

Capítol 6

6. Are phenolic compounds released from *Cistus albidus* responsible for changes in N cycling at siliceous and calcareous soils?

E. CASTELLS ¹, J. PEÑUELAS ¹, D. W. VALENTINE ²

¹ Unitat d'Ecofisiologia CSIC-CREAF, Centre de Recerca Ecològica i Aplicacions Forestals (CREAF), Facultat de Ciències, Universitat Autònoma, Bellaterra 08193 (Barcelona), Spain

² Department of Forest Science, University of Alaska Fairbanks, Fairbanks AK 99775-7200, USA

(Sotmès a publicació)

6.1. Abstract

In a previous work we studied how the presence of the Mediterranean shrub *Cistus albidus* and its foliage leachates changed soil microbial activity and net N mineralization rates in granite, schist and calcareous soils. We found that both plant presence and leachate addition increased soil respiration and decreased N mineralization in siliceous soils when soil microorganisms used released C compounds substrate. Calcareous soils were not sensitive to plant presence effects. Leachate addition partially explained the changes in N cycling under *C. albidus*. In the present study we aimed to answer what gross N transformation processes were affected in association with *C. albidus*, and whether those effects were caused by phenolic compounds presence in leachates.

Soils sampled under *C. albidus* and soils amended with *C. albidus* leachates had higher ammonium immobilization and lower gross nitrification compared to control soils. These effects were stronger in granite soil than in calcareous soil. Gross N mineralization increased under *C. albidus* and decreased in soils amended with leachates. In order to determine what type of compounds were causing these effects, we separated the *C. albidus* leachates into a phenolic and a non-phenolic fraction. Although gross N transformation rates were different among soils, they had similar responses to non-phenolic fraction of leachates and leachate addition. Non-phenolic compounds decreased gross nitrification and increased ammonium immobilization, and phenolic compounds decreased gross N mineralization. We conclude that non-phenolic fraction of leachates released from leaves, probably carbohydrates, can contribute to the plant presence effect found in soils sampled under *C. albidus*. These results also suggest that although phenolic compounds released in the leachates changed N cycling by decreasing gross N mineralization, they do not seem to be the main cause of plant presence effects on N cycling.

6.2. Introduction

Phenolic compounds may play a dominant role in controlling many aspects of plant-soil interactions, including regulation of nutrient cycling and organic matter dynamics and alteration of soil nutrient availability by either increasing or decreasing microbial activity (Kuiters, 1990; Northup *et al.*, 1998; Schimel *et al.*, 1995). Plants can change soil underneath them by litter release and also by leaching soluble carbon compounds from green leaves and decomposing litter. Phenolic compounds are expected to decrease soil N availability (i) by forming complexes with proteins, thus delaying organic matter decomposition and mineralization (Hättenschwiler and Vitousek, 2000; Horner *et al.*, 1988; Nicolai, 1988; Palm and Sanchez, 1990), (ii) by increasing microbial activity and N immobilization (Blum, 1998; Blum and Shafer, 1988; Schimel *et al.* 1995; Shafer and Blum, 1991; Sparling *et al.*, 1981; Sugai and Schimel, 1993) and (iii) by inhibiting fungal respiration (Bouffalis and Pellissier, 1994) and nitrification (Baldwin *et al.*, 1983; Rice, 1984). Within a species, the chemical and physical variables from the soil where plants are growing, such as clay content, pH and nutrient status, can play an important role in the fate of phenolic compounds including their activity, retention in the soil system and degradation. Thus, under a high pH, carbonate content and clay content, phenolic compounds tend to bind organic N compounds making becoming less reactive and less degradable (Appel, 1993; Claus and Filip, 1990; Oades, 1988; see also Chapter 5).

Because the overall effects of phenolic compounds on N cycling are a decrease in net N mineralization, either by decreasing gross mineralization or nitrification, or by increasing immobilization, the use of ^{15}N pool dilution techniques for estimating gross N transformation rates is adequate to elucidate what processes are being affected (Hart *et al.*, 1994). We found only one study (Bradley *et al.*, 2000) analyzing the effects of phenolic compounds on the gross N transformation rates. Unraveling the specific changes of phenolic compounds on N cycling is necessary in order to determine whether their presence and concentrations have a relevant role in plant-soil interactions. For instance, decreases in gross N mineralization due to phenolic compounds are suggested to enhance N conservation in those soils with N limitations (Northup *et al.*, 1995).

We previously studied the effects on N cycling of the Mediterranean shrub *Cistus albidus* in three soils differentiated by pH, organic matter content and texture (granodioritic – granitic from now one for the sake of simplicity-, schistic and calcareous-derived soils) (Chapter 5). This species releases high concentrations of phenolic compounds from green

leaves and decomposing litter. We found that both plant presence and leachate addition increased soil respiration and decreased net N mineralization in siliceous soils (granite and schist), while no significant response was found for calcareous soils. We suggested that C compounds released from *C. albidus*, including compounds present in leaf leachates, were used as a C substrate by soil microorganisms. Since other C compounds besides phenolic compounds, such as carbohydrates, can be found in plant leachates increasing N immobilization (Michelsen *et al.*, 1995), it was not certain from our results whether phenolic compounds caused the changes in N cycling. We here aimed to determine the effects of *C. albidus* presence and leachate addition on gross N transformation rates (including ammonification, nitrification and immobilization) of granite, schist and calcareous soils, and to solve whether changes in N cycling were caused by soluble phenolic compounds present in *C. albidus* leachates or not.

6.3. Materials and methods

Sites and plant description

The study sites were located in Capafons (Prades Mountains, SW of Barcelona, Spain) where different lithologies converge. The mean annual precipitation of this region is about 614 mm and the mean annual temperature is 13.9 °C. We selected three different lithologies (granitic, schistic and calcareous-derived soils) that differ in their physical and chemical properties (Table 14). In brief, siliceous soils (granite and schist) had lower pH, electric conductivity and carbonate content compared to calcareous soil. Organic matter, organic N, P and K were also lower in siliceous soils. There was a decreasing presence of sands and an increasing presence of clays from granite to calcareous soils, with schist soils having intermediate texture properties. To minimize differences in temperature and precipitation, all sites were established within 600 m of one another at same elevation (ca 800 m) on a S or SW aspects. More information about the sites and soil properties is provided in Chapter 5. *Cistus albidus* was selected for this study because this species can be found in both siliceous and calcareous soils and preliminary analyses showed that releases high concentrations of phenolic compounds from green leaves and litter.

	GRANODIORITE	SCHIST	CALCAREOUS
pH	7.15	6.3	7.8
Electrical conductivity (dS m ⁻¹)	0.06	0.12	0.28
CaCO ₃ (%)	1	1	5
Organic matter (%)	1.4	2.5	10.2
Organic N (%) (Kjeldahl)	0.1	0.04	0.39
Phosphorus [P] (ppm) (Olsen)	3	6	8
Potassium [K ⁺] (ppm)	87	398	273
Sand (% of fine earth)	93.8	58.3	36.9
Silt (% of fine earth)	3.95	31.8	38.9
Clay (% of fine earth)	2.25	9.9	24.2
USDA classification	Sand	Sandy loam	Loam

Table 14. Physical and chemical properties of substrates selected for this study.

Soil sampling

Four sites were located during July 2000 within each type of soil at ca 20 m distance of each one. In each site, we selected five *C. albidus* plants that formed independent units and five nearby control plots. Control plots were located close to each selected *C. albidus* plant, just beside it or slightly upper in the slope in order to avoid the effect of green leaves or litter leachates released by rainfall. Under-plant soil samples were taken just under *C. albidus*, where litter was present, preferentially in the lower side of the slope. Plant biomass per unit of soil area was homogeneous among soils (Chapter 5). Soils were sampled at 15 cm depth using a 5 cm diameter core. Two cores, one in bare soil and one underneath *C. albidus* were sampled in each plot (10 samples in total) and bulked together within site. Soils were carried to the laboratory, sieved with a 2 mm mesh and kept at 4 °C until the experiments started.

Leachates preparation

A *C. albidus* leachate was obtained by shaking fresh green leaves (25 g of equivalent DM), collected at schist-derived soil, in 1 L of distilled water for 24 h at room temperature (Zackrisson and Nilsson, 1992). Resulting leachate was filtered through a filter paper Whatman 42 and analyzed for total phenolic compounds and condensed tannins. Total phenolic compound concentrations were determined by Folin-Ciocalteu method improved by using a blank of polyvinylpyrrolidone (PVPP) (Marigo, 1973). PVPP removes phenolic substances from the solution and avoids an overestimation of total phenolics due to non-phenolics Folin-Ciocalteu reactive substances. Gallic acid was used as a standard. Condensed

tannins were analyzed by proanthocyanidin method (Waterman and Mole, 1994) and cyanidine choride was used as a standard.

Leachate fractionation

Lechates from *C. albidus* green leaves were fractionated into a phenolic and a non-phenolic fraction by reversed-phase extraction using C18 Extra-sep column (Lida Manufacturing Corp, USA). Phenolic compounds are retained by a C18 polar matrix while more polar compounds such as carbohydrates are not. After conditioning the columns with methanol, a filtered leachate was passed through the column and polar substances were collected for posterior experiments (non-phenolic fraction). Leachates, non-phenolic fraction and a blank of distilled water, which was performed by passing distilled water prior to the addition of the leachates into the column, were kept at 4 °C and used the following day to amend soils in the experiments 2 and 3 (see below). Retained phenolic compounds were released by washing off the sorbent bed with methanol. Leachates, non-phenolic fraction and phenolic compounds were analyzed for total phenolics (see method above) in order to check that all phenolic compounds present in leachates were retained in the C18 column. Dissolved organic carbon (DOC) was analyzed in leachates and non-phenolic fraction using a Shimadzu TOC-5000 analyzer.

EXPERIMENT 1

Gross rates of N mineralization, NH_4^+ consumption, gross nitrification and NO_3^- consumption were determined by ^{15}N isotope dilution (Hart *et al.*, 1994) in soils sampled under *C. albidus* and at control sites at granite, schist and calcareous soils, and amended with *C. albidus* leachate or distilled water (control). A solution containing 3.5 mL of leachate or distilled water and 1.5 mL of $^{15}\text{NH}_4^+$ or $^{15}\text{NO}_3^-$ (containing 0.05 mg ^{15}N 99 atom %) was added to 40 g of soil placed in plastic cups. Additional distilled water was added to the soils until field capacity, which was measured from a soil subsample using a modified procedure from Tan (1996). The sample was injected using a 1.5 mL syringe (10-12 injections in total) in two different jars for every sample and treatment. One jar was homogenized during 3 min, and 15 g of soil were immediately extracted for 1 h with 75 mL of 2 M KCl in order to have initial inorganic N concentrations and ^{15}N recovery. The other jar was incubated at room temperature and extracted after ca 24 h. Incubation time was recorded. Initial and final KCl extracts were

analyzed for ammonium and nitrate concentrations by an auto-analyzer (Flow Injection Analyzes, FOSS, Höganäs, Sweden). Inorganic N was transferred from the KCl extracts to cut filter papers Whatman 5, which were analyzed for ^{15}N atom % in a isotope ratio mass spectrometer (20-20 PDZ Europa, Cheshire, UK). Gross N transformation rates were calculated from changes in inorganic N concentrations and changes in ^{15}N atom % during the incubation following Kirkham and Bartholomew (1954). Gross N mineralization rates (m) and NH_4^+ consumption (C_A) were calculated by the equations:

$$m = \frac{[\text{NH}_4^+]_0 - [\text{NH}_4^+]_t}{t} * \frac{\log(\text{APE}_0 / \text{APE}_t)}{\log([\text{NH}_4^+]_0 / [\text{NH}_4^+]_t)}$$

$$C_A = m - \frac{[\text{NH}_4^+]_t - [\text{NH}_4^+]_0}{t}$$

where, m = gross N mineralization rate ($\mu\text{g N g}^{-1}\text{DM day}^{-1}$)

C_A = NH_4^+ consumption rate ($\mu\text{g N g}^{-1}\text{DM day}^{-1}$)

t = time (days)

$[\text{NH}_4^+]_0$ = total NH_4^+ concentration ($\mu\text{g g}^{-1}\text{DM}$) at time-0

$[\text{NH}_4^+]_t$ = total NH_4^+ concentration ($\mu\text{g g}^{-1}\text{DM}$) at time-t

APE_0 = atom % ^{15}N excess of NH_4^+ pool at time-0

APE_t = atom % ^{15}N excess of NH_4^+ pool at time-t

where, APE = (the atom % ^{15}N enrichment of a N pool enriched with ^{15}N) – (the atom % ^{15}N enrichment of that pool prior to ^{15}N addition, i.e. the background enrichment)

We assumed the background ^{15}N enrichments to be 0.37% atom % ^{15}N (Hart *et al.*, 1994). Gross N nitrification rates and NO_3^- consumption were calculated substituting NO_3^- concentrations and atom % ^{15}N enrichments in the above equations, respectively. We calculated gross N immobilization by subtracting gross N nitrification from ammonium consumption. Nitrate consumption was assumed to be caused by nitrate immobilization. Rates were expressed per unit of organic matter.

EXPERIMENT 2

We estimated net N mineralization and soil respiration of control site soils (not associated with *C. albidus*) sampled at granite, schist and calcareous soils, and amended with distilled water (control), *C. albidus* leachate and non-phenolic fraction of leachate. Soils from different sites were bulked together within soil type in order to have homogeneous samples. Three replicates of soil (30 g FW) were placed in glass jars provided with a septum that allowed taking air samples. Soils were amended with 3.6 mL of distilled water, leachate and non-phenolic fraction of leachate, and incubated at 25 °C. Additional distilled water was added to the soils until field capacity when necessary. A soil subsample (15 g FW) was extracted with 75 mL 2M KCl for 1 h and analyzed for initial ammonium and nitrate using an auto-analyzer (Flow Injection Analyzes, FOSS, Höganäs, Sweden). C mineralization was estimated by analyzing soil CO₂ accumulated in jars during 4 to 7 days by a gas chromatograph provided with a Poropak QS column and a thermal conductivity detector (Hewlett Packard 5890 Series II). After measures, jars were opened and ventilated in order to reestablish ambient CO₂ concentrations, and distilled water was added to maintain field capacity when necessary. After 28 days, soils were analyzed for final ammonium and nitrate concentrations. Net N mineralization rates were calculated subtracting initial concentrations from final concentrations, and they were expressed per unit of organic carbon. C mineralization was calculated from the total CO₂ produced along the incubation.

EXPERIMENT 3

Gross rates of N mineralization, NH₄⁺ consumption, gross nitrification and NO₃⁻ consumption were determined by ¹⁵N isotope dilution (Hart *et al.*, 1994) in soils sampled at granite soil and not associated with *C. albidus*. Soils from the four selected sites were bulked together in order to obtain a homogeneous sample, and they were incubated with distilled water (control), *C. albidus* leachate and non-phenolic fraction of leachate following the methodology explained in Experiment 1.

Statistical analyses

A two-way ANOVA (experiment 1), two-way repeated measures ANOVA (experiment 2) or one-way ANOVA (experiment 3) were conducted using Tukey HSD test for post-hoc

comparisons (see table legends for more details). No transformations were needed in order to fit a normal distribution when not indicated. Analyses were performed using Statistica 99 (Statsoft, Inc; Tulsa, USA).

6.4. Results

Leachate fractions analyses

Leachates had 329.6 mg L⁻¹ of total phenolic compounds, 67.2 mg L⁻¹ of condensed tannins and 1190.5 mg L⁻¹ of DOC. Retention of phenolic compounds by C18 Extra-sep column was ca 92 %. Phenolic compound fraction represented a 46 % of the total DOC present in the leachates.

	Gross N mineralization		Gross N nitrification		NH ₄ ⁺ immobilization		NO ₃ ⁻ immobilization	
	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
a)								
SOIL	43.94	<0.001	76.44	<0.001	25.26	<0.001	6.41	0.06
TREATMENT	5.72	0.009	16.85	<0.001	9.01	<0.001	4.66	0.02
SOIL x TREATMENT	1.67	0.27	4.15	0.06	1.6	0.06	2.28	0.16
CONTROL – PLANT		0.14		<0.001		0.001		0.87
CONTROL – LEACHATE		0.35		0.001		0.008		0.028
PLANT - LEACHATE		0.006		0.41		0.76		0.08
b)								
TREATMENT	3.90	0.06	3.13	0.09	9.69	0.009	10.21	0.006
CONTROL – LEACHATE		0.07		0.23		0.018		0.005
CONTROL – NON PHENOLICS		0.8		0.09		0.009		0.14
LEACHATE – NON PHENOLICS		0.14		0.76		0.8		0.07

Table 15. a) Statistical analyses for the effects of *C. albidus* presence and *C. albidus* leachate addition (TREATMENT) on gross N transformation processes at granite, schist and calcareous substrates (SOIL). A two-way ANOVA was conducted. Nitrate immobilization values were log transformed in order to meet normality requirements. (n = 4). b) T-test for the effects of *C. albidus* leachates and non-phenolic fraction of *C. albidus* leachates (TREATMENT) on gross N transformation processes in granite substrate. (n = 4). Post-hoc comparisons for TREATMENT were conducted in both statistical analyses using a Tukey HSD test. p<0.05 are highlighted in bold.

Gross N transformation rates among granite, schist and calcareous soils

Gross N transformation rates changed depending on the type of soil (Fig. 27, Table 15a). For control treatment, granite soil had 40.6 % higher gross N mineralization rates and 79.2 % higher gross nitrification rates than calcareous soil. Schist soil had an intermediate situation,

with gross mineralization rates similar to calcareous but gross nitrification rates similar to granite soil. Finally, ammonium and nitrate immobilization rates were similar among soils. When looking at the relative rates (proportional to their inputs), ammonium immobilization rates *versus* N mineralized were 64.7 % and 53.4 % lower, and gross nitrification rates *versus* N mineralized were 59.3 % and 55.6 % higher in granite and schist soils respectively than in calcareous soil (Fig. 28). No significant differences for nitrate immobilization *versus* ammonium nitrified were found among soils, probably because of large variability in calcareous soil.

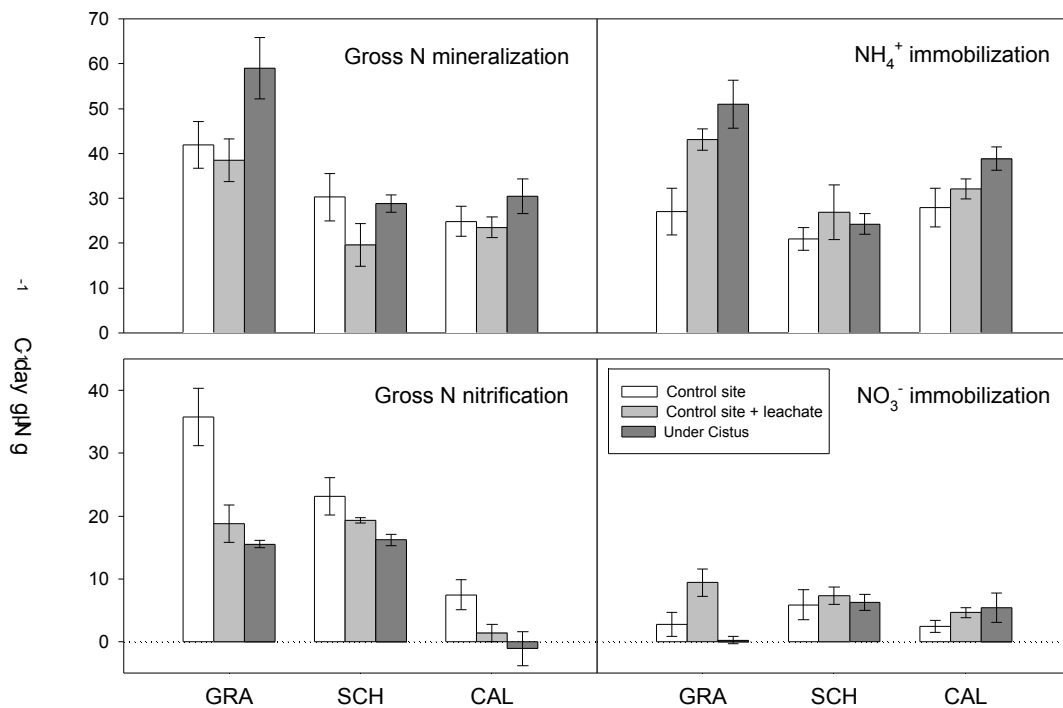


Figure 27. Gross N mineralization, gross N nitrification, ammonium immobilization and nitrate immobilization for soils sampled under *C. albidus* and in nearby control sites at granite (GRA), schist (SCH) and calcareous (CAL) soils, and amended with leachate or distilled water. Values represent means and SE (n = 4). Statistical analyses are shown in Table 15a.

