



*Università degli Studi di Firenze*

DOTTORATO DI RICERCA IN

*Biosistemica ed ecologia vegetale,  
Scuola di dottorato "Ubaldo Montelatici"*

CICLO XXV

COORDINATORE  
Prof. Paolo Grossoni

**Risposte allo stress idrico di due specie arbustive ornamentali:  
*Photinia x fraseri* var. Red Robin e *Viburnum opulus* L.**

Settore Scientifico Disciplinare  
BIO/03

**Dottoranda**  
Dott. *Ugolini Francesca*

**Tutor**  
Prof. *Bussotti Filippo*

**Co-Tutor**  
Dr. *Raschi Antonio*

Anni 2010/2012



Desidero ringraziare *in primis* tutta la mia famiglia, Giorgio Maresi e Claudio Tombelli che con spirito di condivisione hanno passato con me gran parte dei giorni di festa e delle domeniche aiutandomi nei rilievi di campo e nella misura delle biomasse, nonché sei studenti del Liceo Scientifico Copernico di Prato che hanno preso parte a due campagne di misura grazie alla stipula dell' 'Alternanza Scuola-Lavoro' tra il Liceo e l' Istituto di Biometeorologia del CNR di Firenze.

Ringrazio lo staff del Ce.Spe.Vi., il dr. Paolo Marzialetti per la disponibilità e il supporto tecnico e il tecnico del vivaio Nicola per i consigli pratici e l'aiuto nell'allestimento dei piani sperimentali;

il direttore Antonio Raschi del CNR-Ibimet per avermi permesso di dedicare parte del tempo lavorativo e fondi di progetti a questa ricerca e il tecnico Mario Lanini per la pazienza e la competenza fondamentali per le innumerevoli riparazioni agli strumenti tecnici;

Corrado Tani per la disponibilità e la pazienza nell'insegnarmi tecniche di laboratorio per l'analisi dell'anatomia vegetale presso il laboratorio di Biotecnologie Agrarie;

il dr. Roland Ennos per l'ospitalità a svolgere una breve parte della ricerca presso l'Università di Manchester e che mi ha permesso oltretutto di affrontare nuove tipologie di studio e di riprodurre le tecniche imparate per approfondire ulteriori ricerche;

il dr. Roberto Tognetti per l'aiuto e la fiducia trasmessa durante la realizzazione di un articolo attualmente in revisione.

## INDICE

<b>Riassunto</b>	<b>1</b>
<b>Summary</b>	<b>4</b>
<b>1. INTRODUZIONE</b>	<b>7</b>
1.1 <i>Stress idrico e meccanismi di resistenza</i>	7
1.1.1 <i>Effetti sull'apparato radicale</i>	9
1.1.2 <i>Effetti sulle proprietà del legno</i>	11
1.1.3 <i>Effetti sullo stato di idratazione della foglia: il potenziale idrico</i>	17
1.1.4 <i>Effetti sugli scambi gassosi</i>	19
1.1.5 <i>Effetti sulle caratteristiche morfo-anatomiche fogliari</i>	22
1.1.6 <i>Effetti sulla efficienza dell'apparato fotosintetico</i>	25
1.2 <i>Lo stress idrico indotto: deficit irrigation e hardening</i>	31
<b>2. OBIETTIVO DELLA RICERCA</b>	<b>33</b>
<b>3. MATERIALI E METODI</b>	<b>35</b>
3.1 <i>Specie utilizzate</i>	35
3.2 <i>Piano Sperimentale</i>	36
3.3 <i>Prova 1 - Condizionamento all'aperto</i>	39
3.3.1 <i>Misure effettuate</i>	40
3.4 <i>Prova 2 – Condizionamento in serra</i>	45
3.4.1 <i>Misure effettuate</i>	46
3.5 <i>Analisi statistica dei dati</i>	50
<b>4. RISULTATI DELLA PROVA 1 – Condizionamento all'aperto</b>	<b>51</b>
4.1 <i>Dati meteorologici</i>	51
4.2 <i>Risposte relative al potenziale idrico fogliare</i>	53
4.3 <i>Risposte relative agli scambi gassosi</i>	55
4.4 <i>Risposte relative alla fluorescenza della clorofilla a</i>	61
4.5 <i>Biomassa</i>	84
4.6 <i>Proprietà del legno</i>	89
<b>5. DISCUSSIONI DELLA PROVA 1</b>	<b>90</b>
<b>6. RISULTATI DELLA PROVA 2 – Condizionamento in serra</b>	<b>101</b>
6.1 <i>Dati meteorologici e ambientali</i>	101
6.2 <i>Risposte relative al potenziale idrico fogliare</i>	103
6.3 <i>Risposte relative agli scambi gassosi</i>	104
6.4 <i>Risposte relative alla fluorescenza della clorofilla a</i>	109

<i>6.5 Biomassa</i>	<i>116</i>
<i>6.6 Caratteristiche fogliari</i>	<i>119</i>
<b>7. DISCUSSIONI DELLA PROVA 2</b>	<b>124</b>
<b>8. CONCLUSIONI</b>	<b>128</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>130</b>

## Riassunto

L'acqua, fondamentale per attività domestiche ed economiche, è la risorsa più contesa soprattutto nelle zone in cui le precipitazioni non sono distribuite in modo omogeneo durante l'arco dell'anno, come quelle a clima Mediterraneo, in cui sono frequenti i periodi in cui è insufficiente a soddisfare tutte le necessità. Oltretutto, i cambiamenti climatici (maggiore frequenza di ondate di calore e di precipitazioni intense, nonché prolungati periodi siccitosi durante la stagione estiva) aggravano la situazione tanto da rendere sempre più importante la sensibilizzazione ad un uso più sagace della risorsa e l'introduzione di tecnologie innovative per il miglioramento della gestione idrica nei settori economici come il vivaismo.

Alla tecnologia può affiancarsi la *deficit irrigation*, tecnica di coltivazione che sottopone semenzali e giovani piante ad uno stress idrico continuo, con l'obiettivo di produrre materiale vegetale più resistente allo stress stesso e al trapianto, ottimizzando l'uso dell'acqua.

Piante che vivono con una dose sub-letale di uno stress, come quelle che vivono in ambienti xerici, sono infatti capaci di incrementare la resistenza allo stesso. Tuttavia, anche in vivaio possono essere indotti meccanismi di *hardening* (indurimento) (Landis et al. 1998; Villar-Salvador et al. 1999), ossia modificazioni delle risposte fisiologiche, della morfologia e della allocazione della biomassa che vanno ad aumentare la resistenza allo stress e ad incrementare la sopravvivenza e le possibilità di crescita nella fase successiva il trapianto.

Obiettivo della ricerca è quello quindi di valutare le risposte di due specie ornamentali allo stress idrico indotto con la *deficit irrigation*.

Piante di un anno di *Viburnum opulus* L. (viburno), specie decidua della famiglia delle Caprifoliaceae, e di *Photinia x fraseri* var. Red Robin (fotinia), specie sempreverde della famiglia delle Rosaceae, coltivate in vaso in substrato torba:pomice 50:50, sono state sottoposte a tre regimi idrici, due in deficit rispetto il controllo.

Il controllo (C) corrispondeva al fabbisogno idrico calcolato in base all'evapotraspirazione con il metodo delle pesate giornaliere; MWD (Moderate Water Deficit) era inferiore del 33% rispetto a C e SWD (Severe Water Deficit) inferiore del 66% rispetto al controllo.

Il condizionamento è stato condotto presso il Centro Sperimentale per il Vivaismo, a Pistoia, da Maggio a Settembre 2011 all'aperto (prova 1) e da Aprile a Settembre 2012 in serra (prova 2).

Le misure effettuate durante il periodo di condizionamento hanno riguardato il potenziale idrico fogliare; la fluorescenza della clorofilla *a*; gli scambi gassosi fogliari, la biomassa prodotta e l'accrescimento.

Alla fine della prova 1 è stata effettuata un'indagine sulle proprietà idrauliche e meccaniche del legno, mentre alla fine della prova 2 un'indagine sulle caratteristiche morfologiche e anatomiche fogliari.

I risultati hanno dimostrato che la risposta più veloce è l'evitanza dello stress idrico attraverso la chiusura stomatica che induce una riduzione degli scambi gassosi in termini di traspirazione e di assimilazione della CO<sub>2</sub>. Fotinia ha mostrato differenze significative tra i regimi idrici a circa tre mesi dall'inizio del condizionamento mentre viburno dopo poche settimane. Inoltre, il regime MWD ha indotto una risposta simile al controllo.

Le piante in SWD, in entrambe le specie, hanno mostrato dei valori di potenziale (*pre-dawn* e minimo) più bassi, associati all'aggiustamento osmotico con cui la pianta mantiene il turgore cellulare.

L'efficienza dell'apparato fotosintetico non è stata alterata dallo stress idrico e nel periodo iniziale del condizionamento fotinia ha mostrato una maggiore efficienza nel trasporto elettronico e una maggiore termostabilità del PSII. La catena di trasporto elettronico tra le unità dell'apparato fotosintetico è stata anche stimolata dall'alta irradianza e le alte temperature della tarda mattinata. Nelle stesse condizioni viburno invece ha mostrato una minore resa quantica delle reazioni primarie e una dissipazione energetica maggiore a livello di PSII, indicando una maggiore sensibilità alle condizioni ambientali.

Il condizionamento in piante di un anno non ha indotto modificazioni alle caratteristiche meccaniche del legno ma solo una riduzione della conduttanza idraulica nelle piante di viburno in SWD.

Per quanto riguarda la produzione di biomassa, sia all'aperto che in serra, fotinia ha limitato l'accrescimento in lunghezza e, come viburno, la produzione di biomassa aerea

in SWD. In viburno la biomassa fogliare è stata anche ridotta tramite l'abscissione fogliare.

Infine, nell'esperimento in serra, fotinia ha mostrato anche una differenza pronunciata tra i regimi per il rapporto massa aerea/radicale, con il valore più basso nel regime SWD.

A livello fogliare, SWD ha ridotto l'area fogliare unitaria e ha indotto un ispessimento del tessuto lacunoso in entrambe le specie e dell'epidermide e della cuticola inferiori in viburno oltre ad aver ridotto la lunghezza della rima stomatica.

E' stato dunque dimostrato che la *deficit irrigation* può essere applicata nelle piante ornamentali, previa scelta oculata della specie. Fotinia, meno sensibile allo stress, è adatta, e risponde allo stress idrico con meccanismi di resistenza fisiologici, morfologici e di ripartizione della biomassa. Inoltre, una somministrazione idrica pari al 30% del fabbisogno della specie, mantiene la funzionalità fisiologica e non comporta, dal punto di vista estetico, alterazioni tali da comprometterne l'uso commerciale.

## Summary

Water is the primary resource for domestic and many other business uses, including plant nursery, therefore especially in Mediterranean areas, a sustainable water use should be encouraged and should take more into account the climate change which is recording an increasing frequency of intense events (precipitations and heat waves) and longer periods of drought during the summer season.

In plant nursery the introduction of innovative technologies for water management is also encouraged, and this might be associated with *deficit irrigation* technique, used to induce water stress resistance in vegetal material.

Plants under a sub-lethal dose of a stress, are capable to increase the resistance to that stress such as happens in xeric environments where plants have developed modifications to resist drought. However, morphological and physiological hardening traits, can be acquired also in nursery in order to improve the chance of survival and growth after transplanting.

The aim of this study was the evaluation of the responses of two ornamental species to water stress through deficit irrigation.

Two ornamental shrubs were observed: the deciduous species *Viburnum opulus* L. (Caprifoliaceae) and the evergreen *Photinia x fraseri* var. Red Robin (Rosaceae). Both species were grown in pots with substrate peat : pumice (50:50).

The individuals were divided into three plots, each of them under a water regime: C plot (control) received as much as water lost by evapotranspiration; MWD plot (moderate water deficit) received 66% C; SWD plot (severe water deficit) received 33% C.

The experimental plan was implemented in Pistoia, at open air between May-September 2011 (Experiment 1) and inside the greenhouse between April-September 2012 (Experiment 2).

The measurements during the experiments concerned leaf water potential, fluorescence of chlorophyll *a*, leaf gas exchanges, biomass and growth. Moreover, the wood hydraulic and mechanical properties and the leaf morphological and anatomical traits were analysed at the end of the Exp. 1 and Exp. 2 respectively.

The results evidenced the quick response of water stress avoidance by stomatal closure in both species inducing a reduction in transpiration and CO<sub>2</sub> assimilation. *Photinia*

showed significant differences between water regimes after three months from the beginning of the experiment while viburnum after only a few weeks. In addition, MWD and C regimes induced similar responses.

Plants in SWD showed lower leaf water potentials, associated to osmotic adjustment in order to maintain leaf turgor.

The efficiency of photosynthetic apparatus was not affected by water stress and Photinia, especially at the beginning of the experiment, showed greater efficiency in electron transport and higher thermo-stability of PSII. The electron transport within the photosynthetic apparatus was also stimulated in late morning, with high light and temperatures. In the same conditions viburnum showed lower quantum yield of the primary reactions and higher energy dissipation at PSII level, regardless of the stress state, indicating a greater sensitivity to environmental conditions.

Deficit irrigation did not affect mechanical wood properties, but viburnum showed a reduction of hydraulic conductance under SWD.

Concerning the production of biomass, Photinia showed shorter stems and a decrease in aerial biomass under SWD as well as viburnum which also lost leaves by abscission.

In the greenhouse Photinia showed more pronounced differences between water regimes concerning the shoot to root ratio with the lowest value in SWD.

A leaf level, SWD increased the spongy tissue thickness and increased the lower epidermis and cuticle thickness in viburnum. Moreover it reduced leaf dry weight in both species and reduced the leaf area. Furthermore, both species showed a reduction in the stomatal size.

In conclusion, this study demonstrated that the reduction of water supply to 66 % of the species need for a period of about six months can be applied to ornamental species like Photinia because it develops resistance mechanisms to water stress maintaining the physiological functionality while keeping the aesthetical quality.



## INTRODUZIONE

### *1.1 Stress idrico e meccanismi di resistenza*

Qualsiasi causa di natura fisica o chimica che limita lo sviluppo e la crescita di una pianta è definita stress abiotico. Lo stress è dovuto alla mancanza o all'eccedenza di un fattore fisico o chimico ambientale, come per esempio l'eccesso o la mancanza di acqua, di temperature ottimali, salinità etc.

Severità e durata dell'esposizione a uno stress, ma anche il contributo di altri fattori, sono elementi distintivi dell'intensità dello stress cui una pianta è sottoposta.

Lo stress idrico si verifica quando la disponibilità idrica per le radici diventa limitante (deficit idrico), cioè quando le condizioni sono siccitose, l'evapotraspirazione è intensa e la pianta è soggetta ad una forte perdita idrica sia dal suolo che dalle foglie, mentre allo stesso tempo la riserva idrica è scarsa. Si può avere stress idrico anche quando l'assorbimento dell'acqua da parte delle radici è limitato da un'alta salinità o da basse temperature (siccità fisiologica).

Lo stress idrico dunque è tipico per le piante che vivono in aree aride e semiaride, ma anche laddove i regimi delle precipitazioni non sono uniformi durante l'anno, come per esempio nelle regioni a clima Mediterraneo. In tali regioni si annoverano, soprattutto in estate, delle condizioni limitanti l'approvvigionamento idrico, di conseguenza è importante che le piante che vivono in queste condizioni siano capaci di convivere con questo tipo di stress.

