , Mn y Fe en FW y RW fueron menores que los observados por Kaur y colaboradores (2015) en las hojas de mandarina kinnow brotadas en el portainjerto de Jatti Khatti (C. jambhirilush). El hecho de que tengan diferentes portainjertos podría explicar estas diferencias en la concentración de micronutrientes.

6.2. NIVELES DE AMINOÁCIDOS Y FITOHORMONAS

En términos generales los resultados revelaron un mayor contenido de aminoácidos libres no proteicos en el tratamiento control FW, agua de buena calidad agronómica y ausencia de estrés hídrico, y disminuyó a medida que aumentó el nivel de estrés, en este orden $FW \geq FW-RDI \geq RW \geq RW-RDI$.

En situaciones de estrés severo un efecto bioprotector debido al incremento en la concentración de aminoácidos se ha propuesto en estudios anteriores (Aghaye Noroozlo y col., 2019). En este ensayo el estrés parece no haber sido suficiente para que la célula comience a catabolizar sus recursos nitrogenados, lo que produciría el exceso de aminoácidos proteicos libres. Rabe y Lovatt (1984) encontraron un mayor contenido total de aminoácidos no proteicos en las hojas jóvenes completamente expandidas de cuatro variedades de mandarino en condiciones de estrés por déficit de fósforo. En ambos casos con y sin estrés de P los aminoácidos más abundantes resultaron Pro y Ser, mientras que en situación de estrés se identificaron además Arg y Lys en cantidades considerables. Silva y colaboradores (2023) encontraron un aumento en prolina, glicina y asparagina en hojas de Valencia orange injertados en diferentes portainjertos bajo déficit hídrico.

Las principales diferencias encontradas en este estudio se observaron en Ala, Pro, GABA, Ser, Cys-Gly, Glu y Gly, los cuales podrían estar implicados en la respuesta al estrés, posiblemente interviniendo en la síntesis de hormonas. El menor contenido de estos, en condiciones de estrés hídrico y salino, puede haber perjudicado el crecimiento vegetativo y la productividad de los árboles de mandarino. Los aminoácidos desempeñan un papel en la protección de los componentes celulares durante el estrés. Probablemente pueden actuar contra la oxidación, la peroxidación y la degradación de los componentes celulares, en particular las clorofilas, por lo que aumentan la vida útil de las células (Aghaye Noroozlo y col., 2019).

En este ensayo se observó un menor contenido de Cys-Gly, Glu y Gly en las hojas de los árboles regados con agua reciclada especialmente en condiciones de restricción hídrica RW-RDI, posiblemente estos aminoácidos se encuentren implicados en la síntesis de glutatión (Tabla 5). En las plantas superiores, el

tripéptido glutatión (GSH; γ -glu-cys-gly) no sólo interviene en la regulación de la nutrición azufrada, sino que también es un componente esencial del sistema de defensa de la planta frente al estrés medioambiental (Rennenberg y Brunold, 1994). Así mismo, también se encontró un menor contenido de Ala y GABA, en los tratamientos antes mencionados. Ala participa en la síntesis de clorofila, mientras que lisina, ácido glutámico y glicina en los sistemas de resistencia de las plantas (Castillo Sánchez, 2022). El GABA es una molécula de señalización recientemente reconocida que participa en los procesos fisiológicos, el crecimiento y el desarrollo de las plantas en ambientes óptimos y estresantes (Khanna y col., 2021). La concentración de metionina fue elevada solo en el tratamiento testigo. La metionina actúa como un regulador eficaz en el crecimiento y desarrollo de plantas sometidas a restricción salina en tomate (Sánchez-Aguayo y col., 2004), y en la restricción hídrica en el caupí (da Silva Oliveira y col., 2023) entre otros. El bajo contenido de metionina en los tratamientos con estrés hídrico y salino (Tabla 5) puede deberse a su participación en la síntesis de ACC (Osorio Mora, 2000).

ACC fue la fitohormona más abundante en hoja en todos los tratamientos y en especial en RW-RDI (Tabla 12). Según López-Climent y colaboradores (2008) cuando la concentración de cloruro en hoja alcanza un umbral determinado, se induce la acumulación de ACC y su oxidación a etileno desencadena la abscisión foliar. Así mismo, se han identificado tanto al ABA como al ACC como componentes del mecanismo autorregulador que ajusta la carga de frutos al suministro de carbono, mediante la abscisión inducida por competencia de fotoasimilados que ocurre en condiciones naturales (Gómez-Cadenas y col., 2000). El ABA puede actuar como un sensor de la intensidad de la escasez de nutrientes que modula los niveles de ACC y etileno, el activador de la abscisión de los frutos. En varias especies, como el algodón, la manzana y algunos cítricos, el ABA ha sido relacionado con la abscisión de frutos jóvenes (Gómez-Cadenas y col., 1996, 1998).

En este ensayo la relación entre ACC y ABA en los tratamientos RW y RW-RDI han contribuido a definir los componentes de rendimiento determinando la carga en función del suministro de carbono. En RW los fotoasimilados se distribuyeron en muchos frutos de pequeño tamaño mientras en RW-RDI en pocos frutos de gran tamaño, resultado del aborto natural de frutos jóvenes.

Por otro lado, pudo observarse que RW presenta los menores valores en los parámetros de color (L, a, b, and Chroma a excepción de HUE) y consecuentemente

con los menores valores de ACC, intermediario precursor del etileno (Iglesias et al., 2007), estarían indicando un retraso en la madurez (frutos más verdes). En los cítricos maduros, el etileno acelera la pérdida de color mediante la degradación de la clorofila y la deposición de carotenoides (Iglesias y col., 2007). Asimismo, la concentración de ABA, hormona del estrés por excelencia registró valores mayores para RW y RW-RDI, coincidente con un incremento en el Ci (Tabla 40), se sabe que el cierre estomático inducido por ABA puede ayudar a las plantas a ahorrar agua (López-Climent y col., 2008). La señalización química basada en el ácido abscísico (ABA) desempeña un papel crucial en la prevención de la pérdida de agua incluso antes de que se produzca cualquier cambio en el estado hídrico de los brotes.

La concentración de GA4 fue menor en RW y máximo en RW-DI. Este resultado puede estar vinculado con el crecimiento y tamaño final de los frutos: muy pequeños en RW y grandes en RW-DI (Tabla 41). Por otro lado, en RW se observa menor peso y diámetro en los frutos, menor PT, y SSC que en el resto de los tratamientos. Esto puede ser consecuencia de la interacción de dos factores: un reparto de fotoasimilados entre mayor número de frutos con lo cual los frutos resultan de menor tamaño y una reducción en los niveles de la hormona del crecimiento GA4 en hoja.

6.3. EVOLUCIÓN DE OXILIPINAS EN MANDARINO REGADO AGUA NORMAL Y RECICLADA SALINA. INFLUENCIA DEL ESTRÉS HÍDRICO.

Los resultados obtenidos indican un perfil cualitativo completo sostenido de ambos tipos de compuestos, fitoprostanos y fitofuranos, con independencia del nivel de estrés sufrido, tipo de agua de riego utilizada, estado fenológico del mandarino, o régimen de riego establecido (Figura 34). Esta tendencia de comportamiento frente al estrés hídrico provocado por diferentes tipos de calidad en el agua de riego, incluyendo agua reciclada, se ha descrito con anterioridad en otros cultivos leñosos como el olivo y el almendro (Collado-González y col., 2015a, 2015b, 2016; Lipan y col., 2020, 2021) y también en otros cultivos como el pistacho (Collado-González y col., 2020), y plantas aromáticas como la *Melissa officinalis* y *Mentha spicata* (Gómez-Bellot y col., 2022). Dicho comportamiento no se mantiene, sin embargo, en todas las ocasiones una vez que los frutos son recolectados y

sometidos a diferentes tipos de tratamiento postcosecha o procesamiento alimentario en la industria (Carrasco-Del Amor y col., 2016. 2017; Pincioli y col., 2017).

En los análisis cuantitativos de las oxilipinas realizados en la hoja de mandarinos sometidos a FW y RW, se encontró una mayor concentración de fitofuranos que de fitoprostanos (Tabla 37), lo cual llama la atención ya que en la mayoría de las especies reportadas, los fitoprostanos son más abundantes que los fitofuranos (Collado-González y col., 2020; Lipan y col., 2020, 2021). Faltaría establecer si ésta es una característica intrínseca de este árbol leñoso o bien los árboles en estudio se encuentran en un estadio mayor de estrés oxidativo condicionado por las condiciones agronómicas y/o edafoclimáticas donde se encuentran plantados los mandarinos.