Effects of C. albidus presence and leachate addition on gross N transformation rates

Gross N mineralization, gross N nitrification, ammonium immobilization and nitrate immobilization rates changed depending on the treatment conducted (Fig. 27, Table 15a). In average, gross N mineralization rates were 21.9 % higher in soils sampled under *C. albidus* and 15.8 % lower in control soils amended with leachate than in control soils amended with distilled water. No interaction was found between soil type and treatment. Plant presence and

leachate addition had similar effects on gross N nitrification rates, with a decrease of 53.8 % and 40.5 % in average for all soils. These effects were stronger in granite. Ammonium immobilization was also affected similarly by plant presence and leachate addition. Average rates for all soils in soils sampled under *C. albidus* and in soils amended with leachate were respectively 50.1 % and 41.3 % higher than in control soils. The significant interaction between soil and treatment was due to a stronger increase in granite soil. Finally, nitrate immobilization rates increased in average 7.8 % under *C. albidus* and 92.4 % in soils amended with leachate, and those effects were similar for all soils.

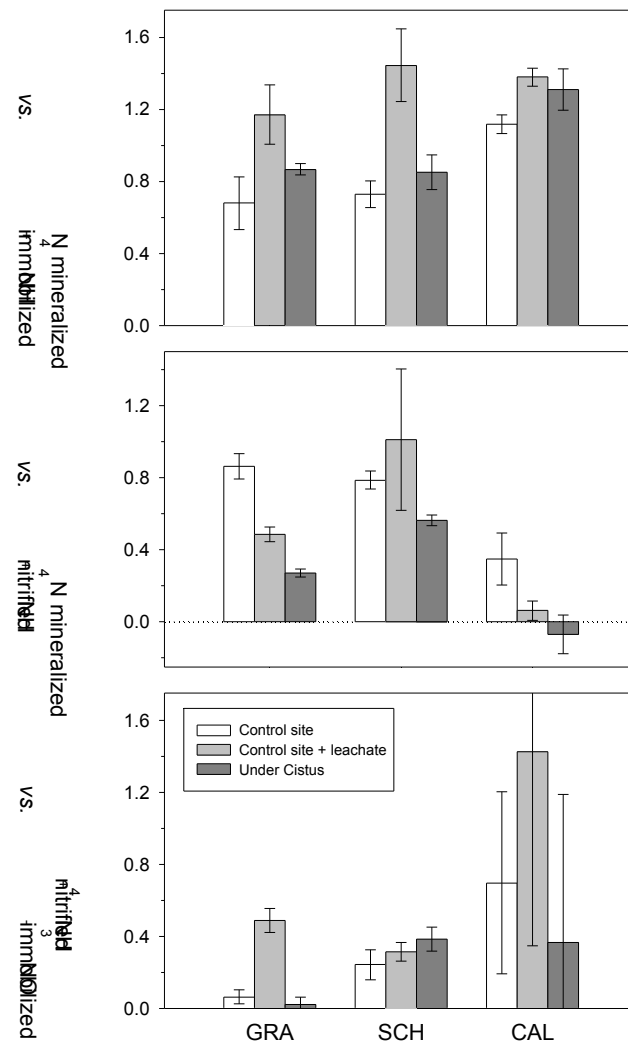


Figure 28. Relative values of gross N nitrification, ammonium immobilization and nitrate immobilization for soils sampled under *C. albidus* and in nearby control sites from granite (GRA), schist (SCH) and calcareous (CAL) soils, and amended with leachate or distilled water. Values represent means and SE (n = 4).

Ammonium nitrification and immobilization rates expressed proportionally to their inputs had qualitatively similar trends compared to full rates. Thus, soils sampled under *C. albidus* or amended with leachate decreased significantly ammonium nitrification and increased ammonium immobilization. However, no changes were found for proportional rates of nitrate immobilization for any treatment or soil type (Fig. 28).

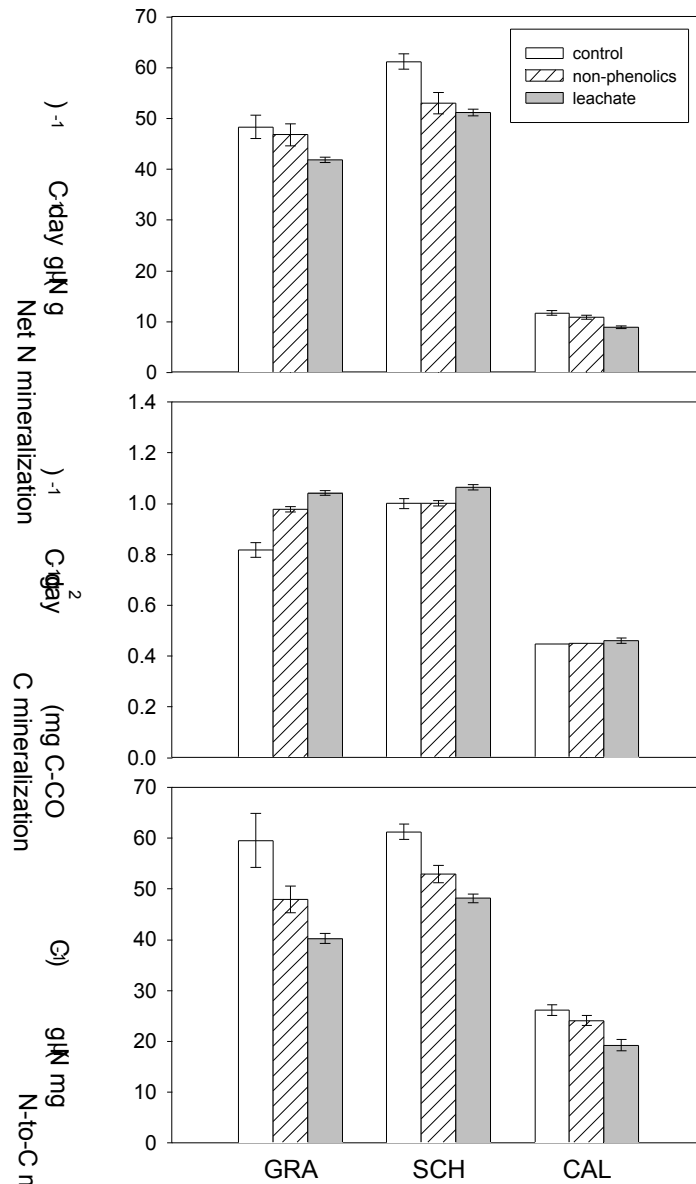


Figure 29. Net N mineralization rates of granite (GRA), schist (SCH) and calcareous (CAL) soils amended with distilled water (control), non-phenolic fraction of *C. albidus* leachates, and *C. albidus* leachates. Values represent means and SE (n = 3). Statistical analyses are shown in Table 16.

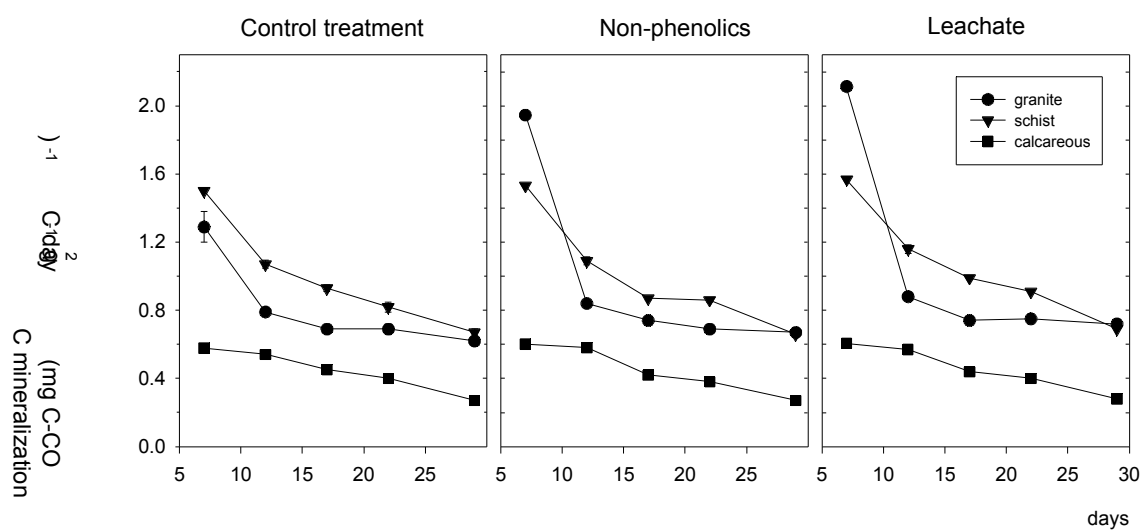


Figure 30. Soil respiration along a 4-week incubation of granite, schist and calcareous soils amended with distilled water (control), non-phenolic fraction of *C. albidus* leachates, and *C. albidus* leachates. Values represent means and SE (n = 3). Statistical analyses are shown in Table 16.

	Net N mineralization		C mineralization		N-to-C mineralization	
	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
SOIL	825.93	<0.001	1191.6	<0.001	144.86	<0.001
TREATMENT	15.44	<0.001	32.18	<0.001	23.25	<0.001
TIME	-	-	2469	<0.001	-	-
SOIL x TREATMENT	2.67	0.065	15.74	<0.001	1.96	0.14
SOIL x TIME	-	-	366.13	<0.001	-	-
TREATMENT x TIME	-	-	38.49	<0.001	-	-
SOIL x TREAT x TIME	-	-	33.61	<0.001	-	-
CONTROL - LEACHATE		<0.001		<0.001		<0.001
CONTROL - NON PHENOLICS		0.018		<0.001		0.002
LEACHATE - NON PHENOLICS		0.055		<0.001		0.02

Table 16. Statistical analyses for Net N mineralization, CO₂ production (C mineralization) and ratio between N mineralization and CO₂ production (C mineralization) in granite, schist and calcareous substrates (SOIL) amended with distilled water, *C. albidus* leachate or non-phenolic fraction of *C. albidus* leachate (TREATMENT). A two-way ANOVA was conducted for net N mineralization and N-to-C mineralization ratio. A Repeated measures ANOVA (TIME) was conducted for C mineralization. Post-hoc comparisons for TREATMENT were done using a Tukey HSD test (n = 3). p<0.05 are highlighted in bold.

Net N mineralization rates were lower in calcareous soils than in control soils from granite and schist. Both leachate and leachate non-phenolic fraction addition decreased net N mineralization in all soils, although decreases were stronger in the leachate fraction (Fig. 29, Table 16). C mineralization rates were also lower in calcareous soil, but the treatments conducted had opposite effects compared to net N mineralization, since CO₂ production increased in soils amended with leachate and leachate non-phenolic fraction (Fig. 29, Table 16). These effects were stronger at the beginning of the incubation (Fig. 30). N-to-C mineralization, which is an index of the relatively C or N limitation in soil, was lower in calcareous soils. The additions of leachate and leachate non-phenolic fraction decreased it similarly in all soils since no interaction between treatment and soil type was found (Fig. 29, Table 16).

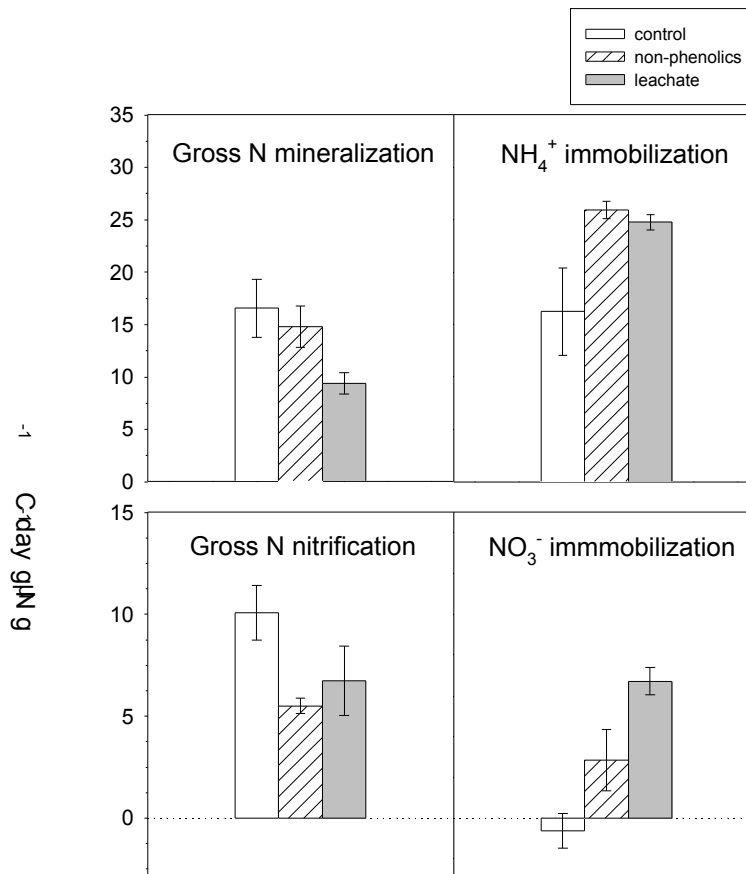


Figure 31. Gross N transformation processes of granite soils amended with distilled water (control), non-phenolic fraction of *C. albidus* leachates, and *C. albidus* leachates. Values represent means and SE (n = 4). Statistical analyses are shown in Table 15b.

Effects of leachate and leachate non-phenolic fraction amendments on gross N transformation rates

Granite soils amended with leachate or leachate non-phenolic fraction changed their N transformation rates (Fig. 31, Table 15b). Gross N mineralization decreased 1.7 and 7.1 $\mu\text{g N g}^{-1}\text{C day}^{-1}$ when adding leachate non-phenolic fraction or leachate respectively, gross nitrification decreased a 4.5 and 3.3 $\mu\text{g N g}^{-1}\text{C day}^{-1}$, ammonium immobilization increased 9.7 and 8.5 $\mu\text{g N g}^{-1}\text{C day}^{-1}$, and nitrate immobilization increased 3.4 and 7.3 $\mu\text{g N g}^{-1}\text{C day}^{-1}$. Post-hoc comparisons showed that addition of leachate and leachate non-phenolic fraction had similar effects on gross N nitrification and ammonium immobilization (Table 15b).

6.5. Discussion

Gross N transformation rates in granite, schist and calcareous soils

Calcareous soils have been found to have higher organic C, organic N and C/N ratio, and lower net N mineralization, soil respiration and N-to-C mineralization compared to granite and schist soils (Chapter 5). In the present study we have found that lower net N mineralization rates in calcareous soil were due to lower gross N mineralization and nitrification, and higher ammonium and nitrate immobilization rates than granite soils. Schist soil, with intermediate chemical and physical characteristics between calcareous and granite, had similar responses to calcareous soil in gross mineralization and similar responses to granite soil in gross nitrification. Differences in gross N mineralization, and thus decomposition, could be caused by soil texture, since the higher clay content in calcareous (loam texture) could lead to a higher physical protection of organic matter in soil and thus slower decomposition compared to granite (sand texture) (Hassink, 1994; Oades, 1988). Schist soils (sandy-loam texture), showed gross N mineralization rates similar to calcareous soils. On another hand, there were differences in the partition of ammonium to immobilization or nitrification among soils. In granite and schist soils an 80 % of present ammonium was destined to nitrification whereas this percentage decreased up to 40 % in calcareous soils. When C content in soil is much higher than N content, and thus soil is more N-limited, nitrification is expected to be lower at the same time that N immobilization is enhanced (Stevenson, 1986). This could be the case of some calcareous soils.

Effects of leachate fractions on net N and C mineralization

We amended granite, schist and calcareous soils with leachates and leachates non-phenolic fraction in order to answer whether phenolic compounds present in leachates affected N cycling. As expected from previous results (Chapter 5), addition of leachates decreased net N mineralization and increased soil respiration compared to the control treatment. Non-phenolic fraction of leachates had also the same trends than leachates, but the effects were weaker especially in granite and calcareous soils. Thus, although non-phenolic fraction decreased net N mineralization, this effect was not strong enough to explain leachate additions. Both leachate phenolic and non-phenolic fraction of leachates are likely to affect N cycling in some extent.

Changes on ammonium immobilization and nitrification

C. albidus presence and leachate addition caused a decrease in gross N nitrification and an increase of ammonium immobilization, and this changes were stronger in granitic than in schistic or calcareous soils. Since both processes share the same substrate (ammonium), a question arises: was the decrease in nitrification consequence of an increase of ammonium immobilization, or otherwise nitrification was inhibited through toxic effects on nitrifiers, and then immobilization increased because more ammonium was available? The competition between ammonifying bacteria and ammonium-oxidizing bacteria (nitrifiers) has been studied to explain decreases in nitrification along succession (Stienstra *et al.*, 1994). In similar conditions of moisture, temperature, and soil chemical and physical properties, ammonium immobilization can increase due to C compounds released from canopy when microbes used them as a substrate (Blum, 1998; Blum and Shafer, 1988; Schimel *et al.* 1995; Shafer and Blum, 1991; Sparling *et al.*, 1981; Sugai and Schimel, 1993), and/or by a chemical immobilization by binding organic matter, including phenolic compounds (Nommik and Vahtras, 1982). On the other hand, nitrification may be inhibited by toxic effects of tannins on the soil biota (Baldwin *et al.*, 1983; Rice, 1984). Increases in immobilization and decreases in nitrification seem highly dependent on the chemical properties of the compounds affecting these processes. Thus, labile C compounds, such as carbohydrates and phenolic acids, were related to increases in immobilization (Schimel *et al.*, 1995; Schmidt *et al.*, 1997; Sugai and Schimel, 1993) while more recalcitrant compounds, such as condensed tannins, were related to decreases in nitrification (Baldwin *et al.*, 1983). The fractionation of C compounds present in

C. albidus leachates can help distinguishing both effects. Since *C. albidus* leachates and non-phenolic fraction of leachates increased gross nitrification and ammonium immobilization similarly, phenolic compounds present in leachates did clearly not affect any of those processes, and they were caused by the non-phenolic fraction of leachates that includes very polar compounds, probably carbohydrates. Our results suggest, then, that decreases in nitrification were directly caused by decreases in available ammonium when microbes used labile C compounds as a substrate. The same result was found by Stienstra *et al.* (1994). A limited ammonium supply can raise competition between microorganisms, and ammonium-oxidizing bacteria are generally bad competitors (Riha *et al.*, 1986). Because changes caused by *C. albidus* presence and leachate addition were similar in gross nitrification and ammonium immobilization, it is likely that leachate effects could be partially responsible for the plant presence effect.

Changes on gross N mineralization

C. albidus canopy and leachate addition had opposite effects on gross N mineralization. Thus, while soils sampled under *C. albidus* showed a higher gross N mineralization the leachate amendment decreased it. An increase in gross N mineralization was also found in soils under other phenolic compound bearing species (*Ledum palustre*: Chapter 4; *Kalmia angustifolia*: Bradley *et al.*, 1997a). Increases in gross N mineralization are expected to be coupled with the use of C compounds as a substrate by microbes since C additions are expected to increase microbial biomass and N turnover (Bradley *et al.*, 1997b; Clein and Schimel, 1995). Although microbial biomass was not measured in our experiment, the increases in C mineralization under *C. albidus* soils suggest that this process was probably present. However, when the soils were amended with leachate gross N mineralization showed a slightly decrease, which turned to be significant when considering only the phenolic compound fraction of leachates. Condensed tannins present in *C. albidus* leachates may cause this effect, since high molecular weight phenolic compounds have been shown to slow decomposition and mineralization by forming recalcitrant complexes with organic matter (Hättenschwiler and Vitousek, 2000). Although the latter process can be potentially present in natural conditions when phenolic compounds are released from foliage, presence of other compounds are likely to have stronger effect on gross N mineralization, for instance during decomposition.

Conclusions

Both non-phenolic compounds and phenolic compounds present in the leachates changed N cycling in soils associated with *C. albidus*. Non-phenolic compounds, probably carbohydrates, decreased gross nitrification and increased ammonium immobilization. Those changes seemed the most relevant processes in soil-plant interactions in natural conditions since they were similar to changes related with *C. albidus* presence. Although non-phenolic compounds are not necessarily the main drivers for N cycling changes induced by plant presence, they can certainly produce part of these changes. Changes in N cycling caused by phenolic compounds, which include changes in gross N mineralization and nitrate immobilization, were not strong enough to be found in soils under *C. albidus*. These results showed that phenolic compounds released with leachates were not relevant enough to increase organic N retention in soil, as proposed by some authors (Northup *et al.*, 1995), and that the suggested role of phenolic compounds as an important factor increasing soil N availability are not likely to happen in this plant-soil system.

