



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI



SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA
Scienze dei Sistemi Agrari e Forestali
e delle Produzioni Alimentari

Indirizzo: Agrometeorologia ed ecofisiologia dei sistemi agrari e forestali

CICLO XXVI

**EFFETTI DELL'OMBREGGIAMENTO
SU QUATTRO SPECIE LEGNOSE MEDITERRANEE:
MORFOLOGIA, ANATOMIA E FISIOLOGIA FOGLIARE**

dr. Valeria Anna Biglio

<i>Direttore della Scuola</i>	prof. Alba Pusino
<i>Referente di Indirizzo</i>	prof. Donatella Spano
<i>Docente Guida</i>	prof. Maurizio Mulas

Anno accademico 2012-2013

INDICE

RIASSUNTO	3
ABSTRACT	4
INTRODUZIONE	
Cambiamenti climatici e potenziale riduzione della radiazione extraterrestre	5
Fisiologia vegetale e radiazione	9
L’adattamento delle piante alla riduzione della radiazione	12
La macchia mediterranea	17
OBIETTIVI DELLA TESI	20
MATERIALI E METODI	21
RISULTATI	37
DISCUSSIONE E CONCLUSIONI	89
BIBLIOGRAFIA	96
APPENDICE	103

RIASSUNTO

La foglia è certamente l'organo della pianta che più degli altri si modifica seguendo i cambiamenti ambientali per ottimizzare le sue funzioni, anche in condizioni di stress. L'insieme delle modificazioni eventualmente subite viene definito plasticità e si identifica in adattamenti morfologici e fisiologici. Per verificare se ci sono e quali sono le risposte morfologiche, anatomiche e fisiologiche alla riduzione della radiazione solare, sono state studiate alcune caratteristiche fogliari in quattro specie legnose della macchia mediterranea come *Quercus ilex*, *Arbutus unedo*, *Myrtus communis* e *Pistacia lentiscus*, nel contesto di un esperimento controllato che ha previsto quattro gradi di ombreggiamento artificiale (70%, 60%, 50% e 30% di riduzione della radiazione solare naturale) più una parcella di controllo libera da qualsiasi intercezione della radiazione (0%). I parametri studiati sono stati: il contenuto in clorofille e carotenoidi delle foglie, il colore, le aree e le dimensioni fogliari, gli spessori delle cuticole, delle epidermidi, del parenchima a palizzata e del lacunoso. Sono stati inoltre raccolti valori di assorbimento spettrale tramite SPAD e analizzate le correlazioni tra questi e i contenuti in clorofille estratte per ciascuna specie.

Le specie studiate hanno risposto alle variazioni ambientali in maniera attiva modificando alcune delle loro caratteristiche.

ABSTRACT

Leaf is the most responsive part of a plant to environmental conditions change. This adaptation increases the fitness also considering stress conditions. Leaf plasticity is expressed in morphological and physiological changes. Morphological, anatomical and physiological traits of four woody shrub species of the Mediterranean maquis were studied: holm oak (*Quercus ilex*), strawberry tree (*Arbutus unedo*), myrtle (*Myrtus communis*), and lentisk (*Pistacia lentiscus*). The work aimed to verify leaf responses under different light levels (70%, 60%, 50% and 30% of sunlight reduction).

Leaf areas, perimeters, chlorophyll *a* and *b* and carotenoids content, color values, cuticle, epidermis, spongy and palisade parenchyma thickness were analyzed. Also correlations between SPAD values and extracted chlorophyll content were provided.

The studied species showed changes in some leaves characteristics in response to changed environmental conditions.

INTRODUZIONE

Cambiamenti climatici e potenziale riduzione della radiazione extraterrestre

Il clima è lo stato medio delle condizioni atmosferiche rilevate, come temperatura, umidità, pressione atmosferica e altre grandezze, su una data regione e durante un lungo periodo, riferito in genere ad almeno un trentennio, come stabilito dalla WMO (2014). Una delle principali variabili climatiche è data dall'irraggiamento solare. Oltre a essere la principale fonte di energia che sul nostro pianeta sostenga i processi chimici, fisici, biologici e quindi meteorologici, la radiazione extraterrestre, è tra i più importanti fattori climatici in agricoltura, nonché il motore principale di tutte le altre caratteristiche di un dato clima sulla terra, variando in maniera precisa e regolare alle varie latitudini a causa della geografia terrestre che determina una diversa inclinazione dei raggi solari, giornalmente per via del moto di rotazione terrestre e stagionalmente per via dell'inclinazione dell'asse terrestre (Larcher, 1993).

Negli ultimi decenni, grazie all'analisi dei dati storici e attuali sul clima nelle diverse parti del globo terrestre, si è osservato che, seppur come per sua natura da sempre, il clima sta cambiando, talvolta in maniera repentina, come conseguenza di un certo impatto antropico, sempre più incisivo, specialmente a partire dagli anni della rivoluzione industriale. Gli scienziati di tutto il mondo concordano sugli aumenti della temperatura media, globale e/o confinata a determinate regioni, e sulla diminuzione della piovosità, ma pochi studi si orientano su altri fattori, che talvolta non sono contemplati nei vari modelli matematici. Nell'ambito dello studio sui cambiamenti climatici le conseguenze determinate dalla variazione della quantità e del tipo di copertura nuvolosa sulle variabili climatiche principali sono ancora profondamente remote nella ricerca. Infatti, è complicato inserire in un modello climatico – già di per sé complesso e articolato – tutte quelle variabili associate alla copertura nuvolosa: tipo di nube, quantità, quota, solo per citarne alcune (IPCC, 2007; Tang e Leng, 2012).

Si tratta di arrivare a un'unica conclusione che contempla troppe variabili. Feedback negativi e positivi predominano talvolta l'uno sull'altro secondo variabili molto complesse

e con un andamento che dipende dalle molteplici caratteristiche riferite alle nubi, cui poco sopra si è accennato. Pertanto gli effetti di feedback dovuti al sistema nubi restano la più ampia fonte d'incertezza per la stima della sensibilità climatica (IPCC, 2007), ricordando che quest'ultima è una misura della variazione della temperatura nel sistema climatico in relazione ai cambiamenti nel bilancio radiativo globale. Sono diversi gli studi che hanno dimostrato significative riduzioni, negli ultimi cinquant'anni, della radiazione solare che giunge sulla superficie terrestre. La riduzione globale annuale è in media pari a $0,51 \pm 0,05$ $W\ m^{-2}$, corrispondente al 2,7% in meno a decennio. Una delle cause più accreditate di questa riduzione è attribuita all'aumento di inquinanti (soprattutto solfati) e *aerosols* prodotti dall'attività umana che avrebbero cambiato le proprietà ottiche dell'atmosfera, e in particolare delle nubi (Stanhill e Cohen, 2001). Un fattore come l'inquinamento favorisce la formazione delle nubi (Ramanathan *et al.*, 2001) e la loro presenza riduce drasticamente e velocemente la radiazione solare netta e quindi l'energia disponibile ai processi biologici da essa dipendenti (Agam *et al.*, 2013). Inoltre le incertezze associate agli studi sulle nubi sono molte. In sostanza la riduzione della radiazione che giunge al suolo terrestre è attribuibile all'aumento degli *aerosols* e della copertura nuvolosa e loro interazioni, ma è anche complesso e difficile quantificare questi fenomeni. Una delle conseguenze più problematiche si dovrebbe aspettare nella diminuzione della produttività. Ricerche in questa direzione sono attualmente in corso anche perché nasce la necessità di spiegare la sovrastima del *global warming* dovuta all'uso di modelli che non includono il *forcing* radiativo negativo dovuto agli *aerosols* (Houghton *et al.*, 1996).

Dunque un possibile cambiamento nelle condizioni climatiche che influenzi la quantità di radiazione extraterrestre, potrebbe riflettersi su cambiamenti e nuovi adattamenti della vegetazione, che risponde sensibilmente alle variazioni ambientali. Questa risposta si evidenzerebbe in cambiamenti a livello morfologico, anatomico, ma anche biochimico e fisiologico (Tattini *et al.*, 2006; Stanton *et al.*, 2010).

La radiazione elettromagnetica comprende un ampio spettro a diverse lunghezze d'onda e cioè dalle onde radio a bassa frequenza, cioè onde corte, fino ai raggi gamma ad alta frequenza o onde lunghe. Le onde corte trasportano una maggiore energia rispetto a quelle a onde lunghe. La radiazione emessa dal sole comprende un ampio spettro (Fig. 1), di cui le lunghezze d'onda comprese tra circa 400 e 700 nm costituiscono lo spettro della radiazione visibile e che in sostanza compone lo spettro della radiazione fotosinteticamente attiva (PAR – *Photosynthetically Active Radiation*). Al di fuori dello spettro di luce visibile le radiazioni a lunghezze d'onda più corte costituiscono i raggi ultravioletti (UV), che

comprendono i raggi UV-A (380 – 315 nm) e UV-B (280 – 315 nm). Le radiazioni a lunghezza d'onda più lunghe costituiscono invece l'infrarosso (IR). Infine si distingue un infrarosso “vicino” che comprende lunghezze d'onda da 740 a 4000 nm, e un infrarosso “lontano” o radiazione termica oltre i 4000 nm e fino ai 100.000 nm (Smith e Smith, 2007). La radiazione viaggia verso la terra alla velocità della luce ed ha le proprietà sia delle onde sia delle particelle (Wallace e Hobbs, 2006). L'irradianza è l'energia che giunge sulla superficie terrestre per unità di area, generalmente indicato in $W \cdot m^{-2}$. La radiazione che giunge al *top* dell'atmosfera terrestre è pressoché costante, mentre la superficie terrestre è raggiunta solo da una porzione della radiazione totale; porzione che varia a causa dei fenomeni fisici che avvengono nel tragitto che compie cioè come la riflessione, la rifrazione, l'assorbimento e la diffusione dovuta alla presenza dell'atmosfera terrestre.

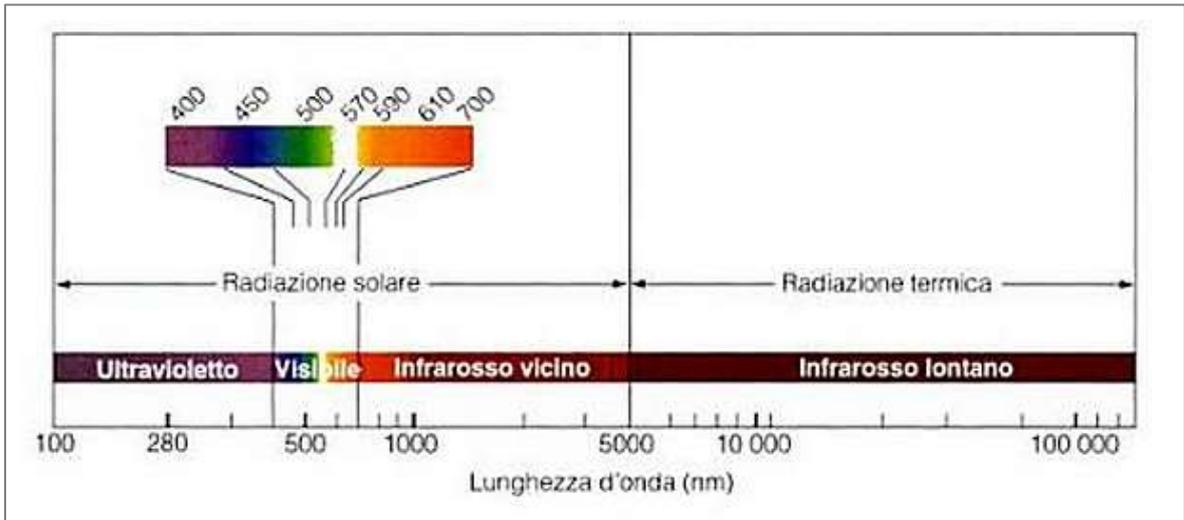


Figura 1. Spettro elettromagnetico della radiazione solare e termica.

Fisiologia vegetale e radiazione

La luce è considerata il principale fattore limitante nella sopravvivenza e crescita delle piante (Chazdon e Fetcher, 1984; Chazdon, 1988). Se si considera la sola funzione fotosintetica, le piante usufruiscono unicamente di una parte dello spettro elettromagnetico in cui la radiazione solare si articola, che costituisce la radiazione fotosinteticamente attiva (PAR – *Photosynthetically Active Radiation*) che comprende le lunghezze d'onda tra i 400 e i 700 nm. In particolare i picchi di assorbimento delle clorofille si collocano intorno a 470 e 660 nm in corrispondenza delle lunghezze d'onda del blu e del rosso (Fig. 2). Altri pigmenti presenti nella foglia come i carotenoidi assorbono principalmente nell'azzurro e violetto, ampliando così l'insieme delle lunghezze d'onda utilizzabili dalla pianta.

La radiazione solare è la primordiale fonte di energia per gli organismi viventi sia in maniera diretta, come nel caso degli organismi vegetali, che sfruttano principalmente la fotosintesi per produrre sostanze organiche, sia indiretta nel caso di tutti quegli organismi che dalle piante dipendono e che comunque beneficiano dell'energia solare. Fotosintesi e intensità luminosa sono ben correlate, ma anche la temperatura gioca un ruolo importante nel determinare l'andamento e la velocità del processo. Infatti, la fotosintesi aumenta con la temperatura, ma solo all'interno di uno specifico intervallo di temperature, mentre al di fuori di questo la fotosintesi si arresta per inattivazione di alcuni enzimi coinvolti nel processo, quando, ad esempio, la temperatura assuma valori troppo alti o troppo bassi, tenendo comunque in considerazione anche le variazioni specie-specifiche (Lambers *et al.*, 2008).

Indipendentemente dall'attività fotosintetica, inoltre, le caratteristiche e proprietà dell'intera radiazione solare hanno altri effetti sulla vegetazione. Le piante si servono della radiazione solare non solo come fonte di energia, ma come informazione sull'ambiente in cui vivono, con capacità di rispondere alla durata, tipo di lunghezza d'onda e direzione della luce. Questi comportamenti s'identificano nel fotoperiodismo (comportamenti mostrati periodicamente col mutare della luce), fototropismo (le piante fanno in modo di ottimizzare la loro posizione rispetto alla luce) e fotomorfogenesi (processi di crescita indotti dalla luce) (Kendrick e Kronenberg, 1994).

Quando la radiazione colpisce una pianta, una parte viene riflessa, una parte assorbita e una parte trasmessa (cioè attraversa la pianta). Poiché esiste una certa variabilità

nella quota di radiazione che arriva sulla pianta e nella sua lunghezza d'onda, a seconda di cosa avviene in questi passaggi fisici, vi è una grande variabilità anche negli effetti che la radiazione può avere sulla vegetazione, tenendo poi sempre presente anche la variabilità specifica.

Studi recenti sull'effetto delle radiazioni UV sulle piante affermano che essa abbia effetti sulla morfologia fogliare, ad esempio un aumento della porzione UV determinerebbe un aumento nello spessore fogliare (Robson *et al.*, 2014).

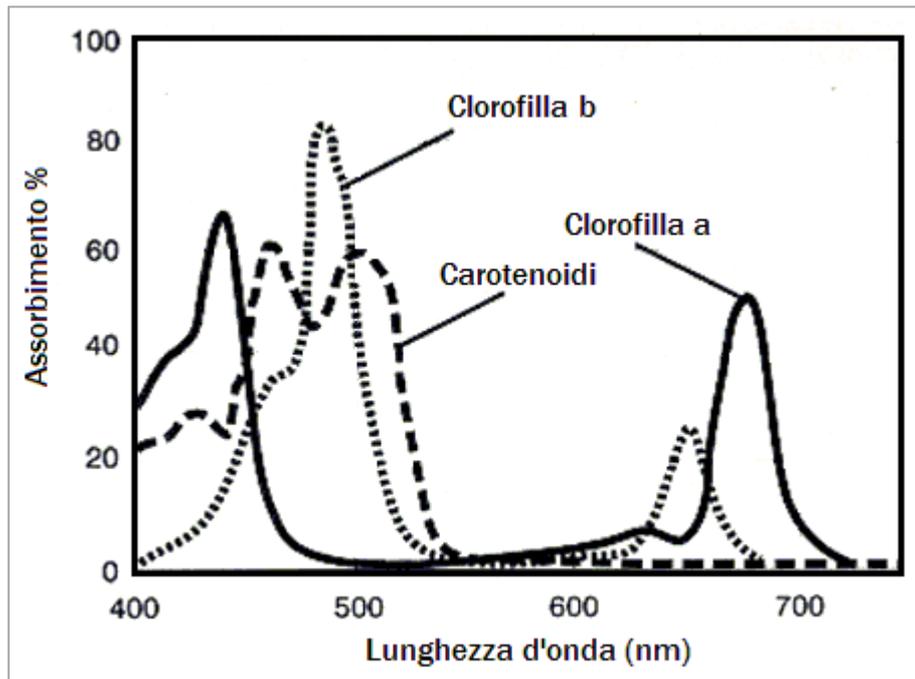


Figura 2. Distribuzione dei picchi di assorbimento nei principali pigmenti clorofilliani.

L'adattamento delle piante alla riduzione della radiazione

La morfologia delle piante si modifica in modo tale che sia ottimizzata l'intercettazione della radiazione solare, mentre è a livello fisiologico che ne viene regolato l'utilizzo.

L'adattamento può essere considerato sia in tempi lunghi sia in tempi brevi. Se si considera l'adattamento di un singolo organismo a una certa variazione ambientale, ad esempio, si può parlare di adattamento immediato o acclimatazione, che avviene di norma su scale temporali dell'ordine dai secondi ai giorni (Smith e Smith, 2007). Se invece si considera l'adattamento di una popolazione oppure di una specie, allora i tempi diventano necessariamente più lunghi, ragionando su generazioni ed evoluzione. Pertanto, una definizione di adattamento può essere la seguente: *“adeguamento di un organismo, una specie o di un sistema ambientale al modificarsi delle condizioni esterne”*, o anche *“facoltà degli organismi viventi di mutare i propri processi metabolici, fisiologici e comportamentali, consentendo loro di adattarsi alle condizioni dell'ambiente nel quale vivono”*, a questo proposito inserito anche nell'ottica dei cambiamenti climatici globali e nei relativi riflessi locali (ISPRA, 2012). La definizione in inglese può essere più significativa con poche e semplici parole: *“the adjustment of an organism to its environment, or the process by which it enhances such fitness”*.

Come visto la quantità di radiazione è particolarmente variabile. Questo, nel tempo, ha fatto sì che la vegetazione si adattasse alle diverse condizioni, in questo caso di luce, specializzandosi in eliofilia piuttosto che in sciafilia (Taiz e Zeiger, 2002).

Per quanto riguarda le piante, ci sono specie meglio adattate a vivere in ambienti soleggiati e altre invece nella penombra, rispettivamente dette eliofile e sciafile. Esistono poi delle situazioni intermedie, per cui si parla di specie mesofile. La collocazione di un organismo in una piuttosto che in un'altra classe si effettua a seconda del punto di compensazione della luce, che rappresenta il punto di intensità luminosa in corrispondenza del quale si ha l'equilibrio tra la respirazione e la fotosintesi, ovvero quel punto in cui i due processi si equivalgono in termini di consumo e produzione sia di ossigeno sia di anidride carbonica: al di sotto prevale la respirazione (e quindi la crescita è nulla) e viceversa. Pertanto, per una pianta eliofila il punto di compensazione è più elevato che per una

sciafila. Naturalmente sono anche altre differenze fra specie eliofile e sciafile e sono certamente ben evidenti quando si considera la morfologia e l'anatomia fogliare.

Generalmente le piante eliofile hanno foglie con minore area, maggiore spessore del mesofillo, dovuto a incremento del parenchima a palizzata, come osservato nel leccio (Zaragoza-Castells *et al.*, 2008; Gratani *et al.*, 2006) e nel mirto (Mendes *et al.*, 2001), dove si nota anche una maggiore quantità di clorofille per le foglie esposte al sole, al contrario di come invece accade per leccio e lentisco (Gratani *et al.*, 2006; Valladares *et al.*, 2000a). Per specie eliofile, a seguito della riduzione artificiale della radiazione disponibile, ci si aspetterebbe una bassa crescita in quanto non adatte a una migliore efficienza fotosintetica rispetto a specie sciafile, che reagirebbero all'ombreggiamento in maniera più attiva (Benayas *et al.*, 2005). Un maggiore irraggiamento, invece, determina un differente metabolismo respiratorio nelle foglie. Alti tassi di respirazione fogliare si hanno nei siti più caldi, più irraggiati e soggetti a minor piovosità (Wright *et al.*, 2006). Le foglie esposte maggiormente alla luce sono più spesse e più piccole rispetto a foglie ombreggiate, e contengono inoltre meno clorofilla per unità di massa. L'adattamento all'irraggiamento determina anche cambiamenti a livello biochimico: poiché una quantità significativa di azoto è usata per costruire proteine fotosintetizzanti, si ha una forte correlazione positiva tra contenuto in azoto e irradianza (Meletiyou-Christou *et al.*, 1994; Reich *et al.*, 2003; Niinemets e Valladares, 2004; Terashima *et al.*, 2001). Inoltre le foglie sviluppate in condizioni di elevata luminosità hanno un punto di compensazione della fotosintesi più alto per unità di superficie e un maggiore introito di carbonio rispetto a foglie cresciute in condizioni di minore luminosità.

Anche l'inclinazione delle foglie ha importanza nelle strategie adattative di certe specie come nel corbezzolo (Gratani e Ghia, 2002). Le piante terrestri rispondono alla quantità di luce e diversi tipi di stress mutando le proprietà strutturali delle foglie insieme con l'orientamento delle stesse (Smith *et al.*, 1997).

Si nota, dunque, che gli organi di una pianta, in particolar modo le foglie, sono in grado di adattarsi modificando le loro caratteristiche anatomiche, morfologiche e biochimiche in maniera evidente e talvolta repentina (Fetcher *et al.*, 1983). Questa è la plasticità fogliare, una caratteristica intrinseca della foglia, che risulta essere senza dubbio l'organo in assoluto più sensibile alle variazioni chimiche, fisiche e quindi meteorologiche dell'ambiente circostante. La foglia è certamente l'organo di una pianta che per primo e in maniera più evidente si modifica seguendo i cambiamenti ambientali (Sultan, 1995; Navas e Garnier, 2002). Dal momento che le strategie per adattarsi alle diverse condizioni di luce

sono significativamente divergenti, le piante devono specializzarsi in una o nell'altra condizione, oppure cercare di modificare il fenotipo a seconda della luce disponibile (Valladares, 1999). Per comparare la plasticità fogliare tra specie diverse si può utilizzare l'indice di plasticità (Valladares *et al.*, 2000b).

Molti studi sulla risposta delle piante alla luce sono stati finalizzati a evidenziare i meccanismi fisiologici e morfologici e le implicazioni ecologiche della tolleranza a condizioni estreme (in questo caso luce o ombra), ma solo alcuni sono volti a capire gli andamenti della risposta plastica alla luce (Valladares, 2000; Valladares *et al.*, 2000b). In una stessa pianta si creano ambienti eterogenei quanto a condizioni di esposizione alla luce e ciò determina differenti condizioni per le foglie nelle differenti posizioni. La reazione morfologica e fisiologica di ciascuna foglia della chioma alla luce determina la complessiva produttività della pianta (Caldwell *et al.*, 1986; Valladares, 2000).

L'esistenza di due tipi di foglie sulla stessa pianta è uno speciale caso di adattamento (Rhizopoulou *et al.*, 1991). Dunque la plasticità fogliare è determinante nella capacità di tollerare una eccessiva quantità di luce (Valladares e Pearcy, 1999). Inoltre si conosce poco sul funzionamento delle foglie ai vari livelli della chioma con le variazioni stagionali (Rhizopoulou *et al.*, 1991). Le specie mediterranee sempreverdi, in particolare, mostrano evidenti adattamenti ad alti livelli di luminosità a livello fogliare sia morfologici sia fisiologici (Larcher, 2000; Martinez-Ferri *et al.*, 2000; Gratani e Varone, 2004).

Il trattamento di ombreggiamento permette di manipolare la tempistica della fioritura sia come durata sia come momento d'inizio L'intensità luminosa giornaliera in inverno è all'incirca un decimo di quella estiva, in particolare in climi temperati. Quindi i vivaisti di piante ornamentali ad alto valore che non investono in luce supplementare in inverno restano fuori dal *business* economico in queste regioni (Baloch *et al.*, 2009).

Piante di specie differenti usano il gradiente della luce in maniere diverse. Specie diverse fanno uso di risorse che seguono un certo gradiente (come la luce) in modi diversi. In primo luogo si specializzano nell'utilizzo ciascuna di una diversa parte del gradiente, quindi risultano divise per nicchie, in secondo luogo all'interno della parte del gradiente usato da una specie, le piante rispondono a differenze nella disponibilità di risorse attraverso la plasticità. La composizione specifica all'interno di una comunità è dominata da adattamenti morfo-fisiologici a differenti livelli di luminosità (Böhnke e Bruehlheide, 2013).

Conoscere le abilità specifiche delle piante messe in atto per sopravvivere e crescere in condizioni di scarsa luce è considerato un prerequisito cruciale nella predizione

delle risposte ecosistemiche come effetto del *global change* (Valladares e Niinemets, 2008).

In risposta all'ombreggiamento, esempi di un attivo tipo di plasticità sono aumenti nelle dimensioni delle foglie (Valladares and Pearcy, 1998), dell'area specifica (Delagrangue, 2011) o l'allungamento degli internodi (van Kleunen e Fischer, 2005).

Le foglie sono altamente suscettibili alle variazioni ambientali, principalmente a quelle che riguardano l'intensità luce. Le foglie che si sviluppano sotto alta intensità (foglie di sole) sono solitamente più piccole e più spesse, hanno frequentemente una maggiore densità stomatica, più spesse epidermidi e cuticole e un più sviluppato mesofillo rispetto a foglie cresciute in condizioni di scarsa luminosità (foglie di ombra) (Schulze *et al.*, 2002).

In uno studio, ad esempio, alcune specie hanno risposto all'ombreggiamento con aumenti dell'area fogliare e dell'area specifica. Queste variazioni non seguono in maniera regolare l'aumento dell'ombreggiamento, ad esempio (Stanton *et al.*, 2010) la crescita, la fioritura, e la densità all'interno della *canopy* sono state maggiori in piena luce e al 40% di ombra rispetto all'80% di ombra.

La dimensione delle foglie diminuisce e l'angolo delle foglie aumenta molto di più in *M. communis* che in *P. lentiscus*, come anche accade con lo spessore fogliare totale e della cuticola e anche per il rapporto tra tessuto a palizzata e lacunoso in risposta a luce elevata (Tattini *et al.*, 2006).

Diversi studi si orientano sull'interazione tra ombreggiamento e siccità (Aranda *et al.*, 2005; Valladares e Pearcy, 2002). Le performance di una pianta sono minori all'ombra e in condizioni di stress idrico perché questo favorisce l'investimento in apparato radicale (Valladares e Pearcy, 2002), mentre secondo altri (Holmgren, 2000) queste condizioni sono favorevoli alla crescita della pianta perché in ombra la domanda idrica della pianta è minore. Infine altri studi (Sack e Grubb, 2002) non dichiarano alcuna conseguenza perché l'effetto ombra e l'effetto stress idrico sarebbero due processi ortogonali.

Per Aranda *et al.* (2005) il contenuto in clorofilla mostra il tipico schema di acclimatazione sole-ombra, aumentando con l'ombreggiamento. Piante esposte al 2% di luce, hanno una bassa capacità fotosintetica. Quando la disponibilità idrica supera le limitazioni imposte dall'ombreggiamento, l'ombreggiamento stesso diventa un vantaggio, e questa è una condizione che si riscontra nel sottobosco delle foreste mediterranee nei mesi estivi. Il contenuto totale in clorofilla è più alto in condizioni di ombreggiamento, e probabilmente questo giustifica anche la diminuzione del verde relativo al colore delle foglie con l'aumento dell'ombra (Stanton *et al.*, 2010).

In altri studi sono state considerate specie di *Quercus* sotto differenti condizioni di luce. I risultati hanno mostrato la forte associazione tra gli adattamenti anatomici fogliari e l'efficienza dei processi fisiologici. Sono stati osservati gli spessori fogliari dei vari strati e si è visto che in generale lo spessore totale, la cuticola, l'epidermide superiore e il palizzata sono risultati essere più spessi nei trattamenti non ombreggiati. Le foglie ombreggiate erano più sottili delle altre. In questo modo uno spessore più grosso favorisce una più alta efficienza nell'uso dell'acqua e una minore domanda evapotraspirativa sotto condizioni di alta radiazione (Ashton e Berlyn, 1994)

Per Puértolas *et al.* (2009) l'ombreggiamento diminuisce la crescita e aumenta l'area specifica, ma l'effetto dipende dal grado di tolleranza dell'ombra delle varie specie. Ad esempio la plasticità morfologica è risultata essere minore in *Q. ilex*, che è una specie tollerante all'ombra rispetto a una specie meno tollerante.

La macchia mediterranea

Le specie oggetto di studio cioè *Myrtus communis* L., *Pistacia lentiscus* L., *Arbutus unedo* L. e *Quercus ilex* L. sono tra le più rappresentative specie della macchia mediterranea, un tipo di ecosistema presente in ambienti mediterranei, caratterizzati da un certo clima e un particolare tipo di vegetazione, distribuiti in cinque diverse parti del mondo, a dispetto del nome “Mediterraneo” che farebbe pensare al solo bacino marino. Si ritrovano infatti ecosistemi di tipo Mediterraneo, oltre che attorno al Mar Mediterraneo, anche in porzioni di altre regioni quali California, Cile, Sud Africa, e persino in Australia, a latitudini comprese tra i 30° e 45° N e S (Fig. 3). Il clima di queste zone è di tipo temperato, caratterizzato da estati calde e aride e inverni miti e piovosi (Camarda, 2004).

E' proprio il lungo periodo arido estivo che ha portato molte delle specie di queste zone ad un adattamento particolare. Le piante mediterranee sono, infatti, per lo più delle sclerofille, cioè le loro foglie, persistenti e di ridotte dimensioni, sono dotate di una spessa cuticola, la cui funzione è di limitare l'evapotraspirazione, trattenendo così più acqua possibile all'interno della pianta (Mooney e Dunn, 1970).

La macchia è un tipo di vegetazione costituita per lo più da arbusti, ricca di specie e molto eterogenea, le cui caratteristiche sono state fortemente determinate dalle attività umane come tagli, pascoli, incendi. Essa rappresenta uno stadio di passaggio tra la gariga e le foreste (Camarda, 2004). Le specie oggetto di studio sono di tipo generalmente arbustivo come *Myrtus communis* L., *Pistacia lentiscus* L., *Arbutus unedo* L. oppure alberi come *Quercus ilex* L.

Una delle classificazioni della macchia è riferita all'altezza degli arbusti:

- macchia bassa: non superano 2-3 metri;
- macchia alta: intorno ai 4 metri.

Altre classificazioni sono considerano la densità e la composizione specifica.

La macchia rappresenta un complesso ecosistema, caratterizzato da una elevata biodiversità, che significa una elevata variabilità di forme, di nicchie ecologiche, di adattamento, rendendo la macchia un ecosistema tra i più diffusi e meno vulnerabili ai cambiamenti dell'area mediterranea (Camarda, 2004).

In Sardegna le specie legnose sono oltre 200. Le modificazioni della vegetazione naturale sono avvenute, in una società fondamentalmente agro-pastorale, da oltre quattro

millenni (Camarda, 1984) e durante questo lungo periodo, certamente l'intera superficie dell'Isola è stata percorsa numerose volte dal fuoco. Ciò ha fatto sì che molte specie e biotipi fossero adattate a questo tipo di impatto.

Gli animali selvatici e, soprattutto, quelli domestici hanno contribuito ad orientare la selezione, favorendo una resistenza dei vegetali all'impatto del pascolamento, con strategie diversissime che vanno dall'accentuazione della spinescenza alla produzione di sostanze tossiche. Per tali motivi non si può né comprendere, né spiegare l'essenza della macchia mediterranea della Sardegna senza considerare l'influenza millenaria dell'uomo sulla vegetazione (Camarda e Satta, 1995). Pochi nutrienti, siccità estiva, insieme con un certo disturbo dovuto a pascolamento e incendi ha contribuito alla diversità riscontrata attualmente (Cowling *et al.*, 1996).

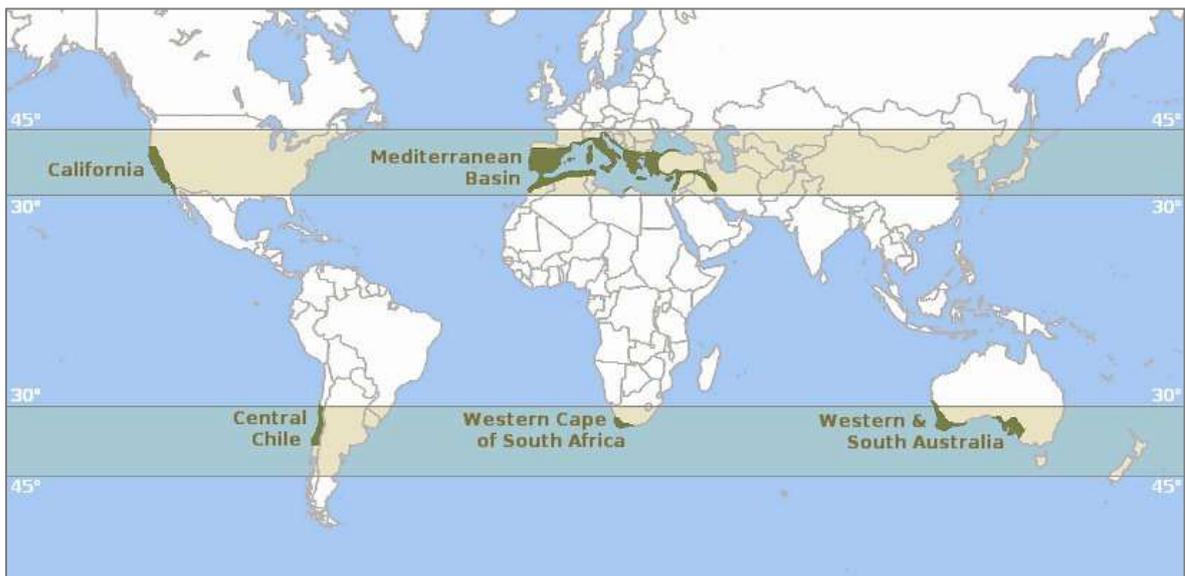


Figura 3. Aree geografiche caratterizzate dal clima mediterraneo.

OBIETTIVI DELLA TESI

Gli obiettivi generali della ricerca riguardano il miglioramento dello stato delle conoscenze sui potenziali di adattamento delle piante alle modificazioni delle condizioni ambientali.

In particolare, ci si propone di:

- 1) comprendere meglio le potenzialità ecologiche e il ruolo di ciascuna delle specie studiate nell'evoluzione del sistema naturale macchia mediterranea;
- 2) valutare le potenzialità di adattamento rispetto a possibili cambiamenti climatici in cui sia eventualmente coinvolta la quantità di radiazione extraterrestre;
- 3) fornire indicazioni sulle possibilità di attenuazione dei fenomeni del cambiamento climatico attraverso la risposta fisiologica della foglia e della pianta nel suo insieme.

Conoscere le potenzialità ecologiche di ciascuna specie, infatti, è un passo fondamentale per capire le possibili risposte dell'ecosistema al cambiamento globale in cui si sono evolute.

Gli obiettivi specifici prevedono quindi l'osservazione delle modificazioni della fisiologia e morfologia fogliare a condizioni variabili di ridotta disponibilità luminosa (0, 30, 50, 60 e 70%), indotte sperimentalmente su quattro specie legnose di sclerofille tipiche della macchia mediterranea.

Le osservazioni comprenderanno il monitoraggio delle dimensioni delle foglie di neoformazione, l'osservazione microscopica delle modificazioni biometriche osservabile nella sezione trasversale del lembo fogliare e la determinazione della concentrazione dei pigmenti fotosinteticamente attivi.

MATERIALI E METODI

Localizzazione delle prove

Lo studio è stato condotto a Fenosu (Oristano) presso l'azienda sperimentale e didattica "Antonio Milella" sita in località S. Quirico, ad una latitudine compresa tra 39°53'55,68" N – 39°54'21,6" N e una longitudine tra 8°36'53,28" E – 8°37'19,2" E, ad un'altitudine di 11 m sul livello del mare, a circa 10 km di distanza dalla costa, nel corso degli anni solari 2012 e 2013. La media delle precipitazioni di un trentennio è 581 mm/anno, con un periodo arido tra maggio e settembre, mentre la temperatura media annuale è di 17 °C. I dati di piovosità, temperatura e radiazione globale utilizzati per questa ricerca sono stati registrati dal CMA (unità di Climatologia e Meteorologia applicate all'Agricoltura – Ex UCEA), sono accessibili gratuitamente sulla rete (<http://cma.entecra.it/homePage.htm>) per la stazione meteorologica di S. Lucia (Oristano) e sono riportati in Figura 4a e 4b.

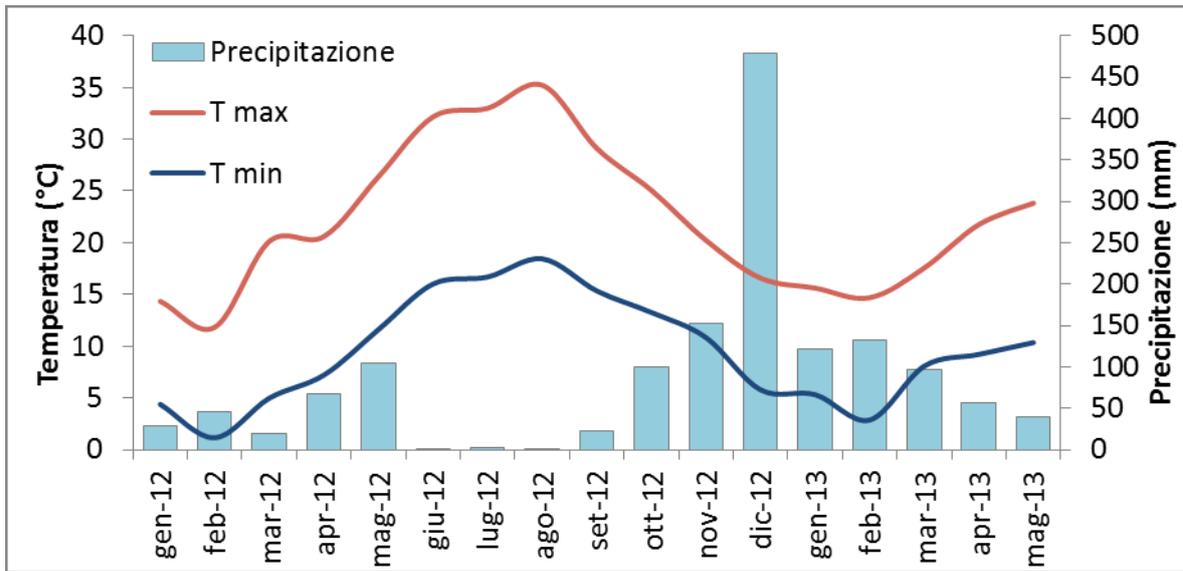


Figura 4a. Temperature medie e precipitazioni mensili registrate ad Oristano nel periodo di studio (2012-2013). Stazione S. Lucia – Fonte dei dati: (CMA - UCEA).