Independientemente del tratamiento aplicado (FW, RW, FW-RDI, RW-RDI) no se encontró ninguna significancia en el análisis estadístico intragrupos (Tabla 37) en cada momento fenológico del año en el que se realizó la medida. Aun así, sí que se observó una tendencia a la disminución en el contenido de fitoprostanos y fitofuranos en los mandarinos regados con agua reciclada salina al 50% en todos los meses del año medidos menos en julio donde el comportamiento es diferente merced al altísimo estrés oxidativo del árbol presentando un estado de saturación debido a las extremas condiciones agronómicas y climáticas de esta fase fenológica del año (alta radiación solar y alta temperatura además de mayor fotoperiodo diario unido a una alta evapotranspiración). Este comportamiento es concordante con lo descrito anteriormente con las fitohormonas ligadas al estrés de la planta, el ácido abscísico (ABA), el ácido salicílico (SA) y el ácido jasmónico (JA). La síntesis de dichas hormonas se encontraba inducida en los mandarinos regados con agua reciclada salina. Por un lado, el salicílico actuando como protector de las membranas para poder incrementar la tolerancia al estrés salino, por otro el ácido abscísico mediante la síntesis de proteínas antiestrés protectoras y finalmente y en menor medida que las otras dos anteriores, el ácido jasmónico el cual desencadena una serie de respuesta bioquímicas y fisiológicas en cadena para amortiguar los efectos del estrés abiótico (Mahmoud y colaboradores, 2021; Abou Seeda y colaboradores, 2020; Aftab y col., 2010; Raskin, 1992; Shakirova y col., 2003; Glass y Dunlop, 1974; Barkosky y col., 1993). Por lo tanto, estos mecanismos bioquímicos y agrofisiológicos del mandarino se desencadenaron con antelación a la generación

de oxilipinas vegetales de ahí el menor contenido observado en las plantas regadas con agua reciclada salina.

Cabe destacar el alto grado de significación del contenido del fitoprostano y fitofuranos medidos en julio con respecto al resto de meses del año independientemente del tipo de agua de riego y también del régimen de riego, normal o deficitario aplicado. Ello se debe al estado de saturación de estrés oxidativo del árbol debido a las condiciones extremas climáticas y de estrés abiótico que se generan en esta fase fenológica del año. El resto de meses no aportó ningún grado de significancia diferencial por lo que el grado de estrés oxidativo fue similar en el conjunto de estos meses independientemente de la fenología y de las condiciones agronómicas aplicadas (Tabla 37 y Figura 34).

Respecto al comportamiento individual de cada uno de los fitoprostanos y fitofuranos, atendiendo en primer lugar al grupo de los siete fitoprostanos individuales analizados (9-*epi*-D_{1t}-PhytoP; 9-D_{1t}-PhytoP; 9-F_{1t}-PhytoP; 9-*epi*-9-F_{1t}-PhytoP; 9-L_{1t}-PhytoP; 16-B_{1t}-PhytoP; *ent*-16-*epi*-16-F_{1t}-PhytoP+ *ent*-16-F_{1t}-PhytoP), todos presentan un comportamiento de significación no relevante en cuanto al comportamiento intragrupo en la mayoría, es decir a las variaciones de cada uno de estos compuesto frente a los dos tipos de aguas de riego (normal control y reciclada salina) y los dos tipos de regímenes de riego. Únicamente, los fitoprostanos 9-*epi*-9-D_{1t}-PhytoP y 9-D_{1t}-PhytoP fueron capaces de mostrar significación en el intragrupo correspondiente a julio 2018 en los mandarinos regados al 50% en déficit hídrico con agua normal frente a agua salina reciclada (Tabla 38). Este comportamiento y tendencia se observa en cuatro fitoprostanos más 9-F_{1t}-PhytoP, 9-*epi*-9-F_{1t}-PhytoP, 9-L_{1t}-PhytoP y 9-L_{1t}-PhytoP sin que los datos tengan significación estadística (Tabla 38 y Figura 35). De ello se desprende, que al contrario de lo observado en el resto de meses, bajo condiciones extremas de estrés abiótico, el riego deficitario con agua reciclada salina resulta perjudicial en cuanto al desarrollo de estrés oxidativo en el mandarino.

Estudios previos en sorgo, trigo y olivo demuestran que la conjunción de déficit hídrico más las condiciones salinas del agua conducen a un aumento del estrés oxidativo mediante la medida del malondialdehído y una acumulación de H₂O₂ (aumento de especies reactivas de oxígeno) que conduce a un aumento de la peroxidación lipídica (Trabelsi y col., 2024; Jia y col., 2024; Nxele y col., 2017; Ibrahimova y col., 2025). Lo cual es concordante con lo observado en nuestro

estudio ya que las oxilipinas son metabolitos generados por oxidación del ácido α -linolénico. Además, hay que tener en cuenta que la salinidad en las células vegetales hace que se disparen dichas especies reactivas de oxígeno, las cuales son moléculas señalizadoras redox en varias rutas para regular la respuesta frente a condiciones medioambientales adversas (por ejemplo, de enzimas antioxidantes) (Kesawat y col., 2023).

En cuanto a las variaciones intergrupo correspondiente a la diferentes meses en los que se han realizado las medidas durante el año del experimento cinco de los siete fitoprostanos analizados presentan un comportamiento muy similar al de los fitoprostanos y fitofuranos totales con grado de significación de todos los meses incluyendo los tipos y grados de riego de la mayoría de los meses con respecto a Julio donde se produjeron las condiciones más extremas desde el punto de vista de estreses abióticos (Tablas 38 y 39). Entre ellos, el mayor grado de significación intergrupos con respecto a julio fue para 9-D_{1t}-PhytoP seguido por 9-*epi*-9-D_{1t}-PhytoP a un nivel similar con 9-F_{1t}-PhytoP, 9-L_{1t}-PhytoP y 16-B_{1t}-PhytoP y por último el 9-F_{1t}-PhytoP (Tabla 38). Por lo tanto, el 9-D_{1t}-PhytoP podría ser el más adecuado para anticipar problemas de estrés abiótico y biótico extremos durante los diferentes estados fenológicos del mandarino.

No obstante, los *ent*-16-*epi*-16-F_{1t}-PhytoP+ *ent*-16-F_{1t}-PhytoP presentan un comportamiento intergrupo de los diferentes meses tratados con respecto a julio menor que los citados anteriormente y un grado más variado y alto de significación estadística entre los meses de septiembre 2017 y septiembre 2018, febrero 2018 y septiembre 2018, abril 2018 y septiembre 2018 y mayo 2018 y septiembre 2018 implicando la mayoría todas la interacciones en cuanto a los dos tipos de regímenes y tipos de aguas de riego.

Por lo tanto, la suma de fitoprostanos *ent*-16-*epi*-16-F_{1t}-PhytoP + *ent*-16-F_{1t}-PhytoP (Figura 37) se podría considerar el candidato a marcador más sensible, tanto para detectar diferencias de estrés oxidativo en condiciones de estreses abióticos y condiciones edafoclimáticas extremas, como para poder encontrar diferencias entre diferentes tratamientos de tipo de riego y grado de irrigación en mandarino que se apliquen.

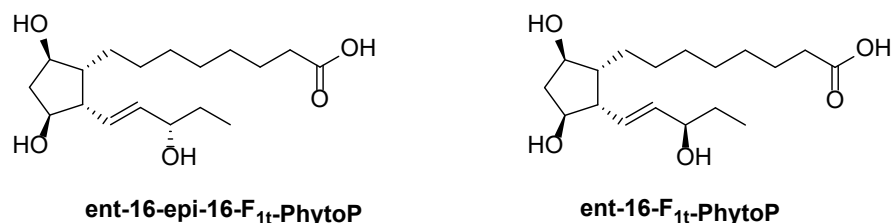


Figura 37. Fitoprostanos candidatos a marcadores de estrés oxidativo en mandarino

Con respecto a los fitofuranos se observaron diferencias significativas principalmente en las comparaciones con julio, donde los valores fueron más altos. De los tres fitofuranos analizados *ent*-9-(RS)-12-*epi*-ST- Δ^{10} -13-PhytoF y *ent*-16-(RS)-9-*epi*-ST- Δ^{14} -10-PhytoF (Figura 38) presentaron significación estadística en más comparaciones intermensuales, lo que los posicionaría como buenos marcadores frente a tratamientos que generen estrés abiótico.

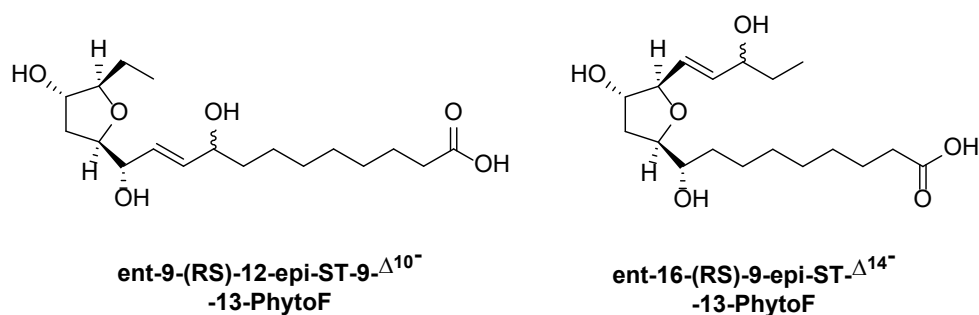


Figura 38. Fitofuranos candidatos a marcadores de estrés oxidativo en mandarino

6.4. RENDIMIENTO DEL FOTOSISTEMA II (PSII)

Con respecto a las características y funcionalidad del aparato fotosintético, en este estudio, se observaron diferencias entre tratamientos para el contenido de clorofila total (Chl T), siendo máximo en FW y mínimo en RW-RDI (Tabla 40). La proporción entre ambas clorofilas no varió en ninguno de los tratamientos lo que estaría indicando la misma relación entre pigmentos verdes y amarillos. Esta

relación se encuentra dentro de los valores normales (Lancaster y col. 1997) y, por tanto, la inexistencia de clorosis o deterioro. Tampoco se modificaron los parámetros de funcionalidad del PSII como A, Fv/Fm PSII y qP contrario a lo observado en otras especies de cítricos por diferentes autores (Papadakis y col., 2004; Romero-Trigueros y col., 2014; López Climent y col., 2008; Nicolas y col., 2018).

