

Università degli Studi di Napoli “Federico II”



**Dottorato di Ricerca in Biologia Applicata
XXII ciclo**

Tesi di Dottorato

***Effetto della diversità di lettiera sulla decomposizione
in macchia mediterranea***

Tutor

Ch.ma Prof.ssa Amalia Virzo

Coordinatore

Ch.mo Prof. Ezio Ricca

Candidata

Dott.ssa Angela Meola

ANNO ACCADEMICO 2008/2009

INDICE

1. INTRODUZIONE	1
1.1. Biodiversità e decomposizione	2
1.2. Il processo di decomposizione della lettiera	5
1.2.1 Organismi decompositori.....	7
1.2.2. Fattori che influenzano la decomposizione	9
1.2.3. Andamento della decomposizione	12
1.3. Attuali conoscenze sugli effetti della diversità della lettiera sul processo di decomposizione e sulla dinamica dei nutrienti	14
1.3.1 Perdita di peso di lettiere miste.....	15
1.3.2. Effetto della lettiera mista sulla disponibilità di azoto	15
1.3.3. Possibili meccanismi alla base degli effetti della lettiera mista sulla decomposizione	18
1.3.4. Ruolo degli organismi decompositori.....	23
2. OBIETTIVI DELLA RICERCA	25
3. MATERIALI E METODI	28
3.1. Descrizione del sito di studio.....	29
3.1. Disegno sperimentale.....	37
3.3. Determinazione della perdita di peso della lettiera.....	39
3.4. Determinazione del micelio fungino totale ed attivo.....	40
3.5. Determinazione del contenuto di lignina, cellulosa e ADSS.....	41
3.6. Determinazione del contenuto di C e N.....	42
3.7. Determinazione del contenuto di elementi (Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Zn)	43
3.8. Identificazione dei taxa fungini presenti nella lettiera delle quattro specie d'interesse	44
3.9. Elaborazione statistica dei dati	45
4. RISULTATI E DISCUSSIONE	47
4.1. Qualità della lettiera.....	48
4.2. Caratterizzazione dei taxa fungini presenti sulle lettiere studiate.....	50
4.3. Dinamica di decomposizione.....	54
4.3.1. Confronto tra le lettiere pure.....	54

4.3.2. Confronto tra la decomposizione delle lettieri pure e delle stesse lettieri in miscela	55
4.3.3. Confronto tra i valori osservati e i valori attesi di decomposizione delle miscele di lettiera	57
4.4. Colonizzazione fungina	61
4.4.1. Lettiere pure	61
4.4.2. Confronto tra la colonizzazione fungina delle lettieri pure e delle stesse lettieri in miscela	62
4.4.3. Confronto tra i valori osservati e i valori attesi di biomassa fungina delle miscele di lettiera	64
4.5. Cambiamento del contenuto di lignina, cellulosa e ADSS	65
4.5.1. Lettiere pure	65
4.5.2. Confronto tra il contenuto di lignina, cellulosa e ADSS delle lettieri pure e delle stesse lettieri in miscela	67
4.5.3. Confronto tra i valori osservati e i valori attesi del contenuto di lignina, cellulosa e ADSS delle miscele di lettiera	68
4.6. Dinamica dei nutrienti	69
4.6.1. Lettiere pure	69
4.6.2. Confronto tra il contenuto di nutrienti delle lettieri pure e delle stesse lettieri in miscela	72
4.6.3. Confronto tra la dinamica degli elementi osservata nelle miscele di lettiera e la dinamica attesa	78
5. CONCLUSIONI	81
6. BIBLIOGRAFIA	86

1. INTRODUZIONE

1.1. Biodiversità e decomposizione

Negli ultimi decenni si sta verificando su scala globale una rapida perdita di biodiversità a causa di un largo ed esteso impatto antropico sugli ecosistemi (Sala et al. 2000, Ellison et al. 2005, Dudgeon et al. 2006). La velocità di questi cambiamenti ha generato preoccupazione sulle conseguenze che la perdita di specie può avere su processi ecosistemici fondamentali quali la produzione primaria, il ciclo dei nutrienti e la decomposizione (Loreu et al. 2001, Srivastava and Vellend 2005). Molti studi sono stati condotti per determinare se e come la riduzione in specie in un dato ecosistema influenzi la produttività primaria, i risultati ottenuti sembrano dimostrare che la produzione primaria è spesso positivamente correlata alla diversità delle piante (Hooper et al. 2005, van Ruijven and Berendse 2005, Balvanera et al. 2006, Cardinale et al. 2006). Attualmente sono invece ancora molto scarse le conoscenze relative agli effetti della diversità sulla decomposizione (Gartner and Cardon 2004, Hattenschwiler et al. 2005), nonostante l'importanza che il processo di degradazione della lettiera riveste nel funzionamento degli ecosistemi terrestri ed acquatici (Webster and Benfield 1986, Gessner et al. 1999, Moore et al. 2004). In particolare nessuno dei pochi studi pubblicati sulle interazioni tra diversità e decomposizione è stato condotto in ambiente mediterraneo, ed in particolare in macchia mediterranea, nonostante gli elevati livelli di biodiversità che caratterizzano questo bioma.

In letteratura sono riportati molti studi sulla decomposizione di lettiera di singole specie, mentre sono ancora scarsi gli studi sulla decomposizione di lettiera miste. Nonostante il primo studio sulle lettiera miste sia stato condotto più di 60 anni fa (Gustafson 1943), attualmente si possono trovare non più di trenta studi sull'argomento (Gartner and Cardon 2004). In questi lavori è stato dimostrato che gli effetti delle miscele di lettiera sul processo di decomposizione possono essere additivi o non-additivi, e tra i non-additivi si possono osservare effetti sinergici o antagonisti. In circa il 50% dei casi viene riportato un aumento della velocità di decomposizione rispetto a quanto avviene per le lettiera pure delle specie componenti la miscela (Gartner and Cardon 2004). Il range di questa risposta sinergica varia dall'1% al 65% (con una media del 17%) di aumento della perdita di peso totale rispetto alla decomposizione delle

lettiere delle singole specie. Per il $\sim 30\%$ dei casi, non vi sono differenze significative tra la perdita di peso attesa ed osservata nelle miscele (effetti additivi), e nel restante 20% delle miscele è stata osservata una perdita di peso inferiore a quella predetta (effetto antagonista). Il decremento medio della decomposizione dovuto alla risposta antagonista è del 9%, in un range che va da 1,5% a 22% (Gartner and Cardon 2004). Dai dati disponibili si può affermare che l'interazione sinergica tra le lettiera in miscela è quella più frequente, viene osservata il doppio delle volte rispetto alla risposta antagonista. In generale l'effetto non additivo è quella più comune, mentre le risposte puramente additive sono più una eccezione che la regola.

I risultati degli studi effettuati fino ad oggi non sono sufficienti per arrivare a modellizzare la dinamica di decomposizione in funzione della diversità della lettiera. I lavori attualmente disponibili sono stati condotti in ecosistemi con caratteristiche estremamente differenti, dalle zone artiche alla foresta tropicale; ma la maggioranza dei lavori (circa il 60%) riguarda foreste temperate. Ecosistemi importanti e con una elevata diversità in specie hanno ricevuto poca o nessuna attenzione, come la foresta tropicale, per la quale esiste solo uno studio di Montagnini et al. (1993), ecosistemi erbacei per i quali esistono solo gli studi di Bardgett and Shine (1999), e Hector et al. (2000) e gli ecosistemi mediterranei, per i quali non esiste nessuno studio.

Altri problemi relativi ai dati esistenti in letteratura si riferiscono al fatto che molto spesso il processo è stato studiato per un breve periodo e, non sempre, nei differenti esperimenti, questo periodo è della stessa durata e riguarda lo stesso stadio di degradazione della sostanza organica. Oltre alla grande differenza nella durata dell'esperimento spesso sono presenti differenze anche nel protocollo sperimentale, la lettiera è esposta a condizioni di laboratorio, o a condizioni di campo attraverso l'utilizzo di litterbags o di microcosmi. Il risultato è che i dati disponibili spesso non possono essere confrontati.

In ultimo, molti esperimenti sono stati condotti utilizzando un numero limitato di specie, solo due o tre specie, solo negli ultimi anni sono state considerate miscele con un maggiore numero di specie (Lecerf et al. 2007, Jacob et al. 2009, Schindler and Gessner, 2009). Questo limita fortemente una valutazione accurata degli effetti della diversità e più in generale la descrizione delle perdite di peso delle miscele di lettiera come una funzione della diversità sulla decomposizione in generale della lettiera. I dati

disponibili indicano che l'interazione della lettiera di diverse specie è abbastanza comune e porta a dinamiche diverse che si distinguono da quelle attese dalla lettiera delle specie pure. Comunque, all'aumento della ricchezza in specie sembrano predominare risposte idiosincratiche (Wardle et al. 1997).

1.2. Il processo di decomposizione della lettiera

La decomposizione è un processo fondamentale per il funzionamento ed il mantenimento dell'integrità di tutti gli ecosistemi terrestri. Ciascun ecosistema è mantenuto dalle strette interrelazioni esistenti tra i produttori, i consumatori ed i decompositori e dal trasferimento di materia ed energia che interessa questi tre comparti (Swift et al., 1979). La decomposizione determina la mineralizzazione della sostanza organica e, restituendo i nutrienti in forma inorganica, prontamente utilizzabili dalle piante, contribuisce a mantenere la produzione primaria dell'ecosistema. Il bilancio tra produzione primaria e velocità di decomposizione regola la quantità di sostanza organica accumulata nel suolo.

La quantità di materia organica morta che giunge al suolo ed in particolare la lettiera vegetale, che ne rappresenta la frazione più abbondante, dipende dalla produttività dell'ecosistema ed è quindi influenzata dal clima, dal tipo di vegetazione e dal grado di copertura vegetale e varia nei vari stadi di una successione ecologica. In stadi successionali iniziali o intermedi l'accumulo di sostanza organica è piuttosto elevato mentre decresce con il procedere della successione, fino a quando si raggiunge un equilibrio tra la velocità con la quale il materiale giunge al suolo e la velocità di mineralizzazione. Questo equilibrio può essere alterato dalle condizioni ambientali o da azioni di disturbo, come il fuoco, che riportano la comunità vegetale verso stadi successionali intermedi.

Una parte più o meno consistente della materia organica che giunge al suolo viene decomposta piuttosto velocemente, liberando nutrienti che possono essere riutilizzati dalle piante e risorse diverse che sono immobilizzate nella biomassa microbica e animale, che sarà soggetta, a sua volta, dopo la morte di questi organismi, a degradazione; la restante parte, più resistente alla decomposizione, è trasformata in humus attraverso il processo di umificazione, parallelo a quello di mineralizzazione. L'humus è un complesso chimico di polimeri amorfi di lenta decomposizione, con un elevato contenuto di nutrienti che vengono liberati nella forma minerale attraverso un processo di lenta mineralizzazione (Figura 1.1).

La decomposizione è un processo chiave nella dinamica dei nutrienti di tutti gli

ecosistemi terrestri (Sinsabaugh & Linkins, 1988). Infatti è attraverso questo processo che i nutrienti, immobilizzati nel detrito, sono continuamente mineralizzati, rilasciati nel suolo e resi disponibili per le piante (Swift et al., 1979; Mahendrapa et al., 1986), che grazie all'input di energia solare possono nuovamente immobilizzarli nella materia organica.



Figura 1.1. Processi di trasformazione dei detriti vegetali ed animali presenti nella lettiera, ad opera dei micro-organismi del suolo (Duchaufour, 1950).

Negli ambienti mediterranei l'aridità stagionale inibisce la degradazione della lettiera e il fuoco rappresenta un importante evento naturale che restituisce al suolo i nutrienti bloccati nella lettiera e nella biomassa vegetale (Rundel & Parsons, 1980; Mitchell et al., 1986); tuttavia la decomposizione della lettiera mantiene un ruolo fondamentale nel riciclo dei nutrienti; nell'intervallo tra due incendi, infatti, sono solo questi processi ad assicurare la disponibilità di nutrienti, essenziale per la crescita delle piante nei suoli mediterranei che sono generalmente poveri di nutrienti (Schlesinger and Hasey 1981).

La decomposizione, comunemente espressa come perdita di peso della lettiera nel tempo, comprende tre processi fondamentali: la lisciviazione, la frammentazione ed il catabolismo della lettiera (Swift et al. 1979). La lisciviazione è un processo abiotico, che comporta la rimozione del materiale idrosolubile dalla lettiera ad opera dell'acqua piovana ed è responsabile della rapida perdita di peso durante le fasi iniziali della decomposizione. La frammentazione è la riduzione meccanica delle dimensioni della lettiera, operata dai detritivori, che la masticano, la digeriscono parzialmente e la

eliminano, rielaborata con le feci. Il catabolismo consiste in una serie di reazioni chimiche che ossidano i composti organici presenti nella lettiera. Queste reazioni, operate dai microrganismi, possono determinare la completa degradazione della lettiera e portare alla liberazione di composti inorganici, oppure portare alla formazione di vari composti intermedi, che vengono utilizzati per la biosintesi di tessuti microbici o entrano a far parte della materia organica del suolo.

1.2.1 Organismi decompositori

La decomposizione della sostanza organica morta è operata grazie a complesse interazioni tra i microrganismi del suolo, funghi e batteri soprattutto, e la pedofauna (Figura 1.2).

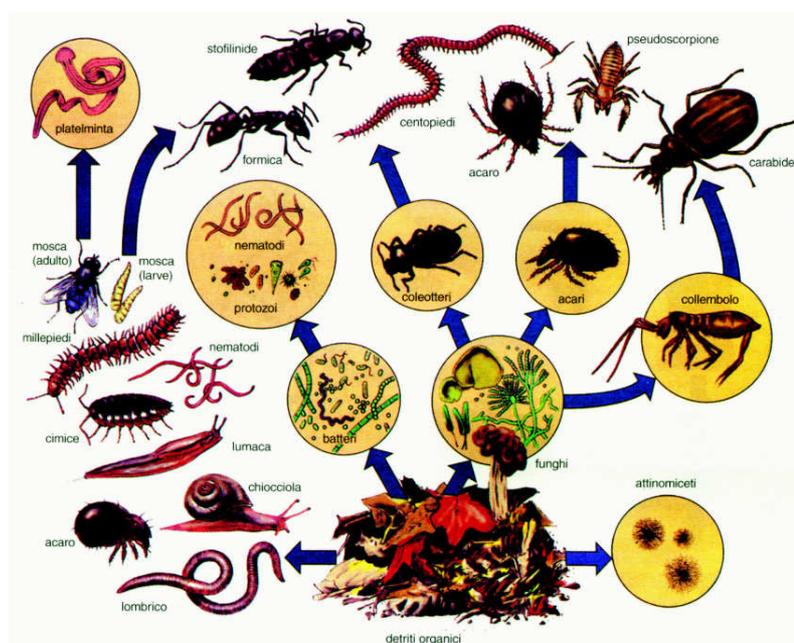


Figura 1.2. Catena alimentare semplificata degli organismi viventi nel suolo responsabile dei processi di decomposizione

La fauna del suolo frammenta la lettiera, incrementando la superficie di attacco dei microrganismi e regola la diversità e la distribuzione della comunità microbiche attraverso una azione di predazione. La macrofauna spostandosi nel terreno aumenta l'aerazione e il drenaggio di esso, causando, inoltre, una redistribuzione della materia

organica. Molti autori hanno evidenziato un effetto positivo della quantità e complessità delle popolazioni edafiche sulla decomposizione (Setälä & Huhata, 1990; Côtéaux et al., 1991; Cortez, 1998). Tuttavia, l'importanza della pedofauna varia in funzione dell'ecosistema considerato. La sua azione è risultata meno importante (Persson et al., 1980) nelle foreste di conifere.

I microrganismi sono i reali decompositori, essi rilasciano enzimi litici che demoliscono i polimeri complessi della materia organica e assorbono i costituenti semplici derivanti dal processo che utilizzano per la crescita. La comunità microbica è estremamente eterogenea dal punto di vista tassonomico e funzionale e, grazie all'interazione tra le diverse specie, si ha la completa degradazione della sostanza organica morta. Batteri e funghi possono insieme utilizzare tutti i composti organici naturali, anche se i funghi sono generalmente considerati i principali decompositori della materia organica di origine vegetale. Infatti molte specie di funghi hanno gli enzimi necessari per degradare la lignina e la cellulosa delle pareti cellulari dei vegetali, mentre solo pochi batteri hanno questa caratteristica. La degradazione dei maggiori costituenti strutturali dei tessuti vegetali, come la cellulosa, l'emicellulosa e la lignina, richiede sistemi enzimatici complessi, che operano in sinergia anche se prodotti da taxa diversi di microrganismi. Gli alti costi metabolici legati alla produzione di questi enzimi, riducono il numero di decompositori che dispongono di complessi cellulolitici o ligninolitici completi e rendono la decomposizione un processo che investe tutta la comunità (Sinsabaugh et al., 1991).

Sulla lettiera si instaura una vera e propria successione ecologica, e la diversità della microflora decompositrice decresce via via che specie meno numerose, ma più specializzate, si impiantano sui residui più resistenti. L'attacco microbico, avviene precocemente, spesso quando il materiale vegetale senescente è ancora attaccato alla pianta (Jensen, 1974; Boddy & Rayner, 1983). In ecosistemi mediterranei si è trovato che il 6% della massa fogliare caduta al suolo ha già subito processi di decomposizione (Susmel & Viola, 1975).

Grassi, zuccheri semplici e proteine vengono degradati velocemente da organismi non specializzati che si accrescono nelle fasi iniziali della decomposizione. Successivamente vengono degradate le emicellulose e le cellulose. Le emicellulose sono degradate più velocemente, soprattutto da Actinomiceti. Le risorse divengono

gradualmente meno diffusibili, e più resistenti alla degradazione. In questa fase la decomposizione può dipendere dalla velocità con cui le ife fungine sono capaci di penetrare attraverso le pareti cellulari lignificate. La lignina è particolarmente resistente all'attacco biologico, per la sua complessità strutturale e per la presenza di legami non prontamente idrolizzabili fra le unità fenilpropanoidi di cui è formata. Batteri degradatori della lignina sono stati riconosciuti solo recentemente (Florenzano, 1989), ma molti di essi danno una degradazione incompleta del composto. Quindi la lignina è degradata prevalentemente dalla popolazione fungina, ed in particolare dai funghi del *marciume molle* (Ascomiceti, funghi imperfetti), del *marciume bruno* e del *marciume bianco* (Basidiomiceti).

Nel corso della decomposizione cambia, dunque, la qualità della lettiera (Swift et al., 1979; Fioretto et al., 1995; Berg & Laskowski, 1997; Dilly et al., 1997) e di conseguenza, la comunità microbica che utilizza per la nutrizione composti disponibili nel substrato (Hasegawa & Takeda, 1995). Inoltre i decompositori sono condizionati dal clima, dalle caratteristiche e dalle condizioni del suolo. Infatti la produzione di enzimi extracellulari da parte dei microrganismi durante la decomposizione può essere influenzata dalla temperatura, dall'umidità, dal pH e dalle caratteristiche del substrato (Linkins et al., 1984; Sinsabaugh et al., 1988).

1.2.2. Fattori che influenzano la decomposizione

La decomposizione è fortemente condizionata dalla qualità delle risorse. Questo parametro può essere definito come decomponibilità del materiale organico, determinata dalla natura del substrato in decomposizione, dalle sue concentrazioni di nutrienti e dalla sua struttura fisica. La qualità della lettiera varia con l'organo, l'età e il tipo di specie considerata. Le concentrazioni variabili di macro e micronutrienti, la presenza più o meno abbondante di molecole complesse quali chitine, cellulose, emicellulose e lignine, particolarmente recalcitranti alla degradazione enzimatica (Melillo et al., 1982; Blair, 1988, Berg & Cortina, 1995; Fioretto et al., 2001) condizionano notevolmente il processo degradativo, influenzandone la velocità ma anche la dinamica del rilascio o dell'immobilizzazione dei nutrienti stessi (Gosz et al., 1973; Swift et al., 1979; Berg & Staaf, 1981; Fioretto et al., 1998; Rutigliano et al., 1998). Inoltre, da non sottovalutare sono le interazioni tra i vari costituenti (Lundkvist et

al., 1980) e i cambiamenti chimici che avvengono durante il processo di decomposizione, con la formazione di composti secondari.

Negli stadi iniziali la decomposizione è influenzata positivamente da elevate concentrazioni di macronutrienti, come N e P; negli stadi più avanzati la lignina è un importante fattore di regolazione ed in particolare elevate concentrazioni di essa inibiscono il processo degradativo. Inoltre l'azoto, presente come ammonio o aminoacidi, reagendo chimicamente con la lignina forma prodotti di condensazione recalcitranti, (Nömmik & Vahtras, 1982; Stevenson, 1982) cosicché elevate concentrazioni di azoto che favoriscono la decomposizione nelle fasi iniziali possono inibirla nelle fasi avanzate.

Il contenuto di N e P della lettiera ne può indicare la decomponibilità. Nelle sclerofille sempreverdi, che sono tipiche componenti della macchia mediterranea, il grado di sclerofillia è correlato negativamente al contenuto di N e P, e la loro degradabilità tende a diminuire con l'aumento della sclerofillia (Arianoutsou, 1993).

Anche altri nutrienti come Mn, K, Ca, presenti nella lettiera possono influenzare la velocità di decomposizione, così come la presenza di micronutrienti (Mo, Cu, Zn, Fe) essenziali per la nutrizione degli organismi decompositori. In particolare il Mn è un importante attivatore degli enzimi ligninolitici come la Mn-perossidasi (Perez & Jeffries, 1992) e la laccasi (Archibald & Roy, 1992), oltre ad avere la capacità di stabilizzarli e stimolarne la produzione da parte della comunità microbica (Perez & Jeffries, 1992).

Durante il processo degradativo della lettiera i nutrienti presenti in quantità limitanti per la crescita dei microrganismi vengono immobilizzati nella biomassa decompositori, con il conseguente aumento della loro concentrazione nella lettiera, mentre vengono rilasciati i nutrienti presenti in concentrazioni iniziali elevate ed in eccesso rispetto alla domanda dei decompositori.

Molti autori (Schlesinger & Hasey, 1981; Melillo et al., 1982; Schlesinger, 1985; Rutigliano et al., 1998) riportano un iniziale accumulo di N nella lettiera in decomposizione, dovuto al prelievo dall'ambiente esterno e alla immobilizzazione nella biomassa dei microrganismi associato ad una corrispettiva perdita di carbonio come CO₂. A questa fase di accumulo, preceduta a volte da una perdita iniziale per lisciviazione, segue solitamente una fase di rilascio per mineralizzazione (Berg & Staaf,

1981; Berg & Ekbohm, 1983; Schlesinger, 1985).

La decomposizione è fortemente influenzata oltre che da fattori biotici e dalla qualità della lettiera, anche dal clima (temperatura, precipitazioni ed umidità) e da fattori abiotici (aerazione, pH). La velocità di degradazione della lettiera è più elevata negli ambienti caldo-umidi, che in quelli temperato-freddi o boreali ed è negativamente correlata con l'altitudine (Shanks & Olson, 1961). In ambiente mediterraneo le elevate temperature estive e la siccità possono rallentare la decomposizione (Dilly & Munch, 1996; Fioretto et al., 1998). Durante le prime fasi di degradazione, la perdita di peso è influenzata dal contenuto di acqua del terreno e della lettiera, come riportato per foreste scandinave (Jansson & Berg, 1985) e per ambienti mediterranei (Virzo De Santo et al., 1993). La decomposizione risulta comunque fortemente influenzata dalle condizioni microclimatiche specifiche. Fioretto et al. (2001) riportano una veloce degradazione della lettiera di cisto, nella Riserva Naturale di Castel Volturno, anche durante il periodo estivo, nonostante le scarse precipitazioni, probabilmente per fenomeni di essiccamento diurno e reidratazione notturna, dovuti a valori elevati di umidità durante le notti estive. Ripetuti cicli essiccamento-reidratazione possono influenzare la velocità di decomposizione della lettiera, rendendo le foglie estremamente fragili e quindi favorendone la frammentazione, come hanno riportato alcuni autori per foglie di castagno (Anderson, 1973) e di quercia (Witkamp & Olson, 1963). È comunque, estremamente difficile separare gli effetti dei singoli fattori climatici, poiché variazioni nella velocità di decomposizione della lettiera sono il risultato della loro interazione.

La decomposizione è generalmente più rapida in suoli neutri piuttosto che in suoli acidi, ed è inoltre influenzata negativamente dal pH basico del suolo. Naturalmente variazioni di pH possono interferire sull'attività e sulla stabilità degli enzimi extracellulari.

La decomposizione è inoltre, rallentata da elevate concentrazioni di metalli pesanti (Freedman & Hutchinson, 1980; Bengtsson et al., 1988; Grodziński et al., 1990; Virzo De Santo et al., 2001), che sono tossiche per i microrganismi decompositori. Alcuni autori (Berg et al., 1991; Laskowski & Berg, 1993) riportano che la presenza di metalli pesanti che si accumulano nel corso della decomposizione, provoca una riduzione più forte della decomposizione nelle fasi avanzate della degradazione. Cotrufo et al. (1995) trovano un effetto dei metalli pesanti sulle prime fasi del processo

decompositivo.

1.2.3. Andamento della decomposizione

Berg e Staff (1980) hanno proposto un modello a due fasi della decomposizione basato sulla qualità della lettiera (Figura 15). Secondo questo modello la prima fase è caratterizzata da una velocità di decomposizione esponenziale, mentre la seconda da velocità estremamente basse che tendono a zero così che la decomposizione raggiunge un asintoto (Berg et al., 1991; Berg et al., 1995). A questo valore asintotico per ogni lettiera corrisponde un valore limite di peso perso che varia nelle diverse lettiere, ma spesso anche nell'ambito della stessa specie, in funzione della composizione chimica iniziale della lettiera e delle condizioni climatiche durante la decomposizione.

Questo valore limite di decomposizione è calcolato secondo la seguente equazione:

$$m.l. = m (1 - e^{-kt/m})$$

dove: m.l. è la perdita di peso in %; t è il tempo espresso in giorni; m rappresenta la massima perdita di peso raggiunta e K è la velocità di decomposizione (Berg et al., 1995).

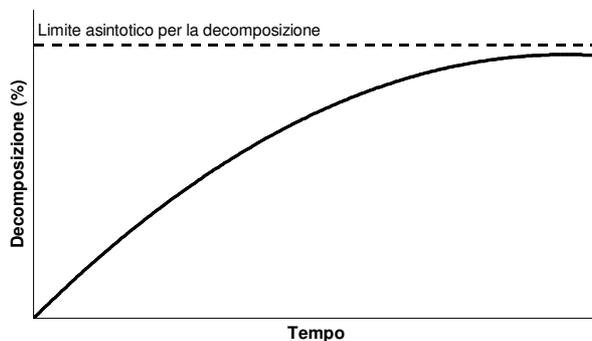


Figura 1.3. Modello asintotico per la perdita in peso durante la decomposizione. Il valore limite è indicato dalla linea spezzata (modificato da Berg et al., 1995).

Berg and Mc Clougherty (2008), riportano che la lettiera di *Pinus contorta* può raggiungere il 100% di peso perso, e in generale per le lettiere di foglie il valore limite varia tra 50 e 100. La frazione di lettiera non decomposta, rimanente al valore limite di decomposizione, rappresenta materiale altamente stabilizzato che può continuare a decomporsi ad una velocità bassissima, ma che tende per lo più ad accumularsi come

sostanza organica del suolo (Berg, 1996).

1.3. Attuali conoscenze sugli effetti della diversità della lettiera sul processo di decomposizione e sulla dinamica dei nutrienti

Le condizioni fisico-chimiche ambientali, la qualità della lettiera e la composizione della comunità dei microrganismi decompositori, rappresentano i tre fattori principali per il controllo della decomposizione della lettiera (Berg et al. 1993, Couteaux et al. 1995, Cadish & Giller 1997). Sotto condizioni ambientali controllate, i restanti due fattori, qualità della lettiera e decompositori, sono direttamente collegati alla diversità biologica. La velocità di decomposizione della lettiera varia molto tra diverse specie vegetali che si decompongono in condizioni ambientali identiche. (Cornelissen 1996, Wardle et al. 1997). Queste differenze di decomponibilità sono state attribuite alla diversità delle caratteristiche della lettiera quali spessore delle foglie, contenuto di azoto e di lignina, concentrazioni di fenoli, rapporto carbonio/azoto e lignina/azoto, e ai loro effetti sull'attività dei microrganismi e utilizzo del substrato (Berg et al. 1993, Cadish & Giller 1997, Perez-Harguindeguy et al. 2000). Sulla base della stretta correlazione tra qualità della lettiera e decomposizione, le caratteristiche delle foglie possono essere utilizzate per predire la velocità di degradazione tra specie diverse (Aber et al. 1990) e come variabile fondamentale nei modelli biogeochimici (Parton et al. 1994, Nicolardot et al. 2001). Comunque, queste correlazioni sono generalmente determinate sulla base della decomposizione di specie singole. In realtà, in ambiente naturale è raro che lettieri di una determinata specie si trovino isolate, risulta quindi importante disporre di dati di decomposizione relativi a lettieri miste per poter fare delle previsioni attendibili del processo di decomposizione a livello ecosistemico. In teoria, fare delle previsioni sul processo di decomposizione di lettieri miste partendo da dati relativi a lettieri pure è possibile solo nel caso di effetti additivi (la decomposizione di una miscela di diverse lettieri è la somma della decomposizione delle diverse porzioni delle singole specie costituenti la miscela), ma questo non è applicabile quando l'effetto dell'associazione di lettieri di diverse specie è sinergico o antagonista.

1.3.1 Perdita di peso di lettiera miste

In molti esperimenti la perdita di peso è stata misurata considerando la miscela di lettiera nel suo complesso e confrontandola con i valori predetti o attesi dalla decomposizione delle specie singole. Questo approccio può nascondere le risposte specie-specifiche delle singole lettiera componenti la miscela. Le specie potrebbero avere un comportamento opposto (inibitore o stimolante), come dimostrato in molti dei pochi lavori in cui le specie componenti le miscele sono state studiate singolarmente (Briones and Ineson 1996, Salamanca et al. 1998, Conn and Dighton 2000, Prescott et al. 2000, Wardle et al. 2003, Hattenschwiler and Gasser 2005).

Prescott et al. (2000) studiando cinque miscele costituite ognuna da due diverse specie di lettiera, riporta che l'influenza delle singole specie componenti la miscela sulla perdita di peso sono particolarmente rilevante durante le fasi iniziali di decomposizione (circa 1 anno), ma possono ridursi, fino a scomparire, negli stadi più avanzati (dopo 2 anni).

Hattenschwiler & Gasser (2005), in uno studio condotto in foreste temperate hanno osservato che la decomposizione di lettiera recalcitranti, *Fagus sylvatica*, *Quercus petraea* e *Acer campestre*, in miscela aumentava all'aumentare del gradiente di diversità di specie. Al contrario, non si osservavano effetti della diversità sulla decomposizione quando le miscele erano costituite da lettiera più facilmente degradabili, *Carpinus betulus*, *Prunus avium* e *Tilia platyphyllos*.

L'insieme di lettiera di diverse specie o la presenza di una determinata specie nella miscela, influenza la velocità di decomposizione con il risultato che varia la composizione dei diversi strati di lettiera e la dinamica dei nutrienti. Cambiamenti nella composizione dello strato di lettiera possono alterare il microhabitat e la disponibilità di risorse per i decompositori, con un feedback sulla dinamica di decomposizione.

