

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DELLA TUSCIA



DIPARTIMENTO
PER L'INNOVAZIONE NEI SISTEMI BIOLOGICI, AGROALIMENTARI E FORESTALI
(DIBAF)

Corso di Dottorato di Ricerca in

ECOLOGIA FORESTALE

XXIV° ciclo

Settore scientifico disciplinare AGR/05

Adattamenti all'aridità e risposte ai cambiamenti climatici
in tre specie arbustive di gariga

Coordinatore:

Prof. Paolo De Angelis

Dottorando:

Dario Liberati

Tutor:

Prof. Paolo De Angelis

INTRODUZIONE	4
OBIETTIVI.....	7
1. DESCRIZIONE DEL SITO E DEL SISTEMA DI MANIPOLAZIONE CLIMATICA	9
1.1 Descrizione del sito	9
1.1.1 Monitoraggio microclima	11
1.1.2 Analisi statistica delle differenze tra trattamenti	11
1.2 Trattamento warming	11
1.2.1 Metodologia	11
1.2.2 Risultati	12
1.2.3 Discussione	15
1.3 Trattamento drought.....	16
1.3.1 Metodologia	16
1.3.2 Risultati	16
1.3.4 Discussione	18
2. ECOFISIOLOGIA COMPARATIVA DELLE TRE PRINCIPALI SPECIE PRESENTI NEL SITO 20	
2.1 Introduzione.....	20
2.2 Materiali e metodi.....	21
2.2.1 Periodo di studio.....	21
2.2.2 Specie studiate.....	22
2.2.3 Misura degli scambi gassosi.....	24
2.2.4 Misura del potenziale idrico fogliare di base	25
2.2.5 Analisi statistica	26
2.3 Risultati: plot control.....	27
2.3.1 Andamento della fotosintesi netta durante il periodo di studio	27
2.3.2 Andamento della conduttanza stomatica durante il periodo di studio.....	31
2.3.3 Andamento del potenziale idrico fogliare di base durante il periodo di studio	33
2.3.4 Risposta della fotosintesi alle variazioni di potenziale idrico fogliare di base	35
2.3.5 Risposta della conduttanza stomatica alle variazioni di potenziale idrico fogliare di base	37
2.4 Risultati: trattamento warming	38
2.4.1 <i>C. monspeliensis</i>	38
2.4.2 <i>D. pentaphyllum</i>	40
2.4.3 <i>H. italicum</i>	43
2.5 Risultati: trattamento drought	45

2.5.1 <i>C. monspeliensis</i>	45
2.5.2 <i>D. pentaphyllum</i>	47
2.5.3 <i>H. italicum</i>	49
2.6 Discussione.....	51
2.6.1 Plot control	51
2.6.2 Trattamento warming.....	52
2.6.3 Trattamento drought.....	53
3. RISPOSTE FISILOGICHE ALL'ARIDITÀ IN <i>C. MONSPELIENSIS</i>.....	56
3.1 Introduzione.....	56
3.2 Materiali e metodi.....	58
3.2.1 Periodo di studio.....	58
3.2.2 Misurazione degli scambi gassosi	58
3.2.3 Determinazione dei parametri V_{cmax} e J_{max}	58
3.2.4 Analisi quantitativa delle limitazioni alla fotosintesi	59
3.2.5 Efficienza fotochimica massima del fotosistema II	61
3.2.6 Analisi statistica	62
3.3 Risultati: plot control.....	62
3.3.1 Fotosintesi netta	62
3.3.2 Velocità massima di carbossilazione (V_{cmax}) e velocità massima di rigenerazione del ribulosio difosfato (J_{max}) ..	64
3.3.3 Massima efficienza fotochimica del fotosistema II.....	65
3.3.4 Analisi quantitativa delle limitazioni.....	66
3.4 Risultati: trattamento warming	67
3.5 Risultati: trattamento drought	70
3.6 Discussione.....	73
3.6.1 Plot control	73
3.6.2 Trattamento warming.....	75
3.6.3 Trattamento drought.....	76
4. PLASTICITÀ FENO-MORFOLOGICA IN <i>C. MONSPELIENSIS</i>.....	79
4.1 Introduzione.....	79
4.2 Materiali e metodi.....	81
4.2.1 Periodo di studio.....	81
4.2.2 Dinamica di accrescimento dei getti e demografia fogliare	81
4.2.3 Calcolo del tasso di crescita relativo dei getti.....	82
4.2.4 Morfologia fogliare	83
4.2.5 Contenuto in azoto	84
4.2.6 Analisi statistica	84

4.3 Risultati: plot control	84
4.3.1 Dinamica di accrescimento dei getti e demografia fogliare	84
4.3.2 Durata della vita fogliare	87
4.3.3 Morfologia fogliare	88
4.3.4 Contenuto in azoto e carbonio	90
4.4 Risultati: Trattamento warming	92
4.5 Risultati: trattamento drought	93
4.6 Discussione	95
4.6.1 Plot control	95
4.6.2 Trattamento warming	99
4.6.3 Trattamento drought	99
CONCLUSIONI	100
BIBLIOGRAFIA	103

Introduzione

Il clima sta cambiando; il riscaldamento globale è un dato ormai accertato, confermato dall'incremento delle temperature dell'aria, della temperatura e del livello degli oceani, e da estesi fenomeni di scioglimento dei ghiacci e di riduzione della copertura nevosa. (IPCC, 2007).

La maggior parte dell'incremento della temperatura media globale osservato dalla metà del ventesimo secolo è molto probabilmente dovuto all'incremento nella concentrazione atmosferica dei gas serra di origine antropogenica; la concentrazione di CO₂ nell'atmosfera è andata infatti aumentando da 270 ppm dell'era preindustriale fino all'attuale valore di 380 ppm (IPCC, 2007).

Nel controllo del sistema climatico, gli ecosistemi terrestri svolgono un ruolo di primo piano; essi controllano infatti lo scambio di energia e di acqua tra atmosfera e superficie terrestre, e possono assorbire o rilasciare gas serra come anidride carbonica, metano e ossido nitroso, ed emettere aerosol e loro precursori. Essi stessi sono tuttavia soggetti alle condizioni climatiche locali; ciò comporta una moltitudine di feedback clima-ecosistema, in grado sia di amplificare che di attenuare il cambiamento climatico a scala regionale e globale (Heimann *et al.* 2008). Per questo motivo la capacità di risposta di tali ecosistemi al cambiamento globale è ed è stata oggetto di una intensa attività di ricerca, che ha finora fortemente incrementato la comprensione delle loro risposte a breve termine alla variazione della concentrazione di anidride carbonica, della temperatura e del regime di precipitazioni, fornendo le basi per la nascita di modelli in grado di sintetizzare sempre più efficacemente le conoscenze attuali e di fornire proiezioni per il futuro (Rustad, 2008). Nonostante ciò, il bisogno di dare una base scientifica sempre più solida alle politiche nazionali e internazionali di regolazione dell'emissione e dell'assorbimento di gas serra, impone un ulteriore sviluppo delle ricerche sul cambiamento climatico, con una maggiore integrazione tra gli approcci di monitoraggio, di manipolazione e modellizzazione impiegati nello studio delle risposte delle comunità terrestri al clima e ai suoi mutamenti.

In quest'ottica si inserisce il progetto INCREASE, una infrastruttura europea costituita da una rete di 6 siti sperimentali progettati per lo studio degli effetti del cambiamento climatico sugli ecosistemi arbustivi (Figura 1). Il progetto, combina due differenti approcci; il confronto degli ecosistemi situati lungo un gradiente di temperatura e precipitazioni e la manipolazione climatica.

L'acquisizione di dati ripetuta nel tempo su più siti opportunamente distribuiti (il cosiddetto approccio "time for space substitution"), è in grado di fornire di per se informazioni preziose sulla risposta degli ecosistemi ai cambiamenti delle variabili ambientali, sia nel breve che nel lungo termine (Rustad, 2008). La manipolazione di un intero ecosistema, o di sue parti, è tuttavia un mezzo ancora più potente per

indagare la capacità di risposta delle comunità terrestri al cambiamento climatico e ai diversi processi attraverso cui esso si manifesterà.

Il sistema di manipolazione climatica adottato nel progetto INCREASE è concepito per simulare l'incremento di temperatura e la riduzione delle precipitazioni e, limitatamente a uno dei due siti danesi, l'incremento della concentrazione di anidride carbonica, in accordo con le proiezioni climatiche disponibili per il continente europeo. Infatti, rispetto ai valori medi del periodo 1980 - 1999, le proiezioni IPCC relative allo scenario A1B (che stima per il futuro l'uso bilanciato di fonti di energia fossili e non fossili) prevedono per la fine del secolo (periodo 2080-2099) per il sud Europa un incremento di temperatura e una riduzione delle precipitazioni; l'incremento di temperatura è stimato tra 1.7 e 4.8 °C per il periodo invernale e tra i 3.1 e i 4.8 °C per i mesi estivi, con l'incremento della temperatura media che dipenderà soprattutto, specie in inverno, dall'incremento delle temperature minime (Hegerl *et al.* 2004; Kjellstrom *et al.* 2007); IPCC, 2007). La riduzione delle precipitazioni è invece stimata tra il -2 e il -15 % per i mesi invernali e tra il -5 e il -44% per i mesi estivi (IPCC, 2007).



Figura 1. Distribuzione dei siti sperimentali coinvolti nell'infrastruttura INCREASE.

Molta dell'attività di ricerca svolta durante il progetto INCREASE e durante i progetti precedenti (CLIMOR, 1998-2000 e VULCAN, 2000-2004) basati sullo studio degli stessi siti sperimentali (nei progetti CLIMOR e VULCAN era anche incluso un sito spagnolo) ha riguardato l'analisi degli effetti del cambiamento climatico sul suolo, individuando una varietà di risposte dei processi di respirazione e mineralizzazione all'incremento di temperatura e alla riduzione delle precipitazioni: ad eccezione del sito ungherese (Lellei-Kovacs *et al.* 2008), nella maggior parte dei casi è stata individuata una generale risposta positiva della respirazione del suolo all'incremento di temperatura (Emmett *et al.* 2004; de Dato *et al.* 2008; Beier *et al.* 2008), così come un incremento dell'attività microbica (Sowerby *et al.* 2005b). Per quanto riguarda gli effetti dell'incremento di temperatura sulla mineralizzazione dell'azoto, questo processo è risultato più sensibile alle variazioni di umidità che di temperatura, (Emmett *et al.* 2004; Beier *et al.* 2008) con un effetto positivo registrato nel sito danese (Beier *et al.* 2004) e limitatamente al periodo autunnale in quello italiano (de Dato, 2003). La riduzione delle precipitazioni è stata invece associata ad una generale riduzione della respirazione del suolo (Emmett *et al.* 2004) e dei tassi di mineralizzazione (Beier *et al.* 2008), nonché ad alterazioni a carico della microfauna (Maraldo *et al.* 2008).

Per quel che riguarda gli effetti della manipolazione climatica sulla vegetazione, da numerose attività di ricerca è emerso un consistente effetto negativo della riduzione delle precipitazioni, effetto che si è manifestato su diversi processi, come l'attività fotosintetica (Llorens *et al.* 2003a; Prieto *et al.* 2009a), l'accrescimento dei getti (Llorens *et al.* 2004; de Dato *et al.* 2008), la produzione di fiori (Prieto *et al.* 2008), l'insediamento di nuovi individui (Lloret *et al.* 2005), la produttività primaria epigea (Penuelas *et al.* 2004; Penuelas *et al.* 2007) e l'incremento del grado di copertura (Damgaard *et al.* 2009): meno univoci sono stati gli effetti dell'aumento di temperatura, che comprendono l'incremento dell'attività fotosintetica nei siti più freddi (Beier *et al.* 2004), registrata anche nel periodo autunnale nel sito spagnolo (Prieto *et al.* 2009a), l'incremento dell'efficienza di carbossilazione e dell'efficienza fotochimica del fotosistema II, (Llorens *et al.* 2003a), la stimolazione della fioritura (Prieto *et al.* 2008) e l'incremento di biomassa (Penuelas *et al.* 2004); (Llorens *et al.* 2004; Penuelas *et al.* 2007), ma anche effetti negativi sulla fotosintesi (Prieto *et al.* 2009a), sull'accrescimento (Llorens *et al.* 2004) e sull'insediamento di nuovi individui (Lloret *et al.* 2005).

Obiettivi

Nonostante il sito italiano del progetto INCREASE sia stato coinvolto in numerosi degli studi elencati, rimane tuttavia ancora da esplorare la risposta ecofisiologica delle specie vegetali dominanti, tanto alle condizioni ambientali attuali quanto alle possibili condizioni future simulate dalla manipolazione climatica; in relazione a questo obiettivo generale l'attività svolta si è orientata allo sviluppo di tre distinte linee di ricerca:

1. delineare l'andamento stagionale dell'attività fotosintetica in *Cistus monspeliensis* L., *Dorycnium pentaphyllum* Scop. e *Helichrysum italicum* subsp. *microphyllum* (Willd) Nyman, le tre principali specie presenti nel sito, in risposta all'aridità
2. indagare i fattori fisiologici che determinano le fluttuazioni stagionali dell'attività fotosintetica in *Cistus monspeliensis* L., specie dominante nel sito
3. descrivere come in *Cistus monspeliensis* L., l'interazione tra habitus semideciduo, dinamica di sviluppo dei getti e morfologia fogliare concorra all'adattamento al clima mediterraneo

e allo stesso tempo

- valutare gli effetti della manipolazione climatica su tutti questi processi

1. Descrizione del sito e del sistema di manipolazione climatica

1.1 Descrizione del sito

Lo studio è stato condotto all'interno della riserva naturale Porto Conte Le Prigionette, situata nella penisola di Capo Caccia (40°36' N, 8°9' E) nella Sardegna nord-occidentale. Negli anni settanta un'intensa opera di forestazione fu eseguita nell'area con specie adatte al clima caldo arido, quali *Pinus pinea* L., *Pinus halepensis* Mill., *Cupressus sempervirens* L. e *Eucaliptus* spp., e fasce prive di vegetazione furono lasciate scoperte e tenute pulite con funzione tagliafuoco. La sperimentazione in atto è condotta all'interno di una di queste fasce. La sua manutenzione è stata realizzata tramite fuoco controllato fino al 1990 e poi con mezzi meccanici nel 1991 e 1992, mentre dal 1993 nessun altro intervento è stato eseguito e la vegetazione spontanea ha potuto ricolonizzare il terreno. Attualmente l'area è occupata da una gariga (altezza massima circa 1 metro) (Figura 2) composta in prevalenza da *Cistus monspeliensis* L. e *Helichrysum italicum* subsp. *microphyllum* (Willd) Nyman, con presenza di individui di *Dorycnium pentaphyllum* scop. , *Rosmarinus officinalis* L. e *Pistacia lentiscus* L. .



Figura 2. Il sito sperimentale di Porto Conte

L'installazione del sistema di manipolazione climatica risale all'anno 2001: lungo la fascia tagliafuoco (125 x 10 m circa, pendenza 10% circa; N 40°37' E 8°10') sono stati individuati 3 blocchi adiacenti, e al

loro interno definiti tre plot di 6 x 4 m , assegnati a caso ai trattamenti sperimentali: control (nessuna manipolazione), warming (copertura notturna), drought (intercettazione periodica delle precipitazioni) (Figura 3a). Elementi tubolari in ferro zincato costituiscono una struttura orizzontale rettangolare di 6 x 4 m sostenuta a circa 1 m di altezza da 12 elementi verticali infissi al terreno. Sul telaio rettangolare poggiano due binari che permettono lo scorrimento dei teli (dimensioni 5 x 4 m) necessari per la copertura della vegetazione (Figura 3b). I teli sono collegati tramite cavetti in acciaio ad un motore, alimentato da una batteria a 24 V ricaricata da un pannello solare. Il segnale proveniente da sensori di radiazione solare, pioggia e velocità del vento, viene acquisito da un microprocessore che attiva l'apertura e chiusura dei teli in accordo con il protocollo sperimentale (de Angelis *et al.* 2005).

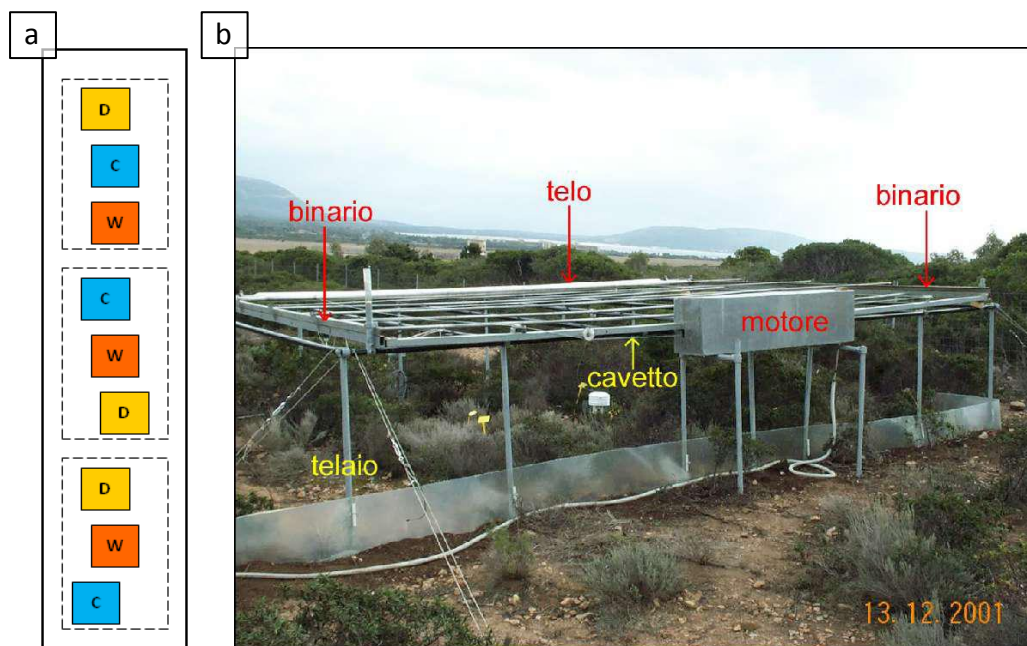


Figura 3. Disposizione dei plot lungo la fascia tagliafuoco (Figura 3a), e struttura di uno dei 9 plot (Figura 3b); sulla struttura in ferro che lo delimita sono montati due binari su cui scorrono i teli per la copertura notturna (nel caso dei plot warming) o per la rimozione delle precipitazioni (nel caso dei plot drought). I plot di controllo sono dotati della sola intelaiatura metallica.

1.1.1 Monitoraggio microclima

All'interno di ogni plot il microclima è stato continuamente monitorato per mezzo di un sensore di temperatura dell'aria a 20 cm di altezza dal suolo, un sensore di umidità relativa dell'aria a 20 cm di altezza, quattro sensori di temperatura del suolo, di cui tre alla profondità di 10 cm e uno alla profondità di 20 cm e due sensori per il contenuto idrico del suolo ECH2O (Decagon Devices, Inc.) posti alla profondità di 5 cm. Inoltre, per il monitoraggio del clima dell'area sono stati installati a 2 m di altezza un sensore per la temperatura dell'aria, un sensore per l'umidità relativa dell'aria, un sensore per la velocità e direzione del vento, un sensore per la radiazione globale e un pluviometro. Per ovviare al problema della grande variabilità spaziale della struttura del suolo, i dati di contenuto idrico misurati da ogni sensore sono stati espressi come percentuale del valore massimo registrato nel corso dell'anno (RWC), quindi in condizioni di massima saturazione. (de Angelis *et al.* 2005)

Da maggio 2010 in ogni plot è stato anche installato un sensore di bagnatura fogliare (Dielectric Leaf Wetness Sensor, Decagon Devices, Inc.)

1.1.2 Analisi statistica delle differenze tra trattamenti

L'effetto dei trattamenti warming e drought sulla temperatura dell'aria, sulla temperatura del suolo e sul contenuto idrico relativo del suolo è stato testato per mezzo del test dei ranghi con segno di Wilcoxon, che verifica se le differenze giornaliere (warming meno control e drought meno control) possono essere considerate diverse da zero. Il test è stato eseguito per mezzo del software GRAPHPAD.

1.2 Trattamento warming

1.2.1 Metodologia

La manipolazione delle condizioni climatiche è stata attuata impiegando la tecnica di riscaldamento passivo notturno. I teli utilizzati, di spessore 5 mm sono realizzati in plastica-alluminio per riflettere la radiazione infrarossa emessa dal suolo durante le ore notturne. Con intensità di luce inferiore a 4 W/m² si aprono sopra la vegetazione, ritirandosi poi all'alba (Figura 4). Se durante la notte si verifica un evento piovoso o il vento supera la velocità soglia di 10 m/s, i teli vengono riavvolti, per poi essere nuovamente distesi al termine del fenomeno ventoso o piovoso.



Figura 4. Trattamento warming in funzione al tramonto.

1.2.2 Risultati

Rispetto ai plot control, nel corso dei tre anni di studio il trattamento warming ha determinato un incremento significativo delle temperatura media dell'aria di 0.4 °C ($p < 0.0001$) (Tabella 1, Figura 5) e della temperatura media del suolo di 1.0 °C ($p < 0.0001$) (Tabella 2, Figura 6).

Tabella 1. Medie annuali dei valori giornalieri di temperature dell'aria minima ($T_{\text{aria min}}$), massima ($T_{\text{aria max}}$) e media ($T_{\text{aria media}}$) nei plot control e warming per gli anni 2009, 2010 e 2011; nella colonna $\Delta(W-C)$ è riportata la differenza tra i valori del trattamento warming e i valori del trattamento control.

	2009			2010			2011			Media 09-10-11
	control	warming	Δ (w-c)	control	warming	Δ (w-c)	control	warming	Δ (w-c)	$\Delta (W-C)$
$T_{\text{aria min}}$ (°C)	10.0	10.9	+0.9	9.8	10.9	+1.1	9.5	10.2	+0.7	+0.9
$T_{\text{aria max}}$ (°C)	24.6	24.7	+0.1	22.7	23.0	+0.3	23.9	24.1	+0.2	+0.2
$T_{\text{aria media}}$ (°C)	16.4	16.8	+0.4	15.6	16.1	+0.5	16.0	16.3	+0.3	+0.4

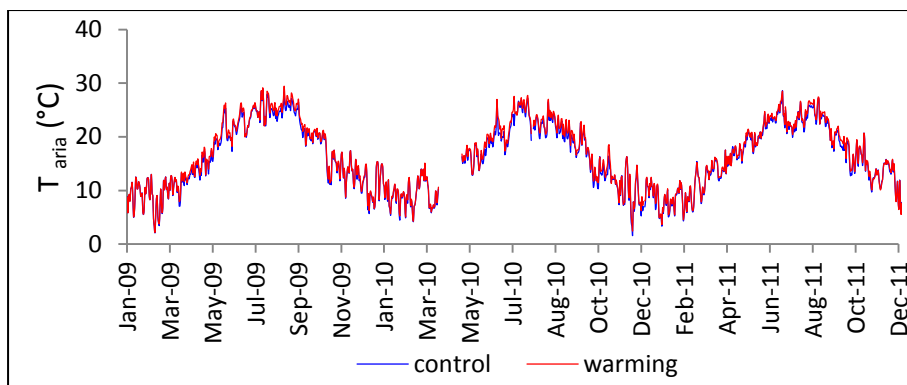


Figura 5. Andamento delle temperature medie giornaliere dell'aria nel periodo di studio nei plot control e nei plot warming.

Tabella 2. Medie annuali dei valori minimi ($T_{\text{suolo min}}$), massimi ($T_{\text{suolo max}}$) e medi ($T_{\text{suolo media}}$) giornalieri del suolo, nei plot control e warming misurati alla profondità di 20 cm per gli anni 2009, 2010 e 2011; nella colonna $\Delta(W-C)$ è riportata la differenza tra i valori del trattamento warming e i valori del trattamento control.

	2009			2010			2011			Media
	control	warming	Δ	control	warming	Δ	control	warming	Δ	09-10-11
			(w-c)			(w-c)			(w-c)	$\Delta (W-C)$
$T_{\text{suolo min}} (^{\circ}\text{C})$	15.7	16.7	+1.0	15.2	16.4	+1.2	15.6	16.3	+0.6	+0.9
$T_{\text{suolo max}} (^{\circ}\text{C})$	16.9	18.2	+1.3	16.3	17.8	+1.5	16.9	17.9	+1.0	+1.3
$T_{\text{suolo media}} (^{\circ}\text{C})$	16.2	17.2	+1.0	15.7	16.9	+1.2	16.2	17.1	+0.9	+1.0

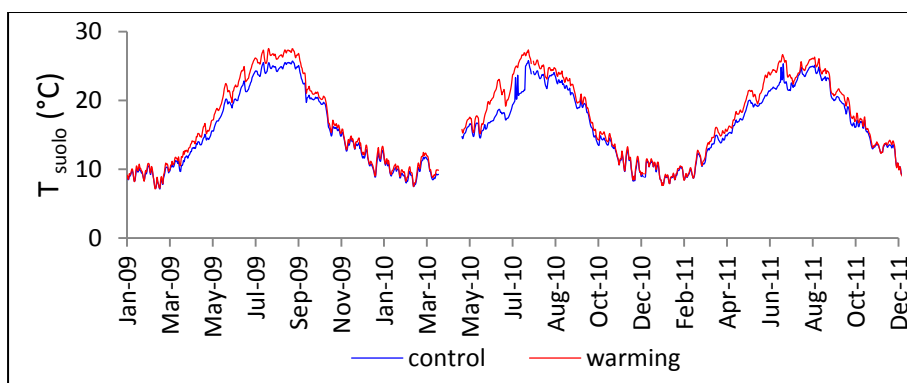


Figura 6. Andamento delle temperature medie giornaliere del suolo misurate alla profondità di 20 cm nel periodo di studio nei plot control e nei plot warming.

I dati di contenuto idrico relativo del suolo misurato alla profondità di 5 cm, disponibili per gli anni 2010 e 2011 del periodo di studio, mostrano una differenza significativa ($p < 0.0001$) tra plot control e plot warming, con una riduzione media del 16% nel trattamento warming (Tabella 3, Figura 7).

Tabella 3. Medie annuali dei valori giornalieri di contenuto idrico relativo del suolo (RWC) misurato alla profondità di 5 cm per gli anni 2010 e 2011 nei plot control e nei plot warming; nella colonna $\Delta(\%)(W-C)$ è riportata la differenza (espressa come percentuale del valore del trattamento control) tra i valori misurati nel trattamento warming e i valori misurati nel trattamento control.

	2010			2011			Media
	control	warming	$\Delta(\%)(w-c)$	control	warming	$\Delta(\%)(w-c)$	10-11
							$\Delta(\%)(W-C)$
RWC (%)	37	30	- 19%	29	25	-13%	- 16%

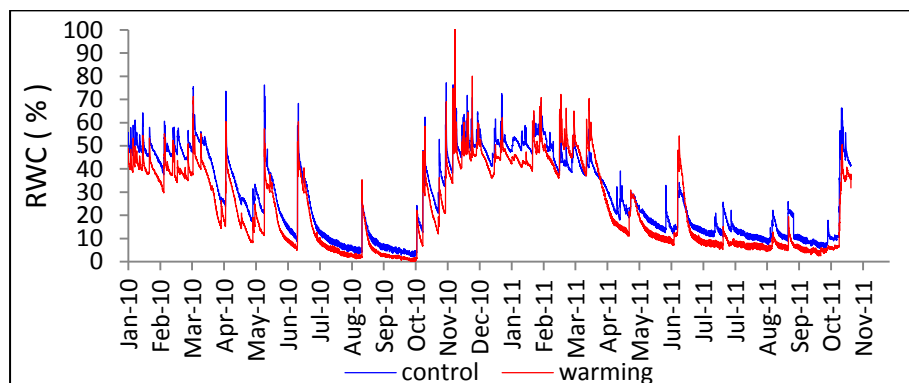


Figura 7. Andamento del contenuto idrico relativo del suolo misurato alla profondità di 5 cm negli anni 2010 e 2011 nei plot control e nei plot warming.

I sensori di bagnatura fogliare hanno evidenziato nei plot warming una minore condensazione di rugiada, con un tempo di bagnatura fogliare dimezzato rispetto ai plot control (Figura 8).

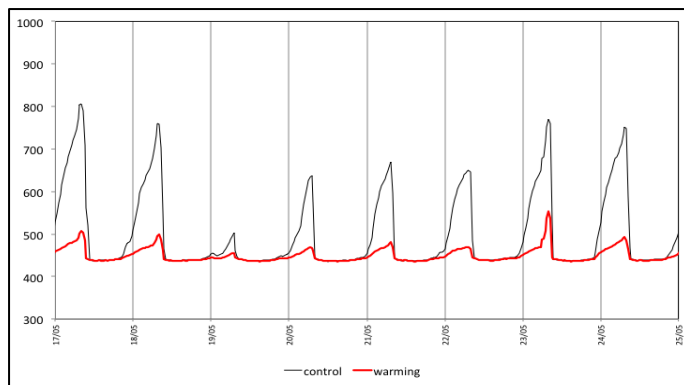


Figura 8. Andamento della bagnatura fogliare dal 17 al 25 maggio 2010. In ordinata è riportato il segnale di output (adimensionale) del sensore.

1.2.3 Discussione

La distensione dei teli riflettenti sulla vegetazione ha determinato nei plot warming un incremento significativo della temperatura media dell'aria e del suolo, prossimo ai valori previsti dalle proiezioni climatiche più recenti. Va sottolineato inoltre come la tecnica di riscaldamento passivo notturno, pur non raggiungendo la capacità di alterazione della temperatura propria ad altri tipi di manipolazione, permette di evitare alcuni effetti collaterali connessi all'alterazione diurna della temperatura. In esperimenti basati sull'irraggiamento attivo della vegetazione tramite lampade a infrarosso, si determina infatti al livello fogliare un incremento del gradiente di pressione di vapore tra l'interno della foglia irraggiata e l'esterno; questo incremento può essere a tutti gli effetti considerato un artefatto, in quanto esso non si verificherebbe se anche l'atmosfera circostante la zona irraggiata avesse subisse lo stesso aumento di temperatura, come nel caso di un effettivo incremento delle temperature al livello globale (Kimball, 2005). Tale fenomeno durante il giorno può determinare una maggiore perdita di acqua per via traspirativa e una riduzione del contenuto idrico del suolo, mentre nel corso delle ore notturne, in presenza di stomi chiusi, questo effetto risulta molto più limitato.

La riduzione del contenuto idrico relativo del suolo osservata nei plot warming, che trova riscontro in diversi lavori basati sul riscaldamento sperimentale in campo (Harte *et al.* 1995); (Wan *et al.* 2002); (Wall *et al.* 2011), è da mettere perciò in relazione essenzialmente con l'incremento di temperatura del suolo (Sardans *et al.* 2008) e probabilmente anche con la ridotta condensazione della rugiada durante le ore notturne.

1.3 Trattamento drought

1.3.1 Metodologia

I teli del trattamento drought, necessari per l'intercettazione delle precipitazioni, sono realizzati in polietilene impermeabile e trasparente. Durante il periodo in cui il trattamento è attivo, questi si svolgono in caso di precipitazione, riavvolgendosi una volta terminato l'evento piovoso, o in caso sopraggiunga un vento di velocità maggiore a 10 m/s. L'acqua raccolta dai teli è convogliata in grondaie ed allontanata dal plot. Ulteriori barriere metalliche a monte dei plot drought evitano l'ingresso dell'acqua per ruscellamento.

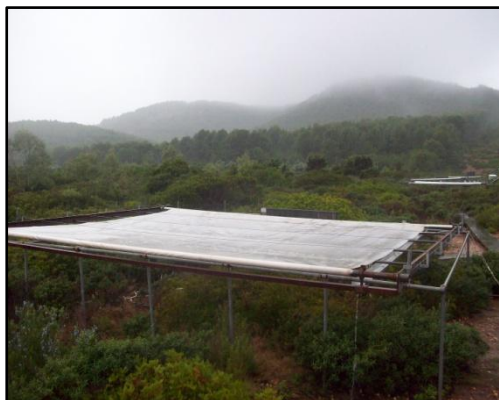


Figura 9. Trattamento drought in funzione nel corso di una precipitazione autunnale (ottobre 2010).

1.3.2 Risultati

Nel primo anno di studio per problemi tecnici, il sistema di intercettazione delle piogge non è stato in funzione, mentre nei due anni successivi il trattamento drought è stato attivo dal 01/04/ 2010 al 10/11/2010 , e dal 01/03/2011 al 20/11/2011, escludendo su base annua rispettivamente il 23 e il 20 % delle precipitazioni. I dati di contenuto idrico relativo del suolo misurato alla profondità di 5 cm, disponibili per gli anni 2010 e 2011 del periodo di studio, mostrano una differenza significativa ($p < 0.0001$) tra plot control e plot drought, con una riduzione media annua del 22 % nel trattamento drought (Tabella 4, Figura 10).

Tabella 4. Medie annuali dei valori giornalieri di contenuto idrico relativo del suolo (RWC) misurato alla profondità di 5 cm per gli anni 2010 e 2011 nei plot control e nei plot drought; nella colonna $\Delta(\%)(D-C)$ è riportata la differenza (espressa come percentuale del valore del trattamento control) tra i valori misurati nel trattamento drought e i valori misurati nel trattamento control.

	2009			2010			2011			Media
	control	drought	$\Delta(\%)(D-C)$	control	drought	$\Delta(\%)(D-C)$	control	drought	$\Delta(\%)(D-W)$	2010-2011
										$\Delta(D-C)$
RWC (%)				37	28	-24%	29	23	-20%	-22%
Pioggia (mm)	599	599	0%	824	634	-23%	565	474	-16%	-20%

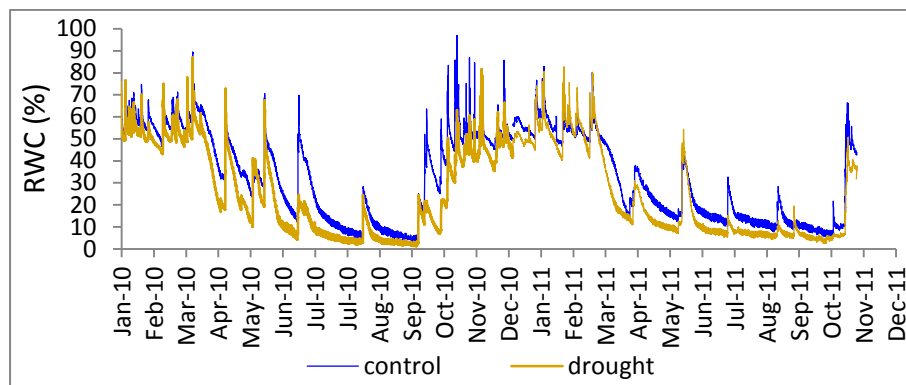


Figura 10. Andamento del contenuto idrico relativo del suolo misurato alla profondità di 5 cm negli anni 2010 e 2011 nei plot control e nei plot drought.

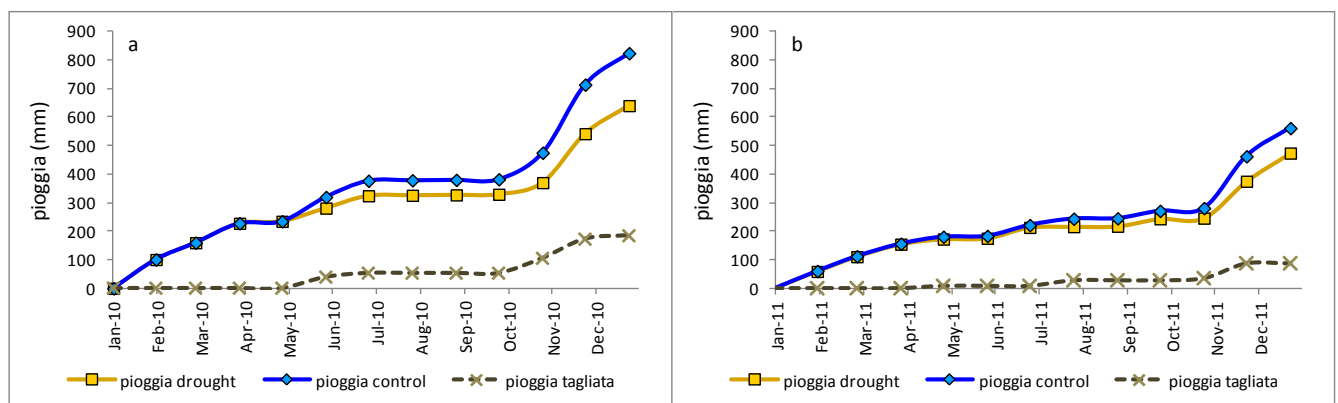


Figura 11. Valore cumulato delle precipitazioni cadute nel corso dell'anno 2010 (Figura 11a) e dell'anno 2011 (Figura 11b) nei plot drought e nei plot control e delle precipitazioni escluse dai plot drought.

Nel 2010 il minore contenuto idrico relativo del suolo è stato misurato a settembre 2010. La campagna di misura successiva (ottobre 2010) ha avuto inizio circa 10 giorni dopo la caduta delle prime piogge della stagione autunnale, in presenza di una differenza significativa nel contenuto idrico relativo del suolo tra plot control e plot drought. Nel 2011 il periodo di aridità ha avuto una durata maggiore, con i valori minimi di contenuto idrico relativo del suolo misurati a ottobre 2011. La campagna di misura successiva ha avuto inizio circa 15 giorni dopo la caduta delle prime piogge della stagione autunnale, ma in questo caso l'efficacia del sistema di intercettazione, a causa di problemi di natura meccanica, è risultata inferiore e le differenze nel contenuto idrico relativo osservate nei giorni della campagna di misurazione non sono risultate significative (Figura 12).