Lo stress idrico è una delle principali cause di riduzione della crescita e della produttività, ciò nonostante le piante sono capaci di sviluppare delle risposte fisiologiche, morfologiche di acclimatazione che permettono loro di resistere la condizione idrica deficitaria.

In natura le piante possono resistere a delle condizioni di stress idrico sviluppando meccanismi diversi. Certo è che maggiore è la capacità di ritardare l'abbassamento del potenziale idrico (evitanza) o sopportare l'abbassamento del potenziale senza subire

danni (tolleranza), maggiore è la capacità di sopravvivere allo stress. Larcher (1995) individua le seguenti strategie delle piante per sopravvivere a periodi secchi.

1. *Drought escaping xerophytes*. Sono quelle specie che evitano il periodo siccitoso limitando il ciclo vegetativo ai periodi favorevoli e trascorrendo il periodo sfavorevole in forma di seme o altri organi resistenti. Un esempio sono le piante effimere del deserto o le geofite che hanno organi sotterranei ricchi di acqua come rizomi, tuberi o bulbi.
2. *Desiccation avoidance*. La disidratazione dei tessuti è ritardata dal fatto che la pianta utilizza dei meccanismi che le permettono di mantenere il contenuto idrico dei tessuti nonostante il deficit idrico cui è sottoposta. Tale risultato viene raggiunto:
  - i. migliorando l'assorbimento idrico dal suolo (cioè aumentando la superficie assorbente e la profondità di esplorazione da parte delle radici),
  - ii. riducendo la perdita d'acqua (minore superficie fogliare traspirante e maggiore densità stomatica, con una regolazione stomatica più veloce ed efficace; cutinizzazione delle cellule epidermiche),
  - iii. aumentando la capacità di trasporto dell'acqua (maggiore quantità di xilema, internodi più corti),
  - iv. aumentando la capacità di stoccaggio idrico (le piante succulenti hanno una riserva d'acqua sufficiente per molte settimane e i loro tessuti sono ricchi di carboidrati idrosolubili che hanno la capacità di legare le molecole d'acqua nelle cellule o negli spazi intercellulari in modo tale da prevenire un appassimento veloce della pianta).
3. *Desiccation tolerance*. Strategia tipica delle specie che hanno la capacità di tollerare una forte mancanza di acqua. Il loro ciclo vitale si verifica anche quando ci sono condizioni avverse. La capacità di tollerare condizioni di stress viene misurata in termini di valore di potenziale idrico minimo che viene raggiunto prima di manifestare dei danni irreversibili e ovviamente tale valore varia con la specie e le sue caratteristiche anatomiche e morfologiche. Tra le specie che sono capaci di tollerare valori di potenziale bassissimi ci sono i licheni (simbiosi tra alga e fungo) e le piante cosiddette *resurrection*. Quest'ultime sono caratterizzate da foglie piccole, presentano una crescita

lentissima e una bassa capacità riproduttiva, e hanno la capacità di tollerare degli stati di disidratazione cellulare molto forti.

Una pianta può acquisire resistenza allo stress se acquisisce capacità di sopravvivere, crescere e produrre (Levitt, 1980) in condizioni sfavorevoli, e tale resistenza dipende dal suo genotipo e dall'età. Sottoponendo una pianta a dosi sub letali di uno stress, Levitt (1980), individuò che essa aumenta la resistenza a tale fattore di stress alterando il comportamento fisiologico pur mantenendone la funzionalità. Questa condizione viene detta *acclimatazione*.

Nei prossimi paragrafi verranno presi in esame i meccanismi di resistenza attuati dalle piante sottoposte a stress idrico e che sono stati anche oggetto della presente ricerca. Sono stati elencati in base all'organo o apparato in cui si manifestano, ordinati seguendo quella che è la struttura della pianta, ossia dall'apparato radicale a quello fogliare.

### ***1.1.1 Effetti sull'apparato radicale***

Piante che vivono in ambienti caratterizzati da un deficit idrico per periodi prolungati mostrano degli adattamenti morfo-strutturali, tra cui lo sviluppo di un apparato radicale profondo. Questo le avvantaggia ritardando la possibile disidratazione (Pallardy, 2008). E' stato constatato infatti che la profondità dell'apparato radicale è positivamente correlata con il valore di potenziale idrico fogliare misurato prima dell'alba - *predawn* (Hinckley et al., 1980) cioè, maggiore è la profondità dell'apparato radicale, maggiore è il valore di potenziale nelle foglie, quindi migliore è lo stato idrico quando le condizioni ambientali diventano limitanti da una forte evapotraspirazione.

Dall'altro lato però, è stato visto che le condizioni di stress idrico riducono la capacità dei semenzali di emettere nuove radici (Tinus, 1996, Villar-Salvador et al., 1999, Villar-Salvador et al., 2004) e che questa è negativamente correlata con l'aggiustamento osmotico attuato per resistere allo stress (Villar-Salvador et al., 2004).

La ridotta potenzialità di assorbimento dell'acqua può essere dovuta anche a un effetto di suberificazione delle cellule radicali (Sofa et al., 2010) che ne riduce la permeabilità. La sintesi della suberina dipende dalla attività delle perossidasi, come risposta alla presenza di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> causata dallo stress ossidativo (Franke e Schreiber, 2007). La sua

deposizione avviene per esempio nelle radici primarie (Pfeiffer et al., 2012) dove è depositata nella lamella mediana e nella parete primaria delle cellule dell'endoderma. Qui la suberina costituisce la sostanza principale della banda del Caspary. Questo strato suberinizzato limita il movimento di acqua e soluti per via apoplastica tra il cilindro corticale e il cilindro centrale (Clarkson e Robards, 1975) ma al contempo gioca un ruolo importante nel ridurre il trasporto incontrollato dell'acqua, quindi degli ioni disciolti e dei gas (Franke e Schreiber, 2007) evitando una eccessiva perdita di acqua (Steudle, 1994; Sofò et al., 2010) e l'attacco di patogeni (Franke et al., 2005).

Con la deposizione di suberina e la perdita di radici fini e peli radicali, si modifica quindi il bilancio tra acqua traspirata e acqua estratta dal terreno.

Lo stress idrico ha un effetto sulla allocazione della biomassa nella pianta con una ripartizione che favorisce l'apparato radicale piuttosto che la parte aerea (Barbour e Farquhar, 2000; Bañon et al., 2006). La minore disponibilità idrica induce la riduzione dell'apparato fogliare che gioca un ruolo nel controllo della traspirazione, ma limita anche la crescita della pianta (a causa della minore superficie fotosintetizzante).

Il rapporto tra parte aerea e parte radicale è un indice della ripartizione della biomassa che varia a seconda delle condizioni di approvvigionamento idrico. Se questo è basso per un periodo prolungato, il rapporto si abbassa indicando una maggiore allocazione di assimilati dalla parte aerea alla parte radicale (Begg, 1980) e ciò si verifica proprio con un condizionamento al deficit idrico come indicato da molti studi (Khalil e Grace, 1992; Palta e Gregory, 1997; Bañon et al., 2006).

Altra caratteristica molto importante per la vitalità di una pianta è la struttura delle radici intesa come dimensione (raggio e lunghezza), tasso di accrescimento e densità.

La capacità di produrre nuove radici è di fondamentale importanza per le piante ma lo stress idrico la riduce. Tuttavia le piante hanno la capacità di apportare delle modificazioni morfologiche alle radici, che vanno a vantaggio della resistenza allo stress. Da Bañon et al. (2006) emerge che semenzali in condizioni di stress idrico presentano radici più corte, più spesse e meno ramificate, riducono il numero di radici di dimensioni medie e fini, pur mantenendo una maggiore densità radicale. Ciò fa presumere una maggiore robustezza e un alto accumulo di sostanze di riserva. Queste

caratteristiche acquisite riducono la possibilità di danneggiamenti e rotture al momento del trapianto.

Dal punto di vista dell'assorbimento dei nutrienti dal suolo, i risultati sono contrastanti (Nahar e Gretzmacher, 2002; Nawaz et al., 2012) e dipendono dalle specie (Sanchez-Rodriguez et al., 2010). Molti studi riportano che un aumento dell'intensità dello stress (Akinci e Lösel, 2012), riduce la capacità di assorbimento dei minerali nel terreno (Nawaz et al., 2012), probabilmente per una minore richiesta da parte della pianta stessa (Alam, 1999). In alcune piante orticole sottoposte a deficit idrico diminuisce per esempio l'assorbimento di azoto (Tanguilig et al., 1987, Singh e Singh, 2006) ma aumenta l'assorbimento di altri minerali come  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Na^+$ , and  $Cl^-$  (Abdel Rahman et al., 1971).

### ***1.1.2 Effetti sulle proprietà del legno***

#### *Proprietà idrauliche*

Le funzioni del fusto, e nello specifico dello xilema, sono molteplici: non solo esso deve trasportare acqua a lunga distanza, ma deve anche sostenere la pianta e immagazzinare acqua e nutrienti.

L'acqua assorbita dalle radici deve raggiungere la chioma e, in condizioni di stress idrico le piante sono soggette a delle tensioni negative molto forti all'interno dello xilema che possono causare fenomeni di cavitazione. Specie adattate allo stress idrico mostrano una minore vulnerabilità all'embolia e una maggiore velocità di recupero del trasporto idrico (Brodrigg et al., 2010), come quelle tipiche di ambienti aridi che sono più resistenti rispetto quelle che vivono in ambienti mesici (Brodrigg e Hill, 1999; Pockman e Sperry, 2000; Maherali et al., 2004).

Maggiore è la sensibilità allo stress idrico, più la pianta è soggetta a tali tensioni xilematiche che possono causare cavitazione e quindi interferire sulla conduttanza idraulica.

L'efficienza della conduzione idraulica è determinata dalla variazione interna del diametro delle trachee (o tracheidi nelle conifere) e, assimilando questo sistema di conduzione a quanto avviene nei tubi capillari, per spiegare la conduttanza idraulica viene utilizzata la legge di Hagen–Poiseuille. Questa asserisce che il flusso ( $F$ ) di un fluido viscoso a moto laminare in un tubo capillare è proporzionale alla quarta potenza

del diametro del tubo (Zimmermann, 1983; Tyree e Ewers, 1991) e alla differenza di pressione ( ) tra due punti, mentre è inversamente proporzionale alla resistenza al flusso ( $R$ ) che dipende dalla viscosità ( $\rho$ ) e dalla distanza ( $L$ ) tra i due punti.



La cavitazione si verifica quando all'interno del condotto si esercita una pressione negativa maggiore rispetto alla forza di coesione tra le molecole d'acqua all'interno e si verifica in corrispondenza delle membrane delle punteggiature xilematiche (Zimmermann, 1983; Sperry e Tyree, 1988; Jarbeau et al., 1995).

Un vaso conduttore lungo e di grande diametro avrà quindi una maggiore probabilità di contenere molte punteggiature e quindi molti punti vulnerabili (Hargrave et al., 1994; Tyree et al., 1994; Sperry et al., 2005). Di conseguenza, le piante caratterizzate da condotti più ampi saranno anche quelle più suscettibili alla cavitazione e all'embolia (Tyree e Sperry, 1989; Cochard e Tyree, 1990; Tyree e Ewers, 1991; Tognetti et al., 1998) anche se più efficaci nel trasporto idrico (Sperry e Sullivan, 1992; Lo Gullo et al., 1995; Sperry et al., 1994; Tyree et al., 1994).

Secondo Hacke et al. (2001), più le piante sono tolleranti la siccità, più negativa è la pressione interna che riesce a tollerare lo xilema e maggiore è il carico interno alle cellule xilematiche prima di arrivare al collasso della parete.

Una siccità prolungata può inoltre aumentare il rapporto tra conduttanza del fusto e superficie traspirante: aumentando la conduttanza specifica fogliare (Hacke et al., 2000) si abbassa il gradiente di pressione tra suolo e foglia (Tyree e Ewers, 1991; Mencuccini e Grace, 1995) che va a ridurre il rischio di embolia.

Si osservano inoltre correlazioni tra densità del legno, forza meccanica e proprietà anatomiche dei vasi e delle fibre con la resistenza alla cavitazione (Wagner et al., 1998; Hacke et al., 2001; Sperry, 2003; Baas et al., 2004; Jacobsen et al., 2005).

La vulnerabilità alla cavitazione è infatti influenzata dalla struttura dello xilema (Hacke et al., 2001; Domec e Gartner, 2002) ed è particolarmente connessa al rapporto lumen/parete cellulare dello xilema (Hacke et al., 2001): pareti cellulari più spesse e

lumen a diametro più piccolo aiutano le piante a preservare il sistema idraulico aumentando la resistenza del flusso e al collasso della parete (Pittermann et al., 2006). Il diametro del lumen e lo spessore della parete cellulare sono relazionati alla densità del legno che è funzione del rapporto tra la massa (relativa alla parete cellulare) e il volume del campione (Pittermann et al., 2006). Di conseguenza, una variazione della densità del legno potrebbe avere un impatto sulle proprietà idrauliche e sulla vulnerabilità alla cavitazione (Dalla-Salda et al., 2011).

La conduttanza idraulica specifica  $k_s$  è una misura potenziale di una quantità di acqua che passa per una determinata sezione trasversale e lunghezza di ramo o fusto guidata da una forza. In natura la forza che guida il flusso di acqua è la differenza di potenziale idrico tra il sistema suolo-pianta-atmosfera. Essa dipende dalla disponibilità di acqua alle radici, dalla superficie radicale e fogliare che a sua volta guida, con le condizioni ambientali, la traspirazione. In laboratorio però, la conduttanza idraulica di campioni legnosi viene misurata utilizzando una certa pressione che non corrisponde a quanto avviene nella realtà.

La conduttanza varia anche a seconda del tipo di porosità: specie a porosità diffusa e specie a porosità anulare hanno comportamenti diversi. Ogasa et al. (2010), dopo aver sottoposto due specie allo stress idrico, hanno osservato che la specie a porosità diffusa (*Betula platyphylla*) mostrava una strategia di recupero basata sul 'riutilizzo' dei vasi, cioè, al momento in cui venivano ristabilite le condizioni di idratazione, i vasi che avevano mostrato cavitazione al momento dello stress, recuperavano la loro funzionalità, seppur in un arco di tempo di circa 24 ore. Al contrario, la specie a porosità anulare (*Quercus serrata*), non mostrava tale capacità di recupero, mantenendo la cavitazione soprattutto nei vasi più grandi del legno dell'anno e in quelli del legno di un anno, mentre i vasi più piccoli mostravano una maggiore capacità di recupero.

La conduttanza idraulica viene distinta in  $k_a$  (specifico per la sezione) e  $k_h$  (specifico per la lunghezza).  $k_h$  è calcolata in base alla formula (Smith e Ennos, 2003):

$$k_h = \frac{Q}{L \Delta \psi}$$

dove

$F$  è il flusso in  $\text{m}^3 \text{s}^{-1}$ ,  $L$  è la lunghezza della sezione di ramo,  $\Delta P$  è la differenza di pressione in Pa.

$k_a$  è data dalla formula:

$$k_a = 4k_h/\pi d^2$$

dove  $d$  è il diametro della sezione

Oltre alla disponibilità idrica, anche la forma di crescita e *l'habitus* influenzano la resistenza alla cavitazione con le specie sempreverdi maggiormente resistenti rispetto quelle decidue (Martínez-Vilalta et al., 2002; Maherali et al., 2004) e quindi più in grado di mantenere il turgore cellulare e un più alto potenziale idrico a livello della chioma.

