

# UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CATANIA

Dottorato di ricerca in:  
PRODUTTIVITÀ DELLE PIANTE COLTIVATE IN AMBIENTE MEDITERRANEO  
(XXVII ciclo: 2011-2014)

ELISA FARIERI

Risposta di specie ornamentali  
a stress abiotici

—————  
TESI DI DOTTORATO  
—————

---

Tutor: *Prof. Daniela Romano*  
Coordinatore: *Prof. Daniela Romano*

## INDICE

<b>PRESENTAZIONE</b>	pag.	4
<b>Abstract</b>	“	8
<b>A. PARTE GENERALE</b>	“	11
1. Gli stress abiotici	“	11
1.1. Definizione di stress	“	12
1.2. La determinazione degli stress	“	15
1.2.1. Parametri morfologici	“	17
1.2.2. Parametri fisiologici	“	19
1.2.3. Parametri biochimici	“	22
2. Le piante ornamentali	“	25
2.1. Definizione	“	25
2.2. Effetti dei fattori di stress sulle caratteristiche ornamentali	“	27
<b>B. PARTE SPERIMENTALE</b>	“	37
3. Obiettivi generali della ricerca	“	37
4. Aspetti metodologici in comune	“	42
5. Articolazione delle prove	“	47
5.1. Screening di arbusti ornamentali all'aerosol marino	“	47
5.1.1. Presentazione della problematica	“	47
5.1.2. Materiali e metodi	“	51
5.1.3. Risultati	“	52
5.1.4. Discussione	“	54
5.2. Risposta fisiologica e biochimica di <i>Photinia ×fraseri</i> Dress 'Red Robin' ed <i>Eugenia uniflora</i> L. 'Etna Fire' allo stress idrico	“	75
5.2.1. Presentazione della problematica	“	75
5.2.2. Materiali e metodi	“	78
5.2.3. Risultati	“	80

5.2.4. Discussione	“	82
5.3. Effetti della differente temperatura dell'acqua sulla conducibilità idraulica di sei specie di pini iberici	“	103
5.3.1. Presentazione della problematica	“	103
5.3.2. Materiali e metodi	“	105
5.3.3. Risultati	“	108
5.3.4. Discussione	“	109
5.4. Risposta di <i>Callistemon citrinus</i> (Curtis) Skeels e <i>Viburnum tinus</i> L. 'Lucidum' ad aerosol marino e surfactanti in condizioni ambientali differenziate	“	118
5.5.1. Presentazione della problematica	“	118
5.5.2. Materiali e metodi	“	121
5.5.3. Risultati	“	123
5.5.4. Discussione	“	129
5.5. Risposta allo stress salino in relazione alla modalità di somministrazione del sale in <i>Photinia ×fraseri</i> Dress 'Red Robin'	“	159
5.6.1. Presentazione della problematica	“	159
5.6.2. Materiali e metodi	“	161
5.6.3. Risultati	“	163
5.6.4. Discussione	“	166
6. Sintesi conclusiva	“	186
7. Riferimenti bibliografici	“	190

## **PRESENTAZIONE**

L'elaborato è relativo alle attività di studio e di ricerca svolte, nel corso del periodo 2011-2014, nell'ambito della frequenza al corso di dottorato in "Produttività delle piante coltivate in ambiente mediterraneo". In particolare il XXVII ciclo è stato finanziato dal progetto PON01\_01611 "Sostenibilità della produzione di piante in vaso in ambiente mediterraneo (SO.PRO.ME.)", per cui le tematiche di ricerca sono state indirizzate soprattutto sul tema del florovivaismo i cui prodotti sono elettivamente destinati alle sistemazioni di spazi a verde.

L'attenzione delle aziende vivaistiche coinvolte in tali attività – e in particolare quella dell'azienda capofila del progetto, Piante Faro, all'interno della quale si sono svolte le fasi di campo di quasi tutte le ricerche documentate nella presente tesi – appare prioritariamente rivolta alla ricerca di innovazione di prodotto. Quest'ultima non è solo – come si potrebbe ritenere a primo acchito – l'individuazione di specie e/o cultivar nuove, ma è anche la possibilità di offrire al potenziale cliente piante che siano più idonee ad affrontare condizioni ambientali particolarmente difficili.

In questo ambito l'argomento affrontato nella tesi, a suo tempo sottoposto all'approvazione del Consiglio dei docenti, riguarda l'analisi della risposta di piante ornamentali agli stress abiotici.

Tale tema, oltre alle implicazioni più squisitamente speculative, assume un interesse applicativo perché può aiutare nella messa a punto di più funzionali protocolli colturali e nella predisposizione di liste di specie di possibile impiego nelle condizioni ambientali più ostative, dove di frequente sono utilizzate piante di potenziale interesse ornamentale.

La necessità di analizzare la risposta allo stress di queste piante sta assumendo crescente interesse, sostenuta com'è anche dall'opportunità di individuare modalità di coltivazione/utilizzazione delle stesse più sostenibili.

Mentre in passato la minore consapevolezza dei costi ambientali degli input, utilizzati nel processo produttivo o per la stessa coltivazione negli spazi a verde, portava alla ricerca dei fattori più favorevoli alla crescita delle piante ornamentali (es. impiego di acque di migliore qualità, anche attraverso la pratica della desalinizzazione con elevati costi energetici), oggi si cerca di individuare



soluzioni a più basso costo e più compatibili sotto il profilo ambientale che coinvolgano prioritariamente l'individuazione di genotipi resistenti e la gestione dei fattori di produzione più facilmente disponibili.

Il tema del rapporto fra piante ornamentali e stress si arricchisce anche per il fatto che oggi la pianta ornamentale, più che un individuo vegetale, dotato di caratteri organografici vistosi e interessanti dal punto di vista "estetico", viene vista come strumento per la riqualificazione di aree degradate, spesso antropiche (aree urbane o post industriali) o di zone costiere dove frequente è la presenza di alcuni stress (prioritariamente quello idrico e salino) che possono essere esiziali per la sopravvivenza delle piante stesse.

In ambiente mediterraneo questi stress assumono un'intensità particolare per la lunga durata della stagione estiva, tipicamente siccitosa, e per la scarsa disponibilità di acqua e/o la necessità d'impiego di acqua di cattiva qualità, spesso salina.

Frequentemente poi le sistemazioni a verde – che sono il luogo elitario di impiego delle piante ornamentali che sono state analizzate nella presente tesi – sono collocate nelle aree costiere, il che espone le piante stesse all'azione dell'aerosol marino, spesso arricchito di alcuni inquinanti, quali i surfactanti, che amplificano gli effetti negativi del sale.

Il tema del rapporto fra specie ornamentali e stress ha degli aspetti di specificità. Il primo, più immediato, è quello che la valutazione del danno non può essere semplicisticamente ancorata alla crescita della pianta stessa (in alcuni contesti paradossalmente disporre di piante di minori dimensioni o che si accrescono meno sarebbe un aspetto positivo) ma deve considerare il valore estetico delle piante stesse. La presenza di danni all'apparato fogliare (es. aree necrotiche sulle foglie) può di fatto pregiudicare completamente la precipua funzione della pianta ornamentale.

L'altro aspetto della questione è la grande possibilità, grazie all'ampia variabilità che contrassegna le specie di possibile impiego per le sistemazioni a verde nell'ambiente mediterraneo, di individuare genotipi più idonei a tollerare e/o a resistere a condizioni di stress.

Quantificare le piante ornamentali è compito decisamente arduo: qualche anno orsono Khoshbakht e Hammer (2008), in una rassegna sulle piante coltivate,

hanno cercato di stimare il numero delle piante ornamentali, rispetto all'intera flora di piante superiori, in alcune regioni rappresentative del globo. L'indagine ha messo in luce, ad esempio, che le piante utilizzate a scopo ornamentale in Germania erano 3000, pari al 78.9% della flora di quella nazione, mentre nelle Hawaii erano utilizzate a scopo estetico 2172 specie che incidevano per appena il 21.0% della flora autoctona. Come si intuisce, non vi è alcuna correlazione tra ricchezza floristica di un dato territorio e numero di piante ornamentali e soprattutto non vi è alcuna relazione tra vistosità delle strutture vegetative e riproduttive e impiego a fini ornamentali. La flora delle Hawaii, infatti, per la sua particolare storia evolutiva è caratterizzata da piante che presentano strutture sicuramente più vistose rispetto alla flora tedesca: la destinazione ornamentale dipende quindi da altri fattori. Il principale di questi è forse la conoscenza della flora e soprattutto l'aver saputo trovare idonea modalità d'impiego alle diverse piante. Si comprende così appieno quanto scritto da Tesi (1975) nell'enciclopedia agraria italiana alla voce "pianta ornamentale", in cui sottolineava come con tale locuzione si faccia comunemente riferimento alla funzione svolta dalle piante stesse, prescindendo dalle loro intrinseche caratteristiche decorative. La "funzione ornamentale", peraltro, può essere esplicitata da esemplari singoli, come nel caso di piante in vaso, oppure da gruppi, come avviene per molte piante da giardino, oppure da presenze massive, come per le piante da bordura e per i tappeti erbosi. Per questi ultimi, in particolare, sono utilizzate specie della famiglia delle graminacee, coincidenti o non molto dissimili morfologicamente da molte comuni malerbe (es. gramigna). Sulla base di tale definizione di tipo "funzionale" si comprende come il profilo biologico di queste piante possa essere estremamente ampio.

Questo amplissimo patrimonio genetico di piante potenzialmente utilizzabili per le sistemazioni a verde è un vantaggio perché, tra i tantissimi assetti genetici a disposizione, vi è la possibilità di individuare quelli in grado di resistere agli stress ambientali che caratterizzano un dato ambiente, ma può rappresentare paradossalmente un limite perché presuppone un'onerosa opera di valutazione delle diverse specie e/o cultivar per individuare quelli più resistenti.

L'altro aspetto della questione è connesso alla valutazione della risposta delle piante allo stress. La risposta di uno stesso genotipo ad uno stress, infatti, si

modifica in base all'età, alla fase fenologica della pianta, all'intensità e durata dello stress e all'interazione con i fattori ambientali e con altri fattori di stress.

Vi è poi la necessità di definire protocolli sperimentali che siano idonei ad analizzare, spesso in laboratorio e/o in condizioni controllate, i fattori di stress, il che, se da una parte consente di isolare il singolo fattore di stress, dall'altra può determinare situazioni che non sono pienamente rappresentative di quanto si verifica nelle condizioni operative. Occorre poi individuare quali rilievi siano più funzionali per analizzare, in maniera efficace e rapida, gli effetti dello stress stesso. Ed è su questi temi che si è soffermata l'attenzione della presente tesi di dottorato.

## **Abstract**

*Abiotic stresses, like drought, salinity and thermal, severely reduce the crop yield worldwide. For this reason, researchers have paid considerable attention to these important environmental problems over the last decades. Few studies, however, have dealt specifically with ornamental plants used in the landscapes, nevertheless abiotic stresses cause serious damage to these species. Ornamental plants are all the species and/or cultivar that provide aesthetical pleasure, improve the environment and the quality of our life. They are also used to restore disturbed landscapes, control erosion and reduce energy and water consumption, to improve the aesthetic quality of urban and rural landscapes, recreational area and interiorscapes. So the number of plant species, potentially used for these purposes, is very large due to great geographical range over which they are used and their different functions. In relation to this high number of species the possibility to find genotypes able to cope with abiotic stresses is high. In view to realize a sustainable landscape, with the aim to reduce external input, the analysis of the response to abiotic stress is very important.*

*Plant response to abiotic stresses includes morphological, physiological and biochemical changes that either decrease plant's stress exposure and/or limit damage and facilitate recovery of disturbed systems. However, understanding abiotic stress response in plants is difficult due to the complexity, relationship, and variability of mechanisms and molecules involved a fact that consist their evaluation an important and challenging topic in plant research. However, any negative effect of abiotic stress on plant growth has to be considered mainly for their influences on aesthetic plant appearance. Abiotic stress tolerance does, however, vary considerably among the different genotypes of ornamentals used in landscaping.*

*In this complex frame, the current thesis has the aim to analyze some aspects of this great topic related to the abiotic stress in ornamentals. Stresses were dealt in relation to different genotypes (over 20 species and/or cultivar are analyzed), kind of abiotic stress (drought, salinity and heat), relationship between different stresses (sea aerosol and surfactant), and ways to apply salt (through irrigation to the soil or sprayed to the canopy). Research was also focused into the individuation of appropriated parameters in order to define stress damage on ornamental plants and analyze the proper mechanism involved.*

*The different trials are conducted with the aim to:*

- carry out a screening of some ornamental shrubs to identify the genotypes more resistant to sea aerosol;*
- discriminate between morphological, physiological and biochemical parameters, the most suitable index to describe and analyze stress;*

- *identify the possible physiological and biochemical mechanisms of resistance to water stress;*
- *analyze the influence of water temperature on hydraulic conductivity of some pines to understand the possible adaptation to global change;*
- *assess the combined effect of some stress (eg. sea aerosol and surfactants) on some shrubs;*
- *assess how different environmental conditions can influence the response of plants to some stresses;*
- *analyze the response to salt stress in relation to the apply salt.*

*The above cited investigation have involved some ornamental shrubs widely distributed in the Mediterranean and some species of Iberian pines. In particular, the trials conducted were:*

- *screening of ornamental shrubs to sea aerosol;*
- *physiological and biochemical responses of Photinia ×fraseri Dress 'Red Robin' and Eugenia uniflora L. 'Etna Fire' to drought stress;*
- *effects of different water temperature on hydraulic conductivity of six species of Iberian pines;*
- *response of Callistemon citrinus (Curtis) Skeels and Viburnum tinus L. 'Lucidum' to sea aerosol and surfactants in different environmental conditions;*
- *response to salt stress in relation to the ways to apply salt in Photinia ×fraseri Dress 'Red Robin'.*

*Briefly the trials conducted in the present thesis - different in objectives, methods, biological materials – which have analyzed the complex issues related to the response of ornamental species to abiotic stresses, have determined that:*

- *screening is an important instrument to evaluate plant responses to a specific stress; the different result obtained by plants with a very similar genetic structure (for example, cultivar 'Lucidum' of Viburnum tinus, compared to the true species) requires that numerous genotypes should be analyzed;*
- *the best parameters to be utilized have to describe the ornamental plant value, also for their influence on practical aspects; for these reasons the most important can be the shoot dry weight, the leaf area and above all the percentage of leaf necrosis;*
- *the physiological determinations (transpiration rate, stomatal conductance and net photosynthesis) are not always well correlated to biomass increases, but when they are related to each other they provide to supply more information about the mechanisms of damage determined by various stress;*
- *the enzymatic determinations, although expensive, may offer shortly detailed information about the biochemical changes determined by various stresses;*

- *plant response to stress is related to environmental conditions: changes in photothermal complex influence the response of plant genotype, typical species specific effect (e.g. the different results showed by Callistemon and Viburnum);*
- *the complex of stress can sometimes intensify the plant damage, but it has not been always observed a synergic effect between stresses (e.g. in the salt spray and surfactant experiment there is only an additive effect);*
- *the response to a specific stress, such as salinity, changes according the different way to salt application; in the trial on Photinia, salt solution to the root system determined a greater damage than when salt was applied on the leaves;*
- *the analysis on ion concentration ( $\text{Na}^+$  and  $\text{Cl}^-$ ) in the different plant tissues and the study of their translocation/compartmentalization has allowed us to better understanding the response of plant to salt stress;*
- *the study of stresses may also represent an important approach to evaluate the global change effects, such as the trial carried out on Iberian pine trees response to water temperatures.*

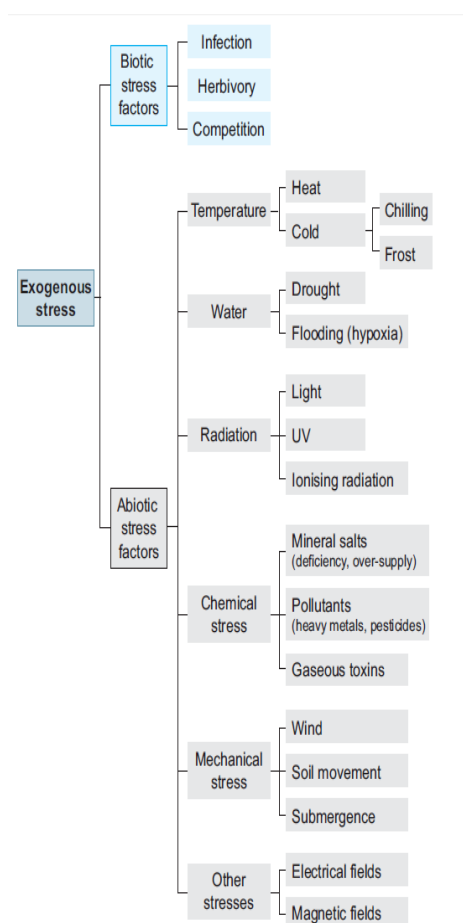
*In conclusion, even though the fragmentary nature of the information related to the complexity of the topic, results obtained showed how the response to abiotic stress is deeply influenced by plant genotype. Moreover, in the ornamental plants, this variety let the research more difficult due to the huge biological potential. In this frame, the possibility to individuate a potentially quick, reliable and inexpensive procedure, that can provide a useful means of whole plant tolerance, assumes great interest.*

## A. PARTE GENERALE

### 1. Gli stress abiotici

I fattori ambientali influenzano gli organismi vegetali in modi e tempi diversi. Per comprendere le reazioni di un individuo vegetale in particolari condizioni ambientali si tenta di isolare il singolo fattore. A tal fine si cerca anche di classificare i singoli fattori: sono così detti biotici quelli connessi all'interazione con altri organismi viventi, quali, ad esempio, gli erbivori, alcuni patogeni, gli stessi fenomeni di simbiosi o parassitismo fra piante diverse (Schulze *et al.*, 2005). Vi sono poi i fattori ambientali abiotici che includono temperatura, umidità, intensità luminosa, disponibilità di acqua e di elementi nutritivi, concentrazione di CO<sub>2</sub>. Si tratta di condizioni in grado di modificare la crescita e lo sviluppo delle piante. Alcuni di tali fattori – ma ciò dipende anche dall'intensità degli stessi – possono influenzare positivamente la crescita, altri esercitano effetti negativi. Con quantità o intensità ottimali la pianta cresce normalmente; se invece si devia dall'intervallo ottimale si determina una situazione per la quale si utilizza il termine di “stress”.

Il concetto di stress descrive quindi una condizione sfavorevole per la crescita e/o lo sviluppo delle piante (Savé, 2009). Tale azione di disturbo può essere di tipo biotico, se provocato da esseri viventi (es. virus, insetti, funghi, competizione fra piante) (Madlung e Comai, 2004), o abiotico, se determinato da fattori ambientali sfavorevoli (Bhatnagar-Mathur *et al.*, 2008; Ahmad e Prasad, 2012;



**Fig. 1.1** - Fattori ambientali, biotici e abiotici che possono determinare stress nelle piante (Fonte: Schulze *et al.*, 2005).

Ahmad *et al.*, 2012) (**Fig. 1.1**). Savé (2009) ha proposto un'ulteriore distinzione fra fattori abiotici, che potremmo definire naturali (sicchezza, ipossia, salinità, caldo, freddo, chilling ecc.), quelli biotici (insetti, funghi, batteri, virus, competitività tra le piante ecc.) e i fattori antropogenici che possono modificare in senso negativo l'aria (O<sub>3</sub>, NO<sub>x</sub>, SO<sub>2</sub> e aerosol), l'acqua (salinità, carica microbica, metalli pesanti) e il suolo (metalli pesanti, compattamento della struttura) (Savé, 2009).

Occorre quindi distinguere tra risposta ad un fattore ambientale (es. radiazione luminosa, umidità) e quella ad un fattore di stress, quale, ad esempio, un deficit idrico che si esercita per un lungo periodo (Savé, 2009). In molti casi la risposta può essere la stessa ma non la possibilità che il processo sia reversibile (Alscher e Cumming, 1990). Le piante, inoltre, possono essere influenzate da cambiamenti ambientali che possono avere diversa durata, il che influenza la risposta delle piante stesse. Alcuni cambiamenti sono reversibili e la pianta può mantenere la sua produttività e in tal caso si può usare il termine "*hardening*"; in altri casi il processo è irreversibile e può determinare effetti deleteri sulla pianta e sulla sua produttività (Savé, 2009). Proprio per questo, a fronte della definizione di Levitt (1980), che definiva stress "ciascun fattore ambientale che è potenzialmente non favorevole agli organismi viventi", Lichtenthaler (1998) ha introdotto il concetto di "*eu-stress*" e di "*dis-stress*" per distinguere quando l'effetto dello stress stesso è favorevole o sfavorevole alla produttività della pianta.

Occorre ricordare anche come l'acclimatazione delle piante al cambiamento di fattori ambientali o a stress coinvolga sia risposte fisiologiche a breve e a lungo termine, sia modifiche strutturali e morfologiche (Bradford e Hsiao, 1982). Questi cambiamenti in genere aiutano la pianta a minimizzare lo stress e a massimizzare l'uso delle risorse interne. In generale, comunque lo stress non può essere limitato ad una singola parte della pianta, ma deve essere analizzato come una risposta integrata a livello dell'intero organismo vegetale (Alscher e Cumming, 1990; Dickson e Isebrands, 1991).

### **1.1. Definizione di stress**

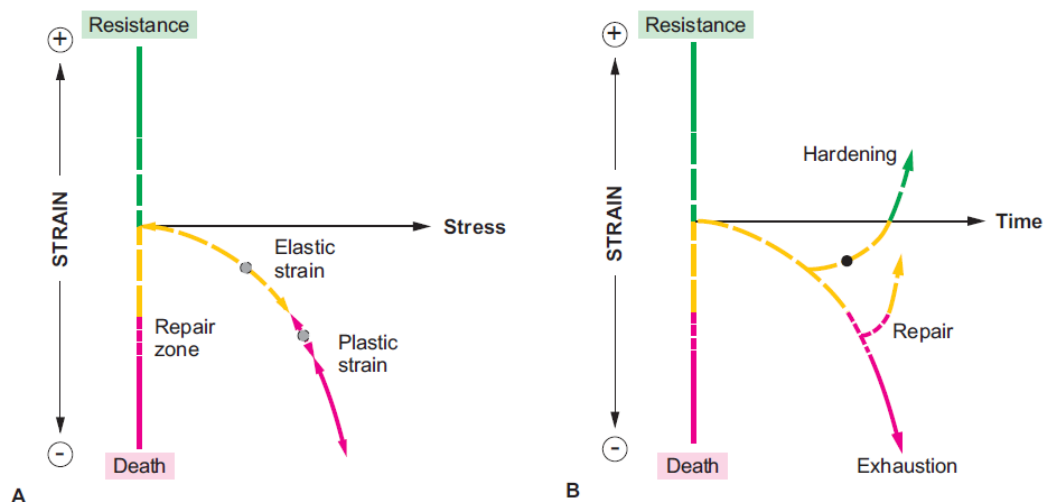
Il termine "stress", sebbene difficile da definire da un punto di vista fisiologico, è comunemente usato per indicare qualsiasi fattore negativo esterno



che inibisce il normale funzionamento e il benessere di una pianta (Jackson *et al.*, 1981; Jones e Jones, 1989).

Nel corso della coltivazione le piante sono spesso esposte a stress ambientali. Di solito sono diversi i fattori di stress che agiscono simultaneamente sugli individui vegetali, come effetto combinato di elevate temperature, assenza o basse caratteristiche qualitative dell'acqua, alto livello di radianza (Yordanov *et al.*, 2000).

Alcuni autori hanno proposto una sottile ma sostanziale distinzione fra il concetto di "strain" (il cui effetto appare reversibile) e quello di "stress" che comporta dei danni più stabili alla crescita delle piante.



**Fig. 1. 2** – Relazione tra *stress* e *strain* in un sistema incapace di adattarsi (A) e in un sistema capace di adattarsi e di riparare al danno (B) (Fonte: Schulze *et al.*, 2005).

Secondo Levitt (1980) lo stress è quel fattore che, cambiando rispetto ad uno stato iniziale, esercita una pressione sul sistema biologico causandone una deformazione. La deformazione così determinata può essere elastica se, rimuovendo la pressione esterna (stress), si ritorna ad uno stato originario o plastica quando anche rimuovendo la fonte della deformazione, questa rimane (Schulze *et al.*, 2005).

Lo stress crea quindi un'alterazione dell'omeostasi tra ambiente e pianta; tale equilibrio si ristabilisce mediante il raggiungimento di un nuovo stato fisiologico (Strasser, 1988).

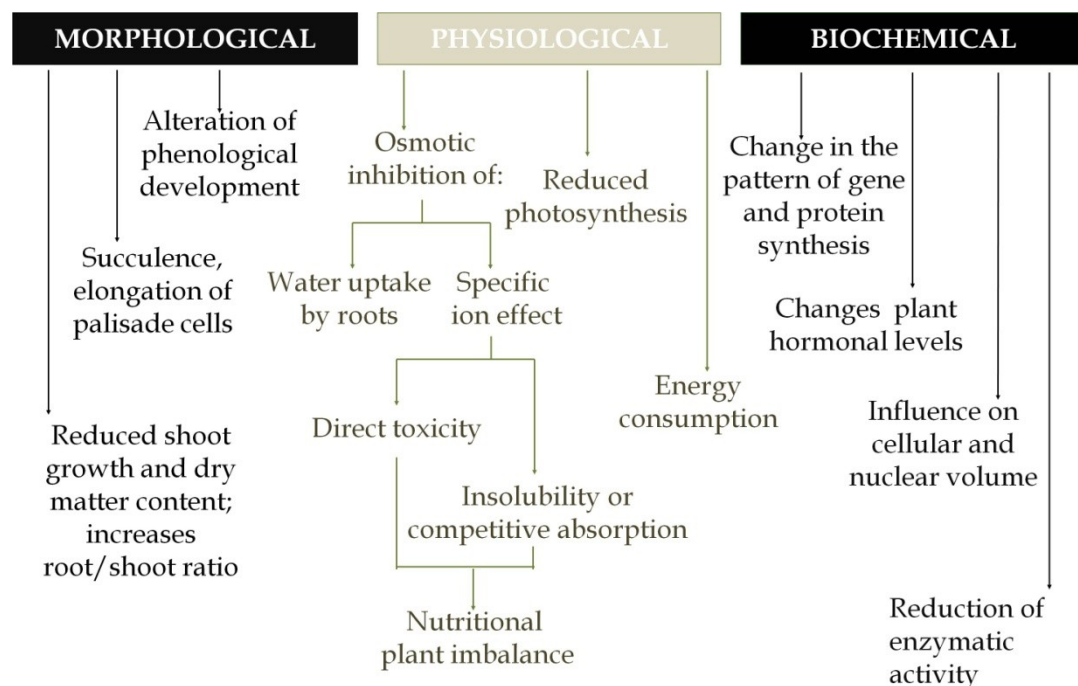
Il concetto di stress si modifica anche quando lo si analizza dal punto di vista biologico o produttivo (aspetto quest'ultimo di prevalente interesse in agricoltura). In biologia, infatti, lo stress può essere definito come “una pressione di alcune forze avverse che tende ad inibire il normale funzionamento di un sistema biologico” (Shorter Oxford English Dictionary, 1983, Vernieri *et al.*, 2006a). In agricoltura, invece, con il termine stress si intende “una qualunque pressione ambientale in grado di ridurre la produttività potenziale di una coltura” (Vernieri *et al.*, 2006a).

Gli stress abiotici rappresentano il principale fattore limitante per la produttività e la qualità delle piante; il 90% della superficie coltivata nel mondo può essere soggetta a stress singoli o a combinazioni di stress (Sharma e Lavanya, 2002). È stato rilevato, in particolare, che tali stress sono in grado di causare più del 50% della riduzione di resa (Rodríguez *et al.*, 2005; Acquaah, 2007). Secondo altri autori la riduzione della resa delle colture alimentari di base può raggiungere anche il 70% (Vorasoot *et al.*, 2003; Kaur *et al.*, 2008; Thakur *et al.*, 2010) e quindi rappresentare una seria minaccia alla disponibilità di cibo nel mondo (Mantri *et al.*, 2012). Gli stress che comportano disidratazione, a causa di siccità, elevata salinità, temperature subottimali, rappresentano quelli più frequenti che influenzano negativamente la crescita della pianta e la stessa produttività (Vorasoot *et al.*, 2003; Ahmad *et al.*, 2010; Ahmad *et al.*, 2012; Mantri *et al.*, 2012).

Esistono vari stress, con differente azione sulla pianta, ma che possono indurre risposte simili. Inoltre, molto spesso l'azione di uno stress è combinata a quella di altri (Mittler, 2006); esistono, infatti, stress definiti primari, secondari e terziari. Ad esempio, nel caso di stress da alte temperature, lo stress idrico compare come secondario, ma spesso si può avere anche un deficit nutrizionale che, in questo caso, può essere definito come stress terziario (Vernieri *et al.*, 2006a). Si possono avere anche interazioni tra stress biotici e abiotici: ad esempio, temperature del terreno molto distanti da quelle ottimali incrementano la sensibilità delle piante rispetto a patogeni tellurici responsabili di marciumi radicali e del colletto (Pardossi *et al.*, 1992).

### 1.2. La determinazione degli stress

Gli stress in quanto tali, ovviamente, non possono essere misurati: essi diventano percepibili solo grazie all'interazione fra i fattori ambientali e il singolo organismo (Schulze *et al.*, 2005). Possono, invece, essere misurati gli effetti causati dall'azione dello stress sull'organismo stesso. Tali effetti si manifestano nella pianta attraverso una serie di modificazioni di ordine morfo-anatomico, fisiologico e biochimico (**Fig. 1.3**).



**Fig. 1.3** – Cambiamenti morfologici, fisiologici e biochimici che si verificano per effetto dello stress salino (Fonte: Cassaniti *et al.*, 2012).

Comprendere l'azione degli stress abiotici sulle piante è solo apparentemente semplice a causa della complessità, delle possibili interrelazioni e della variabilità dei meccanismi stessi e delle molecole coinvolte.

A seguito di uno stress la pianta subisce cambiamenti morfologici, fisiologici e biochimici che riducono sia l'esposizione allo stress stesso da parte della pianta e/o limitano il danno, facilitando quindi la ripresa dei sistemi danneggiati (Potters *et al.*, 2007).

Gli ormoni vegetali giocano un ruolo rilevante nella risposta delle piante agli stress ambientali; alcune volte agiscono come messaggeri chimici in grado di

attivare processi che conducono all'attivazione di fenomeni di resistenza o di adattamento. Nell'adattamento delle piante agli stress, infatti, è nota l'implicazione di diversi ormoni, quali citochinine, gibberelline, auxine ed etilene (Vaadia, 1976); tra i diversi ormoni studiati maggiori evidenze sono state raccolte per l'acido abscissico (ABA). Ad esempio, in seguito allo stress salino l'ABA è coinvolto nella regolazione del bilancio idrico, nell'induzione di tolleranza alla disidratazione cellulare (Zhu, 2001 e 2002; Munns, 2002) e nella regolazione della crescita della pianta (Ruggiero *et al.*, 2004).

È utile affermare, inoltre, che il grado di adattabilità o tolleranza ad uno stress varia da specie a specie (Vernieri *et al.*, 2006a). La variabilità genetica permette, infatti, alle piante di rispondere diversamente all'aumentare di uno stress.

L'ecofisiologia o fisiologia ambientale è la disciplina biologica che studia l'adattamento della fisiologia dell'organismo vegetale alle condizioni ambientali. Tale disciplina può essere usata quindi come strumento che consente un'obiettiva valutazione delle piante e dei metodi e sistemi per ottimizzare la loro coltivazione in un grande intervallo di condizioni ambientali (Lange *et al.*, 1982; Prasad, 1997; Stuart *et al.*, 2002; Schulze *et al.*, 2005).

Per lungo tempo i metodi ecofisiologici di campo sono stati utilizzati per misurare la risposta della pianta alle condizioni ambientali. In anni più recenti nuovi metodi di laboratorio o di campo sono stati sviluppati per fornire strumenti semplici, riproducibili e oggettivi per portare avanti questi studi (Slavik, 1974; Pearcy *et al.*, 1989; Mooney *et al.*, 1991; Hendry e Grime, 1993; Peñuelas *et al.*, 1993; Reigosa, 2001). Così alcuni parametri, come il potenziale xilematico dell'acqua, il potenziale osmotico, la conduttanza stomatica, il *Water Use Efficiency* (WUE), il contenuto di acido abscissico e di altri ormoni (citochinine, acido indolacetico, etilene), la fluorescenza della clorofilla, gli enzimi antiossidanti, sono diventati metodi sempre più presenti nel bagaglio di chi si occupa della fisiologia delle piante, soprattutto in condizioni di stress (Savé, 2009).

Un bagaglio importante che non deve mai fare dimenticare quanto detto da Foury (1988) e cioè che i rilievi, indipendentemente dallo schema sperimentale utilizzato, debbono rispondere ad almeno quattro condizioni: pertinenza, frequenza, precisione, interscambiabilità. La pertinenza dei rilievi riveste poi

un'importanza maggiore che in ricerche di altro genere: essi devono consentire l'analisi senza appesantirla eccessivamente.

### *1.2.1. Parametri morfologici*

Nonostante la diversità delle specie e degli stress abiotici, una generica risposta indotta dallo stress riguarda il cambiamento anatomico e soprattutto l'inibizione dell'accrescimento cellulare, la stimolazione localizzata della divisione cellulare e l'alterazione dello stato di differenziazione cellulare. I cambiamenti delle caratteristiche anatomiche dei principali organi delle piante (foglie, radici e vasi xilematici) contribuiscono, infatti, all'adattamento alle condizioni ambientali sfavorevoli (Patakas, 2012).

La crescita della pianta è il risultato della divisione delle cellule meristematiche e conseguentemente dell'espansione delle giovani cellule. In presenza di severe condizioni di stress, come lo stress idrico, l'allungamento cellulare può essere inibito dall'interruzione del flusso idrico dallo xilema (Nonami, 1998). La siccità compromette la mitosi, l'allungamento e l'espansione delle cellule, riducendo crescita e resa delle piante (Hussain *et al.*, 2008). In *Abelmoschus esculentus*, in condizioni di stress idrico, è stata rilevata una senescenza fogliare e una riduzione dell'altezza associata al declino dell'allungamento cellulare (Bhatt e Srinivasa Rao, 2005). Una riduzione dell'allungamento dello stelo è stata osservata in soia (Specht *et al.*, 2001), in piantine di *Citrus* (Wu *et al.*, 2008) e anche in patata (Heuer e Nadler, 1995).

In condizioni di stress idrico si possono avere variazioni della biomassa totale, del tasso di crescita relativo, della struttura dell'apparato di conduzione (Corcuera *et al.*, 2004). Un comune effetto negativo dello stress sulle piante è quindi la riduzione della produzione della biomassa fresca e secca (Farooq *et al.*, 2009). Una diminuzione della biomassa è stata osservata in risposta a stress idrici in molti genotipi di girasole (Tahir e Mehid, 2001) e in *Catharanthus roseus* (Jaleel *et al.*, 2008c). Inoltre, le piante tendono ad aumentare la lunghezza e la biomassa dell'apparato radicale e a diminuire la superficie traspirante, in modo da avere una maggiore quantità di acqua per unità di superficie fogliare (Mencuccini, 2003). In seguito a stress idrico, diminuisce, infatti, il numero totale di foglie, l'area e la biomassa fogliare (Wullschleger *et al.*, 2005). La risposta appare correlata

strettamente alla specie: in mais e frumento, ad esempio, non è stata riportata nessuna riduzione significativa della biomassa totale (Sacks *et al.*, 1997).

Riduzioni della crescita e della produzione sono la risposta più comune anche in caso di stress salino (Maas, 1996). La riduzione della crescita è correlata, inoltre, alla riduzione del potenziale idrico nelle foglie. La riduzione del tasso di crescita fogliare (Blum, 1986) è dovuta principalmente all'effetto osmotico del sale in prossimità delle radici, che causa una diminuzione di rifornimento di acqua alle foglie. Wild (1988) afferma che elevate concentrazioni saline possono inibire la crescita delle radici, con riduzione sia della lunghezza che della biomassa (Shannon e Grieve, 1999). I danni morfologici si manifestano anche a carico delle foglie; se le condizioni saline perdurano nel tempo, si assiste a precoce filloptosi, con conseguente accorciamento del ciclo biologico e produttivo (Barbieri e De Pascale, 1992). Le foglie sono gli organi più colpiti in caso di stress da aerosol (Griffiths e Orians, 2003); in presenza di tale stress esse presentano apici clorotici e decolorati (Barnes *et al.*, 2000) e un ispessimento della lamina fogliare (Longstreth e Nobel, 1979; Nolan *et al.*, 1982).

La correlazione stretta fra stress e accrescimento ha suggerito a Rodríguez *et al.* (2005) di valutare la tolleranza alla salinità attraverso l'analisi di indici di crescita: RGR (*Relative Growth Rate*), NAR (*Net Assimilation Rate*), LAR (*Leaf Area Ratio*), LWR (*Leaf Weight Ratio*). Gli ultimi due indici, collegati alle dimensioni delle foglie, assumono particolare interesse per le piante ornamentali il cui valore estetico è strettamente connesso all'aspetto delle foglie (Cassaniti *et al.*, 2012).

Proprio per parametrare l'aspetto estetico delle foglie, l'attenzione di numerosi ricercatori si è soffermata sulle caratteristiche della lamina fogliare e in particolare sull'entità del danno che si può determinare sulle foglie. I parametri considerati sono diversi: necrosi (Niu e Rodriguez, 2006a e 2006b; Cassaniti, 2008), decolorazioni (Fox *et al.*, 2005; Niu *et al.*, 2007a e 2007b; Zollinger *et al.*, 2007) e bruciature (Niu *et al.*, 2007a e 2007b; Zollinger *et al.*, 2007).

Un aspetto da considerare è l'entità del danno stesso: in alcuni casi ci si limita ad identificare il numero di foglie danneggiate rispetto al totale; in altri, con l'ausilio di specifici software, si stima l'area danneggiata sul totale della superficie fogliare (Ferrante *et al.*, 2011); in altri casi, infine, sono adottate classi di danno

basate sull'entità della superficie danneggiata rispetto a quella totale (Cassaniti *et al.*, 2012).

In ogni caso nello studio dei parametri morfologici, è indispensabile l'impiego di materiale di partenza uniforme e l'adozione di una idonea frequenza dei rilievi (Foury, 1988) per poter definire l'effetto dello stress in esame.

### *1.2.2. Parametri fisiologici*

Gli stress abiotici hanno un impatto diretto sull'apparato fotosintetico; essi compromettono, infatti, gli elementi principali della fotosintesi, come il trasporto elettronico ai tilacoidi, il ciclo di riduzione del carbonio e il controllo stomatico di rifornimento di CO<sub>2</sub>. A tutto questo si aggiungono l'incremento dell'accumulo di carboidrati, la perossidazione dei lipidi e lo squilibrio del bilancio idrico (Allen e Ort, 2001). Molti studi hanno dimostrato come la riduzione dell'attività fotosintetica, in seguito allo stress, sia correlata ai meccanismi di conduzione stomatica (Ahmadi, 1998; Del Blanco *et al.*, 2000; Samarah *et al.*, 2009; Anjum *et al.*, 2011).

Per esempio, la prima risposta allo stress idrico è la chiusura degli stomi che permette di ridurre le perdite idriche, ma ciò priva le foglie del giusto assorbimento di CO<sub>2</sub> e dell'assimilazione del carbonio fotosintetico necessari all'attività fotosintetica. Durante lo stress salino, il basso potenziale dell'acqua nel suolo influisce negativamente sulla capacità di assorbimento di acqua da parte della pianta, il che comporta la perdita di turgore. La riduzione della crescita è, inoltre, correlata alla riduzione del potenziale idrico delle foglie.

Alcuni autori hanno evidenziato, infatti, che, a seguito di elevati livelli salini, i valori del potenziale idrico e quelli osmotici diventano più negativi (Meloni *et al.*, 2001; Romero-Aranda *et al.*, 2002; Gulzar *et al.*, 2003). L'associata diminuzione del potenziale di turgore riduce, dunque, la conduttanza stomatica, determinando una ridotta traspirazione e un aumento della temperatura fogliare. Alla chiusura stomatica consegue una riduzione dell'attività fotosintetica che, a sua volta, comporta una riduzione dello sviluppo della pianta e delle produzioni (Guerrier, 1996; Munns, 2002; Botia *et al.*, 2005; Maggio *et al.*, 2007). I livelli di anidride carbonica all'interno della camera stomatica, e quindi nelle cellule, diminuiscono, causando una riduzione nella fotosintesi. È stato osservato anche un decremento

nel tasso di fissazione di CO<sub>2</sub>, associato alle ridotte aperture stomatiche (Inan *et al.*, 2004).

Lo stress idrico ostacola gli scambi gassosi e questo potrebbe essere dovuto alla riduzione dell'espansione fogliare, alla prematura senescenza fogliare, alla compromissione dell'apparato fotosintetico, all'ossidazione dei cloroplasti, alle modifiche delle strutture di pigmenti e proteine (Menconi *et al.*, 1995). La chiusura degli stomi è un'alterazione fisiologica necessaria a limitare la traspirazione e quindi la perdita di acqua. Questa alterazione può essere indotta dalle cellule di guardia presenti sulle pareti cellulari o dalla riduzione del potenziale dell'acqua nelle cellule del mesofillo. Occorre tenere conto che spesso l'influenza sui processi fisiologici è dovuta alla combinazione di fattori di stress diversi: così l'eventuale presenza di tensioattivi potrebbe aumentare l'assorbimento del sale da parte delle foglie, con conseguente alterazione dei processi di fotosintesi (Itoh *et al.*, 1963; Helenius e Simons, 1975; Badot e Badot, 1995; Badot *et al.*, 1995).

Un altro parametro, utilizzato per comprendere la presenza e l'entità del danno a carico dell'apparato fotosintetico, è la fluorescenza della clorofilla, molto utile per studiare come i fattori ambientali influenzino l'efficienza fotosintetica (Lichtenthaler e Rinderle 1988). Il rapporto Fv/Fm (e cioè la massima efficienza fotochimica primaria del PSII in un campione di foglie adattato al buio) consente di valutare l'efficienza del fotosistema PSII stesso, misurando indirettamente lo stato fisiologico della pianta (Maxwell e Johnson 2000). Diversi autori hanno definito dei valori soglia di Fv/Fm per indicare se una pianta è più o meno stressata: secondo alcuni, valori compresi tra 0.78-0.85 indicano che la pianta non è stressata (Demmig e Björkman, 1987); Maxwell e Johnson (2000) riportano che valori inferiori a 0.83 possono essere riferiti a piante stressate; mentre altri suggeriscono che alcune specie non possono considerarsi stressate fin quando non si raggiungono valori di Fv/Fm più bassi dei precedenti (Colom e Vazzana, 2003; Percival *et al.*, 2006; Bacelar *et al.*, 2007). Sebbene i principi fisiologici della fluorescenza della clorofilla non siano semplici, la misura di tale parametro appare veloce (Percival, 2004), non invasiva, consentendo così di individuare e quantificare lo stress (Strasser *et al.*, 1995, Lichtenthaler e Miehé, 1997). Anche per tale motivo, la fluorescenza è stata proposta come metodo per lo screening di numerosi genotipi a fattori di stress (Percival, 2005).



Sono numerose le strumentazioni che possono essere utilizzate per misurare gli scambi gassosi: al di là dello strumento utilizzato è importante correlare tra di loro i risultati ottenuti per fotosintesi, conduttanza stomatica e tasso di traspirazione. Solo così, infatti, si può capire qual è il fattore che influenza la fotosintesi netta. Per lo stress salino, ad esempio, è stato rilevato che la riduzione della fotosintesi può essere causata da limitazione stomatica per la chiusura degli stomi (Brugnoli e Björkman, 1992; Nicolas *et al.*, 1993; De Pascale e Barbieri, 1995; Goldstein *et al.*, 1996), da limitazione non-stomatica (Downton, 1977; Drew *et al.*, 1990) o da limitazione sia stomatica, a basse concentrazioni di sale nei tessuti, sia da squilibri dell'attività fotosintetica con elevate concentrazioni di sale nei tessuti (Downton *et al.*, 1990; Yeo *et al.*, 1991).

Un problema che si pone quando si misurano alcuni dati fisiologici, quale la fotosintesi netta, è che non sempre i valori ottenuti sono correlati con la crescita della pianta stessa (**Tab. 1.1**). Una bassa o mancata relazione tra questi parametri è stata rilevata, ad esempio, in *Hibiscus cannabinus* (Curtis e Läuchli, 1986), *Hordeum vulgare* (Rawson *et al.*, 1988), *Trifolium repens* (Rogers e Noble, 1992), *Triticum aestivum* (Hawkins e Lewis, 1993; Ashraf e O'leary, 1996) e *Olea europaea* (Loreto *et al.*, 2003).

Al contrario, una relazione positiva in condizioni di salinità tra la fotosintesi e la resa è stata trovata in alcune colture, quale, ad esempio, *Zea mays* (Crosbie e Pearce, 1982), *Spinacia oleracea* (Robinson *et al.*, 1983), *Phaseolus vulgaris* (Seemann e Critchley, 1985), *Vigna mungo* (Chandra Babu *et al.*, 1985), *Gossypium barbadense* (Cornish *et al.*, 1991), *Gossypium hirsutum* (Pettigrew e Meredith, 1994), *Asparagus officinalis* (Faville *et al.*, 1999), alcune specie di *Brassica* (Ashraf, 2001) e in tre graminacee, *Panicum hemitomon*, *Spartina patene* e *Spartina alterniflora* (Hester *et al.*, 2001).

A causa delle differenziate relazioni che si verificano fra crescita e tasso di fotosintesi è possibile utilizzare quest'ultimo come criterio di selezione per la tolleranza al sale solo in quelle specie di interesse agrario in cui vi è una stretta relazione tra fotosintesi e crescita delle piante (Ashraf, 2004).

Il vantaggio dell'impiego dei parametri fisiologici è che la loro determinazione non è invasiva per la pianta, ma richiede costanza e precisione delle misure. La precisione potrebbe essere inficiata dai fattori climatici in quanto

le condizioni ambientali influenzano le reazioni della pianta. Le misurazioni, inoltre, sono puntuali, e per tale motivo dovrebbero essere ripetute nel tempo, e il valore potrebbe non essere pienamente rappresentativo dello stato reale della pianta. In ogni caso, tali parametri possono essere usati come criteri di selezione per la tolleranza agli stress.

**Tab. 1.1** - Relazione tra fotosintesi e crescita di piante esposte a salinità (Ashraf, 2004, con modifiche).

Specie	Incremento o decremento della fotosintesi a causa della salinità	Relazione tra fotosintesi e crescita	Fonte
<i>Hibiscus cannabinus</i>	Decremento	Nessuna	Curtis e Läuchli, 1986
<i>Hordeum vulgare</i>	Decremento	Nessuna	Rawson <i>et al.</i> , 1988
<i>Trifolium repens</i>	Decremento	Nessuna	Rogers e Noble, 1992
<i>Triticum aestivum</i>	Decremento	Nessuna	Hawkins e Lewis, 1993 Ashraf e O'leary, 1996
<i>Brassica juncea</i>	Decremento	Positiva	Burman <i>et al.</i> , 2003
<i>Zea mays</i>	Decremento	Positiva	Crosbie e Pearce, 1982
<i>Spinacia oleracea</i>	Decremento	Positiva	Robinson <i>et al.</i> , 1983
<i>Phaseolus vulgaris</i>	Decremento	Positiva	Seemann e Critchley, 1985
<i>Vigna mungo</i>	Decremento	Positiva	Chandra Babu <i>et al.</i> , 1985
<i>Gossypium hirsutum</i>	Decremento	Positiva	Pettigrew e Meredith, 1994
<i>Brassica</i> spp.	Decremento	Positiva	Ashraf, 2001
<i>Beta vulgaris</i>	Incremento a salinità media	Nessuna	Heuer e Plaut, 1981
<i>Solanum melongena</i>	Incremento a salinità media	Nessuna	Heuer e Plaut, 1981
<i>Spinacia oleracea</i>	Nessuna alterazione a salinità media	Nessuna	Downton <i>et al.</i> , 1985
<i>Helianthus annuus</i>	Nessuna alterazione a salinità media	Nessuna	Steduto <i>et al.</i> , 2000

### 1.2.3. Parametri biochimici

Condizioni di stress ambientali o indotti dall'uomo determinano nelle piante modificazioni anche di tipo biochimico. Negli ultimi anni l'attenzione è stata posta sulla produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS = *Reactive Oxygen Species*) che causano la distruzione delle membrane cellulari determinando danni ossidativi alle piante (Smirnoff, 1993; Schawnz *et al.*, 1996).

I ROS sono radicali liberi di ossigeno chimicamente attivi. La presenza di elettroni spaiati nel guscio di valenza di queste molecole le rende altamente reattive, risultando dannose per la struttura e la funzione cellulare. La produzione

di ROS ha luogo all'interno della compartimentazione di diversi organelli, come cloroplasti, mitocondri e perossisomi (Reddy *et al.*, 2004).

I ROS includono l'anione superossido ( $O_2^-$ ), il perossido d'idrogeno ( $H_2O_2$ ), il radicale ossidrilico (OH), l'ossigeno singoletto ( $^1O_2$ ) e l'ozono ( $O_3$ ). L'ozono, ad esempio, reagisce con i componenti cellulari presenti nell'apoplasto fogliare per formare i ROS. Le piante sono continuamente soggette alle variazioni ambientali; per esempio, un'elevata insolazione e/o freddo potrebbero creare squilibri nei processi fotosintetici e indurre la produzione di ROS nei cloroplasti (Broschè *et al.*, 2010).

Le cellule vegetali producono continuamente ROS anche in condizioni normali, dal momento che queste sostanze giocano un ruolo importante nella segnalazione cellulare, ma se prodotti in eccesso conducono a stress ossidativo (Impa *et al.*, 2012).

Le piante possiedono meccanismi che le proteggono dall'azione distruttiva delle reazioni ossidative (Foyer *et al.*, 1994). Un meccanismo messo in atto come difesa dallo stress riguarda la produzione di enzimi antiossidanti che proteggono le piante dalle specie reattive dell'ossigeno (ROS).

Garratt *et al.* (2002) hanno evidenziato, tra i principali "detossificanti" naturali presenti nelle piante, alcuni enzimi, come superossido dismutasi (SOD; EC 1.15.1.1), catalasi (CAT; EC 1.11.1.6), glutatione perossidasi (GPX; EC 1.11.1.7) e ascorbato perossidasi (APX; EC 1.11.1.11).

Un tipo di ROS può essere trasformato in un altro tipo; ad esempio,  $O_3$  è scomposto in  $H_2O_2$ ,  $O_2^-$  e  $^1O_2$ . Anche  $O_2^-$  è trasformato spontaneamente o enzimaticamente in  $H_2O_2$  attraverso l'attività SOD (Foyer *et al.*, 1997), che può reagire ulteriormente con  $Fe^{2+}$  per formare OH.

Controllare la produzione e l'azione dei ROS permette di comprendere meglio gli effetti di vari stress abiotici sulle piante. Lo studio dei meccanismi di protezione, quali gli enzimi antiossidanti, potrebbe consentire l'individuazione di processi che sono alla base della risposta delle piante agli stress.

In condizioni normali, le piante mantengono un equilibrio tra la produzione di ROS e meccanismi antiossidanti di difesa; diversi stress abiotici e biotici, però, sono in grado di spezzare questo equilibrio portando ad un improvviso incremento dei livelli intracellulari di ROS. Si stima che l'1-3% dell'ossigeno consumato dalle

piante porta alla formazione di ROS nei tessuti vegetali (Matamorous *et al.*, 2003; Bhattacharjee, 2005). Questi reagiscono con proteine e lipidi, causando danni alle strutture e al metabolismo cellulare, in particolare a quelli associati con la fotosintesi (Lawlor e Tezara, 2009).

Come meccanismo di difesa, l'attività di tali enzimi antiossidanti aumenta in condizioni di stress abiotici, come siccità (Sankar *et al.*, 2007; Jaleel *et al.*, 2008a; Manivannan *et al.*, 2008a), salinità (Jaleel *et al.*, 2008b; Manivannan *et al.*, 2008b), ozono (Puckette *et al.*, 2007). Esistono anche antiossidanti non enzimatici: tocoferolo, ascorbato, glutatione, fenoli, alcaloidi, flavonoidi e prolina (Reddy *et al.*, 2004; Gong *et al.*, 2005; Chen e Dickman, 2005; Jaleel *et al.*, 2009; Yin *et al.*, 2010; Gill e Tuteja, 2010; Ahmad *et al.*, 2010; Impa *et al.*, 2012). Un prodotto di decomposizione degli idroperossidi di acidi grassi poli-insaturi è la malondialdeide (MDA); essa è considerata un conveniente bioindicatore della perossidazione dei lipidi (Bailly *et al.*, 1996) che è un effetto del danno ossidativo.

L'analisi dei parametri biochimici consente di cogliere con anticipo i fenomeni di risposta allo stress interni alla pianta le cui manifestazioni a livello morfologico avvengono in tempi successivi. Le analisi biochimiche appaiono quindi un mezzo diagnostico di notevole interesse e i parametri possono essere degli indicatori del grado di tolleranza delle piante ad uno stress. Di contro, tali indagini potrebbero richiedere notevole dispendio di tempo e materiali, oltre che di apparecchiature.

## **2. Le piante ornamentali**

### **2.1. Definizione**

Definire cosa sia una pianta ornamentale è solo apparentemente semplice. La radice etimologica del termine “ornamentale” deriva dal latino “ornare”, ordinare, e si riferisce agli elementi decorativi utilizzati per rendere bello o più bello qualcosa. In realtà non sempre la pianta “ornamentale” si presenta “bella” o “vistosa”. Come del resto ricordava Tesi (1975) alla voce “piante ornamentali” dell’Enciclopedia Agraria della Reda, con questo termine si fa riferimento alla funzione svolta dalle piante stesse, prescindendo dalle loro intrinseche caratteristiche decorative.

Sulla base di tale definizione di tipo “funzionale” si comprende come il profilo biologico di queste piante possa essere estremamente ampio. Come ricordava Savè (2009), piante ornamentali in senso lato possono essere considerate tutte le specie e/o cultivar in grado di determinare un piacere estetico o di migliorare l’ambiente o anche la qualità della nostra vita. Tale definizione, piuttosto ampia, determina che siano numerose le specie cui può essere dato questo attributo. Di fatto nel concetto di “ornamentale” entrano alcune differenze culturali che fanno sì che alcune piante siano considerate altamente decorative in una data area geografica, mentre in un’altra non vengano ad esse riconosciute tali caratteristiche. Un altro elemento di complessità è la stessa modalità d’uso: nell’odierna progettazione degli spazi urbani e peri-urbani, gli aspetti sociologici del rapporto fra piante e popolazioni stanno determinando l’adozione di schemi di utilizzazione nuovi e assai diversificati (Hichmough, 2004). Le piante sono impiegate, infatti, per risanare ambienti degradati, per controllare l’erosione del suolo e contenere i problemi idrogeologici, per migliorare la qualità estetica degli ambienti rurali e urbani, per realizzare parchi ricreativi, per l’arredo di spazi interni ecc.. A seconda dei diversi obiettivi per cui le piante stesse sono impiegate le scelte biologiche possono essere ovviamente molto differenti.

Tutto ciò comporta che, anche in considerazione delle differenti aree geografiche interessate e delle diverse funzioni svolte, le specie che possono essere utilizzate quale pianta ornamentale siano in numero estremamente ampio. Paradossalmente qualsiasi pianta può essere considerata ornamentale.

Per le specie utilizzate nella sistemazione degli spazi a verde, i parametri cui ancorare la scelta si stanno modificando: da quelli morfologici e di gradimento estetico, l'attenzione si è spostata sulla capacità delle specie stesse di resistere a un dato stress (es. idrico, salino ecc.).

Il particolare agroecosistema rappresentato dagli spazi a verde, infatti, si presenta spesso difficile per l'inserimento e la crescita delle piante, a causa dei numerosi stress ambientali e degli elevati livelli di inquinanti presenti. Inoltre, anche prescindendo dalle considerazioni di carattere economico, a causa delle caratteristiche dell'area interessata e spesso della sua stessa scarsa accessibilità, non sempre è possibile l'adozione di quegli interventi tecnici in grado di contenere alcuni stress, ivi compreso quello idrico e salino.

Si deve anche ricordare come le questioni ambientali abbiano assunto negli ultimi anni un interesse prioritario, al punto da soverchiare, fino quasi ad annullarli, gli aspetti meramente estetici, cui nel passato si guardava prioritariamente nella realizzazione degli spazi a verde. Le nuove tendenze della progettazione, infatti, sono sempre più rivolte da una parte a esaltare gli aspetti "naturali" e dall'altra a ricercare schemi caratterizzati da minori costi di manutenzione.

Le motivazioni sono molteplici e rispondono a esigenze non solo agronomiche, ma anche politiche, sociali, culturali ed ecologiche (Hitchmough, 2004). Il concetto di "sostenibilità", con cui si intende lo sviluppo che è in grado di assicurare «*i bisogni delle generazioni presenti [...] senza compromettere le capacità delle generazioni future di soddisfare i propri*» (Rapporto Brundtland, 1987), sta diventando di estremo interesse anche nella gestione del verde ornamentale e territoriale.

Queste tendenze sono anche legate al fatto che i progettisti contemporanei del verde vedono il "giardino" essenzialmente come un luogo destinato alle persone e quindi cercano di tener conto delle questioni sociali e dei mutamenti che si sono verificati negli ultimi anni. Le inquietudini sulle implicazioni della ricerca scientifica nel campo dell'ingegneria genetica, le preoccupazioni sul destino ambientale del pianeta e tutto ciò che ha contribuito a costituire una nuova coscienza ambientalista, come l'idea dello sviluppo sostenibile, l'angoscia per la

scomparsa di specie animali e vegetali, l'inquinamento atmosferico hanno modificato anche il punto di vista estetico sulla natura (Nicolin, 2003).

Mentre in passato era il lindore dell'insieme, la regolarità delle forme, le stesse rigide simmetrie ad assumere preminente valore ornamentale, oggi a destare l'ammirazione è la consapevolezza che si è davanti ad un processo "naturale", ad un ambiente che è capace di "reggersi da solo". Come ricordava Nicolin (2003) «nozioni come ordine e disordine hanno per noi un senso diverso rispetto a un passato relativamente recente a causa dell'importanza assunta dalla nozione di entropia che, come sappiamo, aumenta in concomitanza con l'incremento di strutture "ordinate". Siamo certamente di fronte a un'accelerazione di quel cambiamento nell'apprezzare le "bellezze" della natura, a un "pluralismo" paesaggistico che conquista al campo estetico nuovi scenari».

Anche per questo termini come "*sustainable landscape*", "*environmental friendly landscape*", "*xeriscaping*", "*xerogarden*", "*wild garden*" sono ormai entrati di prepotenza nel dibattito sia scientifico che culturale in senso lato, anche al fine di realizzare un verde diverso, più rispettoso delle caratteristiche ambientali ed ecologiche di un dato territorio (Romano, 2008). In tutte queste modalità di "fare giardino", per cercare di limitare gli stress biotici e abiotici, attenzione particolare viene posta in tutte le fasi del processo, dalla scelta delle specie più idonee ai diversi ambienti (Savè *et al.*, 1999 e 2000) alle operazioni di impianto, alle stesse modalità di coltivazione (Araújo-Alves *et al.*, 1999; Vignolio *et al.*, 2002) e/o manutenzione, a soluzioni in grado di rendere più compatibile il verde con le condizioni dell'ambiente naturale (Franco *et al.*, 2006), grazie anche a particolari interventi tecnici, quale la valorizzazione degli apporti idrici tramite l'irrigazione (Still e Davies, 1993).

## **2.2. Effetti dei fattori di stress sulle caratteristiche ornamentali**

Il primo aspetto da sottolineare è relativo allo stesso concetto di "stress" nelle piante ornamentali. In alcuni casi, infatti, per queste ultime, il non disporre di un fattore nella misura ottimale, non è in assoluto un elemento negativo, in quanto ciò potrebbe determinare delle modifiche (quale ad esempio la riduzione della taglia, frequente in piante sottoposte a carenze idriche) che nel complesso possono essere considerate utili ai fini ornamentali.

A tal proposito Lichtenthaler (1998), come già ricordato, ha proposto di introdurre il concetto di “*eu-stress*” in contrapposizione a quello di “*dis-stress*”: nel primo caso si ottengono effetti positivi, nel secondo negativi sulla prestazione produttiva delle diverse piante.

La necessità di affrontare i problemi connessi alla risposta delle piante ornamentali si pone con maggior evidenza per le piante utilizzate per la sistemazione di spazi a verde. La scelta di adottare schemi di coltivazione sostenibili impone la necessità di individuare specie in grado di adattarsi a condizioni subottimali, quali quelle conseguenti alla scarsa disponibilità di acqua (Mori *et al.*, 1998) molto frequente nell’ambiente mediterraneo.

Un altro elemento di specificità delle problematiche connesse con le piante utilizzate per gli spazi a verde attiene ai parametri utilizzati per misurare la risposta allo stress. La risposta delle piante è di solito misurata dall’accumulo di biomassa secca, dall’allungamento delle diverse porzioni vegetative o dal tasso di crescita relativo. Per le colture agrarie, in particolare, il danno è di solito misurato con la resa di specifiche parti della pianta, che costituiscono la “produzione”, come semi, radici, frutti o foglie. Le piante utilizzate per la sistemazione di spazi a verde, invece, sono giudicate per il loro valore estetico più che per il ritmo di crescita o di produzione.

L’esigenza di individuare genotipi resistenti e/o tolleranti si sta accentuando anche perché, nell’ambito del *global change*, la desertificazione sta diventando uno scenario futuro probabile e questo, oltre a determinare una riduzione delle aree ricoperte dalla vegetazione, con rischi elevati di erosione del suolo, rende concreta la possibilità di forti restrizioni nell’uso dell’acqua di irrigazione, a scapito delle piante utilizzate negli spazi a verde.

In questo quadro, l’individuazione di piante resistenti allo stress idrico da impiegare negli spazi a verde appare la soluzione più interessante e promettente (Savè *et al.*, 1996, 1997, 2000).

Oltre alla diversità di forme biologiche, sono numerosi e diversi i tratti ecofisiologici che consentono alle specie mediterranee di adattarsi alla ridotta disponibilità di acqua (Galmés *et al.*, 2005a e 2005b, 2007a). La capacità di osmoregolazione consente loro di sopportare temporanei o prolungati periodi di deficit idrici (Hsiao *et al.*, 1976); una elevata concentrazione di soluti contribuisce,



inoltre, all'abbassamento del potenziale osmotico dei tessuti e al mantenimento del potenziale di turgore e migliora la tolleranza dei tessuti stessi a valori di potenziale idrico assai negativi (Tyree e Jarvis, 1982).

La riduzione della traspirazione, attraverso la chiusura degli stomi, rappresenta un altro strumento per meglio tollerare lo stress idrico, anche se comporta un più limitato assorbimento di CO<sub>2</sub>, con conseguente riduzione dell'attività fotosintetica (Jones, 1998; Nayyar e Gupta, 2006; Yang *et al.*, 2006). Di fatto, il rallentamento della fotosintesi produce anche cambiamenti nella riflettanza delle foglie, cui fanno riscontro variazioni di colore dovute alla riduzione dell'assorbimento delle radiazioni luminose nello spettro del blu e del rosso (Jones, 1983).

Una maggiore produzione di tricomi rappresenta talvolta il mezzo con cui la pianta resiste allo stress idrico (Quarrie e Jones, 1977); attraverso tale via, infatti, le foglie mantengono una temperatura più bassa (Ehleringer e Mooney, 1978). La stessa densità stomatica si modifica per effetto delle condizioni idriche del terreno e di altri fattori ambientali, come la luce, l'ombreggiamento, l'umidità, la CO<sub>2</sub> (Smith *et al.*, 1989; Romero-Aranda *et al.*, 1994; Beerling *et al.*, 1997).

Un altro importante adattamento delle specie al clima mediterraneo è l'orientamento fogliare che consente alla pianta di ridurre la quantità di luce intercettata (Morris, 1989; Nobel, 1991; Pereira e Chaves, 1993), permettendole così di contenere la temperatura fogliare senza dover aumentare la traspirazione.

In genere le piante cresciute in condizioni di stress, oltre a una riduzione di crescita, presentano un minor contenuto di pigmenti clorofilliani e cambiamenti nei parametri della fluorescenza (Lu e Zhang, 1999; Lima *et al.*, 2002; Colom e Vazzana, 2003; Souza *et al.*, 2004; Zlatev e Yordanov, 2004; Ekmekçi *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2006; Nayyar e Gupta, 2006; Yang *et al.*, 2006). Durante le condizioni di stress si riduce l'assorbimento dei nutrienti a causa della diminuzione della traspirazione, il che danneggia l'attività di trasporto e la permeabilità delle membrane, con conseguente contrazione dell'assorbimento da parte delle radici (Tanguilig *et al.*, 1987).

Le indicazioni disponibili per le piante ornamentali, però, sono spesso empiriche e basate sulle prestazioni delle piante stesse in una determinata

sistemazione a verde (Still e Davies, 1993; Schuch e Burger, 1997; Mugnai *et al.*, 1999).

Questo approccio non appare del tutto corretto, poiché spesso negli spazi a verde le piante sono impiegate in consociazione con altre specie, per cui le prestazioni dei singoli individui possono essere profondamente modificate dalla presenza di altre essenze, soprattutto se queste ultime sono molto competitive nei confronti delle risorse disponibili e in particolare dell'acqua. Ne consegue che spesso non si riesce a stabilire se una pianta è in grado di resistere ad un basso livello di disponibilità idrica perché consuma piccole quantità di acqua oppure perché è in grado di competere meglio per questa risorsa rispetto alle piante vicine (Stuart *et al.*, 2002; Clary *et al.*, 2004).

Al contempo non sempre negli spazi a verde si possono utilizzare metodologie ampiamente adottate e valide in altri contesti. Le stime dei consumi idrici delle colture, infatti, sono comunemente basate sull'evapotraspirazione reale delle stesse o su determinazioni empiriche di coefficienti colturali che tengono conto dell'evapotraspirazione potenziale ( $ET_0$ ) (Doorenbos e Pruitt, 1975; Kelliher e Jackson, 2001).

Le condizioni richieste per queste procedure – elevata uniformità della copertura vegetale e ottimale disponibilità di acqua e di fertilizzanti per raggiungere il massimo potenziale di crescita – non si realizzano quasi mai negli spazi a verde. La presenza di esemplari isolati o di gruppi di piante con esigenze idriche differenti e diversa capacità di tollerare la carenza idrica, insieme all'influenza di strutture o di manufatti adiacenti, determinano, spesso, notevoli imprecisioni nel calcolo dei coefficienti colturali (Araújo-Alves *et al.*, 1999; Vignolio *et al.*, 2002 e 2005).

A tale fine Costello *et al.* (1994) hanno cercato di risolvere alcuni dei problemi prima richiamati considerando il coefficiente dello "spazio a verde", definito come il prodotto del fattore specie per quelli della densità della vegetazione e del microclima. In questo contesto assume estremo interesse la quantificazione delle esigenze idriche manifestate dalle diverse specie presenti nelle varie tipologie di verde.

Si comprende, quindi, come la conoscenza delle esigenze idriche delle diverse specie e dei loro meccanismi di tolleranza e/o di resistenza diventi

fondamentale. Definire la capacità di assorbimento dell'acqua da parte dell'apparato radicale delle piante utilizzate è molto importante, poiché essa potrebbe essere influenzata dalla modalità di irrigazione e dall'efficienza nel consumo di acqua (García-Navarro *et al.*, 2004; Serrano *et al.*, 2005; Galmés *et al.*, 2007b).

Occorre ricordare, però, come la resistenza e/o la tolleranza allo stress idrico delle diverse specie siano di difficile "misurazione" e dipendano molto dalla capacità che i diversi genotipi manifestano nell'adattarsi ad una situazione sub-ottimale. È stato così dimostrato che la resistenza delle piante agli stress può essere stimolata mediante trattamenti fisici e chimici.

I prodotti chimici che hanno assicurato i risultati più interessanti nel controllo degli stress abiotici, e segnatamente di quelli idrici, appartengono a due categorie: i brachizzanti e gli antitraspiranti. I primi possono indurre un aumento del rapporto radici/germogli che, in alcuni casi, determina una minore suscettibilità allo stress idrico (Biasi *et al.*, 1989; Steinberg *et al.*, 1991). Il PBZ (paclobutrazolo), ad esempio, è stato utilizzato per ridurre la taglia della pianta, migliorare la compattezza della chioma e aumentare la resistenza a stress biotici e abiotici (Fernández *et al.*, 2006; Martínez *et al.*, 2007). Questo prodotto, inoltre, induce tolleranza a stress di lieve entità in piante sia giovani che adulte e, in particolare, riduce gli effetti indesiderati causati dalla siccità (Asare-Boamah *et al.*, 1986; Marshall *et al.*, 1991 e 2000; Fletcher *et al.*, 2000; Bañón *et al.*, 2001; Berova e Zlatev, 2003). La maggiore tolleranza della pianta allo stress idrico indotta dal PBZ è legata a riduzione della traspirazione, statura più contenuta, minore biomassa e area fogliare (Atkinson e Crisp, 1983; Asamoah e Atkinson, 1985), incremento nella resistenza stomatica e modificazioni dell'architettura della parte epigea (Wample e Culver, 1983).

Grazie all'ampia base biologica di cui si dispone in tema di verde ornamentale, una via privilegiata per risolvere i problemi connessi con gli stress abiotici è offerta dalla possibilità di individuare genotipi resistenti. L'interesse verso questa soluzione è accresciuto anche perché in molti Paesi, per rispondere alle esigenze sempre più avvertite di disporre di verde ornamentale e alle difficoltà di reperire acqua, si ricorre, ad esempio, all'impiego di acque reflue (Jordan *et al.*,

2001). In queste ultime, spesso, si ha la presenza di sodio e di concentrazioni di cloruri che pongono il grave problema dello stress salino (Wu e Dodge, 2005).

L'amplessima base biologica di cui si è detto - solo nell'ambiente mediterraneo sono diverse migliaia le specie che di fatto sono utilizzate (Romano *et al.*, 2005) - può consentire di individuare numerosi genotipi particolarmente attrezzati a resistere agli stress abiotici.

In tale contesto il ruolo delle piante autoctone diventa fondamentale (Iles, 2003), dal momento che queste, a causa dell'ambiente d'origine, sono molto attrezzate a resistere a numerosi stress, fra cui quelli idrici e salini. Nonostante queste piante siano state tradizionalmente ignorate nella realizzazione del verde (Romano, 2004), recentemente, soprattutto nell'ambito di modalità di realizzazione di spazi a verde più rispettose delle condizioni climatiche e rivolte alla ricomposizione ambientale, l'interesse nei loro confronti è andato crescendo (Zhang *et al.*, 1996; De Herralde *et al.*, 1998; Sánchez-Blanco *et al.*, 1998; Cabot e Travesa, 2000; Franco *et al.*, 2001; Martínez-Sánchez *et al.*, 2003).

Molte di queste possono rappresentare una buona alternativa alle specie tradizionali soprattutto in ecosistemi semiaridi, qual è quello mediterraneo, per la loro buona resistenza a malattie e a elevati livelli salini, per la loro buona efficienza nel consumo d'acqua, per le specifiche modalità di crescita (Morales *et al.*, 2000; Franco *et al.*, 2002; Clary *et al.*, 2004). Le piante autoctone si lasciano apprezzare, inoltre, per le numerose strategie morfologiche e fisiologiche messe in atto per superare gli stress abiotici; da ricordare, comunque, che l'adattabilità di queste piante si modifica fortemente fra le diverse specie e anche all'interno della specie stessa (Sánchez-Blanco *et al.*, 2002; Torrecillas *et al.*, 2003).

Un altro gruppo di piante, oltre alle autoctone di cui si è detto, alle quali può essere fatto riferimento al fine di ottenere spazi a verde anche in presenza di elevati livelli di salinità, sono le alofite, molte delle quali sono dotate di particolari tratti ornamentali (Aronson, 1985 e 1989). Cassaniti e Romano (2011), a tal fine, hanno condotto un'indagine per identificare specie alofite, spontanee nell'area mediterranea, che possono essere utilizzate a fini ornamentali. L'indagine, basata su fonti bibliografiche, ha consentito di individuare circa 172 specie, appartenenti a 30 famiglie botaniche e a 86 generi. Molte delle specie censite sono

Chenopodiaceae; i generi più rappresentati sono *Limonium* (Plumbaginaceae; 17 specie) e *Atriplex* (Chenopodiaceae; 14 specie).

Un altro gruppo di piante, le succulente, appaiono, grazie alle loro specificità morfologiche e funzionali, particolarmente attrezzate a resistere in ambienti aridi e salini (Nobel, 1994).

Il problema che complica l'individuazione di genotipi idonei è che spesso le piante sono sottoposte all'azione combinata di numerosi stress. È stato rilevato, ad esempio, che le piante sono in genere meno attrezzate a resistere agli stress salini quando sono coltivate in contesti caldi e aridi. Così Jordan *et al.* (2001), effettuando uno screening per analizzare il grado di danno fogliare su numerose specie arboree ornamentali per effetto dell'irrigazione sopra chioma con acque reflue, sono riusciti ad individuarne un numero piuttosto limitato; gli Autori hanno attribuito questo risultato alle condizioni calde e secche del Sud del Nevada dove si era svolta la sperimentazione.

Un'altra complicazione è legata al fatto che le piante reagiscono in maniera differente in base allo stadio fenologico (Flowers, 2004). Inoltre, le condizioni ambientali e le loro interazioni non sono facilmente controllabili (Eom *et al.*, 2007); operare in serra o in camera di crescita consentirebbe certamente un controllo più efficiente dei fattori ambientali, quali luce, temperatura e umidità relativa, che possono influenzare, ad esempio, la tolleranza al sale delle specie (Eom *et al.*, 2007), ma i risultati che si ottengono in condizioni controllate non sempre possono essere trasferiti come tali nelle normali situazioni operative rappresentate dagli spazi a verde.

Spesso la coltivazione delle piante è effettuata in contenitore per poterne valutare la resistenza ad un determinato stress. Questa soluzione comporta, però, in molte piante la riduzione dell'apparato radicale (Foury, 1988), che può interagire con i meccanismi messi in atto dalla specie per resistere ad alcuni stress abiotici.

Earl (2003), relativamente a prove di simulazione di uno stress idrico in vaso, ha precisato che una tecnica ideale presuppone di: i) mantenere uniforme il contenuto idrico del suolo a livello della zona radicale; ii) consentire che il tasso col quale lo stress evolve sia adeguatamente controllato, qualsiasi siano le variazioni nella dimensione delle piante e delle condizioni ambientali; iii) permettere che l'intervallo prefissato dello stress fisiologico sia mantenuto

indefinitivamente; iv) avere mezzi per quantificare accuratamente il livello di stress.

Un aspetto particolare del problema salinità, che è uno degli stress più avvertiti in ambiente mediterraneo, che riguarda soprattutto le piante utilizzate per la sistemazione di spazi a verde, è che il contatto con il sale può avvenire sia per effetto della presenza di elevati livelli di ioni nelle acque utilizzate per l'irrigazione (quando non si tratti di terreni salini) sia per l'azione di acque saline (o eventualmente di spray marino) direttamente sulle foglie.

Nelle sistemazioni a verde in ambiente costiero l'esposizione agli aerosol marini (contenenti sali e altri agenti inquinanti) può influenzare la crescita e la sopravvivenza anche di specie indigene dei litorali marini, quali ad esempio *Argyranthemum coronopifolium* e *Limonium pectinatum* (Sánchez-Blanco *et al.*, 2003). È stato riscontrato, infatti, che le piante sono in genere più suscettibili al danno da sale per effetto del contatto diretto dell'acqua sulle foglie rispetto a quando l'acqua stessa è distribuita direttamente al suolo e alle radici (Lumis *et al.*, 1973; Appleton *et al.*, 1999). Raramente, però, è stata analizzata la relazione tra tolleranza al sale nel caso di acqua applicata direttamente alle foglie e quella all'acqua salina distribuita direttamente alle radici. In una prova rivolta ad analizzare tale relazione e che ha preso in considerazione diversi ecotipi di *Agrostis stolonifera*, ottenuti grazie alla pressione selettiva del mare nell'ambiente costiero, è stato trovato che questi due aspetti presentano un andamento indipendente (Ashraf *et al.*, 1986). In comunità di piante spontanee delle zone costiere, è stata evidenziata una notevole variabilità nel livello di danno fogliare, dall'assenza di sintomi a danni più o meno gravi, in specie che presentavano tolleranza simile alla salinità del suolo (Cartica e Quinn, 1980; Sykes e Wilson, 1988). Inoltre, le caratteristiche di bagnabilità delle foglie sono state trovate essere responsabili della tolleranza allo spray salino in cultivar di *Festuca rubra* tolleranti il sale (Humphrey *et al.*, 1986).

In altre prove, invece, è stata riscontrata una relazione positiva, per numerose specie ornamentali utilizzate per l'arredo degli spazi a verde, tra tolleranza allo spray marino e quella alla salinità del suolo (Barbour *et al.*, 1985; Wu *et al.*, 2001a). In particolare, il livello di tolleranza nelle radici è stato trovato

essere da tre a quattro volte superiore rispetto a quello delle foglie (Wu *et al.*, 2001b).

Occorre poi considerare che la risposta può variare all'interno dello stesso genere e talvolta tra le stesse cultivar. Nell'ambito del genere *Cistus* (Sánchez-Blanco *et al.*, 2004), ad esempio, *C. monspeliensis* è apparsa più tollerante la somministrazione salina tramite aerosol rispetto a *C. albidus*, mostrando una minore riduzione nella crescita della pianta e un più ridotto danno fogliare, grazie all'abilità di compartimentalizzare gli ioni tossici all'interno delle cellule. Sempre all'interno di questo genere, piante appartenenti a *C. albidus* e *C. monspeliensis*, irrigate con acque a diversa salinità, hanno sviluppato diversi meccanismi di esclusione e di tolleranza sia a livello fisiologico che morfologico, quali la riduzione dell'area fogliare, l'inclusione di Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup>, il bilanciamento osmotico (Torrecillas *et al.*, 2003). Lo stesso bilanciamento osmotico è stato differente nelle diverse specie. *C. monspeliensis* ha mostrato, inoltre, una maggiore capacità di assorbire acqua e una maggiore efficienza nel suo uso rispetto a *C. albidus*.

La risposta al deficit idrico e al trattamento salino sono stati oggetto di un'attenta indagine di Rodríguez *et al.* (2005), che hanno utilizzato come pianta modello *Asteriscus maritimus* (L.) Less., anche al fine di identificare i meccanismi di tolleranza sviluppati dalla specie nei confronti di questi stress. *A. maritimus*, membro della famiglia delle Asteraceae e originaria dei Paesi Mediterranei, ha come habitat naturale le scogliere e i pendii rocciosi e viene quindi continuamente esposta all'aerosol marino. Il trattamento salino ha provocato una riduzione del RGR e del NAR sia a 70 mM che a 140 mM NaCl, mentre il LAR è rimasto quasi invariato. Tuttavia nelle piante trattate con la più alta concentrazione salina l'indice LWR, componente del LAR, è aumentato rispetto agli altri trattamenti anche a scapito della biomassa secca degli steli. L'area fogliare in *A. maritimus* è diminuita più precocemente rispetto agli altri parametri oggetto di studio per effetto della salinità. Questo fenomeno conferma che, in generale, fra i primi sintomi di stress salino nelle piante vi è un aumento dello spessore delle foglie (Kozłowski, 1997) o una riduzione dell'area fogliare (Matsuda e Riaz, 1981; Alarcón *et al.*, 1993). Quest'ultima può essere considerata un meccanismo di *avoidance*, al fine di minimizzare le perdite di acqua quando gli stomi sono chiusi, fattore comune a molte specie in condizioni di stress osmotico (Blum, 1986; Savé *et al.*, 1994; Ruiz-

Sánchez *et al.*, 2000). È noto, infatti, che la riduzione dell'area fogliare può essere dovuta ad una diminuzione del turgore delle foglie, a cambiamenti nelle proprietà della parete cellulare o a diminuzione del tasso fotosintetico (Franco *et al.*, 1997). La riduzione dell'RGR indica come i principali danni dello stress salino, come di quello idrico, si manifestino a carico del processo di fotosintesi, che diventa un importante fattore limitante la crescita (Cramer *et al.*, 1990; Sánchez-Blanco *et al.*, 2002).

In ogni caso gli effetti degli stress abiotici si esercitano su numerosi parametri (es. statura, dimensioni dell'apparato fotosintetizzante, caratteristiche delle foglie) che si riflettono sulle caratteristiche estetiche delle piante, condizionandone le possibilità di impiego a fini ornamentali.