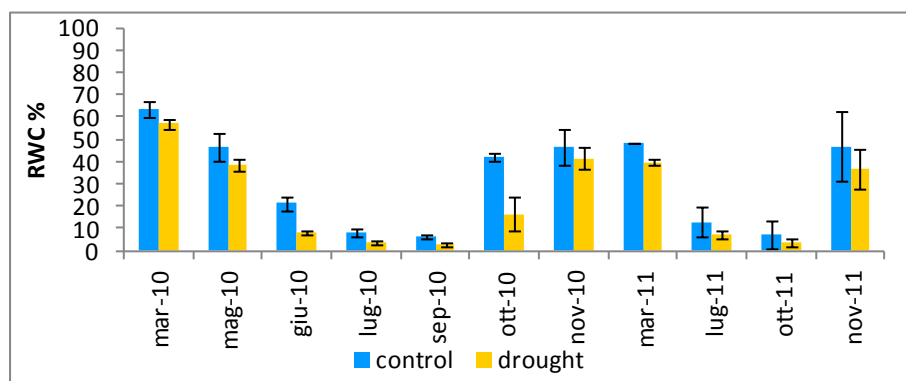


Figura 12. Contenuto idrico relativo del suolo nei plot control e nei plot drought durante le campagne di misura effettuate nel corso degli anni 2010 e 2011. Le barre indicano l'errore standard.

1.3.4 Discussione

La riduzione del 20 % delle piogge conseguita attraverso il trattamento drought nel periodo compreso tra primavera e autunno, rientra nell'intervallo di possibili riduzioni delle precipitazioni previsto nel medio termine per la parte meridionale del continente europeo, e ha provocato una riduzione significativa del contenuto idrico del suolo. A causa di problemi tecnici al meccanismo di copertura automatica dei plot drought, l'intercettazione delle precipitazioni non è avvenuta in modo continuo durante il periodo di attività del trattamento; durante le campagne di misura effettuate durante gli anni 2010 e 2011 le differenze maggiori nel contenuto idrico del suolo sono state osservate a ottobre 2010, quando nei plot drought sono state quasi completamente escluse le prime precipitazioni della stagione autunnale, simulando efficacemente una estensione del periodo di aridità estiva.

2. Ecofisiologia comparativa delle tre principali specie presenti nel sito

2.1 Introduzione

Il periodo di aridità estiva è considerato il fattore che maggiormente limita la produttività e la distribuzione delle specie mediterranee (Larcher, 2000), e il suo atteso inasprimento, dovuto alla riduzione delle precipitazioni e all'incremento delle temperature, potrebbero imporre delle serie costrizioni all'attività vegetativa durante il periodo estivo; in particolare, la risposta dell'attività fotosintetica delle specie mediterranee all'estensione del periodo di aridità e all'innalzamento delle temperature sarà uno dei fattori più importanti nel determinare la loro persistenza nell'attuale areale di distribuzione (Prieto *et al.* 2009b): la riduzione delle performance fotosintetiche di una specie può infatti ridurre la sua capacità competitiva e nel lungo termine portare alla sua scomparsa. Tuttavia, poiché specie coesistenti spesso adottano differenti strategie adattative, ognuna risponderà probabilmente in maniera diversa all'inasprimento delle condizioni ambientali (Llorens *et al.* 2003a; Ackerly, 2004).

In base ai meccanismi messi in atto per resistere allo stress idrico, le piante possono essere infatti raggruppate in tre categorie : le specie effimere, le specie evitanti e le specie tolleranti (Kozłowski *et al.* 2002; Yue *et al.* 2006). Le specie effimere completano il proprio ciclo vitale durante il periodo umido per poi passare allo stato quiescente; le specie evitanti sono quelle che invece riescono a mantenere un potenziale idrico fogliare elevato anche durante la stagione arida; le specie tolleranti sono infine quelle che subiscono, tollerandola, una forte riduzione del potenziale idrico dei tessuti durante la stagione secca. All'evitanza e alla tolleranza dello stress idrico possono essere d'altra parte associate diverse strategie adattative : in specie sempreverdi che sperimentano durante l'aridità potenziali idrici fogliari elevati (meno negativi), l'evitanza dello stress idrico può essere conseguita attraverso un sistema radicale profondo (evitanza morfologica), mentre le specie dotate di un apparato radicale superficiale possono evitare la disidratazione dei tessuti attraverso la perdita delle foglie (evitanza fenologica). La combinazione di una tipologia fogliare persistente con un apparato radicale superficiale comporta invece il raggiungimento di potenziali idrici fogliari molto bassi durante la stagione arida, ed è quindi legata ad un meccanismo di tolleranza fisiologica dell'aridità; alcune delle specie appartenenti a questo gruppo sono in grado, attraverso aggiustamenti osmotici, di mantenere un turgore cellulare tale da sostenere gli scambi gassosi anche in aridità, garantendo perciò una assimilazione continua per tutto l'anno, mentre in altre in questo periodo l'attività fotosintetica subisce una temporanea interruzione (Ackerly, 2004).

Lo scopo dell'attività di ricerca presentata in questo capitolo è stato quello di individuare, sulla base del monitoraggio degli scambi gassosi e del potenziale idrico condotto nel corso di due anni di studio, quale di queste diverse possibili strategie adattative fossero messe in atto dalle principali specie vegetali presenti nel sito sperimentale per far fronte all'aridità, con particolare riguardo a *Dorycnium pentaphyllum* e *Helichrysum italicum* subsp. *microphyllum* (Willd.) Nyman, per le quali non è stato possibile reperire in letteratura alcun dato riguardante l'assimilazione fotosintetica, e di verificare quanto queste fossero in grado di assicurarne la sopravvivenza nelle condizioni climatiche future.

2.2 Materiali e metodi

2.2.1 Periodo di studio

L'acquisizione dei dati relativi agli scambi gassosi e al potenziale idrico fogliare di base è stata condotta in undici occasioni nel periodo compreso tra marzo 2010 e novembre 2011 (Tabella 5).

Tabella 5. Date di misurazione degli scambi gassosi.

Giorni di misurazione	Data usata nel testo
31 marzo – 2 aprile 2010	marzo 2010
18-2 maggio 2010	maggio 2010
30 giugno 2 luglio 2010	giugno 2010
27-29 luglio 2010	luglio 2010
13-15 settembre 2010	settembre 2010
14-16 ottobre 2010	ottobre 2010
04-06 novembre 2010	novembre 2010
22-24 marzo 2011	marzo 2011
11-13 luglio 2011	luglio 2011
16-18 ottobre 2011	ottobre 2011
9-11 novembre 2011	novembre 2011

2.2.2 Specie studiate

Cistus monspeliensis L. (Cistaceae)

Il genere *Cistus* comprende 21 specie, distribuite principalmente nel bacino del Mediterraneo; tra queste *C. monspeliensis* è una delle più diffuse (Guzman *et al.* 2009). In Italia è presente nelle garighe e nelle macchie degradate del centro e del meridione, mostrandosi relativamente indifferente alla natura del substrato; nell'Italia centrale è legata all'ambiente costiero, sulla costa adriatica non risale oltre il litorale molisano. Si presenta spesso in grandi masse, soprattutto nelle aree ripetutamente incendiate (Pignatti, 1982). Si tratta infatti di una specie pioniera, in grado di colonizzare ampie aree percorse dagli incendi, dove costituisce formazioni coetanee in grado di persistere per lungo tempo: grazie alla sua capacità di rigenerarsi abbondantemente dopo il passaggio del fuoco per mezzo dei semi dispersi nel suolo (Ladd *et al.* 2005), la cui germinazione risulta stimolata dal calore (Reyes *et al.* 2009), *C. monspeliensis* è considerata una delle principali specie pirofite.

Secondo lo schema di classificazione di Raunkiaer, *C. monspeliensis* può essere classificato come nanofanerofita, ed è dotata di un apparato radicale superficiale (Pérez Latorre *et al.* 2002). Le foglie sono opposte, lanceolate e appiccicose al tatto, dotate di una fragranza resinosa (Rivoal *et al.* 2010), e presentano un marcato dimorfismo stagionale, con foglie piccole portate da getti corti (detti brachiblasti) in estate e foglie più grandi portate da getti lunghi (detti dolicoblasti) in inverno (Aronne *et al.* 2001).

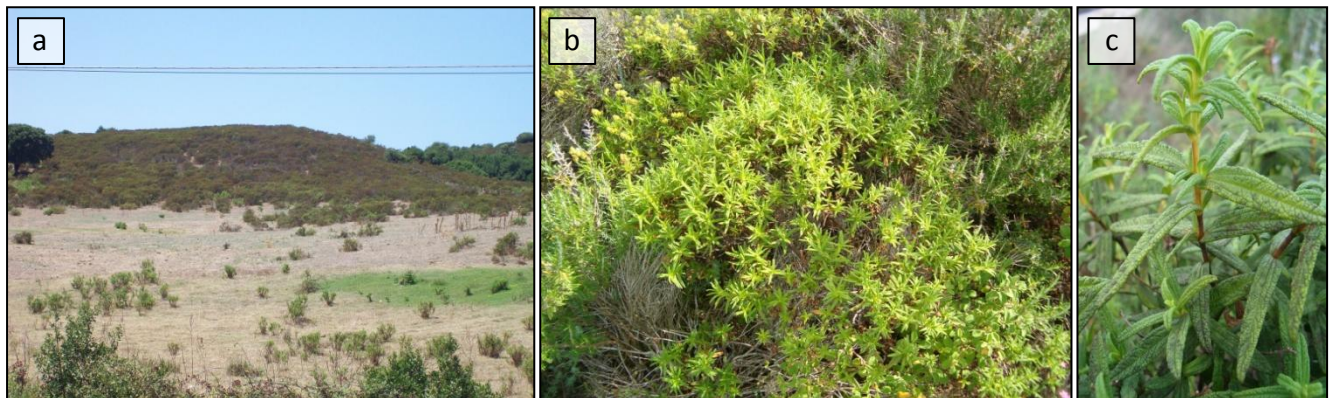


Figura 13. Estesa formazione a *C. monspeliensis* (Luogosanto, Sardegna nord-orientale) (Figura 13a), individuo adulto di *C. monspeliensis* nel suo habitus primaverile fotografato presso il sito sperimentale (Figura 13b) e particolare di un dolicoblasto recante alcuni brachiblasti (Figura 13c).

Dorycnium pentaphyllum Scop. (Fabaceae)

D. pentaphyllum è una camefita suffrutticosa nativa del bacino del Mediterraneo. È alta 10-80 cm, con fusto legnoso alla base, rami erbacei eretti o ascendenti e foglie con 5 segmenti quasi uguali tra loro inseriti direttamente sul fusto, lunghi 10-20 mm (Pignatti, 1982) (Figura 14). È inoltre caratterizzata da un apparato radicale profondo (Lefèvre *et al.* 2009). L'habitus prostrato, la resistenza alla siccità e al gelo, la capacità di crescere su suoli sia alcalini che acidi e la possibilità di rigenerazione per via vegetativa dopo gli incendi rendono questa specie adatta nella rivegetazione finalizzata al controllo dell'erosione (Alegre *et al.* 1998).



Figura 14. *D. pentaphyllum* fotografato presso il sito sperimentale (Figura 14a) con particolare del getto (Figura 14b)

Helichrysum italicum subsp. *microphyllum* (Willd.) Nyman (Asteraceae)

H. italicum è una camefita suffrutticosa, alta 25-40 cm, con odore aromatico gradevole, dotata di fusti contorti e rami arcuati ascendenti, diffusa in tutta Italia in macchie, garighe e prati aridi (Pignatti, 1982), caratterizzata da un apparato radicale superficiale (osservazione personale). In Sardegna è diffusa la sottospecie *microphyllum*, comune in tutta l'isola su dune e habitat aperti a basse quote, nonché in comunità arbustive montane; si presenta con un habitus compatto e dimensioni ridotte, con rami sterili dotati di fascetti glomeruliformi all'ascella delle foglie maggiori, foglie di taglia ridotta lunghe 4-15 mm con margini fogliari ondulati, di dimensioni anche inferiori negli individui che crescono vicino alla costa, dove le condizioni ambientali si fanno più difficili (Galbany-Casals *et al.* 2011).

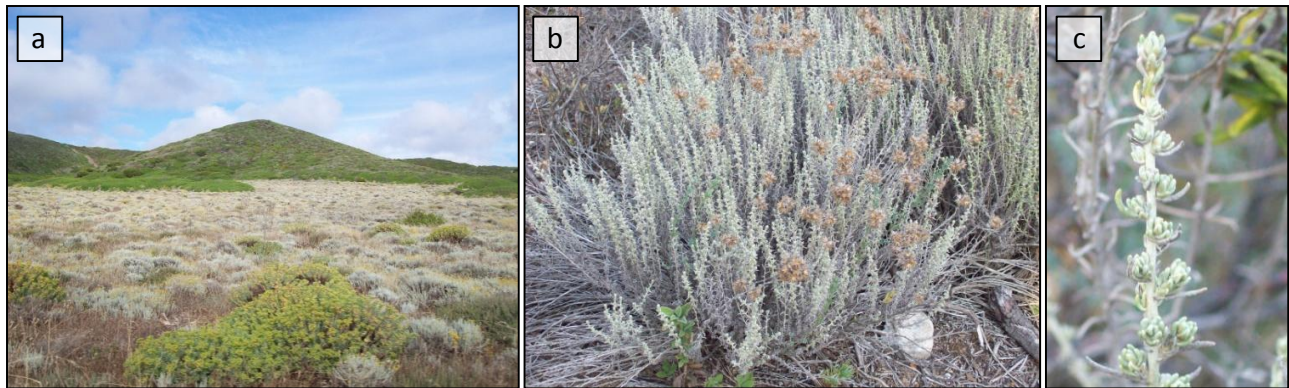


Figura 15. Gariga dominata da *H. italicum* (Argentiera, Sardegna nord occidentale) (Figura 15a), individuo di *H. italicum* fotografato presso il sito sperimentale (Figura 15b) e particolare del getto (Figura 15c)

2.2.3 Misura degli scambi gassosi.

All'inizio del periodo di studio sono state individuati e identificati permanentemente 2 individui per ognuna delle tre specie per ognuno dei 9 plot; gli esemplari di *C. monspeliensis* scelti coincidevano con quelli già soggetti a monitoraggio per lo studio della dinamica di sviluppo dei getti (capitolo 4).

Le misure di scambi gassosi sono state effettuate per mezzo di un analizzatore di scambi gassosi portatile (LI-6400, Li-Cor Bio-sciences, Lincoln, NE, USA), equipaggiato con una camera fogliare per specie aghiformi con sorgente di luce interna, all'interno della quale, viste le ridotte dimensioni delle foglie delle specie studiate, veniva posto un intero getto. Per quanto riguarda *C. monspeliensis*, da marzo fino a maggio le misure sono eseguite sui getti invernali (dolicoblasti), da giugno fino a ottobre-novembre sui getti estivi (brachiblasti), in una fase più o meno avanzata del loro sviluppo (vedi Capitolo 4).

Nel corso del periodo di studio, ad ogni data di campionamento, l'acquisizione dei dati di fotosintesi netta e di conduttanza stomatica è stata eseguita nel corso di tre giorni consecutivi, tra le ore 11:00 e le ore 13:00 (ora solare). La scelta di misurare gli scambi gassosi a metà giornata è stata motivata da due necessità: la prima è quella di cogliere in maniera ottimale le variazioni di funzionalità legate allo stress da aridità, che si manifestano con la massima intensità nelle ore centrali del giorno, e la seconda di rendere comparabili le misurazioni effettuate in diversi periodi dell'anno.

All'interno della camera fogliare sono state impostate di volta in volta le condizioni di luminosità e temperatura rilevate all'esterno in condizioni di cielo sereno, ed una concentrazione di anidride carbonica pari a 400 ppm (Tabella 6).

Terminate la misure, i getti erano raccolti e portati in laboratorio per la determinazione del peso secco fogliare. Una volta ottenuti questi dati, la fotosintesi e la conduttanza stomatica sono state espresse come micromoli di anidride carbonica per grammo di massa secca fogliare per secondo e millimoli di acqua per grammo di massa secca fogliare per secondo.

Tabella 6. Valori di intensità della radiazione fotosinteticamente attiva (PAR) e temperature dell'aria impostati all'interno della camera fogliare nel corso del period di studio.

Data di misurazione	PAR ($\mu\text{mol fotoni m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	Temperatura dell'aria (°C)
marzo 2010	1200	21
maggio 2010	1500	22
giugno 2010	1900	32
luglio 2010	2000	32
settembre 2010	1600	30
ottobre 2010	1400	25
novembre 2010	1100	26
marzo 2011	1300	22
luglio 2011	1600	35
ottobre 2011	1400	27
novembre 2011	1100	25

2.2.4 Misura del potenziale idrico fogliare di base

Il potenziale idrico fogliare di base è stato misurato in ognuna delle date di misurazione degli scambi gassosi, per mezzo di una camera a pressione (SKPM 1400, Skye Instruments LTD, UK), su di un getto per ognuna delle piante individuate per il monitoraggio degli scambi gassosi.

2.2.5 Analisi statistica

Per l'analisi statistica delle differenze tra i valori di fotosintesi, conduttanza stomatica e potenziale idrico fogliare è stato utilizzato il software SYSTAT. Per il confronto delle curve di risposta della fotosintesi e della conduttanza stomatica al potenziale idrico fogliare di base è stato usato il software GRAPHPAD.

Le differenze tra specie nei valori medi di fotosintesi, conduttanza stomatica e potenziale idrico fogliare, relativi all'intero periodo di studio, sono state testate tramite analisi della varianza ad una via, usando come più piccola unità indipendente il valore della variabile relativa ad ognuna delle piante monitorate e ad ognuna delle 11 date di misurazione ($n = 66$ per ognuno dei tre trattamenti). La fotosintesi, la conduttanza stomatica e il potenziale idrico fogliare di base sono state considerate di volta in volta come variabili dipendenti, la data di campionamento e la specie come variabili indipendenti. Differenze significative tra specie sono state identificate tramite test di Bonferroni.

La stessa procedura è stata seguita anche per testare le differenze tra specie nei valori di fotosintesi, conduttanza stomatica e potenziale idrico fogliare, limitatamente ad ognuna delle undici date di misurazione ($n = 6$), considerando la fotosintesi, la conduttanza stomatica e il potenziale idrico fogliare di base di volta in volta come variabili dipendenti, e la specie come variabile indipendente. Nello stesso modo sono state confrontati anche i valori di fotosintesi, conduttanza stomatica e potenziale idrico fogliare espressi come percentuale del valore massimo raggiunto durante il periodo di studio; in questo caso, prima di essere sottoposte ad analisi statistica, le percentuali (p) sono state opportunamente trasformate secondo la formula di trasformazione angolare:

$$y = \arcsen \sqrt{\frac{p}{100}}$$

Per ogni specie le differenze nei valori di fotosintesi, conduttanza stomatica e potenziale idrico fogliare osservate tra i trattamenti warming e drought e il trattamento control su tutto il periodo di studio, sono state testate tramite analisi della varianza ad una via, usando come più piccola unità indipendente il valore della variabile mediato per plot ad ognuna delle 11 date di misurazione ($n = 33$ per ognuno dei tre trattamenti). La fotosintesi, la conduttanza stomatica e il potenziale idrico fogliare di base sono state considerate di volta in volta come variabili dipendenti, la data di campionamento e il trattamento come variabili indipendenti. Differenze significative tra trattamenti sono state identificate tramite test di Bonferroni.

Limitatamente ad ognuna delle undici date di misurazione , le differenze tra trattamenti (control-warming e control-drought, $n = 3$ per ogni trattamento) nei valori di fotosintesi, conduttanza stomatica e potenziale idrico fogliare sono state testate tramite t- test.

La differenze tra le curve di risposta della fotosintesi e della conduttanza stomatica al potenziale idrico fogliare di base sono state testate tramite test AICc (Akaike's Information Criteria) . Questo test fornisce la probabilità (indicata nel testo come p_{AIC}) che una singola curva di regressione interpoli i dati relativi alle diverse specie (o trattamenti) nel loro insieme meglio di quanto facciano le curve relative ad ogni singola specie (o trattamento). Una volta che il test abbia individuato differenze significative tra due curve (sono state considerate significative differenze con valori di probabilità $p_{AIC} < 5\%$), le differenze tra i parametri delle due funzioni esponenziali (k , costante di decrescita esponenziale, Y_0 , valore assunto dalla variabile dipendente con $\psi_{pd} = 0$) sono state considerate significative quando gli intervalli di confidenza (al 95%) dei suddetti parametri stimati dal programma risultavano non sovrapposti.

2.3 Risultati: plot control

2.3.1 Andamento della fotosintesi netta durante il periodo di studio

La distribuzione delle campagne di misura nel corso del 2010 ha permesso di delineare l'andamento stagionale dei parametri fisiologici misurati: in tutte e tre le specie i valori più elevati sono raggiunti in primavera ed in autunno, mentre alla fine dell'estate, prima della ripresa delle precipitazioni, si osservano i valori minimi (Figura 16). La distribuzione delle campagne di misura nel corso del 2011 non ha permesso di registrare, come nel 2010, i valori massimi primaverili dei parametri considerati; i valori minimi sono stati misurati a ottobre 2011 e la fase di recupero a novembre 2011 (Figura 17).

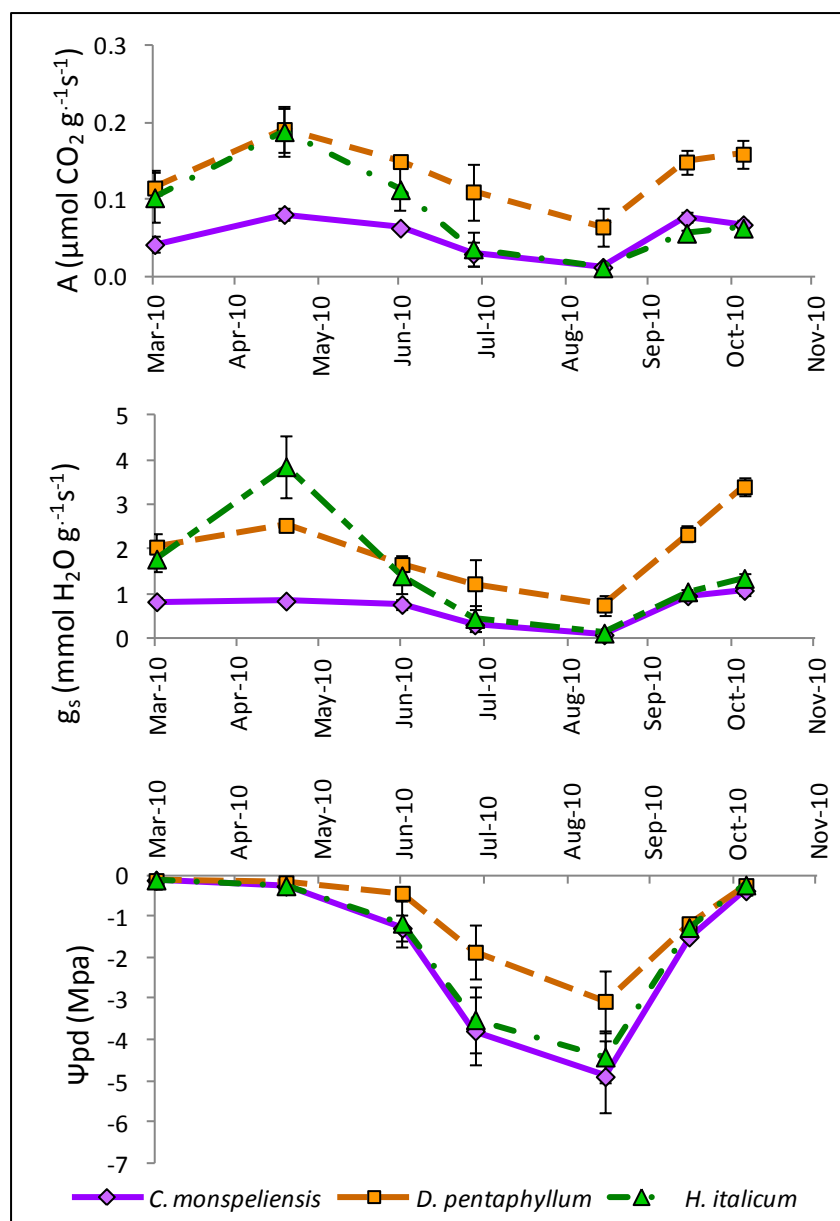


Figura 16. Andamento annuale dei tassi di fotosintesi netta (Figura 16a), di conduttanza stomatica(Figura 16b) e dei potenziali idrici fogliari di base(Figura 16c) nel corso del 2010

I valori di fotosintesi netta misurati nel corso del periodo di studio sono mostrati in Figura 17. Considerando l'intero periodo di studio, *D. pentaphyllum* presenta tassi di fotosintesi netta superiori a *C. monspeliensis* e *H. italicum*, mentre non sono emerse differenze significative tra *C. monspeliensis* e *H. italicum* (Tabella 7).

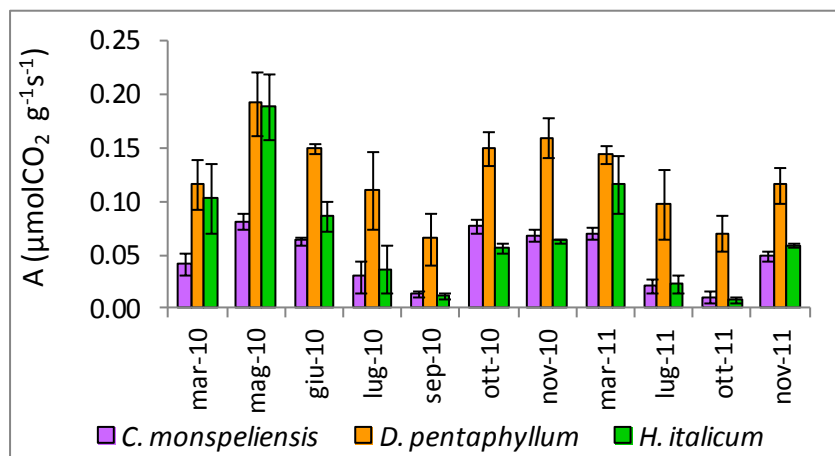


Figura 17. Valori di fotosintesi netta misurati durante il periodo di studio: le barre indicano l'errore standard.

I tassi di fotosintesi netta più elevati sono stati misurati a maggio 2010 in tutte e tre le specie (Figura 17). In questa occasione *C. monspeliensis* ha mostrato valori inferiori rispetto a *D. pentaphyllum* e *H. italicum*. Nel primo anno di studio i valori più bassi sono stati misurati a settembre 2010, nel secondo a ottobre 2011, in corrispondenza dei valori minimi annuali di contenuto idrico relativo del suolo. In entrambe le occasioni *D. pentaphyllum* ha mantenuto tassi di fotosintesi netta superiori alle altre due specie, così come nel periodo di recupero successivo alla caduta delle prime piogge autunnali, corrispondente al mese di ottobre per l'anno 2010 e al mese di novembre per l'anno 2011 (Tabella 7).

Tabella 7. Valori di fotosintesi netta ($\mu\text{molCO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ s}^{-1}$) misurati durante il periodo di studio: per ogni data di misura lettere diverse indicano differenze significative tra specie: per ogni coppia di valori con differenze significative * indica $p<0.05$, **indica $p<0.01$.

	<i>C. monspeliensis</i>	<i>D. pentaphyllum</i>	<i>H. italicum</i>
marzo 2010	0.042 (± 0.010) ^{a*}	0.116 (± 0.023) ^{b*}	0.103 (± 0.032) ^{ab}
maggio 2010	0.081 (± 0.007) ^{a*}	0.192 (± 0.029) ^{b*}	0.189 (± 0.031) ^{b*}
giugno 2010	0.063 (± 0.004) ^{a*}	0.150 (± 0.004) ^{b*}	0.086 (± 0.013) ^{a*}
luglio 2010	0.030 (± 0.015) ^{a*}	0.111 (± 0.036) ^{b*}	0.037 (± 0.023) ^{a*}
settembre 2010	0.014 (± 0.002) ^{a*}	0.065 (± 0.024) ^{b*}	0.012 (± 0.002) ^{a*}
ottobre 2010	0.076 (± 0.006) ^{a**}	0.149 (± 0.016) ^{b**}	0.057 (± 0.005) ^{a**}
novembre 2010	0.068 (± 0.006) ^{a**}	0.160 (± 0.018) ^{b**}	0.063 (± 0.002) ^{a**}
marzo 2011	0.070 (± 0.006) ^{a*}	0.144 (± 0.009) ^{b*}	0.116 (± 0.028) ^{ab}
luglio 2011	0.021 (± 0.007) ^{a**}	0.098 (± 0.033) ^{b**}	0.023 (± 0.008) ^{a**}
ottobre 2011	0.011 (± 0.005) ^{a**}	0.070 (± 0.017) ^{b**}	0.008 (± 0.002) ^{a**}
novembre 2011	0.049 (± 0.004) ^{a**}	0.115 (± 0.016) ^{b**}	0.059 (± 0.002) ^{a**}
Tutte le date	0.047 (± 0.008) ^{a**}	0.124 (± 0.012) ^{b**}	0.068 (± 0.016) ^{a**}

Rispetto ai valori massimi misurati a maggio 2010, a settembre 2010 i tassi di fotosintesi hanno subito in *D. pentaphyllum* una riduzione inferiore rispetto a quella misurata in *H. italicum*; a ottobre 2011 tale riduzione è stata inferiore sia a quella di *H. italicum* che a quella di *C. monspeliensis*. A ottobre 2010 e novembre 2011 *H. italicum* ha mostrato un recupero dei tassi di fotosintesi significativamente inferiore alle altre due specie (Tabella 8).

Tabella 8. Variazioni percentuali (calcolate rispetto ai valori massimi misurati nel periodo di studio) dei tassi di fotosintesi netta in corrispondenza delle due date di misura caratterizzate, nei due anni di studio, dai valori minimi di contenuto idrico relativo del suolo e delle due date di misura successive a queste. Per ogni data di misura, lettere diverse indicano differenze significative tra specie: per ogni coppia di valori con differenze significative, * indica $p < 0.05$, **indica $p < 0.01$.

		<i>C. monspeliensis</i>	<i>D. pentaphyllum</i>	<i>H. italicum</i>
A minima (% A_{max})	13-set-2010	15 (± 4) ^{ab}	30 (± 16) ^{a**}	6 (± 2) ^{b**}
	16-ott-2011	13 (± 11) ^{a**}	33 (± 9) ^{b**}	4 (± 2) ^{a**}
A recupero (% A_{max})	14-ott-2010	85 (± 13) ^{a**}	72 (± 11) ^{a**}	27 (± 7) ^{b**}
	10-nov-2011	57 (± 11) ^a	56 (± 6) ^a	28 (± 5) ^b

2.3.2 Andamento della conduttanza stomatica durante il periodo di studio

I valori di conduttanza stomatica misurati corso del periodo di studio sono mostrati in Figura 18. Considerando l'intero periodo di studio le tre specie mostrano valori di conduttanza stomatica diversi; i valori maggiori sono stati misurati in *D. pentaphyllum*, quelli minori in *C. monspeliensis* (Tabella 9).

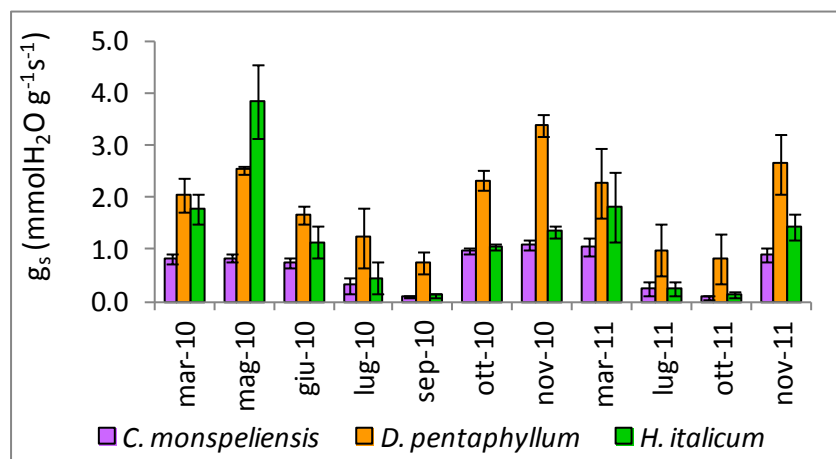


Figura 18. Valori di conduttanza stomatica misurati durante il periodo di studio. Le barre indicano l'errore standard.

Nel corso del periodo di studio i valori più elevati di conduttanza stomatica sono stati registrati a maggio 2010 in *H. italicum*, a novembre 2010 in *C. monspeliensis* e *D. pentaphyllum*. I valori massimi misurati in *C. monspeliensis* sono risultati inferiori a quelli di *D. pentaphyllum* e *H. italicum*. Per tutte le specie i valori minimi sono stati misurati a settembre 2010 e a ottobre 2011. In queste date *D. pentaphyllum* ha mostrato valori di conduttanza stomatica superiori alle altre due specie, eccetto che

per *H. italicum* a ottobre 2011. A ottobre 2010 e novembre 2011, date immediatamente successive al ritorno delle piogge autunnali, i tassi di conduttanza stomatica osservati in *D. pentaphyllum* sono risultati superiori a quelli delle altre due specie (Tabella 9).

Tabella 9. Valori di conduttanza stomatica ($\text{mmol H}_2\text{O g}^{-1}\text{s}^{-1}$) misurati durante il periodo di studio: per ogni data di misura lettere diverse indicano differenze significative tra specie: per ogni coppia di valori con differenze significative * indica $p<0.05$, **indica $p<0.01$.

	<i>C. monspeliensis</i>	<i>D. pentaphyllum</i>	<i>H. italicum</i>
31-Mar-10	0.83 (± 0.10) ^{a*}	2.05 (± 0.32) ^{b*}	1.78 (± 0.30) ^{ab*}
18-May-10	0.84 (± 0.07) ^{a**}	2.54 (± 0.06) ^{ab}	3.85 (± 0.70) ^{b**}
30-Jun-10	0.77 (± 0.10) ^{a*}	1.66 (± 0.18) ^{b*}	1.14 (± 0.30) ^{ab}
27-Jul-10	0.31 (± 0.15) ^a	1.23 (± 0.56) ^a	0.45 (± 0.31) ^a
13-Sep-10	0.10 (± 0.01) ^{a*}	0.75 (± 0.22) ^{b*}	0.13 (± 0.03) ^{a*}
14-Oct-10	0.96 (± 0.06) ^{a**}	2.34 (± 0.18) ^{b**}	1.05 (± 0.07) ^{a**}
04-Nov-10	1.08 (± 0.10) ^{a**}	3.40 (± 0.21) ^{b**}	1.35 (± 0.12) ^{a**}
22-Mar-11	1.04 (± 0.18) ^a	2.29 (± 0.67) ^a	1.82 (± 0.69) ^a
11-Jul-11	0.26 (± 0.13) ^a	0.99 (± 0.51) ^a	0.25 (± 0.12) ^a
16-Oct-11	0.09 (± 0.04) ^{a*}	0.83 (± 0.47) ^{b*}	0.14 (± 0.07) ^{ab}
09-Nov-11	0.90 (± 0.12) ^{a**}	2.66 (± 0.58) ^{b**}	1.43 (± 0.24) ^{a*}
Tutte le date	0.65(± 0.12) ^{a**}	1.89(± 0.26) ^{b**}	1.22(± 0.32) ^{c**}

Rispetto al valore massimo misurato durante il periodo di studio, a settembre 2010 *D. pentaphyllum* ha mostrato una riduzione dei tassi di conduttanza stomatica significativamente inferiore rispetto a *C. monspeliensis* e *H. italicum*. A ottobre 2011 tali differenze nella riduzione di g_s non sono risultate significative. A ottobre 2010 e novembre 2011 *H. italicum* ha recuperato una percentuale del valore massimo di conduttanza stomatica inferiore alle altre due specie (a novembre 2011 la differenza con *C. monspeliensis* non è risultata significativa) (Tabella 10).

Tabella 10. Variazioni percentuali (calcolate rispetto ai valori massimi misurati nel periodo di studio) dei tassi di conduttanza stomatica in corrispondenza delle due date di misura caratterizzate, nei due anni di studio, dai valori minimi di contenuto idrico relativo del suolo e delle due date di misura successive a queste. Per ogni data di misura, lettere diverse indicano differenze significative tra specie: per ogni coppia di valori con differenze significative, * indica $p<0.05$, **indica $p<0.01$.

		<i>C. monspeliensis</i>	<i>D. pentaphyllum</i>	<i>H. italicum</i>
g_s riduzione	13-set-2010	7 (± 4) ^{a*}	20 (± 10) ^{b*}	4 (± 3) ^{a*}
	16-ott-2011	7 (± 5) ^a	22 (± 21) ^a	4 (± 5) ^a
g_s recupero	14-ott-2010	74 (± 7) ^{a**}	65 (± 11) ^{a**}	29 (± 6) ^{b**}
	09-nov-2011	71 (± 16) ^a	73 (± 23) ^a	38 (± 3) ^b

2.3.3 Andamento del potenziale idrico fogliare di base durante il periodo di studio

I valori di potenziale idrico fogliare di base misurati nel corso del periodo di studio sono mostrati in Figura 19. Considerando l'intero periodo di studio le tre specie non mostrano valori di potenziale idrico fogliare di base diversi (Tabella 11).