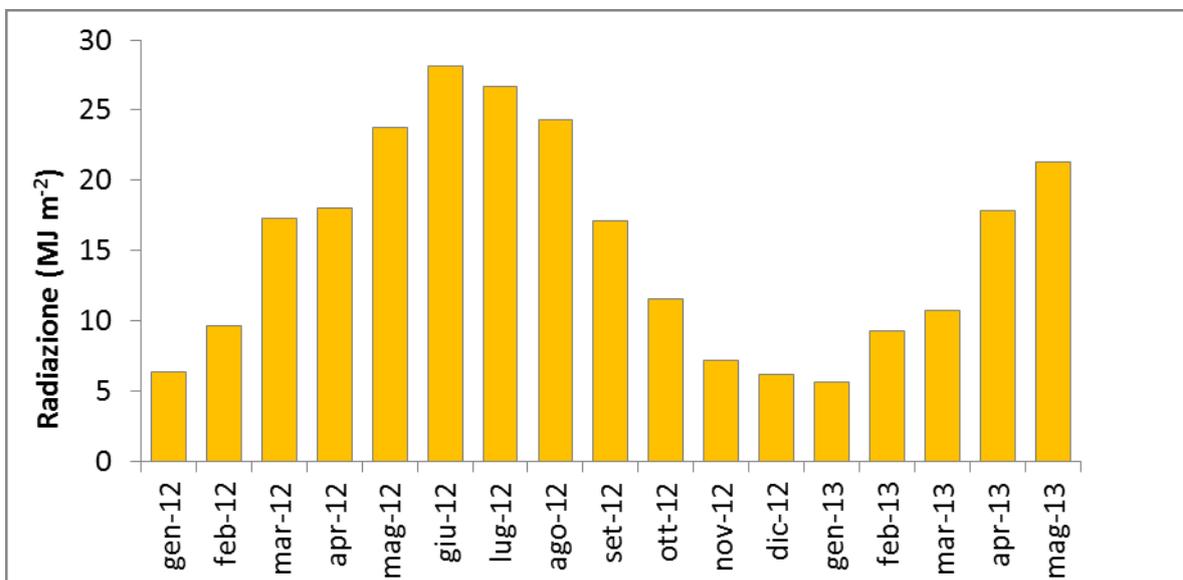


Figura 4b. Radiazione globale media giornaliera mensile registrate ad Oristano nel periodo di studio (2012-2013). Stazione S. Lucia – Fonte dei dati: (CMA - UCEA).

Materiale vegetale

Le piante oggetto di studio sono state allevate in contenitori di PVC di 20 L collocati all'interno di un ombrario, ovvero una struttura in cui, grazie alla copertura con reti di materiale plastico di colore nero opportunamente intessute in trame diverse, le piante erano sottoposte a quattro differenti condizioni di ombreggiamento: 30%, 50%, 60% e 70% (valori riferiti alla riduzione della radiazione) cui si aggiungeva una parcella di controllo esterna (0%) non schermata (Fig. 5). Nel periodo estivo è stata misurata più volte l'intensità della radiazione solare nelle diverse parcelle tramite l'utilizzo del piranometro (Kahl Scientific Instrument Corporation; El Cajon, CA - USA.), al fine di verificare con misurazioni dirette l'effettiva capacità di ombreggiamento delle reti predisposte. In ciascuna delle cinque tesi erano presenti 5 piante per ogni specie, per un campione totale di 25 piante, sempre per ogni specie e un totale di 100 piante in osservazione. La densità di piante all'interno dell'ombrario era di 3 piante per m² e ciascuna parcella comprendeva un bordo di oltre due metri di larghezza per avere la massima omogeneità del trattamento ombreggiante. Le specie utilizzate erano alcune tra le più rappresentative della macchia mediterranea: in particolare *Myrtus communis* L., *Quercus ilex* L., *Pistacia lentiscus* L. e *Arbutus unedo* L. Le piante avevano 3 anni di età e provenivano da propagazione agamica per quanto riguarda il mirto e da propagazione per seme per quanto riguarda il leccio, il corbezzolo e il lentisco.

Apparentemente non erano presenti fattori esterni, o anche dovuti alla distribuzione delle piante, che potessero influenzare l'omogeneità del trattamento colturale delle piante. Le piante, dopo il trapianto in vasi da 20 L, sono state regolarmente irrigate e fertilizzate e si trovavano nell'ombrario dal mese di dicembre del 2011. Considerando sufficiente il periodo di acclimatazione alle condizioni sperimentali.

Ombreggiamento					
0%	Leccio C	Leccio E	Leccio B	Leccio A	Leccio D
	Mirto B	Mirto A	Mirto E	Mirto D	Mirto C
	Corb C	Corb D	Corb B	Corb E	Corb A
	Lentis E	Lentis D	Lentis A	Lentis C	Lentis B
30%	Mirto B	Mirto A	Mirto E	Mirto D	Mirto C
	Lentis E	Lentis D	Lentis A	Lentis C	Lentis B
	Leccio C	Leccio E	Leccio B	Leccio A	Leccio D
	Corb C	Corb D	Corb B	Corb E	Corb A
50%	Lentis E	Lentis D	Lentis A	Lentis C	Lentis B
	Mirto B	Mirto A	Mirto E	Mirto D	Mirto C
	Corb C	Corb D	Corb B	Corb E	Corb A
	Leccio C	Leccio E	Leccio B	Leccio A	Leccio D
60%	Corb C	Corb D	Corb B	Corb E	Corb A
	Mirto B	Mirto A	Mirto E	Mirto D	Mirto C
	Leccio C	Leccio E	Leccio B	Leccio A	Leccio D
	Lentis E	Lentis D	Lentis A	Lentis C	Lentis B
70%	Leccio C	Leccio E	Leccio B	Leccio A	Leccio D
	Corb C	Corb D	Corb B	Corb E	Corb A
	Mirto B	Mirto A	Mirto E	Mirto D	Mirto C
	Leccio C	Leccio E	Leccio B	Leccio A	Leccio D

Figura 5. Schema sperimentale delle tesi di riduzione dell'esposizione alla radiazione ed indicazione delle specie utilizzate.

Descrizione delle specie

Mirto (*Myrtus communis* L.): è un arbusto spontaneo dell'areale mediterraneo (Fig. 6). Appartiene alla famiglia delle Mirtacee aventi la particolarità della presenza del floema all'interno dello xilema. E' una specie sempreverde della macchia mediterranea caratteristica per la sua fioritura estiva, per il colore verde intenso delle foglie, che sprigionano un tipico profumo aromatico resinoso, per il colore dei frutti sia pigmentati che bianchi e per l'uso dei rami come fronde ornamentali con e senza frutti (Mulas, 2013).

Le foglie sono di colore verde brillante, opposte, glabre e traslucide, a margine intero, con lamina ellittico-lanceolata e dotate di un breve picciolo. I fiori sono bianchi, ricchi di stami e con ovario infero (pianta monoica, fiori ermafroditi). Il frutto è una bacca (frutto carnoso, indeiscente) nero-rossastra di forma da ovale a tondeggiante. Il mirto è spontaneamente diffuso dal livello del mare in zone costiere, fino a circa 400 metri di altitudine, in associazioni della macchia mediterranea. E' inoltre una specie termofila e moderatamente eliofila. Ricopre interesse di tipo ecologico, culturale, culinario, officinale, ornamentale. Ne esistono diverse varietà (Camarda e Valsecchi, 2008).



Figura 6. Particolare della fioritura del mirto.

Leccio (*Quercus ilex* L.): appartiene alla famiglia delle Fagacee, caratterizzata da piante arboree, con foglie persistenti (come in questo caso) o caduche, e piante monoiche con fiori unisessuali (maschili e femminili distinti sullo stesso individuo) (Fig. 7). In *Quercus* le foglie sono a margine intero o dentato, di forma ellittica e coriacee, negli individui giovani sono provviste di spine lungo il margine. Le infiorescenze si mostrano in tarda primavera, le maschili sono allungate e pendule, le femminili in spiga eretta. Il frutto è un achenio (frutto secco con pericarpo più o meno indurito, contenente un unico seme), chiamato comunemente ghianda e caratterizzato da un involucreto detto cupola. Il leccio è un albero sempreverde, mesofanerofita, talvolta presente in forma arbustiva. Fioritura aprile-maggio, fruttificazione ottobre-novembre. In Sardegna è presente dal livello del mare fino a 1.200-1.400 metri. E' una specie che si adatta facilmente a qualsiasi tipo di substrato pedologico, con eccezione di suoli argillosi. E' termofilo ma si adatta anche a climi non troppo freddi, mentre per quanto riguarda le esigenze di luce, il leccio è una specie sciafila, in controcorrente rispetto alle altre specie del Mediterraneo che sono generalmente eliofile. La lecceta è la principale formazione vegetale climacica della fascia costiera Mediterranea. La specie è importante anche in ambito di verde urbano (Camarda e Valsecchi, 2008).



Figura 7. Particolare di giovani foglie di leccio.

Corbezzolo (*Arbutus unedo* L.): della famiglia delle Ericacee, è un arbusto eretto (talvolta albero) sempreverde, con foglie sclerofilliche, coriacee, semplici e persistenti, con lamina da ovale a ovale lanceolata, a margine dentellato (Fig. 8). Il frutto è una bacca.

Micro-mesofanerofita, con fioritura da settembre a dicembre (fiori ermafroditi, monoico), fruttificazione l'anno successivo. Riguardo il rapporto con la luce è una specie mesofila. Diffuso dalle zone litorali fino a 1.200 metri, vegeta su tutti i substrati ma preferisce suoli silicei. Si pensa sia una tappa di passaggio verso la ricostruzione naturale della formazione a leccio. Diversi usi culinari (specialmente per il miele che se ne ricava) e vari, tra cui ornamentale (Camarda e Valsecchi, 2008). La macchia a corbezzolo rappresenta uno stadio di passaggio verso la lecceta.



Figura 8. Frutti di corbezzolo a diversi stadi di maturazione.

Lentisco (*Pistacia lentiscus* L.): fa parte della famiglia delle Anacardiacee, caratterizzata da piante provviste di canali laticiferi. E' un arbusto sempreverde (raramente albero) con foglie composte, alterne, paripennate, con rachide più o meno alato, fiori in racemi che nascono all'ascella delle foglie, il frutto è una drupa (indeiscente, un solo seme immerso nella polpa) che vira dal bianco-verde o rosso fino al nero a maturità (Fig. 9).

Dioica e microfanerofita, è una specie xerofila, termofila ed eliofila (Mulas *et al.*, 1999) e si adatta a qualunque substrato geopedologico. Fiorisce da marzo ad aprile. I frutti allegano ad agosto e maturano tra autunno e inverno. E' una specie molto importante per la conservazione ed evoluzione delle formazioni vegetali della macchia mediterranea (García-Fayos e Molina, 1990), in quanto con il suo predominante sviluppo orizzontale è in grado di costituire un'efficace protezione dalle piogge intense e dal vento sul suolo e contribuisce alla sua fertilità grazie alla lettiera che produce, ricca di agenti umificanti (già utilizzata per interventi di recupero ambientale). La sua presenza favorisce l'evoluzione degli ecosistemi verso forme forestali più complesse (Mulas *et al.*, 1999). Olio di lentisco e lattice sono due prodotti molto utilizzati, non a caso questa pianta è anche nota con il nome di "mastic tree". E' una pianta fortemente eliofila.



Figura 9. Frutti di lentisco in fase di maturazione.

Analisi della morfologia fogliare

Ogni pianta era identificata da un numero, che corrispondeva alla tesi di ombreggiamento cui era sottoposta, e da una lettera che identificava la replicazione (A, B, C, D ed E). Per ciascuna pianta sono stati presi in considerazione i flussi vegetativi più recenti, cresciuti cioè sotto le condizioni sperimentali e segnati con fili di lana rossi in modo da essere inequivocabilmente riconoscibili. Di questi rametti sono state misurate le lunghezze e il numero di foglie portate ogni 4 mesi nell'arco degli anni di osservazione. Sempre periodicamente e con la stessa cadenza sono state campionate 4 foglie per ogni pianta sulle quali sono state effettuate alcune misure biometriche, come lunghezza, larghezza, perimetro e area servendosi del software Imagelab© 2.2.4. (Versione Demo, Fig. 10).

Per le successive misurazioni, poiché questo procedimento risultava essere piuttosto laborioso, specialmente quando c'era la necessità di mantenere inalterati i valori delle variabili da sottoporre ad analisi di laboratorio (es. contenuto in clorofilla, che richiede la conservazione accurata del campione), sono state elaborate delle equazioni per ogni specie, che hanno consentito di calcolare l'area a partire dalla misura delle sole lunghezza e larghezza, rilevabili tra l'altro sulla pianta. Per quanto riguarda le foglie intere, come quelle di mirto, leccio e corbezzolo, inscrivendo la foglia in un rettangolo, si è cercato di fare riferimento all'area della figura geometrica, apportando le opportune correzioni dovute alla forma della foglia, ovvero la sua area è stata calcolata come il prodotto tra lunghezza (L) e larghezza (l), sottraendo al risultato ottenuto il prodotto tra la metà della lunghezza e tre quarti della larghezza come segue:

$$\text{Area Fogliare} = L * l - \frac{1}{2} L * \frac{3}{4} l$$

Sono state ottenute così delle alte correlazioni tra l'area ricavata dalle immagini e quella calcolata per mezzo della formula (Fig. 11).

Per il lentisco, essendo dotato di foglie composte l'equazione applicata per le altre specie studiate non è stata considerata appropriata, così ne è stata valutata una alternativa. Sono state messe in relazione la lunghezza e la larghezza con le aree (Fig. 12) e si è trovata la seguente equazione che ha presentato un $R^2 = 0,91$

$$\text{Area Fogliare} = 1,3267 * L - 3,2357$$

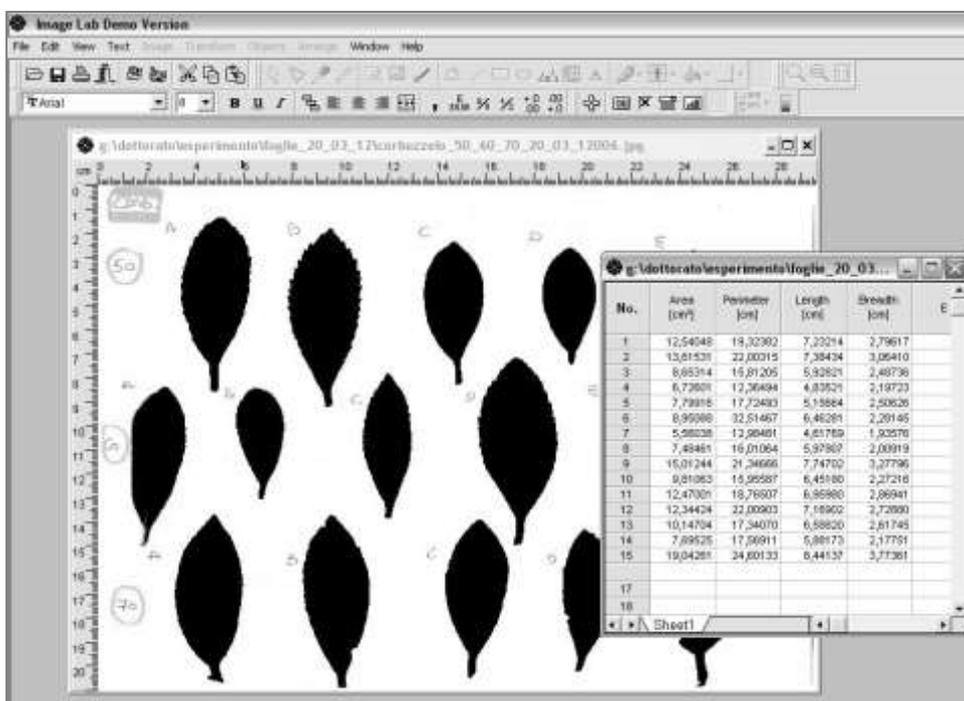


Figura 10. Schermata del programma Imagelab© 2.2.4. per la misurazione dell'area fogliare.

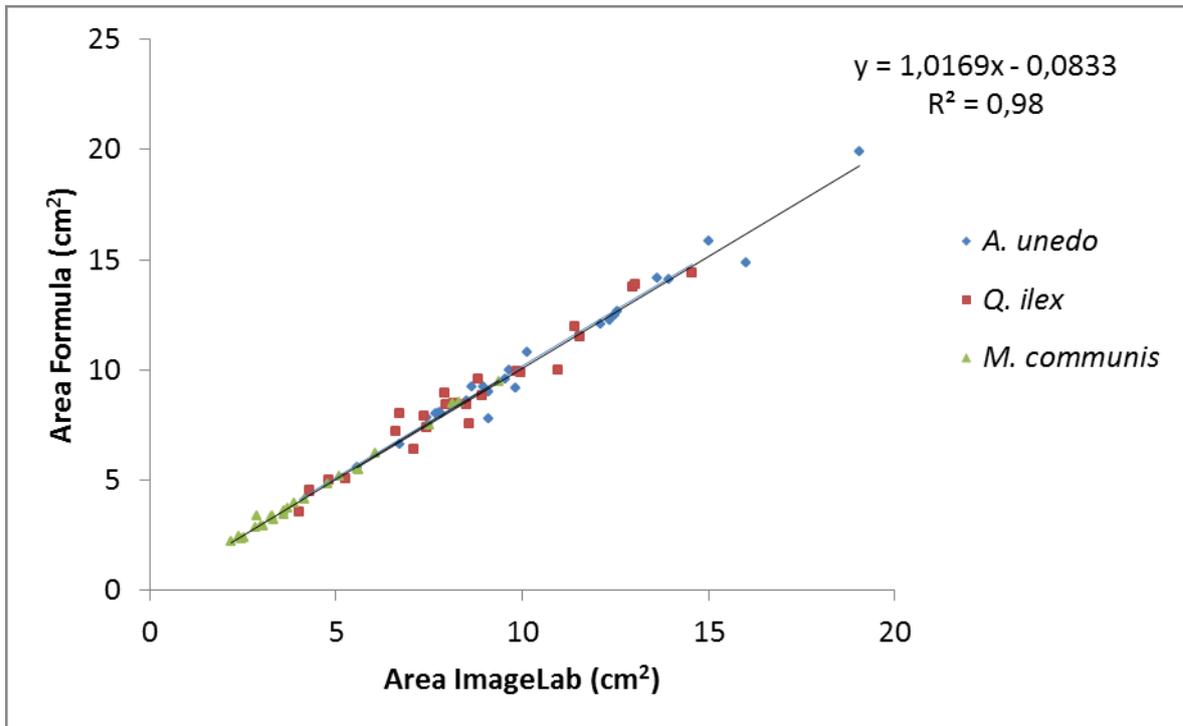


Figura 11. Relazione tra i dati di area fogliare calcolati con Imagelab© 2.2.4. e con la formula ottenuta empiricamente in *A. unedo*, *Q. ilex* e *M. communis*.

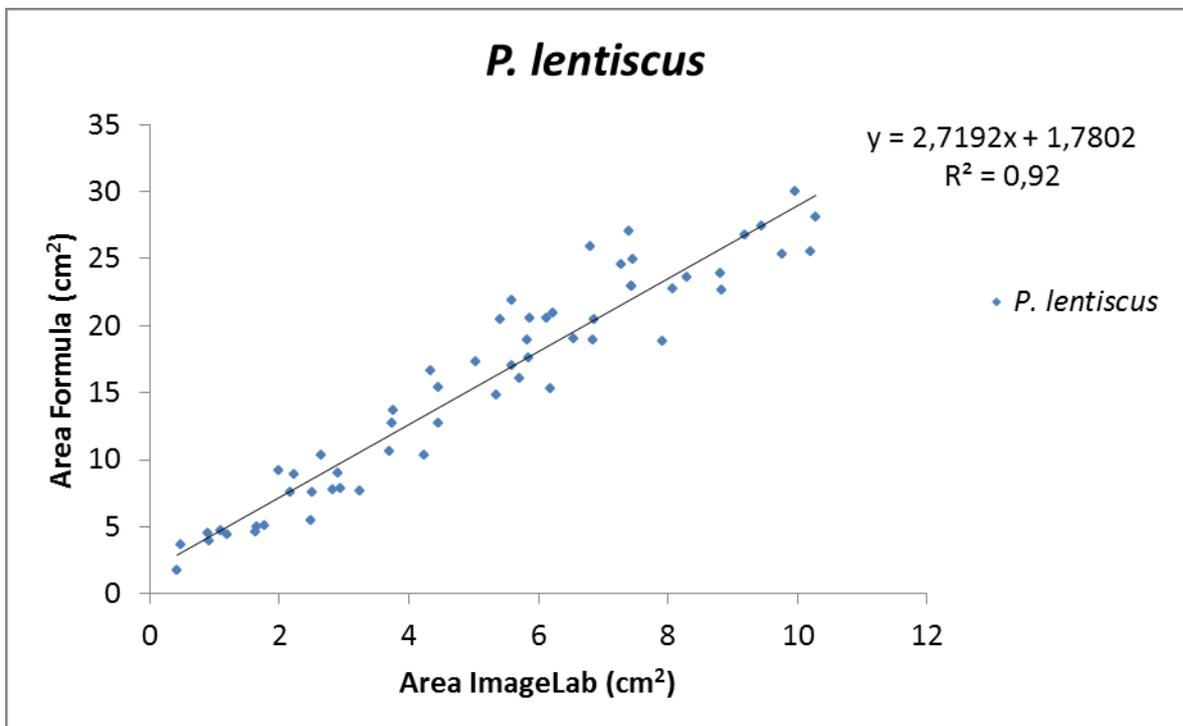


Figura 12. Relazione tra i dati di area fogliare calcolati con Imagelab© 2.2.4. e con la formula ottenuta empiricamente in *P. lentiscus*.

Anatomia della foglia

Sempre servendosi delle stesse foglie campionate per le analisi biometriche e di laboratorio, sono stati realizzati dei preparati istologici seguendo le tecniche istologiche più note (Mulas, 1992). Ogni campione, una volta estratto dal liquido fissativo di Carnoy, è stato sottoposto a vari passaggi per ottenere la disidratazione: prima in acqua deionizzata, successivamente in alcool a diverse gradazioni, e infine in xilene. Infine i campioni sono stati inclusi in paraffina. Grazie a quest'operazione si sono potute ricavare delle sezioni sottili (15-20 μm) per mezzo del microtomo a slitta (LEITZ – Wetzlar, modello 1300), per un totale di 200 vetrini che sono stati osservati al microscopio ottico (LEITZ – Wetzlar). Sono state inoltre acquisite le immagini di ciascuna sezione sottile, per un totale di circa 1600 files.

Utilizzando infine il software di dominio pubblico ImageJ (National Institutes of Health, USA) e un'apposito vetrino con microscala graduata sono stati ricavati gli spessori dei vari componenti: cuticola superiore (UC); epidermide superiore (UE); parenchima a palizzata (P); parenchima lacunoso (S); epidermide inferiore (LE); cuticola inferiore (LC). Quando erano presenti più strati di palizzata sono stati indicati progressivamente con P₁, P₂, e così via. Per mettere in evidenza i vari strati talvolta i preparati sono stati trattati con la safranina, che ha dato una colorazione rossastra e permesso di evidenziare meglio la cuticola e l'epidermide e in generale distinguere meglio e più facilmente i vari strati.

Fisiologia della foglia

Il contenuto di clorofilla è un dato che indica in generale lo stato fisiologico della pianta, per cui è una variabile importante da valutare per comprendere il suo stato di salute. La valutazione del contenuto in clorofilla è stata fatta attraverso due metodi: in laboratorio le analisi di determinazione della clorofilla dopo estrazione con solvente e misura dell'assorbanza con spettrofotometro CARY 50 Scan Uv-Vis VARIAN e in campo sulle stesse foglie destinate al campionamento con il clorofillometro portatile modello SPAD-502 (Konica MINOLTA, Osaka, Japan - di proprietà del CNR-IBIMET, Sassari).

Per l'estrazione della clorofilla in laboratorio la procedura era la seguente: dalle foglie si estraevano 10 dischetti di diametro noto, questi venivano pesati (peso fresco) e messi in infusione con acetone 80% per 48 ore a 4 °C. Durante questo periodo di tempo la clorofilla veniva estratta grazie al solvente, successivamente gli estratti venivano filtrati e

si effettuavano le letture di assorbanza (470, 664,5 e 647 nm) con spettrofotometro CARY 50 Scan Uv-Vis VARIAN. I valori indicati tra parentesi erano rispettivamente i picchi massimi di assorbimento dei carotenoidi, clorofilla *a* e clorofilla *b*. Infine per ricavare il contenuto in clorofille sono state applicate le seguenti formule (Lichtenthaler, 1987):

$$C_a = 12,25 * A_{663,2} - 2,79 * A_{646,8}$$

$$C_b = 21,50 * A_{646,8} - 5,10 * A_{663,2}$$

Per ricavare il contenuto in carotenoidi (xantofille + β -carotene) si è applicata la seguente formula (Lichtenthaler, 1987):

$$C_c = (1000 * A_{470} - 1,82 * C_a - 85,02 * C_b) / 198$$

La determinazione delle clorofille *a* e *b* e il rapporto *a/b* hanno un importante ruolo nel capire come le piante superiori adattano il loro apparato fotosintetico a seconda delle condizioni di luce per ottimizzare l'utilizzo in ambienti con diversa qualità e quantità di luce (Porra, 2002). La presenza della clorofilla è inoltre un indice dell'attività fotosintetica.

Misure colorimetriche

Il colore è una caratteristica fisica che contribuisce al valore decorativo del fogliame ed è in relazione al contenuto in clorofilla, oltre che ai tratti genetici della specie.

Sulle stesse foglie è stato misurato il colore per mezzo del colorimetro Konica Minolta CR-200 (Osaka, Japan), che segue un sistema di misurazione di tipo CIELAB (Fig. 13). Tale sistema si basa su uno schema a tre assi tra loro perpendicolari, a ognuno dei quali è associato un numero: L* indica la luminosità del colore e varia tra il bianco e il nero (L* è tanto più basso quanto più scuro è il colore e viceversa), a* indica la tonalità del colore e varia tra rosso e verde (valori positivi di a* indicano la componente rossa e valori negativi di a* la componente verde) infine b* esprime tonalità del colore tra il blu e il giallo (b* positivo indica il giallo, b* negativo indica il blu). Lo strumento forniva ad ogni misurazione tre numeri a cui corrispondevano rispettivamente i parametri L*, a* e b*.

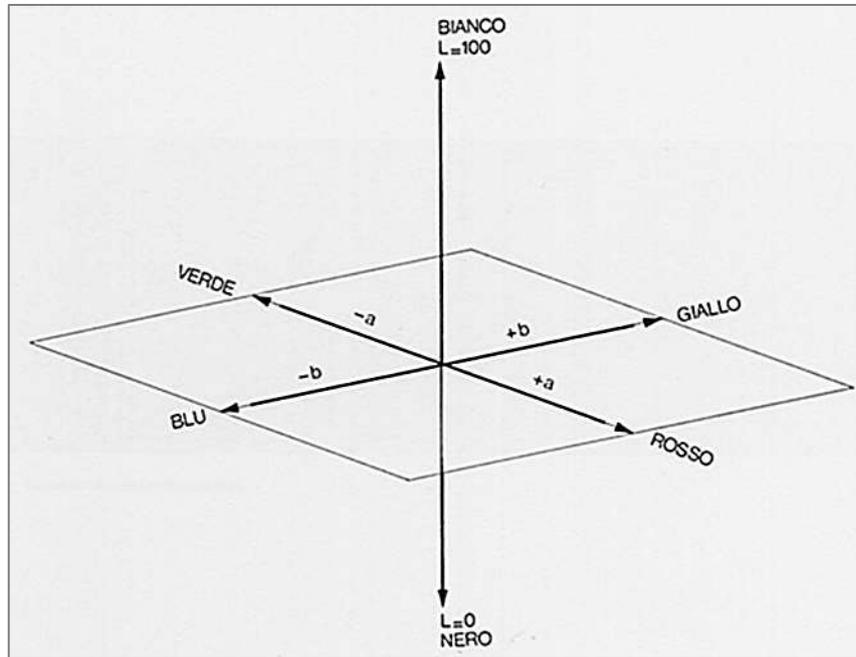


Figura 13. Diagramma tridimensionale che mostra le coordinate cromatiche del sistema di analisi CIELAB.

Indice di Plasticità

La plasticità è la capacità di un organismo di migliorare le sue performance in mutate condizioni ambientali modificando i suoi tratti morfologici piuttosto che fisiologici (Sultan, 1995). Questa capacità è a lungo studiata da tempo e tra gli altri Valladares ha introdotto un indice di plasticità (PI – *Plasticity Index*) (Valladares *et al.*, 2000b), ricavabile applicando per ogni variabile considerata la formula seguente:

$$PI = (\text{valore massimo} - \text{valore minimo}) / \text{valore massimo}$$

Il valore ottenuto è un numero puro che assume valori tra 0 (minima plasticità) e 1 (massima plasticità) e deve essere calcolato per ogni variabile considerata e per ogni specie, l'insieme dei valori è poi mediato per ottenere un unico indice (Valladares *et al.*, 2000b).

Uno studio effettuato su alcune specie mediterranee (Gratani *et al.*, 2006) ha messo a confronto la plasticità fogliare di alcune specie considerando una serie di parametri, trovando per *Quercus ilex* i maggiori indici, considerando che una specie come questa potrebbe essere maggiormente avvantaggiata nel contesto di variate condizioni ambientali, come ad esempio nel cambiamento globale.

SPAD e clorofilla

Lo SPAD-502 è nato principalmente per misurare il contenuto in azoto delle foglie, ma si è dimostrato un valido strumento non distruttivo per supportare gli studi sulla fotosintesi e la fisiologia in generale (Markwell *et al.*, 1995). SPAD è l'acronimo di *soil plant analysis development* (Wood *et al.*, 1992). Considerando che quando la luce colpisce una foglia una parte viene riflessa, una assorbita, l'assorbanza è ciò che viene assorbito, e una trasmessa, la trasmittanza ciò che viene trasmesso, ovvero la radiazione che attraversa la foglia ed esce dalla pagina inferiore lo strumento misura la trasmittanza fogliare a due lunghezze d'onda diverse: una nel rosso (600-700 nm con picco di emissione a 650 nm); l'altra nell'infrarosso vicino (900-1000 nm con picco a 940 nm) e su una superficie fogliare di 6 mm. La scelta delle lunghezze d'onda rilevate risulta motivata dal fatto che nel blu (450 nm) ma soprattutto nel rosso (650 nm) la foglia assorbe la maggior quota di energia radiante grazie ai propri pigmenti. Poiché la radiazione a 650 nm risulta assorbita della clorofilla ma non dai carotenoidi, quella a 940 nm non essendo assorbita in grandi

quantità dalla clorofilla, viene utilizzata per la normalizzazione, ovvero per depurare il valore totale di trasmittanza, da quello imputabile agli altri pigmenti.

La relazione tra i valori misurati, che sono dei numeri puri, e il contenuto in clorofilla effettivo non è di tipo lineare (Markwell *et al.*, 1995). Le relazioni che intercorrono tra contenuto in clorofilla e valori SPAD sono state calcolate per molte specie ed è stata osservata una grande variazione interspecifica di queste relazioni (Uddling *et al.*, 2007).

Si pensa che questa variabilità sia dovuta a differenze microstrutturali delle foglie tra specie, che causerebbero differenze nella riflessione della luce durante l'uso dello strumento. Per ottenere dati attendibili sul contenuto in clorofille è necessario ricorrere quindi all'equazione di calibrazione specifica per le specie considerate (Richardson *et al.*, 2002). Nella maggior parte dei casi la relazione tra i valori SPAD e il contenuto in clorofilla è di tipo esponenziale oppure polinomiale, mentre qualche volta si riscontra una relazione di tipo simil-lineare.

Analisi statistica

Per quanto concerne il trattamento statistico dei dati sono state determinate le differenze statisticamente significative fra le tesi e per ogni tipo di parametro misurato per mezzo del software Microsoft Office Excel 2010. Successivamente con LSD test è stata effettuata la separazione delle medie.

RISULTATI

Superfici fogliari

Le osservazioni riguardanti la lunghezza, la larghezza e la superficie fogliare hanno portato all'elaborazione dei dati successivamente rappresentati nelle Figure 14, 15, 16 e 17. Le superfici fogliari sono ricavate da misure effettuate nel mese di marzo 2012, giugno 2012, ottobre 2012 ed aprile 2013. I campioni sono stati prelevati e confrontati singolarmente nei rispettivi settori dell'ombrario e nella tesi di controllo in piena luce, oltre che nei vari periodi.

Il mirto nel marzo 2012 presentava una superficie fogliare maggiore nelle tesi più ombreggiate 60% (7,7 cm²) e 70% (5,74 cm²), mentre le superfici fogliari minori nelle tesi meno ombreggiate 30% (3,16 cm²) e 50% (2,91 cm²), con valori simili al controllo 0% (3,12 cm²). A giugno 2012 nelle tesi 30% (2,11 cm²) e 60% (2,34 cm²) si sono osservate le superfici fogliari maggiori rispetto alle altre tesi nello stesso periodo. A ottobre 2012 il valore maggiore si riscontrava nella tesi 70% (2,32 cm²) mentre il minore nel settore di controllo 0% (1,39 cm²). Infine ad aprile 2013 si sono osservati nuovamente i valori maggiori nelle tesi 60% (3,20 cm²) e 70% (2,97 cm²) rispetto alle altre e al controllo 0% (1,51 cm²), come l'anno precedente a marzo 2012 (Fig. 14).

Il corbezzolo ha presentato a marzo 2012 ed aprile 2013 le superfici fogliari maggiori nella tesi 30% (12,13 cm²) e 70% (12,34 cm²) e le minori in quella di controllo 0% (8,51 cm²), mentre a giugno 2012 e ottobre 2012 i valori più alti sono stati nella tesi 50% e 60% (12,12 cm² e 9,70 cm², rispettivamente) (Fig. 15).

Nel leccio il valore maggiore si riscontrava nel marzo 2012 per il controllo 0% (10,79 cm²), mentre nel giugno 2012 sono aumentati i valori per le tesi ombreggiate. Sia in ottobre 2012 che in aprile 2013 sono state le tesi maggiormente ombreggiate 60% (7,33 cm² e 8,67 cm²) e 70% (7,47 cm² e 7,51 cm²) ad aver mostrato le superfici fogliari maggiori (Fig. 16).

Nel lentisco il valore più alto è stato riscontrato a giugno 2012 nella tesi 60% (6,62 cm²), mentre il più basso a ottobre 2012 nella tesi 30% (4,29 cm²) (Fig. 17).