1.3.2. Effetto della lettiera mista sulla disponibilità di azoto

La diversità può influenzare la mineralizzazione o l'immobilizzazione dell'azoto della lettiera in decomposizione. Gartner and Cardon (2004) conclusero che la maggior parte delle miscele studiate (76%), non mostravano effetti additivi della dinamica dei

nutrienti, la mineralizzazione dell'N in alcune miscele studiate si riduceva del 100% o aumentava del 25% se confrontato con i valori predetti dalle lettiera pure. In molti esperimenti in cui viene riportato il cambiamento nella dinamica dell'azoto causata dalle miscele di lettiera di diverse specie, il cambiamento non è correlato alle variazioni della perdita di peso. Briones and Ineson (1996), che studiarono le specie separatamente, osservarono un incremento del rilascio di azoto e della perdita di peso in *Eucalyptus globulus* quando in miscela con *Betula pendula*. Comunque, la perdita di peso di *B. pendula* non cambiava, mentre il rilascio di N diminuiva, neutralizzando l'ingente perdita di azoto della lettiera di *E. globulus*. Altri due lavori riportano un aumento significativo del rilascio di N dalle miscele non accompagnato da un corrispondente cambiamento nel rilascio di CO₂ (McTiernan et al. 1997, per la miscela di *Picea abies/Alnus glutinosa*) o della perdita di peso (Blair et al. 1990).

Un maggiore rilascio di azoto da lettiera miste rispetto alle lettiera singole determina una maggiore disponibilità di questo nutriente (Finzi and Canham 1998), con conseguente aumento della crescita delle piante e alterazione della competizione tra le specie. D'altra parte, la riduzione della perdita di azoto dalle miscele determina una ridotta disponibilità di azoto per le piante come conseguenza dell'aumento dell'immobilizzazione o della riduzione della mineralizzazione. Questa situazione non implica necessariamente conseguenze negative per le proprietà dell'ecosistema. Ad esempio, la riduzione del rilascio di azoto può aiutare a prevenire la perdita di N per lisciviazione.

La miscela di lettiera può semplicemente alterare il tempo del rilascio, rimandandolo ad una fase successiva. Questo, però, è difficile da dimostrare a causa della durata troppo breve di quasi tutti gli esperimenti condotti, i quali hanno riguardato solo brevi periodi di osservazione in un processo relativamente lungo quale è quello della decomposizione della lettiera. Un differimento del rilascio di N nel tempo può rispondere meglio alle esigenze delle piante o favorire alcune specie a discapito di altre.

Così come l'effetto della diversità sulla perdita di peso anche, l'effetto della diversità sul rilascio dell'azoto non è additivo, ma idiosincratico. I dati disponibili attualmente suggeriscono che la correlazione tra gli effetti della diversità sulla perdita di peso e il rilascio di azoto sia piccola o nulla. Effetti relativi a nutrienti diversi dall'azoto sono stati osservati (Staaf 1980, Briones and Ineson 1996), ma gli studi sono troppo

pochi per arrivare a delle conclusioni inequivocabili.

Il movimento di azoto tra micrositi si pensa possa essere un importante fattore di controllo del ciclo dell'azoto a livello ecosistemico. In particolare, il trasferimento di N tra le foglie in decomposizione può spiegare perché a volte la decomposizione di lettiere miste risulti essere diversa da quelle delle stesse lettiere che si decompongono isolatamente. Schimel e collaboratori (2007) hanno raccolto la lettiera di sei specie arboree della Guiana Francese, tre con un'alta e tre con una bassa concentrazione di N; poi hanno marcato con ^{15}N la comunità dei microrganismi che cresce su ogni specie considerata in modo da poter seguire il movimento di azoto in due microcosmi sperimentali. Un movimento di azoto fu registrato dalla lettiera più ricca alle altre, relativamente ricche o povere, in ugual misura. Cioè, la quantità di ^{15}N trasferita da una foglia ricca di azoto è uguale sia nel caso in cui venga trasferita ad una foglia relativamente ricca che nel caso in cui venga trasferita ad una più povera. La grandezza del gradiente tra i micrositi può controllare la velocità alla quale l'N diventa utilizzabile, ma non come e quanto N diventi disponibile (Figura 1.4).

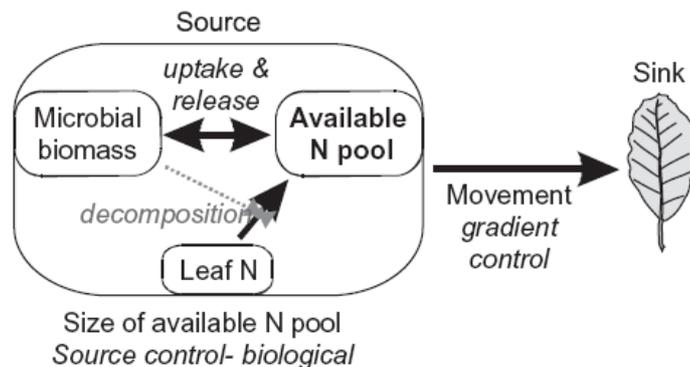


Figura 1.4 Modello concettuale dei fattori che regolano il movimento di N attraverso differenti tipologie di lettiera. La quantità di N resa disponibile è sotto il controllo biologico dei microrganismi colonizzatori della lettiera 'source', la velocità con cui l'azoto diffonde verso la lettiera 'sink' è controllata dalla grandezza del gradiente ("gradient control") della concentrazione di N source e sink, e da fattori fisici che regolano la diffusibilità.

Se il trasferimento di azoto tra diverse lettiere costituenti una miscela è importante per l'effetto sinergico sulla decomposizione, probabilmente questo trasferimento non è guidato dal gradiente di N, come spesso ipotizzato, ma dalle caratteristiche della fonte oppure, se presenti i funghi, dal trasporto attivo attraverso le ife fungine.

1.3.3. Possibili meccanismi alla base degli effetti della lettiera mista sulla decomposizione

Pochi sono gli studi che hanno cercato di identificare i meccanismi alla base delle variazioni osservate della perdita di peso e del rilascio di nutrienti in miscele di lettiera. I dati disponibili forniscono alcune indicazioni sui potenziali meccanismi coinvolti e possono aiutare a indirizzare le ricerche future. Con qualche eccezione, questi processi possono essere riuniti in quattro tipi di meccanismi : (a) trasferimento di nutrienti tra le diverse lettiere in grado di portare ad un effetto sinergico, (b) influenza stimolante o inibente di alcuni specifici composti della lettiera, (c) effetto sinergico risultante dal cambiamento delle condizioni microclimatiche e diversità di habitat conseguenti al cambiamento della struttura degli strati di lettiera, e (d) effetto sinergico o antagonista che risulta dalle interazioni tra i diversi livelli trofici.

Trasferimento di nutrienti

Le differenze nelle proprietà chimico fisiche delle diverse lettiere e la loro interazione rappresentano il più ovvio punto di partenza per testare le ipotesi effettuate fino a questo momento. Considerazioni teoretiche ed evidenze sperimentali suggeriscono che una lettiera ricca in nutrienti con un basso rapporto C/N, e quindi, un alto tasso di decomposizione, possa aumentare la decomposizione di lettiere povere in nutrienti (Seastedt 1984, Chapman et al. 1988, Wardle et al. 1997).

Alla base di alcune interazioni sinergiche vi è lo sfruttamento preferenziale della lettiera di alta qualità da parte dei decompositori che può portare ad un'alta disponibilità di nutrienti che vengono trasferiti alla lettiera di più bassa qualità. Il trasferimento di nutrienti porta ad una decomposizione più rapida della lettiera di bassa qualità e, di conseguenza, dell'intera miscela. Molti studi hanno supportato questa ipotesi al fine di spiegare in che modo l'unione di una lettiera facilmente degradabile aumentasse la decomposizione di lettiere di aghi di pino, povere in nutrienti. Il trasferimento di N da lettiere ricche a lettiere povere, nonché l'incremento dell'attività microbica accompagnata dall'incremento della velocità di decomposizione nelle lettiere che si degradano più lentamente, è stato osservato da Salamanca et al. (1998) e Briones and

Ineson (1996). I risultati del secondo studio suggeriscono, inoltre, un netto trasferimento di altri nutrienti come potassio (K), calcio (Ca), e magnesio (Mg) tra le diverse lettiere. Il trasferimento di nutrienti attraverso le ife fungine o la lisciviazione riduce la limitazione, dovuta alla scarsità di nutrienti, alla decomposizione di lettiere di scarsa qualità, e perciò, intuitivamente è un meccanismo convincente per spiegare l'effetto sinergico tra le lettiere. Comunque, anche se l'ipotetico trasferimento di nutrienti da una lettiera all'altra avvenisse, non è scontato che porti ad un cambiamento della dinamica di decomposizione (Staaf 1980). La lettiera di *Cornus florida*, ricca in nutrienti e velocemente degradabile, non aumenta la velocità di decomposizione della lettiera di aghi di *Pinus taeda* dopo un anno di incubazione in campo (Thomas 1968). Anche le miscele di lettiere di *Pinus ponderosa* e *Quercus gambelii*, non presentano un effetto sinergico pur presentando una diversa qualità di lettiera (Klemmedson 1992). In un esperimento recente, Hoorens et al. (2003) attraverso l'utilizzo di più miscele costituite da due lettiere, hanno trovato numerosi casi di effetti non additivi delle miscele di lettiera sulla decomposizione. Sono state determinate le concentrazioni di C, N, fosforo (P), e fenoli nelle diverse lettiere e correlate ai valori di decomposizione osservati ed attesi, nessuna correlazione positiva è stata trovata. Questi dati suggeriscono che le interazioni di lettiere diverse avvengono sia che queste siano chimicamente simili o diverse (Hoorens et al. 2003), e che quindi il trasferimento di nutrienti da lettiere più ricche a quelle più povere non sia alla base dell'effetto sinergico osservato in alcuni casi per le miscele di lettiera. Comunque, in questo lavoro non è stata seguita la dinamica dei nutrienti durante la dinamica di decomposizione, quindi non sono note eventuali interazioni a lungo termine. Il trasferimento di nutrienti tra le lettiere sembra essere coinvolto occasionalmente come meccanismo alla base degli effetti sinergici nelle miscele di lettiera, ma i dati disponibili sono pochi e contraddittori.

Effetto di composti specie-specifici

Oltre che per la concentrazione in nutrienti, le lettiere di specie diverse possono differire per la composizione in altri composti, i quali possono inibire o stimolare la decomposizione. L'inibizione della crescita o dell'attività dei microrganismi da parte di alcuni composti specie-specifici può diminuire, compensare, o rovesciare gli effetti di

altri fattori che operano simultaneamente quali ad esempio gli effetti stimolanti del trasferimento di nutrienti da una lettiera all'altra nella miscela (Hattenschwiler et al. 2005). I polifenoli sono considerati comunemente come un gruppo di metaboliti secondari prodotti dalle piante che possono inibire la decomposizione. La definizione di polifenoli come inibitori è semplicistica, esiste una grande varietà di composti fenolici con funzioni differenti negli strati di lettiera e nel suolo (Hattenschwiler and Vitousek 2000). Persino variazioni intraspecifiche della concentrazioni di polifenoli nella lettiera possono fortemente influenzare i processi del suolo ed il funzionamento dell'ecosistema (Schweitzer et al. 2004). Il ruolo regolatore dei polifenoli risulta fondamentale per una migliore comprensione del processo di decomposizione in generale e degli effetti sulla lettiera mista in particolare. Gli studi di Schimel e collaboratori nella taiga dell'Alaska (Schimel et al. 1998) forniscono alcune delle più esaustive analisi degli effetti di differenti polifenoli sui processi del suolo. La successione secondaria in queste foreste comincia con le comunità di *Salix/Alnus* e continua con *Alnus/Populus*, *Populus*, ed infine con la comunità dominata da *Picea alba*. *Populus balsamifera* sembra giocare un ruolo chiave durante la successione, esso produce polifenoli in grado di interferire con alcuni processi che si verificano nel suolo (Figura 1.5).

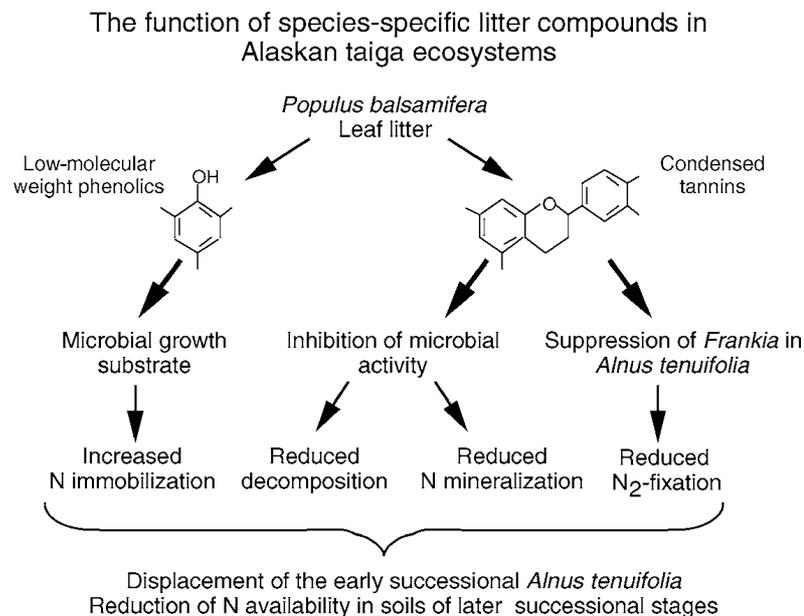


Figure 1.5 Schema dell'effetto di differenti composti fenolici prodotti dalla lettiera di *Populus balsamifera* su alcuni processi del suolo, sul ciclo dell'azoto e sulla dinamica successionale nella taiga dell'Alasca. (e.g., Schimel et al. 1998).

La lettiera di foglie di *P. balsamifera* rilascia acidi fenolici che costituiscono il substrato di crescita dei microrganismi; questo porta ad un incremento della immobilizzazione di N da parte dei microrganismi. Allo stesso tempo, *P. balsamifera* rilascia specifici tannini condensati in grado di inibire l'attività dei microrganismi con conseguente riduzione della decomposizione e della mineralizzazione di N. Ancora più importante risulta essere il fatto che questi tannini prodotti da *P. balsamifera* inibiscono la simbiosi tra *Alnus* e *Frankia* con conseguente riduzione della fissazione di N₂ durante le prime fasi successionali di *Alnus*. I tannini condensati di *Alnus* non hanno influenza negativa sulla fissazione di azoto. In conclusione i diversi effetti dei composti fenolici di *Populus* possono modificare la dinamica di successione e cambiare la disponibilità di azoto in questo ecosistema.

Bonanomi e collaboratori (2006) hanno condotto un esperimento in cui è stata analizzata la fitotossicità di foglie e radici in decomposizione di 25 diverse piante tipiche dell'ambiente Mediterraneo (erbacee, azoto-fissatrici, arbusti, alberi). La fitotossicità di estratti acquosi del materiale organico a diversi stadi di decomposizione in condizioni aerobiche ed anaerobiche è stato saggiato sulla crescita delle radici di *Lepidium sativum* L., che è riconosciuto essere sensibile ai composti fitotossici (Zucconi et al. 1982, Gehring et al. 2003). I risultati hanno messo in evidenza che l'88% delle specie testate presentano un significativo rilascio di sostanze allelopatiche durante la decomposizione. Anche se l'effetto dei polifenoli e composti allelopatici presenti nella lettiera di molte specie vegetali non è stato studiato direttamente in relazione agli effetti della diversità della lettiera, si può supporre che essi possono interferire con il processo di decomposizione delle lettiere miste.

Miglioramento delle condizioni microclimatiche

Uno strato di lettiera con un elevato grado di diversità si può ipotizzare essere strutturalmente più complesso di uno strato di lettiera costituito da una sola specie vegetale. La diversa grandezza, forma, struttura e colore delle foglie costituenti la lettiera possono concorrere a modificare la struttura, la capacità idrica e il bilancio di energia degli strati di lettiera costituiti da più specie vegetali. Le differenze con una lettiera monospecifica per queste caratteristiche sono responsabili di cambiamenti delle

condizioni microclimatiche e della struttura del microhabitat della micro e macro fauna del suolo e, quindi, indirettamente, influiscono sulla decomposizione.

Wardle e collaboratori (2003) hanno studiato l'effetto della diversità di lettiera sulla decomposizione in foreste boreali. Uno dei risultati più interessanti di questo lavoro è stato l'aumento della perdita di peso e della mineralizzazione di N conseguenti all'associazione della lettiera in decomposizione con alcuni muschi (*Pleurozium schreberi* e *Hylocomium splendens*). Generalmente i muschi si decompongono lentamente, ma la loro elevata capacità di trattenere l'acqua sembra aumentare la velocità di decomposizione delle lettiere associate di altre specie.

In un esperimento di campo, Hansen and Coleman (1998) hanno seguito la decomposizione di lettiere miste di tre specie decidue. Nelle lettiere in miscela, rispetto alle lettiere pure, hanno osservato una maggiore diversità di microhabitat ed una più elevata ricchezza in specie della pedofauna in genere, ma nessuna differenza degli acari. Un risultato simile è stato ottenuto da Kaneko and Salamanca (1999), che riportavano una più elevata ricchezza in specie di acari ed una maggiore abbondanza di microartropodi nelle miscele di lettiere rispetto alle lettiere di singole specie. Mentre negli esperimenti di Kaneko e Salamanca (1999) la maggiore ricchezza e abbondanza in specie della fauna dei decompositori era correlata ad un aumento della velocità di decomposizione, la stessa cosa non era osservata da Hansen e Coleman (1998) in lettiere caratterizzate dalla presenza di una fauna molto diversificata, ma con valori di abbondanza bassi; questo suggerisce che l'abbondanza ha una importanza maggiore della ricchezza in specie sulla velocità di decomposizione.

Gli effetti della fauna sulla decomposizione sono generalmente indiretti. Blair et al. (1990) hanno osservato una riduzione della biomassa fungina e una minore immobilizzazione di N nella lettiera di tre specie in miscela rispetto alle lettiere pure (Figura 1.6). La riduzione delle ife fungine era dovuta all'aumento della presenza di nematodi, favoriti dalla diversità e da un microclima più adatto generato dalle miscele di lettiera.

L'influenza della macrofauna sulla decomposizione della lettiera è determinata dalla diversità in specie della lettiera (Hattenschwiler e Gasser 2005). La lettiera di *Quercus petraea* si decompone più velocemente all'aumentare della diversità della lettiera in presenza dei millepiedi *Glomeris marginata*/*G. conspersa*. Comunque,

quando *Glomeris* è assente, il numero di specie nella miscela di lettiera non influenza più la decomposizione di *Q. petraea*. La presenza del lombrico *Aporrectodea longa* non ha effetto sulla decomposizione di *Q. petraea*, mentre riduce la perdita di peso della specie rapidamente decomponibile *Prunus avium* all'aumentare del numero di specie di lettiera (Figura 1.7). Invece una correlazione positiva è stata trovata tra la decomposizione di *P. avium* e la diversità della lettiera in assenza di lombrichi.

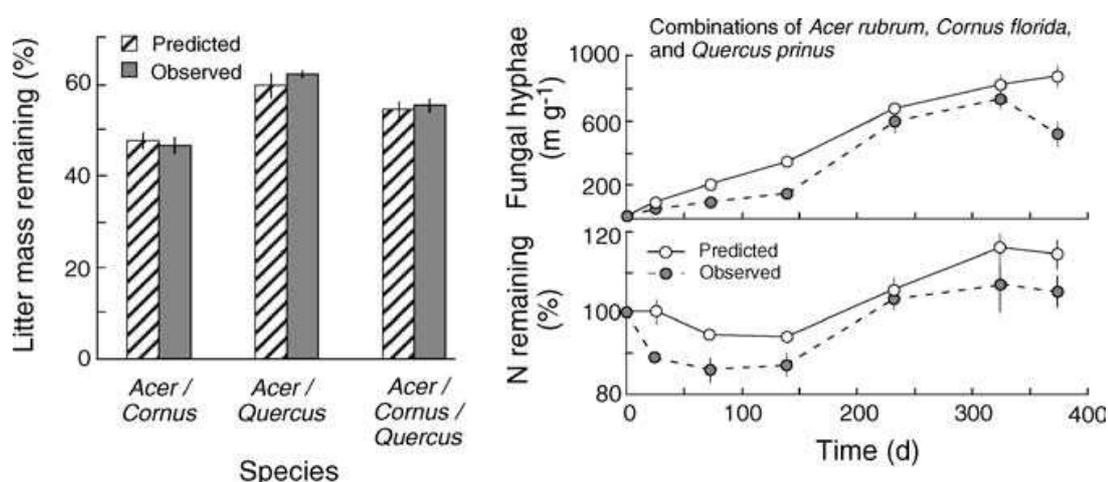


Figure 1.6 Confronto tra valori calcolati e attesi della perdita di peso (*sinistra*), azoto (*destra in basso*), e lunghezza delle ife fungine (*destra in alto*) nella miscela di lettiera dopo 378 giorni d'incubazione (Blair et al. 1990).

Questi esperimenti mostrano che l'interazione tra composizione e ricchezza in specie di lettiera e fauna del suolo può essere un fattore importante per comprendere come la diversità di lettiera influenzi il processo di decomposizione.

1.3.4. Ruolo degli organismi decompositori

Il flusso di carbonio e di energia è principalmente guidato dall'attività microbica. La diversità dei microrganismi del suolo è estremamente alta e le specie identificate sono relativamente poche (Prosser 2002). Il numero di batteri in un grammo di suolo è dell'ordine di centinaia di migliaia ed il numero totale di specie è stimato circa 2-3 milioni (Torsvik et al. 1994, Dejonghe et al. 2001). La diversità di specie fungine presenti nel suolo è probabilmente solo poco più bassa rispetto a quella dei batteri (Bridge and Spooner 2001, Hawksworth 2001).

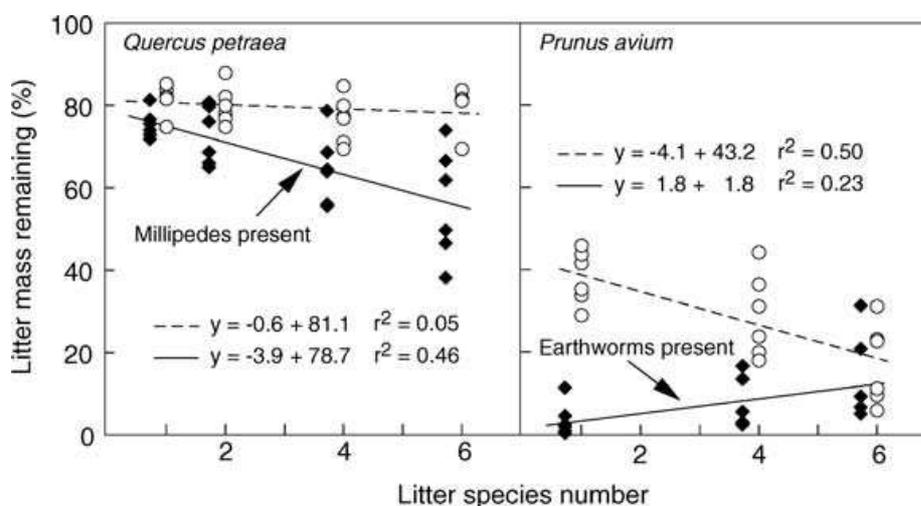


Figura 1.7 Peso perso rimanente (percentuale dell'iniziale) di specie più lentamente decomponibili (*Quercus petraea*) (sinistra) e più velocemente decomponibili (*Prunus avium*) (destra) in funzione del numero di lettiera di diverse specie dopo 204 giorni di incubazione in campo in presenza ed in assenza di millipedi. Simboli pieni: assenza di millipedi e/o di lombrichi. Simboli vuoti: presenza di millipedi e/o di lombrichi. (da Hattenschwiler & Gasser 2005).

La decomposizione della lettiera è guidata principalmente dall'attività dei funghi. Setälä e McLean (2004) mostrano un chiaro effetto positivo della diversità fungina sul processo di decomposizione per livelli bassi di diversità e nessun effetto oltre la diversità di 5-10 taxa fungini. In altri esperimenti è stato dimostrato che la decomposizione della sostanza organica, ed in particolar modo della cellulosa, aumenta notevolmente all'aumentare della diversità fungina (A.V. Tiunov and S. Scheu 2005a).

Cox et al. (2001) hanno osservato una decomposizione più veloce della lettiera di pino in presenza di una singola specie fungina rispetto al caso in cui la stessa lettiera fosse colonizzata da una comunità fungina più ricca di specie. Anche in altri esperimenti è stato riportato che l'aumento del numero di specie fungine presenti non determinava un aumento della decomposizione della lettiera (Janzen et al. 1995, Hedlund and Sjogren Ohrn 2000). Quindi in alcuni casi l'interazione di diverse specie fungine porta ad un effetto sinergico che aumenta la velocità di decomposizione, in altri casi la competizione tra diverse specie fungine porta ad una riduzione del tasso di decomposizione.

2. OBIETTIVI DELLA RICERCA

La grande maggioranza degli studi sulla decomposizione della lettiera negli ecosistemi terrestri sono stati effettuati su lettiera di singole specie nonostante il fatto che la lettiera non sia mai composta da una sola specie, nemmeno in ecosistemi nei quali la comunità vegetale è dominata da una specie che pur concorrendo con una quota prevalente alla composizione della lettiera che arriva al suolo, non ne è l'unica costituente. Le ricerche sulla decomposizione di singole specie sono state fondamentali per la conoscenza della dinamica del processo e dei fattori biotici e abiotici che lo regolano.

Lo studio della decomposizione di lettiera miste mima la situazione naturale e può mettere in luce interazioni tra le lettiera che possono influenzare la risposta ai fattori di regolazione e l'andamento e la velocità del processo a livello ecosistemico. Esiste perciò un grande interesse sull'argomento (Blair et al. 1990, McTiernan et al. 1997, Wardle et al. 1997, Gartner and Cardon 2004, Hattenschwiler et al. 2005, Jacob et al. 2009, Schindler and Gessner 2009). I dati al momento disponibili per lettiera miste indicano che in molti casi i valori misurati degli indicatori della decomposizione deviano dai valori attesi sulla base dell'andamento del processo nelle lettiera pure costituenti la miscela, e che frequentemente si osservano effetti non additivi e la risposta è idiosincratca (Gartner and Cardon 2004, Brandtberg and Lundkvist 2004, Gnakambary et al. 2008, Harguindeguy et al. 2008). Tuttavia i risultati degli studi finora effettuati sono molto variabili e non consentono di arrivare ad un modello degli effetti della diversità della lettiera sulla velocità di decomposizione e sulla dinamica dei nutrienti; inoltre non è ben chiaro quanto il livello di diversità possa incidere sul processo e se, come alcuni studi suggeriscono, la diversità dei tratti funzionali delle lettiera componenti le miscele sia addirittura più importante del numero di specie costituenti la miscela (Jacob et al. 2009, Schindler and Gessner 2009).

Un altro aspetto importante si riferisce al fatto che, sebbene siano state fatte ricerche sulle relazioni tra diversità della lettiera e decomposizione in parecchi tipi di ecosistemi (Gartner and Cardon 2004, Hattenschwiler et al. 2005) questi non comprendono gli ecosistemi a macchia mediterranea.

La macchia mediterranea è caratterizzata da una copertura vegetale ad elevata diversità costituita prevalentemente da arbusti sclerofilli che crescono in stretta associazione su suoli poveri di nutrienti nei quali la decomposizione e la conseguente

restituzione dei nutrienti minerali regolano la produzione primaria. Il disturbo creato dal fuoco concorre inoltre ad aumentare la eterogeneità tra siti determinando un complesso mosaico della copertura vegetale con abbondanza variabile delle singole specie di arbusti all'interno della macchia e con la presenza di chiarie nelle quali compaiono specie dei primi stadi della successione con caratteristiche funzionali molto diverse da quelle delle sclerofille come è il caso dei cisti. Alla eterogeneità della copertura vegetale fa riscontro la presenza sul suolo di un complesso mosaico di lettiera miste con diverse proporzioni delle specie componenti. L'insieme di queste caratteristiche rendono la macchia mediterranea un sistema modello molto interessante in cui studiare le relazioni tra diversità della lettiera e processo di decomposizione.

Lo scopo di questo lavoro è quello di studiare, nella macchia bassa della Riserva Naturale di Castel Volturno, la decomposizione e la dinamica dei nutrienti in due tipi di miscele, costituite da tre specie, che rispecchiano rispettivamente la composizione della lettiera all'interno della macchia bassa e ai margini della chiaraia. I due tipi di miscela sono costituiti rispettivamente da lettiera di foglie di *Quercus ilex* L., *Pistacia lentiscus* L., *Phillyrea angustifolia* L. e da lettiera di foglie di *Cistus* sp., *Pistacia lentiscus* L., *Phillyrea angustifolia* L.. In dettaglio, in entrambi i tipi di miscela, le lettiera componenti sono state associate in proporzioni diverse per rispecchiare la composizione della lettiera nelle diverse tessere del mosaico della macchia; inoltre i due tipi di miscela, a parità di numero di specie, permettono di valutare gli eventuali effetti della eterogeneità delle caratteristiche fogliari della lettiera, essendo il primo tipo di miscela (leccio, lentisco e fillirea) costituito da 3 sclerofille ed il secondo tipo di miscela (lentisco, fillirea e cisto) da due sclerofille e da una mesofilla.

La ricerca mira a definire le possibili interazioni ed il ruolo di ciascuna lettiera nella miscela nonché gli effetti complessivi sulla decomposizione della miscela. Elementi di novità sono rappresentati 1) dal contributo che i risultati possono portare ad una migliore modellizzazione dei flussi di carbonio in un ecosistema ad elevata diversità per il quale non erano stati mai indagati gli effetti delle miscele di lettiera sulla decomposizione; 2) dallo studio della dinamica dei nutrienti durante la decomposizione di lettiera miste, in generale trascurato dalla maggior parte dei lavori fino ad oggi pubblicati.

3. MATERIALI E METODI

3.1. Descrizione del sito di studio

La Riserva Naturale di Castel Volturno (CE), situata lungo il litorale Domitio è stata istituita nel 1977 ai sensi del D.M. 13/7/77, con delibera della Giunta Regionale n.1381 del 15/09/2006 del 15 settembre 2006 è stata ampliata con una “zona umida”, precedentemente sottratte al controllo criminale dal Nucleo Operativo Ecologico dell’Arma dei Carabinieri nel 2005.

Questi ecosistemi sono fortemente minacciati dall’attività antropica e sono attualmente riconosciuti tra gli habitat prioritari nelle direttive comunitarie (direttiva EC92/43/EC). Il litorale Domitio è caratterizzato da un notevole degrado ambientale, tanto che è stata inserita “come aree ad alto rischio ambientale” dal Ministero dell’Ambiente.