Acknowledgments

We thank Josep Maria Alcañiz for critically reading the manuscript. We also thank Marc Estiarte for his assistance during the ^{15}N pool dilution experiments and helpful advice in the laboratory. E.C. has a predoctoral fellowship (FPI) from the Ministerio de Educacion y Cultura (Spain) in collaboration with Carburos Metalicos SA. We thank financial support from CICYT grants CLI99-0479 and REN-2000-0278/CLI (Spanish Government), IMPACTE grant (DURSI and DMA, Catalan Government) and Fundació Territori i Paisatge (Catalonia).

**DISCUSSIÓ GENERAL
I CONCLUSIONS**

1. FONTS DE VARIABILITAT EN LA RESPOSTA DELS FENOLS A CONCENTRACIONS ELEVADES DE CO₂

La hipòtesi *Carbon-Nutrient Balance* (CNB) es va formular per predir les concentracions de metabòlits secundaris de base carbònica (fenols i terpens) o de base nitrogenada (alcaloides) per a qualsevol espècie vegetal sota canvis en la disponibilitat de N o C (Bryant *et al.*, 1983). Segons aquesta hipòtesi les plantes sotmeses a concentracions elevades de CO₂ tendeixen a incrementar les concentracions de fenols i altres compostos secundaris de base carbònica com a conseqüència d'una acumulació de C que no pot assignar-se a creixement. Tal com hem vist als capítols 1, 2 i 3 i en els nombrosos estudis recollits a la literatura (veure revisions de Koricheva *et al.*, 1998 i Peñuelas i Estiarte, 1998) aquesta tendència no és general per a tots els casos estudiats i s'han descrit una gran variabilitat de respostes que inclouen increments, disminucions i absència de canvis. Quins factors poden explicar l'alta variabilitat de respostes i per què la hipòtesi CNB no es compleix en tots els casos? A continuació fem un resum de les possibles fonts de variabilitat que poden modificar la resposta dels fenols en condicions d'un increment de disponibilitat de C.

1.1. Variabilitat intraespecífica: no tots els genotips responen igual a les concentracions elevades de CO₂

La variabilitat d'un caràcter (anomenada plasticitat fenotípica) està parcialment sota control genètic i parcialment sota control ambiental, i per tant és un tret heretable que varia entre poblacions i espècies (Scheiner i Lyman, 1989). Hi ha dues maneres d'estimar l'existència de variabilitat genotípica heretable. En primer lloc es pot mesurar l'heretabilitat de la plasticitat fenotípica mitjançant les components d'un anàlisi de la variància (Falconer i Mackay, 1996). L'heretabilitat "broad-sense" (H^2), o sigui aquella que no distingeix els tipus de variabilitat genètica d'un caràcter, ens ofereix una mesura percentual de la importància de la variabilitat genètica respecte la variabilitat fenotípica. La majoria d'estudis, però, opten per realitzar una mesura qualitativa de la variabilitat genètica mitjançant l'anàlisi de les interaccions genotip x CO₂. Una interacció genotip x CO₂ significativa indica que la resposta a l'elevat CO₂ és heretable i que els pendents de les respostes dels genotips (normes de reacció) són significativament no paral·lels (Schmid *et al.*, 1996).

Fenotip: conjunt de caràcters que caracteritzen un organisme

Genotip: conjunt (normalment parcial) de parell d'al·lels que caracteritzen un organisme

Variabilitat fenotípica (F): quantitat de variació en un fenotip. La variabilitat fenotípica és la suma de la variabilitat genotípica (G) i la variabilitat ambiental (A): $F = G + A$

Variabilitat genotípica (G): component de la variabilitat fenotípica determinada genèticament. Inclou diversos efectes genètics: additius, epistàtics i dominants.

Variabilitat ambiental (A): component de la variabilitat fenotípica determinada per l'ambient

Plasticitat fenotípica: variació dels caràcters individuals d'un genotip sotmès a diferents ambients: $G \times A$

Heretabilitat: proporció de la variabilitat fenotípica que està determinada genèticament:

$H^2 = G / F$. Els valors varien de 0 a 1. Un valor proper a 0 significa que la variabilitat fenotípica està bàsicament determinada per l'ambient

Heretabilitat de la plasticitat fenotípica: proporció de la plasticitat fenotípica que està determinada genèticament: $H^2 = G \times A / F$

Taula 17. Termes utilitzats en els estudis de variabilitat genètica en ecologia (Hoffmann i Parsons, 1991; Falconer i Mackay, 1996; Mahner i Kary, 1997; Schmid *et al.*, 1996)

En l'estudi de la variabilitat genètica dels fenols totals de *Bromus erectus* i *Dactylis glomerata* a elevat CO₂ (Capítol 1) hem trobat una H² de la resposta al CO₂ molt baixa (menor del 10 %) i una interacció genotips x CO₂ no significativa. Per tant esperarem que en un ambient d'elevat CO₂ tots els genotips responguin de manera semblant. Fent un repàs de la literatura, però, veiem que hi ha casos on les interaccions genotip x CO₂ són significatives i per tant on la resposta de les concentracions de CBSC a concentracions elevades de CO₂ és variable entre genotips (Taula 18). Una de les possibles causes d'aquesta divergència de resultats és l'elecció de les condicions ambientals en el disseny experimental. L'heretabilitat es mesura en base a la resposta de diversos genotips que han estat replicats i distribuïts experimentalment en diferents ambients. Lògicament és impossible crear de manera experimental una complexitat ambiental similar a la natura i per tant l'estima de l'heretabilitat està forçosament condicionada per les condicions experimentals que escollim (Scheiner i Lyman, 1989), en el nostre cas dues concentracions de CO₂. A més, però, existeix una variabilitat ambiental no controlada que pot fer variar l'heretabilitat augmentant la variància de l'error, com per exemple la disponibilitat de nutrients, d'aigua, llum, etc. No és, per tant, que l'heretabilitat variï en ella mateixa dependent de les condicions ambientals, sinó que varia dependent del disseny experimental utilitzat per estimar-la. Els estudis presentats a la taula 18, malgrat utilitzen concentracions similars de CO₂, divergeixen fortament en la disponibilitat d'altres recursos (Fajer *et al.*, 1992; Goverde *et al.*, 1999; Lindroth *et al.*, 2001; Mansfield *et al.*, 1999). Les diferències en les condicions ambientals a través de canvis en la competència entre espècies també poden influenciar la variabilitat genètica heretable (Steinger *et al.*, 1997). En una comunitat multiespecífica es crea la possibilitat d'una major diversitat ambiental comparada amb cultius sense competència i per tant la proporció de la variabilitat fenotípica explicada per canvis

ambientals pot augmentar alhora que disminueix la proporció determinada genèticament. Aquest podria ser el cas de la manca d'interaccions genotip x CO₂ en *Dactylis glomerata* i *Bromus erectus*, l'únic estudi recollit a la taula 18 on les espècies van créixer en competència per llum, aigua i nutrients. No hi ha, però, suficients estudis en l'actualitat per determinar si la competència pot influenciar l'heretabilitat de la resposta dels CBSC a elevat CO₂.

Espècie	CO ₂ (ppm)	¹ Sòl	² Compe- -tència	nº genotips	Compostos analitzats	³ Genotip x CO ₂	Ref
<i>Plantago lanceolata</i>	350, 700	LN, HN	no	6	Aucubin ^a	ns	(1)
					Catapol ^a	ns	
					Verbascòsid ^b	ns	
					Mitjana CBSC	ns	
<i>Lotus corniculatus</i>	350, 700	HN	no	4	Cianoglicòsids	ns	(2)
					Tanins condensats	< 0.05	
					Fenols totals	< 0.05	
<i>Populus tremuloides</i>	356, 707	LN, HN	no	6	Tanins condensats	< 0.05	(3)
<i>Populus tremuloides</i>	393, 700	LN, HN	no	6	Salicortina ^c	ns	(4)
					Tremulacina ^c	< 0.05	
					Mitjana glicòsids fenòlics	< 0.05	
					Tanins condensats	< 0.05	
<i>Dactylis glomerata</i>	350, 700	LN	sí	10	Fenols totals	ns	(5)
<i>Bromus erectus</i>	350, 700	LN	sí	9	Fenols totals	ns	(5)

^aMonoterpens, ^bglicòsids fenilpropanoics, ^cglicòsids fenòlics

Taula 18. Recull d'estudis realitzats sobre les variacions de CBSC en diversos genotips crescuts a elevat CO₂. ¹LN nivells baixos de nitrogen, HN nivells alts de nitrogen. ²Presència o absència de competència en les condicions de cultiu. ³Nivells de significació de les interaccions genotip x CO₂: ns no significatiu. Referències: (1) Fajer *et al.*, 1992 (2) Goverde *et al.*, 1999 (3) Mansfield *et al.*, 1999 (4) Lindroth *et al.*, 2001 (5) aquesta tesi.

El nombre de genotips estudiats i la manera com aquests genotips s'han seleccionat a partir de la vegetació natural també pot contribuir a la diversitat de resultats. Un nombre baix de genotips pot determinar la subestima de la variabilitat genètica de les poblacions naturals. A més, en el cas que existeixi una interacció genotip x CO₂ significativa no podem extrapolar els resultats obtinguts per uns pocs genotips a nivell de la comunitat, ja que la resposta podria variar des de negativament fins a positivament depenent dels genotips estudiats (Schmid *et al.*, 1996).

1.2. Variabilitat química: no tots els compostos fenòlics responen igual a les concentracions elevades de CO₂

Una altra font de variabilitat en la resposta dels fenols a concentracions elevades de CO₂ en diferents espècies és el fet que no estem considerant la resposta del mateix caràcter. Com que

el metabolisme secundari té una forta base genètica (Berenbaum i Zangerl, 1992; Hamilton *et al.*, 2001) cada espècie està caracteritzada per un conjunt de compostos secundaris que poden respondre de manera diferent enfront les condicions ambientals. Per exemple, Goverde *et al.* (1999) i Lindroth *et al.* (2001) van trobar unes interaccions genotip x CO₂ significatives i no significatives per diferents compostos secundaris de *Lotus corniculatus* i *Populus tremuloides* (taula 18), el qual demostra que l'heretabilitat dels caràcters és altament dependent del tipus de compost estudiat. El mateix raonament és aplicable quan estimem les concentracions de fenols totals en diferents espècies, ja que aquest mètode considera sense distinció una gran diversitat de compostos. Per tant, la resposta dels fenols a concentracions elevades de CO₂ en una espècie dependrà de: 1) els compostos específics que contingui, i 2) la resposta de cada un d'aquest compostos als increments de CO₂ atmosfèric i la seva proporció en el *pool* total de fenols.

La variabilitat en la resposta dels fenols a canvis ambientals també pot provenir de les diferències en la plasticitat fenotípica d'un mateix caràcter, en el nostre cas d'un mateix compost fenòlic. Com que la plasticitat fenotípica es pot considerar com un caràcter heretable, i per tant sota control genètic, les espècies tenen diferents graus d'expressió dels mateixos caràcters en resposta a les mateixes condicions ambientals (Hoffmann i Parsons, 1991). Així doncs, un increment de les concentracions de CO₂ atmosfèric afectarà tan sols aquells caràcters que, depenent del seu rang de plasticitat fenotípica, són sensibles a les noves concentracions de CO₂.

1.3. Variabilitat metodològica: importància de les variacions de biomassa a elevades concentracions de CO₂ a l'hora d'estimar la resposta dels fenols

L'acumulació de carbohidrats no estructurals (TNC) a concentracions elevades de CO₂ pot modificar les concentracions de fenols com a resultat d'un efecte de dilució sense que variï necessàriament la seva producció (Peñuelas i Estiarte, 1998). Aquest efecte es minimitza quan les concentracions s'expressen en unitats de pes sec estructural (SDM) (és a dir, quan restem els TNC de la biomassa) enlloc d'expressar-les en unitats de pes sec (DM). Els nostres resultats del Capítol 1 són un exemple de la importància de tenir en compte l'efecte de dilució dels TNC. Els augments de les concentracions de fenols totals en *D. glomerata* a concentracions elevades de CO₂, els quals van anar acompanyats per augments en les concentracions de TNC, van ser més destacables quan les concentracions es van expressar en

SDM pel conjunt de tots els genotips (Fig. 3). Poorter *et al.* (1997) també van trobar un efecte de dilució dels TNC en un estudi amb 27 espècies, de manera que les concentracions de fenols a elevades concentracions de CO₂ van incrementar de 9 % (DM) a 17 % (SDM). Peñuelas i Estiarte (1998) posen en evidència la necessitat d'expressar les concentracions per unitats de SDM enlloc d'unitats de DM per tal de determinar l'efecte real de les concentracions elevades de CO₂ en les concentracions de CBSC. Diversos autors han anat un pas més enllà considerant no només l'efecte de dilució produït per un increment de TNC sinó també altres efectes derivats de les variacions en la biomassa (Gebauer *et al.*, 1998; Koricheva, 1999; Schulze *et al.*, 1994; Timmer i Armstrong, 1987). Com que les concentracions són una ratio entre el contingut d'un compost i la biomassa de la planta que el produeix, qualsevol factor que faci variar la biomassa pot tenir conseqüències en la concentració sense que el compost hagi variat necessàriament la seva síntesi. Dit d'una altra manera, les variacions en les concentracions d'un compost poden reflectir les diferències en la grandària d'una planta enlloc de les diferències en la producció d'aquest compost. Koricheva (1999) proposa l'anàlisi del contingut dels CBSC respecte les seves concentracions en el que anomena "Graphical Vector Analyses" (GVA) per distingir si un canvi ambiental està determinant canvis en la síntesi de CBSC (Fig. 32). L'efecte del tractament (l'increment del CO₂, en el cas que ens ocupa) s'expressa en el GVA com a un vector que connecta l'estat dels CBSC control (concentracions ambientals de CO₂) amb l'estat dels CBSC després del tractament (concentracions elevades de CO₂). La direcció i magnitud d'aquest vector pot ajudar-nos a interpretar l'efecte real del tractament en la producció de CBSC.

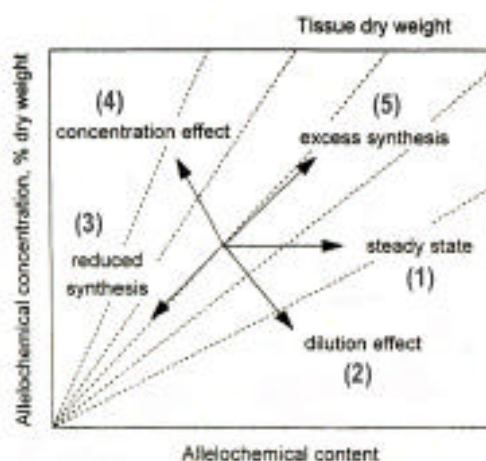


Figura 32. Interpretació de les variacions en les concentracions de CBSC, continguts i biomassa. Les línies diagonals representen la biomassa (Koricheva, 1999). Per una explicació detallada del diagrama veure el text.

Koricheva (1999) proposa 5 possibles tendències (Fig. 32): (1) Estat estacionari (“steady state”), on les concentracions no varien degut a que la biomassa i la síntesi augmenten proporcionalment, (2) Efecte de dilució (“dilution effect”), on l’increment de biomassa supera l’increment de la síntesi i per tant disminueixen les concentracions, (3) Reducció de la síntesi (“reduction synthesis”), on la síntesi es redueix alhora que la biomassa no varia, (4) Efecte de concentració (“concentration effect”), on les concentracions augmenten degut a disminucions en la biomassa i no pas per canvis en la síntesi, i (5) Excés de síntesi (“excess synthesis”), on es donen increments en la concentració degut a que la síntesi augmenta més que la biomassa.

Nosaltres hem volgut comprovar si l’efecte dilució en les concentracions de fenols provocat per l’increment de TNC en *Dactylis glomerata* a concentracions elevades de CO₂, tal com hem vist amb anterioritat, es pot interpretar mitjançant el GVA. La Fig. 33 mostra la representació dels continguts de fenols respecte les concentracions expressats en unitat de DM i de SDM. Podem veure que quan expressem els valors en DM hi ha dos genotips que mostren disminucions de les concentracions de fenols a concentracions elevades de CO₂ malgrat ha augmentat la seva síntesi (contingut). En canvi, quan expressem els valors en SDM, un d’aquests genotips mostra increments en les concentracions mentre que en l’altre desapareixen les disminucions en la concentració. Pel conjunt dels genotips, l’increment de les concentracions com a conseqüència de l’increment de CO₂ és més significatiu quan tenim en compte l’efecte de l’increment dels TNC. A continuació hem volgut esbrinar si la variabilitat en la resposta de concentracions de fenols en les espècies estudiades al Capítol 2 pot ser conseqüència dels canvis relatius entre la biomassa i la síntesi de fenols. En aquest treball no vam tenir l’oportunitat de mesurar els TNC i l’anàlisi de GVA ens pot ajudar a interpretar la gran variabilitat de respostes. A la Fig. 34 hem representat els continguts de fenols respecte les concentracions en 4 espècies de compostes, 4 lleguminoses i 9 gramínies. La diversitat de respostes és molt elevada. En les compostes, els increments de les concentracions podrien estar parcialment determinats per disminucions en la biomassa a concentracions elevades de CO₂ però no per increments en la síntesi de fenols, ja que en dues de les quatre espècies analitzades s’esdevé un efecte de concentració. Per altra banda, la manca d’increment en les concentracions de fenols a elevades concentracions de CO₂ en gramínies podria estar determinat per un efecte dilució en 4 espècies, conseqüència d’un increment en la biomassa proporcionalment més important que l’increment en la producció de fenols.

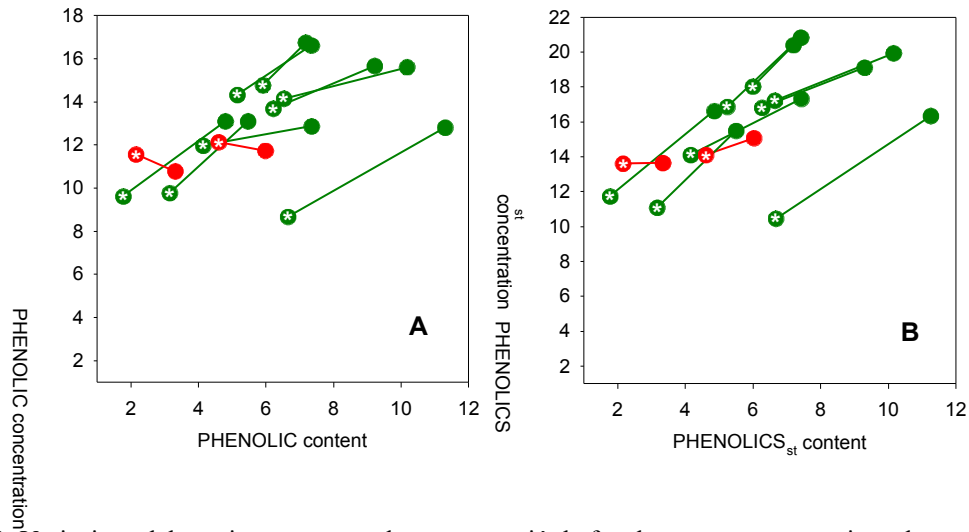


Figura 33. Variacions del contingut respecte la concentració de fenols expressats per unitats de pes sec (A) i pes sec estructural (B) en 10 genotips de *Dactylis glomerata* (veure Capítol 1). Els símbols amb asterisc representen el valor ambiental inicial ($350 \mu\text{mol mol}^{-1}$) i els símbols sense asterisc representen el valor final ($700 \mu\text{mol mol}^{-1}$). Els genotips en **verd** han incrementat la seva síntesi de fenols a concentracions elevades de CO_2 , ja que tan el contingut com la concentració de fenols són majors a $700 \mu\text{mol mol}^{-1}$ (A i B). Quan els fenols s'expressen en base al pes sec estructural (B) els increments de les concentracions de fenols a concentracions elevades de CO_2 són majors (els vectors són més llargs) per la majoria de genotips. Els fenols dels genotips en **vermell**, en canvi, han sofert un efecte dilució com a conseqüència d'un increment de la biomassa superior a l'increment de la síntesi de fenols, el qual queda reflectit en una menor concentració de fenols a concentracions elevades de CO_2 quan els fenols s'expressen en base al pes sec (A). Quan els fenols són expressats en base al pes sec estructural (B) es fa evident que per aquests genotips la síntesi de fenols també ha incrementat a concentracions elevades de CO_2 .