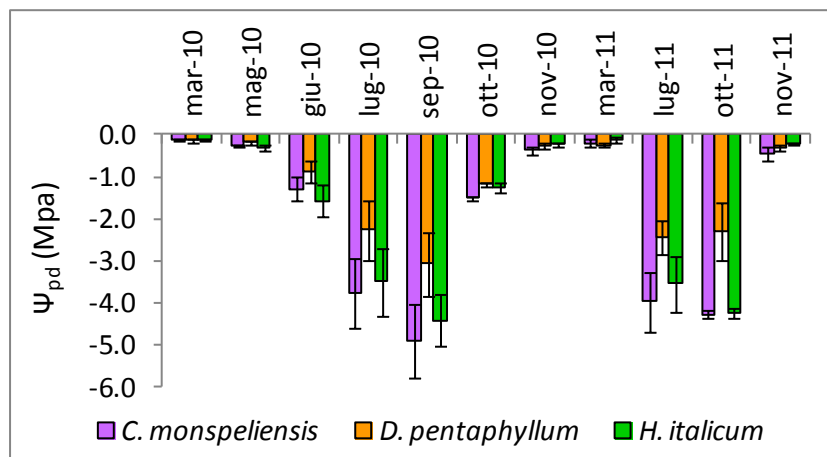


Figura 19. Valori di potenziale idrico fogliare di base misurati durante il periodo di studio: le barre indicano l'errore standard.

In tutte le specie, nel corso del periodo di studio, i valori più elevati di potenziale idrico fogliare di base sono stati registrati a marzo 2010, senza differenze significative tra le specie. Nell'anno 2010 per tutte le specie i valori minimi sono stati misurati a settembre, nell'anno 2011 a luglio in *D. pentaphyllum*, a

ottobre in *C. monspeliensis* e *H. italicum*, con *D. pentaphyllum* caratterizzato da valori meno negativi rispetto alle altre due specie. A settembre 2010 e a ottobre 2011, in corrispondenza dei valori minimi di contenuto idrico del suolo, in *D. pentaphyllum* sono stati misurati valori di ψ_{pd} meno negativi rispetto alle altre due specie (Tabella 11).

Tabella 11. Valori di potenziale idrico fogliare di base (Mpa) misurati durante il periodo di studio: per ogni data lettere diverse indicano differenze significative tra specie: per ogni coppia di valori con differenze significative * indica $p<0.05$, **indica $p<0.01$.

	<i>C. monspeliensis</i>	<i>D. pentaphyllum</i>	<i>H. italicum</i>
31-Mar-10	-0.12 (± 0.02) ^a	-0.13 (± 0.05) ^a	-0.11 (± 0.04) ^a
18-May-10	-0.27 (± 0.02) ^a	-0.18 (± 0.04) ^a	-0.31 (± 0.08) ^a
30-Jun-10	-1.29 (± 0.30) ^a	-0.88 (± 0.24) ^a	-1.58 (± 0.39) ^a
27-Jul-10	-3.78 (± 0.84) ^a	-2.27 (± 0.70) ^a	-3.51 (± 0.81) ^a
13-Sep-10	-4.90 (± 0.87) ^{a*}	-3.07 (± 0.76) ^{b*}	-4.42 (± 0.63) ^a
14-Oct-10	-1.50 (± 0.05) ^a	-1.18 (± 0.04) ^a	-1.27 (± 0.13) ^a
04-Nov-10	-0.38 (± 0.10) ^a	-0.25 (± 0.07) ^a	-0.24 (± 0.04) ^a
22-Mar-11	-0.21 (± 0.09) ^a	-0.25 (± 0.05) ^a	-0.12 (± 0.07) ^a
11-Jul-11	-3.97 (± 0.71) ^a	-2.43 (± 0.39) ^a	-3.55 (± 0.65) ^a
16-Oct-11	-4.28 (± 0.07) ^{a**}	-2.32 (± 0.68) ^{b**}	-4.24 (± 0.13) ^{a**}
09-Nov-11	-0.47 (± 0.16) ^a	-0.30 (± 0.08) ^a	-0.22 (± 0.04) ^a
Tutte le date	-1.92(± 0.57) ^{a**}	-1.16(± 0.32) ^{b**}	-1.78(± 0.54) ^{a**}

Rispetto al valore massimo (meno negativo) misurato durante il periodo di studio, a settembre 2010 *D. pentaphyllum* ha mostrato una riduzione del potenziale idrico fogliare di base significativamente inferiore rispetto a *H. italicum*. A ottobre 2011 sia in *D. pentaphyllum* che in *C. monspeliensis* tale riduzione è risultata significativamente inferiore a quella misurata in *H. italicum*. A ottobre 2010 e novembre 2011 le tre specie non hanno recuperato percentuali diverse dei valori massimi registrati nel corso del periodo di studio (Tabella 12).

Tabella 12. Variazioni percentuali (calcolate rispetto ai valori massimi misurati nel periodo di studio) dei valori di potenziale idrico fogliare di base in corrispondenza delle due date di misura caratterizzate nei due anni di studio dai valori minimi di contenuto idrico relativo del suolo, e delle due date di misura successive a queste. Per ogni data di misura, lettere diverse indicano differenze significative tra specie: per ogni coppia di valori con differenze significative, * indica $p < 0.05$, **indica $p < 0.01$.

		<i>C. monspeliensis</i>	<i>D. pentaphyllum</i>	<i>H. italicum</i>
ψ_{pd} minimo	13-set-2010	4116 (± 707) ^{ab}	2992 (± 1083) ^{a*}	6929 (± 1311) ^{b*}
	16-ott-2011	1856 (± 689) ^{a*}	2084 (± 239) ^{a*}	5584 (± 443) ^{b*}
ψ_{pd} recupero	14-ott-2010	1345 (± 801) ^a	1064 (± 781) ^a	1678 (± 1333) ^a
	09-nov-2011	380 (± 158) ^a	307 (± 128) ^a	166 (± 34) ^a

2.3.4 Risposta della fotosintesi alle variazioni di potenziale idrico fogliare di base

Nelle tre specie, l'analisi di regressione tra il potenziale idrico fogliare di base e l'assimilazione (espressa come percentuale del valore massimo registrato durante il periodo di studio) evidenzia una dipendenza di tipo esponenziale tra i due parametri, sia durante la fase estiva di riduzione dei tassi fotosintetici (Figura 20a), sia durante la fase autunnale di recupero (Figura 20b).

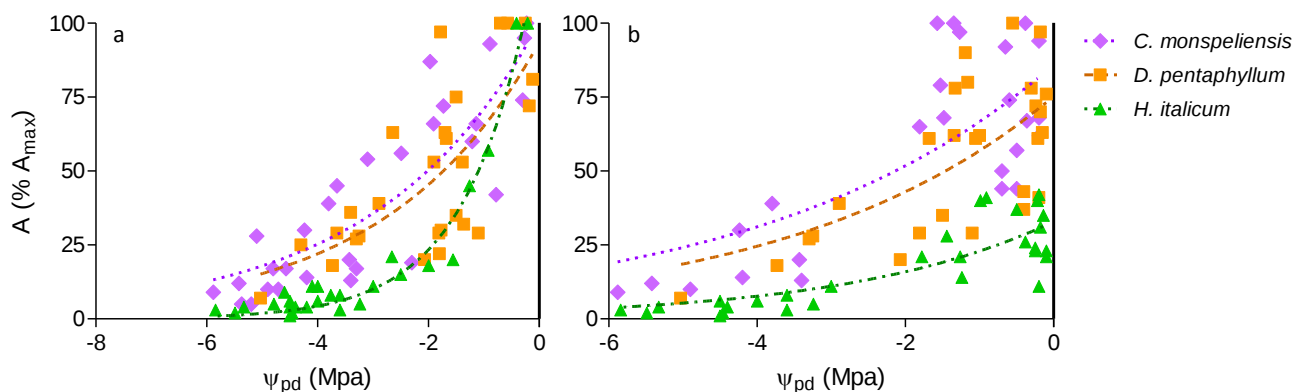


Figura 20. Analisi di regressione esponenziale condotta tra potenziale idrico fogliare di base e fotosintesi netta (espressa come percentuale del valore massimo registrato durante il periodo di studio) relativa al periodo di riduzione estivo (Figura 20a) e al periodo di recupero autunnale (Figura 20b).

Il confronto tra le curve di regressione relative ad ogni specie evidenzia come *H. italicum* presenti una risposta significativamente diversa sia da *C. monspeliensis* ($p_{ACC} < 0.01\%$) che da *D. pentaphyllum* ($p_{ACC} < 0.5\%$) durante entrambe le fasi. In particolare durante la fase di riduzione estiva la curva di regressione relativa a *H. italicum* si differenzia da quelle delle altre due specie per la costante di crescita K (Figura 21a), ma non per l'intercetta Y0 della curva sull'asse $\psi_{pd} = 0$ (Figura 21b).

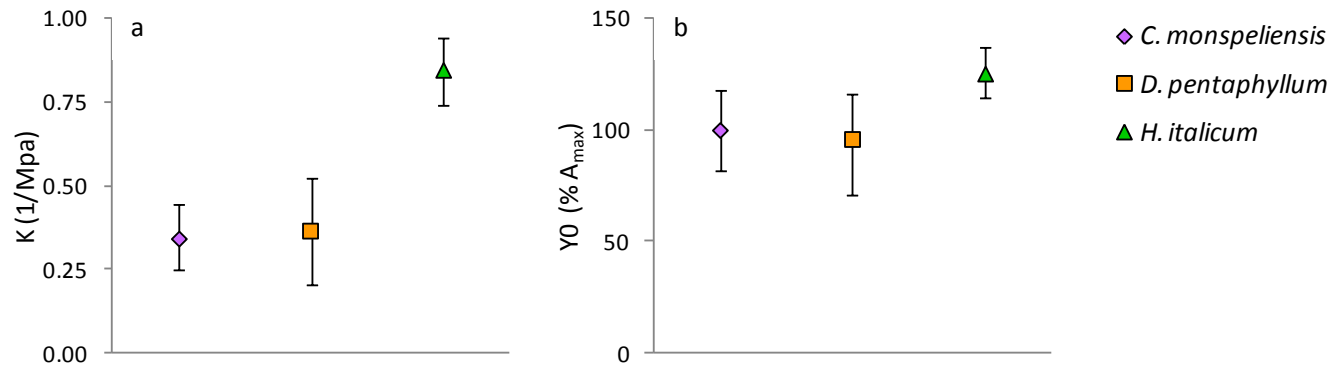


Figura 21. Intervalli di confidenza (95%) dei parametri K (Figura 21a) e Y0 (Figura 21b) delle regressioni esponenziali relative ad ognuna delle specie studiate nel periodo di riduzione estiva dei tassi di fotosintesi netta.

Durante la fase di recupero autunnale la curva di risposta della fotosintesi non mostra differenze nel tasso di crescita K (Figura 22a), mentre risulta invece diverso il valore dell'intercetta della curva sull'asse $\psi_{pd} = 0$ (Figura 22b).

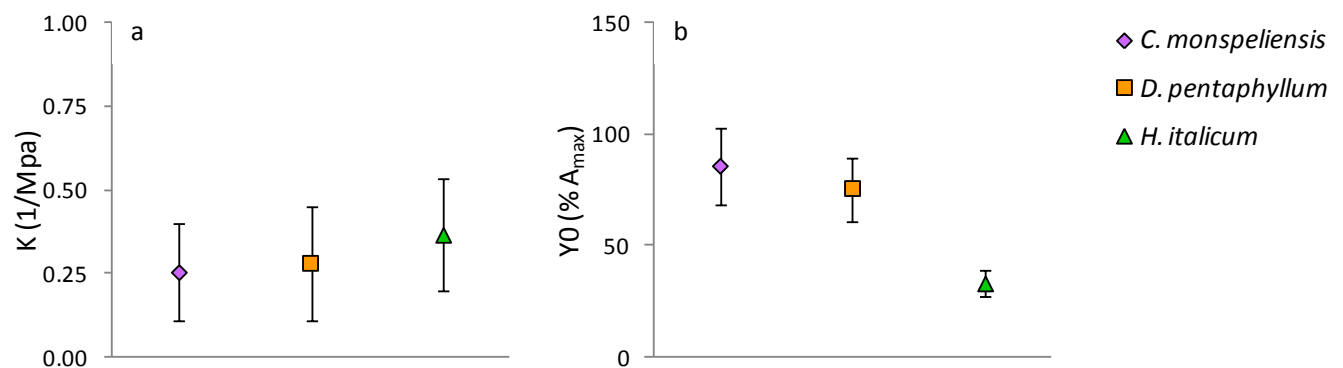


Figura 22. Intervalli di confidenza (95%) dei parametri K (Figura 22a) e Y0 (Figura 22b) delle regressioni esponenziali relative ad ognuna delle specie studiate nel periodo di recupero autunnale dei tassi di fotosintesi netta.

2.3.5 Risposta della conduttanza stomatica alle variazioni di potenziale idrico fogliare di base

Anche l'analisi di regressione tra il potenziale idrico fogliare di base e la conduttanza stomatica (espressa come percentuale del valore massimo registrato durante il periodo di studio) evidenzia una dipendenza di tipo esponenziale tra i due parametri, sia durante la fase estiva di riduzione dei tassi fotosintetici (Figura 23a) sia durante la fase autunnale di recupero (Figura 23b)

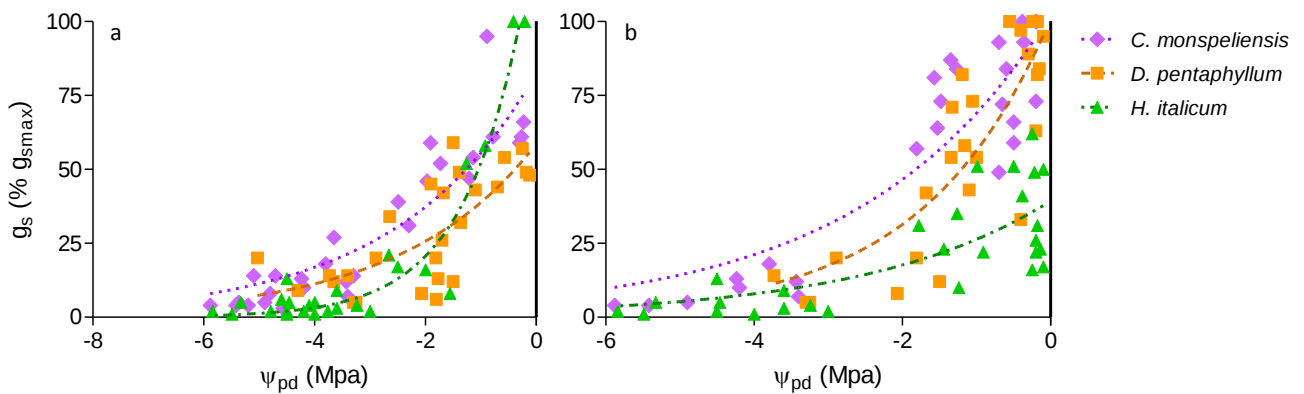


Figura 23. Analisi di regressione esponenziale condotta tra potenziale idrico fogliare di base e conduttanza stomatica (espressa come percentuale del valore massimo durante il periodo di studio), relativa al periodo di riduzione estiva (Figura 23a) e al periodo di recupero autunnale (Figura 23b)

Come per la risposta della fotosintesi al potenziale idrico, anche nel caso della conduttanza stomatica l'analisi di regressione evidenzia un diversa risposta di *H. italicum*.

Il confronto tra le curve di regressione relative ad ogni specie evidenzia come *H. italicum* presenti una risposta significativamente diversa sia da *C. monspeliensis* ($p_{ACC} < 0.01\%$) che da *D. pentaphyllum* ($p_{ACC} < 0.01\%$) durante entrambe le fasi. In particolare durante la fase di riduzione estiva la curva di regressione relativa a *H. italicum* si differenzia da quelle delle altre due specie per il maggior valore della costante di crescita K (Figura 24a). Durante la fase di recupero autunnale risulta invece diverso il valore dell'intercetta Y_0 della curva sull'asse $\Psi_{pd} = 0$ (Figura 25b).

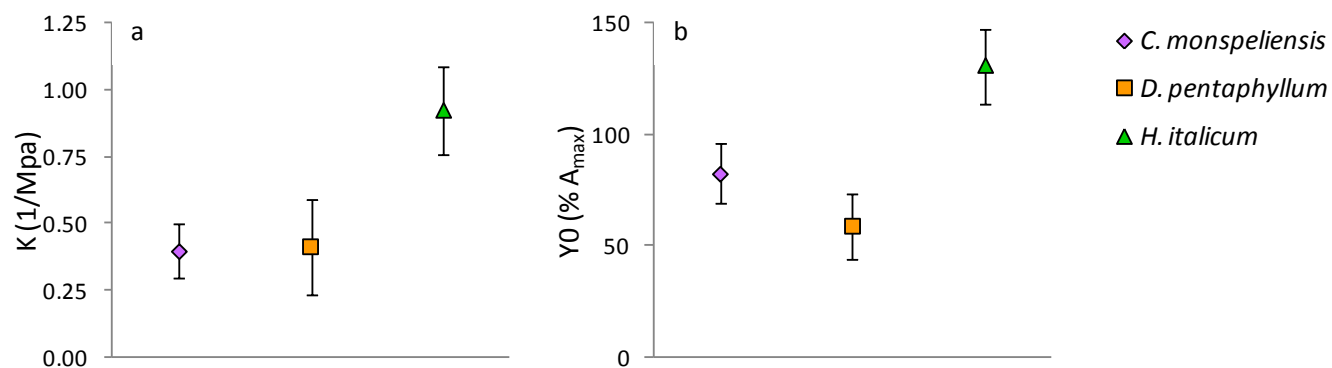


Figura 24. Intervalli di confidenza (95%) dei parametri K (Figura 24a) e Y0 (Figura 24b) delle regressioni esponenziali relative ad ognuna delle specie studiate nel periodo di riduzione estiva dei tassi di conduttanza stomatica.

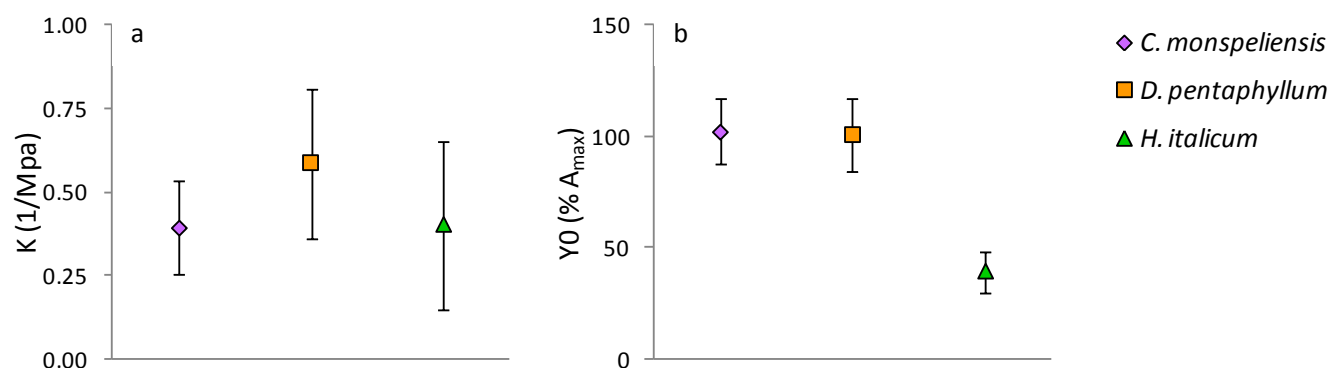


Figura 25. Intervalli di confidenza (95%) dei parametri k (Figura 25a) e Y0 (Figura 25b) delle regressioni esponenziali relative ad ognuna delle specie studiate nel periodo di recupero autunnale dei tassi di conduttanza stomatica.

2.4 Risultati: trattamento warming

2.4.1 *C. monspeliensis*

In *C. monspeliensis*, considerando l'insieme di tutte le date di campionamento, non è emerso nessun effetto significativo del trattamento warming sui valori di fotosintesi netta, conduttanza stomatica e potenziale idrico fogliare di base. Testando l'effetto del trattamento sulle singole date di misura, sono emerse alcune differenze significative: nella data di campionamento di giugno 2010 i tassi di fotosintesi netta sono risultati superiori nel trattamento warming (Figura 26a), mentre nessuna differenza

significativa è stata osservata per conduttanza stomatica (Figura 26b) e potenziale idrico fogliare di base (Figura 26c).

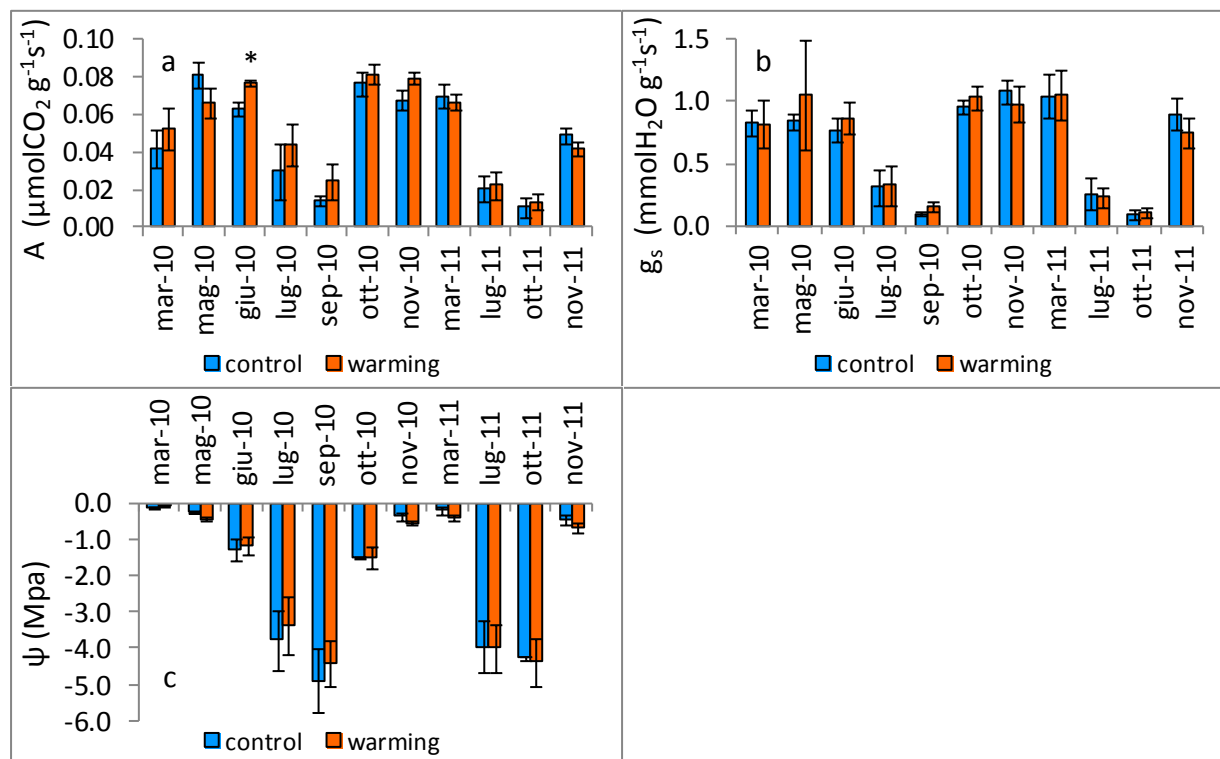


Figura 26. Valori di fotosintesi (Figura 26a), conduttanza stomatica (Figura 26b) e potenziale idrico fogliare (Figura 26c) di base misurati in *C. monspeliensis* nel periodo di studio nei trattamenti control e warming. Le barre indicano l'errore standard. Per una stessa data, * indica differenze significative ($p \leq 0.05$) fra trattamenti.

Per quanto riguarda l'effetto del trattamento sulla risposta della fotosintesi (Figura 27) e della conduttanza stomatica (Figura 28) alle variazioni del potenziale idrico fogliare di base, non sono emerse differenze né durante il periodo di riduzione estiva, né durante la fase di recupero autunnale.

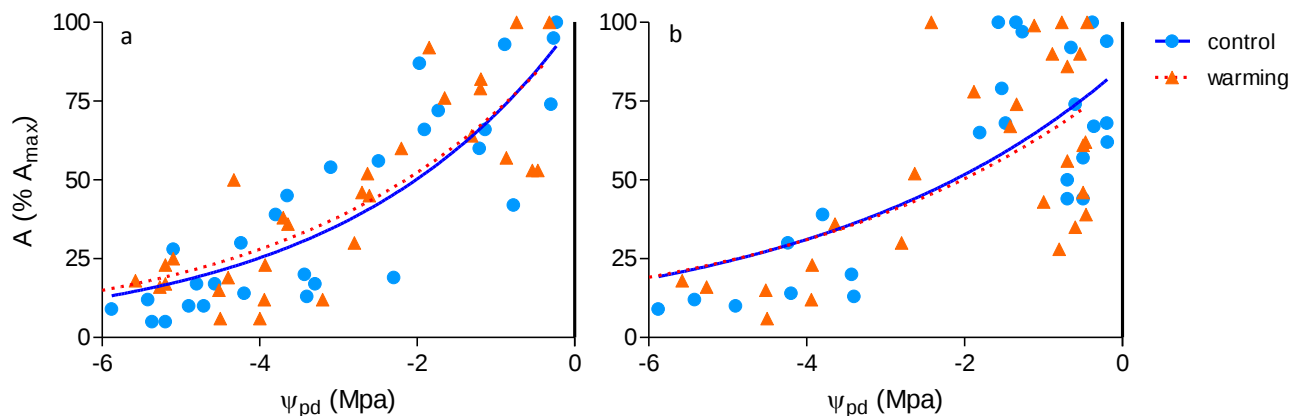


Figura 27. Analisi di regressione esponenziale condotta tra potenziale idrico fogliare di base e fotosintesi netta (espressa come percentuale del valore massimo misurato durante il periodo di studio), relative al periodo di riduzione estiva (Figura 27a) e al periodo di recupero autunnale (Figura 27b) in *C. monspeliensis*.

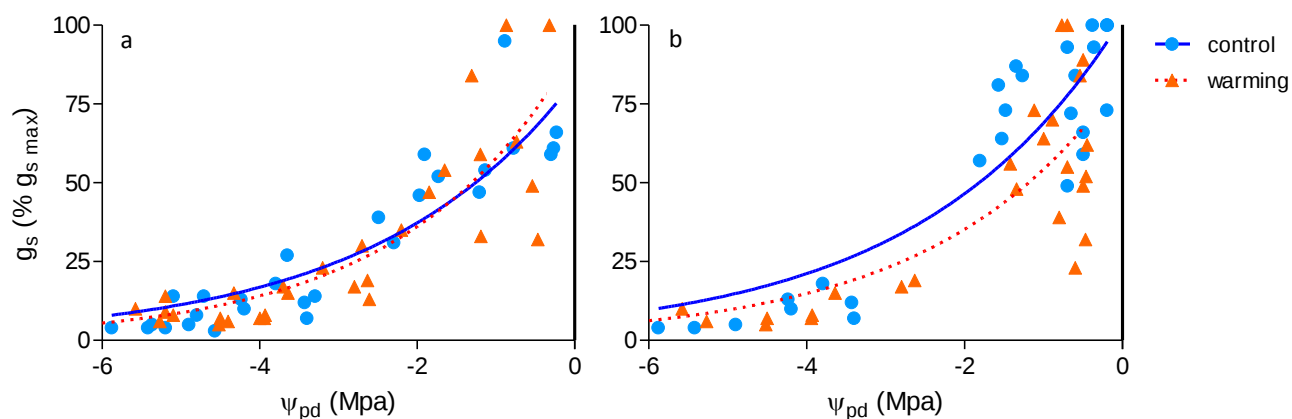


Figura 28. Analisi di regressione esponenziale tra potenziale idrico fogliare di base e conduttanza stomatica (espressa come percentuale del valore massimo misurato durante il periodo di studio), relative al periodo di riduzione estiva (Figura 28a) e al periodo di recupero autunnale (Figura 28b) in *C. monspeliensis*.

2.4.2 *D. pentaphyllum*

In *D. pentaphyllum*, considerando l'insieme di tutte le date di campionamento, non è emerso nessun effetto significativo del trattamento warming sui valori di fotosintesi netta, conduttanza stomatica e

potenziale idrico fogliare di base. Testando l'effetto del trattamento sulle singole date di misura, sono emerse alcune differenze significative.

Nella data di campionamento di marzo 2011 i tassi di fotosintesi netta sono risultati superiori nel trattamento warming (Figura 29a), e così i valori di conduttanza stomatica nella data di giugno 2010 (Figura 29b). Nessuna differenza significativa è stata osservata per il potenziale idrico fogliare di base (Figura 29c).

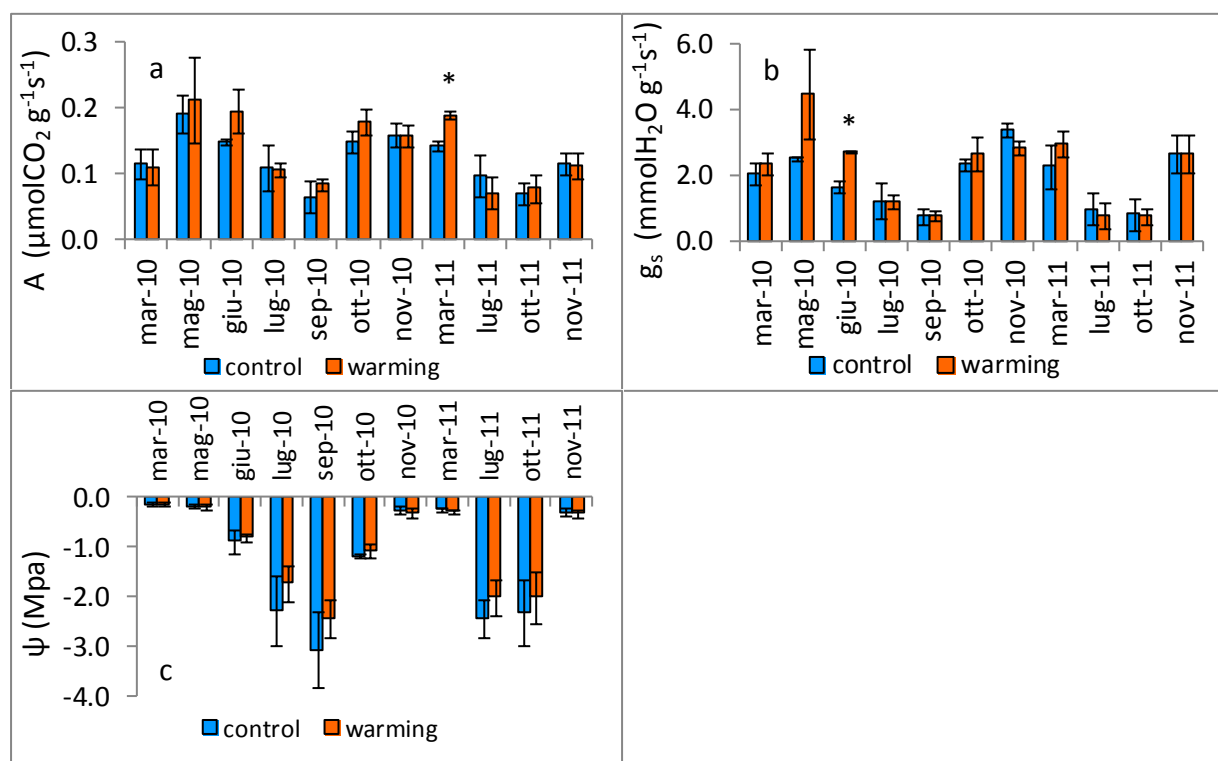


Figura 29. Valori di fotosintesi (Figura 29a), conduttanza stomatica (Figura 29b) e potenziale idrico fogliare di base (Figura 29c) misurati in *D. pentaphyllum* nel periodo di studio nei trattamenti controllo e warming. Le barre indicano l'errore standard. Per una stessa data, * indica differenze significative ($p \leq 0.05$) fra trattamenti.

Per quanto riguarda la risposta della fotosintesi alle variazioni di potenziale idrico fogliare di base (Figura 30a), il trattamento warming non ha prodotto alcun effetto. La risposta della conduttanza stomatica ha invece subito variazioni significative sia nella fase di riduzione ($p_{\text{ACC}} = 0.94\%$) (con differenze a carico di entrambe i parametri Y_0 , K) (Figura 31a) sia nella fase di recupero ($p_{\text{ACC}} = 3.67\%$) (con differenza a carico di Y_0) (Figura 31b).

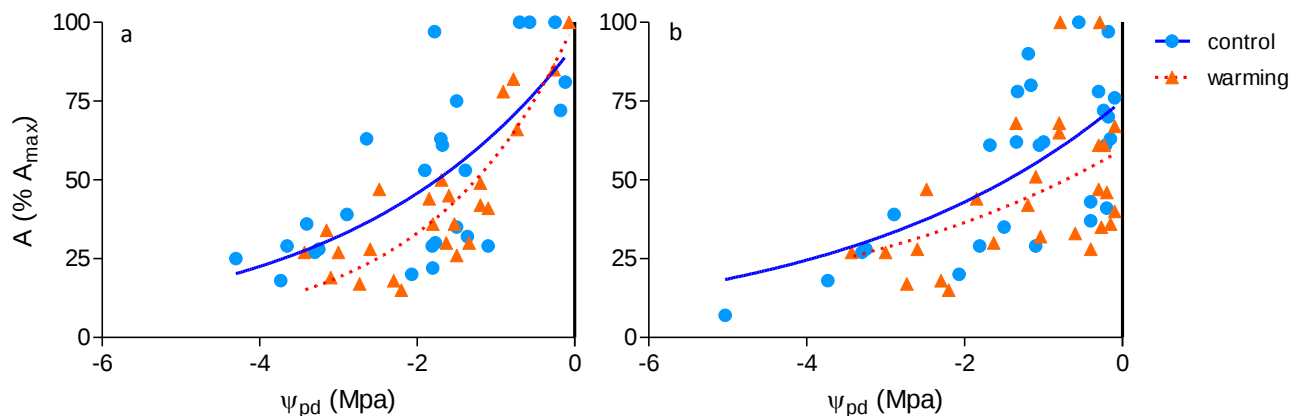


Figura 30. Analisi di regressione esponenziale condotta tra potenziale idrico fogliare di base e fotosintesi netta (espressa come percentuale del valore massimo misurato durante il periodo di studio), relativa al periodo di riduzione estiva (Figura 30a) e al periodo di recupero autunnale (Figura 30b) in *D. pentaphyllum*.

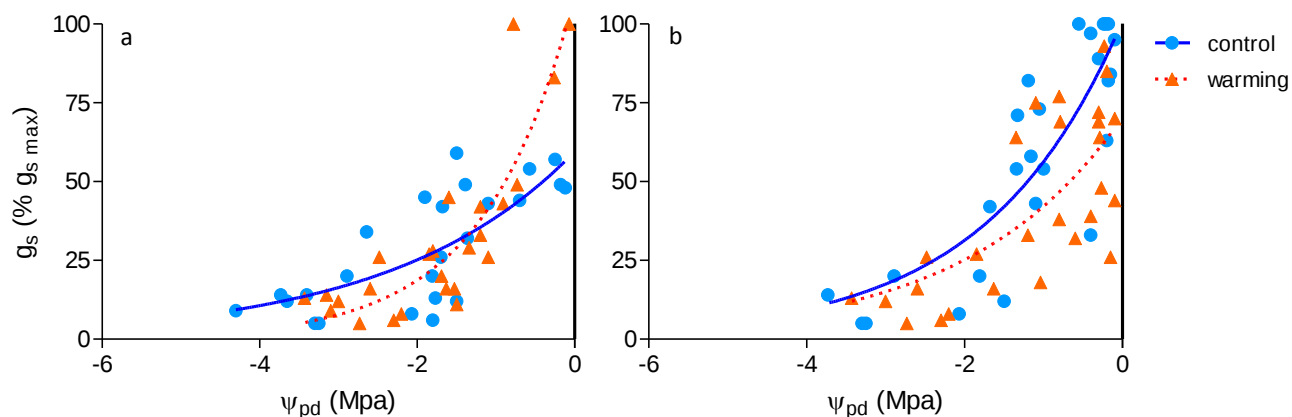


Figura 31. Analisi di regressione esponenziale condotta tra potenziale idrico fogliare di base e conduttanza stomatica (espressa come percentuale del valore massimo misurato durante il periodo di studio), relativa al periodo di riduzione estiva (Figura 31a) e al periodo di recupero autunnale (Figura 31b) in *D. pentaphyllum*.

2.4.3 *H. italicum*

In *H. italicum*, considerando l'insieme di tutte le date di campionamento, non è emerso nessun effetto significativo del trattamento warming sui valori di fotosintesi netta, conduttanza stomatica e potenziale idrico fogliare di base. Testando l'effetto del trattamento sulle singole date di misura, sono emerse alcune differenze significative.

Nella data di novembre 2010 i tassi di fotosintesi netta (Figura 32a) e conduttanza stomatica (Figura 32b) sono risultati inferiori nel trattamento warming; nella stessa data nel trattamento warming si sono registrati valori di potenziali idrico fogliare di base più negativi (Figura 32c).