La Riserva di Castel Volturno è una delle poche aree a vegetazione mediterranea relativamente intatte del litorale campano. Il clima dell'area di studio è tipicamente mediterraneo, caratterizzato da precipitazioni concentrate principalmente in autunno e inverno e da siccità in estate. La vegetazione della riserva è costituita secondo la carta vegetazionale redatta da Buonanno e collaboratori (1993) da due formazioni distinte: una fascia a macchia mediterranea prospiciente il mare ed una pineta di impianto antropico più interna. La porzione a macchia mediterranea della riserva è caratterizzata da piccole formazioni di *Quercus ilex* L. e da più vaste zone a macchia bassa ed alta (Esposito et al., 1999). La macchia bassa è costituita da una densa copertura ad arbusti (*Phillyrea angustifolia* L., *Phillyrea latifolia* L., *Pistacia lentiscus* L., *Smilax aspera* L., *Myrthus communis* L., *Arbutus unedo* L., *Quercus ilex* L., *Rhamnus alaternus* L., *Asparagus acutifolius* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Cistus incanus* L. e *Cistus salvifolius* L.) interrotta da piccole chiarie a dominanza di erbacee. La variabilità annuale della produttività e dell’abbondanza relativa delle specie erbacee che caratterizzano le aree di chiara è riportata in uno studio di De Marco et al (2008).

Nell’aria di studio sono state condotte una serie di ricerche sulla decomposizione della lettiera di specie singole di molte delle specie più abbondanti nella macchia quali cisto, mirto, lentisco e leccio (Fioretto et al. 2001, 2003) fillirea (De Marco et al. 2004). Rutigliano et al. (2004) riportano che nella macchia bassa di Castel Volturno la

concentrazione dell'azoto nel terreno varia sotto la chioma delle diverse specie da 0,5 a 1,9 mg g⁻¹ e la CEC da 7,9 a 19,9. Variazioni altrettanto ampie sono state osservate per il contenuto in azoto nelle foglie verdi di specie diverse dello stesso ambiente (De Marco et al., 2004). In *Cistus incanus*, *Myrtus communis* e *Phillyrea angustifolia*, prima dell'abscissione l'azoto e i nutrienti vengono traslocati ma con diversa efficienza (Fioretto et al., 2003).

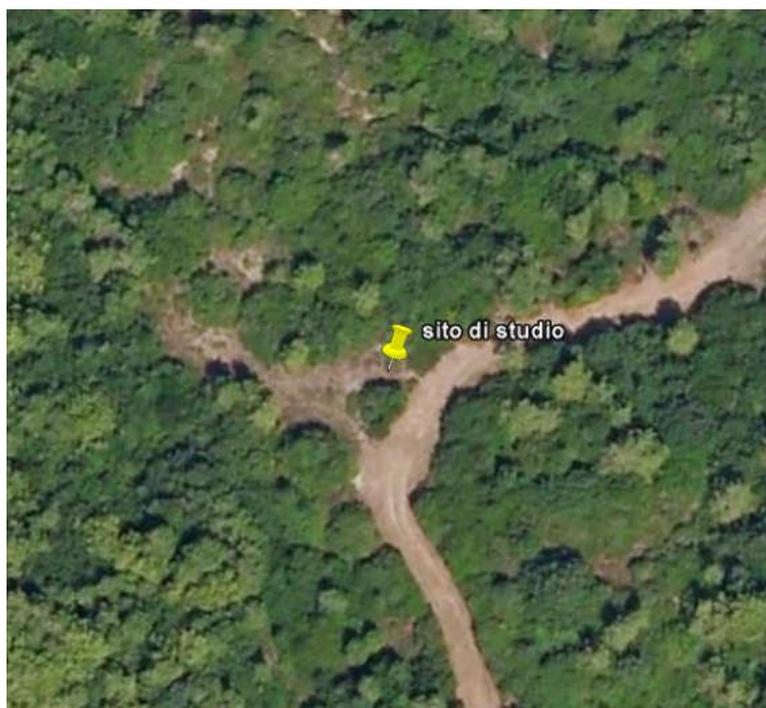


Figura 3.1. Panoramica del sito di studio

Il suolo è di tipo *Calcaric Arenosol* in accordo con il sistema di classificazione del suolo FAO (1998), con profilo scarsamente differenziato ed una tessitura sabbiosa grossolana (De Marco et al. 2005).

➤ **Le specie studiate**

Cistus incanus L.

Cistus incanus L. è un arbusto semideciduo, appartenente alla famiglia delle “*Cistacee*”. Nel bacino del Mediterraneo il cisto compare nel tardo Pliocene, possiamo

quindi considerarla una specie autoctona (Correia & Catarino, 1994). Il termine cisto deriva dal greco “Kistho” (scatoletta), per descrivere la forma del frutto maturo: una capsula che aprendosi di scatto fa uscire i semi (Paola et al., 2002). Le foglie di tutte le specie di cisto sono coperte da ghiandole che secernono olio ed una resina composta da terpeni (Demetzos 1990).

A questa famiglia appartengono circa 16 specie (Demetzos 1990). Nel bacino del mediterraneo crescono solo poche di queste specie tra cui *Cistus incanus* L., *Cistus salvifolius* L. e *Cistus monspeliensis* L.

Il *Cistus incanus* L. è una delle specie più largamente rappresentate nella macchia mediterranea (Gratani and Bombelli, 1999), Fig. 13.

Questa specie si è adattata all'ambiente mediterraneo attraverso un dimorfismo fogliare, che si può riassumere nella presenza di foglie estive sviluppate su rami con internodi raccorciati (brachiblasti) e foglie invernali sviluppate su rami con internodi lunghi (longiblasti). Nelle foglie estive i caratteri xeromorfici sono molto esaltati, mentre in quelle invernali risultano meno evidenti (Aronne and De Micco, 2001).



Figura 3.3. Esempio di *C. incanus*

E' stato dimostrato che il dimorfismo stagionale della foglie di *C. incanus* produce foglie estive piccole a partire da maggio che persistono per l'estate secca e cadono in autunno con una vita media di circa 4 mesi; le foglie invernali più grandi, sono prodotte da settembre, persistono per tutto l'inverno e cadono in primavera con vita media di circa 8 mesi (Gratani and Bombelli 1999).

La caduta delle foglie può essere dovuta sia ad una perdita dello xeromorfismo della struttura sia allo stress idrico. Altri fattori in grado di indurre la caduta delle foglie sono l'inefficienza del trasporto idrico e l'abscissione per evitare la fotoinibizione (Chiarello et al. 1987, Werner et al. 1999).

Il confronto tra una sezione di foglia invernale ed una estiva di *C. incanus* mostra cospicue differenze anatomiche: le foglie invernali sono piatte con cellule dell'epidermide superiore più grandi e parenchima a palizzata è più denso; le foglie estive presentano una lamina increspata con molte cripte e tricomi, cellule del mesofillo più piccole, spazi intercellulari ridotti e una struttura più compatta (Aronne and De Micco 2001).

Quercus ilex L.

Quercus ilex L. è una sclerofilla sempreverde appartenente alla famiglia delle "Fagaceae". È un specie autoctona che si ritrova in tutto il bacino del Mediterraneo, dove proprio in virtù della sua grande diffusione ne caratterizza il paesaggio (Blondel & Aronson, 1999). La distribuzione altitudinale della macchia di leccio in Italia varia molto a causa dell'elevata plasticità ecologica del leccio stesso. Il leccio può assumere un portamento arboreo con altezze che raggiungono anche i 15-20 m, dando vita a boschi. Nella macchia mediterranea esso presenta un aspetto cespuglioso e dà vita a formazioni arbustive. Questa specie presenta una corteccia grigiastra, una chioma rotondeggiante e foglie molto coriacee, con la pagina superiore verde scuro e quella inferiore grigiastra. La fioritura del leccio avviene tra aprile e giugno con amenti maschili lunghi 4-6 cm e matura nell'anno ghiande con punta allungata (Fig. 15).



Figura 3.4. Esempio di *Q. ilex* L. (A) e ghianda (B)

La caduta delle foglie si riscontra in tutto l'anno, con un massimo ad ottobre, dopo la nascita delle nuove foglie che possono vivere anche 2-3 anni. La caduta delle foglie può aumentare nel periodo estivo come meccanismo di difesa dalla siccità.

Per difendersi dalla siccità, il leccio ha sviluppato un controllo stomatico molto efficiente aprendo gli stomi nelle prime ore del giorno ed al tramonto e chiudendoli quasi completamente nelle ore più calde del giorno. In questo modo mantiene positivo il bilancio idrico evitando la disidratazione.

Oltre ai processi che vedono coinvolta la parte aerea, il leccio sviluppa anche lunghissime radici, che gli permettono di pescare acqua direttamente dalle falde acquifere e questo costituisce un vantaggio soprattutto nei mesi di aridità estiva caratteristici del clima mediterraneo.

Al livello morfologico e funzionale, una importante e fondamentale proprietà per la sopravvivenza della pianta è l'alto grado di sclerofillia. Il leccio presenta un elevato spessore fogliare dovuto a tessuti molto densi ed alla produzione di tannini. La sclerofillia permette alla foglia di mantenere lo stato idrico interno invariato. Tuttavia, nonostante questi sistemi di difesa dalla siccità, questa specie ha una minore capacità di sopravvivenza rispetto a *Pistacia lentiscus* L. e *Phillyrea angustifolia* L. Ciò permette di ipotizzare che potrebbe verificarsi un cambiamento nella dominanza del leccio da parte di specie più adattate alla siccità in seguito al innalzamento della temperatura previsto per gli ecosistemi mediterranei in un prossimo futuro (Filella et al. 1998).

***Pistacia lentiscus* L.**

Questa specie è nota sin dall'antichità per le sue proprietà balsamiche. Il nome deriva dal greco *Pistakia* (pistacchio) e dal latino *lentescere* (divenire vischioso). Il lentisco appartiene alla famiglia delle *Anarcadiaceae*, specie *lentiscus*, e compare nelle steppe semiaride dell'Asia Centrale da dove si è spinto fino ad arrivare a colonizzare il mediterraneo (Blondel and Aronson 1999). Per la diversa morfologia delle foglie sono note tre varietà (Fiori 1929): *Pistacia lentiscus* var. *lentiscus* L., *Pistacia lentiscus* var. *letifolia* Coss., *Pistacia lentiscus* var. *mssiliensis* Mill.

In Italia il lentisco è presente in tutte le regioni tranne quelle alpine (Camarda and Valsecchi 1983). E' una specie xerofila ed eliofila che ritroviamo sia nella macchia,

dove da vita alla “macchia a lentisco” e può arrivare ad un’altezza di 4 m (Paola and Pecennini 2002) che nella gariga. Inoltre essa vegeta anche lungo le zone costiere, dimostrando così un grande capacità di adattamento a differenti substrati di crescita.

Pistacia lentiscus L., come molte altre specie mediterranee, è una microfanerofita sclerofilla sempreverde, con rami color cenere o rossi, con foglie alterne paripennate con rachide strettamente alato a cui sono legate 3-5 paia foglie (Fig. 16).



Figura 3.5. Esempio di *P. lentiscus* L. (A) ed infiorescenza (B)

Le foglie si presentano coriacee ovalate-lanceolate, con stomi infossati, di colore verde scuro sulla pagina superiore e verde pallido sulla pagina inferiore, mentre durante la stagione fredda possono assumere anche colore rosso-arancio.

Il lentisco si riproduce per seme e si moltiplica per polloni radicali.

Le infiorescenze nascono sui rami dell’anno precedente. I fiori sono unisessuali, privi di petali. Il frutto è una drupa di 5-7 mm che assume un colore rosso, quando i semi sono partenocarpici o abortiti, ed un colore nero quando i semi sono vitali (Jordano et al., 1994). I nuovi germogli nascono da fine marzo sino al mese di giugno. Come il leccio, anche il lentisco possiede un apparato radicale molto sviluppato che gli permette di superare i periodi di aridità estiva intercettando al meglio l’acqua nel suolo. Inoltre l’habitus cespuglioso gli conferisce la capacità di intercettare bene anche l’acqua piovana (Levitt 1980).

L’osservazione al microscopio ottico di una sezione di foglia di *Pistacia lentiscus* L. evidenzia una epidermide molto spessa coperta da una cuticola che si interrompe per

le aperture stomatiche, un parenchima a palizzata composto da 2-3 stati di cellule allungate al di sotto del quale si trova un tessuto lacunoso anch'esso composto da cellule allungate simili ad un tessuto a palizzata.

***Phillyrea angustifolia* L.**

Phillyrea angustifolia L. appartiene alla famiglia delle *Oleaceae* e compare nelle zone aride dell'Africa (Quezel 1985). Questa specie può raggiungere l'altezza di 15 m ma solitamente non supera i 5 m . Possiamo trovarla fino ad una altitudine di 800 m, quindi sia in macchia che nelle leccete. Ha rami grigi caratterizzati da foglie opposte, sempreverdi, coriacee con lamina allargata e superficie lucida. Ha fiori di colore biancorosei che spuntano tra marzo e maggio (Fig. 17). I frutti, che seguono i fiori, sono drupe di colore nero-bluastro quando raggiungono la maturità. Per superare i periodi di siccità e di freddo, *Phillyrea angustifolia* L. ha sviluppato efficaci meccanismi protettivi.



Figura 3.6. Esempio di *P. angustifolia* L. (A) ed infiorescenza (B)

Per evitare la forte radiazione luminosa durante il periodo estivo, le foglie hanno sviluppato la capacità di modificare la loro inclinazione (Gratani & Bombelli, 1999). Queste inclinazioni sono estremamente efficaci per prevenire fenomeni fotoinibitori ed il surriscaldamento fogliare, come pure per ridurre la traspirazione durante i periodi di limitata disponibilità idrica. Anche la spessa e lucida cuticola fogliare si rivela un utile

mezzo per schermare la radiazione luminosa ed evitare il raggiungimento di elevate temperature sulla lamina. Nei mesi più caldi e freddi, rispettivamente Luglio e Febbraio alle nostre latitudini, è stata osservata una diminuzione dell'attività fotosintetica, che riprende in ottobre e marzo con lo sviluppo di nuovi ricacci e con il ripristino di condizioni climatiche non limitanti (Arena et al., 2006). L'esame istologico di una sezione di fogli di *P. angustifolia* L. mette in evidenza una cuticola particolarmente spessa, molto più spessa rispetto a quella del *C. incanus* L., con tre strati di parenchima a palizzata ed un mesofillo molto denso, simile a quello che si riscontra in *Q. ilex* L. Un confronto tra lo spessore fogliare delle quattro specie indagate in questo studio e descritte nelle pagine precedenti, rivela per fillirea il valore più elevato. Ciò è indice del fatto che questa specie investe molto più delle altre nei tessuti protettivi.

3.1. Disegno sperimentale

Per studiare gli effetti delle miscele di lettiera sulla decomposizione è stato utilizzato il metodo dei sacchetti incubati in campo nell'area della macchia bassa nella quale la lettiera era stata raccolta. Sono state realizzate 2 tipologie di miscele di 3 specie di lettiera: la prima con tre specie sclerofille (leccio, fillirea e lentisco) e la seconda con due specie sclerofille e una mesofilla (fillirea, lentisco e cisto). Queste miscele rispecchiano la situazione che si può osservare rispettivamente all'interno della macchia e al margine con le aree di chiara dove è presente e domina il cisto mentre è assente il leccio. In entrambi i tipi di miscele le tre lettiera componenti sono state associate in uguali proporzioni, come pure in proporzioni diverse in modo che una delle specie presenti fosse dominante sulle altre due. In totale sono stati preparati 624 sacchetti di dieci diverse tipologie, inclusi i sacchetti contenenti le lettiera pure, come mostra la tabella 3.1. ed analizzati dopo 3, 6 e 13 mesi.

Tabella 3.1. Tipologie di sacchetti

	<i>Phillyrea angustifolia</i>	<i>Pistacia lentiscus</i>	<i>Quercus ilex</i>		<i>Phillyrea angustifolia</i>	<i>Pistacia lentiscus</i>	<i>Cistus spp.</i>
Ph	100%			Ph	100%		
P		100%		P		100%	
Q			100%	C			100%
Ph50P25Q25	50%	25%	25%	C50P25Ph25	25%	25%	50%
P50Ph25Q25	25%	50%	25%	C33P33Ph33	33%	33%	33%
Q50P25Ph25	25%	25%	50%				
Q33P33Ph33	33%	33%	33%				

Gli effetti attesi della diversità sul processo di decomposizione possono essere di due tipi: 1) additivi (i valori osservati corrispondono ai valori attesi calcolati dalle dinamiche di decomposizione delle lettiera pure) e 2) non-additivi (i valori osservati non corrispondono ai valori attesi calcolati dalle dinamiche di decomposizione delle lettiera pure). Va sottolineato che una risposta di tipo additivo potrebbe essere dovuta al fatto che tra le lettiera costituenti la miscela non vi siano interazioni, ma è anche possibile che vi siano risposte di segno opposto delle specie componenti la miscela che si compensano traducendosi in un apparente effetto additivo nell'intera miscela. Le

risposte non-additive possono essere di segno diverso e cioè favorire il processo (risposte sinergiche) o, al contrario, inibirlo.

Per indagare sulla presenza di una risposta di tipo additivo o non additivo, le lettiere delle singole specie componenti la miscela sono state analizzate separatamente per tutti gli indici di decomposizione; questi comprendono oltre alla perdita di peso, anche la biomassa fungina e la dinamica di una serie di nutrienti (N, K, Na, Mg, Ca, Mn, Cu, Fe e Zn). E' stata poi calcolata la risposta della miscela in toto. In questo modo è stato possibile, non solo confrontare i risultati ottenuti per le singole lettiere nella miscela con quelli osservati per le lettiere pure e dunque analizzare gli effetti della miscela su ognuna delle specie componenti, ma anche valutare l'effetto della diversità sull'intera miscela.

Raccolta della lettiera

Nei mesi di maggio, giugno e luglio, corrispondenti al periodo di massima abscissione fogliare delle specie di interesse, sono state raccolte foglie senescenti mediante l'ausilio di reti posizionate sotto gli arbusti. La lettiera è stata accuratamente pulita attraverso la rimozione delle foglie appartenenti ad altre specie vegetali presenti nel sito di studio, oltre che di ramoscelli e altro.

Allestimento dei sacchetti

Una volta essiccate all'aria, le foglie sono state inserite in sacchetti di fibra di vetro rivestita da polivinilcloruro (materiale non facilmente degradabile) con pori del diametro di 1 mm. Le dimensioni dei sacchetti erano 15 cm × 25 cm per le lettiere di leccio, fillirea e lentisco, sia pure che in miscela, e 15 cm x 12.5 cm (per le lettiere di cisto puro o in miscela con fillirea e lentisco). I sacchetti sono stati cuciti con filo di poliestere 100% (scarsamente suscettibile alla decomposizione) e in quelli più grandi sono stati introdotti circa 7 g di foglie, mentre in quelli più piccoli circa 3.5 g di foglie. Il tipo di sacchetti utilizzati consente la penetrazione della microflora, oltre che della microfauna, della mesofauna e della macrofauna di piccole dimensioni; se da un lato previene la perdita di frammenti di lettiera, dall'altro esclude l'intervento della macrofauna e non consente agli organismi pascolatori di operare il rimescolamento della lettiera con l'orizzonte minerale del suolo (Fioretto et al., 2003).

In totale sono stati preparati 624 sacchetti di dieci diverse tipologie, inclusi i sacchetti contenenti le lettiera pure, come mostra la tabella 3.1.

Incubazione

Ad ottobre 2006, i sacchetti sono stati incubati in campo in otto siti diversi nell'area della macchia bassa nella quale la lettiera era stata raccolta. In ciascun sito i sacchetti con le diverse misture sono stati collocati ad una distanza tra loro sufficiente ad evitare un'influenza reciproca.

Campionamento

I campionamenti sono stati effettuati a gennaio, ad aprile e a novembre ovvero a circa 90, 180 e 403 giorni dall'incubazione.

3.3. Determinazione della perdita di peso della lettiera

Dopo un'accurata pulizia, i campioni utilizzati per la determinazione della perdita di peso della lettiera vengono lasciati in stufa a 75°C fino al raggiungimento del peso costante. La differenza di peso secco rispetto al peso secco iniziale rappresenta la perdita di peso durante la decomposizione della lettiera, e viene espressa in percentuale del peso iniziale:

$$\% \text{ perdita di peso} = \frac{\text{peso secco iniziale} - \text{peso secco al momento del prelievo}}{\text{peso secco iniziale}} \times 100$$

La misura è stata effettuata per ogni tipologia di sacchetto in ciascun sito di studio. I risultati ottenuti per ciascuna tipologia di lettiera per gli otto siti di studio sono stati mediati al fine di ottenere un valore rappresentativo dell'intera area di studio.

3.4. Determinazione del micelio fungino totale ed attivo

La determinazione del micelio fungino è stata effettuata mediante il metodo della conta delle intersezioni al microscopio ottico (Olson, 1950).

Una aliquota nota di lettiera (1 g di peso fresco) alla quale è stata aggiunta una soluzione di tampone fosfato (100 ml; 60mM, 7.5 pH) è stata sottoposta ad omogeneizzazione (2 minuti a 6000 g) all'interno di un mixer. La sospensione di lettiera (0.5 ml) è stata filtrata su filtri (45 µm di porosità) di nitrato di cellulosa, per la determinazione del micelio totale, o su filtri di polipropilene, per la stima del micelio attivo.

Per la determinazione del micelio totale (Figura 3.7 A) si è proceduto alla colorazione del filtro con blu di anilina; questo colorante, infatti, si lega specificamente alla chitina, una sostanza presente solo nei funghi e negli artropodi, e mette in evidenza la parete delle ife. I filtrini sono stati fatti asciugare e quindi montati sui vetrini chiarificandoli con una goccia di olio di legno di cedro.

Per la determinazione del micelio attivo (Söderström, 1977; Söderström, 1979) a ciascun filtro è stato aggiunto 1 ml di soluzione di diacetato di fluoresceina (FDA) e successivamente il filtro è stato montato sul vetrino chiarificandolo con una goccia di olio per microscopia in fluorescenza. L'FDA penetra velocemente nelle cellule vitali e viene idrolizzato, da enzimi non specifici, a fluoresceina, una sostanza fluorescente.

Entrambi i tipi di vetrino sono stati osservati al microscopio ottico a 400x e la conta è avvenuta determinando il numero di intersezioni delle ife con un retino montato nell'oculare. L'osservazione delle ife vitali (Figura 3.7 B) è stata effettuata mediante uso di una lampada per fluorescenza .

Per ogni vetrino sono state osservate le intersezioni delle ife con il retino all'interno di venti campi. Conoscendo la dimensione della maglia del retino è stato possibile convertire il numero totale di intersezioni osservate per ogni vetrino in lunghezza delle ife presenti su tutto il filtro, secondo Olson (1950). La lunghezza delle ife è stata convertita in volume delle ife, conoscendone la sezione media (9.3 µm²), e

quindi in peso secco, conoscendo la densità media delle ife (1.1 g ml^{-1}) e sapendo che il peso secco di un'ifa rappresenta il 15% del peso fresco (Berg and Söderström, 1979).

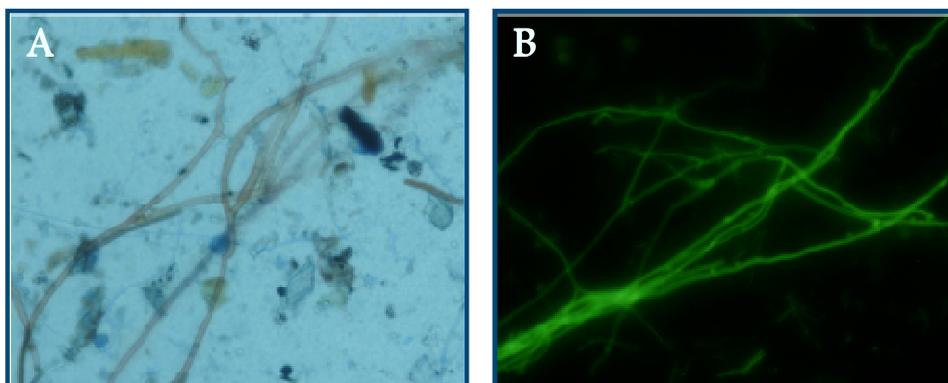


Figura. 3.7 Immagini al microscopio ottico di ife totali dopo colorazione con blu di anilina (A). Immagini al microscopio ottico a fluorescenza di ife vitali dopo colorazione con diacetato di fluoresceina (B).

3.5. Determinazione del contenuto di lignina, cellulosa e ADSS

Per la determinazione del contenuto in lignina e cellulosa è stato seguito il metodo di Van Soest e Wine (1968) modificato che si articola in: a) preparazione delle fibre resistenti ai detergenti acidi (ADF), b) e successiva loro ossidazione con permanganato.

Procedura per la preparazione delle fibre ADF

In una provetta da centrifuga di peso noto (W2) sono stati pesati 200mg ($\pm 0,1$) (W1) di lettiera secca polverizzata. Dopo l'aggiunta di 20 ml di acido solforico/ CTAB (100g di bromuro di cetiltrimetil ammonio sciolti in 5l di 0,5 M di acido solforico) i campioni sono stati lasciati 1 ora a 100° C . Al termine, sono stati raffreddati e centrifugati per 15' a 5000 rpm. Il pellet recuperato viene sottoposto ad una serie di lavaggi con 30ml di H_2O distillata calda (ogni lavaggio è stato seguito da centrifugazione e relativa eliminazione del supernatante), fino a quando il supernatante non raggiunge $\text{pH}=6$ (circa 4-5 lavaggi) poi si effettua un ultimo lavaggio con acetone, si centrifuga ed il pellet così ottenuto viene posto in stufa per 12h a 75° C circa.

Raffreddati in essiccatore i campioni sono stati pesati (W3). La percentuale delle fibre ADF viene così calcolata:

$$\%ADF = (W3-W2) * 100/W1$$

Le fibre ADF rappresentano la frazione di lignina e cellulosa contenuta nel campione di lettiera, mentre ciò che viene allontanato dal trattamento con acido solforico /CTAB è la componente acido-solubile, rappresentata da pectine, cere, lipidi e, in fasi più avanzate di decomposizione, da chitina.

Procedura per la determinazione di lignina e cellulosa

I campioni seccati e pesati (W3) vanno sospesi in 20ml di tampone permanganato combinato e lasciati a temperatura ambiente per 90' per permettere l'ossidazione delle fibre. A reazione avvenuta, i campioni assumono colore rosso porpora. I campioni ossidati vanno centrifugati per 15' a 5000 rpm, privati del supernatante e trattati per 15' con 20ml di una soluzione demineralizzante.

I campioni così trattati assumono colore bianco. Dopo una ulteriore centrifugazione per 15' a 5000 rpm, i campioni, privati del supernatante, sono stati sottoposti a due lavaggi con etanolo al 95% e ad uno con acetone per eliminare i residui di etanolo. Dopo essere stati seccati in stufa per 12h a 75°C, vanno raffreddati in essiccatore, pesati (W4) e poi bruciati in muffola per 1h a 550°C. Al termine del trattamento in muffola, i campioni vengono raffreddati in essiccatore e pesati (W5). Le percentuali di lignina e di cellulosa sono così calcolate:

$$\% \text{ Lignina} = (W3-W4) * 100/W1$$

$$\% \text{ Cellulosa} = (W4-W5) * 100/W1$$

3.6. Determinazione del contenuto di C e N

Il contenuto di C e N della lettiera è stato determinato mediante l'utilizzo di un Gas Cromatografia (Elemental Analyser, Flash 112 Series EA). Circa 5g di campione polverizzato, sono stati pesati in capsuline di stagno. Le capsuline vengono trasferite in una camera di combustione ad alta temperatura, circa 900°C, dove i campioni vengono ossidati completamente e istantaneamente producendo CO₂ e NO_x. I prodotti della combustione vengono trascinati da un flusso di elio, gas carrier, prima in una colonna di perclorato di magnesio anidro, che assorbe il vapore acqueo, e poi in una colonna cromatografica che consente la separazione dei diversi tipi di ossidi. Infine questi composti separati raggiungono un detector a conduttività termica (TCD) che, al passaggio degli ossidi, registra le informazioni come variazioni della differenza di potenziale necessarie a mantenere costante la temperatura del detector stesso. Un apposito software gestito tramite un elaboratore elettronico collegato allo strumento converte questi valori in contenuto di C e N espresso come percentuale di campione secco.

3.7. Determinazione del contenuto di elementi (Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Zn)

La concentrazione fogliare di Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn nella lettiera è stata determinata mediante spettrometria ad assorbimento atomico, previo attacco acido dei campioni. I campioni polverizzati, rappresentativi di ciascuna specie per ogni sacchetto, dopo esser stati seccati in stufa a 75°C, sono stati pesati in contenitori di TFM; a 250 mg di campione sono stati aggiunti 4 ml di acido nitrico (65%) e 2 ml di acido fluoridrico (50%). I contenitori, chiusi ermeticamente con tappi a pressione, sono stati posti in un forno a microonde della Milestone (Digesor/Dryng Module mls 1200) per il tempo necessario ad ottenere una completa mineralizzazione. Il programma di mineralizzazione prevede i seguenti steps:

- 1) 250W per 2 minuti;
- 2) 0W per 2 minuti;
- 3) 250W per 5 minuti;
- 4) 400W per 5 minuti;

- 5) 0W per 2 minuti;
- 6) 500W per 5 minuti.

Successivamente le soluzioni ottenute, dopo il raffreddamento, sono state portate a volume con acqua deionizzata in matracci di plastica da 50 ml. Su queste soluzioni sono state determinate, allo spettrometro (Spectr AA 220 FS Varian) ad assorbimento atomico, le concentrazioni di Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn, espresse in ppm e ricavate in base ad una curva di taratura costruita dal software dello strumento, utilizzando soluzioni a concentrazioni note e crescenti di ciascun elemento considerato. L'atomizzazione del campione è stata effettuata al fornello per determinare le concentrazioni di Cu e alla fiamma per determinare le concentrazioni degli altri elementi. Le concentrazioni degli elementi sono poi state riportate a unità di peso di lettiera secca. I risultati ottenuti per ciascuno degli otto siti sono stati mediati al fine di ottenere un valore rappresentativo dell'intera area di studio.

3.8. Identificazione dei taxa fungini presenti nella lettiera delle quattro specie d'interesse

La lettiera utilizzata per l'individuazione dei taxa fungini è stata prelevata il 13 maggio 2008 da quattro degli otto siti utilizzati per l'incubazione delle lettiere miste e le analisi sono state effettuate presso il Department of Forest Mycology and Pathology dello SLU (Swedish University of Agricultural Sciences) Uppsala, Svezia. Per ogni sito sono stati effettuati 5 prelievi di lettiera, in laboratorio la lettiera di ogni singola specie prelevata nello stesso sito è stata miscelata in modo da ottenere un unico campione, il più rappresentativo possibile dell'intero sito di studio considerato. In totale sono stati collezionati 16 campioni di lettiera, 4 per ogni specie.

Estrazione del DNA Amplificazione

I campioni di lettiera spezzettati e posti in un tubo da 2 ml sono stati omogenizzati in un FastPrep. Questo passaggio è importante in quanto garantisce la rottura delle robuste pareti cellulari fungine e la fuoriuscita del DNA.

Sono stati aggiunti 1000 ul di CTAB buffer al 3%, i campioni sono stati agitati delicatamente e posti a 65° per 1-2 h. Poi i campioni sono stati centrifugati per 10 min a 7000 rpm e il supernatante trasferito in una nuova eppendorf alla quale sono stati aggiunti 700 ul di cloroformio. Dopo aver centrifugato per 8 min a 13000 rpm la fase acquosa è stata trasferita in una nuova eppendorf, sono stati aggiunti 750 ul di isopropanolo e sono stati lasciati a -20° C over night.

Dopo aver centrifugato per 20 min a 13000 rpm il supernatante è stato rimosso, sono stati aggiunti 200 ul di etanolo al 70% freddo, dopo aver centrifugato per 5 min a 13000 rpm, è stato eliminato l'etanolo e asciugato il pellet. Alla fine sono stati aggiunti 50 ul di MilliQ water e i campioni sono stati conservati a -20° C.

