

تأثیر تنوع جغرافیایی بر صفات مورفولوژیک و آناتومیک برگ راش شرقی (*Fagus oreintalis* Lipsky) در استان گیلان

ویلما بایرامزاده¹، پدram عطارد²، غزاله وفایی³

تاریخ دریافت: 90/6/7 تاریخ پذیرش: 90/9/20

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی تأثیر تنوع جغرافیایی بر صفات مورفولوژیک و آناتومیک برگ راش شرقی (*Fagus oreintalis* Lipsky) در استان گیلان صورت گرفت. بدین منظور پنج حوزه جنگل‌داری شامل آستارا (حوزه شماره 1)، اسالم (حوزه شماره 7)، فومن (حوزه شماره 14)، چره (حوزه شماره 20) و شن رود (حوزه شماره 24) انتخاب شدند. در بخش میان‌بند حوزه‌های مورد مطالعه نمونه‌های برگ از بخش میانی تاج 40 درخت سالم (با قطر برابر سینه بین 30-50 سانتی‌متر) جمع‌آوری شدند (از چهار جهت هر درخت). پس از جمع‌آوری برگ‌ها، 8 صفت مورفولوژیک سطح برگ، طول-برگ، عرض برگ، طول دم‌برگ، وزن برگ در واحد سطح، فاصله رگبرگ‌های اصلی، ضخامت برگ، تراکم برگ و همچنین 2 صفت آناتومیک برگ شامل طول دهانه روزنه و تعداد روزنه در واحد سطح مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. نتایج این تحقیق نشان‌داد که همه صفات مورد مطالعه به غیر از طول دم‌برگ دارای اختلاف آماری معنی‌داری در سطح 5 درصد می‌باشد. در نهایت برای رسته‌بندی از روش تجزیه خوشه‌ای (نرم‌افزار SPSS) استفاده شد که براین اساس، حوزه‌های مورد مطالعه به سه دسته: 1- فومن 2- اسالم و آستارا و 3- شن رود و چره تقسیم‌بندی شدند. همچنین با توجه به معنی‌داری همبستگی بین صفات مورد مطالعه با عرض جغرافیایی و فاکتورهای اداپتیکی در سطح 5 درصد می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تنوع جغرافیایی عامل اصلی به‌وجود آمدن تفاوت‌ها و در نهایت گروه‌های مذکور است.

واژه‌های کلیدی: راش شرقی، تنوع جغرافیایی، برگ، صفات مورفولوژیک، صفات آناتومیک

1- استادیار گروه خاکشناسی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، گروه خاکشناسی، کرج، ایران نویسنده اصلی

Email: v_bayramzadeh@ yahoo.com v.bayramzadeh@ kiau.ac.ir

2- استادیار گروه جنگل‌داری و اقتصاد جنگل، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران

3- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، گروه خاکشناسی، کرج، ایران (دانشجوی کارشناسی ارشد)

مقدمه

مرور منابع بیانگر این واقعیت است که گونه‌هایی که از گستره جغرافیایی وسیعی برخوردارند به‌خاطر تفاوت شرایط اقلیمی و ادافیکی رویشگاه‌ها دارای تنوع ژنوتیپی و فنوتیپی هستند [6، 11].

بررسی تنوع جغرافیایی در بعضی از گونه‌های فوق‌الذکر که از لحاظ اقتصادی، ژنتیکی و اکولوژیک حایز اهمیت هستند، ضروری به‌نظر می‌رسد و در مرکز توجه محققین علوم مختلفی چون ژنتیک، اکولوژی و اکوفیزیولوژی قرار دارد. یکی از روش‌هایی که با صرف زمان و هزینه کمتر، تنوع ژنتیکی و فنوتیپی گونه‌هایی که از گستره جغرافیایی وسیع برخوردار هستند، را نمایان می‌سازد، مطالعه صفات مورفو-آناتومیک برگ می‌باشد [7، 12، 15].

مطالعه صفات مورفولوژیک و آناتومیک برگ علاوه بر این که کمک به‌سزایی در بررسی تنوع ژنتیکی، فنوتیپی و به‌گزینی والدین دارد، می‌تواند در تعیین تنوع کیفیت چوب در رویشگاه‌های مختلف کمک شایانی بنماید [3].

راش شرقی یکی از گونه‌هایی است که در ناحیه خزری ایران از پراکنش نسبتاً وسیعی برخوردار است. گسترش افقی راشستان‌ها در جنگل‌های شمال از آستارا شروع و به دره زیارت گرگان ختم می‌شود. [1]. به‌طور کلی 18 درصد از جنگل‌های شمال ایران با این گونه پوشیده شده‌است و همچنین این گونه 35 درصد از تولیدات چوب صنعتی را به خود اختصاص می‌دهد [2].