El riego con agua de elevada salinidad, en caso de que supere ciertos umbrales tóxicos, se ha asociado generalmente con el cierre estomático, lo que a su vez puede causar bajas tasas de transpiración, una reducción del CO₂ disponible para la fotosíntesis, un aumento en la acumulación de iones en la hoja, y por lo tanto una reducción en el rendimiento de la fruta (Murkute y col., 2005). En este ensayo, el estrés hídrico no modificó la concentración de interna de CO₂ (Ci). Con el estrés salino la Ci dos y tres veces mayor en RW y RW-RDI respecto al testigo (Tabla 40). López Climent y colaboradores (2008) encontraron un aumento de Ci del 69% del tratamiento con estrés salino respecto al control. Estos autores sostienen que un aumento en la concentración interna de CO₂ puede deberse al cierre estomático o a procesos metabólicos de carboxilación bioquímica intracelulares

Como no se detectaron diferencias significativas en A, Fv/Fm PSII y qP en hoja de mandarino entre tratamientos a lo largo del experimento, es probable que el tratamiento de riego no fuera suficiente para afectarlas. La reducción depende de la velocidad a la que se desarrolla el estrés por salinidad y su duración (Nicolás y col., 2016).

Los árboles de los tratamientos regados con agua reciclada concentraron más iones Cl⁻ (Tabla 2) en hoja, pero basándose en el daño foliar, A, Fv/Fm y ΦPSII, RW y RW-DI mostraron una notable tolerancia a la salinidad. Esta observación sugiere que otros mecanismos además de la evitación del cloruro podrían estar implicados en la tolerancia a la sal, como la compartimentación celular (Neumann y col., 1997) o una mayor capacidad de eliminación de radicales de oxígeno, como se sugiere en varios trabajos (López Climent y col., 2008). Además, los análisis de regresión entre Fv/Fm, A y concentración de Cl⁻ indicaron que no se encontró correlación significativa entre A y Fv/Fm en ningún genotipo, tal y como indicaron previamente García-Sánchez y Syvertsen (2006), sugiriendo que estos dos

parámetros no se comportan de forma paralela bajo estrés salino (López Climent y col., 2008)

6.5. PARÁMETROS AGRONÓMICOS

Los tratamientos de riego influyeron significativamente sobre el tamaño de copa de los árboles de mandarino. Nicolás y colaboradores (2016) evaluando durante seis temporadas consecutivas árboles de mandarina *Citrus clementina* cv. Orogrande' al riego con agua regenerada salina de una conductividad eléctrica del aproximadamente 3.5 dS m^{-1} observaron que la fotosíntesis neta y el estado hídrico de la planta no se vieron afectados por el uso de RW. Sin embargo, el riego con RW provocó una reducción del crecimiento vegetativo (Nicolás y col., 2016). El déficit nutricional, (minerales y aminoácidos) así como la concentración de hormonas (en especial tZ responsable) pueden estar influyendo sobre el crecimiento y volumen de la copa.

Con respecto a la productividad y calidad de fruto, el rendimiento presentó diferencias entre tratamientos (Tabla 41). Solo el tratamiento más restrictivo RW-RDI se diferenció significativamente del control, rindiendo un 46% menos. Los tratamientos FW-RDI y RW presentaron valores de rendimiento un 13 % y 23% con respecto al control FW. El estrés hídrico produjo una reducción del 13 % de FW-RDI respecto al control que no alcanzó a ser significativa. Este resultado coincide con otros autores no han encontrado disminución del rendimiento en plantas de mandarino Kinnow' regadas al 50% ETc en el periodo de crecimiento temprano del fruto, durante 6 años de experiencia (Panigrahi y col., 2014; Pérez-Pérez y col., 2014) quienes observaron que la restricción hídrica en las fases III tuvo un efecto muy negativo en la producción de fruta. Contrariamente, García-Tejero y colaboradores (2010) observaron una disminución del rendimiento en promedio del 10–12% respecto al control estudiando cuatro estrategias de riego deficitario en diferentes fases fenológicas, en ensayos implementados en cítricos de 11 años (*Citrus sinensis* L. Osb. Cv. Navelina) injertados sobre Carrizo citrange (*C. sinensis* L. Osb. × *Poncirus trifoliata* L. Osb.). Gasque y colaboradores (2010) observaron también una disminución de un 13-23% en el rendimiento en plantas sometidas a estrés hídrico durante el periodo III.

El tratamiento combinado de estrés hídrico y salino, RW-RDI si presentó una disminución significativa en el rendimiento. El número de frutos, el peso y su diámetro se mantuvo similar en los tratamientos regados con agua de buena calidad (FW). Sin embargo, los tratamientos regados con agua reciclada (RW) presentaron importantes diferencias. Si bien el rendimiento en fruto no difiere significativamente, si presentaron diferencias los componentes del rendimiento. RW-RDI presentó menor número de frutos de mayor tamaño (peso y diámetro), mientras que RW presentó gran cantidad de pequeños frutos.

Uno de los principales efectos del uso de agua salina en el cultivo de cítricos es la disminución del tamaño y peso del fruto (Pérez-Pérez y col., 2016). La reducción del rendimiento frutal se asoció principalmente a una disminución del número de frutos por árbol más que a diferencias en el peso por fruto (Panigrahi y col., 2014; Pérez-Pérez y col, 2016). Prior y colaboradores (2007) reportaron que el agua de riego con una CE de 2.5 dS m^{-1} causó una reducción del 17% en el rendimiento de fruta durante un período de 9 años, para naranjos 'Valencia' injertados sobre portainjertos de naranjo dulce (*Citrus sinensis*), también asociada a una disminución del tamaño medio de los frutos.

Bajo estrés hídrico la calidad de los frutos no se vio mayormente afectada a excepción de grosor de la piel PT y la acidez titulable TA (Tabla 41). Contrariamente la calidad de los frutos de los árboles regados con agua reciclada fue diferente. La restricción hídrica durante la maduración (Fase III) en condiciones de salinidad (RW-RDI con respecto a RW), tuvo un efecto importante sobre las características organolépticas del fruto, ya que aumentó el contenido de sólidos solubles totales (SST), la acidez (TA) y el índice de madurez (MI).

La condición de salinidad produjo un incremento en el espesor de la corteza y en la firmeza de los frutos. Varios autores (Awang y col., 1993; Petersen y col., 1998; Saito y col., 2009) informaron que la fruta producida bajo salinidad moderada presenta mayor dulzor y sabor, y frutos más firmes. Por otro lado, se sabe que los contenidos más altos de carbohidratos totales e individuales se correlacionaron positivamente con el sabor, el color y la firmeza (Keutgen y Pawelzik, 2007). Por lo tanto, es posible que la mayor firmeza de los frutos del tratamiento RW-RDI sea causada por la mayor concentración de osmolitos (azúcares) en el fruto además del mayor PT.

VII – CONCLUSIONES

VII - CONCLUSIONES

El riego con agua reciclada da lugar a diferentes patrones de crecimiento vegetativo, priorizando el desarrollo vegetativo que se ve reflejado en el número de frutos sobre el crecimiento vegetativo del dosel. En general, los cambios en los niveles hormonales conducen a una reducción del crecimiento y un aumento de la tolerancia al estrés. Al inicio de la maduración de la fruta se encontró un déficit de ACC y GA4, lo que provocó un retraso de la maduración de la fruta en plantas bajo estrés salino. En estos casos, sería recomendable retrasar la cosecha de plantas bajo estrés salino. En base a los resultados obtenidos, se podría suponer que las aplicaciones exógenas de serina, alanina o glicina podrían ayudar a optimizar el crecimiento vegetativo, permitiendo una mayor producción de fotoasimilados que a su vez podrían ser utilizados en la fase II de crecimiento de frutos para el aumento del peso y diámetro de los frutos. Además, dado el fuerte efecto de la hormona SA sobre los parámetros evaluados bajo estrés salino, su aplicación externa podría aumentar la tasa fotosintética neta y contribuir a mejorar la tolerancia de las plantas al estrés salino. (Publicación 1)

En las condiciones de este ensayo el riego deficitario controlado con agua de buena calidad agronómica (FW-RDI) no afectó significativamente a los parámetros agro-fisiológicos. El tratamiento con agua reciclada, de elevada salinidad respecto a un agua de buena calidad, sin restricción hídrica (RW-C) tampoco produjo grandes modificaciones en rendimiento y calidad. Este comportamiento pudo ser explicado por los cambios a nivel metabólico (aminoácidos y hormonas foliares). Se demuestra, por tanto, la viabilidad del uso del agua reciclada sin restricción hídrica en árboles de mandarina con las características de este estudio. Estos resultados son claves dado que el sector agrícola tiene que estar preparado para depender cada vez más de recursos hídricos alternativos como el RW. No obstante, el riego con agua reciclada debe realizarse con un seguimiento intensivo para evitar daños en el suelo y en los árboles. (Publicación 2)