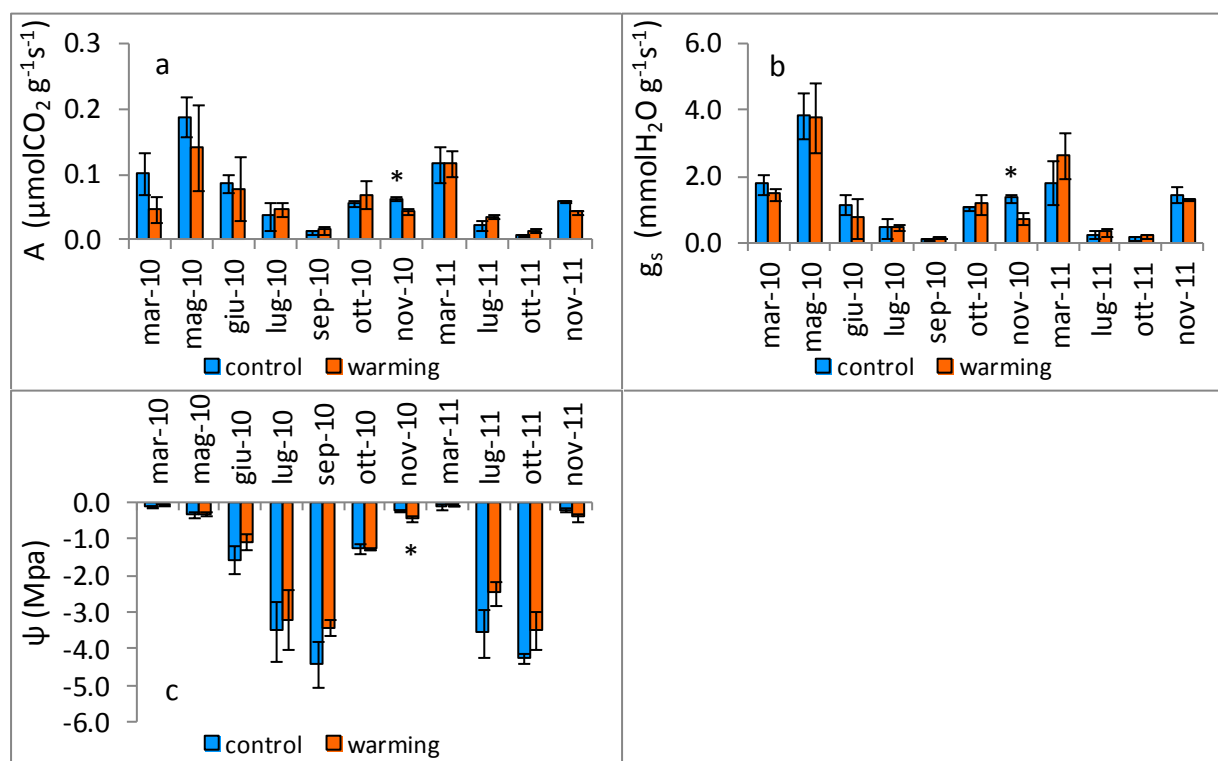


Figura 32. Valori di fotosintesi netta (Figura 32a), conduttanza stomatica (Figura 32b) e potenziale idrico fogliare di base (Figura 32c) misurati in *H. italicum* nel periodo di studio nei trattamenti control e warming. Le barre indicano l'errore standard. Per una stessa data, * indica differenze significative ($p \leq 0.05$) fra trattamenti.

Per quanto riguarda la risposta della fotosintesi (Figura 33) e della conduttanza stomatica (Figura 34) alle variazioni del potenziale idrico fogliare di base, il trattamento warming non ha indotto alcuna modificazione né durante il periodo di riduzione estiva, né durante la fase di recupero autunnale.

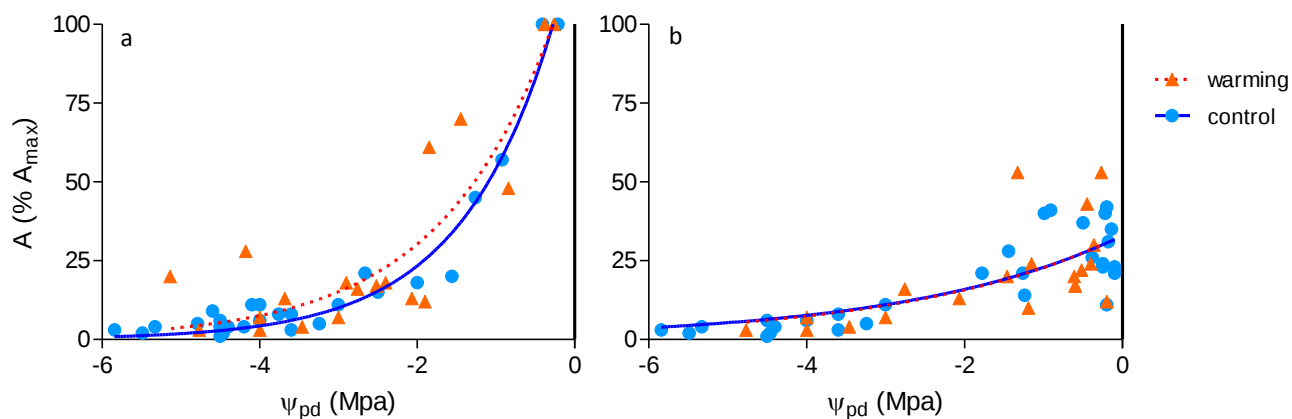


Figura 33. Analisi di regressione esponenziale condotta tra potenziale idrico fogliare di base e fotosintesi netta (espressa come percentuale del valore massimo misurato durante il periodo di studio), relativa al periodo di riduzione estiva (Figura 33a) e al periodo di recupero autunnale (Figura 33b) in *H. italicum*.

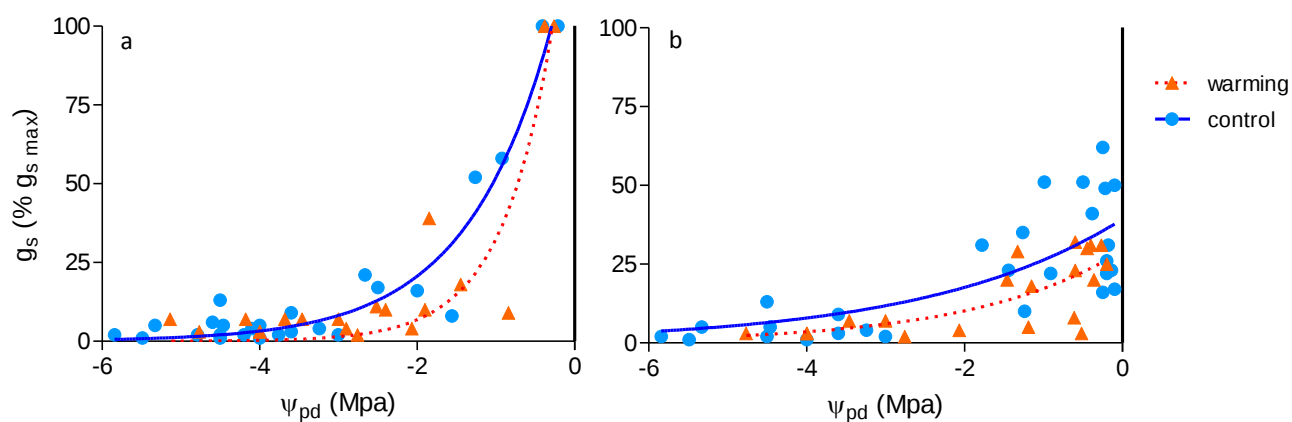


Figura 34. Analisi di regressione esponenziale condotta tra potenziale idrico fogliare di base e conduttanza stomatica (espressa come percentuale del valore massimo misurato durante il periodo di studio), relativa al periodo di riduzione estiva (Figura 34a) e al periodo di recupero autunnale (Figura 34b) in *H. italicum*.

2.5 Risultati: trattamento drought

2.5.1 *C. monspeliensis*

In *C. monspeliensis*, considerando l'insieme di tutte le date di campionamento, è stato misurato un riduzione moderatamente significativa ($p = 0.103$) dei valori di conduttanza stomatica, mentre non è emerso nessun effetto significativo sui valori di fotosintesi netta e potenziale idrico fogliare di base. Testando l'effetto del trattamento sulle singole date di misura, sono emerse alcune differenze significative.

In particolare, nella data di ottobre 2010 il trattamento drought ha ridotto i valori di fotosintesi netta (Figura 35a) e conduttanza stomatica (Figura 35b), mentre nella stessa data nessun effetto significativo è stato osservato sui valori di potenziale idrico fogliare di base (Figura 35c).

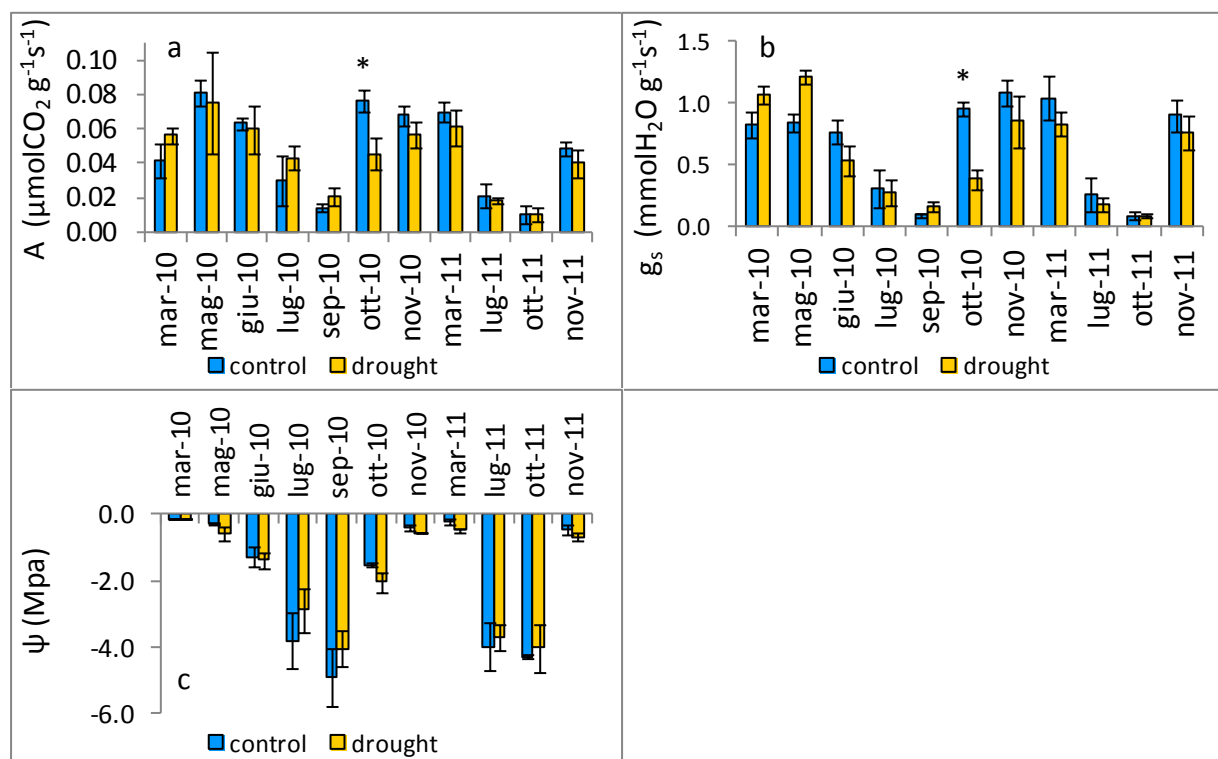


Figura 35. Valori di fotosintesi netta (Figura 35a), conduttanza stomatica (Figura 35b) e potenziale idrico fogliare di base (Figura 35c) misurati in *C. monspeliensis* nel periodo di studio nei trattamenti control e drought. Le barre indicano l'errore standard. Per una stessa data, * indica differenze significative ($p \leq 0.05$) fra trattamenti.

Per quanto riguarda la risposta della fotosintesi (Figura 36) e della conduttanza stomatica (Figura 37) alle variazioni del potenziale idrico fogliare di base, il trattamento drought non ha indotto alcuna modificazione, ne durante il periodo di riduzione estiva, ne durante la fase di recupero autunnale.

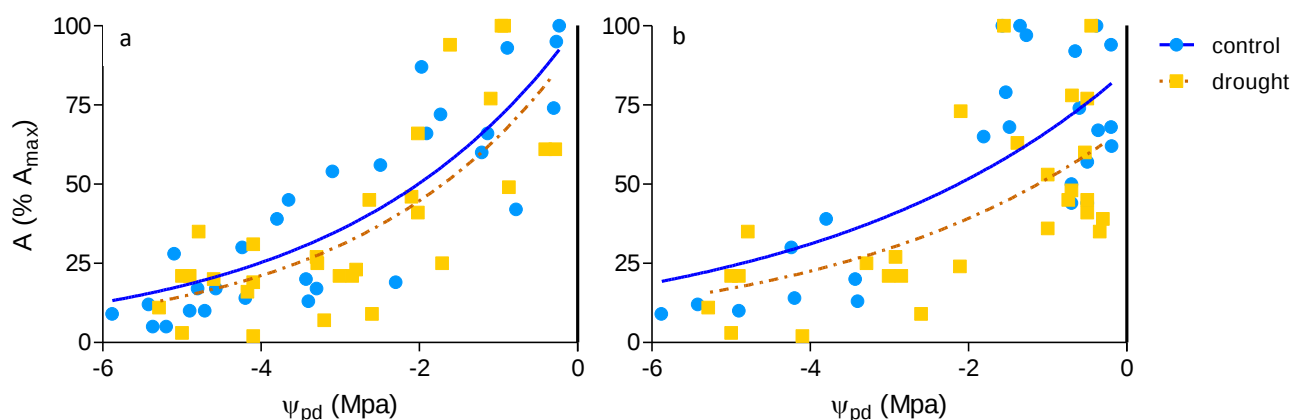


Figura 36. Analisi di regressione esponenziale condotta tra potenziale idrico fogliare di base e fotosintesi netta (espressa come percentuale del valore massimo misurato durante il periodo di studio), relativa al periodo di riduzione estiva (Figura 36a) e al periodo di recupero autunnale (Figura 36b) in *C. monspeliensis*.

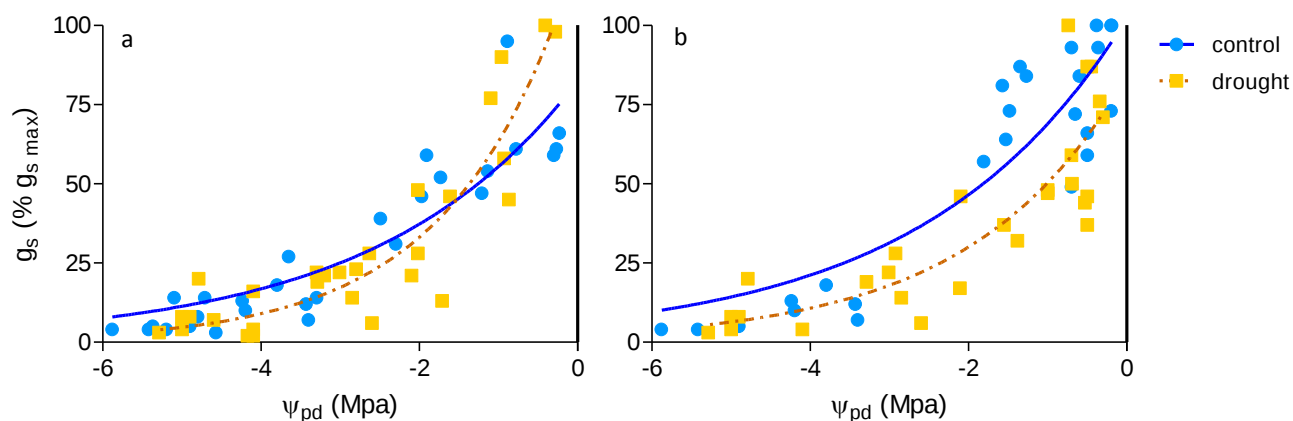


Figura 37. Analisi di regressione esponenziale condotta tra potenziale idrico fogliare di base e conduttanza stomatica (espressa come percentuale del valore massimo misurato durante il periodo di studio) relativa al periodo di riduzione estiva (Figura 37a) e al periodo di recupero autunnale (Figura 37b) in *C. monspeliensis*.

2.5.2 *D. pentaphyllum*

In *D. pentaphyllum*, considerando l'insieme di tutte le date di campionamento, non è emerso nessun effetto significativo del trattamento drought sui valori di fotosintesi netta, conduttanza stomatica e potenziale idrico fogliare di base. Testando l'effetto del trattamento sulle singole date di misura, sono emerse alcune differenze significative.

Il trattamento drought ha ridotto la conduttanza stomatica nella data di novembre 2010 (Figura 38b), il potenziale idrico fogliare di base nelle data di ottobre 2010 (Figura 38c). Nessun effetto significativo è stato registrato sui tassi di fotosintesi netta (Figura 38a).

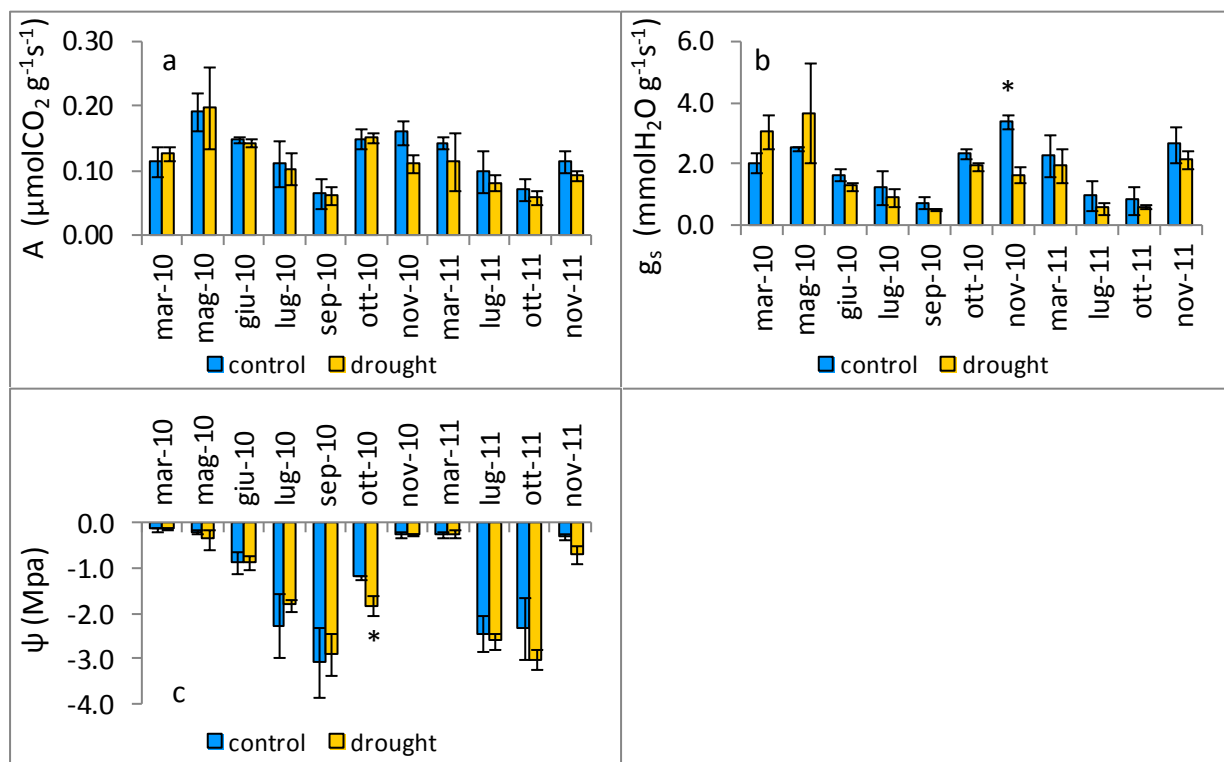


Figura 38. Valori di fotosintesi netta (Figura 38a), conduttanza stomatica (Figura 38b) e potenziale idrico fogliare di base (Figura 38c) misurati in *D. pentaphyllum* nel periodo di studio nei trattamenti control e drought. Le barre indicano l'errore standard. Per una stessa data, * indica differenze significative ($p \leq 0.05$) fra trattamenti.

Durante la fase di riduzione estiva dei tassi di fotosintesi (Figura 39a) e di conduttanza stomatica (Figura 40a) nessuna differenza è stata individuata nella risposta di questi due parametri alla riduzione di potenziale idrico tra plot control e plot drought; per quanto riguarda la fase di recupero, nei plot drought la capacità della regressione esponenziale di interpolare i dati a disposizione è stata molto bassa, sia per quanto riguarda la fotosintesi ($R^2 = 0.24$) (Figura 39b) che per quanto riguarda la conduttanza stomatica ($R^2 = 0.29$) (Figura 40b).

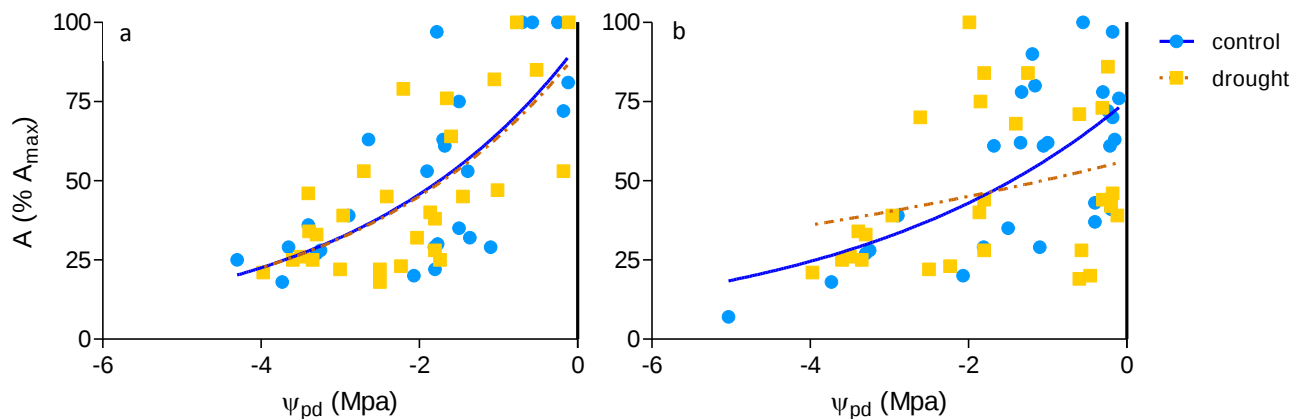


Figura 39. Analisi di regressione esponenziale condotta tra potenziale idrico fogliare di base e fotosintesi netta (espressa come percentuale del valore massimo misurato durante il periodo di studio), relativa al periodo di riduzione estiva (Figura 39a) e al periodo di recupero autunnale (Figura 39b) in *D. pentaphyllum*.

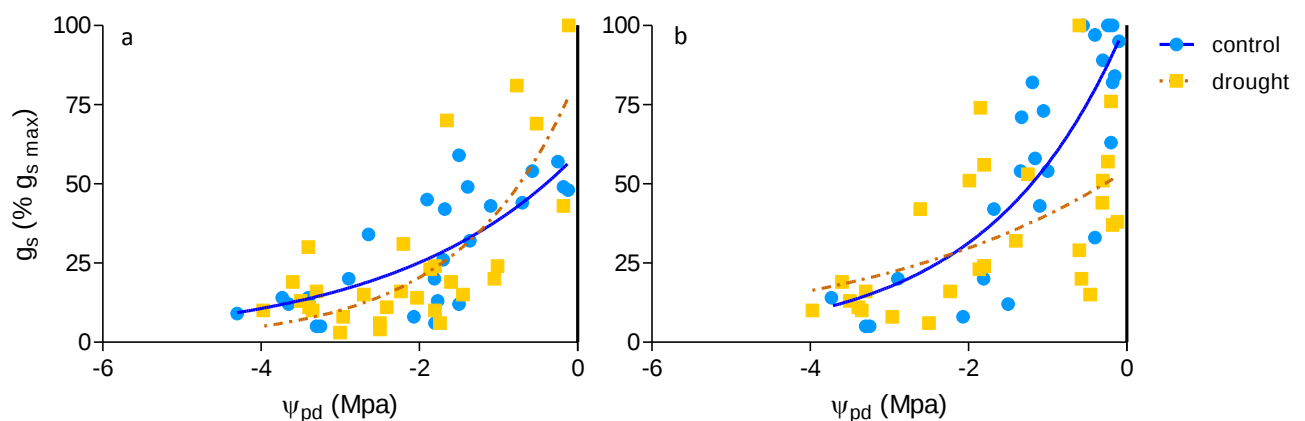


Figura 40. Analisi di regressione esponenziale condotta tra potenziale idrico fogliare di base e conduttanza stomatica (espressa come percentuale del valore massimo misurato durante il periodo di studio) relativa al periodo di riduzione estiva (Figura 40a) e al periodo di recupero autunnale (Figura 40b) in *D. pentaphyllum*.

2.5.3 *H. italicum*

In *H. italicum*, considerando l'insieme di tutte le date di campionamento, il trattamento drought ha ridotto i tassi di fotosintesi (Figura 41a) e di conduttanza stomatica (Figura 41b), mentre ha avuto un effetto solo moderatamente significativo ($P=0.092$) sul potenziale idrico fogliare di base (Figura 41c).

In particolare, testando l'effetto del trattamento sulle singole date di misura, è emersa una riduzione della fotosintesi nella data di novembre 2010 e nella conduttanza stomatica nella data di novembre 2011. Inoltre, rispetto ai plot control, il potenziale idrico fogliare di base è risultato inferiore nel trattamento drought nelle date di ottobre 2010, novembre 2010 e novembre 2011, superiore nella data di ottobre 2011.

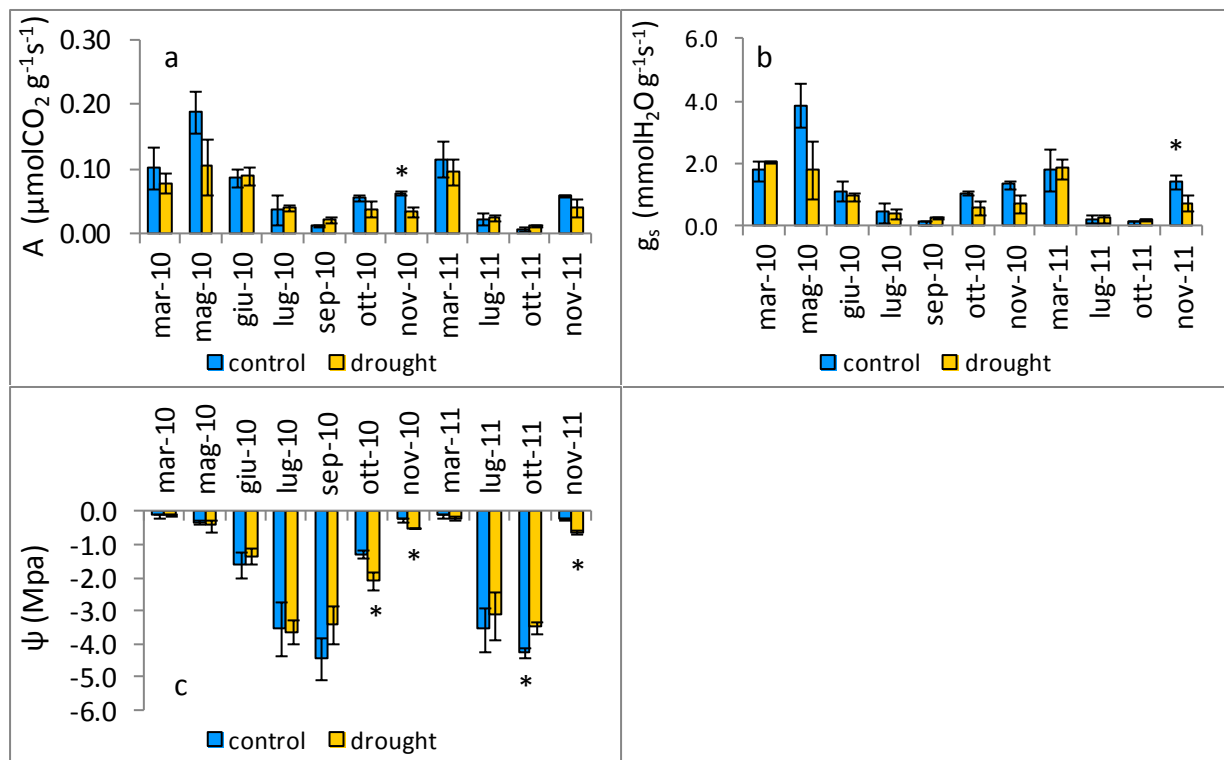


Figura 41. Valori di fotosintesi netta (Figura 41a), conduttanza stomatica (Figura 41b) e potenziale idrico fogliare di base (Figura 41c) misurati in *H. italicum* nel periodo di studio nei trattamenti control e drought. Le barre indicano l'errore standard. Per una stessa data, * indica differenze significative ($p \leq 0.05$) fra trattamenti.

Le risposte dei tassi di fotosintesi (Figura 42) e di conduttanza stomatica (Figura 42) alle variazioni di potenziale idrico fogliare di base non sono state influenzate dal trattamento drought, né durante la fase di riduzione estiva, né durante la fase di recupero autunnale.

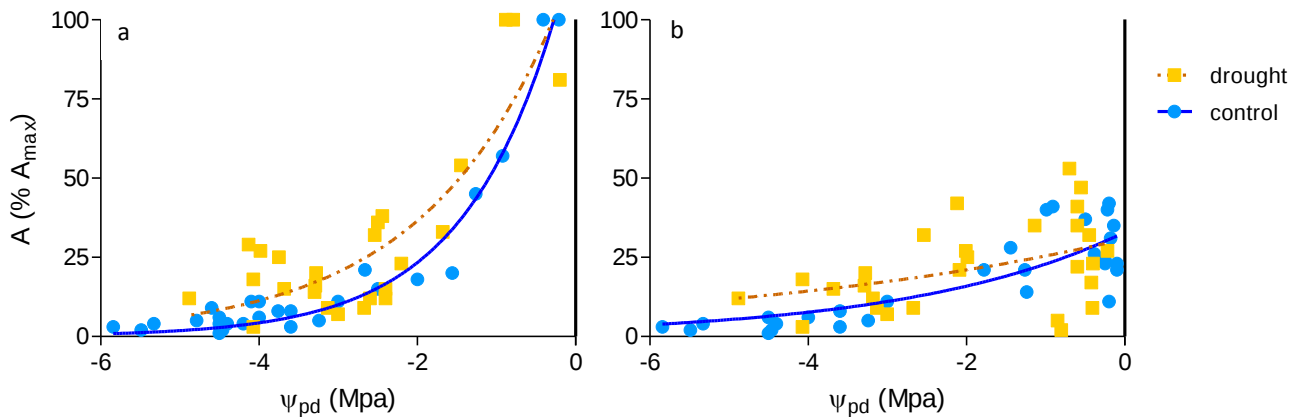


Figura 42. Analisi di regressione esponenziale condotta tra potenziale idrico fogliare di base e fotosintesi netta espressa come percentuale del valore massimo misurato durante il periodo di studio, relativa al periodo di riduzione estiva (Figura 42a) e al periodo di recupero autunnale (Figura 42b) in *H. italicum*.

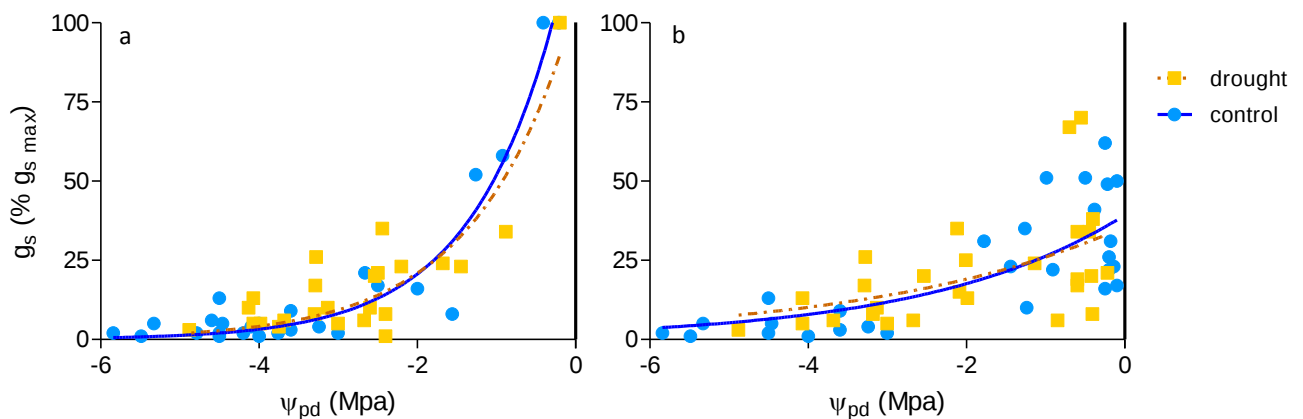


Figura 43. Analisi di regressione esponenziale condotta tra potenziale idrico fogliare di base e conduttanza stomatica (espressa come percentuale del valore massimo misurato durante il periodo di studio) relativa al periodo di riduzione estiva (Figura 43a) e al periodo di recupero autunnale (Figura 43b) in *H. italicum*.

2.6 Discussione

2.6.1 Plot control

I dati raccolti durante il periodo di studio sembrano delineare nelle tre specie un uso differenziale delle risorse idriche, caratteristico di specie strettamente coesistenti (Davis *et al.* 1986), che comporta diverse risposte allo stress idrico; in relazione alle diverse possibili strategie adattative attuabili nei confronti dell'aridità, *D. pentaphyllum*, essendo dotata di un apparato radicale profondo, sembra manifestare una evitanza morfologica (Ackerly, 2004) dello stress idrico; rispetto alle altre due specie infatti, durante i periodi di massima aridità registrati nei due anni di studio, *D. pentaphyllum* mostra valori meno negativi di potenziale idrico fogliare di base, che testimoniano una maggiore capacità di raggiungere ed estrarre acqua da strati di suolo più profondi (Davis *et al.* 1986; Signarbieux *et al.* 2011); in accordo a questa caratteristica i tassi di fotosintesi subiscono in aridità una riduzione inferiore a quella misurata in *H. italicum* nel 2010, e questa differenza si estende anche a *C. monspeliensis* nell'anno 2011, in cui il periodo arido si è concluso con circa un mese di ritardo rispetto all'anno precedente.

C. monspeliensis presenta invece, in relazione al suo apparato radicale superficiale e al suo habitus semideciduo, una combinazione delle caratteristiche legate all'evitanza fenologica dello stress idrico e alla tolleranza dello stesso; infatti la perdita delle foglie all'inizio del periodo di aridità è solo parziale, e la coorte di foglie estive sperimenta durante l'aridità potenziali idrici particolarmente bassi, senza che tuttavia l'attività fotosintetica si interrompa completamente; in questa fase *C. monspeliensis* si dimostra quindi tollerante alla riduzione del potenziale idrico dei tessuti fogliari: studi di induzione di stress idrico condotti su questa specie evidenziano infatti una buona capacità di aggiustamento osmotico (Sanchez-Blanco *et al.* 2004), e anche osservazioni condotte sui meccanismi di tolleranza all'aridità in *Cistus creticus* L. confermano che al mantenimento del turgore cellulare durante il periodo arido concorrono anche variazioni del modulo elastico cellulare (Grammatikopoulos, 1999). Tuttavia, un altro studio condotto su *Cistus salvifolius* L. non ha evidenziato né aggiustamenti osmotici, né variazioni dell'elasticità cellulare in risposta a lunghi periodi di aridità (Borghetti *et al.* 2004). A prescindere da come venga conseguito, il mantenimento di una coorte di foglie fisiologicamente attiva durante la stagione arida permette a questa specie di associare i vantaggi di un'assimilazione continua durante tutto l'anno con la rapida ripresa di una intensa attività fotosintetica al ritorno delle piogge autunnali, senza la necessità di produrre nuove foglie (Ackerly, 2004). Infatti il recupero dei tassi di fotosintesi primaverili nel periodo autunnale avviene con la stessa rapidità che in *D. pentaphyllum*,

anche se subito prima delle piogge quest'ultima specie presenta potenziali idrici fogliari di base meno negativi.

H. italicum è caratterizzata al pari di *C. monspeliensis* da un apparato radicale superficiale, ma si dimostra meno tollerante alla riduzione del potenziale idrico fogliare di base, che in queste due specie subisce nel corso dell'anno variazioni di pari entità; infatti la risposta dell'attività fotosintetica e della conduttanza stomatica alla riduzione del potenziale idrico fogliare di base in *H. italicum* si differenzia da quella *C. monspeliensis* per la più rapida caduta dei tassi di fotosintesi e di conduttanza. Allo stesso modo dopo il ritorno delle piogge *H. italicum* mostra una capacità di riprendere l'attività fotosintetica inferiore rispetto alle altre due specie. Questa incapacità di recuperare tassi di fotosintesi può essere attribuita a diversi fattori, come una persistente chiusura stomatica (osservata a novembre 2009, Figura 41a), danni permanenti all'apparato fotosintetico (Long *et al.* 1994) o un incremento della resistenza dello xilema al trasporto d'acqua. Si può ipotizzare pertanto che *H. italicum* sia, delle specie oggetto dello studio, quella meno adattata dal punto di vista morfologico e fisiologico alle condizioni ambientali del sito sperimentale; si tratta infatti di una specie legata ad ambienti più aperti (Pignatti, 1982; Galbany-Casals *et al.* 2011), che trova nello stato successionale più avanzato del sito sperimentale condizioni meno favorevoli al suo sviluppo.

2.6.2 Trattamento warming

Gli effetti del trattamento warming sull'attività fotosintetica, seppure limitati a singole date di campionamento, possono essere interpretati sulla base dell'alterazione dei parametri ambientali legata alla tecnica di riscaldamento passivo notturno.

Nei plot warming *C. monspeliensis* esprime tassi di fotosintesi superiori rispetto ai plot control in 8 campagne di misura su undici, sebbene queste differenze risultino significative solo nella data di giugno 2011. Una possibile spiegazione di questa tendenza (non significativa) potrebbe risiedere dell'incremento della disponibilità di azoto connessa all'incremento del processo di mineralizzazione, come verrà più ampiamente discusso nel Capitolo 3 e 4, dedicati all'analisi fisiologica e morfologica di questa specie.