## **B. PARTE SPERIMENTALE**

### **3. Obiettivi generali della ricerca**

La diffusione degli spazi a verde, sia pubblici che privati, si è incrementata negli ultimi anni anche sotto la spinta della accresciuta esigenza di rendere più vivibili gli spazi antropici. Del resto, la diffusione del verde nelle aree urbane è uno degli aspetti presi in considerazione per evidenziare il grado della qualità di vita nelle città. A livello comunitario e internazionale, la foresta urbana (*urban forest*), intesa come insieme di spazi verdi di diverso genere, superficie, struttura e finalità, è sempre più percepita in termini di spazio vitale per lo svolgimento di importanti funzioni che vanno da quelle più propriamente ecologico-ambientali a quelle sociali ed economiche (Sanesi, 2006).

Nell'ambiente mediterraneo, caratterizzato da bassa piovosità, elevata radiazione luminosa e alte temperature, l'acqua, come già rilevato, è una risorsa sempre più limitata. L'incremento delle superfici destinate al verde ornamentale, a fronte della cronica carenza in questa area di detta risorsa, ha comportato, come logica conseguenza, analogamente a quanto si è verificato in molti altri ambienti semiaridi (Urbano, 1990), lo sviluppo di programmi volti a preservare le risorse idriche disponibili (Stabler e Martin, 2000; Spinti *et al.*, 2004) e a individuare modalità di gestione degli spazi a verde in grado di ridurre i consumi di acqua (Gleick, 1998; Stabler e Martin, 2000). Del resto le tecniche di *xeriscaping* sono proposte da anni per cercare di favorire la diffusione del verde in quelle aree in cui le disponibilità di acqua sono scarse (Kjelgren *et al.*, 2000; Cerny *et al.*, 2002; Carrow, 2006).

Gli stress abiotici e in particolare quelli connessi con la carenza o la scarsa qualità dell'acqua influenzano la performance di numerose colture. Adeguati livelli idrici e idonee quantità di nutrienti sono, infatti, determinanti ai fini della crescita delle piante e della loro produzione (Ahmad *et al.*, 2009).

Nel caso delle produzioni agrarie, in genere, al fine di ottenere i migliori risultati si cerca di ottimizzare, nel corso della coltivazione, tutti i fattori che influiscono sulla resa e sulla qualità del prodotto e quindi anche la disponibilità idrica.

Per le piante impiegate nell'arredo a verde, non è viceversa sempre possibile o conveniente, nella fase vivaistica e soprattutto in quella di utilizzazione, un puntuale controllo dei fattori ambientali e tecnici; in particolare spesso è assai carente il soddisfacimento delle loro esigenze soprattutto per quanto concerne l'acqua. Ciò comporta che possano frequentemente determinarsi stress idrici e/o salini che influenzano quasi tutti i processi associati con la crescita delle piante stesse. Gli effetti possono essere assai diversi in base all'entità e alla durata del periodo di secco e allo stadio fenologico in corrispondenza del quale si verifica lo stress (Chaves *et al.*, 2003). In genere le piante mostrano sensibilità ai fattori subottimali particolarmente accentuati nelle prime fasi dell'accrescimento (Ashraf e Mehmood, 1990) che in genere coincidono con il periodo di allevamento in vivaio (Augé *et al.*, 1990).

I problemi legati agli stress idrici, ad esempio, si pongono già a partire dalla fase vivaistica (Fornes *et al.*, 2007), tenuto conto che, in genere, esse sono allevate in contenitore; in queste condizioni, infatti, a causa della limitata massa di substrato, le piante più facilmente possono andare incontro a periodi di carenza d'acqua (Bauerle *et al.*, 2003). La necessità di assicurare elevati ritmi di crescita, ottenuta grazie ad abbondanti input di acqua e concimi – è stato stimato che per le piante ornamentali da esterno vengano utilizzate dosi da 1500 a 4000 kg/ha per anno (Morey, 1987; Cabrera, 2004) – può incrementare i problemi connessi con la salinità.

L'acqua utilizzata per l'irrigazione del verde urbano, sia esso pubblico o privato, è spesso quella immessa nella rete idrica per scopi civili e incide considerevolmente sui consumi complessivi; ad esempio, è stato stimato in Utah (USA) che ben il 60% dell'acqua potabile è utilizzato per l'irrigazione degli spazi a verde (Utah Division of Water Resources, 2003); stime antecedenti, riferite all'intero territorio statunitense, ipotizzano che il consumo di acqua per gli spazi a verde in ambito urbano incidesse per il 40% su quello complessivo (Ferguson, 1987). Anche se nei Paesi industrializzati sono utilizzati, per scopi civili, notevoli quantità d'acqua, è indubbio che le aree a verde, per la loro "esposizione visiva", come ricordava Thayer (1976), sono un indicatore prontamente percepibile dello "spreco di acqua". Non a caso molte municipalità del Sud degli USA hanno imposto restrizioni nel tipo e nel numero di piante utilizzabili negli spazi a verde,

sulla base di quelli che sono i consumi idrici delle diverse specie (Stabler e Martin, 2000).

La cronica carenza nella disponibilità d'acqua ha comportato, come logica conseguenza, l'impiego di acque di peggiore qualità, spesso ricche di sali. Nelle zone prossime alla linea di costa, per la presenza di centri urbani di grosse dimensioni e per crescente domanda turistica, sono incrementate inoltre le aree a verde, per cui è accresciuto l'interesse a disporre di piante in grado di resistere a livelli salini elevati nel substrato e di tollerare l'azione dell'aerosol marino direttamente sulle foglie (Wu e Dodge, 2005). Tale problema, a sua volta, si verifica anche quando si utilizzano metodi di irrigazione per aspersione con acque di cattiva qualità o quando si impiega il sale per favorire il disgelo delle strade.

Una delle principali strategie che può essere adottata ai fini indicati è quella connessa con l'individuazione di genotipi idonei agli ambienti aridi (Ranney *et al.*, 1990; Bauerle *et al.*, 2003) e agli stress salini (Cassaniti *et al.*, 2012).

Le piante ornamentali utilizzate negli spazi a verde, grazie alla loro ampia base biologica, possiedono meccanismi piuttosto efficaci di resistenza allo stress idrico e salino. Ai fini della realizzazione di aree a verde possono essere utilizzate, ad esempio, piante, come le C<sub>4</sub> o le CAM, che manifestano una migliore efficienza nell'utilizzo dell'acqua (Cerny *et al.*, 2002; Yu *et al.*, 2005). Adattamenti morfologici e fisiologici consentono poi alle specie autoctone di sopravvivere in ambienti semiaridi (Caballero e Cid, 1993; Jackson e Overpeck, 2000; Jiang e Huang, 2001). Molte specie arbustive, grazie a sistemi radicali assai sviluppati, sono in grado di vivere in ambienti con disponibilità idriche scarse (Cleverly *et al.*, 1997; Ryel, 2004; Leffler, 2005). Le piante ornamentali utilizzate negli spazi a verde, a causa della loro ampia base biologica, possiedono meccanismi piuttosto efficaci di resistenza alla salinità: al loro interno possono essere inserite, infatti, numerose alofite e alcune succulente particolarmente attrezzate a resistere agli stress salini (Aronson, 1989; Nobel, 1994).

La valorizzazione delle risorse genetiche può fare affidamento, inoltre, sulla differente tolleranza allo stress idrico e salino dei diversi genotipi presenti all'interno della stessa specie (Abrams e Kubiske, 1990; Torrecillas *et al.*, 2003). Questa possibilità appare assai concreta, tanto da far ipotizzare l'opportunità di selezionare, fra le numerose cultivar disponibili per alcune specie ornamentali,

quelle più idonee a sopportare gli stress idrici nella fase vivaistica o nelle diverse condizioni di impiego (Stettler *et al.*, 1988; Anella e Whitlow, 1998 e 2000).

La scelta dei tipi più idonei agli ambienti aridi e/o salini pone tuttavia, nel caso delle piante da destinare al verde urbano, una problematica specifica legata alla parametrizzazione della risposta.

A differenza delle altre piante agrarie in cui in maniera classica si registra l'eventuale riduzione dell'accrescimento, soprattutto della porzione organografica (seme, frutto, biomassa) che rappresenta la resa, nelle piante ornamentali diventano importanti l'aspetto estetico e l'eventuale presenza di danni soprattutto a carico dell'apparato fogliare. Nelle piante utilizzate negli spazi a verde, inoltre, particolare interesse assume la sopravvivenza alle condizioni di stress abiotico, a causa della marginalità, sotto il profilo pedologico e ambientale in senso lato, dei luoghi dove queste piante sono collocate. Da rilevare, infine, come soprattutto in ambiente mediterraneo, caratterizzato da condizioni particolarmente stressanti (caldo, aridità, salinità), i problemi attinenti agli stress abiotici si accentuano ulteriormente per la difficoltà delle piante stesse, in queste condizioni, di mettere in atto idonee strategie di difesa.

In coerenza con tali obiettivi l'attività di ricerca si è prefissa anche lo scopo di individuare i parametri che meglio potessero esprimere la risposta delle piante al fattore allo studio, ponendo ovviamente particolare attenzione su quelli di maggiore significato dal punto di vista ornamentale a causa della particolare destinazione delle piante stesse.

Nel complesso le prove condotte sono state rivolte a:

- effettuare uno screening fra alcuni arbusti ornamentali per individuare genotipi più resistenti all'aerosol marino;
- discriminare fra numerosi parametri quelli più idonei a descrivere e analizzare i fattori di stress;
- individuare possibili meccanismi fisiologici e biochimici di resistenza allo stress idrico;
- analizzare l'influenza della temperatura dell'acqua sulla conducibilità idraulica di alcuni pini per comprendere il possibile adattamento al *global change*;

- valutare l'effetto combinato di alcuni stress (es. aerosol marino e surfactanti) su alcuni arbusti;
- valutare se e in che misura condizioni ambientali differenziate possano influenzare la risposta delle piante ad alcuni stress;
- analizzare la risposta allo stress salino in relazione alla modalità di somministrazione del sale.

Gli obiettivi prima richiamati sono stati perseguiti con le prove, di seguito riportate, che hanno riguardato alcuni arbusti ornamentali largamente diffusi nell'ambiente mediterraneo e alcune specie di pini iberici.

In particolare le prove condotte hanno riguardato:

- screening di arbusti ornamentali all'aerosol marino;
- risposta fisiologica e biochimica di *Photinia ×fraseri* Dress 'Red Robin' ed *Eugenia uniflora* L. 'Etna Fire' allo stress idrico;
- effetti della differente temperatura dell'acqua sulla conducibilità idraulica di sei specie di pini iberici;
- risposta di *Callistemon citrinus* (Curtis) Skeels e *Viburnum tinus* L. 'Lucidum' ad aerosol marino e surfactanti in condizioni ambientali differenziate;
- risposta allo stress salino in relazione alla modalità di somministrazione del sale in *Photinia ×fraseri* Dress 'Red Robin'.

#### 4. Aspetti metodologici in comune

Tutte le prove sono state condotte negli anni dal 2012 al 2014, presso il Vivaio “Piante Faro” sito a Carruba di Giarre (Catania, 37°30’N 15°11’E 90 m s.l.m.) nell’ambito del progetto PON PON01\_01611 “Sostenibilità della Produzione di piante in vaso in ambiente Mediterraneo” (SO.PRO.ME), ad eccezione di quella sui pini iberici che è stata condotta presso le serre e i laboratori di Torre Marimon - IRTA (Investigación y Tecnología Agroalimentarias), Caldes de Montbui, Barcellona (Spagna), durante il periodo di formazione all’estero, nell’ambito del progetto MINECO AGL2011-24296 e del progetto Consolider-Montes CSD2008-00040.

La **biomassa secca** delle diverse porzioni organografiche (radici, fusti e foglie) è stata determinata in stufa termoventilata a 70°C fino al raggiungimento del peso costante; la **superficie fogliare** a mezzo di un elaboratore di immagini della Delta T-Devices; sulla base dei valori relativi dell’area fogliare e della biomassa secca delle foglie è stato calcolato lo **Specific Leaf Area** (SLA), cioè la superficie fogliare dell’unità di biomassa secca delle foglie.

Per valutare gli effetti dei trattamenti sulla crescita della pianta, sono stati calcolati **RGR** (*Relative Growth Rate*), **NAR** (*Net Assimilation Rate*), **LAR** (*Leaf Area Ratio*) e **LWR** (*Leaf Weight Ratio*), secondo Rodríguez *et al.* (2005), come segue:

$$RGR = \frac{\ln W_2/W_1}{t_2-t_1}$$

$$NAR = \left[ \frac{W_2-W_1}{A_2-A_1} \right] \left[ \frac{\ln A_2/A_1}{t_2-t_1} \right]$$

$$LAR = \left[ \frac{A_2-A_1}{W_2-W_1} \right] \left[ \frac{\ln W_2/W_1}{\ln A_2/A_1} \right]$$

$$WLR = \left[ \frac{W_{L2}-W_{L1}}{W_2-W_1} \right] \left[ \frac{\ln W_2/W_1}{\ln W_{L2}/W_{L1}} \right]$$

dove  $W$  è il peso secco totale,  $t$  il tempo,  $A$  l’area fogliare totale,  $W_L$  il peso secco totale delle foglie e 1 e 2 rappresentano rispettivamente l’inizio e la fine del periodo considerato.

Il **danno fogliare** è stato calcolato come percentuale della superficie danneggiata rispetto a quella totale, a mezzo di un elaboratore di immagini della Delta T-Devices.

Il **contenuto in clorofilla** è stato determinato per estrazione secondo la metodologia proposta da Moran e Porath (1980). Essa prevede l'estrazione della clorofilla per 24 ore con 3.0 mL di N,N-Dimetilformammide e la successiva lettura allo spettrofotometro dell'assorbanza a due lunghezze d'onda pari a 647 e 664.5 nm.

Le misurazioni degli **scambi gassosi** sono state effettuate impiegando un Gas Exchange Analyzer della ADC (LCi, ADC Bioscientific Ltd., Hoddesdon, UK), che è composto da un IRGA (*Infra Red Gas Analyzer*) a stato solido (ADC-LA), da una camera di assimilazione con superficie pari a 6.25 cm<sup>2</sup> e da un sistema per l'acquisizione e per l'elaborazione dei dati. Il flusso d'aria con cui si è operato è stato pari a 350 ml min<sup>-1</sup>. Le variazioni della CO<sub>2</sub> per effetto dell'assimilazione sono state determinate per via differenziale. In base agli obiettivi della ricerca, tasso di traspirazione (E), fotosintesi netta (A) e conduttanza stomatica (Gs) sono state misurate su foglie mature, completamente espanse; tutte le misurazioni sono state condotte in condizioni di cielo sereno in corrispondenza delle ore di maggiore insolazione.

L'analisi della **fluorescenza della clorofilla a** è stata eseguita *in vivo* utilizzando un fluorimetro portatile "OS1-FL Modulated Fluorometer" della OPTI-SCIENCES. Le misurazioni sono state precedute da un adattamento al buio delle foglie per 30 minuti. Attraverso questa strumentazione è stato possibile determinare alcuni parametri: F<sub>0</sub>= livello minimo di fluorescenza, F<sub>m</sub>= livello massimo di fluorescenza. L'efficienza massima apparente del PSII è stata determinata dal rapporto F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub> con F<sub>v</sub>= F<sub>m</sub>-F<sub>0</sub> = fluorescenza variabile.

Lo stato idrico delle piante è stato valutato, mediante il **Relative Water Content (RWC)**, a mezzogiorno su foglie completamente espanse, adottando il metodo proposto da Jones e Turner (1978). Per ogni ripetizione, 30 dischi di foglie (10 mm Ø), scelte tra quelle completamente espanse, sono stati pesati (FW, peso fresco); subito dopo sono stati immersi totalmente in acqua distillata per 24 ore a temperatura ambiente. I campioni sono stati successivamente asciugati con carta

assorbente e pesati per ottenere il peso turgido (TW), poi disseccati per 24 ore a 80°C (DW, peso secco) fino a raggiungimento del peso costante.

Il RWC è stato determinato adottando la seguente formula:

$$\text{RWC (\%)} = \frac{(\text{FW} - \text{DW})}{(\text{TW} - \text{DW})} \times 100$$

**Anioni e cationi** sono stati determinati secondo il metodo Elia e Santamaria (1995). Per gli anioni, a 0.5 g di sostanza secca in polvere sono stati aggiunti 50.0 mL di acqua ultrapura e i campioni sono stati posti in agitatore orbitale per 30 minuti a 180 giri/minuto. La soluzione è stata poi filtrata con carta da filtro e da questa è stata fatta una diluizione 1:50.

Per la determinazione dei cationi è stata effettuata un'estrazione acida a partire dalle ceneri. Un campione di 2.0 g di sostanza secca macinata è stato posto in muffola per 4 ore a 550°C. Le ceneri così ottenute sono state sottoposte ad estrazione acida con 20.0 mL di soluzione di acido cloridrico 1 M. I campioni sono stati portati a volume con acqua ultrapura e posti in bagnetto termostato per 30 minuti a 100°C; una volta raffreddati sono stati filtrati con carta da filtro. Della soluzione ottenuta è stata fatta una diluizione 1:50.

Le concentrazioni degli ioni Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> sono state calcolate con l'utilizzo di un cromatografo ionico Dionex IC 25 Ion con colonna di separazione IonPac (AS11-HC) per gli anioni e una colonna IonPac (CS-12A) per i cationi (Dionex Corp., Sunnyvale, CA, USA). Le concentrazioni sono state espresse in g kg<sup>-1</sup> DW (Giuffrida *et al.*, 2013).

Le **analisi biochimiche** eseguite hanno riguardato la determinazione della prolina, dei principali enzimi antiossidanti (SOD, CAT e GPX) e della malondialdeide (MDA).

I campioni di foglie sono stati raccolti e congelati a -80°C per essere in seguito finemente sminuzzati con azoto liquido usando un mortaio e un pestello precedentemente raffreddati; la polvere ottenuta è stata utilizzata per l'estrazione.

Per la **determinazione della prolina** è stato usato il metodo di Bates *et al.* (1973). 1.0 g di polvere è stato omogeneizzato in soluzione al 3% acido 5-sulfosalicilico; l'omogenato è stato centrifugato a 9000g per 15 minuti; 2.0 mL dell'estratto sono stati incubati a 100°C per 60 minuti con un uguale volume di acido acetico glaciale e di ninidrina. Dopo aver raffreddato la miscela per 5 minuti, sono stati aggiunti 4.0 mL di toluene freddo. L'assorbanza è stata determinata



spettrofotometricamente ad una lunghezza d'onda di 525 nm, adoperando toluene come bianco. I risultati sono stati ottenuti dopo la preparazione di una retta di taratura con standard di prolina ed espressi come nmoli/g (Ahmad *et al.*, 2008).

Per la determinazione dell'**attività enzimatica**, sono stati aggiunti a 0.5 g di polvere 4.0 mL di soluzione composta da: tampone sodio-potassio fosfato (NaKPi) 50 mM a pH 7.0, polivinilpolipirrolidone 1% (PVP), acido etilendiaminotetracetico (EDTA) 1 mM, ditioneitrato (DTT) 1 mM e fenilmetilsulfonil (PMSF) 1 mM. L'omogenato è stato quindi centrifugato a 15000g per 15 minuti a 4°C ed il surnatante è stato recuperato e usato per i saggi di attività enzimatica (Bian e Jiang, 2009).

L'attività della superossido dismutasi (**SOD**) totale è stata determinata monitorando la reazione fotochimica di riduzione delle flavine con la trasformazione di blu di tetrazolio (NBT) incolore, in formazano di colore blu. SOD è in grado di inibire la formazione del formazano. È stato seguito il procedimento di Beauchamp e Fridovich (1971). A 0.5 mL di estratto enzimatico è stata aggiunta la miscela di reazione contenente riboflavina 0.1 mL, L-metionina 1.5 mL, NBT 1.0 mL, Triton-X 0.75 mL, EDTA 2 mM e NaKPi 27.0 mL a pH 7.8, per ottenere un volume finale di 3.0 mL. Le provette sono state poste a 25°C per 10 minuti in assenza di luce diretta.

La reazione ha avuto inizio con l'esposizione dei campioni ad una lampada fluorescente a luce bianca (15 WTS pre-riscaldata, 6500°K). I bianchi sono stati ottenuti con duplicati non illuminati. Il colore blu sviluppato nella reazione è stato misurato per via spettrofotometrica a 560 nm e i campioni corrispondenti non esposti sono stati usati come bianco. Il volume del campione che ha causato il 50% di inibizione nella comparsa del colore è stato considerato come un'unità di attività SOD (Duman e Ozturk, 2010).

L'attività della catalasi (**CAT**) è stata misurata secondo il metodo di Aebi (1984), facendo reagire 0.02 mL di estratto enzimatico con una miscela composta da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.1 mM in NaKPi 50 mM a pH 7.0, (3.0 mL di volume finale). La reazione ha avuto inizio con l'aggiunta di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Un'unità di attività CAT è stata definita come la quantità di enzima che ha decomposto 1 μmol di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al minuto (Aguilera *et al.*, 2002).

La determinazione della guaiacolo per ossidasi (**GPX**) è stata eseguita preparando una miscela di reazione (3.0 mL di volume finale) contenente 0.45 mL di guaiacolo 2%, 0.45 mL di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 17 mM e 0.1 mL di estratto enzimatico. L'attività di GPX della miscela è stata misurata per via spettrofotometrica a 510 nm, seguendo l'incremento di assorbanza per 3 minuti. L'incremento di assorbanza di 0,001 min<sup>-1</sup> è stato definito come unità di attività GPX (Ruley *et al.*, 2004).

Per la determinazione di **MDA** è stato usato il metodo di Heath e Packer (1968) seguendo le modifiche di Li *et al.* (2010). A 0.5 g di polvere sono stati aggiunti 2.0 mL di acido tricloroacetico 5%; l'omegenato è stato quindi centrifugato a 15000g per 10 minuti a 15°C. Al surnatante è stata aggiunto acido 2-tiobarbiturico 0.6%. La miscela così ottenuta è stata incubata a 100°C per 30 minuti e quindi centrifugata a 3000g per 10 minuti. L'assorbanza della fase acquosa è stata misurata spettrofotometricamente a 450, 532 e 600 nm.

Nel corso di tutte le prove in campo sono stati monitorati in continuo i principali **parametri microclimatici** dell'ambiente. Le misurazioni sono state effettuate con termistori per la temperatura dell'aria e con igrometri per la determinazione dell'umidità relativa. I vari sensori sono stati collegati, direttamente o attraverso un multiplexer AM416, ad un data logger CR200 della Campbell Scientific (Loughton, UK). I valori registrati sono stati trasferiti, attraverso un'interfaccia RS232, al computer e quindi elaborati.

## **5. Articolazione delle prove**

Come riportato in precedenza l'attività sperimentale è stata articolata nelle cinque prove di seguito riportate:

- Screening della risposta di diversi arbusti ornamentali allo spray marino;
- Risposta fisiologica e biochimica di *Photinia ×fraseri* Dress 'Red Robin' ed *Eugenia uniflora* L. 'Etna Fire' allo stress idrico;
- Effetti della differente temperatura dell'acqua sulla conducibilità idraulica di sei specie di pini iberici;
- Risposta di *Callistemon citrinus* (Curtis) Skeels e *Viburnum tinus* L. 'Lucidum' ad aerosol marino e surfactanti in condizioni ambientali differenziate;
- Risposta allo stress salino in relazione alla modalità di somministrazione del sale in *Photinia ×fraseri* Dress 'Red Robin'.

### **5.1. Screening della risposta di diversi arbusti ornamentali allo spray marino**

#### **5.1.1. Presentazione della problematica**

Negli ecosistemi naturali, fattori abiotici (siccità, radiazioni elevate, calore e gelo, spray marino, salinità del suolo, carenza di nutrienti) o antropici (ozono, salinizzazione del suolo, NO<sub>x</sub>, SO<sub>2</sub>, metalli pesanti, tensioattivi) possono influenzare negativamente la crescita delle piante (Mereu *et al.*, 2011).

Soprattutto negli ambienti costieri esse devono far fronte alla disponibilità di acque di diversa provenienza, come le acque piovane, quelle di irrigazione, lo stesso aerosol marino, e all'interazione delle diverse fonti idriche (Sternberg e Swart, 1987; Alessio *et al.*, 2004). I rapporti fra le piante e le fonti idriche possono modificare la composizione delle piante stesse lungo le linee di costa (Touchette *et al.*, 2009).

Lo spray marino rappresenta uno degli stress abiotici che ha un ruolo fondamentale nella composizione di diverse comunità di piante costiere (Griffiths e Orians, 2003). Diversi studi hanno dimostrato, infatti, che tale stress compromette

il bilancio idrico della pianta (Munns, 1993), comporta una riduzione della crescita (Tominaga *et al.*, 1991) e può provocare necrosi o abscissione fogliare (Karschon, 1958).

L'esposizione delle piante all'acqua con elevate concentrazioni di sale riduce o inibisce la loro crescita (Marcum, 2001; Qian *et al.*, 2001; Belligno *et al.*, 2002a e 2002b). La maggior parte degli studi sono, però, focalizzati sulla risposta delle piante all'irrigazione salina (Marcum, 2001; Belligno *et al.*, 2002a e 2002b; Gulzar *et al.*, 2003; Alshammary *et al.*, 2004; Hunter e Wu, 2005; Marcum *et al.*, 2005), mentre minore attenzione è stata rivolta alla risposta delle stesse all'esposizione all'aerosol marino in condizioni di irrigazione non salina.

È stato notato, infatti, che le piante sono in genere più sensibili al danno da sale per contatto diretto dell'acqua salina sulle foglie rispetto a quando la stessa è distribuita direttamente al suolo e alle radici (Lumis *et al.*, 1973; Appleton *et al.*, 1999). Raramente, però, è stata analizzata la relazione tra risposta al sale, quando l'acqua salina è applicata direttamente alle foglie e non distribuita nella porzione ipogea.

A tal proposito, in una prova condotta su diversi ecotipi di *Agrostis stolonifera*, è stato riscontrato come questi due fattori presentassero un andamento indipendente (Ashraf *et al.*, 1986). In piante di *Senecio elegans* L. e *Austrofestuca littoralis* (Labill.) E.B. Alexeev è stata notata, infatti, una tolleranza alla salinità quando questa interessava l'apparato radicale, mentre si è osservata una sensibilità dell'apparato epigeo all'aerosol marino (Sykes e Wilson, 1988).

Un fattore che può influenzare la resistenza a tale stress è la tipologia fogliare. È stato notato, in piante di *Agrostis stolonifera* (Ahmad e Wainwright, 1976) e di *Festuca rubra* (Humphrey *et al.*, 1986), che le caratteristiche di bagnabilità e la morfologia fogliare possono influenzare l'assorbimento di sodio, quando la pianta è raggiunta da spray marino.

È possibile affermare che la resistenza all'azione dell'aerosol sia il risultato delle caratteristiche delle strutture che proteggono la foglia che sono diverse fra le specie; in generale la capacità di resistere all'azione dell'aerosol stesso si incrementa all'aumentare dello spessore della cuticola (Bussotti *et al.*, 1995a).

Anche se la cuticola protegge la foglia dagli agenti esterni, non può evitare completamente la penetrazione di ioni e i conseguenti stress osmotico e ionico.

Le principali cause di danno, infatti, sono date dall'accumulo di sostanze nei tessuti fogliari (Bussotti *et al.*, 1984; Guidi *et al.*, 1988; Innamorati *et al.*, 1989; Grossoni *et al.*, 1990). I danni sono sempre associati ad un aumento delle differenze della pressione osmotica, che causa disidratazione o disseccamento dei tessuti e, ad elevate quantità di ioni specifici ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ), alterazione del bilancio nutritivo minerale (Hootman *et al.*, 1994).

Queste sostanze tossiche sono assorbite attraverso gli stomi e la cuticola, causando deterioramento delle cuticole cerose e alterazione nelle pareti cellulari delle cellule di guardia (Sánchez-Blanco *et al.*, 2004); ciò provoca l'alterazione dell'efficienza fotosintetica e degli scambi gassosi (Bussotti *et al.*, 1997). Si induce, infatti, una diminuzione della conduttanza stomatica, della fotosintesi e dell'efficienza del fotosistema II (PSII) (Tezara *et al.*, 2003). La diffusione di  $\text{CO}_2$  nel mesofillo è inoltre limitata e ciò può contribuire a una ulteriore generazione delle specie reattive dell'ossigeno (ROS), che possono provocare nella pianta danni irreversibili (Bowler *et al.*, 1992; Parida e Das, 2005).

Da diversi studi è stato dimostrato che i principali sintomi riscontrati nelle foglie riguardano l'alterazione della colorazione, l'ispessimento della lamina fogliare, che può risultare coriacea (Longstreth e Nobel, 1979; Noland e Martens, 1982) e la presenza di necrosi e bruciature, soprattutto lungo i margini fogliari, per effetto dell'azione diretta dello ione sodio, accumulatosi nel mesofillo (Poliakoff-Mayber e Lerner, 1993). Inoltre, si possono presentare delle defogliazioni premature, il deperimento di gemme e steli, la riduzione della crescita dei germogli. Le piante più sensibili possono presentare anche alterazioni metaboliche, quali l'aumento della resistenza stomatica e della resistenza al movimento dell'acqua all'interno dei tessuti (Maas e Nieman, 1978; Adams e Ho, 1989).

Numerose specie legnose utilizzate lungo le alberature stradali, nelle aree ricreative pubbliche e parcheggi, sono selezionate spesso sulla base della loro qualità estetica (fiori, corteccia, frutti, colore dei fiori), mentre poche sono le informazioni sulla loro tolleranza allo spray salino sulle foglie (Percival, 2005).

D'altra parte la presenza di spazi a verde lungo le aree costiere ha determinato un notevole interesse nei confronti dell'individuazione di specie resistenti alla salinità (Wu e Dodge, 2005), soprattutto laddove è difficile reperire

acqua per l'irrigazione per cui si fa ricorso ad acque reflue contenenti elevate concentrazioni di sodio e di cloruri (Jordan *et al.*, 2001).

Il problema della salinità, soprattutto nell'ambito delle specie ornamentali, può essere controllato con una funzionale gestione dell'irrigazione e/o con l'individuazione di specie o cultivar meno influenzate dalla salinità (Torrecillas *et al.*, 2003), soprattutto quando questa dipende dalla contiguità delle piante stesse con la linea di costa.

Tra i gruppi di piante di maggiore interesse per l'impiego in contesti ambientali difficili, gli arbusti ornamentali, in particolare quelli autoctoni, appaiono idonei per la loro rusticità e capacità di adattamento alle più diversificate condizioni ambientali, grazie alle particolari caratteristiche morfo-bio-fisiologiche (De Herralde *et al.*, 1998; Sánchez-Blanco *et al.*, 1998; Cabot e Travesa, 2000; Franco *et al.*, 2001; Martínez-Sánchez *et al.*, 2003). Fra queste ultime possono essere ricordate la lignificazione più o meno rapida dei tessuti, l'alternanza tra periodi di vegetazione e periodi di riposo in base al decorso termo-udometrico e le variazioni di potenziale osmotico dei succhi cellulari (Morales *et al.*, 2000; Franco *et al.*, 2002; Clary *et al.*, 2004).

La selezione di genotipi tolleranti è, però, onerosa a causa dell'ampia articolazione biologica, caratteristica delle piante ornamentali, e per la difficoltà di individuare parametri di facile determinazione idonei a definire la risposta della pianta stessa (Cramer *et al.*, 1994; Wu *et al.*, 2001a; Rodríguez *et al.*, 2005; Wu e Dodge, 2005).

Un ampio numero di specie, infatti, può potenzialmente essere utilizzato nella progettazione degli spazi a verde lungo l'area costiera, ma occorre ricordare come la loro tolleranza all'aerosol marino sia differente tra le specie (Elshatshat, 2010) e talvolta tra le diverse cultivar (Torrecillas *et al.*, 2003).

La strategia di identificare piante più resistenti a stress abiotici, quale in questo caso l'aerosol marino, può essere utile per soddisfare la richiesta di specie utilizzate nelle aree turistiche, pubbliche e private, localizzate lungo le aree di costa, per decorare strade, aiuole, alberghi e case private (Ferrante *et al.*, 2011).

In questo quadro si inserisce la presente prova che ha avuto come obiettivo quello di valutare, su 15 arbusti ornamentali largamente utilizzati

nell'ambiente mediterraneo, gli effetti dell'aerosol marino sulla crescita e sul valore ornamentale delle piante stesse.

### *5.1.2. Materiali e metodi*

La prova è stata condotta nel periodo di maggio-luglio 2012, in serra, presso il Vivaio "Piante Faro" su diversi arbusti ornamentali frequentemente utilizzati nell'ambiente mediterraneo (**Tab. 5.1.1**).

Il trapianto è stato effettuato nella prima decade di aprile in vasi di diametro 16 cm (2.7 L) su substrato analogo a quello utilizzato in azienda (60% torba, 20% pomice e argilla espansa, 10% terra, 10% letame equino maturo) e concimate con 2 g/l di Osmocote Plus (14:13:13 N,P,K + microelementi). L'irrigazione è stata effettuata, a cadenza giornaliera, mediante l'impiego di microerogatori a goccia dalla portata di 2 L h<sup>-1</sup>.

Le piante sono state sottoposte al trattamento con aerosol marino simulato per 8 settimane. Le tesi a confronto prevedevano la nebulizzazione sulla chioma di acqua distillata (controllo) e di acqua salina. Quest'ultima è stata ottenuta mediante la preparazione di una soluzione contenente: NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, MgCl<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub> e KCl in concentrazione di 23.48, 3.92, 4.98, 1.10 e 0.66 g L<sup>-1</sup> (Elshatshat, 2010).

La nebulizzazione, con acqua distillata o con acqua salina, è stata eseguita manualmente mediante pompe a spalla a cadenza bisettimanale. Per ogni trattamento le piante sono state nebulizzate fino a gocciolamento della chioma, previa protezione della base della pianta stessa con pacciamatura impermeabile, così da evitare il contatto del sale o dell'acqua distillata, utilizzata come controllo, con il substrato e quindi con l'apparato ipogeo.

All'inizio e alla fine della prova sono stati determinati: biomassa fresca e secca di radici, fusti e foglie, area fogliare, numero foglie, contenuto in clorofilla, contenuto in ioni Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> in foglie e radici.

Il contenuto in clorofilla è stato determinato per estrazione secondo la metodologia proposta da Moran e Porath (1980).

Il danno fogliare è stato determinato come percentuale della superficie delle foglie necrotizzata rispetto a quella totale.

Le concentrazioni degli ioni Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> sono state determinate mediante cromatografia con l'utilizzo di un Dionex IC 25 Ion cromatografo.

Durante la prova sono stati monitorati i principali parametri microclimatici dell'ambiente, mediante un datalogger CR200 della Campbell Scientific. Nella media del periodo considerato la temperatura è risultata compresa tra 18.4°C e 27.4°C e l'umidità relativa tra 96.3 e 96.8% (**Fig. 5.1.1**).

Ogni 20 giorni sono stati determinati i seguenti parametri fisiologici: fotosintesi netta, conduttanza stomatica, tasso di traspirazione e fluorescenza della clorofilla a.

A fine prova è stato determinato il RWC su foglie completamente espanse.

Lo schema sperimentale adottato è stato a blocchi randomizzati, con tre repliche di 20 piante ciascuna. L'analisi statistica è stata effettuata con CoStat 6.311 (CoHort Software, Monterey, CA, USA). I dati acquisiti sono stati sottoposti all'analisi della varianza (ANOVA), seguita da t-test ( $P \leq 0.05$ ) per determinare le differenze tra il controllo e l'aerosol. Per la percentuale del danno alle foglie (**Fig. 5.1.2**) è stato effettuato il confronto fra tutti i genotipi allo studio tramite ANOVA ad una via, previa trasformazione in valori angolari. Le differenze tra le medie sono state determinate secondo il test di Student-Newman-Keuls (SNK) per  $P \leq 0.05$ .

### **5.1.3. Risultati**

La risposta all'aerosol marino è apparsa differenziata fra le specie analizzate. La somministrazione della soluzione salina ha determinato riduzioni nella biomassa secca totale in numerosi genotipi (**Tab. 5.1.2**). Maggiori decurtazioni, rispetto al controllo, hanno accusato *A. sellowiana* (-47.2%), *A. halimus* (-37.9%), *M. paniculata* (-35.2%) e *V. 'Lucidum'* (-34.1%); nessuna variazione significativa è stata osservata, invece, per *C. citrinus*, *C. macrocarpa*, *E. uniflora*, *P. myrtifolia*, *R. umbellata* e *V. tinus* (**Tab. 5.1.2**). Tali differenze sono apparse legate soprattutto a variazioni nella porzione epigea. Le uniche variazioni significative a carico dell'apparato radicale sono state osservate in *A. unedo* e soprattutto in *A. halimus*, specie per la quale è stato rilevato più che un dimezzamento della biomassa dell'apparato radicale (**Tab. 5.1.2**). In ogni caso per nessuna delle specie, ad eccezione di *A. halimus*, sono state osservate differenze



significative nel rapporto fra biomassa della porzione ipogea e quella totale (**Tab. 5.1.2**).

Le differenze nell'apparato epigeo sono apparse legate soprattutto alle variazioni dell'apparato fotosintetizzante che si è ridotto, rispetto al controllo, del 63.8% in *V. tinus*, del 59.4% in *M. paniculata*, del 47.3% in *L. montevidensis* e del 45.2% in *V. 'Lucidum'* (**Tab. 5.1.3**). La biomassa dello stelo è apparsa influenzata dalla somministrazione di aerosol salino in *C. macrocarpa* (-38.5%), *A. sellowiana* (-32.6%) e *V. 'Lucidum'* (-32.2%) (**Tab. 5.1.3**).

L'area fogliare ha mostrato riduzioni sensibili, maggiori del 50%, rispetto al controllo non trattato, in *V. tinus* (-62.7%), *M. paniculata* (-51.3%) e *A. sellowiana* (-49.9%) (**Tab. 5.1.4**).

Le variazioni osservate nel numero di foglie sono apparse in alcuni casi più ampie rispetto a quanto fatto registrare dall'area fogliare, come è il caso di *L. montevidensis*, *P. lentiscus* e *C. citrinus*, in cui si è osservata una riduzione significativa del numero di foglie, pari nell'ordine al 57.7, 48.5 e 27.2%, mentre nessuna differenza significativa era stata rilevata per l'area fogliare (**Tab. 5.1.3**). Ciò appare legato alle variazioni registrate nella superficie unitaria delle foglie che ha fatto registrare incrementi anche del 100% (dati non mostrati). Nessuna differenza è stata rilevata invece per lo SLA e quindi per lo spessore delle foglie stesse (**Tab. 5.1.4**).

Il contenuto in clorofilla si è ridotto, per effetto dell'aerosol marino, in alcune specie (*A. unedo*, *A. halimus*, *C. citrinus*, *E. uniflora* e *V. tinus*), non sempre coincidenti con quelle che avevano accusato le riduzioni più evidenti di biomassa e superficie fogliare (**Tabb. 5.1.4 e 5.1.5**). In *V. 'Lucidum'* è stato osservato un lieve incremento del contenuto di clorofilla per effetto dell'esposizione all'aerosol marino.

La percentuale di necrosi della superficie fogliare ha evidenziato differenze rilevanti fra le specie: essa ha raggiunto il valore massimo (circa il 30%) in *V. tinus* e il minimo (5%) in *C. macrocarpa* e *R. umbellata* (**Fig. 5.1.2**).

La concentrazione di Na<sup>+</sup> nelle foglie, per effetto della somministrazione della soluzione salina, è apparsa più elevata, rispetto al controllo, in tutte le specie allo studio (**Fig. 5.1.3**); nell'apparato radicale il contenuto di questo ione è stato

maggiore in *A. sellowiana*, *E. uniflora*, *P. tobira*, *P. myrtifolia* e *R. umbellata* (**Fig. 5.1.4**).

La concentrazione di Cl<sup>-</sup> è stata anch'essa più elevata nell'apparato epigeo di tutte le piante trattate con aerosol (**Fig. 5.1.5**), mentre nell'apparato radicale si è innalzata, rispetto al controllo, in *C. macrocarpa*, *P. lentiscus*, *P. tobira* e soprattutto in *P. myrtifolia* (**Fig. 5.1.6**).

I valori di RWC hanno manifestato variazioni di segno discorde (**Fig. 5.1.7**). In particolare, mentre in *A. sellowiana*, *A. halimus*, *C. citrinus*, *C. macrocarpa*, *L. montevidensis*, *M. excelsa*, *M. paniculata*, *P. myrtifolia*, *V. tinus* e *V. 'Lucidum'* si sono registrati valori più elevati nelle foglie della tesi testimone, in *P. lentiscus* e *R. umbellata* il valore più elevato si è osservato nelle foglie trattate con la soluzione salina.

La fotosintesi netta ha fatto registrare delle riduzioni per effetto della somministrazione dell'aerosol marino che sono apparse più accentuate in *A. sellowiana*, *V. tinus* e *V. 'Lucidum'* (**Fig. 5.1.8**).

Le variazioni nella conduttanza stomatica sono apparse concordi a quelle fatte registrare per la fotosintesi (**Fig. 5.1.9**); in un caso (*Atriplex halimus*) si è osservato un incremento del valore della conduttanza stomatica nelle piante stressate in corrispondenza del rilievo effettuato dopo 60 giorni dall'inizio della prova.

Il tasso di traspirazione è stato in genere più basso nelle tesi stressate e ha fatto registrare differenze significative per *A. sellowiana*, *E. uniflora*, *R. umbellata* e *V. tinus* (**Fig. 5.1.10**).

Nessuna differenza significativa è stata osservata nei valori della fluorescenza della clorofilla (**Fig. 5.1.10**).

#### 5.1.4. Discussione

Le variazioni della biomassa e la sua distribuzione nelle diverse porzioni organografiche hanno espresso bene l'entità della risposta dei diversi genotipi all'azione dell'aerosol marino. La riduzione dell'accrescimento, in specie più sensibili, è tipica della risposta allo stress salino (Maas e Hoffman, 1977; Mahmood, 1998; Sánchez-Blanco *et al.*, 2003), dovuta probabilmente ad un'inibizione della divisione cellulare (Singh e Chathath, 2001). In genere, ad

eccezione di *A. unedo* ed *A. halimus*, dove si sono osservati decrementi per effetto della somministrazione dell'aerosol sia della biomassa aerea che di quella radicale, la riduzione della biomassa secca epigea è apparsa maggiore rispetto a quella ipogea (Blits *et al.*, 1990). La prima risposta della pianta alla salinità è, infatti, un'inibizione della crescita fogliare tale da incrementare il rapporto porzione ipogea/epigea.

Nell'ambito della prova, però, non si è osservata una variazione significativa di tale rapporto in nessuno dei genotipi allo studio, ad eccezione di *A. halimus*, una specie alofita che, pur manifestando una riduzione sensibile dell'accrescimento complessivo, ha mantenuto, nella tesi che prevedeva l'esposizione all'aerosol marino, una maggiore quantità di biomassa nella porzione epigea rispetto all'ipogea.

L'assenza di variazione nell'accrescimento, osservata in numerose specie fra quelle allo studio, testimonia un qualche livello di tolleranza al sale (Sykes e Wilson, 1988; Greipsson *et al.*, 1997).

L'esposizione continua allo stress può determinare una riduzione ulteriore dell'area fogliare per l'accumulo di ioni tossici a sfavore della produzione di carboidrati, accentuando così la differenza tra biomassa ipogea ed epigea (Munns e Termaat, 1986).

Nelle piante ornamentali, però, la risposta allo stress non può misurarsi solo in termini di crescita (Francois, 1982); essa, infatti, è spesso ancorata più all'aspetto visivo che alla riduzione del ritmo di crescita in condizioni di stress. Per questi motivi numerosi studiosi hanno valutato la risposta delle piante ornamentali allo stress mediante metodi visivi (Lumis *et al.*, 1973; Wu *et al.*, 2001b; Cassaniti *et al.*, 2012).

Il fenomeno di necrosi è generalmente riconducibile all'accumulo di ioni  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  nelle foglie, fortemente tossici per la pianta (Karakas *et al.*, 2000; Aktas *et al.*, 2006). È stato dimostrato, infatti, che la tolleranza al sale è associata con la capacità della pianta stessa di limitare l'assorbimento fogliare di  $\text{Cl}^-$  (Francois, 1982). In questo caso la modalità di somministrazione, direttamente sulle foglie, favorisce la penetrazione degli ioni che può avvenire sia per via stomatica (Greene e Bukavac, 1974) che cuticolare (Schönherr e Bauer, 1992); ciò causa il deterioramento delle cuticole cerose e l'alterazione nelle pareti delle cellule di

guardia (Sánchez-Blanco *et al.*, 2004), il che influenza negativamente l'efficienza della fotosintesi e degli scambi gassosi (Bussotti *et al.*, 1997), con effetti negativi sulla biomassa.

Da rilevare, però, come il contenuto di  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  non sia apparso direttamente correlato (dati non mostrati) con la severità dei sintomi rilevati a carico delle foglie, come del resto già rilevato da altri autori (Polizzi, 1995; Sánchez-Blanco *et al.*, 2004). In ogni caso la presenza di ioni nell'apparato radicale testimonia di meccanismi di assorbimento e traslocazione nella pianta di tali elementi che esercitano i loro effetti tossici sulla crescita.

Nel complesso gli arbusti allo studio hanno manifestato una buona tolleranza alla salinità, almeno per quanto riguarda la presenza di danni a carico delle foglie. Del resto si tratta di specie largamente diffuse in ambiente mediterraneo lungo le aree costiere, dove la frequenza di tale stress è elevata. Pur in assenza di mirate azioni di selezione, è indubbio che col tempo nella sistemazione di spazi a verde siano state privilegiate specie in grado di esprimere una elevata compatibilità con le condizioni ambientali (Cassaniti *et al.*, 2010).

I valori dell'area fogliare hanno mostrato un andamento simile a quello registrato per la biomassa secca delle foglie, come attesta l'assenza di effetti sullo SLA. Tale andamento conferma che la prima risposta della pianta allo stress salino è la riduzione dell'area fogliare (Alarcón *et al.*, 1999); questo è un tipico meccanismo di *avoidance*, messo in atto dalla pianta stessa proprio per sottrarsi all'eccessiva traspirazione in condizioni di stress idrico e salino (Blum, 1986).

Il numero di foglie nella maggior parte delle specie indagate è diminuito in presenza di aerosol marino. La perdita di foglie è un indicatore efficace di riduzione della produttività poiché la riduzione della superficie fotosintetizzante limita il rifornimento di carboidrati e, quindi, lo sviluppo della pianta stessa (Munns e Ternatt, 1986). L'abscissione delle foglie è anche un meccanismo comune nelle piante per ridurre la quantità di  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  nella porzione epigea, così come è stato riscontrato in *Coleus blumei* e *Salvia splendens* (Ibrahim *et al.*, 1991).

In ogni caso le riduzioni del numero di foglie non sempre sono apparse sostanzialmente congruenti con quelle dell'area fogliare, suggerendo che il meccanismo di risposta sia connesso soprattutto alla caduta delle giovani foglie

e/o alla non emissione delle stesse, con conseguenti variazioni dell'area fogliare unitaria.

Il contenuto in clorofilla non ha mostrato variazioni significative in alcune delle specie allo studio; ciò sembrerebbe attestare che queste piante siano rimaste in un buono stato vegetativo nonostante la somministrazione del sale tramite spray, come del resto è stato riscontrato da altri autori (Rodrigues *et al.*, 2005). Nelle specie in cui si è osservata una riduzione significativa del pigmento, per effetto della somministrazione dell'aerosol, si è osservato un peggioramento dello stato vegetativo.

La riduzione della clorofilla è stata evidenziata su *Catharanthus roseus* sottoposto a stress salino (Jaleel *et al.*, 2007). La distruzione della clorofilla stessa nelle foglie in presenza di NaCl è stata attribuita alla distruzione dei pigmenti clorofilliani e all'instabilità dei pigmenti stessi del complesso proteico (Levitt, 1980). Il fenomeno è stato anche collegato all'interferenza degli ioni salini con la sintesi *ex novo* delle proteine che rappresentano le componenti strutturali della clorofilla, più che alla degenerazione della clorofilla stessa (Jaleel *et al.*, 2007).

In V. 'Lucidum', addirittura, si è avuto un incremento della presenza della clorofilla. È quest'ultimo un genotipo in cui si è osservata una netta differenza tra dati ponderali (che hanno subito evidenti riduzioni per effetto della somministrazione della soluzione salina) e parametri qualitativi delle caratteristiche delle foglie, che sono apparse immutate per effetto del trattamento con aerosol, manifestando un colore più intenso e solo piccole superfici necrotiche.

La diversa risposta in termini RWC delle foglie può essere sempre ricondotta alla diversa sensibilità delle specie allo stress salino. Le specie che hanno presentato valori più bassi rispetto al controllo testimoniano che l'azione del sale ha provocato una significativa riduzione del turgore fogliare, già riscontrato in altre specie (Sánchez-Blanco *et al.*, 2003). In altri casi, nonostante il mantenimento del turgore (es. *A. unedo*), le piante non sono apparse in grado di mantenere una crescita analoga a quella delle piante testimone, confermando quanto riportato da altri autori (Van Valkenburg e Boyer, 1985; Kramer, 1988) che hanno riscontrato come l'accrescimento delle cellule non sia sempre strettamente correlato ad alcuni processi metabolici.

Il tasso di fotosintesi è apparso più basso per le specie più sensibili, quando sottoposte ad aerosol salino. Tale riduzione sembra essere legata a un fattore stomatico (Sánchez-Blanco *et al.*, 2003), come conferma l'andamento della conduttanza stomatica stessa; ciò sembrerebbe attestare che il contatto di NaCl con le cellule di guardia abbia inibito l'apertura stomatica (Sánchez-Blanco *et al.*, 2004).

L'aerosol marino può influenzare il livello di fotosintesi o perché altera la conduttanza stomatica o perché modifica la capacità metabolica delle cellule del mesofillo. Nelle specie più sensibili la fotosintesi netta è stata ridotta da NaCl, anche a causa di effetti stomatici che sono stati coinvolti nella riduzione della fotosintesi stessa. Sauter *et al.* (1987) hanno riportato la riduzione di circa il 30% della fotosintesi negli aghi di *Picea abies* esposti agli inquinanti.

L'assenza di risposta dall'analisi della fluorescenza della clorofilla potrebbe essere determinata dal fatto che la salinità non sembra influenzare inizialmente il PSII, come dimostrato dal fatto che il rapporto Fv/Fm non si sia modificato in mais coltivato con concentrazioni elevate di NaCl (Shabala *et al.*, 1998). Questi dati, però, non sono confermati da quanto riscontrato da Ferrante *et al.* (2011) e da Percival (2005); quest'ultimo autore, in particolare, vista la buona correlazione fra fluorescenza e tolleranza allo stress ha suggerito che tale rilievo possa essere usato come metodo rapido per l'individuazione di genotipi resistenti.

\*  
\*\*\*

I risultati ottenuti dimostrano come la risposta alla salinità dipenda fortemente dal genotipo. Rimane la difficoltà di effettuare delle prove che, a causa dell'ampia articolazione biologica che connota il verde ornamentale, devono riguardare un elevato numero di specie.

In questo contesto è quindi necessario individuare dei parametri di facile determinazione, capaci di esprimere il comportamento delle diverse specie al livello salino. L'indice visivo del danno, più immediato, appare piuttosto vago, ma utile per l'analisi di un numero rilevante di genotipi (Wu e Dodge, 2005).

Dalla prova si evince come alcuni parametri, quale la biomassa secca epigea, la superficie fogliare e l'indice di danno fogliare, possano fornire

indicazioni utili a definire il valore ornamentale delle specie sottoposte ad aerosol marino. Sulla base delle variazioni dei due primi parametri e della percentuale del danno, si è provveduto, in un quadro sinottico, a classificare le specie in tre categorie, caratterizzate da una progressiva riduzione del valore ornamentale (**Tab. 5.1.3**). Dall'analisi di questi dati, si comprende come *R. umbellata* si sia sempre collocata nella prima categoria, cui corrisponde un miglior valore ornamentale e comunque una risposta più idonea al fattore di stress, *E. uniflora*, *C. citrinus* e *L. montevidensis* si siano sempre posizionate nella seconda categoria di merito, cui corrisponde una prestazione intermedia allo stress in parola, mentre *V. tinus* e *A. sellowiana* abbiano sempre fatto rilevare compromissioni piuttosto serie all'azione dell'aerosol marino.

Da rilevare, infine, il diverso comportamento soprattutto per il danno alle foglie fatto registrare da due genotipi botanicamente molto simili (*V. tinus* e *V. tinus* 'Lucidum'), ad attestazione che la risposta all'aerosol marino sia non solo specie specifica, ma che possa anche variare fra le cultivar di una stessa specie.

**Tab. 5.1.1** – Arbusti ornamentali analizzati nella prova sperimentale.

<b>Specie</b>	<b>Famiglia</b>
<i>Acca sellowiana</i> (O. Berg) Burret	<i>Myrtaceae</i>
<i>Arbustus unedo</i> L.	<i>Ericaceae</i>
<i>Atriplex halimus</i> L.	<i>Chenopodiaceae</i>
<i>Callistemon citrinus</i> (Curtis) Skeels	<i>Myrtaceae</i>
<i>Carissa macrocarpa</i> (Eckl.) A. DC.	<i>Apocynaceae</i>
<i>Eugenia uniflora</i> L. 'Etna Fire'	<i>Myrtaceae</i>
<i>Lantana montevidensis</i> (Spreng.) Briq.	<i>Verbenaceae</i>
<i>Metrosideros excelsa</i> Sol. ex Gaertn.	<i>Myrtaceae</i>
<i>Murraya paniculata</i> (L.) Jack	<i>Rutaceae</i>
<i>Pistacia lentiscus</i> L.	<i>Anacardiaceae</i>
<i>Pittosporum tobira</i> (Thunb.) W. T. Aiton	<i>Pittosporaceae</i>
<i>Polygala myrtifolia</i> L.	<i>Polygalaceae</i>
<i>Raphiolepis umbellata</i> (Thunb.) Makino	<i>Rosaceae</i>
<i>Viburnum tinus</i> L.	<i>Adoxaceae</i>
<i>Viburnum tinus</i> L. 'Lucidum'	<i>Adoxaceae</i>



**Tab. 5.1.2** - Biomassa secca totale, biomassa secca radici e rapporto biomassa radici su biomassa totale delle singole specie dopo 8 settimane di trattamento con aerosol marino.

	<i>Acca sellowiana</i>	<i>Arbutus unedo</i>	<i>Atriplex halimus</i>	<i>Callistemon citrinus</i>	<i>Carissa macrocarpa</i>	<i>Eugenia uniflora</i>	<i>Lantana montevidensis</i>	<i>Metrosideros excelsa</i>	<i>Murraya paniculata</i>	<i>Pistacia lentiscus</i>	<i>Pittosporum tobira</i>	<i>Polygala myrtifolia</i>	<i>Raphiolepis umbellata</i>	<i>Viburnum tinus</i>	<i>Viburnum tinus 'Lucidum'</i>
<b>Biomassa secca totale (g pianta<sup>-1</sup>)</b>															
Controllo	114.2 ±13.4	98.9 ±7.5	94.3 ±9.0	143.5 ±10.2	48.8 ±6.1	71.1 ±1.5	59.5 ±6.2	131.3 ±7.5	192.2 ±4.4	63.1 ±4.4	57.9 ±2.9	96.9 ±9.7	129.2 ±8.0	79.8 ±8.4	109.8 ±5.5
Aerosol	60.3 ±3.9	73.6 ±3.6	58.6 ±3.6	115.6 ±5.4	33.2 ±2.6	66.5 ±6.2	39.3 ±3.3	91.8 ±10.5	124.5 ±2.8	46.7 ±4.3	43.3 ±1.7	78.5 ±9.2	114.2 ±5.3	68.8 ±6.6	72.4 ±9.3
<i>P</i>	**	*	*	n.s.	n.s.	n.s.	*	*	**	*	**	n.s.	n.s.	n.s.	*
<b>Biomassa secca radici (g pianta<sup>-1</sup>)</b>															
Controllo	50.3 ±17.5	23.0 ±1.2	53.0 ±12.6	19.7 ±4.1	8.1 ±1.1	13.8 ±1.2	34.7 ±7.4	34.7 ±5.3	48.5 ±6.8	20.7 ±4.5	15.6 ±3.9	33.8 ±5.8	48.4 ±7.6	20.6 ±3.8	30.4 ±4.6
Aerosol	19.1 ±1.9	17.4 ±1.5	21.2 ±2.3	15.9 ±2.9	7.5 ±1.4	17.5 ±4.8	20.0 ±2.1	24.1 ±4.3	38.4 ±3.3	15.1 ±0.6	8.8 ±1.5	21.0 ±4.8	29.7 ±1.4	33.4 ±8.6	26.2 ±4.9
<i>P</i>	n.s.	*	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<b>Radici/totale</b>															
Controllo	0.40 ±0.11	0.24 ±0.02	0.54 ±0.09	0.13 ±0.03	0.18 ±0.04	0.19 ±0.02	0.57 ±0.06	0.26 ±0.03	0.25 ±0.04	0.32 ±0.05	0.26 ±0.06	0.34 ±0.03	0.37 ±0.04	0.27 ±0.06	0.27 ±0.03
Aerosol	0.31 ±0.01	0.24 ±0.01	0.36 ±0.03	0.14 ±0.02	0.22 ±0.03	0.26 ±0.05	0.51 ±0.04	0.26 ±0.04	0.31 ±0.03	0.33 ±0.03	0.20 ±0.03	0.25 ±0.04	0.26 ±0.02	0.47 ±0.07	0.36 ±0.04
<i>P</i>	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

I dati riportati rappresentano la media ± errore standard (n=6). Le differenze tra il controllo e l'aerosol sono determinate utilizzando il *t-test*; ns, \*, \*\*, \*\*\*, rispettivamente non significativo o significativo per \*  $P \leq 0.05$ ; \*\*  $P \leq 0.01$ ; \*\*\*  $P \leq 0.001$ .

**Tab. 5.1.3** - Biomassa secca epigea, biomassa secca foglie e biomassa secca fusto delle singole specie dopo 8 settimane di trattamento con aerosol marino.

	<i>Acca sellowiana</i>	<i>Arbutus unedo</i>	<i>Atriplex halimus</i>	<i>Callistemon citrinus</i>	<i>Carissa macrocarpa</i>	<i>Eugenia uniflora</i>	<i>Lantana montevidensis</i>	<i>Metrosideros excelsa</i>	<i>Murraya paniculata</i>	<i>Pistacia lentiscus</i>	<i>Pittosporum tobira</i>	<i>Polygala myrtifolia</i>	<i>Raphiolepis umbellata</i>	<i>Viburnum tinus</i>	<i>Viburnum tinus 'Lucidum'</i>
Biomassa secca epigea (g pianta <sup>-1</sup> )															
Controllo	63.9 ±4.4	75.8 ±6.9	41.3 ±4.5	123.8 ±7.8	40.7 ±7.1	57.2 ±1.9	24.8 ±1.3	96.6 ±3.8	143.7 ±10.6	42.4 ±1.3	42.3 ±2.3	63.1 ±6.2	80.8 ±6.5	59.2 ±9.2	79.4 ±1.7
Aerosol	41.2 ±1.9	56.2 ±2.6	37.5 ±3.0	99.7 ±3.5	25.8 ±1.8	49.0 ±4.4	19.3 ±2.7	67.7 ±8.4	86.1 ±5.2	31.6 ±4.1	34.5 ±1.6	57.5 ±4.3	84.5 ±5.9	35.5 ±3.1	46.2 ±6.2
<i>P</i>	**	*	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	*	**	*	*	n.s.	n.s.	*	**
Biomassa secca foglie (g pianta <sup>-1</sup> )															
Controllo	37.8 ±4.1	49.6 ±4.9	15.4 ±2.5	83.0 ±4.1	29.0 ±5.3	40.1 ±1.2	14.6 ±1.6	70.4 ±3.1	90.9 ±8.4	28.5 ±0.9	31.3 ±1.8	33.7 ±3.2	56.0 ±4.7	33.7 ±4.8	58.6 ±1.2
Aerosol	23.6 ±0.6	36.2 ±2.8	9.4 ±1.4	62.9 ±1.9	18.6 ±1.4	33.9 ±4.5	7.7 ±1.0	48.2 ±7.0	36.9 ±2.6	19.4 ±2.3	26.8 ±1.2	32.4 ±2.5	59.6 ±5.6	12.2 ±3.3	32.1 ±5.0
<i>P</i>	*	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.	*	*	**	*	n.s.	n.s.	n.s.	*	**
Biomassa secca fusto (g pianta <sup>-1</sup> )															
Controllo	26.1 ±1.1	26.2 ±2.0	25.9 ±2.5	40.8 ±3.8	11.7 ±1.9	17.2 ±0.8	10.2 ±0.6	26.3 ±0.7	52.8 ±4.2	13.9 ±0.7	11.0 ±0.5	29.5 ±3.6	24.9 ±3.0	25.6 ±4.5	20.8 ±0.6
Aerosol	17.6 ±1.4	20.0 ±1.0	28.0 ±2.1	36.8 ±1.8	7.2 ±0.6	15.1 ±0.8	11.6 ±1.7	19.5 ±1.4	49.2 ±3.3	12.2 ±1.8	7.8 ±0.4	25.1 ±1.9	24.9 ±2.2	23.3 ±3.9	14.1 ±1.4
<i>P</i>	**	*	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.	n.s.	**

I dati riportati rappresentano la media ± errore standard (n=6). Le differenze tra il controllo e l'aerosol sono determinate utilizzando il *t-test*; ns, \*, \*\*, \*\*\*, rispettivamente non significativo o significativo per \*  $P \leq 0.05$ ; \*\*  $P \leq 0.01$ ; \*\*\*  $P \leq 0.001$ .

**Tab. 5.1.4** - Area fogliare totale, numero di foglie e *Specific Leaf Area* delle singole specie dopo 8 settimane di trattamento con aerosol marino.

	<i>Acca sellowiana</i>	<i>Arbutus unedo</i>	<i>Atriplex halimus</i>	<i>Callistemon citrinus</i>	<i>Carissa macrocarpa</i>	<i>Eugenia uniflora</i>	<i>Lantana montevidensis</i>	<i>Metrosideros excelsa</i>	<i>Murraya paniculata</i>	<i>Pistacia lentiscus</i>	<i>Pittosporum tobira</i>	<i>Polygala myrtilifolia</i>	<i>Raphiolepis umbellata</i>	<i>Viburnum tinus</i>	<i>Viburnum tinus</i> 'Lucidum'
<b>Area fogliare totale (cm<sup>2</sup>)</b>															
Controllo	3531.1 ±209.2	3190.3 ±218.4	553.8 ±28.4	3818.2 ±426.2	1499.7 ±166.7	3652.4 ±117.4	996.2 ±71.3	3892.4 ±140.4	4806.8 ±654.8	1120.5 ±140.7	2260.7 ±188.0	3015.1 ±263.7	2553.9 ±139.1	2082.1 ±238.1	4054.9 ±412.0
Aerosol	1770.5 ±83.5	2250.3 ±350.7	528.5 ±17.3	3152.1 ±35.6	1080.6 ±79.6	2764.5 ±247.6	849.5 ±55.5	2707.0 ±410.0	2341.0 ±332.1	684.3 ±168.8	1848.1 ±150.7	2975.0 ±174.0	2635.9 ±110.4	775.7 ±83.6	2404.0 ±277.9
<i>P</i>	***	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	*	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	**	**
<b>Foglie (n. pianta<sup>-1</sup>)</b>															
Controllo	375.9 ±51.5	298.8 ±55.1	777.9 ±18.4	1292.2 ±39.4	258.0 ±13.8	555.1 ±30.6	663.0 ±29.5	1305.3 ±101.5	507.6 ±28.5	281.9 ±42.5	238.1 ±17.9	1706.8 ±169.5	245.7 ±14.9	722.3 ±112.4	152.8 ±8.2
Aerosol	168.4 ±19.7	291.7 ±36.4	750.4 ±15.0	941.0 ±81.1	214.2 ±23.5	409.6 ±33.1	280.2 ±34.8	789.9 ±69.6	321.5 ±24.9	145.2 ±29.3	185.5 ±19.4	1404.2 ±137.6	229.7 ±17.3	284.3 ±52.2	89.1 ±16.8
<i>P</i>	**	n.s.	n.s.	**	n.s.	*	***	**	**	*	n.s.	n.s.	n.s.	*	*
<b>SLA</b>															
Controllo	98.4 ±16.3	65.4 ±5.1	43.6 ±5.1	46.7 ±6.4	54.8 ±8.5	91.4 ±3.7	70.7 ±9.1	55.6 ±2.4	52.7 ±5.0	39.2 ±4.3	72.0 ±2.9	89.8 ±1.4	46.2 ±3.0	63.6 ±7.3	68.8 ±5.8
Aerosol	75.4 ±5.3	61.4 ±6.8	52.0 ±4.8	50.3 ±1.6	58.2 ±1.5	83.9 ±8.0	115.1 ±12.6	56.2 ±2.5	64.0 ±9.1	33.8 ±4.8	69.4 ±6.2	92.8 ±5.3	45.1 ±3.6	75.7 ±17.0	63.1 ±2.5
<i>P</i>	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

I dati riportati rappresentano la media ± errore standard (n=6). Le differenze tra il controllo e l'aerosol sono determinate utilizzando il *t-test*; ns, \*, \*\*, \*\*\*, rispettivamente non significativo o significativo per \*  $P \leq 0.05$ ; \*\*  $P \leq 0.01$ ; \*\*\*  $P \leq 0.001$ .

**Tab. 5.1.5.** Contenuto in clorofilla ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ ) dopo 8 settimane di trattamento con aerosol marino.

	<i>Acca sellowiana</i>	<i>Arbutus unedo</i>	<i>Atriplex halimus</i>	<i>Callistemon citrinus</i>	<i>Carissa macrocarpa</i>	<i>Eugenia uniflora</i>	<i>Lantana montevidensis</i>	<i>Metrosideros excelsa</i>	<i>Murraya paniculata</i>	<i>Pistacia lentiscus</i>	<i>Pittosporum tobira</i>	<i>Polygala myrtifolia</i>	<i>Raphiolepis umbellata</i>	<i>Viburnum tinus</i>	<i>Viburnum tinus 'Lucidum'</i>
Clorofilla ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )															
Controllo	60.99 ±3.1	51.2 ±4.2	25.2 ±1.1	60.9 ±6.2	47.5 ±1.3	33.7±1 .0	20.5 ±0.5	62.5 ±3.1	40.1 ±4.6	26.6 ±2.6	27.1 ±1.0	32.0 ±1.3	69.4 ±4.4	54.5 ±1.5	42.3 ±1.8
Aerosol	53.4 ±7.0	43.7 ±1.3	21.7 ±0.2	50.8 ±2.5	50.4 ±1.7	19.7 ±2.4	17.2 ±0.7	62.5 ±2.1	37.3 ±5.4	27.9 ±2.0	27.4 ±0.6	31.0 ±1.1	68.7 ±2.8	51.1 ±1.3	48.8 ±3.4
<i>P</i>	n.s.	**	*	*	n.s.	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	**

I dati riportati rappresentano la media  $\pm$  errore standard (n=6). Le differenze tra il controllo e l'aerosol sono determinate utilizzando il *t-test*; ns, \*, \*\*, \*\*\*, rispettivamente non significativo o significativo per \*  $P \leq 0.05$ ; \*\*  $P \leq 0.01$ ; \*\*\*  $P \leq 0.001$ .

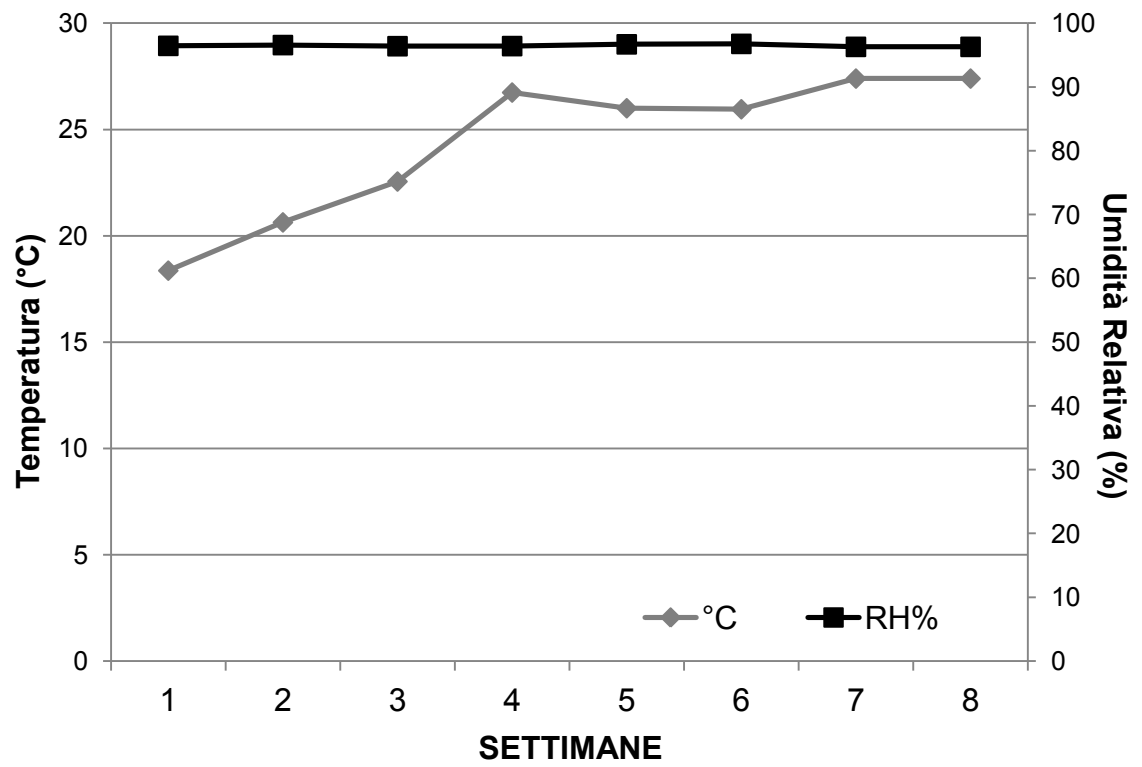
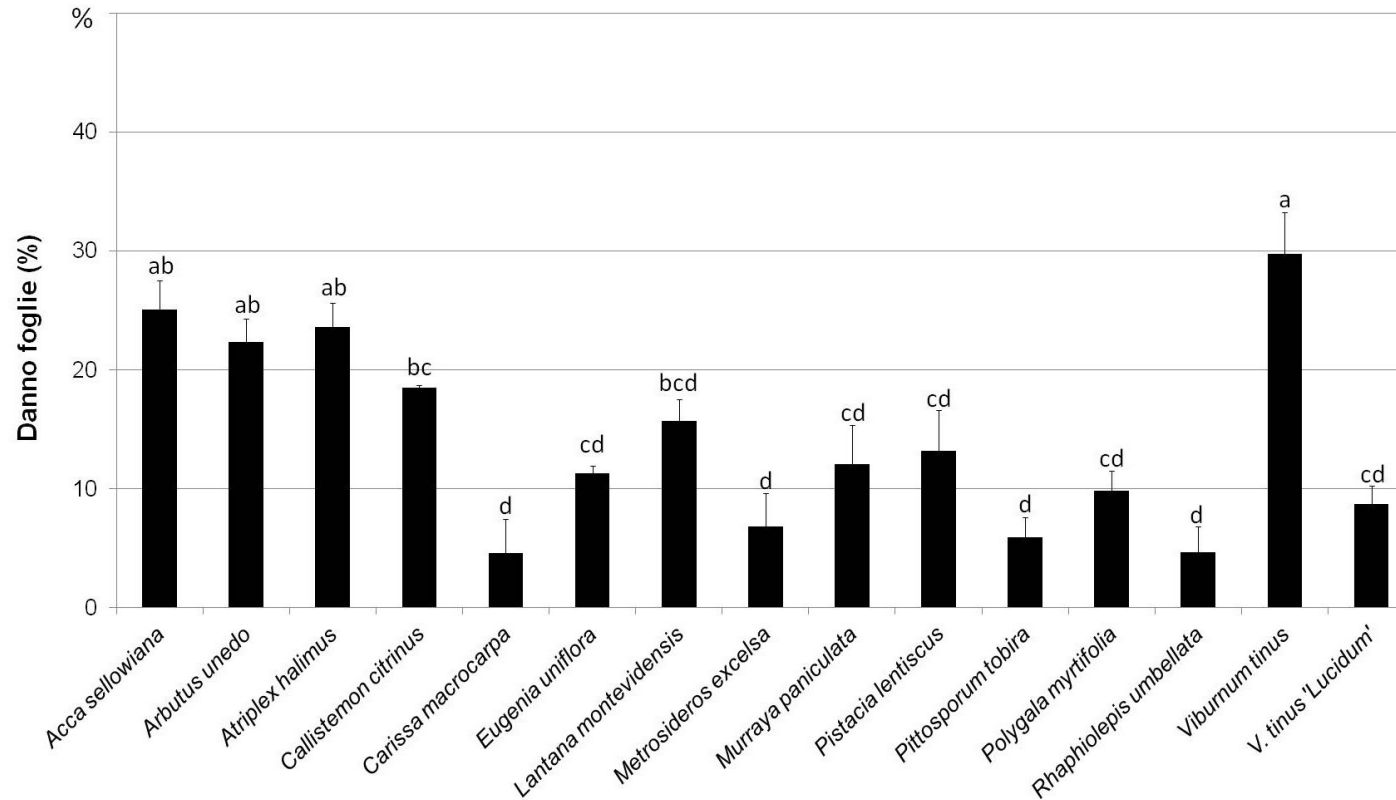
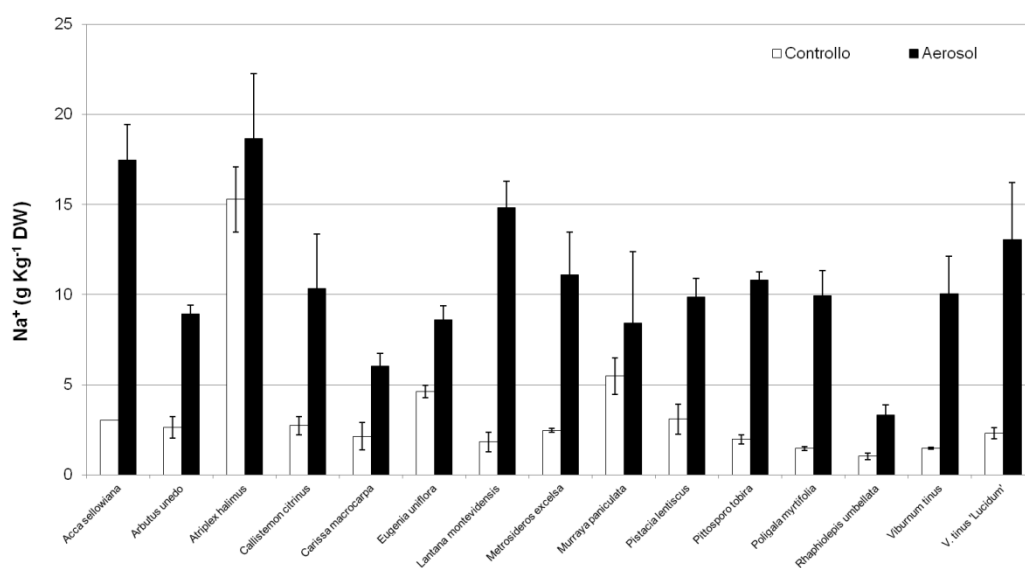


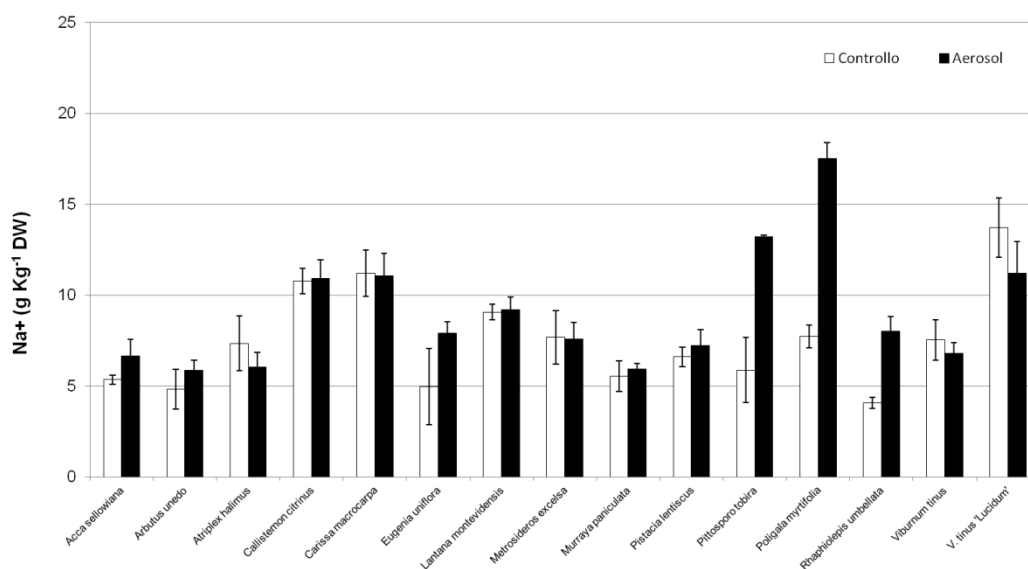
Fig. 5.1.1 - Andamento settimanale della temperatura media (°C) e dell'umidità relativa (%), nel corso del periodo di prova.



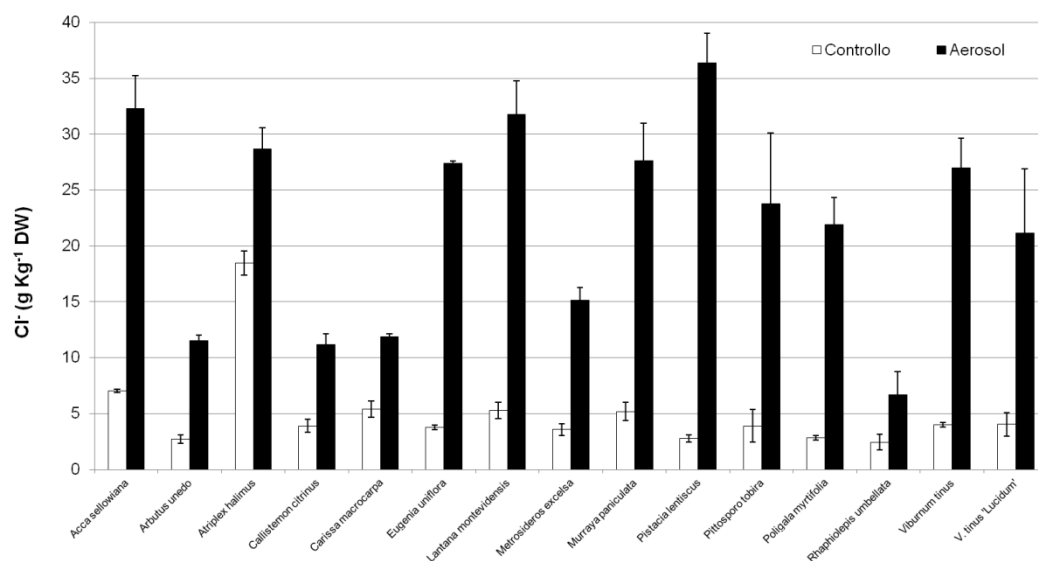
**Fig. 5.1.2** - Percentuale di danno fogliare nei diversi arbusti ornamentali dopo 8 settimane di esposizione all'aerosol marino. I valori rappresentano la media con l'errore standard (n=6). I dati sono stati sottoposti ad ANOVA ad una via. Le differenze tra le medie sono determinate utilizzando il test di Student-Newman-Keuls. Lettere diverse indicano la differenza significativa per  $P \leq 0.05$ .