Amplificazione e Clonaggio

Il DNA estratto è stato sottoposto a PCR, clonaggio e sequenziamento (Landeweert et al., 2003; O'Brien et al., 2005). In totale 15 prodotti della PCR sono stati clonati e 16 cloni per ogni campione sono stati sequenziati ottenendo 240 sequenze. La prima PCR è stata condotta utilizzando i primers ITS1-F (Gardes & Bruns, 1993) e ITS4 (White et al., 1990). I prodotti della PCR sono stati clonati utilizzando TOPO TA Cloning Kit (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) e successivamente è stata effettuata una seconda PCR, questa volta utilizzando i primers M13F e M13R.

I prodotti della PCR sono stati purificati (QIAquick PCR purificationkit, Quiagen) e sequenziati (Macrogen). Le sequenze dei frammenti clonati sono state comparate con il database (NCBI) usando l'algoritmo BlastN.

3.9. Elaborazione statistica dei dati

Il lavoro di elaborazione del dataset ha visto una fase iniziale in cui ci si è concentrati principalmente sulla caratterizzazione delle variabili analizzate, utilizzando gli appropriati descrittori statistici (distribuzioni di frequenza, media, moda, varianza, e deviazione standard), al fine di ottenere, vista la grande quantità di dati acquisiti, una prima descrizione sintetica dei dati.

Tale attività ha permesso una prima valutazione non solo degli aspetti propri del fenomeno indagato, ma anche delle metodiche di analisi da utilizzare per la validazione statistica delle differenze che si sarebbero volute analizzare in dettaglio.

In particolare è stato utilizzato il t test per i confronti a coppie, e l'analisi della varianza (ANOVA) per i confronti multipli.

Come accennato in precedenza nella fase di esplorazione preliminare del dataset, particolare attenzione è stata rivolta alla verifica di alcune proprietà delle serie numeriche come normalità, asimmetria e curtosis, al fine di accertarsi della effettiva possibilità di utilizzo di test di tipo parametrico.

Oltre alla normalità, è stata verificata quando necessario l'omoschedasticità dei dati (Levene's Test)

La verifica della normalità è stata verificata utilizzando il test di Shapiro Wilk.

La soglia di significatività di tutti i test è stata fissata a 0.05.

Qualora i dati in esame non soddisfacessero gli assunti necessari per l'utilizzo dei metodi parametrici, sono stati utilizzati test di tipo non parametrico (ANOVA on ranks, Krustal Wallis).

Nei confronti multipli inoltre, qualora risultassero differenze significative, è stato utilizzato un post-hoc test per i confronti tra tutte le possibili coppie.

Per la verifica delle correlazioni infine è stato utilizzato l'indice di Spermann.

4. RISULTATI E DISCUSSIONE

4.1. Qualità della lettiera

Le caratteristiche chimiche iniziali della lettiera delle quattro specie considerate (Tabella 4.1) evidenziano che *Quercus ilex* è la lettiera con il contenuto di lignina più elevato, mentre *Pistacia lentiscus* ha il minore contenuto di cellulosa. La lettiera di fillirea presenta la più alta concentrazione di ADSS.

Nella tabella 4.1 sono riportate, inoltre, le concentrazioni dei nutrienti misurate nelle lettiere delle quattro specie d'interesse. Il contenuto di N varia da 4,72 mg/g della lettiera di cisto a 3,73 mg/g della lettiera di lentisco; questi valori sono tutti bassi ma rientrano nel range tipico per le sclerofille mediterranee. La lettiera di cisto risulta essere la più ricca non solo di N ma anche di quasi tutti gli altri nutrienti con esclusione di K, Na e Mn. La concentrazione di nutrienti nella lettiera rispecchia le differenze genetiche tra le specie nonché la disponibilità dei nutrienti nel terreno e la capacità di traslocazione dei nutrienti prima dell'abscissione. Perciò specie diverse che crescono sullo stesso suolo possono avere una diversa composizione elementare come nell'ambito della stessa specie possono essere evidenziate differenze tra habitat diversi. La lettiera di leccio presenta concentrazioni di Mn di un ordine di grandezza più alto rispetto alle altre specie studiate e simili a quelle riportate da Alfani e collaboratori (2000) per foglie mature della stessa specie raccolta in altri siti. La lettiera di cisto è seconda per contenuto di Mn anche se questo è più basso di quello riportato da Fioretto e collaboratori (2001) per la lettiera di *Cistus incanus* L. raccolta nello stesso sito di Castel Volturno. Le concentrazioni di Fe, Cu e Zn misurate nella lettiera di *Quercus ilex* L. risultano essere più basse di quelle trovate da Cotrufo e collaboratori (1995) sia in lecci di aree soggette ad inquinamento da metalli pesanti (nella città di Napoli) che in lecci di aree controllo. In *Cistus laurifolius* L. del Sud-Est della Spagna le concentrazioni iniziali di Ca, Mg e K riportate da Moro (2000) sono più alte di quelle osservate in questa ricerca. La lettiera di lentisco presenta concentrazioni iniziali di Na e K più alte rispetto a quelle delle lettiere delle altre specie.

Com'è noto dalla letteratura la composizione chimica iniziale della lettiera è un buon indice della sua degradabilità (Gallardo & Merino, 1993; Virzo De Santo *et al.*, 1993) dato che essa influenza la comunità dei microrganismi decompositori

determinandone, in funzione della quantità e del tipo di risorse, l'abbondanza e la composizione (Berg and McClaugherty 2008). La relazione negativa tra il contenuto di lignina e la decomposizione della lettiera di foglie è stata ampiamente dimostrata da esperimenti di campo e di laboratorio (reviewed in Osono and Takeda 2005).

Tabella 4.1. Caratteristiche qualitative della lettiera indecomposta di fillirea, lentisco, leccio e cisto. Sono riportati i valori medi (n = 3) con i relativi errori standard.

Specie	<i>Ph. angustifolia</i>	<i>P. lentiscus</i>	<i>Q.s ilex</i>	<i>Cistus spp.</i>
Lignina (% p.s.)	13.32±0.2	21.93±4.00	24.38±1.62	17.62±1.05
Cellulosa (% p.s.)	24.91±1,21	14.9±2.47	21.6±1.31	22.50±0.67
ADSS (% p.s.)	61.90±5.56	59.6±0.98	52.01±0.8	55.6±1.73
N (mg/g p.s.)	4.28±0.19	3.73±0.18	4.43±0.09	4.72±0.36
C/N	127.52	139.69	106.89	110.45
Lignina/N	31.15	59.26	55.41	37.49
K (mg/g p.s.)	4,46±0,18	6,22±0,05	4,48±0,01	4,54±0,02
Na (mg/g p.s.)	0,68±0,01	1,54±0,01	0,80±0,01	0,96±0,01
Ca (mg/g p.s.)	9,72±0,17	10,74±0,24	7,43±0,67	13,90±0,22
Mg (mg/g p.s.)	0,85±0,02	1,20±0,03	0,81±0,04	1,98±0,02
Mn (µg/g p.s.)	22,67±0,48	31,27±0,57	546,60±0,70	72,07±0,59
Fe (µg/g p.s.)	90,07±8,38	110,93±0,48	232,07±13,34	382,47±1,19
Cu (µg/g p.s.)	3,93±0,45	1,00±0,06	2,74±0,06	4,12±0,36
Zn (µg/g p.s.)	42,61±2,17	11,67±3,13	34,32±1,56	71,27±3,35

I rapporti C/N e lignina/N delle lettiere sono importanti indici della degradabilità della lettiera; infatti più bassi sono questi rapporti tanto più sarà favorita la crescita dei

decompositori e quindi la decomposizione della lettiera (Melillo *et al.*, 1982). Nelle lettiere studiate il rapporto C/N si presenta più elevato in fillirea e lentisco rispetto alle lettiere di leccio e cisto, mentre il rapporto Lignina/N è più elevato in leccio e lentisco (Tabella 4.1).

Per quanto riguarda le caratteristiche fogliari, *Cistus* sp. si distingue dalle altre specie per i valori più elevati di SLA (area fogliare specifica) e per i valori più bassi di LDMC (densità dei tessuti fogliari) e GS (grado di sclerofillia) (Figura 1). E' noto che valori di SLA elevati, e basso grado di sclerofillia possono accelerare il processo di decomposizione, favorendo la colonizzazione dei tessuti da parte dei decompositori (Hansen e Coleman, 1998).

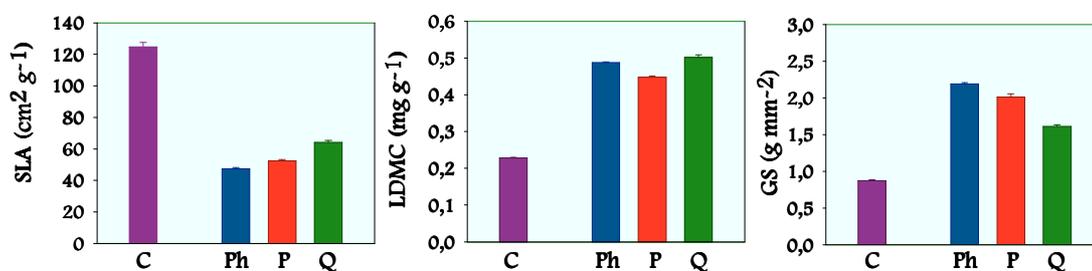


Figura 4.1. Area fogliare specifica (SLA), densità dei tessuti fogliari (LDMC) e grado di sclerofillia (GS) delle foglie di *Cistus* sp., *Ph. angustifolia*, *P. lentiscus* e *Q. ilex* prelevate nella riserva naturale di Castel Volturno.

4.2. Caratterizzazione dei taxa fungini presenti sulle lettiere studiate

La componente fungina isolata dalle quattro lettiere studiate nei primi stadi di decomposizione, risulta essere ampia e comprendere soprattutto Ascomiceti mentre i Basidiomiceti sono presenti in numero molto più basso. In totale sono state individuate 66 specie fungine ed i valori più alti di ricchezza sono stati misurati per *Ph. angustifolia* e *P. lentiscus* (Figura 4.2 Sinistra). Le lettiere di cisto e lentisco presentano il più alto indice di similarità (indice di Jaccard) di specie fungine presenti.

Le lettiere con una colonizzazione fungina più abbondante sono risultate essere *Ph. angustifolia* e *Q. ilex* (Figura 4.2 Destra). *Ph. angustifolia* è dunque tra le quattro la lettiera con maggiore ricchezza e maggiore abbondanza di funghi. Estremamente utile

sarebbe stato determinare con lo stesso metodo la successione fungina sulle lettiere pure ed in miscela nel corso della decomposizione per chiarire se e quali specie fungine siano inibite o favorite dall'interazione di lettiere di diverse specie vegetali.

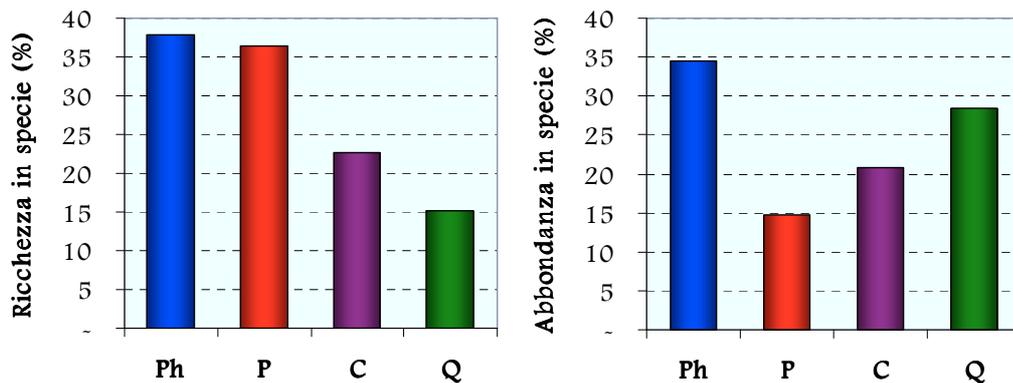


Figura 4.2. Ricchezza (*Sinistra*) e abbondanza (*Destra*) delle specie fungine individuata sulla lettiera di fillirea, lentisco, cisto e leccio nei primissimi stadi di decomposizione.

L'elevata presenza di Attinomiceti sulle quattro lettiere studiate, non stupisce in quanto inizialmente la lettiera è prevalentemente colonizzata da Attinomiceti, mentre nelle fasi più avanzate di decomposizione predominano i Basidiomiceti che posseggono gli enzimi necessari per la degradazione della lignina (Osono 2007).

La lettiera di leccio, pur essendo colonizzata da un basso numero di specie fungine (Figura 4.2), presenta una elevata abbondanza di micelio fungino rispetto alle lettiere di lentisco e cisto. La specie fungina più abbondante sulla lettiera di leccio è *Phoma nebulosa*, questo fungo è stato trovato anche sulle lettiere di lentisco e cisto, ma in minore abbondanza.

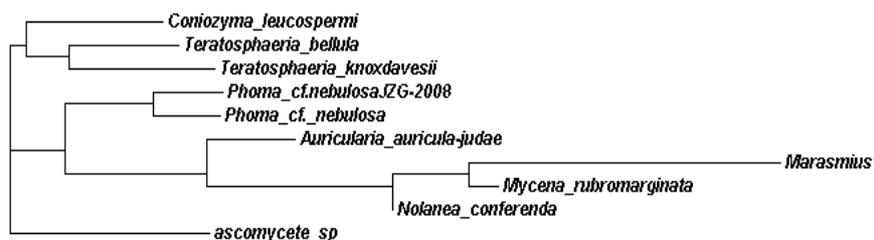


Figura 4.3. Albero filogenetico delle specie fungine identificate sulla lettiera di leccio nei primi stadi di decomposizione.

La lettiera di fillirea è la più ricca in specie fungine e presenta la maggiore abbondanza (Figura 4.2). Tranne che per un piccolo gruppo di funghi basidiomiceti, tra i quali *Mycena rubromarginata*, la grande maggioranza dei funghi osservati appartiene agli attinomiceti. Interessante è il fatto che su questa lettiera sono state trovate il maggior numero di specie non identificate. La maggior parte delle specie fungine identificate utilizzando tecniche biomolecolari, sono state isolate soprattutto in ambienti temperati, i dati relativi alle specie fungine presenti in ambienti mediterranei sono scarsi. Questo fa ipotizzare che la lettiera di fillirea rappresenti un substrato estremamente selettivo per le specie fungine, al punto da presentare pochissime specie in comune con le altre lettieri considerate e in generale di essere colonizzata da specie fungine con un'elevata preferenza di substrato.

Anche la lettiera di lentisco presenta una elevata diversità in specie fungine rispetto alla lettiera delle altre specie considerate, comunque l'abbondanza non è molto alta. Anche su questa lettiera predominano gli Attinomiceti.

Sulla lettiera di cisto non è stata osservata una elevata ricchezza in specie, tra gli attinomiceti sono molto abbondanti *Phlogicylindrium eucalyptorum* sp. e *Cladosporium cladosporioides*, questi funghi sono molto abbondanti in ambiente naturale e sono generalmente saprofiti o parassiti di molti tipi di piante.

Inoltre *Cladosporium cladosporioides*, *Phoma exigua* ed *Alternaria alternata* sono presenti sia sulla lettiera di lentisco che di cisto.

Tra i basidiomiceti identificati la specie più diffusa e più comune tra le lettieri studiate è *Mycena rubromarginata*, questa specie fungina, insieme a *Marasmius*, è molto spesso studiata per la sua attività sbiancante e per la produzione di enzimi in grado di degradare la lignina.

Le specie fungine individuate sulle quattro lettieri delle specie oggetto di studio sono molto diverse, questo potrebbe essere dovuto allo stadio di decomposizione molto precoce al quale le lettieri di foglie sono state campionate. Come mostrano anche i dati di Lughini et al. (2008) relativi alle specie fungine isolate sulle stesse lettieri e nella stessa area dopo tre, sei e tredici mesi di incubazione, la comunità fungina inizialmente tende ad essere molto specifica di un determinato substrato, mentre nelle fasi più avanzate di decomposizione le differenze si attenuano notevolmente.

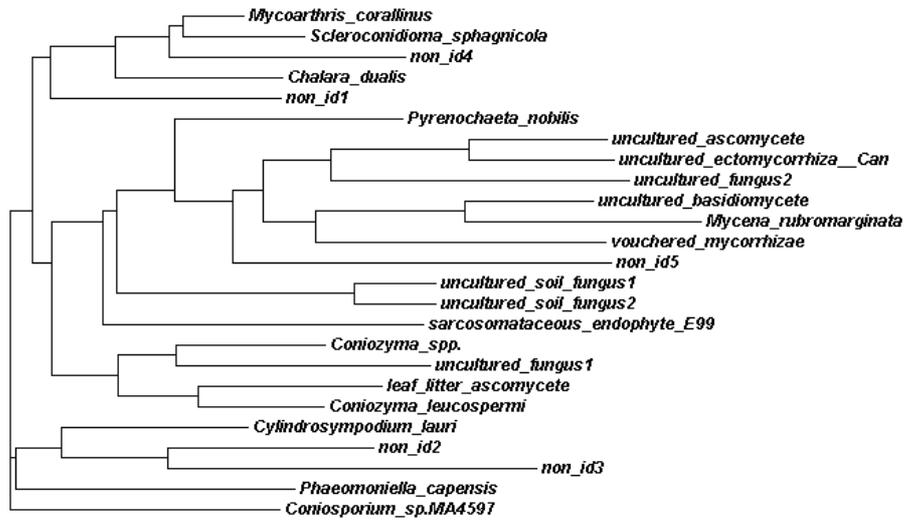


Figura 4.4. Albero filogenetico delle specie fungine identificate sulla lettiera di fillirea nei primi stadi di decomposizione.

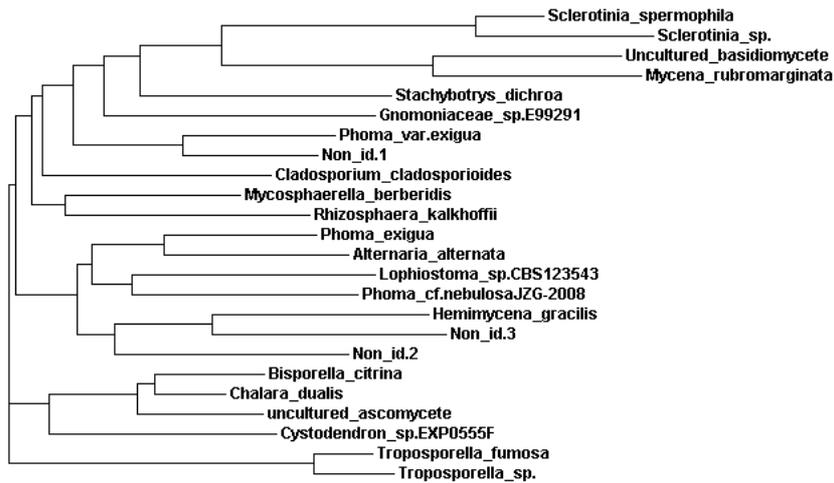


Figura 4.5. Albero filogenetico delle specie fungine identificate sulla lettiera di lentisco nei primi stadi di decomposizione.



Figura 4.6. Albero filogenetico delle specie fungine identificate sulla lettiera di cisto nei primi stadi di decomposizione.

4.3. Dinamica di decomposizione

4.3.1. Confronto tra le lettiere pure

La dinamica di decomposizione delle lettiere pure in esame evidenzia l'esistenza di una variabilità tra le quattro specie considerate che riflette la loro composizione chimica iniziale. Le lettiere di cisto e fillirea si degradano più velocemente rispetto alle lettiere di lentisco e leccio; in circa un anno d'incubazione perdono rispettivamente il 53% ed il 42% del peso iniziale, mentre il lentisco ed il leccio perdono il 34% del loro peso iniziale (Figura 4.6). Significative (ANOVA) risultano le differenze tra la perdita di peso della lettiera pura di cisto e la perdita di peso delle lettiere pure di lentisco e di leccio ($P < 0.05$).

La più rapida decomposizione della lettiera di cisto può essere ricondotta al più elevato contenuto iniziale di nutrienti e al più basso rapporto lignina/N di questa lettiera rispetto alle lettiere delle altre tre specie. È stato inoltre ipotizzato (Fioretto et al., 2001) che per foglie di specie della macchia mediterranea a carattere mesofitico, quali quelle del cisto, i cicli diurni e notturni di disidratazione e reidratazione possano causare una frammentazione fisica dei tessuti fogliari e quindi aumentare la possibilità di attacco da parte degli organismi dell'edaphon.

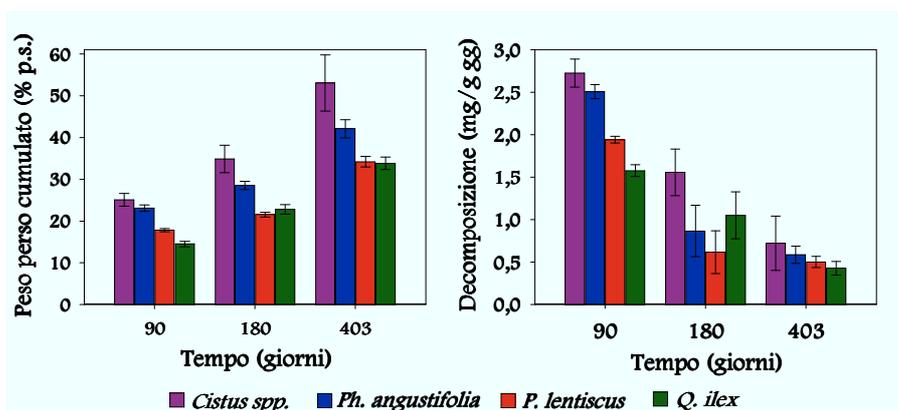


Figura 4.6. Valori medi (\pm e.s.; $n = 8$) della perdita di peso dopo 90, 180 e 403 giorni (*Destra*) e del tasso di decomposizione nei periodi 0-90, 90-180 e 180-403 giorni (*Sinistra*) delle lettiere pure di cisto, leccio, fillirea e lentisco.

Significativamente più elevata risulta la perdita di peso della lettiera pura di fillirea rispetto a quella del leccio ($P < 0.001$), probabilmente come conseguenza dell'elevato contenuto iniziale di ADSS e del basso contenuto in lignina della lettiera di fillirea.

Il leccio ed il lentisco, che presentano una decomposizione più lenta rispetto alle altre specie, sono caratterizzati da una più bassa concentrazione iniziale di nutrienti, da una più alta concentrazione di lignina ed un più alto rapporto lignina/N.

Tutte le lettiere presentano una degradazione più rapida nei primi tre mesi d'incubazione, mentre si assiste ad un rallentamento del tasso di decomposizione nel restante periodo di osservazione (Figura 4.6). Le differenze tra le quattro lettiere per il tasso di decomposizione mettono in evidenza la dinamica del processo nel tempo. La rapida degradazione iniziale delle lettiere è attribuibile alla presenza di sostanze più facilmente decomponibili che vengono utilizzate rapidamente dai microrganismi decompositori. Essa riflette le differenze di qualità del substrato con tassi significativamente più elevati per cisto e fillirea rispetto al lentisco e leccio. Nei successivi nove mesi d'incubazione il tasso di decomposizione diminuisce per tutte le lettiere (Figura 4.6). Le differenze tra lettiere dopo 90-180 giorni, sono significative solo tra il cisto e le tre lettiere di sclerofille. Nel periodo 180-403 giorni le quattro lettiere si degradano a velocità comparabili.

4.3.2. Confronto tra la decomposizione delle lettiere pure e delle stesse lettiere in miscela

Per poter comprendere se e come la decomposizione delle lettiere in miscela è influenzata dalle altre lettiere sono state analizzate separatamente le lettiere delle singole specie componenti la miscela e i risultati ottenuti sono stati confrontati con quelli osservati per la lettiera pura.

La lettiera di leccio in miscela presenta una perdita di peso diversa da quella della lettiera pura, l'effetto è molto più evidente dopo un anno d'incubazione e consiste in un aumento medio del 12% rispetto alla lettiera pura (Figura 4.7 *Sopra*). La lettiera di lentisco si decompone in misura maggiore nelle miscele, e anche in questo caso l'effetto è ben evidente solo nelle fasi avanzate di decomposizione. La lettiera di fillirea nelle

diverse miscele presenta valori di decomposizione molto variabili e non è possibile riconoscere un chiaro andamento generale (Figura 4.7 *Sopra*).

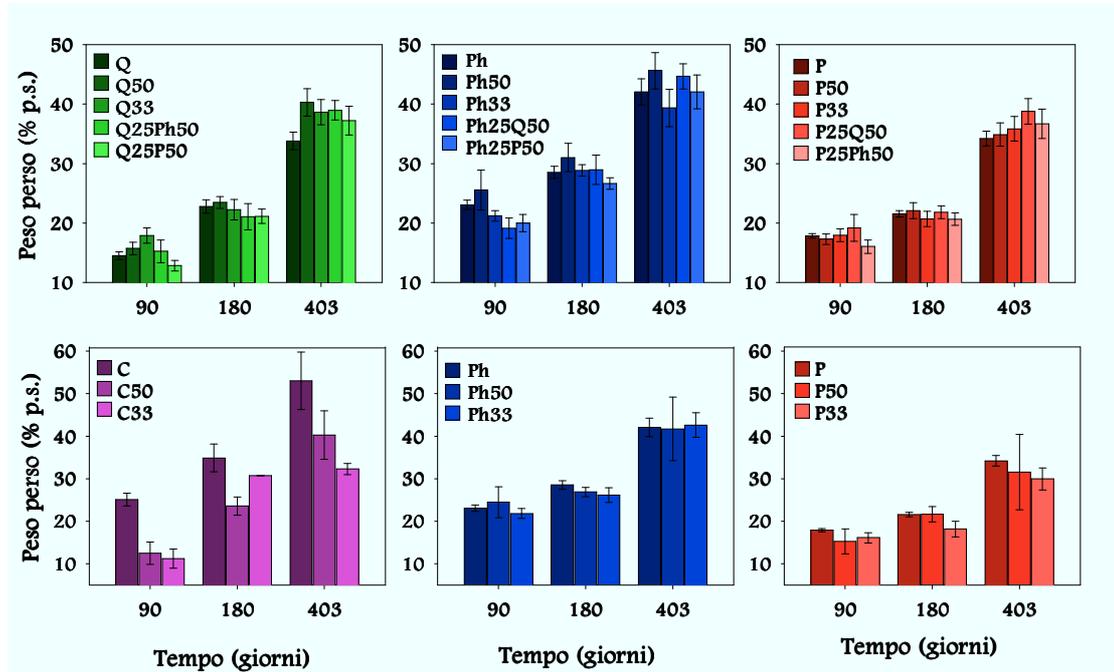


Figura 4.7. Valori medi (\pm e.s.; $n = 8$) del peso perso delle lettiera pure ed in miscela. Miscele con leccio, fillirea e lentisco (*Sopra*) e miscele con cisto, fillirea e lentisco (*Sotto*).

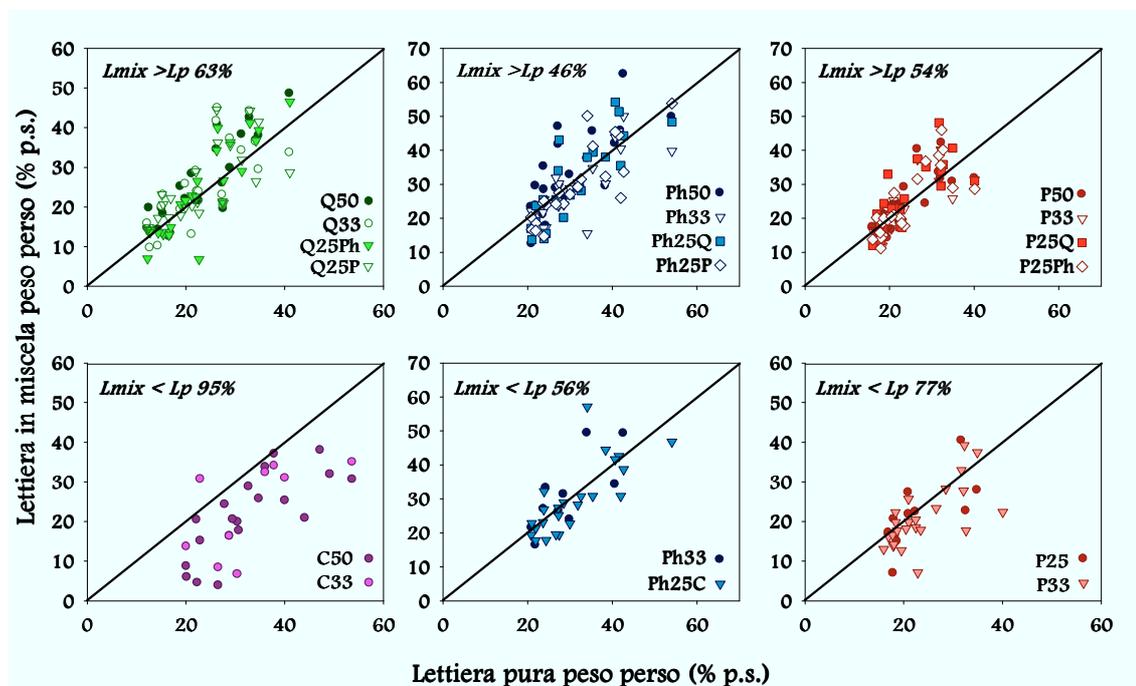


Figura 4.8. Peso perso delle lettiera in miscela (L_{mix}) in funzione del peso perso dalle lettiera pure (L_p). Miscele con leccio, fillirea e lentisco (*Sopra*) e miscele con cisto, fillirea e lentisco (*Sotto*). La linea indica il caso in cui i valori osservati per la lettiera pura ed in miscela siano uguali (1:1).

Se si rappresenta la decomposizione della lettiera in miscela in funzione della decomposizione della lettiera pura, nella ipotesi che non vi siano differenze tra le due situazioni, i punti sperimentali dovrebbe ricadere sulla retta tracciata nei grafici della Figura 4.8.

Considerando la dinamica del processo nell'intero periodo di osservazione (cioè dopo 3, 6 e 13 mesi) il 63% dei valori di decomposizione della lettiera di leccio in miscela sono più alti di quelli relativi alla lettiera pura (Figura 4.8 *Sopra*). Per la lettiera di fillirea in miscela nel 46% dei casi i valori risultano più alti rispetto a quelli della lettiera pura in particolare la lettiera di fillirea si decompone di più velocemente solo nella miscela in cui è presente in proporzione maggiore rispetto alle altre specie e nella miscela con il 50 % di leccio.

In lentisco il 54% dei valori di decomposizione in miscela sono più elevati che nella lettiera pura (Figura 4.8 *Sopra*). La lettiera di lentisco si degrada più velocemente in tutte le miscele ma nella miscela in cui è più abbondante la lettiera di leccio l'effetto è maggiore (Figura 4.7. *Sopra*).

La lettiera di cisto in miscela si decompone più lentamente, questo si osserva in tutti e tre gli stadi di decomposizione (Figura 4.8. *Sotto*). Anche la lettiera di lentisco presenta una decomposizione minore quando è associata con cisto e fillirea e questa diminuzione della decomposizione si evidenzia maggiormente dopo 403 giorni d'incubazione (Figura 4.7. *Sotto*). L'inibizione della decomposizione della lettiera di lentisco in miscela è presente nel 77% dei valori osservati (Figura 4.8. *Sotto*).