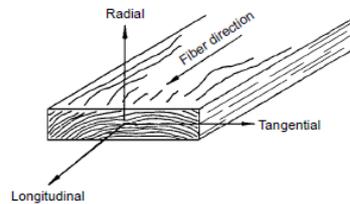
L'anatomia del sistema vascolare del legno è influenzata dalle condizioni di crescita della pianta e dalle strategie di crescita (Preston et al., 2006) e per alcune proprietà è stato riscontrato un valore adattativo alla siccità (Dalla-Salda et al., 2011) come l'ereditarietà mostrata per la densità del legno (Cornelius, 1994; Johnson e Gartner, 2006), nonostante si registri una variabilità genetica intra-specifica per le proprietà idrauliche (Dalla-Salda et al., 2009).

### *Proprietà meccaniche*

La pianta, vincolata a condizioni ambientali in continuo cambiamento (umidità del suolo, vento, spazio di crescita etc.), è soggetta a cambiare considerevolmente le proprietà del legno e queste si ripercuotono sulla funzionalità meccanica, ad esempio legata alla funzione di supporto, ma anche su quella idraulica.

Il legno senza difetti è un materiale anisotropo cioè, in un generico punto, presenta caratteristiche fisico-meccaniche diverse nelle varie direzioni (Giordano, 1999) e, prescindendo dalla sua non omogeneità, si considera generalmente ortotropico cioè con proprietà meccaniche indipendenti nelle direzioni dei tre assi: longitudinale, radiale e tangenziale (Fig. 1). L'asse longitudinale è parallelo alle fibre; quello radiale è perpendicolare agli anelli di crescita e quello tangenziale è perpendicolare alle fibre ma tangente agli anelli di crescita.

I parametri descrittivi delle proprietà del legno dipendono quindi dalle variabili assiali, tuttavia generalmente vengono valutati quelli in relazione all'asse longitudinale.



**Fig. 1.** Indicazione degli assi rispetto la direzione delle fibre e degli anelli di accrescimento.

Alcuni materiali, se sottoposti a un carico su tale asse, cambiano forma, alterando la lunghezza in modo proporzionale alla forza applicata per poi tornare alla forma originale dopo che è stato rimosso.

Nei materiali elastici la relazione tra forza applicata e la deformazione subita è lineare ed è nota come Legge di Hooke. Più grande è il carico che viene applicato, più aumenta la deformazione fino ad un punto in cui la forza di reazione della struttura è superata e si verifica la rottura. Il rapporto tra forza applicata ( $P$ ) e la superficie della sezione ( $A$ ) su cui agisce indica l'intensità della forza per unità di superficie su cui agisce ed è detto "tensione":

$$\sigma = P/A$$

Nel sistema internazionale  $\sigma$  ha come unità di misura il Newton per metro quadro ( $\text{Nm}^{-2}$ ) o Pascal (Pa).

La deformazione (il cambiamento di lunghezza,  $\Delta L$ ) che subisce un materiale elastico dipende dalla tensione applicata ma anche dalla sua lunghezza originale ( $L$ ) ed è inversamente proporzionale al modulo elastico ( $E$ ).

—

e il rapporto tra  $\Delta L$  e la lunghezza originale  $L$  è la deformazione ( $\epsilon$ ), adimensionale:

—

Tra le proprietà meccaniche del legno riferiamo in questo lavoro sull'elasticità del materiale indicata dal modulo elastico ( $E$  o modulo di Young) e sulla resistenza del

materiale (YS, *strenght* in inglese) indicata dalla tensione al limite di rottura ossia la tensione alla quale il materiale incomincia a deformarsi plasticamente.

L'elasticità implica un ritorno della struttura deformata alla condizione originale dal momento che la forza viene rimossa. La stessa varia da specie a specie ed anche in base al contenuto idrico del legno ed in generale si riferisce all'asse longitudinale.

Il modulo elastico (E) indica la rigidità del materiale ed è indicato dalla pendenza iniziale della curva tra tensione applicata e deformazione (più E è alto, più il materiale è rigido) e in base alle equazioni precedenti si esprime come:

$$\text{—} \quad \text{o} \quad \text{—}$$

Nel sistema internazionale E ha come unità di misura il Newton per metro quadro ( $\text{Nm}^{-2}$ ) o Pascal (Pa).

La resistenza di un materiale è data dal massimo valore di tensione (YS) che il materiale sopporta prima della rottura e si calcola con:

$$\sigma_{\max} = P_{\max}/A$$

Materiali resistenti hanno un alto valore di tensione di rottura mentre quelli fragili hanno un valore basso. Nel sistema internazionale  $\sigma_{\max}$  ha come unità di misura il Newton per metro quadro ( $\text{Nm}^{-2}$ ) o Pascal (Pa).

La rigidità (E) e la resistenza (YS) sono legate alla densità del legno che può essere associata alle caratteristiche anatomiche del legno per esempio quelle dei vasi xilematici. Uno studio svolto da Preston (2006) su 51 specie ha evidenziato una correlazione negativa tra contenuto idrico del suolo e densità del legno (D), con le specie cresciute in suoli più umidi caratterizzate da un legno meno denso, diametri dei vasi più grandi e alti valori del rapporto area fogliare/superficie di conduzione.

La dimensione dei vasi e tale indice infatti, rappresentano l'approvvigionamento idrico alle foglie (Maherali et al., 1997) e maggiore è la densità del legno, soprattutto se dovuta a un ispessimento delle pareti cellulari, più è negativo il potenziale minimo stagionale tollerabile (Preston, 2006; Hacke et al., 2001; Jacobsen et al., 2005).

Tuttavia, la rigidità del legno non dipende solo dalla densità del legno in quanto anche altri fattori strutturali possono avere implicazioni come noto dall'esperienza di Fournier et al. (2006) su alcune specie in cui la relazione tra D e E era molto debole o assente. Infatti, anche altre proprietà come la diminuzione dell'angolo di inclinazione delle

microfibrille della parete secondaria della parete cellulare (Bendtsen e Senft 1986; Schniewind and Gammon, 1986), il volume occupato dai raggi midollari (Woodrum et al., 2003) e il contenuto di lignina (Kohler et al., 2000) possono incidere sulle proprietà meccaniche del legno.

Dalle proprietà meccaniche del legno dipendono poi le proprietà idrauliche, infatti spesso si osserva una correlazione positiva tra  $ks$  e  $E$  (Mencuccini et al., 1997) che va ad avvantaggiare le piante che devono trasportare acqua dalle radici alle foglie in altezza, e allo stesso tempo resistere meccanicamente a sollecitazioni ambientali come il vento.

### ***1.1.3 Effetti sullo stato di idratazione della foglia: il potenziale idrico***

La crescita di una pianta dipende da due sostanze fondamentali che sono l'acqua ( $H_2O$ ) assorbita dal terreno attraverso le radici e l'anidride carbonica ( $CO_2$ ) atmosferica che passa all'interno della foglia attraverso le aperture stomatiche.

L'assorbimento dell'acqua a livello radicale è a sua volta guidato dal tasso di traspirazione e dipende dal gradiente di potenziale nel sistema suolo-pianta-atmosfera. Il potenziale infatti decresce dal terreno all'atmosfera.

Il potenziale indica la capacità di un sistema a compiere un lavoro in condizioni isoterme e il potenziale idrico definisce l'energia con cui l'acqua è trattenuta dal terreno o da un mezzo (ad esempio nel caso del sistema di trasporto all'interno di una pianta) dando quindi un'indicazione della capacità dell'acqua a muoversi ed è espresso nell'unità di misura della pressione (MPa).

Quando il potenziale idrico di un terreno è nullo significa che il terreno si trova in una condizione di presenza stabile dell'acqua come nel caso di un terreno alla massima capacità idrica ( $\Psi=0$ ) mentre un valore negativo indica che si deve compiere un lavoro per sottrarre dell'acqua al sistema (suzione); un terreno alla capacità di campo per esempio misura un potenziale di circa -0.01 MPa mentre al punto di appassimento, per la maggior parte delle colture erbacee e arboree, è di circa -1 MPa (Mariani, 2004).

All'interno delle piante il potenziale idrico è determinato da una serie di forze cui sono sottoposte le particelle d'acqua:

- ✓ potenziale matriciale ( $\Psi_m$ ): si riferisce all'affinità per l'acqua della matrice solida della pianta (superfici di corpi come le cellule).

- ✓ potenziale gravitazionale ( $\Psi_g$ ): legato alla forza di gravità che induce l'acqua a muoversi dall'alto verso il basso. All'interno della pianta tale forza è contrastata dalla forza opposta che permette il movimento dell'acqua in senso opposto. Generalmente non viene considerato, se non in alberi di notevoli altezze in quanto il potenziale gravitazionale è direttamente proporzionale alla densità del liquido e all'altezza del vaso dal piano di riferimento (più piccola è l'altezza, più esigua è l'incidenza del potenziale).
- ✓ potenziale osmotico ( $\Psi_o$ ): deriva dalle attrazioni intermolecolari fra molecole d'acqua e molecole o ioni disciolti che influenzano il potenziale idrico riducendo l'energia libera dell'acqua.
- ✓ potenziale idrostatico ( $\Psi_p$ ) si riferisce alla pressione esercitata dall'acqua sul sistema e può essere negativo (ad esempio nei vasi xilematici) o positivo (turgore cellulare). All'interno delle cellule la pressione idrostatica è positiva.

$$\Psi = \Psi_m + \Psi_g + \Psi_o + \Psi_p$$

Il potenziale idrico fogliare misurato prima dell'alba (*predawn*) è considerato come una misura del potenziale idrico del terreno in quanto, a stomi chiusi, il sistema suolo-pianta viene considerato stabile. Con la radiazione solare invece, gli stomi cominciano ad aprirsi e il valore del potenziale idrico fogliare si abbassa a livelli inferiori rispetto a quello del terreno, inducendo un flusso di acqua dal terreno all'atmosfera (traspirazione).

Il potenziale minimo invece, esprime l'energia con cui viene trattenuta l'acqua nelle ore di massima necessità idrica, come le ore centrali della giornata.

In condizioni di stress idrico le piante attuano dei meccanismi che impediscono la perdita di acqua dai tessuti permettendo di mantenere il turgore cellulare e ridurre al minimo le interruzioni del metabolismo.

L'aggiustamento osmotico per esempio si verifica con un incremento della concentrazione dei soluti come ioni inorganici, proline, saccarosio, carboidrati solubili (Moghaieb et al., 2004; Carvalho, 2005), acidi organici, e soluti compatibili (Munns, 1988; Savé et al., 1993; Touchette et al., 2007; Munns e Tester, 2008) nel citoplasma, incrementando l'assorbimento idrico dal suolo. In questo modo viene mantenuto il turgore cellulare, garantendo il funzionamento dell'attività fisiologica e quindi di processi produttivi come la fotosintesi e la crescita. Tuttavia, quando si verifica un forte

stress idrico, può accadere che il ruolo dell'aggiustamento osmotico diminuisca perché ostacolato dalla cavitazione, quindi il trasporto idraulico rimane di fondamentale importanza nella resistenza allo stress (Ennajeh et al., 2008).

Il mantenimento del turgore può anche essere ottenuto aumentando l'elasticità nei tessuti (modulo elastico,  $\epsilon$ ) in modo da permettere il raggiungimento di bassi valori di potenziale idrico senza arrecare danni irreversibili ai tessuti. Infatti, più i tessuti sono rigidi, maggiore è la velocità con cui tendono le cellule a perdere il turgore, e dall'altro lato, maggiore è anche il richiamo di acqua dal suolo (Kramer e Boyer, 1995). Il mantenimento del contenuto idrico relativo dei tessuti salvaguarda la cellula dalla presenza di concentrazioni di ioni possibilmente tossici (Pallardy, 2008).

L'elasticità dei tessuti è quindi un fattore favorevole soprattutto in quelle specie che non attuano l'aggiustamento osmotico, ma non è ancora chiaro il meccanismo con cui viene regolata. Specie dello stesso genere possono infatti mostrare dei comportamenti opposti e anche in assenza di siccità le piante svilupperebbero valori di  $\Psi$  e  $\epsilon$  diversi, apparentemente determinati geneticamente (Pallardy, 2008).

Sulla base della relazione tra potenziale idrico minimo e traspirazione fogliare, le specie si distinguono in isoidriche (dette stabili) e anisoidriche (o labili) (Zanin et al., 1993). Le prime sono in grado di limitare le perdite d'acqua grazie all'efficiente regolazione dell'apertura degli stomi mantenendo un'attività traspirativa fino a potenziali fogliari molto bassi. Questo comportamento limita il loro consumo di acqua, permettendo lo sviluppo anche in condizioni di stress prolungato. Le specie anisoidriche sono invece caratterizzate da una scarsa regolazione stomatica e tendono a mantenere un elevato tasso di traspirazione, chiudendo però gli stomi a potenziali ancora relativamente elevati. In questa maniera la pianta massimizza l'accrescimento finché il suolo ha dell'acqua facilmente disponibile, per poi arrestarlo in attesa di un ritorno della disponibilità idrica a livelli non limitanti. Questo comportamento può condurre alla morte della pianta in caso di stress prolungati (Berti et al., 2010).

#### ***1.1.4 Effetti sugli scambi gassosi***

Quando le piante sono sottoposte a condizioni di stress idrico applicano dei meccanismi di risposta veloci. Più veloce è la risposta alla condizione limitante, minore sarà la quantità di acqua persa e più alta la probabilità di resistere a tale condizione.

Tra questi meccanismi si annoverano i cambiamenti dell'angolo fogliare (Jones e Corlett, 1992; Zlatev, 2005) per evitare l'esposizione diretta alla radiazione, cambiamenti delle proprietà idrauliche del sistema di trasporto e soprattutto, della conduttanza stomatica.

Gli stomi sono costituiti da due cellule di guardia che delimitano la rima stomatica e quando si verificano delle condizioni di stress le cellule di guardia perdono turgore liberando ioni potassio cui segue la perdita di acqua per osmosi e determinando la chiusura della rima.

Quando il deficit di pressione di vapore tra lo spazio intercellulare e lo strato limite aumenta, la pianta attua una graduale chiusura stomatica in modo da mantenere il potenziale sopra una certa soglia critica e proteggendo lo xilema dalla cavitazione (David et al., 2004).

Dall'apertura stomatica dipende sia la quantità di acqua perduta per traspirazione sia la concentrazione di CO<sub>2</sub> in entrata e quindi in una situazione di stress idrico, le piante riducono la perdita idrica a scapito però dell'assorbimento di CO<sub>2</sub>. La conseguenza indiretta è l'inibizione della divisione cellulare e dell'espansione cellulare che si manifesta in una crescita ridotta delle piante.

La sensibilità degli stomi allo stress idrico dipende sia dalla risposta diretta allo stress idrico che avviene a livello fogliare, come l'abbassamento del valore di potenziale idrico dei tessuti (Boyer, 1985), sia dall'influenza di altre risposte indirette che provengono da altre parti della pianta. Lo stimolo indiretto alla chiusura stomatica proviene dall'apparato radicale ed è determinato dall'aumento dell'ABA che viene traslocato dalla radice alla foglia (Loewestein e Pallardy, 1998).

Al diminuire dell'umidità del suolo si osserva un abbassamento del potenziale idrico fogliare e una diminuzione della conduttanza stomatica: le radici e lo stato idrico del terreno giocano un ruolo importante nel regolare il flusso idraulico attraverso lo xilema e di conseguenza il tasso di traspirazione (Hogg e Hurdle, 1997; Hogg et al., 1997) sia stomatica sia attraverso gli spazi intercellulari dell'epidermide.