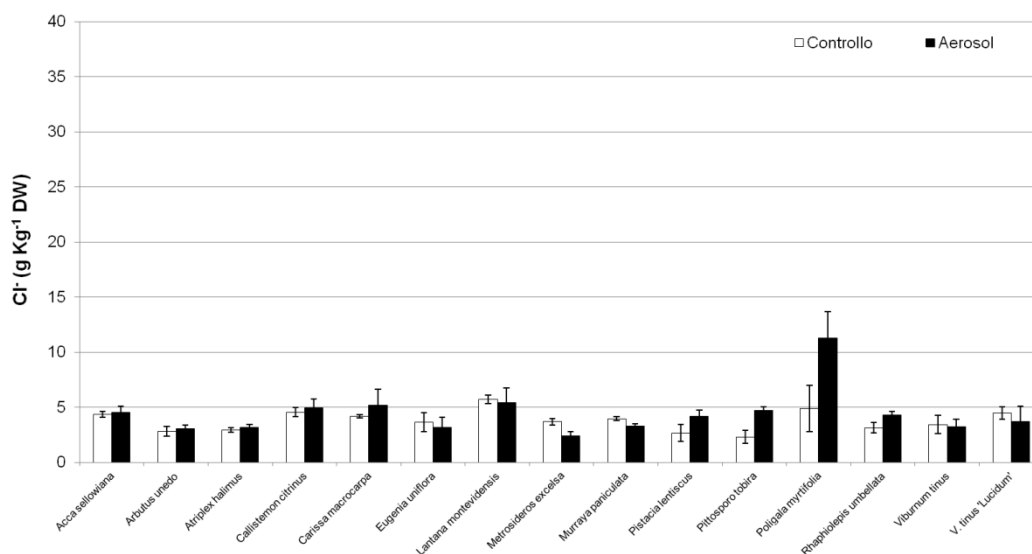
**Fig. 5.1.3** - Concentrazioni di Na<sup>+</sup> nelle foglie dei differenti arbusti ornamentali dopo 8 settimane di esposizione all'aerosol marino. I dati rappresentano la media con l'errore standard (n=3).



**Fig. 5.1.4** - Concentrazioni di Na<sup>+</sup> nelle radici dei differenti arbusti ornamentali dopo 8 settimane di esposizione all'aerosol marino. I dati rappresentano la media con l'errore standard (n=3).



**Fig. 5.1.5** - Concentrazioni di Cl<sup>-</sup> nelle foglie dei differenti arbusti ornamentali dopo 8 settimane di esposizione all'aerosol marino. I dati rappresentano la media con l'errore standard (n=3).



**Fig. 5.1.6** - Concentrazioni di Cl<sup>-</sup> nelle radici dei differenti arbusti ornamentali dopo 8 settimane di esposizione all'aerosol marino. I dati rappresentano la media con l'errore standard (n=3).



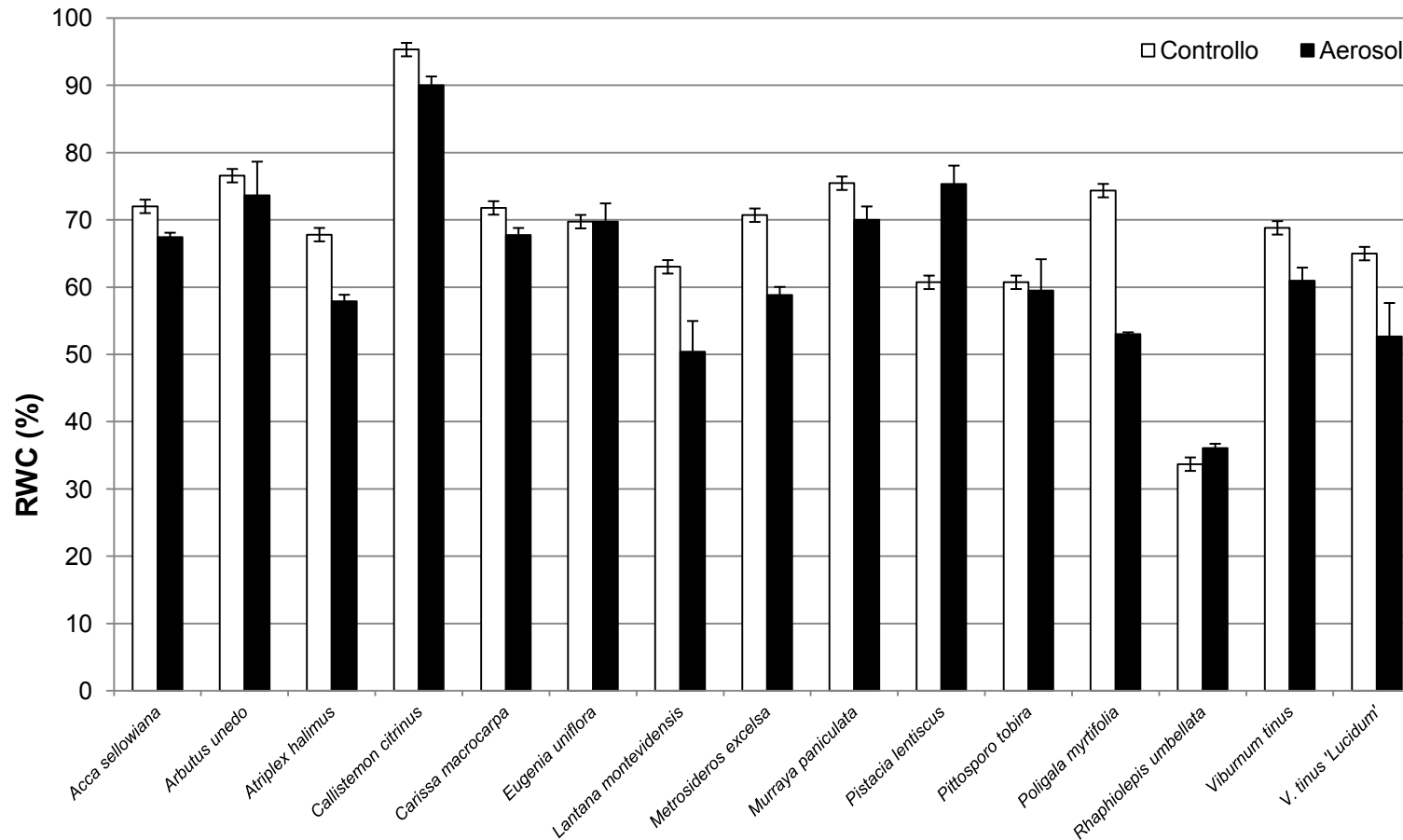
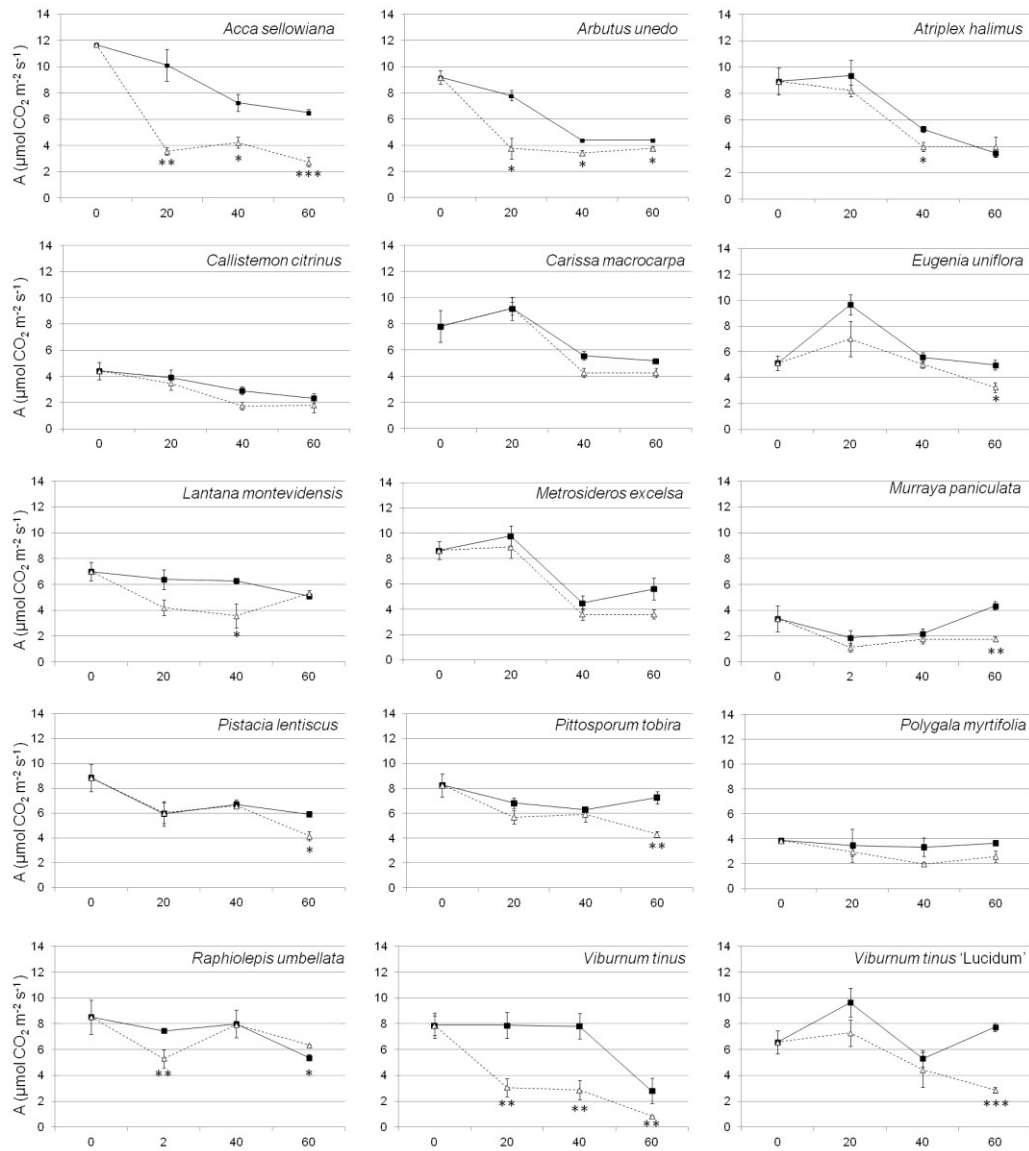
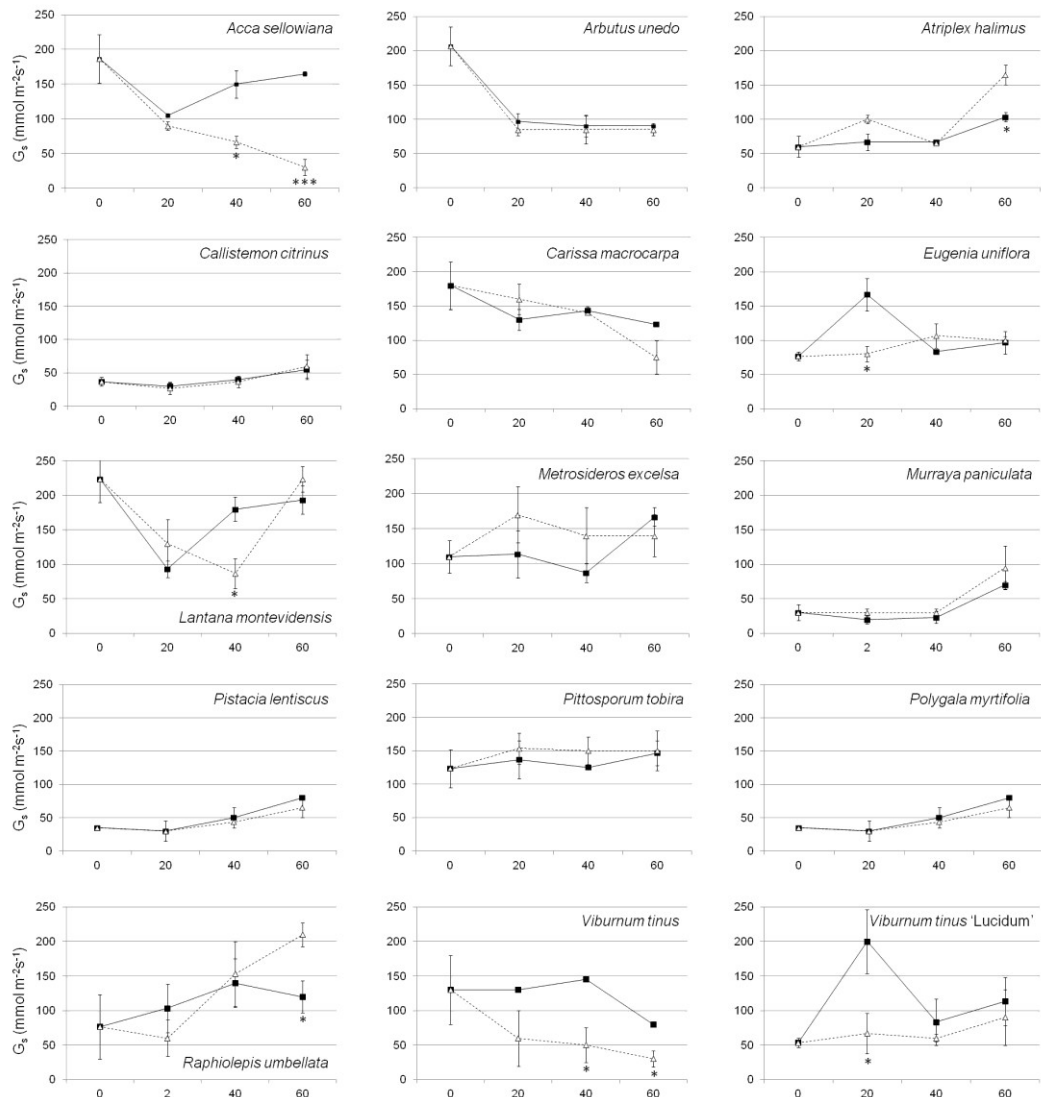


Fig. 5.1.7 - Variazioni del RWC negli arbusti ornamentali dopo 8 settimane di esposizione all'aerosol marino. I dati rappresentano la media con l'errore standard (n=3).

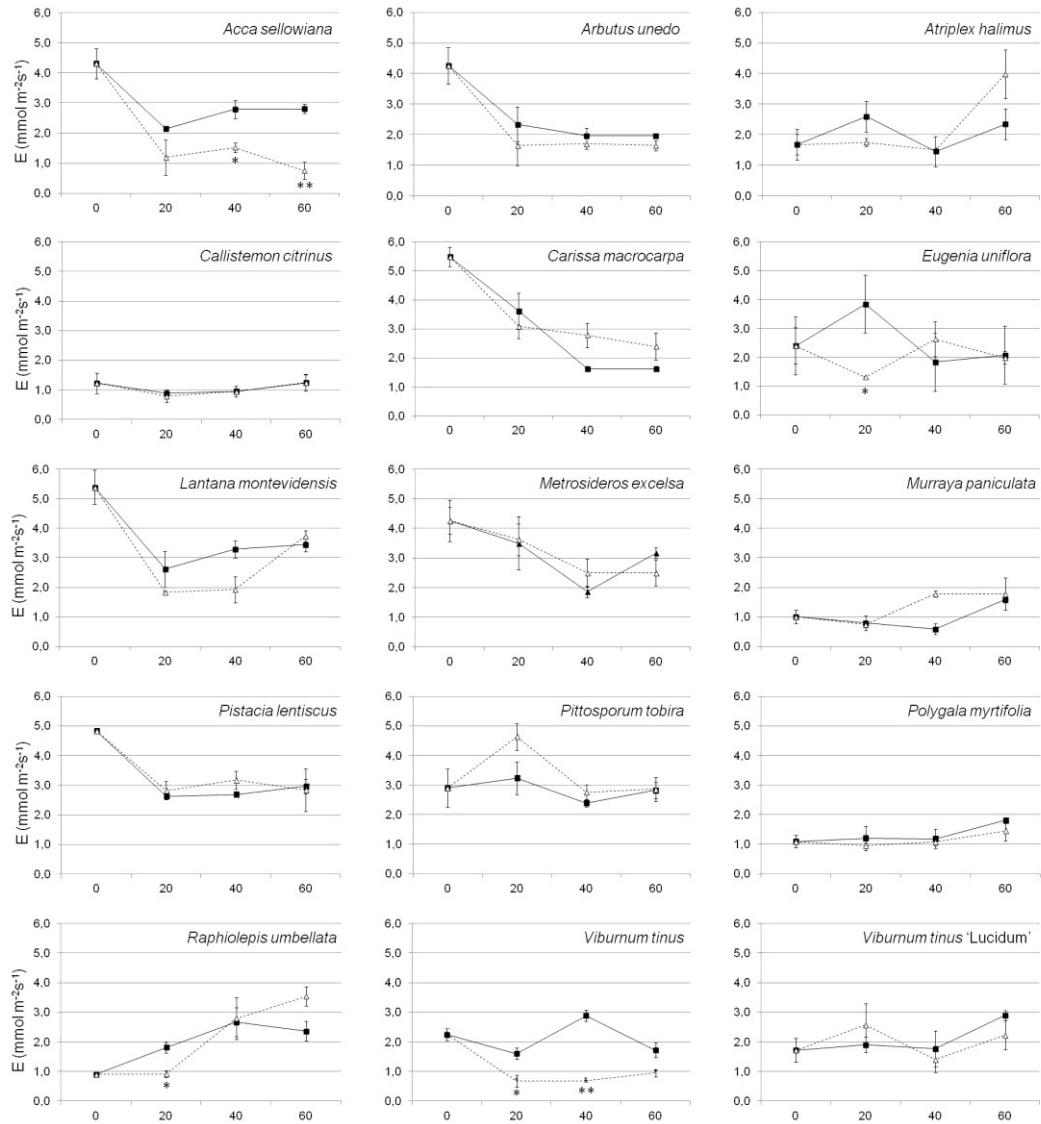


**Fig. 5.1.8** - Fotosintesi netta ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) nelle diverse specie nei successivi rilievi nelle tesi trattate con aerosol marino ( $\Delta$ ) e in quelle controllo ( $\blacksquare$ ). Le differenze tra il controllo e l'aerosol sono determinate utilizzando il *t-test*; \*, \*\*, \*\*\*, significativo rispettivamente per \*  $P \leq 0.05$ ; \*\*  $P \leq 0.01$ ; \*\*\*  $P \leq 0.001$ .



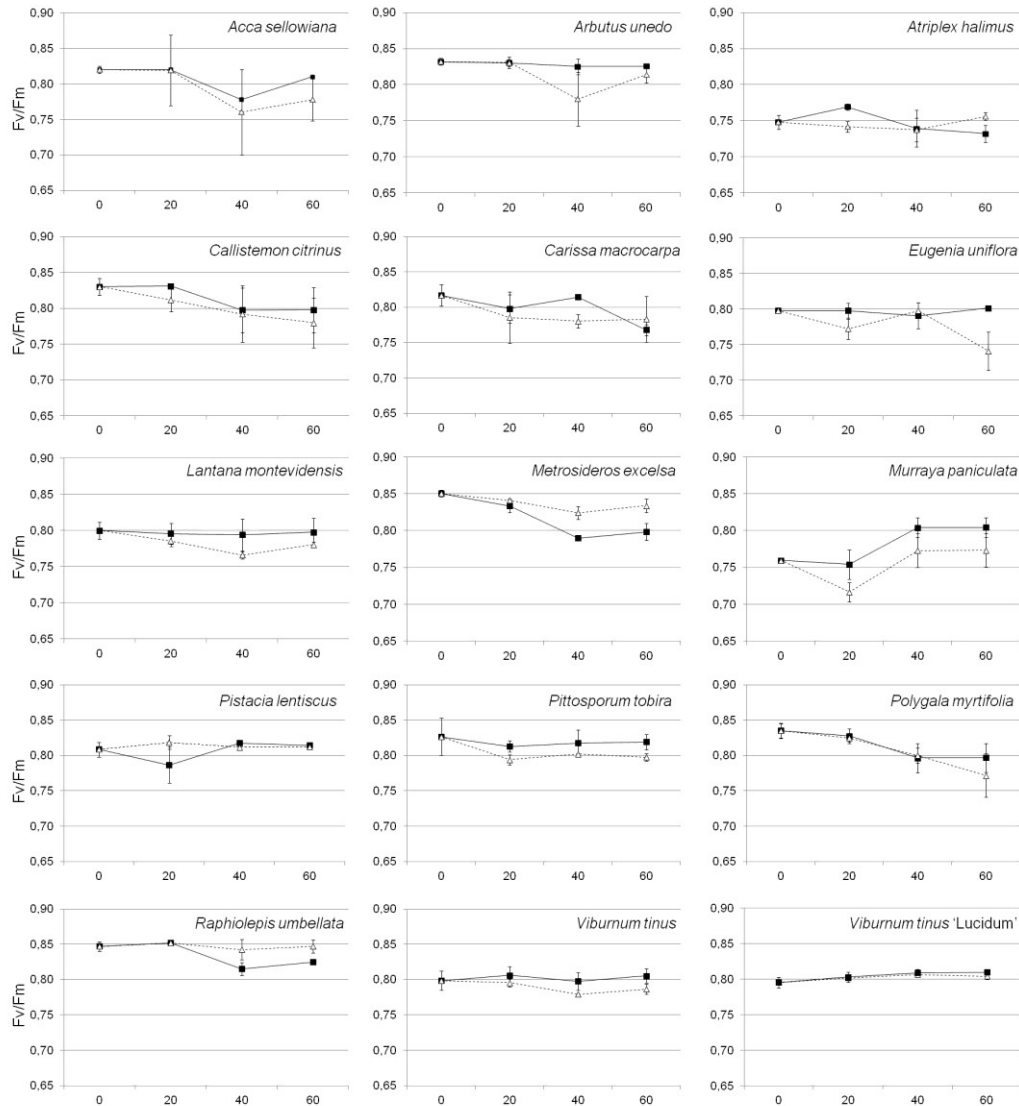
**Fig. 5.1.9** – Conduttanza stomatica (mmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>) nelle diverse specie nei successivi rilievi nelle tesi trattate con aerosol marino (Δ) e in quelle controllo (■).

Le differenze tra il controllo e l'aerosol sono determinate utilizzando il *t-test*; \*, \*\*, \*\*\*, significativo rispettivamente per \*  $P \leq 0.05$ ; \*\*  $P \leq 0.01$ ; \*\*\*  $P \leq 0.001$ .



**Fig. 5.1.10** – Tasso di traspirazione ( $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) nelle diverse specie nei successivi rilievi nelle tesi trattate con aerosol marino ( $\Delta$ ) e in quelle controllo ( $\blacksquare$ ).

Le differenze tra il controllo e l'aerosol sono determinate utilizzando il *t-test*; \*, \*\*, \*\*\*, significativo rispettivamente per \*  $P \leq 0.05$ ; \*\*  $P \leq 0.01$ ; \*\*\*  $P \leq 0.001$ .



**Fig. 5.1.11** – Fluorescenza della clorofilla (Fv/Fm) nelle diverse specie nei successivi rilievi nelle tesi trattate con aerosol marino ( $\Delta$ ) e in quelle controllo ( $\blacksquare$ ).

Le differenze tra il controllo e l'aerosol sono determinate utilizzando il *t-test*; \*, \*\*, \*\*\*, significativo rispettivamente per \*  $P \leq 0.05$ ; \*\*  $P \leq 0.01$ ; \*\*\*  $P \leq 0.001$ .

**Tab. 5.1.3** – Sintesi dei risultati chiave per esprimere (sotto il profilo ornamentale) la tolleranza dei genotipi allo studio allo stress salino.

<b>Caratteristica</b>	<b>Categoria 1<sup>a, b</sup></b>	<b>Categoria 2</b>	<b>Categoria 3</b>
Riduzione della biomassa secca epigea	<b>Riduzione dallo 0 al 9%</b> <i>R. umbellata</i> (+5%) <i>P. myrtifolia</i> (-9%) <i>A. halimus</i> (-9%)	<b>Riduzione dallo 10 al 30%</b> <i>E. uniflora</i> (-14%) <i>P. tobira</i> (-18%) <i>C. citrinus</i> (-19%) <i>L. montevidensis</i> (-22%) <i>P. lentiscus</i> (-25%) <i>A. unedo</i> (-26%)	<b>Riduzione &gt; 30%</b> <i>M. excelsa</i> (-30%) <i>A. sellowiana</i> (-36%) <i>C. macrocarpa</i> (-37%) <i>M. paniculata</i> (-40%) <i>V. tinus</i> (-40%) <i>V. 'Lucidum'</i> (-42%)
Riduzione dell'area fogliare	<b>Riduzione dallo 0 al 9%</b> <i>R. umbellata</i> (+3%) <i>P. myrtifolia</i> (-1%) <i>A. halimus</i> (-5%)	<b>Riduzione dallo 10 al 29%</b> <i>L. montevidensis</i> (-15%) <i>C. citrinus</i> (-17%) <i>P. tobira</i> (-18%) <i>E. uniflora</i> (-24%) <i>C. macrocarpa</i> (-28%) <i>A. unedo</i> (-29%)	<b>Riduzione &gt; 30%</b> <i>M. excelsa</i> (-30%) <i>P. lentiscus</i> (-39%) <i>V. 'Lucidum'</i> (-41%) <i>A. sellowiana</i> (-50%) <i>M. paniculata</i> (-51%) <i>V. tinus</i> (-63%)
Percentuale di danno alle foglie	<b>Dallo 0 al 9%</b> <i>C. macrocarpa</i> (5%) <i>R. umbellata</i> (5%) <i>P. tobira</i> (6%) <i>M. excelsa</i> (7%) <i>V. 'Lucidum'</i> (9%)	<b>Dallo 10 al 19%</b> <i>P. myrtifolia</i> (10%) <i>E. uniflora</i> (11%) <i>M. paniculata</i> (12%) <i>P. lentiscus</i> (13%) <i>L. montevidensis</i> (16%) <i>C. citrinus</i> (19%)	<b>&gt; 20%</b> <i>A. unedo</i> (22%) <i>A. halimus</i> (24%) <i>A. sellowiana</i> (25%) <i>V. tinus</i> (30%)

a) tra parentesi la variazione rispetto al controllo; b) in grassetto le specie che si collocano sempre nella stessa categoria.

## **5.2. Risposta fisiologica e biochimica di *Photinia ×fraseri* Dress 'Red Robin' ed *Eugenia uniflora* L. 'Etna Fire' allo stress idrico**

### *5.2.1. Presentazione della problematica*

Il clima della regione del Mediterraneo è caratterizzato da elevate temperature, deficit di pressione di vapore, alti livelli di radiazione e scarse precipitazioni durante le stagioni di crescita delle piante (Dai, 2011), con conseguenze negative sulla crescita delle piante stesse, che sono soggette a severe condizioni di stress.

La carenza idrica, associata ad elevate temperature e ad alti livelli di radianza, è considerata, infatti, uno degli stress ambientali più importanti che riduce la sopravvivenza e la produttività delle piante nelle regioni aride e semi-aride (Chaves *et al.*, 2003; Morales *et al.*, 2013).

Lo stress idrico comporta una serie di cambiamenti morfologici, fisiologici, biochimici e molecolari che influenzano negativamente la crescita e la produttività delle piante (Wang *et al.*, 2001). Numerosi studi condotti su piante ornamentali, spesso coltivate in contenitori di piccole dimensioni e con scarsa capacità per l'acqua, hanno dimostrato che la stessa qualità delle piante si riduce al crescere dell'intensità dello stress idrico (Hansen e Petersen, 2004; Henson *et al.*, 2006; Álvarez *et al.*, 2009; Bernal *et al.*, 2011; Álvarez e Sánchez-Blanco, 2013).

Una riduzione nel tasso fotosintetico e nella traspirazione è stata generalmente osservata nelle piante durante le condizioni di stress idrico (Endres, 2007; Hessini *et al.*, 2009; Saibo *et al.*, 2009) e anche in condizioni ambientali dove la domanda evapotraspirativa era molto elevata (Feng e Cao, 2005).

Durante queste condizioni, la limitazione degli scambi gassosi, attraverso la chiusura stomatica, determina una perdita nel bilanciamento tra reazione alla luce e ciclo di Calvin-Benson a causa della riduzione della disponibilità di CO<sub>2</sub> (Chaves *et al.*, 2009). Specificatamente, è l'attività fotochimica del fotosistema II (PSII) a svolgere un ruolo fondamentale nella risposta della fotosintesi ad avverse condizioni ambientali. La fotochimica del PSII è stata largamente studiata utilizzando la fluorescenza della clorofilla (Colom e Vazzana, 2003; Lu *et*

*al.*, 2003), la quale fornisce informazioni sulla risposta delle piante agli stress ambientali.

Quando la fotosintesi si riduce e l'energia di eccitazione alla luce è in eccesso rispetto a quella utilizzata per la fotosintesi, si verifica inoltre la sovraeccitazione dei pigmenti fotosintetici nel centro antenna, il che determina l'accumulo di specie reattive dell'ossigeno (ROS) nei cloroplasti (Munnè-Bosch *et al.*, 2003). La produzione di ROS è comune in un ampio numero di stress abiotici. Le ROS, come  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$  e radicali  $\bullet OH$ , possono attaccare direttamente i lipidi presenti nella membrana e incrementare la perossidazione lipidica (Mittler, 2002).

Lo stress idrico induce la sovrapproduzione di ROS e conseguentemente incrementa il contenuto di malondialdeide (MDA), che è il prodotto finale della perossidazione lipidica ed è stato considerato indicatore di danno ossidativo (Moller *et al.*, 2007).

Se si verificano segnali e/o danni ossidativi, le piante mettono in atto strategie in grado di bilanciare la produzione di ROS e le attività degli enzimi antiossidanti (Moller *et al.*, 2007). Per ridurre al minimo gli effetti dello stress ossidativo, le piante hanno sviluppato un complesso sistema antiossidante enzimatico e non enzimatico, come ad esempio la produzione di antiossidanti a basso peso molecolare (glutazione, acido ascorbico, carotenoidi) ed enzimi ROS *scavenging* [(superossido dismutasi (SOD), glutazione perossidasi (GPX), catalasi (CAT), ascorbato perossidasi (APX)] (Apel e Hirt, 2004).

Diversi studi (Fu e Huang 2001; Fan *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2011) hanno riportato che le specie soggette a lieve e/o moderato stress idrico incrementano l'attività degli enzimi antiossidanti (Ge *et al.*, 2014).

I più importanti enzimi antiossidanti sono SOD, CAT, GPX, APX. SOD converte l' $O_2^-$  in  $H_2O_2$  e  $O_2$ , mentre CAT e GPX spezzano l' $H_2O_2$  in  $H_2O$  (Reddy *et al.*, 2004; Yang *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2009).

Nelle cellule delle piante, enzimi antiossidanti, includenti la superossido dismutasi (SOD) e catalasi (CAT), sono considerati elementi del sistema di difesa ossidativo, con funzione di protezione cellulare contro gli effetti dei ROS [superossido ( $O_2^-$ ), singoletto di ossigeno ( $^1O_2$ ), idrossile (OH $\cdot$ ) e perossido di idrogeno ( $H_2O_2$ )] (Foyer e Noctor, 2005; Scandalios, 2005; Asada, 2006; Guo *et*



*al.*, 2006), che possono essere dannosi per le proteine, lipidi, carboidrati e acidi nucleici (Smirnoff, 1993).

Mantenere un elevato livello di attività enzimatica antiossidante può contribuire alla tolleranza al secco e ad aumentare la capacità di attivare migliori meccanismi di protezione nei confronti del danno ossidativo (Sharma e Dubey, 2005; Türkan *et al.*, 2005). Spesso è stato notato, in numerose specie sottoposte a condizioni di stress abiotici, che un'elevata attività enzimatica antiossidante è connessa ad un alto contenuto di prolina (Cha-Um e Kirdmanee, 2009; Ashraf e Foaland, 2007). La prolina è, infatti, uno dei più importanti soluti cellulari e una sua alta concentrazione è considerata un indicatore di tolleranza al secco (Ahmed *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2014). La prolina, ad elevate concentrazioni, può proteggere, infatti, la pianta dagli stress ambientali, contribuendo all'aggiustamento osmotico cellulare, alla detossificazione dei ROS, alla protezione dell'integrità della membrana e alla stabilizzazione di enzimi e proteine (Ashraf, 2009; Huang *et al.*, 2014).

A causa dei crescenti problemi di carenza idrica soprattutto nell'area mediterranea, l'attenzione della ricerca è stata rivolta ad analizzare la risposta allo stress idrico di specie arbustive autoctone (Munné-Bosh *et al.*, 2003; Munné-Bosh e Peñuelas, 2004; Maraghni *et al.*, 2014), mentre meno ampie sono le analisi nei confronti di specie esotiche, molto diffuse nel verde ornamentale (Álvarez *et al.*, 2011).

Non si hanno, infatti, informazioni precise sulla resistenza al secco di *Photinia ×fraseri* 'Red Robin', pianta sempreverde legnosa, che è un arbusto ornamentale molto diffuso a fini ornamentali grazie alle sue giovani foglie sorprendentemente rosse (Deng *et al.*, 2004). La specie, che appartiene alla famiglia delle *Rosaceae*, è un ibrido tra *P. glabra* e *P. serrulata* (Wu e Zhao, 2007), ed è molto utilizzata come pianta ornamentale, oltre che per la bellezza delle foglie, per la capacità di adattarsi a condizioni ambientali sfavorevoli, come il freddo, la siccità, i bassi livelli di fertilità del suolo, il che la rende molto idonea per la realizzazione di spazi a verde (Deng *et al.*, 2004).

Nessuna informazione si ha, inoltre, sulla resistenza a stress abiotici, tipici dell'ambiente mediterraneo, di una nuova cultivar di *Eugenia* (*Eugenia uniflora*

'Etna Fire') e in particolare sull'abilità di questa specie di regolare il sistema enzimatico in risposta allo stress idrico.

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di analizzare la risposta fisiologica e biochimica di due specie, *Eugenia uniflora* 'Etna Fire' e *Photinia ×fraseri* 'Red Robin', a differenti livelli di stress idrico; in particolare sono stati analizzati i cambiamenti fisiologici, quali *Relative Water Content*, scambi gassosi, efficienza del PSII, perossidazione lipidica, contenuto in prolina, clorofilla e attività enzimatica (SOD, CAT, e GPX), al fine di individuare quali siano i cambiamenti nella fisiologia delle piante maggiormente legati allo stress in parola e soprattutto quali sono quelli in grado di fornire una indicazione più puntuale e immediata dei cambiamenti che si verificano nella fisiologia delle piante stesse.

#### 5.2.2. *Materiali e metodi*

La prova è stata condotta presso i Vivai "Piante Faro" a Carruba di Giarre in provincia di Catania. Sono state utilizzate due specie: *Eugenia uniflora* L. 'Etna Fire' e *Photinia ×fraseri* Dress 'Red Robin', allevate in vasi di 2.7 L sul substrato di norma utilizzato in azienda (60% torba, 20% pomice e argilla espansa, 10% terra, 10% letame equino maturo). Le piante di entrambe le specie provenivano da talea e al momento dell'inizio della prova avevano circa 90 giorni di età. Esse sono state sottoposte per 30 giorni a tre differenti regimi idrici, che prevedevano la restituzione, ogni due giorni, del 100% (WW= piante mantenute in condizioni di pieno soddisfacimento idrico), del 70% (MD) e del 35% (SD) dell'acqua persa per evapotraspirazione, calcolata mediante metodo gravimetrico.

Nel corso della prova sono stati monitorati i principali parametri microclimatici dell'ambiente, mediante un datalogger CR200 della Campbell Scientific. La temperatura media rilevata è stata di 20°C, mentre l'umidità relativa ha fatto registrare un valore medio del 78% (**Fig.5.2.1**).

Durante la prova, sono stati determinati a cadenza settimanale: *Relative Water Content* (RWC), scambi gassosi e fluorescenza della clorofilla.

Le misurazioni degli scambi gassosi della foglia sono state effettuate impiegando un *Gas Exchange Analyzer* CO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O IRGA (LCi, ADC Bioscientific Ltd., Hoddesdon, UK). Tenuto conto degli obiettivi della ricerca, le misurazioni

degli scambi gassosi sono state eseguite nelle condizioni di accrescimento delle piante, in corrispondenza delle ore di maggiore insolazione, con cielo sereno.

L'analisi della fluorescenza della clorofilla è stata eseguita *in vivo* utilizzando un fluorimetro portatile "OS1-FL Modulated Fluorometer" della OPTI-SCIENCES (USA).

In corrispondenza dei giorni 0, 4, 7, 15 e 30 sono stati prelevati campioni di foglie per la determinazione del contenuto in clorofilla, prolina, MDA e attività dei principali enzimi (SOD, CAT e GPX).

Il contenuto in clorofilla è stato determinato secondo Yang *et al.* (1998). Campioni di foglie (0.25 g) sono stati polverizzati in azoto liquido con mortaio e pestello e a questa sono stati aggiunti 5.0 mL di acetone (80%); l'omogenato è stato centrifugato a 1500g per 5 minuti. L'estratto è stato prelevato e sottoposto a lettura allo spettrofotometro a 663.6, 646.6 e 440.5 nm. Il contenuto in clorofilla è stato determinato utilizzando l'equazione di Porra *et al.*, (1989) e Holm (1954):

- $Chl_a = (12.25 \times Abs_{663.6}) - (2.55 \times Abs_{646.6})$  ( $\mu\text{g/ml}$ );
- $Chl_b = (20.31 \times Abs_{646.6}) - (4.91 \times Abs_{663.6})$  ( $\mu\text{g/ml}$ );

Il contenuto dei pigmenti è stato calcolato sulla base dei microgrammi di Chl/g di peso fresco (FW).

La concentrazione di prolina libera nelle foglie è stata determinata seguendo il metodo di Bates *et al.* (1973). I risultati sono stati ottenuti dopo la preparazione di una retta di taratura con standard di prolina ed espressi come nmoli/g (Ahmad *et al.*, 2008).

Il contenuto di MDA è stato determinato secondo il metodo di Heath e Packer (1968) successivamente modificato da Li *et al.* (2010).

I campioni per la determinazione dell'attività enzimatica sono stati preparati secondo il metodo di Bian e Jiang (2009).

L'attività totale di SOD è stata determinata secondo la reazione di riduzione fotochimica del nitro blu tetrazolio (NBT) secondo il metodo di Giannopolitis e Ries (1977).

L'attività della catalasi è stata determinata secondo Aebi (1984). Un'unità di attività CAT è stata definita come la quantità di enzima che ha decomposto 1  $\mu\text{mol}$  di  $\text{H}_2\text{O}_2$  al minuto (Aguilera *et al.*, 2002).

L'attività dell'enzima perossidasi (GPX) è stata misurata secondo il metodo descritto da Ruley *et al.* (2004).

È stato adottato uno schema sperimentale a blocchi randomizzati con tre ripetizioni di 10 piante ciascuna.

L'analisi statistica è stata effettuata con CoStat 6.311 (CoHort Software, Monterey, CA, USA). I dati acquisiti sono stati sottoposti all'analisi della varianza (ANOVA) e le medie sono state comparate con il test di Tukey ( $P \leq 0.05$ ). Per ciascuna specie e per ciascun parametro i dati sono rappresentati come media e le barre rappresentano l'errore standard (SE).

### **5.2.3. Risultati**

L'andamento dell'evapotraspirato, nel periodo di prova, non ha presentato differenze sostanziali tra le due specie allo studio; i valori dell'acqua persa per evapotraspirazione, per le tesi in cui le piante erano mantenute in condizioni di pieno soddisfacimento idrico (WW), si sono attestati intorno a 0.159 L d<sup>-1</sup> per Eugenia e 0.131 L d<sup>-1</sup> per Photinia (**Fig. 5.2.2**).

L'RWC nelle piante di Eugenia è apparso influenzato dai trattamenti idrici solo alla fine delle quattro settimane nella tesi più stressata; nelle piante di Photinia, invece, il decremento è apparso significativo per entrambi i trattamenti a partire dalla seconda settimana per le tesi più stressata e dalla terza per MD (**Figg. 5.2.3 e 5.2.4**).

I parametri degli scambi gassosi, per effetto dello stress idrico, hanno presentato delle evidenti diminuzioni (**Figg. 5.2.5÷5.2.9**). La rapida diminuzione della fotosintesi (**Figg. 5.2.5 e 5.2.7**) si è accompagnata alla diminuzione della conduttanza stomatica (**Figg. 5.2.6 e 5.2.8**), il che ha comportato come conseguenza principale un marcato aumento della temperatura fogliare (dati non mostrati).

La riduzione del processo di assimilazione, per effetto dell'aumento dello stress idrico, è apparsa più evidente in Eugenia, già a partire dalla prima settimana di somministrazione dello stress, e si è mantenuta costante per tutta la durata della prova. In Photinia i valori della fotosintesi netta hanno accusato diminuzioni rilevanti per entrambi i trattamenti di stress soprattutto a partire dalla seconda settimana di riduzione della somministrazione idrica. Per entrambe le

specie la riduzione della fotosintesi è apparsa largamente legata alla chiusura degli stomi, come si evince dalla significativa correlazione emersa tra fotosintesi e conduttanza stomatica (**Fig. 5.2.9**).

L'andamento del tasso di traspirazione sia in Eugenia che in Photinia ha mostrato un incremento nel corso della prova per le piante del controllo (WW). Il parziale reintegro dell'acqua persa per evapotraspirazione ha comportato delle riduzioni della traspirazione che sono apparse evidenti a partire dal 14° giorno della prova. Mentre in Eugenia le differenze tra le due tesi stressate si sono ridotte in corrispondenza del rilievo del 28° giorno in Photinia si sono accentuate (**Figg. 5.2.10 e 5.2.11**).

L'efficienza massima apparente del PSII ha fatto registrare, in entrambe le specie allo studio, qualche differenza significativa solo al termine del ciclo di coltivazione (**Figg. 5.2.12 e 5.2.13**). Le piante di Eugenia sono apparse quelle maggiormente stressate; in entrambe le condizioni di deficit idrico (MD e SD), il valore di  $F_v/F_m$  ha raggiunto, infatti, valori pari rispettivamente a 0.69 e 0.67 (**Fig. 5.2.12**); quelle di Photinia, invece, hanno accusato una riduzione del parametro in oggetto solo in corrispondenza del livello di reintegro minore (SD) raggiungendo un valore medio pari a 0.73 (**Fig. 5.2.13**).

Il contenuto in clorofilla *a* ha manifestato variazioni significative in entrambe le specie allo studio solo per effetto della data di prelievo, mostrando un incremento in corrispondenza del rilievo effettuato il 15° giorno (**Figg. 5.2.14 e 5.2.15**). Le variazioni del contenuto di clorofilla *b* sono apparse più modeste e non significative in Eugenia (**Figg. 5.2.14 e 5.2.15**).

Il contenuto in prolina nelle foglie è aumentato in funzione dello stress idrico somministrato (**Figg. 5.2.16 e 5.2.17**). In Eugenia sono state osservate, già a partire dal 4° giorno, differenze significative nel contenuto in prolina; il contenuto di questo amminoacido ha raggiunto il valore massimo dopo 30 giorni, quando è stato pari rispettivamente a 53.04 nmoli g<sup>-1</sup> FW nella tesi MD e 66.08 nmoli g<sup>-1</sup> FW nella tesi SD. In Photinia, invece, differenze significative si sono osservate a partire dal 15° giorno, con un contenuto pari a 25.04 e 30.57 nmoli g<sup>-1</sup> FW rispettivamente per MD e SD (**Figg. 5.2.16 e 5.2.17**).

Il contenuto in MDA nelle foglie è aumentato significativamente solo in corrispondenza del rilievo effettuato il 30° giorno per entrambe le specie

(**Figg. 5.2.18-5.2.19**). In *Eugenia*, anche nel rilievo effettuato al quarto giorno, si è avuto un incremento del 43% e del 55% rispettivamente nelle tesi MD e SD mentre in *Photinia* l'incremento è stato significativo solamente per la tesi più stressata, con un aumento in SD pari al 34%.

Le attività di alcuni enzimi antiossidanti, come SOD, CAT e GPX analizzate in questo studio, hanno mostrato risposte diverse nei confronti dello stress idrico (**Figg. 5.2.20-5.2.25**). L'andamento di SOD ha mostrato, a partire dal rilievo effettuato il 4° giorno, un incremento significativo nelle tesi variamente stressate rispetto al controllo. Le piante stressate hanno ridotto, però, la produzione di SOD con il trascorrere del tempo per cui le differenze si sono attenuate e sono apparse non significative in entrambe le specie nel rilievo effettuato alla fine della prova (**Figg. 5.2.20 e 5.2.21**).

L'attività di CAT ha mostrato un incremento con il trascorrere del tempo e le differenze fra le tesi allo studio sono apparse massime in corrispondenza del rilievo effettuato al 15° (*Eugenia*) e 7° giorno (*Photinia*). In seguito le piante hanno attivato dei meccanismi che sono apparsi in grado di ridurre tali differenze (**Figg. 5.2.22 e 5.2.23**).

L'attività di GPX è apparsa molto ridotta in *Eugenia*, dove i valori massimi raggiunti sono stati dell'ordine di  $0.03 \text{ nmol min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FW}$ ; differenze significative fra le tesi allo studio si sono osservate solo in corrispondenza del rilievo effettuato al 7° giorno (**Fig. 5.2.24**). In *Photinia*, invece, i valori raggiunti sono apparsi più elevati (fino a raggiungere  $0.20 \text{ nmol min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FW}$ ) e si sono osservate differenze significative fra le tesi variamente stressate nel rilievo effettuato al 30° giorno (**Fig. 5.2.25**).

#### **5.2.4. Discussione**

Le condizioni di stress idrico innescano un'ampia varietà di risposte da parte delle piante, che comprendono cambiamenti sia fisiologici che metabolici (Tian *et al.*, 2007). Le piante, infatti, rispondono allo stress idrico attraverso l'alterazione di processi fisiologici e biochimici (Surendar *et al.*, 2013).

Le condizioni di stress sono influenzate da fattori climatici, edafici e agronomici. La suscettibilità delle piante varia in dipendenza dell'intensità dello

stress, la specie e lo stadio di sviluppo della pianta stessa (Demirevska *et al.*, 2009; Anjum *et al.*, 2011).

Nel periodo esplorato dalla prova i livelli termici non sono apparsi eccessivamente elevati; ciò nonostante la diversa restituzione dell'acqua persa per evapotraspirazione ha comportato variazioni rilevanti di numerosi parametri fisiologici e biochimici. Ciò è in parte legato alle condizioni sperimentali in cui si è operato e soprattutto all'adozione di contenitori di volume limitato (Earl, 2003), anche per simulare meglio quelle che sono le condizioni in cui normalmente avviene la coltivazione.

I nostri risultati hanno indicato una diversa risposta delle due specie allo stress imposto, correlata al diverso grado di tolleranza allo stress idrico.

I valori di RWC sono apparsi diversi fra le specie allo studio; in genere i valori più elevati si sono osservati in *Eugenia* rispetto a *Photinia*; una riduzione di RWC in risposta allo stress idrico è stata notata in molte specie (Nayyar e Gupta, 2006); in genere elevati valori di RWC sono in genere ritenuti indice di resistenza agli stress (Tounekti *et al.*, 2011), come dimostrato da Larbi e Mekliche (2004) su varietà di frumento sensibili o resistenti al secco, e da Örpay (2008) su alcuni genotipi di fagiolo. Su *Cucurbita* spp., invece, Yasar *et al.* (2014), analizzando numerosi genotipi, non sempre hanno riscontrato differenze significative.

I valori raggiunti da RWC sono considerati anche indice della severità dello stress idrico: valori di RWC dell'80%, negli arbusti mediterranei, sembrerebbero attestare una buona disponibilità idrica (Kyparissis *et al.*, 2000; Munné-Bosh *et al.*, 2003), mentre valori di RWC del 68%, almeno in *Arbutus unedo*, sono stati considerati indice di stress idrico moderato e valori di circa il 50% - come è avvenuto nella nostra prova a fine ciclo per le piante di *Photinia* che ricevevano il minore reintegro dell'acqua evapotraspirata (SD) - sembrano attestare stress molto intensi (Munné-Bosh e Peñuelas, 2004).

Le piante stressate di *Eugenia* che sono riuscite a mantenere valori più elevati di RWC con l'avanzare del ciclo dimostrano di essere state in grado di mantenere più turgide le foglie, nonostante la perdita di acqua (Fornes *et al.*, 2007). In ogni caso la riduzione di RWC in condizioni di stress idrico è stata riscontrata in cloni tolleranti il secco di *Coffea conephora* (Ana Lúcia *et al.*, 2002) e in *Arbutus unedo* (Munné-Bosh e Peñuelas, 2004), un arbusto in grado di

resistere alle condizioni aride dell'ambiente mediterraneo, per cui il mantenimento di valori elevati di RWC non sempre è strettamente connesso alla resistenza allo stress idrico.

L'aumento dello stress idrico ha determinato, in entrambe le specie, una riduzione del processo di assimilazione. Il consistente decremento della conduttanza stomatica in entrambe le specie nelle tesi stressate suggerisce un efficiente controllo adattativo della traspirazione (Hessini *et al.*, 2008). Molti studi hanno mostrato come la riduzione dell'attività fotosintetica possa essere connessa a meccanismi stomatici o non stomatici (Ahmadi, 1998; Del Blanco *et al.*, 2000; Samarah *et al.*, 2009). I nostri risultati evidenziano, per entrambe le specie, una forte correlazione fra fotosintesi e conduttanza stomatica, a dimostrazione che gli stomi si chiudono progressivamente all'incremento dello stress (Anjum *et al.*, 2011). Numerose specie arboree aumentano la loro intrinseca WUE, mantenendo la loro assimilazione di CO<sub>2</sub> proporzionalmente più elevata, rispetto al vapore d'acqua perso attraverso gli stomi, come un meccanismo addizionale di acclimatazione al secco (Álvarez *et al.*, 2011).

La traspirazione nelle tesi stressate si è ridotta progressivamente, in entrambe le specie, nelle tesi che prevedevano il reintegro parziale dell'acqua; è noto che lo stress idrico influenza fortemente questo parametro (Álvarez *et al.*, 2011) il che, a sua volta, può condurre a una sostanziale riduzione della conduttanza stomatica.

Le variazioni registrate nell'efficienza massima apparente del PSII, solo al termine del ciclo di coltivazione, sembrano attestare che in precedenza la riduzione dell'attività fotosintetica era prevalentemente dipendente dal processo di regolazione stomatica (Starman e Lombardini, 2006) e che i livelli di stress imposto non hanno compromesso, almeno per quasi tutto il ciclo esplorato, l'efficienza della fotosintesi stessa (Bian e Jiang, 2009).

Nessun effetto significativo si è osservato in entrambe le specie per il contenuto in clorofilla. La clorofilla è uno dei principali componenti nei cloroplasti, è impiegata per sostenere la fotosintesi e la sua concentrazione è quindi correlata positivamente con il tasso fotosintetico (Guo e Li, 1996). Flexas e Medrano (2002) hanno riportato che lo stress idrico riduce la colorazione verde delle foglie nelle piante C<sub>3</sub> a causa della degradazione della clorofilla. Tuttavia,



come confermato in altri studi (Toscano *et al.*, 2014), il deficit idrico di breve durata può non influenzare negativamente la concentrazione della clorofilla nelle foglie. Questo è stato confermato pure da Pérez-Pérez *et al.*, (2007) in piante di citrange Carrizo soggette a stress salino o idrico nel breve periodo.

Le piante, in risposta allo stress idrico e salino, accumulano soluti compatibili, come la prolina, per facilitare l'assorbimento dell'acqua (Ashraf e Foolad, 2007) e ridurre danni alle cellule (Anjum *et al.*, 2011). Il notevole aumento di concentrazione ottenuto nella nostra prova, soprattutto in Eugenia, è indice dello stress cui sono state sottoposte le due specie durante i 30 giorni di trattamento e anche della capacità che hanno le specie stesse di resistere alle avversità abiotiche - in questo caso l'elevato stress idrico del terreno - utilizzando questo osmolita organico come fattore di protezione. L'accumulo di prolina in condizioni di stress è, infatti, considerato un indice della tolleranza allo stress stesso (Demiral e Turkan, 2004; Ashraf e Foolad, 2007).

MDA è uno dei prodotti finali del danno della perossidazione lipidica dei radicali liberi (Ge *et al.*, 2006) ed è considerato un indicatore di danno ossidativo (Meloni *et al.*, 2003; de Azevedo-Neto *et al.*, 2006). Il mantenimento di bassi livelli di MDA è stato associato ad una maggiore resistenza al deficit idrico (Zhang e Kirkham, 1994; Sairam *et al.*, 1998; Lima *et al.*, 2002; Bacelar *et al.*, 2007) e ad altri stress ambientali (Luna *et al.*, 2000; Sairam *et al.*, 2000). I nostri risultati testimoniano un incremento più sensibile nella parte finale della prova del suo contenuto, ad attestazione del livello di stress raggiunto.

Le piante soggette a stress idrico vanno incontro ad un eccesso di potere riducente, dovuto alla limitazione dell'assimilazione della CO<sub>2</sub> che, a sua volta, causa un aumento dei livelli di ROS e l'accumulo di radicali liberi (Schwanz e Polle, 2001; Vranovà *et al.*, 2002; Sofo, 2003).

Le attività di alcuni enzimi antiossidanti, come SOD, CAT e GPX analizzate in questo lavoro, hanno mostrato risposte diverse ai trattamenti. I nostri risultati sono in accordo con quelli riportati da Fan *et al.* (2009) e Hojati *et al.* (2011) i quali sostengono che l'attività antiossidante incrementa durante le condizioni di lieve e/o moderato stress idrico (Ge *et al.*, 2014).

L'andamento dell'attività di SOD non è apparsa negativamente correlata a quella di MDA, a differenza di quanto rilevato da Xu *et al.* (2013) in piante

erbacee sottoposte a stress salino, dove l'attività dell'enzima SOD si è incrementata al diminuire del contenuto di MDA.

L'attività di CAT tende ad incrementare all'aumentare del periodo di stress, cosa che nella nostra prova è avvenuta, almeno fino al 15° giorno in Eugenia e nel rilievo del 7° giorno in Photinia. Diversi studi dimostrano che i cambiamenti nell'attività di CAT dipendono principalmente dalla specie, dallo sviluppo e dallo stato metabolico delle piante, dalla durata e dall'intensità dello stress (Chaparzadeh *et al.*, 2004). I nostri risultati confermano quelli di Bian e Jiang (2009) che, in piante di *Poa pratensis* L. sottoposte a stress idrico, hanno riscontrato un incremento dell'attività di CAT. La combinata azione di CAT e di SOD converte la tossicità di  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$  in molecole di  $H_2O$  e ossigeno riducendo così, durante condizioni non favorevoli per le piante, come lo stress idrico, il danneggiamento cellulare (Reddy *et al.*, 2004).

L'attività di GPX è apparsa molto ridotta in Eugenia e più elevata in Photinia. Questo conferma i risultati ottenuti da altri autori i quali sostengono che in specie tolleranti lo stress, l'attività di GPX è maggiore, consentendo alle piante una maggiore protezione dallo stress ossidativo (Scalet *et al.*, 1995), mentre l'attività è quasi nulla nelle piante sensibili (Peters *et al.*, 1989).

\*  
\*\*\*

Entrambi gli arbusti analizzati nel presente lavoro si sono dimostrati in grado di tollerare il deficit idrico mettendo in atto dei meccanismi fisiologici, come il decremento dell'attività fotosintetica, il controllo stomatico e la riduzione del contenuto idrico fogliare, e incrementando la sintesi degli osmoliti, come la prolina, e l'attività degli enzimi antiossidanti.

Per quanto concerne i meccanismi fisiologici, la modificazione della conduttanza stomatica è apparsa la strategia principalmente impiegata per contenere le perdite di acqua, cui ovviamente ha fatto riscontro una corrispondente variazione del tasso di traspirazione e dell'attività fotosintetica, come si evince dall'elevato grado di correlazione positiva tra questi due parametri fisiologici (**Tabb. 5.2.1 e 5.2.2**).

La prolina ha confermato il ruolo di regolatore osmotico; in Eugenia la sua concentrazione è stata maggiore che in Photinia. Il contenuto di MDA, indicatore di danno al sistema della membrana cellulare, ha manifestato un incremento progressivo nelle tesi stressate.

La correlazione tra i dati fisiologici e biochimici rilevati (**Tabb. 5.2.1 e 5.2.2**) fa emergere in Eugenia una buona corrispondenza fra i valori della fotosintesi netta, tasso di traspirazione, conduttanza stomatica, Fv/Fm, RWC, prolina e CAT, mentre in Photinia si sono avute correlazioni positive fra i parametri fisiologici, ma non fra questi e contenuto di prolina, mentre si è osservata una correlazione positiva con l'attività della superossido dismutasi (SOD).

Soprattutto l'andamento dei parametri biochimici appare una tipica risposta specie specifica che coinvolge la differenza di comportamento dei genotipi analizzati.

In ogni caso il contenuto di queste sostanze ha un andamento che si modifica nel tempo per cui appare importante reiterare nelle fasi immediatamente successive all'imposizione dello stress le analisi per determinare il contenuto di tali sostanze nelle piante e la loro variazione temporale.

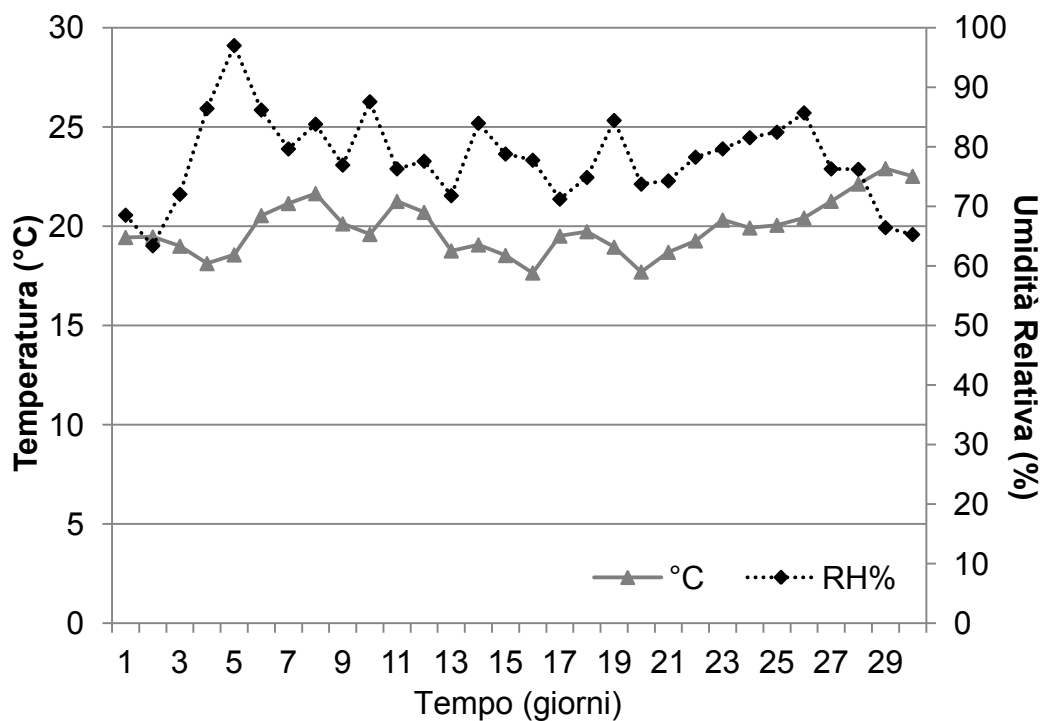


Fig. 5.2.1 - Andamento medio giornaliero della temperatura (°C) e dell'umidità relativa (%), nel corso del ciclo di coltivazione.

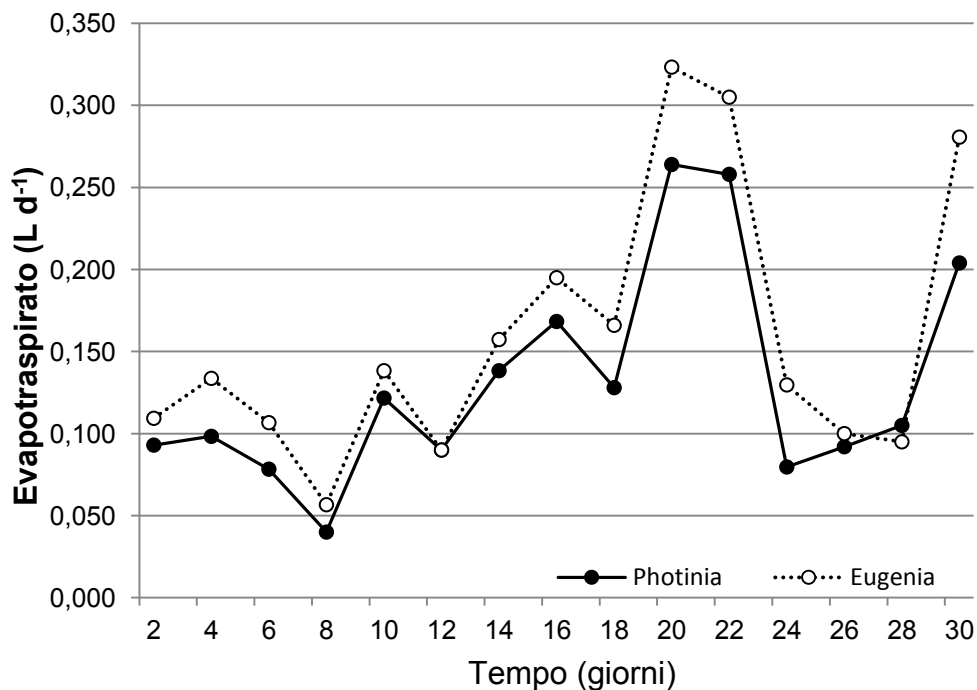
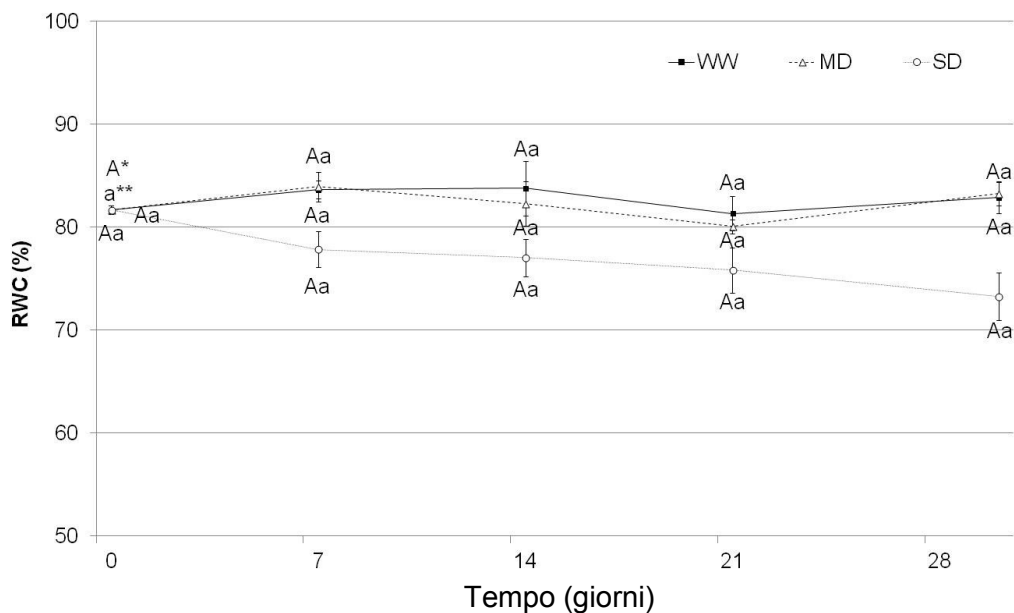
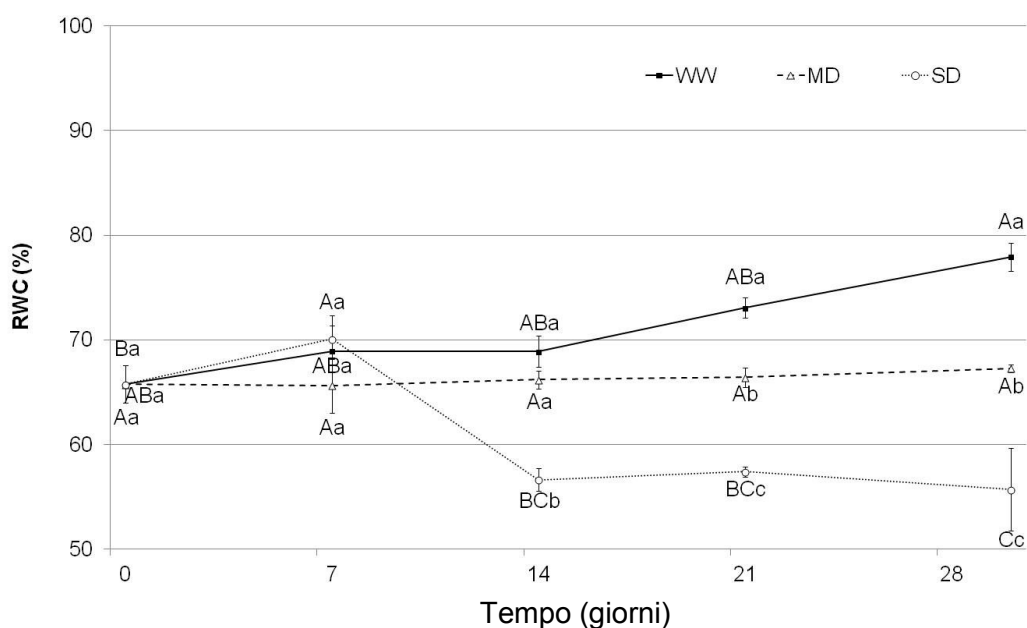


Fig. 5.2.2 - Variazioni dell'evapotraspirato per pianta (L d<sup>-1</sup>), nella tesi testimone, in Eugenia e Photinia durante il ciclo di coltivazione.



**Fig. 5.2.3 - Eugenia:** variazioni del *Relative Water Content* a mezzogiorno ( $RWC_{md}$ ) in funzione del regime idrico nel corso del ciclo di coltivazione. I dati rappresentano la media ( $\pm SE$ ) di 3 repliche. In questa figura e nelle successive: \* valori nei successivi rilievi indicati con la stessa lettera, in base al test di Tukey, non sono statisticamente differenti per  $P \leq 0.05$ ; \*\* valori per ciascun rilievo indicati con la stessa lettera, in base al test di Tukey, non sono statisticamente differenti per  $P \leq 0.05$ .



**Fig. 5.2.4 - Photinia:** variazioni del *Relative Water Content* a mezzogiorno ( $RWC_{md}$ ) in funzione del regime idrico nel corso del ciclo di coltivazione. I dati rappresentano la media ( $\pm SE$ ) di 3 repliche.

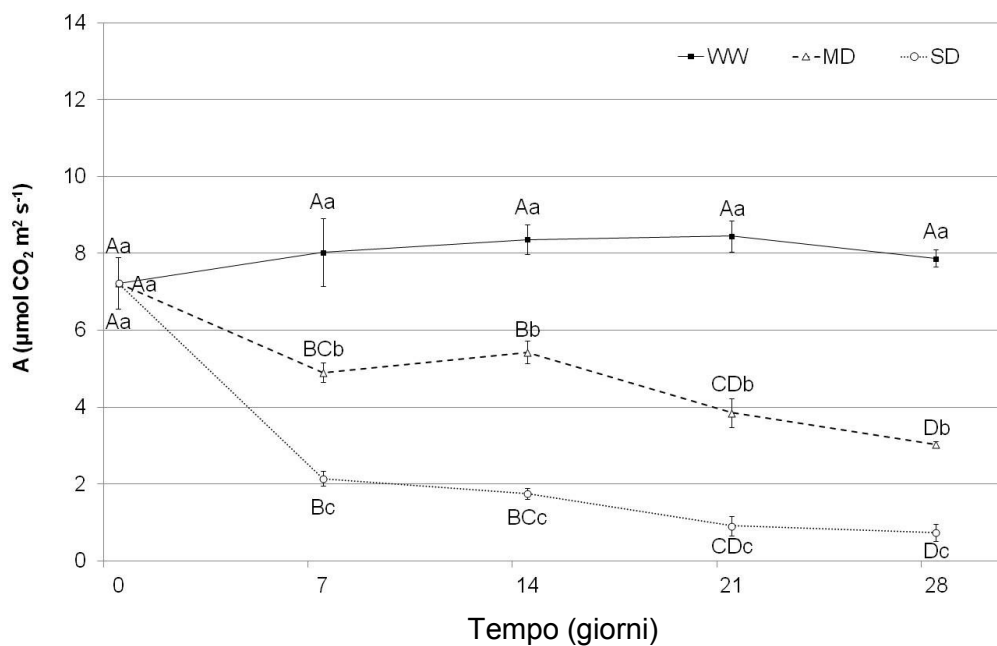


Fig. 5.2.5 – *Eugenia*: variazioni della fotosintesi netta (A) in funzione del regime idrico nel corso del ciclo di coltivazione. I dati rappresentano la media ( $\pm$ SE) di 6 repliche.

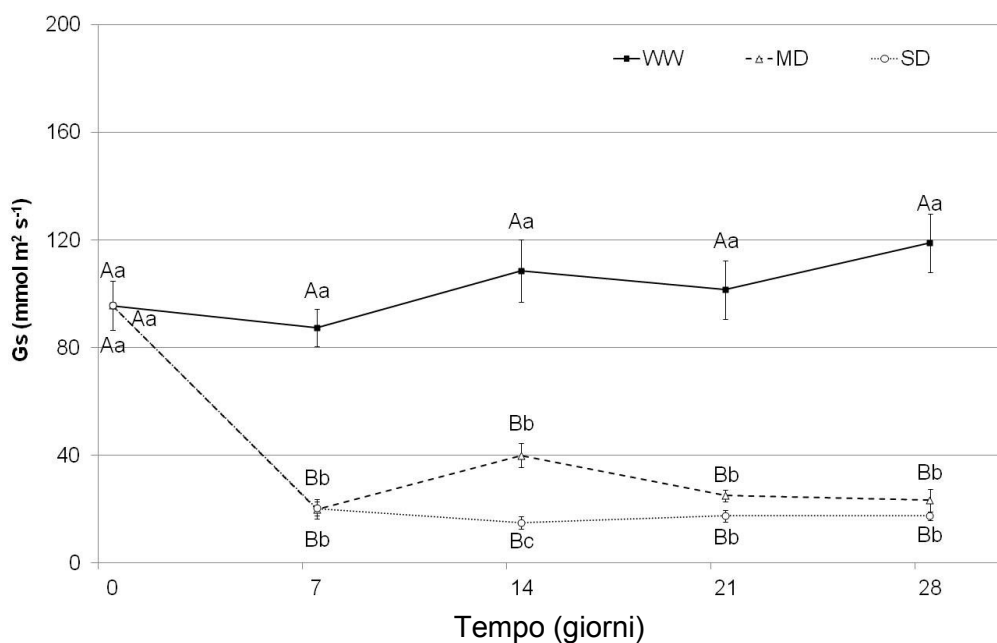


Fig. 5.2.6 – *Eugenia*: Variazioni della conduttanza stomatica (Gs) in funzione del regime idrico nel corso del ciclo di coltivazione. I dati rappresentano la media ( $\pm$ SE) di 6 repliche.

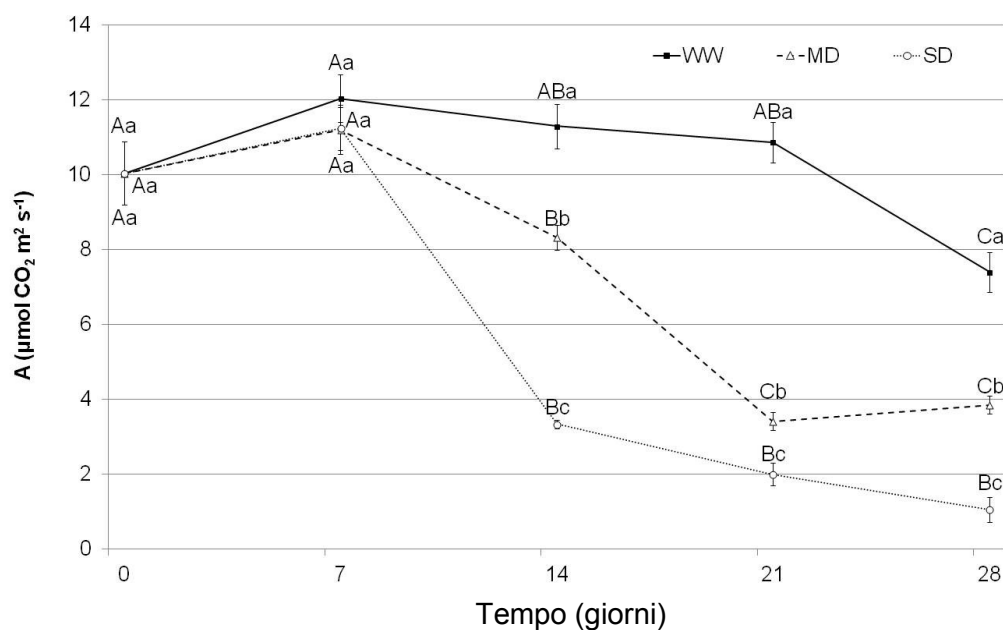


Fig. 5.2.7 - *Photinia*: Variazioni della fotosintesi netta (A) in funzione del regime idrico nel corso del ciclo di coltivazione. I dati rappresentano la media ( $\pm$ SE) di 6 repliche.

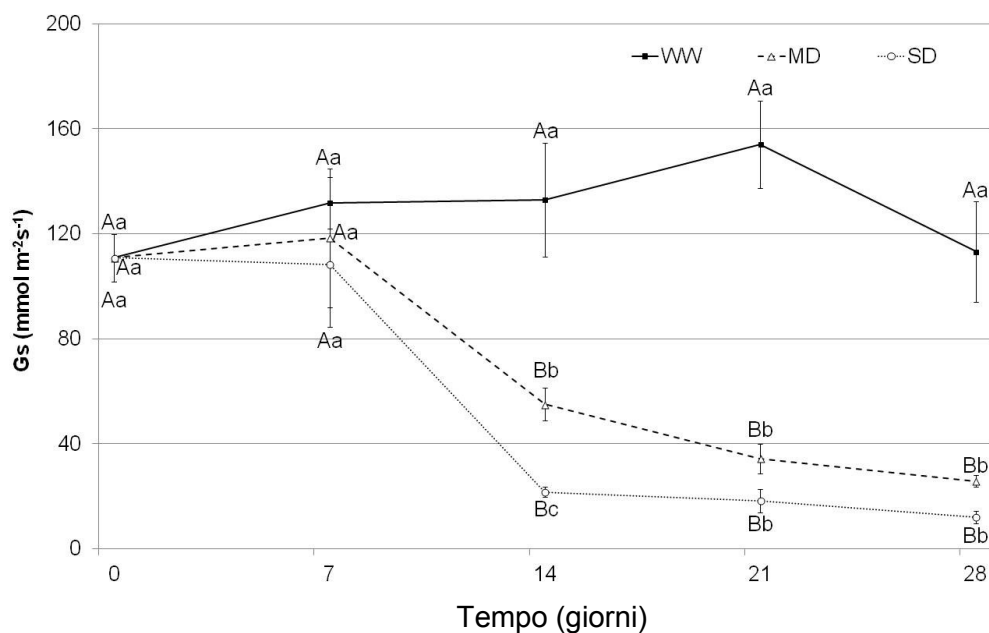
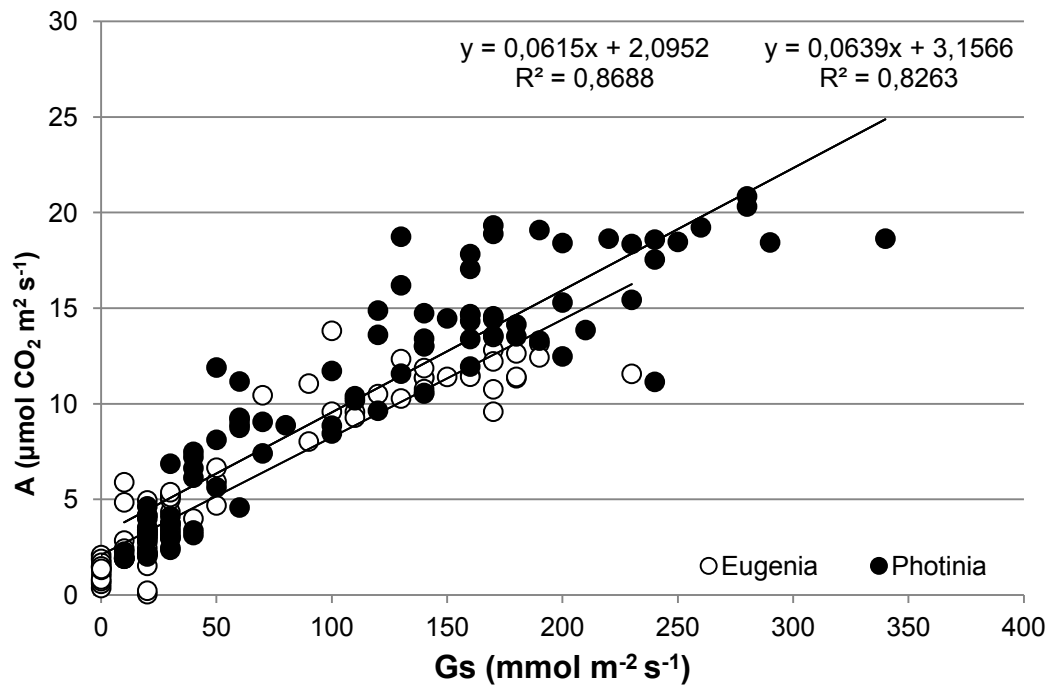


Fig. 5.2.8 - *Photinia*: Variazioni della conduttanza stomatica (Gs) in funzione del regime idrico nel corso del ciclo di coltivazione. I dati rappresentano la media ( $\pm$ SE) di 6 repliche.



**Fig.5.2.9** - Correlazione tra fotosintesi netta (A) e conduttanza stomatica (Gs) in Eugenia (○) e Photinia (●) nel corso della prova in funzione del regime idrico.



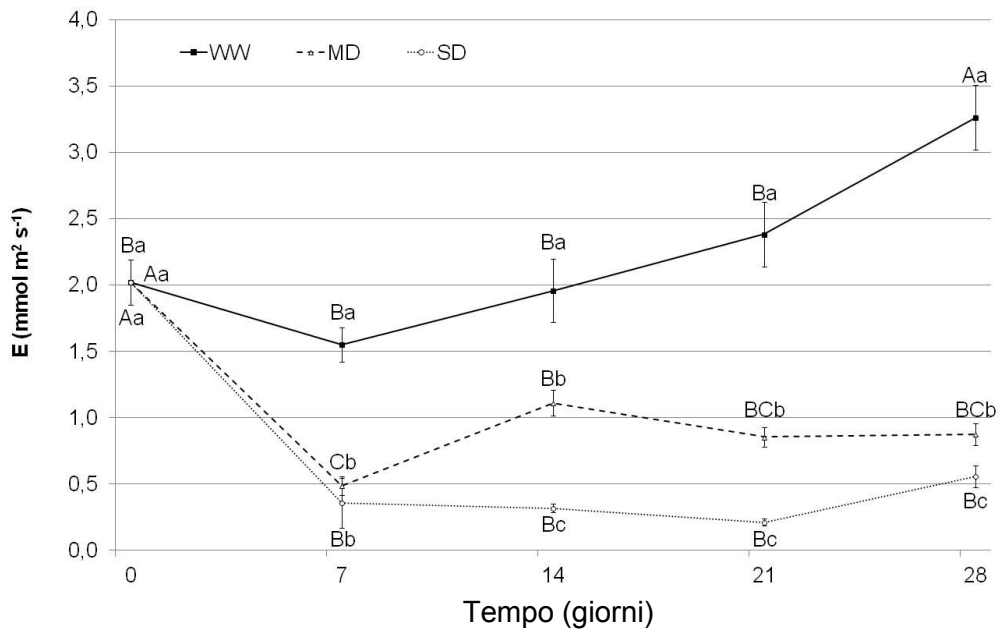


Fig. 5.2.10 - Eugenia: variazioni del tasso di traspirazione (E) in funzione del regime idrico nel corso del ciclo di coltivazione. I dati rappresentano la media ( $\pm$ SE) di 6 repliche.