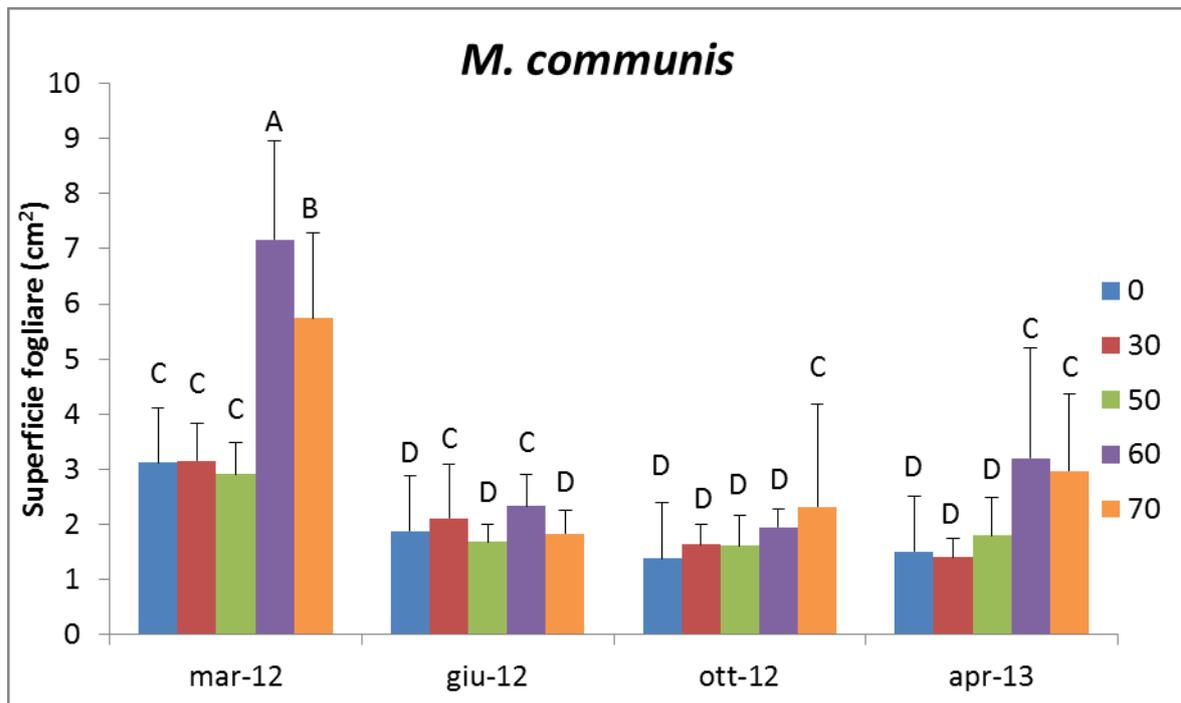


Figura 14. Superficie fogliare nel Mirto (*M. communis* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

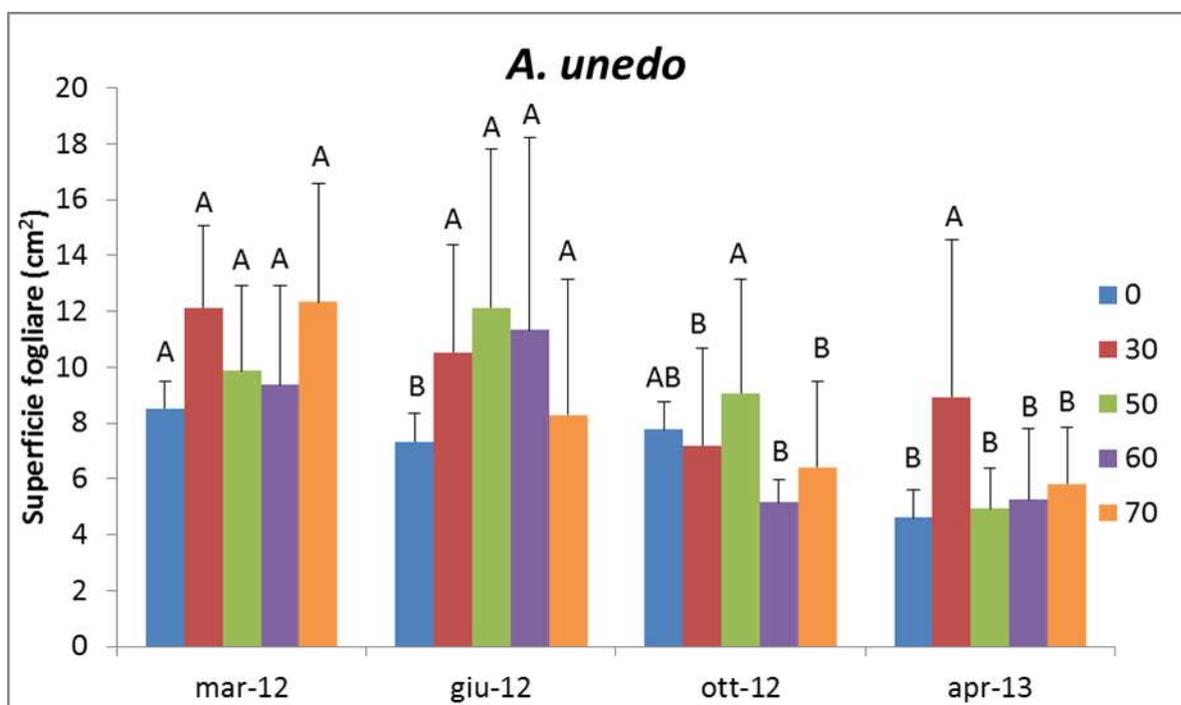


Figura 15. Superficie fogliare nel Corbezzolo (*A. unedo* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

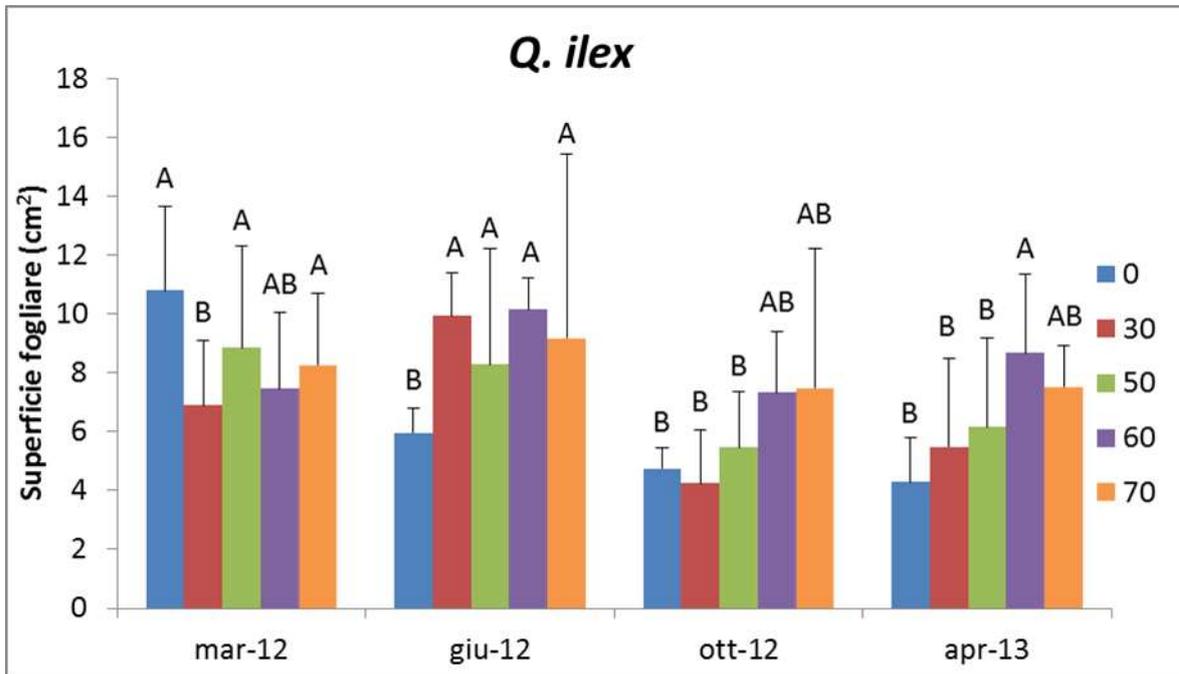


Figura 16. Superficie fogliare nel Leccio (*Q. ilex* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

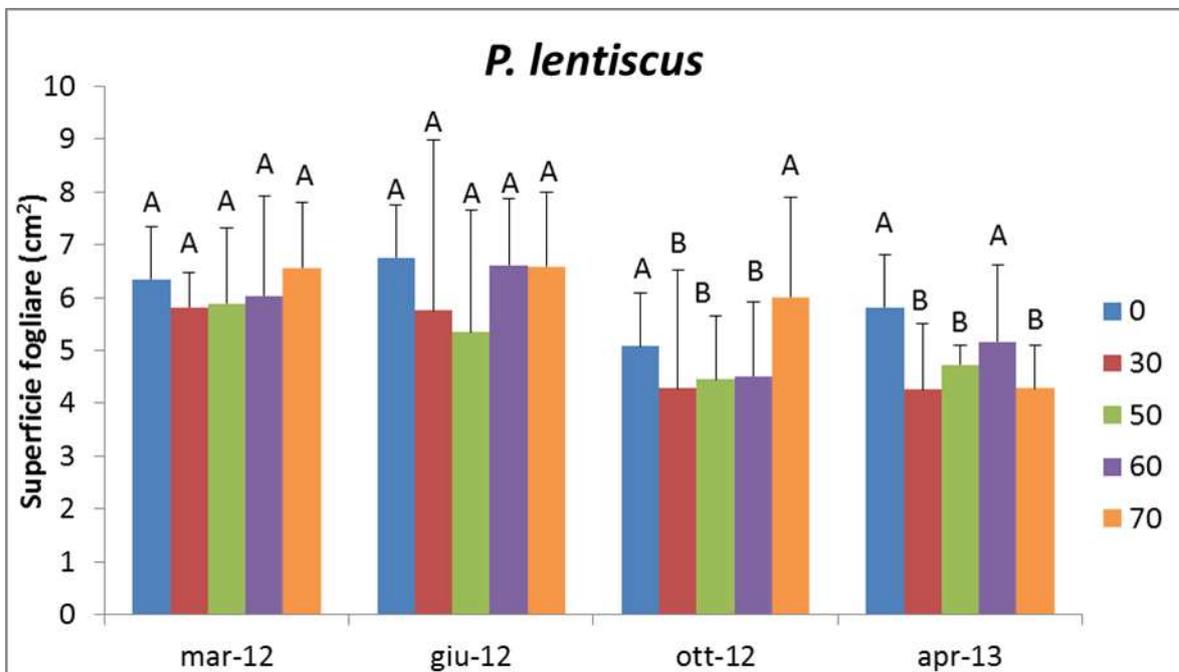


Figura 17. Superficie fogliare nel Lentisco (*P. lentiscus* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

Colorimetrie.

Durante il periodo di osservazione sono stati misurati i parametri relativi al colore e indicati con L^* , a^* e b^* .

I valori di L^* per il mirto hanno mostrato da marzo 2012 a ottobre 2012 valori più alti nelle tesi 0%, 30% e 50% con differenze significative rispetto alle più ombreggiate 60% e 70% (Fig. 18). Il valore massimo si è registrato a giugno 2012 con 44,03 mentre il più basso ad ottobre 2012 nella tesi 70% (37,60). Il valore di a^* che è sempre stato negativo, è stato più basso in assoluto a giugno 2012 nella tesi 50% (-15,81) e più alto a marzo 2012 nella tesi 0% (-7,63). I valori più bassi si sono riscontrati significativamente in giugno 2012 e ottobre 2012 mentre i più alti in primavera (marzo 2012 e aprile 2012) come si può notare in Figura 19. Il valore di b^* (Fig. 20) è stato maggiore a marzo 2012 con 26,18 nella tesi 60%, mentre è stato più basso sempre nella stessa tesi in aprile 2013 (13,35).

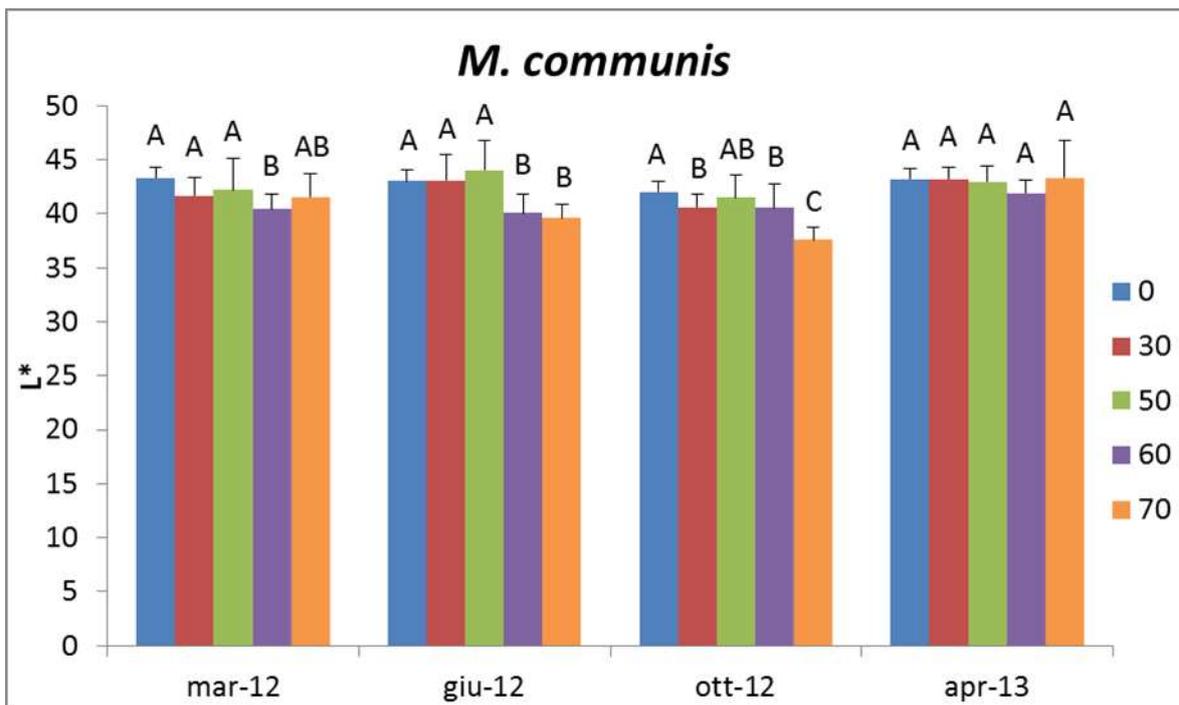


Figura 18. Colorimetrie. Valori di L* nel Mirto (*M. communis* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

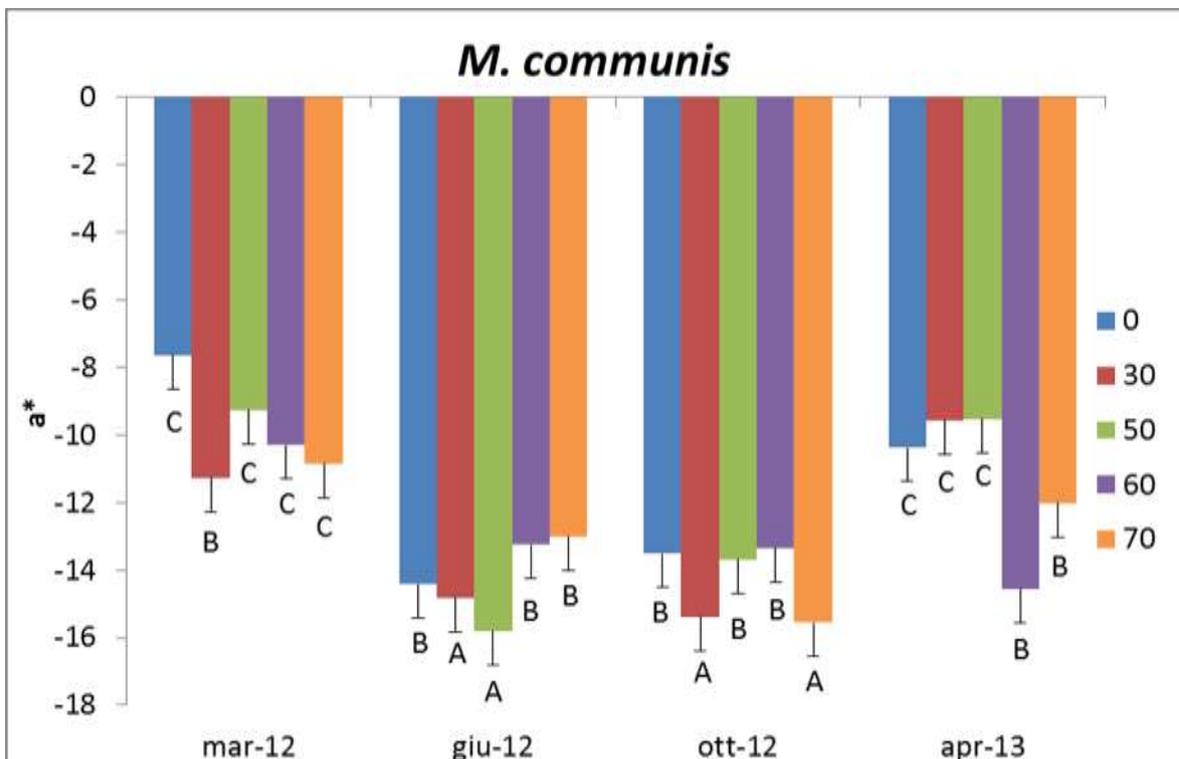


Figura 19. Colorimetrie. Valori di a* nel Mirto (*M. communis* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

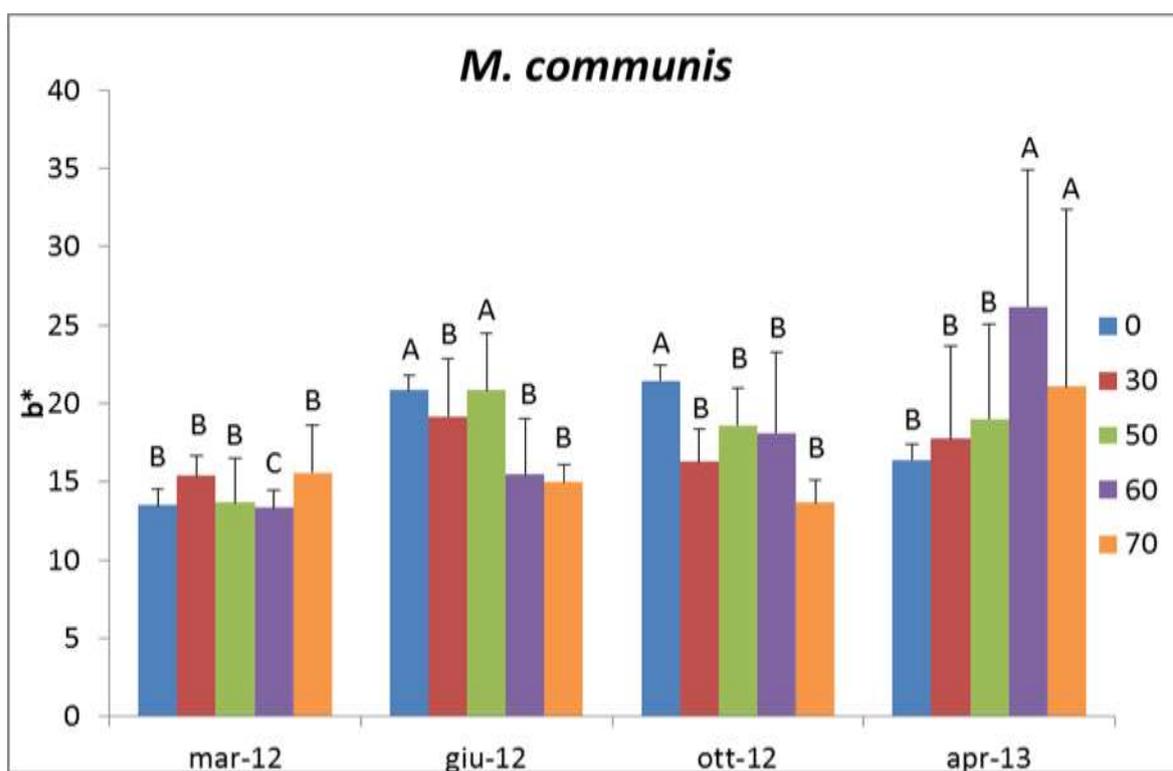


Figura 20. Colorimetrie. Valori di b^* nel Mirto (*M. communis* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

Nel leccio il valore più alto era nella tesi 30% (43,41) a giugno 2012, per la quale ha mantenuto il valore più alto anche in marzo 2012 (40,89) e ottobre 2012 (43,10), mentre il più basso è stato nella tesi 50% a marzo 2012 (35,54) (Fig. 21). Il parametro a^* ha mostrato i valori più bassi ad aprile 2013, col più basso in assoluto nella tesi 50% (-21,01), e valori più alti negli altri periodi di osservazione (Fig. 22). Infine b^* ha mostrato in aprile 2013 i valori più alti, con quello più alto in assoluto nella tesi 50% (34,14), mentre il più basso nella tesi 50% (7,28) a marzo 2012 (Fig. 23).

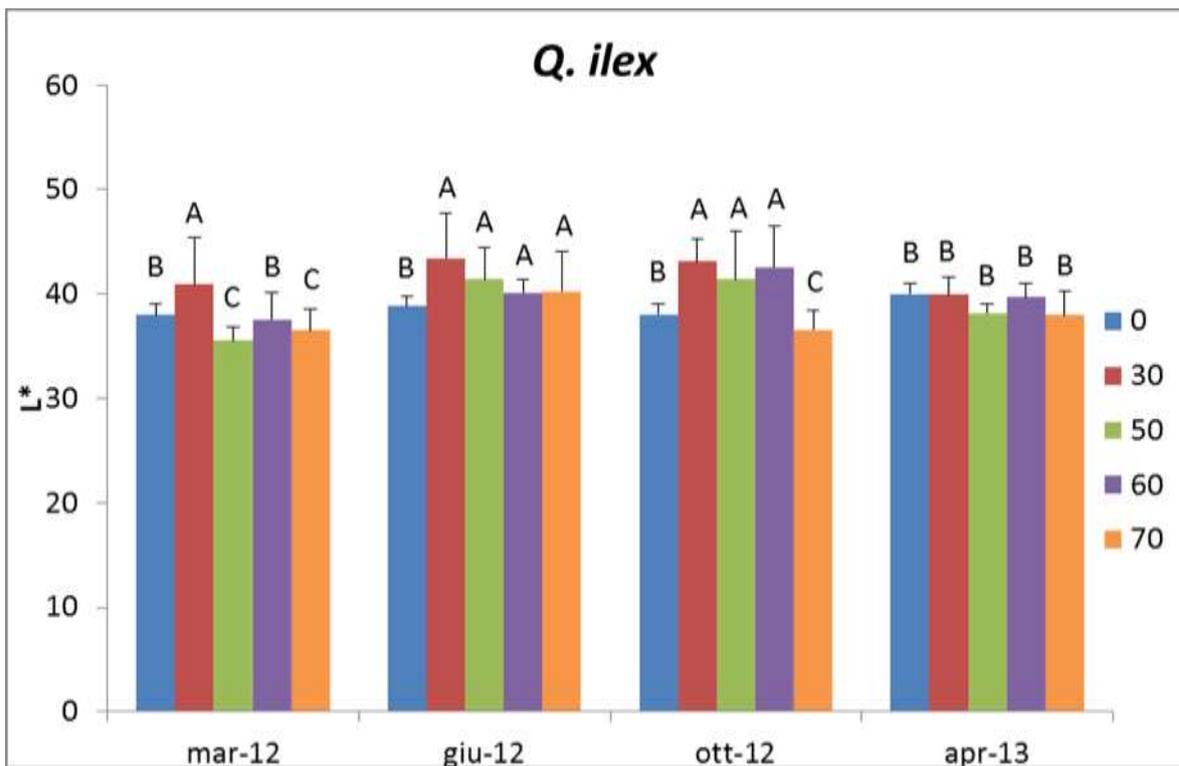


Figura 21. Colorimetrie. Valori di L* nel Leccio (*Q. ilex* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

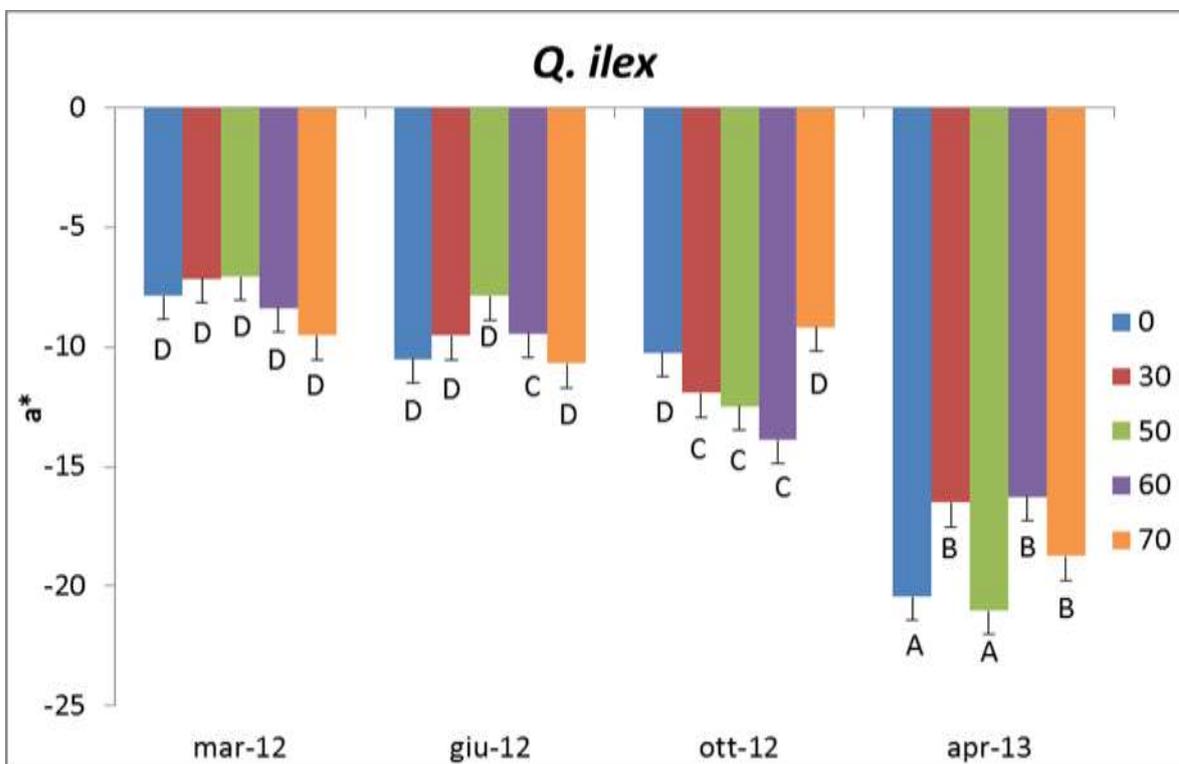


Figura 22. Colorimetrie. Valori di a* nel Leccio (*Q. ilex* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

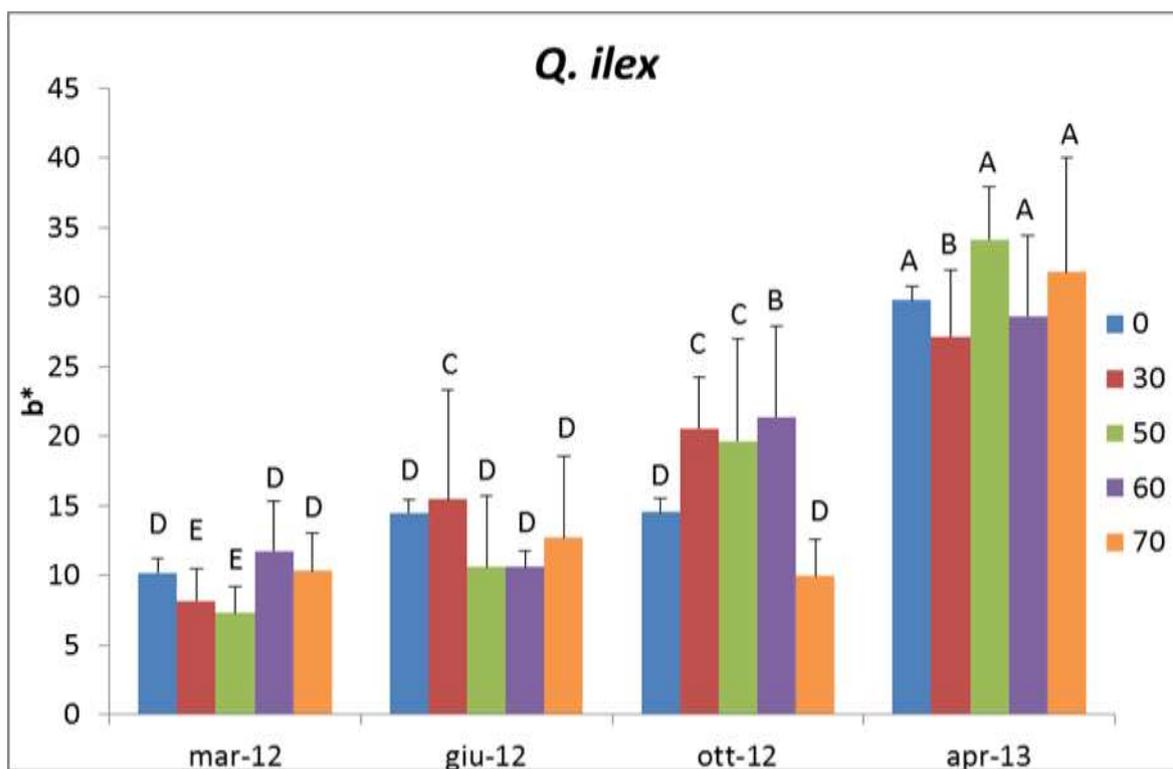


Figura 23. Colorimetrie. Valori di b^* nel Leccio (*Q. ilex* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

Nel corbezzolo L* ha avuto valori più grandi ad aprile 2013 rispetto agli altri periodi di osservazione, con il massimo nella tesi di controllo 0% (54,00) come si può notare in Figura 24. Negli altri periodi le tesi più ombreggiate 60% e 70% hanno mostrato valori più bassi rispetto alle meno ombreggiate degli stessi periodi, fatta eccezione per la tesi 50% di ottobre 2012, che si è mostrata altrettanto bassa. Il valore più basso in assoluto è stato a giugno 2012 nella tesi 60% (35,90). In generale i valori più alti di a* sono stati osservati ad aprile 2013, in particolare il valore di a* è stato più elevato (-2,00) nella tesi 60% di aprile 2013 e più basso (-14,77) nella tesi 0% di giugno 2012 (Fig. 25). Infine il valore di b* è stato il più alto (22,12) nella tesi di controllo 0% a giugno 2012, mentre il valore più basso (8,80) si è registrato nella tesi 70% ad aprile 2013 (Fig. 26). In generale i valori più bassi di b* sono stati misurati ad aprile 2013.

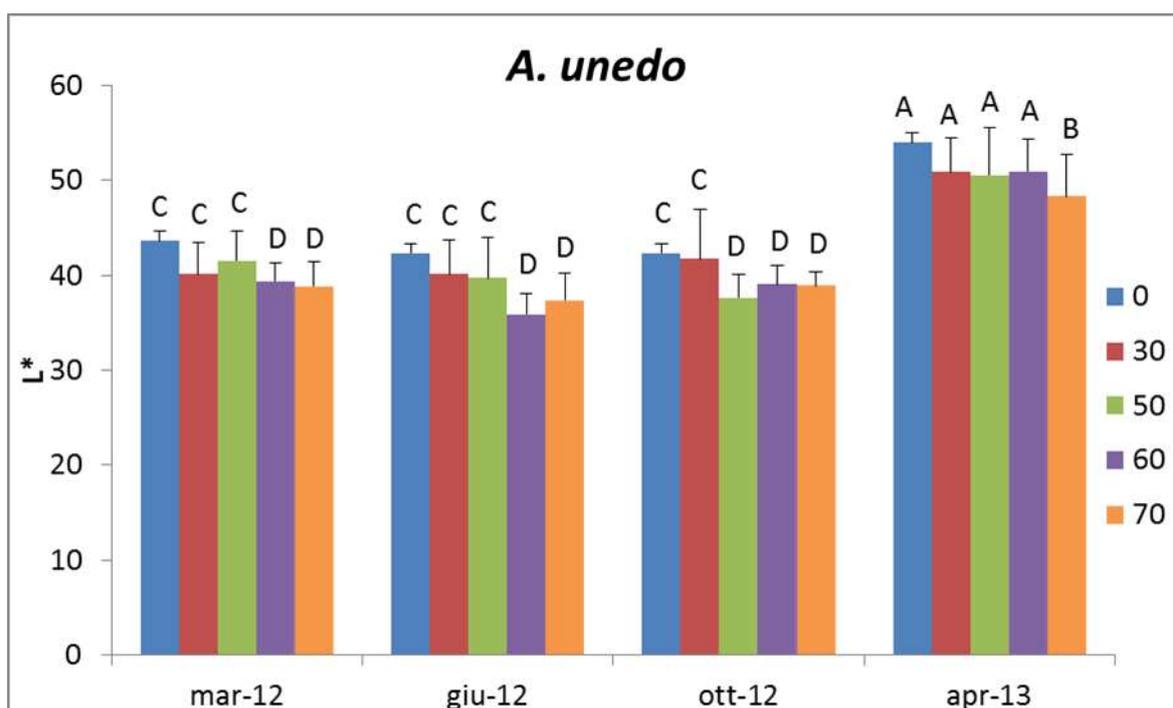


Figura 24. Colorimetrie. Valori di L* nel Corbezzolo (*A. unedo* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

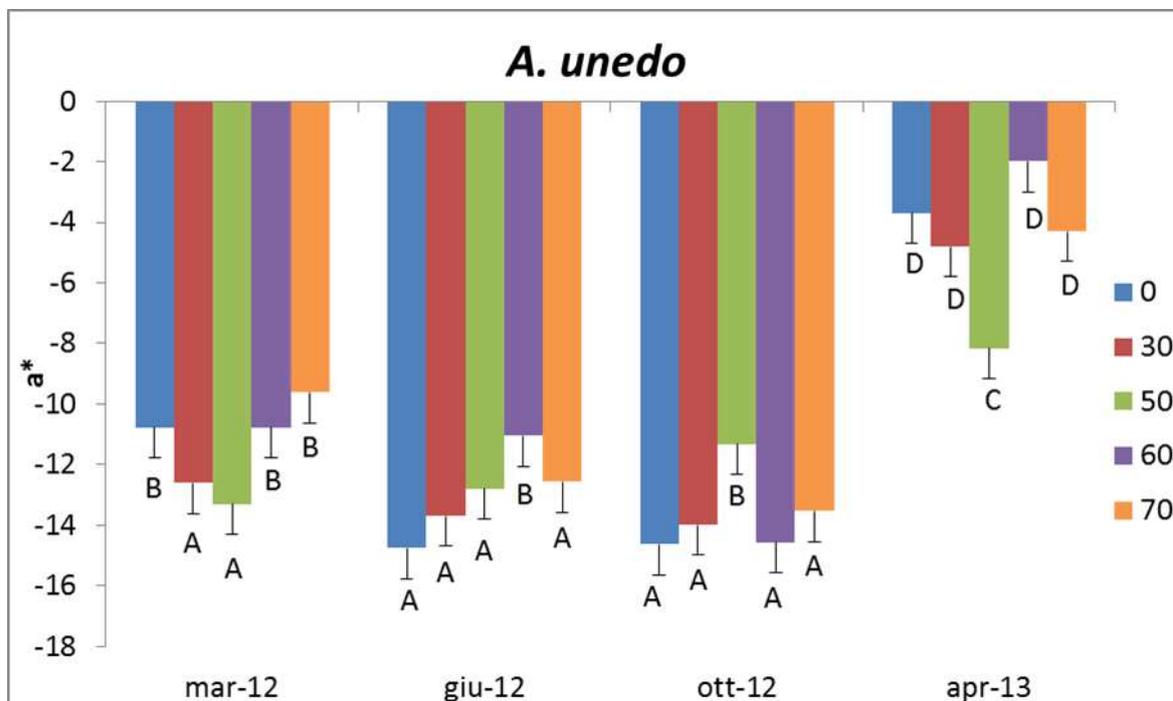


Figura 25. Colorimetrie. Valori di a* nel Corbezzolo (*A. unedo* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

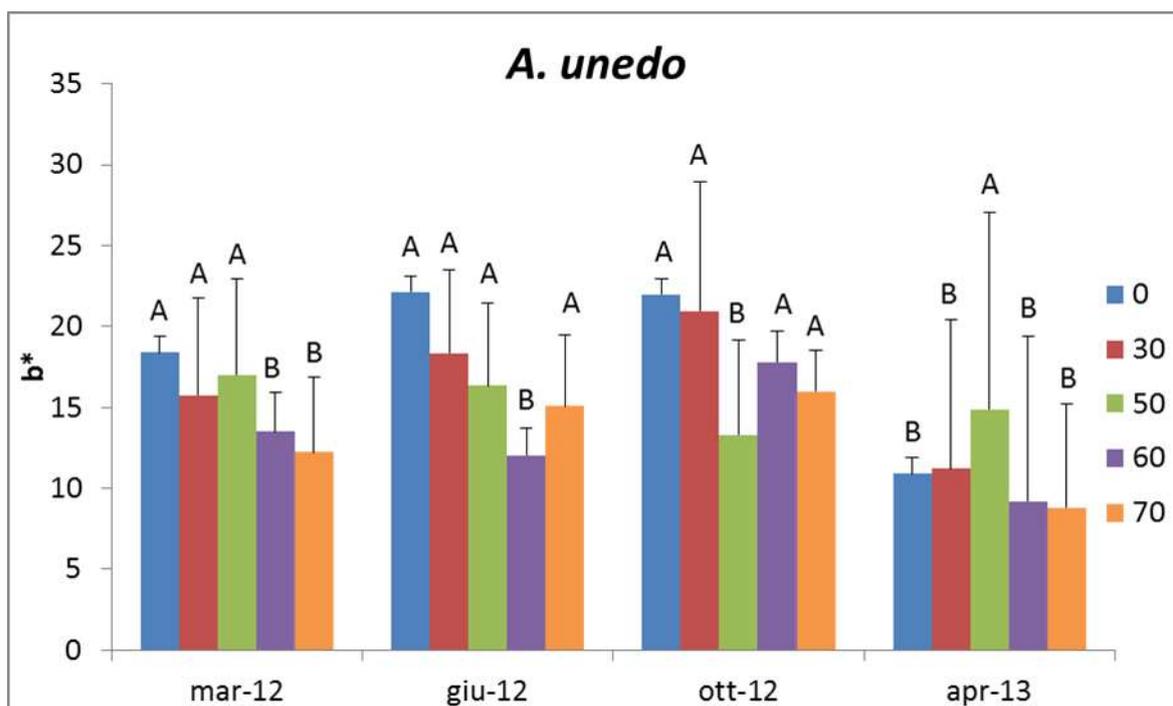


Figura 26. Colorimetrie. Valori di b* nel Corbezzolo (*A. unedo* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

Nel lentisco L^* è stato mediamente più alto in aprile 2013 rispetto agli altri periodi (Fig. 27). Il parametro a^* ha assunto il suo valore più basso nella tesi 60% a ottobre (-12,21), mentre il più alto a marzo 2012 nella tesi di controllo 0% (-4,90) come si vede in Figura 28. Infine b^* ha mostrato il valore più alto nella tesi 60% (14,61) in ottobre 2012 e nella stessa tesi, ma in aprile 2013, ha assunto invece il valore più basso di tutti (3,90) (Fig. 29).