La decomposizione della lettiera di fillirea sembra non subire variazioni per effetto della presenza di cisto e lentisco (Figura 4.7 e 4.8 *Sotto*).

4.3.3. Confronto tra i valori osservati e i valori attesi di decomposizione delle miscele di lettiera

In figura 4.9 è riportata la dinamica di decomposizione osservata e la dinamica di decomposizione attesa nell'ipotesi di nessun effetto della miscela sulle singole lettieri componenti la miscela, si assume cioè che:

$$D (\text{leccio+fillirea+lentisco}) = D \text{ leccio} + D \text{ fillirea} + D \text{ lentisco}$$

$$D (\text{cisto+fillirea+lentisco}) = D \text{ cisto} + D \text{ fillirea} + D \text{ lentisco}$$

La Figura 4.9 (*Sinistra*) mostra che nelle miscele con il leccio si osserva un valore di decomposizione più alto rispetto al dato atteso. In tutti gli stadi di decomposizione (3, 6 e 13 mesi) queste differenze sono maggiori nelle miscele in cui la lettiera di fillirea è in proporzioni maggiori rispetto alle altre. Nelle miscele in cui predomina il lentisco ed in quelle in cui le tre lettiera sono presenti in uguale proporzione, non si osservano differenze rilevanti tra valore osservato e atteso di peso perso.

In figura 4.10 è riportata la perdita di peso osservata in funzione di quella attesa calcolata come specificato sopra. Il 65% delle repliche delle miscele con il leccio presentano, nell'intero periodo d'incubazione, una decomposizione maggiore di quella attesa. Tra le quattro tipologie di miscele, differenti per le proporzioni delle singole lettiera, sono Ph50Q25P25 e Q50Ph25P25 a concorrere al totale dei valori più elevati di decomposizione costituendo rispettivamente 83% e 67% delle miscele di lettiera che si degradano più rapidamente del previsto; negli ultimi sei mesi, il 100% delle repliche di queste due miscele mostrano una decomposizione maggiore rispetto a quella attesa.

Nelle miscele con il cisto abbiamo una decomposizione nettamente inferiore a quella attesa, 88% delle miscele si degradano più lentamente di quanto atteso durante tutti gli stadi di decomposizione (3, 6 e 13 mesi), ma gli effetti maggiori si osservano durante i primi tre mesi con il 100% dei valori osservati più bassi di quelli attesi (Figura 4.9).

In generale possiamo dire che nelle miscele con il leccio si osservano valori di perdita di peso maggiori rispetto ai valori attesi, queste differenze aumentano con il progredire del processo di decomposizione. L'effetto sinergico, aumenta all'aumentare della degradazione, forse come conseguenza del fatto che il substrato, originariamente molto diverso, diventa sempre più simile e tendono ad attenuarsi anche le differenze tra le specie fungine che colonizzano le lettiera in miscela come è stato dimostrato da uno studio condotto nella stessa area e sulle stese specie da Lughini et al. (2008), questo consente un più efficiente trasferimento di risorse da una lettiera all'altra.

Gli effetti della diversità di lettiera sulla decomposizione possono derivare dalle proprietà chimico-fisiche contrastanti delle specie componenti la miscela. Il trasferimento di nutrienti e di altri componenti chimici quali composti organici solubili

dalla lettiera di specie più degradabili, come la fillirea, a quelle più recalcitranti, come leccio e lentisco, potrebbe avvenire attraverso il rilascio nel mezzo circostante la lettiera ed il conseguente assorbimento da parte dei microrganismi associati alla lettiera di foglie delle altre specie.

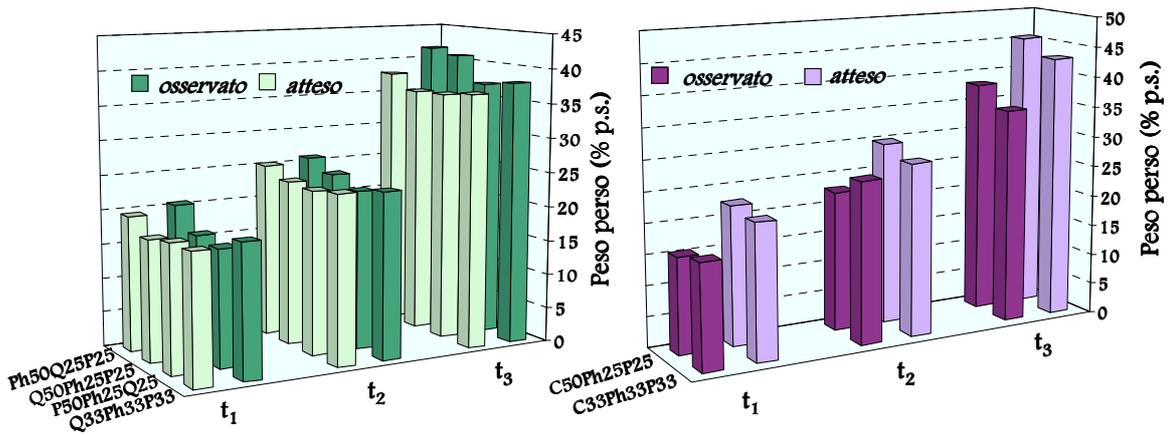


Figura 4.9. Perdita di peso osservata dopo 3 (t_1), 6 (t_2) e 13 (t_3) mesi delle miscele di lettiera confrontata con la perdita di peso attesa sulla base della decomposizione delle lettiere singole pure. *Sinistra*: miscele con leccio, lentisco e fillirea. *Destra*: miscele con cisto, lentisco e fillirea.

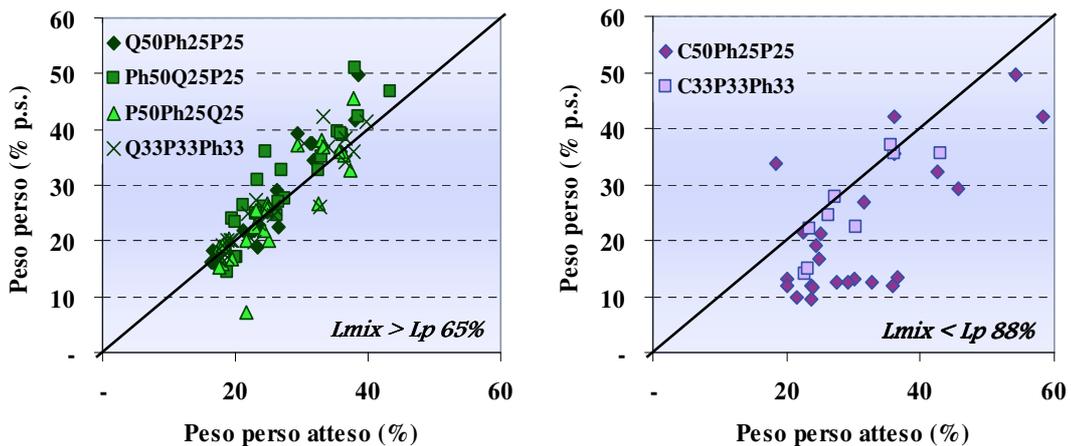


Figura 4.10. Valori osservati della perdita di peso delle miscele di lettiera (L_{mix}) in funzione dei valori attesi sulla base della decomposizione dalle lettiere pure (L_p) concorrenti alla formazione della miscela. *Sinistra*: miscele con leccio, lentisco e fillirea. *Destra*: miscele con cisto, lentisco e fillirea. La linea indica il caso in cui i valori osservati e quelli attesi siano uguali (1:1).

In alternativa, nutrienti ed altri composti possono essere trasportati attraverso le ife fungine che fisicamente connettono le lettiere di differenti specie (Gartner and Cardon 2004, Hattenschwiler et al. 2005). Più avanti, dopo la presentazione della dinamica dei componenti organici strutturali e dei nutrienti, saranno discussi anche i possibili trasferimenti da una lettiera all'altra.

Nelle miscele con il cisto i valori di perdita di peso osservati sono notevolmente più bassi di quelli attesi (Figura 4.9 e 4.10), lasciando ipotizzare l'esistenza di un effetto antagonista. L'effetto antagonista, che porta ad un rallentamento della degradazione del substrato, sembra essere più forte negli stadi iniziali di decomposizione e si riduce con il procedere della decomposizione. Si potrebbe ipotizzare che nelle prime fasi del processo decompositivo, vengano rilasciate sostanze allelopatiche. Questi composti, generalmente prodotti da alcune specie vegetali, inibiscono la crescita di altre piante e sono in grado di inibire l'attività della comunità microbica, includendo in essa batteri (Shaukat et al. 2002) e funghi patogeni e micorrizici (Souto et al. 2000). L'inibizione dell'attività di batteri e funghi rallenta la decomposizione. Con il tempo le sostanze rilasciate dalla lettiera vengono trasformate sia in seguito ad una serie di processi fisico-chimici nel suolo (Makino et al. 1996), sia attraverso trasformazioni chimiche operate dagli stessi microrganismi (Blum et al. 1999), riducendo il loro effetto inibitore. La riduzione dell'effetto fitotossico della lettiera nelle fasi avanzate di decomposizione è stata dimostrata in esperimenti di laboratorio in cui è stata testata la fitotossicità della lettiera di foglie di varie specie di piante mediterranee, tra le quali le lettiere di *Quercus ilex* L., *Cistus incanus* L. e *Cistus monspeliensis* L. sulla crescita delle radici di plantule di altre specie (Bonanomi et al. 2006). Dall'esame della decomposizione della lettiera singole, pure ed in miscela, (Figura 4.7 e 4.8) si evince che a subire l'inibizione è la lettiera di cisto e, in misura minore, la lettiera di lentisco. Non si osservano cambiamenti della decomposizione nella lettiera di fillirea. Quindi, si può ipotizzare che sia la lettiera di fillirea a rilasciare composti che inibiscono la decomposizione delle altre due specie. Della Greca et al. (2008) hanno isolato una serie di composti fitotossici dalle foglie di fillirea raccolte nella stessa area di ricerca. Anche il lentisco produce composti con proprietà fitotossiche (Bulut et al. 2006), tuttavia l'inibizione della decomposizione si registra solo per il cisto che pure produce composti attivi contro le altre specie.

Ci si può chiedere perché fillirea, presente anche nelle miscele con leccio, non determini in queste ultime inibizione della decomposizione. La risposta potrebbe essere nella diversa sensibilità di specie differenti di decompositori presenti sulle singole lettiera nei confronti di tali sostanze.

Nei fatti, le comunità fungine delle lettiera, come riportato nel paragrafo 4.6 e come mostrato da Lughini et al. (2008) in un lavoro parallelo riguardante le stesse lettiera, differiscono per la composizione oltre che per l'abbondanza.

I dati presenti mostrano che la composizione in specie della miscela di lettiera può diversamente influenzare la decomposizione, produrre un incremento, sia pure moderato (0,5%-5%), come nel caso delle miscele con leccio, fillirea e lentisco, o una riduzione marcata (2%-8%), come nel caso delle miscele con cisto, fillirea e lentisco. Alcune osservazioni indirette riportate in letteratura sembrano supportare l'idea che la diversità influenzi meno la decomposizione quando in miscela sono presenti specie con caratteristiche fogliari simili, e di più quando le specie costituenti la miscela differiscono notevolmente per le proprietà fisiche o/e chimiche (Hoorens et al. 2003, Wardle 2003, Schimel and Hattenschwiler 2007, Schindler and Gessner 2009), Comunque in letteratura esistono pareri discordi ed ulteriori osservazioni sarebbero richiesti per validare questa ipotesi.

4.4. Colonizzazione fungina

4.4.1. Lettiere pure

Durante il periodo d'incubazione per le quattro lettiera considerate si osserva un notevole aumento sia del micelio fungino attivo sia del micelio totale (Figura 4.11). Dopo tre mesi d'incubazione la lettiera maggiormente colonizzata è quella di cisto che è la lettiera più ricca in nutrienti. Al sesto mese d'incubazione i valori più alti di biomassa fungina totale si registrano per la lettiera di leccio. Dopo tredici mesi d'incubazione la colonizzazione fungina è più abbondante sulle lettiera di leccio e lentisco.

L'aumento della biomassa fungina nelle fasi più avanzate di degradazione sulle lettiera con un contenuto maggiore di sostanze recalcitranti è presumibilmente correlata alla colonizzazione da parte di funghi basidiomiceti che posseggono enzimi ligninolitici,

quali la permanganato perossidasi, in grado di degradare la lignina (Berg and McClaugherty, 2008). Lughini et al. (2008) in uno studio sulle specie fungine che colonizzano le quattro lettiere, hanno messo in evidenza che nelle fasi avanzate del processo di decomposizione le differenze tra lettiere si riducono notevolmente.

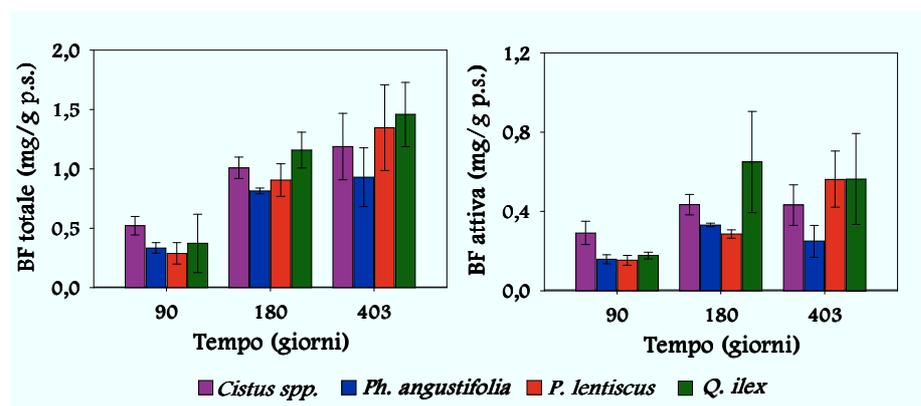


Figura 4.11. Valori medi (\pm e.s.) della biomassa fungina totale (*Destra*) e biomassa fungina attiva (*Sinistra*) delle lettiere pure di cisto, leccio, fillirea e lentisco.

4.4.2. Confronto tra la colonizzazione fungina delle lettiere pure e delle stesse lettiere in miscela

La colonizzazione fungina presenta valori molto variabili sulle singole lettiere nelle diverse miscele in tutti gli stadi di decomposizione e non è possibile perciò riconoscere una chiara tendenza (Figura 4.12 e 4.13).

Solo nel caso delle miscele con il cisto il micelio fungino totale è significativamente ($P < 0.05$) più abbondante nella lettiera di cisto pura che nella lettiera di cisto in miscela nella prima fase (90 giorni) e nella fase più avanzata (403 giorni) del processo (Figura 4.13 *Sotto*).

Questo suggerisce che il micelio fungino della lettiera di cisto è influenzato negativamente dalla presenza delle altre specie, analogamente a quanto osservato per la perdita di peso. La colonizzazione fungina delle lettiere studiate rispecchia la dinamica della perdita di peso, infatti sia la biomassa fungina attiva che quella totale risultano essere positivamente correlati con la perdita di peso ($P < 0.05$) (dati non mostrati).

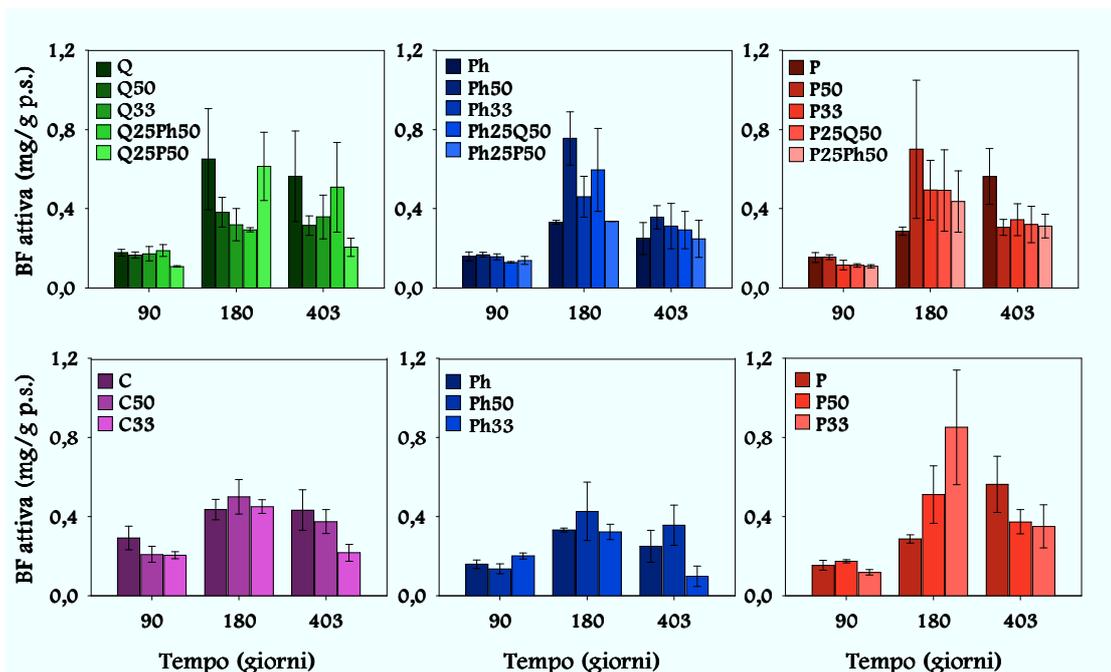


Figura 4.12. Valori medi (\pm e.s.) della biomassa fungina attiva delle lettiere pure ed in miscela di leccio, fillirea e lentisco (*Sopra*) e cisto, fillirea e lentisco (*Sotto*).

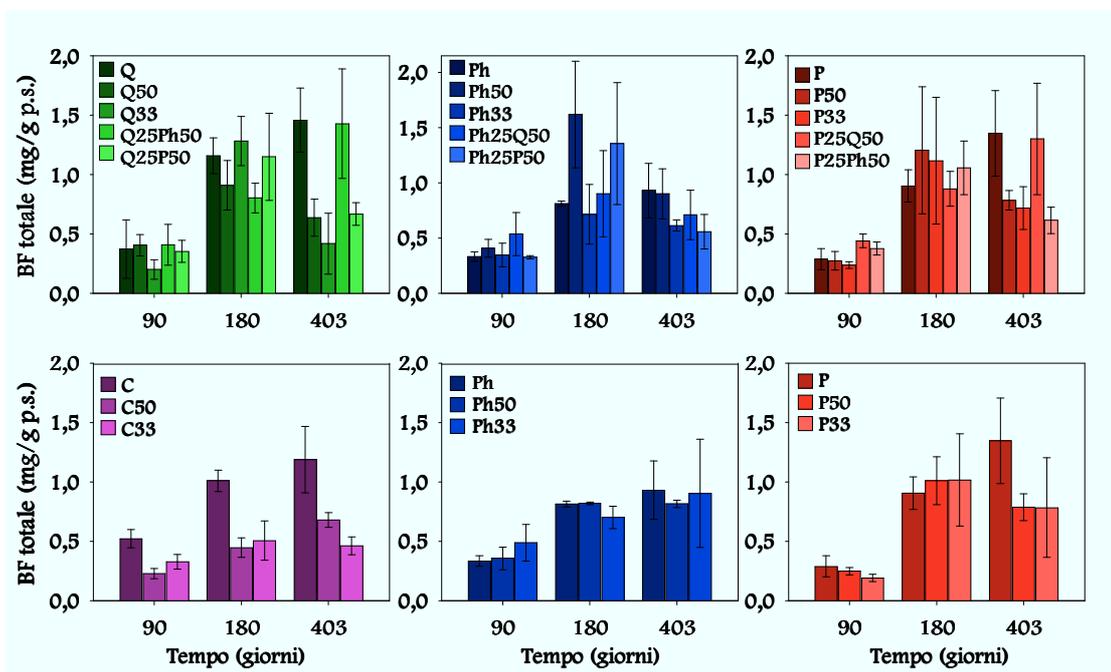


Figura 4.13. Valori medi (\pm e.s.) della biomassa fungina totale delle lettiere pure ed in miscela di leccio, fillirea e lentisco (*Sopra*) e cisto, fillirea e lentisco (*Sotto*).

4.4.3. Confronto tra i valori osservati e i valori attesi di biomassa fungina delle miscele di lettiera

Quando si considera la colonizzazione fungina delle diverse miscele in toto, diventano evidenti gli effetti della diversità della lettiera. Analogamente a quanto discusso per la perdita di peso è stata testata l'ipotesi che le miscele di lettiera non avessero alcuna influenza sull'abbondanza del micelio fungino (Mf) e cioè che:

$$\text{Mf (leccio+fillirea+lentisco)} = \text{Mf leccio} + \text{Mf fillirea} + \text{Mf lentisco}$$

$$\text{Mf (cisto+fillirea+lentisco)} = \text{Mf cisto} + \text{Mf fillirea} + \text{Mf lentisco}$$

I risultati riportati nella Figura 4.14 mostrano che, in generale, nelle miscele di lettiera con il leccio i valori osservati sono superiori a quelli attesi in tutti i casi dopo 3 e 6 mesi e solo in un caso (P50Ph25Q25) dopo 13 mesi, in accordo con l'andamento della dinamica di decomposizione per le stesse miscele (Figura 4.9) confermando che un'elevata colonizzazione fungina comporta una maggiore degradazione del substrato in esame. Si può ipotizzare che la maggiore abbondanza del micelio fungino nella miscela con leccio risulti da una maggiore efficienza di utilizzo del pool di risorse presenti nelle tre lettiera componenti la miscela.

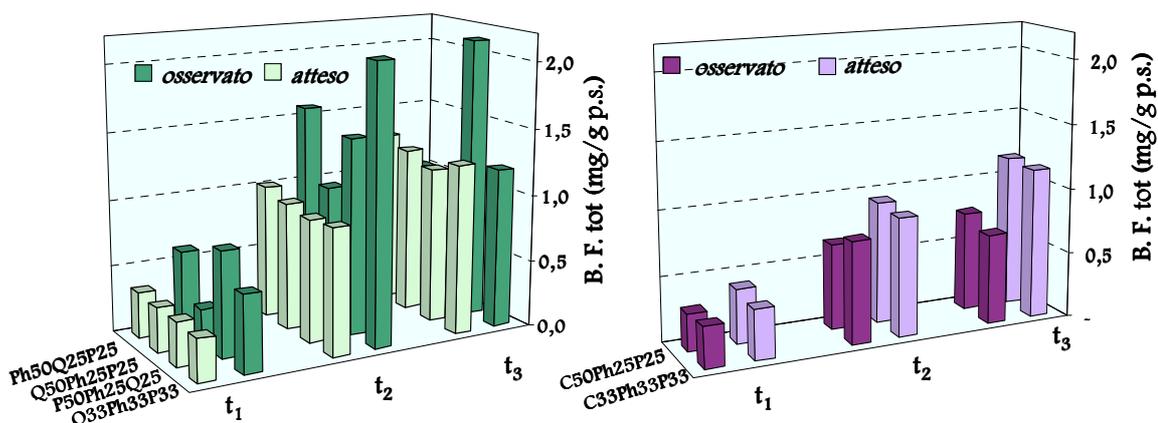


Figura 4.14. Biomassa fungina totale osservata dopo 3 (t_1), 6 (t_2) e 13 mesi (t_3) nelle miscele di lettiera confrontata con la biomassa fungina totale attesa calcolata sulla base della colonizzazione fungina delle lettiera pure. *Destra:* miscele con cisto, lentisco e fillirea. *Sinistra:* miscele con leccio, lentisco e fillirea.

Nelle miscele con cisto, la colonizzazione fungina risulta inferiore a quella attesa in tutti gli stadi di decomposizione (Figura 4.14). Anche in questo caso, i risultati concordano con quanto osservato per la perdita di peso delle stesse miscele. Possiamo quindi concludere che la miscela di cisto con fillirea e lentisco determina una diminuzione della capacità della comunità fungina di colonizzare le lettiere. Questa ridotta colonizzazione potrebbe essere la conseguenza della inibizione del micelio fungino determinato dalla presenza nella miscela di lettiere di sostanze in grado di inibire la germinazione di spore o la crescita del micelio fungino. E' noto che le sclerofille producono polifenoli e che queste sostanze sono in grado di bloccare l'attività enzimatica dei microrganismi e come pure di determinare l'inibizione della germinazione delle spore e della crescita delle ife di funghi saprofiti (Kuiters A.T. 1990, Hattenschwiler and Vitousek 2000). Dai dati relativi alle singole lettiere e la colonizzazione fungina della lettiera di cisto ad essere inibita (Figura 4.13), mentre non ci sono marcate differenze per le altre lettiere con l'eccezione della lettiera di lentisco che dopo 403 giorni di incubazione in miscela mostra una colonizzazione più bassa rispetto alla lettiera pura.

4.5. Cambiamento del contenuto di lignina, cellulosa e ADSS

4.5.1. Lettiere pure

Nella prima fase di decomposizione la lignina viene accumulata nelle lettiere delle quattro specie considerate, in particolar modo dalla lettiera di cisto che raggiunge il 53% del valore iniziale (Figura 4.15).

L'accumulo osservato è dovuto al fatto che il metodo di analisi fa registrare come lignina anche sostanze lignino-simili prodotte durante la decomposizione; esso comunque indica che non c'è degradazione della lignina (Berg and McClaugherty, 2008).

Dopo sei mesi d'incubazione si osserva un ulteriore accumulo, più limitato per le lettiere di lentisco e leccio, mentre nelle lettiere di cisto e fillirea si registra una degradazione. Dopo 13 mesi d'incubazione in tutte le lettiere si osserva una

degradazione della lignina, più ingente nella lettiera di cisto in cui il contenuto di lignina scende a circa il 63% di quello iniziale.

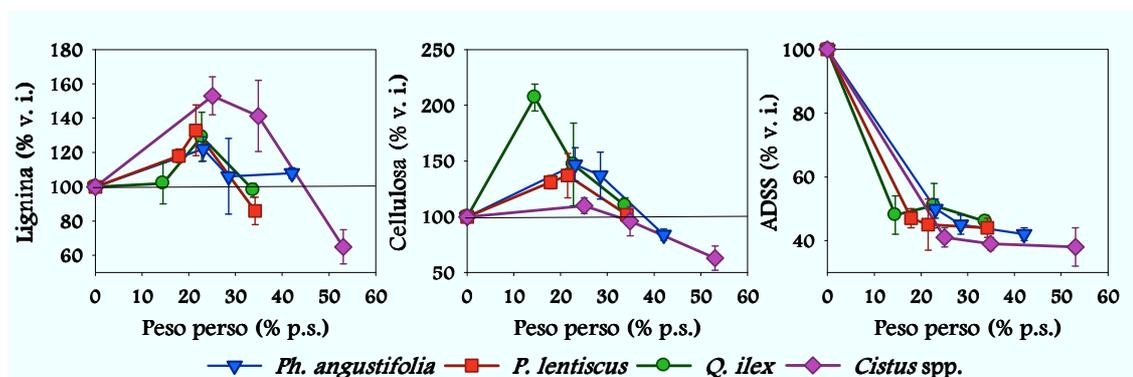


Figura 4.15. Dinamica del contenuto di lignina, cellulosa e ADSS (% v. i. \pm e. s.) in funzione della perdita di peso nelle lettiere pure di cisto, fillirea, lentisco e leccio.

McClaugherty & Berg (1987) hanno ipotizzato che, in lettiere con concentrazioni iniziali di lignina superiori al 30 %, questa comincia a degradarsi già dai primi stadi di decomposizione, mentre in lettiere con più bassa concentrazione iniziale di lignina, come nel presente caso di studio, la degradazione della lignina avvenga a partire dagli stadi più avanzati di decomposizione.

La cellulosa è sicuramente un composto meno recalcitrante rispetto alla lignina e comincia ad essere degradata già nelle prime fasi di decomposizione. Nelle quattro lettiere è stato osservato un incremento di cellulosa nei primi tre mesi di incubazione, seguito da un rapido decremento in tutte le lettiere nelle fasi successive. Aumenti del contenuto di cellulosa nelle fasi precoci di decomposizione sono state riportate da altri autori, ma risultano ancora sconosciuti i meccanismi alla base di questo fenomeno (Berg and McLaugherty 2008, Fioretto et al. 2005). E' noto che gli oomiceti e che i corpi fruttiferi e le spore dei missomiceti hanno pareti cellulari composte da cellulosa e glucani (Alexopuollos, 1996). Inoltre batteri del genere *Rhizobium*, *Pseudomonas* e *Agrobacterium* sintetizzano cellulosa (Cannon and Anderson 1991). Questi microrganismi potrebbero crescere sulle lettiere ed essere responsabili dell'incremento di cellulosa osservato.

Il contenuto di ADSS (sostanze solubili in detergenti acidi) diminuisce rapidamente sulle prime fasi di decomposizione, fino a raggiungere un livello che si mantiene poi costante nelle fasi più avanzate. Le ADSS sono costituite da sostanze,

grassi, zuccheri semplici e proteine, che vengono velocemente degradate dai microrganismi decompositori; la veloce riduzione del contenuto di queste sostanze nella lettiera in decomposizione è ovvia ed è ampiamente riportata in letteratura.

4.5.2. Confronto tra il contenuto di lignina, cellulosa e ADSS delle lettiere pure e delle stesse lettiere in miscela

La dinamica della lignina, della cellulosa e delle ADSS non mostra differenze rilevanti tra le lettiere pure e le lettiere in miscela nella maggior parte dei casi. Le uniche differenze osservate riguardano le lettiere di cisto e di lentisco nelle miscele con cisto, fillirea e lentisco. Nella Figura 4.16 sono riportate le sole differenze riscontrate. In dettaglio la lettiera di cisto in miscela presenta un maggiore accumulo di lignina ed una minore degradazione di ADSS.

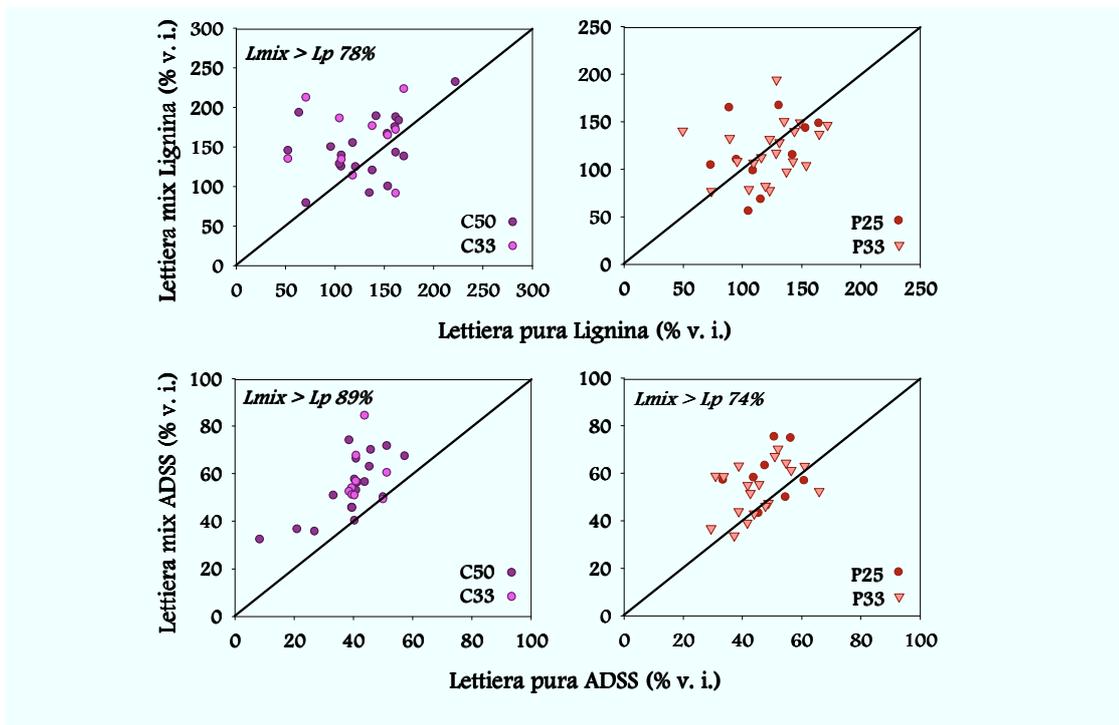


Figura 4.16. Contenuto di lignina e ADSS nelle lettiere di cisto e lentisco in miscela (L_{mix}) in funzione del contenuto di lignina e ADSS nelle lettiere pure (L_p). Miscele con cisto, fillirea e lentisco. La linea indica il caso in cui i valori osservati per la lettiera pura ed in miscela siano uguali (1:1).