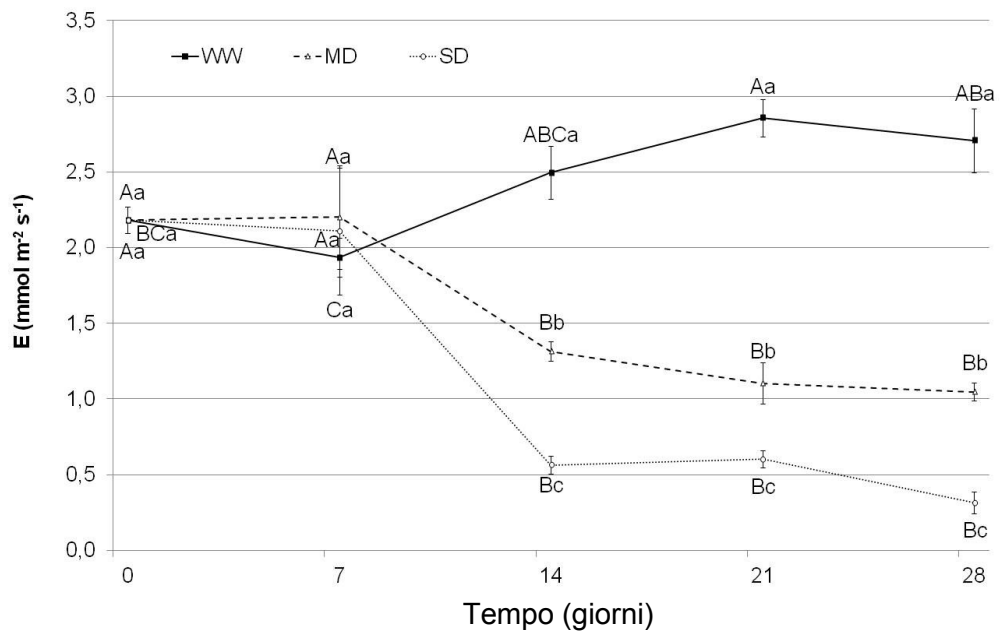


Fig. 5.2.11 - Photinia: variazioni del tasso di traspirazione (E) in funzione del regime idrico nel corso del ciclo di coltivazione. I dati rappresentano la media ( $\pm$ SE) di 6 repliche.

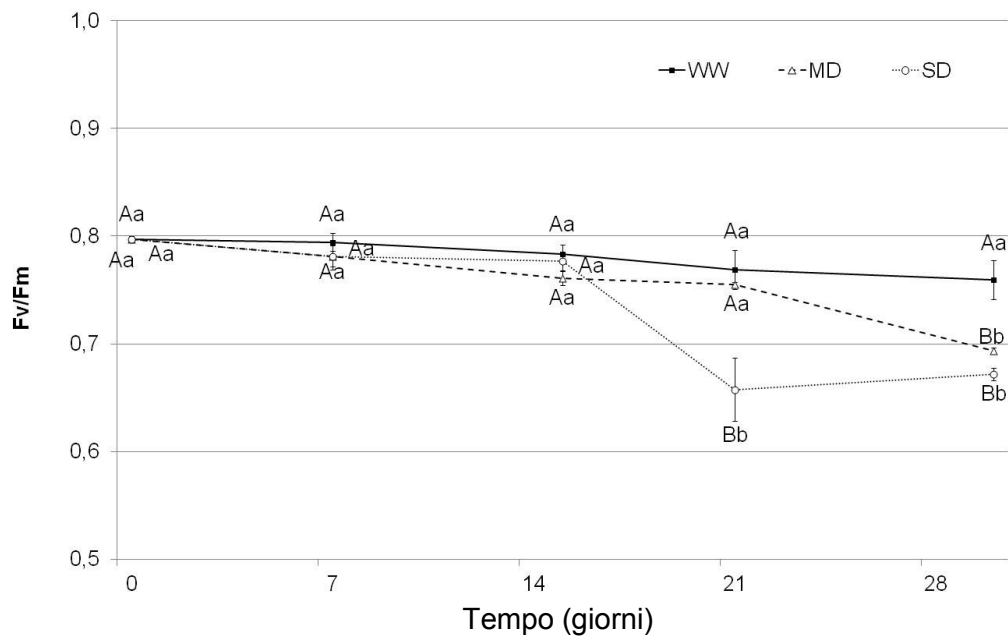


Fig. 5.2.12 - **Eugenia**: variazioni dell'efficienza massima apparente del PSII (Fv/Fm) in funzione del regime idrico nel corso del ciclo di coltivazione. I dati rappresentano la media ( $\pm$ SE) di 6 repliche.

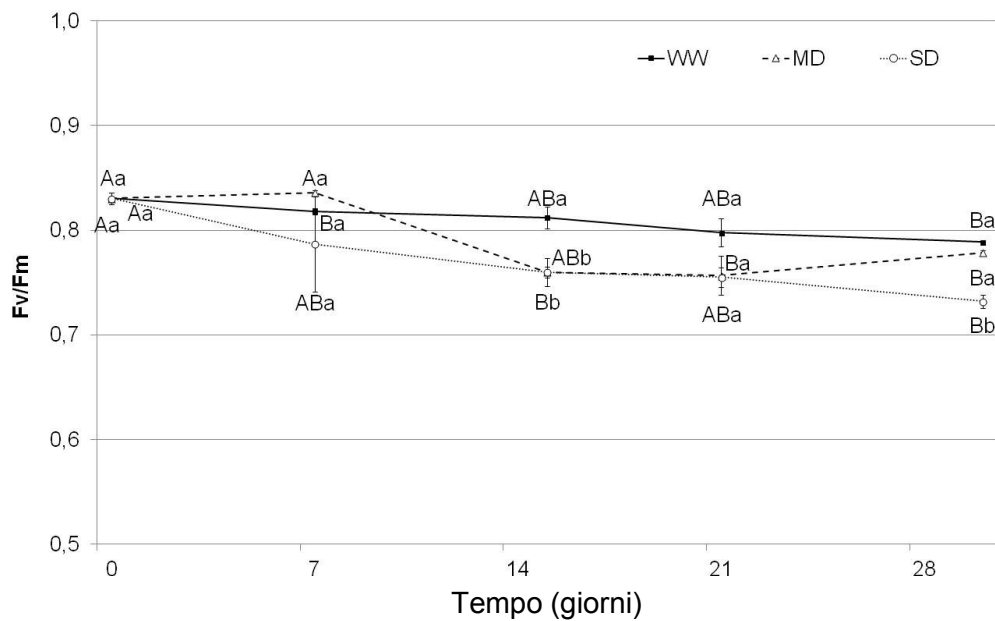
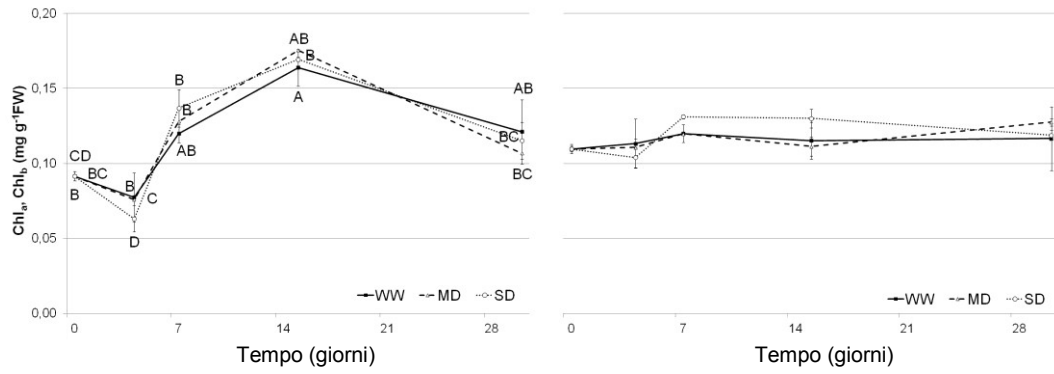
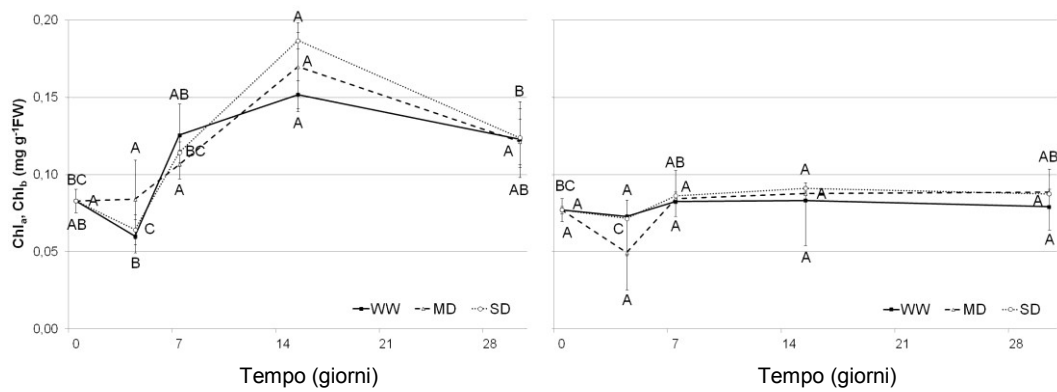


Fig. 5.2.13 - **Photinia**: variazioni dell'efficienza massima apparente del PSII (Fv/Fm) in funzione del regime idrico nel corso del ciclo di coltivazione. I dati rappresentano la media ( $\pm$ SE) di 6 repliche.



**Fig. 5.2.14 - Eugenia:** Effetto dei differenti trattamenti idrici sul contenuto in Clorofilla a (Chl<sub>a</sub>) e Clorofilla b (Chl<sub>b</sub>). I dati rappresentano la media ( $\pm$ SE) di 3 repliche.



**Fig. 5.2.15 - Photinia:** Effetto dei differenti trattamenti idrici sul contenuto in Clorofilla a (Chl<sub>a</sub>) e Clorofilla b (Chl<sub>b</sub>). I dati rappresentano la media ( $\pm$ SE) di 3 repliche.

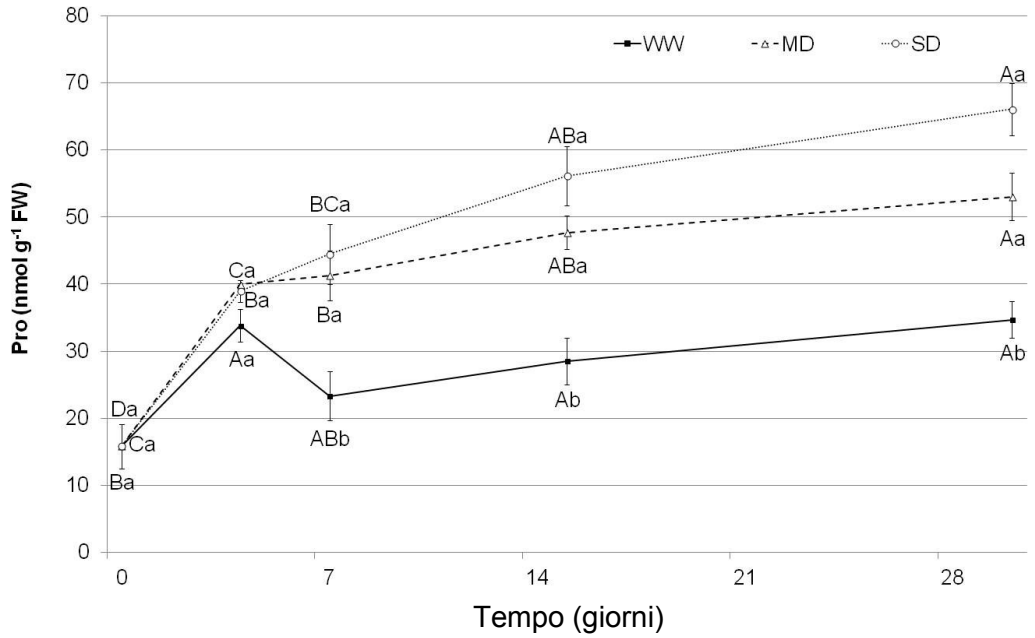


Fig. 5.2.16 - *Eugenia*: effetto dei differenti trattamenti idrici sul contenuto in Prolina (Pro). I dati rappresentano la media ( $\pm$ SE) di 3 repliche.

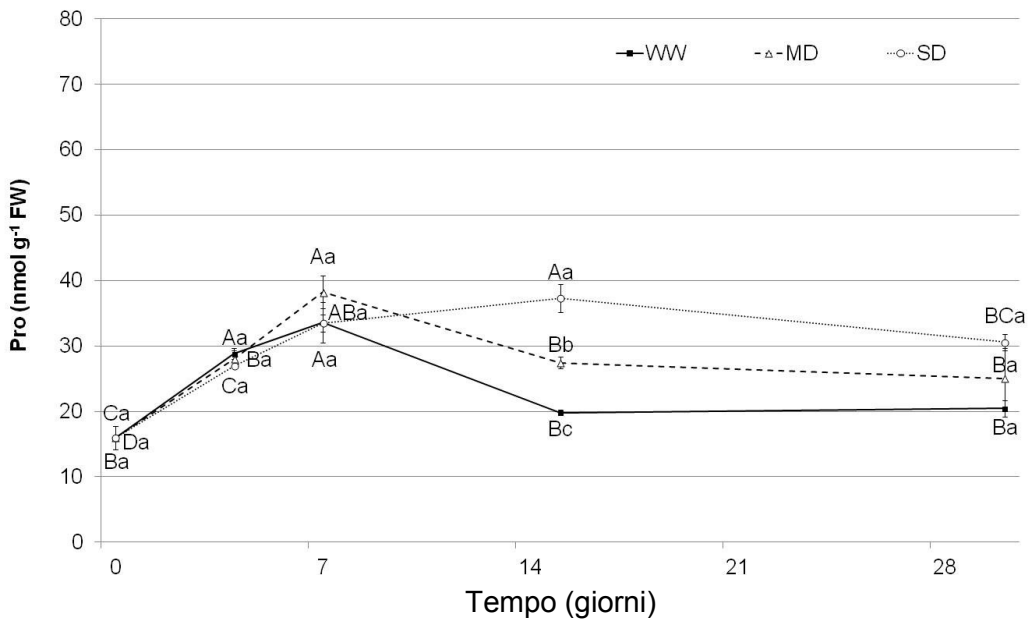


Fig. 5.2.17 - *Photinia*: Effetto dei differenti trattamenti idrici sul contenuto in Prolina (Pro). I dati rappresentano la media ( $\pm$ SE) di 3 repliche.

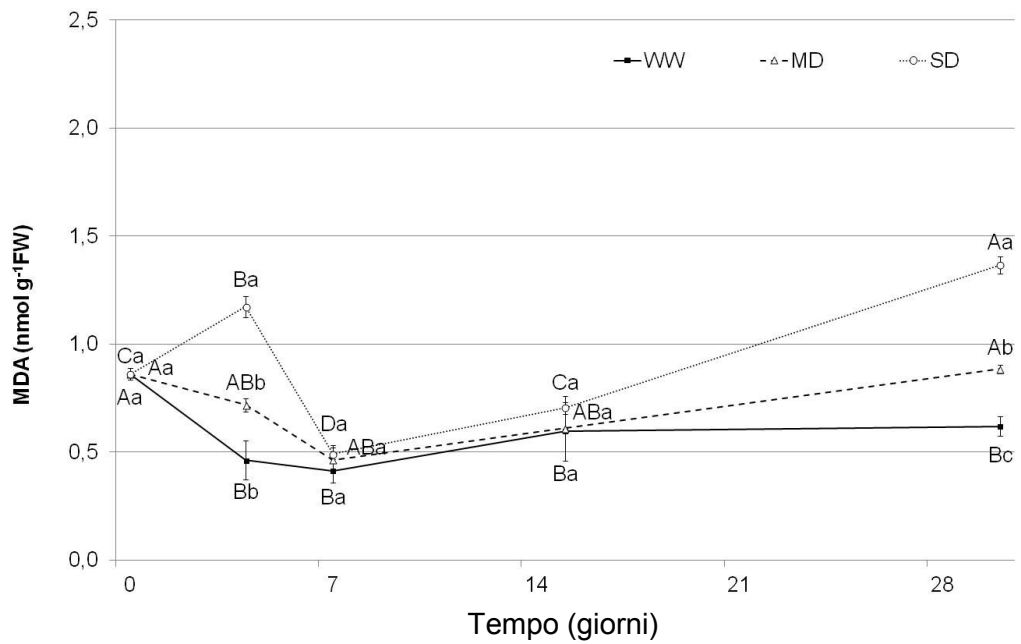


Fig. 5.2.18 - *Eugenia*: effetto dei differenti trattamenti idrici sul contenuto in Malondialdeide (MDA). I dati rappresentano la media ( $\pm$ SE) di 3 repliche.

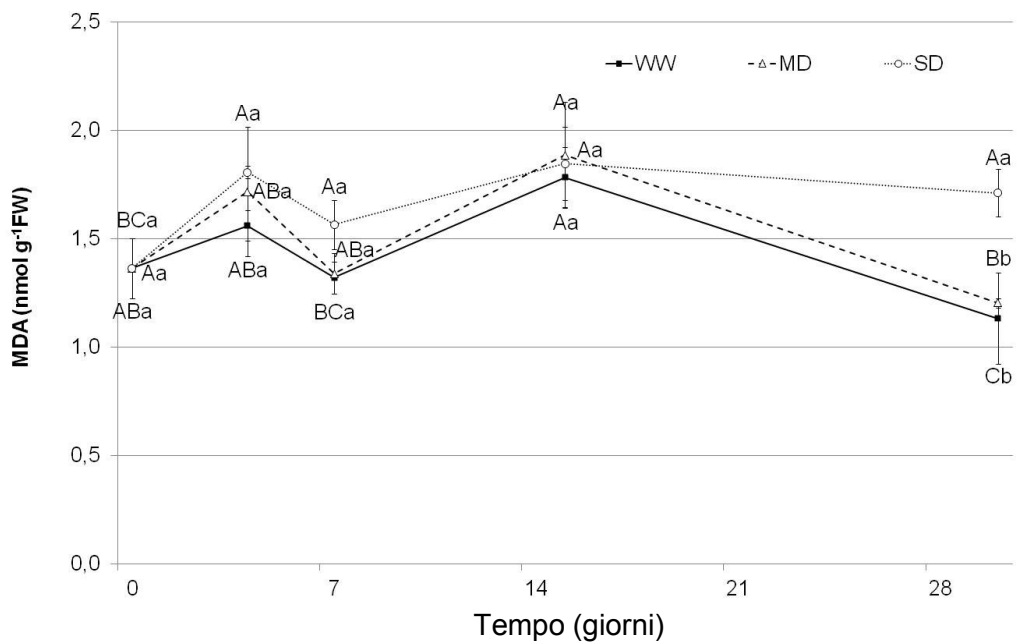


Fig. 5.2.19 - *Photinia*: effetto dei differenti trattamenti idrici sul contenuto in Malondialdeide (MDA). I dati rappresentano la media ( $\pm$ SE) di 3 repliche.

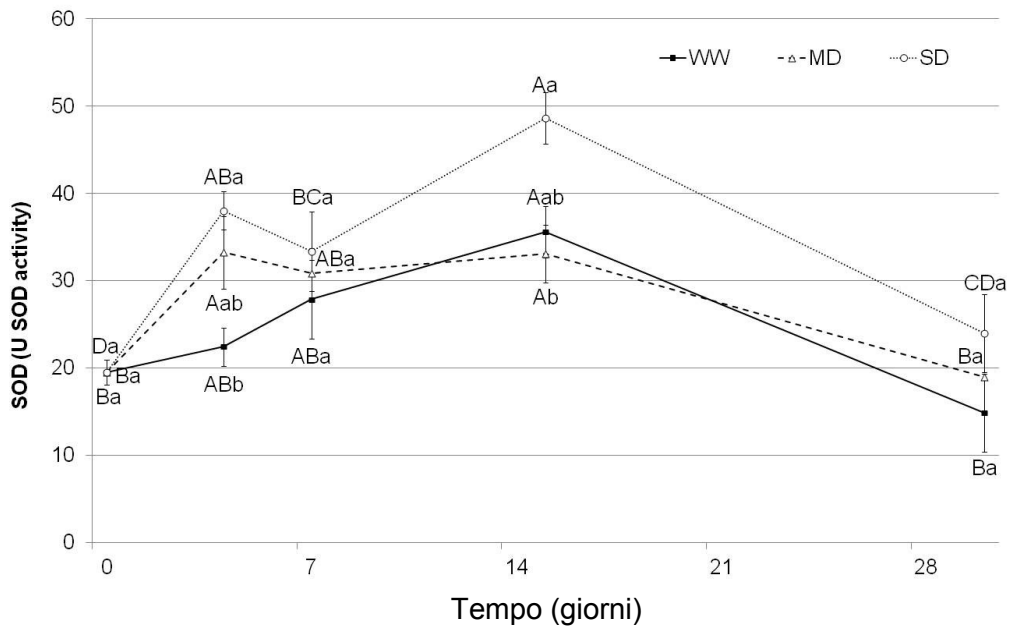


Fig. 5.2.20 - *Eugenia*: effetto dei differenti trattamenti idrici sull'attività di SOD. I dati rappresentano la media ( $\pm$ SE) di 3 repliche.

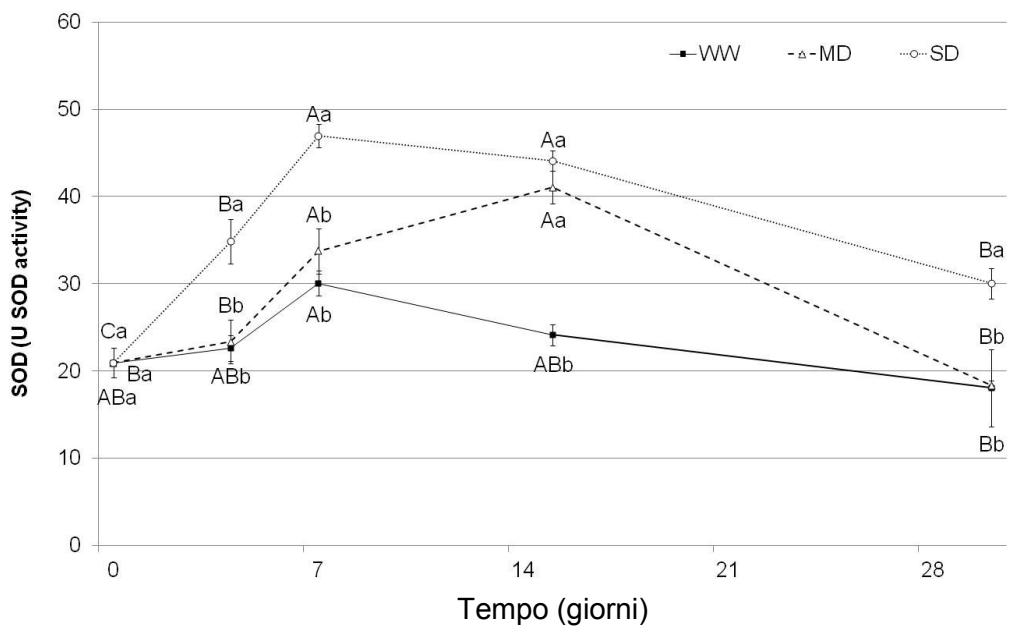


Fig. 5.2.21 - *Photinia*: effetto dei differenti trattamenti idrici sull'attività di SOD. I dati rappresentano la media ( $\pm$ SE) di 3 repliche.

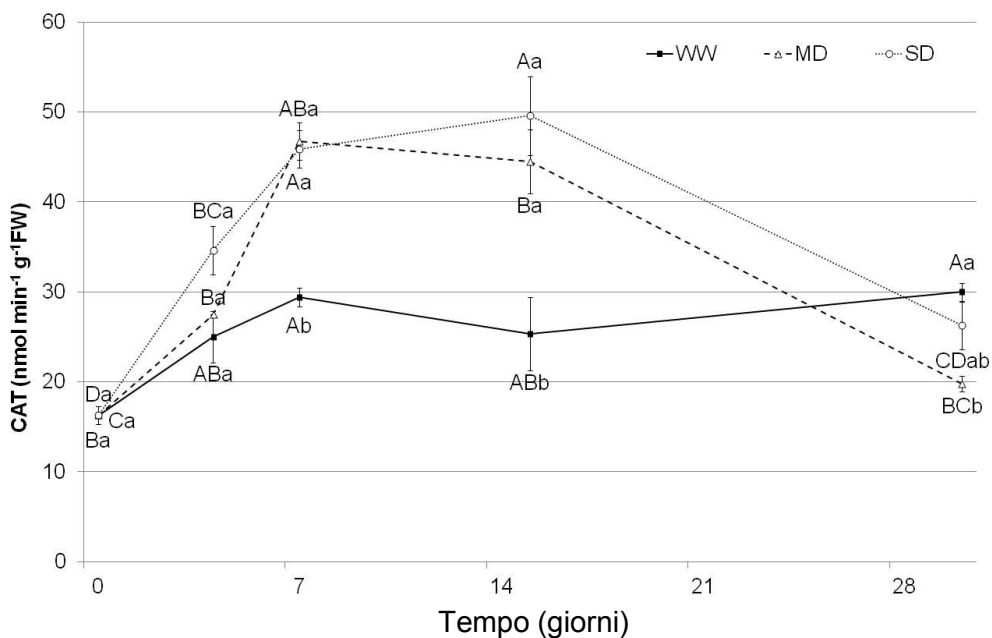


Fig. 5.2.22 - *Eugenia*: effetto dei differenti trattamenti idrici sull'attività di CAT. I dati rappresentano la media ( $\pm$ SE) di 3 repliche.

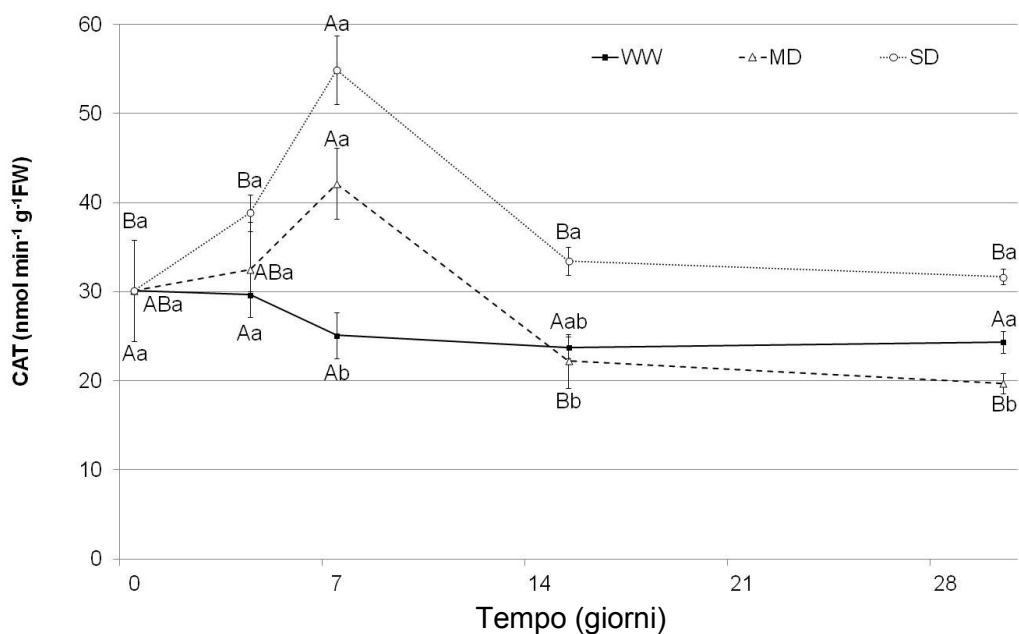


Fig. 5.2.23 - *Photinia*: effetto dei differenti trattamenti idrici sull'attività di CAT. I dati rappresentano la media ( $\pm$ SE) di 3 repliche.

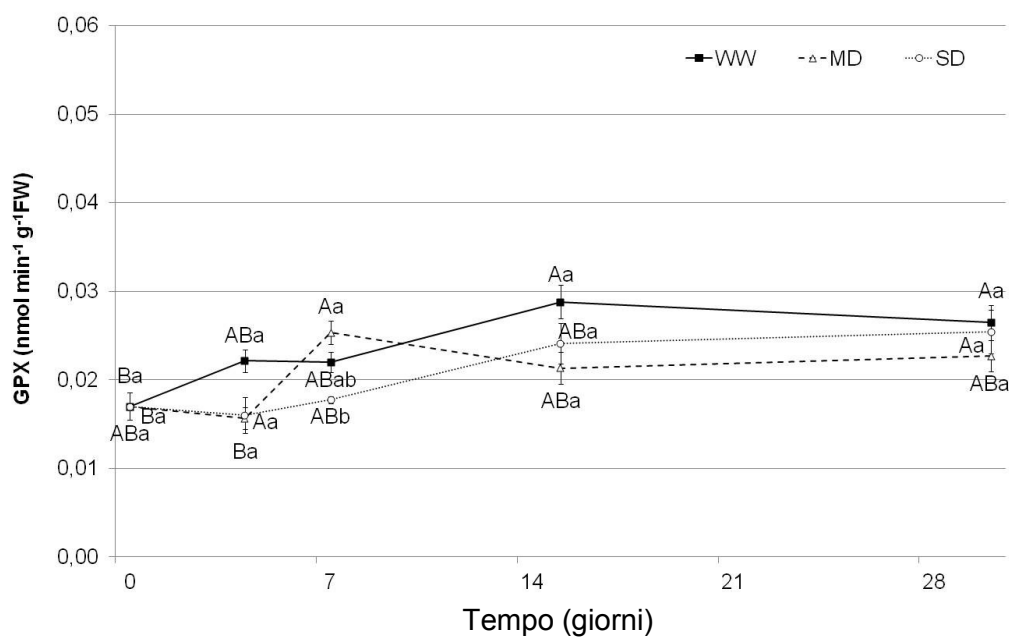


Fig. 5.2.24 - *Eugenia*: effetto dei differenti trattamenti idrici sull'attività di GPX. I dati rappresentano la media ( $\pm$ SE) di 3 repliche.

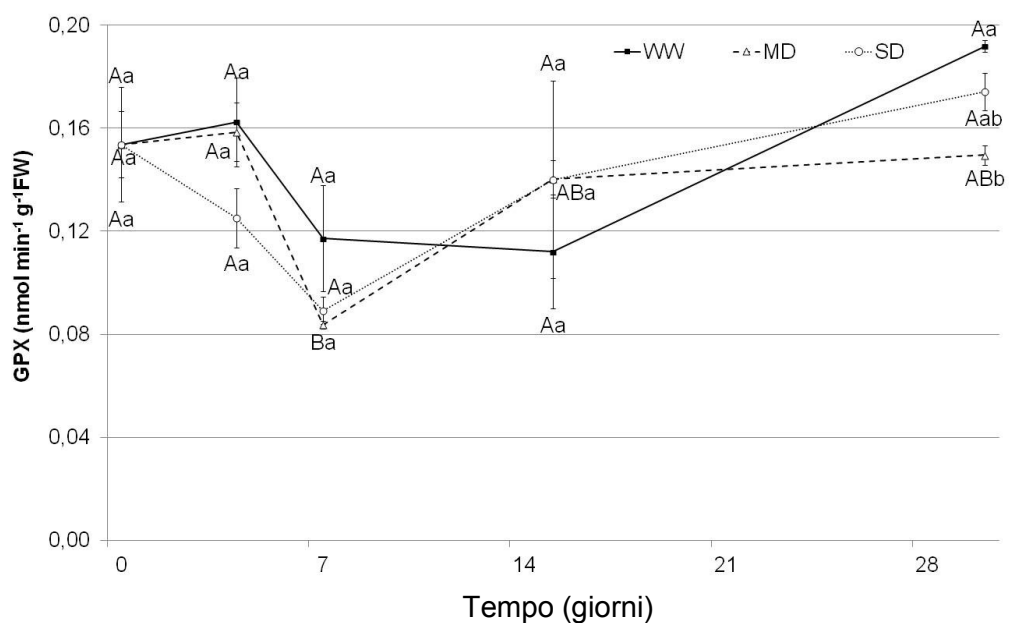


Fig. 5.2.25 - *Photinia*: effetto dei differenti trattamenti idrici sull'attività di GPX. I dati rappresentano la media ( $\pm$ SE) di 3 repliche.



Tab. 5.2.1 - Eugenia: Correlazioni fra i differenti parametri fisiologici e biochimici.

	<b>A</b>	<b>Gs</b>	<b>E</b>	<b>F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub></b>	<b>RWC</b>	<b>CAT</b>	<b>GPX</b>	<b>MDA</b>	<b>SOD</b>	<b>PRO</b>	<b>Chla</b>	<b>Chlb</b>
<b>A</b>	-											
<b>Gs</b>	0.869***	-										
<b>E</b>	0.746***	0.855***	-									
<b>F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub></b>	0.348*	0.186	0.139	-								
<b>RWC</b>	0.350*	0.165	0.127	0.101	-							
<b>CAT</b>	0.312*	0.226	0.197	0.045	0.070	-						
<b>GPX</b>	0.059	0.080	0.129	0.104	0.001	0.000	-					
<b>MDA</b>	0.194	0.125	0.072	0.137	0.218	0.115	0.010	-				
<b>SOD</b>	0.156	0.198	0.229	0.048	0.071	0.032*	0.003	0.010	-			
<b>PRO</b>	0.651***	0.567***	0.454**	0.431**	0.310*	0.178	0.016	0.122	0.051	-		
<b>Chla</b>	0.019	0.012	0.003	0.161	0.069	0.103	0.175	0.024	0.165	0.079	-	
<b>Chlb</b>	0.107	0.098	0.053	0.330*	0.106	0.079	0.134	0.006	0.083	0.315*	0.526***	-

\*, \*\*, \*\*\*, rispettivamente significativo per \*  $P \leq 0.05$ ; \*\*  $P \leq 0.01$ ; \*\*\*  $P \leq 0.001$ .

Tab. 5.2.2 - *Photinia*: Correlazioni fra i differenti parametri fisiologici e biochimici.

	<b>A</b>	<b>Gs</b>	<b>E</b>	<b>F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub></b>	<b>RWC</b>	<b>CAT</b>	<b>GPX</b>	<b>MDA</b>	<b>SOD</b>	<b>PRO</b>	<b>Chl.a</b>	<b>Chl.b</b>
<b>A</b>	-											
<b>Gs</b>	0.826***	-										
<b>E</b>	0.739***	0.864***	-									
<b>F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub></b>	0.482**	0.389*	0.327*	-								
<b>RWC</b>	0.359**	0.390*	0.560***	0.148	-							
<b>CAT</b>	0.040	0.063	0.125	0.058	0.200	-						
<b>GPX</b>	0.000	0.003	0.009	0.005	0.031	0.193	-					
<b>MDA</b>	0.018	0.005	0.024	0.018	0.047	0.000	0.017	-				
<b>SOD</b>	0.321*	0.362*	0.318*	0.338*	0.317*	0.409**	0.134	0.008	-			
<b>PRO</b>	0.139	0.207	0.331*	0.175	0.349*	0.222	0.337*	0.001	0.333*	-		
<b>Chl.a</b>	0.197	0.085	0.035	0.113	0.033	0.032	0.012	0.024	0.009	0.032	-	
<b>Chl.b</b>	0.108	0.045	0.270	0.174	0.228	0.009	0.002	0.000	0.082	0.042	0.536***	-

\*, \*\*, \*\*\*, rispettivamente significativo per \*  $P \leq 0.05$ ; \*\*  $P \leq 0.01$ ; \*\*\*  $P \leq 0.001$ .

### **5.3. Effetti della differente temperatura dell'acqua sulla conducibilità idraulica di sei specie di pini iberici<sup>1</sup>**

#### **5.3.1. Presentazione della problematica**

Al genere *Pinus* appartengono 111 specie (Richardson e Rundel, 1998), sei delle quali autoctone della penisola Iberica: *Pinus uncinata*, *P. sylvestris*, *P. nigra*, *P. pinaster*, *P. pinea* e *P. halepensis*. Queste specie presentano un'interessante distribuzione spaziale correlata alle condizioni geomorfologiche e climatiche di diverse località spagnole (Alià *et al.*, 1996; Prada *et al.*, 1997; Barbero *et al.*, 1998): le prime tre (pini di montagna) sono originarie di climi freddi e quindi sono diffuse tra le più alte catene montuose della penisola, mentre le altre tre (pini di pianura) crescono in ambienti aridi della costa mediterranea.

Numerosi studi hanno dimostrato che le specie arboree mediterranee presentano differenti strategie funzionali in risposta a fattori di stress abiotici (Castro *et al.*, 2004; Cuesta *et al.*, 2010; Villar-Salvador *et al.*, 2004). La risposta allo stress può modificarsi a livello sia inter che intraspecifico e il particolare comportamento ecofisiologico è legato a differente tolleranza e capacità di sopravvivenza e crescita manifestate dai singoli taxa.

Alcuni dati suggeriscono che le condizioni climatiche e geomorfologiche determinano la distribuzione territoriale delle specie vegetali e delle popolazioni attraverso differenti risposte ecofisiologiche dei singoli genotipi agli stress ambientali. Nonostante l'elevato numero di lavori che hanno analizzato le differenze funzionali tra popolazioni all'interno delle specie di pino (Alía *et al.*, 1997; Lòpez *et al.*, 2007), pochi sono gli studi di fisiologia basati sulla comparazione delle specie di pini iberici volti a sostenere la teoria della distribuzione ecofisiologica dei diversi genotipi.

Una conoscenza più approfondita delle risposte ecofisiologiche delle varie specie agli stress ambientali rappresenta, infatti, un importante strumento per le previsioni a medio lungo-termine della dinamica delle specie e delle popolazioni in uno scenario di cambiamento climatico (Zavala, 2004).

---

<sup>1</sup> I risultati dell'attività sviluppata nell'ambito di questa linea di ricerca sono stati documentati in una Nota su *Plant Biosystems* citata in bibliografia (Zuccarini *et al.*, 2014).

Diversi lavori mostrano come la segregazione spaziale dei pini iberici, così come quella di un ampio numero di specie, sia correlata alla siccità estiva e alle basse temperature invernali (per esempio, Terradas e Savé, 1992; Alía *et al.*, 1996; Gil *et al.*, 1996; Prada *et al.*, 1997).

Tale aspetto assume rilevanza se si considera che i cambiamenti climatici attesi determineranno importanti variazioni di temperatura e disponibilità idrica, soprattutto nelle regioni Mediterranee; tali variazioni influiranno anche sulla temperatura del suolo e di conseguenza sugli aspetti connessi al metabolismo dei vegetali come, ad esempio, l'assorbimento dell'acqua (Sheffield e Wood, 2008). In particolare, si prevede che episodi di gelo invernale saranno meno frequenti e più limitati nella durata, ma avranno una maggiore intensità rispetto a quanto accade adesso (Giorgi e Lionello, 2008).

La resistenza idraulica radicale ( $R_h$ ) è un importante parametro per descrivere il comportamento delle piante nei confronti delle condizioni idriche e termiche. Elevati valori di  $R_h$  sono, di solito, associati alla tolleranza alla siccità (comportamento anisoidrico), mentre bassi valori di  $R_h$  sono connessi a comportamenti di "avoidance" alla siccità (comportamento isoidrico) (Tardieu e Simonneau, 1998), ma essi sono anche associati, rispettivamente, a una migliore o peggiore tolleranza al freddo causata dallo stress idrico (Tranquillini, 1982), che presenta meccanismi differenti rispetto a quelli determinati dalle alte temperature (Davis *et al.*, 1999). Il rischio di cavitazione determinato dallo stress da freddo dipende, infatti, dal potenziale idrico nello xilema e dal diametro delle bolle d'aria che si possono formare nello xilema stesso (Yang e Tyree, 1992); queste ultime, a loro volta, dipendono dal diametro del condotto xilematico: un maggiore diametro determina una più elevata suscettibilità all'embolia indotta dal freddo e viceversa (Langan *et al.*, 1997).

In questo senso può essere fatta una distinzione fra le due strategie di difesa nei confronti dello stress da freddo:

- *alberi più adatti ai climi freddi (come le specie sempreverdi)*: essi, di solito, hanno vasi di diametro più piccolo, che gli conferiscono una migliore resistenza alla cavitazione anche con valori molto bassi di potenziale idrico xilematico. Il vantaggio è rappresentato da una continua

crescita durante l'intero arco dell'anno; lo svantaggio è connesso ai ritmi di crescita più bassi.

- *alberi meno tolleranti i climi freddi (come le specie decidue)*: in questo caso i diametri dei loro condotti xilematici sono più grandi, il che assicura una migliore efficienza idraulica nel corso delle stagioni più calde; inoltre, i più elevati volumi di acqua trasportata consentono tassi più alti di scambi gassosi. In presenza di basse temperature, però, questi alberi sono sottoposti a numerosi rischi di cavitazione, perdono le foglie e arrestano la crescita, ripristinando il trasporto idrico solo all'aumentare delle temperature (Wang *et al.*, 1992).

Alcuni autori hanno ipotizzato che la limitata assimilazione di carbonio sia un'alternativa e un meccanismo complementare utile a spiegare la riduzione della crescita degli alberi e la loro mortalità in risposta allo stress idrico da siccità e da gelo (Ward *et al.*, 2005; McDowell *et al.*, 2008; Adams *et al.*, 2009); questa spiegazione, però, non può essere accettata nel caso di alberi di età e taglia ridotta.

Le relazioni idriche della pianta, con particolare attenzione alla fisiologia dei sistemi radicali, svolgono un ruolo centrale nella risposta delle giovani piante allo stress idrico da freddo, poiché la regolazione di Rh deve essere considerata un meccanismo che consente l'assorbimento di acqua, quando questa è disponibile, così da aumentare la crescita della pianta (Bazzaz e Morse, 1991).

In quest'ambito lo scopo della prova è stato quello di caratterizzare il comportamento idraulico di sei differenti specie di pini iberici a temperature dell'acqua e del suolo comprese tra 30 e 0°C, al fine di fornire strumenti ecofisiologici necessari a supportare la teoria della distribuzione spaziale dei pini e di suggerire previsioni nel medio-lungo termine sulla dinamica di specie e popolazioni in uno scenario di cambiamento climatico.

### *5.3.2. Materiali e metodi*

La prova è stata svolta durante il periodo di formazione all'estero, presso l'IRTA di Torre Marimon in Catalogna, Spagna e ha riguardato il confronto della risposta idraulica di giovani piante di sei specie di pino a diverse temperature.

Sono state scelte sei specie di pini native delle penisola Iberica, sulla base della loro diversa diffusione territoriale (montani e marini): *Pinus uncinata*, *P. nigra*, *P. sylvestris*, *P. halepensis*, *P. pinea* e *P. pinaster*.

Le piante di pino, provenienti da una semina effettuata nel marzo del 2012 ad El Serranillo (INIA, Alacalá de Henares, Madrid, Spagna), sono state coltivate in serra, presso l'IRTA, Torre Marimon, Catalogna, in vaso (3,5 L) su substrato, a base di torba e sabbia (40% e 60%, in volume). Gli interventi irrigui sono stati effettuati con cadenza giornaliera adottando un sistema di irrigazione localizzato. All'interno della serra sono stati monitorati i principali parametri microclimatici dell'ambiente tramite sensori collegati con un CR200 della Campbell Scientific LTD.; la densità del flusso fotonico della fotosintesi (PPFD) è stata misurata con un 3668i6 Quantum Light 6 Sensor Bar della Spectrum Technologies (Plainfield, USA). Nella media del periodo la temperatura ha oscillato tra 16 e 28°C, l'umidità relativa tra 50 e 70% e il PPFD a mezzogiorno tra 500 e 1200  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  in base all'entità dell'insolazione e alla presenza delle nuvole.

La traspirazione cuticolare (CT) e lo *Specific Leaf Weight* (SLW) sono stati rilevati nell'estate del 2012 e nell'inverno del 2012-2013 come prova preliminare rivolta a monitorare la risposta di giovani aghi di pino all'invecchiamento e a quei cambiamenti della temperatura, che sono tipici del clima mediterraneo. In entrambe le stagioni, 6 gruppi di 6-10 giovani aghi sono stati selezionati per ciascuna specie e posti in acqua per l'intera notte. Dopo la saturazione, gli aghi sono stati pesati ad intervalli di 5 minuti durante i primi 50 minuti, di 10 minuti nell'ora successiva e ogni 15 minuti nelle 2,5 ore seguenti. La CT parziale è stata calcolata, per ciascun intervallo, come perdita di peso fresco nel periodo di tempo sul peso secco (DW):

$$CT = \frac{\Delta FW}{\Delta t \times DW}$$

dove  $\Delta FW$  corrispondeva alla perdita del peso durante l'intervallo di misura  $\Delta t$ .

Il valore finale di CT è stato calcolato come la media dei valori di CT presi dal momento in cui avveniva la chiusura stomatica [e cioè quando la retta di CT vs. RWC (*Relative Water Content*) cambiava bruscamente].

L'area (A) di ciascun gruppo di aghi è stata determinata con il software WinFolia2009 (Regent Instruments Inc., Switzerland). Gli aghi sono stati essiccati a 60°C fino a peso secco (DW) costante e lo SLW era calcolato come segue:

$$SLW = \frac{DW}{A}$$

Per ciascuna specie sono state prese in considerazione 5 repliche. Il substrato di crescita è stata rimosso, le radici attentamente lavate e le piante lasciate in immersione in acqua di rubinetto per circa 24 ore a 20°C. L'apparato radicale è stato poi separato dalla parte aerea a 3 cm sopra il punto di emergenza della prima radice laterale. Il taglio è stato effettuato in immersione di acqua per prevenire l'ingresso di aria dallo stelo.

La resistenza idraulica è stata misurata sull'apparato radicale integro per avere una migliore accuratezza (Mu *et al.*, 2006). La misurazione è stata effettuata con il metodo proposto da Ramos e Kaufmann (1979), adattato da Savé *et al.* (1995) a quattro differenti temperature dell'acqua (30, 20, 10 e 0°C  $\pm$  5%), che erano ottenute attraverso un bagno termostatico.

L'intero sistema radicale di ciascuna pianta è stato immerso in acqua, all'interno di una camera di Scholander, e lo stelo sporgente dalla camera stessa è stato collegato ad un tubo flessibile di gomma trasparente con un diametro compreso tra 2 e 5 mm (a seconda del diametro dello stelo). È stata quindi applicata una pressione dell'aria di 0,5 MPa e il volume di acqua, che fluiva attraverso le radici nel tubo, è stato misurato 8 volte ad intervalli di 2 minuti. L' $R_h$  è stato successivamente calcolato con la seguente formula:

$$R_h = \frac{P \times L}{J}$$

dove  $R_h$  è la resistenza idraulica (MPa s cm<sup>-2</sup>); P è la pressione applicata (0,5 MPa); L è la lunghezza radicale (cm) e J è il flusso dell'acqua (cm<sup>3</sup> s<sup>-1</sup>).

La lunghezza delle radici è stata misurata con il programma WinRhizo (Regent Instruments Inc.).

$R_h$  è stato successivamente corretto in  $R_{h_{corr}}$ , per tener conto del cambiamento della viscosità dell'acqua a differenti temperature, secondo l'equazione di Sperry per normalizzare la conduttività a 20°C:

$$K' = K \times (0,02698 \times T + 0,456)^{-1}$$

dove  $K'$  è la conduttività corretta;  $T$  è la temperatura;  $K$  è la misura della conduttività.  $K$ , in particolare, è stata calcolata dalla formula  $K = (Rh \text{ L}^{-1})^{-1}$ , in cui  $Rh$  è stata normalizzata alla lunghezza delle radici, ma non  $K$ , per cui  $K' = Rh_{\text{corr}} \times \text{L}^{-1})^{-1}$ .

È stato adottato un disegno sperimentale era a parcelle suddivise con 5 repliche, assegnando la parcella principale alla specie e la sub-parcella alla temperatura. L'analisi statistica è stata effettuata con GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc.). I dati acquisiti nel corso della prova sono stati sottoposti all'analisi della varianza (ANOVA), seguita dal test di Bonferroni sui valori di  $Rh$  e  $Rh_{\text{corr}}$  (specie x temperatura); la regressione lineare è stata effettuata per ciascuna specie tra i valori di  $Rh$  e quelli della temperatura.

### 5.3.3. Risultati

Per tutte le specie, nel passaggio dall'estate all'inverno, TRc è diminuito mentre SLW è significativamente incrementato (**Fig. 5.3.1**). La più elevata riduzione di TRc è stata osservata per *P. pinaster* e *P. uncinata* e in entrambi i casi è apparsa associata con il più elevato incremento in SLW. Una significativa correlazione negativa è stata riscontrata tra  $\Delta\text{TRc}$  e  $\Delta\text{SLW}$  (dati non mostrati).

I valori di  $Rh$  si sono incrementati per tutte le specie in risposta alla riduzione della temperatura, il che ha spiegato il 19.1% della variabilità totale ( $P < 0.001$ , ANOVA a 2 vie) (**Fig. 5.3.2**).

Differenze altamente significative per  $Rh$  sono state trovate in tutte le specie in risposta a tutti i livelli di temperatura esplorati; il fattore "specie" ha spiegato il 60% della variabilità totale ( $P < 0.001$ ) (**Fig. 5.3.2**).

In particolare è stato possibile definire una chiara distinzione in due gruppi tra i pini montani e quelli costieri; i primi, in particolare, hanno mostrato sempre valori di  $Rh$  più elevati. Più specificatamente, il gradiente di  $Rh$  tra le specie seguiva il gradiente altitudinale con il quale le specie si trovano in natura, con la sola eccezione rappresenta dall'inversione tra *P. sylvestris* (che occupa il secondo più alto habitat in natura ma ha presentato il più elevato valore di  $Rh$ ) e *P. uncinata* (habitat più alto e secondo valore in assoluto di  $Rh$ ) (**Fig. 5.3.3**).



L'interazione dei fattori (specie x temperatura) ha spiegato il 10% circa della variabilità totale di Rh ( $P < 0.001$ ); questo indica una risposta dinamica di Rh differente tra le specie ai cambiamenti di temperatura. L'aumento medio di Rh è stato significativamente più marcato per i pini montani rispetto a quelli marittimi (**Fig. 5.3.4**); i primi mostrano rette di regressione con pendenze da 2 a 5 volte più alte rispetto a questi ultimi, i quali rispondevano molto velocemente all'abbassamento di temperatura.

Tutti i pini montani, inoltre, mostravano un aumento del punto di inflessione a temperature comprese tra 20°C e 10°C, mentre i pini costieri presentavano un rapido ma costante incremento di Rh con le temperature più basse (una leggera inflessione è stata rilevata tra 10°C e 0°C per *P. pinea* e *P. pinaster*).

Quando corretto per i cambiamenti nella viscosità dell'acqua,  $Rh_{corr}$  ha mostrato valori più bassi per tutte le specie a tutte le temperature (**Fig. 5.3.3**), ma nessuna differenza significativa è stata osservata tra le temperature per ogni specie in esame. Differenze significative sono state osservate ad ogni temperatura studiata, tra i tre pini montani e tra ciascuno di essi e i tre costieri. I pini costieri hanno mostrato valori omogenei tra loro quando sono stati analizzati separatamente rispetto a quelli di tipo mesico.

#### 5.3.4. *Discussione*

La riduzione significativa di TRc e l'incremento di SLW nel passaggio fra estate e inverno indica per tutte le specie una tipica risposta morfo-funzionale della foglia all'andamento stagionale, tipico dell'ambiente mediterraneo (Clary *et al.*, 2004; Serrano *et al.*, 2005; Galmés *et al.*, 2007 e 2010; Vaughn *et al.*, 2011; Sagrera *et al.*, 2013). La significativa correlazione negativa tra  $\Delta TRc$  e  $\Delta SLW$  sottolinea la riduzione invernale di TRc come una diretta conseguenza dell'*hardening* della foglia connessa all'invecchiamento della foglia stessa (Hadley e Smith, 1994; Richardson *et al.*, 2000); questo andamento può anche essere parzialmente spiegato con la riduzione di TRc, di solito connessa con le basse temperature (Baig e Tranquillini, 1980; Schreiber, 2001).

*P. uncinata* (la specie con l'areale montano) ha mostrato in inverno il più elevato valore di TRc, mentre *P. halepensis* (quella con areale più costiero) è

apparsa caratterizzata dal più basso valore medio. Le altre specie, che in natura presentano una distribuzione altitudinale intermedia tra i due estremi, in precedenza citati, hanno manifestato valori intermedi e paragonabili tra di loro.

È noto che TRc è negativamente correlato con lo spessore della cuticola fogliare (Hajibagheri *et al.*, 1983; Burghardt e Riederer, 2003) e che una cuticola della foglia più spessa è un tipico tratto xeromorfo (Tipton e White, 1995), di solito associato a piante adatte ad ambienti più caldi e secchi.

La conduttanza cuticolare nelle sempreverdi tende ad incrementarsi con l'altitudine, sia a livello intraspecifico (DeLucia e Berlyn, 1984) che interspecifico (Anfodillo *et al.*, 2002). In *Abies balsamea* uno spessore medio della cuticola sulla superficie adassiale dell'ago ha mostrato una riduzione fino al 25% all'aumentare dell'altitudine (DeLucia e Berlyn, 1984). Anfodillo *et al.* (2002) hanno ipotizzato che gli aghi degli alberi che si trovano ai limiti di un bosco presentino una cuticola più spessa rispetto a quelli di pianura e che quindi manifestino una maggiore traspirazione cuticolare. Questo fenomeno è stato chiaramente spiegato da Tranquillini (1982), che ha associato le caratteristiche della cuticola sottile al breve arco temporale in cui la stessa si sviluppa.

Si può concludere quindi che le differenze significative tra *P. halepensis* e *P. uncinata* (i due taxa che occupano i due estremi della distribuzione altitudinale delle specie indagate) siano connesse al diverso spessore della cuticola, il che appare un adattamento specie specifico a condizioni rispettivamente xeriche e più mesiche, finalizzato in *P. halepensis* alla riduzione delle perdite cuticolari dell'acqua.

Le temperature invernali possono limitare la funzionalità idraulica negli alberi (Sakai e Larcher, 1987). L'assorbimento di acqua dalle riserve idriche del suolo è, infatti, molto limitato quando gli strati superiori del terreno, durante i mesi invernali o all'inizio della primavera, sono freddi o congelati (Mellander *et al.*, 2006).

La segregazione tra pini montani e quelli costieri (rispettivamente con valori di Rh alti e bassi) indica una migliore adattabilità dei pini montani allo stress invernale e una maggiore disponibilità idrica rispetto a quelli costieri (**Fig. 5.3.2**). Le basse temperature dell'acqua e del suolo possono causare danni allo stato idrico, conducendo a cavitazione ed embolia nelle piante (Sperry e

Sullivan, 1992; Mayr *et al.*, 2006). In realtà, sia la siccità che il gelo possono causare cavitazione xilematica, ma i meccanismi coinvolti sono totalmente differenti (Willson e Jackson, 2006). Lo stress idrico induce cavitazione attraverso una drastica riduzione del potenziale idrico xilematico, che introduce all'interno dello xilema aria, proveniente dai condotti adiacenti pieni d'aria, determinando fenomeni di cavitazione (Zimmermann, 1983). In questo senso, l'embolia indotta da siccità è scarsamente o non correlata al diametro del vaso, mentre quella causata dal gelo è correlata positivamente al diametro del vaso stesso (Maherali *et al.*, 2004). Con il raffreddamento della linfa, i gas si allontanano dalla soluzione, formando bolle che, una volta che la linfa si congela, rimangono intrappolate nel ghiaccio. Quando la temperatura si innalza di nuovo le bolle possono sia essere riassorbite sia iniziare a formare un nucleo, aumentando sempre più le loro dimensioni e ostacolando l'intero condotto xilematico, portando a fenomeni di cavitazione (Davis *et al.*, 1999). La dissoluzione o la nucleazione delle bolle dipende da diversi fattori; i principali sono la pressione del succo xilematico ( $P_x$ ) e il raggio della bolla ( $R$ ): bassi valori di  $P_x$  ed elevati di  $R$  aumentano la suscettibilità alla cavitazione determinata dal gelo. Più grande è il diametro del condotto, più grande sarà  $R$  e minore sarà  $P_x$  (perché il tasso di traspirazione è più alto). In questo senso, in specie caratterizzate da vasi più ampi possono presentare danni idraulici più gravi durante il periodo di gelo; ciò è confermato da numerose evidenze sperimentali (Lo Gullo e Salleo, 1993; Hacke e Sauter, 1996; Langan *et al.*, 1997; Peguero-Pina *et al.*, 2011).

Per queste ragioni, gli alberi che vivono in ambienti aridi tendono ad avere una conduttività idraulica maggiore (cioè un  $R_h$  inferiore) rispetto agli alberi montani, principalmente a causa del maggiore diametro dei lumen delle tracheidi (Maherali e DeLucia, 2000), che rende, in ultima analisi, il loro sistema idraulico più vulnerabile allo stress da freddo.

L'effetto della bassa temperatura è stato qui studiato per un arco temporale molto breve, in modo che la riduzione osservata nella conduttività idraulica radicale potesse essere, in gran parte, attribuibile alla più elevata viscosità dell'acqua; è stato dimostrato, infatti, che variazioni di viscosità dell'acqua, quando le temperature sono comprese fra 25 e 5°C, possono ridurre la conducibilità radicale fino al 40% (Brodrigg e Hill, 2000). In letteratura, i

cambiamenti di Rh nelle radici in funzione della temperatura sono stati attribuiti a cambiamenti nella fluidità e permeabilità delle membrane (Améglio *et al.*, 1990; Carvajal *et al.*, 1996) o a modifiche nella viscosità dell'acqua (Lopez e Nobel, 1991; Hertel e Steudle, 1997).

La correzione di Rh per i cambiamenti della viscosità dell'acqua a diverse temperature (**Fig. 5.3.3**) ha consentito l'osservazione diretta delle differenze interspecifiche nelle prestazioni idrauliche dei sistemi radicali, indipendentemente dalle proprietà fisiche dell'acqua stessa.

L'unica differenza significativa, che si è mantenuta dopo la correzione dei dati, è quella relativa ai più elevati valori di  $Rh_{corr}$  dei pini di montagna, il che supporta l'ipotesi che le specie arboree adatte a climi più freddi presentano dei diametri dei lumen delle tracheidi minori in modo da prevenire il rischio di embolia in seguito allo stress da freddo (Sperry *et al.*, 2006).

Come è noto, le specie costiere non sono adattate alle basse temperature e per questa ragione mostrano una scarsa regolazione idraulica che provoca una risposta limitata alle variazioni di temperatura (Sakai e Larcher, 1987). La pendenza di Rh che si verifica per l'intervallo termico 30°C - 0°C appare sempre più elevata per i pini montani (**Fig. 5.3.4**), il che indica una risposta idraulica più pronta alla riduzione di temperatura. Inoltre, le tre specie montane mostrano una differente pendenza che dipende dalle diverse altitudini in cui si trovano, mentre per i pini costieri i valori bassi di Rh in risposta alla temperatura dell'acqua non mostrano differenze significative tra le tre specie. Ciò dimostra come i pini di montagna siano meglio in grado di rispondere dal punto di vista idraulico all'insorgenza dello stress da freddo e che questa capacità sia maggiore per le specie che vivono ad altitudini più elevate. D'altra parte, tutti i pini costieri studiati sono apparsi ugualmente vulnerabili allo stress da freddo e al conseguente rischio di embolia. La tolleranza al freddo varia tra le specie e può determinare la distribuzione delle piante perenni (Sakai e Larcher, 1987; Pockman e Sperry, 2000; Cavender-Bares *et al.*, 2005).

La bassa vulnerabilità delle specie di montagna all'embolia indotta da freddo può essere, però, fortemente aumentata dalla contemporanea presenza dello stress idrico (Willson e Jackson, 2006).

Il continuo processo di cambiamento climatico comporterà nel prossimo futuro una progressiva mitigazione del clima e una riduzione delle precipitazioni nelle regioni mediterranee. In base a queste previsioni, gli episodi di gelo a quote più elevate saranno meno frequenti ma avranno la stessa intensità (Giorgi e Lionello, 2008).

Questi fattori esporranno i pini montani, naturalmente adattati allo stress da freddo, anche a stress idrici. Ciò li renderà più vulnerabili al rischio di cavitazione rispetto a quanto lo siano oggi e sarà minacciata la loro sopravvivenza, soprattutto nelle zone più colpite dalla riduzione della disponibilità idrica, producendo importanti cambiamenti nella distribuzione spaziale dei pini iberici. Ad esempio *P. sylvestris* vive nell'habitat caratteristico della "fascia altitudinale arida" delle montagne nell'area mediterranea (Breckle, 2002; Peguero Pina *et al.*, 2011); ciò significa che la specie è soggetta alla combinazione di basse temperature invernali e limitata disponibilità di risorse idriche e questo potrebbe spiegare i valori più elevati di Rh per *P. sylvestris* a tutte le temperature. Tale risultato indica un elevato adattamento al rischio di cavitazione causato dal freddo e dalla siccità. Ma è anche vero che *P. sylvestris* in Spagna raggiunge il limite meridionale del suo habitat naturale (Poyatos *et al.*, 2007); per tale motivo l'ulteriore aumento dell'aridità nella regione del Mediterraneo potrebbe causare l'estinzione di molte popolazioni lungo la penisola Iberica (Poyatos *et al.*, 2008). Potrebbero essere necessari, quindi, studi sul comportamento ecofisiologico dei pini iberici nei confronti degli stress da freddo e da siccità, per ottenere solide basi per spiegare i loro areali di distribuzione e fare previsioni per il futuro.

\*

\*\*\*

I dati ottenuti evidenziano che i pini montani presentano un chiaro meccanismo per evitare l'embolia indotta dal freddo e da stress idrico secondario. Le specie costiere, invece, che non sono adatte alle basse temperature, manifestano una scarsa regolazione idraulica che provoca una reazione limitata ai cambiamenti di temperatura.

Questo diverso comportamento idraulico tra i pini montani e quelli costieri sostiene la segregazione spaziale che si verifica nella penisola Iberica e che, probabilmente, sarà uno dei fattori alla base delle future distribuzioni di specie e popolazioni associate al cambiamento climatico.

In particolare le precipitazioni più scarse combinate con le basse temperature renderanno i pini montani più vulnerabili alla cavitazione rispetto a quanto lo siano oggi e questo causerà importanti cambiamenti nella distribuzione spaziale di specie e popolazioni.

I risultati ottenuti indicano chiaramente come la distribuzione delle specie sia influenzata da gelo e siccità, una combinazione di stress tipicamente mediterranei (Terradas e Savé, 1992), che potrà modificare la composizione stessa del paesaggio (Bazzaz e Morse, 1991). I meccanismi fisiologici coinvolti nella sopravvivenza e nella crescita, correlati con la combinazione di questi stress ambientali, saranno connessi all'adattamento al gelo a livello radicale e alla siccità a livello della chioma (Mooney *et al.*, 1991).

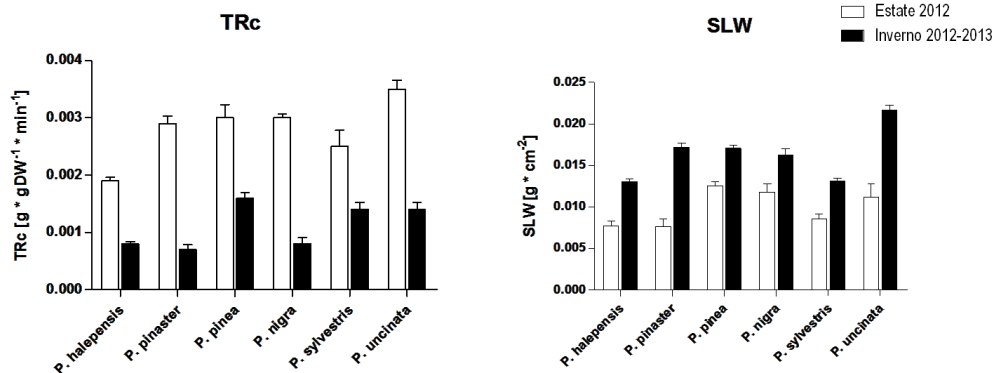


Fig. 5.3.1 - TRc e SLW per ciascuna specie nell'estate del 2012 e nell'inverno 2012-2013.

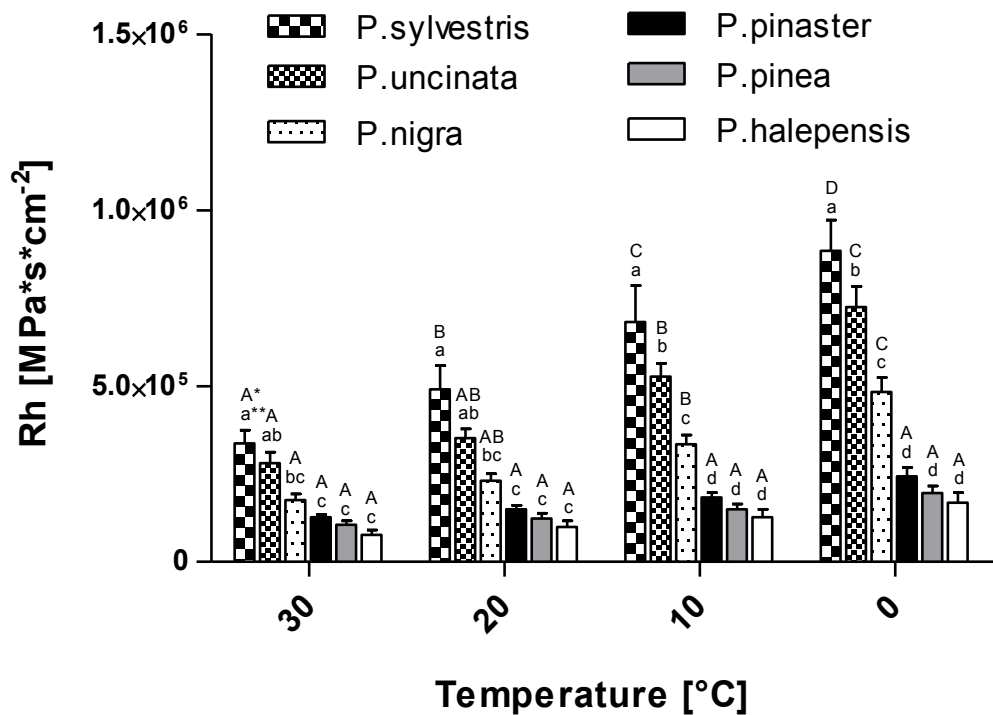
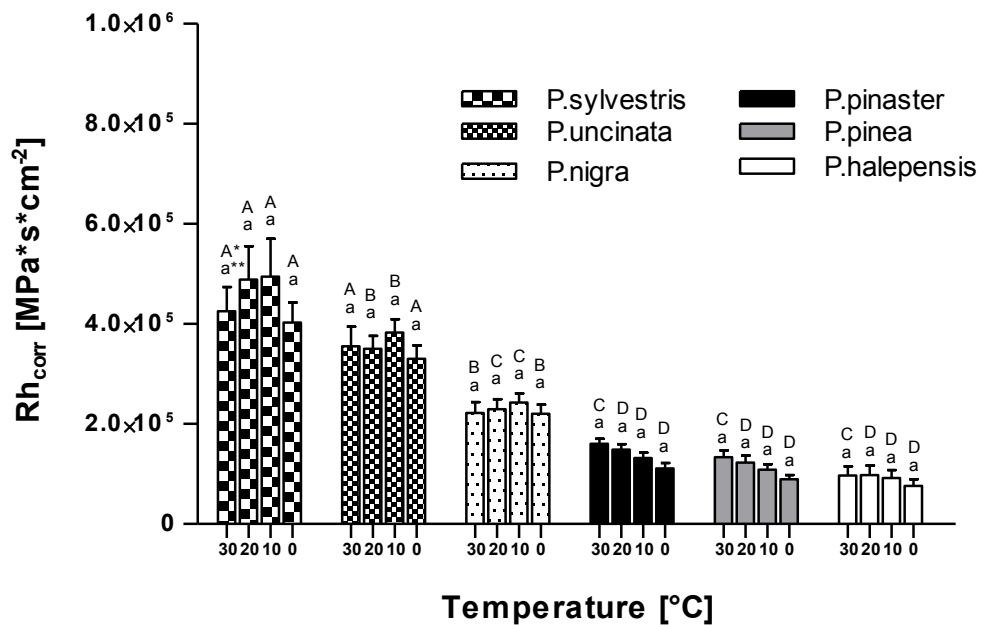
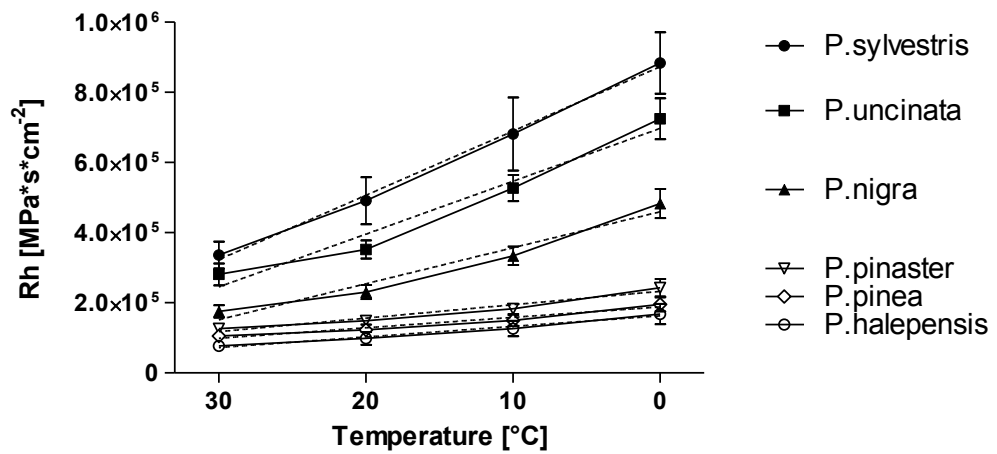


Fig. 5.3.2 – Valori di Rh per tutte le specie per ciascuna temperatura saggata.  
 \* = valori della stessa specie indicati con la stessa lettera non sono statisticamente differenti per  $P < 0.05$ , in base al post-test di Bonferroni.  
 \*\* = valori della stessa temperatura indicati con la stessa lettera non sono statisticamente differenti per  $P < 0.05$ , in base al post-test di Bonferroni.



**Fig. 5.3.3** – Valori di  $Rh_{corr}$  per tutte le specie per ciascuna temperatura saggata.  
 \* = valori di  $Rh_{corr}$  per le diverse specie alla stessa temperatura, indicate con lettere uguali non sono statisticamente significative per  $P < 0.05$  in base al post-test di Bonferroni.  
 \*\* = valori di  $Rh_{corr}$  per la stessa specie a differenti temperature, indicate con lettere uguali non sono statisticamente significative per  $P < 0.05$  in base al post-test di Bonferroni.





Parametri di correlazione	<i>P. sylvestris</i>	<i>P. uncinata</i>	<i>P. nigra</i>	<i>P. pinaster</i>	<i>P. pinea</i>	<i>P. halepensis</i>
Pendenza	15.1x10 <sup>3</sup>	10.3x10 <sup>3</sup>	7.7x10 <sup>3</sup>	3.9x10 <sup>3</sup>	3.0x10 <sup>3</sup>	3.0x10 <sup>3</sup>
r <sup>2</sup>	0.9631	0.9601	0.9968	0.9513	0.9560	0.9786

**Fig. 5.3.4** – Incrementi della pendenza dell'aumento di Rh in corrispondenza della riduzione della temperatura, con i dati della regressione lineare.

#### **5.4. Risposta di *Callistemon citrinus* (Curtis) Skeels e *Viburnum tinus* L. 'Lucidum' ad aerosol marino e surfactanti in condizioni ambientali differenziate**

##### *5.4.1. Presentazione della problematica*

Gli stress abiotici determinano una serie di cambiamenti morfologici, fisiologici, biochimici e molecolari che possono influenzare negativamente la crescita e la produttività delle piante (Wang *et al.*, 2001). Nelle aree costiere, fra i principali fattori di stress di origine naturale, vi sono spray marino, siccità, forte irraggiamento e, spesso, intrusione di acqua salata nella falda (Alessio *et al.*, 2004); tutti questi fattori influenzano il valore ornamentale ed ecologico delle comunità vegetali (Franco *et al.*, 2006; Niu e Rodriguez, 2006b).

Nelle sistemazioni ornamentali delle aree a verde l'esposizione agli aerosol marini può condizionare la crescita e la sopravvivenza di diverse specie (Sánchez-Blanco *et al.*, 2003), al punto da modificarne la stessa composizione (Greaver *et al.*, 2006).

La resistenza all'azione dell'aerosol da parte delle diverse specie è connessa alle caratteristiche delle strutture che proteggono la foglia; a tal proposito è stato dimostrato che la capacità di resistenza si incrementa con l'aumentare dello spessore della cuticola (Bussotti *et al.*, 1995a). Anche se la cuticola protegge la foglia dagli agenti esterni, non può evitare completamente la penetrazione di ioni e i conseguenti stress osmotici e ionici, che inducono una diminuzione della conduttanza stomatica, della fotosintesi e dell'efficienza del fotosistema II (PSII) (Tezara *et al.*, 2003). Ciò limita la diffusione di CO<sub>2</sub> nel mesofillo e può contribuire alla generazione delle specie reattive dell'ossigeno (ROS), che possono provocare danni irreversibili nella pianta (Bowler *et al.*, 1992; Parida e Das, 2005).

Spesso l'attenzione è stata focalizzata sull'effetto del singolo stress che si verifica nelle aree costiere, il che ha portato a una buona ma non completa comprensione del meccanismo di risposta delle piante, mentre più raramente è stata analizzata la risposta all'azione combinata di diversi stress (Mereu *et al.*, 2011).

Nella comprensione dei meccanismi di risposta agli stress ulteriori complicazioni sono legate al fatto che l'effetto dipende fortemente dall'intensità e durata del singolo stress (Niinemets, 2010) e dalla sua interazione con altri stress. Nelle zone costiere mediterranee, in particolare, lo stress da aerosol marino è spesso associato alla presenza di inquinanti antropici che di frequente compromettono la sopravvivenza delle piante (Gonthier *et al.*, 2010).

Di frequente occorre tenere anche conto dell'interazione con le condizioni ambientali: ad esempio, trattamenti con surfactanti effettuati nel tardo autunno e in inverno hanno determinato nelle piante danni più contenuti rispetto a quando gli stessi trattamenti erano effettuati nella stagione più calda (Bussotti *et al.*, 1995b).

Le specie delle aree costiere, in condizioni normali, sono in grado, grazie ai normali meccanismi di difesa, di limitare l'assorbimento di sale marino, ma questi meccanismi possono essere compromessi dalla presenza di surfactanti o tensioattivi (Greene e Bucovak, 1974), che possono esercitare un effetto sinergico negativo rispetto al semplice stress salino (Raddi *et al.*, 2009). Si tratta di molecole organiche, presenti in detersivi, pesticidi e residui dell'industria petrolifera (schiume, oli, emulsioni), capaci di abbassare la tensione superficiale di un liquido e di aumentare quindi la bagnabilità di una superficie (Schramm *et al.*, 2003; Ghose *et al.*, 2009) o la miscibilità tra liquidi diversi.

Il fenomeno appare preoccupante a causa dell'elevata quantità di queste sostanze: è stato stimato, infatti, che le attività condotte dall'uomo comportano l'utilizzo di 50 kg procapite/anno di surfactanti (Savé, 2009); il 10% circa di tali quantità viene rilasciata in mare.

Il danno alla vegetazione costiera è principalmente dovuto all'azione sinergica surfactante-sale, ma anche all'azione diretta del surfactante stesso (Paoletti *et al.*, 2001), responsabile della solubilizzazione delle membrane cellulari (Helenius e Simmons, 1975; Bussotti *et al.*, 1997), dell'aumento della permeabilità delle cuticole (Schreiber *et al.*, 1995) e della dissoluzione delle cere epicuticolari (Gellini *et al.*, 1983, Raddi *et al.*, 1994); tutti questi processi facilitano l'assorbimento fogliare del sale e quindi l'esplicazione dei suoi effetti fitotossici, con conseguente alterazione dei processi fotosintetici (Itoh *et al.*, 1963; Helenius e Simons, 1975; Badot e Badot, 1995; Badot *et al.*, 1995; Rettori *et al.*, 2005).

La fotosintesi è uno dei processi maggiormente colpiti dallo stress salino, anche perché sono danneggiati i pigmenti fotosintetici (Sudhir e Murthy, 2004). In condizioni di stress aumenta la produzione di ROS che compromettono il normale metabolismo della pianta danneggiando i pigmenti fotosintetici (Sharma *et al.*, 2005).

Le piante hanno sviluppato una serie di meccanismi per contrastare gli effetti delle specie reattive dell'ossigeno (Walker-Simmons, 1987; Cassaniti *et al.*, 2013). Questi meccanismi sono generalmente connessi alla produzione di alcuni enzimi antiossidanti, come la superossido dismutasi, la catalasi e la perossidasi. La misura delle attività enzimatiche antiossidanti può quindi essere utilizzata per valutare lo stress ossidativo nelle piante (Ruley *et al.*, 2004).

La stretta relazione tra attività antiossidante e tolleranza allo stress idrico è stata osservata in diverse colture (Malan *et al.*, 1990; Bowler *et al.*, 1992; Perl *et al.*, 1993). Catalasi, guaiacolo perossidasi e L-ascorbato perossidasi sono tutti coinvolti in numerosi processi fisiologici nelle piante in risposta a stress biotici e abiotici. In particolare, questi enzimi sono coinvolti nello *scavenging* di specie reattive dell'ossigeno (ROS).

L'anione superossido è forse il più pericoloso delle ROS; nelle piante, grazie alla superossido dismutasi, può essere convertito in perossido di idrogeno (Alscher *et al.*, 2002). L'anione superossido è, inoltre, un componente essenziale del ciclo ascorbato-glutatione per la detossificazione dei ROS (Nakano e Asada, 1981; Sengupta *et al.*, 1993; Ruley *et al.*, 2004).

I cambiamenti fisiologici nelle piante in condizioni di stress sono segnalati anche dalla presenza di alcune molecole, come la prolina libera (Pro) e la malondialdeide (MDA) che, rispettivamente, svolgono funzione di regolazione osmotica nella pianta e di indicatore della perossidazione dei lipidi della membrana (Deng *et al.*, 2011; Deeba *et al.*, 2012; Deng *et al.*, 2012).

In quest'ambito lo scopo della prova è stato quello di analizzare se e in che misura i danni a carico delle vegetazione ornamentale presente nelle aree costiere siano connessi all'aerosol e/o alla sua interazione con alcuni agenti inquinanti. La reiterazione della prova stessa in due momenti dell'anno, caratterizzati da condizioni termo-radiative differenziate, ha consentito di valutare l'influenza esercitata dai fattori ambientali sull'entità del danno stesso.

Per ottenere tali informazioni sono stati scelti due genotipi: *Callistemon* [*Callistemon citrinus* (Curtis) Skeels] e Viburno (*Viburnum tinus* L. 'Lucidum').

Nel primo caso si tratta di un genere, appartenente alla famiglia delle Myrtaceae, che comprende numerose specie di arbusti o piccoli alberi, tutte endemiche dell'Australia. *Callistemon citrinus*, in particolare, è una delle specie ornamentali più importanti, grazie alle interessanti caratteristiche (crescita rapida, fioritura abbondante con colori brillanti e grande varietà di forme e volumi) (Mitchem, 1993; Lao e Jiménez, 2002). La maggior parte delle specie di *Callistemon* mostra una qualche tolleranza agli stress ambientali, come siccità (Lippi *et al.*, 2005; Álvarez *et al.*, 2011; Álvarez e Sánchez-Blanco, 2013), restrizione radicale ed elevate concentrazioni saline (Lippi *et al.*, 2003; Vernieri *et al.*, 2006b; Mugnai *et al.*, 2009).

Se la risposta di *C. citrinus* a condizioni di stress è in parte nota, anche se non è stata analizzata la sua risposta al sale in interazione con i surfactanti, non molto ampie sono, invece, le informazioni disponibili sul comportamento di *Viburnum tinus* 'Lucidum'. Il genere *Viburnum* (famiglia Adoxaceae) è ricco di oltre 150 specie (Percival, 2005) e il comportamento delle diverse specie nei confronti dello stress salino è piuttosto variabile fra i numerosi genotipi; in particolare *V. tinus* sembra piuttosto sensibile allo stress salino (Percival, 2005), ma la risposta varia fra le diverse cultivar (vedi Prova 5.1), almeno con riferimento alla comparsa di danni sull'apparato fogliare. L'elevata diffusione della cultivar nelle sistemazioni a verde prossime alle aree costiere e le particolari caratteristiche di sclerofillia delle foglie hanno fatto ritenere interessante l'inserimento del genotipo nella prova.

#### **5.4.2. Materiali e metodi**

La prova è stata condotta, in serra, presso il Vivaio "Piante Faro". Sono stati realizzati due cicli di coltivazione, nel periodo gennaio-marzo (GPI) e maggio-luglio (GPII) 2013, caratterizzati da condizione termo-radiative assai differenziate.

Sono stati utilizzati due arbusti ornamentali: *Callistemon citrinus* (Curtis) Skeels e *Viburnum tinus* L. 'Lucidum' caratterizzati da diverso habitus vegetativo e morfologia fogliare.