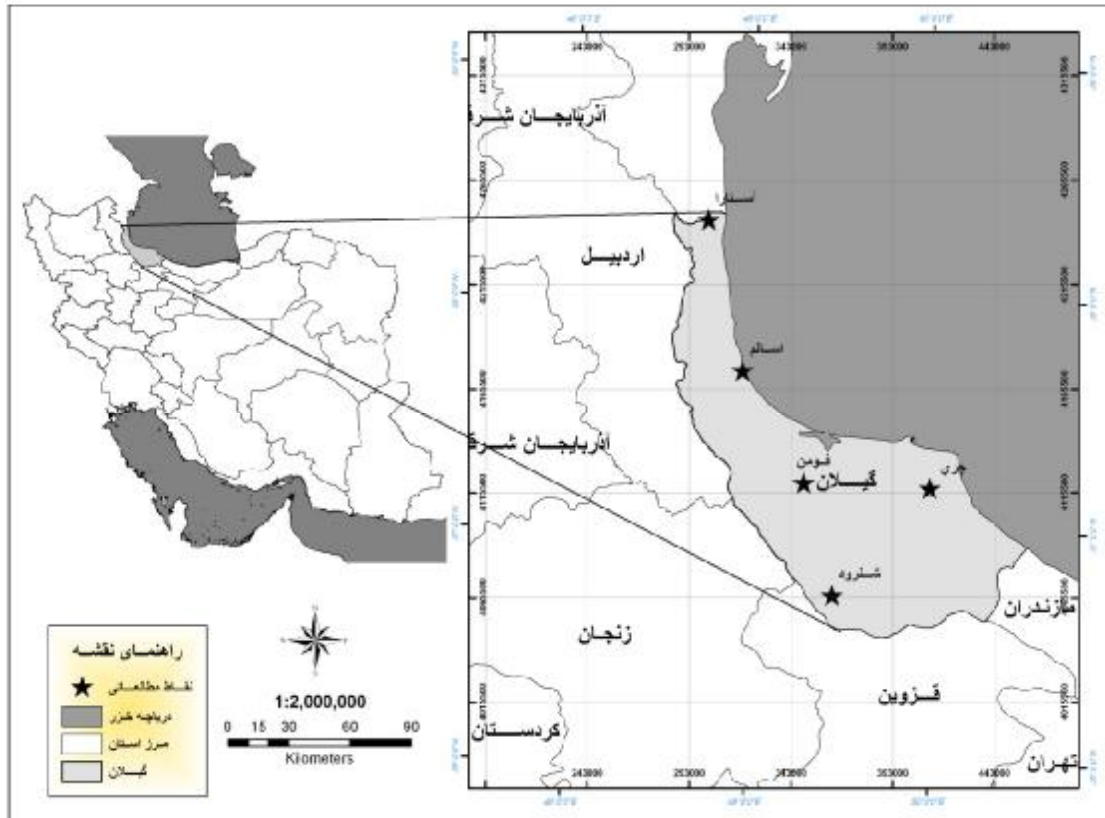
علیرغم ارزش صنعتی این گونه به‌عنوان اولین گونه تجاری جنگل‌های شمال و ارزش ژنتیکی درخت راش به‌عنوان ذخیره ژنتیکی با بیش از یک میلیون سال قدمت، اطلاعات درباره تنوع فنوتیپی موجود بین جمعیت‌های آن در سطح کشور (ناحیه خزری) کم است. لذا مطالعه صفات برگ و بهره‌گیری از روش‌های آماری چند متغیره (تجزیه خوشه‌ای) گامی مقدماتی برای تخمین تنوع ژنتیکی و کیفیت چوب راش شرقی در رویشگاه‌های مختلف آن می‌باشد.

لذا برای تخمین تنوع ژنتیکی موجود بین جمعیت‌های راش موجود در استان گیلان تحقیقی با هدف مطالعه تاثیر تنوع جغرافیایی بر صفات مورفولوژیک و آناتومیک برگ راش شرقی (*Fagus orientalis* Lipsk) در استان مذکور انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

مناطق مورد مطالعه

این تحقیق در حوزه‌های جنگل‌داری شماره 1_ (آستارا) شماره 7_ (اسالم)، شماره 14_ (فومن)، شماره 20_ (چره) و شماره 24_ (شن‌رود) انجام پذیرفت (شکل و جدول 1).