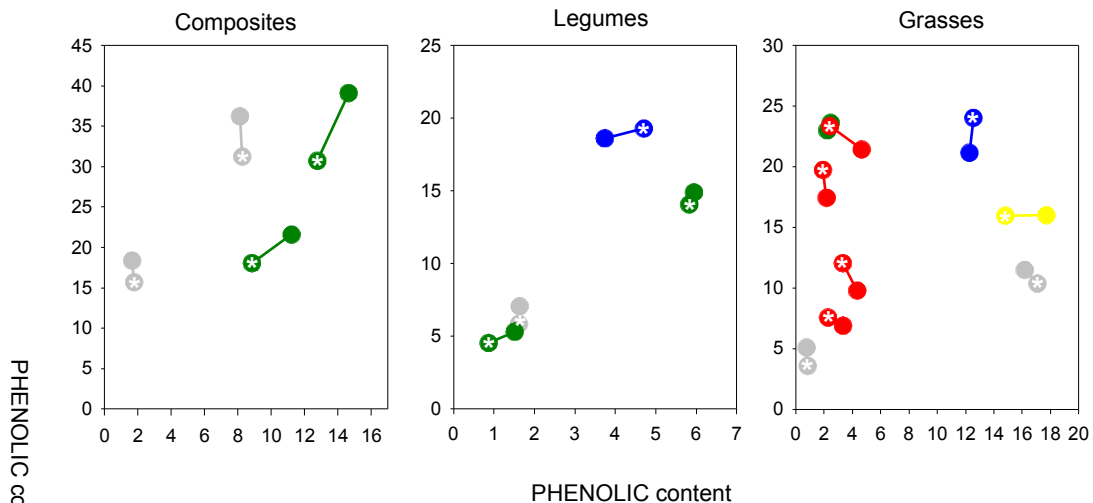


Figura 34. Variacions del contingut de fenols respecte la concentració de fenols en compostes, llegums i gramínies sotmeses a concentracions elevades de CO_2 (veure Capítol 2). Els símbols amb asterisc representen el valor ambiental inicial ($350 \mu\text{mol mol}^{-1}$) i els símbols sense asterisc representen el valor final ($700 \mu\text{mol mol}^{-1}$). Els diferents colors corresponen a les respostes esperades segons Koricheva (1999). En **groc** estat estacionari; en **vermell** efecte de dilució; en **gris** efecte de concentració; en **verd** excés de síntesi; en **blau** reducció de la síntesi.

La diversitat de respostes possibles en el GVA depèn de la participació relativa del C entre creixement i metabolisme secundari en un ambient de concentracions elevades de CO₂. Com que aquesta partició està determinada genèticament i depèn de la història evolutiva de l'espècie (Hamilton et al, 2001), és d'esperar que trobem més variabilitat de respostes entre espècies que no pas entre genotips. Aquesta dependència genètica és observable al comparar les Fig. 33 i 34. Tal com planteja Koricheva (1999), per tal d'entendre els mecanismes dels canvis en les concentracions de CBSC sota increments de CO₂ atmosfèric, caldria reconsiderar la validesa de tots aquells estudis que no han tingut en compte les variacions en la biomassa.

1.4. Variabilitat ambiental: la resposta dels fenols depèn de la disponibilitat de nutrients

La disponibilitat de recursos disponibles pot fer variar la resposta de les plantes a concentracions elevades de CO₂. En termes generals, les plantes no mostren una gran resposta a l'increment de CO₂ atmosfèric quan estan sotmeses a limitacions d'aigua i nutrients (Körner, 2000). En condicions de creixement limitants les taxes fotosintètiques quedaran restringides i això determinarà una manca de resposta de la biomassa. Com que la resposta dels fenols també està condicionada a les taxes fotosintètiques i a la proporció de C/N disponibles, en un ambient amb limitació de nutrients també esperem que la seva resposta sigui menor. De fet, una de les premisses de la hipòtesi CNB és que l'increment de CBSC degut als canvis en la disponibilitat de C i N només tindrà lloc quan la limitació per nutrients sigui moderada (Bryant *et al.*, 1983). En condicions de forta limitació de nutrients s'espera que les taxes fotosintètiques i el creixement estiguin igualment limitats i per tant que no hi hagi C en excés per ser assignat als CBSC. Malgrat el terme "limitació moderada" és extremadament ambigu i depèn de les espècies estudiades, podem argumentar que en molts casos la hipòtesi CNB podria no ser aplicable en plantes crecudes en condicions naturals amb una baixa disponibilitat de nutrients al sòl i condicions de competència que incrementin la limitació dels recursos, com per exemple en l'estudi del Capítol 2.

1.5. Variabilitat temporal: la resposta dels fenols a llarg termini depèn de l'aclimatació de la fotosíntesi a concentracions elevades de CO₂

L'increment en la fixació de C a concentracions elevades de CO₂ a curt termini podria veure's regulada negativament per diversos mecanismes de retroalimentació que acturarien sobre les

taxes de fotosíntesi i creixement a llarg plaç, per exemple a través de l'acumulació de TNC en fulla (Wang i Nobel, 1996). Tal com hem descrit al Capítol 3 mitjançant l'anàlisi de la composició química de plantes crescudes durant generacions vora una font natural de CO₂, hem trobat una manca de resposta en les concentracions de fenols que podria explicar-se per una l'aclimatació de la fotosíntesi en un ambient de concentracions elevades de CO₂. Així doncs, la simple presència de més recursos per a la vegetació (en el cas que ens ocupa, CO₂) no significa forçosament que aquesta en faci ús. La hipòtesi CNB no té en compte aquests processos de retoalimentació a nivell fisiològic i per tant és difícilment aplicable per predir la resposta dels fenols a increments de CO₂ atmosfèric constants i durant llargs períodes de temps.

2. RECONSIDERANT LA HIPÒTESI CARBON-NUTRIENT BALANCE PER PREDIR ELS CANVIS EN LES CONCENTRACIONS DE FENOLS

Hem vist que existeixen diversos factors que poden explicar l'alta variabilitat de respostes dels fenols en plantes crescudes a concentracions elevades de CO₂. Una visió global d'aquests factors ens revela que la mancança més important de la hipòtesi CNB és el fet que ignora la gran diversitat genètica vegetal i la història evolutiva de les espècies (Hamilton *et al.*, 2001). La història evolutiva de les espècies determina aspectes tan diversos relacionats amb el metabolisme secundari com són (i) els requeriments nutricionals d'una espècie, (ii) l'assignació relativa del C entre el creixement i el metabolisme secundari, i (iii) el grau de plasticitat fenotípica en la producció de compostos secundaris.

(i) La hipòtesi CNB prediu respostes homogènies en la concentració de CBSC en espècies crescudes a unes mateixes condicions ambientals. Tanmateix, com que els requeriments nutricionals són diferents entre espècies i la producció de fenols depèn del balanç entre el C i el N disponible per a la planta, és possible que unes determinades condicions ambientals no afectin a totes les espècies de la mateixa manera. És d'esperar que aquelles espècies amb un alt requeriment de N i més limitades per aquest element disposaran, en condicions d'elevat CO₂, de més C "en excés" per assignar al metabolisme secundari de base carbònica que espècies amb uns requeriments de N menors. Per unes mateixes condicions ambientals, doncs, la resposta de les espècies serà variable i no pas universal tal com proposa la hipòtesi CNB.

(ii) L'assignació relativa del C al creixement o al metabolisme secundari dependrà de l'eficàcia biològica que obtingui l'espècie en un ambient determinat, i no només de la disponibilitat de recursos immediats tal com postula la hipòtesi CNB. De fet, la producció de compostos secundaris s'ha vist que està determinada genèticament en més d'un 50% en tots els casos estudiats i l'assignació de recursos a creixement, contràriament al què postula la hipòtesi CNB, no sempre és una prioritat en totes les espècies (veure Hamilton *et al.*, 2001). Les diferències en l'assignació de C entre espècies poden explicar gran part de la variabilitat en la resposta als CBSC sota condicions d'elevat CO₂ degut a que les variacions de la biomassa modifiquen les concentracions de CBSC sense que existeixin necessàriament canvis en la seva síntesi, tal com hem vist anteriorment.

(iii) Per últim, cal incidir en l'efecte que pot tenir la plasticitat fenotípica de les concentracions de CBSC en la seva resposta a concentracions elevades de CO₂. La plasticitat en l'expressió del metabolisme secundari està modulada per la història conjunta entre les plantes i els herbívors, i pels recursos disponibles per la planta al llarg de l'evolució, de manera que el grau d'inducció o repressió dels gens implicats en la síntesi de CBSC variarà entre genotips i espècies. Per tant, és possible que hi hagi individus amb poca sensibilitat als canvis de disponibilitat de C, i per tant amb una baixa resposta a l'increment de CO₂ atmosfèric, ja sigui perquè la plasticitat fenotípica sigui molt reduïda o perquè el rang de plasticitat no coincideixi amb els canvis ambientals a que estan sotmesos.

Fins a l'actualitat encara no s'ha proposat cap hipòtesi alternativa a la hipòtesi CNB per predir les variacions de metabòlits secundaris sota canvis ambientals que tingui en compte la importància de la variabilitat genètica entre genotips i espècies, la qual és resultat de la disponibilitat de recursos en què l'espècie ha estat sotmesa al llarg de l'evolució i per les seves interaccions amb els herbívors. A Castells i Peñuelas (1997) vam plantejar un model conceptual que feia èmfasi en la importància de considerar tots els factors de selecció que han afectat les espècies alhora de predir la quantitat i qualitat de metabòlits secundaris en plantes, ja fossin biòtics com abiòtics, i proposàvem integrar totes les hipòtesis que s'han postulat per predir la variabilitat intraespecífica i interespecífica en la quantitat i el tipus de metabòlits secundaris en vegetals: *Resource Availability*, *Plant Aparency*, *Optimal Defense*, *Coevolutionary hypotheses* i *Carbon-Nutrient Balance*. Sembla que cal avançar vers una teoria general i globalitzadora en la qual la disponibilitat de recursos esdevindria el marc de referència on la biosíntesi de determinats compostos químics seria possible, però la força selectiva que hauria portat a la generació de variabilitat inter i intraespecífica en la defensa química seria deguda a la pressió selectiva que haurien exercit els herbívors sobre les plantes

al llarg del temps. Encara manca, però, una hipòtesi que permeti fer prediccions de les possibles respostes dels CBSC sota canvis ambientals que tinguin en compte la gran complexitat dels ecosistemes.

3. IMPLICACIONS A NIVELL D'ECOSISTEMA DELS CANVIS EN LES CONCENTRACIONS DE FENOLS I ALTRES QÜESTIONS OBERTES

Sabem que la variació en la disponibilitat de recursos per a la vegetació pot tenir conseqüències en les relacions ecològiques. No hi ha però, un clar consens sobre la direcció i magnitud dels efectes, i sovint s'intenta realitzar prediccions que depenen d'un balanç entre processos de signe contrari no suficientment quantificats. L'estudi de la variabilitat de la resposta de la vegetació al CO₂ tenint en compte les característiques ecològiques de les plantes i la diversitat d'interaccions amb altres organismes sembla ser un pas ineludible a l'hora de fer prediccions dels efectes del canvi global. Segons els resultats que hem obtingut en aquesta tesi, els efectes de l'increment de CO₂ atmosfèric en les concentracions de fenols no serien tan importants com s'havia pensat inicialment. Per altra banda, no sabem quin és el llindar de resposta necessària per tenir efectes significatius en la descomposició de la virosta o en les interaccions planta-herbívor, ni quines conseqüències en la dinàmica dels ecosistemes es podrien derivar si aquests efectes fossin significatius per algunes espècies. Si les variacions de fenols afectessin tan sols a poques espècies, les conseqüències serien encara imprevisibles tenint en compte la no-linealitat dels processos que regulen la dinàmica dels ecosistemes. La resposta dels fenols a concentracions elevades de CO₂, a més, cal que s'emmarqui en la resposta del conjunt de caràcters amb valor adaptatiu per una espècie incloent la seva productivitat i composició química. També caldrà tenir en compte que, en un escenari de canvi global, les variacions de les concentracions de CO₂ no seran la única força selectiva ni potser la més important, i que caldrà comparar els seus efectes amb els increments de la temperatura, de la radiació UV, de la deposició de N, o de la freqüència d'esdeveniments extrems.

Actualment es mantenen les previsions d'una duplicació del CO₂ atmosfèric per a finals d'aquest segle. La qüestió encara es manté oberta: quina repercussió tindrà l'increment de CO₂ en la dinàmica dels ecosistemes? Les eines i els coneixements actuals en ecologia encara no ens permeten realitzar prediccions acurades sobre l'evolució dels ecosistemes en pertorbació. La gran diversitat de respostes amb dependència espacial i temporals, juntament amb la gran variabilitat genètica de les poblacions, fa pensar que no és viable fer una

descripció detallada de totes les parts del sistema i les interaccions entre aquestes parts a l'hora d'intentar descriure el sistema en la seva totalitat. La presència de propietats emergents al sistema, a més, podria fer incorrecta aquesta aproximació. Malgrat això, l'increment durant els últims anys dels estudis realitzats en condicions properes a les reals no ha estat en va. Aquests estudis ens han mostrat que a la natura existeixen diversos mecanismes de retroalimentació que actuen esmoreint les fortes conseqüències que originalment s'estimaven en base a estudis a curt plaç i en condicions ambientals òptimes. També ens han ensenyat, però, que petites variacions poden originar grans canvis a nivell global. Probablement, donada l'alta complexitat dels sistemes que intentem estudiar no podrem mai arribar a fer una predicció concreta dels efectes de l'increment de CO₂ atmosfèric en la dinàmica dels ecosistemes. La manca de tendències clares trobades fins avui en dia, però, no exclou que s'estiguin esdevenint canvis. I per tant sembla necessari que, alhora que continuïn els estudis dels efectes del CO₂ utilitzant sistemes més complexes, s'apliqui el principi de precaució en les emissions de combustibles fòssils.

4. CONCLUSIONS (PART I)

- Els fenols de *Bromus erectus* i *Dactylis glomerata* augmenten pel conjunt dels genotips a concentracions elevades de CO₂.
- Existeix una alta variabilitat intraespecífica en les concentracions de fenols a CO₂ ambient.
- La resposta dels fenols a l'increment de CO₂ no té una forta dependència genètica.
- Les hipòtesis fenotípiques d'assignació de recursos no ens permeten explicar les relacions entre la resposta dels fenols i la resposta de la biomassa, carbohidrats no estructurals i N a concentracions elevades de CO₂.
- L'efecte de dilució provocat per l'increment dels carbohidrats no estructurals a elevat CO₂ pot emascarar les variacions reals dels fenols, N i altres compostos químics.
- Existeix una alta variabilitat interespecífica en la resposta dels fenols al CO₂.
- Els fenols han incrementat pel conjunt de totes les espècies sotmeses a concentracions elevades de CO₂ en fullaraca però no en fulles verdes.
- Els grups funcionals proposats no són classificacions útils per predir la resposta de les espècies a concentracions elevades de CO₂.
- La diversitat vegetal de les comunitats estudiades no té cap efecte significatiu sobre la resposta dels fenols a les concentracions elevades de CO₂.
- Les plantes sotmeses a concentracions elevades de CO₂ durant generacions tenen una composició química diferent a les plantes crescudes en condicions de CO₂ ambientals, però els fenols d'aquestes plantes no han incrementat les concentracions respecte a les plantes crescudes a concentracions ambientals de CO₂.
- La variabilitat genotípica, interespecífica i a llarg termini de la resposta dels fenols a concentracions elevades de CO₂ no pot interpretar-se segons les hipòtesis fenotípiques d'assignació de recursos actuals.

5. EFECTES DELS FENOLS EN EL CICLE DEL N

Tal com s'ha exposat als objectius de la tesi, amb els experiments descrits als capítols 4, 5 i 6 hem volgut contestar si els fenols modifiquen les taxes de transformació de N i si aquest efecte és significatiu en condicions naturals. Per això hem analitzat en primer lloc els efectes de la presència d'una planta productora de fenols en el cicle del N. En segon lloc hem comparat aquests resultats amb els efectes de l'addició al sòl de lixiviats de la part aèria de la planta. Per últim, hem fraccionat els lixiviats en compostos no-fenòlics i compostos fenòlics per tal d'esbrinar quins compostos eren els causants dels canvis en el cicle del N. Finalment, discutim si els fenols s'alliberen al sòl en suficient quantitat per tenir efectes significatius, si participen en la regulació de cicle del N, i si intervenen en les interaccions negatives entre espècies mitjançant al.lelopatia.

5.1. La presència de capçada modifica el cicle del N

Les plantes afecten les propietats químiques i físiques del sòl adjacent mitjançant la producció de virosta procedent de la part aèria i subterrània, i l'alliberament de compostos solubles a través de lixiviats o exudats (Facelli i Pickett, 1991). L'acumulació de matèria orgànica a l'horitzó superficial del sòl és un dels factors principals en el desenvolupament del sòl i augmenta de manera important la disponibilitat de nutrients (Facelli i Pickett, 1991). L'existència de vegetació discontinua pot tenir una gran influència en la disponibilitat de nutrients a nivell espacial ja que és d'esperar que el contrast entre la matèria orgànica que s'acumula sota planta i la matèria orgànica present al sòl nu sigui major que en ecosistemes amb vegetació contínua. Així doncs, s'espera que una major presència de matèria orgànica sota planta incrementi la disponibilitat de nutrients, el que s'ha anomenat "illes de fertilitat" (Vinton i Burke, 1995). Aquestes diferències de matèria orgànica a nivell espacial poden ser més importants en zones àrides i semi-àrides, ja que són ecosistemes caracteritzats per una baixa cobertura vegetal (Hook *et al.*, 1991).

En la majoria d'estudis recollits a la bibliografia s'ha mesurat una major quantitat de C i N orgànic sota la capçada de plantes herbàcies perennes i arbustos així com variacions en les relacions C/N i en les taxes de transformació del N, malgrat trobem algunes excepcions (Taula 19).

Els nostres resultats mostren patrons similars en la relació C/N del sòl i les taxes de transformació de N en *Ledum* i *Cistus*. La presència de *Ledum* no va afectar la quantitat de C i N orgànic present al sòl. La presència d'una cobertura vegetal important tan en sòls control com en sòls amb *Ledum* pot explicar aquest resultat, ja que la presència de *Ledum* suposava tan sols una part de les entrades de matèria orgànica procedent de la vegetació. Malgrat això, els sòls sota *Ledum* tenien una major relació C/N, una menor taxa neta de mineralització de N i una major respiració. La relació de N mineralitzat respecte C mineralitzat era més baixa sota planta apuntant que aquests sòls tenien un major potencial d'immobilització del N. Aquests resultats van ser confirmats per la mesura de les taxes brutes de transformació del N mitjançant els experiments d'enriquiment amb ^{15}N .

Espècie	clima	C _{org}	N _{org}	C/N	C _{min}	N _{min}	N _{min} /C _{min}	altres	ref
5 espècies	Semi-àrid	↑	=	n.a.	↑	↑	n.a.		(1)
Agropyron desertorum	Semi-àrid	=	↑	↓	↑	↑	n.a.		(2)
<i>Artemisia tridentata</i>	Semi-àrid	=	↑	↓	↑	↑	n.a.		(2)
<i>Adesmia bedwellii</i>	Àrid	↑	↑	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	↑microorg.	(3)
<i>Bouteloua gracilis</i>	Semi-àrid	↑	↑	↑	↑	↑	↓		(4)
<i>Pseudoroegneria spicata</i>	Semi-àrid	↑	n.a.	n.a.	=	=	n.a.		(5)
<i>Artemisia tridentata</i>	Semi-àrid	=	n.a.	n.a.	=	=	n.a.		(5)
<i>Kalmia angustifolia</i>	Boreal	↓	↓	↑	n.a.	n.a.	n.a.	↑pH, Ca ²⁺	(6)
<i>Ledum palustre</i>	Boreal	=	=	↑	↑	↓	↓	= pH	(7)
<i>Cistus albidus</i> ¹	Mediterrani	↑	↑	↑	↑ (↑)	↑ (↓)	↓ (↓)	↑pH	(7)

Taula 19. Variacions de les propietats químiques i activitat biològica (expressada per unitat de pes sec de sòl) en sòls minerals sota capçada respecte sòls control: C_{org} carboni orgànic; N_{org} nitrogen orgànic; C/N relació entre el C orgànic i el N orgànic; C_{min} carboni mineralitzat (respiració); N_{min} nitrogen mineralitzat; N_{min}/C_{min} relació entre N mineralitzat i C mineralitzat. Els símbols indiquen el valor relatiu dels sòls sota capçada comparat amb els sòls control (n.a. = no analitzat). ¹Les taxes de mineralització expressades per unitat de carboni orgànic es presenten en parèntesi. Referències: (1) Vinton i Burke, 1995 (2) Chen i Stark, 2000 (3) Aguilera *et al.*, 1999 (4) Hook *et al.*, 1991 (5) Jackson i Caldwell, 1993 (6) Inderjit i Mallik, 1999 (7) aquesta tesi.