Il trapianto è stato effettuato rispettivamente a ottobre e a febbraio in vasi di diametro 16 cm (2.7 L), su substrato composto da torba e perlite nel rapporto di 2:1 (v/v) e concimate con 2 g/l di Osmocote Plus (14:13:13 N,P,K + microelementi). L'irrigazione è stata effettuata a cadenza giornaliera mediante l'impiego di microerogatori a goccia dalla portata di 2 L h<sup>-1</sup>.

Le piante sono state sottoposte per 8 settimane al trattamento con 3 differenti soluzioni acquose contenenti: aerosol marino simulato (Elshatshat, 2010) (A), surfactante anionico (dodecilbenzenesolfonato di sodio 82.52%, 50 mg L<sup>-1</sup>) (Sánchez-Blanco *et al.*, 2003) (S) e aerosol marino e surfactante anionico insieme (A+S). Un altro gruppo di piante è stato usato come controllo e trattato solo con acqua distillata (T).

La nebulizzazione, con acqua distillata, acqua salina e/o con surfactante, è stata eseguita manualmente mediante pompe a spalla a cadenza bisettimanale. Per ogni trattamento le piante sono state nebulizzate fino a gocciolamento della chioma, previa protezione della base della pianta stessa con pacciamatura impermeabile, così da evitare il contatto del sale, o dell'acqua distillata utilizzata per il controllo, con il substrato quindi con l'apparato ipogeo.

All'inizio e alla fine della prova sono stati determinati: biomassa fresca e secca di radici, fusti e foglie, lunghezza delle radici, area fogliare, numero foglie, contenuto in clorofilla, contenuto in ioni Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> in foglie e radici.

Il contenuto in clorofilla è stato determinato per estrazione secondo la metodologia proposta da Moran e Porath (1980).

Il danno fogliare è stato determinato come percentuale necrotica (%) sull'area totale delle foglie.

Le concentrazioni degli ioni Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> sono state determinate mediante cromatografia con l'utilizzo di un Dionex IC 25 Ion cromatografo. Le concentrazioni sono state espresse in g kg<sup>-1</sup> DW (Giuffrida *et al.*, 2013).

Durante il corso della prova sono stati monitorati i principali parametri microclimatici dell'ambiente, mediante un datalogger CR200 della Campbell Scientific a cui sono stati collegati vari sensori. Le temperature medie registrate durante il GPI e GPII sono state rispettivamente 13.4 e 21.4°C e l'umidità relativa è stata pari nell'ordine a 86.0 e 76.0% (**Fig. 5.4.1**).

A fine prova sono stati determinati i seguenti parametri fisiologici: tasso di traspirazione, fotosintesi netta, conduttanza stomatica, fluorescenza della clorofilla a e RWC.

Le misurazioni degli scambi gassosi sono state effettuate impiegando un Gas Exchange Analyzer della ADC (LCi, ADC Bioscientific Ltd., Hoddesdon, UK). Tasso di traspirazione (E), fotosintesi netta (A) e conduttanza stomatica (Gs) sono stati misurati su foglie mature, completamente espanse; tutte le misurazioni sono state condotte in condizioni di cielo sereno dalle ore 10:00 alle 13:00.

L'analisi della fluorescenza della clorofilla a è stata eseguita *in vivo* utilizzando un fluorimetro portatile "OS1-FL Modulated Fluorometer" della OPTI-SCIENCES.

RWC è stato determinato su foglie completamente espanse.

Altre valutazioni hanno riguardato il contenuto di Pro, MDA e la risposta degli enzimi antiossidanti: SOD, CAT, GPX che si attivano, in seguito allo stress, per contrastare l'azione dei ROS.

La quantità di prolina libera è stata determinata secondo il metodo di Bates *et al.* (1973) corretto da Ahmad *et al.* (2008). MDA è stato determinato secondo Heath e Packer (1968), come riportato da Li *et al.* (2010). L'attività di SOD è stata saggiata in accordo al metodo di Giannopolitis e Ries (1977). CAT è stata determinata secondo il metodo di Aebi (1984), rivisto da Aguilera *et al.*, 2002. L'attività GPX è stata valutata secondo il metodo descritto da Ruley *et al.* (2004).

È stato adottato uno schema sperimentale a parcelle suddivise, assegnando la parcella intera al ciclo di coltivazione e la subparcella al fattore di stress. L'analisi statistica è stata realizzata usando CoStat 6.311 (CoHort Software, Monterey, CA, USA). I dati acquisiti nel corso della prova sono stati sottoposti all'analisi della varianza (ANOVA). Le interazioni, quando significative, sono presentate separatamente nelle figure. Le differenze tra le medie sono state determinate secondo il test di Student-Newman-Keuls (SNK) per  $P \leq 0.05$ .

#### **5.4.3. Risultati**

I due genotipi allo studio hanno reagito in maniera diversa ai fattori allo studio.

In **Callistemon**, la biomassa secca totale e la sua distribuzione si sono modificati sostanzialmente per effetto dei fattori allo studio e spesso per la loro interazione (**Tab. 5.4.1**). La biomassa totale, in particolare, ha presentato variazioni più contenute nel primo ciclo, per effetto dei trattamenti con soluzione salina e surfactanti da soli o associati, e differenze più rilevanti nel secondo ciclo, quando le piante hanno usufruito di valori più elevati del complesso fototermico (**Fig. 5.4.2**).

Le variazioni hanno riguardato, in particolare, la biomassa epigea e in particolare quella delle foglie (**Fig. 5.4.3** e **Fig. 5.4.4**) e sono apparse di segno concorde a quelle fatte registrare dalla biomassa totale. Le variazioni registrate per il fusto, pur se significative per effetto del ciclo di coltivazione e dei diversi trattamenti alle foglie, non hanno evidenziato effetti di interazione (**Tab. 5.4.1**). La biomassa delle radici si è modificata, invece, solo per effetto del ciclo (**Tab. 5.4.1**). Il rapporto fra biomassa ipogea e quella totale è apparso più elevato nel primo ciclo soprattutto per le tesi variamente stressate, mentre nel secondo ciclo colturale non ha manifestato variazioni significative tra le tesi a confronto (**Fig. 5.4.5**).

L'area fogliare nel primo ciclo si è ridotta significativamente rispetto al testimone, in tutte le tesi variamente stressate, mentre nel secondo ciclo ha presentato decurtazioni significative solo quando era prevista la somministrazione di sale, da solo o in associazione con il surfactante (**Tab. 5.4.2** e **Fig. 5.4.6**). Il risultato è stato solo parzialmente coincidente con quello fatto registrare dal numero di foglie (**Fig. 5.4.7**), a causa di alcune variazioni nell'area fogliare unitaria (**Fig. 5.4.8**).

Lo SLA ha manifestato delle riduzioni nelle tesi variamente stressate rispetto al controllo nel primo ciclo colturale, mentre nel secondo le differenze si sono attenuate e non sono apparse significative (**Fig. 5.4.9**).

Il contenuto in clorofilla è stato più elevato soprattutto in corrispondenza del primo ciclo e per la tesi trattata con surfactante; in tutte le altre condizioni le differenze sono apparse più attenuate e valori in assoluto più bassi sono stati registrati nelle tesi che prevedevano la presenza del sale nella soluzione spruzzata alle foglie (A e A+S) (**Fig. 5.4.10**).



Gli indici di crescita hanno mostrato anch'essi variazioni rilevanti per effetto dei fattori allo studio (**Tab. 5.4.3**). Ad eccezione del NAR che si è modificato solo a causa dei trattamenti alle foglie, in tutti gli altri casi sono stati osservati effetti di interazione: soprattutto nel secondo ciclo (almeno per RGR e LAR) la somministrazione di surfactanti alle foglie non ha determinato variazioni rispetto al controllo, mentre la somministrazione di soluzioni saline (A e A+S) ha comportato delle riduzioni sensibili rispetto ai valori fatti registrare dalle piante della tesi di controllo (**Figg. 5.4.11 e 5.4.12**); per LWR, invece, le riduzioni per le tesi variamente stressate si sono evidenziate solo in corrispondenza del primo ciclo e non del secondo (**Fig. 5.4.13**).

Il contenuto di ioni  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  nelle foglie e nelle radici ha quasi sempre manifestato variazioni rilevanti per effetto dell'interazione fra i fattori allo studio (**Tab. 5.4.4**): il sodio, in particolare, solo nella porzioni epigea, ha fatto evidenziare concentrazioni più elevate nelle tesi che prevedevano la somministrazione della soluzione salina da sola o in associazione dei surfactanti soprattutto nel secondo ciclo, quando si è osservato nella tesi A+S un effetto sinergico (**Fig. 5.4.14**); nessuna variazione si è invece osservata nel contenuto dello ione nell'apparato ipogeo, ad eccezione di quella legata al ciclo di coltivazione (**Tab. 5.4.4**).

Il cloro ha fatto evidenziare sia nelle foglie che nelle radici contenuti più elevati in corrispondenza del secondo ciclo e delle tesi che prevedevano la somministrazione all'apparato epigeo di sale, da solo o con surfactanti (**Figg. 5.4.15 e 5.4.16**). Nel primo ciclo colturale le differenze tra le tesi sono apparse più lievi e significative solo per quanto riguardava la concentrazione di  $\text{Cl}^-$  nelle foglie (**Fig. 5.4.15**).

Le percentuali di danno alle foglie hanno presentato variazioni riconducibili solo al trattamento con aerosol marino; in particolare si è osservato un effetto sinergico del trattamento con la soluzione salina e surfactanti che ha incrementato la percentuale di area necrotizzata delle foglie (**Tab. 5.4.4**).

I parametri fisiologici allo studio hanno in genere manifestato variazioni direttamente riconducibili ai trattamenti alla chioma (**Tab. 5.4.5**). La conduttanza stomatica, invece, ha manifestato variazioni solo per effetto del ciclo di coltivazione. La fotosintesi ha mostrato chiari effetti di interazione fra i fattori allo

studio: in particolare, soprattutto nel primo ciclo colturale, si sono osservate differenze tra la tesi testimone e quella trattata con surfactanti rispetto alle altre che prevedevano la somministrazione di una soluzione salina, da sola e soprattutto in associazione con surfactanti (**Fig. 5.4.17**). Nel secondo ciclo le differenze sono apparse più attenuate anche se tendenzialmente le piante delle tesi A e A+S hanno presentato dei valori inferiori, che non hanno raggiunto la soglia della significatività.

La fluorescenza della clorofilla, espressa dal rapporto Fv/Fm, ha mostrato variazioni significative per effetto dei diversi trattamenti all'apparato fogliare: è stata soprattutto la presenza di sale nella soluzione acquosa che ha ridotto il rapporto, con un chiaro effetto sinergico negativo che si è registrato per la tesi A+S (**Tab. 5.4.5**).

Nessuna variazione di rilievo si è evidenziata per RWC (**Tab. 5.4.5**).

La prolina ha mostrato in entrambi i cicli valori progressivamente più elevati per le tesi che prevedevano la somministrazione di sale alle foglie (A e A+S); valori in assoluto più elevati si sono avuti quando all'aerosol marino si è aggiunto l'effetto del surfactante (**Fig. 5.4.18**).

L'andamento di MDA non ha presentato delle variazioni significative tra le tesi allo studio; nel primo ciclo fino al 5° giorno i valori tendenzialmente più elevati sono stati registrati per le tesi A ed A+S; in seguito contenuti tendenzialmente superiori sono stati rilevati per la tesi testimone e per quella che prevedeva la somministrazione del surfactante da solo. Nel secondo ciclo valori tendenzialmente più elevati, anche se non significativi, sono stati registrati a partire dal 7° giorno per la tesi T e S (**Fig. 5.4.19**).

L'andamento del contenuto degli enzimi antiossidanti ha mostrato, nelle tesi variamente stressate, un incremento nei primi giorni dopo il primo trattamento rispetto alla tesi di controllo.

SOD nel primo ciclo non ha fatto evidenziare variazioni significative, anche se valori tendenzialmente più elevati sono stati riscontrati nelle tesi A ed A+S. Nel secondo periodo colturale la tesi che prevedeva la somministrazione di aerosol marino ha manifestato valori più elevati dell'enzima, soprattutto in corrispondenza del rilievo effettuato il 7° giorno (**Fig. 5.4.20**).

I valori di CAT nel primo ciclo sono apparsi tendenzialmente più elevati in corrispondenza del rilievo effettuato il 7° giorno, anche se non hanno raggiunto la soglia della significatività; nel secondo ciclo le differenze tra controllo e tesi variamente stressate si sono accentuate in corrispondenza dei rilievi del 2°, 7° e 15° giorno (**Fig. 5.4.21**).

GPX ha mostrato valori più bassi nella tesi testimone e in quella con surfactanti nel primo ciclo, in corrispondenza dei rilievi effettuati al 7° e 15° giorno, mentre nel secondo periodo di coltivazione valori più elevati si sono osservati in corrispondenza del rilievo finale nella tesi A+S che prevedeva la somministrazione sia di sale che di surfactanti (**Fig. 5.4.22**).

In **Viburno** la biomassa totale si è modificata solo per effetto dei trattamenti alla chioma: in entrambe le tesi che prevedevano la somministrazione del sale (A e A+S) si è notata una riduzione di tale parametro (**Tab. 5.4.6**). La variazione è apparsa soprattutto connessa a quella della biomassa epigea e in particolare delle foglie. La biomassa delle radici ha presentato variazioni molto contenute, anche se significative solo per effetto del ciclo di coltivazione. Il rapporto fra la biomassa ipogea e quella totale è apparso più alto nel primo ciclo e nelle tesi stressate, anche se ha raggiunto la soglia della significatività solo nella tesi che prevedeva la somministrazione contemporanea alle foglie di sale e surfactanti (A+S).

L'apparato fotosintetico ha manifestato variazioni per effetto dei fattori allo studio (**Tab. 5.4.7**). L'area fogliare si è ridotta solo a causa delle somministrazioni di aerosol alle foglie, soprattutto quando era prevista la presenza di sale (A e A+S); il numero di foglie per pianta si è ridotto nel secondo ciclo; grazie alle più elevate dimensioni unitarie delle foglie stesse, non si sono osservate variazioni significative a carico dell'area fogliare dell'intera pianta. Lo SLA è apparso più elevato nel primo ciclo e nella tesi testimone rispetto a quella che aveva previsto la somministrazione alle foglie sia di sale che di surfactanti (A+S). Il contenuto di clorofilla ha presentato un valore più elevato nel primo ciclo in corrispondenza della tesi S, con un netto decremento nelle tesi che prevedevano l'uso di sale (A e A+S), mentre nel secondo ciclo le differenze tra i trattamenti alle foglie non sono apparse significative (**Fig. 5.4.23**).

Gli indici di crescita si sono modificati quasi tutti, ad eccezione del NAR, per effetto dei fattori allo studio (**Tab. 5.4.8**). L'RGR è apparso più elevato nel secondo ciclo e nelle tesi in cui non era prevista somministrazione di sale alle foglie. Stesso andamento hanno anche presentato LAR e LWR.

Il contenuto di ioni ha quasi sempre presentato variazioni direttamente riconducibili alla somministrazione di aerosol alle foglie (**Tab. 5.4.9**). Il contenuto di Na<sup>+</sup> nell'apparato epigeo è apparso più elevato nelle tesi A e A+S, mentre in quello epigeo si sono osservati valori più elevati nel primo ciclo e nella tesi che prevedeva la somministrazione all'apparato fogliare di una soluzione di sale e surfactante (A+S). Il contenuto di cloro nell'apparato epigeo ha mostrato chiari effetti di interazione: in entrambi i cicli i valori più elevati sono stati registrati per le tesi A ed A+S; nel secondo ciclo, però, le differenze si sono accentuate sempre a favore di queste due tesi (**Fig. 5.4.24**). Nelle radici, invece, le variazioni del contenuto di questo elemento sono apparse legate solo al ciclo di coltivazione (**Tab. 5.4.9**).

La percentuale di danno alle foglie si è incrementata significativamente, per effetto della somministrazione di sale alle foglie, sia quando spruzzato da solo che insieme al surfactante; nel corso del primo ciclo, in particolare, i danni sono apparsi più evidenti per le tesi A ed A+S; nel secondo ciclo le differenze si sono ridotte, così come i valori della superficie necrotizzata e sono apparsi più elevati nella tesi A che prevedeva la somministrazione di aerosol marino da solo; la somministrazione insieme al sale di surfactanti ha ridotto la percentuale di area fogliare danneggiata (**Fig. 5.4.25**).

I parametri fisiologici hanno presentato variazioni che solo in parte sono apparsi legati ai diversi trattamenti alle foglie (**Tab. 5.4.10**). Il tasso di traspirazione è apparso più elevato nel secondo ciclo in corrispondenza di valori della temperatura più elevati, la conduttanza stomatica non ha fatto evidenziare variazioni significative per i fattori allo studio; la fotosintesi netta è stata più elevata nel primo ciclo e nelle tesi che non prevedevano la somministrazione di sale all'apparato fogliare. La fluorescenza della clorofilla è apparsa più elevata nel primo ciclo. RWC ha presentato valori più elevati quando era prevista la somministrazione della soluzione salina, da sola (A) o in associazione con il

surfactante (A+S), mentre valori più bassi in assoluto si sono osservati quando era somministrato il surfactante da solo (S) (**Tab. 5.4.10**).

La prolina ha fatto registrare valori molto bassi nel primo ciclo e non differenti fra le tesi allo studio; in corrispondenza del secondo ciclo, invece, si è osservato un netto incremento dell'amminoacido nella tesi A+S soprattutto in coincidenza con il rilievo finale (**Fig. 5.4.26**).

MDA ha presentato valori più elevati per la tesi A rispetto a tutte le altre in corrispondenza del rilievo effettuato al 5° giorno nel primo ciclo; nel secondo periodo di coltivazione valori più elevati sono stati osservati per la tesi S nel rilievo effettuato il 5° giorno e per la tesi testimone a partire dal campionamento effettuato il 7° giorno (**Fig. 5.4.27**).

L'andamento di SOD è apparso differenziato tra i due cicli. In quello avviato a gennaio si è osservato un incremento, almeno per la tesi S, fino al 5° giorno e poi una progressiva riduzione, mentre per il secondo ciclo, il contenuto dell'enzima si è incrementato fino al 15° giorno; valori più elevati hanno presentato (almeno nel rilievo del 5° giorno) le tesi che prevedevano l'impiego del surfactante da solo o con il sale (**Fig. 5.4.28**).

L'andamento di CAT ha fatto osservare un picco per la tesi A in corrispondenza del rilievo del 5° giorno per il primo ciclo e del 7° giorno per il secondo (**Fig. 5.4.29**).

I valori di GPX sono stati molto più elevati nel primo ciclo rispetto al secondo, quando non si sono osservate variazioni di rilievo fra le tesi allo studio ad eccezione del rilievo effettuato il 7° giorno per le tesi variamente stressate rispetto al testimone. Nel ciclo avviato a gennaio si è osservato un aumento progressivo del valore dell'enzima soprattutto per la tesi A (**Fig. 5.4.30**).

#### **5.4.4. Discussione**

Le prove condotte in ambiente controllato hanno evidenziato il diverso grado di suscettibilità delle due specie allo studio, come dimostrato in numerosi lavori (Sánchez-Blanco *et al.*, 2003) che hanno accertato come la risposta all'azione di aerosol marino, con o senza surfactanti, sia tipicamente specie specifica. I due genotipi hanno comunque dimostrato, in maggior misura il Viburno, una discreta tolleranza al surfactante quando somministrato da solo,

mentre i danni si sono resi più evidenti nelle tesi che prevedavano la somministrazione di aerosol marino, da solo o in associazione con il surfactante.

È stato notato da più parti che l'effetto dell'aerosol marino dipende dalla specie, che può manifestare da pochi danni, come nel caso di *Limonium pectinatum*, a necrosi estese alle foglie e/o riduzione della crescita come osservato in *Argyranthemum coronopifolium* (Sánchez-Blanco *et al.*, 2003), fino ad arrivare alla morte.

In genere la presenza di danni meno evidenti è associata a specie che manifestano un elevato livello di tolleranza al sale (Sykes e Wilson, 1988; Greipsson *et al.*, 1997).

Nelle nostre indagini l'effetto del surfactante sintetico utilizzato da solo non ha quasi mai determinato danni diretti in nessuna delle due specie allo studio. Questo in parte contrasterebbe con quanto riscontrato da altri autori (Bussotti *et al.*, 1995a), ma occorre sempre tenere presente che la suscettibilità è anche funzione del tipo e della dose di surfactante. In particolare, mentre i lavori di Bussotti *et al.* (1995b) hanno riguardato specie nell'ambiente naturale, sottoposte a surfactanti diversi, nel nostro lavoro abbiamo adottato il tipo e la dose di surfactante utilizzato nel lavoro di Sánchez-Blanco *et al.*, (2003); occorre sottolineare, però, che in questo lavoro sono stati riscontrati marcati effetti depressivi anche su specie di norma presenti lungo le aree costiere e che quindi dovevano essere particolarmente attrezzati a contrastare tale stress.

Le condizioni ambientali hanno esercitato la loro influenza su entrambe le specie: in *Callistemon*, in particolare, per molti dei parametri analizzati si sono evidenziati chiari effetti di interazione fra i fattori allo studio (condizioni ambientali e trattamenti alle foglie).

Gli effetti depressivi dell'aerosol marino da solo o con il surfactante si sono resi manifesti con maggiore evidenza spesso in corrispondenza del primo ciclo che ha intercettato livelli termici più bassi; tali risultati sono in contrasto con quanto rilevato da Bussotti *et al.* (1995b) che, operando nell'ambiente, naturale avevano riscontrato che gli effetti depressivi si amplificano con la stagione calda.

Il fatto comunque che le piante trattate con la soluzione salina, con o senza l'aggiunta di surfactante, abbiano presentato riduzioni più o meno accentuate nella crescita suggerisce, come riscontrato da altri autori (Cassaniti *et*

*al.*, 2012) che la deposizione di sale sulle foglie eserciti un effetto tossico. L'ipotesi è confermata dalle analisi chimiche delle foglie che hanno confermato come le foglie con una maggiore concentrazione di Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> siano state prelevate da piante che hanno presentato una più accentuata riduzione della biomassa e una più elevata percentuale di foglie danneggiate.

I danni si sono esercitati soprattutto a carico della porzione epigea e dell'apparato fotosintetizzante. La presenza del surfactante, almeno in *Callistemon*, ha accentuato la percentuale del danno alla superficie fogliare; ciò potrebbe essere legato alla capacità di solubilizzazione delle membrane da parte di queste sostanze, che facilita l'ingresso del sale (Bussotti *et al.*, 2007).

Il danneggiamento delle foglie, e quindi la riduzione degli scambi gassosi, ha comportato una riduzione significativa del RGR, del NAR e del LAR, il che indica che sia l'espansione delle foglie che la stessa attività fotosintetica siano state influenzate negativamente dal sale (Morales *et al.*, 1997). In ogni caso la tolleranza all'esposizione del sale dipende dalla capacità della pianta di evitare l'accumulo di sali nel germoglio (Crawford, 1989) e dalle strategie per minimizzare gli effetti della salinità (Yeo e Flowers, 1986; Erdei *et al.*, 1990). Cheplick e Demetri (1999) hanno ipotizzato che la quantità di sale che si deposita sui germogli sia la causa principale di riduzione della crescita. Un importante aspetto della tolleranza al sale delle piante è la loro capacità di escludere e compartimentalizzare ioni tossici, come Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> (Boursier e Läuchli, 1989). Nel nostro caso, invece, il sale non è stato escluso dal mesofillo e soprattutto, nonostante l'accortezza di coprire la superficie del vaso, si è trasferito nell'apparato ipogeo, ad attestazione di evidenti fenomeni di traslocazione degli ioni nell'apparato radicale che sono apparsi più evidenti per il Cl<sup>-</sup> nel *Callistemon* e il Na<sup>+</sup> in *Viburno*.

Lo studio del RWC non ha mostrato importanti aggiustamenti osmotici nelle due specie nel corso della prova. Solo in *Viburno* sono stati osservati valori più elevati nelle foglie delle tesi che prevedevano la somministrazione del surfactante da solo o in associazione con la soluzione salina. Questo maggior turgore, però, non è apparso in grado di consentire il mantenimento del ritmo di crescita, a conferma che l'espansione cellulare non è strettamente correlata con il mantenimento del turgore poiché esso dipende anche da altri processi

metabolici (Kramer, 1988; van Volkenburg e Boyer, 1985). Nell'esperimento la presenza di Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> nell'aerosol marino produce i suoi effetti tossici in entrambe le specie riducendo la crescita, la conduttanza stomatica fogliare e la fotosintesi. Questo effetto depressivo non è apparso più marcato per effetto del surfactante.

L'assorbimento fogliare del sale attraverso le foglie può avvenire per via stomatica (Greene e Bukavac, 1974) e per penetrazione cuticolare (Schönherr e Bauer, 1992). Un fattore molto importante nel determinare l'assorbimento cuticolare è l'umidità relativa dell'ambiente (Schreiber *et al.*, 2001). L'idratazione e la dissoluzione del sale è determinata dal suo punto di deliquescenza (POD) e cioè quell'umidità alla quale la soluzione contiene sale solido. Se l'umidità è superiore al punto di POD il sale residuo sulla cuticola assorbe acqua dall'atmosfera (Schlegel e Schörrherr, 2002), si dissolve e gli ioni possono essere assorbiti dalla cuticola (Elshatshat, 2010). Nelle condizioni in cui si è operato nel lavoro, l'elevata umidità relativa ha sicuramente favorito l'assorbimento del sale tramite questa via. Tale assorbimento riduce la conduttanza stomatica e la fotosintesi.

La risposta della specie all'aerosol marino sembra essere correlato al grado di resistenza alla salinità. Entrambe le specie sembrano essere idonee a poter essere utilizzate vicino le aree costiere, anche se il Viburno, forse a causa delle particolari strutture fogliari sembra in grado di resistere meglio al fattore di stress, almeno per quanto riguarda le caratteristiche delle foglie.

Le differenze anatomiche e morfologiche tra le specie (maggiori dimensioni e foglie sclerofille in Viburno, presenza di peli ghiandolari nella pagina inferiore delle foglie di Callistemon) potrebbero essere correlate alla risposta all'esposizione del sale, come rilevato in altre specie (Sánchez-Blanco *et al.*, 2004). È stato anche suggerito che la diversa permeabilità della cuticola e anche la stessa dimensione della foglia (Tan e Crabtree, 1994) nelle differenti specie possa limitare il tasso di assorbimento della foglia (Schönherr, 1993). L'impatto della salinità sui parametri della fotosintesi riscontrato nella nostra indagine è stato riportato in numerosi studi (Tattini e Traversi, 2008; Mugnai *et al.*, 2009).

È noto che la salinità riduce la fotosintesi netta, la traspirazione e la conduttanza stomatica in numerose specie (Lakshmi *et al.*, 1996; Tezara *et al.*, 2002; Burman *et al.*, 2003), incrementa il contenuto di clorofilla con bassi livelli di



salinità (Winicov e Button, 1991; Locy *et al.*, 1996) e degrada la clorofilla stessa ad elevati livelli di salinità (Malibari *et al.*, 1993; Salama *et al.*, 1994).

La riduzione della fotosintesi dovuta al sale può essere determinata da limitazione stomatica a causa della chiusura degli stomi (De Pascale e Barbieri, 1995; Goldstein *et al.*, 1996; Bacelor *et al.*, 2007), può essere svincolata dalla limitazione stomatica (Drew *et al.*, 1990) o può essere connessa a chiusura stomatica, con bassi livelli di sali nei tessuti e a disturbi dell'attività fotosintetica quando la concentrazione nei tessuti arriva ad elevati livelli. Koyro (2006) ha suggerito che la riduzione nella conduttanza rappresenta un meccanismo adattativo per superare l'eccesso di sale riducendo la quantità di sale stesso nelle foglie a un livello sub-tossico, aumentando così la longevità delle foglie rispetto a quando il tasso di traspirazione non diminuisce.

La riduzione della superficie fogliare, registrata nelle tesi stressate dalla somministrazione dell'aerosol marino, deve essere considerata un meccanismo di *avoidance* per minimizzare l'acqua persa in condizioni di stress. È ben noto che la salinità riduce la crescita di arbusti non alofiti (Azza Mazher *et al.*, 2007). L'accumulo di Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> nelle foglie è stato correlato con la riduzione della crescita (Garcia-Legaz *et al.*, 2005). Quando l'accumulo di Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> nei tessuti delle piante non presenta sintomi di necrosi suggerisce un certo grado di compartimentalizzazione del sale ed esclusione attraverso il citoplasma (Sánchez-Blanco *et al.*, 2004; Rodriguez *et al.*, 2005).

Per quanto riguarda la fluorescenza si sono osservati, almeno in *Callistemon* delle riduzioni rilevanti per effetto del trattamento con aerosol marino e soprattutto quando questo era associato al surfactante, mentre in *Viburno* le variazioni sono apparse legate solo al periodo di coltivazione. Il fatto che i valori delle piante stressate non si siano modificati di molto rispetto al controllo sembrerebbe dimostrare che, almeno nella seconda specie, non vi siano stati danni apparenti al sistema fotosintetico (Álvarez *et al.*, 2012). Molti studi usano un decremento dell'efficienza massima del PSII in foglie adattate al buio (Fv/Fm) come un indice affidabile della risposta a diversi stress. È stato suggerito che un valore inferiore a 0.83 è tipico di una pianta stressata (Maxwell e Johnson, 2000). Altri ricercatori, però, hanno suggerito che alcune specie non possono essere considerate stressate quando il valore del rapporto Fv/Fm è anche più basso

(Colom e Vazzana, 2003; Percival *et al.*, 2006; Bacelar *et al.*, 2007). In *Callistemon* il valore raggiunto nella tesi A+S (0.63) sembrerebbe attestare i danni al fotosistema II.

In nessuno dei due genotipi allo studio, però, è stata osservata una riduzione dei valori di Fv/Fm in corrispondenza della stagione più calda, come riscontrato da altri autori che hanno operato su arbusti ornamentali (Mugnai *et al.*, 2009; Ferrante *et al.*, 2011).

Come è noto lo stress determina variazioni dei livelli di prolina libera; fra i possibili ruoli che riveste nei confronti di elevati livelli salini, vi è la capacità di osmoregolazione, in quanto funge da osmolita, di stabilizzare le proteine, di regolare il pH citosolico e di *scavenging* dei radicali idrossili (Matysik *et al.*, 2002; De Carvalho *et al.*, 2013). Le piante quindi accumulano soluti compatibili, quali la prolina, in risposta allo stress, per facilitare l'assorbimento di acqua e proteggere le cellule dall'accumulo di ROS (Ashraf e Foolad, 2007). Nella nostra indagine in genere sono stati riscontrati valori più elevati nelle tesi che prevedevano la somministrazione di aerosol marino da solo e soprattutto se questo era in associazione con il surfactante.

La perossidazione della membrana lipidica è un indicatore del danno della membrana di fenomeni di *leakage* in condizioni di stress salino (Katsuhara *et al.*, 2005). Valori bassi di MDA in piante sottoposte allo stress salino, come in parte si è verificato in *Viburno*, sono indice di resistenza al fattore subottimale, come è stato riscontrato in alcune cultivar di *Sesamum indicum* (Koca *et al.*, 2007) o di tabacco (Ruiz *et al.*, 2005). Nelle piante sottoposte a condizioni di stress in genere si osserva un incremento del contenuto di MDA (Filippou *et al.*, 2014).

Un'elevata attività di SOD è in genere accompagnata da un incremento dell'attività dei principali enzimi *scavenging* di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, quale APX, CAT e POX, e quindi testimonia una buona tolleranza allo stress (Chaparzadeh *et al.*, 2004). Nei nostri risultati si è osservato un netto incremento per le tesi che prevedevano la somministrazione salina in entrambe le specie; in *Callistemon*, l'effetto depressivo e il conseguente incremento dell'attività di SOD è apparso più ampio quando era presente nella soluzione il surfactante, mentre in *Viburno* in presenza dell'inquinante si sono osservati valori più contenuti.

CAT è il principale enzima *scavenging* di forti ossidanti, quale H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, che converte in acqua e in ossigeno molecolare (Willekens *et al.*, 1995). Anche per questo indice, strettamente connesso con l'attività di SOD, si è notato un netto incremento in Callistemon per le tesi che prevedevano la somministrazione di sale e di sale e surfactante, mentre in Viburno l'innalzamento dei valori si è osservato soprattutto nella tesi che prevedeva la somministrazione dell'aerosol marino. In entrambi i casi la reazione al fattore di stress testimonia che siamo davanti a genotipi che esprimono una qualche resistenza allo stress in parola.

L'attività di GPX, coordinata con quella di SOD e di CAT e APX, svolge un ruolo centrale di protezione nei processi di *scavenging* di O<sub>2</sub><sup>-</sup> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Badawi *et al.*, 2004); sembra, inoltre, che l'attività di questi enzimi sia correlata, almeno in parte, con la tolleranza agli stress ossidativi indotti dalla salinità (Meloni *et al.*, 2003). È stato comunque ipotizzato che mentre CAT è tra i più importanti enzimi *scavenging* nelle foglie, GPX, che è un agente non specifico della perossidasi, possa agire soprattutto a livello dell'apparato radicale (de Azevedo Neto *et al.*, 2006). In ogni caso i nostri risultati attestano che anche nelle foglie si sono osservati, nelle tesi maggiormente stressate (aerosol e aerosol più surfactante in Callistemon e aerosol da solo in Viburno), dei valori nettamente più elevati rispetto al controllo.

\*

\*\*\*

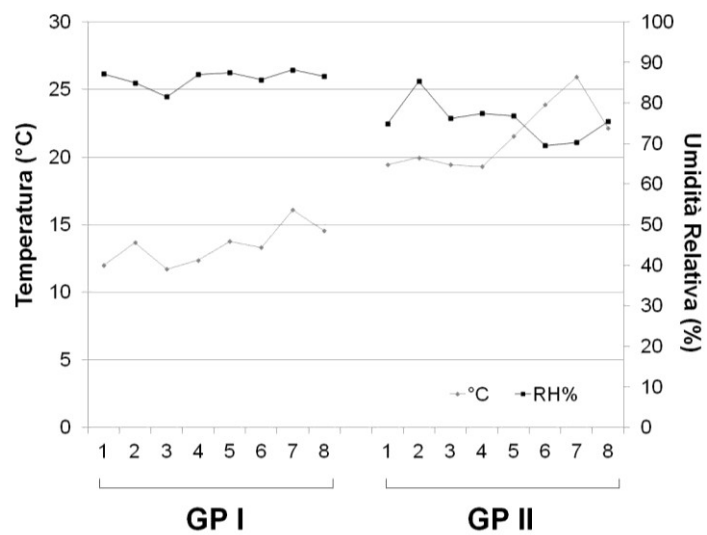
I dati ottenuti, considerati nel loro complesso, attestano, come riscontrato da numerosi autori, che la risposta allo stress determinato da aerosol e surfactanti dipenda dalla suscettibilità del genotipo e quindi sia di tipo specie specifico.

L'effetto del surfactante da solo, forse a causa delle caratteristiche delle lamine fogliari delle due specie utilizzate nella prova, non ha determinato effetti dannosi rilevanti; solo per alcuni parametri la somministrazione del inquinante insieme alla soluzione salina ha accentuato l'effetto negativo determinato dall'aerosol marino.

L'azione tossica esercitata dal sale ha fortemente compromesso i parametri morfobiometrici, soprattutto dell'apparato fogliare, il che si è riflesso negativamente sugli scambi gassosi e su altri parametri fisiologici.

Le determinazioni biochimiche hanno consentito di comprendere meglio i meccanismi della risposta allo stress.

Le condizioni ambientali hanno esercitato la loro influenza su entrambi i genotipi per molti dei parametri analizzati. In *Callistemon*, in particolare, sono stati rilevati numerosi effetti significativi di interazione tra i fattori allo studio (ciclo colturale e trattamenti alle foglie) ad attestazione che la risposta ad un fattore di stress si possa modificare a causa delle mutevoli condizioni del complesso fototermico.



**Fig. 5.4.1** - Andamento della temperatura e dell'umidità nel corso della settimana della prova.

**Tab. 5.4.1 – *Callistemon*:** biomassa secca della pianta, ripartizione della stessa nelle diverse porzioni organografiche in rapporto ai fattori allo studio.

Ciclo	Trattamenti	Biomassa totale (g)	Biomassa epigea (g)	Biomassa foglie (g)	Biomassa fusto (g)	Biomassa radici (g)	Ipogea /totale
I		8.87b	5.31b	3.83b	1.49b	3.56a	0.41a
II		16.81a	14.33a	10.95a	3.38a	2.48b	0.15b
	T	15.65a	12.22a	9.33a	2.89a	3.43a	0.24
	A	11.27b	8.39b	6.13b	2.25ab	2.88ab	0.29
	S	13.85a	10.74a	8.16a	2.57ab	3.11ab	0.29
	A+S	10.65b	7.94b	5.92b	2.02b	2.65b	0.28
<b>Significatività</b>							
Ciclo (C)		***	***	***	**	***	***
Trattamento (T)		***	***	***	*	*	NS
CXT		**	**	**	NS	NS	**

In questa tabella e nelle successive, valori indicati con la stessa lettera non sono statisticamente differenti per  $P \leq 0.05$ , secondo il test di Student-Newman-Keuls.

**Tab. 5.4.2 – *Callistemon*:** caratteristiche dell'apparato fotosintetico in rapporto ai fattori allo studio.

Ciclo	Trattamenti	Area fogliare (cm <sup>2</sup> pianta <sup>-1</sup> )	N° foglie (n. pianta <sup>-1</sup> )	Area fogliare unitaria (cm <sup>2</sup> )	SLA (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	Chl (µg cm <sup>-2</sup> )
I		248.43b	74.96b	3.34b	60.56	41.0a
II		714.30a	188.00a	3.84a	66.29	31.2b
	T	651.66a	173.00a	3.74	74.68a	37.1b
	A	402.81b	112.00b	3.51	61.87b	29.3c
	S	475.45b	114.67b	3.96	54.38b	43.6a
	A+S	395.54b	126.25b	3.26	62.76b	34.5b
<b>Significatività</b>						
Ciclo (C)		***	***	*	NS	***
Trattamento (T)		***	***	NS	**	***
CXT		*	**	*	**	**

**Tab. 5.4.3 – *Callistemon*:** variazioni degli indici di crescita in rapporto ai fattori allo studio.

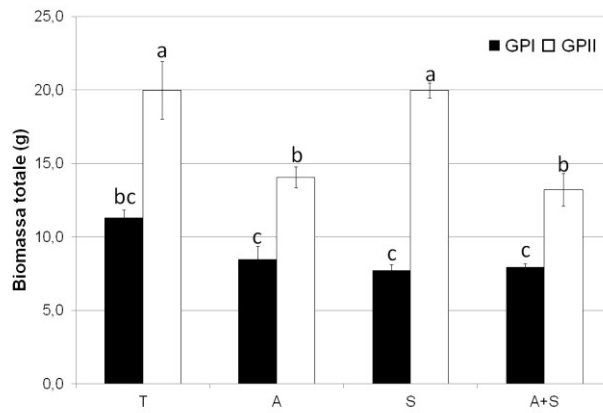
Ciclo	Trattamenti	RGR 10 <sup>-2</sup> (g g <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	NAR (g m <sup>-2</sup> d <sup>-1</sup> )	LAR 10 <sup>-2</sup> (m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	LWR 10 <sup>-2</sup> (g g <sup>-1</sup> )
I		0.49b	2.46	0.20b	37.32b
II		0.60a	2.07	0.29a	53.18a
	T	0.77a	2.75a	0.28a	47.42a
	A	0.45bc	2.05ab	0.23b	43.98b
	S	0.58b	2.58ab	0.22b	44.70b
	A+S	0.39c	1.69b	0.24b	44.89b
<b>Significatività</b>					
Ciclo (C)		*	NS	***	***
Trattamento (T)		***	*	**	*
CXT		*	NS	**	**

**Tab. 5.4.4 – *Callistemon*:** contenuto in ioni nelle diverse porzioni organografiche e danno fogliare in rapporto ai fattori allo studio.

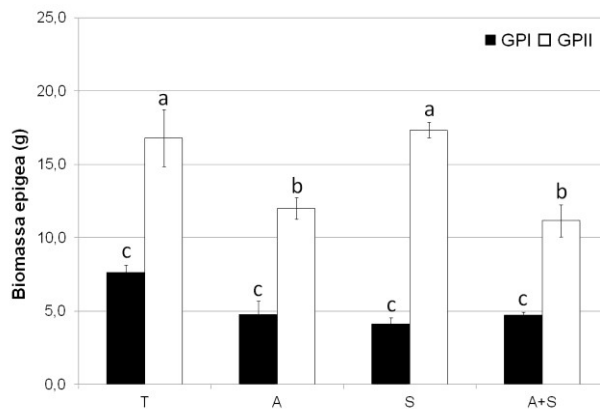
Ciclo	Trattamenti	Na <sup>+</sup> foglie (g kg <sup>-1</sup> DW)	Cl <sup>-</sup> foglie (g kg <sup>-1</sup> DW)	Na <sup>+</sup> radici (g kg <sup>-1</sup> DW)	Cl <sup>-</sup> radici (g kg <sup>-1</sup> DW)	Danno foglie (%)
I		10.23a	8.80b	4.69b	3.38b	7.39
II		15.16b	31.10a	5.97a	6.42a	8.95
	T	2.79b	6.41c	5.75	3.89b	0.00c
	A	21.46a	36.54a	5.71	5.75a	16.75b
	S	1.44b	3.46c	4.82	4.05b	0.07c
	A+S	25.11a	33.19b	4.94	5.89a	24.02a
<b>Significatività</b>						
Ciclo (C)		***	***	*	***	NS
Trattamento (T)		***	***	NS	***	***
CXT		***	***	NS	***	NS

**Tab. 5.4.5 – *Callistemon*:** valori dei diversi parametri fisiologici rilevati in rapporto ai fattori allo studio.

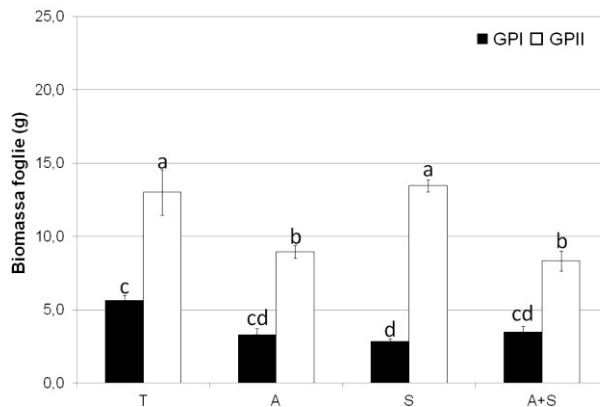
Ciclo	Trattamenti	E (mmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	Gs (mmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	A <sub>N</sub> (μmol cm <sup>-2</sup> )	Fv/Fm	RWC (%)
I		1.49	112.08a	2.84	0.73	94.78
II		1.18	58.33b	2.92	0.74	95.62
	T	1.21ab	99.17	4.02a	0.80a	95.28
	A	1.75a	99.17	2.03b	0.71b	95.97
	S	1.32ab	84.38	3.25a	0.79a	95.88
	A+S	0.99b	58.33	1.56b	0.63c	93.67
<b>Significatività</b>						
Ciclo (C)		NS	***	NS	NS	NS
Trattamento (T)		*	NS	***	***	NS
CXT		NS	NS	**	NS	NS



**Fig. 5.4.2 – *Callistemon*:** biomassa secca totale in rapporto ai fattori allo studio. In questa figura e nelle successive, valori indicati con la stessa lettera non sono statisticamente differenti per  $P \leq 0.05$ , secondo il test di Student-Newman-Keuls.



**Fig. 5.4.3 – *Callistemon*:** biomassa epigea in rapporto ai fattori allo studio.



**Fig. 5.4.4 – *Callistemon*:** biomassa secca delle foglie in rapporto ai fattori allo studio.



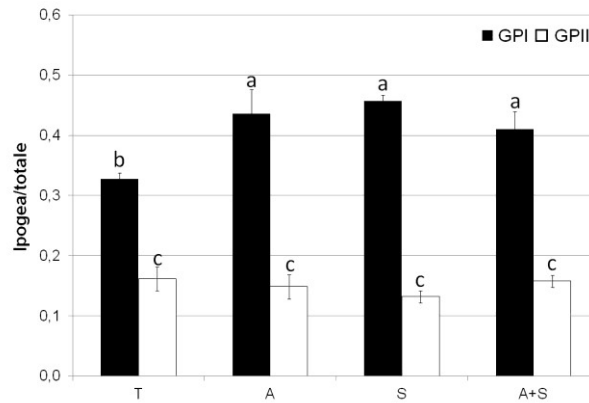


Fig. 5.4.5 – *Callistemon*: rapporto biomassa ipogea su biomassa totale in rapporto ai fattori allo studio.

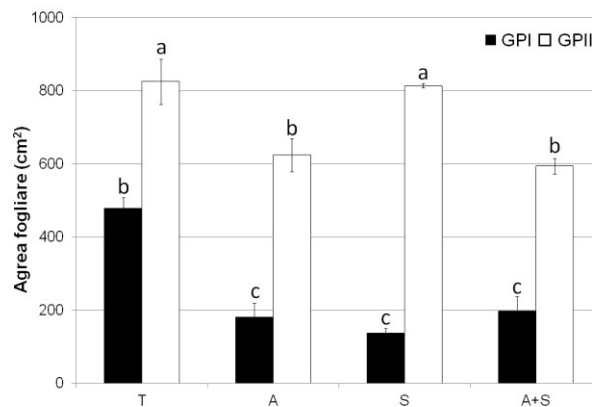


Fig. 5.4.6 – *Callistemon*: area fogliare in rapporto ai fattori allo studio.

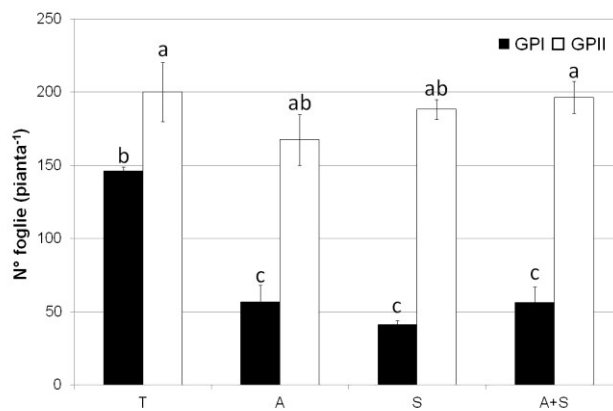


Fig. 5.4.7 – *Callistemon*: numero foglie in rapporto ai fattori allo studio.

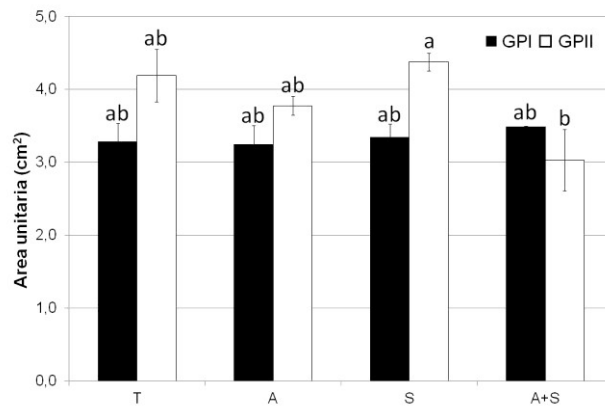


Fig. 5.4.8 – *Callistemon*: area fogliare unitaria in rapporto ai fattori allo studio.

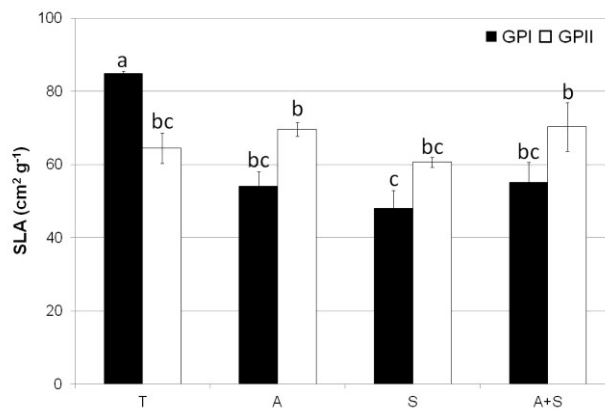


Fig. 5.4.9 – *Callistemon*: valori dello SLA in rapporto ai fattori allo studio.

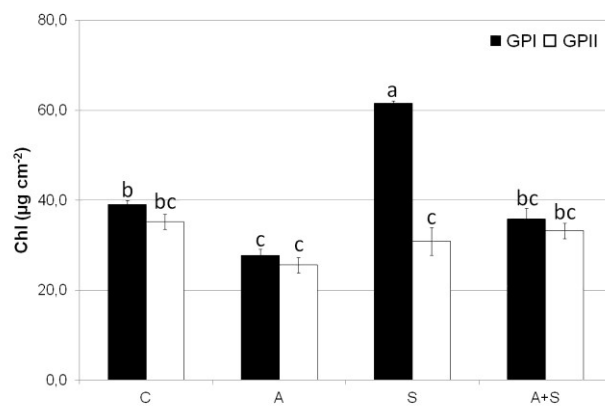


Fig. 5.4.10 – *Callistemon*: contenuto in clorofilla in rapporto ai fattori allo studio.

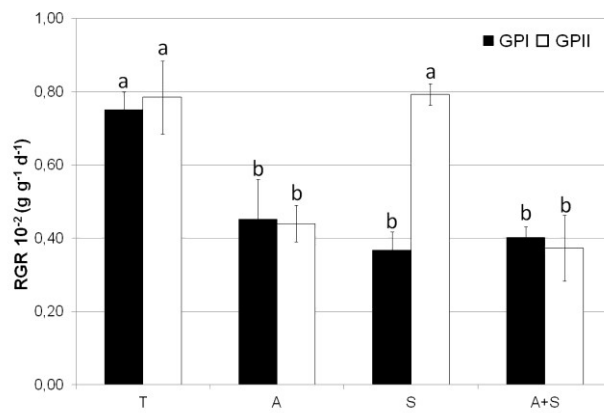


Fig. 5.4.11 – *Callistemon*: valori di RGR in rapporto ai fattori allo studio.

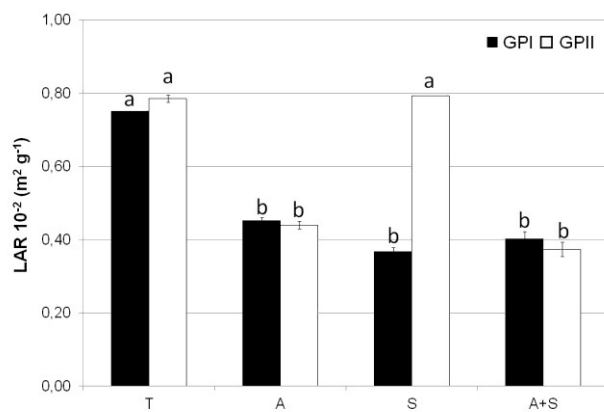


Fig. 5.4.12 – *Callistemon*: valori del LAR in rapporto ai fattori allo studio.

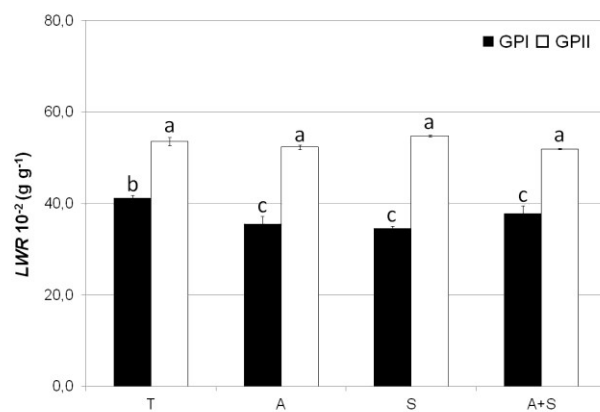


Fig. 5.4.13 – *Callistemon*: valori di LWR in rapporto ai fattori allo studio.

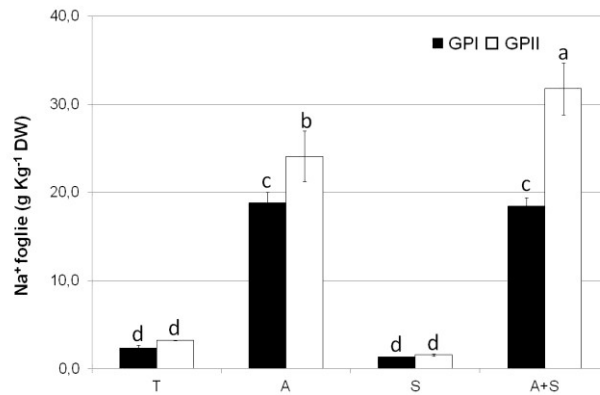


Fig. 5.4.14 – *Callistemon*: contenuto di Na<sup>+</sup> nelle foglie in rapporto ai fattori allo studio.

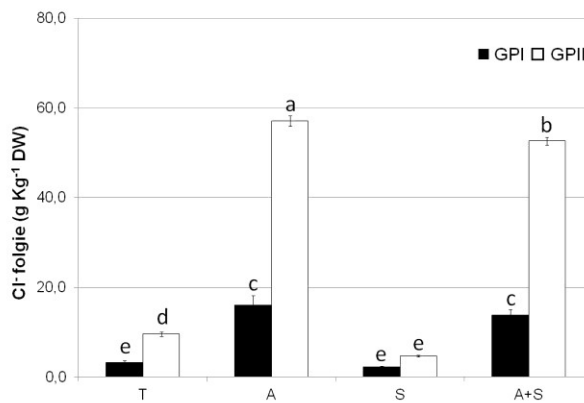


Fig. 5.4.15 – *Callistemon*: contenuto di Cl<sup>-</sup> nelle foglie in rapporto ai fattori allo studio.

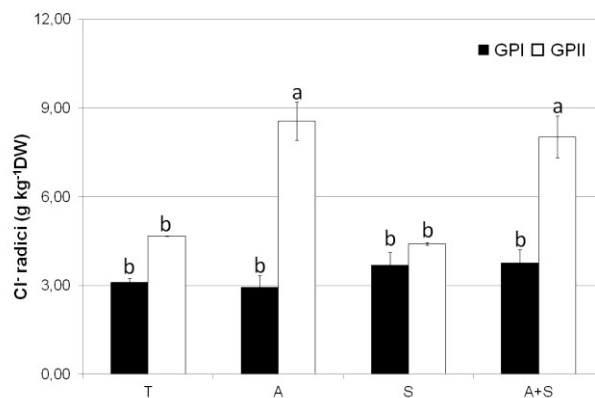
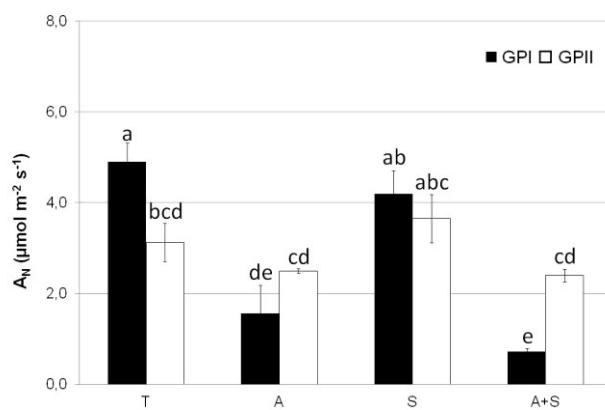
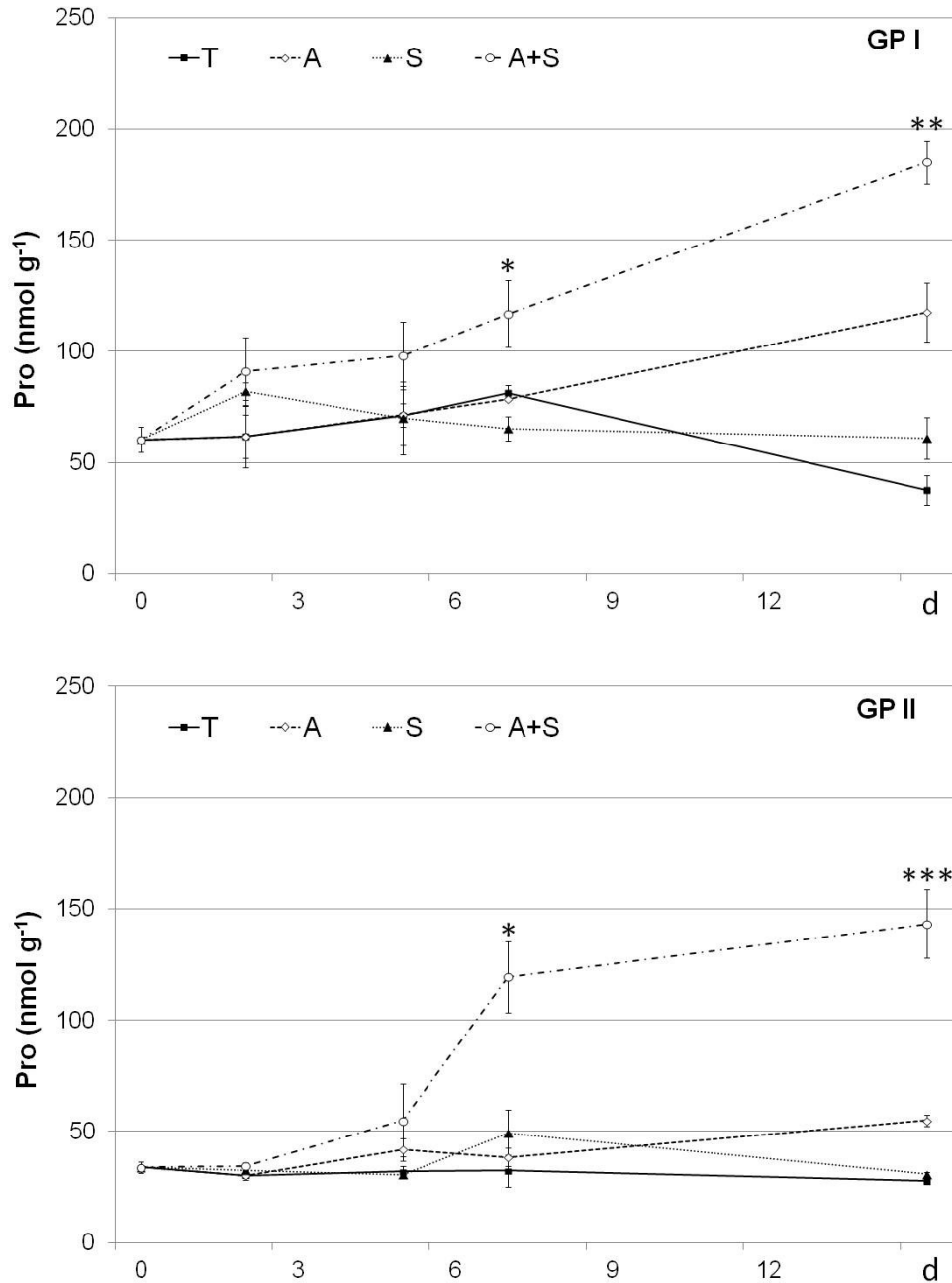


Fig. 5.4.16 – *Callistemon*: contenuto di Cl<sup>-</sup> nelle radici in rapporto ai fattori allo studio.



**Fig. 5.4.17 – *Callistemon*:** valori della fotosintesi in rapporto ai fattori allo studio.



**Fig. 5.4.18 – *Callistemon*:** andamento della prolina nel primo (in alto) e nel secondo ciclo. In questa figura e nelle successive \*, \*\*, \*\*\* indicano rispettivamente differenze significative per  $P \leq 0.05$ , 0.01, 0.001.

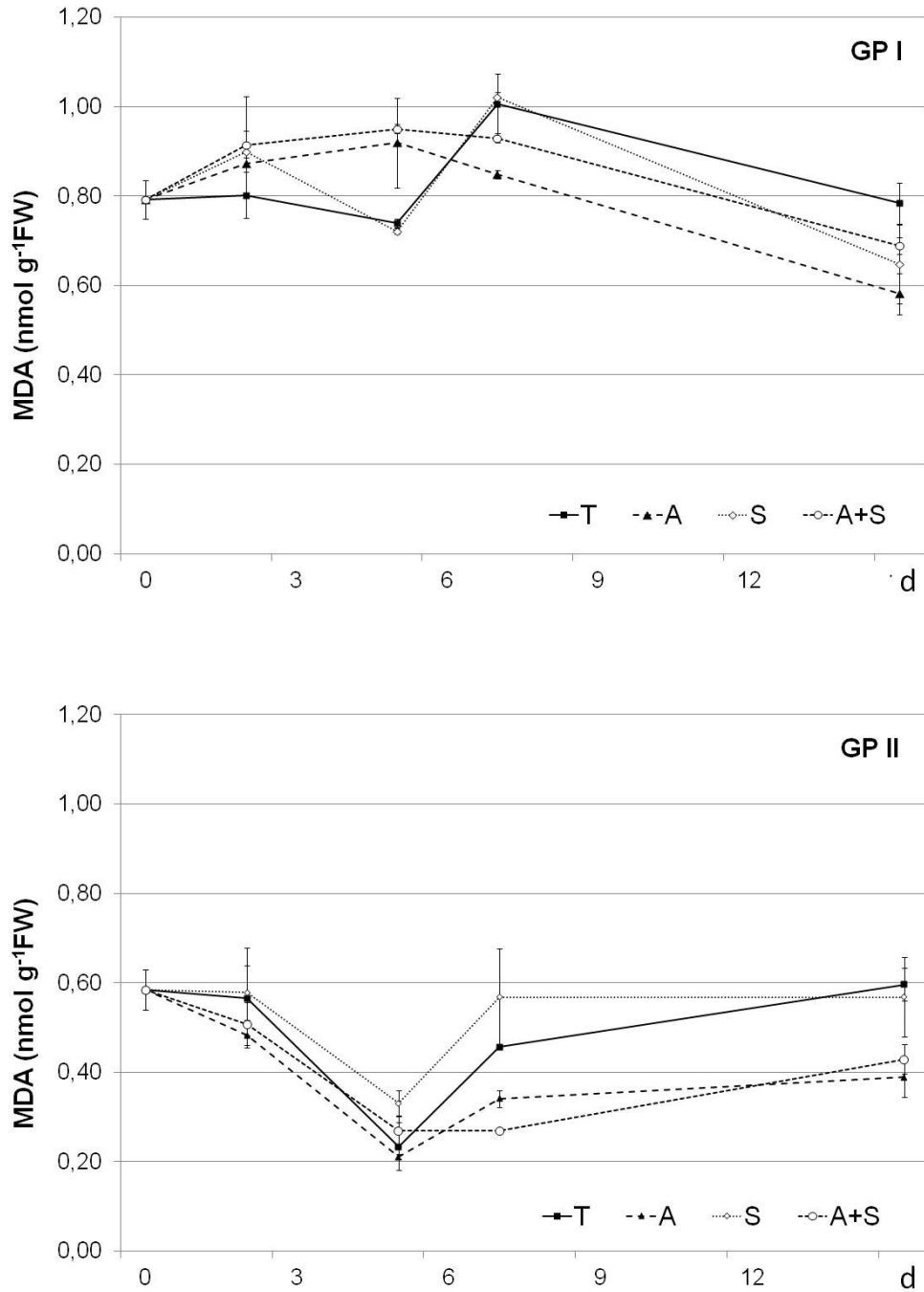


Fig. 5.4.19 – *Callistemon*: andamento di MDA nel primo (in alto) e nel secondo ciclo.

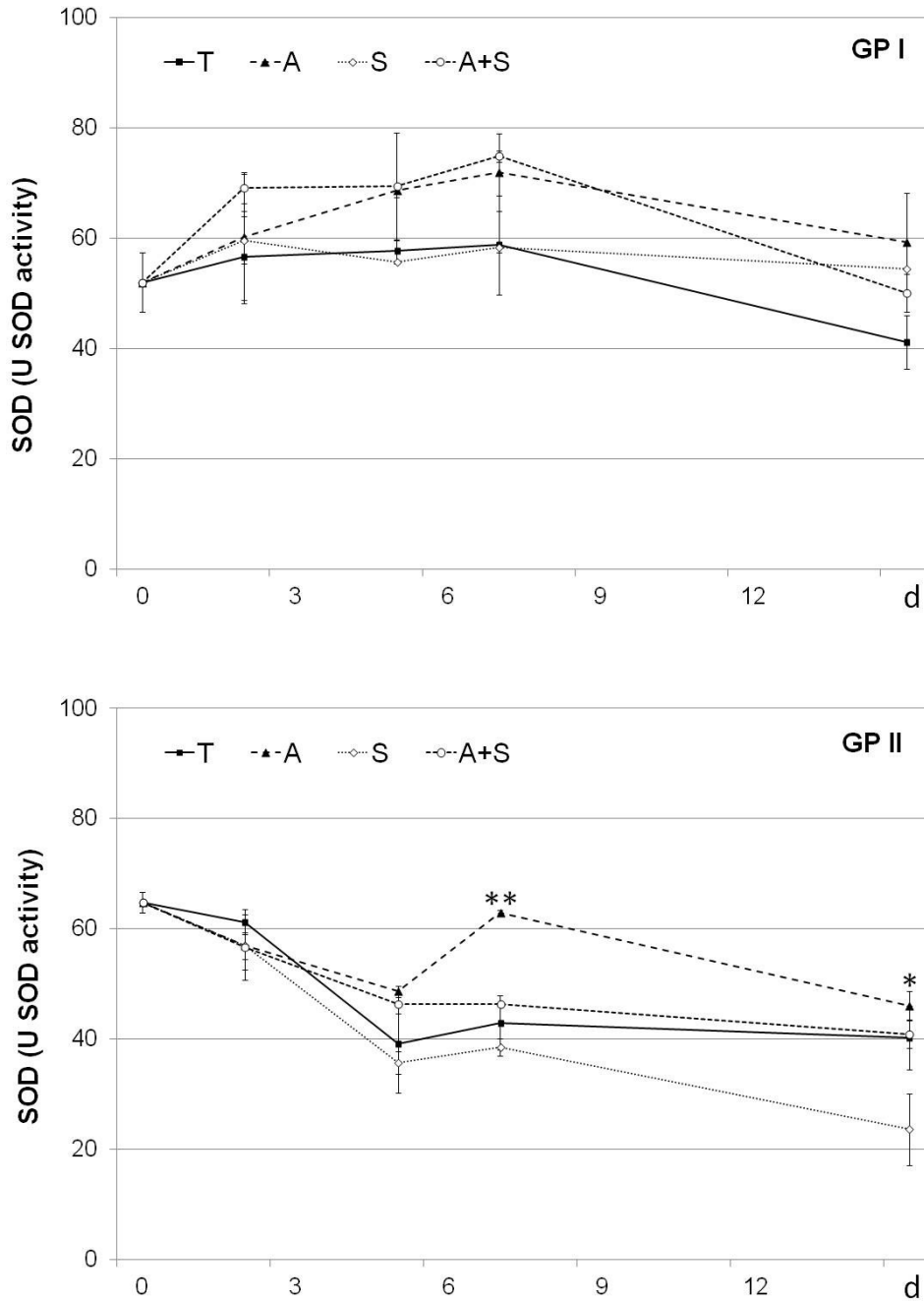


Fig. 5.4.20 – *Callistemon*: andamento dell'attività di SOD nel primo (in alto) e nel secondo ciclo.



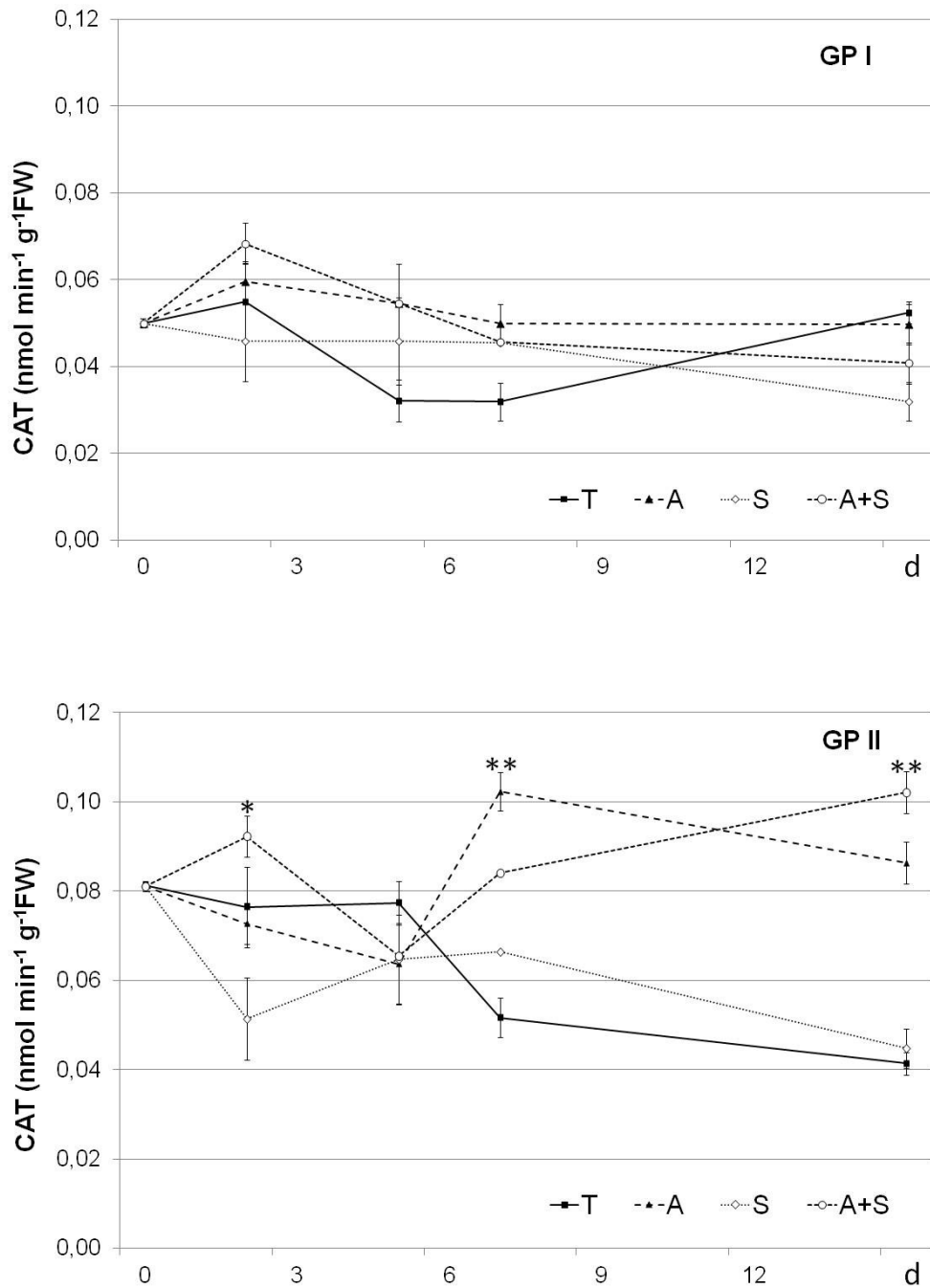


Fig. 5.4.21 – *Callistemon*: andamento di CAT nel primo (in alto) e nel secondo ciclo.

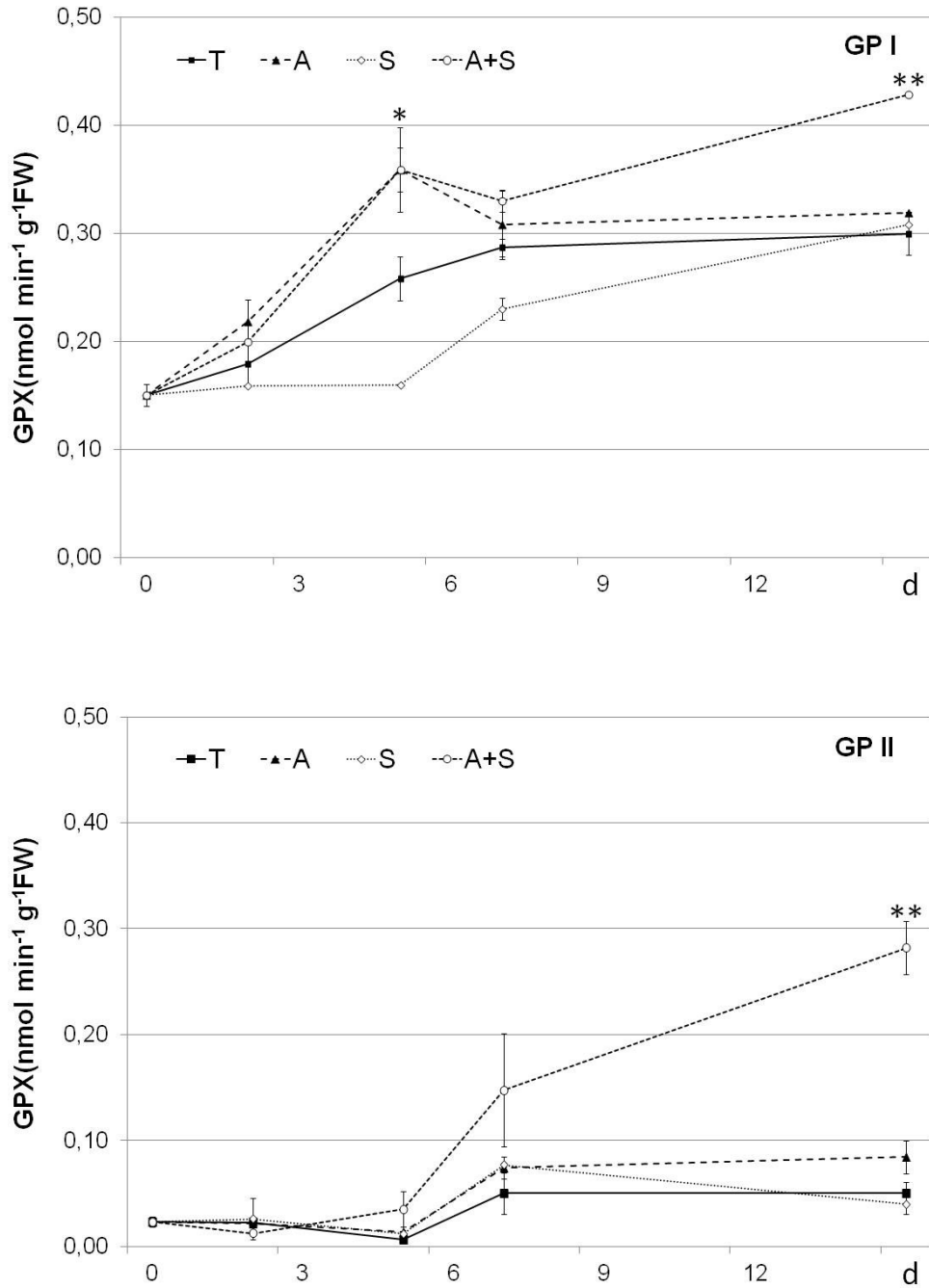


Fig. 5.4.22 – *Callistemon*: andamento di GPX nel primo (in alto) e nel secondo ciclo.

**Tab. 5.4.6 – Viburno:** biomassa secca della pianta, ripartizione della stessa e lunghezza delle radici in rapporto ai fattori allo studio.

Ciclo	Trattamenti	Biomassa totale (g)	Biomassa epigea (g)	Biomassa foglie (g)	Biomassa fusto (g)	Biomassa radici (g)	Ipogea /totale
I		14.42	10.08	9.48a	2.23	4.34a	0.31a
II		14.86	11.32	7.84b	1.84	3.53b	0.24b
	T	16.80a	13.02a	10.67a	2.35	3.78	0.23b
	A	12.29b	8.72b	6.83b	1.89	3.58	0.29ab
	S	16.56a	12.26a	10.02a	2.24	4.30	0.26ab
	A+S	12.90b	8.80b	7.14b	1.66	4.10	0.32a
<b>Significatività</b>							
Ciclo (C)		NS	NS	*	NS	*	**
Trattamento (T)		**	***	***	NS	NS	*
CXT		NS	NS	NS	NS	NS	NS

**Tab. 5.4.7 – Viburno:** caratteristiche dell'apparato fotosintetico in rapporto ai fattori allo studio.

Ciclo	Trattamenti	Area fogliare (cm <sup>2</sup> pianta <sup>-1</sup> )	N° foglie (n. pianta <sup>-1</sup> )	Area fogliare unitaria (cm <sup>2</sup> )	SLA (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	Chl (µg cm <sup>-2</sup> )
I		654.59	47.25a	14.41a	83.41a	30.82
II		682.67	31.42b	23.98b	71.35b	32.81
	T	964.17a	44.83	22.92	92.25a	34.31a
	A	518.56c	37.58	17.61	76.55ab	25.35c
	S	758.80b	41.83	21.08	78.21ab	37.75a
	A+S	432.98c	33.08	15.16	62.50b	29.85b
<b>Significatività</b>						
Ciclo (C)		NS	**	**	*	NS
Trattamento (T)		***	NS	NS	*	***
CXT		NS	NS	NS	NS	***

**Tab. 5.4.8 – Viburno:** variazioni degli indici di crescita in rapporto ai fattori allo studio.

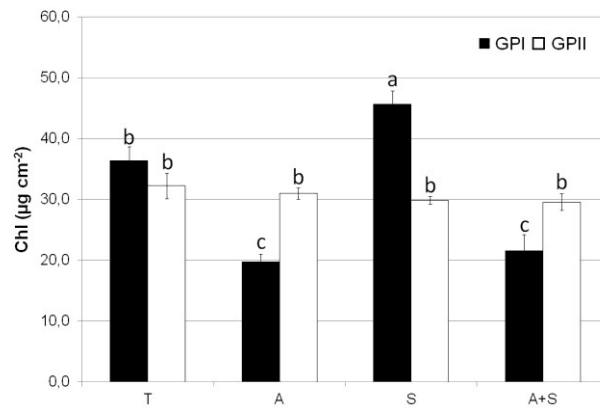
Ciclo	Trattamenti	RGR 10 <sup>-2</sup> (g g <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	NAR (g m <sup>-2</sup> d <sup>-1</sup> )	LAR 10 <sup>-2</sup> (m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	LWR 10 <sup>-2</sup> (g g <sup>-1</sup> )
I		1.11b	2.92	0.39b	48.10b
II		1.27a	2.69	0.48a	57.82a
	T	1.34a	2.67	0.51a	55.85a
	A	1.03b	2.51	0.41bc	50.99b
	S	1.33a	3.11	0.44b	54.12ba
	A+S	1.07b	2.94	0.36c	50.87b
<b>Significatività</b>					
Ciclo (C)		**	NS	***	***
Trattamento (T)		***	NS	***	**
CXT		NS	NS	NS	NS

**Tab. 5.4.9 – Viburno:** contenuto in ioni nelle diverse porzioni organografiche e danno fogliare in rapporto ai fattori allo studio.