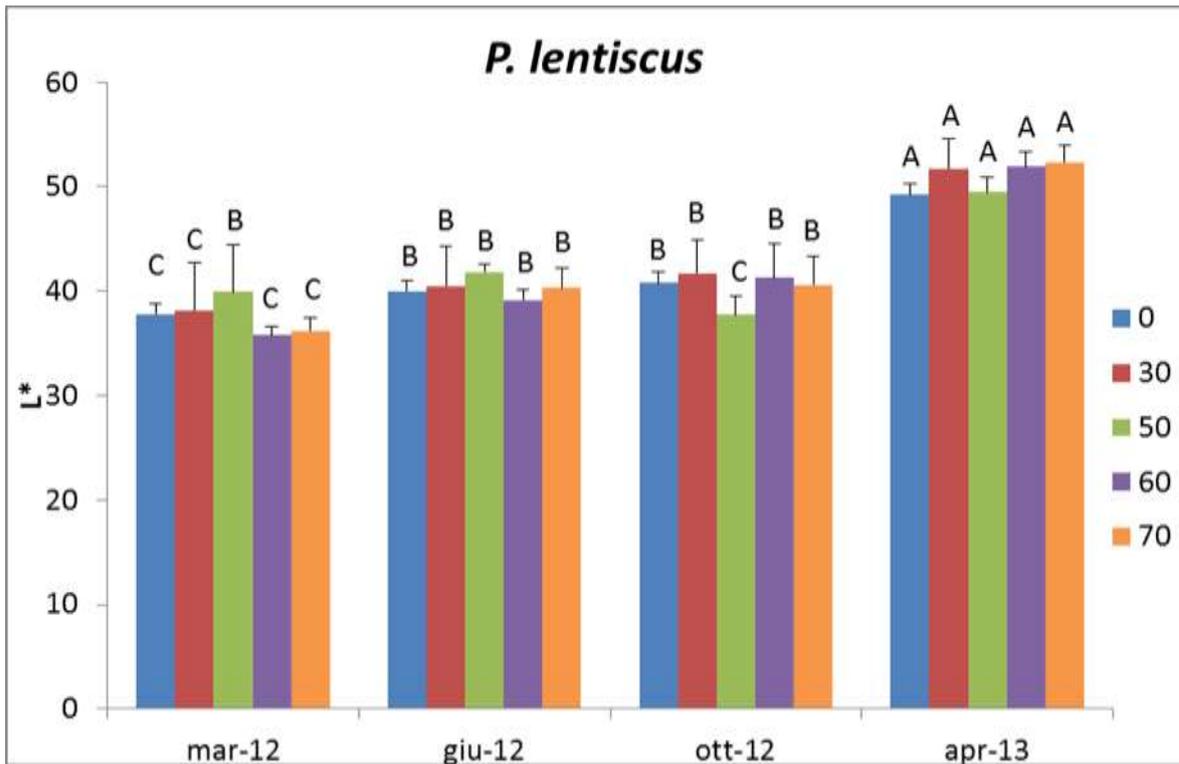


Figura 27. Colorimetrie. Valori di L* nel Lentisco (*P. lentiscus* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

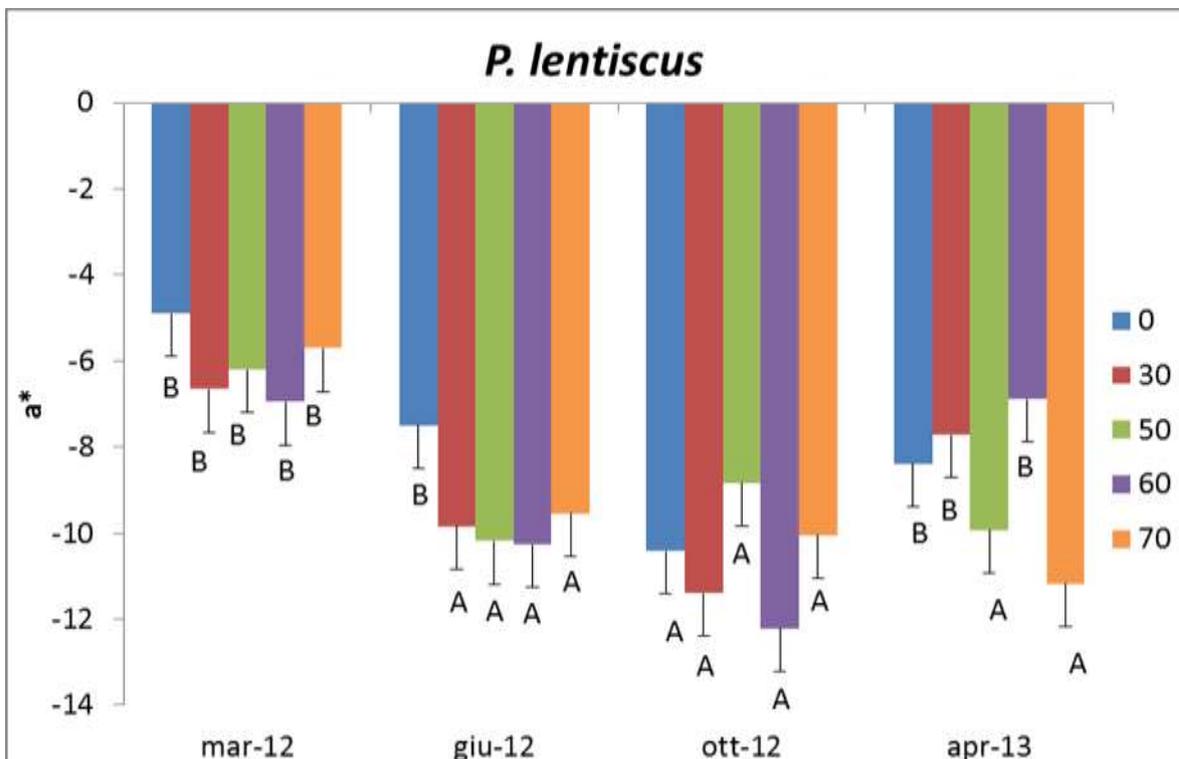


Figura 28. Colorimetrie. Valori di a* nel Lentisco (*P. lentiscus* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

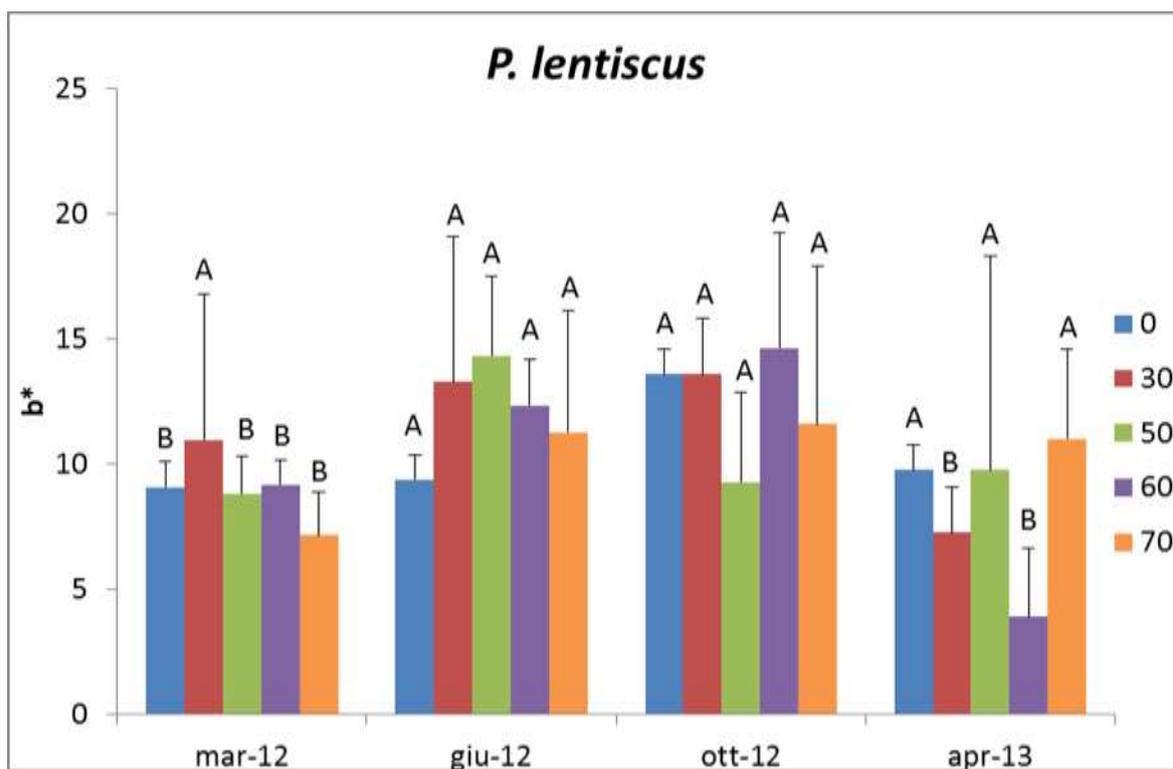


Figura 29. Colorimetrie. Valori di b^* nel Lentisco (*P. lentiscus* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

Clorofille.

Sono state considerate sulla base del peso fresco le concentrazioni di clorofilla *a* e *b* distintamente, della clorofilla totale $a + b$ e il rapporto a/b .

Nel mirto i valori più elevati di clorofilla *a* si sono avuti nelle tesi maggiormente ombreggiate 60% e 70% in ottobre 2012 (rispettivamente 0,98 e 0,79 mg g⁻¹) e aprile 2013 (rispettivamente 0,84 e 0,80 mg g⁻¹), come in Figura 30. In tutti i periodi di osservazione i valori delle tesi meno ombreggiate 30% e 50% e quelli del settore di controllo 0% si sono tenuti più bassi rispetto alle tesi più ombreggiate. Lo stesso andamento si è notato per la clorofilla *b* (Fig. 31), il cui valore massimo è nella tesi 60% a ottobre 2012 è 0,33 mg g⁻¹, e stesso andamento anche per il totale $a + b$, con il massimo a 1,32 mg g⁻¹ nella tesi 60% di ottobre (Fig. 32).

Nel leccio la clorofilla *a* (Fig. 33) ha il suo massimo valore nella tesi 70% di ottobre 2012 (1,34 mg g⁻¹) e per la stessa tesi risulta sempre un valore più alto rispetto alle altre tesi e nei vari periodi, mentre il valore più basso è a giugno 2012 nella tesi 60% (0,30 mg g⁻¹). La clorofilla *b* mostra i suoi valori più alti di ciascun periodo nella tesi 70% (0,40; 0,40 e 0,30 mg g⁻¹ rispettivamente) e quello più basso nella tesi 30% (0,22 mg g⁻¹) in giugno 2012 (Fig. 34). La clorofilla totale $a + b$ segue l'andamento della clorofilla *a* con il valore massimo a ottobre 2012 nella tesi 70% (1,75 mg g⁻¹) e minimo a giugno nella tesi 30% (0,54 mg g⁻¹), come in figura 35.

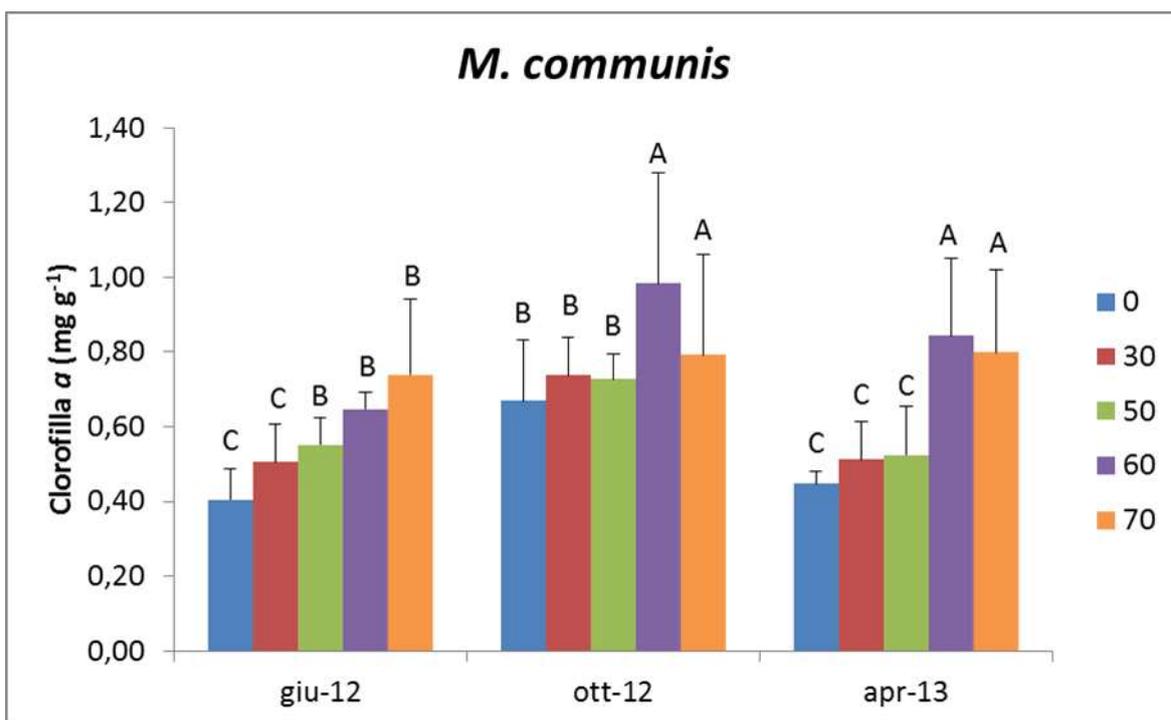


Figura 30. Clorofille. Contenuto in clorofilla *a* nel Mirto (*M. communis* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

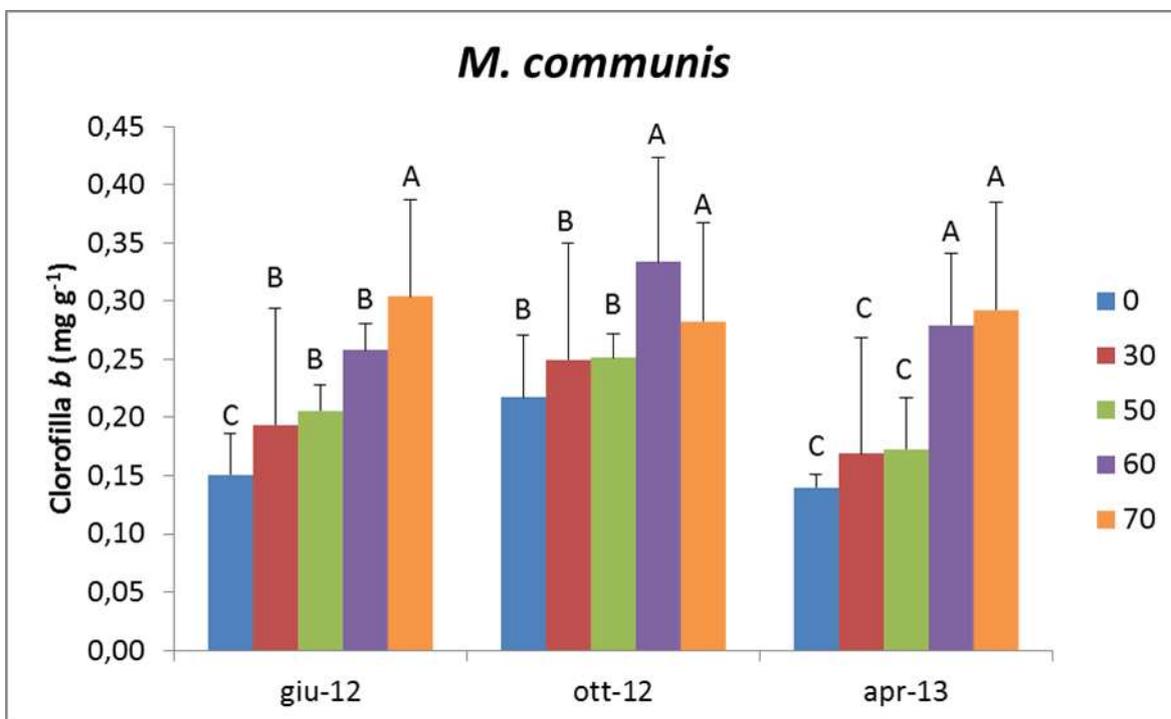


Figura 31. Clorofille. Contenuto in clorofilla *b* nel Mirto (*M. communis* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

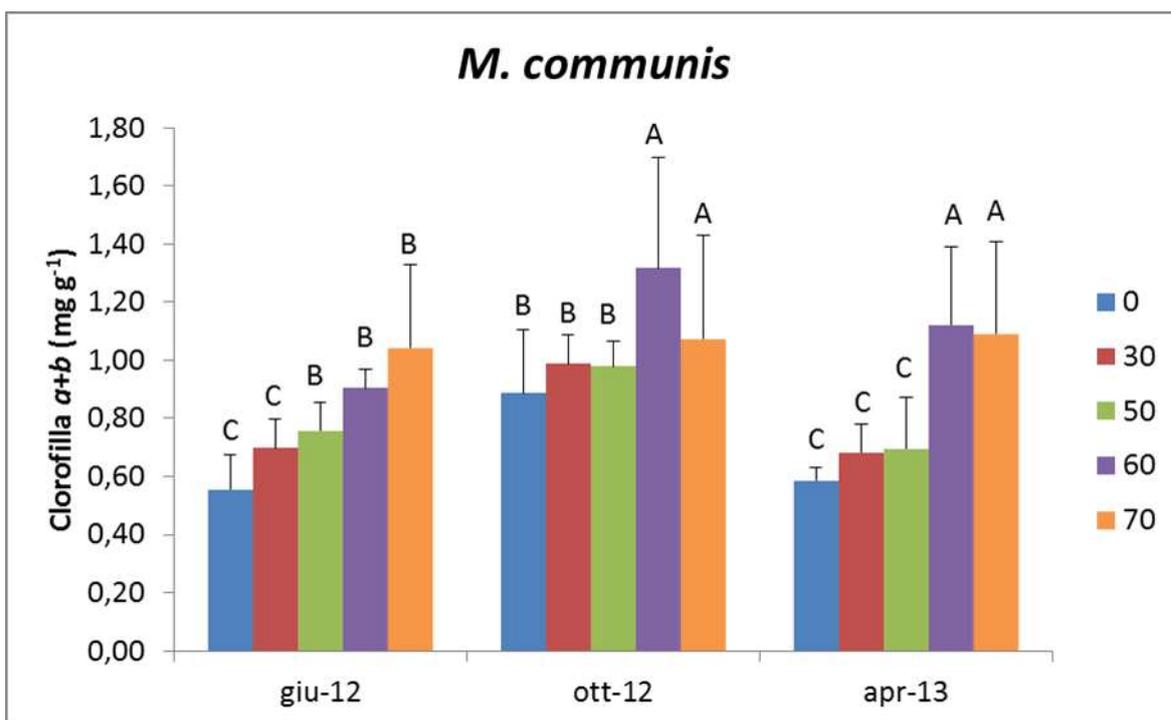


Figura 32. Clorofille. Contenuto in clorofilla totale ($a+b$) nel Mirto (*M. communis* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

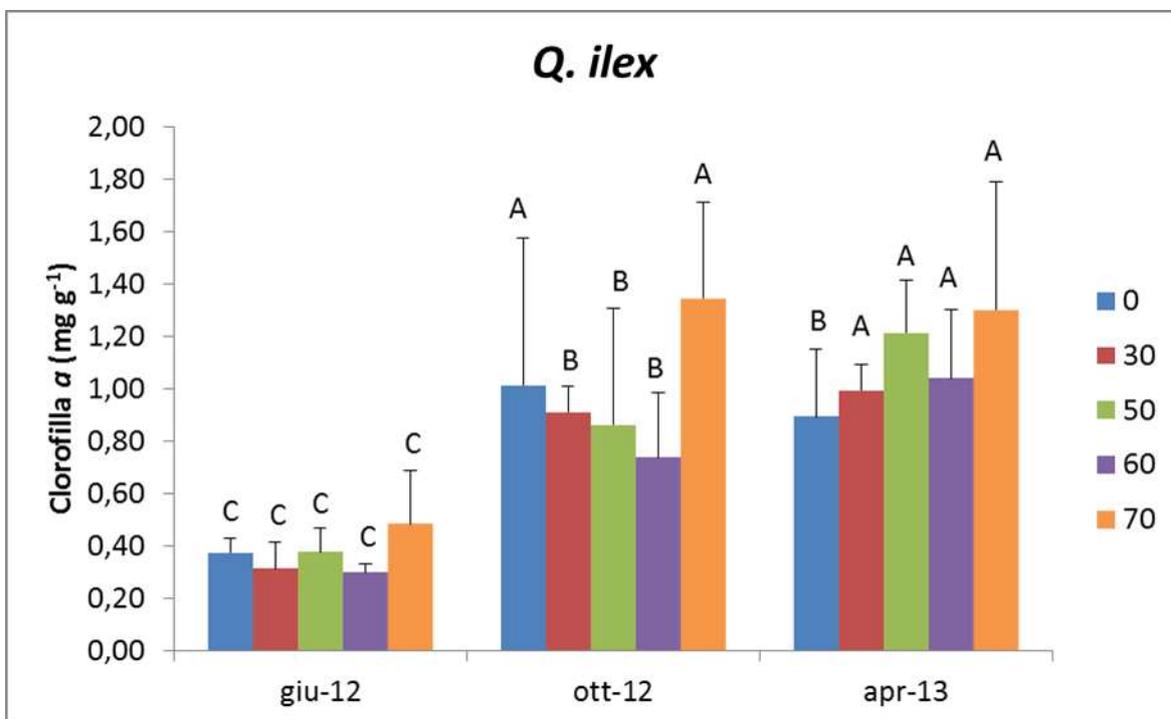


Figura 33. Clorofille. Contenuto in clorofilla a nel Leccio (*Q. ilex* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

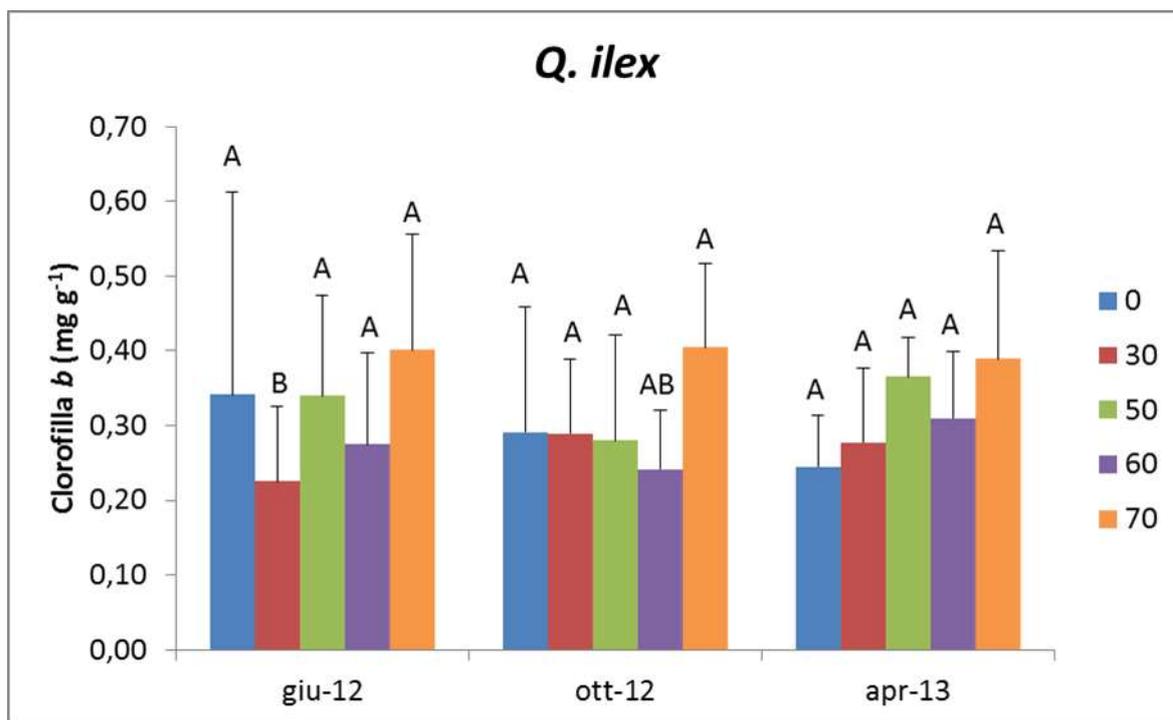


Figura 34. Clorofille. Contenuto in clorofilla *b* nel Leccio (*Q. ilex* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

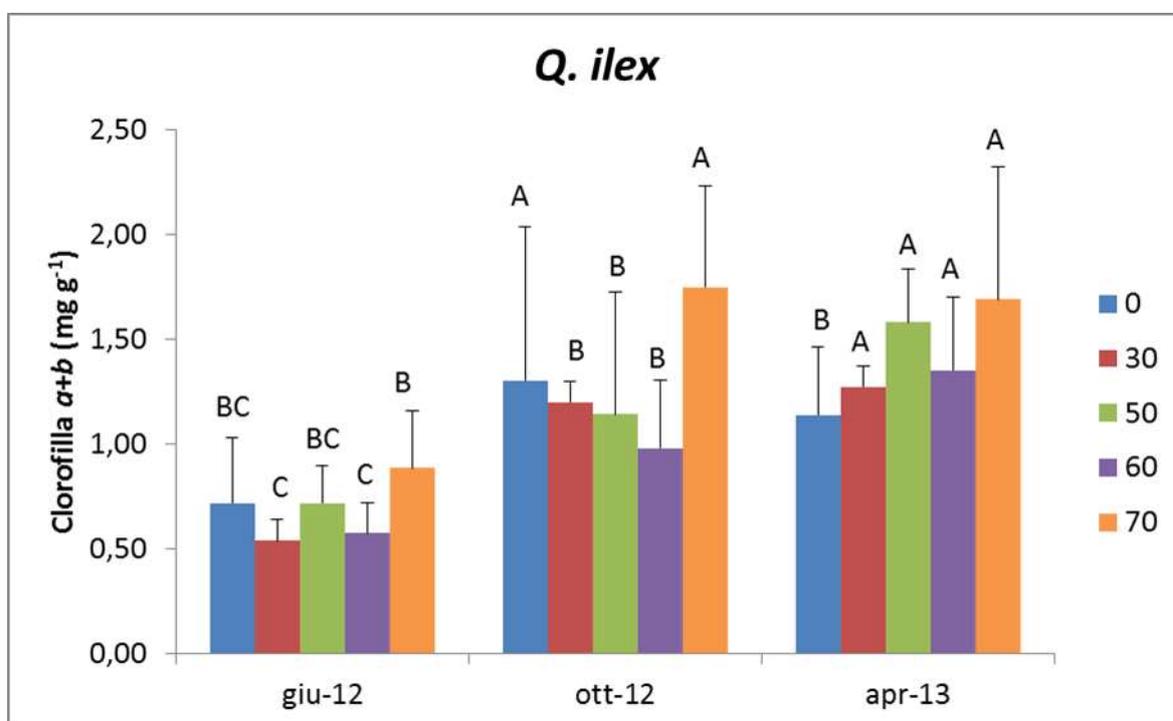


Figura 35. Clorofille. Contenuto in clorofilla totale (*a+b*) nel Leccio (*Q. ilex* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

I valori di clorofilla *a* significativamente più alti per il corbezzolo sono stati registrati nella tesi 50% e 30% in tutti i periodi di osservazione. Il più alto era nella tesi 70% a giugno 2012 (1,23 mg g⁻¹), mentre il più basso si collocava sempre nello stesso periodo ma nella tesi di controllo (0,45 mg g⁻¹), Figura 36. La clorofilla *b* ha mostrato simili caratteristiche con il suo massimo nella tesi 70% a giugno 2012 (0,46 mg g⁻¹) e minimo nel settore di controllo (0,16 mg g⁻¹), sempre in giugno 2012 (Figura 37). Infine i valori di clorofilla totale, ancora una volta con lo stesso andamento dei precedenti valori di clorofilla *a* e *b*, hanno avuto il massimo di 1,69 mg g⁻¹ a giugno 2012 nella tesi 70% e il minimo di 0,61 mg g⁻¹ nel settore di controllo 0% (Figura 38).

Per il lentisco il dato maggiore di clorofilla *a* si collocava a ottobre 2012 nella tesi 70% (1,09 mg g⁻¹), mentre il minore nella tesi 30% a giugno 2012 (0,56 mg g⁻¹) (Fig. 39). Il valore maggiore di clorofilla *b* è stato di 1,01 mg g⁻¹ nella tesi 70% a giugno 2012, mentre il minore è stato di 0,18 mg g⁻¹ nella tesi 30% ad aprile 2013 (Fig. 40). Il massimo valore per le clorofille totali è stato sempre nella tesi 70% a ottobre 2012, con 1,51 mg g⁻¹ e il minore nella tesi 30% ad aprile 2013 (0,75 mg g⁻¹) (Fig. 41).

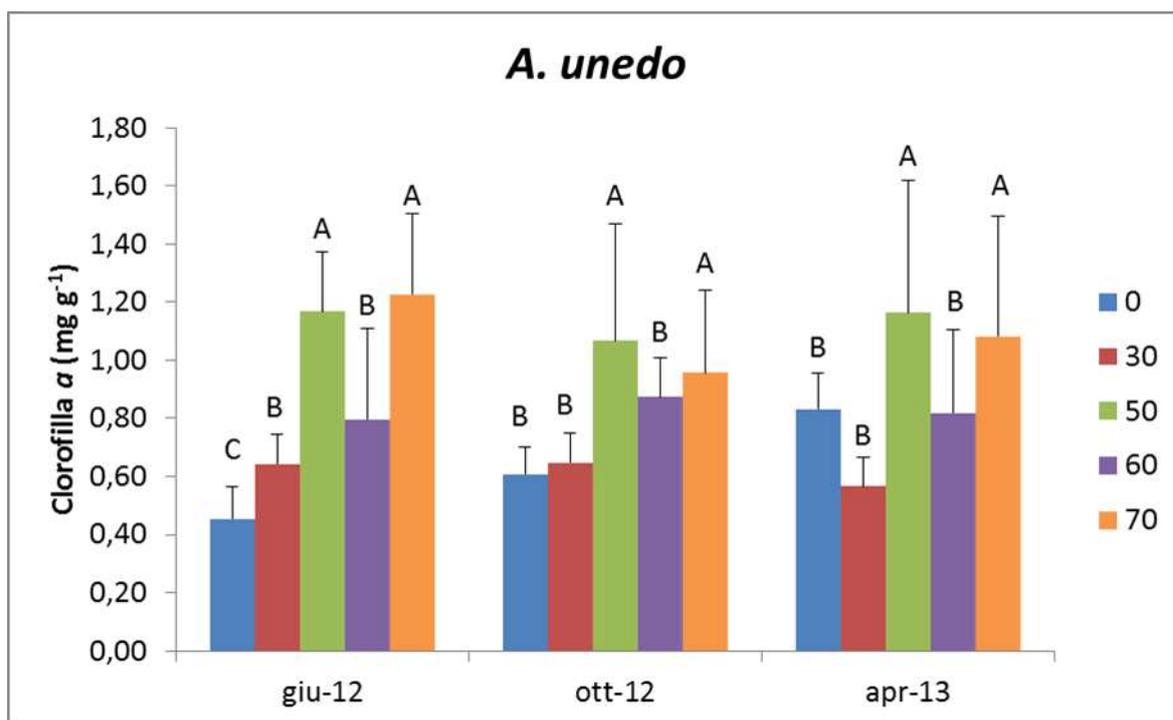


Figura 36. Clorofille. Contenuto in clorofilla *a* nel Corbezzolo (*A. unedo* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

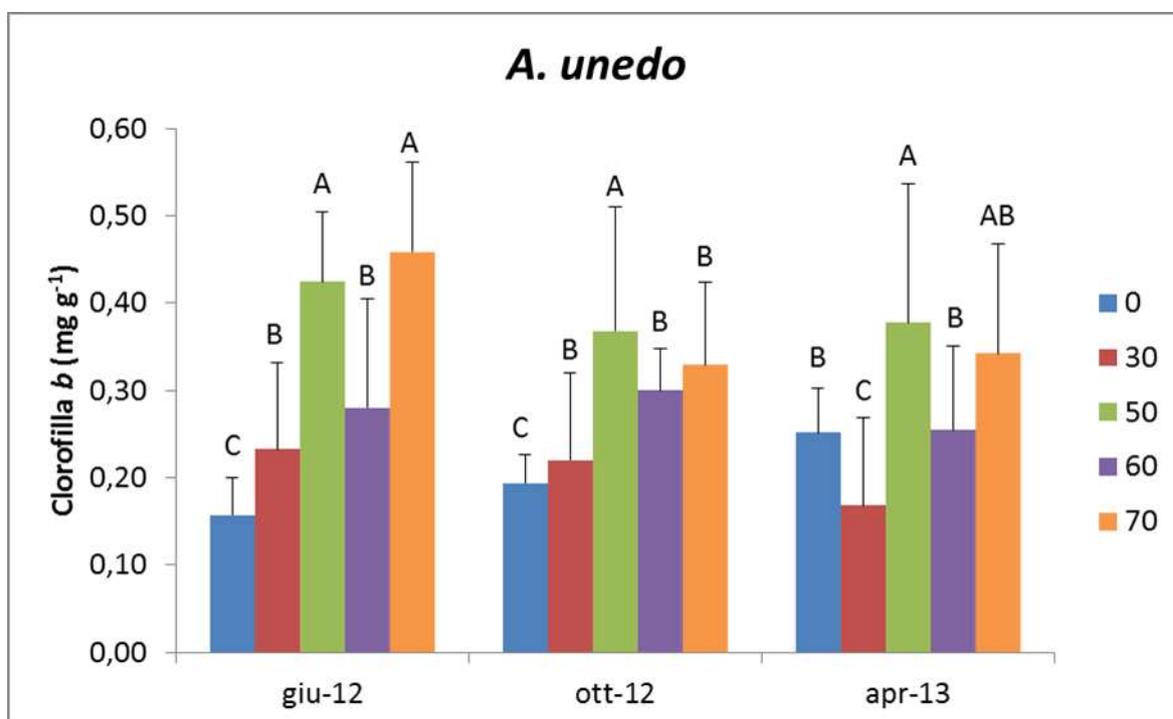


Figura 37. Clorofille. Contenuto in clorofilla *b* nel Corbezzolo (*A. unedo* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

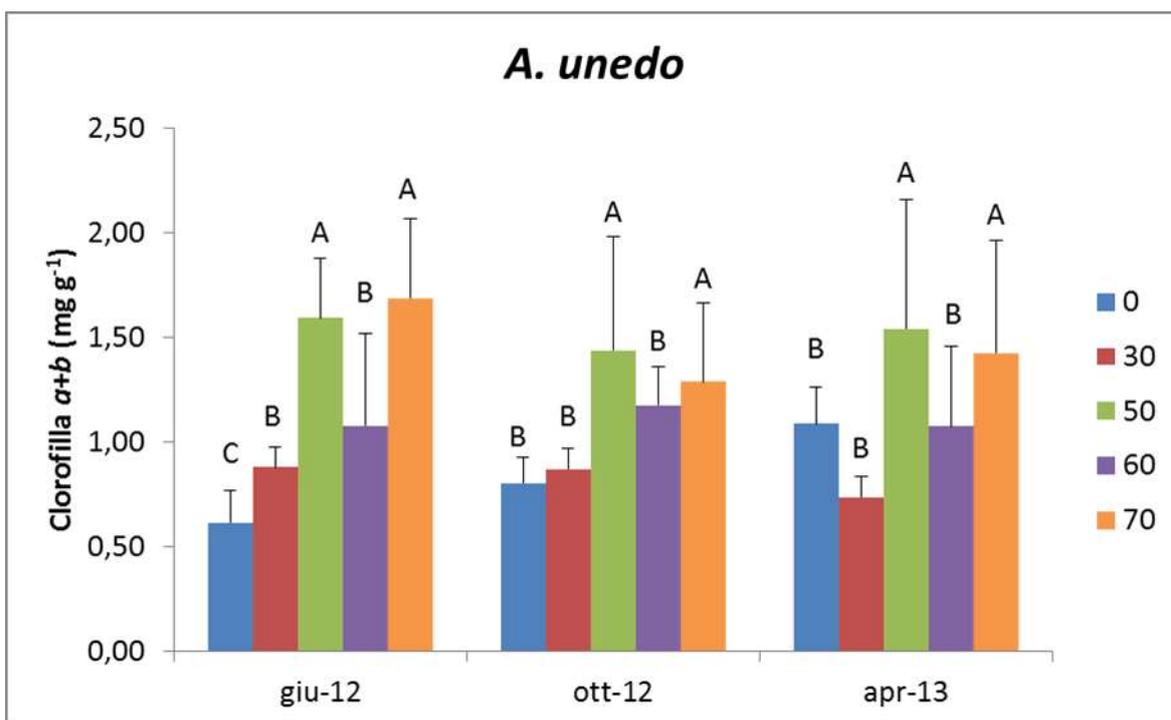


Figura 38. Clorofille. Contenuto in clorofilla totale ($a+b$) nel Corbezzolo (*A. unedo* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

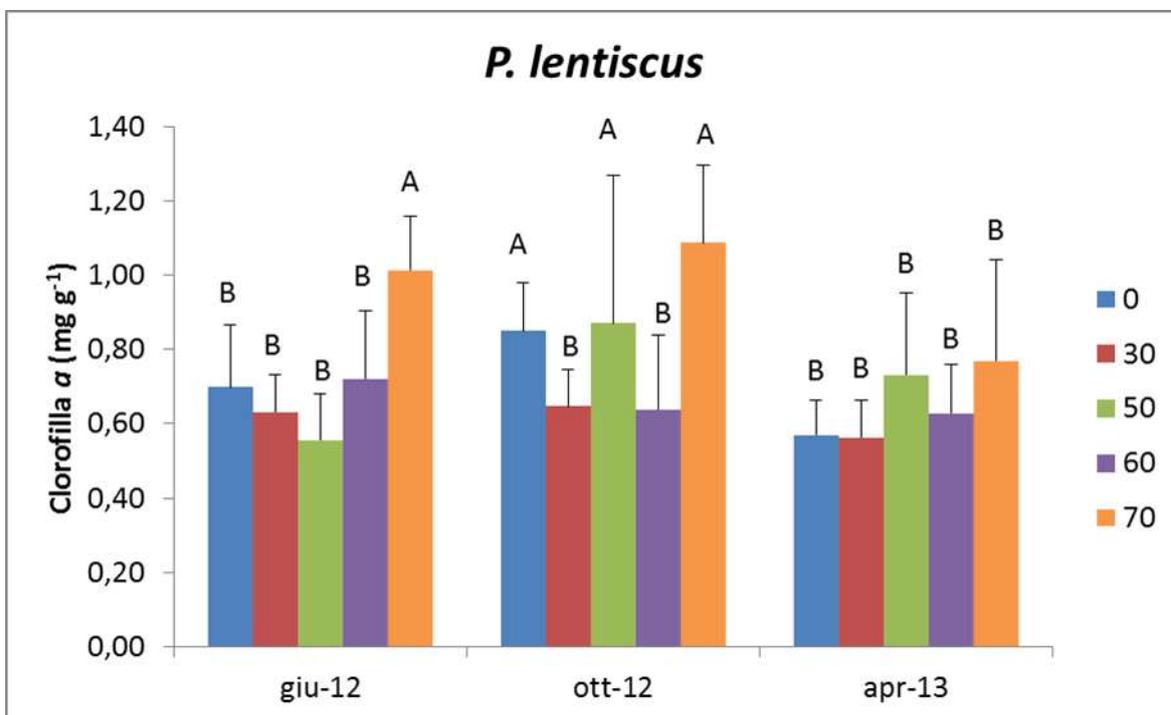


Figura 39. Clorofille. Contenuto in clorofilla a nel Lentisco (*P. lentiscus* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

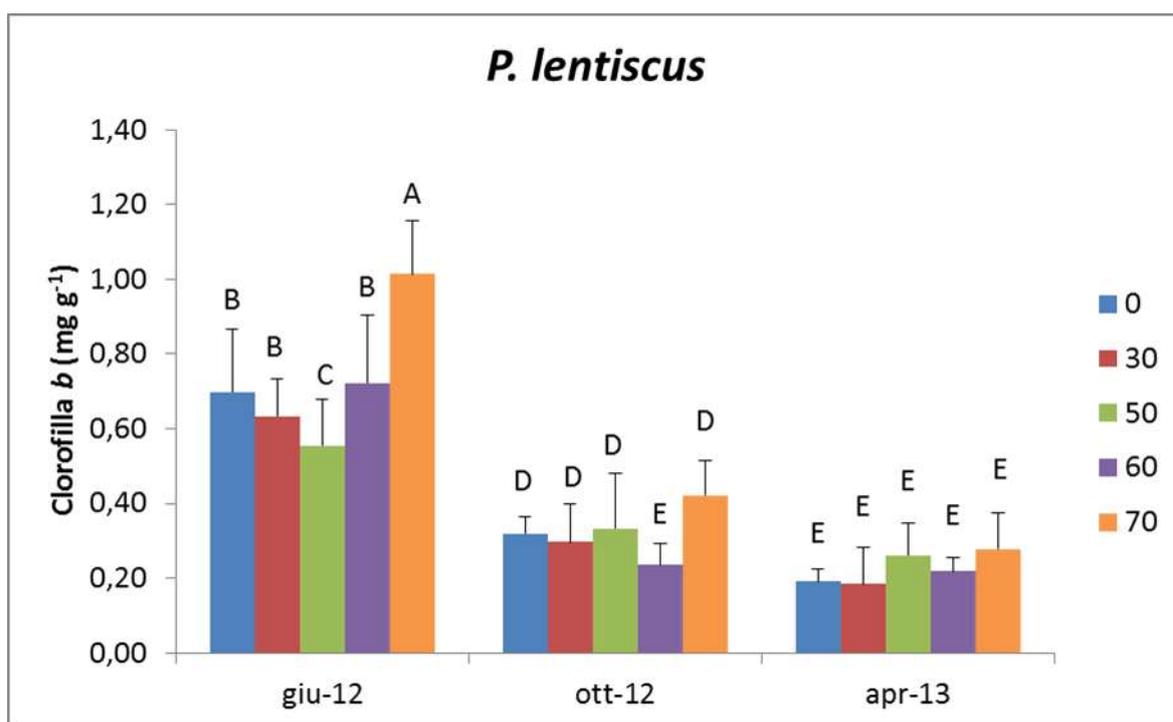


Figura 40. Clorofille. Contenuto in clorofilla *b* nel Lentisco (*P. lentiscus* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

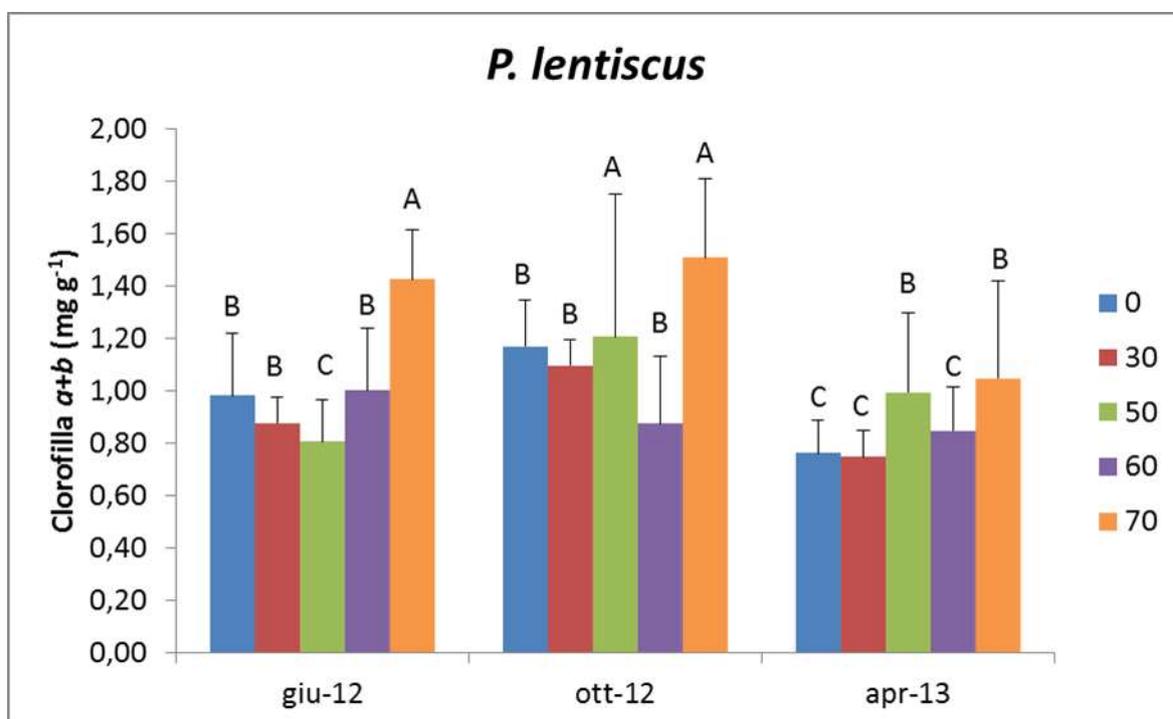


Figura 41. Clorofille. Contenuto in clorofilla totale (*a+b*) nel Lentisco (*P. lentiscus* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

Per il mirto il rapporto clorofilla *a/b* è stato più alto a ottobre 2012 e aprile 2013 rispetto a marzo 2012 (Fig. 42). In ciascun periodo la tesi 70% ha mostrato i valori più bassi del periodo, col valore più basso in assoluto a marzo 2012 (2,43). Il valore più alto si è invece registrato ad aprile 2013 nella tesi di controllo 0% (3,19).