Els sòls mostrejats sota *Cistus* presentaven una major quantitat de C i N orgànic comparat amb els sòls control (sense cobertura vegetal a granodiorites i calcàries, i amb presència d'herbàcies a esquists) independentment dels sòls estudiats. La relació C/N va ser major sota planta només als sòls silícics (granodiorites i esquists). Com que la presència de matèria orgànica pot determinar una major disponibilitat de nutrients, vam calcular les taxes de transformació de N per unitat de pes sec i per unitat de matèria orgànica. La mineralització de N per unitat de pes sec de sòl era més gran sota planta independentment del tipus de sòl, ja que aquesta taxa estava determinada per una major presència de matèria orgànica sota planta. Però nosaltres vam voler veure l'efecte planta independentment de la quantitat de matèria orgànica i per això vam expressat les taxes de mineralització de N en unitats de C present al

sòl, el qual ens pot revelar si els tipus de sòl fan un diferent ús de la matèria orgànica. Vam trobar que en sòls silícics les taxes de mineralització neta eren més baixes sota planta i la respiració més elevada, i la proporció de N respecte C mineralitzat era més baixa, indicant que aquests sòls tenen un alt potencial per immobilitzar N. En canvi, en sòls calcaris no hi havia canvis significatius en l'activitat microbiana coincidint amb una absència de canvis en la relació C/N del sòl. En resum, hem vist que quan expressem les taxes de mineralització de N i C independentment de la quantitat de matèria orgànica les taxes de mineralització són més baixes, probablement degut a que la relació C/N és més elevada en sòls silícics. La manca de canvis en la relació C/N en sòls calcaris podria determinar una absència de canvis en l'activitat microbiana sota planta.

L'anàlisi de les taxes brutes de transformació del N sota *Ledum* i *Cistus* ens revelen que efectivament sota planta existeix una major mineralització bruta i immobilització d'amoni més elevada que en sòls control. En el cas de *Cistus* la presència de capçada també provoca una menor nitrificació. L'increment de la immobilització del N podria estar causada per l'alliberament de compostos de C procedents de la part aèria o subterrània de les plantes que es reflecteix amb la presència d'una relació C/N més elevada sota planta. Aquests compostos poden comprendre compostos solubles com els carbohidrats o els fenols, o compostos de C més difícilment degradables com cel.lulosa o lignina. L'increment en mineralització bruta pot estar lligada a l'increment de la immobilització. L'addició de compostos de C fan incrementar la biomassa microbiana i el turnover microbià incrementant tan les taxes d'immobilització com de mineralització (Bradley *et al.*, 1997a; Clein i Schimel, 1995). Així doncs, el cicle del N està més accelerat sota *Ledum* i *Cistus*.

És d'esperar que aquelles espècies que lixivien altes concentracions de fenols de les fulles verdes o fullaraca i amb elevades relacions C/N en fulla tinguin un efecte més important en l'increment de la relació C/N del sòl i de l'activitat microbiana. Diversos estudis mostren que espècies amb diferents composicions químiques en fulla tenen efectes diversos en la química del sòl (Binkley i Valetine, 1991). Cal tenir en compte, però, que la presència de la planta pot ser més important que la seva composició química, especialment quan el factor limitant no és la presència de matèria orgànica o la seva qualitat sinó la presència d'aigua (Vinton i Burke, 1995). En els resultats que hem obtingut en l'estudi dels efectes de *Ledum* i *Cistus* en la qualitat del sòl i en l'activitat dels microorganismes han estat qualitativament independents de l'espècie estudiada i quantitativament independents de les variacions intraespecífiques, i per tant de la seva relació C/N i del tipus i concentracions de fenols presents en fulla. En l'estudi de *Cistus*, però, l'efecte planta depèn de les propietats físico-

químiques del sòl. Els motius d'aquestes variacions segons el tipus de sòl són discutits a l'apartat següent.

L'acumulació de virosta també pot fer variar el pH del sòl, però les tendències trobades a la literatura són diverses. A *Calluna*, l'acumulació de virosta de fa disminuir el pH del sòl (Facelli i Pickett, 1991) mentre que en sòls dominats per *Kalmia angustifolia* s'han trobat pH més elevats comparats amb sòls sense aquesta espècie (Inderjit i Mallik, 1999) el qual, discuteixen els autors, podria ser degut a la presència de fullaraca o lixiviats. Nosaltres no hem trobat variacions en pH relacionats amb la presència de *Ledum*, però sota *Cistus* el pH era més alts comparats amb els sòls control. No sabem a què poden ser degudes aquestes diferències.

5.2. Els sòls silícics responen més a la presència de capçada que els sòls calcaris

Les característiques físico-químiques dels sòls tenen una gran influència en les seves propietats biològiques, per exemple en la degradació de la matèria orgànica i per tant en la disponibilitat de nutrients (Oades, 1988). L'anàlisi dels sòls silícics (granodiorites i esquists) i els sòls calcaris mostrejats a les muntanyes de Prades ens mostren unes propietats ben diferenciades. Així doncs, els sòls silícics tenen un pH, una concentració de carbonats i una conductivitat elèctrica menor que els sòls calcaris. Els sòls també varien molt en la textura. Així doncs els sòls granítics tenen una gran proporció de sorres i els sòls calcaris es caracteritzen per la gran presència d'argiles. Totes aquestes propietats poden haver influenciat fortament la retenció de matèria orgànica i en les diferències de l'efecte de *Cistus* entre tipus de sòls. La presència d'argiles i cations polivalents estableixen la matèria orgànica del sòl fent-la més difícilment degradable pels microorganismes (Oades, 1988). Això ha suposat una retenció major de matèria orgànica als sòls calcaris que ha determinat que l'entrada de matèria orgànica procedent de la planta sigui proporcionalment menys important que en sòls silícics. Aquest podria ser un dels motius que expliquen perquè l'efecte planta ha estat inapreciable en sòls calcaris tan en les variacions de la proporció C/N com en l'activitat biològica. En sòls silícics, les diferències en la qualitat de la matèria orgànica poden haver influenciat directament les taxes de transformació del N.

5.3. L'addició de lixiviats modifica el cicle del N

La presència de lixiviats procedents de la planta pot contribuir a un increment de compostos orgànics sota capçada i per tant als canvis en l'activitat biològica derivats de la variació en

la quantitat i qualitat de la matèria orgànica sota planta (Hook *et al.*, 1991). Per aquest motiu hem estudiat com l'addició de lixiviats de *Ledum* i *Cistus* modifica el cicle del N al sòl.

L'addició de lixiviats de *Ledum* i *Cistus* en sòls mostrejats sota capçada i sòls control van mostrar efectes semblants independentment del tipus del sòl estudiat: una disminució de la mineralització neta, un increment de la respiració i una menor mineralització de N respecte mineralització de C. Aquests resultats apunten que globalment els lixiviats van augmentar la immobilització del N com a resultat de l'ús del C present als lixiviats com a font d'energia pels microorganismes. L'anàlisi de les taxes brutes de transformació del N ens confirmen aquest resultat tan per *Ledum* com per *Cistus*. Altres autors han estudiat l'efecte dels lixiviats en la composició química del sòl, el qual pot tenir també efectes en la disponibilitat de nutrients, però no han mesurat les taxes de mineralització. Per exemple, els lixiviats de fullaraca de *Kalmia angustifolia* van fer augmentar les concentracions de matèria orgànica, fenols totals, Fe, Mn, Al i PO₄, i van fer disminuir la concentració de N orgànic (Inderjit i Mallik, 1996a). Segons els autors, aquests canvis van ser resultat directe de l'efecte dels fenols presents als lixiviats. L'addició de lixiviats de fulles i fullaraca de *Ledum groenlandicum* va fer incrementar les concentracions de matèria orgànica, fenols totals i PO₄ (Inderjit i Mallik, 1997).

Per tal d'identificar si els lixiviats procedents de la part aèria de la planta poden esdevenir un factor prou importants per modificar el cicle del N en condicions naturals, hem comparat els efectes de l'addició de lixiviats amb l'efecte de la presència de capçada. En línies generals hem trobat que tan l'addició de lixiviats com la presència de capçada té uns efectes similars en *Ledum* i en *Cistus* (disminucions de la mineralització neta, increments de la respiració i increments de la immobilització del N) i per tant els lixiviats podrien explicar, almenys parcialment, l'efecte planta.

5.4. Els fenols es lixivien de les fulles verdes i la fullaraca juntament amb altres compostos

Quins compostos són els responsables de l'efecte dels lixiviats en el cicle del N? No hem trobat cap estudi que hagi fet una anàlisi global dels compostos presents als lixiviats. La majoria d'estudis de la literatura han realitzat anàlisis parcials dels lixiviats, preferentment fenols i carbohidrats. De fet, degut a la seva solubilitat, aquests tipus de compostos són més susceptibles de ser alliberats per l'aigua de pluja que altres compostos més insolubles com els terpens i la lignina (Horner *et al.*, 1988).

Les concentracions de fenols en llixiviats depenen en gran mesura de l'espècie estudiada. Kuiters i Sarink (1986) van analitzar els fenols totals de rentats de fullaraca procedents de 22 espècies d'arbres de clima temperat. La variació de les concentracions de fenols va ser molt gran, des de concentracions de fenols totals menors de 20 mg àcid tànic L⁻¹ (*Picea abies* i *Pseudotsuga menziesii*) fins a més de 300 mg àcid tànic L⁻¹ (*Carpinus betulus*). Les concentracions van variar estacionalment i gairebé en tots els casos van ser màximes a la tardor. Les concentracions de fenols totals als llixiviats de fullaraca de *Ledum* i fulles de *Cistus* van ser comparativament força elevades (770 i 330 mg àcid gàl.lic L⁻¹, respectivament).

La presència d'àcids fenòlics en llixiviats ha estat àmpliament documentada (Kuiters i Sarink, 1986; Singh *et al.*, 1989; Wallstedt *et al.*, 1997; Zhu i Mallik, 1994). La presència de determinats àcids fenòlics no sembla específica de les espècies analitzades i n'hi ha alguns, com els àcids felúric, coumàric i cinàmic que són universals a la vegetació incloent angiospermes i gimnospermes. També s'han trobat flavonoides a *Cistus Ladanifer* (Chaves i Escudero, 1997). Gallet i Pellisier (1997) van trobar grans quantitats de tanins en llixiviats de fulles de *Picea abies* juntament amb una concentració baixa de fenols monomèrics. Nosaltres hem trobat la presència de tanins condensats (Capítol 6).

Els fenols poden ser una fracció important dels compostos orgànics alliberats per llixiviació de fulles i fullaraca. Michelsen *et al.* (1995) van trobar 232, 200 i 452 mg L⁻¹ de fenols totals en llixiviats de *Cassiope tetragona*, *Empetrum hermaphroditum* i *Betula tortuosa*, respectivament, però tan sols 14.5, 20.9 i 28.2 mg L⁻¹ de carbohidrats làbils. En els nostres estudis amb *Cistus*, enlloc d'identificar els compostos específics presents als llixiviats hem optat per fraccionar els llixiviats en compostos fenòlics i compostos no fenòlics mitjançant una extracció de fase reversa amb una columna C18. Aquesta columna reté els fenols i allibera aquelles substàncies més solubles, com per exemple els carbohidrats. Les anàlisis de carboni orgànic dissolt en ambdues fraccions ens han mostrat que els fenols representen aproximadament un 46 % del total de carboni soluble present als llixiviats, i que tant els fenols com els compostos més solubles poden participar significativament en l'efecte dels llixiviats en el cicle del N.

Una altra qüestió important alhora d'estudiar els efectes dels fenols presents als llixiviats en la dinàmica del cicle del N és saber en quines concentracions es llixivien en condicions naturals. En els nostres estudis i en els treballs citats anteriorment (Chaves i Escudero, 1997; Kuiters i Sarink, 1986; Michelsen *et al.*, 1995; Singh *et al.*, 1989; Wallstedt *et al.*, 1997; Zhu i Mallik, 1994) les mesures de fenols s'han realitzat en rentats de fulles o fullaraca realitzats experimentalment. En termes generals s'utilitza una proporció d'entre 20-

25 g de pes sec equivalent per 1 L d'aigua destil·lada, que correspon al volum de neu acumulada respecte la massa de fulles de *Empetrum hermaphroditum* (Zackrisson i Nilsson, 1992), i es considera una concentració propera a la concentració en condicions naturals.

Gallet i Pellisier (1997) i Gallet (1994) van analitzar els fenols presents a lixiviats naturals de fulles i fullaraca de *Picea abies* obtinguts recollint aigua de pluja. Les concentracions de fenols totals variaven entre 20 i 30 mg acid gal·lic L⁻¹, uns valors molt semblant als obtinguts per Kuiters i Sarnik (1986) en lixiviats experimentals. Cal, però, prendre amb precaució aquests resultats. En primer lloc les estàndards utilitzades van ser diferents, la qual cosa pot induir a variacions en l'estima de les concentracions. Per altra banda, sabem que les concentracions de fenols poden mostrar grans variacions estacionals i que la concentració de fenols alliberats dependrà de la precipitació. A més, no és d'esperar que les concentracions de fenols siguin similars per a totes les espècies, ja que dependrà del tipus de compostos presents, del tipus d'emmagatzematge d'aquests compostos, de les característiques de la fulla (caduques o perennes) (Kuiters, 1990), etc. Malgrat que en els nostres estudis no hem mesurat les concentracions de fenols en lixiviats obtinguts al camp, les altes concentracions alliberades en els rentats experimentals i la presència de més fenols sota la capçada de *Cistus* ens fan pensar que la lixiviació de fenols pot ser important.

5.5. Efectes dels compostos no-fenòlics al cicle del N: increments de la immobilització

La fracció no-fenòlica dels lixiviats de *Cistus*, probablement formada per carbohidrats, va incrementar la immobilització del N en sòls granítics alhora que va fer disminuir la nitrificació. L'addició de compostos amb un alta relació C/N fa augmentar la immobilització del N quan els microorganismes els utilitzen com a font de C (Stevenson, 1986). Pensem que aquest va ser l'efecte directe de la fracció no fenòlica dels lixiviats, i que la disminució en la nitrificació va estar subjecte a les disminucions en l'amoni present al sòl com a conseqüència de l'increment de la immobilització, ja sigui química com biològica. De fet, diversos estudis han trobat increments en la biomassa microbiana, increments en la immobilització del N i disminucions en la mineralització neta com a resultat d'afegir glucosa en concentracions similars a les mesurades en lixiviats de fulles i fullaraca (Bradley *et al.*, 1997a; Magill i Aber, 2000; Schmidt *et al.*, 1997; Sugai i Schimel, 1993). Les reduccions en la nitrificació, per tant, no estarien causades per efectes al·lopàtics en els microorganismes a través de l'efecte tòxic dels fenols, tal com postulen Baldwin *et al.* (1983) i Rice (1984), sinó per una simple disminució del substrat de la reacció.

5.6. Efectes dels fenols al cicle del N: reduccions en la mineralització bruta

Tradicionalment s'ha acceptat que l'efecte principal dels fenols al cicle del N és la disminució de la degradació del N orgànic com a conseqüència de la formació dels complexos tanins-proteïna (Hättenschwiler i Vitousek, 2000). L'increment de la immobilització del N com a resultat de l'addició d'àcids fenòlics ha estat també àmpliament estudiada (Blum i Shafer, 1988; Schimel *et al.*, 1995; Shafer i Blum, 1991; Sparling *et al.*, 1981; Sugai i Schimel, 1993). En l'estudi de *Cistus* hem detectat disminucions en la mineralització bruta com a conseqüència de l'addició de fenols. És molt probable que aquest efecte sigui el resultat de l'enllaç dels fenols amb proteïnes i que els tanins presents als lixiviats en siguin els responsables. La major presència dels enzims polifenol oxidases, implicats en la degradació dels enllaços entre fenols i proteïnes, sota *Cistus* comparat amb sòls control ens fan pensar que aquests complexos sí que van tenir lloc.

Les disminucions en la mineralització bruta com a resultat de l'enllaç dels fenols amb les proteïnes poden haver tingut dos orígens. En primer lloc, l'estabilització de les proteïnes com a conseqüència de la formació d'aquests complexos pot disminuir el N orgànic disponible pels microorganismes (Hättenschwiler i Vitousek, 2000). En segon lloc, els tanins poden haver format complexos amb els exoenzims microbians implicats en la mineralització i d'aquesta manera inactivar-los (Kuiters, 1990). La capacitat dels tanins per inhibir enzims de fongs saprofítics s'ha comprovat en condicions de laboratori (De Bruyne *et al.*, 1999; Harrison, 1970) però no s'ha demostrat que aquesta inhibició tingui lloc en condicions naturals. Les nostres dades no ens permeten discernir entre els dos processos.

6. FUNCIONS DELS FENOLS ALLIBERATS AL SÒL

6.1. Els fenols i la interacció negativa entre plantes: efectes al·lelopàtics o canvis en el cicle del N?

La presència d'al·lelopatia (efectes tòxics mediat per compostos orgànics, segons la definició de Rice, 1984) s'ha postulat en diverses ocasions com a un dels mecanismes de competència entre plantes (Einhellig, 1995; Harborne, 1988; Harper, 1977; Rice, 1984; Went, 1970; Whittaker, 1970). Existeix un debat obert sobre si les interaccions negatives entre plantes poden estar causades pels efectes dels fenols o altres compostos secundaris en el cicle del N

més que no pas efectes al·lelopàtics directes en la germinació, establiment o creixement de plàntules (Michelsen *et al.*, 1995; Nilsson, 1994; Schmidt *et al.*, 1997; Wardle i Nilsson, 1997). Com ja hem vist anteriorment, els fenols poden disminuir la mineralització neta del N a través de 3 processos: incrementant la immobilització de N inorgànic (Blum i Shafer, 1988; Schimel *et al.*, 1995; Shafer i Blum, 1991; Sparling *et al.*, 1981; Sugai i Schimel, 1993), disminuint la disponibilitat de N orgànic pels microorganismes (Northup *et al.*, 1995; Palm i Sanchez, 1990; Palm i Sánchez, 1991; Schimel *et al.*, 1995), i mitjançant efectes tòxics en els microorganismes encarregats de la nitrificació (Baldwin *et al.*, 1983; Rice, 1984). Tan sols en l'últim cas es podria considerar que els fenols estan exercint un efecte al·lelopàtic en contra la flora del sòl. Deixant de banda el mecanisme concret que exerceixen els fenols sobre el cicle del N, en aquest apartat volem discutir si les inhibicions potencials entre espècies vegetals a través dels fenols alliberats al sòl poden ser causades per disminucions en la disponibilitat de N (independentment del procés implicat) o per inhibicions directes dels processos fisiològics de l'espècie diana. Molts àcids fenòlics presents a lixiviats de fulles han estat relacionats amb al·lelopatia a través dels seus efectes tòxics (Gallet, 1994; Zhu i Mallik, 1994; Wallstedt *et al.*, 1997), però cap d'aquests estudis demostren que aquest procés es doni en condicions naturals.

El primer pas per poder contestar aquesta pregunta és saber si la disponibilitat de nutrients sota la capçada de la planta productora de fenols és menor que en zones no associades a aquesta espècie, i per tant existeix un entorn potencialment advers pel creixement de les plantes diana. Els nostres estudis amb *Ledum* i *Cistus* mostren resultats divergents. Per una banda, hem trobat que la presència de *Ledum* fa disminuir la disponibilitat de N. Aquests resultats suporten la hipòtesi que les interaccions negatives entre plantes poden estar causades per canvis en la dinàmica dels nutrients (Michelsen *et al.*, 1995; Schmidt *et al.*, 1997). Cal tenir en compte, però, que una menor disponibilitat de N sota capçada no exclou els efectes al·lelopàtics directes i que calen estudis per poder discriminar els dos processos.