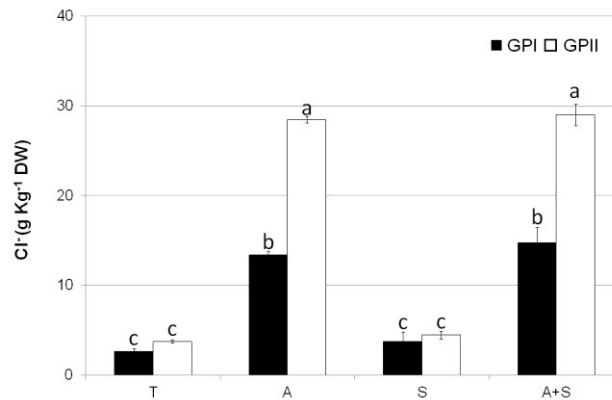
Ciclo	Trattamenti	Na <sup>+</sup> foglie (g kg <sup>-1</sup> DW)	Cl <sup>-</sup> foglie (g kg <sup>-1</sup> DW)	Na <sup>+</sup> radici (g kg <sup>-1</sup> DW)	Cl <sup>-</sup> radici (g kg <sup>-1</sup> DW)	Danno foglie (%)
I		9.87	8.62b	5.67a	6.76a	2.52
II		8.20	16.41a	4.20b	3.50b	1.60
	T	1.14c	3.18b	4.50b	4.31	0.00c
	A	18.37a	20.92a	4.18b	5.42	5.67a
	S	1.30c	4.10b	4.87b	5.38	0.86c
	A+S	15.32b	21.87a	6.17a	5.42	3.76b
<b>Significatività</b>						
Ciclo (C)		NS	***	***	***	NS
Trattamento (T)		***	***	**	NS	***
CXT		NS	***	NS	NS	**

**Tab. 5.4.10 – Viburno:** valori dei diversi parametri fisiologici rilevati in rapporto ai fattori allo studio.

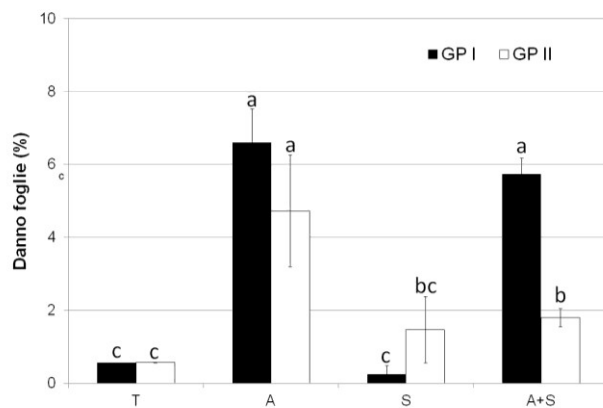
Ciclo	Trattamenti	E (mmol m <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> )	Gs (mmol m <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> )	A <sub>N</sub> (μmol cm <sup>-2</sup> )	Fv/Fm	RWC (%)
I		1.88b	175.01	6.54a	0.79a	82.23
II		2.36a	139.17	4.08b	0.69b	82.26
	T	2.22	140.01	5.95a	0.75	81.98ab
	A	2.04	155.83	4.46b	0.72	84.74a
	S	2.19	170.10	5.92a	0.76	77.89b
	A+S	2.04	162.50	4.91ab	0.73	84.38a
<b>Significatività</b>						
Ciclo (C)		*	NS	***	***	NS
Trattamento (T)		NS	NS	*	NS	*
CXT		NS	NS	NS	NS	NS



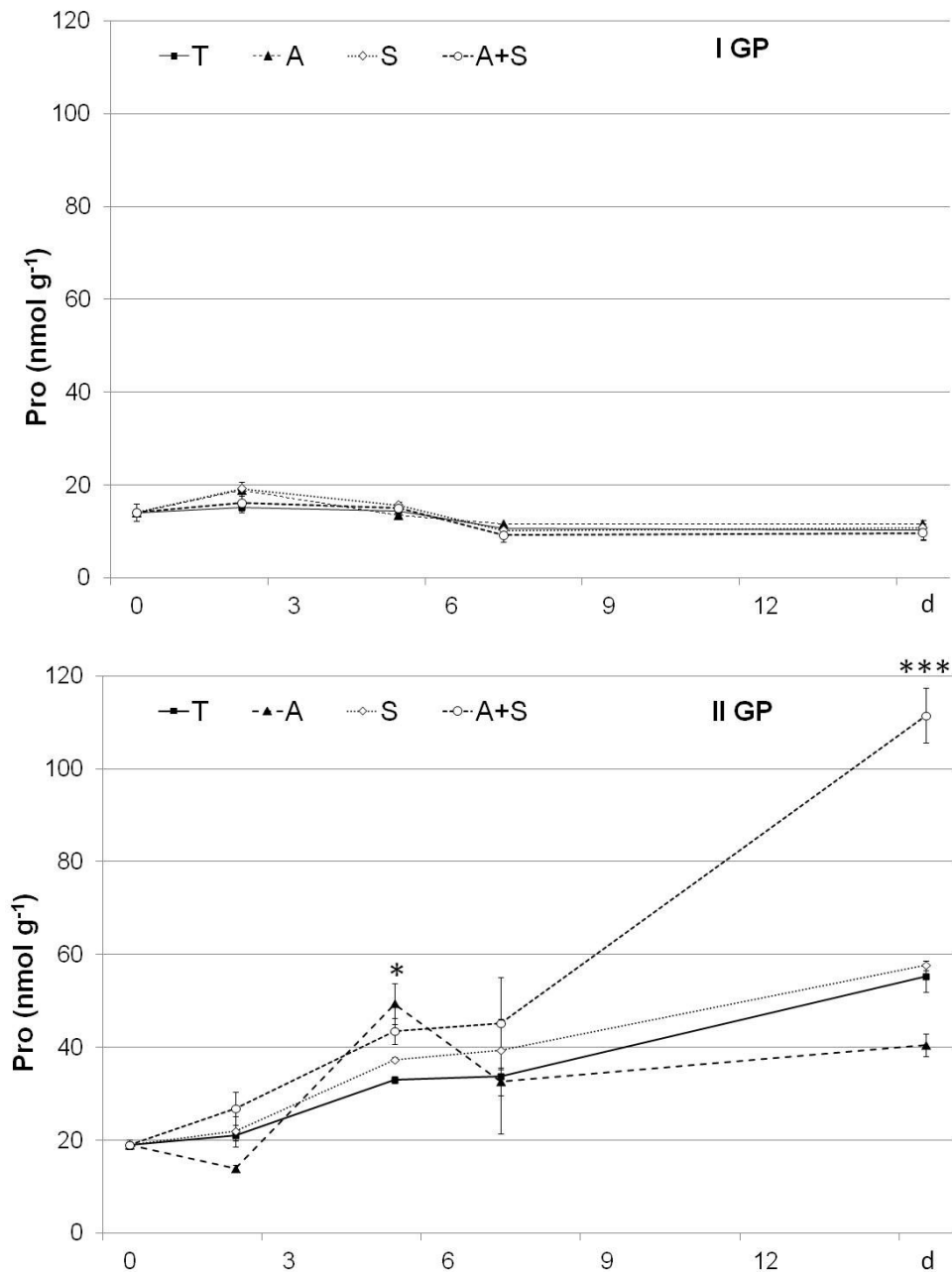
**Fig. 5.4.23 – Viburno:** contenuto in clorofilla in rapporto ai fattori allo studio. In questa figura e nelle successive, valori indicati con la stessa lettera non sono statisticamente differenti per  $P \leq 0.05$ , secondo il test di Student-Newman-Keuls.



**Fig. 5.4.24 – Viburno:** contenuto di Cl nelle foglie in rapporto ai fattori allo studio.



**Fig. 5.4.25 – Viburno:** percentuale di danno alle foglie in rapporto ai fattori allo studio.



**Fig. 5.4.26 – Viburno:** andamento della prolina nel primo (in alto) e nel secondo ciclo. In questa figura e nelle successive \*, \*\*, \*\*\* indicano rispettivamente differenze significative per  $P \leq 0.05$ , 0.01, 0.001.

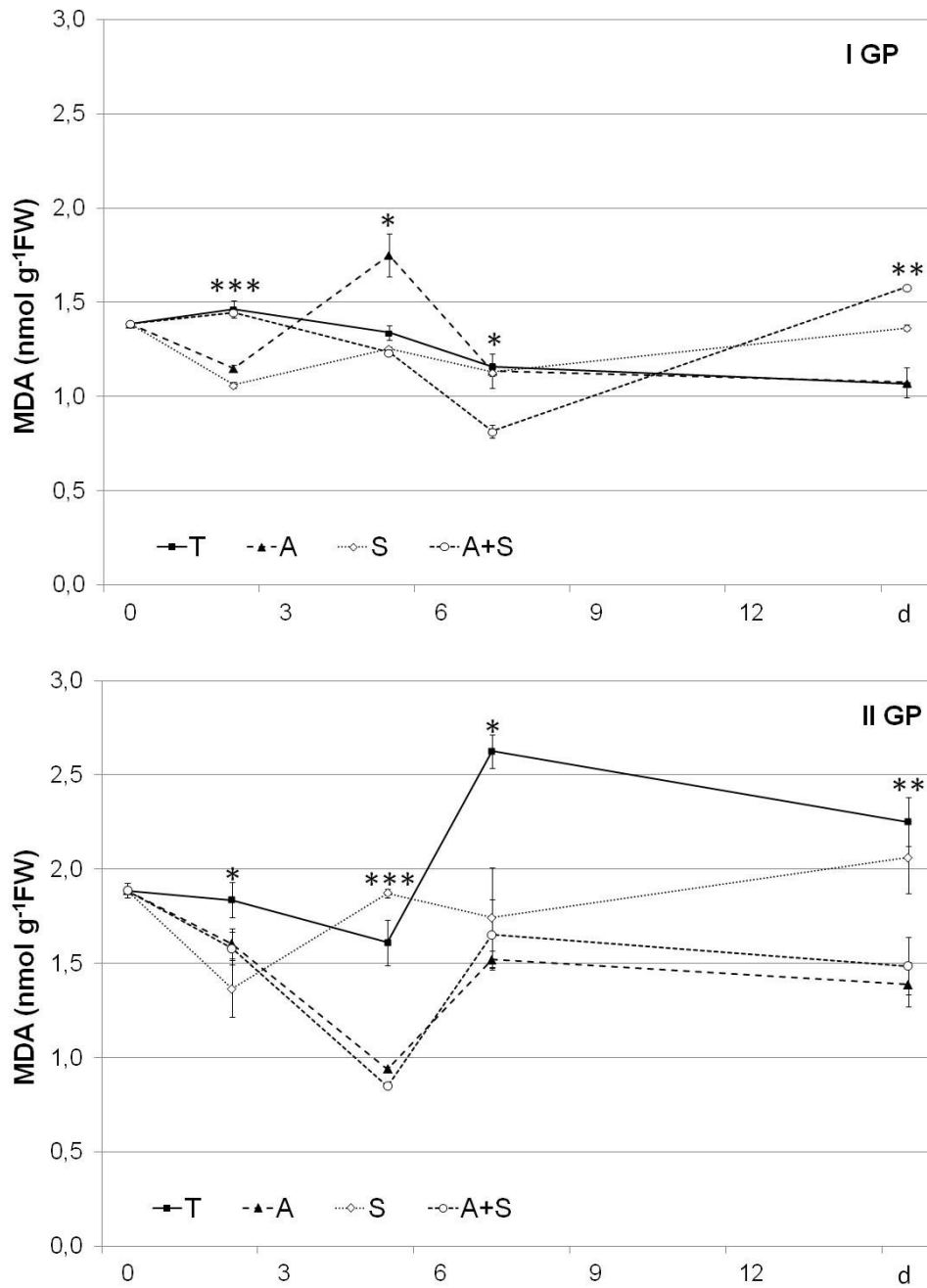


Fig. 5.4.27 – *Viburno*: andamento di MDA nel primo (in alto) e nel secondo ciclo.

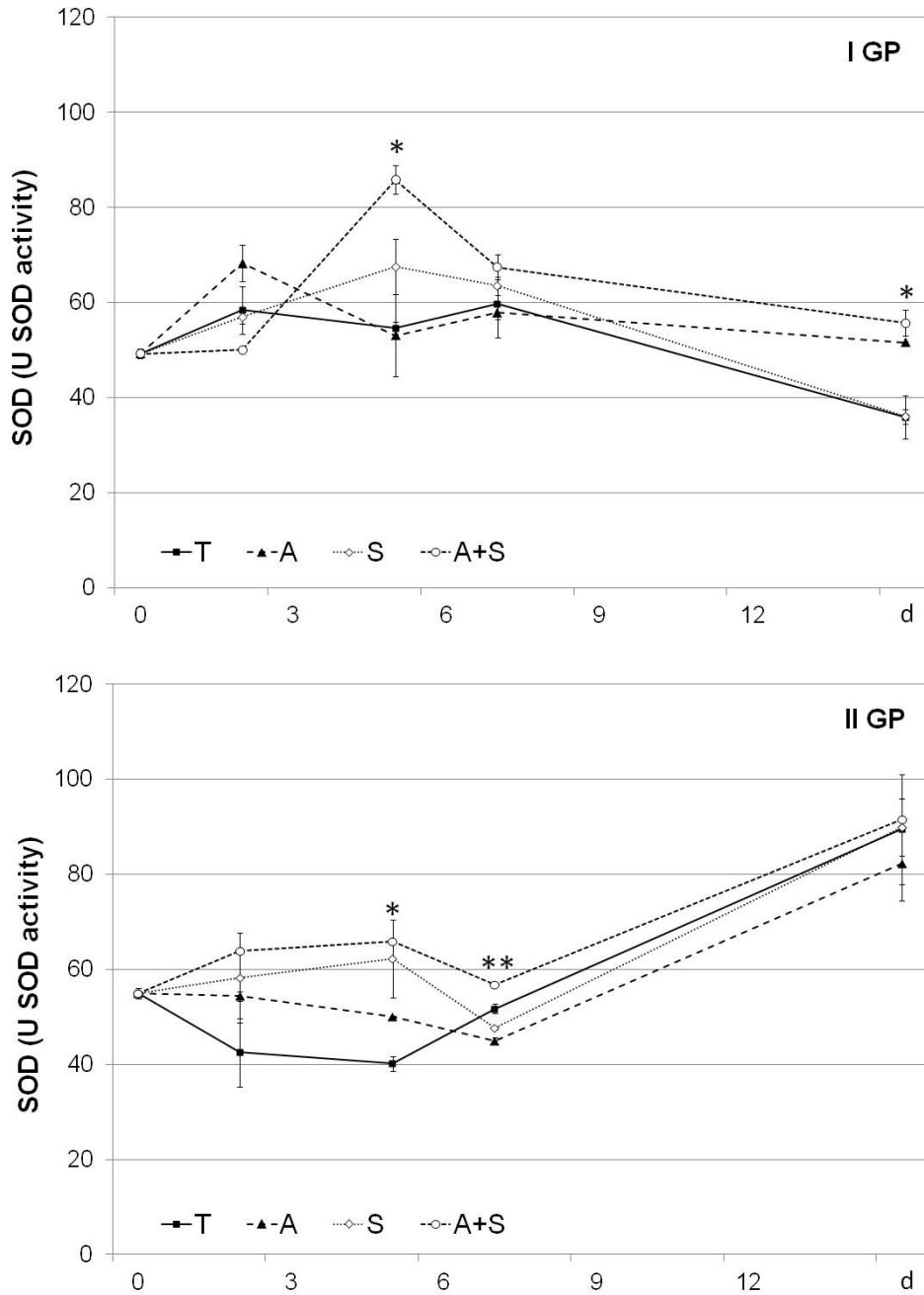


Fig. 5.4.28 – *Viburno*: andamento dell'attività di SOD nel primo (in alto) e nel secondo ciclo.



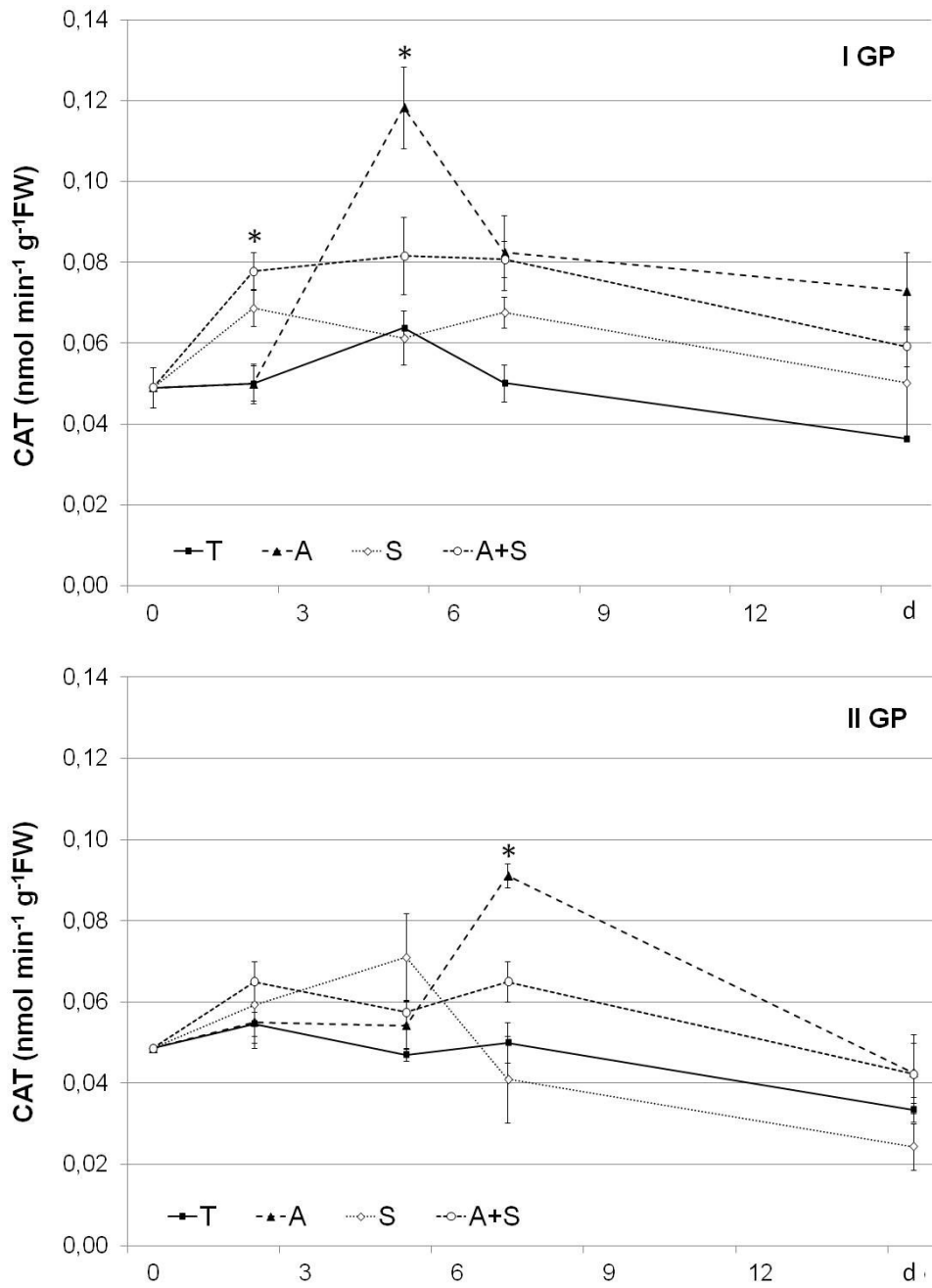


Fig. 5.4.29 – *Viburno*: andamento di CAT nel primo (in alto) e nel secondo ciclo.

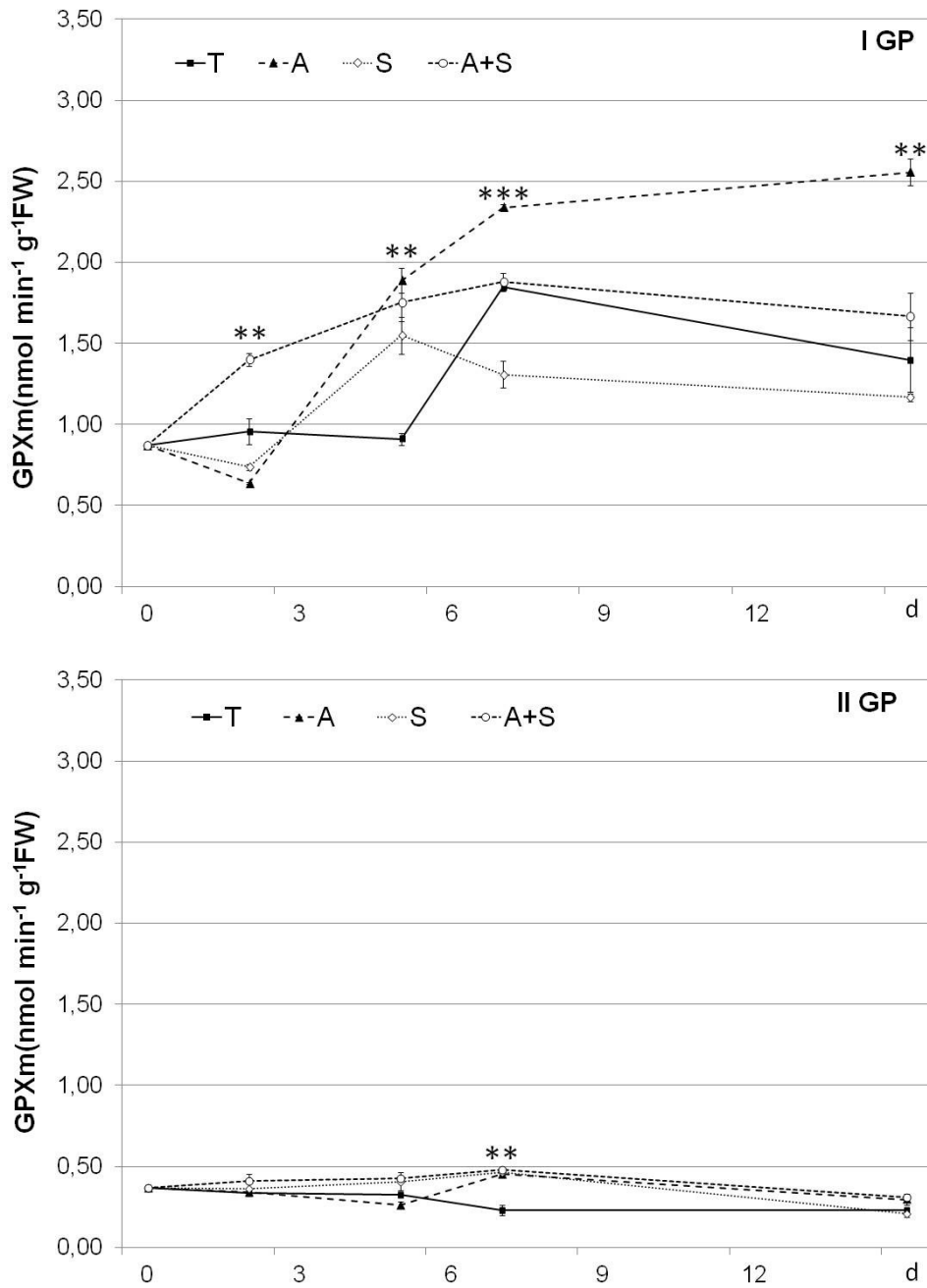


Fig. 5.4.30 – *Viburno*: andamento di GPX nel primo (in alto) e nel secondo ciclo.

## **5.5 Risposta allo stress salino in relazione alla modalità di somministrazione del sale in *Photinia ×fraseri* Dress 'Red Robin'**

### *5.5.1 Presentazione della problematica*

L'espansione delle attività turistiche in molte zone costiere ha determinato una maggiore presenza di aree a verde ornamentale, aumentando di conseguenza l'interesse ad individuare piante che siano adatte a vivere lungo la linea di costa (Ferguson, 1952; Forti, 1986; Morales *et al.*, 1998; Wu *et al.*, 2001a e 2001b; Wu e Dodge, 2005). Sono state quindi condotte numerose prove specifiche, al fine di sviluppare idonei metodi di selezione dei genotipi per la tolleranza al sale, sia che questo venga fornito con l'acqua di irrigazione nel terreno sia che arrivi direttamente sulle foglie a causa dell'irrigazione per aspersione (Wu *et al.*, 2001a). Naturalmente, trattandosi di piante ornamentali, la valutazione della risposta è stata effettuata di frequente utilizzando metodi visivi (Lumis *et al.*, 1973; Wu *et al.*, 2001b; Wu e Guo, 2005).

L'interesse ad indagare gli aspetti connessi con la risposta delle diverse specie alla salinità si è accentuato negli ultimi anni anche perché, a differenza del passato quando per l'irrigazione delle piante ornamentali era utilizzata solo acqua di buona qualità, oggi la maggiore sensibilità nei confronti della salvaguardia delle risorse ambientali, nel settore della gestione delle aree a verde (Botequilla Leitão e Ahern, 2002; Cassaniti *et al.*, 2012), ha fatto spostare l'attenzione verso l'impiego di risorse alternative, quali acque marginali, spesso saline (Chartzoulakis *et al.*, 2002). In tali acque, infatti, è elevata la presenza di sodio e la concentrazione di cloruri (Wu e Dodge, 2005).

La soluzione salina, in base alle concentrazioni, può causare fenomeni di squilibri dell'assorbimento degli elementi nutritivi e anche tossicità per l'accumulo di Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> nei tessuti (Hu e Schimdhalt, 2005; Fornes *et al.*, 2007). Quando il sodio e il cloro sono presenti nella rizosfera, possono danneggiare direttamente l'assorbimento dei nutrienti, interferendo con i *transporter* nella membrana plasmatica radicale, come per esempio K<sup>+</sup> e NO<sub>3</sub><sup>-</sup> *transporter*. Se il sodio e il cloro vengono accumulati poi all'interno dei tessuti vegetali ma non

compartimentalizzati all'interno dei vacuoli, essi possono divenire metabolicamente tossici e causare bruciature e necrosi a carico delle foglie.

Gli effetti tossici del sodio determinano ingiallimento dei margini fogliari, necrosi progressiva che inizia dai bordi; gli effetti tossici del cloro, invece, possono causare lievi bronzature e ingiallimenti dei margini fogliari, seguiti da necrosi apicali che si espandono all'intera lamina (Ferguson e Grattan, 2005). Inoltre, le alte concentrazioni saline possono inibire la crescita dell'apparato radicale a causa dell'effetto osmotico (Wild, 1988). Shannon e Grieve (1999) hanno riportato che in condizioni di stress salino le piante presentano un minor numero di foglie, statura inferiore e radici di minore lunghezza e peso.

Nelle sistemazioni a verde in ambiente costiero, inoltre, l'esposizione agli aerosol marini (contenenti sali e altri agenti inquinanti) può influenzare la crescita e la sopravvivenza anche di specie indigene dei litorali marini, quali ad esempio *Argyranthemum coronopifolium* e *Limonium pectinatum* (Sánchez-Blanco *et al.*, 2003). È stato riscontrato, infatti, che le piante sono in genere più suscettibili al danno da sale per effetto del contatto diretto dell'acqua sulle foglie rispetto a quando l'acqua stessa è distribuita direttamente al suolo e alle radici (Lumis *et al.*, 1973; Appleton *et al.*, 1999). Secondo alcuni autori, questi due aspetti presentano un andamento indipendente (Cartica e Quinn, 1980; Ashraf *et al.*, 1986; Sykes e Wilson, 1988), mentre, secondo altri, vi sarebbe una relazione positiva tra tolleranza allo spray salino e quella alla salinità del suolo (Barbour *et al.*, 1985; Wu *et al.*, 2001b). In particolare, il livello di tolleranza nelle radici è stato trovato essere da tre a quattro volte superiore rispetto a quello delle foglie (Wu *et al.*, 2001b).

Il danno da aerosol è attribuito all'eccessivo assorbimento di sali, anche a causa dell'assorbimento diretto da parte delle foglie di cloruro di sodio, facilitato dalla presenza delle sostanze nocive (Bussotti *et al.*, 1995b). Queste sostanze, infatti, sono assorbite attraverso gli stomi e la cuticola, causando deterioramento delle cuticole cerose e alterazione nelle pareti cellulari delle cellule di guardia (Sánchez-Blanco *et al.*, 2004). In questo modo viene influenzata negativamente l'efficienza della fotosintesi e degli scambi gassosi (Bussotti *et al.*, 1997).

La tolleranza al sale nelle specie ornamentali non può essere legata, però, solo all'influenza dello stress salino sulla crescita, ma deve tenere conto

soprattutto delle alterazioni a carico dell'apparato fogliare, come ingiallimenti e necrosi (Francois, 1982), che compromettono il valore estetico delle piante impiegate per l'arredo degli spazi a verde. Per la scelta, quindi, dei genotipi da utilizzare nelle aree costiere l'aspetto complessivo e la capacità di sopravvivenza in condizioni di stress diventano criteri fondamentali (Townsend, 1980).

Non sempre, però, le informazioni sono in grado di discriminare se il danno è connesso al fatto che il sale arriva all'apparato radicale, tramite acque di cattiva qualità, o sia dovuto all'azione diretta dell'aerosol salino sulle foglie e soprattutto quali siano i meccanismi di azione coinvolti, quando il sale stesso arriva alla porzione epigea e/o ipogea.

In questo quadro si inserisce il presente lavoro che ha avuto lo scopo di analizzare la risposta allo stress salino di *Photinia ×fraseri* 'Red Robin', una specie ampiamente diffusa anche nelle aree costiere come pianta da siepe (Norcini *et al.*, 1991), in relazione alle modalità di somministrazione del sale.

#### *5.5.2 Materiali e metodi*

La prova è stata condotta nel periodo luglio-settembre 2014, in serra, presso il Vivaio "Piante Faro" su piante di *Photinia ×fraseri* Dress 'Red Robin'.

Il trapianto è avvenuto nella prima decade di maggio in vasi di diametro 16 cm (2.7 L) su substrato composto da torba e perlite nel rapporto 2:1 (v/v) e concimate con 2 g/l di Osmocote Plus (14:13:13 N,P,K + microelementi). L'irrigazione è stata effettuata manualmente tre volte a settimana insieme ai trattamenti. Sono stati somministrati volumi d'acqua crescenti in maniera tale da ottenere una percentuale di drenato superiore al 75%; ciò per mantenere la conducibilità a livello dell'apparato radicale su valori prossimi a quelli delle acque utilizzate. A tal fine, a cadenza settimanale, è stata misurata la conducibilità del drenato.

Le piante sono state sottoposte al trattamento salino su radici e foglie per 8 settimane. Le tesi a confronto prevedevano irrigazione e nebulizzazione con acqua aziendale a 0.9 dS m<sup>-1</sup> (T, controllo); irrigazione con acqua aziendale e nebulizzazione alle foglie con acqua salina a 5.0 dS m<sup>-1</sup> (A+S); irrigazione con acqua salina e nebulizzazione con acqua aziendale (S+A); irrigazione e nebulizzazione con acqua salina (S+S).

Durante il corso della prova sono stati monitorati i principali parametri microclimatici dell'ambiente, mediante un datalogger CR200 della Campbell Scientific. Nella media del periodo considerato la temperatura è risultata compresa tra 23.9 e 27.3°C e l'umidità relativa tra 77.4 e 90.0% (**Fig. 5.5.1**).

All'inizio e dopo 4 e 8 settimane sono stati determinati: biomassa fresca e secca di radici, fusti e foglie, area fogliare, numero foglie, danno fogliare, lunghezza radici, contenuto in clorofilla e di ioni Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> in foglie e radici.

La superficie fogliare è stata determinata attraverso un elaboratore d'immagine della Delta T-Devices. Con lo stesso elaboratore è stata calcolata la percentuale di danno alle foglie.

Il contenuto di clorofilla è stato valutato per estrazione secondo il metodo di Moran e Porath (1980).

Le concentrazioni di ioni Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> sono state determinate su foglie e radici mediante cromatografia con l'utilizzo di un Dionex IC 25 Ion cromatografo. Le concentrazioni sono state espresse in g kg<sup>-1</sup> DW (Giuffrida *et al.*, 2013).

Ogni 15 giorni sono stati determinati tasso di traspirazione, fotosintesi netta, conduttanza stomatica, fluorescenza della clorofilla a, RWC.

Per valutare la risposta biochimica è stata misurata l'attività degli enzimi antiossidanti (SOD, GPX, CAT) e l'andamento del contenuto di prolina (Pro) e MDA sia nelle foglie che nelle radici.

Per ogni trattamento sono stati raccolti, dopo la distruzione delle piante, campioni di foglie e radici a 0, 7, 15, 30, 45 e 60 giorni dall'inizio del periodo di stress. I campioni di foglie e radici sono stati lavati con acqua distillata, asciugati con carta da filtro e immediatamente congelati in azoto liquido a -80°C.

La quantità di prolina libera è stata determinata secondo il metodo di Bates *et al.* (1973) usando L-prolina come standard, come riportato da Ahmad *et al.* (2008).

MDA è stato determinato secondo Heath e Packer (1968) come riportato da Li *et al.* (2010).

L'attività di SOD è stata saggiata monitorando l'inibizione della riduzione fotochimica del nitro blu tetrazolio (NBT) in accordo con il metodo di Giannopolitis e Ries (1977).

CAT è stata determinata secondo il metodo di Aebi (1984), monitorando il decremento dell'assorbanza a 240 nm a 20°C per 1-2 minuti (Aguilera *et al.*, 2002).

L'attività di GPX è stata valutata secondo il metodo descritto da Ruley *et al.* (2004).

È stato adottato uno schema sperimentale a blocchi randomizzati, con tre repliche di 20 piante ciascuna. L'analisi statistica è stata realizzata utilizzando CoStat 6.311 (CoHort Software, Monterey, CA, USA). Tutti i dati acquisiti sono stati sottoposti all'analisi della varianza (ANOVA) ad una via a ciascuna data per determinare gli effetti dei trattamenti sul controllo per ciascuna specie. Le lettere, quando presenti, rappresentano la significatività per  $P \leq 0.05$  secondo il test di Student-Newman-Keuls. Per ciascuna specie e parametro i dati sono rappresentati come media e le barre rappresentano l'errore standard (SE).

### 5.5.3. Risultati

La biomassa totale si è ridotta sin dal rilievo  $t_1$  (effettuato dopo 30 giorni) soprattutto nella tesi che prevedeva la somministrazione di sale sia all'apparato ipogeo che a quello epigeo (**Fig. 5.5.2**). Con il progredire della prova, in corrispondenza del rilievo  $t_2$  (60 giorni dall'avvio della sperimentazione) i valori più bassi in assoluto si sono osservati per la tesi che prevedeva il trattamento con la soluzione salina in entrambe le porzioni organografiche della pianta (S+S) e in quella in cui il sale era distribuito all'apparato radicale (S+A). Tali variazioni sono direttamente riconducibili a quelle registrate nelle diverse porzioni organografiche della pianta (**Figg. 5.5.3÷5.5.6**), al punto che il rapporto fra la biomassa delle radici e quella complessiva non si è modificato significativamente tra le tesi allo studio (**Fig. 5.5.7**).

L'area fogliare ha fatto registrare, già al rilievo  $t_1$ , delle riduzioni significative per la tesi S+S; al rilievo  $t_2$  valori più bassi hanno presentato le due tesi (S+S e S+A) in cui il sale era somministrato all'apparato radicale, seguite da quella in cui il sale era distribuito alle foglie (**Fig. 5.5.8**).

Il numero di foglie per pianta ha mostrato differenze significative, a svantaggio delle tesi che prevedevano la distribuzione del sale sulla pianta intera o sull'apparato radicale, solo nel rilievo  $t_1$  (**Fig. 5.5.9**); in ogni caso non si sono

osservate differenze significative per la superficie fogliare unitaria (dati non presentati). Da rilevare come le foglie della tesi testimone e di quella che prevedeva la somministrazione di sale alle foglie (A+S) siano apparse caratterizzate da valori più elevati dello SLA (**Fig. 5.5.10**).

Nessuna differenza significativa è stata registrata per il contenuto in clorofilla (**Fig. 5.5.11**).

Gli indici di crescita hanno quasi sempre fatto registrare precocemente una riduzione per effetto della somministrazione del sale in entrambe le porzioni della pianta (**Tab. 5.5.1**). Con l'avanzare del ciclo tutte le tesi variamente stressate hanno presentato valori più bassi rispetto al controllo per RGR e NAR; per il LAR, invece, i valori più elevati sono stati rilevati quando il sale era somministrato a livello dell'apparato radicale e soprattutto nella tesi in cui a questa somministrazione si associava il trattamento alle foglie. Le differenze di LWR sono apparse significative solo in corrispondenza del rilievo  $t_1$ ; valori più bassi in assoluto sono stati registrati dalla tesi S+S, seguita da S+A e da A+S (**Tab. 5.5.1**).

Il contenuto di  $\text{Na}^+$  nelle foglie è apparso simile, nel rilievo  $t_1$ , nelle tesi che prevedevano che la soluzione salina fosse somministrata solo alle foglie o alle radici; valori più elevati sono stati registrati per la tesi S+S; al rilievo  $t_2$  sono stati osservati valori di 20.62, 8.75, 6.95 e 1.10 rispettivamente per le tesi S+S, S+A, A+S e T (**Tab. 5.5.2**). Il contenuto dello ione nelle radici, invece, non ha mostrato differenze significative fra le tesi a confronto.

Differenze nel contenuto di cloro sono state osservate, per effetto dei diversi trattamenti, sia nelle foglie che nelle radici. I valori più elevati in ogni caso sono stati riscontrati nella tesi S+S. La somministrazione della soluzione salina al terreno ha determinato un maggior contenuto di  $\text{Cl}^-$  nell'apparato radicale; nessuna differenza si è osservata, invece, nel contenuto dello ione nelle foglie per effetto della modalità di distribuzione della soluzione salina (direttamente alla chioma o alle radici) (**Tab. 5.5.2**).

La percentuale di danno alle foglie è apparsa più elevata per le tesi in cui l'acqua salina era spruzzata sulle foglie (A+S) e soprattutto quando era somministrata ad entrambe le porzioni organografiche della pianta (**Tab. 5.5.2**).



Gli scambi gassosi sono apparsi influenzati negativamente dalla somministrazione di sale. Gli effetti più negativi per la fotosintesi netta si sono osservati nella tesi maggiormente stressata (S+S) e in quella in cui il sale era distribuito alle radici (**Fig. 5.5.12**). La fotosintesi netta e la conduttanza stomatica (**Fig. 5.5.13**) hanno presentato un andamento simile, come attesta la significativa correlazione fra loro (**Fig. 5.5.15**). Analogo andamento è stato riscontrato per il tasso di traspirazione (**Fig. 5.5.14**).

La fluorescenza della clorofilla ha mostrato valori più contenuti per la tesi S+S e per quella (S+A) in cui il sale era somministrato alle radici (**Fig. 5.5.16**).

Valori più bassi per RWC sono stati registrati nel rilievo effettuato il 45° giorno per la tesi in cui il sale era somministrato alle foglie (**Fig. 5.5.17**).

Il contenuto in prolina nelle foglie si è accentuato nella tesi maggiormente stressata per quasi tutti i rilievi (**Fig. 5.5.18**); nelle radici i valori dell'amminoacido sono apparsi nel complesso più contenuti per tutte le tesi, anche se quantità maggiori di prolina sono stati riscontrati per la tesi S+S in corrispondenza del rilievo finale (**Fig. 5.5.19**).

I valori di MDA sono apparsi più elevati nelle foglie rispetto alle radici (**Figg. 5.5.20 e 5.5.21**); nella prima porzione organografica, soprattutto nel rilievo al 15° giorno e in quello finale, sono stati rilevati valori maggiori nella tesi che prevedeva la somministrazione del sale all'apparato fogliare (A+S) e in quella più fortemente stressata (S+S). Nelle radici, pur non essendoci differenze fra le tesi, si è notato un incremento del contenuto del prodotto della perossidazione lipidica all'avanzare del ciclo.

L'attività di SOD è apparsa più elevata nell'apparato radicale rispetto che nelle foglie (**Figg. 5.5.22 e 5.5.23**). Valori maggiori si sono avuti frequentemente per la tesi S+S e per quella in cui il sale era somministrato alle foglie (A+S).

Il contenuto di CAT è stato elevato in entrambe le porzioni organografiche (**Figg. 5.5.24 e 5.5.25**); valori maggiori in assoluto hanno mostrato le tesi in cui la somministrazione del sale era effettuata sia all'apparato epigeo che a quello ipogeo (S+S).

Valori di GPX più elevati sono stati registrati nell'apparato radicale (**Figg. 5.5.26 e 5.5.27**). Gli andamenti sono apparsi piuttosto contrastanti fra le

tesi a confronto e non sempre valori più elevati sono stati registrati per le tesi più stressate.

#### *5.5.4. Discussione*

Lo stress salino è un comune problema ambientale poiché rappresenta un importante fattore limitante la produzione delle piante ed è il risultato di complesse interazioni tra processi morfologici, fisiologici e biochimici (Singh e Cathath, 2001; Munns e Tester, 2008). Come avviene in molte specie, la somministrazione di acqua salina anche nella nostra prova, su *Photinia*, ha ridotto la biomassa totale e la superficie fogliare delle piante rispetto a quelle controllo (Munns e Teermaat, 1986; Torrecillas *et al.*, 2003); l'entità di tale riduzione, secondo alcuni autori, può essere utilizzata come misura della resistenza allo stress salino (Sánchez-Blanco *et al.*, 1991). Nel caso di *Photinia* le riduzioni riscontrate fanno ritenere che siamo davanti a una specie moderatamente sensibile (Cassaniti *et al.*, 2009) poiché la riduzione della biomassa, fra piante fortemente stressate e quelle controllo, è apparsa nell'ordine del 50%.

La riduzione dell'area fogliare riscontrata in tutte le tesi che prevedevano la somministrazione di sale può essere considerata un tipico meccanismo di *avoidance*, che cerca di minimizzare le perdite di acqua quando gli stomi sono chiusi (Blum, 1986; Ruiz-Sánchez *et al.*, 2000).

L'analisi degli indici di crescita mostra una marcata riduzione di RGR per effetto dello stress salino (Torrecillas *et al.*, 2003). In alcuni lavori è riportato che la salinità influenza il LAR ma non il NAR (Cramer *et al.*, 1990), indicando che è l'espansione delle foglie il fattore che può limitare la crescita. Nei nostri risultati il fatto che si riducano sia il NAR che il LAR suggerisce l'ipotesi che la riduzione di RGR possa essere dovuta sia ad un'azione sulla stessa espansione fogliare, sia a un effetto diretto dello stress salino sull'apparato stomatico e/o sull'apertura stomatica, il che indicherebbe che la fotosintesi possa essere un fattore limitante la crescita (Cramer *et al.*, 1990; Sánchez-Blanco *et al.*, 2002), come del resto già riscontrato su *Cistus* spp. da Torrecillas *et al.* (2003).

A differenza di quanto indicato da alcuni autori (Appleton *et al.*, 1999), la specie è apparsa più suscettibile quando la soluzione salina è stata distribuita al

suolo e quindi alle radici rispetto a quando è stata nebulizzata sulla chioma. Ciò sembrerebbe attestare che la risposta delle due porzioni organografiche abbia un andamento indipendente, così come riportato in numerosi lavori (Cartica e Quinn, 1980; Ashraf *et al.*, 1986; Sykes e Wilson, 1988).

Una spiegazione di tale comportamento potrebbe essere ricavata dalla distribuzione degli ioni nelle radici e nelle foglie. La distribuzione di una soluzione salina alle foglie ha comportato la presenza di ioni  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  in entrambe le porzioni organografiche delle piante, a causa della loro traslocazione; nella tesi che prevedeva la somministrazione di sale alle radici, invece, non solo entrambi gli ioni si sono ritrovati nelle foglie, ma si è determinato un elevato accumulo di  $\text{Cl}^-$  nelle radici.

È noto che la capacità di compartimentalizzare sia il sodio e/o il cloro in radici o foglie sia considerata una caratteristica altamente correlata con la tolleranza al sale nelle piante (Boursier e Läuchli, 1990; Pérez-Alfocea *et al.*, 2000). In un ambiente salino il controllo della concentrazione salina della parte aerea della pianta attraverso la riduzione dell'ingresso dalle radici e la successiva traslocazione nella parte epigea è un importante meccanismo che consente alla pianta stessa di sopravvivere e crescere in un ambiente salino (Colmer *et al.*, 2005). La capacità di accumulare ioni nelle radici sembra essere un meccanismo piuttosto efficace di resistenza al sale, come riscontrato sia in una specie tollerante il sale, come *Pistacia* spp. (Picchioni *et al.*, 1990), sia in una sensibile come *Poncirus trifoliata* (Walker, 1986). Lo stesso meccanismo di tolleranza è stato riscontrato in numerosi arbusti ornamentali, *Cestrum fasciculatum*, *Escallonia rubra*, *Viburnum lucidum*, appartenenti a famiglie botaniche diverse (Cassaniti *et al.*, 2009). La tolleranza al sale è associata, non solo alla capacità delle radici di accumulare  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ , ma anche alla capacità delle piante di evitare l'assorbimento, come è stato dimostrato in radici di pero da Musacchi *et al.*, (2006).

La soluzione salina, però, in base alle concentrazioni, può causare fenomeni di squilibri dell'assorbimento degli elementi nutritivi e anche tossicità per l'accumulo di  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  nei tessuti (Hu e Schimdhalter, 2005; Fornes *et al.*, 2007). Quando il sodio e il cloro sono presenti nella rizosfera, possono danneggiare direttamente l'assorbimento dei nutrienti (Cassaniti *et al.*, 2012).

Probabilmente le elevate concentrazioni raggiunte quando il sale è stato somministrato alle radici ha determinato quegli effetti depressivi sull'accrescimento che sono stati rilevati nella nostra prova.

La nebulizzazione di sale direttamente alle foglie, se non ha compromesso allo stesso modo l'accrescimento, ha determinato, però, delle necrosi sulla superficie fogliare che è stata in parte danneggiata. L'assorbimento del sale attraverso le foglie è favorito dall'umidità relativa dell'ambiente (Schreiber *et al.*, 2001) che, nell'ambito della nostra prova, effettuata in serra, è stata spesso prossima alla saturazione. L'idratazione che ne è scaturita ha determinato probabilmente che il sale deposto sulla cuticola abbia assorbito acqua dall'atmosfera (Schlegel e Schörrherr, 2002) e si sia così disciolto, favorendo l'assorbimento degli ioni dalla cuticola (Elshatshat, 2010). Tali ioni, pur non avendo raggiunto livelli maggiori di quelli fatti registrare quando il sale stesso era somministrato con l'acqua di irrigazione, probabilmente non sono stati compartimentalizzati all'interno dei vacuoli, il che li ha resi metabolicamente tossici e causa di necrosi a carico delle foglie. Un importante aspetto della tolleranza al sale delle piante è, infatti, la loro capacità di escludere e compartimentalizzare ioni tossici, come  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  (Boursier e Läuchli, 1989).

La presenza di necrosi alla foglia ha rappresentato un grave problema; per gli arbusti ornamentali, infatti, la riduzione del ritmo di crescita da sola non è sufficiente a caratterizzare la tolleranza al sale come lo è, invece, la presenza di sintomi visibili di danno (imbrunimenti e necrosi fogliari) che possono pregiudicare il valore ornamentale (Francois, 1982). La presenza di danni alle foglie, indotti dalla salinità, è uno dei principali indici di stress salino nelle piante (Bañón *et al.*, 2005).

La riduzione della fotosintesi osservata, a causa della stretta correlazione con i valori di  $G_s$ , sembra essere stata determinata da limitazione stomatica, provocata dalla chiusura degli stomi (Bacelor *et al.*, 2007). È stato ipotizzato che tale riduzione nella conduttanza rappresenti un meccanismo adattativo per superare l'eccesso di sale riducendo la quantità di sale stesso nelle foglie a un livello subtossico, per aumentare la longevità delle foglie (Koyro, 2006).

I valori di RWC non hanno mostrato importanti variazioni nel corso della prova, ad eccezione dei valori più bassi raggiunti quando la soluzione salina era

somministrata alle foglie. Questo minor turgore, però, non ha pregiudicato, rispetto alla tesi in cui il sale era somministrato alle radici, il ritmo di crescita, a conferma che il turgore non sempre influenza l'espansione cellulare poiché dipende anche da altri processi metabolici (Kramer, 1988).

La fluorescenza ha presentato valori più bassi nelle tesi (S+S e S+A) in cui i processi di accrescimento e gli altri parametri fisiologici sono apparsi più compromessi, ad attestazione di probabili danni al sistema fotosintetico (Álvarez *et al.*, 2012). Si tratta di una risposta tipica in condizioni di stress (Mugnai *et al.*, 2009; Ferrante *et al.*, 2011).

Il contenuto di prolina è apparso più elevato soprattutto nelle tesi più stressate. A causa del suo ruolo, l'accumulo di questo amminoacido è fondamentale nella risposta allo stress, per facilitare l'assorbimento di acqua e proteggere le cellule dall'accumulo di ROS (Ashraf e Foolad, 2007). Il contenuto di prolina ha presentato valori tendenzialmente più elevati quando il sale è stato somministrato solo alle radici rispetto a quando è stato nebulizzato alla chioma, a riprova dei maggiori danni che si sono determinati nella tesi S+A.

Il contenuto di MDA è un indicatore del danno della membrana a causa di fenomeni di *leakage* in condizioni di stress salino (Katsuhara *et al.*, 2005). In genere si sono osservati dei valori più elevati nelle tesi più stressate, fenomeno rilevato anche in altre sperimentazioni (Filippou *et al.*, 2014).

Un'elevata attività di SOD testimonia una buona tolleranza allo stress poiché è associata di solito a un incremento dell'attività dei principali enzimi *scavenging* di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Chaparzadeh *et al.*, 2004). Nella prova si è osservato un'elevata attività per le piante delle tesi più stressate sia nelle foglie sia soprattutto nelle radici, ad attestazione dell'importanza dei fenomeni biochimici che avvengono nell'apparato radicale.

Il contenuto di CAT, strettamente connesso con l'attività di SOD (Willekens *et al.*, 1995), ha mostrato incrementi rilevanti nelle tesi più stressate sia nelle foglie che nelle radici.

L'attività di GPX, coordinata con quella di SOD, CAT e APX, svolge un ruolo fondamentale di protezione nei processi di *scavenging* di O<sub>2</sub><sup>-</sup> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Badawi *et al.*, 2004). Gli elevati livelli raggiunti nelle tesi più stressate testimoniano come la sua attività sia correlata con la tolleranza agli stress

ossidativi indotti dalla salinità (Meloni *et al.*, 2003). I livelli particolarmente elevati raggiunti nelle radici attestano che GPX, un agente non specifico della perossidasi, sembra agire soprattutto a livello dell'apparato radicale (de Azevedo Neto *et al.*, 2006).

\*

\*\*\*

I risultati ottenuti, considerati nel loro complesso, attestano dell'influenza esercitata dalla modalità di somministrazione della soluzione salina sull'estrinsecazione dei danni connessi allo stress salino. Anche in questo caso, alla luce delle informazioni riportate in letteratura, sembrerebbe che la risposta possa essere differente in base al genotipo utilizzato.

Nel caso della *Photinia*, in particolare, una specie caratterizzata da foglie sclerofille, è stata riscontrata una maggiore sensibilità all'effetto tossico degli ioni quando il sale è distribuito alle radici. L'analisi del contenuto di Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> e della loro distribuzione nelle diverse porzioni organografiche ha offerto un valido contributo alla comprensione dei fenomeni. Al contempo gli indici di crescita adottati hanno consentito di meglio analizzare i processi avvenuti nelle piante per effetto dello stress salino.

Le indagini fisiologiche e biochimiche hanno consentito anch'esse una più approfondita e puntuale definizione dei meccanismi coinvolti nello stress salino.

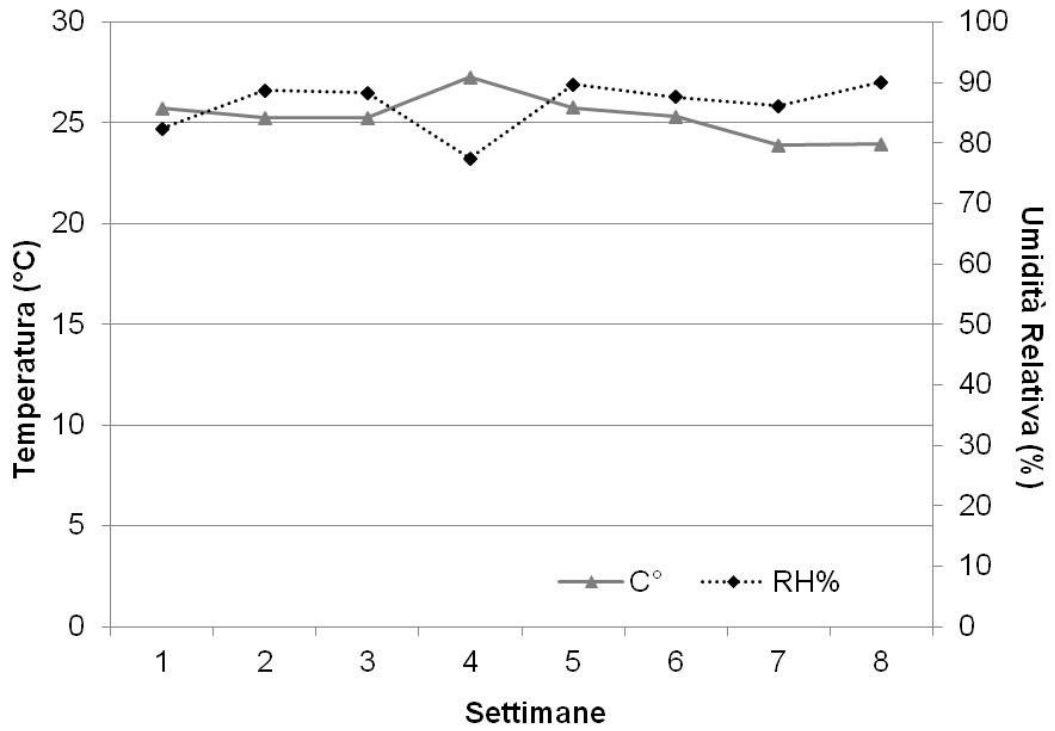


Fig. 5.5.1 – Andamento della temperatura e dell'umidità relativa nel corso della prova.

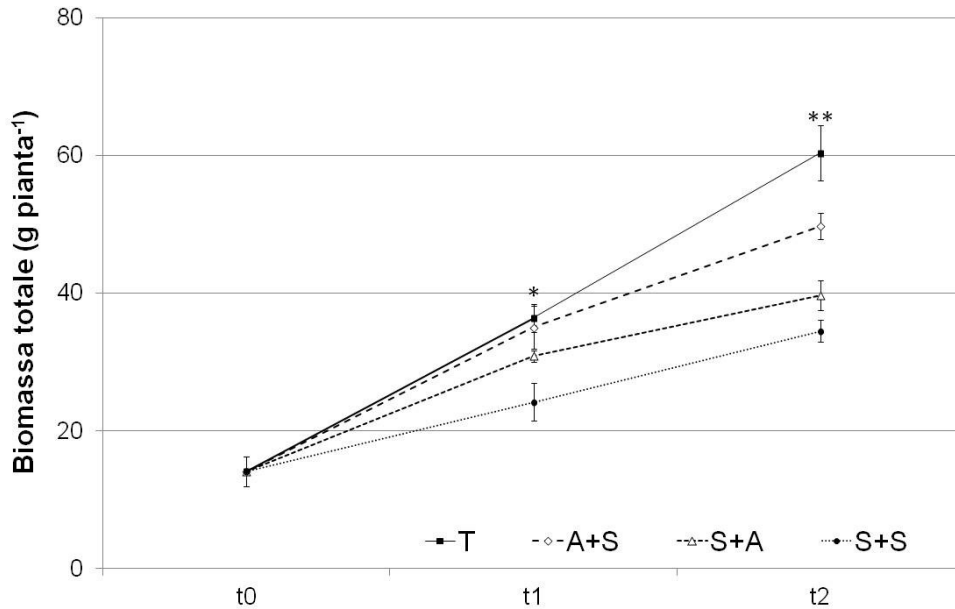
**Tab. 5.5.1.** RGR (*Relative Growth Rate*,  $\text{g g}^{-1} \text{d}^{-1}$ ), NAR (*Net Assimilation Rate*,  $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$ ), LAR (*Leaf Area Ratio*,  $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$ ), LWR (*Leaf Weight Ratio*,  $\text{g g}^{-1}$ ) a differenti trattamenti salini (T, A+S, S+A e S+S) calcolati a  $t_1$  e  $t_2$ .

Tempo	Trattamento	RGR $10^{-2}$ ( $\text{g g}^{-1} \text{d}^{-1}$ )	NAR ( $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$ )	LAR $10^{-2}$ ( $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$ )	LWR $10^{-2}$ ( $\text{g g}^{-1}$ )
$t_1$	T	1.19a	2.47a	0.49	20.46a
	A+S	1.19a	1.87a	0.49	17.21b
	S+A	0.95a	2.45a	0.51	11.59c
	S+S	0.56b	1.17b	0.48	7.77d
<i>Significatività</i>		***	**	NS	***
$t_2$	T	1.70a	4.51a	0.38c	22.08
	A+S	1.28b	3.28b	0.39c	19.61
	S+A	1.08b	2.60b	0.42b	17.20
	S+S	1.08b	2.35b	0.46a	15.64
<i>Significatività</i>		*	**	***	NS

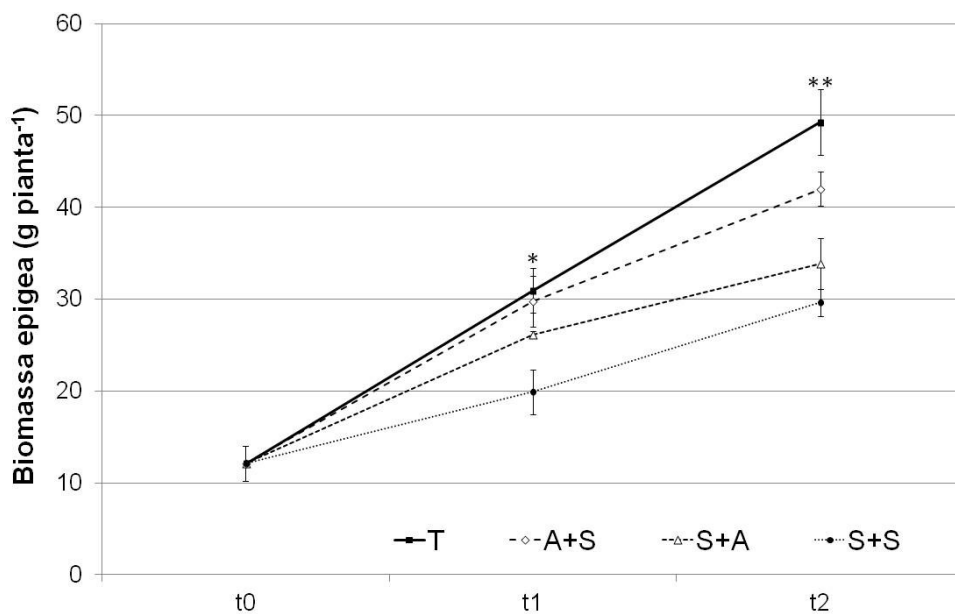
**Tab. 5.5.2.** Contenuto in  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  in foglie e radici a differenti trattamenti salini (T, A+S, S+A e S+S) all'inizio ( $t_0$ ), dopo 30 giorni ( $t_1$ ) e dopo 60 giorni ( $t_2$ ) dall'avvio della prova.

Ciclo	Trattamenti	$\text{Na}^+$ foglie ( $\text{g kg}^{-1} \text{DW}$ )	$\text{Cl}^-$ foglie ( $\text{g kg}^{-1} \text{DW}$ )	$\text{Na}^+$ radici ( $\text{g kg}^{-1} \text{DW}$ )	$\text{Cl}^-$ radici ( $\text{g kg}^{-1} \text{DW}$ )	Danno foglie (%)
$t_0$	T	1.26	1.20	1.46	6.89	0.00
$t_1$	T	1.53c	1.77c	5.92	7.11b	0.00b
	A+S	6.72b	5.32a	4.68	8.49b	3.36a
	S+A	5.83b	5.51a	5.99	15.37a	0.00b
	S+S	9.91a	7.27b	6.06	12.77a	4.36a
<i>Significatività</i>		***	***	NS	***	***
$t_2$	T	1.10d	1.33c	6.09	8.10b	0.00c
	A+S	6.95c	7.38b	7.76	9.79b	10.67b
	S+A	8.75b	8.00b	6.48	16.49a	0.55c
	S+S	20.62a	15.57a	6.51	19.02a	27.89a
<i>Significatività</i>		***	***	NS	***	***





**Fig. 5.5.2** - Biomassa totale (g pianta<sup>-1</sup>) a differenti trattamenti salini (T, A+S, S+A e S+S) all'inizio (t<sub>0</sub>), dopo 4 (t<sub>1</sub>) e dopo 8 (t<sub>2</sub>) settimane. In questa figura e nelle successive, \*, \*\*, \*\*\* indicano rispettivamente differenze significative per  $P \leq 0.05$ , 0.01, 0.001.



**Fig. 5.5.3** - Biomassa epigea (g pianta<sup>-1</sup>) a differenti trattamenti salini (T, A+S, S+A e S+S) all'inizio (t<sub>0</sub>), dopo 4 (t<sub>1</sub>) e dopo 8 (t<sub>2</sub>) settimane.

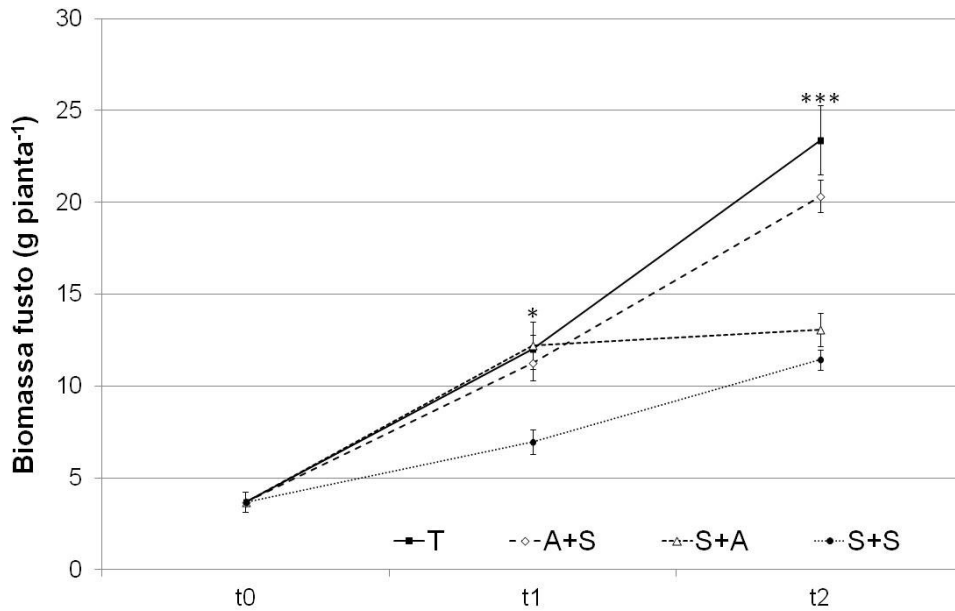


Fig. 5.5.4 - Biomassa del fusto (g pianta<sup>-1</sup>) a differenti trattamenti salini (T, A+S, S+A e S+S) all'inizio (t<sub>0</sub>), dopo 4 (t<sub>1</sub>) e dopo 8 (t<sub>2</sub>) settimane.

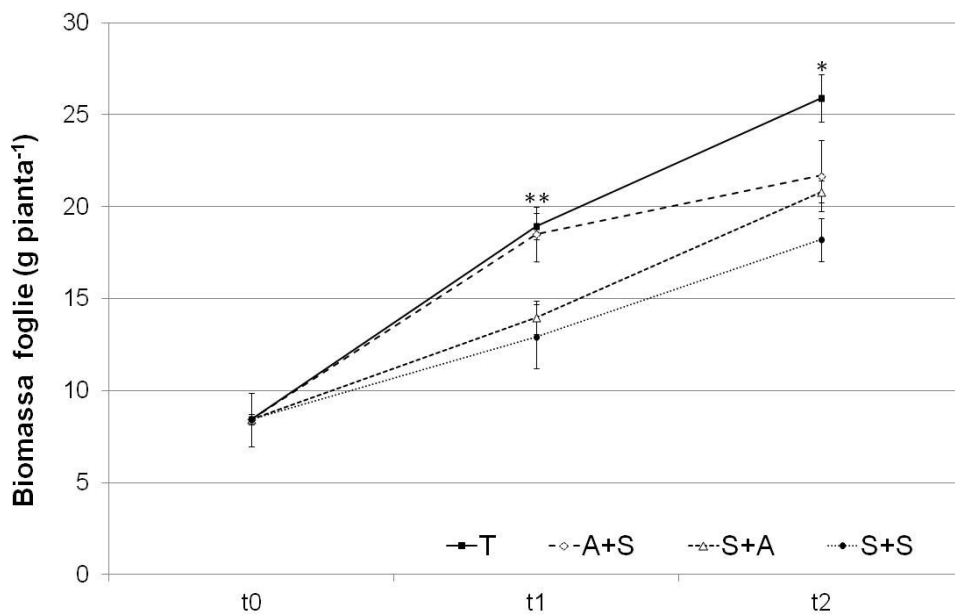


Fig. 5.5.5 - Biomassa delle foglie (g pianta<sup>-1</sup>) a differenti trattamenti salini (T, A+S, S+A e S+S) all'inizio (t<sub>0</sub>), dopo 4 (t<sub>1</sub>) e dopo 8 (t<sub>2</sub>) settimane.

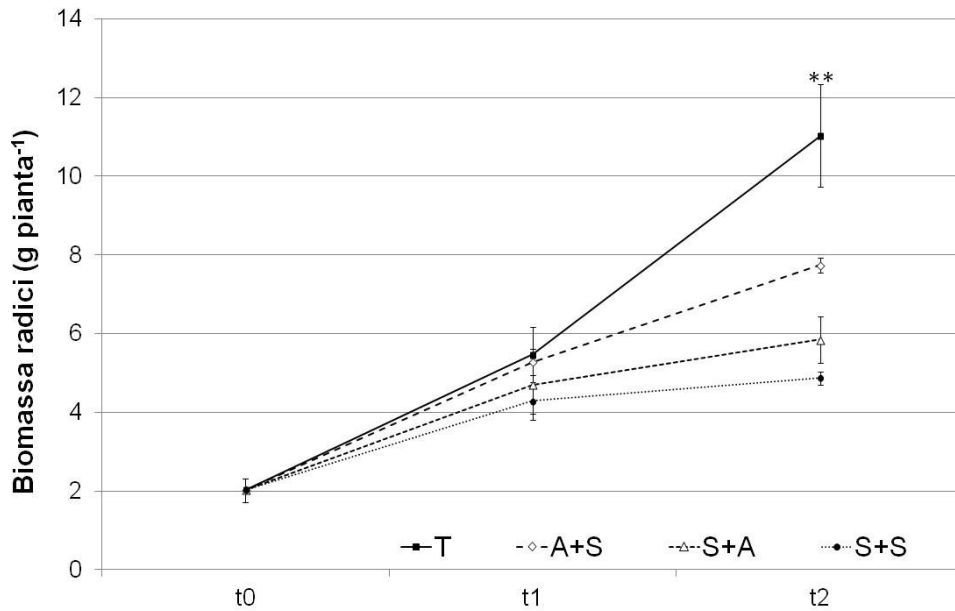


Fig. 5.5.6 - Biomassa delle radici (g pianta<sup>-1</sup>) a differenti trattamenti salini (T, A+S, S+A e S+S) all'inizio (t<sub>0</sub>), dopo 4 (t<sub>1</sub>) e dopo 8 (t<sub>2</sub>) settimane.

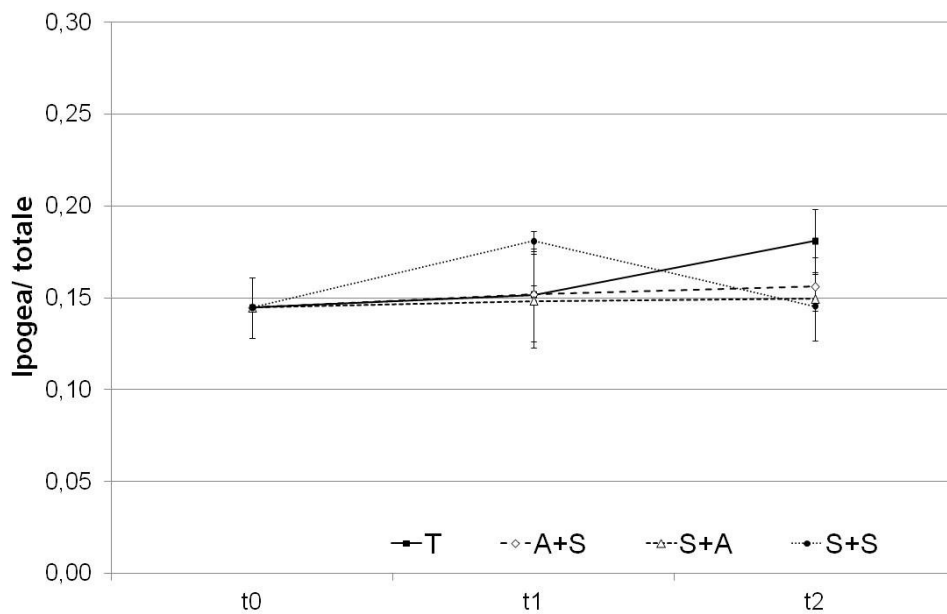


Fig. 5.5.7 - Rapporto biomassa ipogea/totale a differenti trattamenti salini (T, A+S, S+A e S+S) all'inizio (t<sub>0</sub>), dopo 4 (t<sub>1</sub>) e dopo 8 (t<sub>2</sub>) settimane.

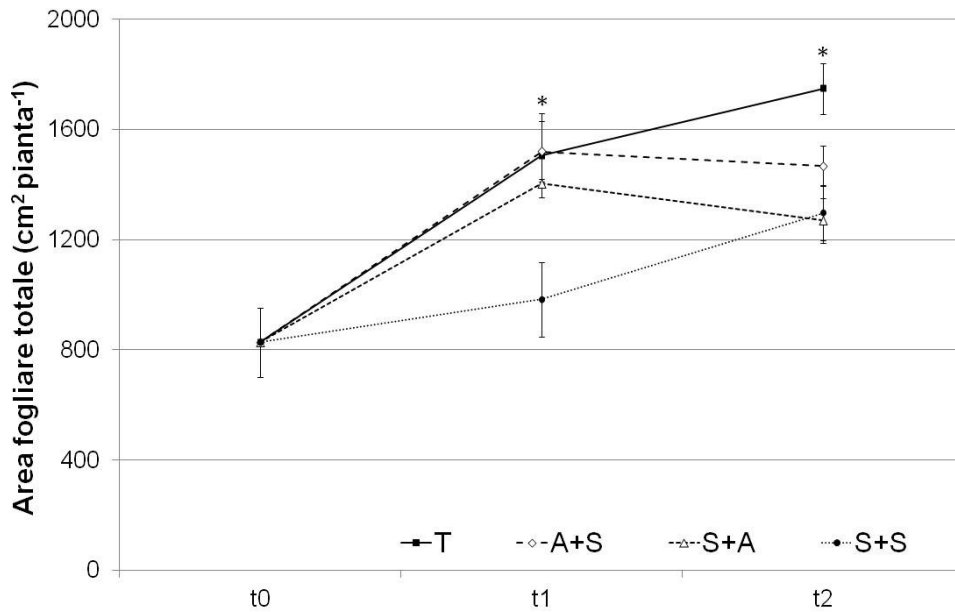


Fig. 5.5.8 - Area fogliare totale (cm<sup>2</sup> pianta<sup>-1</sup>) a differenti trattamenti salini (T, A+S, S+A e S+S) all'inizio (t<sub>0</sub>), dopo 4 (t<sub>1</sub>) e dopo 8 (t<sub>2</sub>) settimane.

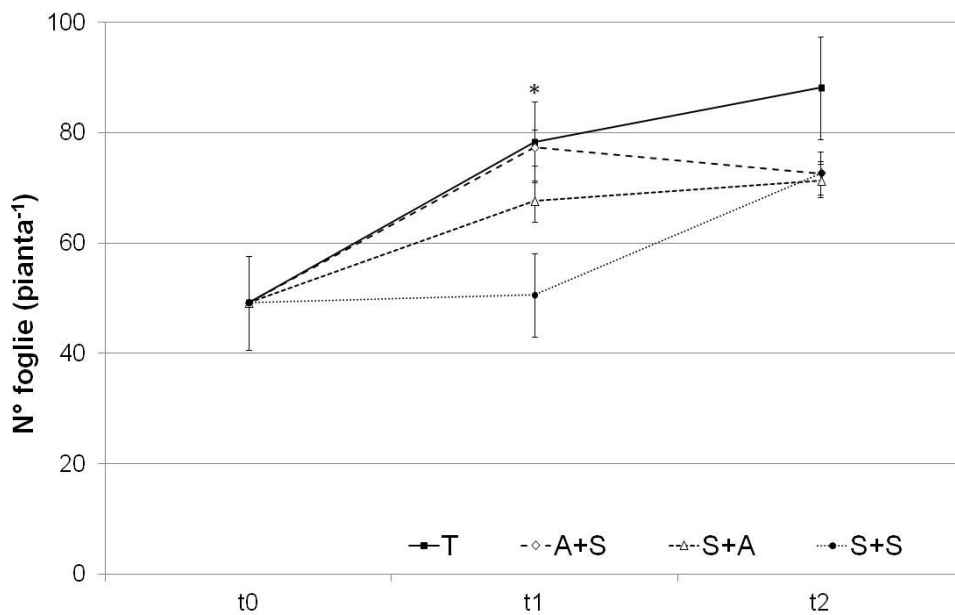
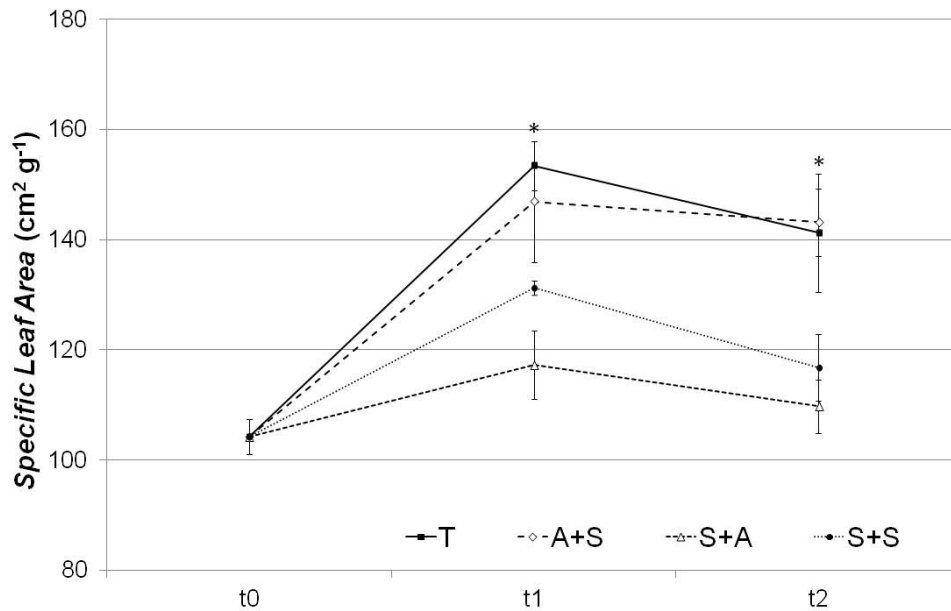
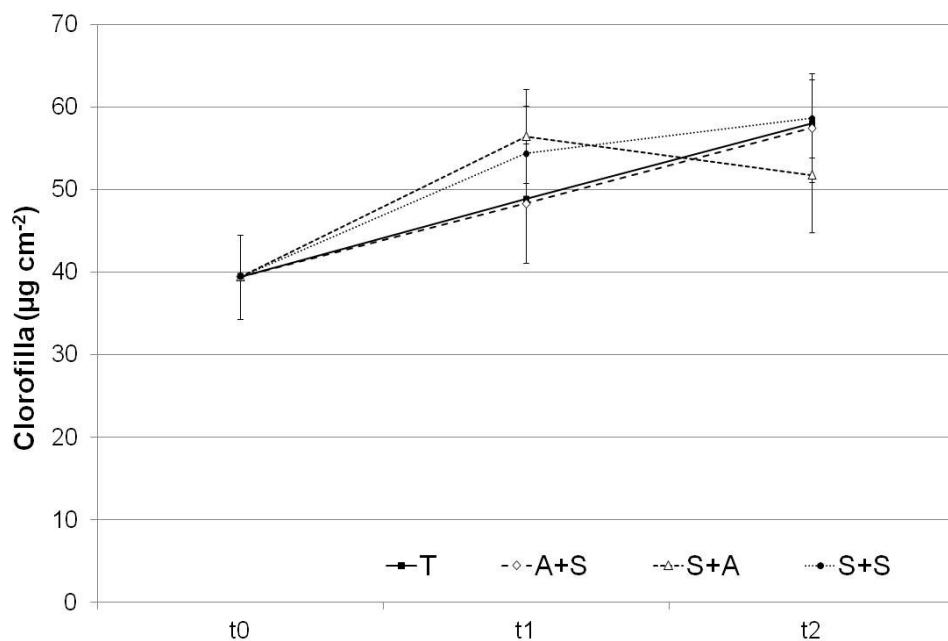


Fig. 5.5.9 - Numero di foglie (n. pianta<sup>-1</sup>) a differenti trattamenti salini (T, A+S, S+A e S+S) all'inizio (t<sub>0</sub>), dopo 4 (t<sub>1</sub>) e dopo 8 (t<sub>2</sub>) settimane.



**Fig. 5.5.10** - Specific Leaf Area ( $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$ ) a differenti trattamenti salini (T, A+S, S+A e S+S) all'inizio ( $t_0$ ), dopo 4 ( $t_1$ ) e dopo 8 ( $t_2$ ) settimane.



**Fig. 5.5.11** - Contenuto in clorofilla ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ ) a differenti trattamenti salini (T, A+S, S+A e S+S) all'inizio ( $t_0$ ), dopo 4 ( $t_1$ ) e dopo 8 ( $t_2$ ) settimane.

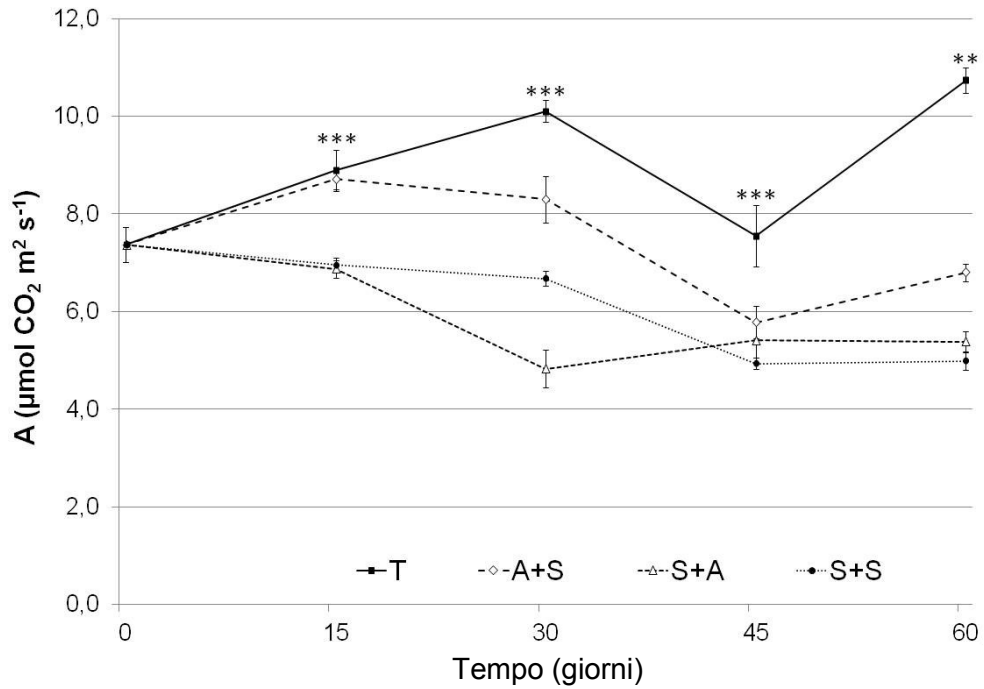


Fig. 5.5.12 - Andamento della fotosintesi netta nel corso della prova.

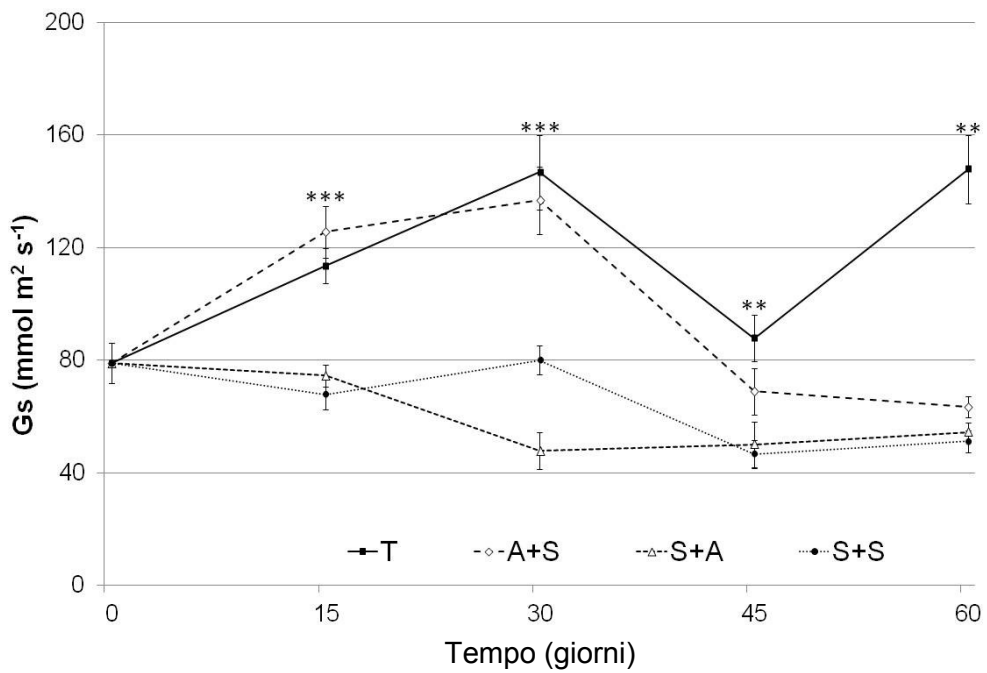


Fig. 5.5.13 - Andamento della conduttanza stomatica nel corso della prova.