La regolazione stomatica controlla quindi la traspirazione ma in un suolo che perde umidità la riduzione della traspirazione non risparmia dal rischio di formazione di emboli nei vasi xilematici (Tognetti et al., 2009).

La chiusura stomatica che si registra quando il potenziale idrico non è fortemente negativo non deve essere semplicisticamente identificata come un adattamento utile alla pianta perché questo effetto, se da un lato va a beneficio delle relazioni idriche, dall'altro è al costo di una fotosintesi ridotta.

Per valutare l'efficienza degli scambi gassosi fogliari in termini di carbonio assorbito per quantità di acqua perduta per traspirazione, si utilizza il parametro *water use efficiency* per la fotosintesi ( $WUE_{Ph}$ ).  $WUE_{Ph}$  è infatti il rapporto tra assimilazione del carbonio e la traspirazione fogliare, ed aumenta quando si abbassa la conduttanza stomatica (Grant et al., 2012).

In caso di una forte diminuzione  $g_s$  si arriva a una progressiva riduzione dell'attività fotosintetica (Lawlor e Cornic, 2002) con conseguente danno metabolico come ad esempio quello indotto al metabolismo dell'amido e del saccarosio (Sharkey e Seemann, 1989).

La riduzione della fotosintesi che si verifica in condizioni di stress riflette la minore diffusione di  $CO_2$  dall'atmosfera all'interno della foglia che si dovrebbe dunque manifestare in una diminuzione della  $CO_2$  negli spazi intercellulari ( $C_i$ ). Ciò nonostante, alcuni studi hanno dimostrato che  $C_i$  può rimanere piuttosto costante probabilmente per l'aumento dell'attività fotorespiratoria (Tenhunen et al., 1984) o la bassa efficienza della carbossilazione, mettendo in discussione l'utilizzo e quindi la diminuzione di  $C_i$ .

Altre motivazioni che potrebbero dare una risposta alla minore assimilazione del carbonio anche in condizioni di stress moderato, sono connesse all'inibizione della sintesi di Rubisco, associata alla riduzione del contenuto di ATP a causa di una fosforilazione danneggiata o per la perdita di ATP-sintasi (Tezara et al., 1999), oppure per una attività ridotta della Rubisco-attivasi, cui consegue l'alterazione del metabolismo fogliare (Cornic, 2000).

La chiusura stomatica quindi dipende dalla condizione di stress a livello fogliare ma la sensibilità della risposta dipende piuttosto dalla specie. Specie tipiche di *habitat* e regioni aride mostrano un ritardo della chiusura stomatica, una maggiore assimilazione del carbonio (Ni e Pallardy, 1991) e una grande capacità di tollerare le tensioni negative determinate dalla perdita idrica, sviluppando adattamenti morfologici e fisiologici fogliari tali da ridurre la traspirazione.

Qui di seguito si elencano gli adattamenti indicati da Pallardy (1981) e che verranno descritti nel paragrafo successivo:

- ✓ *riduzione della crescita*
- ✓ *riduzione della superficie fogliare e alterazione morfologica*
- ✓ *abscissione fogliare*
- ✓ *aumento dell'efficacia della cuticola*
- ✓ *alterazione della morfologia stomatica e del controllo stomatico*

### **1.1.5 Effetti sulle caratteristiche morfo-anatomiche fogliari**

Le piante che vivono in ambienti aridi mettono in atto delle modificazioni morfologiche per ridurre la perdita di acqua per traspirazione, resistere allo stress idrico o alla elevata irradiazione.

Per esempio è noto che le specie sempreverdi abbiano un mesofillo più spesso rispetto le specie decidue dovuto a un numero maggiore di strati cellulari (così come le specie eliofile hanno un tessuto palizzata più spesso) che garantiscono una maggiore capacità fotosintetica per unità di area.

Pallardy (1981) indica le seguenti modificazioni che contribuiscono alla riduzione della traspirazione e quindi alla resistenza allo stress idrico.

- ✓ *Riduzione della crescita*

Le modificazioni morfologiche sono strettamente collegate alla provenienza di una specie che gioca un ruolo importante in quanto induce l'acquisizione di caratteristiche comportamentali e di portamento. Ad esempio, le specie provenienti da ambienti xerici presentano un tasso di crescita ridotto e una chioma di dimensione ridotta in modo da limitare la superficie evapotraspirante (Grime, 1979).

- ✓ *Riduzione della superficie fogliare e alterazione della morfologia*

La foglia risponde alle condizioni ambientali cambiando le sue caratteristiche strutturali e anatomiche. Una bassa superficie fogliare riduce la traspirazione potenziale e questo adattamento è infatti tipico di piante desertiche o di specie Mediterranee che sono soggette ad una elevata dispersione idrica in periodi più o meno lunghi nell'arco dell'anno. Anche le foglie prodotte durante un periodo di

siccità presentano delle dimensioni ridotte rispetto quelle prodotte durante un periodo di appropriato approvvigionamento idrico.

Una condizione di stress idrico produce altri effetti chiari come l'ispessimento fogliare e dei tessuti (epidermidi superiore e inferiore, palizzata e lacunoso) ma anche la maggiore presenza di tricomi per creare uno strato limite a prevenzione della traspirazione.

L'aumento dello spessore del parenchima palizzata avvantaggia la foglia perché incrementa il numero di siti di fissazione della CO<sub>2</sub> mentre l'aumento di spessore del parenchima lacunoso può migliorare la diffusione interna della CO<sub>2</sub> per la maggiore presenza di spazi intercellulari. Questi cambiamenti, associati a una maggiore densità stomatica, migliorano l'approvvigionamento di CO<sub>2</sub> per la foglia.

✓ *Abscissione fogliare*

Questo comportamento è tipico delle piante che perdono le foglie durante la siccità come fanno per esempio molte specie del deserto. Nelle zone temperate l'abscissione fogliare è un adattamento alla siccità (Pallardy, 2008) per difendersi dalla essiccazione totale dei meristemi vitali anche se a costo della perdita di fotosintetati.

✓ *Modificazioni istiochimiche*

Lo stress idrico favorisce processi che inducono delle modificazioni istiochimiche dei tessuti come la formazione di callosio che è importante nella difesa da stress e dall'attacco di patogeni (Gindro et al., 2003) e la lignificazione che è guidata dalle perossidasi, attivate dalla presenza di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e che innescano la polimerizzazione della lignina (Ros Barceló, 1997). Il processo di lignificazione della parete cellulare è molto importante sia perché fondamentale nel sostegno meccanico da parte dei tessuti meccanici e vascolari dando rigidità alle pareti cellulari, sia perché contribuisce all'impermeabilità dei tessuti vascolari (Ros Barceló, 1997).

Inoltre, le specie che vivono in ambienti siccitosi hanno foglie cutinizzate in quanto rispondono allo stress con un maggior deposito di cere e cutina (Pallardy e Kozlowski, 1980). Per questo, la cuticola è generalmente più spessa, permettendo un abbassamento dei valori di traspirazione che avviene non solo a livello degli stomi ma anche attraverso lo strato di cellule epidermiche anche se in misura nettamente minore soprattutto nelle piante xerofite. In questa tipologia di piante, le pareti esterne

delle cellule epidermiche sono fortemente cutinizzate e con la cuticola aumentano l'impermeabilità.

✓ *Alterazione della morfologia e del controllo stomatico*

Il deficit idrico comporta delle modificazioni a livello stomatico che sono inerenti sia il controllo della chiusura/apertura degli stomi ma anche il loro stesso sviluppo. Per esempio la densità stomatica è un indice che risponde a molti fattori ambientali come l'alta concentrazione di anidride carbonica (Woodward, 1987; Paoletti E. et al., 1997), lo stress idrico (Lecoeur et al., 1995; Galmés et al., 2007), salino (Zhao et al., 2006) e l'ombreggiamento. Pur riscontrando un certo grado di incertezza e di variabilità (Galmés et al., 2007), in molte specie Mediterranee all'aumentare dello stress idrico generalmente aumenta la densità stomatica (McCree e Davis, 1974; Cutler et al., 1977) e si riduce la dimensione dello stoma risultando come miglioramento adattativo alla siccità (Cutler et al., 1977; Martinez et al., 2007).

Per misurare il grado di acclimatazione di una pianta a un ambiente xerico o allo stress idrico vengono utilizzati degli indici di sclerofillia come:

- *LMA (Leaf Mass per Area)*: dato dal rapporto tra massa fogliare e area fogliare, è implicato anche in molti aspetti funzionali della foglia (Poorter et al., 2009) come gli scambi gassosi, il tasso di fotosintesi, il tasso di decomposizione (Cornelissen et al., 1999). Esso è ampiamente usato in ecologia. Foglie con un alto LMA hanno investito molto in sostanza organica rispetto la superficie di intercettazione della luce e presentano tessuti più sclerificati o meno spazi intercellulari. LMA difatti si correla positivamente (Castro-Diez et al., 2000) con la densità fogliare che, dipendendo dalla proporzione all'interno della foglia tra forme gassose, liquide e solide, è connessa alle caratteristiche dei tessuti di supporto, per esempio al maggior contenuto di lignine e quindi di carbonio rispetto l'azoto (van Arendonk e Poorter, 1994).
- *LDMC (Leaf Dry Mass Content)*: dato dal rapporto tra massa secca e massa fresca.
- *SLA (Specific Leaf Area)*: data dal rapporto tra area fogliare e massa secca, reciproco di LMA. Le specie che presentano una rapida produzione di biomassa hanno un alto valore di SLA e basso valore di LDMC, mentre quelle che

presentano una capacità di conservazione dei nutrienti mostrano un basso valore di SLA e alto valore di LDMC (Garnier et al., 2001).

- Il grado di succulenza (S), dato dal rapporto tra il contenuto idrico massimo (calcolato come differenza tra peso fresco della foglia completamente idratata e peso secco) e l'area fogliare (Mantovani, 1999), dà un'indicazione della capacità della pianta di trattenere acqua e maggiore è questa capacità, maggiore sarà la resistenza alla siccità, soprattutto se associata a un basso tasso di traspirazione.

### ***1.1.6 Effetti sulla efficienza dell'apparato fotosintetico***

Quando una pianta è sottoposta a stress ambientali come lo stress idrico, le reazioni della fase luminosa della fotosintesi vengono influenzate da alterazioni funzionali e strutturali che si verificano a livello dell'apparato fotosintetico.

In condizioni ottimali le foglie di piante mature utilizzano più del 90% dei fotoni di luce assorbiti nelle reazioni fotochimiche primarie dei due fotosistemi (PSII e PSI) (Taiz e Zeiger, 2002), ma quando cambiano le condizioni, anche una moderata illuminazione può provocare danni ossidativi derivanti dall'eccesso di energia che provoca la produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS, *Reactive Oxygen Species*). Le ROS comprendono composti come superossidi, ossigeno singoletto, perossido di idrogeno e radicali idrossili che possono provocare l'ossidazione delle proteine, la degradazione della clorofilla, la perossidazione dei lipidi e l'inibizione dell'attività enzimatica (Mittler, 2002). Il livello di tali sostanze è comunque controllato da sistemi enzimatici che includono le superossido dismutasi, catalasi, ascorbato perossidasi e guaiacolo perossidasi (Sofa et al., 2004) e da sistemi non enzimatici come ascorbato, carotenoidi e diversi composti fenolici che hanno un'attività antiossidante.

Le piante inoltre hanno sviluppato anche dei meccanismi di difesa che consistono nella dissipazione energetica come il *non-photochemical quenching* (Ruban e Horton, 1995) ossia la dissipazione energetica come calore (si verifica quando la fissazione della CO<sub>2</sub> e il consumo di ATP diminuiscono) e l'emissione di fluorescenza. La fluorescenza rappresenta una piccolissima frazione della radiazione emessa dalla foglia ed è principalmente dovuta al PSII. La lunghezza d'onda della fluorescenza è 685 nm per quella emessa dal solo PSII e 715 nm quella emessa dal PSII e il PSI e viene utilizzata

per indagare il comportamento dell'apparato fotosintetico in quanto dà un'indicazione della sua energia di eccitazione e viene quindi associata alla biofisica dell'apparato.

I primi studi relativi alle reazioni primarie della fotosintesi associate alla fluorescenza risalgono agli anni '30 del XX secolo con Kautsky e Hirsh che descrissero l'andamento della fluorescenza della Chl $a$  emessa da una foglia adattata al buio e illuminata con luce attinica: crescente all'inizio per raggiungere un picco massimo, poi decrescente fino al raggiungimento di uno stato finale stazionario, il tutto verificandosi in tempi brevi. Questo effetto venne detto 'Effetto Kautsky' o *transient* della fluorescenza.

La fluorescenza massima indica la riduzione del pool dei plastochinoni (e lo stato di chiusura dei centri di reazione), la fase discendente è associata alle reazioni enzimatiche necessarie alla sintesi di ATP, NADPH e alla riduzione della CO $_2$  nella fase oscura che avviene nello stroma. Infine, il livello stabile esprime l'equilibrio fra l'assorbimento dell'energia luminosa e l'organizzazione del carbonio (Schreiber et al., 1994).

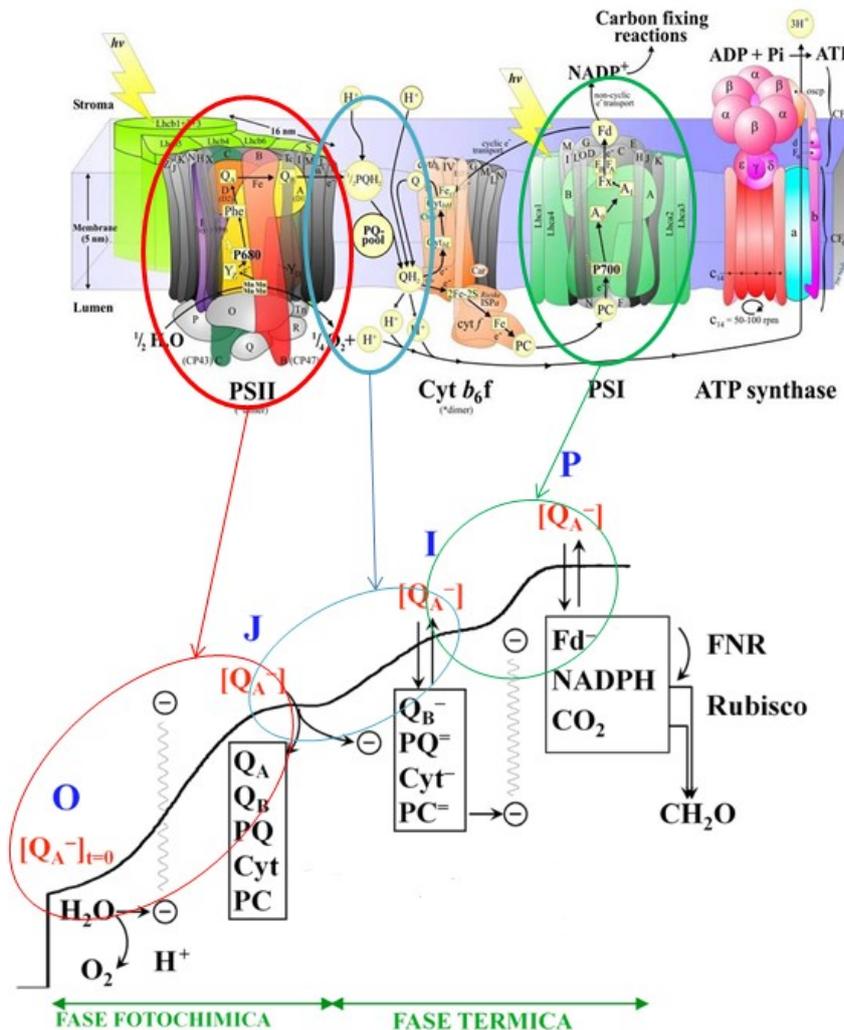
L'analisi che oggi è molto utilizzata è invece quella basata sulla Teoria del Flusso di Energia nelle Biomembrane (Strasser, 1978; Strasser, 1981) che permette la derivazione dei legami tra il comportamento energetico dell'apparato fotosintetico e i segnali di fluorescenza, e sul rendimento della fluorescenza del PSII che è determinato dallo stato di apertura o chiusura dei centri di reazione (RC).