Con respecto a los niveles de fitoprostanos y fitofuranos registrados en los cuatro tratamientos, no se encontraron diferencias significativas intragrupo en la mayoría de los meses y tratamientos. Sí se observó una tendencia a menor contenido de oxilipinas en plantas regadas con agua reciclada y un 50% del requerimiento hídrico, excepto en julio, mes en el que el contenido registrado fue significativamente mayor respecto al resto de meses, independientemente del tipo y régimen de riego, probablemente debido al estado de saturación de estrés oxidativo por condiciones climáticas extremas (alta radiación, temperatura y evapotranspiración). A nivel individual la mayoría de fitoprostanos no mostró diferencias significativas entre tratamientos, salvo algunos casos en julio bajo condiciones extremas. El fitoprostano 9-D1t-PhytoP mostró el mayor grado de significación intergrupos respecto a julio, seguido de otros como 9-epi-9-D1t-PhytoP, 9-F1t-PhytoP, 9-L1t-PhytoP y 16-B1-PhytoP. La suma de enantiómeros ent-16-epi-16-F1t-PhytoP + ent-16-F1t-PhytoP mostró mayor sensibilidad para detectar diferencias entre tratamientos y condiciones extremas. Con respecto a los fitofuranos se observaron diferencias significativas principalmente en las comparaciones con julio, donde los valores fueron más altos. Dos de los tres analizados, *ent*-9-(RS)-12-*epi*-ST- Δ^{10} -13-PhytoF y *ent*-16-(RS)-9-*epi*-ST- Δ^{14} -10-PhytoF, presentaron significación estadística en más comparaciones intermensuales, lo que los posicionaría como buenos marcadores de estrés extremo. (Publicación 3)

IX - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

VIII - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abou Seeda, M.A., Abou El-Nour, E.A.A., Yassen, A.A., Gad Mervat, M., & Zaghloul, S.M. (2020). Importance of sulfur and its roles in Plants physiology: A Review. *Current Science International*, 9(2), 98-231. DOI: 10.36632/csi/2020.9.2.18
- Adrover, M., Farrus, E., Moyà, G., & Vadell, J. (2012). Chemical properties and biological activity in soils of Mallorca following twenty years of treated wastewater irrigation. *Journal of Environmental Management*, 95: 188–192.
- Agencia Estatal de Meteorología. AEMET-Open Data para la Estación Meteorológica de Molina de Segura. [Base de datos Meteorológica. Red principal Estaciones meteorológicas de AEMET](#) Acceso 23 noviembre 2024
- Aftab, T., Khan, M.M.A., Idrees, M., & Moinuddin, A.S. (2020). Salicylic acid acts as potent enhancer of growth, photosynthesis and artemisinin production in *Artemisia annua* L. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 13, 183-188.
- Aghaye Noroozlo, Y., Souri, M.S., & Delshad, M. (2019). Stimulation Effects of Foliar Applied Glycine and Glutamine Amino Acids on Lettuce Growth. *Open Agriculture* 4, 164–172
- Al-Yassin, A. (2005). Review: Adverse effects of salinity on Citrus. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 7: 668-680.
- Alcalde Corcuera, B. (2025). Estudio de situación sobre la gestión hídrica sostenible en España: reutilización de aguas regeneradas. TFG. <http://hdl.handle.net/10810/72719>
- Ali, J., Mukarram, M., Ojo, J., Dawam, N., Riyazuddin, R., Ghramh, H.A., Chen, R., Kurjak, D., & Bayram, A. (2024). Harnessing Phytohormones: Advancing Plant Growth and Defence Strategies for Sustainable Agriculture. *Physiologia Plantarum*, 176(3), e14307. Available from: <https://doi.org/10.1111/ppl.14307>
- Allen, R.G., Pereira, L.S., Raes, D., & Smith, M. (1998). Crop evapotranspiration. Paper 56. FAO. Roma (Italia). 300 p.

- Andreu Rodes, J. M., & Fernández Mejuto, M. (2019). Las aguas subterráneas en España: hacia la sostenibilidad del recurso. Congreso Nacional del Agua Orihuela. Innovación y Sostenibilidad. Alacant: Universitat d'Alacant, 2019. ISBN 978-84-1302-034-1, pp. 1229-1254. <https://doi.org/10.14198/Congreso-Nacional-del-Agua-Orihuela-2019>
- Aouad, B.A.E., Fadli, A., & Benyahia, H. (2015). Investigating salt tolerance in citrus rootstocks under greenhouse conditions using growth and biochemical indicators. *Biolife*, 3(4), 827-837, DOI: 10.17812/blj.2015.3413
- Argamasilla, M., Barberá, J.A., & Andreo, B. (2017). Factors controlling groundwater salinization and hydrogeochemical processes in coastal aquifers from southern Spain. *Science of The Total Environment*, 580, 50-68, ISSN 0048-9697. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.11.173>
- Awang, Y. B., Atherton, J. G., & Taylor, A. J. (1993). Salinity effects on strawberry plants grown in rockwool. I. Growth and leaf water relations. *Journal of Horticultural Science*, 68(5), 783-790.
- Awang, Y. B., Atherton, J. G., & Taylor, A. J. (1993). Salinity effects on strawberry plants grown in rockwool. II. Fruit quality. *Journal of Horticultural Science*, 68(5), 791-795.
- Balfagón Sanmartín, D. (2016). Máster Universitario en investigación y biotecnología agrarias. Participación del ABA en la respuesta de las plantas a la combinación de sequía y calor.
- Balfagón, D., Arbona, V., & Gómez-Cadenas, A. (2022). The Future of Citrus Fruit The impact of climate change on citriculture (Monograph). *Metode Science Studies Journal*, 12: 123-129. University of Valencia. <https://doi.org/10.7203/metode.12.20319>. ISSN: 2174-3487. eISSN: 2174-9221.
- Bañuls, J., Legaz, F., & Primo-Millo, E. (1991). Salinity-calcium interactions on growth and ionic concentration of citrus plants. *Plant Soil*, 133 (1), 39-46.
- Barceló, D., Ayora, C., Carrera, J., Castaño, S., Folch, M., García Calvo, E., Gómez-Alday, J. J., Guasch, H., Jofre, J., Lema, J. M., López de Alda, M., Lucena, F., Moreno-Amich, R., Muñoz, I., Nieto, J. M., Omil, F., Ortiz, I., Romaní, A., Sabater, S., Salgot, M., Sánchez-Vila, X., Sanz, D., Suárez, S., & Torrens, A.

- (2008). Aguas continentales. Gestión de recursos hídricos, tratamiento y calidad del agua. <http://hdl.handle.net/10261/22637>
- Barkosky, R.R., & Einhellig, F.A. (1993). Effects of salicylic acid on plant-water relationships. *Journal of Chemical Ecology*, 19, 237-247.
- Bastida, F., Torres, I.F., Abadia, J., Romero-Trigueros, C., Ruiz-Navarro, A., Alarcón, J.J., García, C., & Nicolas, E. (2018). Comparing the impacts of drip irrigation by freshwater and reclaimed wastewater on the soil microbial community of two citrus species. *Agricultural Water Management*, 203, 53–62.
- Benavides Mendoza, A., & Francisco Francisco, N. (2022). Recientes aplicaciones de la fluorescencia de la clorofila en los cultivos vegetales. *Epistemos*, 16(33). <https://doi.org/10.36790/epistemos.v16i33.285>
- Boman, B. J. (1993). First-year response of 'Ruby Red' grapefruit on four rootstocks to fertilization and salinity. *Proceeding of the Florida-State Horticultural Society* 106, 12-18.
- Bradford, G. R. (1961). Lithium Toxicity in southern California citrus. *California Agriculture*, 15, 12 ISSN 0008-0845 | 2160-8091
- Brumos, J., Colmenero-Flores, A., Conesa, P., Izquierdo, P., Sánchez, G., Iglesias, M.F., López-Climent, A., Gómez-Cadenas, A., & Talón, M. (2009). Membrane transporters and carbon metabolism implicated in chloride homeostasis differentiate salt stress responses in tolerant and sensitive Citrus rootstocks. *Functional & Integrative Genomics*, 9, 293-309.
- Camacho-Ferre, F., & Rodríguez, E. (2005). Eficiencia en el uso del agua. *Horticultura Internacional*. Extra 1. 86-89.
- Cámara, J.M., García-Sánchez, F., Martínez, V., Nieves, M., & Cerdá, A. (2004) Effect of NaCl on citrus cultivars. *Agronomie*, 24, 155–160
- Comunidad Autónoma de la Región de Murcia CARM. (2019). Anuarios de Estadística Agraria 2018/19. Comunidad Autónoma de la Región de Murcia. [ANUARIOS DE ESTADÍSTICA AGRARIA - Estadística Agraria Región de Murcia](#)
- Carrasco-Del Amor, A.M., Collado-González, J., Aguayo, E., Guy, A., Galano, J.M., Durand, T., & Gil-Izquierdo, A. (2015). Phytoprostanes in almonds: identification, quantification and impact on cultivars and type of cultivation. *RSC Advances*, 5, 51233-51241.