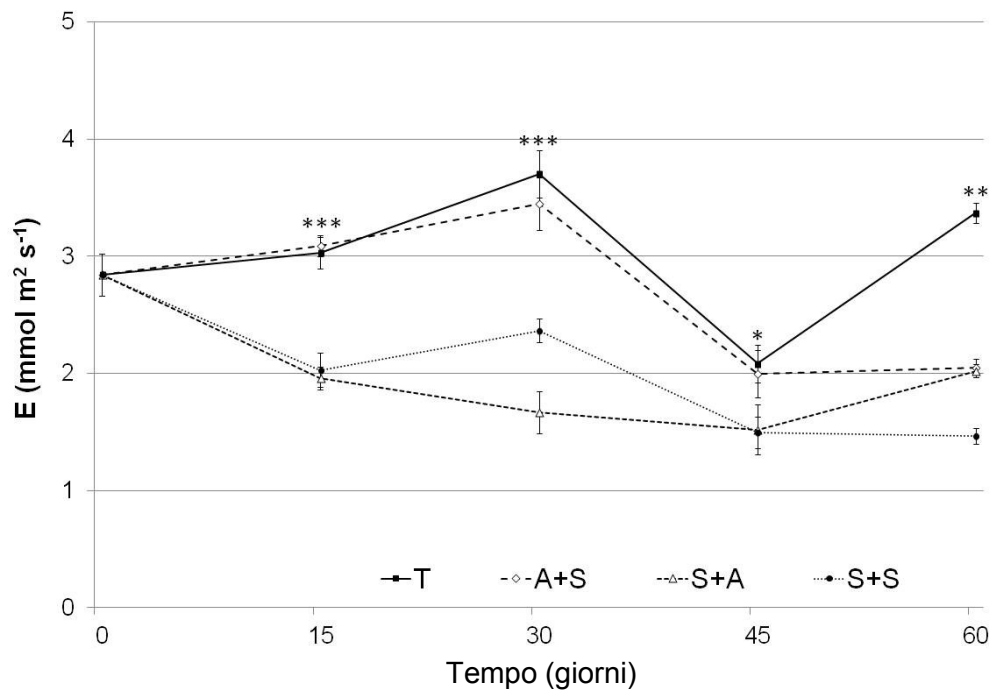


Fig. 5.5.14 - Andamento del tasso di traspirazione nel corso della prova.

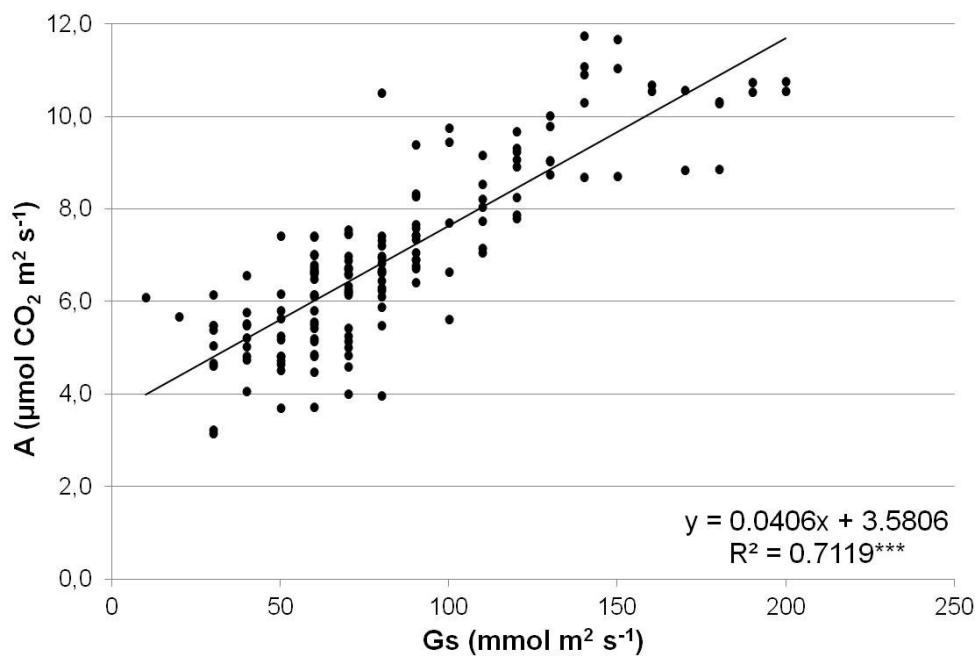


Fig. 5.5.15 - Correlazione tra i valori della fotosintesi netta e quelli della conduttanza stomatica.

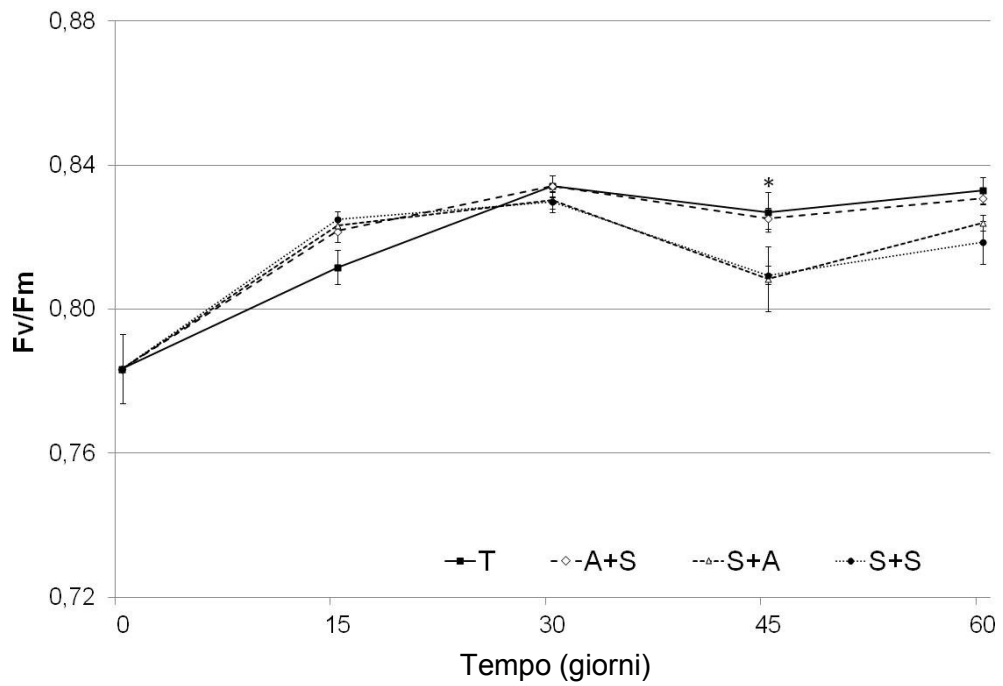


Fig. 5.5.16 - Andamento della fluorescenza nel corso della prova.

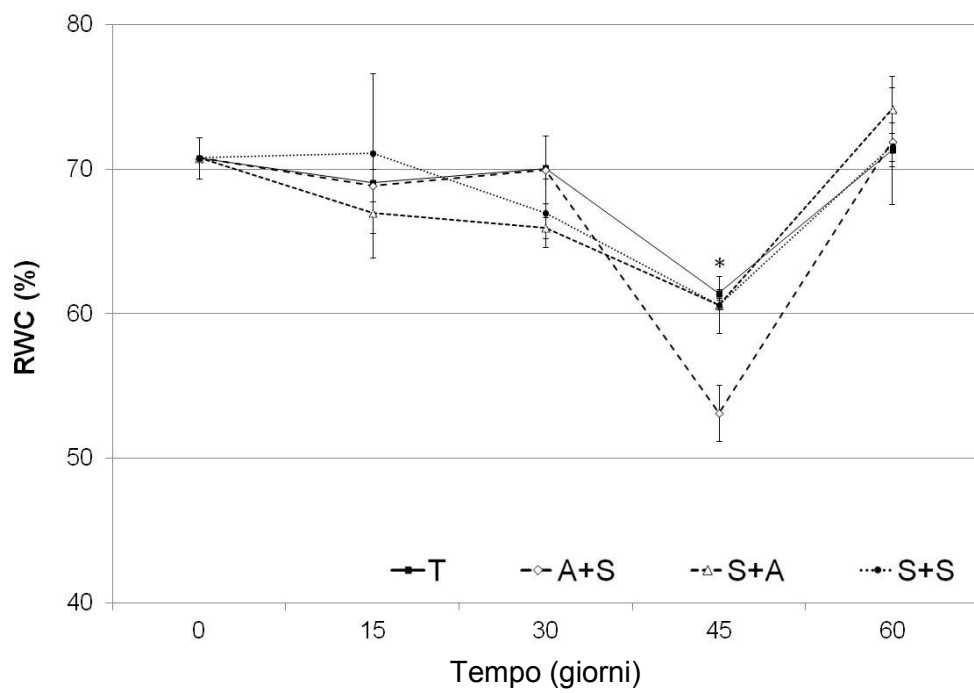


Fig. 5.5.17 - Andamento del RWC nel corso della prova.



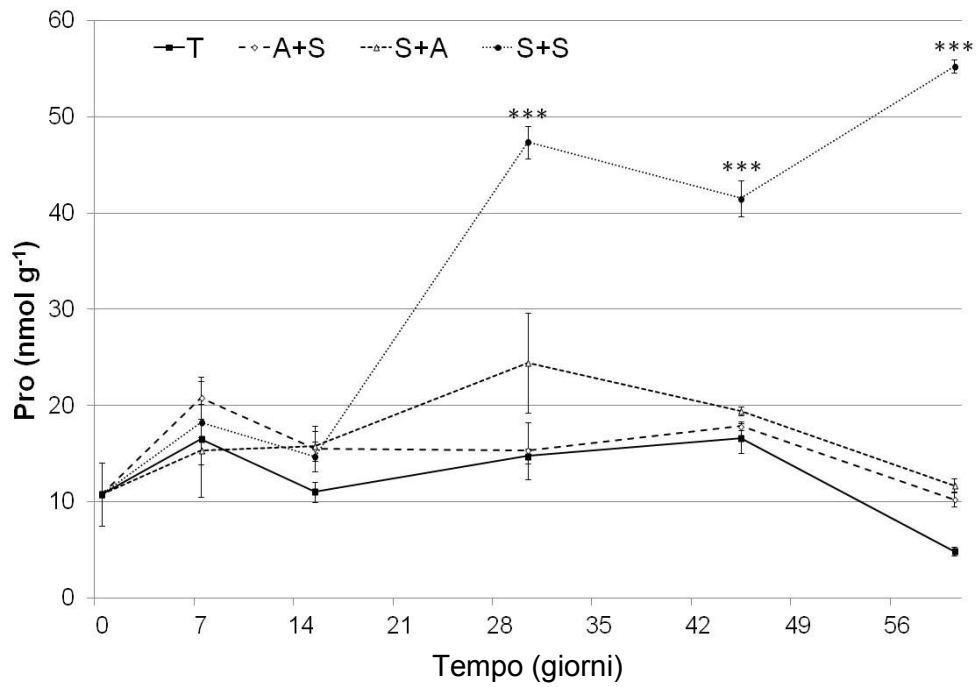


Fig. 5.5.18 – Contenuto di prolina nelle foglie nel corso della prova.

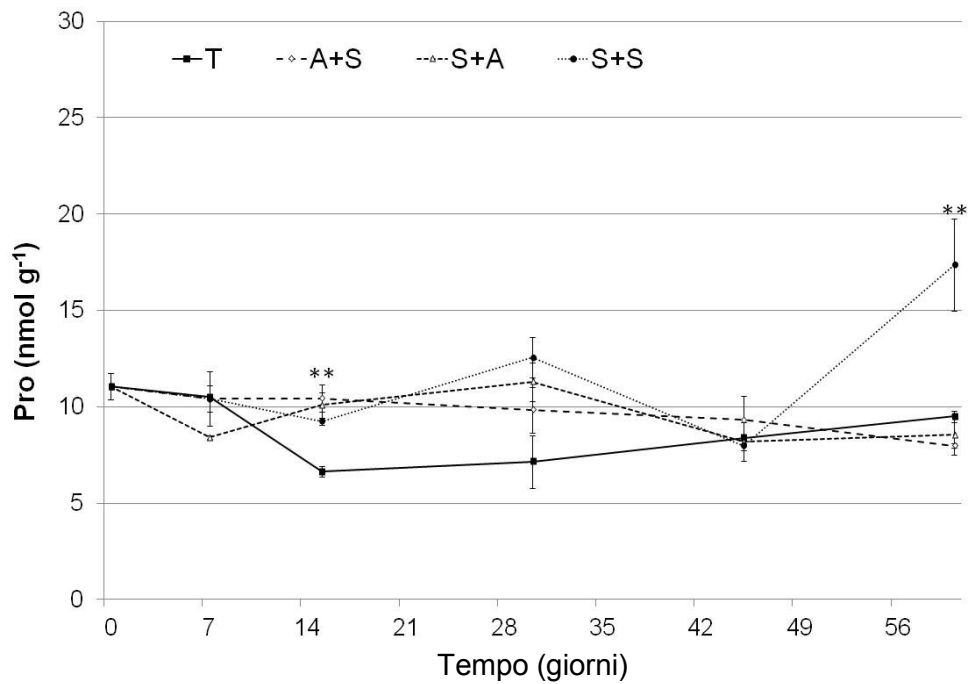


Fig. 5.5.19 – Contenuto di prolina nelle radici nel corso della prova.

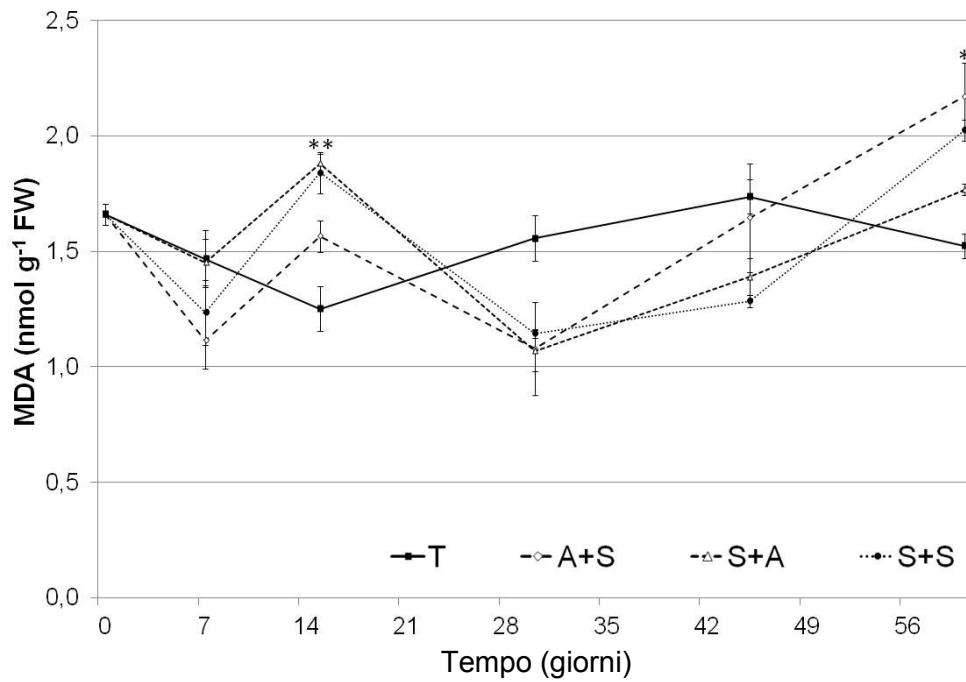


Fig. 5.5.20 – Contenuto di MDA nelle foglie nel corso della prova.

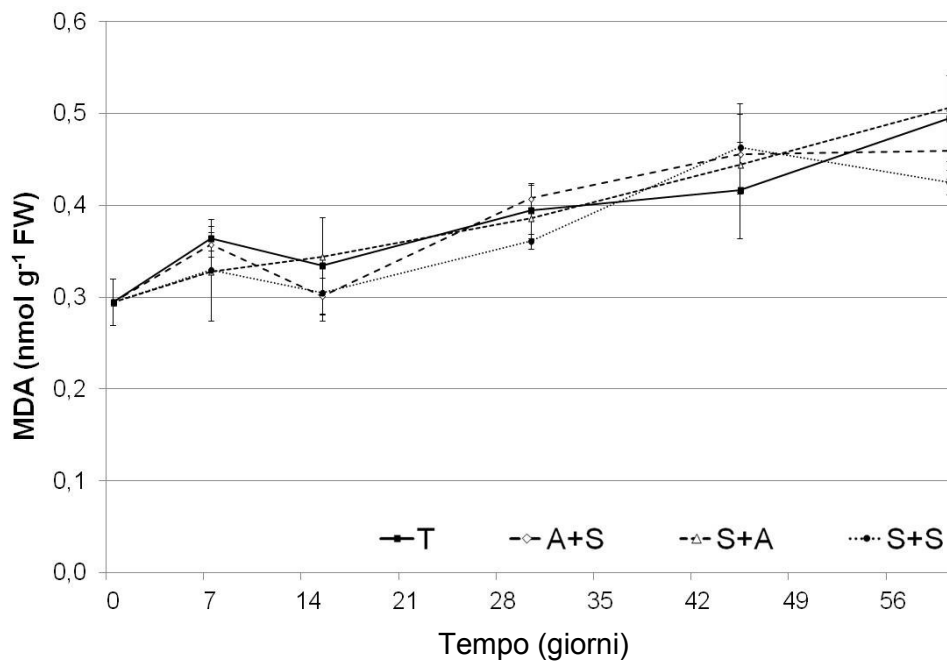


Fig. 5.5.21 – Contenuto di MDA nelle radici nel corso della prova.

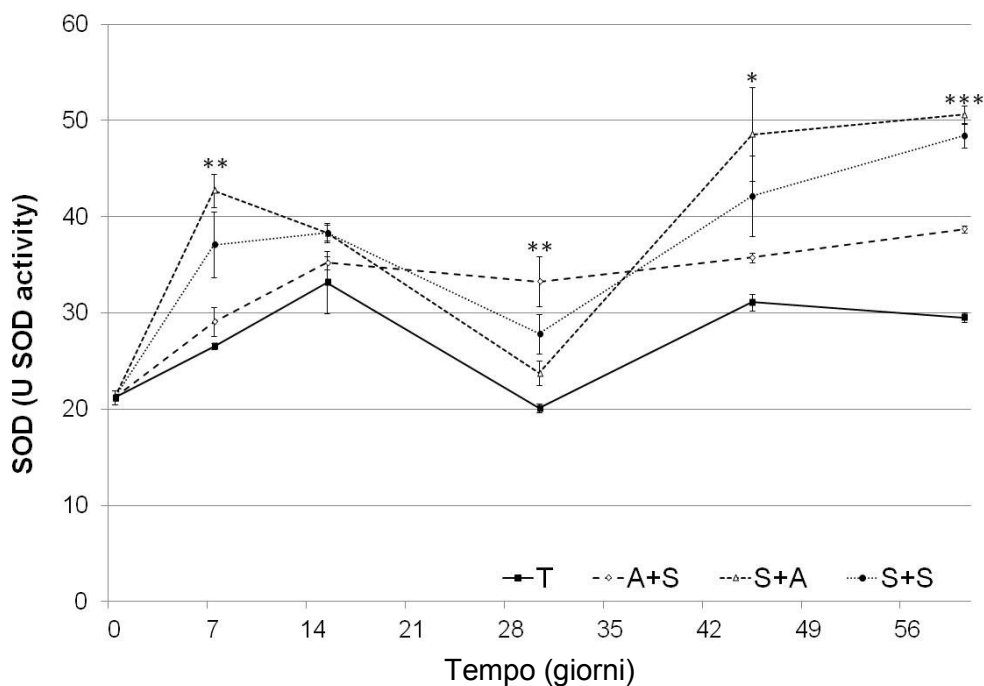


Fig. 5.5.22 – Attività dell'attività di SOD nelle foglie nel corso della prova.

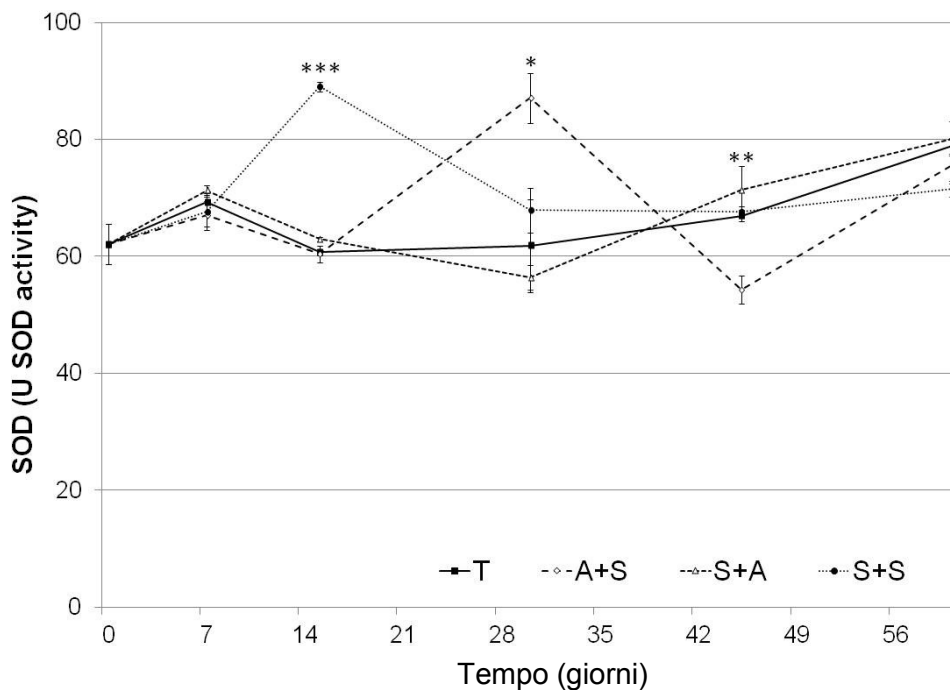


Fig. 5.5.23 – Attività dell'attività di SOD nelle radici nel corso della prova.

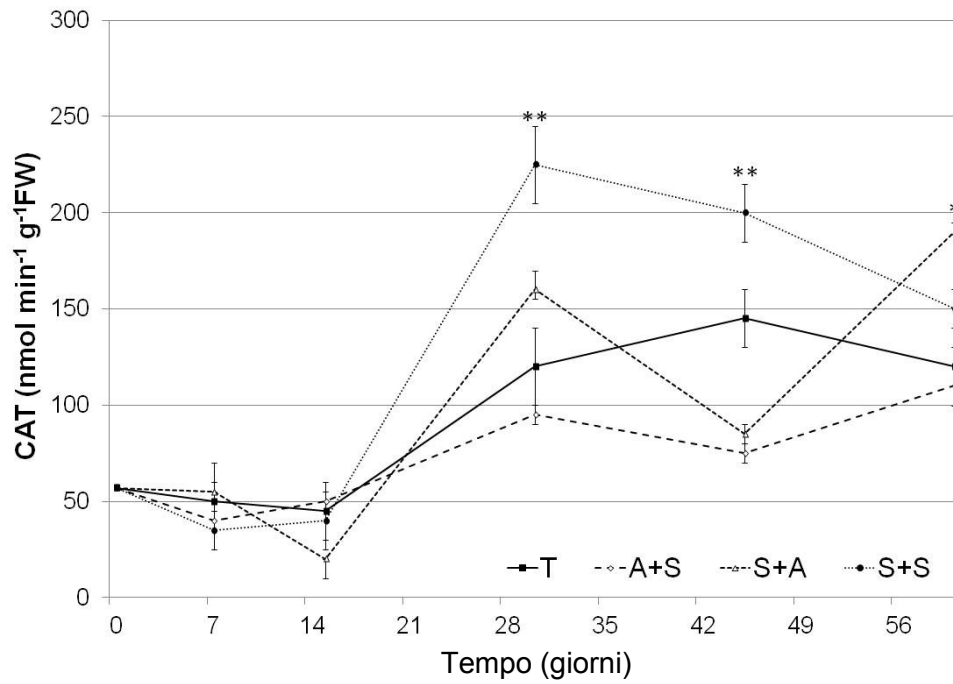


Fig. 5.5.24 – Contenuto di CAT nelle foglie nel corso della prova.

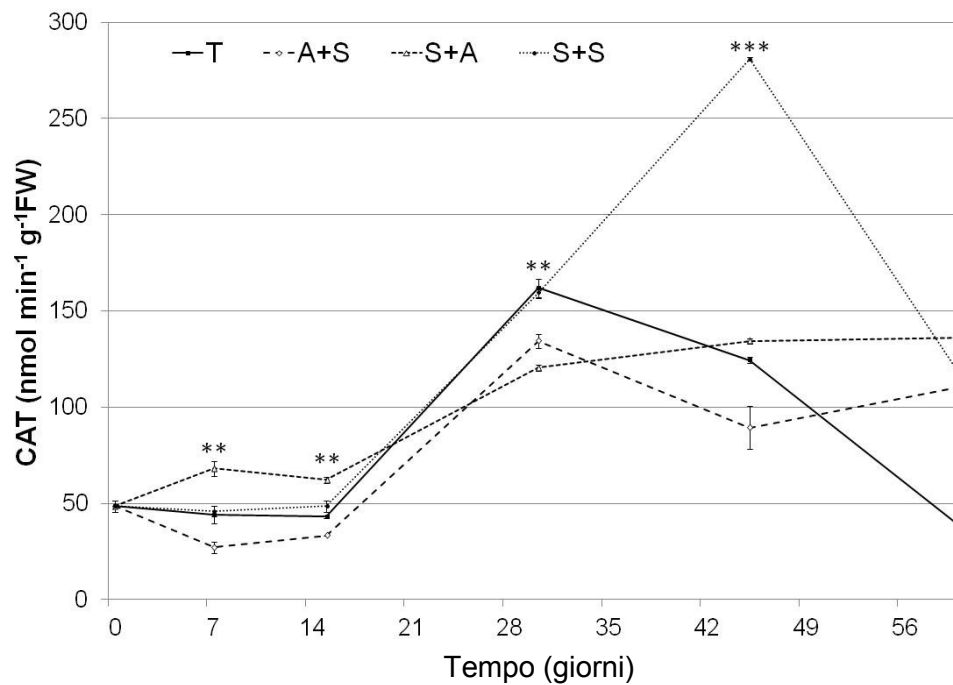


Fig. 5.5.25 – Contenuto di CAT nelle radici nel corso della prova.

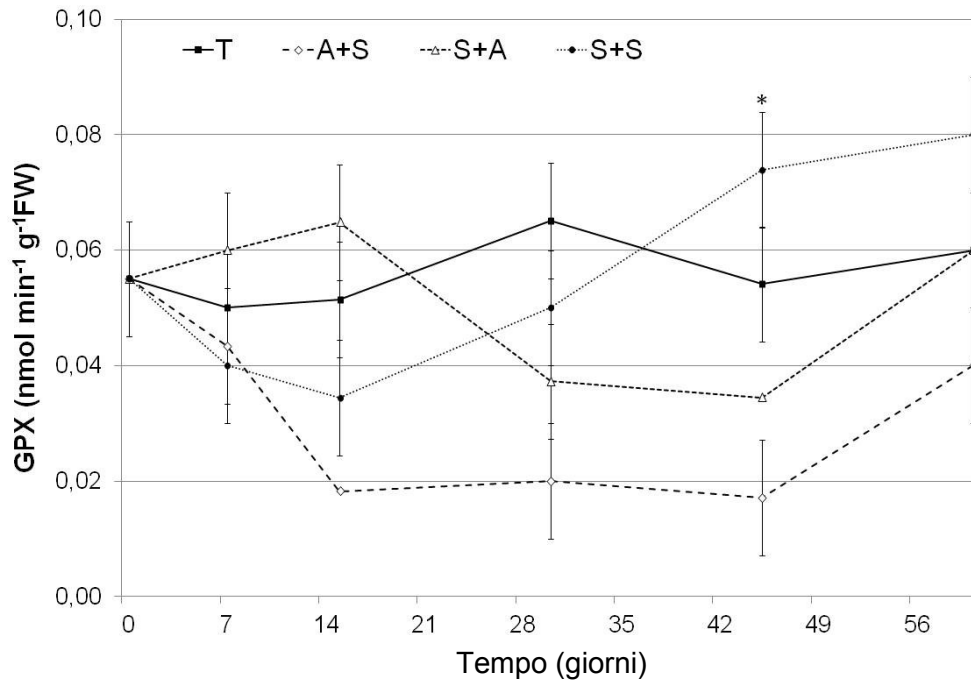


Fig. 5.5.26 – Contenuto di GPX nelle foglie nel corso della prova.

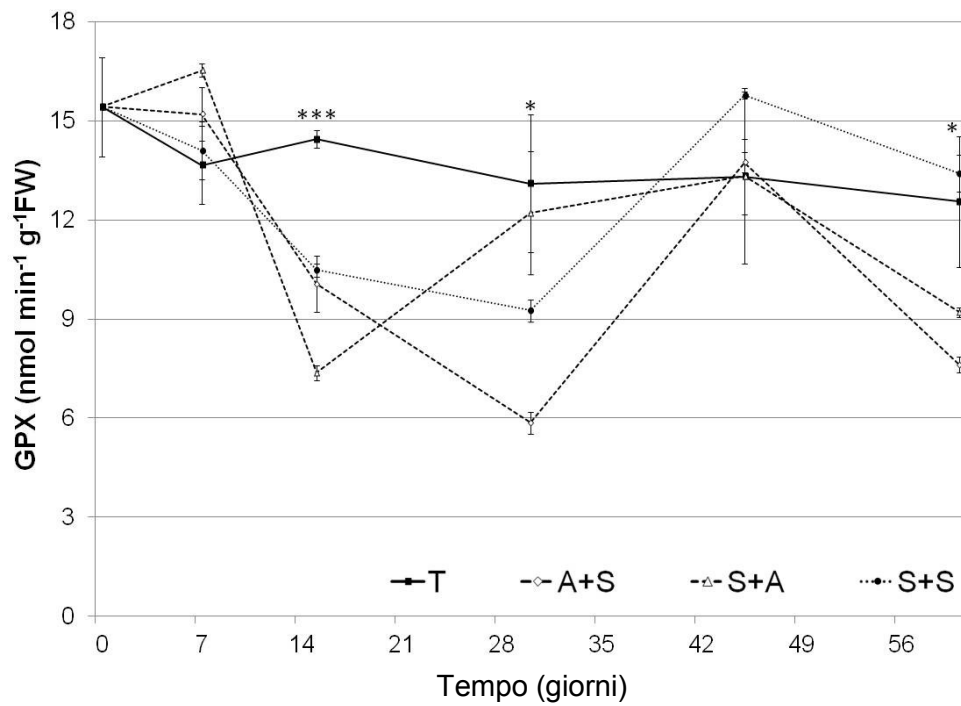


Fig. 5.5.27 – Contenuto di GPX nelle radici nel corso della prova.

## **6. Sintesi conclusiva**

Le questioni relative alla risposta agli stress abiotici, in precedenza analizzate solo per le piante di interesse agrario anche per le elevate decurtazioni (fino al 50-70%) che possono determinare sulle rese complessive, da qualche tempo hanno interessato le piante ornamentali e in particolare quelle utilizzate per la realizzazione di spazi a verde.

Le motivazioni sono numerose e scaturiscono soprattutto dal fatto che, mentre nel passato si cercava di mettere le piante ornamentali nelle migliori condizioni ambientali con un grande dispendio di input produttivi, oggi la rinnovata coscienza ecologica e la consapevolezza dei limiti delle risorse cercano di proporre forme di realizzazione del verde più rispettose della sostenibilità ambientale. Le piante ornamentali, inoltre, sono sempre più chiamate in causa per la ricomposizione di ambienti marginali o degradati, caratterizzati da condizioni (carenza idrica, scarsa qualità dell'acqua, ipossia) che mettono a dura prova la capacità di sopravvivenza delle diverse specie.

La pianta ornamentale non è più vista solo come un essere vivente in grado di migliorare l'aspetto estetico di un luogo ma come opportunità per migliorare alcuni parametri ambientali, senza un elevato consumo di mezzi di produzione.

Le difficili condizioni in cui le piante sono poste potrebbero ulteriormente peggiorare, a causa di quel *global change* che è in atto e che potrebbe accentuare i problemi ambientali (es. siccità, salinità), già molto presenti in ambiente mediterraneo.

Le piante ornamentali, grazie alla loro grande articolazione biologica (sono migliaia le specie di possibile impiego), offrono assetti genetici molto articolati, al cui interno è possibile individuare quei genotipi più attrezzati a resistere a fattori abiotici subottimali.

Le questioni del rapporto fra pianta ornamentale e stress abiotici non appaiono semplici. Lo stesso ampio contributo, offerto dallo sterminato patrimonio biologico, non può certo basarsi su osservazioni empiriche, ma deve avere il conforto di lunghi e onerosi lavori di valutazione, complicati dal fatto che

la risposta al fattore di stress può modificarsi profondamente fra specie congeneri e talvolta tra cultivar della stessa specie.

Un'altra criticità è rappresentata dal fatto che spesso stress di diversa natura sono associati fra loro e la risposta dei genotipi si modifica in base all'entità e alla durata dello stress e all'eventuale interazione con altri fattori di stress e con le stesse condizioni ambientali. Inoltre l'età della pianta, le condizioni fitosanitarie, lo stesso *hardening*, che riguardano il singolo individuo, possono modificarne la risposta.

L'analisi della risposta della pianta a stress presenta altre criticità. Un primo problema attiene alla necessità di predisporre condizioni sperimentali idonee per modulare e in un certo senso "isolare" lo stress per poterne valutare gli effetti. Questo, se da una parte facilita l'individuazione della risposta della pianta a condizioni sub-ottimali, dall'altra può comportare che si verifichino situazioni non rappresentative di quanto avviene in natura e soprattutto non corrispondenti all'intensità voluta dello stress. In alcuni casi la necessità, ad esempio, di operare in contenitore per potere effettuare alcune sperimentazioni, può amplificare, al di là di quanto programmato, il fattore di stress. È un caso piuttosto frequente, ad esempio, quando si analizzano gli stress idrici e salini.

Vi è poi la necessità di individuare rilievi che siano pertinenti, frequenti, precisi e interscambiabili, in grado di esprimere in maniera puntuale la risposta della pianta a un determinato fattore sub-ottimale. In specie ornamentali, poi, diventa importante l'aspetto estetico della pianta stessa e la rappresentatività dei parametri individuati per esprimere tale condizione. Così la parametrizzazione della crescita e della resa utile, ampiamente utilizzati per le piante agrarie, diventano per questo gruppo di piante meno importanti, anche perché paradossalmente, in alcuni contesti, può non essere negativo il fatto che una pianta si accresca meno, mentre l'aspetto estetico della chioma, l'assenza di danni alle foglie diventano indicazioni importanti per capire l'eventuale resistenza/tolleranza al fattore di stress. Vi è poi l'interesse a individuare parametri in grado di esprimere la condizione di stress prima che il danno diventi irreversibile.

Il problema della risposta agli stress abiotici in questo contesto è stato affrontato, nell'ambito della presenti tesi, quasi sempre su piante arbustive in fase vivaistica che sono state le nostre piante "modello", per valutare il possibile

contributo offerto dallo screening di genotipi diversi, la risposta a stress singoli (salino, secco, temperature subottimali) e/o associati fra loro (sale + surfactanti), l'influenza di modalità diverse di somministrazione delle soluzioni saline (nel substrato tramite l'acqua di irrigazione o direttamente sulle foglie).

Particolare attenzione è stata posta all'individuazione di idonei parametri in grado di definire il livello del danno in una pianta ornamentale, in relazione alla particolare destinazione, e all'analisi dei meccanismi che stanno alla base della risposta della pianta stessa.

In estrema sintesi le ricerche sviluppate nell'ambito della presente tesi – diverse per obiettivi, metodologie, materiali biologici –, che hanno cercato di analizzare le complesse questioni relative alla risposta di specie ornamentali agli stress abiotici, hanno consentito di determinare che:

- lo screening è uno strumento importante per la valutazione della risposta delle piante ad un determinato stress; il fatto, però, che la risposta che si ottiene possa essere diversa in assetti genetici molto simili (qual è stato, ad esempio, il caso della cultivar 'Lucidum' di *Viburnum tinus*, rispetto alla specie tipo) impone che debbano essere analizzati numerosi genotipi;
- i parametri cui ancorare la risposta, anche per la loro influenza sugli aspetti applicativi, devono essere ancorati al valore ornamentale della pianta; per tali motivi assumono particolare rilievo la biomassa secca epigea, la superficie fogliare, la percentuale di necrosi nelle foglie;
- le determinazioni fisiologiche non sempre sono strettamente correlate ad incrementi in biomassa; questo ovviamente non sminuisce il valore delle informazioni che si possono desumere; soprattutto se correlati tra loro, tasso di traspirazione, conduttanza stomatica e fotosintesi netta forniscono indicazioni preziose circa i meccanismi di danno determinati dai vari fattori di stress;
- le determinazioni biochimiche, benché onerose, possono fornire indicazioni sulle modifiche che si verificano in un arco temporale piuttosto breve dopo l'imposizione di un determinato stress;
- l'effetto dello stress e l'ampiezza della risposta della pianta dipendono dalle condizioni ambientali; la risposta al mutare del complesso



fototermico è, però, diversa fra i genotipi (vedasi ad esempio, il comportamento differente di callistemon e viburno), il che attesta che si è davanti a un tipico effetto specie specifico;

- situazioni di stress in associazione possono amplificare in alcuni casi i danni alle piante, anche se non sempre è stato osservato un effetto sinergico (ad esempio, nell'aerosol marino in associazione con i surfactanti si è osservato solo un effetto additivo);
- la risposta a un determinato fattore di stress (es. salinità) si modifica in base alla modalità di somministrazione del sale stesso; nella nostra prova su *Photinia* la somministrazione di una soluzione salina all'apparato ipogeo ha determinato danni di maggiore entità rispetto a quando la stessa soluzione è stata distribuita direttamente sulle foglie;
- l'analisi del contenuto degli ioni potenzialmente tossici ( $\text{Cl}^-$  e  $\text{Na}^+$ ) nelle diverse porzioni organografiche e lo studio della loro traslocazione e/o compartimentalizzazione possono rappresentare un mezzo potente di comprensione degli effetti dello stress salino;
- lo studio degli stress può rappresentare anche, così come è stato per l'analisi della risposta dei pini iberici alla temperatura dell'acqua, uno strumento utile per valutare in chiave previsionale gli effetti del *global change*.

In estrema sintesi – pur nella articolazione dei dati a causa dell'elevata complessità della problematica – i risultati ottenuti indicano come la risposta agli stress abiotici dipenda in misura rilevante dal genotipo utilizzato. Nelle piante ornamentali, in considerazione dell'enorme potenziale biologico, questo aspetto sicuramente complica le indagini, anche perché le condizioni in cui si svolgono le prove influenzano il tipo e l'intensità della risposta.

La comprensione dei meccanismi di azione, ed in questa direzione dovrebbe ulteriormente rivolgersi l'attenzione futura, potrebbe agevolare un lavoro, piuttosto oneroso, che sicuramente ha implicazioni speculative, ma anche ricadute sul piano applicativo. Un sicuro interesse in questa direzione potrebbero rivestire metodi non distruttivi di diagnosi precoce della tolleranza delle diverse specie agli stress abiotici.

## 7. Riferimenti bibliografici

- Abrams, M.D., Kubiske, M.E., 1990. Photosynthesis and water relations during drought in *Acer rubrum* L. genotypes from contrasting sites in central Pennsylvania. *Funct. Ecol.* 4, 727-733.
- Acquaah, G., 2007. Principles of plant genetics and breeding. Blackwell, Oxford, p. 385.
- Adams, H.D., Guardiola-Claramonte, M., Barron-Gafford, G.A., Villegas, J.C., Breshears, D.D., Zou, C.B., Troch, P.A., Huxman, T.E., 2009. Temperature sensitivity of drought-induced tree mortality portends increased regional die-off under global-change-type drought. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106, 7063-7066.
- Adams, P., Ho, L.C., 1989. Effect of constant and fluctuating salinity on the yield, quality and calcium status of tomatoes. *J. Hortic. Sci.* 64, 795-732.
- Aebi, H., 1984. Catalase in vitro. *Method. Enzymol.* 105, 121-130.
- Aguilera, J., Bischof, K., Karsten, U., Hanelt, D., Wiencke, C., 2002. Seasonal variation in ecophysiological patterns in macroalgae from an Arctic fjord. II. Pigment accumulation and biochemical defence systems against high light stress. *Mar. Biol.* 140, 1087-1095.
- Ahmad, I., Wainwright, S.J., 1976. Ecotype differences in leaf surface properties of *Agrostis stolonifera* from salt marsh, spray zone and inland habitats. *New Phytol.* 76, 361-366.
- Ahmad, P., Prasad, M.N.V. (Eds.), 2012. Abiotic stress responses in plants: metabolism, productivity and sustainability. Springer, New York.
- Ahmad, P., John, R., Sarwat, M., Umar, S., 2008. Responses of proline, lipid peroxidation and antioxidative enzymes in two varieties of *Pisum sativum* L. under salt stress. *Int. J. Plant Prod.* 2(4), 353-366.
- Ahmad, P., Jaleel, C.A., Salem, M.A., Nabi, G., Sharma, S., 2010. Roles of enzymatic and non-enzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Crit. Rev. Biotechnol.* 30(3), 161-175.
- Ahmad, P., Hakeem, K.R., Kumar, A., Ashraf, M., Akram, N.A., 2012. Salt-induced changes in photosynthetic activity and oxidative defense system of three cultivars of mustard (*Brassica juncea* L.). *Afr. J. Biotechnol.* 11, 2694-2703.
- Ahmad, R.T., Malik, T.A., Khan, I.A., Jaskani, M.J.A., 2009. Genetic analysis of some morpho-physiological traits related to drought stress in cotton (*Gossypium hirsutum*). *Int. J. Agric. Biol.* 11, 235-240.
- Ahmadi, A.A., 1998. Effect of post-anthesis water stress on yield regulating processes in wheat (*Triticum aestivum* L.). Ph.D. Thesis. University of London, Wye College, Wye, Ashford, U.K.
- Ahmed, C.B., Rouina, B.B., Sensoy, S., Boukhris, M., Addallah, F.B., 2009. Changes in gas exchange proline accumulation and antioxidative enzyme activities in three olive cultivars under contrasting water availability regimes. *Environ. Exp. Bot.* 67, 345-352.
- Aktas, H., Abak, K., Cakmak, I., 2006. Genotypic variation in the response of pepper to salinity. *Sci. Hortic.* 110, 260-266.
- Alarcón, J.J., Sánchez-Blanco, M.J., Bolarín, M.C., Torrecillas, A., 1993. Water relations and osmotic adjustment in *Lycopersicon esculentum* and *L. pennellii* during short term salt exposure and recovery. *Physiol. Plant.* 89, 441-447.

- Alarcón, J.J., Morales, M.A., Torrecillas, A., Sánchez-Blanco, M.J., 1999. Growth, water relations and accumulation of organic and inorganic solutes in the halophyte *Limonium latifolium* cv. Avignon and its interspecific hybrid *Limonium caspia* x *Limonium latifolium* cv. Beltlaard during salt stress. *J. Plant Physiol.* 154, 795-801.
- Alessio, G.A., De Lillis, M., Brugnoli, E., Lauteri, M., 2004. Water sources and water-use efficiency in Mediterranean coastal dune vegetation. *Plant Biology* 6, 350-357.
- Alfía, R., Martín Albertos, S., de Miguel y del Ángel, J., Galera Peral, R.M., Agúndez Leal, D., Gordo Alonso, J., Catalán, G., Gil, L., 1996. Las regiones de procedencia de *Pinus pinaster* Ait. en España. Madrid, Ministerio de Medio Ambiente; Organismo Autónomo Parques Nacionales.
- Alfía, R., Moro, J., Denis, J.B., 1997. Performance of *Pinus pinaster* Ait. provenances in Spain, interpretation of the genotype-environment interaction. *Can. J. Forest. Res.* 27, 1548-1559.
- Allen, D.J., Ort, D.R., 2001. Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants. *Trends Plant Sci.* 6(1), 36-42.
- Alscher, R.G., Cumming, J.R. 1990. Stress responses in plants: adaptation and acclimation mechanisms. *Plant Biology*, vol. 12. Wiley-Liss, New York.
- Alscher, R.G., Erturk, N., Heath, L.S., 2002. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *J. Exp. Bot.* 53, 1331-41.
- Alshammary, S.F., Qian, Y.L., Wallner, S.J., 2004. Growth response of four turfgrass species to salinity. *Agr. Water Manage.* 66, 97-111.
- Álvarez, S., Sánchez-Blanco, M.J., 2013. Changes in growth rate, root morphology and water use efficiency of potted *Callistemon citrinus* plants in response to different levels of water deficit. *Sci. Hortic.* 156, 54-62.
- Álvarez, S., Navarro, A., Bañón, S., Sánchez-Blanco, M.J., 2009. Regulated deficit irrigation in potted *dianthus* plants: effects of severe and moderate water stress on growth and physiological responses. *Sci. Hortic.* 122, 579-585.
- Álvarez, S., Navarro, A., Nicolás, E., Sánchez-Blanco, M.J., 2011. Transpiration, photosynthetic responses, tissue water relations and dry mass partitioning in *Callistemon* plants during drought conditions. *Sci. Hortic.* 129, 306-312.
- Álvarez, S., Gómez-Bellot, M.J., Castillo, M., Bañón, S., Sánchez-Blanco, M.J., 2012. Osmotic and saline effect on growth, water relations, and ion uptake and translocation in *Phlomis purpurea* plants. *Environ. Exp. Bot.* 78, 138-145.
- Améglio, T., Morizet, J., Cruiziat, P., Martignac, M., 1990. The effects of root temperature on water flux, potential and root resistance in sunflower. *Agronomie* 10, 331-340.
- Anfodillo, T., Di Bisceglie, D.P., Urso, T., 2002. Minimum cuticular conductance and cuticle features of *Picea abies* and *Pinus cembra* needles along an altitudinal gradient in the Dolomites (NE Italian Alps). *Tree Physiol.* 22, 479-487.
- Anella, L.B., Withlow, T.H., 1998. Germination of *Acer rubrum* seeds collected from wet and dry habitats. *Seed Sci. Technol.* 26, 755-762.
- Anella, L.B., Withlow, T.H., 2000. Photosynthetic response to flooding of *Acer rubrum* seedlings from wet and dry sites. *Amer. Mid. Nat.* 143, 330-341.
- Anjum, S., Xie, X.Y., Wang, L.C., Saleem, M.F., Man, C., Wang, L., 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *Afr. J. Agric. Res.* 6, 2026-2032.

- Apel, K., Hirt, H., 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Ann. Rev. Plant Biol.* 55, 373-399.
- Appleton, B., Huff, R.R., French, S.C., 1999. Evaluating trees for saltwater spray tolerance for oceanfront sites. *J. Arboric.* 25, 205-210.
- Araújo-Alves, J.P., Torres-Pereira, J.M.G., Biel, C., De Herralde, F., Savé, R., 1999. Effects of minimum irrigation technique on ornamental parameters of two Mediterranean species used in xerigardening and landscaping. *Acta Hortic.* 541, 1-10.
- Aronson, J., 1985. Economic halophytes. A global review. In: Wickers, G.E., Goodwin, J.R., Fields, D.V. (Eds.), *Plants for arid lands*. George Allen and Unwin, London, pp. 178-188.
- Aronson, J., 1989. HALOPH a data base of salt tolerant plant of the world. Office of arid land studies, the University of Arizona, Tucson, Arizona, USA.
- Asada, K., 2006. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and other functions. *Plant Physiol.* 141, 391-396.
- Asamoah, T.E.O., Atkinson, D., 1985. The effects of (2RS, 3RS)-1-(4-chlorophenyl)-4, 4-dimethyl-2-(1H, 2, 4 triazole-1-yl) pentan-3-ol (Paclobutrazol: PP333) and rootpruning on the growth, water use and response to drought of Colt Cherry rootstocks. *J. Plant Growth Regul.* 3, 37-45.
- Asare-Boamah, N.K., Hofstra, G., Fletcher, R.A., Dumbroff, E.B., 1986. Triadimefon protects bean plants from water stress through its effect on abscisic acid. *Plant Cell Physiol.* 27, 383-390.
- Ashraf, M., 2001. Relationships between growth and gas exchange characteristics in some salt-tolerant amphidiploid *Brassica* species in relation to their diploid parents. *Environ. Exp. Bot.* 45, 155-163.
- Ashraf, M., 2004. Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. *Flora* 199, 361-376.
- Ashraf, M., 2009. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnol. Adv.* 27, 84-93.
- Ashraf, M., Mehmood, S., 1990. Response of four *Brassica* species to drought stress. *Environ. Expt. Bot.*, 30: 93-100.
- Ashraf, M., O'leay, J.W., 1996. Response of some newly evolved salt-tolerance genotypes of spring wheat to salt stress. 2. Water relations and gas exchange. *Acta Bot. Neerl.* 45, 29-39.
- Ashraf, M., Foolad, M.R., 2007. Roles of glycinebetaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environ. Exp. Bot.* 59, 206-216.
- Ashraf, M., McNeilly, T., Bradshaw, A.D., 1986. The potential for evolution of salt (NaCl) tolerance in seven grass species. *New Phytol.* 103, 299-309.
- Atkinson, D., Crisp, C., 1983. The effect of some plant growth regulators and herbicides on root system morphology and activity. *Acta Hortic.* 136, 21-28.
- Augé, R.M., Stodola, A.J.W., Gealy, D.M., 1990. Turgor maintenance in *Rosa rugosa* at three levels of nitrogen and subjected to drought. *J. Env. Hort.* 8, 108-112.
- Azza Mazher, A.M., Fatma El-Quesni, E.M., Farahat, M.M., 2007. Responses of ornamental plants and woody trees to salinity. *World J. Agr. Sci.* 3(3), 386-395.

- Bacelar, E.A., Santos, D.L., Moutinho-Pereira, J.M., Lopes, J.I., Gonçalves, B.C., Ferreira, T.C., Correia, C.M., 2007. Physiological behaviour, oxidative damage and antioxidative protection of olive trees grown under different irrigation regimes. *Plant Soil* 292, 1-12.
- Badawi, G.H., Kawano, N., Yamauchi, Y., Shimada, E., Sasaki, R., Kubo, A., Tanaka, K., 2004. Over-expression of ascorbate peroxidase in tobacco chloroplasts enhances the tolerance to salt stress and water deficit. *Physiol Plant*. 121, 231-238.
- Badot, P.M., Badot, M.J., 1995. Dépérissement du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) sous l'effet des embruns marins pollués. Symptômes macroscopiques et mise en évidence de perturbations hydriques dans les aiguilles. *Ann. Sci. Univ. Fr.-Comté, Besançon, Biologie-Ecologie* 3, 37-43.
- Badot, P.M., Richard, B., Lucot, E., Badot, M.J., Garrec, J.P., 1995. Water disturbances and needle surface alterations in *Pinus halepensis* Mill. Trees exposed to polluted seaspray. *Proceedings of the International Symposium Ecotoxicology of Air Compartment, Rouen, France*, 179-189.
- Baig, M.N., Tranquillini, W., 1980. The effects of wind and temperature on cuticular transpiration of *Picea abies* and *Pinus cembra* and their significance in desiccation damage at the alpine treeline. *Oecologia* 47, 252-256.
- Bailly, C., Benamar, A., Corbineau, F., Come, D., 1996. Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated aging. *Physiol. Plantarum* 97(1), 104-110.
- Baker, N.R., Rosenqvist, E., 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *J. Exp. Bot.* 55, 1607-1621.
- Bañón, S., Ochoa, J., González, A., 2001. Manipulation of oleander growth, development and foliage colour by paclobutrazol and ethephon. *Gartenbauwissenschaft* 66, 123-132.
- Bañón, S., Fernández, J.A., Ochoa, J., Sánchez-Blanco, M.J., 2005. Paclobutrazol as an aid to reduce some effects of salt stress in oleander seedlings. *Eur. J. Hortic. Sci.* 70, 43-49.
- Barbero, M., Loiesel, R., Quézel, P., Richardson, M., Romane, F., 1998. The role of desiccation tolerance in determining tree species distributions along the Malay-Thai Peninsula. *Funct. Ecol.* 22, 221-231.
- Barbieri, G., De Pascale, S., 1992. Salinità dell'acqua d'irrigazione e colture ortofloricole. *Colture protette* 2, 75-81.
- Barbour, M.G., De Jong, T.M., Pavlik, B.M., 1985. Marine beach and dune plant communities. In: Chabot, B.F., Mooney, H.A. (Eds.), *Physiological ecology of North American plant communities*, Chapman and Hall, New York, pp. 296-322.
- Barnes, P.W., Searles, P.S., Ballare, C.L., Ryel, R.J., Caldwell, M.M., 2000. Non-invasive measurements of leaf epidermal transmittance of UV radiation using chlorophyll fluorescence: field and laboratory studies. *Physiol. Plantarum* 109, 274-283.
- Basso, F. 1995. *Difesa del suolo e tutela dell'ambiente*. Pitagora Editrice, Bologna p. 504.
- Bates, L., Waldren, P.P., Teare, J.D., 1973. Rapid determination of the free proline of water stress studies. *Plant Soil* 39, 205-207.
- Bauerle, W.L., Whitlow, T.H., Setter, T.L., Bauerle, T.L., Vermeylen, F.M., 2003. *Ecophysiology of Acer rubrum* seedlings from contrasting hydrologic habitats:

- Growth, gas exchange, tissue water relations, abscisic acid and carbon isotope discrimination. *Tree Physiology* 23, 841–850.
- Bazzaz, F.A., Morse, S.R., 1991. Annual plants, potential responses to multiple stresses. In: Mooney, H.A., Winner, W.E., Pell, E.J., (Eds.), *Response of Plants to Multiple Stresses*. Academic. Press., San Diego, pp. 283-305.
- Beerling, D.J., Kelly, C.K., Salisbury, E.J., 1997. Stomatal density of temperature woodland plants over the past seven decades of CO<sub>2</sub> increase: a comparison of Salisbury (1927) with contemporary data. *Am. J. Bot.* 84, 1572-1583.
- Beeson, R.C.Jr., 2006. Relationship of plant growth and actual evapotranspiration to irrigation frequency based on management allowed deficits for container nursery stock. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 131(1), 140-148.
- Belligno, A., Cutore, L., Di Leo, M., Sardo, V., Brancato, R., 2002a. Response of two grasses to irrigation with diluted seawater. *Acta Hort.* 573, 353-356.
- Belligno, A., La Loggia, F., Sambuco, F., Sardo, V., Brancato, R., 2002b. Salinity tolerance in elytrigia (*Agropyron elongatum*). *Acta Hort.* 573, 349-351.
- Bernal, M., Estiarte, M., Peñuelas, J., 2011. Drought advances spring growth phenology of the Mediterranean shrub *Erica multiflora*. *Plant Biology* 13, 252-257.
- Berova, M., Zlatev, Z., 2003. Physiological response of paclobutrazol-treated triticale plants to water stress. *Biol. Plantarum* 46, 133-136.
- Beauchamp, C., Fridovich, I., 1971. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem. Review.* 44, 276-287
- Bhatnagar-Mathur, P., Vadez, V., Sharma, K.K., 2008. Transgenic approaches for abiotic stress tolerance in plants: retrospect and prospects. *Plant Cell Rep.* 27, 411-424.
- Bhatt, R.M., Srinivasa Rao, N.K., 2005. Influence of pod load response of okra to water stress. *Indian J. Plant Physi.* 10, 54-59.
- Bhattacharjee, S., 2005. Reactive oxygen species and oxidative burst: roles in stress, senescence and signal transduction in plant. *Curr. Sci.* 89, 1113-1121.
- Bian, S., Jiang, Y., 2009. Reactive oxygen species, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in leaves and roots of Kentucky bluegrass in response to drought stress and recovery. *Sci. Hortic.* 120, 264-270.
- Biasi, R., Costa, G., Succi, F., Nishijima, C., Martin, G.C., 1989. Paclobutrazol and root zone water content influence peach seedling behavior. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 114, 923-926.
- Blits, K.C., Gallagher, J.L., 1990. Salinity tolerance of *Kosteletzkya virginica*. I. Shoot growth, ion and water relations. *Plant Cell Environ.* 13, 409-418.
- Blum, A., 1986. Salinity resistance. In: Blum, A., (Ed.), *Plant Breeding for Stress Environments*. CRC Press, Boca Raton, pp. 1163-1169.
- Botequilla Letão, A., Ahern, A., 2002. Applying landscape ecological concepts and metrics in sustainable landscape planning. *Landscape Urban Plann.* 97, 550-556.
- Botia, P., Navarro, J.M., Cerda, A., Martinez, V., 2005. Yield and fruit quality of two melon cultivars irrigated with saline water at different stages of development. *Eur. J. Agron.* 23(3), 243-253.
- Boursier, P., Läuchli, A., 1989. Mechanisms of chloride partitioning in the leaves of salt-stressed *Sorghum bicolor* L. *Physiol. Plantarum* 77, 537-544.

- Bowler, C., Montagu, M.V., Inze, D., 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annu. Rev. Plant Phys.* 43, 83-116.
- Bradford, K.J., Hsiao, T.C., 1982. Physiological response to moderate stress. In: Lange, O.L., Nobel, P.S., Osmond, C.B., Ziegler, H. (Eds.), *Physiological Plant Ecology II, Water relations and carbon assimilation. Encyclopedia of Plant Physiology, New series vol. 12B.* Springer-Verlag, Berlin, pp. 263-324.
- Breckle, S.W., 2002. *Walter's Vegetation of the Earth. The Ecological Systems of the Geobiosphere.* Springer-Verlag, Berlin.
- Brodribb, T.J., Hill, R.S., 2000. Increases in water potential gradient reduce xylem conductivity in whole plants. Evidence from a low-pressure conductivity method. *Plant Physiol.* 123, 1021-1028.
- Brosché, M., Merilo, E., Mayer, F., Pechter, P., Puzõrjova, I., Brader, G., Kangasjärvi, J., Kollist, H., 2010. Natural variation in ozone sensitivity among *Arabidopsis thaliana* accessions and its relation to stomatal conductance. *Plant Cell Environ.* 33(6), 914-925.
- Brugnoli, E., Björkman, O., 1992. Growth of cotton under continuous salinity stress: influence on allocation pattern, stomatal and non-stomatal components and dissipation of excess light energy. *Planta* 187, 335-347.
- Burghardt, M., Riederer, M., 2003. Ecophysiological relevance of cuticular transpiration of deciduous and evergreen plants in relation to stomatal closure and leaf water potential. *J. Exp. Bot.* 54, 1941-1949.
- Burman, U., Garg, B.K., Kathju, S., 2003. Water relations, photosynthesis and nitrogen metabolism of Indian mustard (*Brassica juncea* Czern. & Coss.) grown under salt and water stress. *J. Plant Biol.* 30, 55-60.
- Bussotti, F., Rinallo, C., Grossoni, P., Gellini, R., Pantani, F., Cenni, E., 1984. La moria della vegetazione costiera causata dall'inquinamento idrico. *Monti e Boschi* 6, 47-55.
- Bussotti, F., Bottacci, A., Grossoni, P., Mori, B., Tani, C., 1995a. Anatomical and ultrastructural alterations in *Pinus pinea* L. needles treated with simulated sea aerosol. *Agr. Med. (Special Volume)*, 148-155.
- Bussotti, F., Grossoni, P., Pantani, F., 1995b. The role of marine salt and surfactants in the decline of Tyrrhenian coastal vegetation in Italy. *Ann. Sci. Forest* 52, 251-261.
- Bussotti, F., Bottacci, A., Grossoni, P., Mori, B., Tani, C., 1997. Cytological and structural changes in *Pinus pinea* L. needles following the application of anionic surfactant. *Plant Cell Environ.* 20, 513-520.
- Bussotti, F., Strasser, R.J., Schaub, M., 2007. Photosynthetic behavior of woody species under high ozone exposure probed with the JIP-Test. A review. *Environ. Pollut.* 147, 430-437.
- Caballero, M., Cid, M.C., 1993. Development of new ornamentals from Canary island native plants as alternative crops for Mediterranean areas. *Agriculture*, 2, 163-167.
- Cabot, P., Travesa, E., 2000. Empleo de planta autóctona con fines ornamentales y paisajísticos. *Actas de Horticultura* 31, 1-5.
- Cabrera, R.I., 2004. L'irrigazione e la fertilizzazione delle colture in vivaio ed in serra negli USA tra sfide ed innovazioni. Traduzione della relazione presentata al Convegno "La Gestione delle Risorse Idriche nel Florovivaismo" – Pescia, (PT).

- Cáceres, R., Casadesús, J., Marfà, O., 2006. Adaptation of an automatic irrigation-control tray system for outdoor nurseries. *Biosystems Engineering* 96(3), 419-425.
- Carrow, R.N., 2006. Can we maintain turf to customers satisfaction with less water? *Agr. Water Manage.* 80, 117-131
- Cartica, R.J., Quinn, J.A., 1980. Responses of populations of *Solidago sempervirens* (Compositae) to salt spray across a barrier beach. *Am. J. Bot.* 67, 1236-1242.
- Carvajal, M., Cooke, D.T., Clarkson, D.T., 1996. Plasma membrane fluidity and hydraulic conductance in wheat roots, interactions between root temperature and nitrate or phosphate deprivation. *Plant Cell Environ.* 19, 1110-1114.
- Cassaniti, C., 2008. Risposta di specie ornamentali alla salinità. Tesi dottorato. Università degli Studi di Catania.
- Cassaniti, C., Romano, D., 2011. The use of halophytes for Mediterranean landscaping. In: Proceedings of the European COST Action FA0901, *The European Journal of Plant Science and Biotechnology* 5 (Special Issue 2), 58-63.
- Cassaniti, C., Leonardi, C., Flowers, T.J., 2009. The effects of sodium chloride on ornamental shrubs. *Sci Hortic.* 122(4), 586-593.
- Cassaniti, C., Martorana, M., Romano, D., 2010. Screening di arbusti ornamentali per la resistenza allo stress salino. *Culture protette* 7/8, 68-75.
- Cassaniti, C., Romano, D., Flowers, T.J., 2012. The response of ornamental plants to saline irrigation water. In: García-Garizábal I. (Ed.), *Irrigation - Water management, pollution and alternative strategies*. ISBN 979-953-307-012-3 pp. 131-157.
- Cassaniti, C., Romano, D., Hop, M.E.C.M., Flowers, T.J., 2013. Growing floricultural crops with brackish water. *Environ. Exp. Bot.* 92, 165-175.
- Castro, J., Zamora, R., Hódar, J., Gómez, J.M., Gómez Aparicio, L., 2004. Benefits of using shrubs as nurse plants for reforestation in Mediterranean mountains, a 4-years study. *Restor. Ecol.* 12, 352-358.
- Cavender-Bares, J., Cortes, P., Rambal, S., Joffre, R., Miles, B., Rocheteau, A., 2005. Summer and winter sensitivity of leaves and xylem to minimum freezing temperatures, a comparison of co-occurring Mediterranean oaks that differ in leaf lifespan. *New Phytol.* 168, 597-612.
- Cerny, T.A., Kopp, K.L., Johnson, M., 2002. Efficient irrigation of trees and shrubs. HG-523 Utah State University Cooperative USDA Extension Electronic Publishing.
- Chandra Babu, R., Srivinisan, P.S., Natarajaratnam, N., Sree Rangasamy, S.R., 1985. Relationship between leaf photosynthesis and yield in blackgram (*Vigna mungo* L. Hepper) genotypes. *Photosynthetica* 19, 159-163.
- Chaparzadeh, N., D'Amico, M.L., Nejad, R.K., Izzo, R., Izzo, F.N., 2004. Antioxidative responses of *Calendula officinalis* under salinity conditions. *Plant Physiol. Bioch.* 42, 695-701.
- Chartzoulakis, K., Loupassaki, M., Bertaki, M., Androulakis, I., 2002. Effects of NaCl salinity on growth, ion content and CO<sub>2</sub> assimilation rate of six olive cultivars. *Sci. Hortic.* 96, 235-247.
- Cha-Um, S., Kirdmanee, C., 2009. Effect of salt stress on proline accumulation, photosynthetic ability and growth characters in two maize cultivars. *Pak. J. Bot.* 41, 87-98.



- Chaves, M.M., Maroco, J.P., Pereira, J.S., 2003. Understanding plant responses to drought - from genes to the whole plant. *Funct. Plant Biol.* 30, 239-264.
- Chaves, M.M., Flexas, J., Pinheiro, C., 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Ann. Bot.* 103, 551-560.
- Chen, C., Dickman, M.B., 2005. Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen *Colletotrichum trifolii*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, 3459-3464.
- Cheplick, G.P., Demetri, H., 1999. Impact of saltwater spray and sand deposition on the coastal annual *Triplasis purpurea* (Poaceae). *Am. J. Bot.* 86, 703-710.
- Clary, J., Savé, R., Biel, C., De Herralde, F., 2004. Water relations in competitive interactions of Mediterranean grasses and shrubs. *Ann. Appl. Biol.* 144, 149-155.
- Cleverly, J.R., Smith, S.D., Sala, A., 1997. Invasive capacity of *Tamarix ramosissima* in a Mojave Desert floodplain: The role of drought. *Oecologia*, 111, 12-18.
- Colmer, T.D., Munns, R., Flowers, T.J., 2005. Improving salt tolerance of wheat and barley: future prospects. *Aust. J. Exp. Ag.* 45, 1425-1443.
- Colom, M.R., Vazzana, C., 2003. Photosynthesis and PSII functionality of drought-resistant and drought-sensitive weeping lovegrass plants. *Environ. Exp. Bot.* 49, 135-144.
- Corcuera, L., Camarero, J.J., Gil-Pelegrín, E., 2004. Effects of a severe drought on *Quercus ilex* radial growth and xylem anatomy. *Trees* 18, 83-92.
- Cornish, K., Radin, J.W., Turcotte, E.L., Lu, Z., Zeiger, E., 1991. Enhanced photosynthesis and stomatal conductance of Pima cotton (*Gossypium barbadense* L.) bred for increased yield. *Plant Physiol.* 97, 484-489.
- Costello, L.R., Jones, K.S., 1994. Water use classification of landscape species. University of California, Cooperative Extension.
- Cramer, G.R., Epstein, E., Läuchli, A., 1990. Effects of sodium, potassium and calcium on salt-stressed barley. I. Growth analysis. *Physiol. Plant.* 80, 83-88.
- Cramer, G.R., Alberico, J., Schmidt, C., 1994. Leaf expansion limits dry matter accumulation of salt-stressed maize. *Aust. J. Plant Physiol.* 21, 663-674.
- Crawford, R.M.M. 1989. *Studies in plant survival*. Blackwell Scientific, Oxford.
- Crosbie, T.M., Pearce, R.B., 1982. Effects of recurrent phenotypic selection for high and low photosynthesis on agronomic traits in two maize populations. *Crop Sci.* 22, 809-813.
- Cuesta, B., Vega, J., Villar-Salvador, P., Rey-Benayas, J.M., 2010. Root growth dynamics of Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.) seedlings in relations to shoot elongation, plant size and tissue nitrogen concentration. *Trees* 24, 899-908.
- Curtis, P.S., Läuchli, A., 1986. The role of leaf area development and photosynthetic capacity in determining growth of kenaf under moderate salt stress. *Aust. J. Plant Physiol.* 13, 353-365.
- Dai, A., 2011. Drought under global warming: a review. *WIREs Clim. Change* 2, 45-65.
- Davis, S.D., Sperry, J.S., Hacke, U.G., 1999. The relationship between xylem conduit diameter and cavitation caused by freeze-thaw events. *Am. J. Bot.* 86, 1367-1372.
- de Carvalho, K., de Campos M.K., Domingues, D.S., Pereira, L.F., Vieira, L.G., 2013. The accumulation of endogenous proline induces changes in gene expression of

- several antioxidant enzymes in leaves of transegenic Swingle citrumelo. Mol. Biol. Rep. 40, 3269-3279.
- De Herralde, F., Biel, C., Savé, R., Morales, M.A., Torrecillas, A., Alarcón, J.J., Sánchez-Blanco, M.J., 1998. Effect of water and salt stresses on the growth, gas exchange and water relations in *Argyranthemum coronopifolium* plants. Plant Sci. 139, 9-17.
- De Pascale, S., Barbieri, G., 1995. Effect of soil salinity from long-term irrigation with saline-sodic water on yield and quality of winter vegetable crops. Sci. Hortic. 64, 145-147.
- Deeba, F., Pandey, K.A., Ranjan, S., Mishra, A., Singh, R., Sharma, Y.K., Shirke, A.P., Pandey, V., 2012. Physiological and proteomic responses of cotton (*Gossypium herbaceum* L.) to drought stress. Plant Physiol. Bioch. 53, 6-18.
- Del Blanco, I.A., Rajaram, S., Kronstad, W.E., Reynolds, M.P., 2000. Physiological performance of synthetic hexaploid wheat-derived populations. Crop Sci. 40, 1257-1263.
- DeLucia, E.H., Berlyn, G.P., 1984. The effect of increasing elevation on leaf cuticle thickness and cuticular transpiration in balsam fir. Can. J. Bot. 62, 2423-2431.
- Demiral, T., Turkan, I., 2004. Does exogenous glycinebetaine affect antioxidative system of rice seedlings under NaCl treatment? J. Plant Physiol., 161, 1089-1110.
- Demirevska, K., Z Asheva, D., Dimitrov, R., Simova-Stoilova, L., Stamenova, L., Feller, U., 2009. Drought stress effects on Rubisco in wheat: changes in the Rubisco large subunit. Acta Physiol. Plant. 31, 1129-1138.
- Demmig, B., Björkman, O., 1987. Comparison of the effect of excessive light on chlorophyll fluorescence (77K) and photon yield of O<sub>2</sub> evolution in leaves of higher plants. Planta 171, 171-184.
- Deng, X.M., Huang, M.R., Wang, M.X., 2004. Establishment of high regeneration system of *Photinia fraseri* 'Red Robin'. Jiangxi For Sci. Technol. 4, 19-21.
- Deng, Y., Jiang, J., Chen, S., Huang, C., Fang, W., Chen, F., 2012. Drought tolerance of intergeneric hybrids between *Chrysanthemum morifolium* and *Ajania przewalskii*. Sci. Hortic. 148, 17-22.
- Deng, Y.M., Chen, S.M., Chen, F.D., Cheng, X., Zhang, F., 2011. The embryo rescue derived intergeneric hybrid between chrysanthemum and *Ajania przewalskii* shows enhanced cold tolerance. Plant Cell Rep. 30, 2177-2186.
- de Azevedo Neto, A.D., Tarquinio Prisco, J., Enéas-Filho, J., Braga de Abreu, E., Gomes-Filho, E., 2006. Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. Environ. Exp. Bot. 56, 87-94.
- Dickson, R.E., Isebrands, J.G., 1991. Leaves as regulators of stress response.. In: Mooney, H.A., Winner, W.E., Pell, E.J., (Eds.), Response of Plants to Multiple Stresses. Academic Press, San Diego, USA, pp. 5-34.
- Doorenbos, J., Pruitt, W.O., 1975. Guidelines for predicting crop water requirements. FAO, Roma, pp. 179.
- Downton, W.J.S., 1977. Photosynthesis in salt-stressed grapevines. Aust. J. Plant Physiol. 4, 183-192.
- Downton, W.J.S., Grant, W.J.R., Robinson, S.P., 1985. Photosynthetic and stomatal responses of spinach leaves to salt stress. Plant Physiol. 77, 85-88.

- Downton, W.J.S., Loveys, B.R., Grant, W.J.R., 1990. Salinity effects on the stomatal behaviour of grapevine. *New Phytol.* 116, 499-503.
- Drew, M.C., Hole, P.C., Picchioni, G.A., 1990. Inhibition by NaCl of net CO<sub>2</sub> fixation and yield of cucumber. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 115, 472-477.
- Duman, F., Ozturk, F., 2010. Nickel accumulation and its effect on biomass, protein content and antioxidative enzymes in roots and leaves of watercress (*Nasturtium officinale* R. Br.). *J. Environ. Sci.* 22, 526-532.
- Earl, H.J., 2003. A precise gravimetric method for simulating drought stress in pot experiments. *Crop Sci.* 43, 1868-1873.
- Ehleringer, J.R., Mooney, H.A., 1978. Leaf hairs: effects on physiological activity and adaptive value to a desert shrub. *Oecologia* 37, 183-200.
- Ekmekçi, Y., Bohms, A., Thomson, J.A., Mundree, S.G., 2005. Photochemical and antioxidant responses in the leaves of *Xerophyta viscosa* Baker and *Digitaria sanguinalis* L. under water deficit. *Z. Naturforschung* 60(C), 435-443.
- Elia, A., Santamaria P., 1995. Effetti della forma azotata sul peperone (*Capsium annuum* L.). II. N., ossalati e contenuto dei principali anioni inorganici. *Riv. di Agron.* 29, 234-241.
- Elshatshat, S.A., 2010. The effect of simulated seawater on water permeability of isolated leaf cuticular layers. *Int. J. Agric. Biol.* 12, 150-152.
- Endres, L., 2007. Daily and seasonal variation of water relationship in sugar apple (*Annona squamosa* L.) under different irrigation regimes at semi-arid Brazil. *Sci. Hortic.* 113(2), 149-154.
- Eom, S.H., Setter, T.L., DiTommaso, A., Weston, L.A., 2007. Differential growth response to salt stress among selected ornamentals. *J. Plant Nutr.* 30, 1109-1126.
- Erdei, L., Trivedi, S., Takeda, K., Matsumoto, H., 1990. Effects of osmotic and salt stresses on the accumulation of polyamines in leaf segments from wheat varieties differing in salt and drought tolerance. *J. Plant Physiol.* 137, 165-168.
- Fan, X.W., Li, F.M., Song, L., Xiong, Y.C., An, L.Z., Jia, Y., Fang, X.W., 2009. Defense strategy of old and modern spring wheat varieties during soil drying. *Physiol. Plant* 136, 310-323.
- Farooq, M., Wahid, N., Kobayashi, D., Fujita, D., Basra, S.M.A., 2009. Plant drought stress: effects, mechanism and management. *Agron. Sustain. Dev.* 29, 185-212.
- Faville, M.J., Silvester, W.B., Green, T.G.A., Jermyn, W.A., 1999. Photosynthetic characteristics of three asparagus cultivars differing in yield. *Crop Sci.* 39, 1070-1077.
- Feng, Y.L., Cao, K.F., 2005. Photosynthesis and photoinhibition after night chilling in seedlings of two tropical tree species grown under three irradiances. *Photosynthetica* 43, 567-574.
- Ferguson, C.R., 1952. Salt tolerant plants for South Florida. *Proc. Fla. State Hortic. Soc.* 306-313.
- Ferguson, B.K., 1987. Water-conservation methods in urban landscape irrigation: An exploratory overview. *Water Resources Bull.* 23, 147-152.
- Ferguson, L., Grattan, S.R., 2005. How salinity damages citrus: Osmotic effects and specific ion toxicities. *HortTechnology* 15, 95-99.

- Fernández, J.A., Balenzategui, L., Bañón, S., Franco, J.A., 2006. Induction of drought tolerance by paclobutrazol and irrigation deficit in *Phyllirea angustifolia* during the nursery period. *Sci. Hort.* 107, 277-283.
- Ferrante, A., Trivellini, A., Malorgio, F., Carmassi, G., Vernieri, P., Serra, G., 2011. Effect of seawater on leaves of six plant species potentially useful for ornamental purposes in coastal areas. *Sci. Hortic.* 128, 332-341.
- Filippou, P., Bouchagier, P., Skotti, E., Fotopoulos, V., 2014. Proline and reactive oxygen/nitrogen species biosynthesis is involved in the tolerant response of the invasive plant species *Ailanthus altissima* to drought and salinity. *Env. Exp. Bot.* 97, 1-10.
- Fletcher, R.A., Gill, A., Davis, T.D., Sankhla, N., 2000. Triazoles as plant growth regulators and stress protectants. *Hort. Rev.* 24, 55-138.
- Flexas, J., Medrano, H., 2002. Energy dissipation in C<sub>3</sub> plants under drought. *Funct. Plant Biol.* 29, 1209-1215.
- Flowers, T.J., 2004. Improving crop salt tolerance. *J. Exp. Bot.* 55, 307-319.
- Fornes, F., Belda, R.M., Carrión, C., Noguera, V., Garc Noguera, V., García-Agustín P., Abad, M., 2007. Pre-conditioning ornamental plants to drought by means of saline water irrigation as related to salinity tolerance. *Sci. Hortic.* 113, 52-59.
- Forti, M., 1986. Salt tolerant and halophytic plants in Israel. *Reclam. Reveg. Res.* 5, 83-96.
- Foury, C., 1988. Approcci agronomici allo studio dei processo di crescita e di sviluppo delle piante coltivate. *Tecnica agricola*, 379-398.
- Fox, L.J., Grose, N., Appleton, B.L., Donohue, S.J., 2005. Evaluation of treated effluent as an irrigation source for landscape plants. *J. Environ. Hortic.* 23, 174-178.
- Foyer, C.H., Noctor, G., 2005. Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant Cell Environ.* 8, 1056-1071.
- Foyer, C.H., Descourvieres, O., Kunert, K.J., 1994. Protection against oxygen radicals: an important defence mechanism studied in transgenic plants. *Plant Cell Environ.* 17, 507-523.
- Foyer, C.H., Lopez-Delgado, H., Dat., J.F., Scott, I.M., 1997. Hydrogen peroxide and glutathione-associated mechanisms of acclamatory stress tolerance and signaling. *Physiol. Plant.* 100, 241-254.
- Franco, J.A., Fernández, J.A., Bañón, S., Gonzáles, A., 1997. Relationship between the effects of salinity on seedling leaf area and fruit yield of six muskmelons cultivars. *J. Hort Sci.* 32, 642-647.
- Franco, J.A., Bañón, S., Fernández, J.A., Leskovar, D., 2001. Effect of nursery regimes and establishment irrigation on root development of *Lotus creticus* seedlings following transplanting. *J. Hortic. Sci. Biotech.* 76, 174-179.
- Franco, J.A., Cros, V., Bañón, S., Martín-Sánchez, J.J., 2002. Nursery irrigation regimes and establishment irrigation affect the postplanting growth of *Limonium cossoninaum* in semiarid conditions. *Isr. J. Plant Sci.* 50, 25-32.
- Franco, J.A., Martín-Sánchez, J.J., Fernández, J.A., Bañón, S., 2006. Selection and nursery production of ornamental plants for landscaping and xerogardening in semi-arid and environments. *J. Hortic. Sci. Biotech.* 81, 3-17.