شکل 1- موقعیت جنگل‌های راش مورد مطالعه در استان گیلان

جدول 1- مشخصات اقلیمی و جغرافیایی مناطق مورد مطالعه

رویشگاه	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	بارندگی سالانه (mm)	میانگین درجه حرارت سالانه (°C)	بافت خاک	pH اسیدیته خاک	درصد ماده آلی
آستارا	48° 52' E	38° 24' N	1400 ± (64)	15.1	Sy loam	5.62 ± (0.12)	5.53 ± (0.63)
اسالم	48° 94' E	37° 70' N	1685 ± (124)	16.3	Loam	5.47 ± (0.14)	4.99 ± (0.82)
فومن	49° 18' E	37° 13' N	994 ± (49)	15.9	Loam	5.17 ± (0.08)	5.53 ± (0.56)
چره	50° 0' E	37° 12' N	1081 ± (73)	16.4	Loam	5.72 ± (0.12)	5.71 ± (0.85)
شن رود	49° 28' E	36° 44' N	1469 ± (71)	16.7	Clay	7.72 ± (0.05)	3.06 ± (0.54)

روش مطالعه

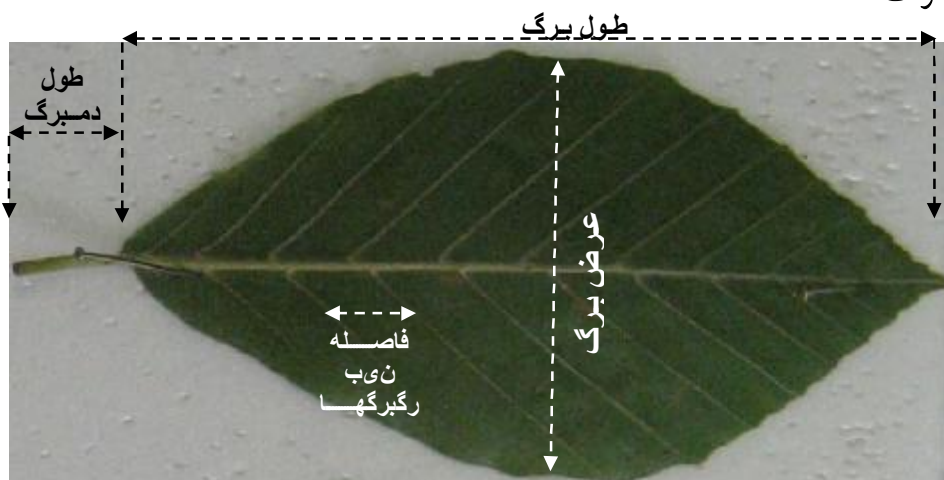
روش نمونه‌گیری برگ

در بخش میان‌بند حوزه‌های مورد مطالعه، نمونه‌های برگ با توجه به ارتفاع تاج از بخش میانی تاج 40 درخت سالم با قطر برابر سینه 30-50 سانتی متر جمع‌آوری شد. از چهار جهت هر درخت 40 عدد برگ سالم (10 برگ از هر جهت)، کاملاً باز شده و در معرض نور خورشید قرار گرفته جمع‌آوری گردید تا برگ‌ها تقریباً در شرایط مکانی یکسانی در درختان قرار گرفته باشند. جمع‌آوری برگ‌ها در اوایل مرداد ماه سال 1389 صورت گرفت.

روش اندازه‌گیری صفات مورفولوژیک و

آناتومیک برگ

پس از جمع‌آوری برگ‌ها، 8 صفت مورفولوژیک سطح برگ (cm^2)، طول برگ (mm)، عرض برگ (mm)، طول دم‌برگ (mm)، وزن برگ در واحد سطح (gr cm^{-2})، فاصله رگبرگ‌های اصلی (mm)، ضخامت برگ (mm)، و تراکم برگ (gr cm^{-3}) و همچنین 2 صفت آناتومیک برگ شامل طول دهانه روزنه (μm) و تعداد در واحد سطح روزنه ($\text{stomatal number mm}^{-2}$) به شرح زیر مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند (شکل 2).



شکل 2- روش اندازه‌گیری طول برگ، پهنای برگ، فاصله رگبرگ‌های اصلی و طول دم‌برگ گونه راش

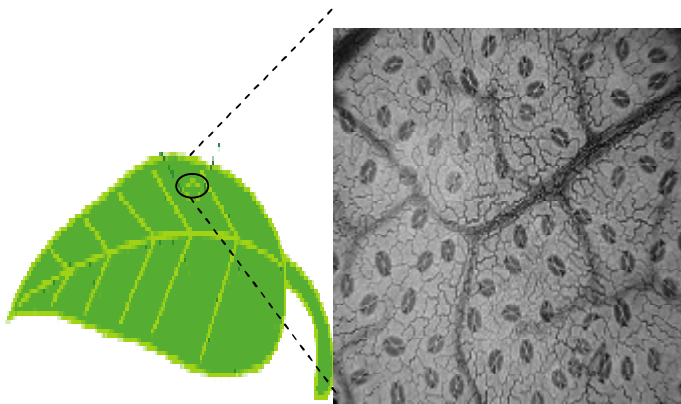
در دمای 80 درجه سانتی‌گراد به مدت 72 ساعت نگهداری شد و سپس وزن شدند. از تقسیم وزن بدست آمده (gr) بر سطح برگ (cm^2) مقدار وزن برگ در واحد سطح برحسب گرم بر سانتی‌متر مربع به دست آمد. تراکم برگ نیز بر اساس روشی که توسط ویتکوسکی و لامونت (1991)¹ ارائه شد از تقسیم وزن برگ در