Coneixem només un estudi on s'ha intentat separar l'efecte de la competència per recursos de l'efecte al·lelopàtic (Nilsson, 1994). Nilsson (1994) va idear un disseny experimental on l'espècie boreal productora de fenols *Empetrum hermaphroditum* era físicament separada de l'espècie diana (*Pinus sylvestris*) a nivell subterrani (exclusió de la competència per recursos del sòl), i químicament separada mitjançant l'addició de carboni actiu a la superfície del sòl (exclusió de l'al·lelopatia). Els resultats de l'estudi mostren que l'espècie diana redueix la biomassa en els dos tractaments d'exclusió respecte el tractament control. L'autora argumenta que tan la competència per nutrients com l'al·lelopatia han estat la

causa d'aquesta disminució. Nosaltres pensem, però, aquest experiment no demostra que els fenols tinguin un efecte al·lelopàtic, almenys de forma exclusiva. És possible que els fenols d'*Empetrum hermaphroditum* afectin indirectament el creixement de *Pinus sylvestris* a través de disminucions en la disponibilitat de N, i això no pot ser considerat al·lelopatia segons la definició de Rice (1984) ("efectes tòxics a través de compostos orgànics"). Malgrat existeixen diversos estudis experimentals dels efectes del fenols alliberats per espècies boreals en el creixement vegetal (*Vaccinium myrtillus*: Gallet, 1994; *Ledum groenlandicum*: Inderjit i Mallik, 1996b; *Kalmia angustifolia*, *Gaultheria shallon*, *Calluna vulgaris*: Mallik, 1995; *Empetrum hermaphroditum*: Nilsson *et al.*, 1993) pensem que caldrien més estudis que tinguin en compte que els canvis en el cicle del N produïts pels fenols poden influenciar l'adquisició de recursos.

L'estudi dels efectes de *Cistus* en el cicle del N ens mostra que sota la capçada existeix una major disponibilitat de N que en sòls no associats en aquesta espècie. En els estudis recollits a la taula 19, la disponibilitat de N sota la capçada d'espècies de climes àrids o semiàrids va ser també més elevada que en llocs sense vegetació. En climes secs és d'esperar que la matèria orgànica s'acumuli sota planta i que això determini una major disponibilitat de nutrients (Vinton i Burke, 1995). Qualsevol efecte potencialment negatiu entre aquestes plantes i altres espècies (o fins i tot dins la mateixa espècie - d'autoal·lelopatia -) podrien estar causats per efectes al·lelopàtics directes en la germinació, establiment de plàntules, creixement d'arrels, etc. De fet, en condicions d'estrès hídric s'ha postulat que els processos al·lelopàtics estarien incrementats ja que la competència entre plantes és major (Harborne, 1988; Went, 1970; Whittaker, 1970). La degradació dels compostos secundaris alliberats al sòl podria ser menor en climes àrids respecte climes temperats, i això facilitaria un major temps de permanència al sòl i major potencialitat per exercir una funció inhibidora en altres espècies vegetals.

Podem concloure, doncs, que la presència d'efectes al·lelopàtics pot variar depenent de l'ecosistema estudiat. En el cas d'ecosistemes amb vegetació discontinua de climes àrids i semi-àrids les interaccions negatives entre plantes podrien ser causades per efectes al·lelopàtics. No està tan clar que aquests efectes s'esdevinguin en climes temperats, on l'alliberació de fenols al sòl pot conduir a una reducció de la disponibilitat de N i disminuir l'adquisició de recursos per la planta diana. És necessari que es realitzin estudis més complets per tal de discriminar entre els dos tipus d'efectes.

6.2. Són els fenols importants en la regulació del cicle del N?

Segons la hipòtesi plantejada per Horner *et al.* (1988) i Northup *et al.* (1998), els fenols poden exercir una funció important en la regulació del cicle del N. La formació dels complexos fenol-proteïna pot alentir la descomposició de la matèria orgànica conservant el N orgànic al sòl, i minimitza d'aquesta manera les pèrdues de N del sistema. Donat que el N és un element limitant en la majoria d'ecosistemes terrestres, les espècies productores de fenols resultarien afavorides en aquestes circumstàncies i per tant serien seleccionades en el curs de l'evolució. Aquesta hipòtesi considera que existeix un efecte recíproc entre la producció de fenols vegetals i la disponibilitat de N al sòl, de manera que aquelles espècies de llocs infèrtils produirien més fenols que aquelles espècies crescudes en llocs amb una menor limitació per nutrients.

Un dels objectius d'aquesta tesi ha estat provar la validesa d'aquesta hipòtesi en les interaccions entre *Cistus* i sòls amb diferent grau de fertilitat (granodiorítics, esquístics i calcaris). Els resultats descrits al Capítol 5 ens han mostrat que la presència d'una major quantitat de fenols en plantes crescudes en sòls infèrtils no suposaria una avantatge competitiu respecte altres espècies. En primer lloc, no hem trobat que existeixi una relació inversa entre la fertilitat del sòl i la producció de fenols en planta. En segon lloc, malgrat que els fenols han disminuït la mineralització bruta com a conseqüència de la formació dels complexos fenols-proteïna, tal com prediu la hipòtesi de Horner *et al.* (1988) i Northup *et al.* (1998), aquest efecte no ha estat prou important com per ser detectable en condicions naturals. Els compostos no-fenòlics presents als lixiviats semblen més importants en la regulació del cicle del N que no pas els fenols ja que l'efecte global en les taxes netes és l'increment de la immobilització. Finalment, hem trobat que la retenció de la matèria orgànica al sòl depèn en gran mesura de la presència d'argiles i sembla ser independent de la presència de *Cistus*.

En resum, la disminució de la mineralització del N per part dels fenols presents als lixiviats de *Cistus* no ha estat prou important com per ser detectada en les taxes brutes de mineralització en sòls tractats amb lixiviats o bé en sòls mostrejats sota planta. Malgrat això, no podem descartar que els fenols no tinguin un paper important en la dinàmica del cicle del N, ja que podrien contrarestar parcialment la immobilització del N causada per la fracció no fenòlica i tenir efectes diferencials sobre les diferents espècies de microorganismes (Kuiters, 1990) modificant la composició microbiana del sòl. Podem concloure que els fenols no són els màxims responsables de la regulació del cicle del N en tots els sistemes sòl-planta i que la validesa de la hipòtesi plantejada per Horner *et al.* (1988) i Northup *et al.* (1998) dependrà de

factors tan diversos com la composició química dels fenols en planta, la resposta d'aquests compostos a la disponibilitat de nutrients, la variabilitat genètica en la producció de fenols, la quantitat de fenols alliberats al sòl, la limitació de nutrients a què estigui sotmesa una espècie, o les propietats físico-químiques i biològiques del sòl.

7. CONCLUSIONS (PART II)

- La presència de *Ledum* i *Cistus* està associada a una major immobilització del N al sòl adjacent i a una major mineralització bruta. La presència de *Cistus* també disminueix la nitrificació.
- L'efecte de la presència de *Cistus* al cicle del N és més important en sòls silícics que en sòls calcaris.
- La fullaraca i les fulles verdes de *Ledum* i *Cistus* contenen gran quantitat de fenols que són alliberats mitjançant lixiviació.
- L'addició de lixiviats de *Ledum* i *Cistus* incrementa l'activitat microbiana del sòl a través d'augmentos en la immobilització del N, alhora que redueix la mineralització neta.
- L'addició de lixiviats de *Ledum* incrementa la mineralització bruta mentre que l'addició de lixiviats de *Cistus* la disminueix.
- Els lixiviats de *Ledum* i *Cistus* poden explicar, almenys parcialment, l'efecte de la presència de capçada
- Els canvis en les taxes de transformació del N causats per l'addició de lixiviats de *Cistus* són deguts principalment als compostos no-fenòlics
- Els fenols presents als lixiviats de *Cistus* disminueixen la mineralització bruta del N. Aquests efectes no són detectables en afegir lixiviat al sòl o en sòls mostrejats sota planta.
- No podem descartar que l'alliberació de fenols en *Ledum* pugui causar efectes alelopàtics en altres espècies vegetals.
- En condicions naturals, la producció de fenols en *Cistus* no és el principal factor que fa minimitzar la pèrdua de N del sistema augmentant la disponibilitat de N.

REFERÈNCIES

Aguilera, LE, Gutiérrez, JR, Meserve, PL (1999) Variation in soil micro-organisms and nutrients underneath and outside the canopy of *Adesmia bedwellii* (Papilionaceae) shrubs in arid coastal Chile following drought and above average of rainfall. *J. Arid Environ.* **42**: 61-70.

Allen, SE (1989) *Chemical Analysis of Ecological Materials*. Oxford: Blackwell Scientific Publications.

Appel, HM (1993) Phenolics in ecological interactions: the importance of oxidation. *J. Chem. Ecol.* **19**: 1521-1552.

Arnone III, JA, Zaller, JG, Ziegler, C, Zandt, H, Körner, C (1995) Leaf quality and insect herbivory in model tropical plant communities after long-term exposure to elevated atmospheric CO₂. *Oecologia* **104**: 72-78.

Baldwin, IT, Olson, RK, Reiners, WA (1983) Protein binding phenolics and the inhibition of nitrification in subalpine balsam fir soils. *Soil Biol. Biochem.* **15**: 419-423.

Baldwin, IT, Sims, CL, Kean, SE (1990) The reproductive consequences associated with inducible alkaloidal responses in wild tobacco. *Ecology* **71**: 252-262.

Ball, AS (1997) Microbial decomposition at elevated CO₂ levels: effect of litter quality. *Glob. Change Biol.* **3**: 379-386.

Ballester, A, Vieitez, AM, Vieitez, E (1982) Allelopathic potential of *Erica vagans*, *Calluna vulgaris* and *Daboecia cantabrica*. *J. Chem. Ecol.* **8**: 851-857.

Bass, WJ (1989) Secondary plant compounds, their ecological significance and consequences for the carbon budget. Introduction to the carbon/nutrient cycle theory In: Lambers, H, Cambridge, ML, Konings, H, Pons, TL (eds.) *Causes and Consequences of Variation in Growth Rate and Productivity of Higher Plants*. The Hague: SPB Academic Publishing, 313-340.

Bazzaz, FA (1990) The response of natural ecosystems to the rising global CO₂ levels. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **21**: 167-196.

Bazzaz, FA, Carlson, RW (1984) The response of plants to elevated CO₂. I. Competition among an assemblage of annuals at two levels of soil moisture. *Oecologia* **62**: 196-198.

Bazzaz, FA, McConnaughay, KMD (1992) Plant-plant interactions in elevated CO₂ environments. *Aust. J. Bot.* **40**: 547-563.

Bending, GD, Read, DJ (1995) The structure and function of the vegetative mycelium of ectomycorrhizal plants. VI. Activities of nutrient mobilizing enzymes in birch litter colonized by *Paxillus involutus* (Fr.) Fr. *New Phytol.* **130**: 411-417.

Bending, GD, Read, DJ (1996) Nitrogen mobilization from protein-polyphenol complex by ericoid and ectomycorrhizal fungi. *Soil Biol. Biochem.* **28**: 1603-1612.

Berenbaum, MR, Zangerl, AR (1992) Genetics of secondary metabolism and herbivore resistance in plants In: Rosenthal, GA, Berenbaum, MR (eds.) *Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites*. San Diego: Academic Press, Inc. 415-437.

Bezemer, TM, Jones, TH (1998) Plant-insect herbivore interactions in elevated atmospheric CO₂: quantitative analyses and guild effects. *Oikos* **82**: 212-222.

Binkley, D, Valentine, DM (1991) Fifty-year biogeochemical effects of green ash, white pine, and Norway spruce in a replicated experiment. *Forest Ecol. Manag.* **40**: 13-25.

- Blum, U** (1998) Effects of microbial utilization of phenolic acids and their phenolic acid breakdown products on allelopathic interactions. *J. Chem. Ecol.* **24**: 685-708.
- Blum, U, Shafer, SR** (1988) Microbial populations and phenolic acids in soil. *Soil Biol. Biochem.* **20**: 793-800.
- Boufalis, A, Pellissier, F** (1994) Allelopathic effects of phenolic mixtures on respiration of two spruce mycorrhizal fungi. *J. Chem. Ecol.* **20**: 2283-2289.
- Bradley, RL, Fyles, JW, Titus, B** (1997a) Interactions between *Kalmia* humus quality and chronic low C inputs in controlling microbial and soil nutrient dynamics. *Soil Biol. Biochem.* **29**: 1275-1283.
- Bradley, RL, Titus, BD, Fyles, JW** (1997b) Nitrogen acquisition and competitive ability of *Kalmia angustifolia* L., paper birch (*Betula papyrifera* Marsh.) and black spruce (*Picea mariana* (Mill.) B.S.P.) seedlings grown on different humus forms. *Plant Soil* **195**: 209-220.
- Bradley, RL, Titus, BD, Preston, CP** (2000) Changes to mineral N cycling and microbial communities in black spruce humus after additions of (NH₄)₂SO₄ and condensed tannins extracted from *Kalmia angustifolia* and balsam fir. *Soil Biol. Biochem.* **32**: 1227-1240.
- Bryant, JP, Chapin, FSI, Klein, DR** (1983) Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. *Oikos* **40**: 357-368.
- Bryant, JP, Chapin, FSI, Reichardt, PB, Clausen, TP** (1987) Response of winter chemical defense in Alaska paper birch and green alder to manipulation of plant carbon-nutrient balance. *Oecologia* **72**: 510-514.
- Bryant, JP, Julkunen-Tiitto, R** (1995) Ontogenic development of chemical defense by seedling resin birch: energy cost of defense production. *J. Chem. Ecol.* **21**: 883-896.
- Castells, E** (1999) Master Thesis. Universitat Autònoma de Barcelona.
- Castells, E, Peñuelas, J** (1997) Vers una teoria global de defensa química en plantes: el cas dels alcaloides. *Orsis* **12**:141-161.
- Cates, RG, Orians, GG** (1975) Successional status and the palability of plants to generalized herbivores. *Ecology* **56**: 410-418.
- Cates, RG, Rhodes, D** (1977) Patterns in the production of antiherbivore defenses in plant communities. *Biochem. Syst. Ecol.* **5**: 185-193.
- Chapin, FSI** (1993) The evolutionary basis of biogeochemical soil development. *Geoderma* **57**: 223-227.
- Chaves, N, Escudero, JC** (1997) Allelopathic effect of *Cistus ladanifer* on seed germination. *Funct. Ecol.* **11**: 432-440.
- Chen, J, Stark, JM** (2000) Plant species effects and carbon and nitrogen cycling in a sagebrush-crested wheatgrass soil. *Soil Biol. Biochem.* **32**: 47-57.
- Claus, H, Filip, Z** (1990) Effects of clays and other solids on the activity of phenoloxidases produced by some fungi and actinomycetes. *Soil Biol. Biochem.* **22**: 483-488.
- Clein, JS, Schimel, JP** (1995) Nitrogen turnover and availability during succession from Alder to Poplar in Alaskan taiga. *Soil Biol. Biochem.* **27**: 743-752.

- Coley, PD** (1986) Costs and benefits of defense by tannins in a neotropical tree. *Oecologia* **70**: 238-241.
- Coley, PD** (1988) Effects of plant growth rate and leaf lifetime on the amount and type of antiherbivore defense. *Oecologia* **74**: 531-536.
- Coley, PD, Barone, JA** (1996) Herbivory and plant defenses in tropical forests. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **27**: 305-335.
- Coley, PD, Bryant, JP, Chapin, FSI** (1985) Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science* **230**: 895-899.
- Comins, HN, McMurtrie, RE** (1993) Long-term response of nutrient limited forest to CO₂ enrichment: equilibrium behavior of plant-soil models. *Ecol. Appl.* **3**: 681
- Coté, JF, Thibault, JR** (1988) Allelopathic potential of raspberry foliar leachates on growth of ectomycorrhizal fungi associated with black spruce. *Am. J. Bot.* **75**: 966-970.
- Cronquist, A** (1988) Secondary metabolites In: *The Evolution and Classification of Flowering Plants*. The New York Botanical Garden, 240-246.
- Damesin, C, Rambal, S, Joffre, R** (1997) Between tree variations in leaf ¹³C of *Quercus pubescens* and *Quercus ilex* among Mediterranean habitats with different water availability. *Oecologia* **111**: 26-35.
- Davidson, EA, Hart, SC, Firestone, MK** (1992) Internal cycling of nitrate in soils of a mature coniferous forest. *Ecology* **73**: 1148-1156.
- De Bruyne, T, Pieters, L, Deelstra, H, Vlietinck, A** (1999) Condensed vegetable tannins: biodiversity in structure and biological activities. *Biochem. Syst. Ecol.* **27**: 445-459.
- Díaz, S** (1995) Elevated CO₂ responsiveness, interactions at the community level and plant functional types. *J Biogeogr.* **22**: 289-295.
- Díaz, S, Cabido, M** (1997) Plant functional types and ecosystem function in relation to global change. *J. Veg. Sci.* **8**: 463-474.
- Dreyer, DL, Jones, KC, Molyneux, RJ** (1985) Feeding deterrence of some Pyrrolizidine, Indolizidine, and Quinolizidine Alkaloids towards pea aphid (*Acyrtosiphom pisum*) and evidence for phloem transport of Indolizidine alkaloid swainsonine. *J. Chem. Ecol.* **11**: 1045-1051.
- Eamus, D, Jarvis, PG** (1989) The direct effects of increasing the global atmospheric CO₂ concentration on natural and commercial temperate trees and forest. *Adv. Ecol. Res.* **19**: 1-55.
- Ehrlich, PR, Raven, PH** (1964) Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution* **18**: 586-608.
- Einhellig, FA** (1995) Allelopathy: current status and future goals In: Inderjit, Dakshini, KMM, Einhellig, FA (eds.) *Allelopathy: Organisms, Processes and Applications*. Washington DC, US: American Chemical Society, 1-24.
- Estiarte, M, Peñuelas, J** (1999) Excess carbon: the relationship with the phenotypical plasticity in storage and defense functions of plants. *Orsis* **14**: 159-203.
- Facelli, JM, Pickett, STA** (1991) Plant litter: its dynamics and effects on plant community structure. *Bot. Rev.* **57**: 1-32.

- Fajer, ED, Bowers, MD, Bazzaz, FA** (1989) The effects of enriched CO₂ atmospheres on plant-insect interactions. *Science* **243**: 1198-1200.
- Fajer, ED, Bowers, MD, Bazzaz, FA** (1992) The effect of nutrients and enriched CO₂ environments on production of carbon-based allelochemicals in *Plantago*: a test of the carbon/nutrient balance hypothesis. *Am. Nat.* **140**: 707-723.
- Falconer, DS, Mackay, TFC** (1996) *Introduction to Quantitative Genetics*. Essex, England: Longman.
- Farquhar, GD, Ehleringer, JR, Hubick, KT** (1989) Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **40**: 503-537.
- Farrar, JF** (1993) Carbon partitioning In: Hall, DO, Scurlock, JMO, Bolhar-Nordenkamp, HR, Leegood, SC, Long, SP (eds.) *Photosynthesis and Production in a Changing Environment. A Field and Laboratory Manual*. London: Chapman and Hall, 232-246.
- Farrar, JF, Williams, ML** (1991) The effects of increased atmospheric carbon dioxide and temperature on carbon partitioning, source-sink relations and respiration. *Plant, Cell Environ.* **14**: 819-830.
- Feeny, PP** (1970) Seasonal changes in oak leaf tannins and nutrients as a cause of spring feeding by winter moth caterpillars. *Ecology* **51**: 565-581.
- Feeny, PP** (1976) Plant aparency and chemical defense. *Rec. Adv. Phytochem.* **10**: 1-40.
- Field, CB, Chapin, FSI, Matson, PA, Mooney, HA** (1992) Responses of terrestrial ecosystems to the changing atmosphere: a resouce-based approach. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **23**: 201-235.
- Filion, M, Dutilleul, P, Potvin, C** (2000) Optimum experimental design for Free-Air Carbon dioxide Enrichment (FACE) studies. *Glob. Change Biol.* **6**: 843-854.
- Fitter, AH, Hay, RKM** (1987) *Environmental Physiology of Plants*. London, UK: Academic Press.
- Fox, RH, Myers, RJK, Vallis, I** (1990) The nitrogen mineralization rate of legume residues in soil as influenced by their polyphenol, lignin, and nitrogen contents. *Plant Soil* **129**: 251-259.
- Futuyma, DJ, Keese, AM** (1992) Evolution and coevolution of plants and phytophagous arthropods In: Rosenthal, GA, Berenbaum, MR (eds.) *Herbivores: Their Interaction with Secondary Plant Metabolites*. San Diego, California: Academic Press, Inc. 440-475.
- Gallardo, A, Merino, J** (1992) Nitrogen immobilization in leaf litter at two Mediterranean ecosystems of SW Spain. *Biogeochemistry* **15**: 213-228.
- Gallardo, A, Merino, J** (1993) Leaf decomposition in two Mediterranean ecosystems of southwest Spain: influence of substrate quality. *Ecology* **74**: 152-161.
- Gallet, C** (1994) Allelopathic potential in bilberry-spruce forests: influence of phenolic compounds on spruce seedlings. *J. Chem. Ecol.* **20**: 1009-1024.
- Gallet, C, Pellissier, F** (1997) Phenolic compounds in natural solutions of a coniferous forest. *J. Chem. Ecol.* **23**: 2401-2412.
- Gebauer, RLE, Strain, BR, Reynolds, JH** (1998) The effect of elevated CO₂ and N availability on tissue concentrations and whole plant pools of carbon-based secondary compounds in loblolly pine (*Pinus taeda*). *Oecologia* **113**: 29-36.