Nella curva della fluorescenza si individuano i livelli di intensità energetica corrispondenti a precisi stati fisiologici dell'apparato fotosintetico che dipendono dallo stato di funzionamento dei suoi singoli componenti (Fig. 2):

- lo stato di attivazione del RC del PSII che intrappola l'energia di eccitazione,
- la capacità di riduzione degli accettori di elettroni Feofitina, plastochinone A (Q $_A$ ) e plastochinone B (Q $_B$ ),
- lo stato del sistema di fotolisi dell'acqua (OEC - *Oxygen Evolving Complex*),
- la capacità di trasporto degli elettroni oltre il Q $_A^-$ , ossia attraverso il *pool* del Plastochinone (PQ), e il complesso del Citocromo (Cyt $b_6$ f) che veicola gli elettroni verso il PSI
- lo stato del PSI dove avverrà la riduzione degli accettori finali, Plastocianina (PC) e Ferredossina (Fd), che permetteranno la riduzione di NADP $^+$  a NADPH.

Il NADPH e l'ATP prodotti serviranno alle reazioni di fissazione del carbonio nel ciclo di Calvin Benson, fase della fotosintesi indipendente dalla luce.

Sul *transient* della fluorescenza di campioni adattati al buio e illuminati da una luce saturante attinica si individuano gli *steps* O-J-I-P che corrispondono a delle precise fasi legate al trasporto elettronico (Fig. 2).



**Fig. 2** Struttura dell'apparato fotosintetico, del trasporto lineare di elettroni e la corrispondenza con le fasi OJIP della curva della fluorescenza. Sono indicati gli stati di riduzione degli accettori di elettroni (modificato da Strasser, comunicazione a workshop e Bussotti et al. 2012)

L'aumento dell'emissione di fluorescenza in O (inizio) e P (picco) dipende dal funzionamento dei donatori e accettori di elettroni nel PSII, e la connessione fra i vari elementi dell'apparato fotosintetico (Bussotti et al., 2012). La parte OJ del transient è

una fase fotochimica in cui si ha l'assorbimento dei fotoni nel complesso antenna e l'eccitazione delle molecole di clorofilla con la successiva trasmissione dell'energia di eccitazione al RC. La clorofilla, in uno stato energetico superiore, perde un elettrone che entra nella catena di trasporto elettronico andando a ridurre dapprima la Feofitina e poi il  $Q_A$ .

L'elettrone perduto viene recuperato dallo *split* della molecola d'acqua per opera del OEC mentre la fase J finisce quando l'accettore secondario  $Q_A$  è riossidato.

La fase tra J e I e P è una fase termica e corrisponde al trasporto elettronico tra PSII e PSI (J-I) e la successiva riduzione degli accettori finali quali la Fd e il  $NADP^+$  (I-P).

Il *transient* è molto sensibile agli stress ambientali come l'intensità della luce, il deficit idrico, la  $CO_2$  atmosferica e l'ozono (Strasser et al., 2004) e in esso si possono individuare ulteriori flessi. Per esempio si osserva un aumento della fluorescenza a circa 100-150  $\mu s$ , in corrispondenza della banda L, che indica una perdita di connettività tra le unità del PSII e a 300  $\mu s$ , in corrispondenza della banda K (Srivastava et al., 1997), che indica una inattivazione dell'OEC responsabile di uno stato sbilanciato tra il flusso di elettroni che lascia il RC per andare a ridurre l'accettore e il flusso di elettroni che va dall'OEC al RC.

Gli *steps* del *transient* che sono stati presi in considerazione per l'analisi dei dati in questa ricerca vengono indicati in base al valore di fluorescenza nel riquadro a pagina seguente.

$F_0$  = fluorescenza iniziale a ca. 50  $\mu$ s. Corrisponde allo stato di apertura o chiusura del centro di reazione. Se i centri di reazione sono completamente aperti sono capaci di intrappolare l'energia di eccitazione trasmessa attraverso le molecole di clorofilla eccitate dal fotone di luce e trasmetterla prima al primo accettore di elettroni (Feofitina) e poi al  $Q_A$ , innescando la catena di trasporto degli elettroni.

**Banda L** = fluorescenza a ca. 100  $\mu$ s. Indica una perdita di connettività tra le unità del PSII. Il valore viene calcolato attraverso la normalizzazione

$$[(F_{100} - F_0)/(F_K - F_0)]$$

**Banda K** = fluorescenza a ca. 300  $\mu$ s. Indica un danneggiamento dell'OEC. Il valore di fluorescenza viene calcolato attraverso la normalizzazione

$$[(F_{300} - F_0)/(F_J - F_0)]$$

$F_J$  = fluorescenza allo *step* intermedio J, a circa 2ms. Corrisponde allo stato di ossidazione del  $Q_A$ .  $Q_A$ , accettando l'elettrone proveniente dalla Feofitina, si riduce e successivamente, trasmettendo l'elettrone al  $Q_B$ , si ossida. La sua riossidazione dipende dall'attività del PSI.

$F_I$  = fluorescenza allo *step* intermedio I, a circa 30 ms. Corrisponde al passaggio di elettroni al PSI. Una alta fluorescenza a questo livello potrebbe indicare l'incapacità del PSI di condurre alla produzione di  $NADP^+$ .

$F_M$  = fluorescenza massima, a circa 500 ms e indica lo stato di chiusura dei RC e di riduzione degli accettori del PSII. Un basso valore di  $F_M$  indica una situazione di stress.

I fattori ambientali influiscono sia a livello fisiologico sia sul funzionamento dell'apparato fotosintetico cui le piante cercano di rispondere con delle strategie.

Lo stress idrico per esempio induce nella pianta una maggiore resistenza alle alte temperature in quanto il PSII è più stabile (Havaux, 1992; Lu e Zhang, 1999) mostrando una bassa e reversibile riduzione dell'efficienza. Larcher (2000) e Bussotti (2004) hanno osservato inoltre che le alte temperature estive (a parte quando si raggiungono valori limitanti che causano la denaturazione di proteine) rendono più veloce il trasporto degli elettroni e quando la temperatura supera i 35-40 °C si osserva un aumento di  $F_0$  (Yamane et al., 2000), il declino di  $\Phi_{P_0}$  (Baker e Rosenqvist, 2004; Weng e Lai, 2005) per esempio in funzione del contenuto idrico o del potenziale idrico fogliare (Scarascia-Mugnozza et al., 1996; Faraloni et al., 2011), anche se altri autori affermano che questo

parametro subisce cambiamenti poco significativi (Lu e Zhang, 1999, Cornic e Fresnau, 2002). Inoltre si può osservare la comparsa della banda K che indica o una limitazione dell'efficienza del donatore di elettroni OEC al centro di reazione del PSII o un cambiamento dell'architettura del PSII (Srivastava et al., 1997), e della banda L (Oukarroum et al., 2007) che indica una bassa connettività tra le unità del PSII.

Può accadere che in condizioni di stress idrico, si assiste a una riduzione di  $F_0$  perché aumentano gli effetti negativi sul PSI, che per il 30% è responsabile del valore di  $F_0$  (Pfündel, 1998), incidendo quindi sulle fasi successive di riduzione degli accettori finali. Le evidenze maggiori con lo stress idrico si riscontrano nel trasporto elettronico a livello di PSI, con una ridotta efficienza nel ridurre gli accettori finali oltre il PSI.

L'efficienza complessiva (Performance Index,  $PI_{ABS}$ ) sembra quindi ridursi in caso di stress, a causa della diminuzione del trasporto degli elettroni tra PSII e PSI (Oukarroum et al., 2007).

Nelle piante sottoposte a stress idrico generalmente si osserva diminuzione della conduttanza stomatica che induce a una minore assimilazione del carbonio e quindi una riduzione dell'attività fotosintetica e del consumo di ATP e NADPH (Lawlor e Cornic, 2002) ma anche del trasporto lineare degli elettroni. Per mantenere invece il trasporto elettronico, le piante mettono in atto meccanismi come la fotorespirazione e il ciclo di Mehler che permettono la fotoriduzione di  $O_2$ . In questo modo, gli elettroni provenienti dalla scissione dell'acqua a livello del PSII vengono utilizzati per ridurre l' $O_2$  a livello del PSI producendo un superossido, pericoloso, che viene però successivamente neutralizzato riconvertendo  $O_2$  in  $H_2O$ .

## **1.2 Lo stress idrico indotto: deficit irrigation e hardening**

Lo scopo principale dell'irrigazione è quello di reintegrare la quantità di acqua persa con l'evapotraspirazione, tuttavia, ci sono delle pratiche irrigue in vivaio che sottopongono le piante al deficit idrico (*deficit irrigation*) con lo scopo di indurre una condizione di stress tale da stimolarle a sviluppare i meccanismi di resistenza descritti nei paragrafi precedenti e aumentare così anche la probabilità di successo della fase successiva al vivaio come il trapianto in ambiente xerico (Van den Driessche, 1991a, 1991b). Specie allestite in vaso e in un ambiente ombreggiato e umido infatti, non appena vengono trasferite a pieno sole manifestano spesso dei danni a livello fogliare, sebbene adeguatamente irrigate (Pallardy, 2008).

L'acclimatazione delle piante allo stress idrico viene detta indurimento (*hardening*) che, come visto precedentemente, avviene in modo spontaneo anche in natura.

Tuttavia, si parla di *hardening* non solo in relazione a ambienti siccitosi, ma anche in ambienti caratterizzati da basse temperature. La riduzione della temperatura e l'accorciamento del giorno aumentano infatti la resistenza delle piante alle gelate e ad altri fattori di stress come la siccità (Burr, 1990). Per esempio, quanto più fredda è una stazione, tanto maggiore è il grado di *hardening* che raggiungono le piante. Mollá Molares et al. (2003) hanno visto che i vivai localizzati in zone a inverno mite, tendono ad avere semenzali di leccio meno 'induriti' rispetto quelli delle provenienze più fredde. In condizioni non naturali, il grado di *hardening* da stress idrico dipende tuttavia dalle condizioni ambientali, dalla specie, dalle tecniche di coltivazione (Van den Driessche, 1991a, 1991b) in termini di durata e di quantità d'acqua somministrata (Kozlowski e Pallardy, 2002) e dall'età delle piante. Generalmente si utilizzano semenzali o piante ancora giovani e la durata del condizionamento è comunque limitata. Non esiste una regola standard per ciò che la riguarda, ma è stato visto che periodi di tre mesi sono più efficaci rispetto a periodi più brevi (Fonseca, 1999; Rubio et al., 2001) e periodi di sei mesi inducono delle modificazioni più significative rispetto a un periodo di due mesi e mezzo (Vilagrosa et al., 2006).

L'approvvigionamento idrico è un altro fattore decisivo. Vilagrosa et al. (2006) indicano come metodo per stabilire la quantità di acqua somministrata il metodo delle pesate dei vasi, raccomandando per esempio che la perdita di peso di vasi in plastica, con un terreno di torba e vermiculite, non sia superiore al 35-40%. La velocità con cui

avviene la perdita idrica (gli alti tassi di evapotraspirazione estiva) è altrettanto importante nel produrre degli effetti di *hardening*. Un basso tasso di disidratazione infatti, porterebbe più beneficio rispetto a una disidratazione intensa che potrebbe oltretutto provocare una riduzione della tolleranza allo stress.

Le modificazioni che si riscontrano con l'*hardening* riguardano i meccanismi fisiologici e morfologici che comportano delle alterazioni delle caratteristiche funzionali e nella allocazione della sostanza organica di riserva (Vilagrosa et al., 2006) e che comunque variano da specie a specie.

Studiare i meccanismi dell'*hardening* su specie diverse può quindi aiutare a elucidare la loro capacità di crescere in condizioni ambientali avverse (Villar-Salvador et al., 1999) e produrre, in vivaio, del materiale vegetale in modo più conveniente.

## 2. OBIETTIVO DELLA RICERCA

Nelle ultime decadi si sono registrati nel bacino Mediterraneo cambiamenti nel regime delle precipitazioni con un aumento della lunghezza dei periodi siccitosi (Brunetti et al., 2004) e un'intensificazione degli eventi estremi (Nanni et al., 2007).

Queste modificazioni climatiche dovrebbero sensibilizzare a un uso più equilibrato dell'acqua sia per fini civili sia nei settori economici, incentivando la riduzione degli sprechi e supportando tecniche e tecnologie volte a questo scopo. Il vivaismo è uno dei settori economici in cui l'acqua è risorsa primaria indispensabile, e nella sola area Pistoiese, stima un consumo medio per l'irrigazione di circa 15 milioni di m<sup>3</sup> per anno (Istat, 2003), pertanto, l'applicazione di sistemi di irrigazione innovativi e nuove pratiche di coltivazione potrebbero contribuire a ridurre la quantità di acqua asportata senza compromettere la qualità commerciale del materiale vegetale.

Rimanendo nel settore del verde ornamentale, anche in ambiente urbano la gestione del verde è vincolata alla disponibilità idrica e sempre più spesso deve confrontarsi con condizioni micro-ambientali limitanti non solo indotte dalla scarsità di piogge e alte temperature estive ma anche da altre caratteristiche ecologiche micro-stazionali che inducono le piante a una condizione di stress: suoli a basso contenuto di nutrienti, alti valori di pH, caratteristiche strutturali di bassa qualità, oltre che inquinamento dell'aria e danni meccanici.

Una conoscenza specifica delle specie da utilizzare in ambiente urbano è dunque importante per gli arboricoltori e i gestori del verde (Struve et al., 2009) e a questo scopo è interessante conoscere anche quali siano le specifiche esigenze delle specie per capire se siano adatte o meno a una gestione volta a un ridotto utilizzo d'acqua.

Obiettivo della ricerca quindi è stato quello di valutare le risposte allo stress idrico indotto di due specie ornamentali che vengono impiegate in ambiente urbano.

Le specie utilizzate sono diverse per *habitus* ed esigenze: *Photinia x fraseri* var. Red Robin' (fotinia) è una specie arbustiva sempreverde molto utilizzata nelle bordure dei giardini per il colore rosso brillante delle sue foglie giovanili. E' una specie frugale che

tollera una moderata siccità. *Viburnum opulus* L. (pallon di maggio) è una specie decidua che può crescere con un portamento ad ‘alberello’ e viene utilizzata come specie ornamentale grazie alla sua copiosa fioritura di corimbi bianchi. La specie però è più sensibile alla siccità.

Durante il periodo estivo degli anni 2011 e 2012 sono state svolte due prove per confronto la risposta delle due specie a tre regimi idrici: deficit idrico severo (SWD), deficit idrico moderato (MWD) e controllo (C).