Anche nel corbezzolo valori più alti si sono osservati nel periodo ottobre 2012 e aprile 2013 (Fig. 43). Il rapporto più alto è stato nella tesi 30% ad aprile 2013 (3,35) mentre il più basso nella tesi 70% a giugno 2012 (2,67).

Si sono avuti i valori maggiori negli ultimi due periodi di osservazione anche per il leccio (Fig. 44), con il massimo nella tesi di controllo 0% ad aprile 2013 (3,65), e il minimo nella tesi 60% a giugno 2012 (1,29).

Infine nel lentisco il valore maggiore è stato registrato nel periodo aprile 2013 e nella tesi 30% (3,07), mentre il minore nel periodo giugno 2012 e nella tesi 50% (2,23); e si è notato lo stesso andamento visto nelle altre tesi con i valori più alti del rapporto clorofilla *a/b* ancora una volta nei periodi ottobre 2012 e aprile 2013 (Fig. 45).

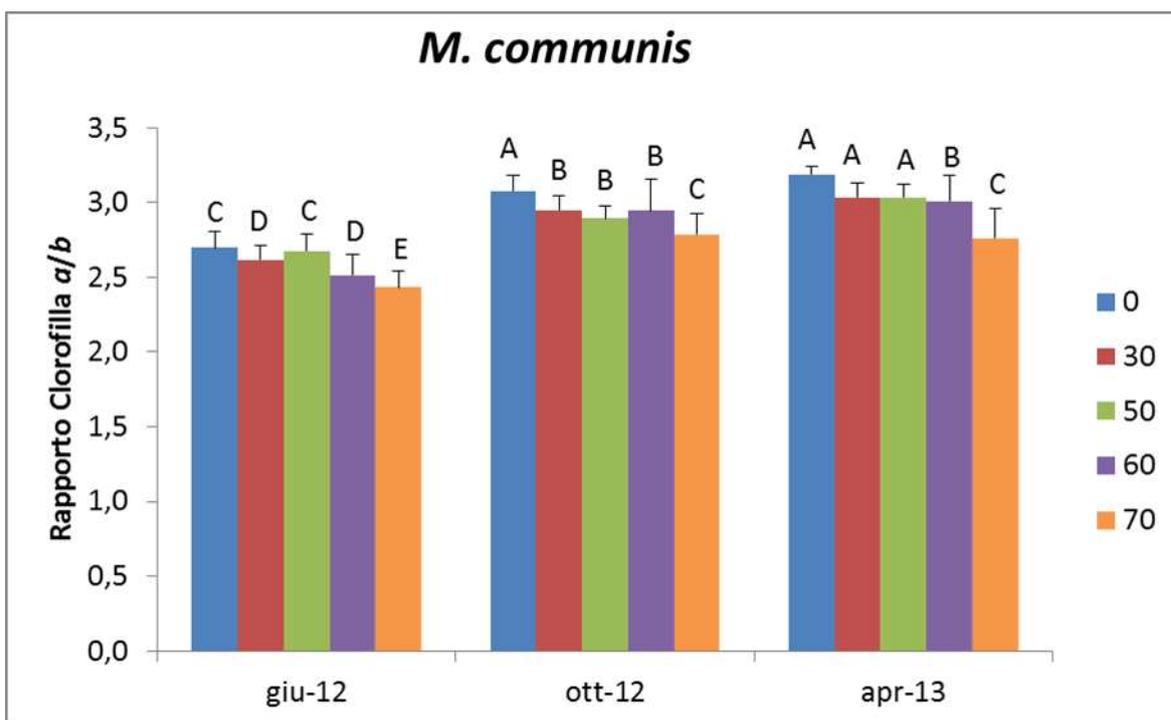


Figura 42. Clorofille. Rapporto tra contenuto in clorofilla *a* e *b* nel Mirto (*M. communis* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

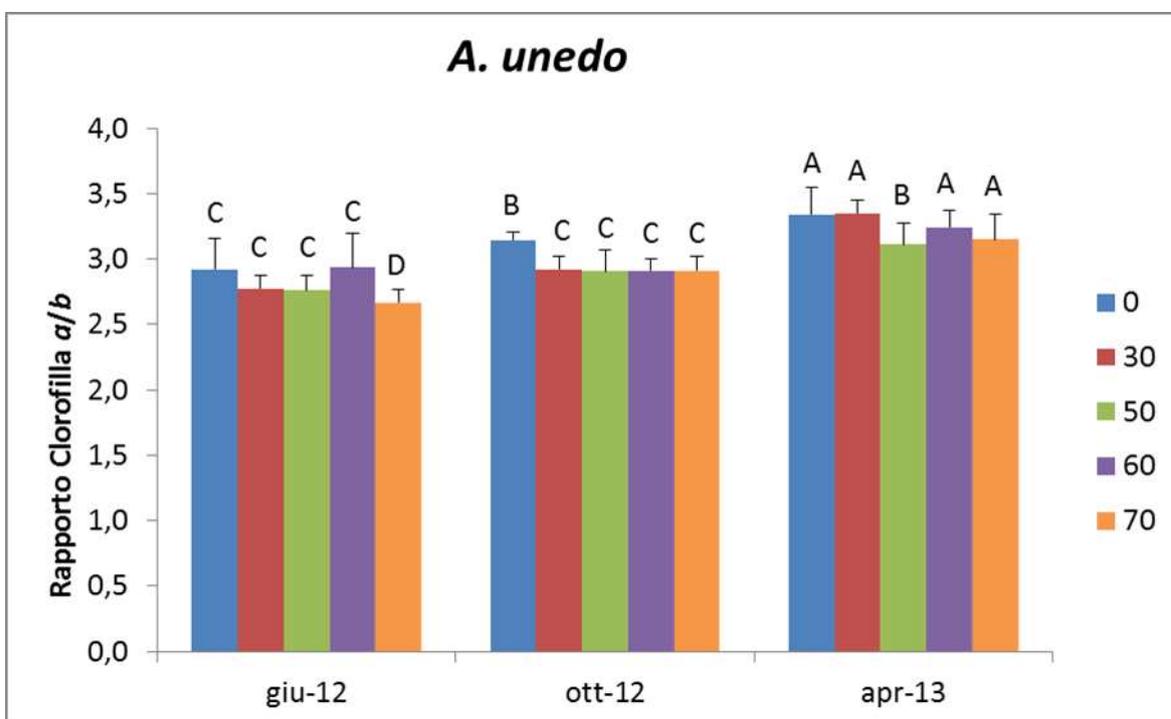


Figura 43. Clorofille. Rapporto tra contenuto in clorofilla *a* e *b* nel Corbezzolo (*A. unedo* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

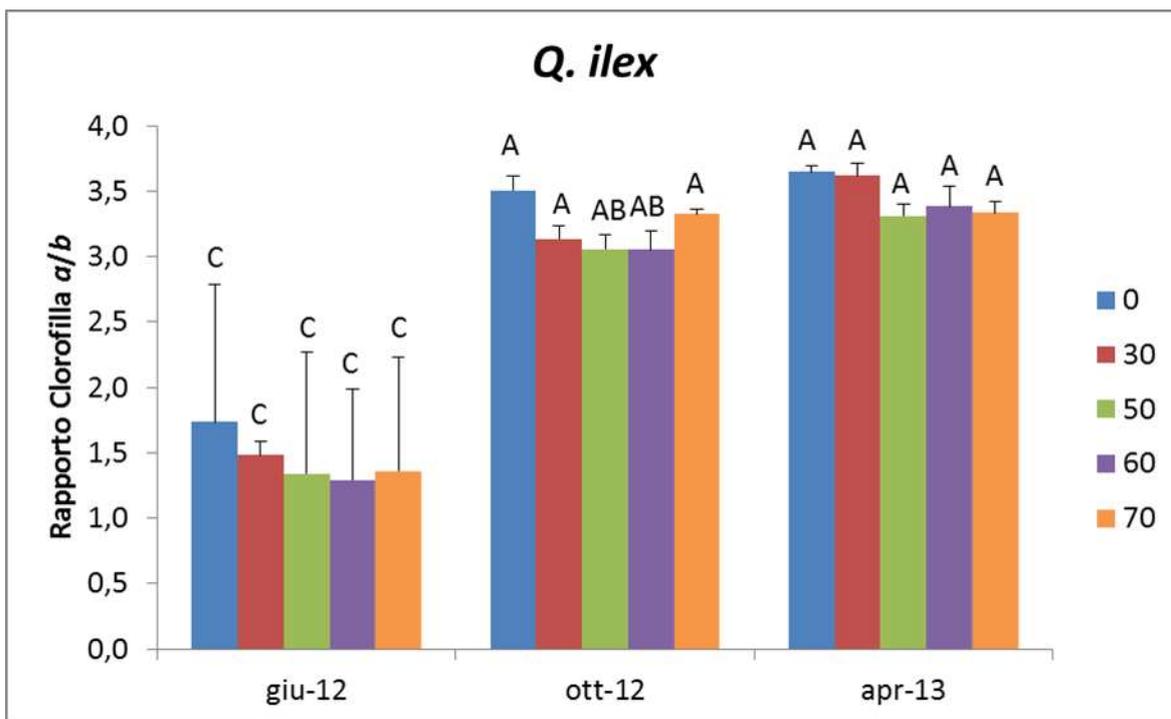


Figura 44. Clorofille. Rapporto tra contenuto in clorofilla *a* e *b* nel Leccio (*Q. ilex* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

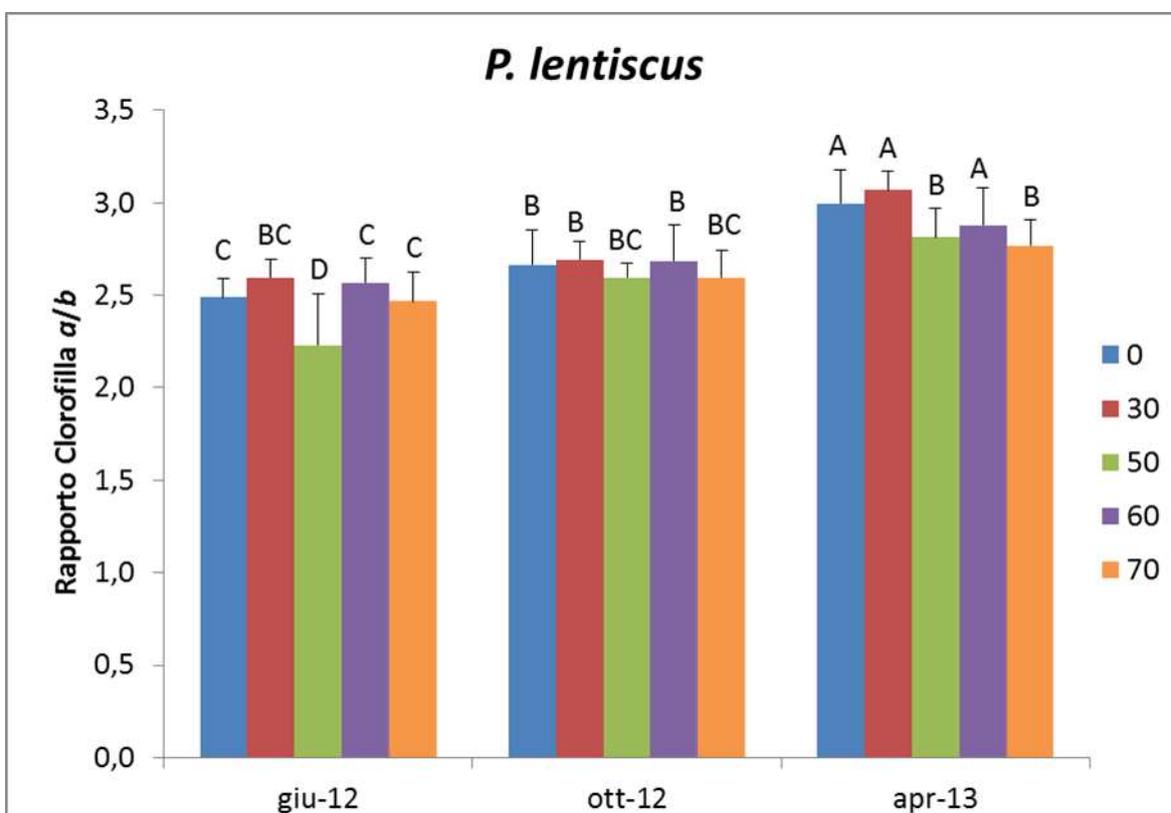


Figura 45. Clorofille. Rapporto tra contenuto in clorofilla *a* e *b* nel Lentisco (*P. lentiscus* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

Carotenoidi.

Le concentrazioni di carotenoidi sono da intendersi come $x + c$ (xantofille + β -carotene) e sono riferite al peso fresco.

Nel mirto l'ammontare di carotenoidi più elevato ($0,28 \text{ mg g}^{-1}$) è stato nel periodo aprile 2013 e nella tesi 60%, mentre il più basso ($0,12 \text{ mg g}^{-1}$) si è registrato nella tesi di controllo 0% a giugno 2012. In generale le tesi 60% e 70% hanno avuto valori maggiori rispetto alle altre tesi in ciascun periodo di osservazione e la tesi di controllo si è mostrata sempre con valori inferiori rispetto ai valori rilevati negli altri settori (Fig. 46).

Nel leccio i valori più bassi ($0,06 \text{ mg g}^{-1}$) sono stati nella tesi 30% e 60% a giugno 2012. Il valore più alto ($0,31 \text{ mg g}^{-1}$) si è registrato nella tesi 70%. A giugno si sono in generale registrati i dati più bassi (Fig. 47).

Nel corbezzolo il valore maggiore è stato nel periodo giugno 2012 nella tesi 70% ($0,29 \text{ mg g}^{-1}$), mentre il minore ($0,13 \text{ mg g}^{-1}$) nella tesi di controllo 0% nello stesso periodo. In ciascun periodo di osservazione la tesi 30% rispetto agli altri settori più ombreggiati ha mostrato valori più bassi (Fig. 48).

Nel lentisco la concentrazione più alta si è misurata a ottobre 2012 ($0,27 \text{ mg g}^{-1}$) nella tesi 70% e la più bassa ($0,16 \text{ mg g}^{-1}$) nella tesi 30% di giugno 2012. In generale la tesi 70% ha presentato i valori maggiori rispetto alle altre tesi e nei vari periodi di osservazione (Fig. 49).

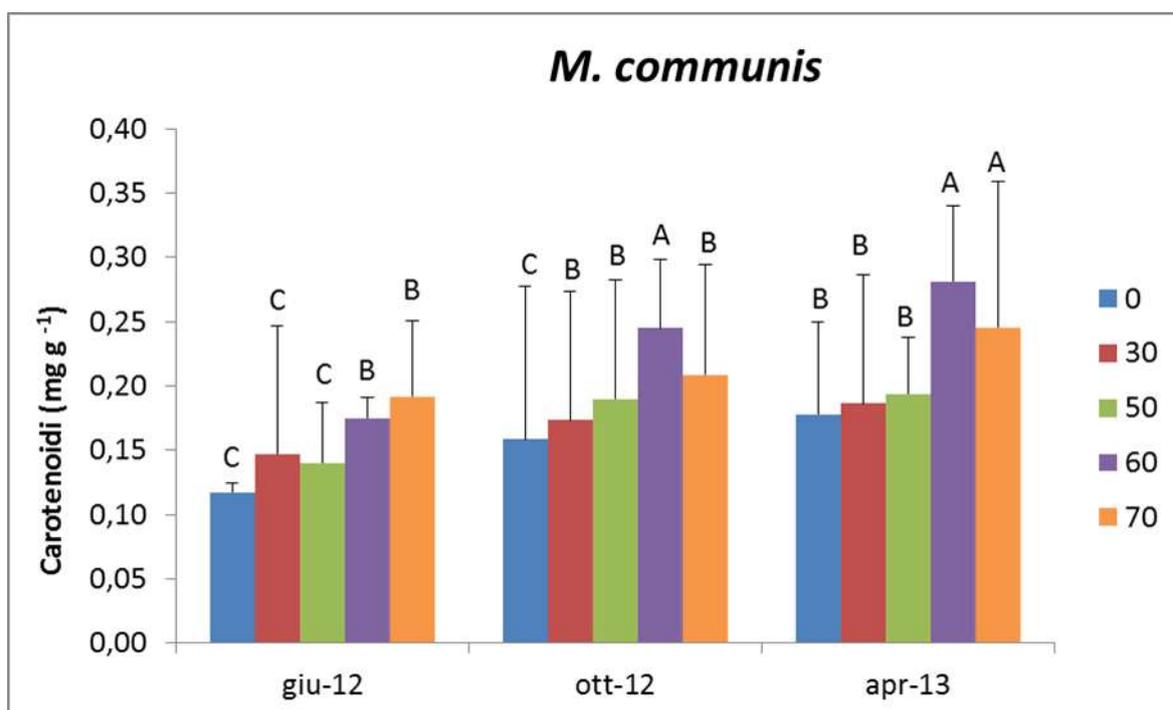


Figura 46. Concentrazione di carotenoidi nel Mirto (*M. communis* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

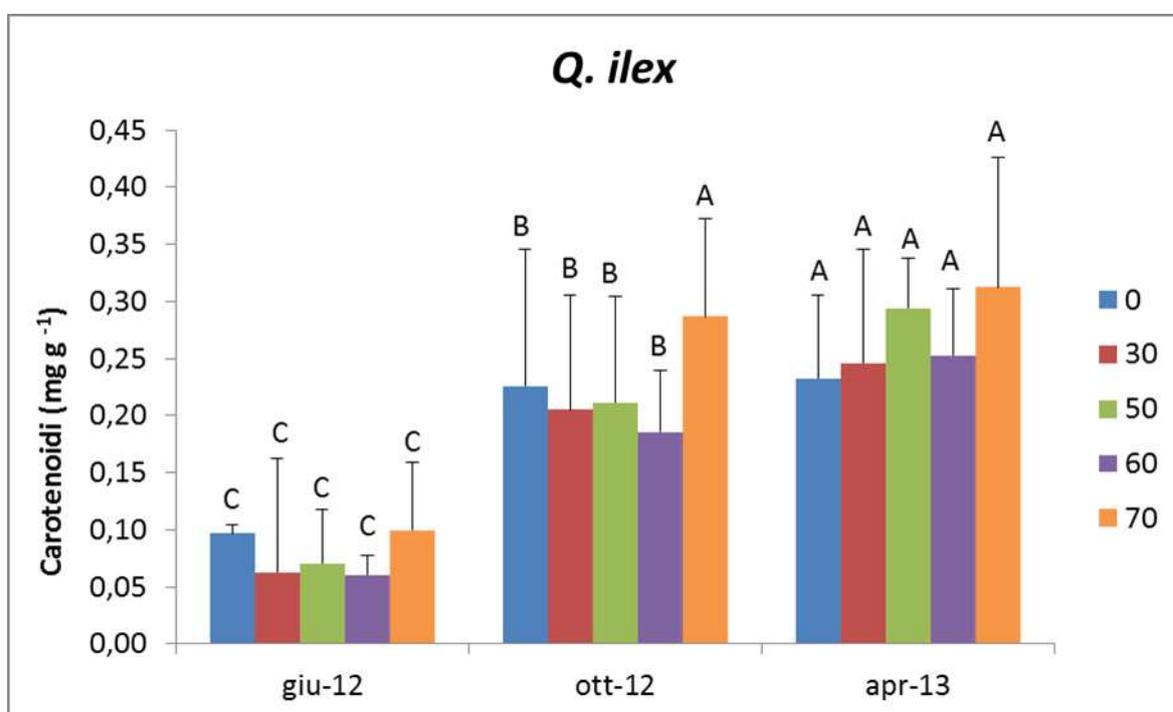


Figura 47. Concentrazione di carotenoidi nel Leccio (*Q. ilex* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

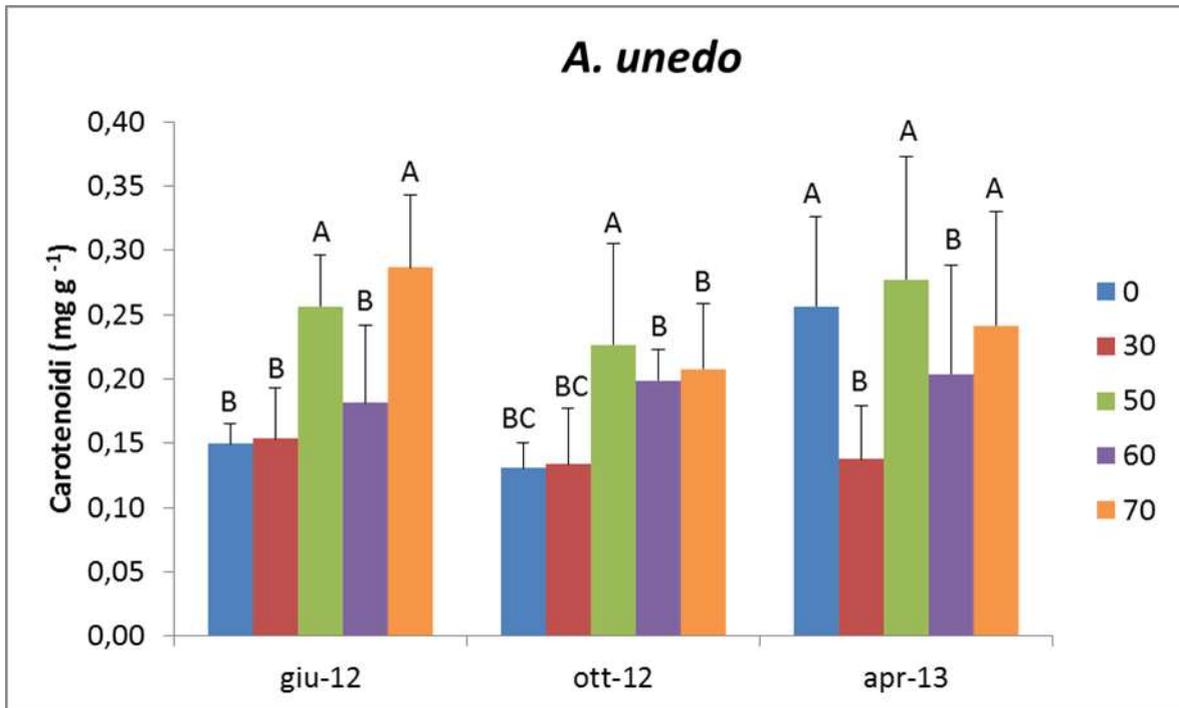


Figura 48. Concentrazione di carotenoidi nel Corbezzolo (*A. unedo* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

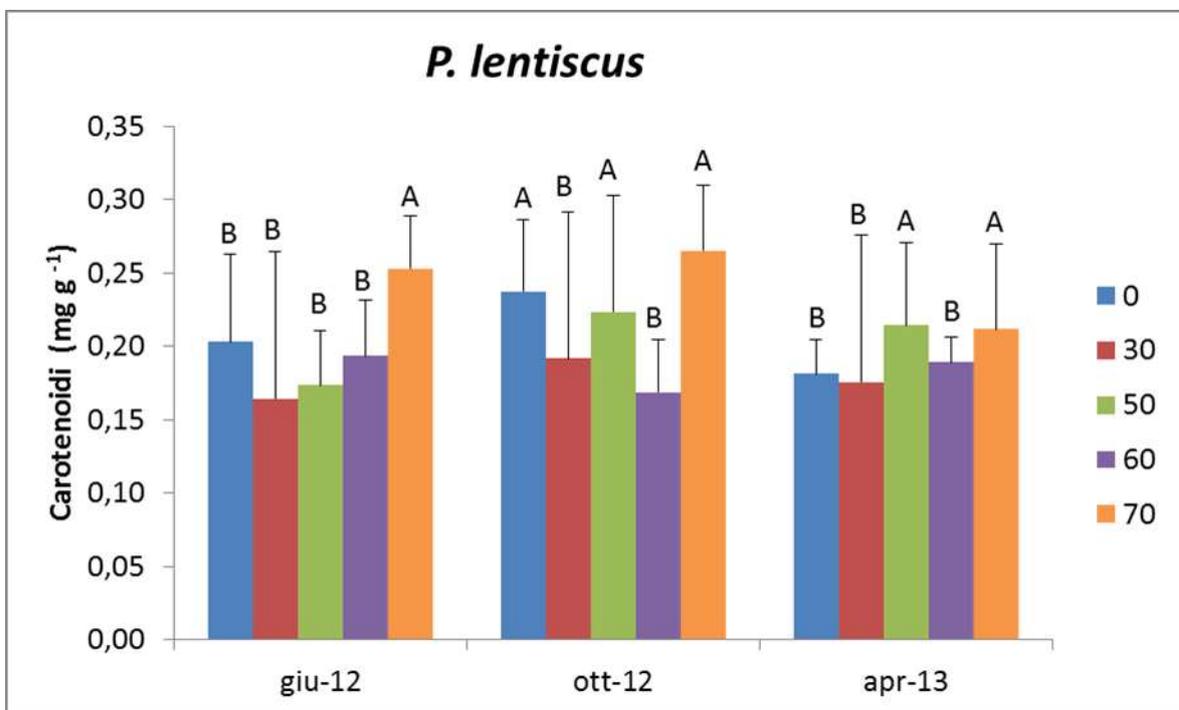


Figura 49. Concentrazione di carotenoidi nel Lentisco (*P. lentiscus* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

E' stato inoltre considerato il rapporto tra clorofilla totale ($a + b$) e carotenoidi, per il quale il mirto ha mostrato il valore maggiore (5,69) nella tesi 30% a ottobre 2012 e il minore (3,33) nella tesi di controllo 0% ad aprile 2013 (Fig. 50).

Nel leccio il dato più alto (16,73) è stato osservato a marzo 2012 nella tesi 50% mentre il più basso in assoluto (4,91) nella tesi di controllo ad aprile 2013 (Fig. 51).

Il rapporto tra la clorofilla totale e i carotenoidi nel corbezzolo è stato più elevato (6,32) nella tesi 30% di ottobre 2012 e il meno elevato (5,68) nella tesi di controllo a giugno 2012 (Fig. 52).

Infine per il lentisco il valore massimo (5,72) è stato visto nella tesi 30% di ottobre 2012 e il minimo (4,17) nella tesi 0% di aprile 2013 (Fig. 53).

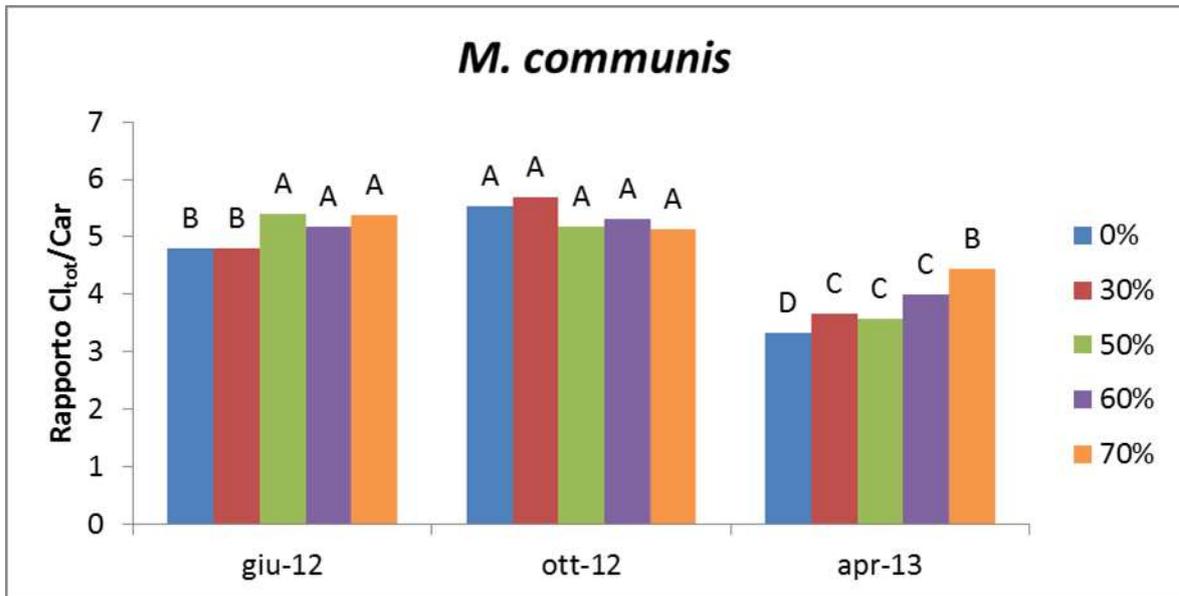


Figura 50. Rapporto tra clorofilla totale ($a+b$) e carotenoidi nel Mirto (*M. communis* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

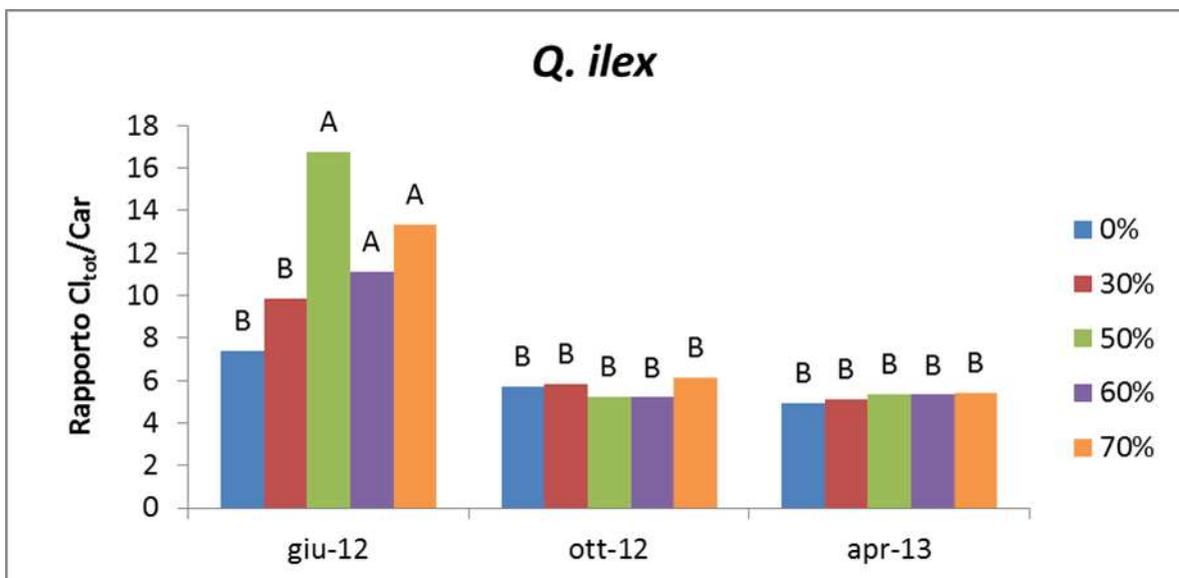


Figura 51. Rapporto tra clorofilla totale ($a+b$) e carotenoidi nel Leccio (*Q. ilex* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

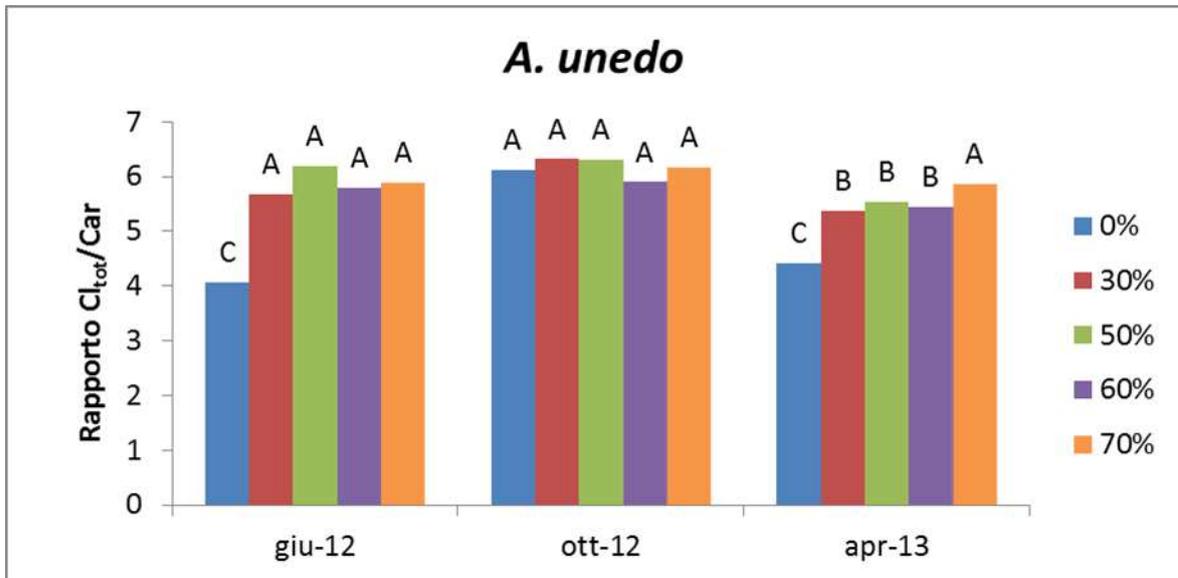


Figura 52. Rapporto tra clorofilla totale ($a+b$) e carotenoidi nel Corbezzolo (*A. unedo* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

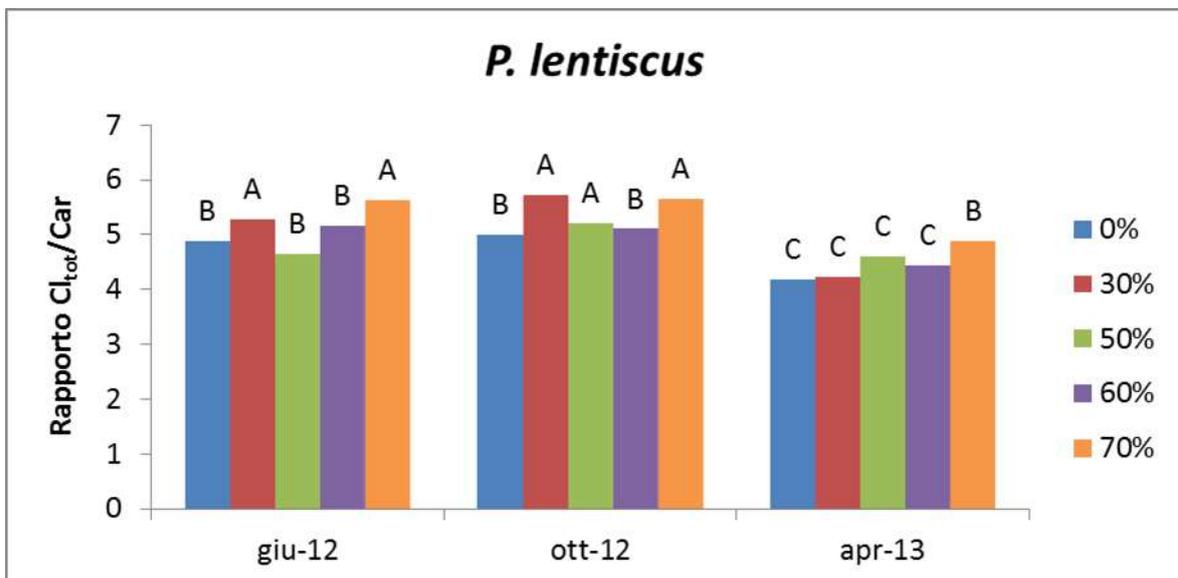


Figura 53. Rapporto tra clorofilla totale ($a+b$) e carotenoidi nel Lentisco (*P. lentiscus* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

Accrescimento dei germogli.

Durante il periodo di osservazione sono state rilevate le misure biometriche per annotare le percentuali di accrescimento relativo tra la prima misurazione risalente a marzo 2012 e la seconda di giugno 2012 (prima serie), tra la seconda di giugno 2012 e la terza di ottobre 2012 (seconda serie) e infine tra la terza di ottobre 2012 e la quarta di aprile 2013 (terza serie).