4.5.3. Confronto tra i valori osservati e i valori attesi del contenuto di lignina, cellulosa e ADSS delle miscele di lettiera

Nelle miscele di lettiera con leccio, fillirea e lentisco per il contenuto di lignina, cellulosa e ADSS non si osservano differenze rilevanti rispetto al valore atteso considerando il contenuto di questi composti nelle lettiere pure.

Nelle miscele con cisto, fillirea e lentisco si osserva un maggiore accumulo di lignina ed un minore rilascio di ADSS rispetto ai valori attesi considerando la dinamica del contenuto di questi composti nelle lettiere pure (Figura 4.17). Il maggiore accumulo di lignina e la minore velocità di degradazione delle ADSS possono essere collegati alla ridotta degradazione della lettiera e alla minore colonizzazione fungina che si registra in queste miscele.

Nelle miscele con il leccio non si riscontrano particolari effetti dell'associazione di lettiere di differenti specie sulla dinamica del contenuto di lignina, cellulosa e ADSS.

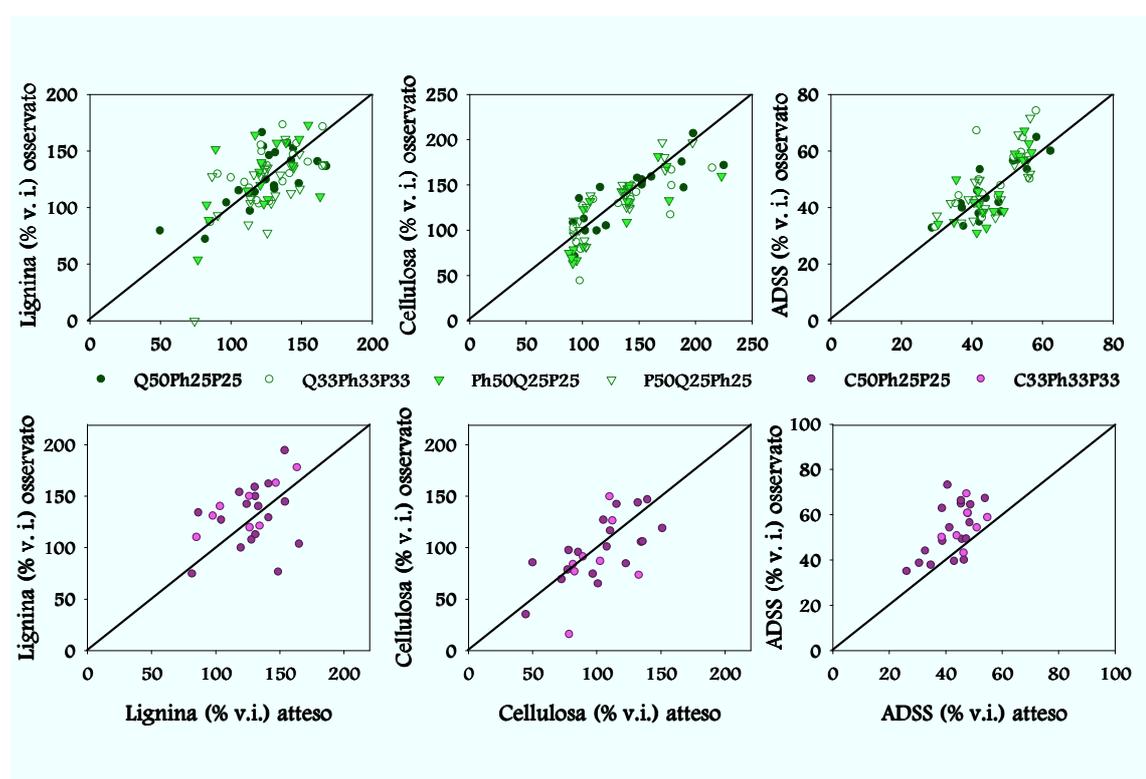


Figura 4.17. Contenuto di lignina, cellulosa e ADSS nelle miscele di lettiera: valori osservati espressi in funzione dei valori attesi calcolati sulla base del contenuto di lignina, cellulosa e ADSS nelle lettiere pure. Miscele con leccio, fillirea e lentisco (*Sopra*) e miscele con cisto, fillirea e lentisco (*Sotto*).

4.6. Dinamica dei nutrienti

4.6.1. Lettiere pure

La dinamica degli elementi durante la decomposizione della lettiera è riportata nella Figura 4.18 dove sono rappresentate (istogrammi) anche le concentrazioni iniziali degli elementi allo scopo di evidenziare le relazioni tra queste ultime e i fenomeni di immobilizzazione e di rilascio.

Tutte le lettiere pure presentano un aumento della quantità assoluta di N durante la fase precoce di decomposizione; mentre nelle fasi avanzate si osserva una tendenza al rilascio (figura 4.18).

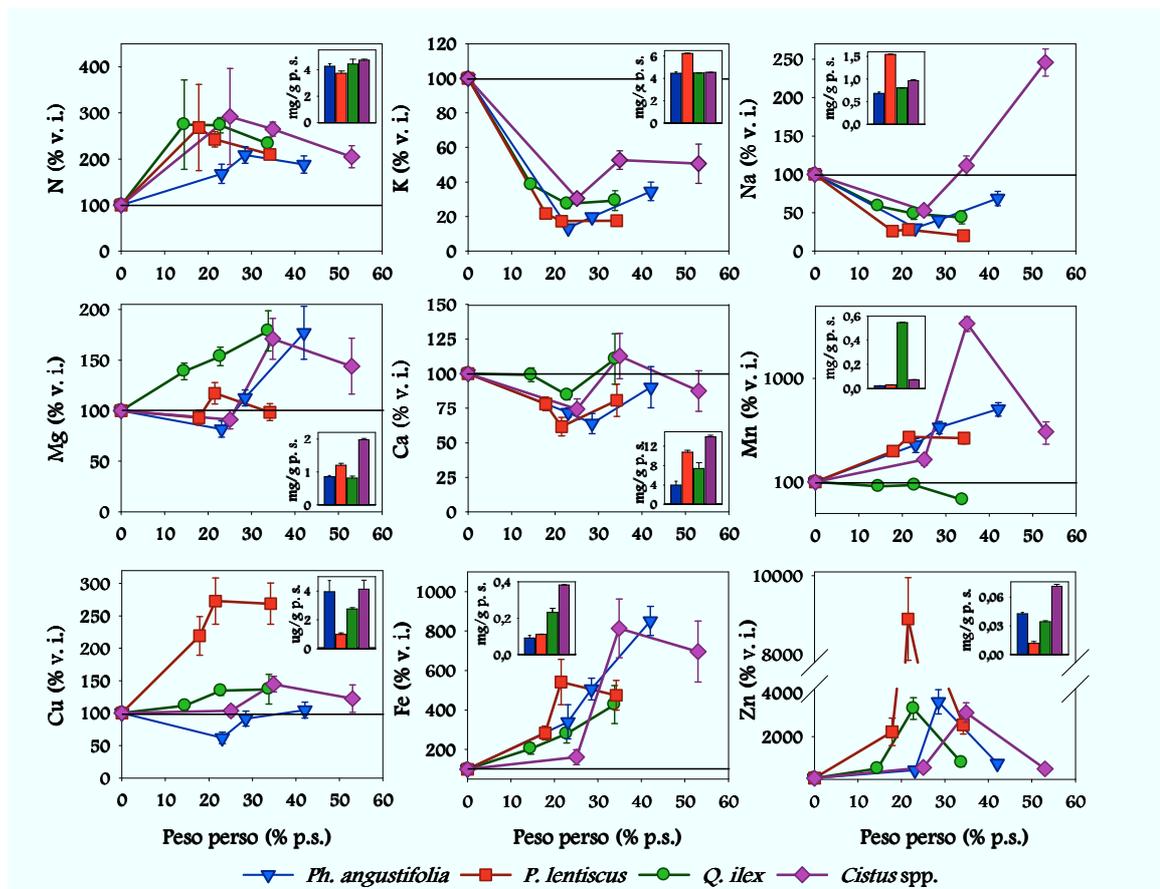


Figura 4.18. Dinamica degli elementi in funzione della perdita di peso nelle lettiere pure di leccio, fillirea, lentisco e cisto, espressa in percentuale del valore iniziale (\pm ES; $n = 8$). I valori del manganese sono riportati in scala logaritmica. Gli istogrammi rappresentano le concentrazioni iniziali degli elementi nella lettiera (mg/g del peso secco della lettiera). Il colore dei simboli identifica le specie negli istogrammi.

L'immobilizzazione di N è dovuta al fatto che questo elemento è presente in basse concentrazioni nella lettiera iniziale. È infatti noto che quando l'N e gli altri nutrienti sono contenuti in concentrazioni limitanti per la crescita microbica vengono immobilizzati, mentre quando sono presenti in concentrazioni superiori a quelle richieste dai microrganismi vengono rilasciati (Gosz et al., 1973; Swift et al., 1979; Berg & Staaf, 1981). L'immobilizzazione dell'N è stata osservata nella lettiera di cisto e di mirto della stessa area di studio anche per concentrazioni iniziali più elevate rispetto a quelle delle specie oggetto del presente lavoro (Fioretto et al., 2001; De Marco, 2001).

Tutte le lettiere pure presentano un rilascio di K e di Na durante le prime fasi di decomposizione (figura 4.18) data la grande mobilità dei due elementi il rilascio è attribuibile a fenomeni di lisciviazione oltre che all'azione dei microrganismi decompositori. Nelle lettiere di fillirea e cisto il rilascio di K e Na nelle fasi precoci di decomposizione è seguito da una immobilizzazione nella fase successiva. Al contrario, per le lettiere di leccio e lentisco è stato osservato un rilascio di K e Na sia nella fase precoce che in quella successiva. In letteratura il rilascio di K (Singh e Shekhar, 1989; Laskowski e Berg, 1993; Rutigliano et al., 1998; Fioretto et al., 2001 e 2003) e Na (Rutigliano et al., 1998; Fioretto et al., 2001) durante il processo decompositivo è stato osservato in molte lettiere.

Durante le prime fasi della decomposizione si assiste ad un modesto rilascio di Mg in tutte le lettiere ad eccezione della lettiera di leccio che è la più povera di Mg, nella quale questo elemento viene trattenuto (Figura 4.18). Nelle fasi più avanzate di decomposizione le lettiere di leccio e fillirea, più povere di Mg, continuano ad accumulare Mg, mentre le lettiere di cisto e lentisco, più ricche di Mg, lo rilasciano (Figura 4.18).

Nelle lettiere pure il Ca viene rilasciato durante la decomposizione (Figura 4.18) dalle lettiere pure di lentisco e fillirea, trattenuto ma non accumulato dalle lettiere di cisto e leccio.

I dati relativi al Mg concordano con la dinamica descritta per questo elemento da alcuni autori (Attiwill, 1968; Edmonds, 1984; Berg et al. 1987; Blair, 1988; Hasegawa e Takeda 1997; Salamanca et al., 1998b). Rutigliano e collaboratori (1998), in uno studio condotto sul Monte Taburno su lettiere di *Fagus sylvatica* L. e *Abies alba* Mill., hanno riscontrato un accumulo di Ca e Mg durante il processo decompositivo. Fioretto e

collaboratori (2001), invece, nella Riserva Naturale di Castel Volturno hanno osservato, studiando la decomposizione in *Cistus incanus* L., un rilascio di Ca dopo un anno del 16% ed un accumulo di Mg. Tuttavia per Mg, in altre specie di ambiente mediterraneo, è stato osservato un rilascio durante il processo decompositivo (Arianoutsou, 1993; Hernandez et al., 1992a,b).

Il Mn si accumula in tutte le lettiera durante la decomposizione, con l'eccezione della lettiera di leccio che è di gran lunga la più ricca in Mn e per la quale non si registrano variazioni significative del contenuto di Mn rispetto al valore iniziale nelle prime fasi di decomposizione, mentre nelle fasi avanzate questo elemento tende ad essere rilasciato (figura 4.18). L'accumulo di Mn durante la decomposizione suggerisce che questo elemento è presente in concentrazioni limitanti per la crescita microbica e viene pertanto immobilizzato e accumulato nella biomassa microbica molto probabilmente per fenomeni di traslocazione attiva nella lettiera ad opera delle ife fungine (Fioretto et al., 2001). Va sottolineato che il Mn è essenziale per il funzionamento dei sistemi enzimatici dei funghi ligninolitici (Archibald e Roy, 1992; Perez e Jeffries, 1992) e pertanto è un importante fattore di regolazione della decomposizione (Berg et al., 2007).

Il Cu viene accumulato dalla lettiera di lentisco, che è la più povera in Cu, mentre la lettiera di fillirea, che è la più ricca di Cu, inizialmente lo rilascia e negli stadi più avanzati tende ad accumularlo. In letteratura altri autori riportano un accumulo di Cu durante la decomposizione (De Marco et al., 2004) ed è stato ipotizzato che basse concentrazioni di questo elemento possano essere limitanti per le attività dei microrganismi fino a determinare un rallentamento della decomposizione nelle fasi più avanzate. A basse concentrazioni, il Cu è infatti un elemento essenziale, in quanto necessario per il funzionamento dei sistemi enzimatici ossidativi responsabili della respirazione microbica; ad elevate concentrazioni esso può invece inibire l'attività dei microrganismi.

Il Fe si accumula in tutte le lettiera in quantità che sono tanto maggiori quanto più bassa è la concentrazione iniziale, fa eccezione il cisto che nonostante abbia elevate concentrazioni iniziali di Fe, lo accumula in grandi quantità (figura 4.18). L'accumulo di Fe nella lettiera durante la decomposizione è probabilmente dovuto a un fenomeno di traslocazione attiva di tale elemento dal suolo al detrito vegetale ad opera delle ife

fungine, ed è stato riportato per diversi tipi di lettiera e per differenti condizioni climatiche (Laskowski e Berg, 1993; Virzo De Santo et al., 2001).

Nelle fasi precoci di decomposizione lo Zn viene accumulato in tutte le lettiere pure, in misura maggiore nella lettiera di lentisco che ne presentava la concentrazione iniziale più bassa. Nelle fasi più avanzate di decomposizione in tutte le lettiere si osserva un veloce rilascio. Anche in altre lettiere per Zn è stato riscontrato un accumulo durante la decomposizione (Berg et al., 1993b; Virzo De Santo, 2001).

4.6.2. Confronto tra il contenuto di nutrienti delle lettiere pure e delle stesse lettiere in miscela

Sono state indagate le relazioni tra la dinamica dei singoli elementi, nella lettiera pura di ciascuna specie e nella lettiera della stessa specie incubata nelle diverse miscele.

Nelle miscele di leccio, fillirea e lentisco (Figura 4.19) si osserva per l'N un accumulo maggiore nelle lettiere di leccio e lentisco in miscela rispetto alle lettiere pure. Nelle miscele di cisto, fillirea e lentisco (Figura 4.19) tutte le lettiere costituenti la miscela mostrano un maggiore accumulo di questo elemento rispetto al caso in cui si decompongano singolarmente.

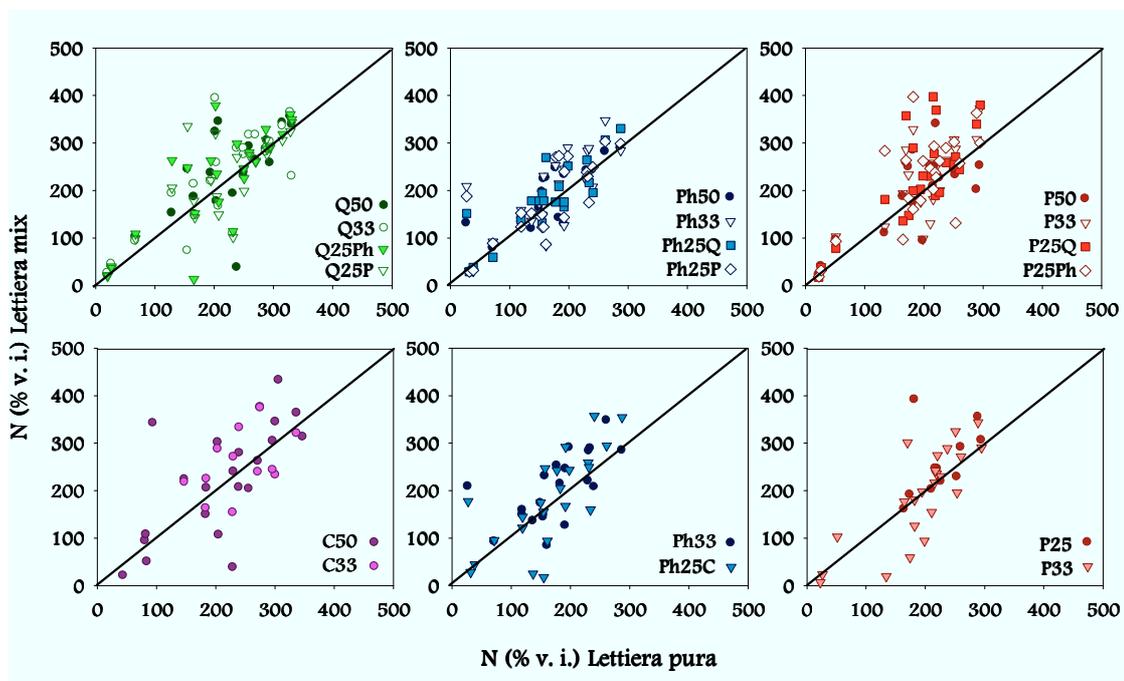


Figura 4.19. Contenuto di N nelle lettiere in miscela (*Lmix*) in funzione del contenuto di N nelle lettiere pure (*Lp*). Miscele con leccio, fillirea e lentisco (*Sopra*) e miscele con cisto, fillirea e lentisco (*Sotto*).

Il rilascio di Na e K (Figura 4.20 e 4.21) è minore in tutte le lettieri componenti le miscele con cisto. Il leccio in miscela con fillirea e lentisco rilascia più potassio (Figura 4.15).

Mg e Ca (Figura 4.22 e 4.23) vengono accumulati in misura maggiore in tutte le lettieri costituenti le miscele con il cisto rispetto alle rispettive lettieri pure. Nelle miscele con leccio, si osserva un maggiore accumulo di Ca in miscela (Figura 4.23).

Briones e Ineson (1996) in uno studio su lettieri miste, hanno osservato che Ca e Mg vengono scambiati tra le differenti lettieri. Ad un decremento significativo di Mg per *Eucalyptus globulus*. Labill. in miscela con *Quercus petraea* Mattuschka. (Liebl.), corrispondeva infatti un aumento nel contenuto finale di questo elemento nella lettiera di quercia. Analogamente nella mistura *Eucalyptus globulus*. Labill – *Fraxinus excelsior* L. la prima specie mostrava un aumento di Ca e la seconda un suo decremento. Questo esempio supporta l'ipotesi che ci siano movimenti di nutrienti tra specie nelle lettieri miste, apparentemente guidati da gradienti di concentrazione.

Nelle miscele di leccio, fillirea e lentisco il Mn (Figura 4.24) rispetto alla lettiera pura è rilasciato in maggiore misura dal leccio e accumulato in maggiore misura da fillirea e lentisco. Questo andamento indica che il Mn è traslocato dalla lettiera più ricca a quelle più povere verosimilmente attraverso le ife fungine. Nelle miscele di cisto, fillirea e lentisco si registra un maggior accumulo in miscela per cisto e lentisco (Figura 4.24).

Cu è accumulato nelle lettieri di leccio e lentisco in miscela (Figura 4.25). Nelle miscele con cisto si osserva un accumulo maggiore di Cu per tutte le lettieri in miscela rispetto alle lettieri pure (Figura 4.25).

Anche il Fe (Figura 4.26) sembra essere accumulato in misura maggiore in tutte le lettieri costituenti le miscele con cisto, mentre i dati relativi alle lettieri costituenti le miscele con leccio indicano un accumulo maggiore di Fe nella lettiera di lentisco in miscela (Figura 4.26).

I dati per Zn (Figura 4.27) indicano che nelle miscele con leccio Zn subisce un accumulo maggiore nella lettiera di leccio, mentre non c'è alcun chiaro effetto per le miscele con cisto.

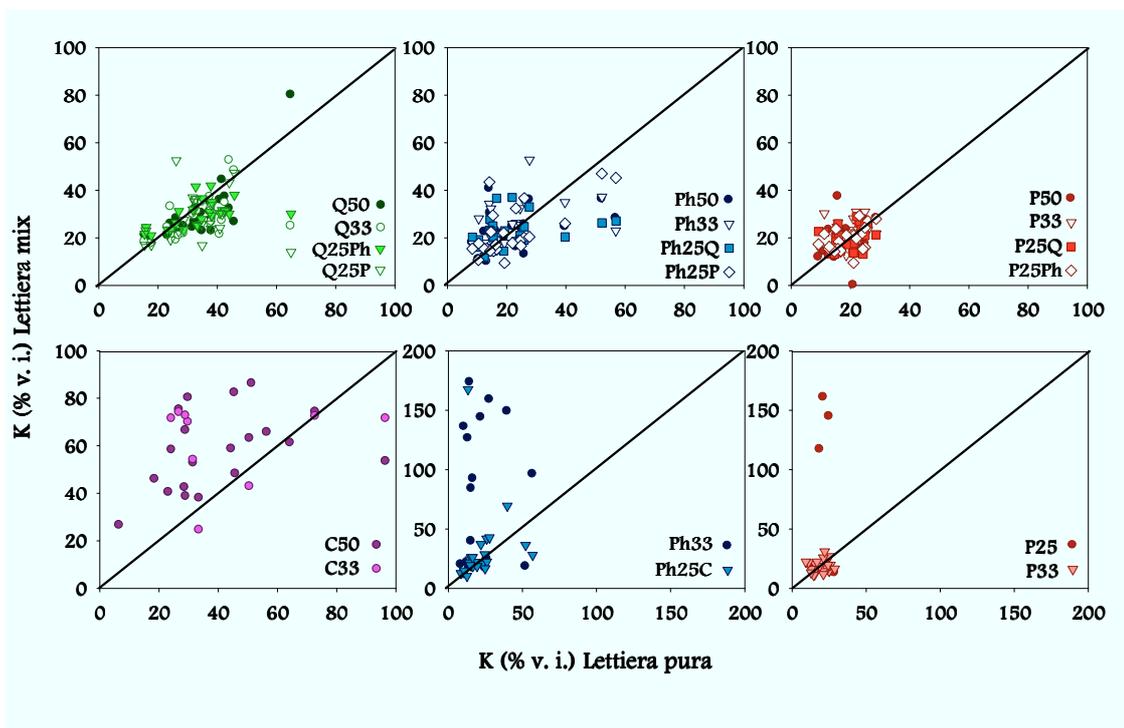


Figura 4.20. Contenuto di K nelle lettere in miscela (*Lmix*) in funzione del contenuto di K nelle lettere pure (*Lp*). Miscele con leccio, fillirea e lentisco (*Sopra*) e miscele con cisto, fillirea e lentisco (*Sotto*).

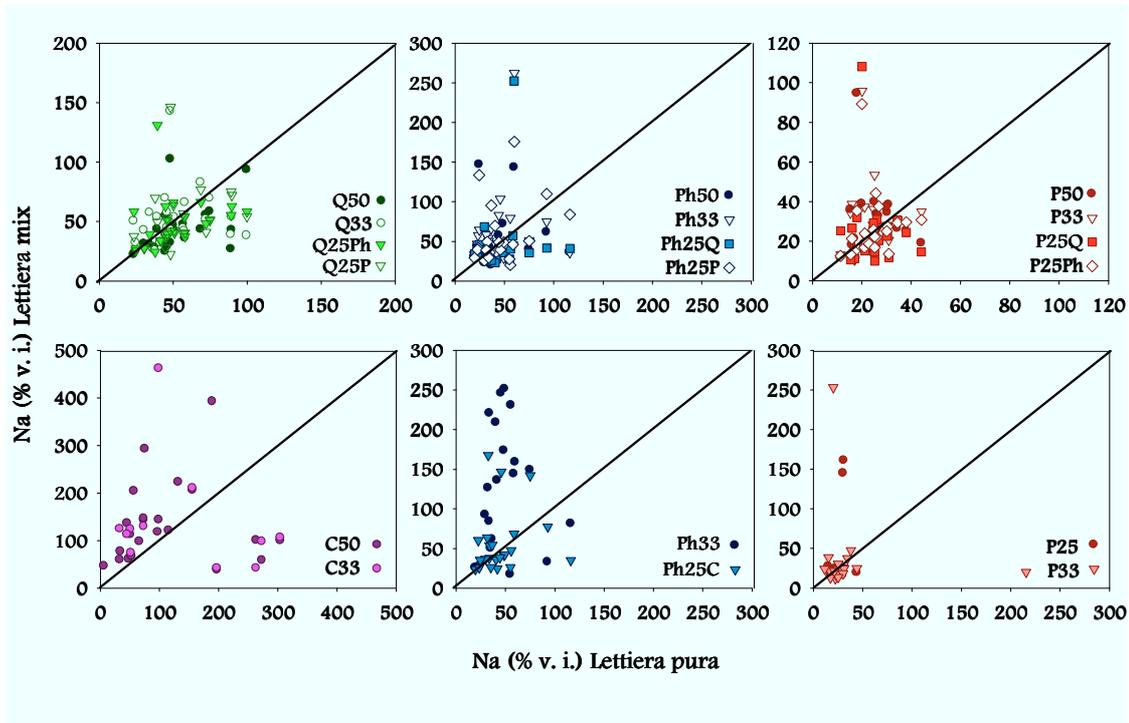


Figura 4.21. Contenuto di Na nelle lettere in miscela (*Lmix*) in funzione del contenuto di Na nelle lettere pure (*Lp*). Miscele con leccio, fillirea e lentisco (*Sopra*) e miscele con cisto, fillirea e lentisco (*Sotto*).

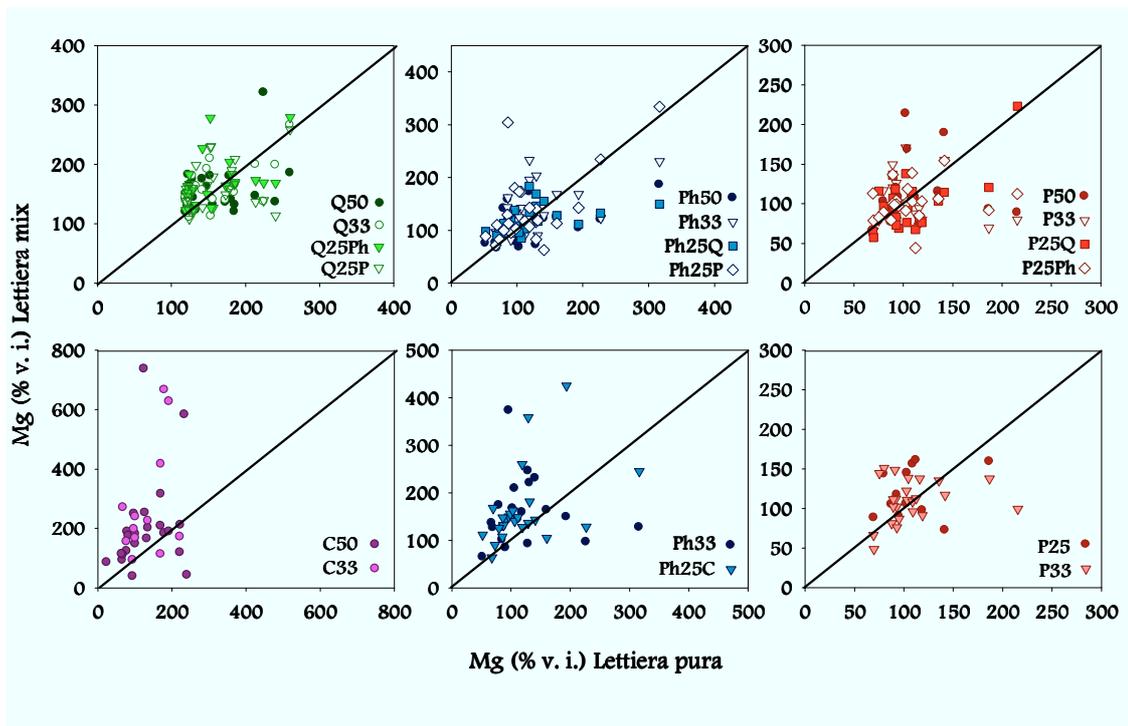


Figura 4.22. Contenuto di Mg nelle lettiera in miscela (*Lmix*) in funzione del contenuto di Mg nelle lettiera pure (*Lp*). Miscele con leccio, fillirea e lentisco (*Sopra*) e miscele con cisto, fillirea e lentisco (*Sotto*).

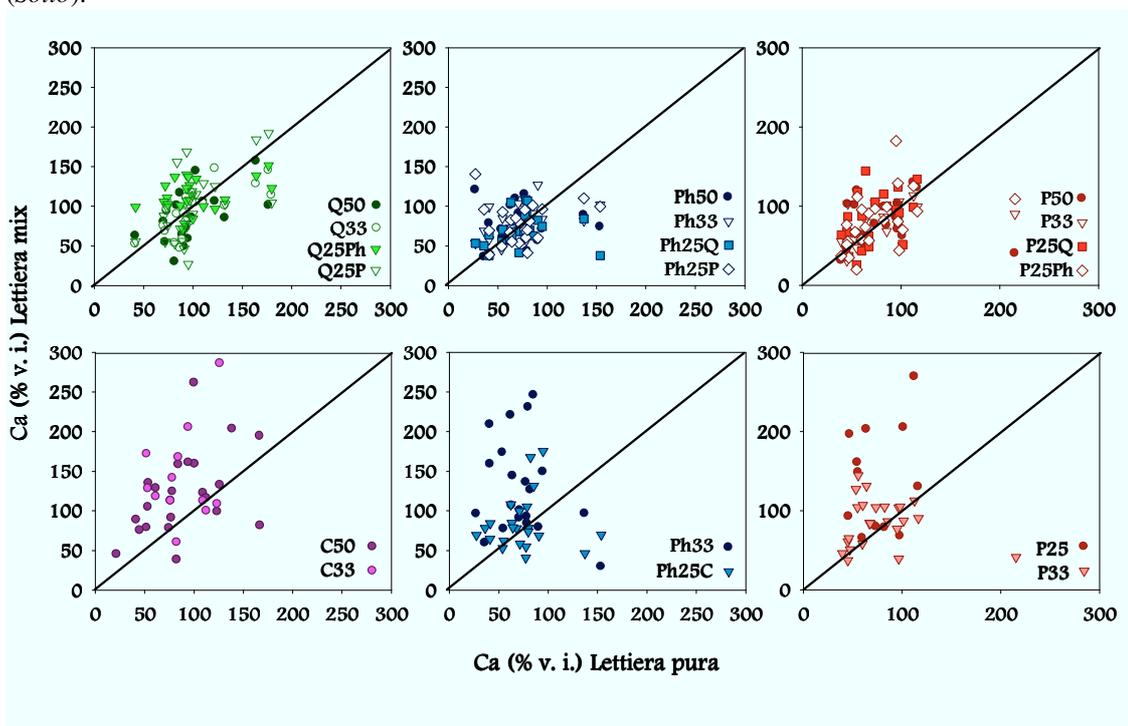


Figura 4.23. Contenuto di Ca nelle lettiera in miscela (*Lmix*) in funzione del contenuto di Ca nelle lettiera pure (*Lp*). Miscele con leccio, fillirea e lentisco (*Sopra*) e miscele con cisto, fillirea e lentisco (*Sotto*).