- Case, Karl E., & Fair, Ray C. (1999). *Principles of Economics* (5th ed.). Prentice-Hall. [ISBN 0-13-961905-4](#).
- Castillo Sánchez, E.J. (2022). Importancia de los aminoácidos en la agricultura bajo condiciones de estrés abiótico. Tesis de grado. <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/11367>
- Champaneri, D. D., Desai, K. D., Sharma, V., Madane, D. A., & More, S. J. (2024). A synoptic review of deficit irrigation methods: sustainable water-saving strategies in vegetable cultivation. *Water Supply*, 24(9), 3132 doi: 10.2166/ws.2024.195
- Chandler, J. W. (2011). The hormonal regulation of flower development. *Journal of Plant Growth Regulation*, 30(2), 242–254
- Ciura, J., & Kruk, J. (2018) Phytohormones as targets for improving plant productivity and stress tolerance. *Journal of plant physiology*, 229, 32–40.
- Collado-Gonzalez, J., Cruz, Z.N., Rodríguez, P., Galindo, A., Ferreres, F., Medina, S., Romojaro, F., Egea, I., Torrecillas, A., & Gil-Izquierdo, A. (2014). Effects of water deficit during maturation on amino acids and jujube fruit eating quality. *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering* 33, 105–119.
- Collado-González, J., Medina, S., Durand, T., Guy, A., Galano, J.M., Torrecillas A., Ferreres, F., & Gil-Izquierdo, A. (2015). New UHPLC-QqQ-MS/MS method for quantitative and qualitative determination of free phytoprostanes in foodstuffs of commercial olive and sunflower oils. *Food Chemistry* 178, 212–220. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.097>.
- Collado-González, J., Moriana, A., Girón, I.F., Corell, M., Medina, S., Durand, T., Guy, A., Galano, J.M., Valero, T., Garrigues, E., Ferreres, F., Moreno, F., Torrecillas, A., & Gil-Izquierdo, A. (2015). The phytoprostane content in green table olives is influenced by Spanish-style processing and regulated deficit irrigation. *LWT-Food Science and Technology*, 64, 997-1003.
- Collado-González, J., Pérez-López, D., Houssem, M., Gijón, M.C., Medina, S., Durand, T., Guy, A., Galano, J.M., Ferreres, F., Torrecillas, A., & Gil-Izquierdo, A. (2015). Water deficit during pit hardening enhances phytoprostanes content, a plant biomarker of oxidative stress in extra

- virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63, 3784-3792.
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b00805>
- Collado-Gonzalez, J., Cruz, Z.N., Rodríguez, P., Galindo, A., Ferreres, F., Medina, S., Romojaro, F., Egea, I., Torrecillas, A., Cerrillo, I.,; Fernández-Pachón, M.S., Collado-Gonzalez, J., Herrero-Martin, G., Berna, G., Escudero-López, B., Ferreres, F., & Gil-Izquierdo, A. (2015). Effect of Fermentation and Subsequent Pasteurization Processes on Amino Acids Composition of Orange Juice. *Plant Foods for Human Nutrition*, 70, 153–159.
- Collado-González, J., Pérez-López, D., Memmi, H., Gijón, M. C., Medina, S., Durand, T., Guy, A., Galano, J. M., Fernández, D. J., & Carro, F. (2016). Effect of the season on the free phytoprostane content in Cornicabra extra virgin olive oil from deficit-irrigated olive trees. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96, 1585- 1592.
- Cuyamendous, C., Leung, K.S., Durand, T., Lee, J.C., Oger, C., & Galano, J.M. (2015) Synthesis and discovery of phytofurans: metabolites of α -linolenic acid peroxidation. *Chemical Communications (Cambridge, England)*, 7, 51(86), 15696-9. doi: 10.1039/c5cc05736a. Epub 2015 Sep 14. PMID: 26364843.
- da Silva Oliveira, A.P., Melo, Y.L., Silva de Alencar, R., Almeida Viégas, P.R., Felix Dias, G., de Souza Ferraz, R. L., da Silva Sá, F.V., Dantas Neto, J., Dourado Magalhães, I., Raj Gheyi, H., Feitosa de Lacerda, C., & Soares de Melo, A. (2023). Osmoregulatory and Antioxidants Modulation by Salicylic Acid and Methionine in Cowpea Plants under the Water Restriction. *Plants*, 12, 1341.
<https://doi.org/10.3390/plants12061341>
- Domínguez-Perles, R., Abellán, A., León, D., Ferreres, F., Guy, A., Oger, C., Galano J.M., Durand, T., & Gil-Izquierdo, A. (2018). Sorting out the phytoprostane and phytofuran profile in vegetable oils. *Food Research International*, 107 619–628.
- Domínguez-Perles, R., Sánchez-Martínez, I., Rodríguez-Hernández, M. D., López-González, I., Oger, C., Guy, A., Duran, T., Galano, J.M., Ferreres, F., & Gil-Izquierdo, A. (2020). Optimization of free phytoprostane and phytofuran production by enzymatic hydrolysis of pea extracts using esterases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(11), 3445-3455.

- EEA (2009). Water resources across Europe — confronting water scarcity and drought. EEA Report No 2/2009.
- EEA (2019). Climate change adaptation in the agriculture sector in Europe EEA Report No 04/2019
- El Fangour, S., Guy, A., Despres, V., Vidal, J.P., Rossi, J.C., & Durand, T. (2004). Total Synthesis of the Eight Diastereomers of the Syn-Anti-Syn Phytosteranes F1 Types I and II. *Journal of Organic Chemistry*, 9 (7), 2498–2503. doi: 10.1021/jo035638i
- El Sabagh, A., Islam, M. S., Hossain, A., Iqbal, M. A., Mubeen, M., Waleed, M., Reginato M., Battaglia, M., Ahmed, S., Rehman, A., Arif, M., Athar H., Ratnasekera, D., Danish, S., Raza, M.A., Rajendran, K., Mushtaq, M., Skalicky, M., Brestic, M., Soufan, W., Fahad, S., Pandey, S., Kamran M., Datta, R., & Abdelhamid, M.T. (2022). Phytohormones as Growth Regulators During Abiotic Stress Tolerance in Plants. *Frontiers in Agronomy* 4 –2022. doi:10.3389/fagro.2022.765068. ISSN 2673-3218.
- Entidad de Saneamiento y Depuración de Aguas Residuales de la Región de Murcia. ESAMUR. 2017. <http://www.esamur.com>
- EUR-Lex. Commission Notice Guidelines to Support the Application of Regulation 2020/741 on Minimum Requirements for Water Reuse 2022/C 298/01. Official Journal of the European Union. Available online: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=uriserv:OJ.C_.2022.298.01.0001.01.ENG&toc=OJ:C:2022:298:TOC#ntc3-C_2022298EN.01000101-E0003 (accessed on 13 February 2025).
- FAO (2016). The estate of food and agriculture in 2016. Climate Change. Agriculture and food security. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Roma. 196 pp. ISBN 978-92-5-109374-0. www.fao.org/3/a-i6030e.pdf
- FAO y ONU-Agua (2025). Progresos en el nivel de estrés hídrico: Situación a mitad de período del Indicador 6.4.2 de los ODS y necesidades de aceleración, con especial atención a la seguridad alimentaria, 2024. FAO, Roma.

- Fenn, M.A., & Giovannoni, J.J. (2021) Phytohormones in fruit development and maturation. *The Plant Journal: for cell and molecular biology*, 105(2), 446-458. doi: 10.1111/tpj.15112.
- Ferguson, L., & Grattan, S.R. (2015). How salinity damages citrus: osmotic and specific ion effects. *Hort. Technology*, 15, 95–99.
- García-Galiano, S.G., Olmos-Giménez, P., & Giraldo-Osorio, J.D. (2015). Assessing Nonstationary Spatial Patterns of Extreme Droughts from Long-Term High-Resolution. Observational Dataset on a Semiarid Basin (Spain). *Water* 7(10): 5458-5473. doi:10.3390/w7105458
- García-García, M.C.; Del Río-Celestino, M.; Gil-Izquierdo, A.; Egea-Gilabert, C.; Oger, C.; Galano, J.-M.; Durand, T.; Fernández, J.A.; Domínguez-Perles, R. (2019). The Value of Legume Foods as a Dietary Source of Phytoprostanes and Phytofurans Is Dependent on Species, Variety, and Growing Conditions. *European Journal of Lipid Science and Technology* 121, 1-12. doi: 10.1002/ejlt.201800484.
- García-Sánchez, F., & Syvertsen, J.P. (2006). Salinity reduces growth, gas exchange, chlorophyll and nutrient concentrations in diploid sour orange and related allotetraploid somatic hybrids. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 77: 379-386.
- García-Sánchez, F., & Syvertsen, J.P. (2006) Salinity tolerance of Cleopatra mandarin and Carrizo citrange citrus rootstock seedlings is affected by CO₂ enrichment during growth. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 131, 24–31. doi: 10.21273/JASHS.131.1.24
- García-Tejero, R., Romero-Vicente, J.A., Jiménez-Bocanegra, G., Martínez-García, V.H., Durán-Zuazo, J.L., Muriel-Fernández (2010). Response of citrus trees to deficit irrigation during different phenological periods in relation to yield, fruit quality, and water productivity. *Agricultural Water Management*, 97 (5), 689-699.
- Gasque M., Granero B., Turegano, J. V., & Gonzalez-Altozano P. (2010). Regulated deficit irrigation effects on yield, fruit quality and vegetative growth of 'Navelina' citrus trees. *Spanish Journal of Agricultural Research* 8(S2), S40-S51 ISSN: 1695-971-X eISSN: 2171-9292