طول برگ‌ها، عرض برگ‌ها، طول دم‌برگ و فاصله بین رگبرگ‌ها با استفاده از کولیس دیجیتال تا دقت صدم میلی‌متر اندازه‌گیری گردید (شکل 2). سطح برگ نیز پس از تهیه عکس از برگ‌ها با استفاده از نرم‌افزار Image J اندازه‌گیری شد. ضخامت کلیه برگ‌ها هم در ناحیه وسط با استفاده از کولیس دیجیتال تا دقت صدم میلی‌متر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه وزن در واحد سطح، نمونه‌های برگ در داخل oven

¹ - Witkowski and Lamont

نهایت اسلایدها تهیه و آماده عکسبرداری شدند (شکل 3).

برای اندازه‌گیری طول سلول‌های روزنه، از عکس‌های تهیه شده با بزرگ‌نمایی 1000 و نرم افزار Adobe Acrobat professional 6/0 طول دهانه برای هر روزنه به‌طور مجزا بر حسب میکرومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه تعداد روزنه در واحد سطح، از عکس‌های تهیه شده با بزرگ‌نمایی 250 استفاده شد و روزنه‌های در سطح (0/47*0/47 میلی‌متر) شمارش شد.



شکل 3- عکس تهیه شده از اسلاید برای اندازه‌گیری مشخصات روزنه

برای تعیین بافت‌خاک از روش هیدرومتر بایکاس [10]، pH خاک با استفاده از pH متر در گل اشباع و کربن آلی خاک به روش والکلی و بلاک [16] استفاده شد.

آنالیز آماری

برای سازمان‌دهی و پردازش اولیه اطلاعات از محیط نرم‌افزارهای Excel، SPSS (Version 16) و StatGraphics plus2.1

واحد سطح بر ضخامت برگ بر حسب گرم بر سانتی‌متر مکعب محاسبه شد.

برای محاسبه طول سلول‌های روزنه و تعداد در واحد سطح آن بعد از جمع‌آوری برگ‌ها، بلافاصله از آن‌ها نمونه‌هایی با پانچ تهیه و در داخل محلول FAA (اتانول، استن و فرمالدئید با غلظت 18:1:1) قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها از محلول مذکور خارج گردیده و به مدت 7 تا 9 روز در محلول NaOH 7/5٪ قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها با سافرانین رنگ‌آمیزی شده و به مدت 15 دقیقه به ترتیب در الکل با غلظت‌های 30٪، 50٪، 70٪ و 96٪ و 100٪ آبگیری شد. در

روش اندازه‌گیری برخی از خصوصیات خاک

مقدار خاک مورد نیاز از هر حوزه از اعماق (0-10)، (10-25) و (25-40) سانتی‌متری تهیه و پس از خشک‌شدن و عبور از الک 2 میلی-متری برای تجزیه اولیه خاک به آزمایشگاه منتقل شد. نتایج برخی از خصوصیات خاک در جدول 1 آورده شده است.

(10.08 cm) می‌باشد (شکل 4a, 4b و 4c). این نتیجه می‌تواند با همبستگی بالای سطح برگ با پهنای برگ ($r = 0.79$) نسبت به طول برگ ($r = 0.38$) مرتبط باشد (جدول 2). طبق این نتایج، ضخیم‌ترین برگ متعلق به آستارا (0.013 mm) و نازک‌ترین برگ متعلق به فومن (0.007 mm) است (شکل 4f).

بالاترین و پایین‌ترین رقم وزن در واحد سطح به ترتیب متعلق به حوزه شماره 7 (اسالم) و حوزه شماره 20 (چره) می‌باشد (شکل 4g). شن-رود (11.99 gr cm^{-3}) و آستارا (6.86 gr cm^{-3}) به ترتیب پایین‌ترین و بالاترین رقم را برای تراکم برگ نشان دادند (شکل 4h).

همان‌طور که در جدول شماره 2 نشان داده شده است، تراکم برگ و ضخامت برگ از رابطه آماری معنی‌داری برخوردار هستند ($r = -0.95$). ولی رابطه بین وزن در واحد سطح، با ضخامت برگ ($r = 0.34$) و تراکم برگ ($r = -0.11$) دارای همبستگی ضعیفی می‌باشد.