- Francois, L.E., 1982. Salt tolerance of eight ornamental tree species. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 107(1), 66-68.
- Fu, J.M., Huang, B.R., 2001. Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. *Environ. Exp. Bot.* 45, 105-114.
- Galmés, J., Flexas, J., Keys, A.J., Cifre, J., Mitchell, R.A.C., Madgwick, P.J., Haslam, R.P., Medrano, H., Parry, M.A.J., 2005a. Rubisco specificity factor tends to be larger in plant species from drier habitats and in species with persistent leaves. *Plant Cell Environ.* 28, 571-579.
- Galmés, J., Cifre, J., Medrano, H., Flexas, J., 2005b. Modulation of relative growth rate and its components by water stress in Mediterranean species with different growth forms. *Oecologia* 145, 21-31.
- Galmés, J., Medrano, H., Savé, R., Flexas, J., 2007a. Ecophysiological responses to water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms and leaf habits: responses to water stress and recovery. *Plant Soil* 290, 139-155.
- Galmés, J., Ribas-Carbó, M., Medrano, H., Flexas, J., 2007b. Response of leaf respiration to water stress in Mediterranean species with different growth form. *J. Arid. Environ.* 68, 206-222.
- Galmés, J., Conesa, M.A., Ochogavía, J.M., Perdomo, J.A., Francis, D.M., Ribas-Carbó, M., Savé, R., Flexas, J., Medrano, H., Cifre, J., 2010. Physiological and morphological adaptations in relation to water use efficiency in Mediterranean accessions of *Solanum lycopersicum*. *Plant Cell Environ.* 34, 245-260.
- García-Legaz, M.F., Lopez Gómez, E., Mataix Beneyto, J., Torrecillas, A., Sánchez Blanco, M.J., 2005. Effects of salinity and rootstock on growth, water relations, nutrition and gas exchange of loquat. *J. Hortic. Sci.* 80, 199-203.
- García-Navarro, M.C., Evans, R.Y., Savé, R., 2004. Estimation of relative water use among ornamental landscape species. *Sci. Hortic.* 99, 163-174.
- Garratt, L.C., Janagoudar, B.S., Lowe, K.C., Anthony, P., Power, J.B., Davey, M.R., 2002. Salinity tolerance and antioxidant status in cotton cultures. *Free Radical Biol. Med.* 33, 502-511.
- Ge, T.D., Sui, F.G., Bai, L.P., Lu, Y.Y., Zhou, G.S., 2006. Effects of water stress on the protective enzyme activities and lipid peroxidation in roots and leaves of summer maize. *Agr. Sci. China* 5, 291-298.
- Ge, Y., He, X., Wang, J., Jiang, B., Ye, R., Lin, X., 2014. Physiological and biochemical responses of *Phoebe bournei* seedlings to water stress and recovery. *Acta Physiol. Plant* 36, 1241-1250.
- Gellini, R., Pantani, F., Grossoni, P., Bussotti, F., Barbolani, E., Rinallo, C., 1983. Survey of the deterioration of the coastal vegetation in the park of San Rossore in Central Italy. *Eur. J. For. Path.* 13, 296-304.
- Ghose, N.C., Saha, D., Gupta, N., 2009. Synthetic detergents (surfactants) and organochlorine pesticide signatures in surface water and groundwater of greater Kolkata, India. *J. Water Res. Protect.* 4, 290-298.
- Giannopolities, C.N., Ries, S.K., 1977. Superoxide occurrence in higher plants. *Plant Physiol.* 59, 309-314.
- Gil, L., Díaz-Fernández, P.M., Jiménez, M.P., Roldán, M., Alía, R., Agúndez, D., De Miguel, J., Martín, S., De Tuero y Reina, M., 1996. Las regiones de procedencia

- de *Pinus halepensis* Mill. en España. Madrid, Ministerio de Medio Ambiente; Organismo Autónomo Parques Nacionales.
- Gill, S.S., Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.* 48(12), 909-930.
- Giorgi, F., Lionello, B., 2008. Climate change projections for the Mediterranean region. *Global Planet. Change* 63, 90-104.
- Giuffrida, F., Cassaniti, C., Leonardi, C., 2013. The influence of rootstock on growth and ion concentrations in pepper (*Capsicum annuum* L.) under saline conditions. *J. Hortic. Sci. Biotech.* 88, 110-116.
- Gleick, P.H. (Ed.), 1998. *The World's Water 1998–1999. The Biennial Report On Freshwater Resources*, Island Press, Washington, DC.
- Goldstein, G., Drake, D.R., Alpha, C., Melcher, P., Heraux, J., Azocar, A., 1996. Growth and photosynthetic responses of *Scaevola sericea*, a Hawaiian coastal shrub, to substrate salinity and salt spray. *Int. J. Plant Sci.* 157, 171-179.
- Gong, H., Zhu, X., Chen, K., Wang, S., Zhang, C., 2005. Silicon alleviates oxidative damage of wheat plant in pot under drought. *Plant Sci.* 169, 313-321.
- Gonthier, P., Nicolotti, G., Rettori, A., Paoletti, E., Gullino, M.L., 2010. Testing *Nerium oleander* as a biomonitor for surfactant polluted marine aerosol. *Int. J. Environ. R.* 4(1),1-10.
- Greaver, T.L., Leonel, L., Sternberg, S., 2006. Linking marine resources to ecotonal shifts of water uptake by terrestrial dune vegetation. *Ecology* 87, 2389-2396.
- Greene, D.W., Bukovac, M.J., 1974. Stomatal penetration: effect of surfactants and role in foliar absorption. *Am. J. Bot.* 61, 100-106.
- Greipsson, S., Ahokas, H., Vahamiko, S., 1997. A rapid adaptation to low salinity of inland-colonizing populations of littoral grass *Leymus arenarius*. *Int. J. Plant Sci.* 158, 73-78.
- Griffiths, M.E., Orians, C.M., 2003. Salt spray differentially affects water status, necrosis, and growth in coastal sandplain heathland species. *Am. J. Bot.* 90, 1188-1196.
- Grossoni, P., Bussotti, F., Pantani, F., Cini, R., Gellini, R., 1990. Decline of *Pinus pinea* by polluted marine aerosols. In *Symposium on Forest Decline in Eastern Central Europe and Bavaria*. Passau, Germany, pp. 436-440.
- Guerrier, G., 1996. Fluxes of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup>, and osmotic adjustment in *Lycopersicon pimpinellifolium* and *L. esculentum* during short- and long-term exposures to NaCl. *Physiol. Plant.* 97, 583-591.
- Guidi, L., Lorenzini, G., Soldatini, G.F., 1988. Phytotoxicity of sea-water aerosols on forest plants with special reference to the role of surfactants. *Environ. Exp. Bot.* 2, 85-94.
- Gulzar, S., Khan, M.A., Ungar, I.A., 2003. Salt tolerance of a coastal salt marsh grass. *Commun Soil Sci. Plan.* 34, 2595-2605.
- Guo, P., Li, M., 1996. Studies on photosynthetic characteristics in rice hybrid progenies and their parents I. chlorophyll content, chlorophyll-protein complex and chlorophyll fluorescence kinetics. *J. Trop. Subtrop. Bot.* 4, 60-65.
- Guo, Y.P., Zhou, H.F., Zhang, L., 2006. Photosynthetic characteristics and protective mechanisms against photooxidation during high temperature stress in two citrus species. *Sci. Hortic.* 108, 260-267.

- Hacke, U., Sauter, J.J., 1996. Drought-induced xylem dysfunction in petioles, branches, and roots of *Populus balsamifera* L. and *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. *Plant Physiol.* 2, 413-417.
- Hadley, J.L., Smith, W.K., 1994. Effect of Elevation and Foliar Age on Maximum Leaf Resistance to Water Vapor Diffusion in Conifers of the Central Rocky Mountains, U.S.A. *Air Pollutants and the Leaf Cuticle*. NATO ASI Series 36, 261-268.
- Hajibagheri, M.A., Hall, J.L., Flowers, T.J., 1983. The structure of the cuticle in relation to cuticular transpiration in leaves of the halophyte *Suaeda maritima* (L.) Dum. *New Phytol.* 94, 125-131.
- Hansen, C.W., Petersen, K.K., 2004. Reduced nutrient and water availability to *Hibiscus rosa-sinensis* 'Cairo Red' as a method to regulate growth and improve post-production. *Eur. J. Hort. Sci.* 69, 159-166.
- Hawkins, H.J., Lewis, O.A.M., 1993. Combination effect of NaCl salinity, nitrogen form and calcium concentration on growth and ionic content and gaseous properties of *Triticum aestivum* L. cv. Gamtoos. *New Phytol.* 124, 161-170.
- Heath, R.L., Packer, L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch. Biochem. Biophys.* 125, 189-198.
- Helenius, A., Simmons, K., 1975. Solubilization of membranes by detergents. *Biochim. Biophys. Acta* 415, 29-79.
- Hendry, G.A.F., Grime, J.P., 1993. *Methods in comparative ecology. A laboratory manual*. Chapman & Hall, London.
- Henson, D.Y., Newman, S.E., Hartley, D.E., 2006. Performance of selected herbaceous annual ornamentals grown at decreasing levels of irrigation. *Hort. Sci.* 41, 1481-1486.
- Hertel, A., Steudle, E., 1997. The function of water channels in Chara, the temperature dependence of water and solute flows provides evidence for composite membrane transport and for a slippage of small organic solutes across water channels. *Planta* 202, 324-335.
- Hessini, K., Ghandor, M., Albouchi, A., Soltani, A., Werner, K.H., Abdelly, C., 2008. Biomass production, photosynthesis, and leaf water relations of *Spartina alterniflora* under moderate water stress. *J. Plant Res.* 121, 311-318.
- Hessini, K., Martinez, J.P., Gandour, M., Albouchi, A., Soltani, A., Abdelly, C., 2009. Effect of water stress on growth, osmotic adjustment, cell wall elasticity and water-use efficiency in *Spartina alterniflora*. *Environ. Exp. Bot.* 67, 312-319.
- Hester, M.W., Mendelsohn, I.A., Mckee, K.L., 2001. Species and population variation to salinity stress in *Panicum hemitomon*, *Spartina patens*, and *Spartina alterniflora*: morphological and physiological constraints. *Env. Exp. Bot.* 46, 277-297.
- Heuer, B., Plaut, Z., 1981. Carbon dioxide fixation of isolated chloroplasts and intact sugar beet plants grown under saline conditions. *Ann. Bot.* 48, 261-268.
- Heuer, B., Nadler, A., 1995. Growth and development of potatoes under salinity and water deficit. *Aust. J. Agric. Res.* 46, 1477-1486.
- Hitchmough, J., 2004. Philosophical and practical challenges to the design and management of plantings in urban greenspace in the 21<sup>st</sup> century. *Acta Hort.* 643, 97-103.

- Hojati, M., Modarres-Sanavy, S.A.M., Karimi, M., Ghanati, F., 2011. Responses of growth and antioxidant systems in *Carthamus tinctorius* L. under water deficit stress. *Acta Physiol. Planta* 33, 105-112.
- Holm, G., 1954. Chlorophyll mutations in barley. *Acta Agr. Scand.* 4, 457-471.
- Hootman, R.G., Kelsey, R., Reid, R., von der Heide-Spravda, K., 1994. Factors affecting accumulation of de-icing salts in soils around trees. *J. Arboric.* 20(3), 196-201.
- Hsiao, T.C., Acevedo, E., Fereres, E., Henderson, D.W., 1976. Water stress, growth and osmotic adjustment. *Philos. Trans. Roy. Soc. London. Ser. B.* 273, 479-500.
- Hu, Y., Schmidhalter, U., 2005. Drought and salinity: a comparison of their effects on mineral nutrition of plants. *J. Plant Nutr. Soil Sc.* 186, 541-549.
- Huang, C., Wei, G., Jie, Y., Wang, L., Zhou, H., Ran, C., Huang, Z., Jia, H., Anjum, S.A., 2014. Effects of concentrations of sodium chloride on photosynthesis, antioxidative enzymes, growth and fiber yield of hybrid ramie. *Plant Physiol. Bioch.* 76, 86-93.
- Humphreys, M.O., Kraus, M.P., Jones, R.G.W., 1986. Leaf-surface properties in relation to tolerance of salt spray in *Festuca rubra* ssp. *littoralis* (G.F.W. Meyer) Auquier. *New Phytol.* 103, 717-723.
- Hunter, K.A., Wu, L., 2005. Morphological and physiological response of five California native grass species to moderate salt spray: Implications for landscape irrigation with reclaimed water. *J. Plant Nutr.* 28, 247-270.
- Hussain, M., Malik, M.A., Farooq, M., Ashraf, M.Y., Cheema, M.A., 2008. Improving drought tolerance by exogenous application of glycinebetaine and salicylic acid in sunflower. *J. Agron. Crop Sci.* 194, 193-199.
- Ibrahim, K.M., Collins, J.C., Collin, H.A., 1991. Effects of salinity on growth and ionic composition of *Coleus blumei* and *Salvia splendens*. *J. Hort. Sci.*, 66, 215-222.
- Iles, J.K., 2003. The science and practise of stress reduction in managed landscapes. *Acta Hort.* 618, 117-124.
- Impa, S.M., Nadaradjan, S., Jagadish, S.V.K., 2012. Drought Stress Induced Reactive Oxygen Species and Anti-oxidants in Plants. In: Ahmad, P., Prasad, M.N.V., (Eds.), *Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism, Productivity and Sustainability*, DOI 10.1007/978-1-4614-0634-1\_7, © Springer Science+Business Media, LLC.
- Inan, G., Zhang, Q., Li, P.H., Wang, Z.L., Cao, Z.Y., Zhang, H., Zhang, C.Q., Quist, T.M., Goodwin, S.M., Zhu, J., Shi, H., Damsz, B., Charbaji, T., Gong, Q., Ma, S., Fredricksen, M., Galbraith, D.W., Jenks, M.A., Rhodes, D., Hasegawa, P.M., Bohnert, H.J., Joly, R.J., Bressan, R.A., Zhu, R.A., 2004. Salt cress: a halophyte and cryophyte *Arabidopsis* relative model system and its applicability to molecular genetic analyses of growth and development of extremophiles. *Plant Physiol.* 135, 1718-1737.
- Innamorati, M., Mori, G., Rossi, A., Maselli, F., 1989. Aerosol marino e tensioattivi nella degradazione della pineta litoranea tra l'Arno ed il Serchio. *Atti 3° Congr Naz S It E Zora Pub, Parma, Italy* 7, 501-505.
- Itoh, M., Izawa, S., Shibata, K., 1963. Disintegration of chloroplast with dodecylbenzene sulfonate as measured by fluttering effect and size distribution. *Biochim. Biophys. Acta*, 69, 130-142.
- Jackson, R.D., Idso, S.B., Reginato, R.J., Pinter, P.J., 1981. Canopy temperature as a crop water stress indicator. *Water Resour. Res.* 17, 1133-1138.



- Jackson, S.T. Overpeck, J.T., 2000. Responses of plant populations and communities to environmental changes of the late Quaternary. *The Paleontological Society* 26(4), 194-220.
- Jaleel, C.A., Gopi, R., Manivannan, P., Gomathinayagam, M., Murali, P.V., Panneerselvam, R., 2008b. Soil applied propiconazole alleviates the impact of salinity on *Catharanthus roseus* by improving antioxidant status. *Pestic. Biochem. Phys.* 90(2), 135-139.
- Jaleel, C.A., Sankar, B., Murali, P.V., Gomathinayagam, M., Lakshmanan, G.M.A., Panneerselvam, R., 2008a. Water deficit stress effects on reactive oxygen metabolism in *Catharanthus roseus*: impacts on ajmalicine accumulation. *Colloid Surf. B.* 62(1), 105-111.
- Jaleel, C.A., Gopi, R., Sankar, B., Gomathinayagam, M., Panneerselvam, R., 2008c. Differential responses in water use efficiency in two varieties of *Catharanthus roseus* under drought stress. *Comp. Rend. Biol.* 331, 42-47.
- Jaleel, C.A., Gopi, R., Manivannan, P., Panneerselvam, R., 2007. Responses of antioxidant defense system of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. to paclobutrazol treatment under salinity. *Acta Physiol. Plant.* 29, 205-209.
- Jaleel, C.A., Riadh, K., Gopi, R., Manivannan, P., Ines, J., Al-Juburi, H.J., Chang-Xing, Z., Hong-Bo, S., Panneerselvam, R., 2009. Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constraints. *Acta Physiol. Plant* 31, 427-436.
- Jiang, Y. and B. Huang. 2001. Osmotic adjustment and root growth associated with drought preconditioning-enhanced heat tolerance in Kentucky bluegrass. *Crop Sci.* 41, 1168-1173.
- Jones, H.G., 1983. *Plants and Microclimate*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Jones, H.G., 1998. Stomatal control of photosynthesis and transpiration. *J. Exp. Bot.* 49, 387-398.
- Jones, H.G., Jones, M.B., 1989. Introduction: some terminology and common mechanisms. In: Jones, H.G., Flowers, T.J., Jones, M.B. (Eds), *Plants Under Stress*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 1-10.
- Jones, M.M., Turner, N.C., 1978. Osmotic adjustment in leaves of sorghum in response to water deficits. *Plant Physiol.* 61, 122-126.
- Jordan, L.A., Devitt, D.A., Morris, R.L., Neuman, D.S., 2001. Foliar damage to ornamental trees sprinkler-irrigated with reuse water. *Irrig. Sci.* 21, 17-25.
- Karakas, B., Lo Bianco, R., Rieger, M., 2000. Association of marginal leaf scorch with sodium accumulation in salt-stressed peach. *HortScience* 35(1), 83-84.
- Karschon, R., 1958. Leaf absorption of wind-borne salt and leaf scorch in *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. *Ilanoth* 4, 5-25.
- Katsuhara, M., Otsuka, T., Ezaki, B., 2005. Salt stress-induced lipid peroxidation is reduced by glutathione S-transferase, but this reduction of lipid peroxides is not enough for a recovery of root growth in *Arabidopsis*. *Plant Sci.* 169, 369-373.
- Kaur, G., Kumar, S., Nayyar, H., Upadhyaya, H.D., 2008. Cold stress injury during the pod-filling phase in chickpea (*Cicer arietinum* L.): effects on quantitative and qualitative components of seeds. *J. Agron. Crop Sci.* 194, 457-464.

- Kelliher, F.M., Jackson, R., 2001. Evaporation and the water balance. In: Sturman, A., Spronken-Smith, R. (Eds.), *The Physical Environment*. Oxford University Press. Melbourne, pp. 206-217.
- Khoshbakht, K., Hammer, K., 2008. How many plant species are cultivated? *Genet Resour Crop Ev.* 55, 925-928.
- Kjelgren, R., Rupp, L., Kilgren, D., 2000. Water conservation in urban landscapes. *HortScience* 35, 1037-1040.
- Kozlowski, T.T., 1997. Responses of woody plants to flooding and salinity. *Tree Physiol. Monograph*, No. 1.
- Kramer, P.J., 1988. Changing concepts regarding plant water relations. *Plant Cell Environ.* 11, 565-568.
- Koca, H., Bor, M., Özdemir, F., Türkan, İ., 2007. The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars. *Environ. Exp. Bot.* 60, 344-351.
- Koyro, H.W., 2006. Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of the potential cash crop halophyte *Plantago coronopus* (L.). *Environ. Exp. Bot.* 56, 136-146.
- Kyparissis, A., Drilias, P., Manetas, Y., 2000. Seasonal fluctuations in photoprotective (xanthophyll cycle) and photoselective (chlorophylls) capacity in eight Mediterranean plant species belonging to two different growth forms. *Aust. J. Plant Physiol.* 27, 265-272.
- Lakshmi, A., Ramanjulu, S., Veeranjanyulu, K., Sudhakar, C., 1996. Effect of NaCl on photosynthesis parameters in two cultivars of mulberry. *Photosynthetica* 32, 285-289.
- Langan, S.J., Ewers, F.W., Davis, S.D., 1997. Xylem dysfunction caused by water stress and freezing in two species of co-occurring chaparral shrubs. *Plant Cell Environ.* 20, 425-437.
- Lange, O.L., Nobel, P.S., Osmond, C.B., Ziegler, H., 1982. *Physiological plant ecology II. Water relations and carbon assimilation*. Encyclopedia of plant physiology. New series. Vol.12B. Springer Verlag. Berlin.
- Lao, M.T., Jiménez, S., 2002. Estudio comparativo del comportamiento productivo de *Callistemon citrinus*. In: *I Jornadas Ibéricas de plantas ornamentales*. Servicio de Publicaciones y Divulgación, Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía, 113-120.
- Larbi, A., Mekliche, A., 2004. Relative water content (RWC) and leaf senescence asscreening tools for drought tolerance in wheat. In: Cantero-Martínez, C., Gabiña D. (Eds.), *Mediterranean Rainfed Agriculture: Strategies for Sustainability*. CIHEAM, Zaragoza, 193-196.
- Lawlor, D.W., Tezara, W., 2009. Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: a critical evaluation of mechanisms and integration of processes. *Ann. Bot.* 103, 561-579.
- Leffler; A.J., 2005. Hydraulic redistribution through the root systems of senesced plants. *Ecology* 86(3), 633-642.
- Lenzi, A., Pittas, L., Martinelli, T., Lombardi, P., Tesi, R., 2009. Response to water stress of some oleander cultivars suitable for pot plant production. *Sci. Hort.* 122, 426-431.

- Levitt, J., 1980. Responses of plants to environmental stresses. Vol. 2. Academic Press, New York, pp. 365-488.
- Li, G., Wan, S., Zhou, J., Yang, Z., Qin, P., 2010. Leaf chlorophyll fluorescence, hyperspectral reflectance, pigments content, malondialdehyde and proline accumulation responses of castor bean (*Ricinus communis* L.) seedlings to salt stress levels. *Ind. Crop. Prod.* 31, 13-19.
- Li, R., Guo, P., Baumz, M., Grando, S., Ceccarelli, S., 2006. Evaluation of chlorophyll content and fluorescence parameters as indicators of drought tolerance in barley. *Agr. Sci. China* 5, 751-757.
- Li, Y., Zhao, H.X., Duan, B.L., Korpelainen, H., Li, C.Y., 2011. Effect of drought and ABA on growth, photosynthesis and antioxidant system of *Continus coggygia* seedlings under two different light conditions. *Environ. Exp. Bot.* 71, 107-113.
- Lichtenthaler, H.K., 1998. The stress concept in plants: an introduction. In: Csermely, P. (Ed.), *Stress of Life: From molecules to man*. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 851, 187-198.
- Lichtenthaler, H.K., Miehe, J.A., 1997. Fluorescence imaging as a diagnostic tool for plant stress. *Trends Plant Sci.* 2, 316-320.
- Lichtenthaler, H.K., Rinderle, U., 1988. The role of chlorophyll fluorescence in the detection of stress conditions in plants. *Crit. Rev. Analyt. Chem.* 19, S29-S85.
- Lima, A.L.S., Da Matta, F.M., Pinheiro, H.A., Totola, M.R., Loureiro, M.E., 2002. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. *Environ. Exp. Bot.* 47, 239-247.
- Lippi, G., Serra, G., Vernieri, P., Tognoni, F., 2003. Response of potted *Callistemon* species to high salinity. *Acta Hort.* 609, 247-250.
- Lippi, G., Vernieri, P., Serra, G., Carrai, C., 2005. *Callistemon* spp. Resistenza agli stress ambientali. *Clamer Informa* 11, 7-12.
- Liu, C., Wang, Y., Pan, K., Li, W., Zhang, L., Shen, X., Liu, L., Deng, M., 2014. Responses of antioxidant defense system to drought stress in the leaves of *Fargesia denudata* seedlings, the staple food on the Giant Panda. *Russ. J. Plant Physiol.* 3, 374-383.
- Liu, C.C., Liu, Y.G., Guo, K., Fan, D.Y., Li, G.G., Zheng, Y.R., Yu, L.F., Yang, R., 2011. Effect of drought on pigments, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in six woody plant species in karst habitats of southwestern China. *Environ. Exp. Bot.* 71, 174-183.
- Lo Gullo, M.A., Salleo, S., 1993. Different vulnerabilities of *Quercus ilex* L. to freeze- and summer drought-induced xylem embolism, an ecological interpretation. *Plant Cell Environ.* 16, 511-519.
- Locy, R.D., Chang, C.C., Nielsen B.L., Singh N.K., 1996. Photosynthesis in salt-adapted heterotrophic tobacco cells and regenerated plants. *Plant Physiol.* 110, 321-328.
- Longstreth, D.J., Nobel, P.S., 1979. Salinity effects on leaf anatomy. *Plant Physiol.* 63(4), 700-703.
- López, F.B., Nobel, P.S., 1991. Root hydraulic conductivity of two cactus species in relation to root age, temperature, and soil water status. *J. Exp. Bot.* 42, 143-149.
- López, R., Zehavi, A., Climent, J., Gil, A., 2007. Contrasting ecotypic differentiation for growth and survival in *Pinus canariensis* (Pinaceae). *Aust. J. Bot.* 55, 1-11.
- Loreto, F., Centritto, M., Chartzoulakis, K., 2003. Photosynthetic limitations in olive cultivars with different sensitivity to salt stress. *Plant Cell Environ.* 26, 595-604.

- Lu, C., Qiu, N., Lu, Q., Wang, B., Kuang, T., 2003. PSII photochemistry, thermal energy dissipation, and the xanthophyll cycle in *Kalanchoë daigremontiana* exposed to a combination of water stress and high light. *Physiol. Plantarum* 118, 173-182.
- Lu, C., Zhang, J., 1999. Effects of water stress on photosystem II photochemistry and its thermostability in wheat plants. *J. Exp. Bot.* 50, 1199-1206.
- Lumis, G.P., Hofstra, G., Hall, R., 1973. Sensitivity of roadside trees and shrubs to aerial drift of deicing salts in soils around trees. *J. Arboric.* 20, 196-200.
- Luna, C., Seffino, L.G., Arias, C., Taleisnik, E., 2000. Oxidative stress indicators as selection tools for salt tolerance in *Chloris gayana*. *Plant Breed.* 119, 341-345.
- Maas, E.V., 1996. Plant response to salinity. 4<sup>th</sup> National Conference and workshop on the Productive Use and Rehabilitation of Saline Lands. Promaco Conventions PTY LTD, Albany Western Australia.
- Maas E.V., Hoffman G.J., 1977. Crop salt tolerance – current assessment. *J. Irrig. Drain. Divis., ASCE*, 103, 115-134.
- Maas E.V., Nieman R.H., 1978. Physiology of plant tolerance to salinity. In: Jung, G.A. (Ed.), *Crop Tolerance to Suboptimal Land Conditions*. ASA, Special Publication, 32, 227-299.
- Madlung, A., Comai, L., 2004. The effect of stress on genome regulation and structure. *Ann. Bot.* 94, 481-495.
- Maggio, A., De Pascale, S., Fagnano, M., Barbieri, G., 2000. Can salt stress-induced physiological responses protect tomato crops from ozone damage in Mediterranean environments? *Eur. J. Agron.* 26, 454-461.
- Maggio, A., Raimondi, G., Martino, A., De Pascale, S., 2007. Salt stress response in tomato beyond the salinity tolerance threshold. *Env. Exp. Bot.* 59, 276-286.
- Maherali, H., DeLucia, E.H., 2000. Xylem conductivity and vulnerability to cavitation of ponderosa pine growing in contrasting climates. *Tree Physiol.* 20, 859-867.
- Maherali, H., Pockman, W.T., Jackson, R.B., 2004. Adaptive variation in the vulnerability of woody plants to xylem cavitation. *Ecology* 85, 2184-2199.
- Mahmood, K., 1998. Effects of salinity, external K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> ratio and soil moisture on growth and ion content of *Sesbania rostrata*. *Biol. Plantarum* 41(2), 297-302.
- Malan, C., Greyling, M.M., Gresse, J., 1990. Correlation between Cu/Zn superoxide dismutase and glutathione reductase and environmental and xenobiotic stress tolerance in maize inbreds. *Plant Sci.* 69, 157-166.
- Malibari, A.A., Zidan, M.A., Heikal, M.M., El-Shamary, S., 1993. Effect of salinity on germination and growth of alfalfa, sunflower and sorghum. *Pakistan J. Bot.* 25, 156-160
- Manivannan, P., Jaleel, C.A., Somasundaram, R., Panneerselvam, R., 2008a. Osmoregulation and antioxidant metabolism in drought stressed *Helianthus annuus* under triadimefon drenching. *CR Biol.* 331(6), 418-425.
- Manivannan, P., Jaleel, C.A., Kishorekumar, A., Sankar, B., Somasundaram, R., Panneerselvam, R., 2008b. Protection of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. plants from salt stress by paclobutrazol. *Colloid Surf. B.* 61(2), 315-318.
- Mantri, N., Patade, V., Penna, S., Ford, R., Pang, E., 2012. Abiotic stress responses in plants: present and future. In: Ahmad, P., Prasad, M.N.V. (Eds.), *Abiotic stress responses in plants: metabolism, productivity and sustainability*. Springer, New York, pp. 1-19.

- Maraghni, M., Gorai, M., Neffati, M., Van Labeke, M.C., 2014. Differential responses to drought stress in leaves and roots of wild jujube, *Ziziphus lotus*. *Acta Physiol. Plant* 36, 945-953.
- Marcum, K.B., 2001. Salinity tolerance of 35 bentgrass cultivars. *HortScience* 36, 374-376.
- Marcum, K.B., Pessarakli, M., Kopec, D., 2005. Relative salinity tolerance of 21 turf-type desert saltgrasses compared to bermudgrass. *HortScience* 40, 827-829.
- Marshall, J.G., Scarrat, J.B., Dumbroff, E.B., 1991. Induction of drought resistance by abscisic acid and paclobutrazol in jack pine. *Tree Physiol.* 8, 415-421.
- Marshall, J.G., Rutledge, R.G., Blumwald, E., Dumbroff, E.B., 2000. Reduction in turgid water volume in jack pine, white spruce and black spruce in response to drought and paclobutrazol. *Tree Physiol.* 20, 701-707.
- Martínez, J.A., Navarro, A., Fernández, J.A., Bañón, S., 2007. Using paclobutrazol to delay the growth of *Botrytis cinerea* isolated from *Chamaelucium uncinatum*. *Aus. Plant Pathol.* 36, 39-45.
- Martínez-Sánchez, J.J., Ferrandis, P., Trabaud, L., Galindo, R., Franco, J.A., Herranz, J.M., 2003. Comparative root system structure of post-fire *Pinus halepensis* Mill. and *Cistus monspeliensis* L. samplings. *Plant Ecol.* 168, 309-320.
- Matamoros, M.A., Dalton, D.A., Ramos, J., Clemente, M.R., Rubio, M.C., Becana, M., 2003. Biochemistry and molecular biology of antioxidants in the rhizobialegume symbiosis. *Plant Physiol.* 133, 499-509.
- Matsuda, K., Riazi, A., 1981. Stress-induced osmotic adjustment in growing regions of barley leaves. *Plant Physiol.* 68, 571-576.
- Matysik, J., Alia Bhalu, B., Mohanty, P., 2002. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. *Curr. Sci.* 82, 525-532.
- Maxwell, K., Johnson, G.N., 2000. Chlorophyll fluorescence: A practical guide. *J. Exp. Bot.* 51, 659-668.
- Mayr, S., Wieser, G., Bauer, H., 2006. Xylem temperatures during winter in conifers at the alpine timberline. *Agr. Forest Meteorol.* 137, 81-88.
- McDowell, N., Pockman, W.T., Allen, C.D., Breshears, D.D., Cobb, N., Kolb, T., Plaut, J., Sperry, J., West, A., Williams, D.G., Yepez, E.A., 2008. Mechanisms of plant survival and mortality during drought, why do some plants survive while others succumb to drought? *New Phytol.* 178, 719-739.
- Mellander, P.E., Stahli, M., Gustafsson, D., Bishop, K., 2006. Modelling the effect of low soil temperatures on transpiration by Scots pine. *Hydrol. Process* 20, 1929-1944.
- Meloni, D.A., Oliva, M.A., Ruiz, H.A., Martinez, C.A., 2001. Contribution of proline and inorganic solute to osmotic adjustment in cotton under salt stress. *J. Plant Nutr.* 24, 599-612.
- Meloni, D.A., Oliva, M.A., Martinez, C.A., Cambraia, J., 2003. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. *Environ. Exp. Bot.* 49, 69-76.
- Menconi, M., Sgherri, C.L.M., Pinzino, C., Navari-Izzo, F., 1995. Activated oxygen production and detoxification in wheat plants subjected to a water deficit programme. *J. Exp. Bot.* 46, 1123-1130.

- Mencuccini, M., 2003. The ecological significance of long distance water transport: short-term regulation and long-term acclimation across plant growth forms. *Plant Cell Environ.* 26, 163-182.
- Mereu, S., Gerosa, G., Marzuoli, R., Fusaro, L., Salvatori, E., Finco, A., Spano, D., Manes, F., 2011. Gas exchange and JIP-test parameters of two Mediterranean maquis species are affected by sea spray and ozone interaction. *Environ. Exp. Bot.* 73, 80-88.
- Mitchem, C.M., 1993. *Callistemon*: the beautiful bottlebrushes. *Plantsman* 15, 29-41.
- Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 7, 405-410.
- Mittler, R., 2006. Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends Plant Sci.* 11(1), 15-19.
- Moller, I.M., Jensen, P.E., Hansson, A., 2007. Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 58, 459-481.
- Mooney, H.A., Winner, W.E., Pell, E.J. 1991. *Response of Plants to Multiple Stresses*. Academic Press, California, USA.
- Morales, C.G., Pino, M.T., del Pozo, A., 2013. Phenological and physiological responses to drought stress and subsequent rehydration cycles in two raspberry cultivars. *Sci. Hortic.* 162, 239-241.
- Morales, M.A., Sánchez-Blanco, M.J., Olmos, E., Torrecillas, A., Alarçon, J.J., 1998. Change in growth, leaf water relations and cell ultrastructure in *Argyranthemum coronopifolium* plants under saline conditions. *J. Plant Physiol.* 153, 174-180.
- Morales, M.A., Alarçon, J.J., Torrecillas, A., Sánchez-Blanco, M.J., 2000. Growth and water relations of *Lotus creticus creticus* plants affected by salinity. *Biol. Plantarum* 43, 413-417.
- Moran, R., Porath, D., 1980. Chlorophyll determination in intact tissues using N,N-Dimethylformamide. *Plant Physiol.* 65, 78-79.
- Morey, D., 1987. Could fertilizer pollution of groundwater be the coming 'big issue' for nursery growers? *Nursery Business- Grower Edition*. pp. 44-45.
- Mori, B., Serra, G., Vitagliano, C., 1998. Valutazione di specie arbustive mediterranee in condizioni idriche limitanti. *Atti IV Giornate Scientifiche S.O.I., Sanremo*.
- Morris, J.T., 1989. Modelling light distribution within the canopy of the marsh grass *Spartina alterniflora* as a function of canopy biomass and solar angle. *Agr. Forest Meteorol.* 46, 349-361.
- Mu, Z., Zhang, S., Zhang, L., Liang, A., Liang, Z., 2006. Hydraulic conductivity of whole root system is better than hydraulic conductivity of single root in correlation with the leaf water status of maize. *Bot Studies* 47, 145-151.
- Mugnai, S., Ferrante, A., Petrognani, L., Serra, G., Vernieri, P., 2009. Stress-induced variation in leaf gas exchange and chlorophyll a fluorescence in *Callistemon* plants. *Res. J. Biol. Sci.* 4, 913-921.
- Mugnai, S., Tognoni, F., Serra, G., 1999. Water consumption and growth in nine container-grown ornamental species. *Agr. Med.* 129, 143-147.
- Munné-Bosch, S., Alegre, L., 2003. Drought-induced changes in the redox state of  $\alpha$ -tocopherol, ascorbate, and the diterpene carnosic acid in chloroplasts of *Labiatae* species differing in carnosic acid contents. *Plant Physiol.* 131, 1816-1821.

- Munné-Bosch, S., Jubany-Marí, T., Alegre, L., 2003. Enhanced photo- and antioxidative protection, and hydrogen peroxide accumulation in drought-stressed *Cistus clusii* and *Cistus albidus* plants. *Tree Physiol.* 23, 1-12.
- Munné-Bosh, S., Peñuelas, J., 2004. Drought-induced oxidative stress in strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) growing in Mediterranean field conditions. *Plant Science* 166, 1105-1110.
- Munns, R., 1993. Physiological processes limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypotheses. *Plant Cell Environ.* 16, 15-24.
- Munns, R., 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Env.* 25, 239-250.
- Munns, R., Termaat, A., 1986. Whole plant response to salinity. *Austr. J. Plant Physiol.* 13, 143-160.
- Munns, R., Tester, M., 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Ann. Rev. Plant Biol.* 59, 651-681.
- Musacchi, S., Quartieri, M., Tagliavini, M., 2006. Pear (*Pyrus communis*) and quince (*Cydonia oblonga*) roots exhibit different ability to prevent sodium and chloride uptake when irrigated with saline water. *Eur. J. Agron.* 24, 268-275.
- Nakano, Y., Asada, K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplast. *Plant Cell Physiol.* 22, 867-80.
- Nayyar, H., Gupta, D., 2006. Differential sensitivity of C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> plants to water deficit stress: association with oxidative stress and antioxidants. *Environ. Exp. Bot.* 58, 106-113.
- Nicolas, M.E., Munns, R., Samarakoon, A.B., Gifford, R.M., 1993. Elevated CO<sub>2</sub> improves the growth of wheat under salinity. *Aust. J. Plant Physiol.* 20, 349-360.
- Nicolin, P., 2003. Nuovi paesaggi: temi e figure. In: Nicolin, P., Repishti, F. (Eds.), *Dizionario dei nuovi paesaggisti*, Skira, Milano.
- Niinemets, Ü., 2010. Responses of forest trees to single and multiple environmental stresses from seedlings to mature plants: past stress history, stress interactions, tolerance and acclimation. *Forest Ecol. Manag.* 260, 1623-1639.
- Niu, G., Rodriguez, D.S., 2006a. Relative salt tolerance of five herbaceous perennials. *Hort Sci.* 41, 1493-1497.
- Niu, G., Rodriguez, D.S., 2006b. Relative salt tolerance of selected herbaceous perennials and groundcovers. *Sci. Hortic.* 110, 352-358.
- Niu, G., Rodriguez, D.S., Aguiniga, L., 2007a. Growth and landscape performance of ten herbaceous species in response to saline water irrigation. *J. Environ. Hortic.* 25, 204-210.
- Niu, G., Rodriguez, D.S., Aguiniga, L., Mackay, W., 2007b. Salinity tolerance of *Lupinus hvardii* and *Lupinus texensis*. *HortScience* 42, 526-528.
- Nobel, P.S., 1991. *Physicochemical and Environmental Plant Physiology*. Academic Press, London.
- Nobel, P.S., 1994. *Remarkable Agaves and Cacti*. Oxford University Press, New York, p. 166.
- Noctor, G., Foyer, C.H., 1998. Ascorbate glutathione: Keeping active oxygen under control. *Annu Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49, 249-279.

- Nolan, S.L., Martens, D.C., 1982. Effect of sodium chloride levels on four foliage plants grown at two light levels. *HortScience* 17, 815-817.
- Nonami, H., 1998. Plant water relations and control of cell elongation at low water potentials. *J. Plant Res.* 111, 373-382.
- Norcini, J.G., Andersen, P.C., Knox, G.W., 1991. Light intensity influences leaf physiology and plant growth and characteristics of *Photinia xfraseri*. *J. Americ. Soc. Hort. Sci.* 116, 1046-1051.
- Özpay, T., 2008. Determination of genotypic variation some species grown in Turkey pumpkin (*Cucurbita* sp.) terms of drought stress tolerance. Yuzuncu Yil University, Institute of Natural and Applied Sciences, M.Sc.Thesis, Van-Turkey (in Turkish), 54.
- Paoletti, E., Nicolotti, G., Bussotti, F., 2001. L'inquinamento da tensioattivi ed i suoi effetti sulla vegetazione. *Linea Ecologica* 33 (1), 21-27.
- Pardossi, A., Consorti, B., Carrai, C., Malorgio, F., Tognoni, F., 1992. Il raffreddamento della soluzione nutritiva in impianti N.F.T. durante la stagione estiva: aspetti biologico-agronomici. *Colture Protette* 10, 107-110.
- Pardossi, A., Incrocci, L., Incrocci, G., Tognoni, F., Marzioletti, P., 2009. What limits and how to improve water use efficiency in outdoor container cultivation of ornamental nursery stocks. *Acta Hort.* 843, 73-80.
- Parida, A.K., Das, A.B., 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotox. Environ. Safe* 60(3), 324-349.
- Patakas, A., 2012. Abiotic stress-induced morphological and anatomical changes in plants. In: P. Ahmad P., Prasad, M.N.V., (Eds.), *Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism, Productivity and Sustainability*, Springer Science+Business Media, LLC, pp. 21-39.
- Pearcy, R.W., Ehleringer, J., Mooney, H.A., Rundel, P.W. (Eds.), 1989. *Plant physiological ecology. Field methods and instrumentation*. Chapman and Hall, London-NewYork.
- Peguero-Pina, J.J., Alquézar-Alquézar, J.M., Mayr, S., Cochard, H., Gil-Pelegrín, E., 2011. Embolism induced by winter drought may be critical for the survival of *Pinus sylvestris* L. near its southern distribution limit. *Ann. For. Sci.* 68, 565-574.
- Peñuelas, J., Filella, I., Serrano, L., Biel, C., Savé, R., 1993. The reflectance at the 950-970 nm region as an indicator of plant water status. *Int. J. Remote Sens.* 14(10), 1887-1905.
- Percival, G.C., 2004. Evaluation of physiological tests as predictors of young tree establishment and growth. *J. Arboric.* 30(2), 80-91.
- Percival, G.C., 2005. Identification of foliar salt tolerance of woody perennials using chlorophyll fluorescence. *HortScience* 40, 1892-1897.
- Percival, G.C., Kearby, I.P., Al-Habsib, S., 2006. An assessment on the drought tolerance of *Fraxinus* genotypes for urban landscape plantings. *Urban For. Urban Green* 5, 17-27.
- Pereira, J.S., Chaves, M.M., 1993. Plant Water Deficits in Mediterranean Ecosystems. In: Smith, J.A.C., Griffiths, H. (Eds.), *Plant Responses to Water Deficits-from Cell to Community*. BIOS Scientific Publishers Ltd., Oxford, pp. 237-251.



- Pérez-Alfocea, F., Balibrea, M.E., Alarçon, J.J., Bolarín, M.C., 2000. Composition of xylem and phloem exudates in relation to the salt tolerance of domestic and wild tomato species. *J. Plant Physiol.* 156, 367-374.
- Pérez-Pérez, J.G., Syvertsen, J.P., Botía, P., García-Sánchez, F., 2007. Leaf water relations and net gas exchange responses of salinized Carrizo citrange seedlings during drought stress and recovery. *Ann. Bot.* 100(2), 335-345.
- Perl, A., Perl-Trevis, R., Galili, S., Aviv, D., Shalgi, E., Malkin, S., Galun, E., 1993. Enhanced oxidative stress defense in transgenic potato expressing tomato Cu,Zn superoxide dismutases. *Theor. Appl. Genet.* 85, 568-576.
- Peters, J.L., Castillo, F.J., Heath, R.H., 1989. Alteration of extracellular enzymes in pinto bean leaves upon exposure to air pollutants, ozone and sulfur dioxide. *Plant Physiol.* 89, 159-164.
- Pettigrew, W.T., Meredith, W.R., 1994. Leaf gas exchange parameters vary among cotton genotypes. *Crop Sci.* 34, 700-705.
- Picchioni, G.A., Miyamoto, S., Storey, J.B., 1990. Salt effects on growth and ion uptake of pistachio rootstock seedlings. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 115, 647-653.
- Pockman, W.T., Sperry, J., 2000. Vulnerability to xylem cavitation and the distribution of Sonoran desert vegetation. *Am. J. Bot.* 87, 1287-1299.
- Poliakoff-Mayber, A., Lerner, H.N., 1993. Plants in saline environment. In: Pessarakli, M. (Ed.), *Handbook of Plant and Crop Stress*, Marcel Dekker, New York, pp. 65-96.
- Polizzi, G., 1995. Effects of saline aerosol from cooling towers on the vegetation. *Agric. Mediterr. (Special Volume)*, 358-363.
- Porra, R.J., Thompson, W.A., Kriedemann, P.E., 1989. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta* 975, 384-394.
- Potters, G., Pasternak, T.P., Guisez, Y., Palme, K.L., Jansen, M.A.K., 2007. Stress-induced morphogenic responses: growing out of trouble? *Trends Plant Sci.* 12(3), 98-105.
- Poyatos, R., Martínez-Vilalta, J., Cermák, J., Ceulemans, R., Granier, A., Irvine, J., Köstner, B., Lagergren, F., Meiresonne, L., Nadezhdina, N., Zimmermann, R., Llorens, P., Mencuccini, M., 2007. Plasticity in hydraulic architecture of Scots pine across Eurasia. *Oecologia* 153(2), 245-249.
- Poyatos, R., Llorens, P., Piñol, J., Rubio, C., 2008. Response of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) and pubescent oak (*Quercus pubescens* Willd.) to soil and atmospheric water deficits under Mediterranean mountain climate. *Ann For Sci* 65(3), 306.
- Prada, M.A., Gordo, J., De Miguel, J., Mutke, S., Catálan, G., Iglesias, S., Gil, L., 1997. Las regiones de procedencia de *Pinus pinea* L. en España. Madrid, Ministerio de Medio Ambiente; Organismo Autónomo Parques Nacionales.
- Prasad, M.N.V. (Ed.), 1997. *Plant Ecophysiology*. John Wiley & Sons Inc., New York, U.S.A.
- Puckette, M.C., Weng, H., Mahalingam, R., 2007. Physiological and biochemical responses to acute ozone-induced oxidative stress in *Medicago truncatula*. *Plant Physiol. Biochem.* 45, 70-79.

- Qian, Y.L., Wilhelm, S.J., Marcum, K.B., 2001. Comparative response of two kentucky bluegrass cultivars to salinity stress. *Crop Sci.* 41, 1895-1900.
- Quarrie, S.A., Jones, H.G., 1977. Effects of abscisic acid and water stress on development and morphology of wheat. *J. Exp. Bot.* 28(1), 192-203.
- Raddi, P., Moricca, S., Paoletti, E., 1994. Effects of acid rain and surfactant pollution on the foliar structure of tree species. In: Percy, K.E., Cape, J.N., Jagels, R., Simpson, C.J., (Eds.). *Air Pollutants and The Leaf Cuticle*, NATO ASI Series, Vol. G 36, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg 205-216.
- Raddi, S., Cherubini, P., Lauteri, M., Magnani, F., 2009. The impact of sea erosion on coastal *Pinus pinea* stands: A diachronic analysis combining tree-rings and ecological markers. *Forest Ecol. Manag.* 257, 773-781.
- Ramos, C., Kaufmann, M.R., 1979. Hydraulic resistance of rough lemon roots. *Physiol Plantarum* 45, 311-314.
- Ranney, T.G., Whitlow, T.H., Bassuk, N.L., 1990. Response of five temperate deciduous tree species to water stress. *Tree Physiol.* 6, 439-448.
- Rapporto Brundtland, 1987. *Il futuro di noi tutti*. Rizzoli, Milano, 1998.
- Rawson, H.M., Richards, R.A., Munns, R., 1988. An examination of selection criteria for salt tolerance in wheat, barley and triticale genotypes. *Aust. J. Agric. Res.* 39, 759-772.
- Reddy, A.R., Chiatanya, K.V., Vivekanandan, M., 2004. Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *J. Plant Physiol.* 161, 1189-1202.
- Reigosa, M.J. (Ed.), 2001. *Handbook of plant ecophysiology techniques*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht.
- Rettori, A., Paoletti, E., De Capua, E., Nicolotti, G., 2005. Danni da tensioattivi sulla vegetazione litoranea dell'Italia meridionale. *Forest@* 2(1), 92-97.
- Richardson, A.D., Berlyn, G.P., Ashton, P.M.S., Thadani, R., Cameron, I.R., 2000. Foliar plasticity of hybrid spruce in relation to crown position and stand age. *Can J Bot* 78, 305-317.
- Richardson, D.M., Rundel, P.W., 1998. Ecology and biogeography of *Pinus*, an introduction. In: Richardson, M., (Ed.), *Ecology and biogeography of Pinus*. Cambridge, Cambridge University Press, pp. 3-46.
- Robinson, S.P., Downton, W.J.S., Millhouse, J.A., 1983. Photosynthesis and ion content and leaves and isolated chloroplast of salt-stressed spinach. *Plant Physiol.* 73, 238-242.
- Rodrigues, M.A., Coutinho, J., Martins, F., Arrobas, M., 2005. Quantitative sidedress nitrogen recommendations for potatoes based upon crop nutritional indices. *Eur. J. Agron.* 23(1), 79-88.
- Rodríguez, P., Torrecillas, A., Morales, M.A., Ortuño, M.F., Sánchez-Blanco, M.J., 2005. Effects of NaCl salinity and water stress on growth and leaf water relations of *Asteriscus maritimus* plants. *Environ. Exp. Bot.* 53, 113-123.
- Rogers, M., Noble, C.L., 1992. Variation in growth and ion accumulation between two selected populations of *Trifolium repens* L. differing in salt tolerance. *Plant Soil* 146, 131-136.

- Romano, D., 2004. Strategie per migliorare la compatibilità del verde ornamentale con l'ambiente mediterraneo. In: Pirani, A. (Ed.). Il verde in città. La progettazione del verde negli spazi urbani. Edagricole, Bologna, pp. 363-404.
- Romano, D., 2008. L'utilizzazione di piante autoctone negli spazi a verde in ambiente mediterraneo. In: Pardossi, A., Malorgio, F., Pezzarossa, B., Bretzel, F. (Eds.) Le piante spontanee come risorsa per il florovivaismo e la valorizzazione del paesaggio. Aracne Editrice, Roma, ISBN 978-88-548-2074-6, pp. 11-29
- Romano, D., Catara, S., Scuderi, D., Karlovic K. 2005. Ukrasne vrste s mogucom upotrebom u mediteranskom okruzenju. Sjeminarstvo 23(1), 67-80.
- Romero-Aranda, R., Cantó-Garay, R., Martínez, P.F., 1994. Distribution and density of stomata in two cultivars of *Gerbera jamesonii* and its relation to leaf conductance. Sci. Hort. 58, 167-173.
- Romero-Aranda, R.R., Soria, T., Cuartero, J., 2002. Tomato plant-water uptake and plant-water relationship under saline growth conditions. Plant Sci. 160, 265-272.
- Roslan, R.N., Hanif, N.M., Othman, M.R., Wan Azmi Wan, N.F., Yan, X.X., Ali, M.M., Mohamed, C.A.R., Latif, M.T., 2010. Surfactants in the sea-surface microlayer and their contribution to atmospheric aerosols around coastal areas of the Malaysian peninsula. Mar. Pollut. Bull. 60, 1584-1590.
- Ruggiero, B., Koiwa, H., Manabe, Y., Quist, T.M., Inan, G., Saccardo, F., Joly, R.J., Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Maggio, A., 2004. Uncoupling the effects of abscisic acid on plant growth and water relations. Analysis of *sto1/nced3*, an abscisic acid-deficient but salt stress-tolerant mutant in *Arabidopsis*. Plant Physiology Plantarum 124: 465-475.
- Ruiz, J.M., Blasco, B., Rivero, R.M., Romero, L., 2005. Nicotine-free and salt-tolerant tobacco plants obtained by grafting to salinity-resistant rootstocks of tomato. Physiol. 136, 3134-3147.
- Ruiz-Sánchez, M.C., Domingo, R., Torrecillas, A., Pérez-Pastor, A., 2000. Water stress preconditioning to improve drought resistance in young apricot plants. Plant Sci. 156, 245-251.
- Ruley, A.T., Sharma, N.C., Sahi, S.V., 2004. Antioxidant defense in a lead accumulating plant, *Sesbania drummondii*. Plant Physiol. Bioch. 42, 899-906.
- Ryel R.J. 2004. Hydraulic redistribution. In: Esser, K., Luttge, U., Beyschlag, W., Murata, J., (Eds.), Progress in botany. New York, NY, USA: Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 413-435.
- Sacks, M.M., Silk, W.K., Burman, P., 1997. Effect of water stress on cortical cell division rates within the apical meristem of primary roots of maize. Plant Physiol. 114, 519-527.
- Sagrera, B., Biel, C., Savé, R., 2013. Effects of container volume and pruning in morpho-functional characters of *Salix elaeagnos* Scop. under water stress for Mediterranean riparian ecosystems restoration. Afr. J. Agr. Res. 8, 191-200.
- Saibo, N.J.M., Lourenço, T., Oliveira, M.M., 2009. Transcription factors and regulation of photosynthetic and related metabolism under environmental stresses. Ann. Bot. 103, 609-623.
- Sairam, R.K., Deshmukh, P.S., Saxena, D.C., 1998. Role of antioxidant systems in wheat genotypes tolerant to water stress. Biol. Plant. 41, 387-394.

- Sairam, R.K., Srivastava, G.C., Saxena, D.C., 2000. Increased antioxidant activity under elevated temperatures: A mechanism of heat stress tolerance in wheat genotypes. *Biol. Plant.* 43, 245-251.
- Sakai, A., Larcher, W., 1987. Frost survival of plants. Responses and adaptation to freezing stress. In *Ecological Studies*, 62. Berlin, Springer. 321 p.
- Salama, S., Trivedi, S., Busheva, M., Arafa, A.A., Garab, G., Erdei, L., 1994. Effects of NaCl salinity on growth cation accumulation, chloroplast structure and function in wheat cultivars differing in salt tolerance. *J. Plant Physiol.*, 144, 241-247.
- Samarah, N.H., Alqudah, A.M., Amayreh, J.A., McAndrews, G.M., 2009. The effect of late-terminal drought stress on yield components of four barley cultivars. *J. Agron. Crop Sci.* 195, 427-441.
- Sánchez-Blanco, M.J., Bolarín, M.C., Alarcón, J.J., Torrecillas, A., 1991. Salinity effects on water relations in *Lycopersicon esculentum* and its wild salt-tolerant relative species *L. pennellii*. *Physiol. Plant.* 83: 269-274.
- Sánchez-Blanco, M.J., Morales, M.A., Torrecillas, A., Alarcón, J.J., 1998. Diurnal and seasonal osmotic potential changes in *Lotus creticus creticus* plants grown under saline stress. *Plant Sci.* 136, 1-10.
- Sánchez-Blanco, M.J., Rodríguez, P., Morales, M.A., Ortuño, M.F., Torrecillas, A., 2002. Comparative growth and water relations of *Cistus albidus* and *Cistus monspeliensis* plants during water deficit conditions and recovery. *Plant Sci.* 162, 107-113.
- Sánchez-Blanco, M.J., Rodríguez, P., Morales, M.A., Torrecillas, A., 2003. Contrasting physiological responses of dwarf sea-lavender and marguerite to simulated sea aerosol deposition. *J. Environ. Qual.* 32, 3338-3344.
- Sánchez-Blanco, M.J., Ferrández, T., Navarro, A., Bañón, S., Alarcón, J.J., 2004. Effects of irrigation and air humidity preconditioning on water relations, growth and survival of *Rosmarinus officinalis* plant during and after transplanting. *J. Plant Physiol.* 161, 1133-1142.
- Sanesi, G., 2006. Manuale RISVEM. Linee guida tecnico operative per la pianificazione, progettazione, realizzazione, gestione di spazi Verdi multi funzionali. ISBN: 88-87553-15-7, 978-88-87553-15-4.
- Sankar, B., Jaleel, C.A., Manivannan, P., Kishorekumar, A., Somasundaram, R., Panneerselvam, R., 2007. Effect of paclobutrazol on water stress amelioration through antioxidants and free radical scavenging enzymes in *Arachis hypogaea* L. *Colloid Surf. B.* 60, 229-235.
- Sauter, J.J., Kammerbauer, H., Pambor, L., Hock, B., 1987. Evidence for the accelerated micromorphological degradation of epistomatal waxes in Norway spruce by motor vehicle emissions. *Eur. J. Forest Pathol.* 17, 444-448.
- Savé, R., 2009. What is stress and how to deal with it in ornamental plants? *Acta Hort.* 813, 241-254.
- Savé, R., Olivella, C., Biel, C., Adillón, J., Rabella, R., 1994. Seasonal patterns of water relationships, photosynthetic pigments and morphology of *Actinidia deliciosa* plants of the Hayward and Tomouri cultivars. *Agronomie* 2, 121-126.
- Savé, R., Peñuelas, J., Filella, I., Olivella, C., 1995. Water relations, hormonal level and spectral reflectance of *Gerbera jamesonii* Bolus submitted to chilling stress. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 120, 515-519.

- Savé, R., De Herralde, F., Cabot, P., Biel, C., 1996. Ecophysiology of *Lotus creticus creticus* L. used in revegetation under Mediterranean conditions. In: First European Conference and Trade Expositions on Erosion Control. Sitges, p. 43.
- Savé, R., De Herralde, F., Cabot, P., Biel, C., 1997. Revegetation based on ecophysiological criteria. In: Proc. 3<sup>rd</sup> Spanish-Portuguese Symp. on Plant Water Relations. Sitges, pp. 28-31.
- Savé, R., Castell, C., Terrades, J., 1999. Gas exchange and water relations. An ecophysiological approach to plant response to environment. In: Rodà, F., Retana, J., Gracia, C.A., Bellot, J. (Eds.), Ecology of Mediterranean Evergreen Oak Forest. Springer-Verlag, Heidelberg, pp. 135-148.
- Savé, R., Biel, C., De Herralde, F., 2000. Leaf pubescence, water relations and chlorophyll fluorescence in two subspecies of *Lotus creticus* L.. Biol. Plantarum 43, 239-244.
- Scalet, M., Federice, R., Guido, M.C., Manes, F., 1995. Peroxidase activity and polyamine changes in response to ozone and simulated acid rain in Aleppo pine needles. Environ. Exp. Bot. 35, 417-425.
- Scandalios, J.G., 2005. Oxidative stress: Molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. Braz J. Med. Biol. Res. 38, 995-1014.
- Schlegel, T., Schönherr, J., 2002. Stage of development affects penetration of calcium chloride into apple fruits. J. Plant Nutr. Soil Sci., 165, 738-745.
- Schönherr, J., 1993. Effects of alcohols, glycols and mono disperse ethoxylated alcohols on mobility of 2,4-D in isolated plant cuticles. Pestic. Sci. 39, 213-223.
- Schönherr, J., Bauer, H., 1992. Analysis of effects of surfactants on permeability of plant cuticles. In: Foy, C.L. (Ed.), Adjuvant and agrichemicals, CRC, Boca Raton, Florida, pp. 17-35.
- Schramm, L.L., Stasiuk, E.N., Marangoni, G., 2003. Surfactants and their applications. Annu. Rep. Prog. Chem., Sect. C: Phys. Chem. 99, 3-48.
- Schreiber, L., 2001. Effect of temperature on cuticular transpiration of isolated cuticular membranes and leaf discs. J. Exp. Bot. 52, 1893-1900.
- Schreiber, L., Bach, S., Kirsch, T., Knoll, D., Schalz, K., Riederer, M., 1995. A simple photometric device analysing cuticular transport physiology: surfactant effect on permeability of isolated cuticular membranes of *Prunus laurocerasus*. Journal of Exp. Bot. 293, 1915-1921.
- Schreiber, L., Skrabs, M., Hartmann, K., Diamantopoulos, P., Simanova, E., Santrucek, J., 2001. Effect of humidity on cuticular transpiration of isolated cuticular membranes and leaf disks. Planta 214, 274-282.
- Schuch, U.K., Burger, D.W., 1997. Water use and crop coefficients of woody ornamentals in containers. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 122(5), 727-734.
- Schulze, E.D., Beck, E., Müller-Hohenstein, K., 2005. Plant Ecology. Springer, Berlin/Heidelberg.
- Schwanz, P., Polle, A., 2001. Differential stress responses of antioxidative systems to drought in pendunculate oak (*Quercus robur*) and maritime pine (*Pinus pinaster*) grown under high CO<sub>2</sub> concentrations. J. Exp. Bot. 52 (354), 133-143.

- Schwanz, P., Picon, C., Vivin, P., Dreyer, E., Guehi, J.M., Polle, A., 1996. Responses of antioxidative system to drought stress in pendunculata oak and maritime pine as modulated by elevated CO<sub>2</sub>. *Plant Physiol.* 110, 393-402.
- Seeman, J.R., Critchley, C., 1985. Effects of salt stress on the growth, ion content, stomatal behavior and photosynthetic capacity of a salt-sensitive species, *Phaseolus vulgaris* L.. *Planta* 164, 151-162.
- Sengupta, A., Heinsen, J.L., Holanday, A.S., Barke, J.J., Allen, R.D., 1993. Increased resistance to oxidative stress in transgenic plant that overexpress chloroplastic Cu/Zn superoxide dismutase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 1629-1633.
- Serrano, L., Peñuelas, J., Ogaya, R., Savé, R., 2005. Tissue-water relations of two co-occurring evergreen Mediterranean species in response to seasonal and experimental drought conditions. *J. Plant Res.* 118, 263-269.
- Shabala, S.N., Martynenko, A.I., Babourina, O., Newman, I.A., 1998. Salinity effect on bioelectric activity, growth, Na<sup>+</sup> accumulation and chlorophyll fluorescence of maize leaves: a comparative survey and prospects for screening. *Aust. J. Plant Physiol.* 25(5), 609-616.
- Shannon, M.C., Grieve, C.M., 1999. Tolerance of vegetable crops to salinity. *Sci. Hortic.* 78, 5-38.
- Sharma, K.K., Lavanya, M., 2002. Recent developments in transgenics for abiotic stress in legumes of the semi-arid tropics. *JIRCAS Working Report*, pp. 61-73.
- Sharma, N., Gupta, N.K., Gupta, S., Hasegawa, H., 2005. Effect of NaCl salinity on photosynthetic rate, transpiration rate, and oxidative stress tolerance in contrasting wheat genotypes. *Photosynthetica* 43, 609-613.
- Sharma, P., Dubey, R.S., 2005. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzyme in growing rice seedling. *Plant Growth Regul.* 46, 209-221.
- Sheffield, J., Wood, E., 2008. Projected changes in drought occurrence under future global warming from multi-model, multi-scenario, IPCC AR4 simulations. *Clim Dynam* 31, 79-105.
- Singh, K.N., Chatrath, R., 2001. Salinity tolerance. In: Reynolds, M.P., Ortiz-Monasterio, I., McNab, A. (Eds.), *Application of Physiology in Wheat Breeding*. Mexico D.F., CIMMYT, 8, 101-110.
- Slavik, B., 1974. *Methods of studying plant water relations*. Ecological studies 9. Chapman and Hall/Academic Press. London/Berlin.
- Smillie, R.M., Nott, R., 1982. Salt tolerance in crop plants monitored by chlorophyll fluorescence in vivo. *Plant Physiol.* 70, 1049-1054.
- Smirnoff, N., 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytol.*, 125, 27-58.
- Smith, S., Weyers, J.D.B., Berry, W.G., 1989. Variation in stomatal characteristics over the lower surface of *Commelina communis* leaves. *Plant Cell Environm.* 12, 653-659.
- Sofa, D.A., 2003. *Analisi delle attività di enzimi antiossidanti e dei livelli di molecole indicatrici dello stress idrico e ossidativo in olivo (Olea europaea L.)*. Tesi di dottorato. Università degli Studi della Basilicata, Potenza.
- Souza, R.P., Machado, E.C., Silva, J.A.B., Lagôa, A.M.M.A., Silveira, J.A.G., 2004. Photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and some associated

- metabolic changes in cowpea (*Vigna unguiculata*) during water stress and recovery. *Environ. Exp. Bot.* 51, 45-56.
- Spepth, J.E., Chase, K., Macrander, M., Graef, G.L., Chung, J., Markwell, J.P., Germann, M., Orf, J.H., Lark, K.G., 2001. Soybean response to water. A QTL analysis of drought tolerance. *Crop Sci.* 41, 493-509.
- Sperry, J.S., Sullivan, J.E.M., 1992. Xylem embolism in response to freeze-thaw cycles and water stress in ring-porous, diffuse-porous, and conifer species. *Plant Physiol* 100, 605-613.
- Sperry, J.S., Hacke, U.G., Pittermann, J., 2006. Size and function in conifer tracheids and angiosperm vessels. *Am J Bot* 93, 1490-500.
- Spinti, J.E., Hilaire, R.S., van Leeuwen, D., 2004. Balancing landscape preferences and water conservation in a desert community. *HortTechnology* 14(1), 72-77.
- Stabler, L.B., Martin, C.A., 2000. Effect of irrigation frequency on growth and water use efficiency of two southwest landscape plants. *J. Environ. Hortic.* 18(2), 66-70.
- Starman, T., Lombardini, L. 2006. Growth, gas exchange, and chlorophyll fluorescence of four herbaceous perennials during water deficit conditions. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 131, 469-475.
- Steduto, P., Albrizio, R., Giorio, P., Sorrentino, G., 2000. Gas-exchange response and stomatal and non-stomatal limitations to carbon assimilation of sunflower under salinity. *Env. Exp. Bot.* 44, 243-255.
- Sternberg, L.d.S.L., Swart, P.K., 1987. Utilization of freshwater and ocean water by coastal plants of southern Florida. *Ecology* 68, 1898-1905.
- Steinberg, L.d.S.L., Zajicek, M.J., Farland, M.C., 1991. Water relations of hibiscus following pruning or chemical growth regulation. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 108, 1076-1080.
- Stettler, R.F., Fenn, R.C., Heilman, P.E., Stanton, B.J., 1988. *Populus trichocarpa* x *Populus deltoides* hybrids for short-rotation culture: Variation patterns and 4-year field performance. *Can. J. For. Res.* 18-745-753.
- Still, D.W., Davies, F.T.J.R., 1993. Water use, water-use efficiency and growth analysis of selected woody ornamental species under a non-limiting water regime. *Sci. Hortic.* 53, 213-223.
- Strasser, R.J., 1988. A concept for stress and its application in remote sensing. In: Linchtenthaler, H.K. (Ed.), *Applications of Chlorophyll Fluorescence*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 333-337.
- Strasser, R.J., Srivastava, A., Govindjee, A., 1995. Polyphasic chlorophyll a fluorescence transient in plants and cyanobacteria. *Photochem. Photobiol.* 61, 32-42.
- Stuart, F.Ch., Matson, P.A., Mooney, H.A., 2002. *Principles of Terrestrial Ecosystem Ecology*. Springer-Verlag, New York.
- Sudhir, P., Murthy, S.D.S., 2004. Effects of salt stress on basic processes of photosynthesis. *Photosynthetica* 42, 481-486.
- Sun, J., Gu J., Zeng J., Han S., Song, A., Chen, F., Fang, W., Jiang, J., Chen, S., 2013. Changes in leaf morphology, antioxidant activity and photosynthesis capacity in two different drought-tolerant cultivars of chrysanthemum during and after water stress. *Sci. Hortic.* 161, 249-258.

- Surendar, K.K., Devi, D.D., Ravi, I., Jeyakumar, P., Velayudham, K., 2013. Influence of water stress on antioxidative enzymes and yield of Banana cultivars and hybrids. Pak. J. Biol. Sci. 16(24), 1997-2002.
- Sykes, M.T., Wilson, J.B., 1988. An experimental investigation into the response of some New Zealand sand dune species to salt spray. Ann. Bot. 62, 156-166.
- Tahir, M.H.N., Mehid, S.S., 2001. Evaluation of open pollinated sunflower (*Helianthus annuus* L.) populations under water stress and normal conditions. Int. J. Agric. Biol. 3, 236-238.
- Tan, S., Crabtree, G.D., 1994. Cuticular sorption and desorption of a nonionic diethylene glycol monooleate surfactant. Pestic. Sci. 41(2), 87-90.
- Tanguilig, V.C., Yambao, E.B., O'Toole, J.C., De Datta, S.K., 1987. Water stress effects on leaf elongation, leaf water potential, transpiration, and nutrient uptake of rice, maize, and soybean. Plant Soil 103, 155-168.
- Tardieu, F., Simonneau, T., 1998. Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand, modeling isohydric and anisohydric behaviors. J. Exp. Bot. 49, 419-432.
- Tattini, M., Traversi, M.L., 2008. Responses to changes in Ca<sup>2+</sup> supply in two Mediterranean evergreens, *Phillyrea latifolia* and *Pistacia lentiscus*, during salinity and subsequent relief. Ann. Bot. 102, 609-622.
- Terradas, J., Savé, R., 1992. Summer-winter double stress and water relationships as clue factors in the distribution of *Quercus ilex* L.. Vegetatio 99-100, 137-145.
- Tesi, R., 1975. Piante Ornamentali, Enciclopedia Agraria, REDA, Roma.
- Tezara, W., Mitchell, V., Driscoll, S.P., Lawlor, D.W., 2002. Effects of water deficit and its interaction with CO<sub>2</sub> supply on the biochemistry and physiology of photosynthesis in sunflower. – J. Exp. Bot. 53, 1781-1791.
- Tezara, W., Martínez, D., Rengifo, E., Herrera, A., 2003. Photosynthetic responses of the tropical spiny shrubs *Lycium nodosum* (Solanaceae) to drought, soil salinity and saline spray. Ann. Bot. 92, 757-765.
- Thakur, P., Kumar, S., Malik, J.A., Berger, J.D., Nayyar, H., 2010. Cold stress effects on reproductive development in grain crops: an overview. Environ. Exp. Bot. 67, 429-443.
- Thayer, R.L., 1976. Visual ecology: Revitalizing the esthetics of landscape architecture. Landscape 20, 37-43.
- Tian, X.R., Lei, Y.B., 2007. Physiological responses of wheat seedlings to drought and UV-B radiation, effect of exogenous sodium nitroprusside application. Russ. J. Plant Physiol. 54, 676-682.
- Tipton, J.L., White, M., 1995. Differences in leaf cuticle structure and efficacy among easter redbud and Mexican redbud phenotypes. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 120, 59-64.
- Tominaga, T., Kobayashi, H., Ueki, K., 1991. Clonal variation in salt tolerance of *Imperata cylindrical* (L.) Beauv. var. *koenigii* (Retz.) et Schinz. J. Jpn. Grassland Sci. 37, 69-75.
- Torrecillas, A., Rodríguez, P., Sánchez-Blanco, M.J., 2003. Comparison of growth, leaf water relations and gas exchange of *Cistus albidus* and *Cistus monspeliensis* plants irrigated with water of different NaCl salinity levels. Sci. Hortic., 97, 353-368.



- Toscano, S., Scuderi, D., Giuffrida, F., Romano, D., 2014. Responses of Mediterranean ornamental shrubs to drought stress and recovery. *Sci. Hortic.* 178, 145-153.
- Touchette, B.W., Rhodes, K.L., Smith, G.A., Poole, M., 2009. Salt spray induces osmotic adjustment and tissue rigidity in smooth cordgrass, *Spartina alterniflora* (Loisel.). *Estuar. Coasts* 32, 917-925.
- Tounekti, T., Vadel, A., Oñate, M., Khemira, H., Munné-Bosch, S., 2011. Salt-induced oxidative stress in rosemary plants: damage or protection? *Environ. Exp. Bot.* 71, 298-305.
- Townsend, A.M., 1980. Identifying trees with tolerance to soil salts. Proc. 3<sup>rd</sup> METRIA conference. New Brunswick, NJ, 24-32.
- Tranquillini, W., 1982. Frost-drought and its ecological significance. In: Lange, O.L., Nobel, P.S., Osmond, C.B., Ziegler, H., (Eds.), *Physiological Plant Ecology II*, part B. Water Relations and Carbon Assimilation. Berlin, Springer-Verlag, pp. 379-400.
- Türkan, İ., Bor, M., Özdemir, F., Koca, H., 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought – tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L., subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Sci.* 168, 223-231.
- Tyree, M.T., Jarvis, P.G., 1982. Water in tissues and cells. In: Lange, O.L., Nobel, P.S., Osmond, C.B., Ziegler, H. (Eds). *Encyclopedia of Plant Physiology. New Series*, Vol. 12B. Springer-Verlag, Berlin, pp. 36-71.
- Urbano, C.C., 1990. The great disappearing act of usable American water. *Amer. Nurseryman* 163(3), 52-55.
- Utah Division of Water Resources, 2003. Water-related land use inventories – Utah Lake study area (data for 2002): Salt Lake City, Utah Division of Water Resources GIS data.
- Vaadia, Y., 1976. Plant hormones and water stress. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 273, 513-522.
- van Volkenburgh, E., Boyer, J.S., 1985. Inhibitory effects of water deficit on maize leaf elongation. *Plant Physiol.* 77, 190-194.
- Vaughn, K.J., Biel, C., Clary, J.J., De Herralde, F., Aranda, X., Evans, R.Y., Young, T.P., Savé R., 2011. California perennial grasses are physiologically distinct from both Mediterranean annual and perennial grasses. *Plant Soil* 345, 37-46.
- Vernieri, P., Ferrante, A., Mugnai, S., Pardossi, A., 2006a. Stress abiotici e bilancio ormonale nelle piante coltivate. *Italus Hortus* 13(1), 19-31.
- Vernieri, P., Mugnai, S., Borghesi, E., Petrognani, L., Serra, G., 2006b. Non-chemical growth control of potted *Callistemon laevis*. *Agric. Med.* 160, 85-90.
- Vignolio, O.R., Biel, C., De Herralde, F., Araújo-Alves, J.P., Savé, R., 2002. Growth of *Lotus creticus creticus* and *Cynodon dactylon* under two levels of irrigation. *Aust. J. Agric. Res.* 53, 1375-1381.
- Vignolio, O.R., Biel, C., De Herralde, F., Araújo-Alves, J.P.L., Savé, R., 2005. The use of water stress tolerant *Lotus creticus creticus* and *Cynodon dactylon* in soil revegetation on different slopes in Mediterranean weather conditions. *Ann. Bot. Fennici* 42, 195-205.
- Villar-Salvador, P., Planelles, R., Oliet, J., Peñuelas-Rubira, J.L., Jacobs, D.F., González, M., 2004. Drought tolerance and transplanting performance of holm oak (*Quercus*

- ilex*) seedlings after drought hardening in the nursery. *Tree Physiol.* 24, 1147-1155.
- Vorasoot, N., Songsri, P., Akkasaeng, C., Jogloy, S., Patanothai, A., 2003. Effect of water stress on yield and agronomic characters of peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 25, 283-288.
- Vranová, E., Inzé, D., Van Breusegem, F., 2002. Signal transduction during oxidative stress. *J Exp Bot.* 53 (372), 1227-1236.
- Walker, R.R., 1986. Sodium exclusion and potassium-sodium selectivity in salt-treated trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata*) and Cleopatra mandarin (*Citrus reticulata*) plants. *Aust. J. Plant Physiol.* 13, 293-303.
- Walker-Simmons, M.K., 1987. ABA levels and sensitivity in developing wheat embryos of sprouting resistant and susceptible cultivars. *Plant Physiol.* 84, 61-66.
- Wample, R.L., Culver, E.B., 1983. The influence of paclobutrazol, a new growth regulator, on sunflower. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 108, 122-125.
- Wang, J., Ives, N.E., Lechowicz, M.J., 1992. The relation of foliar phenology to xylem embolism in trees. *Funct. Ecol.* 6, 469-475.
- Wang, W.B., Kim, Y.H., Lee, H.S., Kim, K.Y., Deng, X.P., Kwak, S.S., 2009. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. *Plant Physiol. Bioch.* 47, 570-577.
- Wang, W.X., Vinocur, B., Shoseyov, O., Altman, A., 2001. Biotechnology of plant osmotic stress tolerance: physiological and molecular considerations. *Acta Hortic.* 560, 285-292.
- Ward, J.K., Harris, J.M., Cerling, T.E., Wiedenhoef, A., Lott, M.J., Dearing, M.D., Coltrain, J.B., Ehleringer, J.R., 2005. Carbon starvation in glacial trees recovered from the La Brea tar pits, southern California. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102(3), 690-694.
- Wild, A., 1988. Russell's soil conditions and plant growth. 11<sup>th</sup> edn. Longman, New York.
- Willekens, H., Inzé, D., Van Montagu, M., Van Camp, W., 1995. Catalases in plant. *Mol. Breed.* 1(3), 207-228.
- Willson, C.J., Jackson, R.B., 2006. Xylem cavitation caused by drought and freezing stress in four co-occurring *Juniperus* species. *Physiol. Plantarum* 127, 374-382.
- Winicov, I., Button, J.D., 1991. Induction of photosynthesis gene transcripts by sodium chloride in a salt tolerant alfalfa cell line. *Planta* 183, 478-483.
- Wu, L., Dodge, L., 2005. Special Report for the Elvenia J. Slosson Endowment Fund. <http://ucce.ucdavis.edu/files/filelibrary/5505/20091.pdf>.
- Wu, L., Guo, X., 2005. Response of two coast redwood (*Sequoia sempervirens* Endl.) cultivars to moderate salt and boron spray measured by stress symptoms: implications for irrigation using recycled water. *Environ. Exp. Bot.* 58, 130-139.
- Wu, L., Guo, X., Harivandi, A., 2001a. Salt tolerance and salt accumulation of landscape plants irrigated by sprinkler and drip irrigation systems. *J. Plant Nutr.* 24, 1473-1490.
- Wu, L., Guo, X., Hunter, K., Zagory, E., Waters, R., Brown, R., 2001b. Studies of salt tolerance of landscape plant species and California native grasses for recycled water irrigation. Slosson Report.

- Wu, P., Zhao, Y., 2007. Comparative research on different biological characters of *Photinia fraseri*. *Mod Gard.* 8,1-2.
- Wu, Q.S., Xi, R.X., Zou, N.Y., 2008. Improved soil structure and citrus growth after inoculation with three arbuscular mycorrhizal fungi under drought stress. *Eur. J., Soil Biol.* 44, 122-128.
- Wullschlegel, S.D., Yin, T.M., DiFazio, S.P., Tschaplinski, T.J., Gunter, L.E., Davis, M.F., Tuskan, G.A., 2005. Phenotypic variation in growth and biomass distribution for two advanced-generation pedigrees of hybrid poplar. *Can. J. For. Res.* 35, 1779-1789.
- Xu, R., Yamada, M., Fujiyama, H., 2013. Lipid peroxidation and antioxidative enzymes of two turfgrass species under salinity stress. *Pedosphere* 23(2), 213-222.
- Yang, C.M., Chang, K.W., Yin, M.H., Huang, H.M., 1998. Methods for the determination of chlorophylls and their derivatives. *Taiwania*, 43(2), 116-122.
- Yang, S., Tyree, M.T., 1992. A theoretical model of hydraulic conductivity recovery from embolism with comparison to experimental data on *Acer saccharum*. *Plant Cell Environ.* 15, 633-643.
- Yang, X., Chen, X., Ge, Q., Li, B., Tong, Y., Zhang, A., Li, Z., Kuang, T., Lu, C., 2006. Tolerance of photosynthesis to photoinhibition, high temperature and drought stress in flag leaves of wheat: a comparison between a hybridization line and its parents grown under field conditions. *Plant Sci.* 171, 389-397.
- Yang, Y., Han, C., Liu, Q., Lin, B., Wang, J.W., 2008. Effect of drought and low light on growth and enzymatic antioxidant system of *Picea asperata* seedlings. *Acta Physiol. Plant.* 30, 433-440.
- Yasar, F., Uzal, O., Kose, S., Yasar, O., Ellialtioglu, S., 2014. Enzyme activities of certain pumpkin (*Cucurbita* spp.) species under drought stress. *Fresen. Environ. Bull.* 23, 1093-1099.
- Yeo, A.R., Flowers, T.J., 1986. Salinity resistance in rice (*Oryza sativa* L.) and a pyramiding approach to breeding varieties for saline soils. In: Turner, N.C., Passioura, J.B. (Eds.), *Effect of drought on plant growth. Salts in soils.* CSIRO. Melbourne, Australia, pp. 161-173.
- Yeo, A.R., Lee, K.S., Izard, P., Boursier, P.J., Flowers, T.J., 1991. Short- and long-term effects of salinity on leaf growth in rice (*Oryza sativa* L.). *J. Exp. Bot.* 42, 881-889.
- Yin, Y., Li, S., Liao, W., Lu, Q., Wen, X., Lu, C., 2010. Photosystem II photochemistry, photoinhibition, and the xanthophylls cycle in heat-stressed rice leaves. *J. Plant Physiol.* 167, 959-966.
- Yordanov, I., Velikova, V., Tsonev, T., 2000. Plant responses to drought, acclimation, and stress tolerance. *Photosynthetica* 38, 171-186.
- Yu, M., Xie, Y., Zhang, X., 2005. Quantification of intrinsic water use efficiency along a moisture gradient in northeastern China. *J. Environ. Qual.* 34, 1311-1318.
- Zavala, M.A., 2004. Integration of drought tolerance mechanisms in Mediterranean sclerophylls, a functional interpretation of leaf gas exchange simulators. *Ecol Model* 176, 211-226.
- Zhang, J., Kirkham, M.B., 1994. Drought-stress-induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase, and peroxidase in wheat species. *Plant Cell Physiol.* 35, 785-791.

- Zhang, J., Klueva, N., Nguyen, H.T., 1996. Plant adaptation and crop improvement for arid and semiarid environments. Proceedings of the Fifth International Conference on Desert Development. Volume II. International Center for Arid and Semiarid Land Studies, Lubbock, TX, USA.
- Zhu, J.K., 2001. Plant salt tolerance. Trends Plant Sci. 6, 66-71.
- Zhu, J.K., 2002. Salt and drought stress signal transduction in plants. Ann. Rev. Plant Biol. 53, 247-273.
- Zimmermann, M.H., 1983. Xylem structure and the ascent of sap. Springer-Verlag, Berlin.
- Zlatev, Z.S., Yordanov, I.T., 2004. Effects of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in bean plants. Bulg. J. Plant Physiol. 30, 3-18.
- Zollinger, N., Koenig, R., Cerny-Koenig, T., Kjelgren, R., 2007. Relative salinity tolerance of intermountain Western United States native herbaceous perennials. HortScience 42, 529-534.
- Zuccarini, P., Farieri, E., Vásquez, R., Grau, B., Savé, R., 2014. Effects of soil water temperature on root hydraulic resistance of six species of Iberian pines. Plant Biosyst., in press.