Anche *D. pentaphyllum* mostra una tendenza (non significativa) ad un incremento dei tassi di fotosintesi netta nei plot warming, con un incremento significativo registrato a marzo 2011, ma la mancanza di dati sul contenuto di azoto fogliare non permette di trarre le stesse conclusioni per questa specie. In un altro sito soggetto al medesimo tipo di manipolazione climatica, su *D. pentaphyllum* non è

stata osservata al livello fogliare alcuna variazione nella concentrazione di questo elemento, fattore forse dovuto alla sua natura di azoto-fissatrice (Sardans *et al.* 2008). L'effetto osservato a marzo 2011 potrebbe perciò essere spiegato, visto il periodo a ridosso della stagione invernale, con la protezione offerta dal trattamento warming nei confronti dei giorni di gelo; lo stesso effetto non è stato tuttavia osservato nello stesso mese dell'anno precedente. In assenza di ulteriori informazioni sulla fisiologia di questa specie, anche la natura della maggiore sensibilità della conduttanza stomatica alla riduzione del potenziale idrico in di aridità, e della minore capacità di recupero dei tassi di fotosintesi in autunno, rimane incerta.

Limitatamente alla data di novembre 2010, In *H. italicum* il trattamento warming determina una riduzione significativa dei tassi di fotosintesi netta e di conduttanza stomatica; in questa specie nella stessa occasione sono stati anche misurati nei plot warming valori di potenziale idrico fogliare di base significativamente inferiori (più negativi): in assenza di altri dati si può speculare che in *H. italicum*, che dall'analisi condotta nei plot control è risultata la specie meno adattata alle limitazioni ambientali che caratterizzano il sito sperimentale, i vantaggi legati al possibile incremento della disponibilità di azoto nel suolo siano superati dalle limitazioni idriche (minore contenuto idrico relativo misurato nei plot warming) connesse all'incremento di temperatura.

2.6.3 Trattamento drought

In *C. monspeliensis* l'effetto principale dell'intercettazione delle precipitazioni è stato osservato sulla conduttanza stomatica, che nel periodo di studio è risultata significativamente inferiore nei plot drought, in accordo alla generale prevalenza di limitazioni stomatiche alla fotosintesi in condizioni di aridità non estrema (Flexas *et al.* 2002). Come verrà discusso nel Capitolo 3, la non concomitante riduzione dei tassi di fotosintesi netta potrebbe implicare un'acclimatazione delle foglie delle piante sottoposte ad un maggiore stress idrico, basata su aggiustamenti fisiologici al livello fogliare tesi a migliorare la diffusione della CO₂ verso i siti di carbossilazione. L'unico effetto significativo a carico della fotosintesi si è avuto a ottobre 2010, con l'esclusione delle prime piogge autunnali cadute dopo un lungo periodo di aridità, che, com'è prevedibile, hanno impedito il recupero dell'attività fotosintetica osservato invece nei plot control. Nella campagna di misura successiva tuttavia questa differenza non era più misurabile, ad indicare come anche una ulteriore estensione del periodo arido non determini una transizione verso limitazioni fotosintetiche di natura diversa, meno transiente, rispetto a quelle stomatiche.

D. pentaphyllum è la specie i cui le dinamiche degli scambi gassosi si sono dimostrate meno influenzate dall'esclusione delle precipitazioni; infatti, nonostante nei plot drought su questa specie in due occasioni (ottobre 2010 e ottobre 2011) siano stati misurati valori di potenziale idrico fogliare di base più negativi, in nessuna di queste occasioni si sono osservate differenze altrettanto significative nei valori di fotosintesi e di conduttanza stomatica;

H. italicum, a differenza delle altre specie, si è dimostrato sensibile alla riduzione delle precipitazioni su tutto il periodo di studio; gli effetti maggiormente significativi sono stati tuttavia misurati in autunno, anche se in un momento successivo (novembre 2010) rispetto a quanto osservato *C. monspeliensis*, l'altra specie dotata di un sistema radicale superficiale. Questo spostamento dell'effetto di stress può essere legato alla diversa velocità con cui l'attività fotosintetica riprende in *H. italicum* rispetto a *C. monspeliensis*. Nel caso di questa specie, l'effetto negativo del trattamento drought sembra perciò agire sia imponendo limitazioni immediate alla fotosintesi, sia posticipando il recupero di una piena funzionalità dell'apparato fotosintetico, spostandolo ad una stagione autunnale più avanzata caratterizzata da condizioni ambientali meno favorevoli. Essendo la sopravvivenza delle specie mediterranee legata anche alla capacità di ripristinare rapidamente tassi adeguati di assimilazione fotosintetica al ritorno delle prime piogge autunnali (Gratani *et al.* 2004; Gallè *et al.* 2007), si può ipotizzare che un allungamento della stagione di aridità, compromettendo la già scarsa acquisizione di carbonio espressa da questa specie nella stagione autunnale, potrebbe ridurre la sua capacità competitiva nei confronti di specie più aridità-tolleranti, e costituire un fattore limitante alla sua persistenza (Flexas *et al.* 2006).

3. Risposte fisiologiche all'aridità in *C. monspeliensis*

3.1 Introduzione

L'attività fotosintetica è alla base dell'assimilazione di carbonio, e quindi della produttività degli ecosistemi (Gulias *et al.* 2009). Nell'ambiente mediterraneo la fotosintesi è soggetta a due principali fattori limitanti, l'aridità estiva e le basse temperature invernali (Mitrakos, 1980), con l'aridità considerata generalmente come il fattore limitante più importante (Boyer, 1982; Larcher, 2000; Nemani *et al.* 2003). La risposta della fotosintesi allo stress idrico è stata perciò ampiamente studiata e sono state identificate limitazioni differenti all'attività fotosintetica, di solito raggruppate nelle categorie stomatiche e non stomatiche (Jones, 1985; Wilson *et al.* 2000a). Le limitazioni stomatiche sono associate alla diffusione della CO₂ verso gli spazi intercellulari, controllata dall'apertura degli stomi, (Chaves *et al.* 2002), mentre le non stomatiche sono implicitamente considerate di natura metabolica (Wilson *et al.* 2000b). Alla componente non stomatica concorrono tuttavia due fattori di natura distinta: limitazioni biochimiche e limitazioni diffusive legate alla conduttanza del mesofillo: le prime sono strettamente connesse al processo di assimilazione della CO₂, e dipendono dalla diminuzione della capacità di carbossilazione da parte della Rubisco e di rigenerazione del ribulosio difosfato da parte degli enzimi del ciclo di Calvin (Flexas *et al.* 2004), mentre la seconde sono dovute alla resistenza opposta dal mesofillo alla diffusione della CO₂ dagli spazi intercellulari allo stroma del cloroplasto.

Del resto la depressione dell'attività fotosintetica può anche dipendere da fenomeni di fotoinibizione (Prieto *et al.* 2009a): infatti, in condizioni di elevata luminosità, specie quando la prolungata chiusura stomatica dovuta allo stress idrico riduce la concentrazione di CO₂ interna alla foglia, la quantità di energia luminosa assorbita dalle foglie può superare il consumo di elettroni associato all'assimilazione della CO₂, e ciò può determinare una sovra-eccitazione dell'apparato fotosintetico (Long *et al.* 1994; Werner *et al.* 1999a). La fotoinibizione consiste perciò in una riduzione reversibile, dipendente dalla luce, della efficienza di conversione dell'energia luminosa del fotosistema II, misurabile come riduzione del rapporto tra fluorescenza variabile e fluorescenza massima (Long *et al.* 1994), e riflette l'azione dei diversi meccanismi messi in atto dalla pianta per evitare che questo eccesso di energia porti alla distruzione fotossidativa dei fotosistemi.

Studi precedenti sulla quantificazione delle limitazioni alla fotosintesi in ambiente mediterraneo hanno evidenziato come la riduzione dei tassi fotosintetici in condizioni di aridità sia dovuta prevalentemente a limitazioni di carattere diffusivo (dovute al sommarsi della resistenza stomatica e della resistenza del

mesofillo), con le limitazioni metaboliche che sembrano invece avere un ruolo importante nel spiegare le variazioni nella capacità fotosintetica legate all'ontogenesi fogliare .

L'attività di ricerca che verrà descritta in questa sezione è stata intrapresa con lo scopo di identificare i processi fisiologici che sono alla base delle variazioni stagionali della fotosintesi, con particolare attenzione alla fase di depressione connessa al periodo arido, e di stimare l'effetto della variazione dei fattori ambientali imposte dai trattamenti warming e drought sui processi che concorrono a determinare tali variazioni. Lavori precedenti basati sulla esclusione delle precipitazioni hanno infatti rivelato che episodi di aridità molto intensa possono determinare un sensibile incremento delle limitazioni non stomatiche anche in specie sclerofille come *Quercus ilex*, con una riduzione della capacità fotosintetica della pianta (Misson *et al.* 2010): lo studio di questo tipo di risposte risulta di particolare interesse nella modellizzazione della risposta della vegetazione mediterranea al cambiamento climatico, in quanto le attuali parametrizzazioni potrebbero essere invalidate se gli episodi di aridità diventassero più lunghi, più frequenti e più intensi, (Misson *et al.* 2010).

3.2 Materiali e metodi

3.2.1 Periodo di studio

L'acquisizione dei dati relativi agli scambi gassosi, alla capacità fotosintetica e alla fluorescenza della clorofilla è stata condotta in dieci occasioni nel periodo compreso tra maggio 2010 e novembre 2011 (Tabella 13). In genere l'esecuzione di tutte le misure ha richiesto 4-5 giorni.

Tabella 13. Date di acquisizione dei dati

Giorno di inizio delle misure	Data usata nel testo
18 maggio 2010	maggio 2010
30 luglio 2010	giugno 2010
27 luglio 2010	luglio 2010
13 settembre 2010	settembre 2010
14 ottobre 2010	ottobre 2010
4 novembre 2010	novembre 2010
22 marzo 2011	marzo 2011
11 luglio 2011	luglio 2011
16 ottobre 2011	ottobre 2011
9 novembre 2011	novembre 2011

3.2.2 Misurazione degli scambi gassosi

I dati di fotosintesi e conduttanza stomatica coincidono con quelli riportati nel capitolo precedente.

3.2.3 Determinazione dei parametri V_{cmax} e J_{max}

Allo scopo di determinare il massimo tasso di carbossilazione (V_{cmax}) e il massimo tasso di trasporto elettronico associato alla rigenerazione del ribuloso difosfato (J_{max}), nel periodo di studio è stata misurata la risposta della fotosintesi (A) alle variazioni di concentrazione intercellulare di CO_2 (C_i) (curve A/C_i). Nel corso di ogni campagna di misura sono state eseguite 18 curve A/C_i , in genere distribuite

nell'arco di tre giorni, su altrettanti getti, prelevati da ognuno dei 18 individui di *C. monspeliensis* selezionati all'inizio del periodo di studio (due in ognuno dei 9 plot). I getti da misurare sono stati raccolti la sera precedente al giorno della misurazione e immediatamente posizionati in un barattolino pieno di acqua, in modo che la il taglio rimanesse immerso, e lasciati reidratare per tutta la notte. Questa procedura permette, specie nei periodi di aridità, di ristabilire nei tessuti del getto un potenziale idrico tale da ridurre le limitazioni diffusive alla fotosintesi legate alla chiusura degli stomi; in estate infatti la forte chiusura stomatica impedirebbe una corretta esecuzione delle curve A/C_i; la pre-idratazione consente inoltre di calcolare il tasso massimo di carbossilazione in assenza di limitazioni stomatiche alla fotosintesi; la non dipendenza di V_{cmax} da g_s è infatti un presupposto necessario alla corretta applicazione dell'analisi quantitativa delle limitazioni alla fotosintesi proposta da (Wilson *et al.* 2000a), che sarà descritta in seguito.

Le curve A/C_i sono state realizzate per mezzo di un analizzatore di scambi gassosi portatile (LI-6400, Li-Cor Bio-sciences, Lincoln, NE, USA), equipaggiato con una camera fogliare per specie aghiformi con sorgente interna di luce; durante il periodo di studio, durante l'esecuzione delle curve A/C_i, all'interno della camera fogliare sono state impostate sempre le stesse condizioni di luce saturante (PAR = 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) e di temperatura dell'aria (T_{aria} = 25°C). Prima di iniziare la misurazione della risposta della fotosintesi alla concentrazione intercellulare di CO₂, il getto è stato lasciato acclimatare all'interno della camera per circa 10-15 minuti ad una concentrazione di CO₂ pari a 400 ppm: ciò permette il raggiungimento di uno stato stazionario di attivazione della Rubisco; una volta terminato questo periodo di acclimatazione sono stati registrati i valori di fotosintesi, conduttanza e concentrazione intercellulare di CO₂; i passi successivi della procedura sono automatizzati: lo strumento porta la concentrazione ambientale di CO₂ al valore successivo di una serie predefinita (400, 300, 250, 150, 50, 400, 500, 650, 750, 1000 ppm) e dopo un periodo minimo di due minuti registra il valore di fotosintesi e di concentrazione intercellulare di CO₂, non appena tali parametri si siano stabilizzati (Long *et al.* 2003): dopo il completamento di tutti i passaggi le foglie del getto sono state prelevate per la misurazione della superficie fogliare e poi portate in laboratorio per la determinazione del peso secco. I valori di V_{cmax} e J_{max} sono stati ricavati dall'interpolazione delle curve secondo la metodologia descritta da (Long *et al.* 2003).

3.2.4 Analisi quantitativa delle limitazioni alla fotosintesi

L'analisi quantitativa delle limitazioni è stata eseguita secondo il metodo proposto da (Wilson *et al.* 2000a), derivato dal metodo differenziale di (Jones, 1985), che calcola il contributo delle limitazioni

stomatiche e non stomatiche sulla base al confronto dei valori di fotosintesi netta (A), conduttanza stomatica (g_s), concentrazione di CO_2 negli spazi intercellulari (C_i) e velocità massima di carbossilazione (V_{cmax}) tra due differenti stati. Questo metodo include implicitamente nelle limitazioni non stomatiche sia le limitazioni biochimiche che le limitazioni diffusive legate alla resistenza del mesofillo alla diffusione della CO_2 ; la risoluzione di queste due componenti (Grassi *et al.* 2005b) richiede infatti la misura della conduttanza del mesofillo, che non è stata eseguita.

Le limitazioni stomatiche e non stomatiche assolute rappresentano per ogni data le rispettive quote di riduzione della fotosintesi espresse come percentuali del valore di fotosintesi massimo (giugno 2010); le limitazioni stomatiche e non stomatiche relative rappresentano per ogni data il contributo relativo alla riduzione dei due processi. In accordo a Wilson *et al.* (2000a), le limitazioni stomatiche relative (σ) sono state calcolate come:

$$\sigma = \frac{l_g d \ln g_s}{l_g d \ln g_s + (1 - l_g) d \ln V_{cmax}}$$

con l_g dato da

$$l_g = \frac{\frac{\partial A}{\partial C_i}}{g_s + \frac{\partial A}{\partial C_i}}$$

Per l'applicazione pratica, $d \ln g_s$ e $d \ln V_{cmax}$ sono state approssimate dalla differenza tra i valori di g_s e V_{cmax} di riferimento (giugno 2010) e quelli misurati di volta in volta nelle altre date, $\partial A / \partial C_i$ e g_s dalla media tra le due date di misura

Il valore $1 - \sigma$ rappresenta le limitazioni non stomatiche relative. Le limitazioni stomatiche assolute (L_s) e le limitazioni non stomatiche assolute (L_{ns}) sono state calcolate come:

$$L_s = \sigma \Delta A$$

$$L_{ns} = (1 - \sigma) \Delta A$$

con ΔA corrispondente alla limitazione totale, ossia alla riduzione percentuale della fotosintesi rispetto al valore massimo per ogni data considerata

L'analisi è stata applicata al periodo compreso tra giugno 2010 e settembre 2010, in modo da valutare il peso dei due tipi di limitazioni durante il progredire dell'aridità estiva: la data di giugno 2010, caratterizzata dai valori massimi delle variabili necessarie all'analisi, è stata utilizzata come riferimento per il calcolo delle limitazioni nelle due date successive (luglio 2010 e settembre 2010). In questo periodo la composizione dei getti misurati risulta pressoché invariata, non essendo stata osservata né caduta né crescita fogliare, il che permette di escludere che le limitazioni calcolate possano dipendere da modificazioni dell'età fogliare media del getto legate alla perdita delle foglie più vecchie, fenomeno che può essere invece osservato tra maggio e giugno (Capitolo 4).

3.2.5 Efficienza fotochimica massima del fotosistema II

La massima efficienza fotochimica del fotosistema II è stata quantificata per mezzo di un fluorimetro portatile PAM-2000 (Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Germany) in tutte le date del periodo di studio, ad eccezione di maggio 2010; al termine delle misure di fotosintesi netta eseguita in campo, i getti sono stati staccati e riposti in un contenitore chiuso, e lasciati nella completa oscurità per almeno 20 minuti, tempo minimo necessario per consentire la completa ossidazione dei centri di reazione del fotosistema II (Oliveira *et al.* 2000); passato questo periodo di tempo, la misura di fluorescenza è stata eseguita su metà delle foglie del getto, una per ognuno dei verticilli fogliari presenti. In questo modo per ognuna delle foglie misurate è stato ottenuto un valore di fluorescenza minima di foglie adattate al buio (F_0) e di fluorescenza massima di foglie adattate al buio (F_m): il valore di fluorescenza variabile F_v , è stato calcolato come $F_v = F_m - F_0$, e il rapporto F_v/F_m è stato usato come misura dell'efficienza massima del fotosistema II.

3.2.6 Analisi statistica

Per l'analisi statistica delle differenze tra le medie dei valori dei parametri monitorati è stato utilizzato il software SYSTAT.

Le differenze dei valori delle diverse variabili tra i trattamenti warming e drought e il trattamento control osservate su tutto il periodo di studio, sono state testate tramite analisi della varianza ad una via. La più piccola unità indipendente usata è il valore della variabile mediato per plot ad ognuna delle date di misurazione ($n = 30$ per ogni trattamento). I diversi parametri monitorati sono stati considerati di volta in volta come variabili dipendenti, la data di campionamento e il trattamento come variabili indipendenti. Differenze significative tra trattamenti sono state identificate tramite test di Bonferroni.

Limitatamente ad ognuna delle dieci date di misurazione, le differenze tra trattamenti (control-warming e control-drought, $n = 3$ per ogni trattamento) nei valori delle variabili fisiologiche monitorate sono state testate tramite t- test.

3.3 Risultati: plot control

3.3.1 Fotosintesi netta

Come già discusso nel capitolo 2, i tassi di fotosintesi netta subiscono forti oscillazioni nel corso dell'anno: il periodo primaverile fa registrare valori di fotosintesi elevati, che si riducono progressivamente durante il periodo di aridità, ritornano rapidamente ai valori ottimali all'arrivo delle prime piogge autunnali per poi iniziare a declinare nuovamente al progredire della stagione autunnale (Figura 44a). La conduttanza segue un andamento del tutto simile, tranne nell'ultima fase, in cui mostra un incremento continuo (Figura 44c). In Figura 44b e in Figura 44d sono mostrati i valori relativi a tutte le date di misurazione del periodo di studio; nell'anno 2011 il minore numero di date di campionamento non ha permesso di delineare interamente l'andamento stagionale descritto per l'anno 2010, ma sono stati comunque registrati i valori minimi nel periodo di aridità (ottobre 2011) e il successivo recupero (novembre 2011).

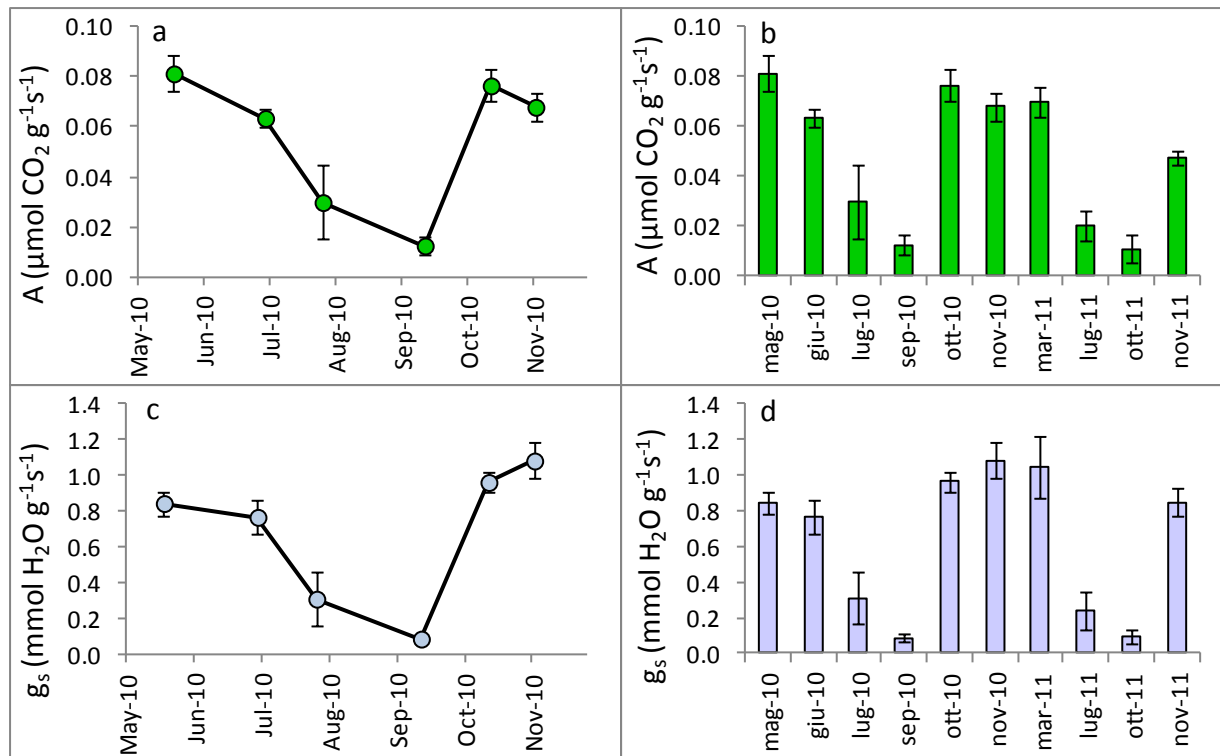


Figura 44. Andamento stagionale (Figura 44a, Figura 44c) nell'anno 2010 e valori registrati nel corso dell'intero periodo di studio (Figura 44b, Figura 44d) della fotosintesi netta e della conduttanza stomatica. Le barre indicano l'errore standard.

L'efficienza intrinseca di uso idrico raggiunge i valori più alti durante il periodo di aridità, e si riduce nel periodo autunnale, correlandosi negativamente con la conduttanza stomatica (Figura 45).

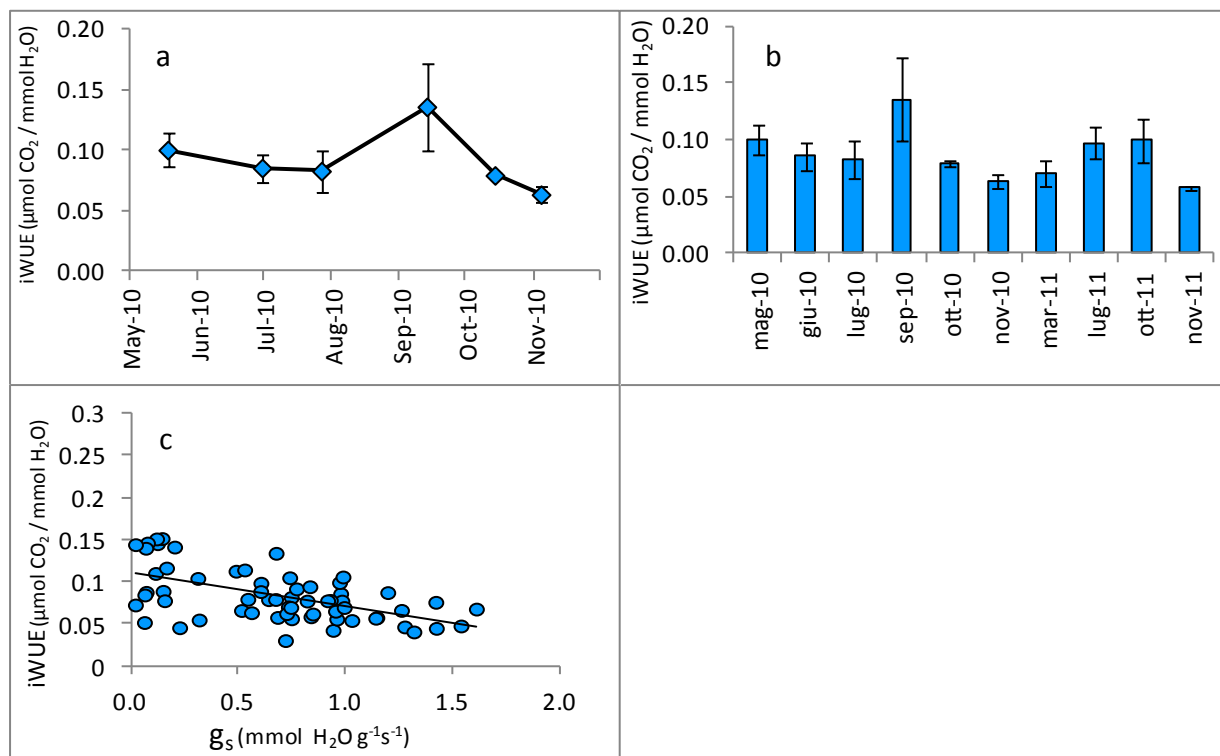


Figura 45. Andamento dell'efficienza intrinseca di uso dell'acqua nell'anno 2010 (Figura 45a), valori osservati durante l'intero periodo di studio (Figura 45b) e relazione tra efficienza dell'uso dell'acqua e conduttanza stomatica (Figura 45c): ogni punto rappresenta il dato relativo ad un individuo di *C. monspeliensis* e ad una data di misurazione.

3.3.2 Velocità massima di carbossilazione (V_{cmax}) e velocità massima di rigenerazione del ribulosio difosfato (J_{max})

La distribuzione delle campagne di misura nel corso del 2010 ha permesso di delineare l'andamento stagionale della velocità massima di carbossilazione (V_{cmax}) e della velocità massima di trasporto elettronico (J_{max}): i valori più elevati di V_{cmax} , e di J_{max} sono stati registrati in primavera e in autunno, rispettivamente nei mesi di maggio 2010 e di novembre 2010, mentre a settembre 2010, prima della ripresa delle precipitazioni, sono stati registrati i valori minimi (Figura 46a).

La distribuzione delle campagne di misura nel corso dell'anno 2011 non ha permesso di registrare i valori massimi del periodo primaverile dei parametri osservati, ma sono stati registrati i valori minimi

alla fine del periodo di aridità (ottobre 2011) e il successivo recupero dopo l'arrivo delle piogge autunnali (novembre 2011) (Figura 46b)

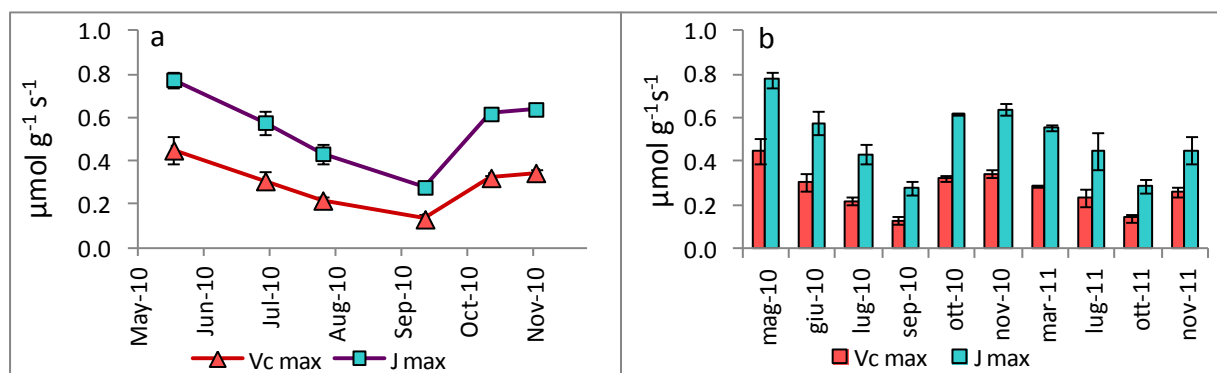


Figura 46. Valori di velocità massima di carbossilazione (espressa in $\mu\text{mol CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{s}^{-1}$) e di velocità massima di trasporto elettronico (espressa in $\mu\text{mol elettroni g}^{-1} \text{s}^{-1}$): andamento registrato nell'anno 2010 (Figura 46a) e valori osservati nel corso dell'intero periodo di studio (Figura 46b). Le barre indicano l'errore standard.

3.3.3 Massima efficienza fotochimica del fotosistema II

Come per gli altri parametri fisiologici considerati, l'andamento stagionale dell'efficienza fotochimica massima del PSII mostra una depressione durante l'estate, che si accentua al progredire della stagione arida (Figura 47a). Anche nell'anno 2011 l'efficienza più bassa è stata registrata nel mese di ottobre 2011 (Figura 47b), in corrispondenza dei valori minimi di contenuto idrico relativo del suolo;

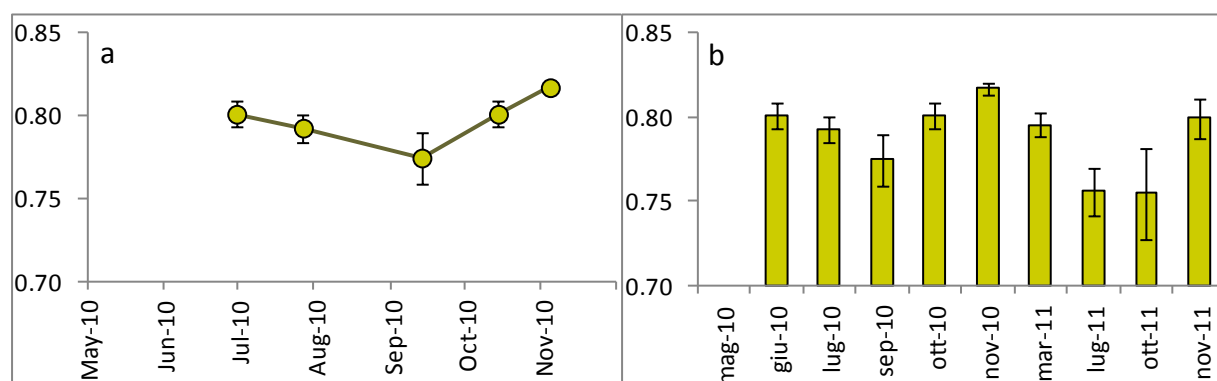


Figura 47. Valori di efficienza massima del fotosistema II : andamento registrato da maggio a novembre 2010 (Figura 47a) e valori osservati nel corso dell'intero periodo di studio (Figura 47b). Le barre indicano l'errore standard.

La depressione estiva osservata nell'efficienza fotochimica massima del fotosistema II è di lieve entità, con i valori medi del rapporto F_v/F_m che anche in estate rimangono prossimi al valore considerato ottimale di 0.8 (Chaves *et al.* 2002).

3.3.4 Analisi quantitativa delle limitazioni

L'analisi quantitativa delle limitazioni basata sul metodo differenziale è stata applicata al periodo compreso tra la data di giugno 2010 e quella di settembre 2010. In Figura 48 è mostrato il risultato dell'analisi: nel corso del periodo analizzato si assiste ad un incremento delle limitazioni totali, con una prevalenza di limitazioni stomatiche rispetto a quelle non stomatiche; il contributo delle limitazioni non stomatiche incrementa tuttavia al progredire della stagione arida, e a settembre 2010 esse rappresentano il 22% delle limitazioni totali (Tabella 14).

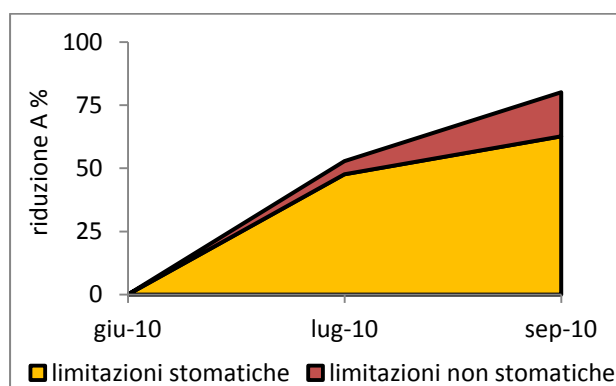


Figura 48. Limitazioni alla fotosintesi nel periodo compreso tra giugno 2010 e settembre 2010 calcolate secondo il metodo differenziale, riferite alla data di giugno 2010. L'area colorata rappresenta le limitazioni totali (ossia la percentuale di riduzione della fotosintesi ad ognuna delle date considerate rispetto al valore massimo di riferimento, giugno 2010); i diversi colori rappresentano i contributi relativi delle limitazioni stomatiche e delle limitazioni non stomatiche a tale riduzione.

Tabella 14. Fotosintesi e limitazioni alla fotosintesi nel periodo compreso tra giugno 2010 e settembre 2010 nei plot control.

	Fotosintesi	Fotosintesi	Limitazioni stomatiche relative	Limitazioni biochimiche relative	Limitazioni stomatiche assolute	Limitazioni biochimiche assolute
	$\mu\text{mol CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ s}^{-1}$	% $A_{\text{giu-10}}$	%	%	% $A_{\text{giu-10}}$	% $A_{\text{giu-10}}$
giu-10	0.06	100				
lug-10	0.03	47	90	10	48	5
set-10	0.01	20	78	22	63	17

3.4 Risultati: trattamento warming

Considerando l'insieme di tutte le date di campionamento, il trattamento warming non ha prodotto un incremento significativo dei valori di fotosintesi e di conduttanza stomatica (solo nella data di giugno 2010 è stato misurato un effetto positivo del trattamento warming sulla fotosintesi), mentre ha incrementato significativamente i valori di velocità massima di carbossilazione ($p < 0.01$) e di velocità massima di rigenerazione del ribulosio difosfato ($p < 0.05$), nonostante quest'ultima variabile presentasse in una data (ottobre 2010) valori inferiori nel trattamento warming.

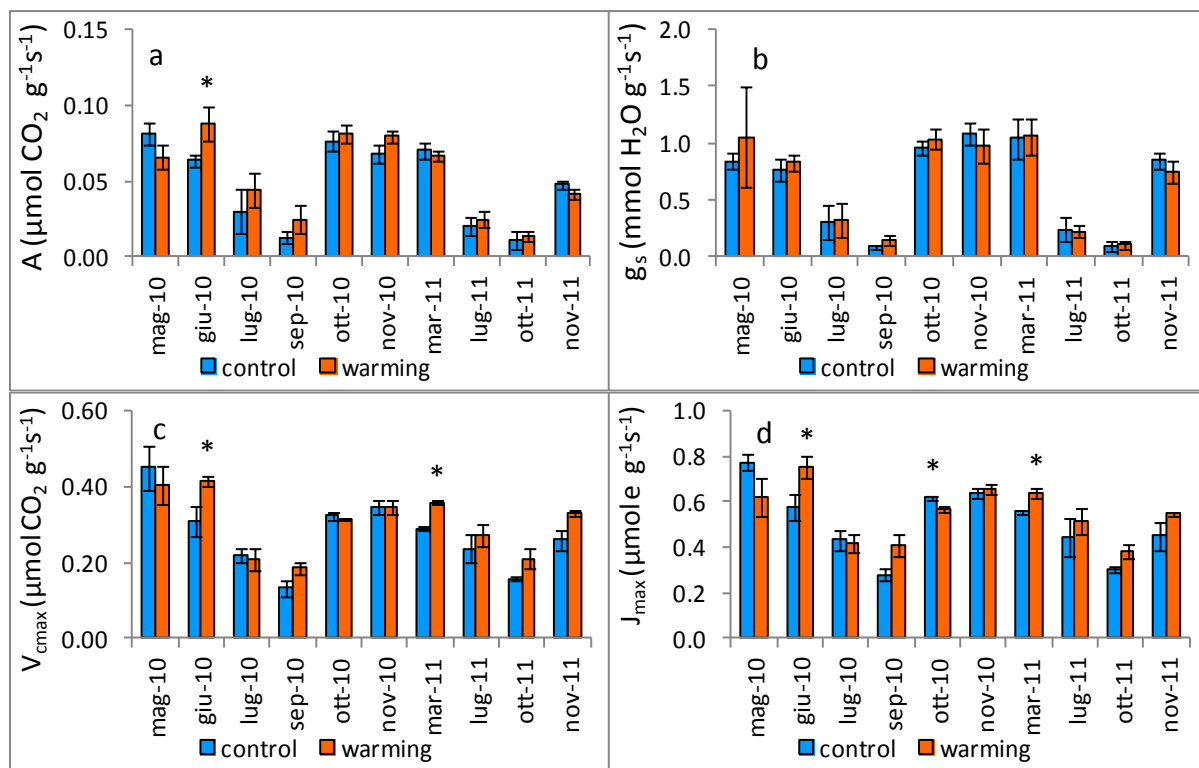


Figura 49. Valori di fotosintesi netta (A) (Figura 49a), conduttanza stomatica (g_s) (Figura 49b), velocità massima di carbossilazione ($V_{c\text{max}}$) (Figura 49c) e di velocità massima di rigenerazione del ribulosio difosfato (J_{max}) (Figura 49d) nei trattamenti control e warming nel periodo di studio; le barre indicano l'errore standard. Per ogni data * indica differenze significative tra trattamenti.

I valori di massima efficienza fotochimica del PSII non sono stati invece influenzati dal trattamento warming (Figura 50).

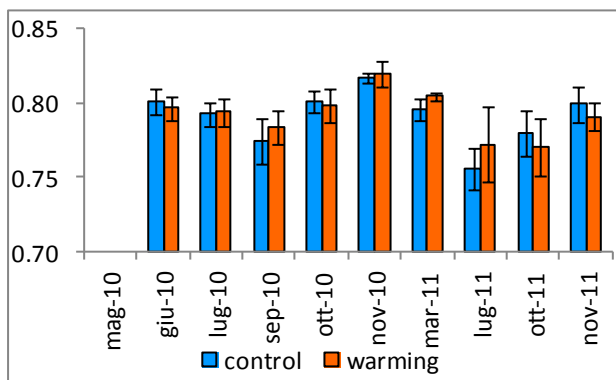


Figura 50. Valori di efficienza massima del fotosistema II misurati nei plot control e nei plot warming nel periodo di studio. Le barre indicano l'errore standard.