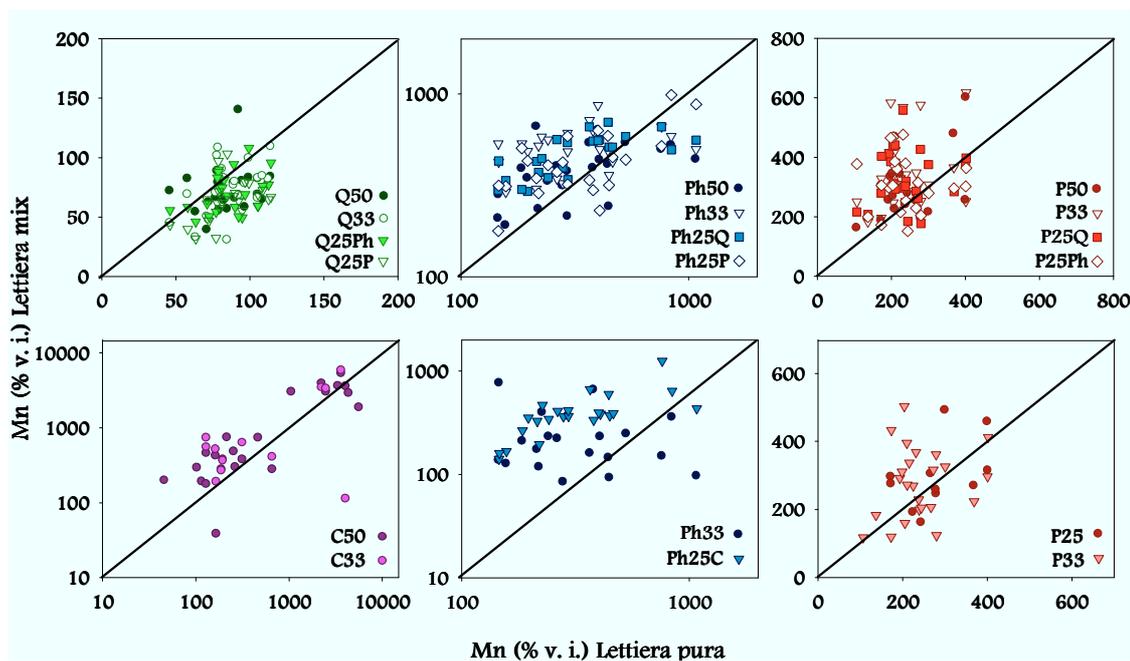


Figura 4.24. Contenuto di Mn nelle lettere in miscela (*Lmix*) in funzione del contenuto di Mn nelle lettere pure (*Lp*). Miscele con leccio, fillirea e lentisco (*Sopra*) e miscele con cisto, fillirea e lentisco (*Sotto*). I valori relativi alle lettere di cisto e fillirea sono riportati in scala logaritmica.

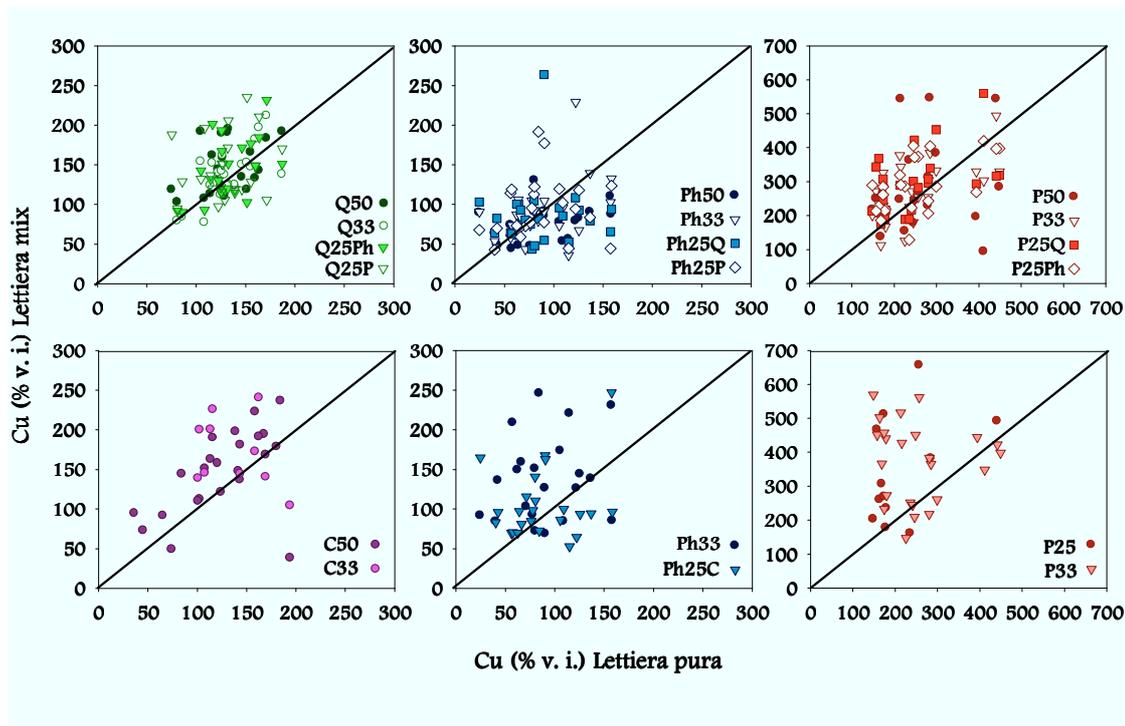


Figura 4.25. Contenuto di Cu nelle lettere in miscela (*Lmix*) in funzione del contenuto di Cu nelle lettere pure (*Lp*). Miscele con leccio, fillirea e lentisco (*Sopra*) e miscele con cisto, fillirea e lentisco (*Sotto*).

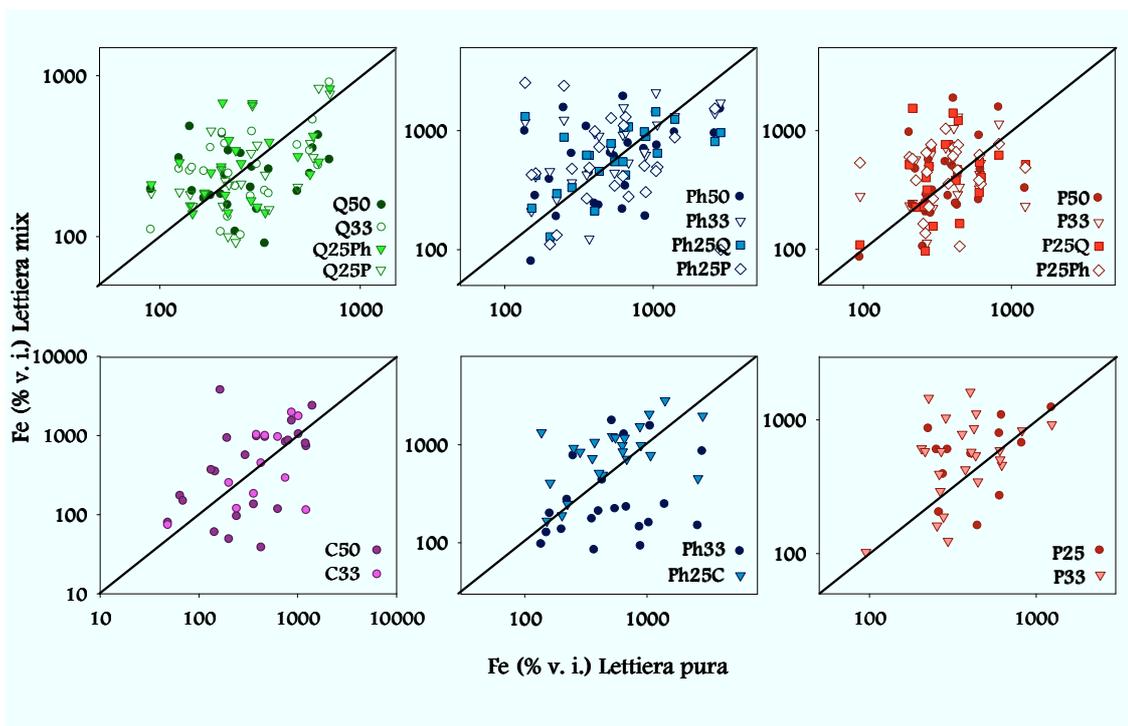


Figura 4.26. Contenuto di Fe nelle lettere in miscela (*Lmix*) in funzione del contenuto di Fe nelle lettere pure (*Lp*). Miscele con leccio, fillirea e lentisco (*Sopra*) e miscele con cisto, fillirea e lentisco (*Sotto*). I valori sono riportati in scala logaritmica.

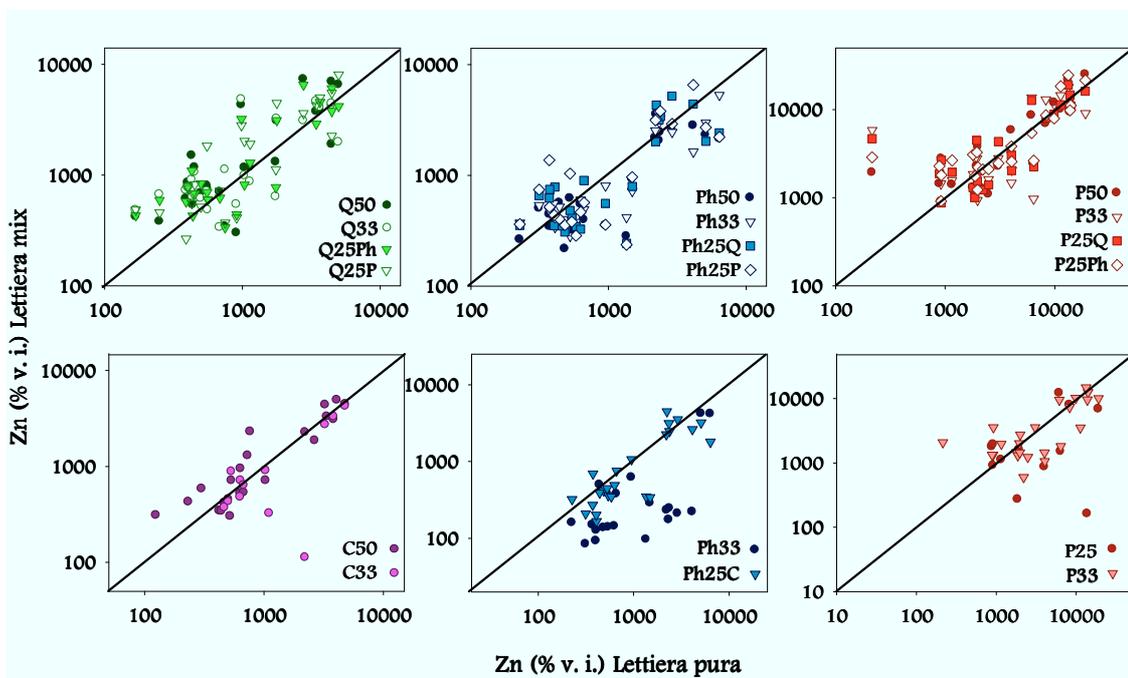


Figura 4.27. Contenuto di Zn nelle lettere in miscela (*Lmix*) in funzione del contenuto di Zn nelle lettere pure (*Lp*). Miscele con leccio, fillirea e lentisco (*Sopra*) e miscele con cisto, fillirea e lentisco (*Sotto*). I valori sono riportati in scala logaritmica.

4.6.3. Confronto tra la dinamica degli elementi osservata nelle miscele di lettiera e la dinamica attesa

Per mettere in evidenza eventuali effetti delle miscele di lettiera sulla dinamica degli elementi sono stati espressi nei grafici 4.28 e 4.29 i valori osservati nelle miscele in tutto il corso della decomposizione in funzione di quelli attesi sulla base della dinamica osservata nelle lettiere pure nella ipotesi di nessun effetto, e cioè:

$$E(\text{leccio+fillirea+lentisco}) = E \text{ leccio} + E \text{ fillirea} + E \text{ lentisco}$$

$$E(\text{cisto+fillirea+lentisco}) = E \text{ cisto} + E \text{ fillirea} + E \text{ lentisco}$$

Nelle miscele con leccio, fillirea e lentisco (Figura 4.28) si osservano differenze tra il valore osservato e quello atteso per N, Mn e Cu. I tre elementi vengono accumulati in misura maggiore rispetto a quanto ci si attendeva considerando la dinamica di questi elementi nelle lettiere pure delle specie costituenti la miscela. L'effetto è più marcato per N e Mn dove rispettivamente la percentuale dei dati relativi all'incremento dell'accumulo è 74% e 78%, mentre in Cu si osserva un maggiore accumulo solo nel 68% dei casi.

Nelle miscele con cisto, fillirea e lentisco (Figura 4.29) per tutti gli elementi, ad eccezione dello Zn si osserva nel 70%-85% dei casi un maggiore accumulo nelle miscele rispetto al valore atteso considerando le dinamiche dei nutrienti nelle lettiere delle specie pure. In generale possiamo affermare che nelle miscele che nelle miscele si osserva una forte tendenza a trattenere i nutrienti. Tuttavia l'esame integrato di tutti gli indicatori di decomposizione utilizzati, porta a spiegazioni diverse per le due tipologie di lettiera.

Nelle miscele con il cisto, il rallentamento della decomposizione attribuibile a fenomeni di inibizione dell'attività dei decompositori da parte di sostanze rilasciate da una delle lettiera è responsabile del rallentamento della mineralizzazione degli elementi che si presenta come un fenomeno generale.

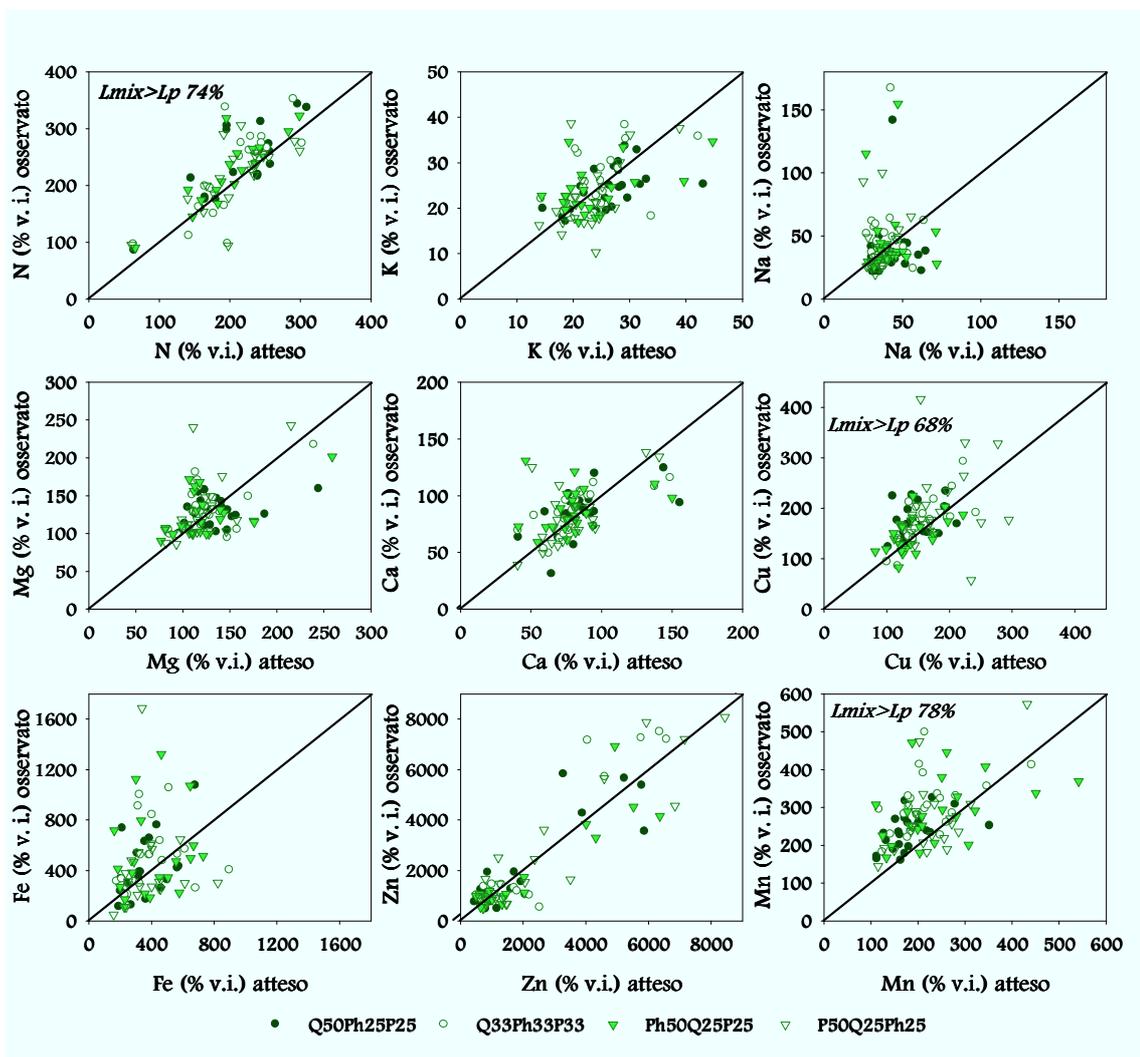


Figura 4.28. Valori osservati della dinamica dei nutrienti nelle miscele di lettiera con leccio, lentisco e fillirea in funzione dei valori attesi sulla base della dinamica dei nutrienti nelle lettiere pure concorrenti alla formazione della miscela. I valori dello zinco sono riportati in scala logaritmica.

Nel caso delle miscele con leccio, la traslocazione del Mn dalla lettiera più ricca (leccio) alle lettiere più povere limita il rilascio di un elemento indispensabile ai decompositori della lignina. Anche per l'azoto si può ipotizzare una più efficiente utilizzazione di una risorsa limitante per l'attività dei microrganismi basata sulla condivisione del pool di risorse delle lettiere componenti la miscela mediata da ife fungine che collegano tra loro le lettiere. Questa interpretazione è supportata dalla dinamica degli elementi osservata nelle quattro lettiere pure e in miscela.

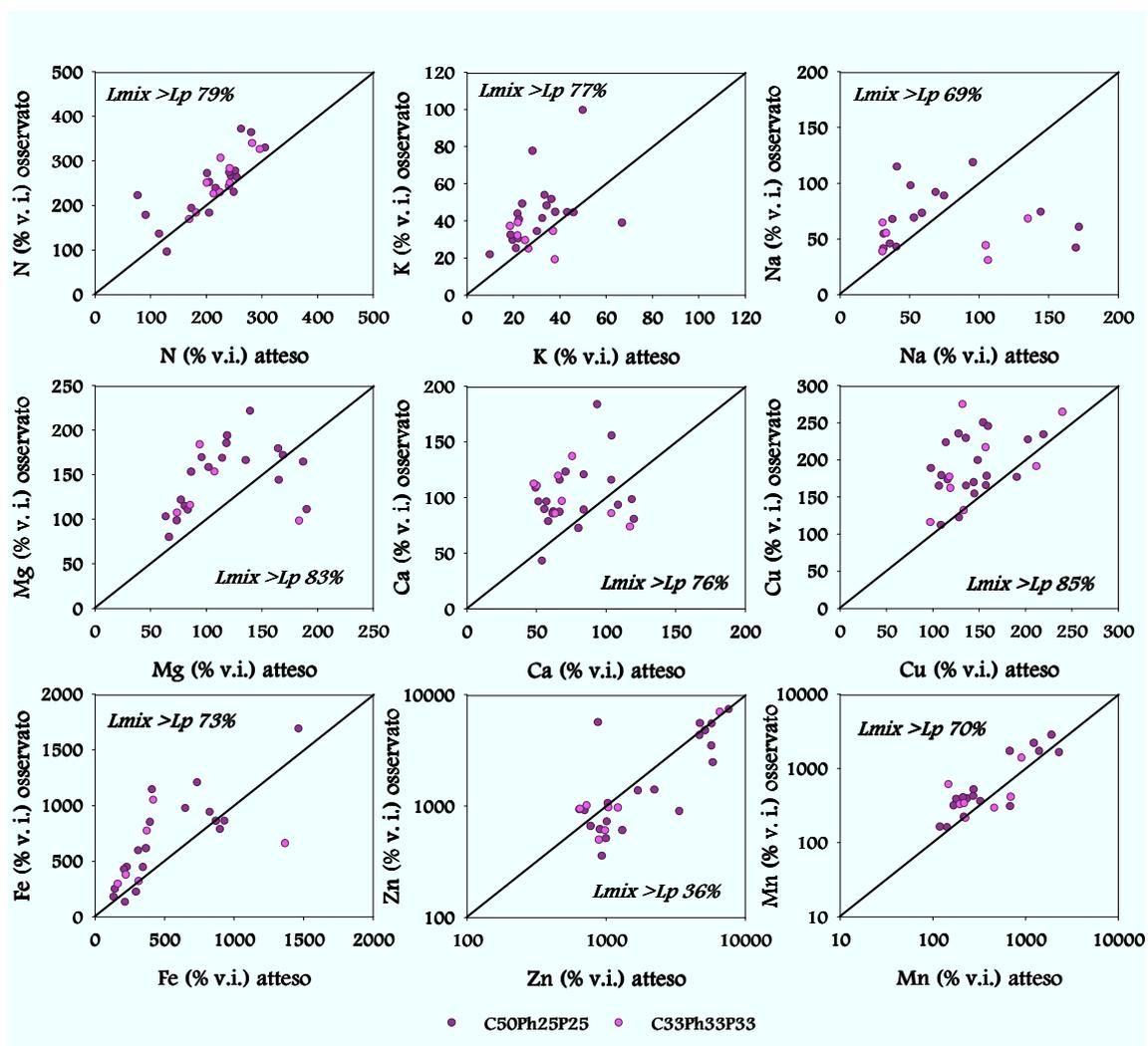


Figura 4.29. Valori osservati della dinamica dei nutrienti nelle miscele di lettiera con cisto, lentisco e fillirea in funzione dei valori attesi sulla base della dinamica dei nutrienti nelle lettiere pure concorrenti alla formazione della miscela. I valori del manganese e dello zinco sono riportati in scala logaritmica.

5. CONCLUSIONI

L'analisi della dinamica di decomposizione delle lettiera pure di *Phillyrea angustifolia*, *Quercus ilex*, *Pistacia lentiscus* e *Cistus* sp., ha evidenziato differenze tra le quattro lettiera che riflettono le differenze di composizione chimica iniziale. Per le lettiera di cisto e fillirea è stata osservata una decomposizione maggiore rispetto alle lettiera di leccio e lentisco. L'elevata degradabilità di cisto può essere la conseguenza delle caratteristiche fisiche-chimiche e morfologiche di questa lettiera. Nelle foglie di cisto si registrano la più elevata concentrazione di nutrienti, un basso rapporto lignina/N, valori di area fogliare specifica elevati e basso grado di sclerofillia, che rendono i tessuti fogliari più facilmente attaccabili da parte degli organismi decompositori. La maggiore degradabilità della fillirea rispetto alle altre due specie di sclerofille si spiega sulla base del basso contenuto in lignina e del basso rapporto lignina/N, addirittura inferiore a quello del cisto.

Sia nelle miscele con leccio che in quelle con cisto, i valori di decomposizione differiscono da quelli attesi evidenziando pertanto una risposta non additiva la cui intensità varia in funzione delle proporzioni delle specie componenti la miscela. Nelle miscele con leccio, lentisco e fillirea è stata osservata una perdita di peso più alta (variabile da + 0,5% a + 5%) rispetto al dato atteso. Nelle miscele con cisto, fillirea e lentisco è stata invece osservata una perdita di peso più bassa (variabile da - 2% a - 8%) rispetto a quella attesa. In entrambi i tipi di miscela si osserva dunque un effetto non additivo ma di segno opposto e cioè un effetto sinergico nelle miscele di leccio, fillirea e lentisco e un effetto antagonista nelle miscele di cisto, fillirea e lentisco.

L'intensità della risposta varia in funzione della fase di decomposizione. Infatti quando si considera l'intero periodo d'incubazione solo il 65% delle miscele con il leccio presentano una decomposizione maggiore di quella attesa. Nelle fasi più avanzate di degradazione invece la maggior parte (81%) delle miscele hanno una decomposizione maggiore di quella attesa. L'88% delle miscele con cisto si degradano più lentamente di quanto atteso, quando si considera l'intero periodo d'incubazione, ma gli effetti maggiori si osservano durante i primi tre mesi quando il 100% dei valori osservati per le miscele sono più bassi di quelli attesi. Sembra dunque che in entrambi i tipi di miscela la risposta sia correlata a processi che hanno luogo in una specifica fase della decomposizione.

La decomposizione delle singole lettieri nella miscela evidenzia che le tre specie componenti rispondono in modo diverso. In particolare nelle miscele leccio-fillirea-lentisco, la decomposizione del leccio è maggiore (variabile da + 1% a + 6%) che nella lettiera pura; la lettiera di lentisco in miscela presenta un leggero incremento di decomposizione rispetto alla lettiera pura, mentre in fillirea non si rileva nessun effetto in miscela. Nelle miscele cisto-fillirea-lentisco, la decomposizione della lettiera di cisto è fortemente inibita (variabile da - 8% a - 13%), per il lentisco si osserva una leggera inibizione, mentre per la fillirea non si osserva nessun effetto.

L'analisi degli altri indici di decomposizione aiuta a chiarire i meccanismi che sono alla base degli effetti osservati.

Nelle miscele di lettieri con il leccio i valori di colonizzazione fungina osservati sono superiori a quelli attesi, confermando che ad una elevata colonizzazione fungina corrisponde una maggiore degradazione del substrato in esame. Si può ipotizzare che la maggiore abbondanza del micelio fungino nelle miscele con leccio risulti da una maggiore efficienza di utilizzo del pool di risorse presenti nelle tre lettieri componenti la miscela. Si può arguire anche che nelle miscele con leccio l'aumento dell'effetto sinergico all'aumentare della degradazione possa essere dovuto alla presenza sulle lettieri in miscela di comunità fungine più omogenee tra loro che consentono un più efficiente trasferimento di risorse da una lettiera all'altra, come suggeriscono i risultati di una ricerca parallela condotta da Lughini et al. (2008) sulle stesse lettieri.

Nelle miscele con leccio, fillirea e lentisco si osservano differenze tra il valore osservato e quello atteso per l'accumulo di N, Mn e Cu; in particolare l'accumulo dei tre elementi è maggiore rispetto a quello atteso. Per N e Mn si osserva un incremento dell'accumulo nel 74% e nel 78% delle miscele, mentre per Cu si osserva un incremento dell'accumulo solo nel 68% dei casi. I dati relativi alle singole lettieri in miscela indicano che la lettiera di leccio pura rilascia Mn e che il rilascio è maggiore quando il leccio è in miscela; le lettieri di fillirea e di lentisco in miscela accumulano più manganese; poiché la miscela nel suo insieme accumula Mn, è lecito pensare che avviene, verosimilmente attraverso le ife fungine, una traslocazione del manganese dalla lettiera più ricca (leccio) alle lettieri più povere con il risultato di una immobilizzazione nella miscela di un elemento indispensabile ai funghi che degradano la lignina e un conseguente effetto positivo sulla decomposizione. Anche per l'azoto si

può ipotizzare una più efficiente utilizzazione di una risorsa limitante per l'attività dei microrganismi basata sulla condivisione del pool di risorse delle lettiere componenti la miscela mediata da ife fungine che collegano tra loro le lettiere. Questa interpretazione è supportata dalla dinamica degli elementi osservata nelle lettiere pure e in miscela e nella miscela nel suo complesso.

Nelle miscele con il cisto, come è stato già detto sopra, i valori di perdita di peso osservati sono notevolmente più bassi di quelli attesi, lasciando ipotizzare l'esistenza di un effetto antagonista che è più forte negli stadi iniziali di decomposizione e si riduce nelle fasi più avanzate. Questo fenomeno potrebbe essere spiegato dal rilascio di sostanze allelopatiche dalla lettiera nelle prime fasi del processo decompositivo che perderebbero poi in parte la loro attività per effetto di una serie di processi fisico-chimici o dell'attività microbica. Bonanomi e al. (2006) hanno dimostrato per una serie di specie mediterranee l'effetto allelopatico di estratti di lettiera nei primi stadi di decomposizione mentre gli estratti di lettiera in stadi più avanzati di decomposizione erano meno attivi. La presenza di sostanze allelopatiche nelle miscele di lettiera con cisto può spiegare il fatto che la colonizzazione fungina in queste miscele è minore di quella attesa. Dall'esame della decomposizione delle tre lettiere, pure ed in miscela, si evince che a subire l'inibizione è la lettiera di cisto e, in misura minore, la lettiera di lentisco. Non si osservano cambiamenti della decomposizione nella lettiera di fillirea. Quindi, si può ipotizzare che sia la lettiera di fillirea a rilasciare composti che inibiscono la decomposizione delle altre due specie. Questa ipotesi è supportata dal fatto che le foglie di fillirea producono polifenoli con attività fitotossica.

Il fatto che la lettiera di fillirea, presente anche nelle miscele con leccio, non determini in queste ultime inibizione della decomposizione, potrebbe essere spiegato dalla diversa sensibilità alle sostanze inibitrici degli organismi decompositori dei primi stadi di decomposizione che, come è stato osservato per le comunità fungine, sono molto specifici per un determinato substrato, mentre nelle fasi più avanzate di decomposizione le differenze si attenuano notevolmente, così come si attenua l'effetto delle sostanze inibitrici.

Nelle miscele con il cisto, il rallentamento della decomposizione è responsabile del rallentamento della mineralizzazione di tutti gli elementi analizzati. Nelle miscele

con leccio, dove invece la decomposizione è accelerata, la lettiera tende a trattenere principalmente i nutrienti essenziali nel processo quali manganese e azoto.