- Gershenson, J** (1984) Changes in the levels of plant secondary metabolites under water and nutrient stress. *Rec. Adv. Phytochem.* **18**: 273-320.
- Glyphis, JP, Puttick, GM** (1989) Phenolics, nutrition and insect herbivory in some garrigue and maquis plant species. *Oecologia* **78**: 259-263.
- Goering, HK, Van Soest, PJ** (1970) Forage fiber analysis: apparatus, reagents, procedures and some applications. *Agricultural Handbook* **379**:
- Goverde, M, Bazin, A, Shykoff, JA, Erhardt, A** (1999) Influence of leaf chemistry of *Lotus corniculatus* (Fabaceae) on larval development of *Polyommatus icarus* (Lepidoptera, Lycaenidae): effects of elevated CO₂ and plant genotype. *Funct. Ecol.* **13**: 801-810.
- Grime, JP** (1997) Climate change and vegetation In: Crawley, MJ (ed.) *Plant Ecology*. Oxford: Blackwell Science, 582-594.
- Hagerman, AE, Butler, LG** (1991) Tannins and lignins In: Rosenthal, GA, Berenbaum, MR (eds.) *Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites*. Academy Press, Inc. 389-429.
- Hamilton, JG, Zangerl, AR, DeLucia, EH, Berenbaum, MR** (2001) The carbon-nutrient balance hypothesis: its rise and fall. *Ecol. Lett.* **4**: 86-95.
- Han, K, Lincoln, DE** (1994) The evolution of carbon allocation to plant secondary metabolites: a genetic analysis of cost in *Diplacus aurantiacus*. *Evolution* **48**: 1550-1563.
- Harborne, JB** (1988) *Introduction to Ecological Biochemistry*. London, UK: Academic Press.
- Harborne, JB** (1997) Role of phenolic secondary metabolites in plants and their degradation in nature In: Cadisch, G, Giller, KE (eds.) *Plant Litter Quality and Decomposition*. Wallingford, UK: Cab International, 67-74.
- Harper, JL** (1977) *Population Biology of Plants*. London, UK: Academic Press.
- Harrison, AF** (1971) The inhibitory effect of oak litter tannins on the growth of fungi, in relation to litter decomposition. *Soil Biol. Biochem.* **3**: 167-172.
- Hart, SC, Stark, JM, Davidson, EA, Firestone, MK** (1994) Nitrogen mineralization, immobilization and nitrification In: Bigham, JM (ed.) *Methods of Soil Analysis*. Soil Science Society of America, 985-1018.
- Hartley, RD, Whitehead, DC** (1985) Phenolic acids in soils and their influence on plant growth and soil microbial processes In: Vaughan, D, Malcolm, RE (eds.) *Soil Organic Matter and Biological Activity*. Dordrecht: Martinus Nijhoff and Dr W Junk, 109-149.
- Hartley, SE, Jones, CG, Couper, GC, Jones, TH** (2000) Biosynthesis of plant phenolic compounds in elevated atmospheric CO₂. *Glob. Change Biol.* **6**: 497-506.
- Hartmann, T** (1996) Diversity and variability of plant secondary metabolism: a mechanistic view. *Entomol. Exp. Appl.* **80**: 177-188.
- Haslam, E** (1986) Secondary metabolism - facts and fiction. *Nat. Prod. Rep.* **3**: 217-249.
- Hassink, J** (1994) Effects of soil texture and grassland management on soil organic C and N and rates of C and N mineralization. *Soil Biol. Biochem.* **26**: 1221-1231.

- Hättenschwiler, S, Vitousek, PM** (2000) The role of polyphenols in terrestrial ecosystem nutrient cycling. *Trends Ecol. Evol.* **15**: 238-243.
- Hättenschwiler, S, Miglietta, F, Raschi, A, Körner, C** (1997) Thirty years of in situ tree growth under elevated CO₂: a model for future forest response? *Glob. Change Biol.* **3**: 463-471.
- Hendrix, DL, Grange, RI** (1991) Carbon partitioning and export from mature cotton leaves. *Plant Physiol.* **95**: 228-233.
- Herms, DA, Mattson, WJ** (1992) The dilemma of plants: to grow or defend. *Q. Rev. Biol.* **67**: 283-335.
- Hobbie, SE** (1992) Effects of plant species on nutrient cycling. *Trends Ecol. Evol.* 336-339.
- Hoffmann, AA, Parsons, RF** (1991) *Evolutionary Genetics and Environmental Stress*. New York, USA: Oxford University Press.
- Holmes, RM, McClelland, JW, Sigman, DM, Fry, B, Peterson, BJ** (1998) Measuring ¹⁵N-NH₄⁺ in marine, estuarine and fresh waters: An adaptation of the ammonia diffusion method for samples with low ammonium concentrations. *Mar. Chem.* **60**: 235-243.
- Hook, PB, Burke, IC, Lauenroth, WK** (1991) Heterogeneity of soil and plant N and C associated with individual plants and openings in North American shortgrass steppe. *Plant Soil* **138**: 247-256.
- Horner, JD** (1990) Nonlinear effects of water deficits on foliar tannin concentration. *Biochem. Syst. Ecol.* **18**: 211-213.
- Horner, JD, Gosz, JR, Cates, RG** (1988) The role of carbon-based plant secondary metabolites in decomposition in terrestrial ecosystems. *Am. Nat.* **132**: 869-883.
- Howe, HF, Westley, LC** (1988) *Ecological Relationships of Plants and Animals*. New York, US: Oxford University Press.
- Inderjit, Mallik, AU** (1996a) The nature of interference potential of *Kalmia angustifolia*. *Can. J. For. Res.* **26**: 1899-1904.
- Inderjit, Mallik, AU** (1996b) Growth and physiological responses of black spruce (*Picea mariana*) to sites dominated by *Ledum groenlandicum*. *J. Chem. Ecol.* **22**: 575-585.
- Inderjit, Mallik, AU** (1997) Effects of *Ledum groenlandicum* amendments on soil characteristics and black spruce seedling growth. *Plant Ecol.* **133**: 29-36.
- Inderjit, Mallik, AU** (1999) Nutrient status of black spruce (*Picea mariana* [mill.] BSP) forest soils dominated by *Kalmia angustifolia* L. *Acta Oecol.* **20**: 87-92.
- IPCC** (2001) *Intergovernmental Panel on Climate Change 2001: The Scientific Basis. Third Assessment Report of Working Group I*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Jackson, RB, Caldwell, MM** (1993) Geostatistical patterns of soil heterogeneity around individual perennial plants. *J. Ecol.* **81**: 683-692.
- Joffre, R, Gillon, D, Dardenne, P, Agneessens, R, Biston, R** (1992) The use of near-infrared spectroscopy in litter decomposition studies. *Ann. Sci. Forest.* **49**: 481-488.
- Jonasson, S, Havström, M, Jensen, M, Callaghan, TV** (1993) In situ mineralization of nitrogen and phosphorus of arctic soils after perturbations simulating climate change. *Oecologia* **95**: 179-186.

- Jones, CG, Hartley, SE** (1999) A protein competition model of phenolic allocation. *Oikos* **86**: 27-44.
- Jones, CG, Whitman, DM, Silk, PJ, Blum, MS** (1988) Diet breadth and insect chemical defenses: a generalist grasshopper and general hypothesis In: Spencer, KC (ed.) *Chemical Mediation of Coevolution*. New York: Academic Press, 477-512.
- Julkunen-Tiitto, R, Lavola, A, Kainulainen, P** (1995) Does SO₂ fumigation change the chemical defense of woody plants: the effect of short-term SO₂ fumigation on the metabolism of deciduous *Salix myrsinifolia* plants. *Water Air Soil Pollut.* **83**: 195-203.
- Kattenburg, A, Giorgi, F, Grassil, H** (1996) Climate-models-projections of future climate In: Houghton, JT, Meira Filho, LG, Callander, BA (eds.) *Climate Change 1995-The Science of Climate Change. Contribution of Working Group I to Second Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 285-357.
- Kimball, BA** (1983) Carbon dioxide and agricultural yield: an assemblage and analysis of 430 prior observations. *Agron. J.* **75**: 779-788.
- Kirkham, MB, Bartholomew, WV** (1954) Equations for following nutrient transformations in soil, utilizing tracer data. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* **18**: 33-34.
- Koricheva, J** (1999) Interpreting phenotypic variation in plant allelochemistry: problems with the use of concentrations. *Oecologia* **119**: 467-473.
- Koricheva, J, Larsson, S, Haukioja, E, Keinänen, M** (1998) Regulation of woody plant secondary metabolism by resource availability: hypothesis testing by means of meta-analysis. *Oikos* **83**: 212-226.
- Körner, C** (1991) Some often overlooked plant characteristics as determinants of plant growth: A reconsideration. *Funct. Ecol.* **5**: 162-173.
- Körner, C** (1996) The response of complex multispecies systems to elevated CO₂ In: Walker, BH, Steffen, WL (eds.) *Global Change in Terrestrial Ecosystems*. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 20-42.
- Körner, C** (2000) Biosphere responses to CO₂ enrichment. *Ecol. Appl.* **10**: 1590-1619.
- Körner, C, Miglietta, F** (1994) Long-term effects of naturally elevated CO₂ on Mediterranean grassland and forest trees. *Oecologia* **99**: 343-351.
- Kubitzki, K, Gottlieb, OR** (1984) Phytochemical aspects of angiosperm origin and evolution. *Acta Bot. Neerl.* **33**: 457-468.
- Kuiters, AT** (1990) Role of phenolic substances from decomposing forest litter in plant-soil interactions. *Acta Bot. Neerl.* **39**: 329-348.
- Kuiters, AT, Sarink, HM** (1986) Leaching of phenolic compounds from leaf and needle litter of several deciduous and coniferous trees. *Soil Biol. Biochem.* **18**: 475-480.
- Ladd, JN, Parsons, JW, Amato, M** (1977) Studies of nitrogen immobilization and mineralization in calcareous soils. II. Mineralization and immobilized nitrogen from the soil fractions of different particle size and density. *Soil Biol. Biochem.* **9**: 319-325.
- Lambers, H** (1993) Rising CO₂, secondary plant metabolism, plant herbivore interactions and litter decomposition. *Vegetatio* **104/105**: 263-271.

- Lavola, A, Julkunen-Tiitto, R, Roininen, H, Aphalo, P** (1998) Host-plant preference of an insect herbivore mediated by UV-B and CO₂ in relation to plant secondary metabolites. *Biochem. Syst. Ecol.* **26**: 1-12.
- Leadley, PW, Stöcklin, J** (1996) Effects of elevated CO₂ on model calcareous grasslands: community, species and genotype level responses. *Glob. Change Biol.* **2**: 389-397.
- Leadley, PW, Niklaus, PA, Stocker, R, Körner, C** (1999) A field study of the effects of elevated CO₂ on plant biomass and community structure in a calcareous grassland. *Oecologia* **118**: 39-49.
- Leake, JR, Read, DJ** (1989) The effects of phenolic compounds on nitrogen mobilisation by ericoid mycorrhizal systems. *Agric.Ecosys.Environ.* **29**:225-236.
- Leake, JR, Read, DJ** (1990) Proteinase activity in mycorrhizal fungi. I. The effect of extracellular pH on the production and activity of proteinase by ericoid endophytes from soils of contrasted pH. *New Phytol.* **115**: 243-250.
- Lee, TD, Tjoelker, MG, Ellsworth, DS, Reich, PB** (2001) Leaf gas exchange responses of 13 prairie grassland species to elevated CO₂ and increased nitrogen supply. *New Phytol.* **150**: 405-418.
- Lees, GL, Gruber, MY, Suttill, NH** (1995) Condensed tannins in sainfoin. II. Occurrence and changes during leaf development. *Can. J. Bot.* **73**: 1540-1547.
- Lincoln, DE, Fajer, ED, Johnson, RH** (1993) Plant-insect herbivore interactions in elevated CO₂ environments. *Trends Ecol. Evol.* **8**: 64-68.
- Lindroth, RL** (1996) CO₂-mediated changes in tree chemistry and tree-lepidoptera interactions In: Koch, GW, Mooney, HA (eds.) *Carbon Dioxide and Terrestrial Ecosystems*. San Diego, California: Academic Press, 105-120.
- Lindroth, RL, Kinney, KK, Platz, CL** (1993) Responses of deciduous trees to elevated atmospheric CO₂: productivity, phytochemistry and insect performance. *Ecology* **74**: 763-777.
- Lindroth, RL, Roth, S, Nordhein, EV** (2001) Genotypic variation in response of quaking aspen (*Populus tremuloides*) to atmospheric CO₂ enrichment. *Oecologia* **126**: 371-379.
- Loomis, WE** (1932) Growth-differentiation balance vs. carbohydrate-nitrogen ratio. *Proc. Am. Soc. Hortic. Sci.* **29**: 240-245.
- Lüscher, A, Nösberger, J** (1997) Interspecific and intraspecific variability in the response of grasses and legumes to free air CO₂ enrichment. *Acta Oecol.* **18**: 269-275.
- Lüscher, A, Hebeisen, T, Zanetti, S, Hartwig, UA, Blum, H, Hendrey, GR, Nösberger, J** (1996) Differences between Legumes and nonlegumes of permanent grassland in their responses to free-air carbon dioxide enrichment: its effect on competition in a multispecies mixture In: Körner, C, Bazzaz, F (eds.) *Carbon Dioxide, Populations, and Communities*. San Diego: Academic Press, 287-300.
- Lüscher, A, Hendrey, GR, Nösberger, J** (1998) Long-term responsiveness to free air CO₂ enrichment of functional types, species and genotypes of plants from fertile permanent grassland. *Oecologia* **113**: 37-45.
- Ma, Y, Bliss, FA** (1978) Tannin content and inheritance in common bean. *Crop Sci.* **18**: 201-204.
- Mackie, AE, Wheatley, RE** (1999) Effects and incidence of volatile organic compound interactions between soil bacterial and fungal isolates. *Soil Biol. Biochem.* **31**: 375-385.

- Magill, AH, Aber, JD** (2000) Variation in soil net mineralization rates with dissolved organic carbon additions. *Soil Biol. Biochem.* **32**: 597-601.
- Mahner, M, Kary, M** (1997) What exactly are genomes, genotypes and phenotypes? And what about phenomes? *J. Theor. Biol.* **186**: 55-63.
- Mallik, AU** (1995) Conversion of temperate forests into heaths: role of ecosystem disturbance and Ericaceous plants. *Environ. Manage.* **19**: 675-684.
- Mansfield, JL, Curtis, PS, Zak, DR, Pregitzer, KS** (1999) Genotypic variation for condensed tannin production in trembling aspen (*Populus tremuloides*, Salicaceae) under elevated CO₂ and in high- and low-fertility soil. *Am. J. Bot.* **86**: 1154-1159.
- Margna, U** (1977) Control at the level of substrate supply. An alternative in the regulation of phenylpropanoid accumulation in plant cells. *Phytochemistry* **16**: 419-426.
- Marigo, G** (1973) Sur une méthode de fractionnement et d'estimation des composés phénoliques chez les végétaux. *Analisis* **2**: 106-110.
- Martin, JP, Haider, K** (1980) Microbial degradation and stabilization of ¹⁴C-labeled lignins, phenols and phenolic polymers in relation to soil humus formation In: Kirk, TK, Higuchi, T, Chang, H (eds.) *Lignin Biodegradation: Microbiology, Chemistry and Potential Applications*. Florida: CRC Press, 77-100.
- Mastrantonio, M** (2000) Master Thesis. Universitat Autònoma de Barcelona.
- McGuire, AD, Melillo, JM, Joyce, LA** (1995) The role of nitrogen in the response of forest net primary production to elevated atmospheric carbon dioxide. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **26**: 473-503.
- McKey, D** (1974) Adaptive patterns in alkaloid physiology. *Am. Nat.* **108**: 305-319.
- McKey, D** (1979) The distribution of secondary compounds within plants In: Rosenthal, GA, Janzen, DH (eds.) *Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites*. New York, USA: Academic Press, 55-133.
- Meuret, M, Dardenne, P, Biston, R, Poty, O** (1993) The use of NIR in predicting nutritive value of Mediterranean tree and shrub foliage. *J. Near Infrared Spectr.* **1**: 45-54.
- Michelsen, A, Schmidt, IK, Jonasson, S, Dighton, J, Jones, HE, Callaghan, TV** (1995) Inhibition of growth, and effects on nutrient uptake of arctic graminoids by leaf extracts- allelopathy or resource competition between plants and microbes? *Oecologia* **103**: 407-418.
- Miglietta, F, Raschi, A, Bettarini, I, Resti, R, Selvi, F** (1993) Natural CO₂ springs in Italy: a resource for examining long-term response of vegetation to rising atmospheric CO₂ concentrations. *Plant, Cell Environ.* **16**: 873-878.
- Miglietta, F, Bandani, M, Bettarini, I, Van Gardinen, P, Selvi, F, Raschi, A** (1995) Preliminary studies of the long-term CO₂ response of Mediterranean vegetation around natural CO₂ vents In: Moren, JM, Oechel, WC (eds.) *Global Change and Mediterranean-type Ecosystems*. New York: Springer, 102-120.
- Miglietta, F, Bettarini, I, Raschi, A, Körner, C, Vaccari, FP** (1998) Isotope discrimination and photosynthesis of vegetation growing in the Bossoleto CO₂ spring. *Chemosphere* **36**: 771-776.
- Mole, S, Ross, JAM, Waterman, PG** (1988) Light-induced variation in phenolic levels in foliage of rain forest plants. I. Chemical changes. *J. Chem. Ecol.* **14**: 1-21.

- Mooney, HA, Drake, BG, Luxmoore, RJ, Oechel, WC, Pitelka, LF** (1991) Predicting ecosystem responses to elevated CO₂ concentrations. *Bioscience* **41**: 96-104.
- Muller, RN, Kalisz, PJ, Kimmerer, TW** (1987) Intraspecific variation in production of astringent phenolics over a vegetation-resource availability gradient. *Oecologia* **72**: 211-215.
- Nachit, M, Feucht, W** (1983) Inheritance of phenolic compounds, indoles and growth vigour in *Prunus cerasus* (Cherries). *Z Pflanzenzüchtung* **90**: 166-171.
- Nelson, DM, Sommers, LE** (1982) Total carbon, organic carbon and organic matter In: Page, AL, Miller, RH, Keeney, DR (eds.) *Methods in Soil Analysis. Part II: Chemical and Microbiological Properties*. Madison, Wisconsin, USA: Soil Science Society of America, 539-580.
- Nichols-Orians, CM** (1991) Condensed tannins, attine ants and the performance of a symbiotic fungus. *J.Chem.Ecol.* **17**:1177-1185.
- Nichols-Orians, CM, Fritz, RS, Clausen, TP** (1993) The genetic basis for variation in the concentration of phenolic glycosides in *Salix sericea*: Clonal variation and sex-based differences. *Biochem. Syst. Ecol.* **21**: 535-542.
- Nicolai, V** (1988) Phenolic and mineral content of leaves influences decomposition in European forest ecosystems. *Oecologia* **75**: 575-579.
- Nijs, Y, Roy, J, Salager, JL, Fabreguettes, J** (2000) Elevated CO₂ alters carbon fluxes in early-successional Mediterranean ecosystems. *Glob. Change Biol.* **6**: 981-994.
- Niklaus, PA, Leadley, PW, Stöcklin, J, Körner, C** (1998) Nutrient relations in calcareous grassland under elevated CO₂. *Oecologia* **116**: 67-75.
- Nilsson, MC** (1994) Separation of allelopathy and resources competition by the boreal dwarf shrub *Empetrum hermaphroditum* Hagerup. *Oecologia* **98**: 1-7.
- Nilsson, MC, Zackrisson, O** (1992) Inhibition of scots pine seedling establishment by *Empetrum hermaphroditum*. *J. Chem. Ecol.* **18**: 1857-1870.
- Nilsson, MC, Högborg, P, Zackrisson, O, Fengyou, W** (1993) Allelopathic effects by *Empetrum hermaphroditum* on development and nitrogen uptake by roots and mycorrhizae of *Pinus sylvestris*. *Can. J. Bot.* **71**: 620-628.
- Nilsson, MC, Gallet, C, Wallstedt, A** (1998) Temporal variability of phenolics and batatasin-III in *Empetrum hermaphroditum* leaves over an eight-year period: interpretations of ecological function. *Oikos* **81**: 6-16.
- Nommik, H, Vahtras, K** (1982) Retention and fixation of ammonium and ammonia in soils In: Stevenson, FJ (ed.) *Nitrogen in Agricultural Soils*. Madison, USA: ASA-CSSA, 123-171.
- Norby, RJ, Cotrufo, MF, Ineson, P, O'Neill, EG, Canadell, JG** (2001) Elevated CO₂, litter chemistry, and decomposition: a synthesis. *Oecologia* **127**: 153-165.
- Northup, RR, Dahlgren, RA, Yu, Z** (1995) Intraspecific variation of conifer phenolic concentration on a marine terrace soil acidity gradient; a new interpretation. *Plant Soil* **171**: 255-262.
- Northup, RR, Dahlgren, RA, McColl, JG** (1998) Polyphenols as regulators of plant-litter-soil interactions in northern California's pygmy forest: a positive feedback? *Biogeochemistry* **42**: 189-220.