La prova 1 è stata condotta all’aperto e la prova 2 in serra, utilizzando e seguendo le tecniche vivaistiche tradizionali per ciò che riguarda la scelta del substrato e la fertilizzazione e il tipo di impianto di irrigazione.

La risposta ai tre regimi idrici di *Photinia x fraseri* var. ‘Red Robin’ e *Viburnum opulus* L. è stata valutata in termini di:

- analisi degli scambi gassosi durante il periodo di condizionamento (conduttanza stomatica, traspirazione, fotosintesi netta massima)
- stima dell’efficienza dell’uso dell’acqua ( $WUE_{Ph}$ )
- fluorescenza della clorofilla *a* per la valutazione dello stato dell’apparato fotosintetico durante il periodo di condizionamento
- biomassa e accrescimento

A questa analisi generale si sono affiancate delle indagini più specifiche sulla valutazione delle modificazioni indotte dal condizionamento: una relativa alle proprietà idrauliche e meccaniche del legno svolta alla fine della prova 1 e una relativa alle caratteristiche morfologiche e anatomiche delle foglie, svolta alla fine della prova 2.

### 3. MATERIALI E METODI

#### 3.1 Specie utilizzate

In questo studio è stata applicata la *deficit irrigation* a due specie ornamentali arbustive, diverse per *habitus* (una sempreverde e l'altra decidua), di un anno di età, coltivate in vaso nella fase di allevamento in vivaio.



Fig. 3 *Photinia x fraseri* var. Red Robin.

*Photinia x fraseri* var. Red Robin fam. Rosaceae.

Fotinia è una specie alloctona, originaria della Cina, e predilige suoli ben drenati, tollerando una siccità moderata. E' arbustiva sempreverde che viene utilizzata nelle siepi e nelle bordure di giardini. Il suo valore ornamentale è dato principalmente dal fatto che mostra un ricco fogliame e le foglie giovani sono di un colore rosso brillante che a maturità diventano verdi.

*Viburnum opulus* L. (Pallon di Maggio), fam. Caprifoliaceae.

Questa specie è originaria dell'Europa e dell'Asia e predilige boschi umidi e suoli calcarei.

La specie, decidua e a portamento arbustivo-cespuglioso, può crescere anche fino a 4-5 m di altezza. E' caratterizzata da una fioritura primaverile bianca a corimbo molto appariscente per la quale viene utilizzata nei giardini. Nel testo verrà indicata come 'viburno'.



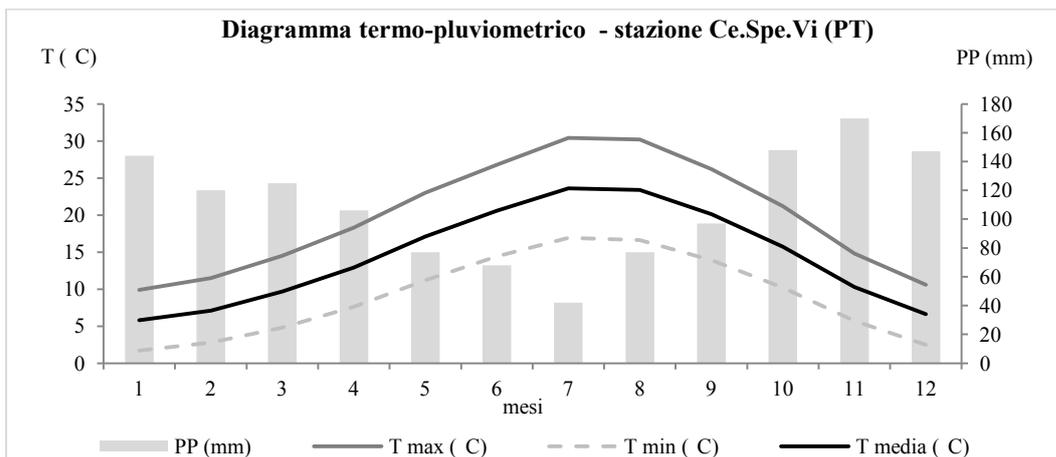
Fig. 4 *Viburnum opulus* L.

### 3.2 Piano Sperimentale

#### Sito sperimentale

Il piano sperimentale ha visto la realizzazione di due prove sperimentali di acclimatazione tramite *deficit irrigation*, una all'aperto (prova 1) e una in serra (prova 2) che sono state implementate presso il Centro Sperimentale per il Vivaismo (Ce.Spe.Vi, Pistoia, Italia - lat. 43°55' N; long. 10°54' E; 59 m s.l.m.).

L'area è caratterizzata da clima Mediterraneo semicontinentale con moderate escursioni termiche durante il giorno e tra le stagioni. Nel diagramma termo-pluviometrico sottostante (Fig. 5) sono indicati i valori medi mensili delle temperature massime, temperature minime e temperature medie giornaliere e la pioggia mensile cumulata nel periodo tra 1961 e 1990 (Fonte: Consorzio Lamma).



**Fig. 5** Diagramma termo pluviometrico della stazione meteorologica presso il Ce.Spe.Vi. Fa riferimento alle medie delle temperature (Massima, Minima e Media) e le precipitazioni cumulate per ogni mese nella serie storica dal 1961 al 1990.

Il Ce.Spe.Vi è equipaggiato di una stazione meteo con datalogger modello CR10 della Campbell Scientific da cui sono stati scaricati ed elaborati i dati dei parametri meteorologici principali (precipitazioni, temperature), utilizzati per la prova 1.

Per la prova 2, all'interno della serra è stato posizionato un sensore HOBO Temp External Sensor Logger H08-002-02 (Onset, Cape Cod, Massachusetts, USA) per la registrazione delle temperature e dell'umidità dell'aria durante la prova.

### *Il substrato e l'impianto di irrigazione*

Prima delle prove le piante sono state sistemate in vaso di plastica da 24 cm di diametro con il medesimo substrato torba:pomice 50:50 e sono state fertilizzate con 2 g l<sup>-1</sup> di 8-9M Osmocote (% 15N-9P-11K e 2% MgO).

Il peso specifico del substrato era 0.37 Kg l<sup>-1</sup> e il contenuto idrico a capacità di campo, misurato con il metodo gravimetrico, pari al 65%.

In entrambe le specie è stata misurata la perdita idrica giornaliera per evapotraspirazione attraverso il metodo delle pesate ed il contenuto idrico del substrato. All'inizio delle prove la perdita per evapotraspirazione è risultata di ca. 0.6 l di acqua giornaliera con valori simili per le due specie.

Dato che l'impianto di irrigazione disponeva di una elettrovalvola, è stato deciso di distribuire la medesima quantità a entrambe, distinguendo tre plots di regimi idrici diversi:

- controllo C: il regime corrispondente alla quantità di acqua persa per evapotraspirazione
- deficit idrico moderato (MWD) pari al 66% di C
- deficit idrico severo (SWD) pari al 33% di C.

Periodicamente, alle ore 8, è stato misurato il contenuto idrico volumetrico del substrato con TDR (*Time Domain Reflectometer*). Per l'eterogeneità del substrato, l'acqua di irrigazione non omogeneamente distribuita nel vaso, ma anche per la tipologia del TDR, le misure hanno fornito solo dei valori indicativi. Nel plot del controllo è stata misurata per esempio un'umidità variabile tra il 30 e il 35% (contenuto idrico volumetrico).

Durante le prove il regime è stato regolato periodicamente sulla base dell'evapotraspirazione reale nell'intervallo tra due irrigazioni, misurata attraverso il metodo delle pesate dei vasi.

Il sistema di irrigazione a spaghetti (della portata di 2 l m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> per spaghetti), utilizzato comunemente nei vivai, ha permesso di gestire in modo semplice anche se in modo approssimativo l'irrigazione secondo i tre regimi idrici (tre spaghetti al plot C, due al MWD, uno a SWD). Infatti, non utilizzando sistemi innovativi automatici per regolare

l'irrigazione secondo la reale evapotraspirazione giornaliera, l'approvvigionamento idrico non avrà sempre soddisfatto le reali necessità idriche delle due specie.

Nei prossimi paragrafi verranno descritte le due prove e le misure effettuate.

### 3.3 Prova 1 - Condizionamento all'aperto

#### Acclimatazione all'aperto

**Specie utilizzate:** *Photinia x fraseri* var. Red Robin (fotinia);  
*Viburnum opulus* L. (viburno)

**Durata della prova:** Maggio-Settembre 2011

**Numero di plots (regimi idrici):** 3 per specie

- Controllo (C): circa 600 ml g<sup>-1</sup>
- Moderate Water Deficit (MWD) : 66% di C
- Severe Water Deficit (SWD) : 33% di C

**Numero di cloni per plot:** 44

I regimi idrici sono stati mantenuti costanti durante tutta la durata della prova pur tenendo periodicamente controllato (a Maggio, Giugno, Luglio e Agosto) il quantitativo di acqua perduta per evapotraspirazione attraverso il metodo delle pesate giornaliere. Le piante mostravano infatti una capacità di recupero notturna, probabilmente grazie anche all'apporto meteorico e l'umidità dell'aria.



**Fig. 6** Plots all'aperto presso il Ce.Spe.Vi con particolare sull'irrigatore a spaghetti.

### 3.3.1 Misure effettuate

#### Biomassa

Prima del condizionamento (Aprile 2011), sei piante per specie sono state destinate a un campionamento distruttivo nel quale sono stati misurati i seguenti parametri:

- diametro del fusto ( $\emptyset_{\text{colletto}}$ );
- altezza della pianta (fusto e ramo principale) (H);
- lunghezza del getto principale (L);
- numero di foglie (NF) \*;
- area fogliare (AF) \*;
- biomassa fogliare ( $DW_{\text{Foglie}}$ ) \*;
- biomassa legnosa ( $DW_{\text{Rami}}$ );
- biomassa radicale ( $DW_{\text{Radici}}$ )

\* solo in fotinia perché viburno non aveva ancora emesso foglie.

L'area fogliare è stata misurata in laboratorio su foglie appena staccate utilizzando il Planimetro (Portable Area Meter, Model Li-3000, Lincoln, Nebraska USA ). Per le misure di biomassa, i campioni vegetali sono stati messi in stufa per 72 ore a 80°C e poi pesati.

A fine prova sono state ripetute le stesse misurazioni su sei piante per plot, per valutare gli effetti dei tre regimi idrici sull'accrescimento in termini di biomassa (Fig. 7), incremento diametrico del fusto e altezza della pianta.

#### Misure fisiologiche

Le misure dei parametri fisiologici sono state svolte periodicamente durante il periodo di condizionamento. Vengono descritte qui di seguito.

##### i) Potenziali idrici fogliari

Le misure di potenziale idrico fogliare sono state fatte utilizzando la camera a pressione (PMS, Co. Corvallis, OR, USA) ad aria compressa (Fig. 9) su foglie completamente sviluppate, appena staccate dalla parte medio-alta del ramo principale.

Il potenziale idrico fogliare *predawn* ( $\Psi_p$ ) è stato misurato su un campione di sei foglie per plot in entrambe le specie, alle ore 5-6 del mattino.

Il potenziale idrico minimo ( $\Psi_m$ ) è stato misurato su un campione di sei foglie per plot per entrambe le specie, alle ore 13-14.

Date di misurazione: 26/05; 24/06; 02/07; 03/08; 24/08; 07/09

I dati, trascritti sul notes, sono stati riportati in Excel per l'elaborazione statistica.

*ii) Capacità di scambio gassoso a livello fogliare*

Le misure sono state svolte in modo non distruttivo sulle piante in vaso utilizzando l'analizzatore di gas per vapore acqueo e anidride carbonica CIRAS1 (PPSystem, Hitchin, UK) (Fig. 9). Sono stati misurati i seguenti parametri:

- Conduttanza stomatica ( $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ),
- Fotosintesi netta massima ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ),
- Traspirazione ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ),

Le misure sono state effettuate in condizioni di massima irradianza solare ( $\text{PAR} > 1000 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), alle ore 10-11, per ottenere la fotosintesi massima e permettere il confronto tra campioni.

Da sei piante per plot è stata scelta una foglia completamente espansa e sviluppata dalla parte alta del getto principale, su cui sono state effettuate le misure.

Date di misurazione: 26/05; 24/06; 02/07; 12/07; 03/08; 24/08; 07/09

I dati ottenuti sono stati scaricati in Excel per l'elaborazione statistica.

*iii) La fluorescenza della clorofilla a*

La fluorescenza della clorofilla *a* è stata misurata con il PEA (*Plant Efficiency Analyzer*, Hansatech, Instruments Ltd., King's Lynn, UK) (Fig. 10) in cicli semigiornalieri (ore 7-9-11-13) su un campione di dieci piante per plot in entrambe le specie. Da ogni pianta è stata scelta una foglia completamente espansa e sviluppata dalla parte alta del getto principale, su cui è stata effettuata la misura.

Le foglie sono state adattate al buio per 25 minuti prima della misura.

Date di misurazione: 24/06; 12/07; 26/07; 03/08; 24/08; 07/09

I dati, sono stati scaricati su PC utilizzando il programma WinPEA 32 v.1.00 (Hansatech, Instruments Ltd., King's Lynn, UK) e quindi importati in Biolyzer 3.0 (JIP-Test Analysis Program v. 3.0 Laboratory of Bioenergetics. University of Geneve. Switzerland).

I dati del *transient* sono stati dapprima settati utilizzando lo *Standard Timemark set* con i punti a 0.05; 0.10; 0.30; 2.00 e 30.00 ms.

Quindi, su ogni campione di curve sono stati calcolati i parametri del test OJIP e la curva media della fluorescenza. I campioni di curve sono stati successivamente esportati in Excel per le elaborazioni statistiche.

*iv) Indice di contenuto di clorofilla Spad*

Il contenuto di clorofilla è stato misurato per valutare l'effetto dei regimi idrici sulla quantità di pigmento in foglie completamente espanse. Per queste misure è stato utilizzato lo SPAD Minolta 502 DL. Per ogni regime idrico è stato preso un campione di 18 foglie per plot e, vista la variabilità del dato anche all'interno della stessa foglia, per ogni foglia sono state effettuate 3 misure, per un totale di 54 misure per plot in ciascuna specie.

Date di misurazione: 12/07; 03/08; 24/08; 07/09

I dati, scaricati con il software FieldScout Meter v.4.7 (Spectrum Technologies Inc., Plainfield, Illinois) sono stati importati in Excel per l'elaborazione statistica.

*Misure aggiuntive*

A Novembre 2011, è stata effettuata un'indagine sull'effetto della deficit irrigation sulle proprietà idrauliche e meccaniche del legno presso il Dipartimento Life Sciences - University of Manchester (sotto la supervisione del dr. Roland Ennos).

Le misure sono state effettuate su un campione di 30 sezioni di ramo per plot per le due specie.

Da dieci piante per ogni plot, è stato preso il campione legnoso. Da ogni pianta sono stati presi tre segmenti di lunghezza variabile tra 60 e 120 mm (10-20 volte il diametro) dalla parte inferiore di tre fusti in viburno e tre rami in fotinia.

Sui segmenti legnosi sono state svolte effettuate le seguenti analisi:

*i) Proprietà idrauliche*

La conduttanza idraulica specifica della lunghezza e dell'area della sezione (Smith e Ennos, 2003) è stata misurata in laboratorio (Fig. 11). Per ogni segmento sono state prese la lunghezza e il diametro mediano.