باتوجه به این‌که منابع مختلف روابط متفاوتی را بین ضخامت برگ، وزن در واحد سطح و تراکم برگ برای گونه‌های مختلف گزارش کرده‌اند [8,9,14,18]، بنابراین روابط گزارش شده بین ضخامت برگ، وزن در واحد سطح و تراکم برگ در این تحقیق نیز صحیح به نظر می‌رسند.

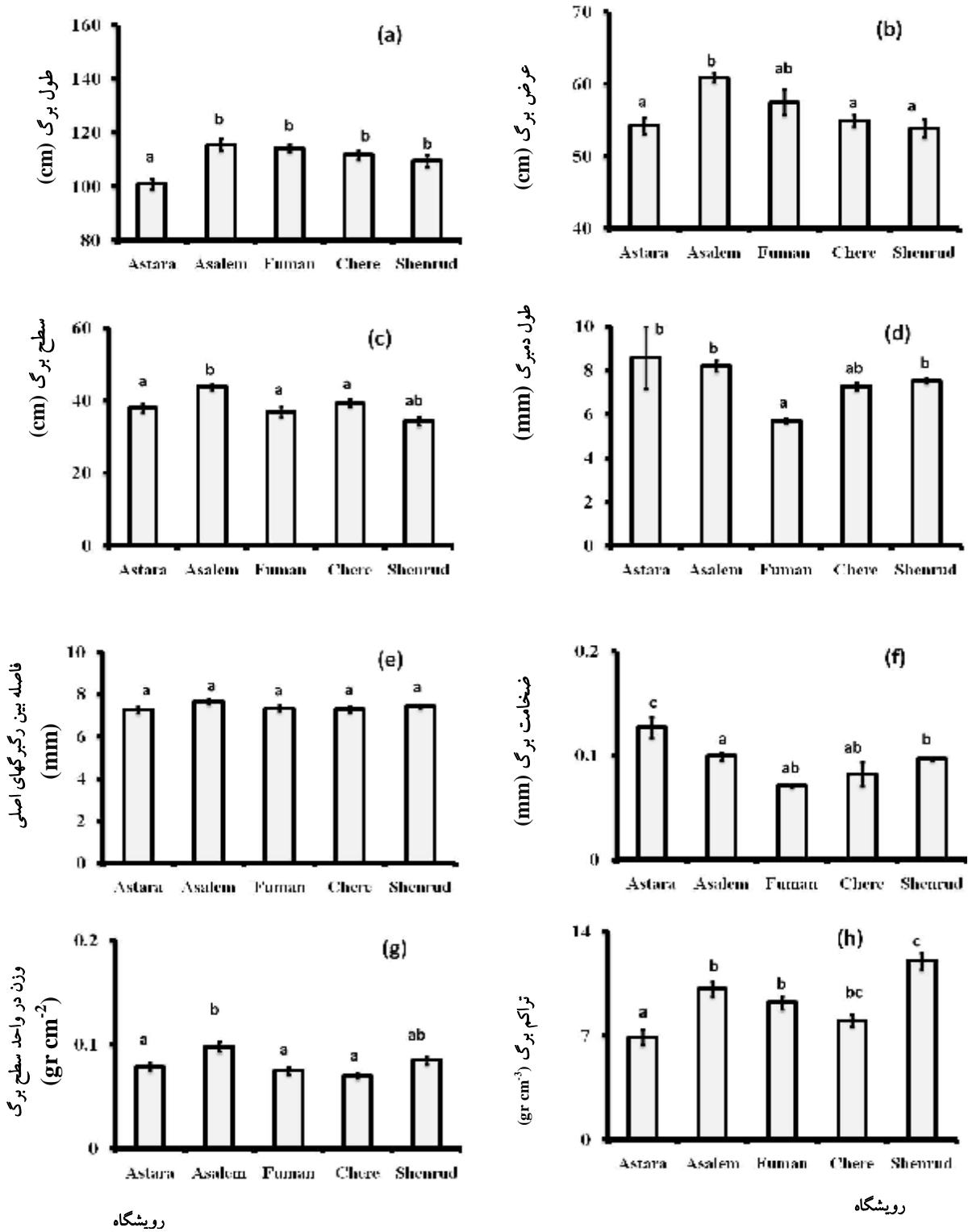
استفاده و میانگین صفات مورد مطالعه محاسبه گردید. سپس برای مقایسه میانگین از آزمون Tukey (HSD) برای رسته‌بندی از روش تجزیه خوشه‌ای استفاده شد. تجزیه خوشه‌ای به روش وارد (Ward) و با استفاده از میانگین متغیرهای استاندارد شده انجام و فاصله اقلیدسی نیز به‌عنوان معیار تشابه مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج

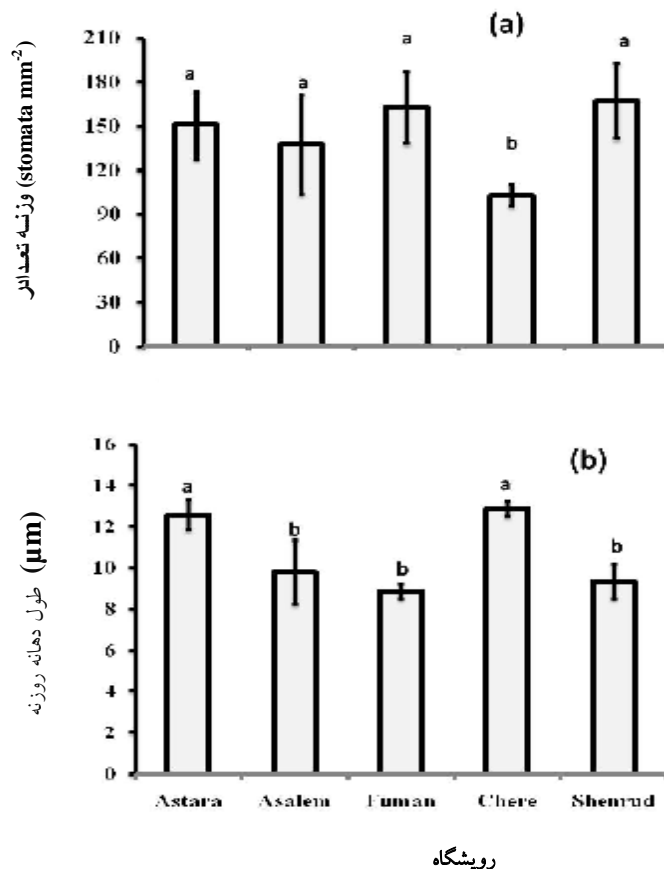
در هر حوزه جمعاً تعداد 1600 نمونه برگ از 40 درخت تهیه و جهت اندازه‌گیری صفات مورفولوژیک و آناتومیک برگ درختان راش شرقی مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج تجزیه آماری صفات مورد بررسی در اشکال 4 و 5 آورده شده است.

نتایج نشان‌داد که در همه صفات مورد مطالعه (مورفولوژیک و آناتومیک برگ) غیر از فاصله بین رگبرگ‌های اصلی، تفاوت معنی‌داری وجود دارد.

اسالم بزرگترین پهنای برگ (6.88 cm)، طول برگ (11.54 cm) و سطح برگ (43.81 cm^2) را دارا می‌باشد و شن‌رود کوچکترین سطح برگ و پهنای برگ را نشان‌داد، (34.36 cm^2 و 5.38 cm). این در حالی است که کوچکترین طول برگ متعلق به آستارا



شکل 4- مقایسه آماری صفات مختلف برگ در حوزه‌های مورد مطالعه



شکل 5- مقایسه آماری صفات مختلف روزنه در حوزه‌های مورد مطالعه.

روزنه که در این تحقیق مورد مطالعه قرار گرفتند دارای رابطه معکوس هستند ($r=-0.70$; $P<0.01$).

باتوجه به رابطه آماری قوی بین تعداد در واحد سطح برگ سلول‌های روزنه با وزن در واحد سطح ($r=-0.76$; $P<0.01$)، می‌توان گفت که وزن در واحد سطح با افزایش تعداد سلول‌های موجود در برگ افزایش می‌یابد.

صفات مربوط به روزنه نیز در سطح آماری 5 درصد متفاوت می‌باشند (شکل 5). کمترین مقدار در حوزه شماره 20 (چره) با 102 ± 7.27 روزنه در واحد سطح مشاهده گردید که به‌طور معنی‌داری با بقیه متفاوت است. در ضمن همین حوزه دارای بزرگترین مقدار طول روزنه (12.85 ± 0.37) می‌باشد. همان‌طور که در جدول 2 مشاهده می‌شود، دو صفت مربوط به

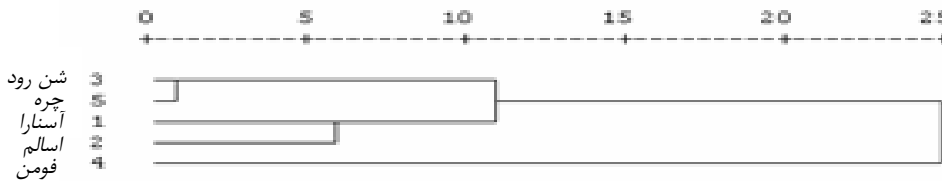
جدول 2- مقادیر ضریب همبستگی بین صفات مختلف برگ راش شرقی.