Nel mirto i maggiori valori di accrescimento sono stati registrati nella prima serie, con il massimo nella tesi 50% (107%) e nella seconda serie con il massimo nella tesi 60% (101%). Nella terza serie il valore più basso è stato nella tesi 30% (17%) che non si è discostata dal controllo 0% (17%) della stessa serie (Fig. 54).

Per il leccio i valori di accrescimento più alti sono stati nella prima serie nelle tesi 60% (374%) e 50% (360%). La stessa proporzione si è mantenuta nella seconda serie seppur con valori mediamente più bassi. Infine il valore più basso rispetto a tutti gli altri registrati per il leccio si trovava nella tesi 60% (24%) della terza serie. La tesi 70% di ciascuna serie ha mostrato sempre valori superiori rispetto alla tesi di controllo 0% e alla tesi 30% (Fig. 55).

Anche le percentuali di accrescimento più alte per il corbezzolo sono state osservate nella prima serie, ma con il massimo nella tesi 60% (296%) subito seguito dal valore della tesi 70% (274%). Anche nella seconda serie il massimo si è notato nella tesi 60%. Valori significativamente inferiori rispetto alla prima serie si sono collocati sia nella seconda serie che nella terza, con il più basso di tutti in quest'ultima nella tesi 70% (28%), come si può apprezzare in Figura 56.

Il lentisco ha mostrato percentuali di accrescimento più alte nelle tesi 30%, 50% e 70% e più basse nella tesi 60% sia nella prima (rispettivamente 95%, 136%, 120% e 45%) che nella seconda serie (rispettivamente 82%, 126%, 126% e 39%), mentre nella terza serie i più alti sono stati nella tesi 60% (51%) e 70% (48%) (Fig. 57).

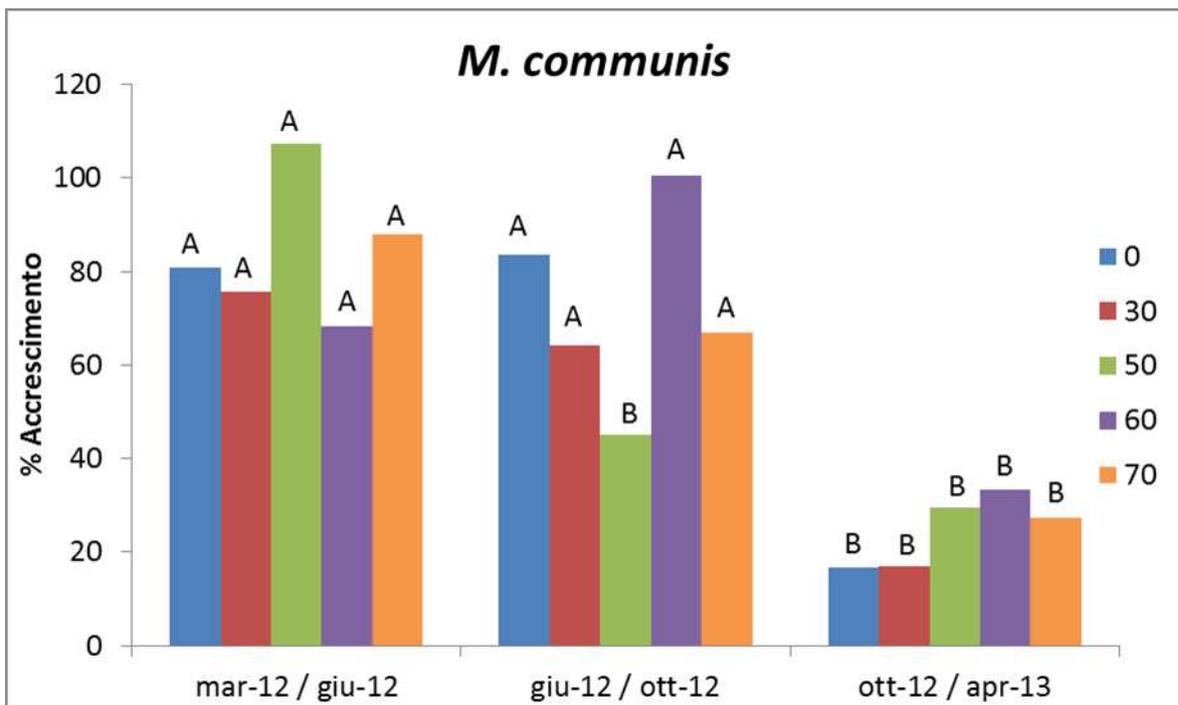


Figura 54. Percentuali di accrescimento relativo nel Mirto (*M. communis* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

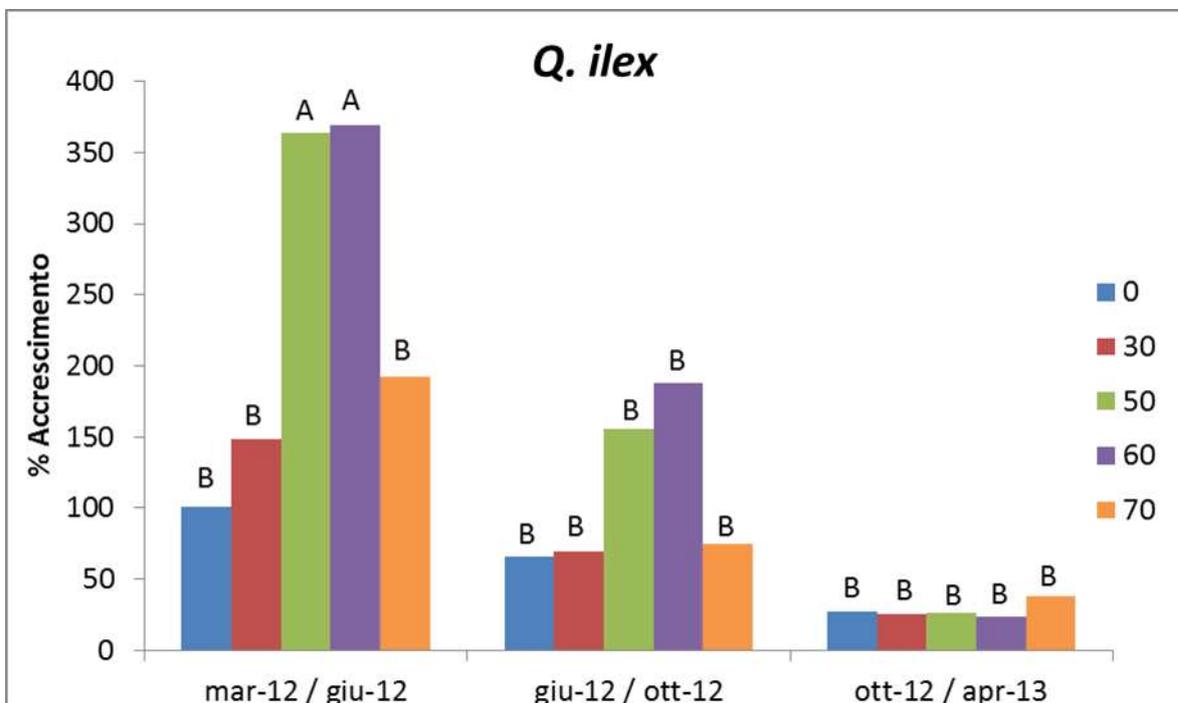


Figura 55. Percentuali di accrescimento relativo nel Leccio (*Q. ilex* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

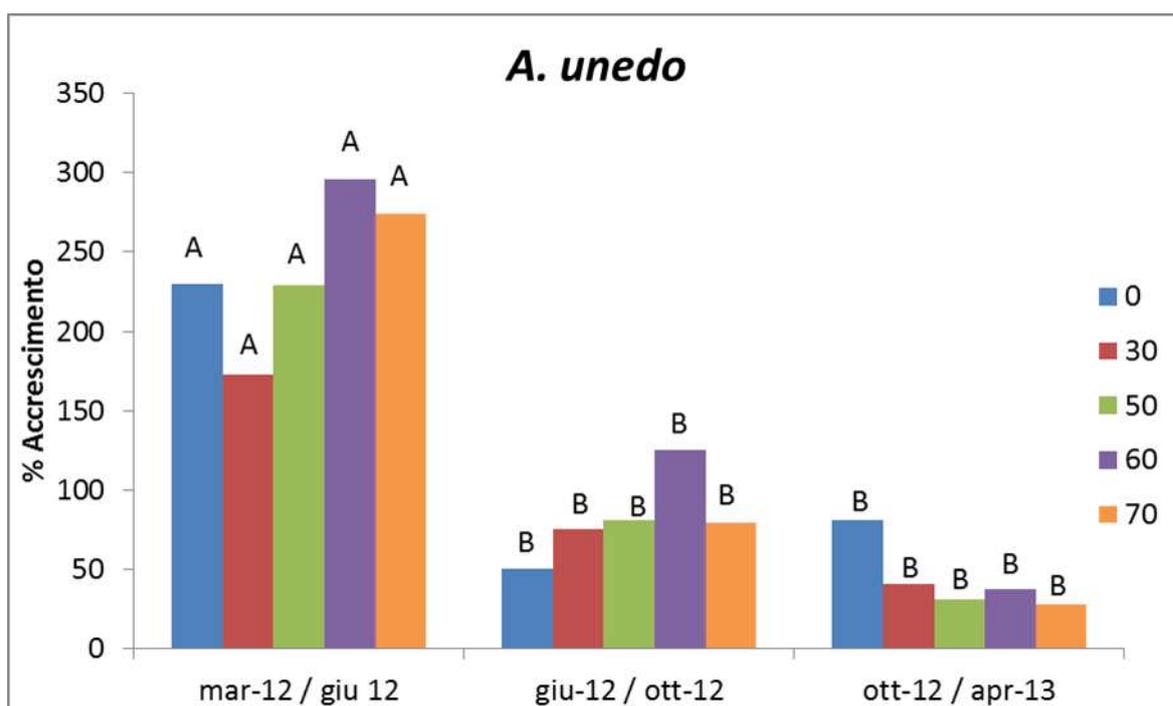


Figura 56. Percentuali di accrescimento relativo nel Corbezzolo (*A. unedo* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

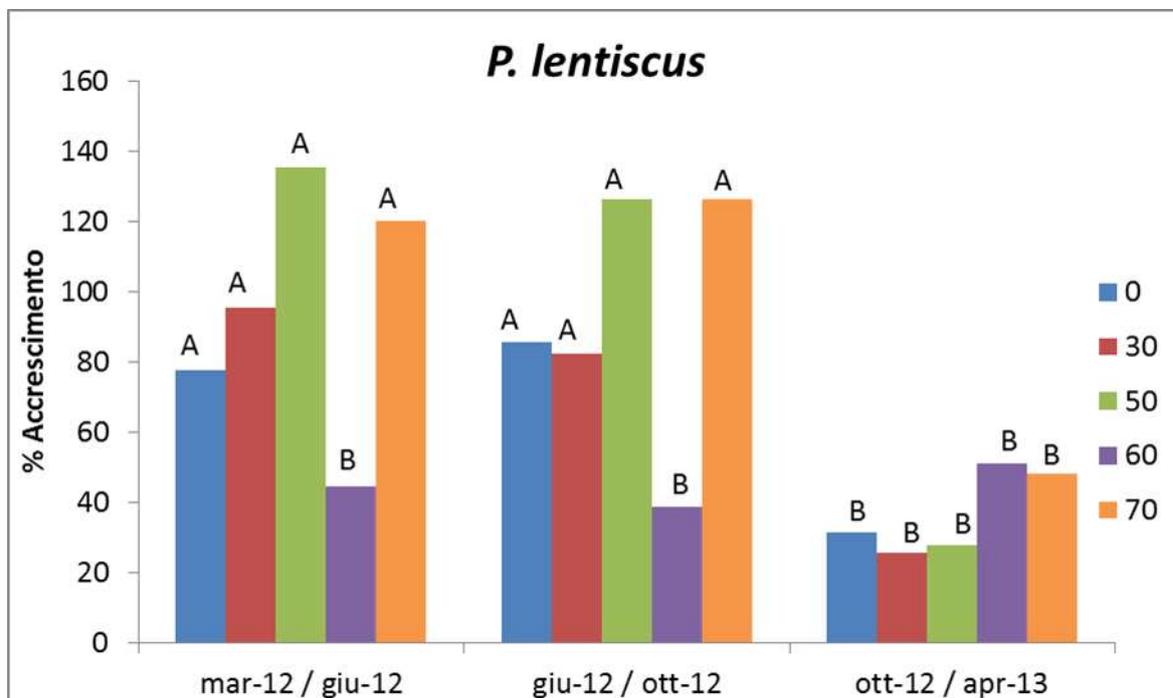


Figura 57. Percentuali di accrescimento relativo nel Lentisco (*P. lentiscus* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

Per quanto riguarda la lunghezza degli internodi, il mirto ha mostrato il valore più alto (0,96 cm) nella tesi 50% a ottobre 2012 mentre il più basso (0,41 cm) nella tesi 0% ad aprile 2013 (Fig. 58).

Il leccio ha mostrato in generale in ciascun periodo di osservazione internodi significativamente più lunghi nelle tesi più ombreggiate 60% e 70% rispetto alle altre tesi. In particolare il valore massimo (1,69 cm) si è visto nella tesi 70% a ottobre 2012 e il minimo (0,45 cm) nella tesi 30% a giugno 2012 (Fig. 59).

Nel corbezzolo in generale le tesi intermedie 30% e 50% hanno mostrato valori più alti rispetto alle altre tesi e in ciascun periodo di osservazione. Nello specifico il valore maggiore (0,57 cm) è stato osservato nella tesi 50% ad ottobre 2012, mentre il minore (0,36 cm) nella tesi 0% ad aprile 2013 (Fig. 60).

La massima lunghezza degli internodi per il lentisco (1,47 cm) è stata riscontrata nella tesi 70% ad aprile 2013, mentre la minima (0,90 cm) nelle tesi 60% a giugno 2012 30% ad aprile 2013 (Fig. 61).

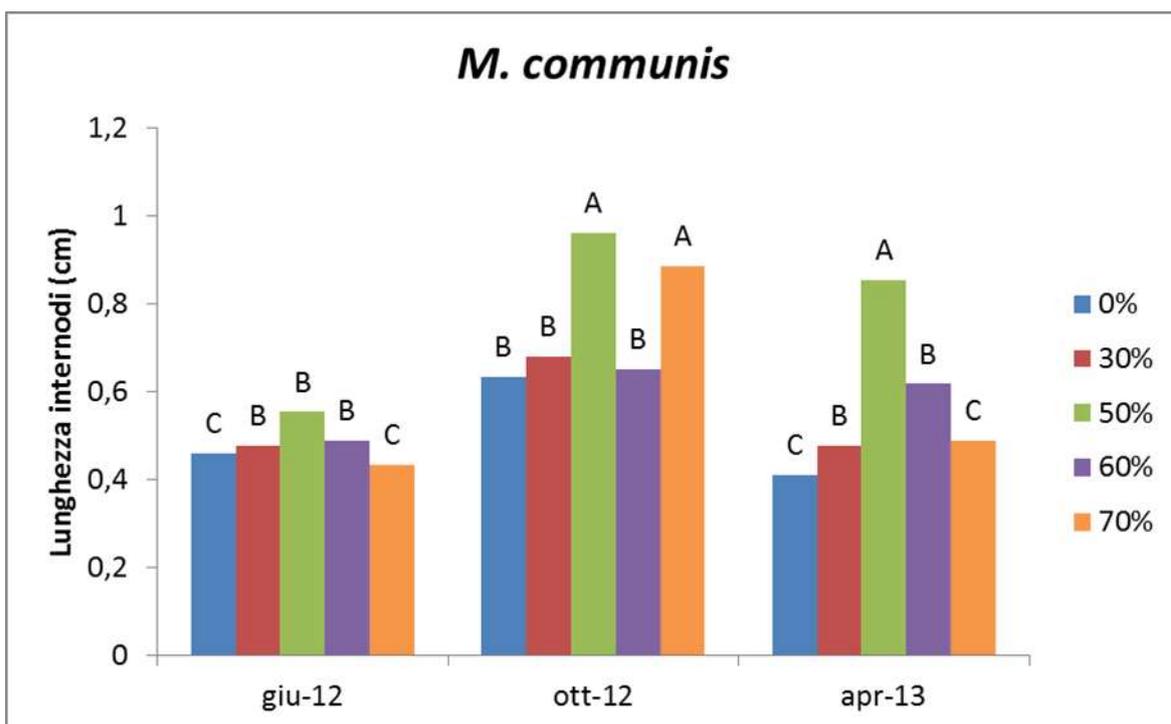


Figura 58. Lunghezza degli internodi nel Mirto (*M. communis* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

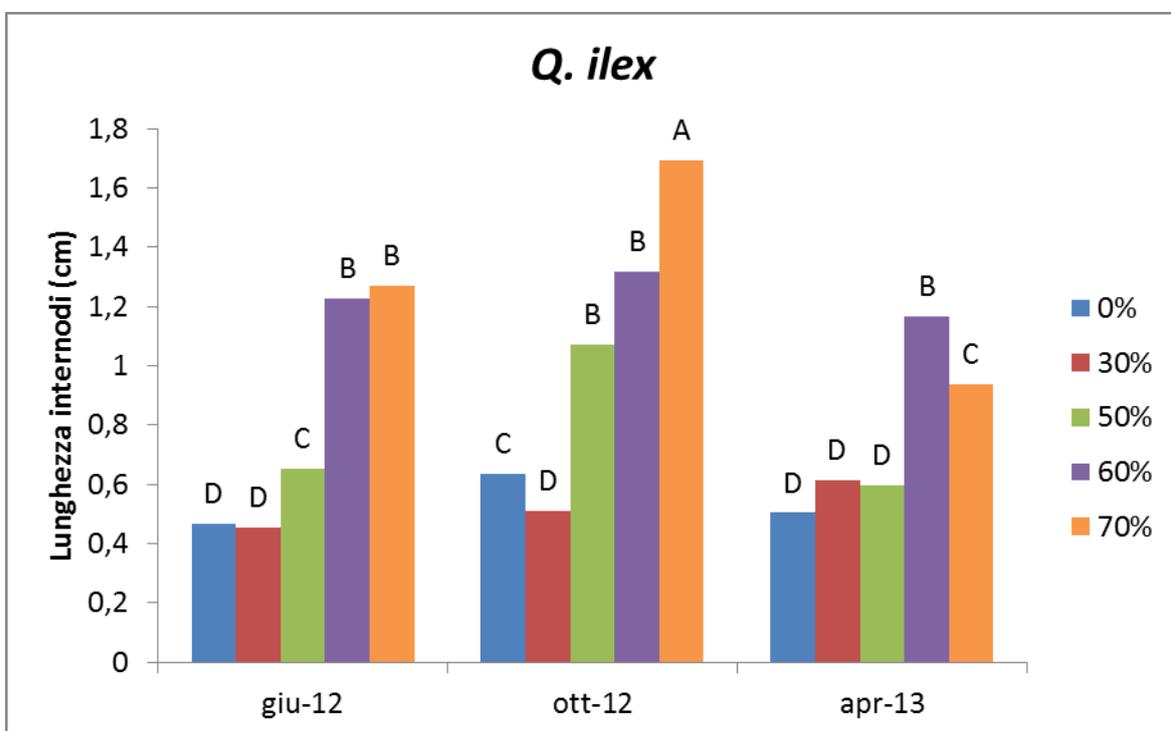


Figura 59. Lunghezza degli internodi nel Leccio (*Q. ilex* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

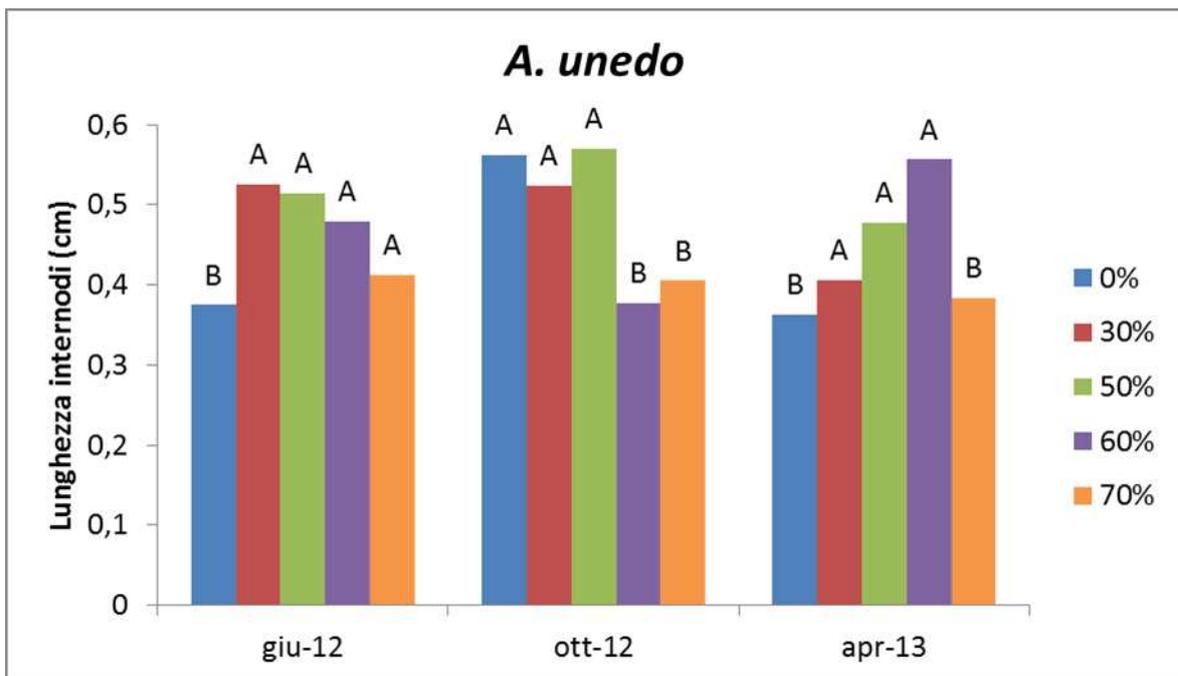


Figura 60. Lunghezza degli internodi nel Corbezzolo (*A. unedo* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

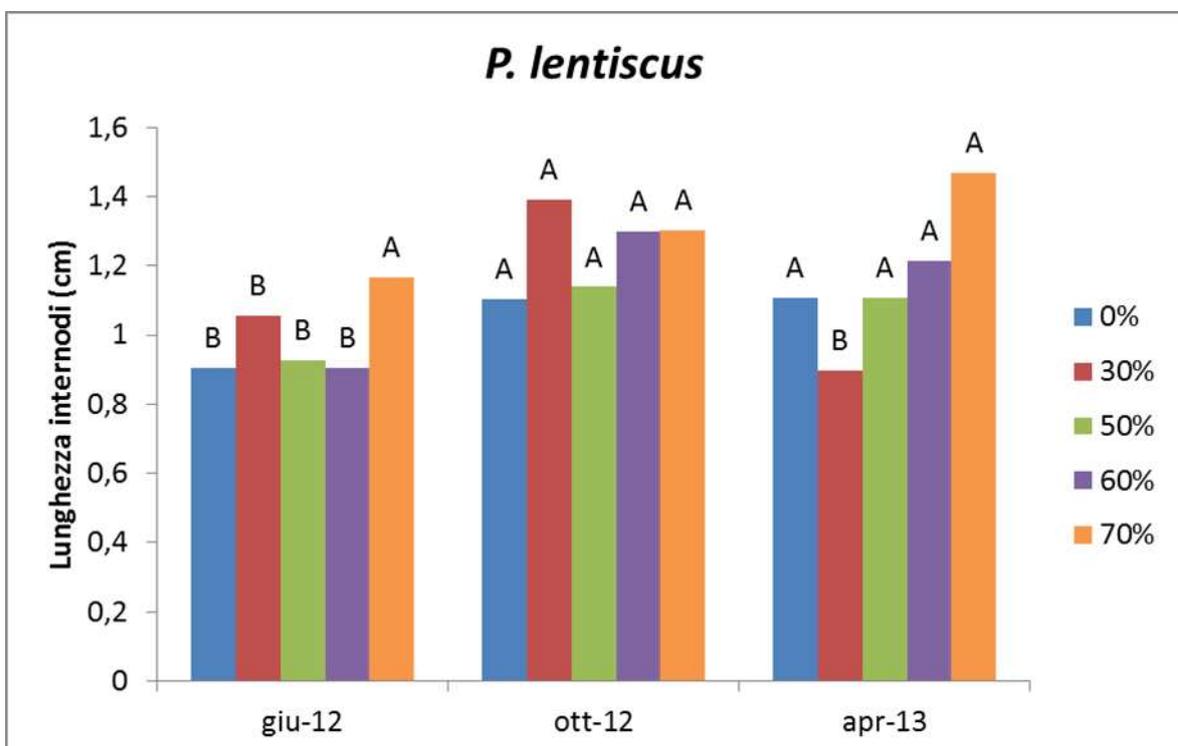


Figura 61. Lunghezza degli internodi nel Lentisco (*P. lentiscus* L.). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

Anatomia della foglia

Le misure microscopiche riguardano i singoli strati che compongono la sezione del lembo fogliare sia come spessori delle varie componenti che come spessore totale. Il riferimento era in base a campionamenti in due periodi marzo 2012 e luglio 2012. Sono state analizzate le differenze fra le medie nello spessore totale della foglia e per ciascuna componente. Durante le osservazioni è stato annotato il numero di strati a palizzata presente in ciascun campione per ricavarne una percentuale sul totale per ogni diverso settore di ombreggiamento.

Nel mirto sono state notate differenze significative nel periodo di marzo 2012 con uno spessore complessivo più basso nel settore 70% (186,9 μm) rispetto alle altre tesi. Nel luglio 2012 si sono osservati spessori più alti nella tesi di controllo 0% (272,10 μm), 30% (273,66 μm) e 60% (264,53 μm) e spessori più bassi nelle tesi 50% (233,14 μm) e 70% (227,31 μm) (Fig. 62). Il mirto ha presentato nel 100% dei casi un solo strato di tessuto a palizzata in entrambi i periodi di osservazione e in ciascuna tesi (Fig. 66-67).

A luglio 2012 il leccio ha presentato il minore spessore fogliare nella tesi 70% (166,2 μm), mentre il maggiore rispetto alle 4 tesi cadeva nella tesi 30% (208,7 μm). Anche a marzo 2012 il massimo è stato nella tesi 30% (193,3 μm) e il minimo nella tesi 70% (173,0 μm), sempre rispetto alle 4 tesi (Fig. 63). Il 52% dei campioni ha presentato due strati a palizzata a marzo 2012 e il 20% a luglio 2012. In particolare a marzo 2012 nella tesi 0% e 30% il 30% dei campioni presentava anche un secondo palizzata, nella tesi 50% era presentato dal 20% dei campioni mentre nelle tesi 60% e 70% l'80% dei campioni presentava un secondo strato di palizzata (Fig. 66). A luglio 2012 nelle tesi 0%, 30% e 60% il 20% dei campioni aveva un secondo palizzata, mentre nella tesi 50% il 40% e nella tesi 70% nessun campione presentava un secondo palizzata (Fig. 67).

Per il corbezzolo i maggiori spessori fogliari sono stati a marzo 2012 nella tesi 60% (362,3 μm) e nella tesi 70% (391,0 μm) mentre il minore nella tesi 50% (285,5 μm). A luglio 2012 nel confronto fra le tesi, il settore 60% ha presentato il valore maggiore (345,7 μm) mentre la tesi 70% era quella con il minore spessore (289,3 μm) (Fig. 64). A marzo 2012 si sono inoltre riscontrati 84% di campioni con 2 strati di palizzata, 12% con 3 e il restante 4% con 1 (Fig. 66). Anche a luglio 2012 l'84% dei campioni osservati ha presentato un doppio strato di palizzata, l'8% un singolo strato e infine l'8% un triplo strato. A marzo 2012 il 20% dei campioni mostrava un solo palizzata nelle tesi 0% e 60%. In ciascuna tesi il secondo palizzata era mostrato dal 60% (tesi 60%) al 100% (tesi 30%)

mentre l'80% mostrava il secondo palizzata nelle tesi 0%, 50% e 70% e solo il 20% dei campioni nelle tesi 50%, 60% e 70% presentavano anche un terzo strato. Invece a luglio 2012 le tesi 0%, 50% e 70% presentavano il 20% delle sezioni con un solo palizzata, il 100% mostrava due palizzata nelle tesi 30% e 60%, il 60% nelle tesi 0% e 70% e l'80% dei campioni aveva due palizzata nella tesi 50%. Infine le tesi 0% e 70% presentavano il 20% dei campioni con il terzo palizzata (Fig. 67).

Il massimo spessore per il lentisco nel marzo 2012 è stato nella tesi 50% (457,5 μm) e il minimo nella tesi 60% (295,1 μm), mentre nel luglio 2012 il massimo è stato nella tesi meno ombreggiata, 30% (375,7 μm), e il minimo in quella maggiormente ombreggiata 70% (285,13 μm) (Fig. 65). Nel lentisco sia a marzo 2012 che a luglio 2012 il 60% ha mostrato un solo strato di palizzata mentre per la restante percentuale 40% si è osservato un doppio strato. In particolare a marzo 2012 presentavano un secondo palizzata il 100% dei campioni della tesi 0%, nessuno nella tesi 30%, il 40% nelle tesi 50% e 70% e il 20% nella tesi 60% (Fig. 66). Nel luglio 2012 il 20% dei campioni presentava un secondo palizzata nella tesi 0%, il 40% nelle tesi 30% e 60%, il 100% nella tesi 50% e lo 0% nella tesi 70% (Fig. 67).

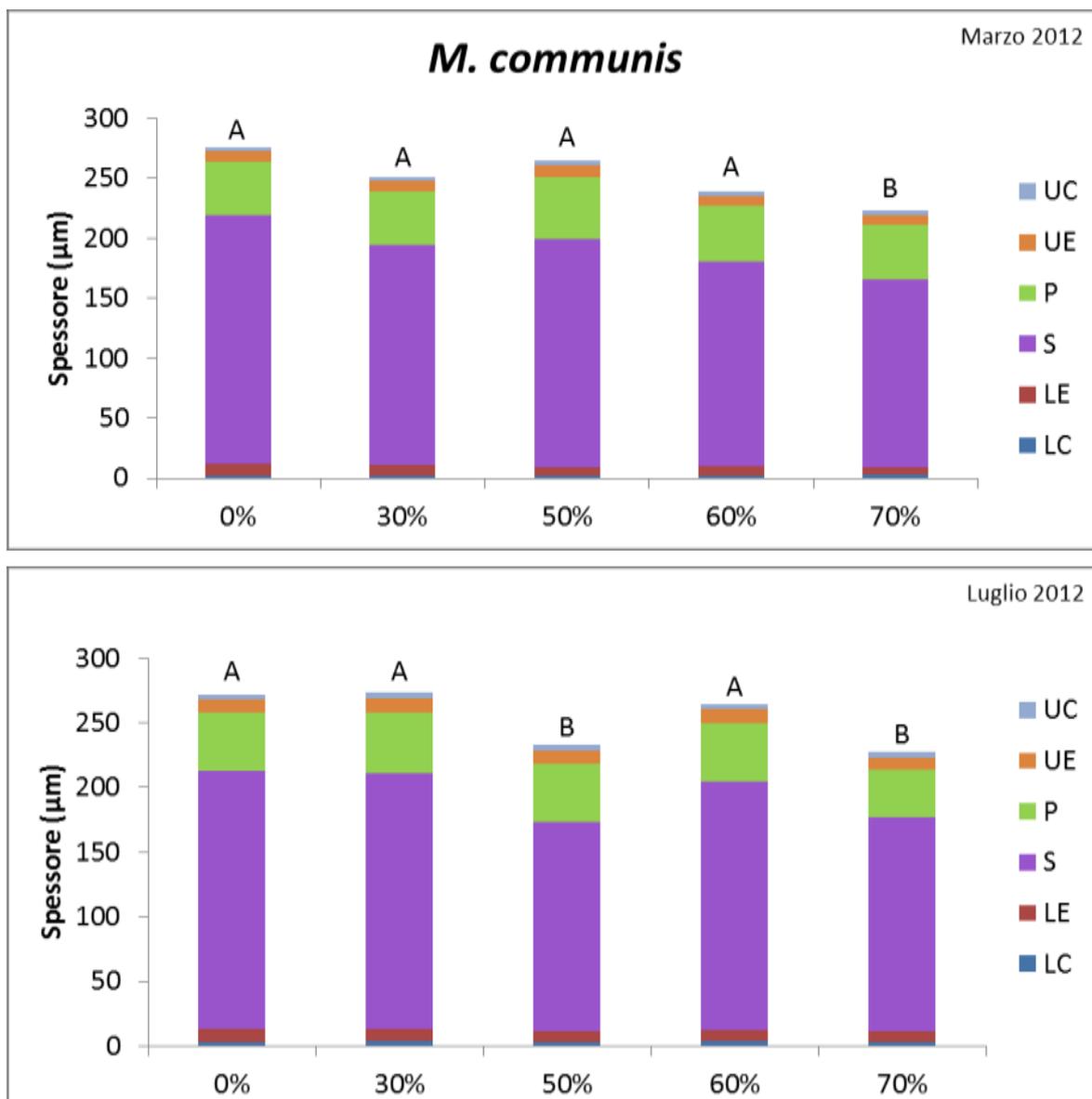


Figura 62. Spessori delle componenti del mesofillo nel Mirto (*M. communis* L.), a marzo 2012 (in alto) e luglio 2012 (in basso). Cuticola superiore (UC); epidermide superiore (UE); parenchima a palizzata (P); parenchima lacunoso (S); epidermide inferiore (LE); cuticola inferiore (LC). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

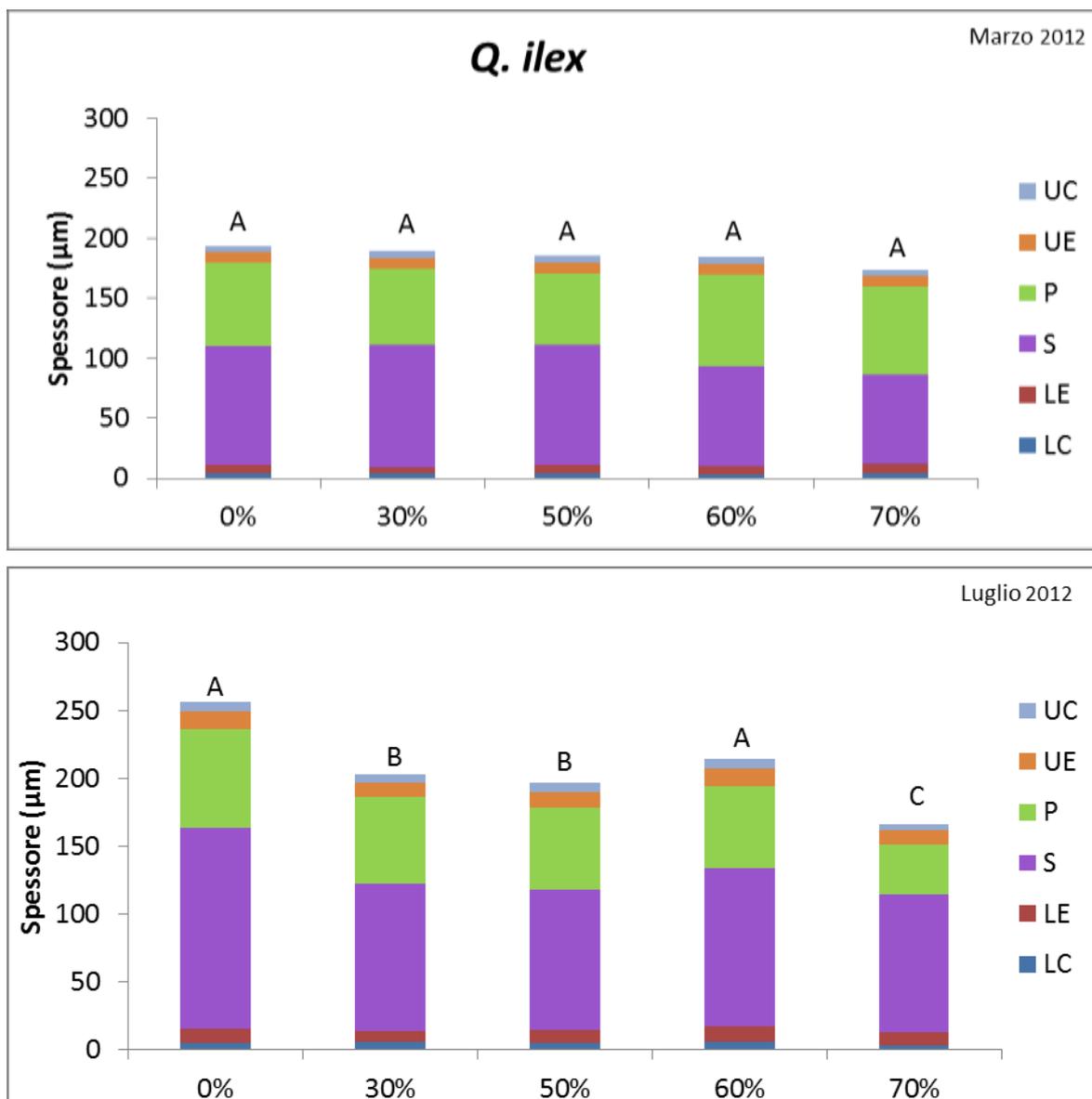


Figura 63. Spessori delle componenti del mesofillo nel Leccio (*Q. ilex* L.), a marzo 2012 (in alto) e luglio 2012 (in basso). Cuticola superiore (UC); epidermide superiore (UE); parenchima a palizzata (P); parenchima lacunoso (S); epidermide inferiore (LE); cuticola inferiore (LC). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