Prima di effettuare la misura i campioni, sono stati depurati da eventuale presenza di emboli sottoponendoli a una pressione d'acqua di 1atm.

Dopo ciò, la conduttanza idraulica potenziale è stata calcolata applicando la pressione derivata da una colonna d'acqua distillata di 80 cm sulla sezione del segmento legnoso e

misurando il peso della goccia d'acqua in uscita e il tempo impiegato ad attraversare il segmento legnoso. Per esempio (Ennos, note), se un segmento di lunghezza 15 cm e diametro di 10 mm rilascia una goccia di 0.5 g (1 g di H<sub>2</sub>O è pari a 10<sup>-6</sup> m<sup>3</sup>) in 6 minuti (la colonna d'acqua di 80 cm dà una pressione di 7.84 kPa).

$$k_h = (0.5 \times 10^{-6}) \cdot 0.15 / ((6 \cdot 60) \cdot 7.84 \times 10^3) = 2.65 \cdot 10^{-14} \text{ m}^4 \text{ Pa}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

$$k_a = 4 \cdot 2.65 \times 10^{-14} / (3.14 \cdot 0.010^2) = 3.38 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ Pa}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

ii) *Proprietà meccaniche.*

Gli stessi campioni sono stati utilizzati per misurare le proprietà meccaniche del legno. Per queste misure è stata utilizzata una macchina di prova universale (*Universal Testing Machine* 4301, Instron) (Fig. 12) con cui è stata effettuata la prova di rottura alla flessione. I segmenti sono stati ancorati alle estremità sul supporto dell'Instron e sono stati sottoposti a un carico di 1 kN con una velocità di 50 mm min<sup>-1</sup> incidente a metà della loro lunghezza. In questo modo è stata misurata la rigidità (E, modulo elastico) e la resistenza alla flessione (YS).

Entrambe le misure sono state relazionate alla densità del legno calcolata secondo il metodo di Hacke et al. (2000) su 30 campioni di circa 50 mm di lunghezza. Il volume è stato misurato attraverso la legge per cui il volume di un corpo immerso in un liquido (acqua) è uguale al peso del liquido spostato e il peso secco è stato misurato dopo 72 ore in stufa a 80°C.



7a



7b

**Fig. 7** All'inizio e a fine prova sono state fatte delle misure di biomassa per valutare l'influenza dei regimi idrici sull'accrescimento.



8



9

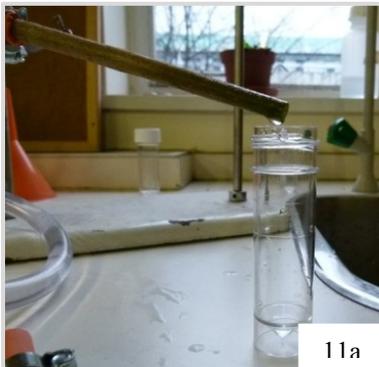
**Fig. 8** Camera a pressione PMS (Co. Corvallis) ad aria compressa. I dati, raccolti sul notes, sono stati trascritti successivamente in un foglio di calcolo.

**Fig. 9** Misure di scambi gassosi fogliari utilizzando l'analizzatore di gas all'infrarosso per la CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O (CIRAS-1 (PPSystem)). I dati vengono registrati dallo strumento e successivamente scaricati sul PC.



10

**Fig. 10** *Plant Efficiency Analyzer*, Hansatech, Instruments Ltd. I dati vengono registrati dallo strumento e poi scaricati sul PC.



11a

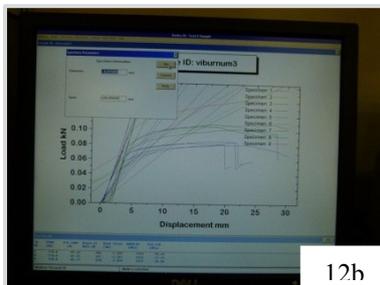


11b

**Fig. 11** Apparecchiatura per la misura della conduttanza idraulica in segmenti legnosi secondo il Metodo Smith e Ennos.



12a



12b

**Fig. 12** *Universal Testing Machine* (Instron) per l'analisi delle proprietà meccaniche (rigidità e resistenza dei segmenti legnosi).

### 3.4 Prova 2 – Condizionamento in serra

#### Acclimatazione in serra

**Specie utilizzate:** *Photinia x fraseri* var. Red Robin; *Viburnum opulus* L.

**Durata della prova:** Aprile-Settembre 2012

**Numero di plots (regimi idrici):** 3 per specie

- Controllo (C): da 600 a 1200 mL g<sup>-1</sup>
- Moderate Water Deficit (MWD): 66% di C
- Severe Water Deficit (SWD): 33% di C

**Numero di cloni per plot:** 44

Come nella prova 1, i regimi idrici sono stati definiti in base alla evapotraspirazione misurata con il metodo delle pesate, e che in serra è stata particolarmente elevata.

Il quantitativo di acqua somministrata è stato aumentato nel corso della prova in quanto le piante sono state soggette a una domanda evapotraspirativa via via più intensa. Il 20 Giugno 2012 per esempio, l'irrigazione è stata aumentata da 0.6 l a 1.2 l al giorno per il controllo e anche negli altri regimi sulla base delle percentuali rispetto ad esso.

Inoltre, durante il periodo di sperimentazione si sono succeduti innumerevoli interruzioni di energia con inconvenienti ripercussioni sull'irrigazione.



**Fig. 13** Plots in serra presso il CeSpeVi all'inizio della prova. A sinistra, fotinia; a destra, viburno.

### 3.4.1 Misure effettuate

#### Biomassa

A Marzo 2012, sei piante per specie sono state destinate a un campionamento distruttivo nel quale sono stati misurati i seguenti parametri:

- diametro del fusto ( $\emptyset_{\text{colletto}}$ );
- altezza della pianta (fusto e ramo principale) (H);
- lunghezza del getto principale (L);
- numero di foglie (NF) \*;
- area fogliare (AF) \*;
- biomassa fogliare ( $DW_{\text{Foglie}}$ ) \*;
- biomassa legnosa ( $DW_{\text{Rami}}$ );
- biomassa radicale ( $DW_{\text{Radici}}$ )

\* solo in fotinia perché viburno non aveva ancora emesso foglie.

L'area fogliare è stata misurata in laboratorio su foglie appena staccate e trasportate in borsa frigo utilizzando il Planimetro (Portable Area Meter, Model Li-3000). Per le misure di biomassa, i campioni vegetali sono stati messi in stufa per 72 ore a 80°C e poi pesati.

Alla fine della prova le stesse misurazioni sono state ripetute su sei piante per plot per valutare gli effetti dei tre regimi idrici sull'accrescimento in termini di biomassa, allungamento dei getti, incremento diametrico e altezza della pianta.

#### Misure fisiologiche

Le misure dei parametri fisiologici sono state svolte periodicamente durante il periodo di condizionamento.

##### i) Potenziali idrici fogliari

Le misure di potenziale idrico fogliare sono state fatte utilizzando la camera a pressione (PMS, Co. Corvallis, OR, USA) ad aria compressa su foglie completamente espanse appena staccate dalla parte medio-alta del ramo principale.

È stato misurato il potenziale minimo ( $\Psi_m$ ) su un campione di sei foglie per plot, in ciascuna specie, tra le ore 12 e le 13 vista la forte domanda evaporativa all'interno della serra.

Date di misurazione: 06/06; 02/07; 03/08; 22/08

I dati, trascritti sul notes, sono stati riportati in Excel per l'elaborazione statistica.

*ii) Capacità di scambio gassoso a livello fogliare*

Utilizzando l'analizzatore di gas per vapore acqueo e anidride carbonica CIRAS1 (PPSystem, Hitchin, UK) sono state misurate in modo non distruttivo:

- Conduttanza stomatica ( $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ),
- Fotosintesi netta massima ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ),
- Traspirazione ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ),

Le misure sono state effettuate in condizioni di massima illuminazione, utilizzando una lampada al tungsteno ( $\text{PAR} > 1000 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) e sono state effettuate alle ore 10 ca. per avere la misura della massima fotosintesi in condizioni non stressanti.

Per ogni plot di ciascuna specie sono stati presi campioni di sei foglie completamente espanse e sviluppate dalla parte alta del getto principale.

Date di misurazione: 13/04; 26/04; 13/05; 24/05; 09/06; 19/06; 26/06; 14/07; 03/08; 22/08

I dati ottenuti sono stati scaricati in Excel per l'elaborazione statistica.

*iii) La fluorescenza della clorofilla a*

La fluorescenza della clorofilla *a* è stata misurata con il PEA (Plant Efficiency Analyzer, Hansatech, Instruments Ltd., King's Lynn, UK) alle ore 9-10 su un campione di 15 piante per plot in entrambe le specie. Da ogni pianta è stata scelta una foglia completamente espansa e sviluppata dalla parte alta del getto principale. La stessa è stata adattata al bio per 25 minuti prima di effettuare la misura.

Date di misurazione: 13/04; 26/04; 13/05; 24/05; 09/06; 19/06; 26/06; 14/07; 03/08; 22/08

I dati, sono stati scaricati su PC utilizzando il programma WinPEA 32 v.1.00 (Hansatech, Instruments Ltd., King's Lynn, UK) e quindi importati in Biolyzer 3.0 (JIP-Test Analysis Program v. 3.0 Laboratory of Bioenergetics. University of Geneve. Switzerland).

I dati del *transient* sono stati dapprima settati utilizzando lo *Standard Timemark set* con i punti a 0.05; 0.10; 0.30; 2.00 e 30.00 ms. Quindi, su ogni campione di curve sono stati calcolati i parametri del test JIP e la curva media della fluorescenza. I campioni di curve sono stati successivamente esportati in Excel per le elaborazioni statistiche.

*iv) Indice di contenuto di clorofilla Spad*

Il contenuto di clorofilla è stato misurato per valutare l'effetto dei regimi idrici sulla quantità di pigmento in foglie completamente espanse. È stato utilizzato lo SPAD Minolta 502 DL. Per ogni plot è stato preso un campione di 18 foglie e per ogni foglia sono state effettuate 3 misure, per un totale di 54 misure per regime idrico in ciascuna specie.

Date di misurazione: 25/06; 15/07; 22/08

I dati, scaricati con il *software* FieldScout Meter v.4.7 (Spectrum Technologies Inc., Plainfield, Illinois), sono stati importati in Excel per l'elaborazione statistica.

*Misure aggiuntive*

Alla fine prova sono state svolte delle osservazioni sull'effetto della *deficit irrigation* sulle caratteristiche fogliari.

*i) Indici di sclerofillia*

Un campione di 10 foglie per plot in entrambe le specie è stato destinato alle misure dei parametri fogliari per la derivazione di indici di sclerofillia.

Le foglie staccate dalle piante sono state conservate in carta umida e trasportate subito in laboratorio per l'idratazione in acqua. Dopo 24 ore (Garnier et al., 2001) sono stati misurati il peso fresco a pieno turgore (TW) e l'area fogliare (LA) e dopo aver messo le foglie in stufa a 70° per 36 ore, è stato misurato il peso secco (DW) (Fig. 14).

Tali misure sono state utilizzate per calcolare i seguenti indici:

- *Specific Leaf Area* (SLA): area fogliare per unità di massa ( $SLA = LA/DW$  in  $cm^2 g^{-1}$ )
- *Leaf Mass per Area* (LMA): massa fogliare per unità di area ( $LMA = DW/LA$  in  $g dm^{-2}$ )
- Succulenza (S): [ $S = (TW-DW)/LA$  in  $gH_2O dm^{-2}$ ] (da: Mantovani, 1999).

*ii) Spessore dei tessuti fogliari*

Da 18 piante per plot in entrambe le specie, è stata prelevata la terza foglia completamente espansa e matura a partire dall'estremità superiore del getto principale e, posta in borsa frigo, è stata prontamente portata in laboratorio.

Dalla parte mediana di ciascuna foglia sono stati prelevati due campioni di lamina in posizione internervale, su cui condurre le analisi degli spessori dei tessuti fogliari e la densità stomatica.

Lo spessore dei tessuti è stato misurato su 3-5 sezioni trasversali di lamina fogliare, per un totale di 54 sezioni per plot in entrambe le specie.

Per il taglio delle sezioni trasversali di 30  $\mu\text{m}$  di spessore è stato utilizzato il Criomicrotomo a lama fredda (Microm HM-560, Walldorf, Germany).

Le sezioni trasversali sono state osservate al microscopio ottico Eclipse E400 (Nikon) e fotografate con la Digital Net Camera-Camera Control Unit (Nikon) con ingrandimento 4x e 10x a seconda della specie (Fig. 15). Le immagini sono state caricate sul *software* Adobe Photoshop CS2 (v. 9.0.2) e per la misurazione dello spessore dei tessuti è stata utilizzata una scala specifica per l'ingrandimento utilizzato al microscopio.

### *iii) Densità stomatica*

Dalle stesse foglie menzionate sopra, sono state prese tre porzioni di pagina inferiore per la conta degli stomi. Per ciascuna specie sono state analizzate 54 porzioni per plot, prese con tecniche diverse per le due specie in quanto le caratteristiche morfologiche hanno ostacolato le procedure.

Ad esempio in viburno, la presenza di peli radi ma resistenti nella pagina inferiore non ha permesso di fare impronte stomatiche mentre l'osservazione diretta è stata resa difficile dal contenuto di pigmenti. I campioni quindi sono stati tenuti in acqua distillata per 3-4 giorni aspettando la degradazione della clorofilla.

In fotinia la stessa tecnica non è stata soddisfacente per l'individuazione degli stomi e sono state fatte le impronte stomatiche utilizzando smalto trasparente (Fig. 16).

Le porzioni di pagina inferiore in viburno e le impronte stomatiche in fotinia sono state fotografate al microscopio ottico Eclipse E400 (Nikon) connesso alla Digital Net Camera-Camera Control Unit (Nikon). Su ogni immagine di nota dimensione (

$\mu\text{m}^2$ ) sono stati contati gli stomi in Adobe Photoshop CS2 (v. 9.0.2). La densità è stata dunque calcolata come numero di stomi per superficie nota.



**Fig. 14** Bilancia di precisione e planimetro LI-3000 utilizzato per misurare l'area fogliare.



**Fig. 15** Uso del microscopio ottico per la misura degli spessori fogliari e la densità stomatica (foto a sinistra).

**Fig. 16** Impronte stomatiche in Fotinia (foto a destra). In Viburno non è stato possibile a causa della peluria molto resistente.

### 3.5 Analisi statistica dei dati

L'analisi statistica è stata svolta utilizzando il software Statistica, Release 4.5, StatSoft, Inc. 1993. Nel caso di campioni grandi è stato controllato che la distribuzione del campione fosse normale, e nei campioni piccoli si è proceduto sulla base della statistica non parametrica.

Per confrontare i regimi idrici è stata effettuata l'analisi della varianza (ANOVA) con criterio di classificazione *one-way*. Individuata la significatività, per individuare le medie diverse tra loro in modo significativo è stato applicato il test post-hoc di Tukey o il test LSD.

Media campionaria, deviazione standard (s.d.) ed errore standard (s.e.) sono stati calcolati e riportati nei grafici e nelle tabelle.

#### 4. RISULTATI DELLA PROVA 1 – Condizionamento all’aperto

In questo capitolo vengono esaminati, in paragrafi separati sulla base della tipologia di misura effettuata, le risposte di condizionamento delle due specie (*Photinia x fraseri* var. ‘Red Robin’ e *Viburnum opulus* L.) alla *deficit irrigation* in campo sperimentale all’aperto.