- Gimeno, V., Simón, I., Nieves, M., Martínez, V., Cámara-Zapata, J.M., García, A.L., & García-Sánchez, F. (2012). The physiological and nutritional responses to an excess of boron by Verna lemon trees that were grafted on four contrasting rootstocks. *Trees*, 26:1513-1526.
- Glass, A.D.M., & Dunlop, J. (1974). Influence of phenolic acids on ion uptake: IV. Depolarization of membrane potentials. *Plant Physiology*, 54, 855-858.
- Global Water Market (2017). Meeting the World's Water and Wastewater Needs Until 2020; Global Water Intelligence: Oxford, UK.
- Gomez-Bellot, M.J., Lorente, B., Ortuño, M.F., Medina, S., Gil-Izquierdo, A., Banon, S., & Sanchez-Blanco, M.J. (2021). Recycled wastewater and reverse osmosis brine use for halophytes irrigation: Differences in physiological, nutritional and hormonal responses of *Crithmum maritimum* and *Atriplex halimus* plants. *Agronomy* 11, 627. [CrossRef]
- Gómez-Bellot, M.J., Lorente, B., Medina, S., Gil-Izquierdo, A., Durand, T., Galano, J.-M., Bañón, S., Ortuño, M.F., & Sánchez-Blanco, M.J. (2022). Acute and rapid response of *Melissa officinalis* and *Mentha spicata* to saline reclaimed water in terms of water relations, hormones, amino acids and plant oxylipins. *Plants* 11 (24), 3427.
- Gómez-Cadenas, A., Arbona, V., Jacas, J., Primo-Millo, E., & Talon, M. (2003). Absciscic acid reduces leaf abscission and increases salt tolerance in citrus plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, 21, 234-240.
- Gomez-Cadenas, A., Tadeo, F.R., Talon, M., & Primo-Millo, E. (1996) Leaf abscission induced by ethylene in water stressed intact seedlings of Cleopatra mandarin requires previous absciscic acid accumulation in roots. *Plant Physiology*, 112: 401-408
- Grattan, S.R., Díaz, F.J., Pedrero, F., & Vivaldi, G.A. (2015). Assessing the suitability of saline wastewaters for irrigation of Citrus spp.: emphasis on boron and specific-ion interactions. *Agricultural Water Management*, 157: 48-58.
- Guy, A., Flanagan, S., Durand, T., Oger, C., & Galano J. M. (2015). Facile synthesis of cyclopentenone B1- and L1-type phytoprostanes. *Frontiers in Chemistry* 3, 1-10. doi: 10.3389/fchem.2015.00041
- Husen, A., & Zhang, W. (2023) Hormonal Cross-Talk, Plant Defense and Development. Plant Biology, Sustainability and Climate Change. 1st Edition

- June 22, 2023. Latest edition. Imprint: [Academic Press](#) Paperback ISBN: 9780323953757
- Hutchinson, D.J. (1977). Influence of rootstock on the performance of Valencia sweet orange. In Proceedings of the International Society of Citriculture Congress, Orlando, FL, USA, 1–8 May 1977; Volume 2, pp. 523–525.
- Hutton, M.J., & van Staden, J. (1983). Transport and Metabolism of 8(14C)Zeatin) Zeatin Applied to Leaves of *Citrus sinensis*. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 111, 1, 75-83.
- Ibrahimova, U., Talai, J., Hasan, M. M., Huseynova, I., Raja, V., Rastogi, A., Ghaffari, H., Zivcak, M., Yang, X., & Brestic, M. (2025). Dissecting the osmotic and oxidative stress responses in salt-tolerant and salt-sensitive wheat genotypes under saline conditions. *Plant, Soil & Environment*, 71, 2025(1), 36-47. <https://doi.org/10.17221/459/2024-PSE>
- Iglesias, D.J., Cercós, M., Colmenero-Flores, J. M., Naranjo, M.A., Ríos, G., Carrera, E., Ruiz-Rivero, O., Lliso, I., Morillon, R., Tadeo, F.R., & Talon, M. (2007). Physiology of citrus fruiting. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 19, 4, 333-362.
- Instituto del agua. Sobreexplotación de Acuíferos: Un Desafío Hídrico Fundamental para Nuestro Futuro. Instituto del agua. [Sobreexplotación de Acuíferos: Un Desafío Hídrico Fundamental para Nuestro Futuro | Instituto del Agua](#) Acceso 23 marzo 2025.
- Intergovernmental Panel on Climate Change IPCC (2014). Climate change 2014: synthesis report. Pachauri R.K., Meyer L.A. (Eds.), Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team], IPCC, Geneva (2014), p. 151
- Intergovernmental Panel on Climate Change IPCC. Special Report on Climate Change, Desertification, Land Degradation, Sustainable Land Management, Food Security, and Greenhouse Gas Fluxes in Terrestrial Ecosystems. Available online: <https://www.ipcc.ch/srccl/> (accessed on 13 February 2025).
- Iqbal, N., Khan, N.A., Ferrante, A., Trivellini, A., Francini, A., & Khan, M.I.R. (2017) Ethylene role in plant growth, development and senescence: interaction with other phytohormones. *Frontiers in plant science*, 8, 475. doi: 10.3389/fpls.2017.00475. PMID: 28421102; PMCID: PMC5378820.

- Jasechko, S., Seybold, H., Perrone, D., Fan, Y., Shamsudduha, M.; Taylor, R.G.; Fallatah, O., & Kirchner J.W. (2024). Rapid groundwater decline and some cases of recovery in aquifers globally. *Nature* 625, 715–721. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06879-8>
- Jia, J., Zhao, M., Liu, R., Xue, C., Xia, Z., Hu, B., & Rennenberg, H. (2024). Drought-mediated oxidative stress and its scavenging differ between citrus hybrids with medium and late fruit maturation. *Plant Stress*, 14, 100670.
- Kaur, N., Monga, P.K., Arora, P.K., & Kumar, K. (2015). Effect of micronutrients on leaf composition, fruit quality and yield of Kinnow mandarin. *Journal of Applied & Natural Science*, 7(2), 639 –643. doi <https://doi.org/10.31018/jans.v7i2.658>
- Keutgen A., & Pawelzik E. Modifications of taste-relevant compounds in strawberry fruit under NaCl salinity. *Food Chemistry* 105 (2007) 1487–1494.
- Kesawat, M. S., Satheesh, N., Kherawat, B. S., Kumar, A., Kim, H. U., Chung, S. M., & Kumar, M. (2023). Regulation of reactive oxygen species during salt stress in plants and their crosstalk with other signaling molecules—Current perspectives and future directions. *Plants*, 12(4), 864
- Khan, N., Asghari Bano, A., Shahid Ali, S., & Babar, Md.A. (2020). Crosstalk amongst phytohormones from planta and PGPR under biotic and abiotic stresses. *Plant Growth Regulation* 90:189–203.
- Khanna R.R., Jahan B., Iqbal N., Khan N. A., AlAjmi M.F., Rehman M.T., & Khan M.I.R. (2021). GABA reverses salt-inhibited photosynthetic and growth responses through its influence on NO-mediated nitrogen-sulfur assimilation and antioxidant system in wheat. *Journal of Biotechnology*, 325, 73–82
- Khoshbakht, D., & Asgharei, M.R. (2015). Influence of foliar-applied salicylic acid on growth, gas-exchange characteristics, and chlorophyll fluorescence in citrus under saline conditions. *Photosynthetica* 53, 3, 410-418. doi: 10.1007/s11099-015-0109-2.
- Lancaster, J., Lister, C. E., Reay, P. F., & Triggs, C. M. (1997). Influence of pigment composition on skin color in a wide range of fruits and vegetables. *Journal of American Society of Horticultural Science*, 122(4), 594-598.

- Leung, K.S., Oger, C., Guy, A., Bultel-Poncé, V., Vigor, C., Durand T., Gil-Izquierdo, A., Medina, S., Galano J.M., & Chung-Yung Lee, J. (2022) Chapter Eleven - Alpha-linolenic acid, phytoprostanes and phytofurans in plant, algae and food. Editor(s): Fabrice Rébeillé, Eric Maréchal. *Advances in Botanical Research*, Academic Press 101, 437-468, ISSN 0065-2296, ISBN 9780128208038, <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2021.09.005>.
- Lipan, L., Collado-González, J., Domínguez-Perles, R., Corell, M., Bultel-Poncé, V., Galano, J.M., Durand, T., Medina, S., Gil-Izquierdo, A., & Carbonell-Barrachina, A. (2020). Phytoprostanes and phytofurans –oxidative stress and bioactive compounds– in almonds are affected by deficit irrigation in almond trees. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68, 7214-7225. (<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c02268>)
- Lipan, L., Collado-González, J., Wojdylo, A., Domínguez-Perles, R., Gil-Izquierdo, A., Corell, M., Moriana, A., Cano-Lamadrid, M., & Carbonell-Barrachina, A. (2021). How does water stress affect the phenolic profile (single and polymeric compounds) of hydroSOSustainable almonds?. *Food Chemistry* 339, 127756. (<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127756>)
- López, J., Burgos, A., Cambeses, H., Sánchez, D., & Rodríguez, P. (2012). El reciclaje de aguas grises como complemento a las estrategias de gestión sostenible del agua en el medio rural. *Río Mandeo, cuenca fluvial y desarrollo sostenible*. 2012, ISBN 978-84-9812-174-2, págs. 265-284.
- López-Climent, M.F., Arbona, V., Pérez-Clemente, R. M., & Gómez-Cadenas, A. (2008). Relationship between salt tolerance and photosynthetic machinery performance in citrus. *Environmental and Experimental Botany*, 62(2), 176-184.
- López Geta, J. A. (2020). Las aguas subterráneas y los acuíferos: su carácter estratégico en escasez y periodos de sequía. *Recursos minerales y medioambiente: una herencia que gestionar y un futuro que construir*, 277-295. Universidad de Oviedo, Servicio de Publicaciones. ISBN:978-84-17445-95-9. <http://hdl.handle.net/10651/57132>
- Mahmoud, L. M., Dutt, M., Vincent, C.I., & Grosser, J.W. (2021). The response of salt-stressed Valencia sweet orange (*Citrus sinensis*) to salicylic acid and methyl jasmonate treatments. *Plant Physiology Reports* 26, 1, 137–151.