Come nel trattamento control, l'analisi quantitativa delle limitazioni evidenzia nel trattamento warming una prevalenza delle limitazioni stomatiche su quelle non stomatiche (Figura 51): tra luglio e settembre il contributo relativo dei due tipi di limitazioni rimane sostanzialmente invariato (Tabella 15)

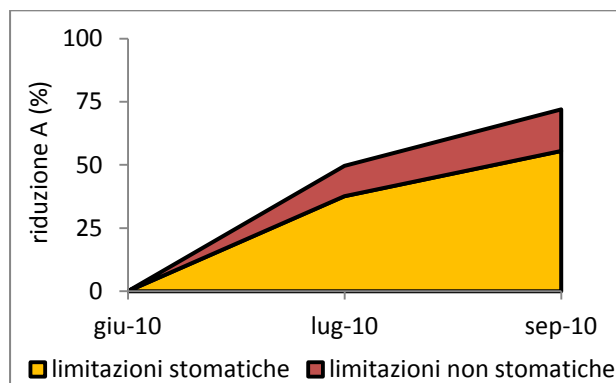


Figura 51. Limitazioni stomatiche e non stomatiche alla fotosintesi nel periodo compreso tra giugno 2010 e settembre 2010 riferite alla data di giugno 2010 nei plot warming. L'area colorata rappresenta la riduzione percentuale dei valori di fotosintesi netta rispetto alla data di riferimento; i diversi colori rappresentano i contributi delle limitazioni stomatiche e delle limitazioni non stomatiche a tale riduzione.

Tabella 15. Fotosintesi e limitazioni alla fotosintesi nel periodo compreso tra giugno 2010 e settembre 2010 nei plot warming.

	Fotosintesi	Fotosintesi	Limitazioni stomatiche relative	Limitazioni non stomatiche relative	Limitazioni stomatiche assolute	Limitazioni non stomatiche assolute
	$\mu\text{mol CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ s}^{-1}$	% $A_{\text{giu-10}}$	%	%	% $A_{\text{giu-10}}$	% $A_{\text{giu-10}}$
giu-10	0.09	100	-	-	-	-
lug-10	0.04	50	76	24	38	12
set-10	0.02	28	77	23	56	16

3.5 Risultati: trattamento drought

Considerando l'insieme di tutte le date di campionamento, il trattamento drought non ha prodotto modificazioni significative dei tassi di fotosintesi netta (A), dei valori di conduttanza stomatica (g_s), della velocità massima di carbossilazione (V_{cmax}) e della velocità massima di rigenerazione del ribulosio difosfato (J_{max}) (Figura 52), e così sull'efficienza intrinseca di uso idrico (Figura 53); un effetto significativo è stato registrato soltanto ad ottobre 2010 in A , g_s e $iWUE$, quando l'efficace esclusione delle prime piogge autunnali dopo l'aridità estiva ha determinato nei plot drought il mancato recupero dell'attività fotosintetica.

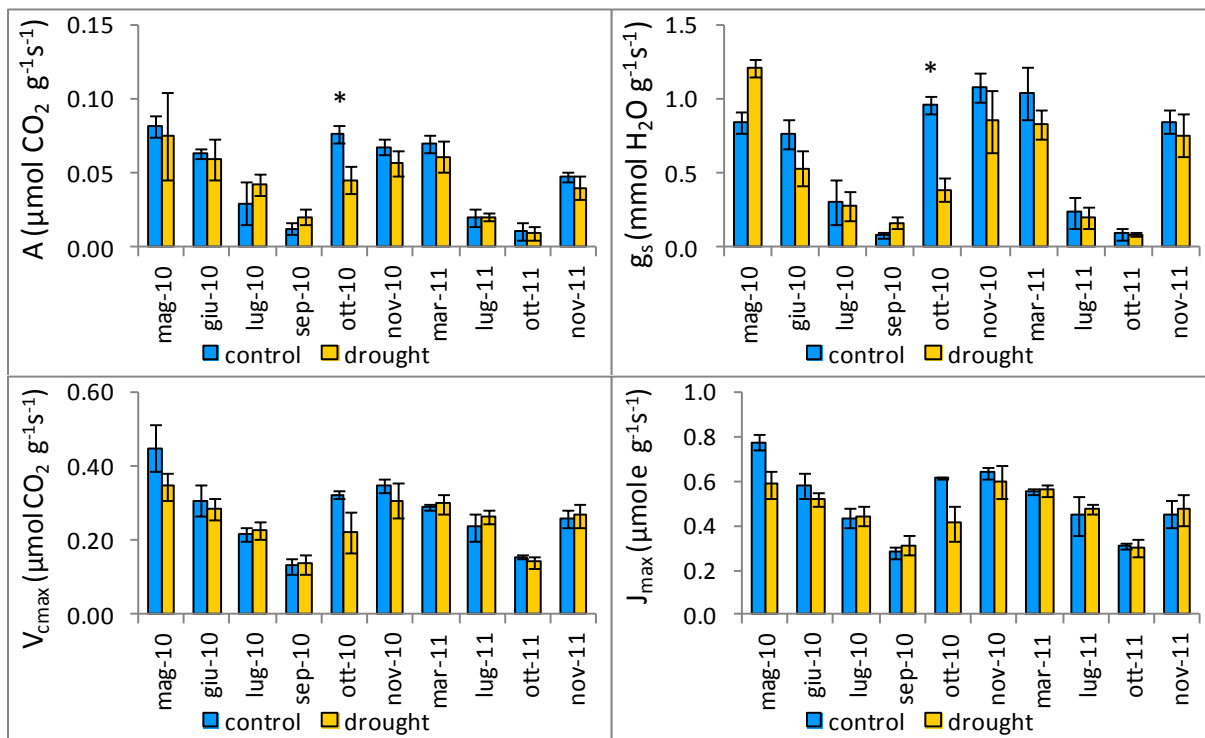


Figura 52. Valori di fotosintesi netta (A) (Figura 52a), conduttanza stomatica (g_s) (Figura 52b), velocità massima di carbossilazione (V_{cmax}) (Figura 52c) e di velocità massima di rigenerazione del ribulosio difosfato (J_{max}) (Figura 52d) nei trattamenti control e drought nel periodo di studio; le barre indicano l'errore standard. Per ogni data * indica differenze significative tra

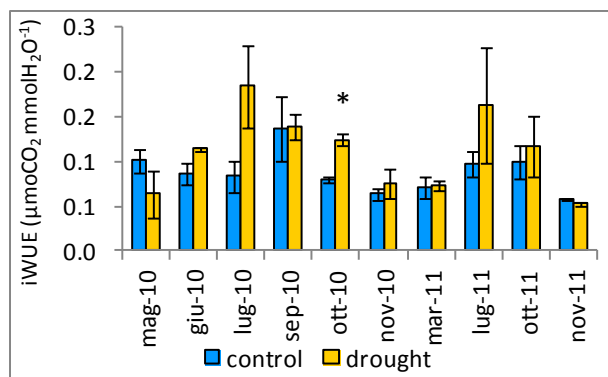


Figura 53. Efficienza intrinseca di uso idrico nei plot control e nei plot drought.

I valori di massima efficienza fotochimica del foto sistema II non sono stati influenzati dal trattamento drought.

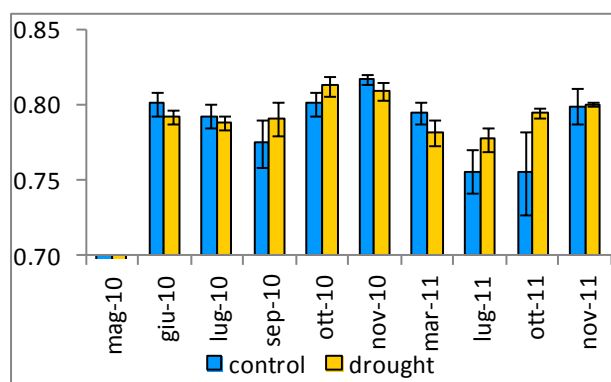


Figura 54. Valori di efficienza massima del fotosistema II misurati nei plot control e nei plot drought nel periodo di studio. Le barre indicano l'errore standard.

L'analisi quantitativa delle limitazioni evidenzia per il trattamento drought limitazioni totali inferiori a quelle del trattamento control (Figura 55), con un minore contributo delle limitazioni non stomatiche a settembre 2010 (Tabella 16).

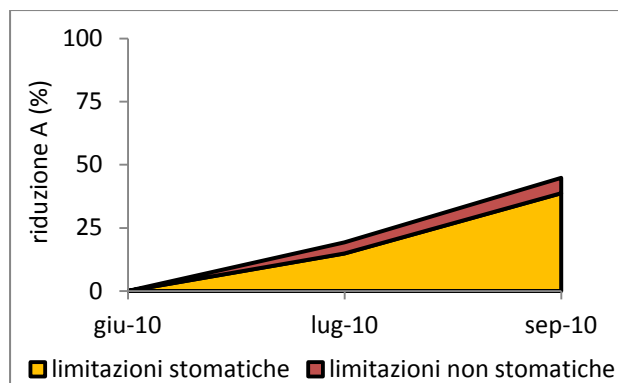


Figura 55. . Limitazioni stomatiche e non stomatiche alla fotosintesi nel periodo compreso tra giugno 2010 e settembre 2010 riferite alla data di giugno 2010 nei plot drought. L'area colorata rappresenta la riduzione percentuale dei valori di fotosintesi netta rispetto alla data di riferimento; i diversi colori rappresentano i contributi delle limitazioni stomatiche e delle limitazioni non stomatiche a tale riduzione.

Tabella 16. Fotosintesi e limitazioni alla fotosintesi nel periodo compreso tra giugno 2010 e settembre 2010 nei plot drought.

	Fotosintesi	Fotosintesi	Limitazioni stomatiche relative	Limitazioni non stomatiche relative	Limitazioni stomatiche assolute	Limitazioni non stomatiche assolute
	$\mu\text{mol CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ s}^{-1}$	% $A_{\text{giu-10}}$	%	%	% $A_{\text{giu-10}}$	% $A_{\text{giu-10}}$
giu-10	0.06	100				
lug-10	0.04	72	77	23	15	4
set-10	0.02	34	86	14	39	6

3.6 Discussione

3.6.1 Plot control

Limitazioni alla fotosintesi

Il contributo delle limitazioni alla fotosintesi nel periodo di aridità calcolato secondo il metodo di partizione trova riscontro in diversi lavori sullo stress idrico condotti su specie decidue, semidecidue e sclerofille; in uno studio su foreste temperate decidue il valore delle limitazioni stomatiche durante il periodo arido è stimato intorno al 75% della limitazione complessiva, con una tendenza a incrementare all'aumentare dell'aridità (Wilson *et al.* 2000a); analogamente, in un esperimento di stress idrico in vaso condotto su *Olea Europaea L.*, *Rhamnus alaternus L.* e *Cneorum tricoccon L.* è stato misurato un contributo delle limitazioni stomatiche pari a due terzi di quelle totali (Varone *et al.* 2012); in due diversi lavori condotti su *Quercus ilex* in condizioni di moderata aridità naturale ($\psi_{pd} = -3$ Mpa) sono riportati valori di limitazioni stomatiche relative massime pari a circa il 50 % delle limitazioni totali (Limousin *et al.* 2010; Misson *et al.* 2010).

I dati disponibili sulle limitazioni alla fotosintesi in specie semidecidue sono scarsi, e limitati alla specie *Cistus albidus L.*; in una simulazione di stress idrico condotta in vaso su 10 specie mediterranee caratterizzate da diverse forme di crescita, tra cui appunto *Cistus albidus L.* (Galmes *et al.* 2007), è stata registrata una generale prevalenza delle limitazioni stomatiche solo in condizioni di stress idrico lieve, mentre in condizioni di stress idrico moderato e severo le limitazioni non stomatiche risultavano preponderanti; in particolare in *Cistus albidus L.* in condizioni di stress idrico lieve il contributo delle limitazioni stomatiche alle limitazioni totali era del 46%, mentre in condizioni di stress idrico severo ($\psi_{pd} = -4.1$ Mpa) tale contributo si riduceva al 16 %; d'altra parte, il breve arco di tempo in cui queste piante hanno sperimentato il passaggio da uno stato ottimale ad una condizione di stress idrico intenso (il livello minimo di potenziale idrico fogliare viene raggiunto dopo due settimane dall'ultima irrigazione), rende difficile il confronto con misure ottenute in campo nell'arco di una intera stagione (Limousin *et al.* 2010): infatti in uno studio successivo (Galle *et al.* 2011) in cui la stessa specie veniva progressivamente acclimatata all'aridità attraverso cicli successivi di stress idrico e di irrigazione, le limitazioni stomatiche sono risultate predominanti.

L'analisi condotta evidenzia quindi un ridotto contributo delle limitazioni non stomatiche nelle condizioni di aridità naturale osservata nel corso del periodo di studio. L'assenza di un sostanziale contributo di questo tipo di limitazioni emerge anche dalla relazione tra efficienza intrinseca di uso dell'acqua (iWUE) e conduttanza stomatica (Figura 45c), che è in questo caso utilizzata come indice di stress idrico (Flexas *et al.* 2004). Al progressivo ridursi della conduttanza stomatica iWUE mostra infatti un incremento continuo per tutto lo spettro di valori assunti da g_s ; uno stress idrico tale da indurre limitazioni di natura non stomatica si manifesterebbe infatti con una caduta del rapporto A/g_s ai valori più bassi di conduttanza stomatica (Flexas *et al.* 2004; Gulias *et al.* 2009)

Riduzione capacità fotosintetica

Per quanto riguarda le fluttuazioni stagionali della capacità fotosintetica, va innanzitutto sottolineato che il calcolo dei V_{cmax} e J_{max} è stato basato sui valori di concentrazione intercellulare di anidride carbonica (c_i); in presenza di una conduttanza del mesofillo non infinita la concentrazione di CO_2 nel cloroplasto può però non riflettere quella intercellulare, specie durante lo stress idrico, il che comporta una sottostima di questi parametri (Flexas *et al.* 2006; Flexas *et al.* 2008)

Pur tenendo in considerazione questo limite, vista la generale prevalenza di limitazioni stomatiche alla fotosintesi, la riduzione di V_{cmax} e J_{max} osservata in aridità può essere interpretata anche come parte di un processo di sottoregolazione dell'apparato fotosintetico, che si adegua in questo modo alla minore disponibilità di CO_2 imposta dalla chiusura stomatica (Chaves *et al.* 2002).

Questa riduzione può essere ricondotta a due processi; nella prima fase (maggio 2010- giugno 2010, marzo 2011-luglio 2011) può dipendere dal fenomeno di avvicendamento di coorti fogliari, caratterizzate da diversa morfologia, tipico delle specie semidecidue all'aridità: alla fine della primavera infatti le foglie invernali vanno incontro a senescenza e cadono entro l'inizio dell'estate, lasciando sulla pianta le sole foglie dei brachiblasti che non hanno prodotto fiori, che rappresentano la tipologia fogliare predominante in estate e in autunno (capitolo 4). I dati di contenuto in azoto fogliare disponibili per queste due fasi (marzo 2010, data precedente all'inizio del periodo di studio, e giugno 2010) indicano una riduzione del 18 % del contenuto in azoto fogliare medio del getto, che potrebbe perciò spiegare la riduzione di V_{cmax} e J_{max} osservata nella prima fase del periodo di studio (Munné-Bosch *et al.* 2004; Grassi *et al.* 2005a; Misson *et al.* 2010). D'altra parte da giugno a settembre V_{cmax} e J_{max} subiscono una ulteriore riduzione, non accompagnata tuttavia da alcuna variazione del contenuto totale in azoto fogliare; altri fattori devono perciò essere chiamati in causa per spiegare il declino della

velocità di carbossilazione e di rigenerazione del ribulosio difosfato in questa seconda fase; uno di questi può essere la riduzione della frazione di azoto fogliare allocato nelle proteine coinvolte nella fotosintesi (Niinemets *et al.* 1997). Come osservato in studi precedenti (Wilson *et al.* 2000b; Limousin *et al.* 2010) la concentrazione di Rubisco e delle proteine legate al trasporto elettronico può subire importanti variazioni nel corso del periodo di aridità, legate ad una redistribuzione dell'azoto a componenti strutturali e difensivi della foglia (Reich *et al.* 1998; Niinemets, 1999; Juarez-Lopez *et al.* 2008). Oltre alla riduzione della frazione di azoto allocato negli enzimi della fotosintesi, il declino della capacità fotosintetica osservata nel corso del periodo di aridità può dipendere anche da fenomeni di inibizione enzimatica, sia a carico della rubisco (Parry *et al.* 2002), che degli enzimi coinvolti nella rigenerazione dei ribulosio difosfato (Thimmanaik *et al.* 2002; Flexas *et al.* 2004)

Come in altri studi sulla fotoinibizione su altre specie del genere *Cistus* (Karavatas *et al.* 1999; Llorens *et al.* 2003), la depressione estiva osservata nell'efficienza fotochimica massima del fotosistema II è di lieve entità, con i valori del rapporto F_v/F_m che non scendono mai al di sotto di 0.75, e può riflettere l'azione fotoprotettiva di meccanismi che dissipino l'energia assorbita in eccesso, come la deepossidazione delle xantofille e la fotorespirazione (Valentini *et al.* 1995; Oliveira *et al.* 2000; Castillo *et al.* 2002; Guan *et al.* 2004). In condizioni di aridità più accentuata, con potenziali idrici fogliari di base di circa il 15 % più negativi rispetto a quelli minimi misurati durante il periodo di studio, Werner e collaboratori hanno registrato valori inferiori di F_v/F_m in *C. albidus* L. e *C. monspeliensis*, indicativi di danni irreversibili ai centri di reazione, ma solo sulle foglie orientate più orizzontalmente e quindi soggette a livelli di irradianza superiori (Werner *et al.* 1999a).

3.6.2 Trattamento warming

Il dato maggiormente significativo emerso dallo studio della fisiologia fogliare in *C. monspeliensis* nel trattamento warming è l'incremento della velocità massima di carbossilazione e della velocità massima di rigenerazione del ribulosio difosfato, che potrebbe essere messa in relazione al parallelo incremento di concentrazione di azoto fogliare (Evans, 1989)(vedi Capitolo 4). Una risposta simile della velocità di carbossilazione al trattamento warming è stata osservata in un sito soggetto allo stesso tipo di manipolazione climatica (Llorens *et al.* 2003b) in *Globularia alypum*, ma gli autori in questo caso non hanno riscontrato differenza nelle concentrazioni di azoto fogliare, attribuendo il fenomeno alla riduzione dei giorni di gelo indotta dal trattamento warming; diversi studi hanno infatti descritto, in specie sempreverdi mediterranee, l'effetto negativo delle basse temperature sull'attività fotosintetica (Karavatas *et al.* 1999; Larcher, 2000; Varone *et al.* 2007). Nonostante l'incremento delle temperature

minime indotto dal riscaldamento passivo notturno possa aver determinato nel periodo invernale un simile effetto anche in *C. monspeliensis*, la dinamica di avvicendamento delle coorti fogliari tipica di questa specie (Capitolo 4) permette di escludere che l'incremento di V_{cmax} e J_{max} osservato possa essere attribuito a questo genere di effetto per tutto l'anno, in quanto differenze significative sono state osservate al di fuori della stagione invernale su foglie nate in primavera, che non hanno perciò potuto sperimentare l'effetto negativo delle basse temperature (giugno 2010, Figura 49).

3.6.3 Trattamento drought

Uno studio precedente di acclimatazione all'aridità condotto su *Cistus albidus* L. attraverso ripetuti cicli di induzione di stress idrico ha evidenziato come, in seguito al trattamento, questa specie sia stata in grado di incrementare l'efficienza di uso idrico grazie alla riduzione della conduttanza stomatica associata ad un incremento della conduttanza del mesofillo (Galle *et al.* 2011), riuscendo in questo modo a mantenere tassi di fotosintesi simili alle piante di controllo non sottoposte a stress.

Anche se analizzando tutte le date del periodo di studio non sono state individuate differenze significative a carico di questi parametri, restringendo l'analisi alla sola coorte fogliare estiva (giugno-novembre - capitolo 3) si evidenziano invece alcuni effetti riconducibili a fenomeni di acclimatazione di questo tipo: l'efficienza dell'uso dell'acqua è risultata infatti significativamente maggiore nel trattamento drought ($p < 0.05$), la conduttanza stomatica significativamente minore ($p < 0.001$), senza alcuna differenza significativa a carico della fotosintesi. Si può ipotizzare quindi che aggiustamenti interni alla foglia tesi a incrementare in condizioni di stress idrico l'efficienza di uso dell'acqua, quali appunto l'incremento della conduttanza del mesofillo, siano un aspetto adattativo comune alle specie semidecidue, che in relazione alla minore durata della vita fogliare tendono a massimizzare l'acquisizione di carbonio anche in condizioni ambientali meno favorevoli (Reich *et al.* 1992; Gulias *et al.* 2009). Un possibile indizio a favore dell'ipotesi di una riduzione della resistenza del mesofillo è il ridotto impatto delle limitazioni non stomatiche (sia relative che assolute) durante il periodo di aridità dell'anno 2010 osservato nel trattamento drought rispetto al trattamento control; pur non potendo risolvere le componenti diffusive e biochimiche delle limitazioni non stomatiche, si può infatti immaginare che anche la componente legata alla conduttanza del mesofillo sia in coinvolta in questa differenza.

Il ridotto apporto di pioggia nei plot drought in primavera, durante il periodo di sviluppo della coorte fogliare estiva, potrebbe perciò aver indotto la comparsa al livello anatomico e cellulare di adattamenti

tesi ad incrementare l'efficienza di uso dell'acqua in risposta ad un periodo di aridità iniziato precocemente e quindi dalla possibile maggiore durata.

4. Plasticità feno-morfologica in *C. monspeliensis*

4.1 Introduzione

Durante l'anno, nell'ambiente mediterraneo, le fluttuazioni della disponibilità idrica hanno indotto la comparsa di una varietà di adattamenti fenologici, che vanno dall'habitus sempreverde delle specie sclerofille, a quello semideciduo, comune alle specie del genere *Cistus* (Werner *et al.* 1999b), fino al caso estremo delle specie completamente decidue all'aridità (De Lillis *et al.* 1992) (Figura 56).



Figura 56. Coesistenza tra *Pistacia lentiscus* L. (a sinistra), specie sclerofilla sempreverde, *Euphorbia dendroides* L. (al centro) specie decidua all'aridità e *Cistus monspeliensis* L. (in primo piano) specie semidecidua all'aridità (parco dell'Asinara, Sardegna nord occidentale).

Diversamente dalle specie sclerofille semreverdi, che possono far fronte allo stress idrico estivo attraverso una serie di adattamenti morfologici (foglie piccole, con elevata massa fogliare specifica, cuticole spesse e sistema radicale profondo), le specie semidecidue evitano parzialmente lo stress attraverso l'abscissione di una parte delle foglie, restringendo il periodo di crescita alle stagioni più favorevoli (Gratani *et al.* 1999). Anche nell'ambito di questo comune adattamento all'aridità, nelle specie del genere *Cistus* l'habitus semideciduo si manifesta con intensità molto diverse, con specie che perdono gran parte delle foglie in estate (come *C. salvifolius* L.), ed altre che mantengono una struttura e una biomassa fogliare relativamente costanti nel corso dell'anno (come *C. ladanifer* L.) (Simoes *et al.* 2008). *C. monspeliensis*, con una caduta delle foglie che alla fine della stagione arida coinvolge circa il 65% delle foglie presenti in primavera (Correia *et al.* 1992), si configura come una tipica semidecidua

all'aridità. In questa specie inoltre, all'habitus semideciduo si associa anche un dimorfismo fogliare stagionale, con le foglie formate tra la tarda primavera e l'inizio dell'estate (dette foglie estive) caratterizzate da un aspetto più sclerofillo rispetto a quelle emesse dal tardo autunno alla primavera (dette foglie invernali) (Correia *et al.* 1992). L'associazione dell'habitus semideciduo con il dimorfismo fogliare stagionale costituisce una strategia estremamente efficace nel far fronte alla varietà di condizioni ambientali sfavorevoli che caratterizzano il clima mediterraneo, con particolare riguardo alla distribuzione delle precipitazioni e alla sua variabilità interannuale (Orshan, 1989; Aronne *et al.* 2001).

Il seguente studio è stato perciò intrapreso con lo scopo di comprendere come in *C. monspeliensis* la plasticità fenologica e morfologica concorrano sinergicamente a definirne l'adattamento alle condizioni ambientali attuali e alle ulteriori limitazioni imposte dalla manipolazione climatiche.

4.2 Materiali e metodi

4.2.1 Periodo di studio

I dati di dinamica di accrescimento dei getti, demografia fogliare e morfologia fogliare sono stati acquisiti a partire da luglio 2009 fino alla fine del periodo di studio, nelle date indicate nelle rispettive descrizioni della metodologia.

Tabella 17. Date di acquisizione dei dati

Giorno di inizio delle misure	Data usata nel testo
21 luglio 2009	luglio 2009
16 settembre 2009	settembre 2009
24 novembre 2009	novembre 2009
26 gennaio 2010	gennaio 2010
31 marzo 2010	marzo 2010
18 maggio 2010	maggio 2010
30 luglio 2010	giugno 2010
27 luglio 2010	luglio 2010
13 settembre 2010	settembre 2010
14 ottobre 2010	ottobre 2010
4 novembre 2010	novembre 2010
17 gennaio 2011	gennaio 2011
22 marzo 2011	marzo 2011
11 luglio 2011	luglio 2011
16 ottobre 2011	ottobre 2011
9 novembre 2011	novembre 2011

4.2.2 Dinamica di accrescimento dei getti e demografia fogliare

Allo scopo di definire la dinamica di accrescimento della specie in esame sono state eseguite misure di morfologia del getto nel corso di due stagioni vegetative; visto l' *habitus* semideciduo manifestato da *C. monspeliensis*, come punto di inizio per l'acquisizioni di dati sullo sviluppo morfologico del getto è stato

scelto il mese di luglio, che corrisponde alla fase conclusiva del processo di scambio fogliare. A luglio 2009 sono state individuate 3 piante adulte per ognuno dei 9 plot, e su ognuna sono stati cartellinati 5 getti formati durante la tarda primavera dello stesso anno, scelti in modo che le loro dimensioni e la loro morfologia fossero il più possibile rappresentative di tutti quelli presenti sulla pianta: la conformazione particolarmente “modulare” degli individui adulti di *C. monspeliensis* ha reso relativamente agevole questa scelta; su ognuno dei getti così individuati sono stati rilevati i seguenti parametri:

- Diametro e lunghezza del getto
- Numero e lunghezza di tutte le foglie del getto
- Numero di foglie cadute (individuabile grazie alle cicatrici lasciate sul getto)
- Posizione di tutte le foglie del getto; su di ogni getto venivano individuati e numerati a partire da quello più vicino alla base tutti i verticilli fogliari presenti, associando la misura di ogni foglia al numero del verticillo occupato; in questo modo ogni dato di lunghezza fogliare poteva essere confrontato con quello relativo alla stessa foglia rilevato precedentemente, e di ogni foglia poteva essere registrato sia il periodo di emergenza che quello di abscissione

Gli stessi parametri sono stati rilevati su ognuno dei brachiblasti che andavano formandosi nel corso dell'anno sul getto cartellinato.

Il rilevamento di questi dati è stato condotto nelle seguenti date: luglio 2009, settembre 2009, novembre 2009, gennaio 2010, marzo 2010, maggio 2010 per i getti nati nella primavera 2009 e cartellinati a luglio 2009. La successiva campagna di misurazione è iniziata a luglio 2010 su 5 nuovi getti nati durante la primavera 2010, scelti con il medesimo criterio sugli stessi individui: su questa nuova generazione sono state condotte lo stesso tipo di misurazioni, nelle seguenti date: luglio 2010, settembre 2010, ottobre 2010, novembre 2010, gennaio 2011, marzo 2011.

Nel 2011 le misure sono state ristrette alla sola lunghezza fogliare, limitando il cartellinamento ad un solo getto per ognuna delle piante tenute sotto osservazione nel 2009 e nel 2010: le misurazioni sono state ripetute nelle date di giugno 2011, luglio 2011, settembre 2011 e novembre 2011.

4.2.3 Calcolo del tasso di crescita relativo dei getti

Il monitoraggio dei getti cartellinati è servito anche per ricavare in maniera non distruttiva i tassi di crescita relativi della biomassa fogliare di tali getti; la biomassa fogliare ad ogni data di campionamento

è stata ottenuta attraverso i seguenti passaggi; per mezzo di una analisi di regressione lineare tra i valori di lunghezza e superficie fogliare (ottenuti dalla misura delle foglie campionate per il calcolo della massa fogliare specifica) è stata ottenuta una correlazione pianta specifica tra lunghezza e superficie fogliare, che ha perciò consentito di stimare la superficie delle foglie del getto; una volta nota la superficie, attraverso i valori di LMA pianta-specifici è stato ricavato il peso secco totale della biomassa fogliare ad ogni data di campionamento. Il tasso di crescita relativo dei getti è stato calcolato per il periodo luglio-marzo per gli anni 2009 e 2010; il dato di biomassa fogliare relativo a marzo comprende anche le foglie cadute .

4.2.4 Morfologia fogliare

I dati di morfologia fogliare sono stati acquisiti in tutte le date del periodo di studio, ad eccezione di gennaio 2011.

Ad ogni occasione di misurazione, è stato raccolto un getto da ognuna delle piante individuate per lo studio della dinamica di accrescimento descritta nel paragrafo precedente: questo era selezionato seguendo un criterio di maggiore somiglianza possibile con i getti cartellinati già presenti, e quindi con i quelli dell'intera pianta; a partire da marzo 2010 il getto scelto è stato utilizzato, prima della raccolta, per le misure di fotosintesi eseguite in campo. Una volta raccolto il getto veniva trattato nel seguente modo: ogni foglia veniva staccata, identificata in modo univoco attraverso una sigla contenente il numero di plot, la lettera corrispondente alla pianta il numero del verticillo occupato sul getto, scannerizzata nella sua conformazione naturale e scannerizzata di nuovo dopo aver disteso manualmente i margini fogliari revoluti (operazione eseguita a partire da giugno 2010), e quindi conservata in frigo fino all'arrivo in laboratorio; qui veniva seccata in stufa a 60 °C fino al raggiungimento del peso costante, pesata e tenuta a disposizione per l'eventuale successiva determinazione del contenuto in azoto e carbonio. Parallelamente le immagini di ciascuna foglia acquisite prima e dopo lo srotolamento dei margini sono state analizzate per mezzo del software SKYELEAF per determinarne la superficie, la lunghezza e la larghezza. La massa fogliare specifica (LMA) espressa in grammi per metro quadrato veniva quindi calcolata per ogni foglia come rapporto tra peso secco e superficie. Dal confronto delle superfici fogliari misurate prima e dopo lo srotolamento dei margini è stata calcolata la percentuale di superficie fogliare compresa nei margini fogliari revoluti.

4.2.5 Contenuto in azoto

Le foglie raccolte nelle campagne di luglio 2009, settembre 2009, novembre 2009, marzo 2010, giugno 2010, settembre 2010 e ottobre 2010 sono state analizzate per la determinazione del contenuto in azoto e carbonio. L'analisi è stata condotta singolarmente su ognuna delle foglie raccolte per mezzo di un analizzatore elementale, (N.C. Soil Analyzer, FlashEA 1112 series, Thermo Electron Corporation, USA), previo essiccamento e omogeneizzazione.

4.2.6 Analisi statistica

Per l'analisi statistica delle differenze tra le medie dei valori dei parametri monitorati è stato utilizzato il software SYSTAT.

Le differenze dei valori delle diverse variabili tra i trattamenti warming e drought e il trattamento control osservate su tutto il periodo di studio, sono state testate tramite analisi della varianza ad una via. La più piccola unità indipendente usata è il valore della variabile mediato per plot ad ognuna delle date di misurazione ($n = 30$ per ogni trattamento). I diversi parametri monitorati sono stati considerati di volta in volta come variabili dipendenti, la data di campionamento e il trattamento come variabili indipendenti. Differenze significative tra trattamenti sono state identificate tramite test di Bonferroni.

Limitatamente ad ognuna delle dieci date di misurazione, le differenze tra trattamenti (control-warming e control-drought, $n = 3$ per ogni trattamento) nei valori delle variabili morfologiche monitorate sono state testate tramite t- test.

4.3 Risultati: plot control

4.3.1 Dinamica di accrescimento dei getti e demografia fogliare

Le osservazioni condotte durante il periodo di studio hanno permesso di fornire una descrizione qualitativa e quantitativa della dinamica di accrescimento dei getti di questa specie, già delineata nei suoi aspetti generali da altri autori (Correia *et al.* 1992): la coorte di foglie estive, derivante dai giovani getti che si sviluppano lateralmente al getto principale nella tarda primavera, detti brachiblasti (Aronne *et al.* 2001), rimane sostanzialmente invariata durante il periodo di aridità, senza che si verifichi emissione di nuove foglie o caduta delle più vecchie (Figura 58c): a questo stadio (Figura 57) il getto

presenta dimensioni ridotte e internodi ravvicinati, con quattro o cinque verticilli fogliari in tutto, con foglie di piccole dimensioni ($0.52 \pm 0.07 \text{ cm}^2$, media dei mesi di luglio 2009 e luglio 2010) (Figura 58l). Al ritorno delle piogge autunnali il getto inizia di nuovo ad accrescersi (Figura 58a); in una prima fase non si ha emissione di nuove foglie, quanto piuttosto l'espansione di quelle estive (Figura 59); solo successivamente l'apice vegetativo comincia a produrre la nuova generazione di foglie (Figura 58c); la porzione di getto che si forma in questa fase è caratterizzata da internodi lunghi, ed è definita dolicoblasto (Aronne *et al.* 2001). Nel tardo autunno e durante l'inverno l'accrescimento continua sia all'apice del getto sia attraverso gemme laterali da cui iniziano a svilupparsi dei nuovi getti inizialmente corti (brachiblasti - Figura 58e); parte di questi brachiblasti, in particolare quelli emessi dalla sezione prossimale del getto che presentano un numero ridotto di foglie (2-4 foglie), muore entro la primavera (Figura 58e); nel frattempo le foglie estive cominciano a cadere. In primavera il getto e i brachiblasti più vecchi smettono di accrescersi e sviluppano un'infiorescenza alla loro estremità, mentre la maggior parte delle foglie del getto, a partire da quelle più prossimali, va incontro a senescenza e cade entro l'estate (Figura 58); i brachiblasti emessi più tardivamente, situati nella parte distale del getto, proseguono invece la crescita fino al sopraggiungere dell'aridità e vanno a costituire la nuova coorte fogliare estiva (Figura 57). Negli individui adulti quasi tutti i getti producono frutti, per cui l'accrescimento della stagione successiva è affidato a questi getti che si sviluppano lateralmente al dolicoblasto: questa dinamica di accrescimento conferisce alla specie la sua tipica forma arrotondata (Aronne *et al.* 2001).

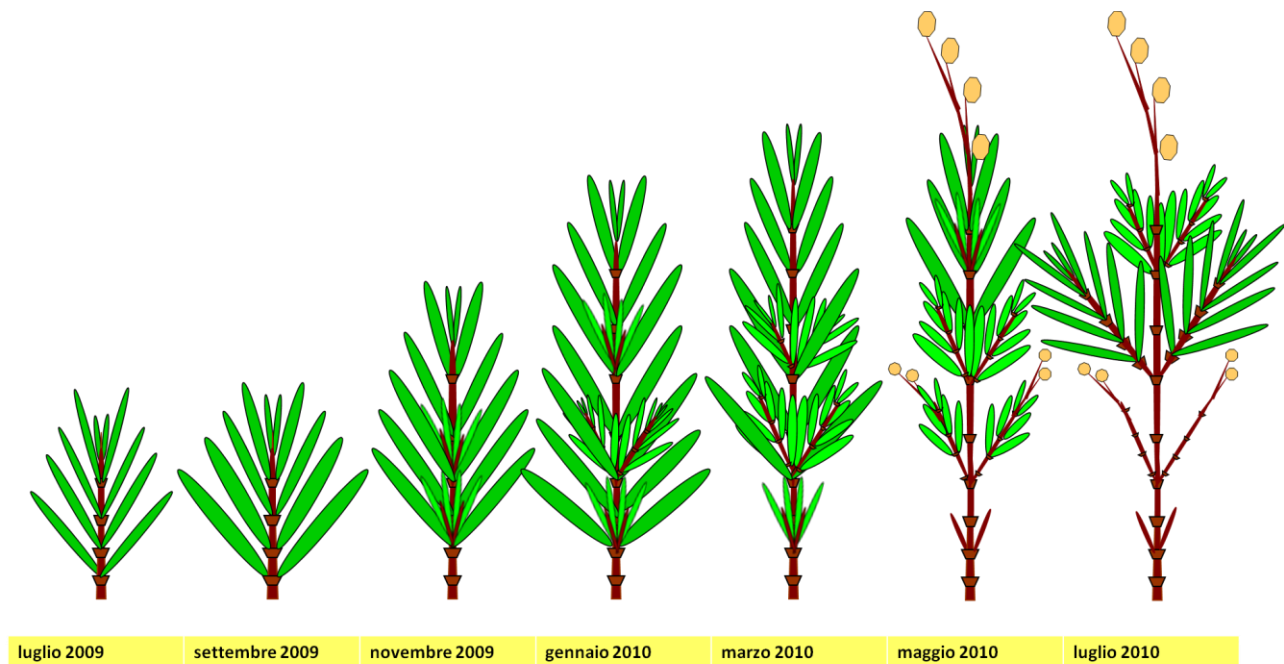


Figura 57. Dinamica di accrescimento dei getti in *C. monspeliensis*.