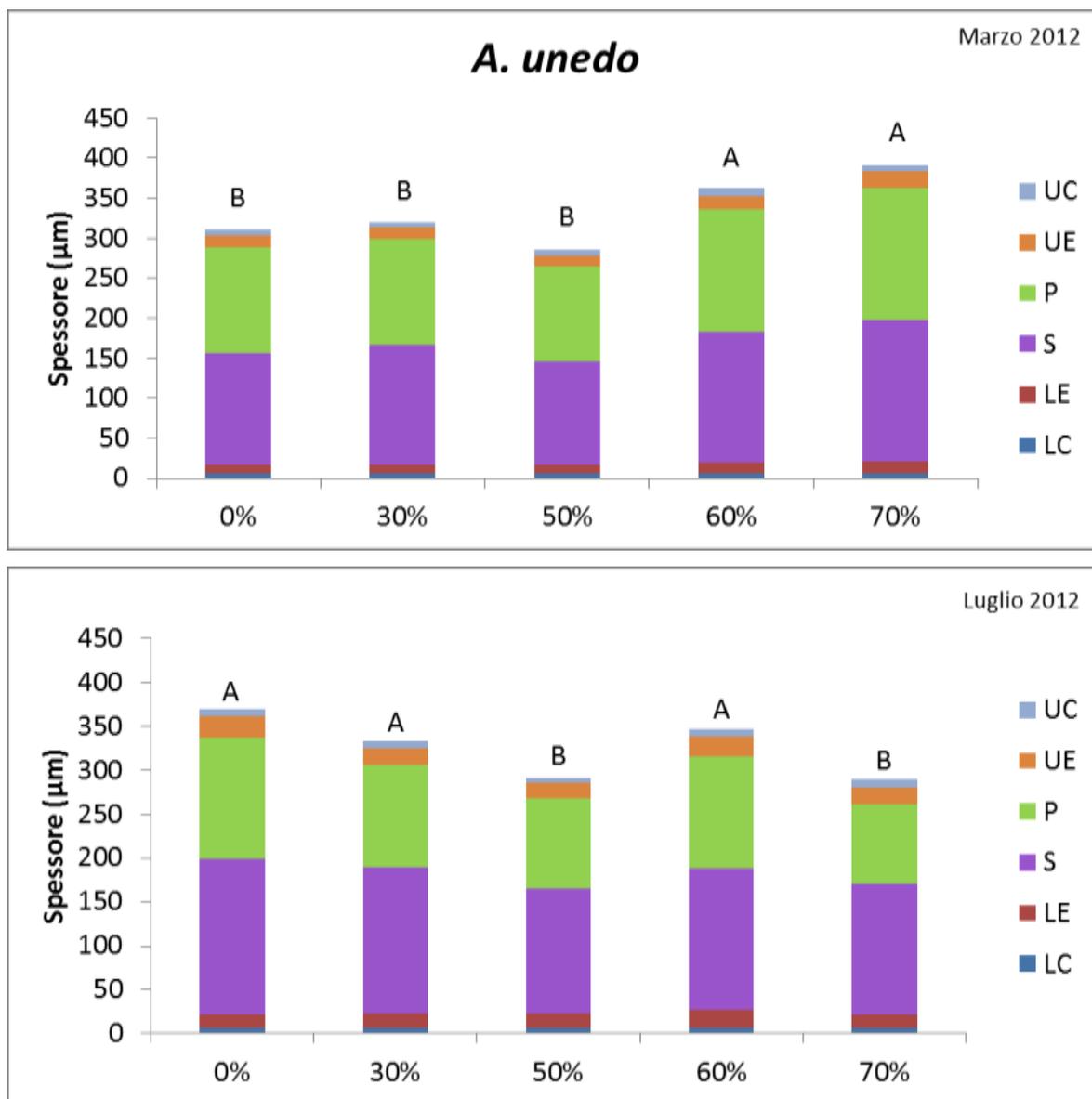


Figura 64. Spessori delle componenti del mesofillo nel Corbezzolo (*A. unedo* L.), a marzo 2012 (in alto) e luglio 2012 (in basso). Cuticola superiore (UC); epidermide superiore (UE); parenchima a palizzata (P); parenchima lacunoso (S); epidermide inferiore (LE); cuticola inferiore (LC). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

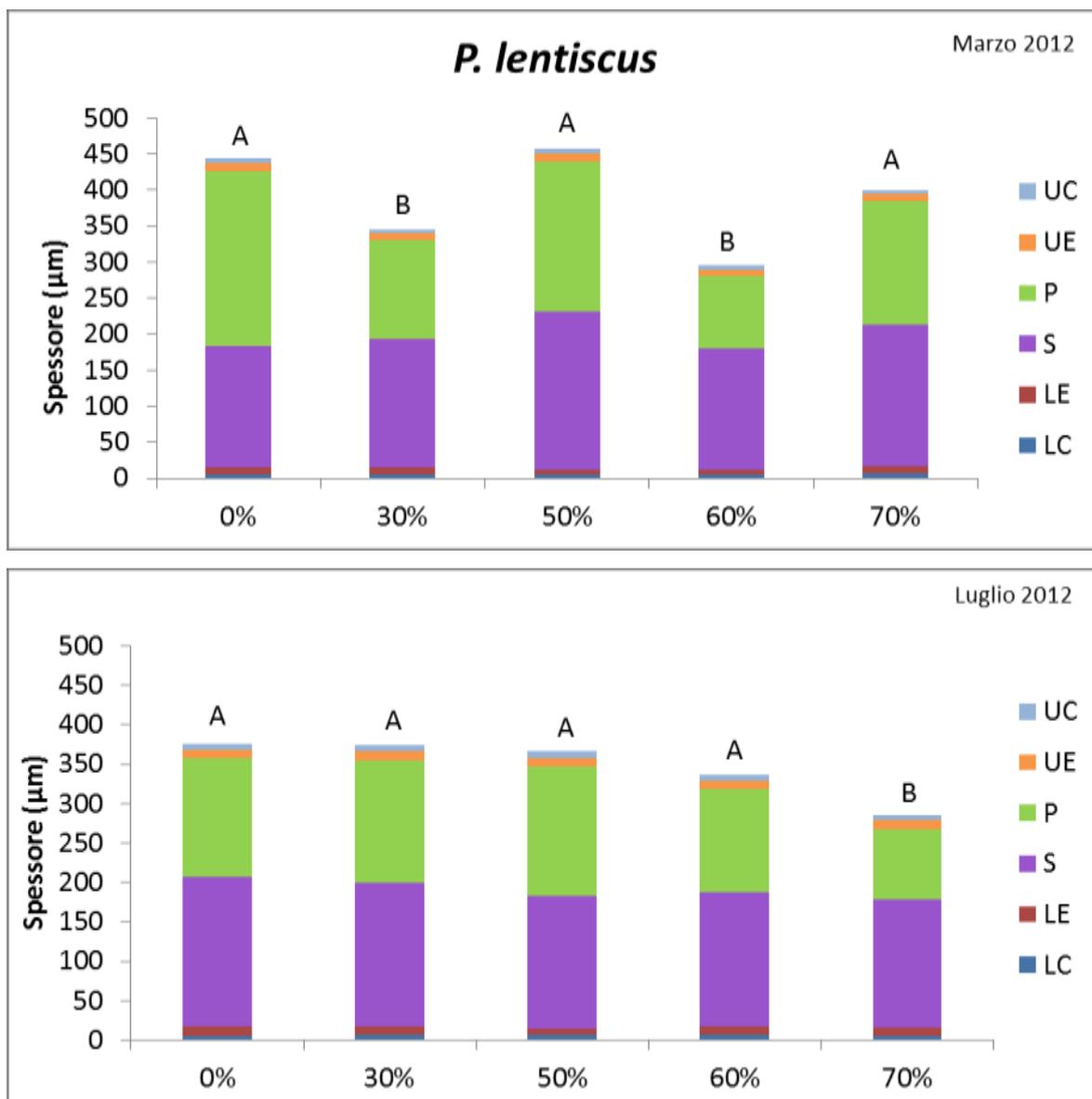


Figura 65. Spessori delle componenti del mesofillo nel Lentisco (*P. lentiscus* L.), a marzo 2012 (in alto) e luglio 2012 (in basso). Cuticola superiore (UC); epidermide superiore (UE); parenchima a palizzata (P); parenchima lacunoso (S); epidermide inferiore (LE); cuticola inferiore (LC). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

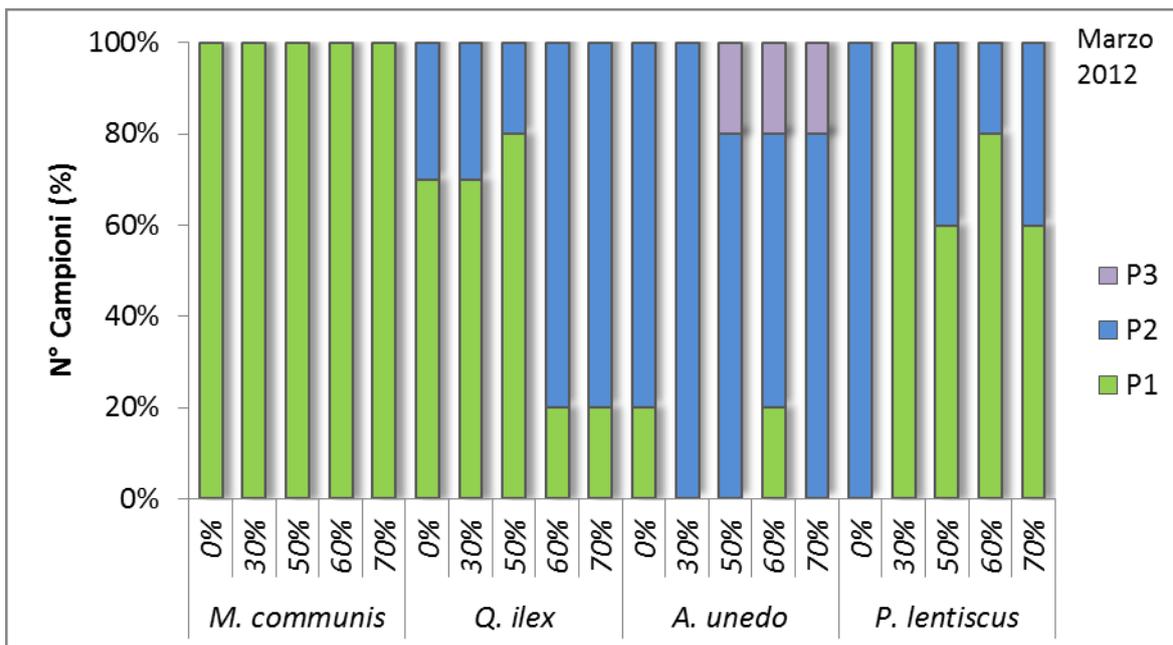


Figura 66. Strati di parenchima a palizzata riscontrati nelle sezioni fogliari dei campioni nelle specie studiate a marzo 2012. (P1 = singolo strato; P2 = doppio strato; P3 = triplo strato).

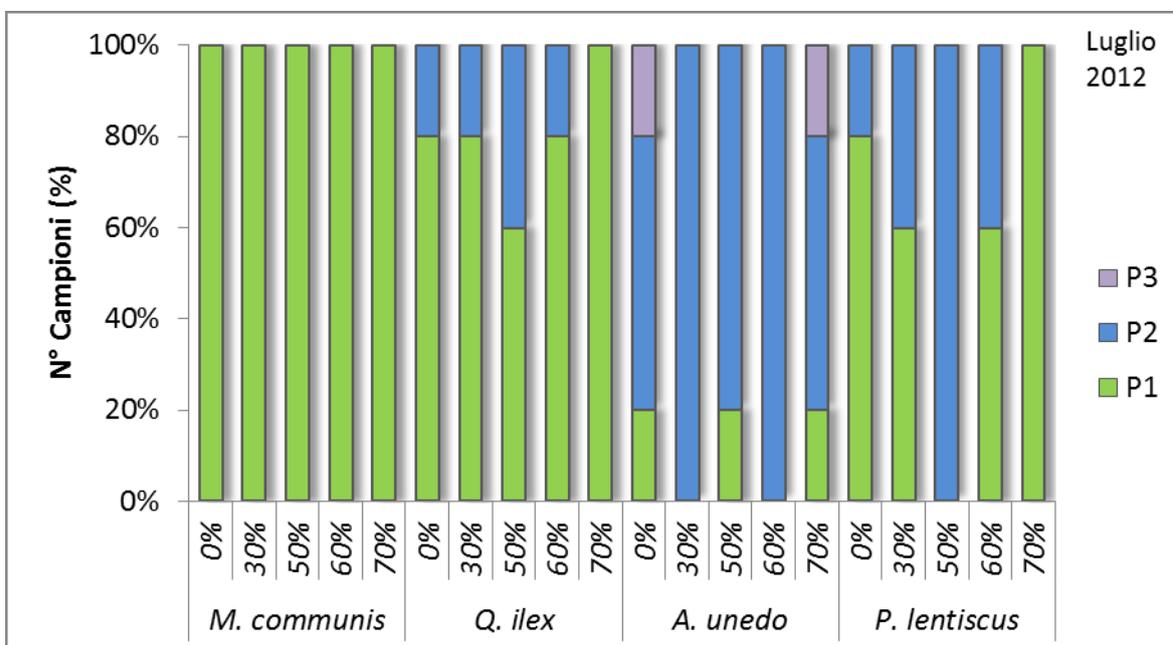


Figura 67. Strati di parenchima a palizzata riscontrati nelle sezioni fogliari dei campioni nelle specie studiate a luglio 2012. (P1 = singolo strato; P2 = doppio strato; P3 = triplo strato).

Nelle Tabelle 1 e 2 sono riportati i dati relativi alle differenze significative tra i singoli strati costituenti la lamina fogliare, riferiti a misure fatte su campioni nel marzo 2012 e nel luglio 2012.

Nel mirto a marzo 2012 il parenchima lacunoso è risultato essere più spesso nella tesi di controllo 0% (207,30 μm), nella 30% (183,72 μm) e nella 50% (190,03 μm) rispetto alle altre tesi; l'epidermide inferiore è risultata più sottile nella tesi 70% (5,70 μm) e anche lo spessore totale è stato più sottile per la tesi 70% (222,63 μm). A luglio 2012 il parenchima a palizzata è stato meno sviluppato nella tesi 70% (37,04 μm), mentre il lacunoso più sottile è stato nella tesi 50% (161,59 μm) e 70% (165,43 μm). La cuticola inferiore è stata più sottile nella tesi di controllo 0% (3,00 μm) e nella tesi 70% (3,09 μm).

Nel leccio a marzo 2012 per la tesi 70% si è presentato un minore spessore del parenchima lacunoso (74,28 μm), un'epidermide inferiore più sottile nella tesi 30% (5,51 μm) e una cuticola più sottile nella tesi 60% (2,72 μm). A luglio la tesi 70% ha presentato una cuticola superiore più sottile (4,80 μm), le tesi 30% (10,50 μm), 50% (10,67 μm) e 70% (10,38 μm) un'epidermide superiore più sottile, il palizzata più sottile nella tesi 70% (36,69 μm) mentre il più spesso (64,59 μm) nella tesi di controllo 0%. Anche il lacunoso più spesso è stato nella tesi 0% (148,22 μm), mentre l'epidermide inferiore più sottile nelle tesi 30% (8,54 μm) e 70% (4,80 μm), la cuticola inferiore più sottile nella tesi 70% (3,50 μm) e il minore spessore fogliare sempre nella tesi 70% (166,23 μm) e il più spesso nella tesi di controllo 0% (258,59 μm).

Nel corbezzolo a marzo 2012 la cuticola superiore si è mostrata più sottile per le tesi 30% (6,95 μm) e 50% (7,11 μm) e anche l'epidermide superiore ha avuto i valori più bassi nelle stesse tesi (rispettivamente 13,89 μm e 13,35 μm). Il tessuto a palizzata più spesso si è collocato nella tesi 70% (165,10 μm) così come lo spugnoso (177,42 μm) che ha mostrato il minor valore nella tesi 50% (129,83 μm). I valori delle epidermidi inferiori più alti sono stati nelle tesi 60% (13,98 μm) e 70% (15,03 μm) e nelle stesse tesi si sono inoltre avuti i maggiori spessori della lamina fogliare (rispettivamente 362,29 μm e 390,98 μm). A luglio 2012 il minor spessore dell'epidermide superiore si è notato nella tesi 50% (6,60 μm) mentre la cuticola superiore più spessa si è osservata nella tesi di controllo 0% (24,30 μm) e nella tesi 60% (22,39 μm). Il parenchima spugnoso più sottile si è visto nella tesi 50% (143,23 μm) e 70% (148,54 μm), l'epidermide inferiore più spessa nella tesi 60% (19,95 μm) e la più sottile, escludendo la tesi di controllo 0% (14,24 μm) è stata registrata

nella tesi 70% (14,82 μm). Infine lo spessore fogliare più elevato si è avuto nella tesi di controllo 0% (368,97 μm) e il più basso nella tesi 70% (289,26 μm).

Nel marzo 2012 il lentisco mostrava la cuticola superiore più spessa nella tesi di controllo 0% (7,43 μm) e la più sottile nella tesi 30% (4,96 μm), mentre l'epidermide superiore più sottile era nella tesi 60% (7,64 μm), il palizzata più sottile nella tesi 60% (101,44 μm) e il più spesso nella tesi di controllo 0% (241,71 μm). Il tessuto spugnoso più sviluppato era nella tesi 50% (219,17 μm) e quello meno spesso era nella tesi 60% (168,02 μm) con una piccola differenza rispetto al controllo 0% (168,96 μm). Nella tesi 60% l'epidermide inferiore si è mostrata essere la più sottile (6,80 μm), il maggiore spessore della lamina nella 50% (457,55 μm) e il minore nella 60% (295,14 μm). A luglio ha presentato un tessuto a palizzata più sottile nella tesi 70% (89,12 μm), così come la cuticola inferiore (5,22 μm) e il complessivo spessore fogliare (285,13 μm).

Indici di Plasticità

Sono riportati in Tabella 3 gli indici di plasticità calcolati per ciascuna specie e suddivisi per caratteristica come osservato in altri studi (Valladares *et al.*, 2000a; Gratani *et al.*, 2006). Sono stati considerati gli indici di plasticità per valutare l'ampiezza delle variazioni dei valori assunti dalle variabili misurate durante il lavoro per ciascuna specie all'interno delle tesi, che forniscono un'indicazione sulla maggiore o minore capacità di ciascuna specie studiata di reagire sotto le diverse condizioni sperimentali. Tali indici rendono confrontabili dei dati che altrimenti non lo sarebbero.

Per quanto riguarda i tratti morfologici, la specie che ha mostrato maggiore plasticità nella superficie fogliare è stata il mirto (0,46), mentre la minore plasticità si è osservata nel lentisco (0,21), che si è discostato incisivamente dalle altre tre specie. Nell'intensità del colore il mirto ha presentato la minor plasticità (0,08), mentre il corbezzolo la maggiore (0,13). La saturazione del colore a^* ha visto mostrare la maggior plasticità al corbezzolo (0,51) e la minore al lentisco (0,26) mentre per il parametro b^* si è mostrata meno plastica la specie mirto (0,31) e più plastica la specie corbezzolo (0,45). Infine ha mostrato maggiore plasticità nell'accrescimento il lentisco (0,62) e minore il mirto (0,47). Nella lunghezza degli internodi ha mostrato la maggior plasticità il leccio (0,64) e la minore il lentisco (0,27).

Per i tratti anatomici la maggiore plasticità nello spessore della lamina l'ha mostrata il lentisco (0,30) e la minore il mirto (0,18). Leccio, lentisco e corbezzolo hanno presentato una maggiore plasticità fogliare nello spessore della cuticola superiore (0,28) rispetto al

mirto (0,19). Il corbezzolo ha mostrato la maggiore plasticità dell'epidermide superiore (0,31) per cui invece il leccio ha mostrato la minore (0,19). Per il parenchima a palizzata si sono osservati i più alti valori di plasticità nel lentisco (0,52) e i più bassi nel mirto (0,18). Il leccio ha presentato la maggior plasticità per il parenchima lacunoso (0,29) e il lentisco la minore (0,19). Anche per l'epidermide inferiore nel leccio c'è stata la più grande plasticità (0,35) mentre valori più bassi sono stati quelli del mirto e lentisco (0,26). Infine per la cuticola inferiore il leccio ha mostrato i valori più alti di plasticità (0,38) e il corbezzolo i più bassi (0,11).

Per il contenuto in pigmenti, in particolare per la clorofilla *a* la maggiore plasticità l'ha mostrata il corbezzolo (0,52) e la minore il leccio e lentisco allo stesso modo (0,38); anche per la clorofilla *b* la maggiore è stata registrata nel corbezzolo (0,56) mentre la minore nel leccio (0,40); simile comportamento lo si è notato per la clorofilla totale (*a + b*) che nel corbezzolo ha fatto registrare il massimo indice di plasticità (0,53) e nel lentisco il minimo (0,38). Invece il rapporto tra clorofilla *a* e *b* ha determinato la più alta plasticità nel leccio (0,16) e la più bassa nel corbezzolo (0,08). Nel corbezzolo si è vista la maggiore plasticità anche per il contenuto in carotenoidi (0,47) che invece è stata la minore per il lentisco (0,30). Nel rapporto clorofilla/carotenoidi ha mostrato la maggior plasticità il leccio (0,27) e la minore il mirto (0,15) e il lentisco (0,15).

Tabella 1. Valori biometrici degli strati fogliari a marzo 2012 nelle quattro specie. Cuticola superiore (UC), epidermide superiore (UE), parenchima a palizzata (P), parenchima lacunoso (S), epidermide inferiore (LE), cuticola inferiore (LC), spessore fogliare (LBT). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

Specie	Trattamento	UC (μm)	UE (μm)	P (μm)	S (μm)
<i>M. communis</i>	0	3,06 \pm 0,84 a	8,93 \pm 1,90 a	44,44 \pm 8,07 a	207,30 \pm 34,13 a
	30	3,73 \pm 1,51 a	8,61 \pm 2,08 a	44,27 \pm 9,06 a	183,72 \pm 33,88 a
	50	3,62 \pm 0,88 a	10,04 \pm 3,76 a	51,57 \pm 10,19 a	190,03 \pm 33,87 a
	60	3,92 \pm 0,79 a	8,25 \pm 0,89 a	45,68 \pm 6,26 a	170,98 \pm 18,44 ab
	70	3,76 \pm 0,42 a	7,62 \pm 2,68 a	45,47 \pm 11,10 a	157,07 \pm 20,80 b
<i>Q. ilex</i>	0	5,10 \pm 1,50 a	8,72 \pm 2,14 a	43,32 \pm 5,88 a	98,74 \pm 13,00 a
	30	6,08 \pm 1,28 a	8,79 \pm 2,14 a	41,76 \pm 9,42 a	101,61 \pm 27,23 a
	50	6,46 \pm 2,14 a	8,34 \pm 1,58 a	41,81 \pm 7,82 a	101,00 \pm 35,50 a
	60	5,71 \pm 2,02 a	8,82 \pm 2,11 a	43,46 \pm 2,17 a	83,55 \pm 25,03 a
	70	4,89 \pm 0,38 a	8,28 \pm 1,28 a	41,74 \pm 2,92 a	74,28 \pm 15,55 ab
<i>A. unedo</i>	0	7,50 \pm 0,66 a	15,94 \pm 1,16 a	132,36 \pm 37,30 b	139,16 \pm 41,00 a
	30	6,95 \pm 1,15 b	13,89 \pm 2,80 b	133,54 \pm 9,81 a	149,29 \pm 28,14 a
	50	7,11 \pm 0,93 b	13,35 \pm 3,03 b	119,47 \pm 24,56 b	129,83 \pm 12,25 b
	60	9,55 \pm 0,58 a	17,34 \pm 4,55 a	151,90 \pm 35,59 a	164,06 \pm 29,82 a
	70	8,02 \pm 3,11 a	19,83 \pm 4,89 a	165,10 \pm 26,04 a	177,42 \pm 41,67 a
<i>P. lentiscus</i>	0	7,43 \pm 2,51 a	11,93 \pm 2,56 a	241,71 \pm 81,98 a	168,96 \pm 17,07 b
	30	4,96 \pm 0,72 ab	10,23 \pm 3,69 a	137,22 \pm 49,19 b	178,73 \pm 25,58 a
	50	7,15 \pm 1,86 a	10,77 \pm 0,75 a	207,99 \pm 31,96 a	219,17 \pm 33,78 a
	60	6,28 \pm 2,31 a	7,64 \pm 1,01 b	101,44 \pm 46,67 b	168,02 \pm 23,89 b
	70	6,37 \pm 1,39 a	9,69 \pm 0,65 a	171,32 \pm 64,21 a	196,73 \pm 51,60 a

Specie	Trattamento	LE (μm)	LC (μm)	LBT (μm)
<i>M. communis</i>	0	9,45 \pm 2,87 a	2,20 \pm 0,74 a	275,38 \pm 43,64 a
	30	8,39 \pm 1,79 a	2,29 \pm 0,93 a	251,00 \pm 41,12 a
	50	7,32 \pm 2,41 a	2,01 \pm 0,74 a	264,58 \pm 38,03 a
	60	7,52 \pm 1,13 a	2,26 \pm 0,52 a	238,61 \pm 23,66 a
	70	5,70 \pm 2,06 b	3,01 \pm 1,29 a	222,63 \pm 31,47 b
<i>Q. ilex</i>	0	7,44 \pm 2,26 a	3,81 \pm 1,52 a	193,31 \pm 33,36 a
	30	5,51 \pm 1,00 ab	3,89 \pm 0,95 a	189,04 \pm 24,19 a
	50	6,16 \pm 1,53 a	4,33 \pm 1,71 a	185,54 \pm 61,95 a
	60	7,33 \pm 1,69 a	2,72 \pm 1,08 b	183,87 \pm 22,55 a
	70	7,19 \pm 1,06 a	4,33 \pm 0,44 a	172,99 \pm 17,66 a
<i>A. unedo</i>	0	10,50 \pm 2,59 b	5,88 \pm 2,07 a	300,39 \pm 59,69 b
	30	10,69 \pm 2,67 b	5,93 \pm 0,79 a	320,30 \pm 25,52 b
	50	9,70 \pm 2,70 b	6,06 \pm 1,34 a	285,51 \pm 17,11 b
	60	13,98 \pm 3,82 a	5,46 \pm 0,88 a	362,29 \pm 50,11 a
	70	15,03 \pm 2,28 a	5,58 \pm 1,00 a	390,98 \pm 38,81 a
<i>P. lentiscus</i>	0	9,01 \pm 2,80 a	5,81 \pm 1,71 a	444,86 \pm 96,06 a
	30	8,99 \pm 2,73 a	5,55 \pm 1,60 a	345,68 \pm 68,03 b
	50	7,54 \pm 1,41 a	4,93 \pm 1,18 a	457,55 \pm 31,26 a
	60	6,80 \pm 0,59 b	4,96 \pm 1,73 a	295,14 \pm 54,96 b
	70	9,99 \pm 1,98 a	6,18 \pm 1,43 a	400,27 \pm 83,45 a

Tabella 2. Valori biometrici degli strati fogliari a luglio 2012 nelle quattro specie. Cuticola superiore (UC), epidermide superiore (UE), parenchima a palizzata (P), parenchima lacunoso (S), epidermide inferiore (LE), cuticola inferiore (LC), spessore fogliare (LBT). Le differenze sono statisticamente significative per $p \leq 0,05$.

Specie	Trattamento	UC (μm)	UE (μm)	P (μm)	S (μm)
<i>M. communis</i>	0	4,49 \pm 1,48 a	9,79 \pm 3,88 a	45,32 \pm 10,45 a	199,70 \pm 16,34 a
	30	4,72 \pm 1,96 a	10,62 \pm 1,88 a	47,66 \pm 5,68 a	197,79 \pm 7,18 a
	50	4,50 \pm 0,78 a	10,36 \pm 1,82 a	44,86 \pm 5,80 a	161,59 \pm 24,74 b
	60	3,96 \pm 0,58 a	10,52 \pm 1,33 a	45,18 \pm 5,80 a	192,21 \pm 35,67 a
	70	3,95 \pm 1,09 a	9,22 \pm 1,26 a	37,04 \pm 3,18 b	165,43 \pm 30,16 b
<i>Q. ilex</i>	0	7,01 \pm 1,04 a	13,58 \pm 1,24 a	64,59 \pm 6,25 a	148,22 \pm 14,99 a
	30	6,32 \pm 0,61 a	10,50 \pm 1,78 b	55,72 \pm 7,99 b	108,32 \pm 11,54 b
	50	7,09 \pm 0,80 a	10,67 \pm 0,92 b	48,20 \pm 3,34 c	102,83 \pm 44,58 b
	60	6,94 \pm 1,05 a	12,61 \pm 0,77 a	52,17 \pm 2,54 b	116,73 \pm 16,53 ab
	70	4,80 \pm 0,81 b	10,38 \pm 0,50 b	36,69 \pm 3,93 d	101,64 \pm 19,75 b
<i>A. unedo</i>	0	8,30 \pm 1,52 a	24,30 \pm 3,38 a	137,24 \pm 51,02 a	177,63 \pm 16,72 a
	30	7,94 \pm 1,86 a	17,92 \pm 2,69 b	116,82 \pm 17,38 a	165,88 \pm 35,69 a
	50	6,60 \pm 1,28 b	17,11 \pm 3,92 b	102,14 \pm 40,79 a	143,23 \pm 21,20 b
	60	7,76 \pm 1,22 a	22,39 \pm 1,60 a	126,99 \pm 20,77 a	161,80 \pm 17,50 a
	70	9,30 \pm 1,97 a	18,61 \pm 2,18 b	91,02 \pm 45,98 b	148,54 \pm 18,01 b
<i>P. lentiscus</i>	0	7,87 \pm 1,74 a	10,63 \pm 1,57 a	150,45 \pm 65,95 a	189,58 \pm 23,39 a
	30	8,41 \pm 1,88 a	12,07 \pm 1,45 a	154,51 \pm 35,06 a	182,19 \pm 13,12 a
	50	8,17 \pm 0,78 a	10,29 \pm 1,06 a	164,66 \pm 23,17 a	167,94 \pm 39,43 a
	60	7,40 \pm 1,96 a	9,99 \pm 1,23 a	130,38 \pm 51,81 a	170,86 \pm 26,74 a
	70	6,57 \pm 0,69 a	10,89 \pm 3,81 a	89,12 \pm 21,85 b	163,25 \pm 27,59 a

Specie	Trattamento	LE (μm)	LC (μm)	LBT (μm)
<i>M. communis</i>	0	9,79 \pm 2,68 a	3,00 \pm 0,60 b	272,10 \pm 17,47 a
	30	8,69 \pm 1,35 a	4,19 \pm 1,47 a	273,66 \pm 11,61 a
	50	8,57 \pm 2,27 a	3,26 \pm 0,40 a	233,14 \pm 32,63 a
	60	8,86 \pm 2,55 a	3,81 \pm 0,57 a	264,53 \pm 40,41 a
	70	8,59 \pm 1,57 a	3,09 \pm 0,47 b	227,31 \pm 30,09 a
<i>Q. ilex</i>	0	10,17 \pm 1,37 a	4,99 \pm 1,25 a	258,59 \pm 27,03 a
	30	8,54 \pm 0,85 b	5,57 \pm 0,32 a	208,75 \pm 7,50 b
	50	10,13 \pm 0,85 a	4,81 \pm 0,96 a	192,32 \pm 40,48 b
	60	11,34 \pm 1,39 a	5,63 \pm 0,54 a	205,97 \pm 26,25 a
	70	9,21 \pm 1,16 b	3,50 \pm 1,21 b	166,23 \pm 20,37 c
<i>A. unedo</i>	0	14,24 \pm 1,15 b	7,26 \pm 0,48 a	368,97 \pm 56,37 a
	30	16,93 \pm 5,09 a	6,61 \pm 0,78 a	332,10 \pm 59,66 a
	50	15,92 \pm 3,55 b	6,39 \pm 3,11 a	339,35 \pm 66,96 b
	60	19,95 \pm 5,75 a	6,85 \pm 1,04 a	345,73 \pm 36,54 a
	70	14,82 \pm 1,25 b	6,97 \pm 0,65 a	289,26 \pm 41,83 b
<i>P. lentiscus</i>	0	11,30 \pm 2,55 a	5,84 \pm 1,24 a	375,67 \pm 71,92 a
	30	11,00 \pm 2,08 a	6,45 \pm 1,36 a	374,64 \pm 40,92 a
	50	8,94 \pm 1,16 a	6,03 \pm 1,08 a	366,03 \pm 55,01 a
	60	10,28 \pm 1,42 a	6,86 \pm 0,49 a	335,78 \pm 39,52 a
	70	10,09 \pm 2,73 a	5,22 \pm 1,07 b	285,13 \pm 44,58 b

Tabella 3. Indici di Plasticità nelle quattro specie suddivisi per caratteristica.

	<i>M. communis</i>	<i>A. unedo</i>	<i>Q. ilex</i>	<i>P. lentiscus</i>
Caratteri morfologici e colore				
Superficie fogliare	0,46	0,41	0,43	0,21
Luminosità del colore (L*)	0,08	0,13	0,11	0,11
Tonalità del colore (a *)	0,30	0,51	0,34	0,26
Tonalità del colore (b*)	0,31	0,45	0,42	0,39
Accrescimento	0,47	0,55	0,58	0,62
Lunghezza internodi	0,36	0,32	0,64	0,27
Caratteri anatomici				
Spessore fogliare	0,18	0,24	0,23	0,30
Cuticola superiore	0,19	0,28	0,28	0,28
Epidermide superiore	0,19	0,31	0,15	0,27
Parenchima a palizzata	0,18	0,31	0,35	0,52
Parenchima lacunoso	0,22	0,23	0,29	0,19
Epidermide inferiore	0,26	0,32	0,35	0,26
Cuticola inferiore	0,31	0,11	0,38	0,22
Caratteri biochimici				
Clorofilla <i>a</i>	0,41	0,52	0,38	0,38
Clorofilla <i>b</i>	0,46	0,56	0,40	0,41
Clorofilla totale (<i>a+b</i>)	0,42	0,53	0,39	0,38
Rapporto clorofilla <i>a/b</i>	0,11	0,08	0,16	0,09
Carotenoidi	0,37	0,47	0,33	0,30
Rapporto clorofilla/carotenoidi	0,15	0,22	0,27	0,15

Clorofille e SPAD.

Tra i dati SPAD raccolti e il contenuto in clorofilla totale ($a+b$) ricavato dalle analisi di laboratorio è stata eseguita l'analisi della regressione. I valori SPAD variavano per il mirto tra 30,6 e 62,0; per il leccio tra 16,4 e 45,8; per il corbezzolo tra 17,8 e 66,6 e per il lentisco tra 17,3 e 77,0. Le equazioni delle rette sono state di tipo esponenziale e sono riportate in Figura 68 insieme ai coefficienti di determinazione per ciascuna specie.

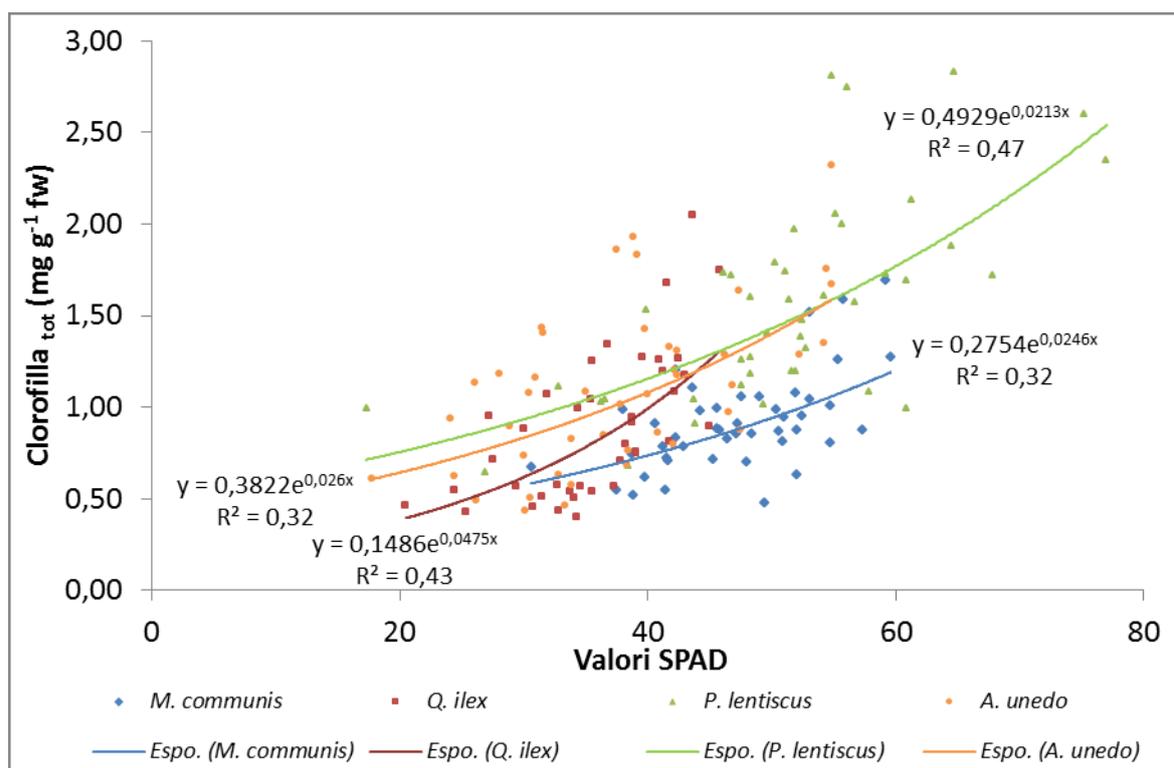


Figura 68. Relazione tra valori SPAD e contenuto in clorofilla totale per *M. communis* L., *Q. ilex* L., *A. unedo* L., *P. lentiscus* L.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Superfici fogliari.

L'ombreggiamento ha influito sulle foglie in generale e per tutte le quattro specie inducendo aumenti nelle superfici fogliari, che si sono riscontrati nelle tesi mediamente e più ombreggiate (50%, 60% e 70%). Per il mirto e il leccio questo andamento si è accentuato nel tempo visto le differenze più marcate nel periodo aprile 2013. Il corbezzolo ha diminuito in generale la superficie delle foglie più piccole nel corso del periodo di osservazione, restando su valori alti però per la tesi 30%. Nel lentisco l'andamento è irregolare pur conservando nelle tesi più ombreggiate 60% e 70% le maggiori superfici. L'aumento della superficie fogliare porta la pianta a produrre una maggiore estensione della superficie di captazione della luce in ridotte condizioni d'intensità luminosa. Dunque l'adattamento all'ombra mostra che le piante cresciute in regimi bassi di luce si adattano aumentando la loro capacità ricettiva della stessa (Anderson *et al.*, 2008).

Colorimetrie.