- MAPAMA. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. Gobierno de España. Acceso 30 Nov 2024. Disponible en: <http://www.mapama.gob.es/app/MaterialVegetal/fichaMaterialVegetal.aspxidFicha=5>
- Martin, J.P., Helmkamp, G.K., & Ervin, J.O. (1956). Effect of Bromide from a Soil Fumigant and from CaBr₂ on Growth and Chemical Composition of Citrus Plants. *Soil Science Society of America Journal*, 20(2), 209-212, <https://doi.org/10.2136/sssaj1956.03615995002000020018x>.
- Martínez-Álvarez, V., González-Real, M.M., Baille, A., Valero, J.M., & Elvira, B.G. (2008). Regional assessment of evaporation from agricultural irrigation reservoirs in a semiarid climate. *Agricultural Water Management*, 95, 1056–1066.
- McKee, T.B., Doesken, N.J., & Kleist, J. (1995). Drought monitoring with multiple time scales. Preprints, 9th Conference on Applied Climatology, 15-20 January, Dallas, Texas, American Meteorological Society: 233-236.
- Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico. (2025) Recursos alternativos. [Recursos alternativos](#) Acceso 24 de agosto 2025.
- Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico (2025) Informe mensual de seguimiento de la situación de sequía y escasez. Enero 2025 Subdirección General de Planificación Hidrológica. Dirección General del Agua. Secretaría de Estado de Medio Ambiente. **NIPO: 665-23-078-0**
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. El Regadío en España. Principales cifras del regadío. Desarrollo Rural. Gestión sostenible de regadíos. Acceso 17 agosto 2025. [Principales cifras del regadío](#)
- Navarro Acosta, J. M. (1998). Navarro Acosta, J. M. (1999). Optimización de la nutrición de fósforo y calcio en plantas de melón (*Cucumis melo* L.) cultivadas en condiciones salinas [Tesis doctoral, Universidad de Murcia]. Dialnet.
- Nicolás, E., Alarcón, J.J., Mounzer, O., Pedrero, F., Nortes, P.A., Alcobendas, R., Romero-Trigueros C., Bayona, J.M., & Maestre-Valero, J.F. (2016). Long-term physiological and agronomic responses of mandarin trees to irrigation with saline reclaimed water. *Agricultural Water Management*, 166: 1-8.

- Maxwell, K., & Johnson, G.N. (2000). Chlorophyll fluorescence--a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51, 345, 659-68.
- Mc Guiere, R.G. (1992). Reporting of objective colour measurements. *HortScience* 27, 1254-1255.
- Medina, S., Gil-Izquierdo, A., Durand, T., Ferreres, F., & Domínguez-Perles, R. (2018). Structural/Functional Matches and Divergences of Phytoprostanes and Phytofurans with Bioactive Human Oxylipins. *Antioxidants (Basel)*, 7(11), 165. doi: 10.3390/antiox7110165. PMID: 30453565; PMCID: PMC6262570.
- Mehak, G., Akram, N.A., Ashraf, M., Kaushik, P., El-Sheikh, M.A., & Ahmad, P. (2022). Methionine-induced regulation of growth, secondary metabolites and oxidative defense system in sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants subjected to water deficit stress. *PLOS ONE* 17(9): e0274851. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0274851>
- Mersni, M., Zhou, B., Reversat, G., Larbi Khouja M., Guy, A., Oger, C., Galano, J.M., Durand, T., Messaoud, C., & Vigor, C. (2024). Phytoprostanes and phytofurans: Bioactive compounds in aerial parts of *Acacia cyanophylla* Lindl, *Fitoterapia* 172, 105717. ISSN 0367-326X, <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2023.105717>.
- Mirás-Avalos, J.M., Egea, G., & Nicolás, E. (2011). QualiTree, a virtual fruit tree to study the management of fruit quality. II. Parameterization for peach, analysis of growth-related processes and agronomic scenarios. *Trees Structure and Function*, 25: 785-799.
- Mouhaya, W., Allario, T., Brumos, J., Andres, F., Froelicher, Y., & Luro, L. (2010). Sensitivity to high salinity in tetraploid citrus seedlings increases with water availability and correlates with expression of candidate genes. *Functional Plant Biology*, 37: 674-685.
- Moya, J.L., Tadeo, F.R., Gómez-Cadenas, A., Primo-Millo, E., & Talón, M. (2002) Transmissible salt tolerance traits identified through reciprocal grafts between sensitive Carrizo and tolerant Cleopatra citrus genotypes. *Journal of Plant Physiology*, 159, pp. 991-998
- Murkute, A.A., Sharma, S., & Sing, S.K. (2005). Citrus in terms of soil and water salinity: a review. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 64: 393-402.

- Murphy A. (2015). Hormone crosstalk in plants. *Journal of Experimental Botany*, 66(16), 4853-4. doi: 10.1093/jxb/erv339. PMID: 26425738; PMCID: PMC4513929.
- Navarro-Pérez, V., Simón, I., Cámara-Zapata, J.M., Muñoz-Acero, J., Alfosea-Simón, M., García-Sánchez, F., & Simón-Grao, S. (2024). Effects of high boron concentration in irrigation water on the relative tolerance and metabolic responses of different citrus varieties: Lemon, orange and mandarin, *Scientia Horticulturae* 338, 113660, ISSN 0304-4238 <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.113660>.
- Nicolás, E., Alarcón, J.J., Mounzer, O., Pedrero, F., Nortes, P.A., Alcobendas R., Romero Trigueros C., Bayona, J.M., & Marstre-Valero, J.F. (2016). Long-term physiological and agronomic responses of mandarin trees to irrigation with saline reclaimed water. *Agricultural Water Management*, 166, 1–8.
- Nxele, X., Klein, A., & Ndimba, B. K. (2017). Drought and salinity stress alters ROS accumulation, water retention, and osmolyte content in sorghum plants. *South African journal of botany*, 108, 261-266.
- OECD/FAO (2024). OECD-FAO Agricultural Outlook 2024-2033, OECD Publishing, Paris/FAO, Rome, <https://doi.org/10.1787/4c5d2cfb-en>
- Osorio Mora, O., & Zacarías, L. (2000). Efecto de las bajas temperaturas en la biosíntesis de etileno en discos de flavedo de la mandarina "fortune". *Revista Iberoamericana. Tecnología Postcosecha* 3, 1, 53-64.
- Oster, J.D., & Garrison, S. (1980). The Gapon coefficient and the exchangeable sodium percentage-sodium absorption relation. *Soil Science Society of America Journal* 44 (2): 258. <https://doi.org/10.2136/sssaj1980.03615995004400020011x>
- Quiroga, C. C. L. (2023). Estrategias sostenibles para la recirculación del agua en unidades habitacionales: Impacto en la oferta hídrica para la agroindustria. *Agroindustria, Sociedad y Ambiente*, 2(21), 86-108.
- Panigrahi, P., Sharma, R.K, Hasanc, M., & Parihar, S.S. (2014). Deficit irrigation scheduling and yield prediction of 'Kinnow' mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) in a semiarid region. *Agricultural Water Management* 140, 48–60
- Papadakis, I.E., Dimassi, K.N., Bosabalidis, A.M., Therios, I.N., Giannakoula, A., 2004. Effects of B excess on some physiological and anatomical parameters

- of 'Navilena' orange plants grafted on two rootstocks. *Environmental and Experimental Botany*, 51: 247-257.
- Pedrero, F., Maestre-Valero, J.F., Mounzer, O., Nortes, P.A., Alcobendas, R., Romero-Trigueros, C., Bayona, J.M., Alarcón, J.J., & Nicolás, E. (2015). Response of Young 'Star Ruby' grapefruit trees to regulated deficit irrigation with saline reclaimed water. *Agricultural Water Management*, 158: 51-60.
- Peel, M.C., Finlayson, B.L., & McMahon, T.A. (2007). Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. *Hydrology and Earth System Sciences*, 11, 1633–1644.
- Pérez-Pérez, J.G., García-Sánchez, F., Robles, J.M., & Botía, P. (2015). 'Star Ruby' grapefruit and 'Clemenules' mandarin trees show different physiological and agronomic responses to irrigation with saline water. *Irrigation Sciences* 33,191–204. doi 10.1007/s00271-014-0459-8
- Pérez-Pérez, J.G., Robles, J.M., García-Sánchez, F., & Botía, P. (2016). Comparison of deficit and saline irrigation strategies to confront water restriction in lemon trees grown in semi-arid regions. *Agricultural Water Management*, 164, 46–57.
- Pérez Rodríguez, J.M., Parras Cintero, J., Lara Carrasco, E., & Prieto Losada, M.H. (2022). Manual Práctico de Riego. Olivar de Almazara. Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX) Gobierno de Extremadura.
- Petersen, K. K., Willumsen, J., & Kaack, K. (1998). Composition and taste of tomatoes as affected by increased salinity and different salinity sources. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 73(2), 205-215.
- Pinciroli, M., Domínguez-Perles, R., Garbi, M., Abellán, A., Oger, C., Durand, T., Galano, J.M., Ferreres, F., & Gil-Izquierdo, A. (2018). Impact of Salicylic Acid Content and Growing Environment on Phytoprostane and Phytofuran (Stress Biomarkers) in *Oryza sativa* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66 (47), 12561-12570. doi: 10.1021/acs.jafc.8b04975
- Pino Ramos, L., Jiménez-Aspe, F., Theoduloz, C., Burgos-Edwards, A., Domínguez-Perles, R., Oger, C., Durand, T., Gil-Izquierdo, A., Bustamante, L., Mardones, C., Márquez, K., Contreras, D., & Schmeda-Hirschmann, G. (2019). Phenolic, oxylipin and fatty acid profiles of the Chilean hazelnut