طول دهانه روزنه	تعداد روزنه	تراکم	وزن در واحد سطح	فاصله بین رگبرگها	ضخامت	طول دمبرگ	سطح	طول	عرض	خصوصیات برگ
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	عرض
									0.70**	طول
								0.38*	0.79**	سطح
						1	0.36*	-0.54**	-0.61**	طول دمبرگ
				1	0.89**	0.23	0.09	-0.80**	0.23	ضخامت
				1	0.02	0.77**	0.61**	0.56**	0.77**	فاصله بین رگبرگها
			1	0.65**	0.34*	0.26	-0.01	0.31	0.31	وزن در واحد سطح
		1	-0.11	0.02	-0.95**	-0.94**	-0.15	0.77**	0.31	تراکم
	1	0.14	0.76**	0.06	0.14	-0.17	-0.54**	-0.17	-0.72**	تعداد روزنه
1	-0.70**	-0.64**	-0.68**	-0.50**	0.43*	0.43*	0.17	-0.57**	-0.43*	طول دهانه روزنه

** معنی‌دار در سطح 1 درصد، * معنی‌دار در سطح 5 درصد

تقسیم‌بندی شدند: (i) فومن (ii) اسالم و آستارا (iii) شن‌رود و چره (شکل 6).

درنهایت برای رسته‌بندی از روش تجزیه خوشه‌ای استفاده شد که براین اساس صفات مورد مطالعه در رویشگاه‌های مدنظر به سه دسته



شکل 6- دندروگرام به‌دست آمده از تجزیه خوشه‌ای صفات مختلف برگ راش شرقی در پنج رویشگاه طبیعی راش به روش وارد (Ward)

بحث و نتیجه‌گیری

باتوجه به نتایج بالا به نظر می‌رسد که گروه‌های ایجادشده تحت تاثیر شرایط اقلیمی (نور، بارندگی و...) و اداکیکی مناطق مورد مطالعه بوجود آمده‌اند و یا به عبارت دیگر تفاوت‌های مورفو-آناتومیک برگ در راش شرقی تحت تاثیر تنوع جغرافیایی بوجود آمده‌است. امکان دارد که تفاوت‌های مورفو-آناتومیک برگ در راش شرقی که در اثر سازش با شرایط محیطی (اقلیم، خاک و...) بوجود آمده‌است، در دراز مدت تبدیل به تفاوت‌های ژنتیکی شده باشند [1]. ولی تشخیص این‌که این تفاوت‌ها فنوتیپی هستند یا ژنتیکی، نیاز به تحقیقات بیشتری دارد.

برای بررسی تاثیر تنوع جغرافیایی در شکل‌گیری این گروه‌ها، رابطه بین صفات اندازه‌گیری شده با عرض جغرافیایی و عوامل اداکیکی مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن در جداول 3 و 4 نشان داده شد. عرض جغرافیایی از این جهت انتخاب شد که با تغییر آن، مجموعه‌ای از فاکتورهای محیطی (درجه حرارت، فتوپریودیسم و بارندگی) تغییر می‌کند [4، 17].

همان‌طور که در جداول 3 و 4 نشان‌داد، تمامی صفات مورد مطالعه یا با عرض جغرافیایی یا با فاکتورهای خاکی یا با هر دو مثل طول سلول‌های روزنه و سطح برگ رابطه آماری معنی‌داری را نشان می‌دهد.

رابطه منفی بین عرض جغرافیایی با طول برگ، و رابطه مثبت آن با طول دم‌برگ برای راش شرقی، همسو با یافته هوپکینز و همکاران (2008)¹ برای گیاه آرابیدوپسیس لیثا² می‌باشد. طبق نظر هوپکینز و همکاران (2008) این تغییر در گیاهان به این دلیل اتفاق می‌افتد که در عرض‌های جغرافیایی بالاتر گیاه برای دریافت نور بیشتر باید به صورت افقی قرار گیرد، لذا دم‌برگ‌ها افزایش طول می‌یابند. این امر نشان‌دهنده سازش راش شرقی با شرایط محیطی حاکم در هر رویشگاه می‌باشد.

¹ - Hopkins et al., 2008

² - Arabidopsis thaliana

جدول 3- مقادیر ضریب همبستگی بین صفات مختلف برگ راش شرقی و عرض جغرافیایی

صفات	عرض جغرافیایی
عرض برگ	0.26
طول برگ	-0.44*
سطح برگ	0.56**
طول دمبرگ	0.54**
ضخامت برگ	0.64**
فاصله بین رگبرگها	-0.01
وزن در واحد سطح	-0.01
تراکم برگ	-0.58**
تعداد روزنه	-0.16
طول دهانه روزنه	0.48**