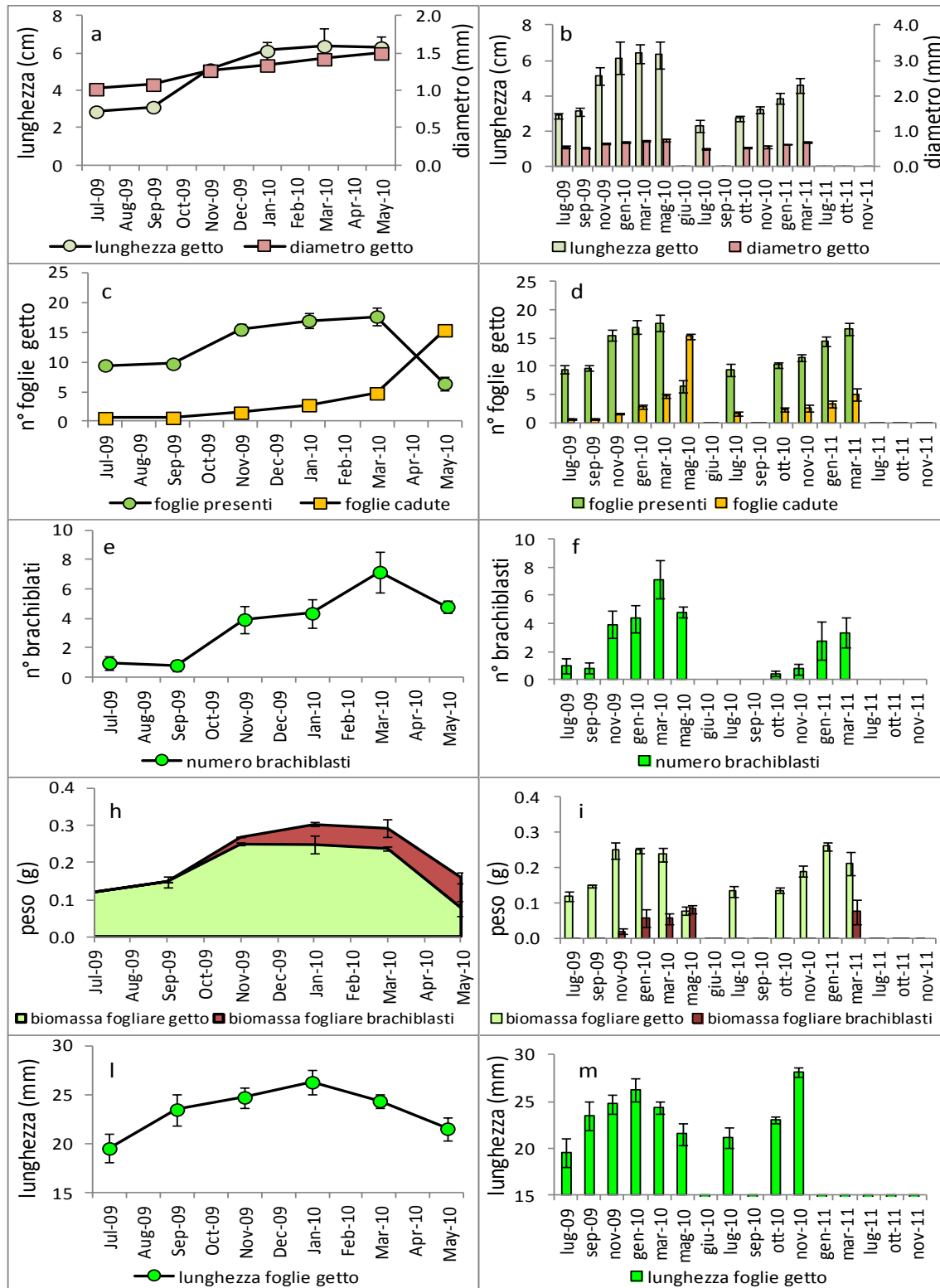


Figura 58. Principali parametri rilevati sui getti monitorati per lo studio della dinamica di accrescimento. Le barre indicano l'errore standard

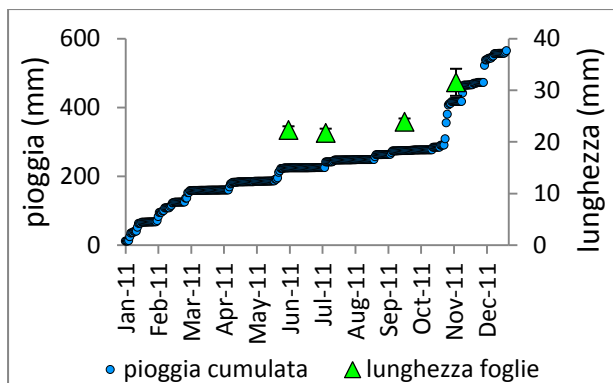


Figura 59. Precipitazioni cumulate e lunghezza fogliare nell'anno 2011. Le barre indicano l'errore standard

4.3.2 Durata della vita fogliare

Essendo noto il periodo di emissione e di abscissione di ognuna delle foglie dei getti monitorati per lo studio della dinamica di accrescimento, è stato possibile calcolare la durata media della vita delle coorti fogliari che si sono avvicendate dall'estate alla primavera: da questa analisi emerge che la tipologia fogliare più longeva è rappresentata dalle foglie dei brachiblasti emessi alla fine della primavera, che andranno a costituire la coorte di foglie estive. Queste foglie rimarranno sulla pianta per tutto il periodo di aridità, cadendo entro l'inizio della primavera. Le foglie emesse dal dolicoblasto durante l'autunno e l'inverno saranno invece perse dell'estate, e così pure quelle emesse prima della fioritura, che hanno perciò una durata di pochi mesi.

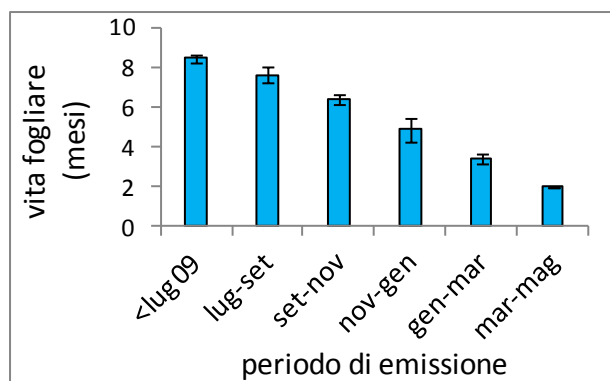


Figura 60. Durata della vita fogliare in relazione al periodo di emissione. Le barre indicano l'errore standard.

4.3.3 Morfologia fogliare

In *C.monspeliensis* la foglia presenta un margine fogliare revoluto, ma il grado di arrotolamento varia nel corso dell'anno, raggiungendo il valore massimo nel corso della stagione arida (Figura 61); a settembre 2010 infatti circa il 12 % della superficie fogliare totale è racchiusa nel margine fogliare, mentre a marzo 2011 il grado di arrotolamento non supera il 6%

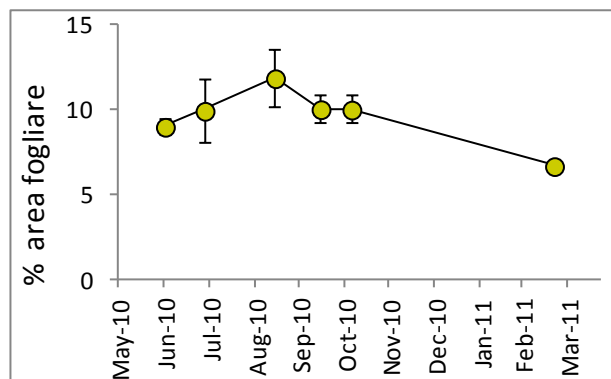


Figura 61. Grado di arrotolamento dei margini fogliari delle foglie dei getti nati nella primavera 2010, espresso come percentuale dell'area fogliare inclusa nei margini revoluti

Anche la massa fogliare specifica media del getto subisce nel corso dell'anno ampie fluttuazioni; i valori massimi sono raggiunti al termine del periodo di aridità, e sono stati misurati a luglio 2009, a settembre 2010 e a ottobre 2011, (282 ± 18 , 253 ± 7 e 234 ± 4 gm^{-2} rispettivamente), nelle date di campionamento antecedenti alla ripresa delle precipitazioni; in seguito alle piogge autunnali l'LMA si riduce rapidamente, con i valori minimi che sono misurati in primavera (Figura 62).

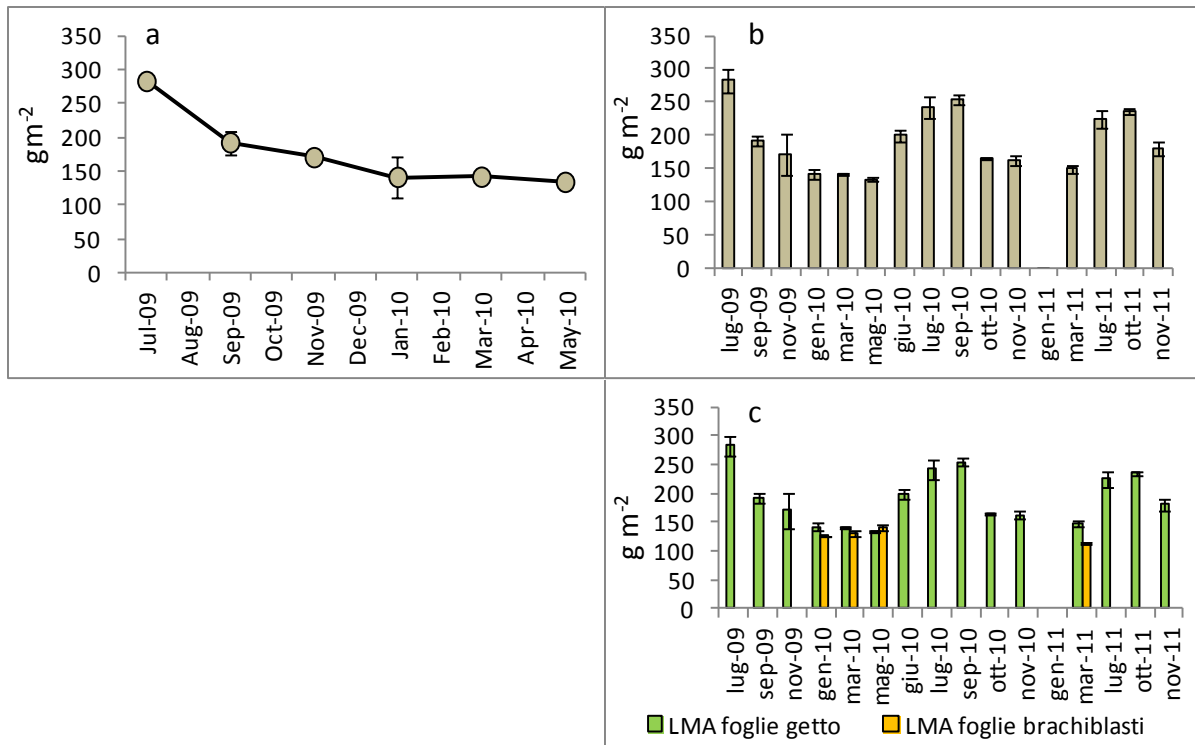


Figura 62. Andamento della massa fogliare specifica (LMA) relativo alla stagione di accrescimento dei getti nati nella primavera 2009 (Figura 62a, valori medi di foglie del getto e di foglie dei brachiblasti) valori misurati nel periodo di studio (Figura 62b, valori medi di foglie del getto e di foglie dei brachiblasti) e valori misurati nel periodo di studio suddivisi nelle due categorie fogliari (Figura 62c).

Riferendosi all'anno 2010, i valori più bassi sono stati misurati a maggio; in questa fase dello sviluppo del getto la biomassa fogliare è ripartita in egual misura tra le foglie portate dalla sezione distale del dolico blasto, sviluppatesi nel corso della primavera, e dalle foglie portate dai nuovi brachiblasti, anch'esse emesse nel periodo primaverile (Figura 58e), entrambe caratterizzate da valori bassi di LMA. Già nel mese di giugno tuttavia la massa fogliare specifica media delle foglie del getto, risulta già considerevolmente maggiore, con un incremento del 58% rispetto a maggio. In questo periodo infatti l'abscissione delle foglie portate dal dolico blasto caratterizzate da bassi valori di LMA risulta pressoché completata, e sulla pianta rimangono soltanto i brachiblasti, le cui foglie subiscono un progressivo incremento dei valori di LMA. Il getto che si è sviluppato nel corso dell'inverno rimane perciò privo di foglie, e i brachiblasti cresciuti su di esso vanno a costituire la nuova generazione di getti; dall'inizio dell'estate quindi i dati di morfologia e fisiologia fogliare vengono acquisiti da questi nuovi getti. La coorte di foglie estive tuttavia non mantiene questa elevata massa fogliare specifica fino al momento dell'abscissione; immediatamente dopo il ritorno delle piogge infatti l'accrescimento delle foglie riprende velocemente, ma l'incremento di superficie non è accompagnato da un incremento di peso

della stessa entità (Figura 63), il che si traduce in una riduzione della massa fogliare specifica. Da notare che le variazioni di peso e superficie descritte in Figura 63, essendo basate su valori mediati su tutte le foglie del getto, possono dipendere anche dalle variazioni di dimensioni fogliari medie del getto dovute alla nascita e alla caduta delle foglie che lo compongono, ma non nella prima fase, da luglio a settembre, periodo in cui non si osserva nessuno dei due processi (Figura 58c).

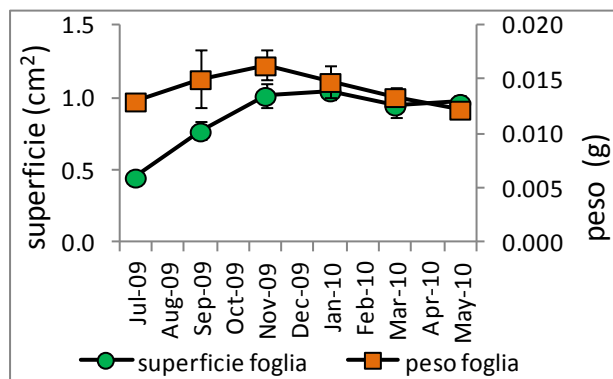


Figura 63. Andamento dei valori di superficie media delle foglie del getto (dati ottenuti dal monitoraggio dei getti cartellinati, valori medi delle foglie del getto) e del peso secco medio delle foglie del getto (dati ottenuti dai getti campionati per le misure di LMA) durante il periodo di sviluppo dei getti nati durante la primavera 2009.

Questo fenomeno è stato osservato in tutti e tre gli anni del periodo di studio, con una riduzione dell’LMA, tra la data di campionamento precedente alla ripresa delle precipitazioni e quella successiva, pari al 32% nel 2009, al 35% nel 2010 e al 24% nel 2011

4.3.4 Contenuto in azoto e carbonio

Anche se il contenuto in azoto e in carbonio delle foglie non è stato determinato su tutti i campioni raccolti, i dati disponibili coprono la maggior parte degli stadi fenologici osservati durante il periodo di studio (Figura 64); i valori minori di azoto fogliare espresso come percentuale del peso secco sono stati misurati sulla coorte di foglie estive, a luglio nell’anno 2009 ($1.27 \pm 0.02 \text{ gg}^{-1}$) e a giugno nell’anno 2010 ($1.19 \pm 0.03 \text{ gg}^{-1}$), mentre più elevati sono stati osservati in autunno, a novembre 2009 ($1.57 \pm 0.06 \text{ gg}^{-1}$) e in primavera, a marzo 2010 ($1.46 \pm 0.04 \text{ gg}^{-1}$). Il contenuto di azoto espresso per superficie fogliare mostra invece un andamento opposto, con i valori più elevati registrati in estate, prima della ripresa

delle precipitazioni ($3.58 \pm 0.3 \text{ g m}^{-2}$ e $3.12 \pm 0.4 \text{ g m}^{-2}$, rispettivamente a luglio 2009 e settembre 2010) ed una progressiva riduzione in autunno e in primavera, con i valori minori registrati a marzo 2010 ($2.04 \pm 0.1 \text{ g m}^{-2}$). La percentuale del peso secco fogliare rappresentata da carbonio è rimasta invece costante durante il periodo di studio con un valore medio pari a $50 \pm 1.4 \text{ g g}^{-1}$, mentre esprimendo il contenuto dello stesso elemento per superficie si manifesta una variabilità molto maggiore, con i valori massimi registrati in estate ($144 \pm 9 \text{ g m}^{-2}$ e $132 \pm 10 \text{ g m}^{-2}$, rispettivamente a luglio 2009 e settembre 2010) e i valori minimi osservati in primavera ($69 \pm 1.2 \text{ g m}^{-2}$)

Il rapporto carbonio azoto raggiunge i valori più elevati nel periodo di massima aridità, a luglio 2009 e a settembre 2010, con i valori più bassi misurati invece in autunno e in primavera.

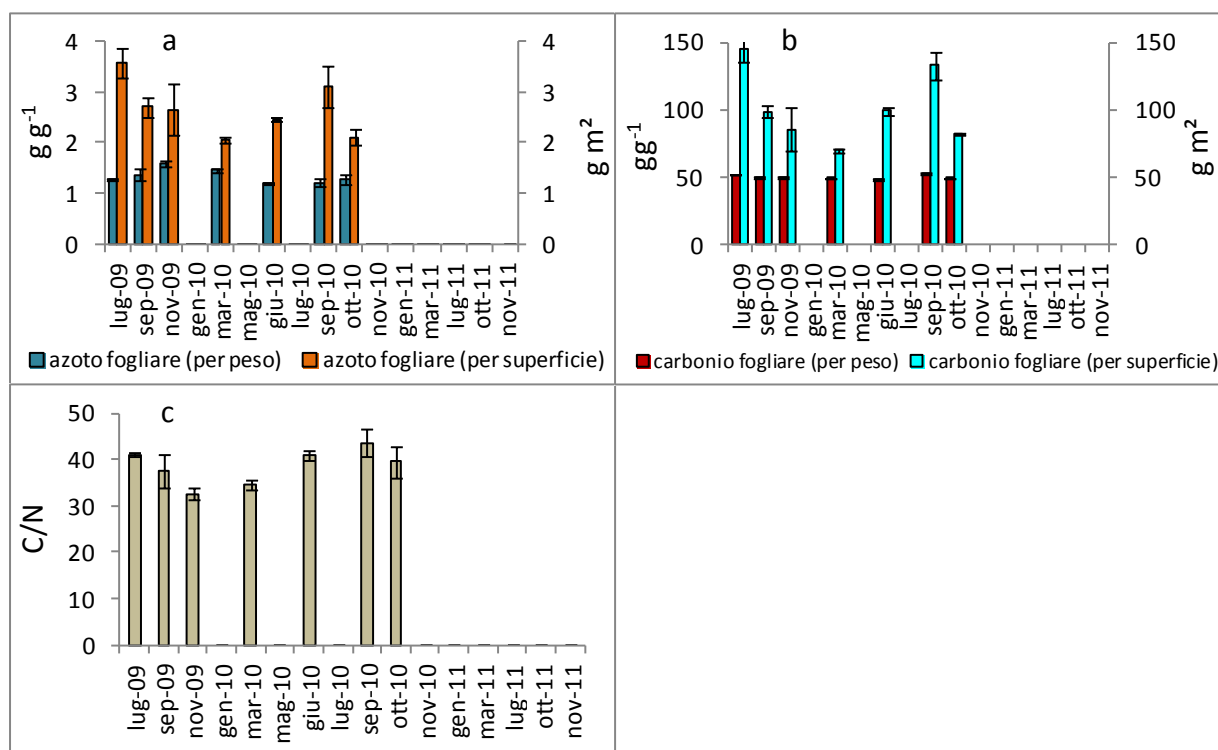


Figura 64. Contenuto in azoto (Figura 64a) e carbonio (Figura 64b) e rapporto C/N (Figura 64c) delle foglie dei getti nel periodo di studio. Le barre indicano l'errore standard.

4.4 Risultati: Trattamento warming

Analizzando i dati a disposizione nel loro insieme, sono emersi degli effetti significativi indotti dal trattamento warming su diversi parametri monitorati (Tabella 18): la dimensione media dei getti monitorati nei plot warming è risultata superiore a quella dei getti nei plot control, sia per lunghezza, che per diametro e biomassa fogliare, mentre la differenza nel numero di foglie portate dal getto non è risultata significativamente diversa; ciò comporta prevedibilmente un incremento delle dimensioni delle foglie presenti, che infatti è stato misurato come differenza significativa della lunghezza fogliare. Per quel che riguarda la massa fogliare specifica, è stato osservata una riduzione nel trattamento warming, accompagnata da un incremento del contenuto in azoto espresso per unità di massa fogliare e da una riduzione del rapporto carbonio azoto

Tabella 18. Valori dei principali parametri misurati nel corso del periodo di studio nei plot control e nei plot warming; ogni dato rappresenta la media dei valori del parametro relativi a tutte le date in cui è stato rilevato; l'errore standard indicato si riferisce alle repliche del trattamento (n=3); * indica $p<0.05$, ** indica $p<0.01$

	control	warming
Lunghezza foglie (mm)	23.6±1.0 **	25.5±1.3 **
Diametro getto (mm)	1.2±0.1 **	1.3±0.1 **
Foglie per getto (n)	12.5±1.2	13.2±1.2
Biomassa fogliare per getto (g)	0.23±0.03 **	0.31±0.05 **
Lunghezza foglie (mm)	23.6±1.0 **	25.5±1.3 **
Vita fogliare media (mesi)	5.5±1.4	5.5±1.4
Arrotolamento margini fogliari (%)	9.8±0.7	9.3±0.9
Massa fogliare specifica (LMA, g m ⁻²)	191±13 *	184±13 *
Contenuto in azoto (g g ⁻¹)	1.3±0.1 **	1.5±0.1 **
Contenuto in carbonio (g g ⁻¹)	50.1±0.5	50.5±0.5
Contenuto in azoto (g m ⁻²)	2.7±0.3	2.7±0.2
Contenuto in carbonio (g m ⁻²)	101.7±10.8	94.9±10.0
Rapporto carbonio azoto	38.5±1.9 **	35.0±1.5 **
Tasso di crescita relativo (g mese ⁻¹)	0.076±0.004	0.082±0.010

4.5 Risultati: trattamento drought

Per via del mancato funzionamento del sistema di intercettazione delle precipitazioni nell'anno 2009, il confronto tra trattamento control e trattamento drought è stato limitato alle date di misura coincidenti con il funzionamento del sistema di intercettazione delle piogge, cioè a quelle comprese tra maggio 2010 e novembre 2011. L'analisi complessiva di questi dati non ha evidenziato differenze significative indotte dal trattamento sui parametri monitorati, se non un maggiore grado di convoluzione dei margini fogliari (Figura 65b); tuttavia, pur non avendo indotto modificazioni persistenti a carico della morfologia del getto e della foglia, esso ha tuttavia prodotto effetti misurabili a seguito dell'intercettazione delle prime piogge autunnali; la data di campionamento di ottobre 2010, condotta 10 giorni dopo una precipitazione di 50 mm giunta a seguito di un lungo periodo di aridità (5 mm di precipitazioni nei tre mesi precedenti), ha permesso di definire l'effetto di un effettivo prolungamento del periodo di aridità. Infatti a fronte dell'immediata ripresa dell'attività vegetativa nel plot control, nei plot drought la riduzione della massa fogliare specifica, così come dello srotolamento dei margini fogliari, si è potuta realizzare completamente solo nelle settimane successive, quando le abbondanti piogge hanno riportato i valori di contenuto idrico relativo del suolo dei plot drought ai livelli dei plot control. Già alla data di novembre 2010, infatti, nei due trattamenti non erano più osservabili differenze a carico di questi parametri (Figura 65).

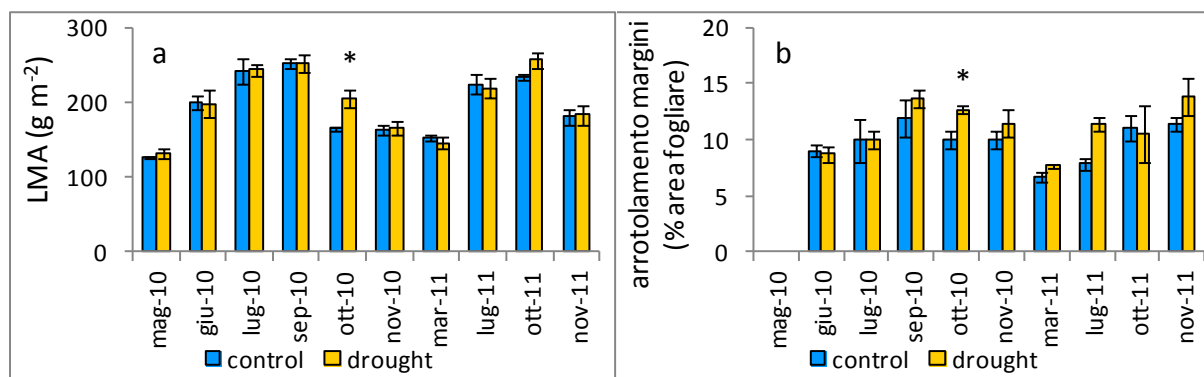


Figura 65. Valori di massa fogliare specifica (LMA) e grado di arrotondamento dei margini fogliari (espresso come percentuale dell'area fogliare inclusa nei margini revoluti) nel periodo maggio 2010 - novembre 2011. Le barre indicano l'errore standard. * indica $p < 0.05$.

Il prolungamento della stagione arida ha inoltre ritardato anche l'emissione di nuove foglie dall'apice dei getti estivi, come evidenziato dalle distribuzioni di frequenza delle classi di età fogliari relative alle date di ottobre 2010 e novembre 2010 (Figura 66). Si può infatti notare come la distribuzione relativa ai plot control presenti un numero di osservazioni maggiori nelle prime classi di età rispetto ai plot drought, a indicare una ripresa tardiva dell'emissione di nuove foglie.

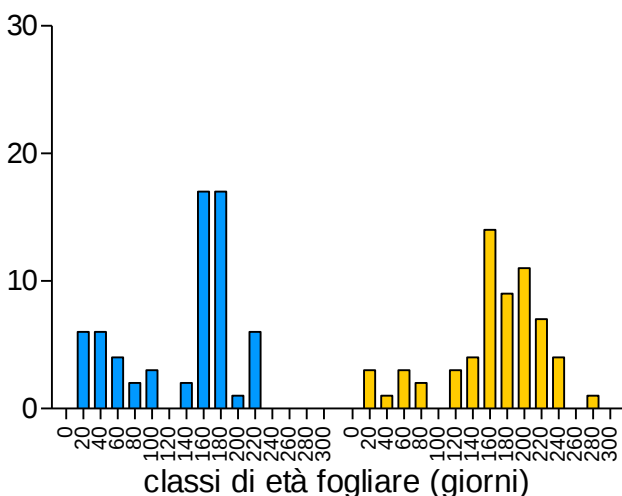


Figura 66. Distribuzione di frequenza delle classi di età fogliare delle foglie che compongono i getti monitorati per lo studio della dinamica di accrescimento dei getti, relativa alla data di novembre 2010 nei plot control e drought; ogni osservazione si riferisce all'età di un verticillo fogliare del getto. Il numero di osservazioni totali per ogni trattamento corrisponde al numero medio di verticilli registrato su ogni pianta monitorata (valore derivato dal monitoraggio di 5 getti) moltiplicato per le 9 piante oggetto delle osservazioni

Infine il tasso di crescita relativo della biomassa fogliare calcolato per il periodo luglio 2010 – marzo 2011 risulta del 37% inferiore nel trattamento drought rispetto ai plot control, ma tale differenza non risulta statisticamente significativa.

4.6 Discussione

4.6.1 Plot control

Le fluttuazioni del valore di LMA medio del getto osservate nel corso dell'anno possono essere messe in relazione all'avvicendamento di tipologie fogliari con caratteristiche differenti tramite cui si manifesta l'habitus semideciduo di questa specie. In primavera, entrambe le tipologie fogliari presenti sul getto (foglie dei nuovi brachiblasti e foglie dei dolicoblasti) presentano bassi valori di massa fogliare specifica; nel caso delle foglie dei nuovi brachiblasti questo carattere morfologico può dipendere dall'ontogenesi non ancora completata, mentre per le foglie del dolicoblasto va messa in relazione alla strategia adattativa propria a questa specie, tesa a massimizzare l'acquisizione di carbonio durante la stagione favorevole; bassi valori di LMA corrispondono infatti ad una maggiore quantità di luce intercettata per unità di massa (Wright *et al.* 2001; Gratani *et al.* 2006b), ed una minore resistenza alla diffusione della CO₂ dagli stomi al cloroplasto (Flexas *et al.* 2008). In aggiunta a ciò, il basso valore di LMA registrato sulle foglie primaverili si coniuga bene con la loro limitata durata, (Figura 60) in accordo alla generale relazione positiva tra LMA e durata della vita fogliare, ampiamente verificata su dataset multi specifici indipendenti (Reich *et al.* 1992; Wright *et al.* 2004a). La massa fogliare specifica riflette infatti la quantità di carbonio e nutrienti investita per unità di superficie, e la lunghezza della vita fogliare la durata della rendita, in termini di prodotti della fotosintesi, di questo investimento (Wright *et al.* 2004).

Al sopraggiungere dell'estate infatti la coorte di foglie primaverili va incontro a senescenza ed abscissione, riducendo in questo modo la superficie traspirante della pianta in vista dell'aridità (Correia *et al.* 1992; Werner *et al.* 1999; de Micco *et al.* 2009), e cede il passo ad una nuova tipologia fogliare, caratterizzata da un maggiore grado di sclerofillia, con minori dimensioni, maggiore grado di arrotolamento dei margini fogliari e massa fogliare specifica più elevata.

Le ridotte dimensioni (inferiori del 25% rispetto al valore medio del periodo autunno-primavera, Figura 58m) (Aronne *et al.* 2001) contribuiscono alla termoregolazione della foglia quando, nel corso del periodo di aridità, la perdita di calore attraverso la traspirazione è fortemente ridotta; in queste circostanze, specie quando l'effetto di convezione forzata dovuta al vento viene meno, le foglie più piccole possono scambiare più facilmente calore con l'atmosfera per convezione e conduzione, evitando così l'insorgere di temperature letali (Park S. Nobel, 2005; Yates *et al.* 2010).

Anche l'arrotolamento dei margini fogliari è un diffuso meccanismo di risposta all'aridità, in quanto riduce l'area fogliare effettivamente esposta alla radiazione solare, contribuendo a evitare il surriscaldamento della foglia (Kyparissis *et al.* 1993), a ridurre la traspirazione (Renard *et al.* 1983) e a proteggere l'apparato fotosintetico durante l'aridità estiva, quando la forte irradianza si accompagna ad una ridotta disponibilità idrica (Kadioglu *et al.* 2012).

Come le ridotte dimensioni l'arrotolamento dei margini fogliari, anche l'elevato LMA raggiunto in estate contribuisce al mantenimento della funzionalità della foglia nel periodo di aridità, e in questa specie ha pure un ruolo nella ripresa vegetativa autunnale, come verrà descritto più avanti.

La massa fogliare specifica delle foglie estive ($253 \pm 13 \text{ gm}^{-2}$, media dei valori massimi registrati in ognuno dei 3 anni di studio) è risultata superiore del 60 % a quella osservata nel periodo autunno primavera; questo valore rientra nell'ambito tipico delle specie sclerofille della macchia mediterranea, e sebbene risulti superiore a quello registrato su altre specie dello stesso genere (Gratani *et al.* 2006), è in accordo con i valori misurati su *C. monspeliensis* pubblicati da (Correia O.A. *et al.* 1992). Va innanzitutto specificato che al raggiungimento di una così elevata massa specifica concorre in parte l'arrotolamento dei margini fogliari, che a parità di massa riduce la superficie apparente della foglia; le misure della superficie fogliare sono state eseguite sulla foglia sia nella forma reale che presentava al momento del campionamento, sia dopo aver srotolato manualmente i margini fogliari fino a portarli al grado minimo di convoluzione. Nel periodo di massima aridità la massa fogliare specifica reale ottenuta introducendo nel calcolo questa superficie srotolata è risultata del $10.2 \pm 0.3 \%$ inferiore a quella "apparente" calcolata senza questo accorgimento. Esclusa questa componente, il comunque notevole incremento della massa fogliare specifica osservato dalla primavera all'estate può probabilmente essere ricondotto ad un incremento di densità della foglia, piuttosto che del suo spessore. Quando l'incremento di LMA è guidato da un incremento dello spessore, si osserva infatti una relazione positiva tra LMA e fotosintesi espressa per unità di superficie, mentre al contrario quando l'incremento di LMA dipende da un incremento della densità fogliare, la relazione tra LMA e fotosintesi espressa per unità di peso risulta negativa (Niinemets, 1999). L'incremento di densità fogliare comporta infatti una riduzione dei tessuti fotosintetici in favore di un aumento dei componenti strutturali della foglia, nonché modificazioni dell'anatomia fogliare che possono indurre un incremento della resistenza alla diffusione intercellulare dell'anidride carbonica (Niinemets, 1999). L'analisi di regressione, condotta sui dati di fotosintesi e massa fogliare specifica raccolti nel periodo di studio, indica una buona correlazione ($R^2 = 0.79$) negativa tra fotosintesi espressa per unità di massa e LMA (Figura 67a), ed una correlazione minore ($R^2 = 0.31$), sempre comunque negativa, tra fotosintesi per unità di superficie ed LMA (Figura 67b). Per escludere che in corrispondenza di elevati valori di LMA, che si misurano in estate, la

riduzione della fotosintesi dipendesse da limitazioni stomatiche, l'analisi è stata condotta anche sui valori di fotosintesi misurati su getti staccati dalla pianta e lasciati reidratare per una notte (vedi metodologia Capitolo 3), processo che ripristinava elevati valori di conduttanza stomatica. Anche su questi dati l'analisi di regressione ha fornito risultati simili, avvalorando così l'ipotesi di un incremento di LMA guidato da un incremento della densità fogliare.

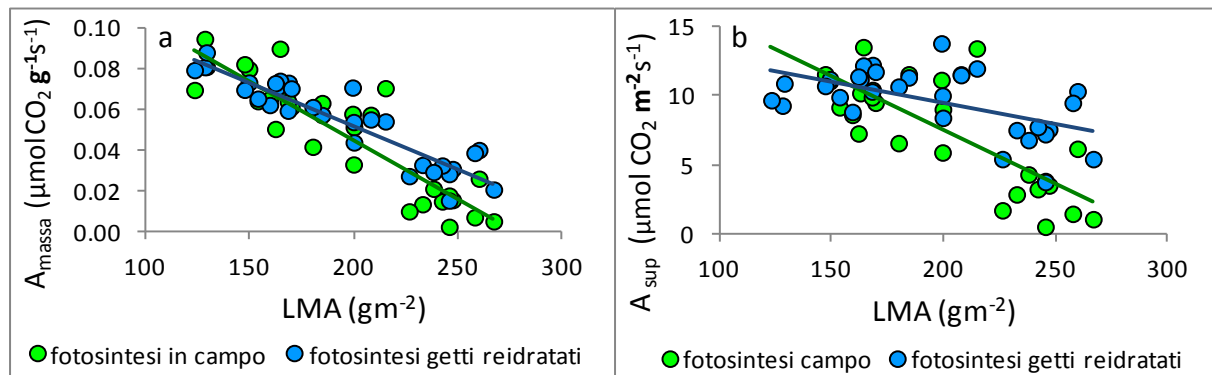


Figura 67. Relazione tra fotosintesi netta espressa per unità di massa fogliare (A_{peso}) e LMA (Figura 67a), e relazione tra fotosintesi espressa per unità di superficie (A_{sup}) e LMA (Figura 67b) nel periodo compreso tra maggio 2010 e novembre 2011. Ogni punto rappresenta il valore medio degli individui di un plot ad una data di misura. Per ogni plot, sono mostrati sia i valori di fotosintesi misurati in campo nelle condizioni ambientali reali, sia i valori di fotosintesi misurati su getti reidratati in condizioni standard (PAR = 1500, T = 25°C)

In accordo con l'ipotesi di un incremento di LMA legato ad un incremento di densità fogliare, la massa fogliare specifica risulta debolmente ($R^2 = 0.17$) e negativamente correlata con il contenuto in azoto per unità di massa fogliare, e positivamente correlata ($R^2 = 0.56$) con il contenuto in carbonio (Figura 68);

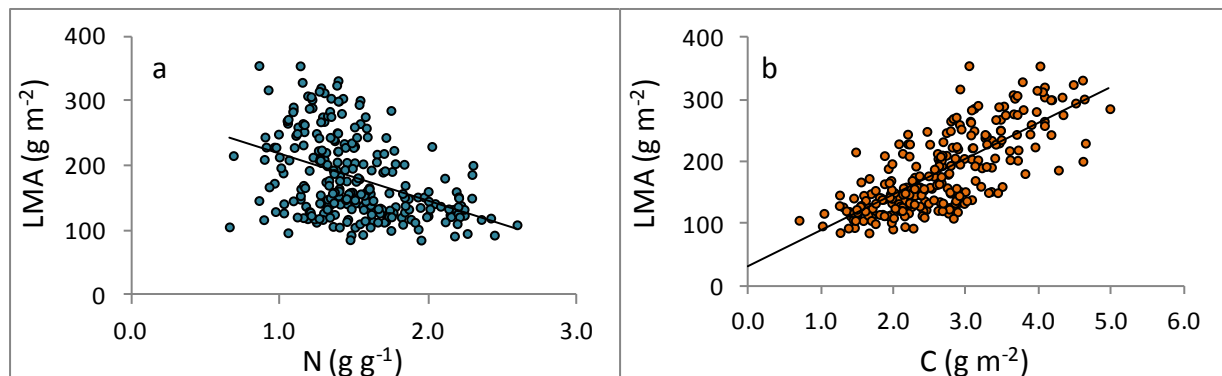


Figura 68. LMA come funzione del contenuto in azoto e carbonio fogliari espressi per unità di peso. Ogni punto rappresenta il dato relativo ad una singola foglia.