In conclusione i dati presentati mostrano che la composizione in specie della miscela di lettiera può diversamente influenzare la decomposizione, produrre un incremento, sia pure moderato, come nel caso delle miscele con leccio, fillirea e lentisco, o una riduzione marcata, come nel caso delle miscele con cisto, fillirea e lentisco. Il diverso segno (positivo o negativo) e la diversa entità dell'effetto potrebbero essere dovuti alle differenze tra le lettiera costituenti la miscela. E' stato ipotizzato da altri autori che, a parità di numero di specie presenti nella miscela, l'effetto sia più forte nelle miscele composte da lettiera con caratteristiche chimico-fisiche e morfologiche più dissimili. Nel caso studiato la miscela con cisto, fillirea e lentisco è quella che comprende specie di lettiera più dissimili in particolare per le caratteristiche fogliari del cisto, specie mesofilla, ricco di nutrienti, e della filiera e del lentisco, specie sclerofille.

Altri studi sono necessari per meglio comprendere quali siano i meccanismi alla base dei diversi effetti osservati e per ampliare le conoscenze sull'effetto della diversità di specie sulla decomposizione in ambiente mediterraneo. Questi studi potranno consentire una stima più realistica del sequestro del carbonio nel suolo e delle emissioni di anidride carbonica dal complesso ed eterogeneo mosaico costituito dalla macchia mediterranea.

6. BIBLIOGRAFIA

- Aber J.D., Melillo J.M., McClaugherty C.A. 1990. Predicting long-term patterns of mass loss, nitrogen dynamics, and soil organic matter formation from initial fine litter chemistry in temperate forest ecosystems. *Can. J. Bot.* 68:2201–8
- Alfani A., Baldantoni D., Maisto G., Bartoli G., Virzo De Santo A. 2000. Temporal and spatial variation in C,N,S and trace element contents in the leaves of *Quercus ilex* within the urban area of Naples. *Environmental pollution* 109:119-129.
- Anderson J.M. 1977. The organization of soil animal communities. *Ecol. Bull.* 25:15–23
- Archibald F. and Roy B. 1992. Production of manganic chelates by laccase from the lignin degrading fungus *Trametes (Coriolus) versicolor*. *Applied and Environmental Microbiology* 58: 1496.-1499.
- Aronne G., De Micco V. 2001. Seasonal dimorphism in the Mediterranean *Cistus incanus* L. subsp. *incanus*. *Annals of Botany* 87: 789-794.
- Balvanera, P., Pfisterer A. B., Buchmann N., He J.-S., Nakashizuka T., Raffaelli D., and Schmid B. 2006. Quantifying the evidence for biodiversity effects on ecosystem functioning and services. *Ecology Letters* 9:1146–1156.
- Bardgett R.D., Shine A. 1999. Linkages between plant litter diversity, soil microbial biomass and ecosystem function in temperate grasslands. *Soil Biology and Biochemistry* 31:317-321.
- Bengtsson G., Berden M., and Rundgren S., 1988. Influence of soil animals and metals on decomposition processes: a microcosm experiment. *J. Environ. Quality* 17: 113-119.
- Berg B., Berg M.P., Bottner P., Box E., Breymeyer A., et al. 1993. Litter mass loss rates in pine forests of Europe and eastern United States: some relationship with climate and litter quality. *Biogeochemistry* 20:127–59
- Berg B. and Staaf H., 1980. Decomposition rate and chemical changes of Scots pine needle litter. II Influence of chemical composition. In: *Structure and function of northern coniferous forests. An ecosystem study* (T. Persson ed.) *Ecological Bull.*, Stockholm, 32: 373-390.
- Berg B. and Staaf H., 1981. Leaching, accumulation and release of nitrogen from decomposing forest litter. In: *Terrestrial Nitrogen Cycles. Processes, Ecosystem Strategies and management Impact.* *Ecological Bull.*, Stockholm, 33: 163-178.
- Berg B., Cortina J., 1995. Nutrient dynamics in some decomposing leaf and needle litter type in a *Pinus sylvestris* forest. *Scand. J. For. Res.* 10:1-11.
- Berg B., Ekbohm G. 1983. Nitrogen immobilization in decomposing needle litter at variable carbon: nitrogen ratios. *Ecology* 64:63-67.
- Berg B., Ekbohm G., Söderstöm B., Staff H., 1991. Reduction of decomposition rates of Scots pine needle litter due to heavy-metal pollution. *Water, Air, Soil Pollut.* 59: 165-177.

- Berg B., McClaugherty C., Virzo De Santo A., Johansson M.B., Ekbohm G. 1995. Decomposition of litter and soil organic matter-can we distinguish a mechanism for soil organic matter buildup? *Scan. J. For. Res.* 10: 108-119.
- Berg, B., McClaugherty, C., 1987. Nitrogen release from litter in relation to the disappearance of lignin. *Biogeochemistry* 4, 219–224.
- Berg, B., Laskowski, R., 2006. *Litter Decomposition: A Guide to Carbon and Nutrient Turnover*. Advances in Ecological Research. Elsevier, Amsterdam, pp. 421.
- Berg, B., McClaugherty, C., 2008. *Plant Litter - Decomposition, Humus Formation, Carbon Sequestration*. Springer, Berlin, 338 pp.
- Blair JM, Parmelee RW, Beare MH. 1990. Decay rates, nitrogen fluxes, and decomposer Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst. 2005.36:191-218. Downloaded from communities of single- and mixed-species foliar litter. *Ecology* 71:1976–85
- Blair, J.M., 1988. Nutrient release from decomposing foliar litter of three species with special reference to calcium, magnesium and potassium dynamics. *Plant and Soil* 110, 49–55.
- Blum U., Shafer S.R., Lehman M.E. 1999. Evidence for inhibitory allelopathic interactions involving phenolic acids in field soils: concepts vs an experimental model. *Critical Reviews in Plant Science* 18: 673–693.
- Boddy L. e Rayner A.D.M., 1983. Ecological roles of Basidiomycetes forming decay communities in attached oak branches. *The New Phytologist* 93:77-88.
- Bonanomi G., Legg G., Mazzoleni S. 2005. Autoinhibition of germination and seedling establishment by leachate of *Calluna vulgaris* leaves and litter. *Community Ecology* 6: 203–208.
- Bonanomi G., Sicurezza M., Caporaso S., Esposito A., Mazzoleni S. 2006. Phytotoxicity dynamics of decaying plant materials. *New Phytologist* 169:571-578.
- Brandtberg P.O., Lundkvist H. 2004. Does an admixture of *Betula* species in *Picea abies* stands increase organic matter quality and nitrogen release? *Scand J For Res* 19: 127–41
- Bridge P., Spooner B. 2001. Soil fungi: diversity and detection. *Plant Soil* 232:147–54
- Briones M.J.I., Ineson P. 1996. Decomposition of eucalyptus leaves in litter mixtures. *Soil Biol. Biochem.* 28:1381–88
- Buonanno M., Esposito A., Mazzoleni S., 1993. La vegetazione della Riserva naturale di Castelvoturno (prov. di Caserta). *Giornale Botanico Italiano*, 127:172.
- Cadish G., Giller K.E. 1997. *Driven by Nature: Plant Litter Quality and Decomposition*. Wallingford: CAB Int. 432 pp. Cadish & Giller 1997

- Cardinale B. J., Srivastava D. S., Duffy J. E., Wright J. P., Downing A. L., Sankaran M., and Jouseau C.. 2006. Effects of biodiversity on the functioning of trophic groups and ecosystems. *Nature* 443:989–992.
- Chapman K., Whittaker J.B., Heal O.W. 1988. Metabolic and faunal activity in litters of tree mixtures compared with pure stands. *Agric. Ecosyst. Environ.* 24:33–40
- Conn C., Dighton J. 2000. Litter quality influences on decomposition, ectomycorrhizal community structure and mycorrhizal root surface acid phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem.* 32:489–96
- Cornelissen J.H.C. 1996. An experimental comparison of leaf decomposition rates in a wide range of temperate plant species and types. *J. Ecol.* 84:573–82
- Cortez J., Demard J.M., Bottner P., Joucteur Monrozier I. 1996. Decomposition of mediterranean leaf litters: a microcosm experiment investigating relationships between decomposition rates and litter quality. *Soil Biology and Biochemistry* Vol. 28 No 4/5 pp 443-452.
- Cotrufo M.F., Virzo A., Alfani A., Bartoli G., De Cristofaro A. 1995. Effects of urban heavy metal pollution on organic matter decomposition in *Quercus ilex* L. woods. *Environmental pollution*. vol. 89 pp. 81-87 ISSN: 0269-7491
- Coûteaux M.M., McTicnan K., Berg B., Szuberla D, Dardenner P. 1998. Chemical composition and carbon mineralisation potential of Scots pine needles at different stages of decomposition. *Soil Biology and Biochemistry*, 30: 583 – 595.
- Couteaux M-M, Bottner P., Berg B. 1995. Litter decomposition, climate and litter quality. *Trends Ecol. Evol.* 10:63–66
- Cox P., Wilkinson S.P., Anderson J.M. 2001. Effects of fungal inocula on the decomposition of lignin and structural polysaccharides in *Pinus sylvestris* litter. *Biol.Fertil. Soils* 33:246–51
- De Marco A., Forte A., Gentile A.E., Virzo De Santo A. 2004. Elemental composition and litter decomposition of *Phillyrea angustifolia* L.at burned and unburned. *Proceedings 10th MEDECOS Conference*, (Arianoutsou e Papanastasis eds.), Millipress, Rotterdam.
- De Marco, A., Meola, A., Esposito, F. and Virzo De Santo, A. 2008. Productivity and modifications of ecosystem processes in gaps of a low Macchia in southern Italy. – *Web Ecol.* 8: 55–66.
- Dejonghe W., Boon N., Seghers D., Top E.M., Verstraete W. 2001. Bioaugmentation of soils by increasing microbial richness: missing links. *Environ. Microbiol.* 3:649–57
- Della Greca M., Previtiera L., Purcaro R. and Zarrelli A. 2008. *Phillyrea angustifolia* as a source of potentially phytotoxic compounds. 5th World Congress on Allelopathy. September 21- 25. The Saratoga Hilton, Saratoga Springs, New York, USA.

- Dilly O., Munch J.C. (1996). Microbial biomass content, basal respiration and enzyme activities during the course of decomposition of leaf litter in a black alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) forest *Soil Biology and Biochemistry* 28:1073-1081.
- Dilly O., Wachendorf C., Irmeler U., Blume H.P., Munch J.C. 1997. Changes of abiotic and biotic parameters in alder leaf litter in the course of decomposition. *Ecosystems* 31-41.
- Dudgeon, D., Arthington A. H., Gessner M. O., Kawabata Z., Knowler D., Lévêque C., Naiman R. J., Prieur-Richard A-H, Soto D., Stiassny M. L. J., and Sullivan C. A. 2006. Freshwater biodiversity: importance, status, and conservation challenges. *Biological Reviews* 81:163-182.
- Ellison, A.-M., et al. 2005. Loss of foundation species: consequences for the structure and dynamics of forested ecosystems. *Frontiers in Ecology and the Environment* 3:479–486.
- Esposito A., Mazzoleni S., Strumia S., 1999. Post-fire bryophyte dynamics in Mediterranean vegetation. *Journal of Vegetation Science* 10:261-268.
- Finzi A.C., Canham C.D. 1998. Non-additive effects of litter mixtures on net N mineralization in a southern New England forest. *For. Ecol. Manag.* 105:129–36
- Fioretto A., Di Nardo C., Papa S., Fuggi A. 2005. Lignin and cellulose degradation and nitrogen dynamics during decomposition of three leaf litter species in a Mediterranean ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry* 37: 1083–1091
- Fioretto A., Musacchio A., Andolfi A., Virzo De Santo A. 1998. Decomposition dynamics of litters of various pine species in a Corsican pine forest. *Soil Biology and Biochemistry* 30: 721 – 727.
- Fioretto A., Papa S., Curcio E., Sorrentino G., Fiuggi A. 2000. Enzyme dynamics on decomposing leaf litter of *Cistus incanus* and *Myrtus communis* in Mediterranean ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 1847-1855.
- Fioretto A., Papa S., Fuggi A. 2003. Litter-fall and litter decomposition in a low Mediterranean shrubland. *Biology and Fertility of Soils* 39:37-44.
- Fioretto A., Papa S., Fuggi A. 2003. Litter-fall and litter decomposition in a low Mediterranean shrubland. *Biology and Fertility of Soils* 39:37-44
- Fioretto A., Papa S., Sorrentino G., Fuggi A. 2001. Decomposition of *Cistus incanus* leaf litter in a Mediterranean maquis ecosystem: mass loss, microbial enzyme activities and nutrient changes. *Soil Biology and Biochemistry* 33:311-321.
- Fioretto A., Virzo De Santo A., Musacchio a., Adinolfi G. 1995. Dinamica dei nutrienti durante la decomposizione di lettieri di pino. S.I.T.E. Atti, 16.
- Florenzano G. 1989. *Fondamenti di microbiologia del terreno*. Ed. Reda. Roma.

- Freedman B. and Hutchinson T.C., 1980. Effects of smelter pollutants on forest leaf litter decomposition near nickel-copper smelter at Sudbury, Ontario. *Can. J. Bot.*, 58: 1722-1736.
- Gallardo A., Merino J. 1993. Leaf decomposition in two Mediterranean ecosystem of South – West Spain: influence of substrate quality. *Ecology* 74: 152-161.
- Gartner T.B., Cardon Z.G. 2004. Decomposition dynamics in mixed-species leaf litter. *Oikos* 104:230–46
- Gehring M.M., Govender S., Shah M. and Downing T.G. 2003. An investigation of the role of vitamin E in the protection of mice against microcystin toxicity. *Environ Toxicol*, 18, 142-8
- Gessner, M. O., E. Chauvet, and M. Dobson. 1999. A perspective on leaf litter breakdown in streams. *Oikos* 85:377–384.
- Gnankambary Z., Ilstedt U., Nyberg G., Hien V., Malmer A. 2008 Nitrogen and phosphorus limitation of soil microbial respiration in two tropical agroforestry parklands in the South-Sudanese zone of Burkina Faso: The effects of tree canopy and fertilization. *Soil Biol Biochem* 40:350–359
- Goering H.K., Van Soest P.J., 1970. “Forage Fiber Analysis”. *Agricultural Handbook*, n° 379.
- Gosz J.R., Likens G.E., Bormann F.H., 1973. Nutrient release from decomposing leaf and branches litter in the Hubbard Brook forest, New Hampshire. *Ecol. Monogr.* 43: 173-191.
- Grodzinski W., Greszta J., Laskowski R., Maryanski M., Rozen A. 1990. Effect of the chemical composition of industrial dusts on forest floor organic matter accumulation. *Water, Air, Soil pollution* 53, pp. 169-178.
- Gustafson F.G. 1943. Decomposition of the leaves of some forest trees under field conditions. *Plant Phys.* 18:704–07
- Hansen R.A., Coleman D.C. 1998. Litter complexity and composition are determinants of the diversity and species composition of oribatid mites (Acari: Oribatidae) in litterbags. *Appl. Soil Ecol.* 9:17–23
- Harguindeguy N.P., Blundo C.M., Gurvich D.E., Díaz S. and Cuevas E. 2008. More than the sum of its parts? Assessing litter heterogeneity effects on the decomposition of litter mixtures through leaf chemistry. *Plant and Soil* 303:151-159
- Hasegawa M., Takeda H. 1995. Changes in feeding attributes of four collembolan populations during the decomposition process of pine needles. *Pedobiologia* 39:155-169.
- Hattenschwiler S., Gasser P. 2005. Soil animals alter plant litter diversity effects on decomposition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102:1519–24

- Hattenschwiler S., Vitousek P.M. 2000. The role of polyphenols in terrestrial ecosystem nutrient cycling. *Trends Ecol. Evol.* 15:238–43
- Hattenschwiler S. 2005. Effects of tree species diversity on litter quality and decomposition. In *Forest Diversity and Function: Temperate and Boreal Systems*, ed. M Scherer-Lorenzen, C Körner, E-D Schulze, 176:149–64. Heidelberg: Springer-Verlag
- Hattenschwiler S., Tiunov A.V., Scheu S., 2005. Biodiversity and litter decomposition in terrestrial ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 36:191–218.
- Hawksworth D.L. 2001. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycol. Res.* 105:1422–32
- Hector A., Beale A.J., Minns A., Otway S.J., Lawton J.H. 2000. Consequences of the reduction of plant diversity for litter decomposition: effects through litter quality and microenvironment. *Oikos* 90:357–71
- Hedlund K., Sjögren Öhrn M. 2000. Tritrophic interactions in a soil community enhance decomposition rates. *Oikos* 88:585–91
- Hooper D.U., Chapin, F.S., Ewel, J.J., Hector, A., Inchausti, P., Lavorel, S., Lawton, J.H., Lodge, D.M., Loreau, M., Naeem, S., Schmid, B., Setälä, H., Symstad, A.J., Vandermeer, J., Wardle, D.A., 2005. Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecological Monographs* 75, 3–35.
- Hoorens B., Aerts R., Stroetenga M. 2003. Does initial litter chemistry explain litter mixture effects on decomposition? *Oecologia* 144:578–86
- Jacob M., Weland N., Platner C., Schaefer M., Leuschner C., Frank M., Thomas F.M., 2009. Nutrient release from decomposing leaf litter of temperate deciduous forest trees along a gradient of increasing tree species diversity. *Soil Biology & Biochemistry* 41 2122–2130
- Jansson P.E., Berg B. (1985). Temporal variation of litter decomposition in relation to simulated soil climate. Long – term decomposition in a Scots pine forest. *V Canadian Journal of Botany*, 63:1008-1016.
- Janzen R.A., Dormaar J.F., McGill W.B. 1995. A community-level concept of controls on decomposition processes—decomposition of barley straw by *phanerochaete-chrysosporium* or *phlebia-radiata* in pure or mixed culture. *Soil Biol. Biochem.* 27:173–79
- Jensen V., 1974. Decomposition of Angiosperm tree litter. *Biology of plant litter decomposition*, 1: 69-104.
- Kaneko N., Salamanca E.F. 1999. Mixed leaf litter effects on decomposition rates and soil microarthropod communities in an oak-pine stand in Japan. *Ecol. Res.* 14:131–38

- Klemmedson J.O. 1992. Decomposition and nutrient release from mixtures of Gambel oak and ponderosa pine leaf litter. *For. Ecol. Manag.* 47:349–61
- Laskowski R., Berg B. 1993. Dynamics of some mineral nutrients and heavy metals in decomposing forest litter. *Scandinavian Journal of Forest Research* 8: 446-456.
- Lecerf A., G. Risnoveanu, C. Popescu, M. O. Gessner, and E. Chauvet. 2007. Decomposition of diverse litter mixtures in streams. *Ecology* 88:219–227.
- Linkins A.E., Melillo J.M., Sinsabaugh R.L., 1984. Factors affecting cellulase activity in terrestrial and aquatic ecosystems. In: *Current Perspectives in microbial Ecology*. (M.J. Klug & C.A. Reddy Eds.) American Society for Microbiology, Washington, D.C., pp. 572-579.
- Loreau M., Naeem S., Inchausti P., Bengtsson J., Grime J.P., et al. 2001. Biodiversity and ecosystem functioning: current knowledge and future challenges. *Science* 294:804–8
- Lughini D., Granito V.M., Persiani A.M. 2008. Relazione tra la diversità della lettiera e la biodiversità fungina in un ecosistema a macchia mediterranea. 103° Congresso della Società Botanica Italiana. Reggio Calabria, 17-19 settembre.
- Lundkvist K., Simonson R., Tingsvik K., 1980. Studies on lignin carbohydrate linkages in milled wood lignin preparations. *Swedish Paper Journal* 83: 452-454.
- Mahendrappa M.K., Forester N.W., Weetmans G.F. and Krouse H.H., 1986. Nutrient cycling and availability in forest soils. *Canadian Journal of Soil Science* 66: 547-572.
- Makino T., Takahashi T., Sakurai Y., Nanzyo M. 1996. Influence of soil chemical properties on adsorption and oxidation of phenolic acids in soil suspension. *Soil Science and Plant Nutrition* 42: 867–879.
- McTiernan, K.B., Ineson, P., Coward, P.A., 1997. Respiration and nutrient release from tree leaf litter mixtures. *Oikos* 78:527–538.
- Melillo J.M., Aber J.D., Muratore J.F., 1982. Nitrogen and lignin control of hardwood leaf litter decomposition dynamics. *Ecology* 63: 621-626.
- Mitchell D.T., Coley P.G.F., Webb S., Allsopp N., 1986. Litterfall and decomposition processes in the coastal fynbos vegetation, South-Western Cape, South Africa. *Journal of Ecology* 74: 977-993.
- Montagnini F., Ramstad K., Sancho F. 1993. Litterfall, litter decomposition and the use of mulch of four indigenous tree species in the Atlantic lowlands of Costa Rica. *Agrofor. Syst.* 23:39–61
- Moore, J. C., et al. 2004. Detritus, trophic dynamics and biodiversity. *Ecology Letters* 7:584–600.
- Moro M.J., Domingo F. 2000. Litter decomposition in four woody species in a mediterranean climate: weight, loss, N and P dynamics. *Annals of botany*, 86: 1065-1071.

- Nicolardot B., Recous S., Mary B. 2001. Simulation of C and N mineralisation during crop residue decomposition: a simple dynamic model based on the C:N ratio of the residues. *Plant Soil* 228:83–103
- Nömmik H., Vahtras K. 1982. Retention and fixation of ammonium in soil. In : Nitrogen in agricultural soils. Agronomy Monograph n. 22 (F.J. Stevenson, ed) Agronomy Society of America. Madison, WI., pp. 123-171.
- Osono T. 2007. Ecology of ligninolytic fungi associated with leaf litter decomposition. *Ecol Res* 22:955–974
- Osono T., Takeda H. 2006. Fungal decomposition of *Abies* needle and *Betula* leaf litter. *Mycologia* 98:172–179
- Osono T., Takeda H. 2001. Organic chemical and nutrient dynamics in decomposing beech leaf litter in relation to fungal ingrowth and succession during 3-year decomposition processes in a cool temperate deciduous forest in Japan. *Ecological research*, 16: 649-670.
- Osono T., Takeda H. 2004. Potassium, calcium and magnesium dynamics during litter decomposition in a cool temperate forest. *Journal of Forest Research*, 9:23-31.
- Parton W.J., Schimel D.S., Ojima D.S., Cole D.V. 1994. A general model for soil organic matter dynamics. In *Sensitivity to Litter Chemistry, Texture and Management—Quantitative Modeling of Soil Forming Processes*, ed. RB Bryant, RW Arnold, pp. 137–67. Madison, WI: Soil Sci. Soc. Am.
- Perez J., Jeffries T.W. 1992. Roles of manganese and organic acid chelators in regulating lignin degradation and biosynthesis of peroxidases by *Phanerochaete chrysosporium*. *Applied and Environmental Microbiology*, 58: 2402-2409.
- Perez-Harguindeguy N., Diaz S., Cornelissen J.H.C, Venramini F, Cabido M, Castellanos A. 2000. Chemistry and toughness predict leaf litter decomposition rates over a wide spectrum of functional types and taxa in central Argentina. *Plant Soil* 218:21–30
- Persson T., Bååth E., Clarholm M., Lundkvist H., Soderstrom B., Sohlenius B. 1980. Trophic structure, biomass dynamics and carbon metabolism of soil organism in a Scots pine forest. *Ecological Bulletin* 32: 419-462.
- Prescott C.E., Zabek L.M., Staley C.L., Kabzerns R. 2000. Decomposition of broadleaf and needle litter in forests of British Columbia: influences of litter type, forest type, and litter mixtures. *Can. J. For. Res.* 30:1742–50
- Prosser J.I. 2002. Molecular and functional diversity in soil micro-organisms. *Plant Soil* 244:9–17
- Rundel P.W., Parsons D.J. 1980. Nutrient changes in two chaparral shrubs along a fire-induced age gradient. *American Journal of Botany* 67: 51-58.

- Rutigliano F.A., Alfani A., Bellini L., Virzo De Santo A. 1998. Nutrient dynamics in decaying leaves of *Fagus sylvatica* L. and needles of *Abies alba* Mill. *Biology and Fertility of Soils*, 27: 119-126.
- Rutigliano F.A., Dascoli R., Virzo A., 2004. Soil microbial metabolism and nutrient status in a Mediterranean area as affected by plant cover. *Soil Biology & Biochemistry*, 36:1719-1729.
- Rutigliano F.A., Virzo De Santo A., Berg B., Alfani A., Fioretto A. 1996. Lignin decomposition in decaying leaves of *Fagus sylvatica* L. and needles of *Abies alba* Mill. *Soil Biology and Biochemistry*, 28: 101-106. Rundel & Parsons, 1980;
- Sala O. E., et al. 2000. Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science* 287:1770–1774.
- Salamanca E.F., Kaneko N., Katagiri S. 1998. Effects of leaf litter mixtures on the decomposition of *Quercus serrata* and *Pinus densiflora* using field and laboratory microcosm methods. *Ecol. Engineer.* 10:53–73
- Schimel J.P., Balser T.C., and Wallenstein M. 2007. Microbial stress-response physiology and its implications for ecosystem function. *Ecology*. In press.
- Schimel J.P., Cates RG, Ruess R. 1998. The role of balsam poplar secondary chemicals in controlling soil nutrient dynamics through succession in the Alaskan taiga. *Biogeochemistry* 42:221–34
- Schimel J. P. and S. Hattenschwiler. 2007. Nitrogen transfer between decomposing leaves of different N status. *Soil Biology and Biochemistry* 39:1428–1436.
- Schindler M.H. and Gessner M.O. 2009. Functional leaf traits and biodiversity effects on litter decomposition in a stream. *Ecology* 90:1641–1649
- Schlesinger W.H. 1985. Decomposition of chaparral shrub foliage. *Ecology*, 66 (4): 1353-1359.
- Schlesinger W.H., Hasey M.M. 1981. Decomposition of chaparral shrub foliage: losses of organic and inorganic constituents from deciduous and evergreen leaves. *Ecology*, 62: 762-774.
- Schweitzer J.A., Bailey J.K., Fischer D.G., Leroy C.J., Lonsdorf E.V., Whitham T.G., Hart S.C., 2008 – Plant-Soil-Microorganism Interactions: Heritable Relationship Between Plant Genotype And Associated SoilMicroorganisms. *Ecology* 89(3): 773-781.
- Schweitzer J.A., Bailey J.K., Hart S.C., Wimp G.M., Chapman S.K., Whitham T.G. 2005. The interaction of plant genotype and herbivory decelerate leaf litter decomposition and alter nutrient dynamics. *Oikos* 110:133–145
- Seastedt T.R. 1984. The role of arthropods in decomposition and mineralization processes. *Annu. Rev. Entomol.* 29:25–46

- Setälä H. and Huhata V., 1990. Evaluation of the soil fauna impact on decomposition in a simulated coniferous forest soil. *Biology and Fertility of Soils* 10: 163-169.
- Setälä H, McLean MA. 2004. Decomposition rate of organic substrates in relation to the species diversity of soil saprophytic fungi. *Oecologia* 139:98–107
- Shanks R.E. & Olson J.S., 1961. First year breakdown of leaf litter in southern Appalachian forests. *Science* 134: 194-195.
- Sinsabaugh R.L., Antibus R.K., Linkins A.E., 1991. An enzymatic approach to the analysis of microbial activity during plant litter decomposition. *Agriculture Ecosystems and Environment* 34: 43-54.
- Sinsabaugh R.L., Linkins A.E., 1988. Adsorption of cellulase components by leaf litter. *Soil Biol. Biochem.* 20: 927-932.
- Shaukat S.S., Siddiqui I.A., Khan G.H., Zaki M.J. 2002. Nematicidal and allelopathic potential of *Argemone mexicana*, a tropical weed. *Plant and Soil* 245: 239–247.
- Souto C., Pellissier F., Chiapusio G. 2000. Allelopathic effects of humus phenolics on growth and respiration of mycorrhizal fungi. *Journal of Chemical Ecology* 26: 2015–2023.
- Srivastava D. S. and M. Vellend. 2005. Biodiversity-ecosystem function research: Is it relevant to conservation? *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 36:267–294.
- StAAF H. 1987. Foliage litter turnover and earthworm populations in three beech forests of contrasting soil and vegetation types. *Oecologia* 72: 58–64.
- Stevenson F.J. 1982. *Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. Wiley, New York.
- Susmel L. e Viola F. 1975. Tavola allometrica del leccio. *Monti e Boschi*, 4.
- Swan C.M. and Palmer M.A. 2004. Leaf diversity alters litter breakdown in a Piedmont stream. *Journal of the North American Benthological Society* 23(1): 15-28
- Swift M.J., Heal O.W., Anderson, J.M., 1979. *Decomposition in Terrestrial Ecosystems*. Blackwell, Oxford, pp. 372.
- Thomas W.A. 1968. Decomposition of loblolly pine needles with and without addition of dogwood leaves. *Ecology* 49:568–71
- Tiunov A.V, Scheu S. 2005b. Arbuscular mycorrhiza and Collembola interact in affecting community composition of saprotrophic microfungi. *Oecologia* 142:636–42
- Tiunov A.V. and Scheu S. 2005a. Facilitative interactions rather than resource partitioning drive diversity-functioning relationships in laboratory fungal communities. *Ecology Letters* 8:618–625.

- Torsvik V., Goksoyr J., Daae F.L., Sorheim R., Michalsen J., Solte K. 1994. Use of DNA analysis to determine the diversity of microbial communities. In *Beyond the Biomass*, ed. K Ritz, J Dighton, KE Giller, pp. 39–48. New York: John Wiley & Sons
- Van der Putten W.H., Vet L.E.M., Harvey J.A., Wackers F.L. 2001. Linking above- and belowground multitrophic interactions of plants, herbivores, pathogens, and their antagonists. *Trends Ecol. Evol.* 16:547–54
- van Ruijven J. and Berendse F. 2005. Diversity–productivity relationships: initial effects, long-term patterns, and underlying mechanisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 102:695–700.
- Virzo De Santo A., Berg. B., Rutigliano F.A., Alfani A., Fioretto A. 1993. Factors regulating early-stage decomposition of needle litter in five different coniferous forests. *Soil Biology & Biochemistry* 25:1423-1433.
- Virzo De Santo, A., Fierro, A., Berg, B. and De Marco, A. 2001. Heavy metals and litter decomposition in coniferous forests. In: *Soil mineral-organic matter- microorganism interactions and ecosystem health*. (Violante, A., Gianfreda, L., Bollag, J.M., Huang, P.M., eds.), Elsevier, London
- Wardle D.A., Nilsson M-C., Zackrisson O., Gallet C. 2003. Determinants of litter mixing effects in a Swedish boreal forest. *Soil Biol. Biochem.* 35:827–35
- Wardle, D. A., M. C. Nilsson, O. Zackrisson, and C. Gallet. 2003. Determinants of litter mixing effects in a Swedish boreal forest. *Soil Biology and Biochemistry* 35:827–835.
- Wardle, D.A., Bonner, K.I., Nicholson, K.S., 1997. Biodiversity and plant litter: experimental evidence which does not support the view that enhanced species richness improves ecosystem function. *Oikos* 79, 247–258.
- Webster, J. R., and E. F. Benfield. 1986. Vascular plant breakdown in fresh-water ecosystems. *Annual Review of Ecology and Systematics* 17:567–594.
- Witkamp M. (1966). Decomposition of leaf litter in relation to environment: microflora and microbial respiration. *Ecology* 47:194-201.
- Witkamp M., Olson J.S., 1963. Breakdown of confined and non confined oak litter. *Oikos*, 14: 138-147.
- Zimmer M. (2002). Is decomposition of woodland leaf litter influenced by its species richness? *Soil Biology and Biochemistry* 34: 277-284.
- Zucconi F., Forte M., Monaco A., de Bertoldi M. 1981. Evaluating toxicity of immature compost. *Biocycle* 22: 54–57.