** معنی دار در سطح 1 درصد، * معنی دار در سطح 5 درصد

جدول 4- مقادیر ضریب همبستگی بین صفات مختلف برگ راش شرقی و خصوصیات ادافیکی

صفات	pH	ماده آلی
عرض برگ	-0.54**	0.07
طول برگ	-0.18	-0.10
سطح برگ	-0.61**	0.30
طول دمبرگ	0.17	-0.19
ضخامت برگ	0.14	-0.10
فاصله بین رگبرگها	0.07	-0.52**
وزن در واحد سطح	0.35	-0.71**
تراکم برگ	-0.16	0.05
تعداد روزنه	0.34	-0.49**
طول دهانه روزنه	-0.22	0.55**

** معنی دار در سطح 1 درصد، * معنی دار در سطح 5 درصد

2. Ahmadi, M.T. Attarod, P. Marvi Mohadjer, M.R. Rahmani, R. Fathi J.2009, Partitioning rainfall into throughfall, stemflow, and interception loss in an oriental beech (*Fagus orientalis* Lipsky) forest during the growing season. Turkish Journal of Agriculture and Forestry 33(6):557-568.

3. Bayramzadeh, V., Funada, R. Kubo, T. 2008, Relationships between vessel element anatomy and physiological as well as morphological traits of leaves in *Fagus crenata* seedlings originating from different provenances. Trees 22(2): 217-224.

4. Berry, J.A. and Raison, J.K. 1981, Responses of macrophytes to temperature. In: Lange, O.L. Nobel, P.S. Osmond, C.B. and Ziegler, H. (eds), Physiological Plant Ecology I. responses to the Physical Environment. Springer-Verlag, New York, pp.277-337.

5. Boardman, N.K. 1977. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. Annual Review of Plant Physiology 28: 355-377.

6. Bussotti, F. Borghini, F. Celesti, C. Leonzio, C. Bruschi P. 2000, Leaf morphology and macronutrients in broadleaved trees in central Italy. Trees 14(7): 361-368.

7. Castro-Diez P., Villar-Salvador, P. Perez-Rontome, C. Maestro-Martinez, G. Montserrat-Marti, G.1997, Leaf morphology and leaf chemical composition in three *Quercus* (*Fagaceae*) species along a rainfall gradient in NE Spain. Trees 11(3): 127-134.

8. Choong, M.F. Lucas, P.W. Ong, J.S.Y. Pereira, B. Tan, H.T.W. Turner, I.M. 1992, Leaf fracture toughness and sclerophylly: their correlation and ecological implications. New Phytologist 121(4): 597-610

منابع

1- مروی مهاجر، م، 1355، بررسی خواص کیفی راشستان‌های شمال ایران. نشریه دانشکده منابع طبیعی، شماره 34.

9. Dijkstra, P. 1990, Cause and effect of differences in specific leaf area. In: H. Lambers, M.L. Cambridge, H. Konings and T.L. Pons (eds.), Causes and consequences of variation in growth rate and productivity of higher plants, SPB Academic Publication, The Hague, pp. 125-140
10. Gee, G.W. Bauder, J.W. 1986, Particle-size analysis. In: A. Klute (eds.), Methods of soil analysis, Soil Science Society of America, Madison, pp. 383-411
11. Gratani, L. Meneghini, M. Pesoli, P. Crescente, M.F. 2003, Structural and functional plasticity of *Quercus ilex* seedlings of different provenances in Italy. *Trees* 17(6): 515–521.
12. Gravano, E. Bussotti, F, Grossoni, P, Tani, C, 1999, Morpho-anatomical and functional modifications in beech leaves on the top ridge of the Apenines (central Italy). *Phyton* 39(4): 41–46.
13. Hopkins, R. Schmitt, J. Stinchcombe, J. 2008, A latitudinal cline and response to vernalization in leaf angle and morphology in *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae) *New Phytologist* 179: 155–164
14. Körner, C. Diemer, M. 1987, In situ photosynthetic responses to light, temperature carbon dioxide in herbaceous plants from low and high altitude. *Functional Ecology* 1(3): 179–194.
15. Kull, O. Broadmeadow, M. Kruijt, B. Meir, P. 1999, Light distribution and foliage structure in an oak canopy. *Trees* 14(2): 55–64
16. Nelson, D.W. Sommers, L.E. 1996, Total carbon, organic carbon, and organic matter. In: L. Sparks (eds.), Methods of soil analysis, Soil Science Society of America, Madison, pp. 961-1010
17. Salisbury, F.B. 1981, Responses to photoperiod. In: Lange, O.L. Nobel, P.S. Osmond, C.B. and Ziegler, H. (eds), *Physiological Plant Ecology I. Responses to the Physical Environment*. Springer-Verlag, New York, pp. 135–168
18. Witkowski, ET. Lamont, B.B. 1991, Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. *Oecologia* 88(4): 486–493.