- O'Neill, EG, Norby, RJ** (1996) Litter quality and decomposition rates of foliar litter produced under CO₂ enrichment In: Körner, C, Bazzaz, F (eds.) *Carbon Dioxide, Populations, and Communities*. San Diego: Academic Press, 87-103.
- Oades, JM** (1988) The retention of organic matter in soils. *Biogeochemistry* **5**: 35-70.
- Oechel, WC, Vourlitis, GL** (1996) Direct effects of CO₂ on Arctic plant and ecosystem function In: Koch, GW, Mooney, HA (eds.) *Carbon Dioxide and Terrestrial Ecosystems*. San Diego, CA: Academic Press, 163-176.
- Orians, CM, Roche, BM, Fritz, RS** (1996) The genetic basis for variation in the concentration of phenolic glycosides in *Salix sericea*: An analysis of heritability. *Biochem. Syst. Ecol.* **24**: 719-724.
- Palm, CA, Sanchez, PA** (1990) Decomposition and nutrient release patterns of the leaves of three tropical legumes. *Biotropica* **22**: 330-338.
- Palm, CA, Sanchez, PA** (1991) Nitrogen release from the leaves of some tropical legumes as affected by their lignin and polyphenolics contents. *Soil Biol. Biochem.* **23**: 83-88.
- Panichi, C, Tongiorgi, E** (1975) Carbon isotopic composition of CO₂ from springs, fumaroles, mofettes, and travertines of Central and Southern Italy: a preliminary prospecting method of geothermal area In: *Second United Nations Symposium on the Development and Use of Geothermal Resources*. San Francisco, USA: 815-825.
- Parton, WJ, Schimel, DS, Cole, CV, Ojima, DS** (1987) Analysis of factors controlling soil organic matter levels in great plains grasslands. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **51**: 1173-1179.
- Pellissier, F** (1993) Allelopathic inhibition of spruce germination. *Acta Oecol.* **14**: 211-218.
- Peñuelas, J, Matamala, R** (1990) Changes in N and S leaf content, stomatal density and specific leaf area of 14 plant species during the last three centuries of CO₂ increase. *J. Exp. Bot.* **41**: 1119-1124.
- Peñuelas, J, Estiarte, M** (1998) Can elevated CO₂ affect secondary metabolism and ecosystem function? *Trends Ecol. Evol.* **13**: 20-24.
- Peñuelas, J, Ribas-Carbó, M, Giles, L** (1996) Effects of allelochemicals on plant respiration and oxygen isotope fractionation by the alternative oxidase. *J. Chem. Ecol.* **22**: 801-805.
- Peñuelas, J, Idso, SB, Ribas, A, Kimball, BA** (1997) Effects of long-term atmospheric CO₂ enrichment on the mineral concentration of *Citrus aurantium* leaves. *New Phytol.* **135**: 439-444.
- Peñuelas, J, Estiarte, M, Kimball, BA** (1999) Flavonoid responses in wheat grown at elevated CO₂: green leaves *versus* senescent leaves. *Photosynthetica* **37**: 615-619.
- Peñuelas, J, Filella, I, Lloret, F, Piñol, J, Siscart, D** (2000) Effects of a severe drought on water and nitrogen use by *Quercus ilex* and *Phillyrea latifolia*. *Biol. Plantarum* **43**(1):47-53.
- Peñuelas, J, Filella, I, Tognetti, R** (2001) Leaf mineral concentrations of *Erica arborea*, *Juniperus communis*, and *Myrtus communis* growing in the proximity of a natural CO₂ spring. *Glob. Change Biol.* **7**: 291-301.
- Pind, A, Freeman, C, Lock, MA** (1994) Enzymic degradation of phenolic materials in peatlands-measurement of phenol oxidase activity. *Plant Soil* **159**: 227-231.
- Poorter, H, Lambers, H** (1991) Is interspecific variation in relative growth rate positively correlated with biomass allocation to the leaves? *Am. Nat.* **138**: 1264-1268.

- Poorter, H, Roumet, C, Campbell, BD** (1996) Interspecific variation in the growth response of plants to elevated CO₂: a search for functional types In: Körner, C, Bazzaz, F (eds.) *Carbon Dioxide, Populations, and Communities*. San Diego: Academic Press, 375-412.
- Poorter, H, van Berkel, Y, Baxter, R, Den Hertog, J, Diskstra, P, Gifford, RM, Griffin, KL, Roumet, C, Roy, J, Wong, SC** (1997) The effect of elevated CO₂ on the chemical composition and construction costs of leaves of 27 C3 species. *Plant, Cell Environ.* **20**: 472-482.
- Potvin, C** (1993) ANOVA: experiments in controlled environments In: Scheiner, SM, Gurevitch, J (eds.) *Design and Analysis of Ecological Experiments*. New York: Chapman and Hall, 46-68.
- Potvin, C, Tousignant, D** (1996) Evolutionary consequences of simulated global change: genetic adaptation or adaptive phenotypic plasticity. *Oecologia* **108**: 683-693.
- Raiesi, FG** (1998a) Impacts of elevated atmospheric CO₂ on litter quality, litter decomposability and nitrogen turnover rate of two oak species in a Mediterranean forest ecosystem. *Glob. Change Biol.* **4**: 667-677.
- Raiesi, FG** (1998b) *Effects of Elevated Atmospheric CO₂ on Soil Organic Carbon Dynamics in a Mediterranean Forest Ecosystem*. PhD Dissertation. Wageningen, The Netherlands: Wageningen Agricultural University.
- Rastetter, EB, McKane, RB, Shaver, GV, Melillo, JM** (1992) Changes in C storage by terrestrial ecosystems: how C-N interactions restrict responses to CO₂ and temperature. *Water Air Soil Pollut.* **64**: 327-344.
- Read, DJ** (1991) Mycorrhizas in ecosystems. *Experientia* **47**: 376-391.
- Reich, PB, Tilman, D, Craine, J, Ellsworth, D, Tjoelker, MG, Knops, J, Wedin, D, Naeem, S, Bahauddin, D, Goth, J, Bengtson, W, Lee, TD** (2001) Do species and functional groups differ in acquisition and use of C, N and water under varying atmospheric CO₂ and N availability regimes? A field test with 16 grassland species. *New Phytol.* **150**: 435-448.
- Rhoades, DF** (1979) Evolution of plant chemical defense against herbivores In: Rosenthal, GA, Janzen, DH (eds.) *Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites*. New York: Academic Press, New York, 4-54.
- Rhoades, DF, Cates, RG** (1976) Toward a general theory of plant antiherbivore chemistry. *Rec.Adv.Phytochem.* **10**:168-213.
- Rice, EL** (1974) *Allelopathy*. New York: Academic Press.
- Rice, EL** (1984) *Allelopathy*. Orlando: Academic Press.
- Riha, SJ, Campbell, GS, Wolfe, J** (1986) A model of competition for ammonium among heterotrophs, nitrifiers and roots. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **50**: 1463-1466.
- Rose, SL, Perry, DA, Pilz, D, Schoeneberger, MM** (1983) Allelopathic effects of litter on the growth and colonization of mycorrhizal fungi. *J. Chem. Ecol.* **9**: 1153-1162.
- Rosenthal, GA, Berenbaum, MR** (1992) *Herbivores: Their interactions with Secondary Plant Metabolites*. San Diego, CA: Academic Press.

- Roumet, C, and Roy, J** (1996) Prediction of the growth response to elevated CO₂: a search for physiological criteria in closely related grass species. *New Phytol.* **134**:615-621.
- Roumet, C, Laurent, G, Roy, J** (1999) Leaf structure and chemical composition as affected by elevated CO₂: genotypic responses of two perennial grasses. *New Phytol.* **143**: 73-81.
- Rousi, M, Tahvanainen, J, Henttonen, H, Uotila, I** (1993) Effects of shading and fertilization on resistance of winter-dormant birch (*Betula pendula*) to voles and hares. *Ecology* **74**: 30-38.
- Roy, J, Guillerm, JL, Navas, ML, Dhillion, S** (1996) Responses to elevated CO₂ in mediterranean old-field microcosmos: species, community, and ecosystem components In: Körner, C, Bazzaz, F (eds.) *Carbon Dioxide, Populations, and Communities*. San Diego: Academic Press, 123-138.
- Sagers, CL, Coley, PD** (1995) Benefits and costs of defense in a neotropical shrub. *Ecology* **76**: 1835-1843.
- Salminen, JP, Ossipov, V, Haukioja, E, Pihlaja, K** (2001) Seasonal variation in the content of hydrolysable tannins in leaves of *Betula pubescens*. *Phytochemistry* **57**: 15-22.
- Saxe, H, Ellsworth, DS, Heath, J** (1998) Tansley Review No. 98. Tree and forest functioning in a enriched CO₂ atmosphere. *New Phytol.* **139**: 395-436.
- Scheiner, SM, Lyman, RF** (1989) The genetics of phenotypic plasticity. I. Heritability. *J. Evol. Biol.* **2**: 95-107.
- Schimel, DS** (1993) *Theory and Application of Tracers*. San Diego: Academic Press.
- Schimel, DS** (1995) Terrestrial ecosystems and the carbon cycle. *Glob. Change Biol.* **1**: 77-91.
- Schimel, JP, van Cleve, K, Cates, RG, Clausen, TP, Reichardt, PB** (1995) Effects of balsam poplar (*Populus balsamifera*) tannins and low molecular weight phenolics on microbial activity in taiga floodplain soil: implications for changes in N cycling during succession. *Can. J. Bot.* **74**: 84-90.
- Schimel, JP, Cates, RG, Ruess, R** (1998) The role of *Balsam poplar* secondary chemicals in controlling soil nutrient dynamics through succession in the Alaskan taiga. *Biogeochemistry* **42**: 221-234.
- Schmid, B, Birrer, A, Lavinge, C** (1996) Genetic variation in the response of plant populations to elevated CO₂ in a nutrient-poor, calcareous grassland In: Körner, C, Bazzaz, F (eds.) *Carbon Dioxide, Populations, and Communities*. San Diego: Academic Press, 31-50.
- Schmidt, IK, Michelsen, A, Jonasson, S** (1997) Effects of labile soil carbon on nutrient partitioning between an arctic graminoid and microbes. *Oecologia* **112**: 557-565.
- Schoonhoven, LM, Jermy, T, Van Loon, JJA** (1998) *Insect-plant biology. From Physiology to Evolution*. London, GB: Chapman and Hall.
- Schulte, M** (1998) *Der Einfluß von erhöhtem atmosphärischen CO₂ konzentrationen auf den S-, C-, und N-metabolismus verschiedener Quercus species*. PhD. Thesis. University of Freiburg, Germany.
- Schulze, ED, Chapin, FSI, Gebauer, G** (1994) Nitrogen nutrition and isotope differences among life forms at the northern treeline of Alaska. *Oecologia* **100**: 406-412.
- Shafer, SR, Blum, U** (1991) Influence of phenolic acids on microbial populations in the rhizosphere of cucumber. *J. Chem. Ecol.* **17**: 369-388.

- Singh, A, Tamma, RV, Herbert, NN** (1989) HPLC identification of allelopathic compounds from *Lantana camara*. *J. Chem. Ecol.* **15**: 81-89.
- Smith, JL, Halvorson, JJ, Bolton, H** (1994) Spatial relationships of soil microbial biomass and C and N mineralization in a semi-arid shrub-steppe ecosystem. *Soil Biol. Biochem.* **26**: 1151-1159.
- Sparling, GP, Ord, BG, Vaughan, D** (1981) Changes in microbial biomass and activity in soils amended with phenolic acids. *Soil Biol. Biochem.* **13**: 455-460.
- Steinger, T, Lavinge, C, Birrer, A, Groppe, K, Schmid, B** (1997) Genetic variation in response to elevated CO₂ in three grassland perennials- a field experiment with two competition regimes. *Acta Oecol.* **18**: 263-268.
- Stevenson, FJ** (1982) *Humus Chemistry*. New York: Willey and Sons.
- Stevenson, FJ** (1986) *Cycles of Soil*. New York: John Wiley and Sons.
- Stienstra, AW, Gunnewiek, PK, Laanbroek, HJ** (1994) Repression of nitrification in soils under a climax grassland vegetation. *FEMS Microbiol. Ecol.* **14**: 45-52.
- Stöcklin, J, Schweizer, K, Körner, C** (1998) Effects of elevated CO₂ and phosphorus addition on productivity and community composition of intact monoliths from calcareous grassland. *Oecologia* **116**: 50-56.
- Strain, BR** (1985) Physiological and ecological controls on carbon sequestering in terrestrial ecosystems. *Biogeochemistry* **1**: 219-232.
- Strain, BR, Bazzaz, FA** (1983) Terrestrial plant communities In: Lemon, ER (ed.) *CO₂ and Plants*. Boulder, Colorado: Westview, 177-222.
- Sugai, SF, Schimel, JP** (1993) Decomposition and biomass incorporation of ¹⁴C-labeled glucose and phenolics in taiga forest-floor: effect of substrate quality, successional state, and season. *Soil Biol. Biochem.* **25**: 1379-1389.
- Swain, T** (1977) Secondary compounds as protective agents. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **28**: 479-501.
- Tan, KH** (1996) *Soil Sampling, Preparations and Analysis*. New York, USA: Marcel Dekker, Inc.
- Tang, C, Cai, W, Kohl, K, Nishimoto, RK** (1995) Plant stress and allelopathy In: Inderjit, Dakshini, KMM, Einhellig, FA (eds.) *Allelopathy: Organisms, Processes and Applications*. Washington DC, US: American Chemical Society, 142-157.
- Thomas, SC, Jasienski, M** (1996) Genetic variability and the nature of microevolutionary responses to elevated CO₂ In: Körner, C, Bazzaz, F (eds.) *Carbon Dioxide, Populations, and Communities*. San Diego: Academic Press, 51-81.
- Thompson, RH** (1964) Structure and reactivity of phenolic compounds In: Harbone, JB (ed.) *Biochemistry of Phenolic Compounds*. London: Academic Press, 1-32.
- Timmer, VR, Armstrong, G** (1987) Diagnosing nutritional status of containerized tree seedlings: comparative plant analyses. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **51**: 1082-1086.
- Tognetti, R** (1999) *The impact of long-term elevated CO₂ concentrations on the water relations, stomatal behavior and hydraulic architecture of shrubs, and stem growth of trees in a Mediterranean forest ecosystem*. PhD Dissertation. Trinity College, University of Dublin.

- Tognetti, R, Peñuelas, J** (2001) Carbon and nitrogen isotope discrimination in three Mediterranean shrub species co-occurring at a natural CO₂ vent. *Acta Oecol.* **submitted**
- Tognetti, R, Cherubini, P, Innes, J** (2000a) Comparative stem-growth rates of Mediterranean trees under background and naturally enhanced ambient CO₂ concentrations. *New Phytol.* **146**: 59-75.
- Tognetti, R, Minnocci, A, Peñuelas, J, Raschi, A, Jones, MB** (2000b) Comparative field water relations of three Mediterranean shrub species co-occurring at a natural CO₂ vent. *J. Exp. Bot.* **51**: 1131-1146.
- Van Gardinen, PR, Grace, J, Jeffree, CE, Byari, SH, Miglietta, F, Raschi, A, Bettarini, I** (1997) Long-term effects of enhanced CO₂ concentrations on leaf gas exchange: research opportunities using CO₂ springs In: Raschi, A, Miglietta, F, Tognetti, R (eds.) *Plant Responses to Carbon Dioxide: Evidence from Natural Springs*. Cambridge, UK: Cambridge University Press,
- Van Soest, PJ, Robertson, JB** (1985) *Analysis of Forages and Fibrous Foods: a Laboratory Manual for Animal Science*. Cornell, USA: Cornell University Publications.
- Vinton, AM, Burke, IC** (1995) Interactions between individual plant species and soil nutrient status in shortgrass steppe. *Ecology* **76**: 1116-1133.
- Vitousek, PM, Horwarth, RW** (1991) Nitrogen limitation on land and sea: how can it occur? *Biogeochemistry* **13**: 87-115.
- Vokou, D, Margaris, NS, Lynch, JM** (1984) Effects of volatile oils from aromatic shrubs on soil microorganisms. *Soil Biol. Biochem.* **16**: 509-513.
- Wallstedt, A, Nilsson, MC, Odham, G, Zackrisson, O** (1997) A method to quantify the allelopathic compound batatasin-III in extracts from *Empetrum hermaphroditum* using gas chromatography: applied on extracts from leaves of different ages. *J. Chem. Ecol.* **23**: 2345-2355.
- Wang, N, Nobel, P** (1996) Doubling the CO₂ concentration enhanced the activity of carbohydrate-metabolism enzymes, source carbohydrate production, photoassimilate transport, and sink strength for *Opuntia ficus-indica*. *Plant Physiol.* **110**: 893-902.
- Wang, X, Curtis, PS, Pregitzer, KS, Zak, DR** (2000) Genotypic variation in physiological and growth responses of *Populus tremuloides* to elevated atmospheric CO₂ concentration. *Tree Physiol.* **20**: 1019-1028.
- Wardle, DA** (1998) Controls of temporal variability of the soil microbial biomass: a global-scale synthesis. *Soil Biol. Biochem.* **30**: 1627-1637.
- Wardle, DA, Nilsson, MC** (1997) Microbe-plant competition, allelopathy and arctic plants. *Oecologia* **109**: 291-293.
- Waterman, PG, Mole, S** (1994) *Analysis of Phenolic Plant Metabolites*. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Went, FW** (1970) Plants and the chemical environment In: Sondheimer, E, Simeone, JB (eds.) *Chemical Ecology*. New York, US: Academic Press,
- Whitehead, DC, Dibb, H, Hartley, RD** (1982) Phenolic compounds in soil as influenced by the growth of different plant species. *J. Appl. Ecol.* **19**: 579-588.

- Whittaker, RH** (1970) The biochemical ecology of higher plants In: Sondheimer, E, Simeone, JB (eds.) *Chemical Ecology*. New York, US: Academic Press,
- Wink, M, Witte, L** (1985) Quinolizidine Alkaloids in *Petteria Ramentacea* and the infesting aphids, *Aphis cytisorum*. *Phytochemistry* **24**: 2567-2568.
- Wolfe, DM, Gifford, RM, Hilbert, RM, Luo, Y** (1998) Integration of photosynthetic acclimation to CO₂ at the whole-plant level. *Glob. Change Biol.* **4**: 879-893.
- Wulff, R, Miller-Alexander, H** (1985) Intraspecific variation in the response to CO₂ enrichment in seeds and seedlings of *Plantago lanceolata*. *Oecologia* **66**: 458-460.
- Zackrisson, O, Nilsson, MC** (1992) Allelopathic effects by *Empetrum hermaphroditum* on seed germination of two boreal tree species. *Can. J. For. Res.* **22**: 1310-1319.
- Zanetti, S, Hartwig, UA, Van Kessel, C, Lüscher, A, Hebeisen, T, Frehner, M, Fischer, BU, Hendrey, GR, Blum, H, Nösberger, J** (1997) Does nitrogen nutrition restrict the CO₂ response of fertile grassland lacking legumes? *Oecologia* **112**: 17-25.
- Zangerl, AR, Bazzaz, FA** (1992) Theory and pattern in plant defense allocation In: Fritz, RS, Simms, EL (eds.) *Plant Resistance to Herbivores and Pathogens. Ecology, Evolution and Genetics*. Chicago, USA: The University Chicago Press, 363-391.
- Zhu, H, Mallik, AU** (1994) Interactions between *Kalmia* and black spruce: isolation and identification of allelopathic compounds. *J. Chem. Ecol.* **20**: 407-421.
- Zucker, WV** (1982) How aphids choose leaves, the role of phenolics in host selection by a galling aphid. *Ecology* **63**: 972-981.