- (Gevuina avellana Mol., Proteaceae): Antioxidant activity and inhibition of pro-inflammatory and metabolic syndrome-associated enzymes. *Food Chemistry*, 298, 125026.
- Prior, L.D., Grieve, A.M., Bevington, K.B., Slavich, P.G. (2007). Long-term effects of saline irrigation water on Valencia orange trees: Relationships between growth and yield, and salt levels in soil and leaves. *Australian Journal of Agricultural Research*, 58(4), 349-358
- Rabe, E., & Lovatt, C. J. (1984). De Novo Arginine Biosynthesis in Leaves of Phosphorus-Deficient *Citrus* and *Poncirus* Species. *Plant Physiology*, 76, 747-752.
- Rai, A., Sarkar, S., & Jha, P.K. (2022). Deficit Irrigation: An Optimization Strategy for a Sustainable Agriculture. In: Dubey, S.K., Jha, P.K., Gupta, P.K., Nanda, A., Gupta, V. (eds) Soil-Water, Agriculture, and Climate Change. Water Science and Technology Library, vol 113. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-12059-6_9
- Raskin, I. (1992). Role of salicylic acid in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 43, 439-463
- Real Decreto 47/2022, de 18 de enero, sobre protección de las aguas contra la contaminación difusa producida por los nitratos procedentes de fuentes agrarias. <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2022-860>
- Rennenberg, H., & Brunold, C. (1994). Significance of Glutathione Metabolism in Plants Under Stress. In: Behnke, HD., Lüttge, U., Esser, K., Kadereit, J.W., Runge, M. (eds) Progress in Botany. *Progress in Botany/Fortschritte der Botanik*, vol 55. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-78568-9_8
- Romero, P., Navarro, J.M., Pérez-Pérez, J.G., García-Sánchez, F., Gómez-Gómez, A.G., Porras, I., Martínez, V., & Botía, P. (2006). Deficit irrigation and rootstock: their effects on water relations, vegetative development, yield, fruit quality and mineral nutrition of Clemenules mandarin. *Tree Physiology*, 26: 1537-1548.
- Romero-Trigueros, C., Nortes, P.A., Alarcón, J.J., & Nicolas, E. (2014). Determination of ¹⁵N stable isotope natural abundances for assessing the use of saline

- reclaimed water in grapefruit. *Environmental Engineering and Management Journal*, 13: 2525–2530.
- Romero-Trigueros, C., Nortes, P.A., Pedrero, F., Mounzer, O., Alarcón, J.J., Bayona, J.M., & Nicolás, E. (2014). Assessment of the sustainability of using saline reclaimed water in grapefruit in medium to long term. *Spanish Journal of Agricultural Research* 12, 1137–1148.
- Romero-Trigueros, C., Nortes, P.A., Alarcon, J.J., Hunink, J.E., Parra, M., Contreras, S., Droogers, P., & Nicolás, E. (2017). Effects of saline reclaimed waters and deficit irrigation on Citrus physiology assessed by UAV remote sensing. *Agricultural Water Management*, 183, 60–69.
- Saito, T., Fukuda, N., Matsukura, C., & Nishimura, S. (2009). Effects of salinity on distribution of photosynthates and carbohydrate metabolism in tomato grown using nutrient film technique. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 78(1), 90-96.
- Saitta, D., Consoli, S.; Ferlito F., Torrisi, B., Allegra, M., Longo-Minnolo, G. Juan Ramírez-Cuesta, M., Vanella, D. (2021). Adaptation of citrus orchards to deficit irrigation strategies. *Agricultural Water Management*, 247, 106734. ISSN 0378-3774. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106734>.
- Samuelson, P. A., & Nordhaus, W.D. (2001). *Microeconomics* (17ª edición). McGraw-Hill. p. 110. ISBN 0071180664.
- Sánchez, M. A., Martín, M. V., & Andries, D. M. (2024). Contaminación por nitrato en las aguas subterráneas de la Demarcación Hidrológica del Segura (España) y su particular incidencia en el área de captación del Mar Menor. *Estudios geológicos*, 80(1), 1071-1071.
- Sánchez-Aguayo, I., Rodríguez-Galán, J.M., García, R., Torreblanca, J., Pardo, J.M. (2004). Salt stress enhances xylem development and expression of S-adenosyl-L-methionine synthase in lignifying tissues of tomato plants. *Planta*, 220: 278–285 DOI 10.1007/s00425-004-1350-2).
- Shafqat, W., Mazrou, Y.S.A., Sami-ur-Rehman, Nehela, Y., Ikram, S., Bibi, B., Naqvi S.A., Hameed, M., & Jaskani, M.J. (2021). Effect of Three Water Regimes on the Physiological and Anatomical Structure of Stem and Leaves of Different Citrus Rootstocks with Distinct Degrees of Tolerance to Drought Stress. *Horticulturae*, 7, 12, 554; <https://doi.org/10.3390/horticulturae7120554>

- Silva, S.F., Miranda, M.T., Cunha, C.P., Domingues-Jr, A.P., Aricetti, J.A., Caldana, C., & Machado, E.C. (2023). Metabolic profiling of drought tolerance: revealing how citrus rootstocks modulate plant metabolism under varying water availability. *Environmental and Experimental Botany*, 206, 105169 doi: <https://doi.org/10.1101/2022.07.09.499439>.
- Shakirova, F.M., Sakhabutdinova, A.R., & Bezrukova, M.V. (2003). Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. *Plant Science*, 164, 317-322. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00415-6](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00415-6)
- Soil Survey Staff (2014). Illustrated Guide to Soil Taxonomy; U.S. Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service, National Soil Survey Center: Lincoln, Nebraska, 2014. Available online: <https://www.secs.com.es/wp-content/uploads/2014/09/Illustrated-Guide-to-Soil-Taxonomy1.pdf> Acceso 1 abril 2025
- Sonnino, A., & Ruane, J. (2013). La innovación en agricultura como herramienta de la política de seguridad alimentaria: el caso de las biotecnologías agrícolas. Biotecnologías e innovación: el compromiso social de la ciencia. Ed. Pontificia Universidad Javeriana, 25-52. <http://www.sonencapital.com/wp2015/wp-content/uploads/2016/06/16WIP.pdf>
- Storey, R., & Walker, R.R. (1999). Citrus and salinity. *Scientia Horticulturae* 78, pp. 39-81.
- Syvertsen, J.P., & Garcia-Sanchez, F. (2014). Multiple abiotic stresses occurring with salinity stress in citrus. *Environmental and Experimental Botany*, 103, 128-137, ISSN 0098-8472. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.09.015>.
- Trabelsi, L., Gargouri, K., Ghrab, M., Mbadra, C., Hassena, A. B., Ncube, B., Soua, N., Maktouf, S., Khlifi, M., Van Staden, J., & Gargouri, R. (2024). The effect of drought and saline water on the nutritional behaviour of the olive tree (*Olea europaea* L.) in an arid climate. *South African Journal of Botany*, 165, 126-135. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.11.047>
- Vélez, J.E, Álvarez-Herrera J.G., & Alvarado-Sanabria, O.H. (2012) El Estrés Hídrico en Cítricos (*Citrus* spp.): Una revisión 2012 *Revista Orinoquia* 16(2):32 DOI: 10.22579/20112629.245

- Vicente-Serrano, S.M., Tomás-Burguera, M., Beguería, S., Reig-Gracia, F., Latorre, B., Peña-Gallardo, M., Luna, Y., Morata, A., & González-Hidalgo, J.C. (2017) A High Resolution Dataset of Drought Indices for Spain. *Data*, 2 (3): 22. <https://doi.org/10.3390/data2030022>
- Wang, S., & Wang, Y. (2022). Harnessing hormone gibberellin knowledge for plant height regulation. *Plant Cell Reports*, 41(10), 1945–1953. doi: [10.1007/s00299-022-02904-8](https://doi.org/10.1007/s00299-022-02904-8)
- Watson, M.E., & Galliher, T.L. (2006). Comparison of Dumas and Kjeldahl methods with automatic analyzers on agricultural samples under routine rapid analysis conditions. *Communications in Soil Science Plant Analysis*, 32, 2007–2019. <https://doi.org/10.1081/CSS-120000265>
- World Population Prospects (2024). Department of Economic and Social Affairs. Population Division. United Nations. <https://population.un.org/wpp/graphs?loc=900&type=Demographic%20Profiles&category=Line%20Charts>
- Yang, B., Fu, P., Lu, J., Ma, F., Sun, X., & Fang, Y. (2022). Regulated deficit irrigation: an effective way to solve the shortage of agricultural water for horticulture. *Stress Biology*, 25, 2(1), 28. doi: 10.1007/s44154-022-00050-5. PMID: 37676363; PMCID: PMC10441918.

Esta hoja en blanco es la contraportada, por lo que no lleva encabezado (hay un cambio de sección).