Nella stagione arida questa specie presenta quindi una serie di adattamenti atti a migliorare il controllo della traspirazione e ridurre i danni da surriscaldamento e i processi di fotoinibizione, che consentono il mantenimento di una coorte di foglie fotosinteticamente attiva per tutto il periodo di carenza idrica; l'acquisizione di una elevata densità da parte delle foglie può essere inoltre considerata funzionale al processo di espansione della lamina fogliare che si realizzerà nella stagione autunnale.

Tuttavia, come già discusso nel Capitolo 2, il vantaggio maggiore fornito dal mantenimento di foglie fisiologicamente attive in estate potrebbe non essere la modesta acquisizione di carbonio realizzata in aridità, quanto piuttosto risiedere nella possibilità di esprimere elevati tassi di fotosintesi non appena le piogge autunnali abbiano ripristinato un adeguato contenuto idrico del suolo (Ackerly, 2004). In questa ottica la riduzione di LMA cui va incontro la coorte di foglie estive immediatamente dopo le prime piogge può essere vista come mezzo per ritornare velocemente dallo stato sclerofillo a quello malacofillo, caratterizzato da una maggiore capacità fotosintetica. Questo risultato non è tuttavia conseguito attraverso l'emissione di nuove foglie, come descritto nei precedenti studi sul genere *Cistus*, quanto piuttosto attraverso l'espansione di quelle mantenute in estate.

Il processo alla base della ripresa dell'accrescimento di una foglia apparentemente ben strutturata, che durante l'estate non subisce variazioni di dimensioni (Figura 59), rimane tuttavia da spiegare. Durante questo processo il contenuto in azoto espresso per unità di massa fogliare rimane pressoché invariato, mentre il contenuto di azoto espresso per unità di superficie fogliare si riduce di circa il 30%. (Figura 64a). La riduzione dell'azoto espresso per unità di superficie fogliare fa pensare che la ricrescita autunnale delle foglie sia basata su di un processo di espansione delle cellule che costituiscono le foglie estive ad elevata densità, più che di crescita di cellule nuove. D'altra parte l'estensibilità della parete cellulare a cui è legata l'accrescimento delle cellule durante il loro sviluppo viene normalmente persa al termine della maturazione cellulare (Cosgrove, 1997), per cui bisognerebbe ipotizzare il mantenimento, da parte delle cellule delle foglie estive, di una parete elastica fino alla definitiva espansione autunnale.

Una spiegazione alternativa potrebbe risiedere nella presenza di una particolare tipologia cellulare, le cosiddette cellule a "concertina" (Curtis *et al.* 1996), descritte in due specie di arbusti sudafricani, ossia cellule del parenchima a palizzata dotate di parete cellulare strutturata in pieghe, capaci di modificare la loro lunghezza e il loro volume senza perdere la connessione con le cellule vicine; grazie a queste cellule le foglie sono in grado di immagazzinare acqua aumentando di spessore durante le piogge che possono occasionalmente interrompere il periodo arido, riacquisendo poi reversibilmente la loro conformazione ripiegata. L'osservazione di cellule simili, dotate di pareti cellulari involute, in *Cistus incanus* L. (Aronne *et al.* 2001), potrebbe perciò suggerire la presenza di un tale meccanismo anche in *C. monspeliensis*.

4.6.2 Trattamento warming

Molte delle modificazioni indotte dal trattamento warming, possono essere ricondotte ad una maggiore fertilità del suolo. L'incremento in dimensioni fogliari, ad esempio, può essere spiegato sulla base della concentrazioni di nutrienti nel suolo, in quanto una relazione positiva tra fertilità e dimensioni delle foglie è stata individuata sia in esperimenti di fertilizzazione (Jassal *et al.* 2010) che in seguito all'analisi di database multi specifici (McDonald *et al.* 2003). Ricerche precedenti su *Vaccinium myrtillus* L. sottoposto allo stesso genere di manipolazione climatica non hanno tuttavia evidenziato effetti sulla dimensione delle foglie (Llorens *et al.* 2002)

L'ipotesi di una maggiore disponibilità di nutrienti nel suolo trova conferma in uno studio sui tassi di mineralizzazione condotta precedentemente sullo steso sito, che ha infatti individuato, limitatamente al periodo autunnale, un incremento dei tassi di nitrificazione e di mineralizzazione dell'azoto nel trattamento warming (de Dato, 2003); è perciò possibile che l'aumento delle temperature indotto dal riscaldamento passivo notturno eserciti un effetto indiretto sulla vegetazione, mediato appunto da una stimolazione dell'attività microbica (Rustad *et al.* 2001; Melillo *et al.* 2002; Sowerby *et al.* 2005a) e dal conseguente rilascio dei nutrienti contenuti nella materia organica del suolo..

D'altra parte anche l'LMA è un carattere che può relazionarsi negativamente con il contenuto di azoto (Wright *et al.* 2004; Hodgson *et al.* 2011); elevati valori di LMA possono infatti essere messi in relazione non solo con il bisogno della pianta di far fronte a condizioni ambientali difficili attraverso la costruzione di foglie ricche in componenti strutturali, ma anche con la necessità di incrementare la durata della vita fogliare in condizioni in cui la limitata disponibilità di nutrienti richieda che un lungo periodo di rendita fotosintetica ripaghi l'investimento fatto (Reich *et al.* 1998).

4.6.3 Trattamento drought

Dal punto di vista morfologico, l'intercettazione delle precipitazioni non sembra aver prodotto risultati significativi, se non a carico del grado di convoluzione dei margini fogliari, che si configura perciò come la prima linea di difesa messa in atto da questa specie in risposta all'aridità: nel periodo autunnale è stato registrato l'evidente effetto dell'intercettazione delle prime piogge cadute dopo la stagione arida, che ha provocato un ritardo nell'espansione fogliare autunnale. Il mancato recupero dei tassi di fotosintesi in conseguenza di questo prolungamento del periodo arido va perciò anche messo in relazione all'incapacità della foglia di riacquisire la sua morfologia autunnale ad elevata capacità

fotosintetica, e in questo mancato periodo di intensa acquisizione di carbonio va probabilmente ricercata la riduzione, seppure non significativa, dei tassi di crescita relativa della biomassa fogliare osservata nei plot drought, in linea con osservazioni precedenti relative alla sola lunghezza dei getti condotte sullo stesso sito (de Dato *et al.* 2008).

Conclusioni

Lo studio condotto sulle tre principali specie del sito sperimentale ha in primo luogo fornito informazioni sulla capacità fotosintetica di *D. pentaphyllum* e *H. italicum*, specie finora ancora non descritte, per quanto noto, dal punto di vista ecofisiologico, e dato alcune importanti indicazioni sulla morfologia e sulla fisiologia fogliare di *C. monspeliensis*, specie molto diffusa, e caratterizzata da una varietà di adattamenti al clima arido ancora non molto studiati.

L'analisi dell'andamento dell'attività fotosintetica nel periodo che va dalla primavera all'autunno ha rivelato, nelle specie esaminate, una differente capacità di mantenere una assimilazione fotosintetica continua durante l'aridità, ed anche una diversa attitudine a sostenere tassi di fotosintesi elevati nella stagione autunnale. Dai dati raccolti nel corso di due stagioni, l'apparato radicale profondo di *D. pentaphyllum* sembra essere il carattere in grado di discriminare tra la capacità di limitare la depressione estiva della fotosintesi propria a questa specie e la forte riduzione di questo parametro manifestata da *C. monspeliensis* e *H. italicum*, dotate invece di apparati radicali più superficiali. Tra queste due specie, *C. monspeliensis* si distingue tuttavia per il recupero dell'intera capacità fotosintetica espressa in primavera, che si realizza non appena le precipitazioni autunnali abbiano ripristinato il contenuto idrico del suolo, con *H. italicum* che presenta invece un recupero autunnale più limitato. Il trattamento drought non ha modificato l'attività fotosintetica in *D. pentaphyllum*, causando solo un ritardo nel recupero autunnale in *C. monspeliensis*, mentre ha determinato una depressione dei valori di fotosintesi e di conduttanza stomatica in *H. italicum*, modificando significativamente la sua capacità di sfruttare il periodo autunnale per l'accrescimento. Si può perciò ipotizzare che questa specie potrebbe, in un clima futuro caratterizzato da una maggiore durata del periodo arido, perdere parte della sua capacità competitiva nei confronti delle specie coesistenti, determinando quindi una alterazione della comunità vegetale e della sua capacità di sequestro del carbonio. Il trattamento warming non ha invece indotto la comparsa di alterazioni significative a carico degli scambi gassosi, se non una certa stimolazione dell'attività fotosintetica limitata ad un periodo dell'anno in *C. monspeliensis*.

Per quanto riguarda la specie dominante dell'area sperimentale, la riduzione dei tassi di fotosintesi osservata in aridità sembra essere il risultato della combinazione di un efficace controllo stomatico della traspirazione, dimostrato dalla prevalenza delle limitazioni stomatiche alla fotosintesi anche al culmine dell'aridità estiva, di una sottoregolazione della capacità fotosintetica e di meccanismi messi in atto dalla foglia per evitare danni fotoossidativi all'apparato fotosintetico.

L'integrazione dei dati di demografia, morfologia e fisiologia fogliare ha permesso inoltre di identificare come uno dei fattori in grado di spiegare la riduzione della fotosintesi in aridità la sostituzione della coorte fogliare mesomorfa ad alta capacità fotosintetica presente in primavera, con quella più xeromorfa osservata in estate, incapace di sostenere tassi di fotosintesi elevati, ma in grado di resistere alle difficili condizioni ambientali estive tipiche del clima mediterraneo. Tale analisi integrata ha inoltre permesso di individuare un carattere dall'importante significato adattativo, quale la transizione, modulata dalle precipitazioni autunnali, della coorte fogliare estiva da un habitus sclerofillo ad uno più mesomorfo. Questa capacità, per quanto noto non descritta in specie mediterranee, delle foglie estive di incrementare progressivamente la propria massa fogliare specifica all'intensificarsi dell'aridità, e di ridurla al sopraggiungere delle piogge, consente a questa specie di esplorare, con un ridotto investimento in termini di carbonio, l'intero spettro di condizioni ambientali che caratterizzano la stagione estiva e autunnale, e si configura come un adattamento in grado di fornire un significativo vantaggio nei confronti dell'inasprimento del clima. La rapidità nel riprendere la fotosintesi al termine del periodo di aridità consentirebbe infatti a questa specie di sfruttare al meglio la ristretta finestra di condizioni ambientali molto favorevoli alla crescita offerte dall'autunno mediterraneo, anche nel caso in cui un prolungarsi dell'aridità ne limitasse ulteriormente la durata. Infatti, l'esclusione delle precipitazioni autunnali attuata dal sistema di manipolazione climatica, ha ritardato, ma non compromesso, questa peculiare capacità di ripresa vegetativa.

D'altra parte questa specie ha dimostrato una certa adattabilità anche alla riduzione delle piogge primaverili simulata dal trattamento drought, che sembra aver indotto un fenomeno di acclimatazione alla minore disponibilità idrica, manifestando complessivamente una grande varietà di adattamenti al clima mediterraneo.

Per quanto riguarda il riscaldamento notturno, a dispetto della riduzione del contenuto idrico relativo del suolo provocata nel corso del periodo di studio, sembra aver avuto un effetto sostanzialmente positivo su *C. monspeliensis*, determinando una generale stimolazione della capacità fotosintetica e dell'attività vegetativa, con la formazione di getti e foglie più grandi e dotate di una minore massa

specifica, effetti da mettere forse in relazione ad una maggiore disponibilità di azoto nel suolo. La risposta positiva dei tassi di mineralizzazione dell'azoto all'incremento di temperatura, in assenza di limitazioni idriche, è infatti riportata in molti degli esperimenti di manipolazione climatica attualmente in funzione, compreso quello oggetto dello studio, e potrebbe presentare un fattore in grado di compensare le limitazioni alla crescita imposte dalla concomitante riduzione delle precipitazioni, anche in relazione all'incremento di concentrazione di anidride carbonica nell'atmosfera. La comprensione dell'esatta dinamica dell'interazione tra riscaldamento del suolo, ciclo dei nutrienti e risposte fisiologiche e morfologiche delle specie esaminate rimane comunque ancora ampiamente incompleta, e lascia aperto il campo a future e più accurate indagini.

Bibliografia

Ackerly D(2004) Functional strategies of chaparral shrubs in relation to seasonal water deficit and disturbance. *Ecological Monographs* **74** 25-44.

Alegre J, Toledo JL, Martínez A, Mora O, De Andrés EF(1998) Rooting ability of *Dorycnium* spp. under different conditions. *Scientia Horticulturae* **76** 123-129.

Aronne G, de Micco V(2001) Seasonal dimorphism in the Mediterranean *Cistus incanus* L. subsp. *incanus*. *Annals of Botany* **87** 789-794.

Beier C, Emmett BA, Penuelas J, Schmidt IK, Tietema A, Estiarte M, Gundersen P, Llorens L, Riis-nielsen T, Sowerby A, Gorissen A(2008) Carbon and nitrogen cycles in European ecosystems respond differently to global warming. *Science of the Total Environment* **407** 692-697.

Beier C, Schmidt IK, Kristensen HL(2004) Effects of climate and ecosystem disturbances on biogeochemical cycling in a semi-natural terrestrial ecosystem. *Water, Air, and Soil Pollution: Focus* **4** 191-206.

Borghetti M, Magnani F, Fabrizio A, Saracino A(2004) Facing drought in a Mediterranean post-fire community: Tissue water relations in species with different life traits. *Acta Oecologica* **25** 67-72.

Boyer JS(1982) Plant Productivity and Environment. *Science* **218** 443-448.

Castillo JM, Rubio Casal AE, Luque CJ, Luque T, Figueroa ME(2002) Comparative field summer stress of three tree species co-occurring in Mediterranean coastal dunes. *Photosynthetica* **40** 49-56.

Chaves MM, Pereira JS, Maroco J, Rodrigues ML, Ricardo CPP, Osório ML, Carvalho I, Faria T, Pinheiro C(2002) How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and growth. *Annals of Botany* **89** 907-916.

Correia O.A., Martins A.C., Catarino F.M.(1992) Comparative phenology and seasonal foliar nitrogen variation in mediterranean species of Portugal. *Ecologia Mediterranea* **18** 7-18.

Correia OA, Martins AC, Catarino FM(1992) Comparative phenology and seasonal foliar nitrogen in mediterranean species of Portugal. *Ecologia Mediterranea*.

Cosgrove DJ(1997) Relaxation in a high-stress environment: The molecular bases of extensible cell walls and cell enlargement. *Plant Cell* **9** 1031-1041.

Curtis JD, Lersten NR, Lewis GP(1996) Leaf anatomy, emphasizing unusual 'concertina' mesophyll cells, of two east African legumes (Caesalpinieae, caesalpinioideae, leguminosae). *Annals of Botany* **78** 55-59.

Damgaard C, Riis-nielsen T, Schmidt IK(2009) Estimating plant competition coefficients and predicting community dynamics from non-destructive pin-point data: A case study with *Calluna vulgaris* and *Deschampsia flexuosa*. *Plant Ecology* **201** 687-697.

Davis SD, Mooney HA(1986) Tissue water relations of four co-occurring chaparral shrubs. *Oecologia* **70** 527-535.

de Angelis P, de Dato G, Spano D, Duce P, Sirca C, Asunis C, Pellizzaro G, Cesaraccio C, Sechi S, Scarascia Mugnozza G(2005) Una nuova area sperimentale di lungo termine, per lo studio degli effetti dell'incremento della temperatura e del periodo di aridità in formazioni di sclerofille mediterranee. *iForest - Biogeosciences and Forestry* **2** 37-51.

de Dato G(2003) Effetti dei cambiamenti climatici sulla vegetazione arbustiva mediterranea: risultati della manipolazione ambientale nell'area sperimentale di Porto Conte (SS). Università degli Studi della Toscana. Ref Type: Thesis/Dissertation

de Dato G, Pellizzaro G, Cesaraccio C, Sirca C, de Angelis P, Duce P, Spano D, Scarascia Mugnozza G(2008) Effects of warmer and drier climate conditions on plant composition and biomass production in a Mediterranean shrubland community. *iForest - Biogeosciences and Forestry* **1** 39-48.

De Lillis M, Fontanella A(1992) Comparative phenology and growth in different species of the Mediterranean maquis of central Italy. *Vegetatio* **99-100** 83-96.

de Micco V, Aronne G(2009) Seasonal dimorphism in wood anatomy of the Mediterranean *Cistus incanus* L. subsp. *incanus*. *Trees - Structure and Function* **23** 981-989.

Emmett BA, Beier C, Estiarte M, Tietema A, Kristensen HL, Williams D, Peralta J, Schmidt I, Sowerby A(2004) The response of soil processes to climate change: Results from manipulation studies of shrublands across an environmental gradient. *Ecosystems* **7** 625-637.

Evans JR(1989) Photosynthesis - the dependence on nitrogen partitioning. *Causes and consequences of variation in growth rate and productivity of higher plants* 159-174.

Flexas J, Bota J, Cifre J, Escalona JM, Galmés J, Gulíjas J, Lefi EK, Martínez-Caellas SF, Moreno MT, Ribas-Carbal M, Riera D, Sampol B, Medrano H(2004) Understanding down-regulation of photosynthesis under water stress: Future prospects and searching for physiological tools for irrigation management. *Annals of Applied Biology* **144** 273-283.

Flexas J, Bota J, Galmés J, Medrano H, Ribas-Carbal M(2006) Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: Responses of photosynthesis and respiration to water stress. *Physiologia Plantarum* **127** 343-352.

Flexas J, Medrano H(2002) Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: Stomatal and non-stomatal limitations revisited. *Annals of Botany* **89** 183-189.

Flexas J, Ribas-Carbal M, Diaz-Espejo A, Galmés J, Medrano H(2008) Mesophyll conductance to CO₂: Current knowledge and future prospects. *Plant, Cell and Environment* **31** 602-621.

Galbany-Casals M, Blanco-Moreno JM, Garcia-Jacas N, Breitwieser I, Smissen RD(2011) Genetic variation in Mediterranean *Helichrysum italicum* (Asteraceae; Gnaphalieae): Do disjunct populations of subsp. *microphyllum* have a common origin? *Plant Biology* **13** 678-687.

- Galle A, Florez-Sarasa I, Aououad HE, Flexas J(2011) The Mediterranean evergreen *Quercus ilex* and the semi-deciduous *Cistus albidus* differ in their leaf gas exchange regulation and acclimation to repeated drought and re-watering cycles. *Journal of Experimental Botany* **62** 5207-5216.
- Gallè A, Haldimann P, Feller U(2007) Photosynthetic performance and water relations in young pubescent oak (*Quercus pubescens*) trees during drought stress and recovery. *New Phytologist* **174** 799-810.
- Galmes J, Medrano H, Flexas J(2007) Photosynthetic limitations in response to water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms. *New Phytologist* **175** 81-93.
- Grammatikopoulos G(1999) Mechanisms for drought tolerance in two Mediterranean seasonal dimorphic shrubs. *Functional Plant Biology* **26** 587-593.
- Grassi G, Magnani F(2005a) Stomatal, mesophyll conductance and biochemical limitations to photosynthesis as affected by drought and leaf ontogeny in ash and oak trees. *Plant, Cell and Environment* **28** 834-849.
- Grassi G, Magnani F(2005b) Stomatal, mesophyll conductance and biochemical limitations to photosynthesis as affected by drought and leaf ontogeny in ash and oak trees. *Plant, Cell and Environment* **28** 834-849.
- Gratani L, Bombelli A(1999) Leaf anatomy, inclination, and gas exchange relationships in evergreen sclerophyllous and drought semideciduous shrub species. *Photosynthetica* **37** 573-585.
- Gratani L, Varone L(2004) Adaptive photosynthetic strategies of the Mediterranean maquis species according to their origin. *Photosynthetica* **42** 551-558.
- Gratani L, Varone L(2006) Long-time variations in leaf mass and area of Mediterranean evergreen broad-leaf and narrow-leaf maquis species. *Photosynthetica* **44** 161-168.
- Guan XQ, Zhao SJ, Li DQ, Shu HR(2004) Photoprotective function of photorespiration in several grapevine cultivars under drought stress. *Photosynthetica* **42** 31-36.
- Gulias J, Cifre J, Jonasson S, Medrano H, Flexas J(2009) Seasonal and inter-annual variations of gas exchange in thirteen woody species along a climatic gradient in the Mediterranean island of Mallorca. *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* **204** 169-181.
- Guzman B, Vargas P(2009) Long-distance colonization of the Western Mediterranean by *Cistus ladanifer* (Cistaceae) despite the absence of special dispersal mechanisms. *Journal of Biogeography* **36** 954-968.
- Harte J, Torn MS, Chang F, Feifarek B, Kinzig AP, Shaw R, Shen K(1995) Global warming and soil microclimate: Results from a meadow-warming experiment. *Ecological Applications* **5** 132-150.
- Hegerl GC, Zwiers FW, Stott PA, Kharin VV(2004) Detectability of anthropogenic changes in annual temperature and precipitation extremes. *Journal of Climate* **17** 3683-3700.
- Heimann M, Reichstein M(2008) Terrestrial ecosystem carbon dynamics and climate feedbacks. *Nature* **451** 289-292.

Hodgson JG, Montserrat-Martí G, Charles M, Jones G, Wilson P, Shipley B, Sharafi M, Cerabolini BEL, Cornelissen JHC, Band SR, Bogard A, Castro-Díez P, Guerrero-Campo J, Palmer C, Pérez-Rontomé MC, Carter G, Hynd A, Romo-Díez A, Torres Espuny L, Royo Pla F(2011) Is leaf dry matter content a better predictor of soil fertility than specific leaf area? *Annals of Botany* **108** 1337-1345.

Jassal RS, Black TA, Cai T, Ethier G, Pepin S, Brummer C, Nesic Z, Spittlehouse D, Trofymow JA(2010) Impact of nitrogen fertilization on carbon and water balances in a chronosequence of three Douglas-fir stands in the Pacific Northwest. *Agricultural and Forest Meteorology* **150** 208-218.

JONES HG(1985) Partitioning stomatal and non-stomatal limitations to photosynthesis. *Plant, Cell & Environment* **8** 95-104.

Juarez-Lopez FJ, Escudero A, Mediavilla S(2008) Ontogenetic changes in stomatal and biochemical limitations to photosynthesis of two co-occurring Mediterranean oaks differing in leaf life span. *Tree Physiology* **28** 367-374.

Kadioglu A, Terzi R, Saruhan N, Saglam A(2012) Current advances in the investigation of leaf rolling caused by biotic and abiotic stress factors. *Plant Science* **182** 42-48.

Karavatas S, Manetas Y(1999) Seasonal patterns of photosystem 2 photochemical efficiency in evergreen sclerophylls and drought semi-deciduous shrubs under Mediterranean field conditions. *Photosynthetica* **36** 41-49.

Kimball BA(2005) Theory and performance of an infrared heater for ecosystem warming. *Global Change Biology* **11** 2041-2056.

Kjellström E, Børring L, Jacob D, Jones R, Lenderink G, Schär C(2007) Modelling daily temperature extremes: Recent climate and future changes over Europe. *Climatic Change* **81** 249-265.

Kozłowski TT, Pallardy SG(2002) Acclimation and adaptive responses of woody plants to environmental stresses. *Botanical Review* **68** 270-334.

Kyparissis A, Manetas Y(1993) Seasonal leaf dimorphism in a semi-deciduous Mediterranean shrub: ecophysiological comparisons between winter and summer leaves. *Acta Oecologica* **14** 23-32.

Ladd PG, Crosti R, Pignatti S(2005) Vegetative and seedling regeneration after fire in planted Sardinian pinewood compared with that in other areas of Mediterranean-type climate. *Journal of Biogeography* **32** 85-98.

Larcher W(2000) Temperature stress and survival ability of Mediterranean sclerophyllous plants. *Plant Biosystems* **134** 279-295.

Lefèvre I, Marchal G, Corréal E, Zanuzzi A, Lutts S(2009) Variation in response to heavy metals during vegetative growth in *Dorycnium pentaphyllum* Scop. *Plant Growth Regulation* **59** 1-11.

Lellei-Kovács E, Kovács-Lang E, Kalapos T, Botta-Dukat Z, Barabás S, Beier C(2008) Experimental warming does not enhance soil respiration in a semiarid temperate forest-steppe ecosystem. *Community Ecology* **9** 29-37.

- Limousin JM, Misson L, Lavoie AV, Martin NK, Rambal S(2010) Do photosynthetic limitations of evergreen *Quercus ilex* leaves change with long-term increased drought severity? *Plant, Cell and Environment* **33** 863-875.
- Llorens L, Peñuelas J, Emmett B(2002) Developmental instability and gas exchange responses of a heathland shrub to experimental drought and warming. *International Journal of Plant Sciences* **163** 959-967.
- Llorens L, Peñuelas J, Estiarte M(2003b) Ecophysiological responses of two Mediterranean shrubs, *Erica multiflora* and *Globularia alypum*, to experimentally drier and warmer conditions. *Physiologia Plantarum* **119** 231-243.
- Llorens L, Peñuelas J, Estiarte M(2003a) Ecophysiological responses of two Mediterranean shrubs, *Erica multiflora* and *Globularia alypum*, to experimentally drier and warmer conditions. *Physiologia Plantarum* **119** 231-243.
- Llorens L, Peñuelas J, Estiarte M, Bruna P(2004) Contrasting growth changes in two dominant species of a mediterranean shrubland submitted to experimental drought and warming. *Annals of Botany* **94** 843-853.
- Lloret F, Peñuelas J, Estiarte M(2005) Effects of vegetation canopy and climate on seedling establishment in Mediterranean shrubland. *Journal of Vegetation Science* **16** 67-76.
- Long SP, Bernacchi CJ(2003) Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. *Journal of Experimental Botany* **54** 2393-2401.
- Long SP, Humphries S, Falkowski PG(1994) Photoinhibition of photosynthesis in nature. *ANNU.REV.PLANT PHYSIOL.PLANT MOL.BIOL.* **45** 633-662.
- Maraldo K, Schmidt IK, Beier C, Holmström M(2008) Can field populations of the enchytraeid, *Cognettia sphagnetorum*, adapt to increased drought stress? *Soil Biology and Biochemistry* **40** 1765-1771.
- McDonald PG, Fonseca CR, Overton JM, Westoby M(2003) Leaf-size divergence along rainfall and soil-nutrient gradients: Is the method of size reduction common among clades? *Functional Ecology* **17** 50-57.
- Melillo JM, Steudler PA, Aber JD, Newkirk K, Lux H, Bowles FP, Catricala C, Magill A, Ahrens T, Morrisseau S(2002) Soil warming and carbon-cycle feedbacks to the climate system. *Science* **298** 2173-2176.
- Misson L, Limousin JM, Rodríguez R, Letts MG(2010) Leaf physiological responses to extreme droughts in Mediterranean *Quercus ilex* forest. *Plant, Cell and Environment* **33** 1898-1910.
- Mitrakos K(1980) A theory for Mediterranean plant life. *Acta Oecologica* **15** 245-252.
- Munné-Bosch S, Alegre L(2004) Die and let live: Leaf senescence contributes to plant survival under drought stress. *Functional Plant Biology* **31** 203-216.
- Nemani RR, Keeling CD, Hashimoto H, Jolly WM, Piper SC, Tucker CJ, Myneni RB, Running SW(2003) Climate-driven increases in global terrestrial net primary production from 1982 to 1999. *Science* **300** 1560-1563.

Niinemets +, Tenhunen JD(1997) A model separating leaf structural and physiological effects on carbon gain along light gradients for the shade-tolerant species *Acer saccharum*. *Plant, Cell and Environment* **20** 845-866.

Niinemets U(1999) Components of leaf dry mass per area - thickness and density - alter leaf photosynthetic capacity in reverse directions in woody plants. *New Phytologist* **144** 35-47.

Oliveira G, Peñuelas J(2000) Comparative photochemical and phenomorphological responses to winter stress of an evergreen (*Quercus ilex* L.) and a semi-deciduous (*Cistus albidus* L.) Mediterranean woody species. *Acta Oecologica* **21** 97-107.

Orshan G (1989) Plant Pheno-Morphological Studies in Mediterranean Type Ecosystems.

Park S.Nobel (2005) Physicochemical and Environmental Plant Physiology. Academic Press, San Diego, CA..

Parry MAJ, Andralojc PJ, Khan S, Lea PJ, Keys AJ(2002) Rubisco activity: Effects of drought stress. *Annals of Botany* **89** 833-839.

Peñuelas J, Gordon C, Llorens L, Nielsen T, Tietema A, Beier C, Bruna P, Emmett B, Estiarte M, Gorissen A(2004) Nonintrusive field experiments show different plant responses to warming and drought among sites, seasons, and species in a north-south European gradient. *Ecosystems* **7** 598-612.

Peñuelas J, Prieto P, Beier C, Cesaraccio C, de Angelis P, de Dato G, Emmett BA, Estiarte M, Garadnai J, Gorissen A, Llorens L, Kerdoukoudjian G, Llorens L, Pellizzaro G, Riis-nielsen T, Schmidt IK, Sirca C, Sowerby A, Spano D, Tietema A(2007) Response of plant species richness and primary productivity in shrublands along a north-south gradient in Europe to seven years of experimental warming and drought: Reductions in primary productivity in the heat and drought year of 2003. *Global Change Biology* **13** 2563-2581.

Pérez Latorre AV, Cabezudo B(2002) Use of monocharacteristic growth forms and phenological phases to describe and differentiate plant communities in Mediterranean-type ecosystems. *Plant Ecology* **161** 231-249.

Pignatti. Flora d'Italia. 1982. Edagricole, Bologna. (GENERIC)
Ref Type: Serial (Book, Monograph)

Prieto P, Peñuelas J, Llusià J, Asensio D, Estiarte M(2009a) Effects of long-term experimental night-time warming and drought on photosynthesis, Fv/Fm and stomatal conductance in the dominant species of a Mediterranean shrubland. *Acta Physiologiae Plantarum* **31** 729-739.

Prieto P, Peñuelas J, Niinemets +, Ogaya R, Schmidt IK, Beier C, Tietema A, Sowerby A, Emmett BA, Llorens L, Kerdoukoudjian G, Lhotsky B, Cesaraccio C, Pellizzaro G, de Dato G, Sirca C, Estiarte M(2009b) Changes in the onset of spring growth in shrubland species in response to experimental warming along a north-south gradient in Europe. *Global Ecology and Biogeography* **18** 473-484.

Prieto P, Peñuelas J, Ogaya R, Estiarte M(2008) Precipitation-dependent flowering of *Globularia alypum* and *Erica multiflora* in Mediterranean shrubland under experimental drought and warming, and its inter-annual variability. *Annals of Botany* **102** 275-285.

- Reich PB, Ellsworth DS, Walters MB(1998) Leaf structure (specific leaf area) modulates photosynthesis-nitrogen relations: Evidence from within and across species and functional groups. *Functional Ecology* **12** 948-958.
- Reich PB, Walters MB, Ellsworth DS(1992) Leaf life-span in relation to leaf, plant, and stand characteristics among diverse ecosystems. *Ecological Monographs* **62** 365-392.
- Renard C, Demesse-macker W(1983) Effects of wind velocity on stomatal conductance and consequences of leaf rolling on water uptake in tall fescue. *Biologia Plantarum* **25** 408-411.
- Reyes O, Trabaud L(2009) Germination behaviour of 14 Mediterranean species in relation to fire factors: Smoke and heat. *Plant Ecology* **202** 113-121.
- Rivoal A, Fernandez C, Lavoie AV, Olivier R, Lecareux C, Greff S, Roche P, Vila B(2010) Environmental control of terpene emissions from *Cistus monspeliensis* L. in natural Mediterranean shrublands. *Chemosphere* **78** 942-949.
- Rustad LE(2008) The response of terrestrial ecosystems to global climate change: Towards an integrated approach. *Science of the Total Environment* **404** 222-235.
- Rustad LE, Campbell JL, Marion GM, Norby RJ, Mitchell MJ, Hartley AE, Cornelissen JHC, Gurevitch J, Alward R, Beier C, Burke I, Canadell J, Callaghan T, Christensen TR, Fahnestock J, Fernandez I, Harte J, Hollister R, John H, Ineson P, Johnson MG, Jonasson S, John L, Linder S, Lukewille A, Masters G, Melillo J, Mickelsen A, Neill C, Olszyk DM, Press M, Pregitzer K, Robinson C, Rygielwicz PT, Sala O, Schmidt IK, Shaver G, Thompson K, Tingey DT, Verburg P, Wall D, Welker J, Wright R(2001) A meta-analysis of the response of soil respiration, net nitrogen mineralization, and aboveground plant growth to experimental ecosystem warming. *Oecologia* **126** 543-562.
- Sanchez-Blanco MJ, Rodriguez R, Olmos E, Morales MA, Torrecillas A(2004) Differences in the effects of simulated sea aerosol on water relations, salt content, and leaf ultrastructure of rock-rose plants. *Journal of Environmental Quality* **33** 1369-1375.
- Sardans J, Peñuelas J, Estiarte M, Prieto P(2008) Warming and drought alter C and N concentration, allocation and accumulation in a Mediterranean shrubland. *Global Change Biology* **14** 2304-2316.
- Signarbieux, C. and Feller, U. Effects of an extended drought period on physiological properties of grassland species in the field. *Journal of Plant Research* . 2011. (GENERIC)
Ref Type: In Press
- Simoës MP, Madeira M, Gazarini L(2008) The role of phenology, growth and nutrient retention during leaf fall in the competitive potential of two species of mediterranean shrubs in the context of global climate changes. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* **203** 578-589.
- Sowerby A, Emmett B, Beier C, Tietema A, Peñuelas J, Estiarte M, Van Meeteren MJM, Hughes S, Freeman C(2005b) Microbial community changes in heathland soil communities along a geographical gradient: Interaction with climate change manipulations. *Soil Biology and Biochemistry* **37** 1805-1813.
- Sowerby A, Emmett B, Beier C, Tietema A, Peñuelas J, Estiarte M, Van Meeteren MJM, Hughes S, Freeman C(2005a) Microbial community changes in heathland soil communities along a geographical gradient: Interaction with climate change manipulations. *Soil Biology and Biochemistry* **37** 1805-1813.

- Thimmanaik S, Kumar SG, Kumari GJ, Suryanarayana N, Sudhakar C(2002) Photosynthesis and the enzymes of photosynthetic carbon reduction cycle in mulberry during water stress and recovery. *Photosynthetica* **40** 233-236.
- Valentini R, Epron D, de Angelis P, Matteucci G, Dreyer E(1995) In situ estimation of net CO₂ assimilation, photosynthetic electron flow and photorespiration in Turkey oak (*Q. cerris* L.) leaves: Diurnal cycles under different levels of water supply. *Plant, Cell and Environment* **18** 631-640.
- Varone L, Gratani L(2007) Physiological response of eight Mediterranean maquis species to low air temperatures during winter. *Photosynthetica* **45** 385-391.
- Varone L, Ribas-Carbo M, Cardona C, Gall+® A, Medrano H, Gratani L, Flexas J(2012) Stomatal and non-stomatal limitations to photosynthesis in seedlings and saplings of Mediterranean species pre-conditioned and aged in nurseries: Different response to water stress. *Environmental and Experimental Botany* **75** 235-247.
- Wall GW, Kimball BA, White JW, Ottman MJ(2011) Gas exchange and water relations of spring wheat under full-season infrared warming. *Global Change Biology* **17** 2113-2133.
- Wan S, Luo Y, Wallace LL(2002) Changes in microclimate induced by experimental warming and clipping in tallgrass prairie. *Global Change Biology* **8** 754-768.
- Werner C, Correia O, Beyschlag W(1999) Two different strategies of Mediterranean macchia plants to avoid photoinhibitory damage by excessive radiation levels during summer drought. *Acta Oecologica* **20** 15-23.
- Wilson KB, Baldocchi DD, Hanson PJ(2000a) Quantifying stomatal and non-stomatal limitations to carbon assimilation resulting from leaf aging and drought in mature deciduous tree species. *Tree Physiology* **20** 787-797.
- Wilson KB, Baldocchi DD, Hanson PJ(2000b) Spatial and seasonal variability of photosynthetic parameters and their relationship to leaf nitrogen in a deciduous forest. *Tree Physiology* **20** 565-578.
- Wright IJ, Reich PB, Westoby M(2001) Strategy shifts in leaf physiology, structure and nutrient content between species of high- and low-rainfall and high- and low-nutrient habitats. *Functional Ecology* **15** 423-434.
- Wright IJ, Reich PB, Westoby M, Ackerly DD, Baruch Z, Bongers F, Cavender-Bares J, Chapin T, Cornelissen JHC, Diemer M, Flexas J, Garnier E, Groom PK, Gulias J, Hikosaka K, Lamont BB, Lee T, Lee W, Lusk C, Midgley JJ, Navas ML, Niinemets +, Oleksyn J, Osada H, Poorter H, Pool P, Prior L, Pyankov VI, Roumet C, Thomas SC, Tjoelker MG, Veneklaas EJ, Villar R(2004) The worldwide leaf economics spectrum. *Nature* **428** 821-827.
- Yates MJ, Anthony Verboom G, Rebelo AG, Cramer MD(2010) Ecophysiological significance of leaf size variation in Proteaceae from the Cape Floristic Region. *Functional Ecology* **24** 485-492.
- Yue B, Xue W, Xiong L, Yu X, Luo L, Cui K, Jin D, Xing Y, Zhang Q(2006) Genetic basis of drought resistance at reproductive stage in rice: Separation of drought tolerance from drought avoidance. *Genetics* **172** 1213-1228.