In tutte le specie il parametro L^* ha assunto in ciascun caso valori intorno a 40 e 50; a^* ha mostrato sempre valori negativi, cioè significa verso il verde; b^* ha mostrato valori positivi, ovvero verso il giallo. Nel mirto il parametro L^* dopo un iniziale andamento irregolare nei primi tre periodi di osservazione, durante i quali le tesi più ombreggiate avevano foglie più scure, si è stabilizzato ad aprile 2013 verso le medie più elevate in tutte e quattro le tesi di osservazione cioè le foglie ombreggiate sono risultate con minore intensità di colore ovvero più chiare; a^* nel corso del periodo di osservazione ha avuto valori più bassi, ovvero foglie più inverdite da giugno 2012 a ottobre 2012, e al contrario per marzo 2012 e aprile 2013 a testimonianza delle variazioni stagionali nel contenuto in clorofille, più alto durante il periodo vegetativo rispetto a quello di riposo. Tuttavia considerando ciascuna tesi si è notato per le tesi più ombreggiate 60% e 70% che i valori sono rimasti più alti rispetto alle altre tesi, come se ci fosse stata una persistenza del

verde, che invece ha subito un crollo nelle tesi meno ombreggiate e nel controllo. Per gli studi di Stanton *et al.* (2010) il colore verde decresce con l'ombra, come accade in questo caso considerando il periodo giugno 2012, cioè quello nel quale si ha la crescita vegetativa. La componente gialla (indicata dai valori di b^*) inizialmente ha assunto bassi valori nel marzo 2012 per poi assumere valori più alti negli altri periodi, giungendo ad aprile 2013 con i valori più elevati nelle tesi 60% e 70%, ovvero si è registrato un leggero ingiallimento del fogliame osservato. Anche per il leccio L^* si è stabilizzato nel periodo aprile 2013, ma su valori intermedi. Foglie più verdi, corrispondenti a minori valori di a^* , si sono osservate dopo il lungo periodo di acclimatazione, ad aprile 2013, con i valori più bassi nelle tesi 0% 50% e 70% che hanno quindi mostrato foglie più verdi; infine b^* ha seguito lo stesso andamento di a^* , con la componente gialla più presente nello stesso periodo e nelle stesse tesi. Nel corbezzolo le foglie più scure si sono avute nelle tesi maggiormente ombreggiate, da giugno 2012 a ottobre 2012 un ombreggiamento intermedio favoriva la formazione di foglie meno verdi al contrario nel periodo di marzo 2012 ed aprile 2013. Infine foglie più gialle si sono notate nelle tesi intermedie a marzo 2012 aprile 2013, mentre tra giugno e ottobre 2012 le foglie più gialle erano nelle tesi più e meno ombreggiate (in situazioni all'estremo). Nel lentisco le foglie sono rimaste pressoché simili come intensità (L^*) per tutto il periodo di osservazione eccetto l'ultimo periodo (aprile 2013) dove sono risultate più chiare. Nella tesi intermedia a marzo 2012 le foglie si sono mostrate le più chiare e a ottobre si sono mostrate le più scure. A giugno 2012 foglie più verdi si sono osservate in ciascuna delle quattro tesi rispetto al controllo. Ad aprile 2013 foglie più verdi si sono mantenute nella tesi 50% e 70%. Foglie più gialle si sono osservate nei periodi di osservazione giugno e ottobre, che si sono mostrate gialle anche ad aprile nelle tesi di controllo 50% e 70%. In certi casi si è visto che l'ingiallimento insieme con la riduzione di clorofilla a , b e totale, significa che sopra un certo ombreggiamento è ridotto o inattivato del tutto il sistema fotosintetico (Dai *et al.*, 2009)

Pigmenti.

Nel mirto l'ombreggiamento ha indotto la produzione di foglie più ricche in clorofilla a , b , e totale e si è notato un sempre maggior divario alla fine del periodo di osservazione tra le tesi più ombreggiate e le meno ombreggiate. Come è stato osservato in altri studi la pianta produce una maggiore quantità di pigmento per catturare più luce possibile vista la ridotta disponibilità (Aranda *et al.*, 2005). Il rapporto tra clorofille è diminuito gradualmente con il grado di ombreggiamento, che ha indotto anche un aumento

nel contenuto in carotenoidi. Infine il rapporto tra clorofilla totale e carotenoidi è risultato più alto con i più alti gradi di ombreggiamento. Il basso rapporto a/b mostrato nelle tesi più ombreggiate e in particolare nella tesi 70%, conferma l'ipotesi secondo cui un diminuito rapporto clorofilla a/b significa una maggiore produzione di clorofilla b , che si è tra l'altro registrata, e questo concorda con Baldi *et al.* (2012) e Dai *et al.* (2009). Al termine del periodo di osservazione il leccio ha prodotto foglie con un maggior contenuto in clorofilla a , mentre non si sono notate differenze significative per la clorofilla b . Questo ultimo dato potrebbe essere una delle cause della mancanza di differenze anche nel rapporto tra i due tipi di clorofille. Con l'ombreggiamento il corbezzolo ha prodotto in maggior quantità clorofilla a e b , ma senza conseguenze sul loro rapporto, e inoltre si è modificato il rapporto tra clorofille e carotenoidi. Nel lentisco l'ombreggiamento ha determinato un minor rapporto tra clorofille, mentre non si sono notati significativi aumenti in clorofilla a e b . I campioni in ombra, non solo hanno modificato il contenuto in clorofilla totale, ma anche mostrano un ridotto rapporto a/b implicando una maggiore allocazione della clorofilla alla costruzione di complessi di cattura della luce che sono più ricchi in clorofilla b rispetto ai centri di reazione (Gómez-Aparicio *et al.*, 2006). Per tutti i parametri osservati in questo paragrafo si accentuano le differenze tra le tesi maggiormente ombreggiate e le altre nell'aprile 2013 rispetto ai periodi precedenti.

Il contenuto in clorofilla mostra il tipico schema di acclimatazione sole-ombra, aumentando con l'ombreggiamento. Piante esposte al 2% di luce, hanno una bassa capacità fotosintetica. Quando la disponibilità idrica supera le limitazioni imposte dall'ombreggiamento, l'ombreggiamento stesso diventa un vantaggio, e questa è una condizione che si riscontra nel sottobosco delle foreste mediterranee nei mesi estivi. Il contenuto totale in clorofilla è più alto in condizioni di ombreggiamento (Aranda *et al.*, 2005).

I cloroplasti delle piante sciafile sono più grossi e contengono più clorofille rispetto alle eliofile. Le piante eliofile però avendo più palizzata hanno più clorofilla per unità di superficie fogliare (Schulze *et al.*, 2002).

Il contenuto in clorofilla a , b e carotenoidi è più alto nelle foglie ombreggiate, calcolato sulla base del peso fresco. Poiché le foglie esposte al sole sono più spesse hanno livelli di pigmenti più alti sulla base dell'area fogliare, ma più bassi sulla base del peso fresco. Le foglie esposte al sole hanno un rapporto clorofilla a/b più alto. Le soleggiate hanno un maggiore rapporto clorofilla a/b e un minore rapporto tra clorofilla totale e carotenoidi rispetto alle ombreggiate (Baldi *et al.*, 2012).

Per massimizzare l'assorbimento luminoso, le foglie ombreggiate hanno un'area maggiore e un più alto contenuto in clorofilla *a*. Dunque l'adattamento all'ombra mostra che le piante cresciute in regimi bassi di luce si adattano aumentando la capacità ricettiva della stessa (Anderson *et al.*, 2008).

Le foglie esposte al sole possiedono più alti livelli di clorofille e carotenoidi, alti valori del rapporto clorofilla *a/b* e bassi rapporti clorofilla/carotenoidi $(a+b)/(x+c)$ rispetto a foglie in ombra (Sarijeva *et al.*, 2007). Le differenze nel contenuto totale di pigmenti e nel rapporto clorofilla *a/b* e clorofilla/carotenoidi tra foglie in sole e foglie in ombra, come visto in altre piante (Lichtenthaler *et al.*, 1981), sono dovute alla risposta all'adattamento ad alta irradiazione da parte dell'apparato fotosintetico delle foglie di sole con una molto minore quantità di clorofille *a/b* che catturano la luce (LHCII) e un maggior numero di centri di reazione sulla base del contenuto totale in clorofilla rispetto alle foglie in ombra (Lichtenthaler *et al.*, 1982).

In un altro studio l'aumento di clorofilla *b* nelle tesi ombreggiate al 67, 75 e 90% spiega la diminuzione del rapporto *a/b*. L'aumento di clorofilla totale nella tesi al 90% dimostra l'abilità delle piante di massimizzare l'assorbimento di luce in condizioni di ridotta esposizione. La migliore performance di crescita per la specie studiata si è avuta nella tesi al 67%. E' stata, infatti, osservata maggiore area fogliare col 67% di ombreggiamento, mentre le foglie più piccole si sono avute con il 90% di ombreggiamento. Il colore delle foglie è stato verde-giallastro nelle foglie cresciute in piena luce (0%) e nel 50%. Con l'ombreggiamento aumenta la clorofilla *a*, *b* e quella totale e diminuisce il rapporto *a/b*. Le foglie cresciute sotto il 67% e 75% di ombreggiamento sono più grandi. Le foglie sotto il 90% di ombreggiamento sono le più piccole. Per quanto riguarda il contenuto in clorofille in piena luce e al 50% si nota che diminuisce la clorofilla *a*, *b* e totale e aumenta il rapporto *a/b*. Il più alto contenuto in *a*, *b* e totale e il più basso rapporto *a/b* si sono registrati nella tesi 90%, la più ombreggiata (Dai *et al.*, 2009).

I carotenoidi sono pigmenti in grado di assorbire lunghezze d'onda differenti rispetto alle clorofille, così da "ampliare" lo spettro di assorbimento, e inoltre proteggono le clorofille dal fenomeno di foto-ossidazione (Armstrong e Hearst, 1996). Da una parte, quindi, ci si aspetterebbe un aumento del contenuto in carotenoidi nelle tesi più ombreggiate (per catturare più luce, o meglio le lunghezze d'onda alterate rispetto alle normali in conseguenza dell'ombreggiamento), ma allo stesso tempo una riduzione, perché con l'aumento dell'ombra i danni ossidativi sarebbero comunque ridotti. Tuttavia in ombra osserviamo che aumenta il rapporto clorofilla totale/carotenoidi. Le foglie esposte al sole

hanno infatti un maggior contenuto in clorofilla totale, maggiore contenuto in carotenoidi, maggiore rapporto tra clorofilla *a* e *b* e un minore rapporto tra clorofilla totale e carotenoidi (Lichtenthaler *et al.*, 2007). Le specie hanno prodotto con l'ombreggiamento foglie più ricche in carotenoidi e con un maggior rapporto tra contenuto in clorofille e carotenoidi, fa eccezione il leccio per il quale non si sono notate particolari differenze significative.

Accrescimento dei germogli.

In tutte le tesi il minor accrescimento dei germogli si è visto nell'ultimo periodo. Il primo periodo non ha mostrato né per il mirto né per il corbezzolo differenze significative, probabilmente a causa di un periodo di tempo ancora troppo breve per l'adattamento alle condizioni sperimentali. Nel mirto nel secondo periodo la tesi 50% ha mostrato il minor accrescimento. Nel corbezzolo le piante sono cresciute meglio in condizioni intermedie, mentre nel leccio sono cresciuti maggiormente i campioni provenienti dalle tesi al 50% e 60% nel primo e secondo periodo. Infine il lentisco ha mostrato che un ombreggiamento del 60% non è favorevole alla sua crescita. A tal proposito non è detto che le grandezze misurate, in questo caso l'accrescimento, seguano il gradiente di luce o ombra. Per Semchenko *et al.* (2012) le piante cresciute in piena luce e al 25% di luce non differiscono tra loro, quelle cresciute al 50% di ombra hanno avuto le condizioni migliori di crescita, mentre quelle cresciute in piena ombra (90%) hanno avuto la minore massa secca rispetto a quelle in piena luce e, perciò, l'assenza di ombra nelle varie specie non sempre rappresenta la miglior condizione di crescita. Con l'ombreggiamento si è visto l'allungamento degli internodi (van Kleunen e Fischer, 2005). Il mirto ha presentato il maggior numero di foglie nella tesi moderatamente ombreggiata (50%). L'ombreggiamento tra le altre cose influisce sulla lunghezza degli internodi e quindi sul numero di foglie (Vladimirova *et al.*, 1997). In particolare, un ombreggiamento troppo alto (91%) determina una riduzione del numero di foglie, mentre uno moderato (60%) favorisce un alto numero di foglie, inoltre foglie più espanse (maggiore lunghezza e larghezza) si ritrovano sotto l'80% di ombra. Nel leccio gli internodi più lunghi si sono avuti nelle tesi maggiormente ombreggiate (50%, 60% e 70%) e nel corbezzolo con ombreggiamenti bassi (30%, 50%), mentre nel lentisco durante ottobre 2012 non ci sono state differenze e in aprile 2013 sono stati i campioni della tesi 30% a mostrare il minor allungamento degli internodi. L'ombreggiamento riduce la crescita e aumenta l'area fogliare, ma l'effetto complessivo dipende dal grado di tolleranza all'ombra delle varie specie: inoltre la plasticità morfologica è minore in *Q. ilex* (Puértolas

et al., 2009), che è notoriamente una specie tollerante all'ombra rispetto ad una specie poco tollerante come *P. lentiscus*.

Anatomia della foglia

Le foglie esposte al sole sono risultate in generale più spesse delle ombreggiate. In modo da ottimizzare la luce intercettata le piante producono foglie più spesse e le orientano adeguatamente. In questo modo le foglie sviluppano un maggior contenuto di componenti fotosintetiche e hanno alta fotosintesi (Vuleta *et al.*, 2011).

Il mirto ha prodotto foglie più sottili con l'ombreggiamento, giustificato da un parenchima lacunoso più sottile, così come l'epidermide inferiore; nel secondo periodo di osservazione l'assottigliamento osservato è andato a carico anche del parenchima a palizzata. Il leccio con la riduzione della radiazione sono state prodotte foglie più sottili. Tuttavia al 60% ha mostrato di avere spessori paragonabili al controllo. La riduzione dello spessore è stata a carico del parenchima a palizzata e spugnoso, della cuticola ed epidermide superiori. Nel secondo periodo di osservazione ha mostrato cambiamenti anche negli altri strati fogliari, talvolta con un secondo strato di tessuto a palizzata. Alla fine del periodo di osservazione il corbezzolo ha prodotto foglie più sottili con l'ombreggiamento, a carico del palizzata, triplicando talvolta il numero degli strati, e del lacunoso. Anche nel lentisco l'ombreggiamento maggiore ha indotto la produzione di foglie più sottili riscontrate a carico dell'assottigliamento del tessuto a palizzata, che al massimo grado di ombreggiamento si presentava con un singolo strato, e in minor peso, della cuticola inferiore. Le piante sciafile hanno in genere un solo strato di palizzata, mentre le eliofile due o più, risultando perciò più spesse (Schulze *et al.*, 2002).

Uno studio specifico è stato orientato a chiarire perché le foglie in pieno sole siano più spesse rispetto a quelle in ombra, facendo considerazioni sulla diffusione della CO₂ all'interno della foglia. La capacità di trattenere il calore aumenta con lo spessore fogliare. Foglie molto sottili si scaldano in fretta. Quando la luce è forte e colpisce la foglia, la temperatura aumenta considerevolmente, specialmente a stomi chiusi. Perciò è meglio per la foglia se ha un'elevata capacità di trattenere il calore. Questo potrebbe spiegare perché le foglie in ombra, che non hanno bisogno di uno spesso mesofillo, abbiano una più spessa epidermide. Alcune specie tolleranti all'ombra inoltre hanno spessi tessuti non contenenti clorofilla (Terashima *et al.*, 2001).

Lo studio in oggetto fornisce un ulteriore contributo alla comprensione delle dinamiche dell'ecosistema macchia mediterranea nell'ottica del *global change*. Questo delicato ecosistema naturale è sottoposto a una certa vulnerabilità a causa delle elevate temperature e aridità, per i cui effetti sono presenti molti studi, e sempre più importante si insinua il cambiamento globale. Solo alcuni studi considerano invece gli effetti della riduzione della radiazione terrestre su un ecosistema come questo. Le specie studiate in questo lavoro, tra le più rappresentative sclerofille sempreverdi della macchia mediterranea, hanno mostrato di rispondere alle variazioni ambientali in maniera attiva modificando alcune delle loro caratteristiche.

BIBLIOGRAFIA

- Agam N., Cohen Y., Alchanatisb V., Ben-Gala A., 2013. How sensitive is the CWSI to changes in solar radiation? *Int. J. Remote Sens.* 34 (17): 6109–6120.
- Anderson J. M., Chow W. S., De Las Rivas J., 2008. Dynamic flexibility in the structure and function of photosystem II in higher plant thylakoid membranes: the grana enigma. *Photosynth. Res.* 98: 575–587.
- Aranda I., Castro L., Pardos M., Gil L., Pardos J. A., 2005. Effects of the interaction between drought and shade on water relations, gas exchange and morphological traits in cork oak (*Quercus suber* L.) seedlings. *Forest Ecol. Manag.* 210: 117–129.
- Armstrong G. A., Hearst J. E., 1996. Genetics and molecular biology of carotenoid pigment biosynthesis. *Faseb J.* 10: 228–237.
- Ashton P. M. S., Berlyn G. P., 1994. A Comparison of leaf physiology and anatomy of *Quercus* (Section Erythrobalanus-Fagaceae) species in different light environments. *Am. J. Bot.* 81: 589–597.
- Baldi P., Muthuchelian K., La Porta N., 2012. Leaf plasticity to light intensity in Italian cypress (*Cupressus sempervirens* L.): Adaptability of a Mediterranean conifer cultivated in the Alps. *J. Photoch. Photobio. B.* 117: 61–69.
- Baloch J. U. D., Qasim Khan M., Zubair M., Munir M., 2009. Effects of Different Shade Levels (Light Integrals) on Time to Flowering of Important Ornamental Annuals. *International Journal of Agriculture & Biology* ISSN Print: 1560–8530; ISSN Online: 1814–9596.
- Benayas J. M. R., Navarro J., Espigares T., Nicolau J. M., Zavala M. A., 2005. Effects of artificial shading and weed mowing in reforestation of Mediterranean abandoned cropland with contrasting *Quercus* species. *Forest Ecol. Manag.* 212: 302–314.
- Böhnke M., Bruelheide H., 2013. How do evergreen and deciduous species respond to shade?—Tolerance and plasticity of subtropical tree and shrub species of South-East China. *Environ. Exp. Bot.* 87: 179–190.
- Caldwell M. M., Meister H. P., Tehunen J. D., Lange O. L., 1986. Canopy structure, light microclimate and leaf gas exchange of *Quercus coccifera* L. in a Portuguese

- macchia: measurements in different canopy layers and simulations with a canopy model. *Trees* 1: 25–41.
- Camarda I., 1984. L'influence humaine dans la chaîne calcaire du Monte Albo (Sardaigne centre-orientale). *Coll. Phytosociologies* 11: 511–512.
- Camarda I., 2004. La macchia mediterranea come ecosistema forestale complesso. In: *Italus Hortus*. Atti del Convegno Nazionale “Piante della macchia mediterranea: dagli usi tradizionali alle nuove opportunità agro-industriali”, 11: (3) 8–15.
- Camarda I., Satta V., 1995. Compendio delle associazioni vegetali della Sardegna. La vegetazione italiana. *Acc. Naz. Lincei* 115: 307–360.
- Camarda I., Valsecchi F., 2008. Alberi e arbusti spontanei della Sardegna. 480 pp. Delfino Carlo Editore & C., Italia.
- Chazdon R. L., Fetcher N. 1984. Light environments of tropical forests. In: *Physiological ecology of plants of the wet tropics* (E. Medina, H. A. Mooney, and C. Vazquez Yanes, eds.). pp. 27-36, Junk, The Hague.
- Chazdon R. L., 1988. Sunflecks and their importance to forest understory plants. *Advances in Ecol. Res.* 18: 1–63.
- Cowling R. M., Rundel P. W., Lamont B. B., Arroyo M. K., Arianoutsou M., 1996. Plant diversity in mediterranean-climate region. *Review Article. Tree* 11: 362–366.
- Dai Y., Shen Z., Liu Y., Wang L., Hannaway D., Lu H., 2009. Effects of shade treatments on the photosynthetic capacity, chlorophyll fluorescence, and chlorophyll content of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels *et* Gilg. *Environ. Exp. Bot.* 65: 177–182.
- Delagrange S., 2011. Light- and seasonal-induced plasticity in leaf morphology, N partitioning and photosynthetic capacity of two temperate deciduous species. *Environ. Exp. Bot.* 70: 1–10.
- Fetcher N., Strain B. R., Oberbauer S. F., 1983. Effects of light regime on the growth, leaf morphology, and water relations of seedlings of two species of tropical trees. *Oecologia* 58: 314–319.
- Garcia-Fayos P., Molina M. J., 1990. Structure of mediterranean shrublands in relation to a hillside gradient. *Studia Oecologica* 7: 19–31.
- Gómez-Aparicio L., Valladares F., Zamora R., 2006. Differential light responses of Mediterranean tree saplings: linking ecophysiology with regeneration niche in four co-occurring species. *Tree Physiol.* 26: 947–958.
- Gratani L., Ghia E., 2002. Adaptive strategy at the leaf level of *Arbutus unedo* L. to cope with Mediterranean climate. *Flora* 197: 275–284.

- Gratani L., Varone L., 2004. Leaf key traits of *Erica arborea* L., *Erica multiflora* L. and *Rosmarinus officinalis* L. co-occurring in the Mediterranean maquis. *Flora* 199: 58–69.
- Gratani L., Covone F., Larcher W., 2006. Leaf plasticity response to light of three evergreen species of the Mediterranean maquis. *Trees* 20: 549–558.
- Holmgren M., 2000. Combined effects of shade and drought on tulip poplar seedlings: trade-off in tolerance or facilitation? *Oikos* 90: 67–78.
- Houghton J.T., Meira Filho L.G., Callander B.A., Harris N., Kattenberg A., Maskell K., 1996. *Climate Change 1995. The Science of Climate Change*, Vol. xii. Cambridge University Press, Cambridge, 572 pp.
- IPCC, 2007. Fourth assessment report: *Climate Change 2007 - Working Group I: The Physical Science Basis – Chapter Clouds*.
- ISPRA, 2012. *Glossario Dinamico per l’Ambiente e il Paesaggio*.
- Kendrick R. E., Kronenberg G. H. M., 1994. *Photomorphogenesis in Plants*, 2nd ed. Kluwer, Dordrecht, Netherlands.
- Lambers H., Chapin F. S., Pons T. L., 2008. *Plant physiological ecology*. Cap. 4B - Effects of radiation and temperature. Springer, New York, USA.
- Larcher W., 1993. *Ecofisiologia Vegetale*. 350 pp. Edagricole.
- Larcher W., 2000. Temperature stress and survival ability of Mediterranean sclerophyllous plants. *Plant Biosyst.* 134: 279–295.
- Lichtenthaler H. K., 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Method. Enzymol.* 148: 350–382.
- Lichtenthaler H. K., Buschmann C., Döll M., Fietz H. J., Bach T., Kozel U., Meier D., Rahmsdorf U., 1981. Photosynthetic activity, chloroplast ultrastructure, and leaf characteristics of high-light and low-light plants and of sun and shade leaves. *Photosynth Res.* 2: 115–41.
- Lichtenthaler H. K., Kuhn G., Prenzel U., Meier D., 1982. Chlorophyll-protein levels and degree of thylakoid stacking in radish chloroplasts from high-light, low-light and bentazon-treated plants. *Physiol. Plant.* 56: 183–188.
- Lichtenthaler H. K., Ač A., Marek M. V., b, Kalina J., Urban O, 2007. Differences in pigment composition, photosynthetic rates and chlorophyll fluorescence images of sun and shade leaves of four tree species. *Plant Physiol. Bioch.* 45: 577–588.
- Markwell J., Osterman J. C., Mitchell J. L., 1995. Calibration of the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. *Photosynth. Res.* 46: 467–472.

- Martinez-Ferri E., Balaguer L., Valladares F., Chico J. M., Manrique E., 2000. Energy dissipation in drought-avoiding and drought tolerant tree species at midday during the Mediterranean summer. *Tree Physiol.* 20:131–138
- Meletiou-Christou M. S., Rhizopoulou S., Diamantoglou S., 1994. Seasonal changes of carbohydrates, lipids and nitrogen content in sun and shade leaves from four Mediterranean evergreen sclerophylls. *Environ. Exp. Bot.* 34: 129–140
- Mendes M. M., Gazarini L. C., Rodrigues M. L., 2001. Acclimation of *Myrtus communis* to contrasting Mediterranean light environments - effects on structure and chemical composition of foliage and plant water relations. *Environ. Exp. Bot.* 45: 165–178.
- Mooney H. A., Dunn E. L., 1970. Convergent evolution of Mediterranean-climate evergreen sclerophyll shrubs. *Evolution* 24: 292–303.
- Mulas M., 1992. Biometric analysis of leaf histological characters in *Citrus* germoplasm. VII International Citrus Congress, Vol.1, 8-13 Marzo 1992, Acireale, Italia.
- Mulas M., 2013. Il Mirto specie spontanea e coltivata. Risultati del Progetto PYRGI "Strategia d'impresa in settori di nicchia per l'economia agroindustriale del Mediterraneo" P.O. Marittimo Italia-Francia 2007/2013.
- Mulas M., Abeltino P., Brigaglia N., 1999. Il lentisco (*Pistacia lentiscus* L.) nell'ambiente mediterraneo: biodiversità e potenziale ecologico. *Monti e Boschi*, 2. Edagricole.
- Navas M. L., Garnier E., 2002. Plasticity of whole plant and leaf traits in *Rubia peregrina* in response to light, nutrient and water availability. *Acta Oecol.* 23: 375–383.
- Niinemets U., Valladares F., 2004. Photosynthetic acclimation to simultaneous and interacting environmental stresses along natural light gradients: optimality and constraints. *Plant Biol.* 6: 254–268.
- Porra J. R., 2002. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. *Photosynth. Res.* 73: 149–156.
- Puértolas J., Benito L. F., Peñuelas J. L., 2009. Effects of nursery shading on seedling quality and post-planting performance in two Mediterranean species with contrasting shade tolerance. *New Forest.* 38: 295–308.
- Ramanathan V., Crutzen P. J., Kiehl J. T., Rosenfeld D., 2001. Aerosols, Climate, and the Hydrological Cycle. Review – Atmosphere. *Science* 294: 2119–2124.
- Reich P. B., Wright I. J., Cavender-Bares J., Craine J. M., Oleksyn J., Westoby M., Walters M. B., 2003. The evolution of plant functional variation: traits, spectra, and strategies. *Int. J. Plant Sci.* 164: 143–164.

- Richardson A. D., Duigan S.P., Berlyn G. P., 2002. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. *New Phytol.* 153: 185–194.
- Rhizopoulou S., Meletiou-Christou M. S., Diamantoglou S., 1991. Water relations for sun and shade leaves of four Mediterranean evergreen sclerophylls. *J. Exp. Bot.* 42: 627–635.
- Robson T. M., Klem K., Urban O., Jansen M. A. K., 2014. Review Article. Re-interpreting plant morphological responses to UV-B radiation. *Plant Cell Environ.* DOI: 10.1111/pce.12374.
- Sack L., Grubb P. J., 2002. The combined impacts of deep shade and drought on the growth and biomass allocation of shade-tolerant woody seedlings. *Oecologia* 131: 175–185.
- Sarijeva G., Knapp M., Lichtenthaler H. K., 2007. Differences in photosynthetic activity, chlorophyll and carotenoid levels, and in chlorophyll fluorescence parameters in green sun and shade leaves of *Ginkgo* and *Fagus*. *J. Plant Physiol.* 164: 950–955.
- Schulze E.D., Beck E., Müller-Hohenstein K., 2002. *Plant Ecology*. New York: Springer. Par. 1.2 – Light – pag 23–44.
- Semchenko M., Lepik M., Götzenberger L., Zobel K., 2012. Positive effect of shade on plant growth: amelioration of stress or active regulation of growth rate? *J. Ecol.* 100: 459–466.
- Smith W. K., Vogelmann T. C., DeLucia E. H., Bell D. T., Sheperd K. A., 1997. Leaf form and photosynthesis. *Bioscience*; Dec 1997; 47, 11; ProQuest Agriculture Journals pg. 785–793.
- Smith T. M., Smith R. L., 2007. *Elementi di Ecologia*. Pearson. Benjamin Cummings, VI ed., 706 pp.
- Stanhill G., Cohen S., 2001. Global dimming: a review of the evidence for a widespread and significant reduction in global radiation with discussion of its probable causes and possible agricultural consequences. *Agr. Forest Meteorol.* 107: 255–278.
- Stanton K. M., Weeks S. S., Dana M. N., Mickelbart M. V., 2010. Light exposure and shade effects on growth, flowering, and leaf morphology of *Spiraea alba* Du Roi and *Spiraea tomentosa* L. *HortScience* 45 (12): 1912–1916.
- Sultan S. E., 1995. Phenotypic plasticity and plant adaptation. *Acta Bot Neerl* 44: 363–383.
- Taiz L., Zeiger E., 2002. *Fisiologia vegetale*, seconda edizione. Piccin. pp. 792.

- Takashima T., Hikosaka K., Hirose T., 2004. Photosynthesis or persistence: nitrogen allocation in leaves of evergreen and deciduous *Quercus* species. *Plant Cell Environ.* 27: 1047–1054.
- Tang Q., Leng G., 2012. Damped summer warming accompanied with cloud cover increase over Eurasia from 1982 to 2009. *Environ. Res. Lett.* doi:10.1088/1748-9326/7/1/014004.
- Tattini M., Remorini D., Pinelli P., Agati G., Saracini E., Traversi M. L., Massai R., 2006. Morpho-anatomical, physiological and biochemical adjustments in response to root zone salinity stress and high solar radiation in two Mediterranean evergreen shrubs, *Myrtus communis* and *Pistacia lentiscus*. *New Phytol.* 170: 779–794.
- Terashima I., Miyazawa S., Hanba Y. T., 2001. Why are Sun Leaves Thicker than Shade Leaves? - Consideration based on Analyses of CO₂ Diffusion in the Leaf. *J. Plant Res.* 114: 93–105.
- Uddling J., Gelang-Alfredsson J., Piikki K., Pleijel H., 2007. Evaluating the relationship between leaf chlorophyll concentration and SPAD-502 chlorophyll meter readings. *Photosynth. Res.* 91: 37–46.
- Valladares F., 1999. Architecture, ecology and evolution of plant crowns. In: Pugnaire FI, Valladares F., *Handbook of functional plant ecology*. Dekker, New York, pp 121–194.
- Valladares F., 2000. Light and plant evolution: adaptation to the extremes versus phenotypic plasticity. In: Greppin H (ed) *Advanced studies in plant biology*. University of Geneva, Geneva, pp 341–355.
- Valladares F., Pearcy R.W., 1998. The functional ecology of shoot architecture in sun and shade plants of *Heteromeles arbutifolia* M. Roem., a Californian chaparral shrub. *Oecologia* 114: 1–10.
- Valladares F., Pearcy R. W., 1999. The geometry of light interception by shoots of *Heteromeles arbutifolia*: morphological and physiological consequences for individual leaves. *Oecologia* 121: 171–182.
- Valladares F., Martínez-Ferri E., Balaguer L., Pérez-Corona E., Manrique E., 2000a. Low leaf-level response to light and nutrients in Mediterranean evergreen oaks: a conservative resource-use strategy? *New Phytol.* 148: 79–91.
- Valladares F., Wright S. J., Lasso E., Kitajima K., Pearcy R. W., 2000b. Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a Panamanian rainforest. *Ecology* 81: 1925–1936.

- Valladares F., Pearcy R., 2002. Drought can be more critical in the shade than in the sun: a field study of carbon gain and photo-inhibition in a Californian shrub during a dry El Niño year. *Plant Cell Environ.* 25: 749–759.
- Valladares F., Niinemets Ü., 2008. Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 39: 237–257.
- van Kleunen M., Fischer M., 2005. Constraints on the evolution of adaptive phenotypic plasticity in plants. *New Phytol.* 166: 49–60.
- Vladimirova S.V., McConnel D.B., Kane M.E., Henley R., 1997. Morphological plasticity of *Dracena sanderana* ‘Ribbon’ in response to four light intensities. *HortScience*, 32(6): 1049-1052.
- Vuleta A., Manitašević-Jovanović S., Branka T. 2011. Light intensity influences variations in the structural and physiological traits in the leaves of *Iris pumila* L. *Arch. Biol. Sci.* 63: 1099–1110.
- Wallace J. M., Hobbs P. V., 2006. Atmospheric Science – An introductory survey – Seconda ediz. Libro. Cap. 4. Elsevier.
- WMO (World Meteorological Organization). Pagina web: http://www.wmo.int/pages/index_en.html, visitata il 12-11-2014.
- Wood C. W., Reeves D. W., Duffield R. R., Edmisten K. L., 1992. Field chlorophyll measurements for corn nitrogen status. *J. Plant Nutr.* 15: 487–500.
- Wright I. J., Reich P. B., Atkin O. K., Lusk C. H., Tjoelker M. G., Westoby M., 2006. Irradiance, temperature and rainfall influence leaf dark respiration in woody plants: evidence from comparisons across 20 sites. *New Phytol.* 169: 309–319.
- Zaragoza-Castells J., Sánchez-Gómez D., Hartley I. P., Matesanz S., Valladares F., Lloyd J., Atkin O. K., 2008. Climate-dependent variations in leaf respiration in a dry-land, low productivity Mediterranean forest: the importance of acclimation in both high-light and shaded habitats. *Funct. Ecol.* 22: 172–184.

APPENDICE

Nelle figure seguenti sono riportate alcune fotografie delle sezioni sottili di foglie appartenenti alle quattro specie osservate nel lavoro (Fig. 69-73).

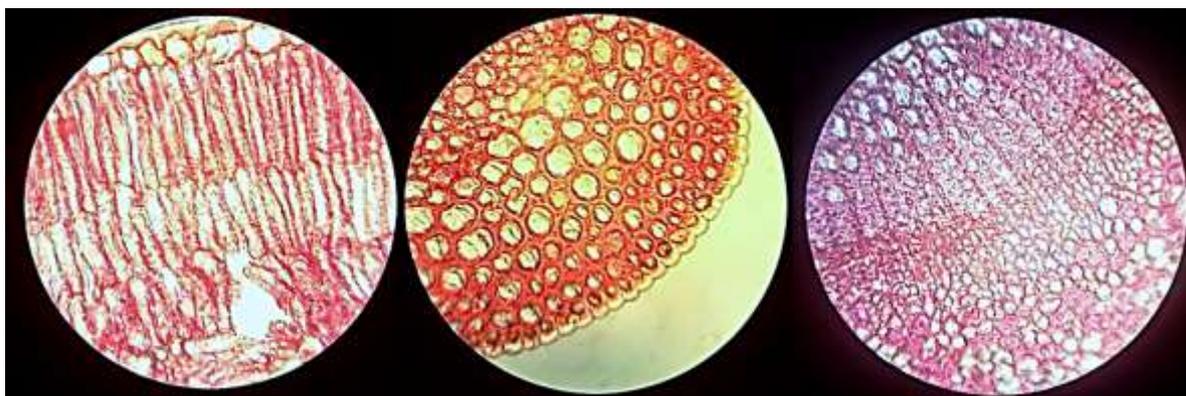


Figura 69. Sezioni sottili di foglie di *A. unedo* L. osservate al microscopio ottico; ingrandimento 95x + 6x.

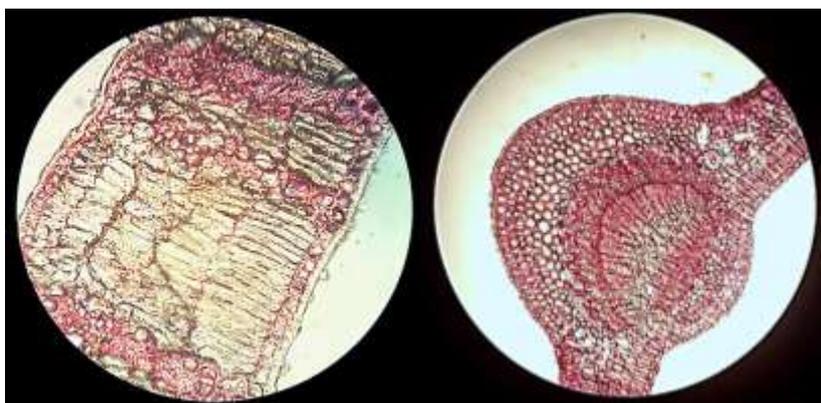


Figura 70. Sezioni sottili di foglie di *Q. ilex* L. al microscopio ottico; ingrandimento 95x + 6x (a sx), e 45x + 6x (a dx).

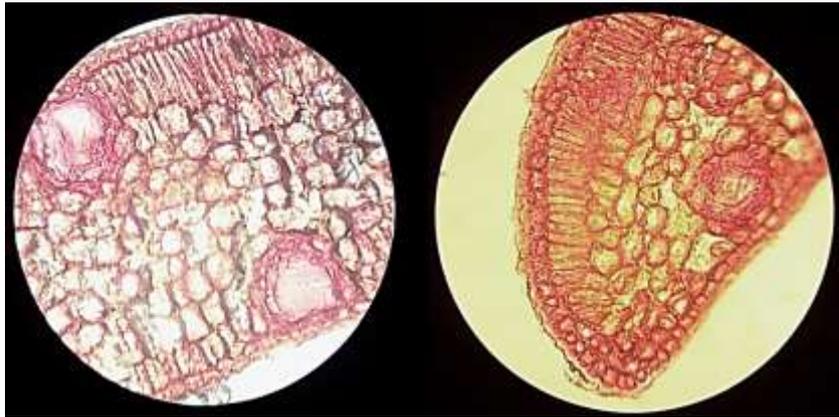


Figura 71. Sezioni sottili di foglie di *M. communis* L. al microscopio ottico; ingrandimento 95x + 6x. Sono ben evidenti le ghiandole oleifere tipiche della specie.

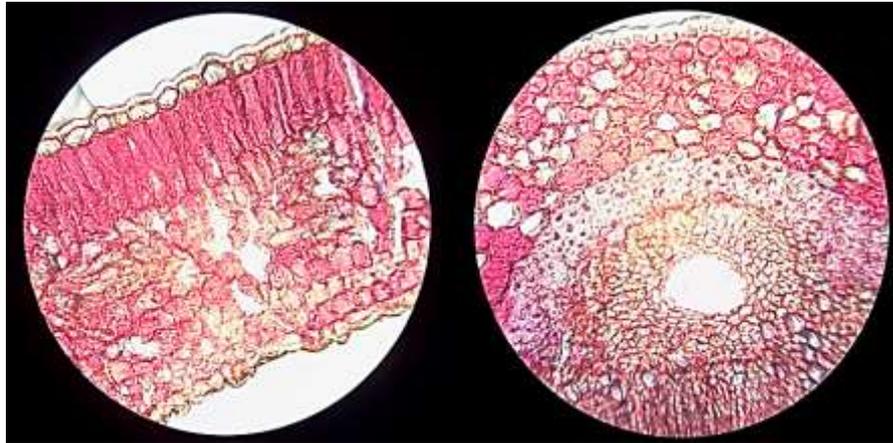


Figura 72. Sezioni sottili di foglie di *P. lentiscus* L. al microscopio ottico; ingrandimento 95x + 6x.

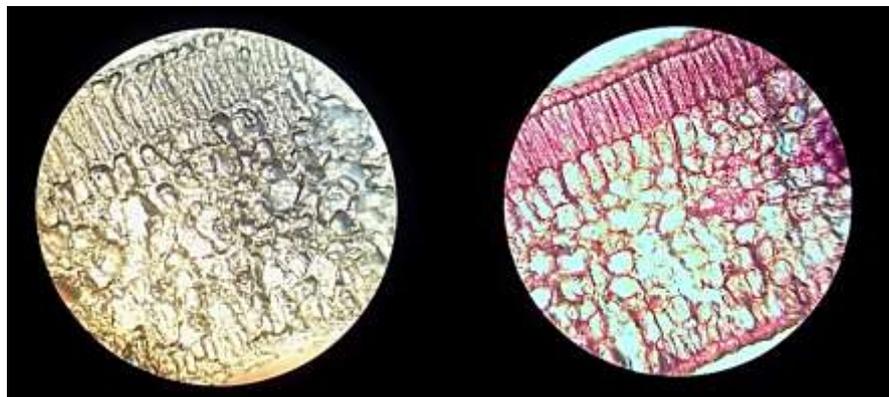


Figura 73. Sezione sottile di foglia di *M. communis* L. senza safranina (a sx) e con safranina (a dx); ingrandimento 95x + 6x.