##### 4.1 Dati meteorologici

L’estate 2011 (Fig.17) ha registrato dei valori di temperatura elevati con 33 giorni in cui le temperature massime sono state superiori ai 30 °C. Per esempio, tra il 7 e il 13 Luglio si sono registrate temperature massime tra 34 e 38 °C, nel mese di Agosto le temperature massime non sono scese sotto i 31 °C e il periodo tra il 16 e il 26 di Agosto sono state sempre al di sopra dei 35°C, con punte di oltre 42 °C.

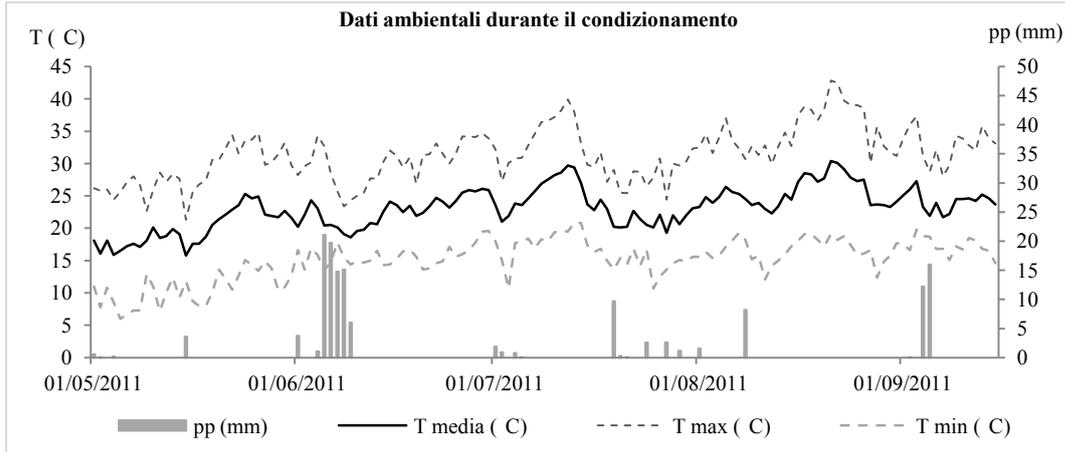
Anche i primi giorni del mese di Settembre si sono registrate temperature massime al di sopra dei 30 °C.

Per quanto riguarda le temperature minime, queste hanno oscillato tra i 6 °C nei primi giorni di Maggio e i 20.8 °C in piena estate (13-14 Luglio), attestandosi comunque intorno ai 15-17°C, saltuariamente si sono registrati valori più bassi.

La precipitazione cumulata nel periodo della prova (1 Maggio-15 Settembre) è stata di 144.4 mm distribuita a intervalli di circa 20 giorni tra un evento e l’altro, classificato mediamente di bassa intensità.

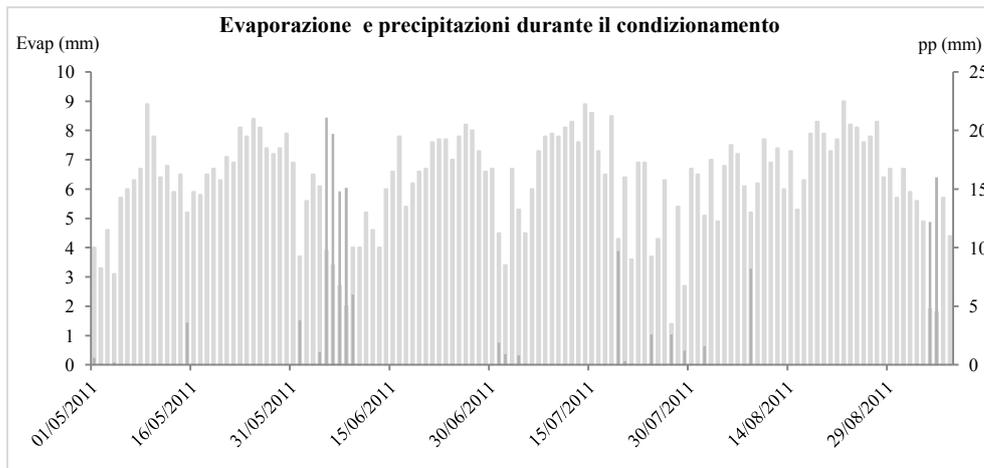
La precipitazione meteorica si è aggiunta all’irrigazione in quanto il sistema di irrigazione non era provvisto di un sistema automatico di regolazione in base all’umidità del terreno, tantomeno i plots erano provvisti di una copertura.

L’umidità relativa media dell’aria ha mostrato valori minimi corrispondenti ai periodi di forte caldo, ad esempio oscillando tra 58 e il 46% tra il 7 e il 13 Luglio e tra il 57 e il 41% tra il 16 e il 26 Agosto.



**Fig. 17** Dati meteorologici relativi al periodo di condizionamento (Maggio-Settembre 2011) provenienti dalla stazione meteorologica del CeSpeVi. Sono riportate: temperature media giornaliera, temperatura massima e minima giornaliera, pioggia cumulata giornaliera.

Dai dati dell'evaporazione è risultato che durante il periodo di condizionamento si è verificata una ciclicità con periodi di massima evaporazione (intorno gli 8 mm) e altri a evaporazione più bassa, in coincidenza con le giornate nuvolose e/o piovose (Fig. 18).



**Fig. 18** Evaporazione misurata mediante vasca evaporimetrica e precipitazioni durante il periodo di condizionamento (Maggio-Settembre 2011). I dati sono medie giornaliere provenienti dalla stazione meteorologica del CeSpeVi.

Nelle giornate di misurazioni in campo si sono registrate le seguenti condizioni (valori medi giornalieri):

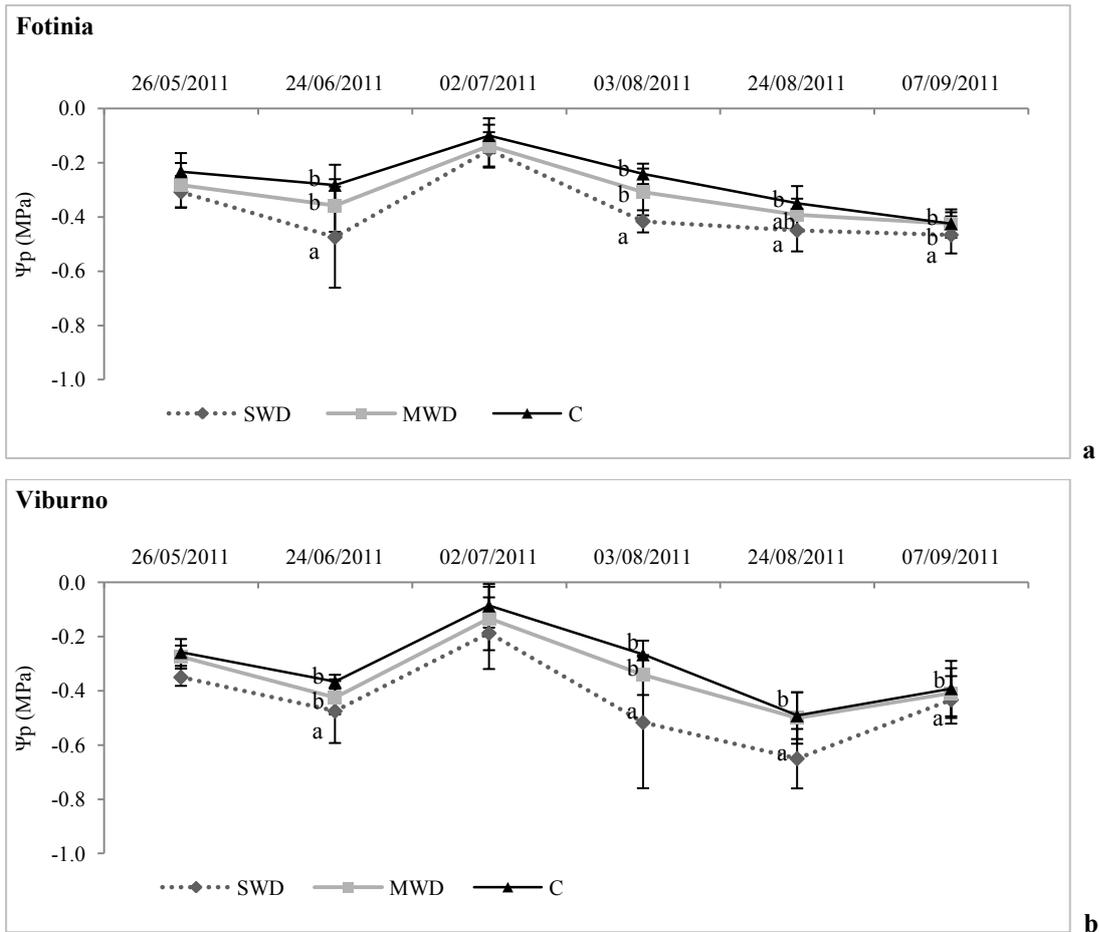
<b>Data</b>	<b>T media (°C)</b>	<b>T max (°C)</b>	<b>T min (°C)</b>	<b>RH (%)</b>	<b>Evap (mm)</b>
26/05/2011	24.9	33.6	15.1	46	7.8
24/06/2011	23.2	30	17.1	60	7
02/07/2011	21	27.3	15.1	68	3.4
12/07/2011	29.7	39.9	19.5	49	8.3
03/08/2011	23.9	31.6	15.4	58	4.9
24/08/2011	27.8	39	17.4	40	8.1
07/09/2011	21.7	28	16.8	69	4.4

**Tabella 1.** Dati meteorologici medi giornalieri delle date di misura degli scambi gassosi fogliari e analisi della fluorescenza della clorofilla *a*.

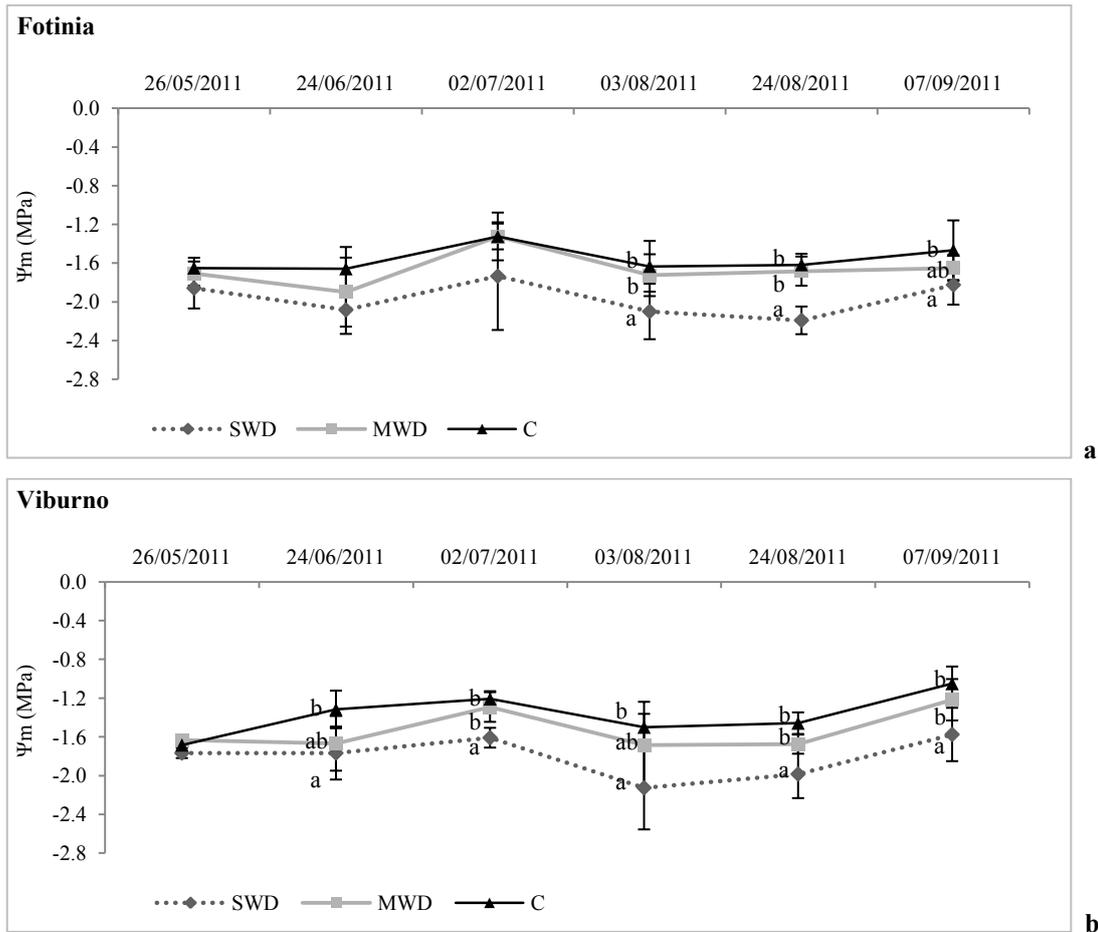
#### **4.2 Risposte relative al potenziale idrico fogliare**

Il potenziale *predawn* indica lo stato di equilibrio con il terreno. Durante la prova si è mantenuto vicino allo 0, con un valore minimo di -0.8 MPa il 24 di Giugno. Sia in fotinia che in viburno (Fig. 19 a e b) il plot SWD ha mostrato valori più bassi rispetto a C e MWD ( $P < 0.05$ ).

Per ciò che riguarda il potenziale idrico minimo ( $\Psi_m$ ) (Fig. 20 a e b), misurato nelle ore più calde, quindi a maggiore domanda evapotraspirativa, si sono registrati valori tra -1.2 e -2.4 MPa in entrambe le specie. In fotinia il regime SWD ha fatto registrare a partire da Agosto i valori di  $\Psi_m$  più bassi in modo significativo rispetto MWD e C, mentre in viburno la risposta è stata più rapida, mostrando fin dalla fine di Giugno  $\Psi_m$  più basso nelle piante in SWD rispetto le altre.



**Fig. 19 a e b.** Potenziale idrico *predawn* ( $\Psi_p$ , misurato prima dell'alba, ore 5-6) di *Photinia x fraseri* var. Red Robin (a) e *Viburnum opulus* L. (b) misurato, per ogni plot, su un campione di sei foglie mature con la camera a pressione. Sono riportati i valori medi e le barre della deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal Test Tukey per il confronto delle medie campionarie. Le lettere indicano le differenze significative tra i valori medi in ciascuna data di rilievo per  $P < 0.05$ .



**Fig. 20 a e b.** Potenziale idrico minimo ( $\Psi_m$ , misurato nelle ore di massimo stress idrico, ore 13-14) di *Photinia x fraseri* var. Red Robin (a) e *Viburnum opulus* L. (b) misurato, per ogni plot, su un campione di sei foglie mature con la camera a pressione. Sono riportati i valori medi e le barre della deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal Test Tukey per il confronto delle medie campionarie. Le lettere indicano le differenze significative tra i valori medi in ciascuna data di rilievo per  $P < 0.05$ .

### 4.3 Risposte relative agli scambi gassosi

I dati relativi agli scambi gassosi sono stati monitorati durante il periodo di condizionamento utilizzando l'analizzatore di gas per  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$  CIRAS 1 (PPSystem, Hitchin, UK) in condizioni di radiazione solare a un livello di PAR (Radiazione Fotosinteticamente Attiva) superiore a  $1000 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$  per ottenere i valori di massima fotosintesi.

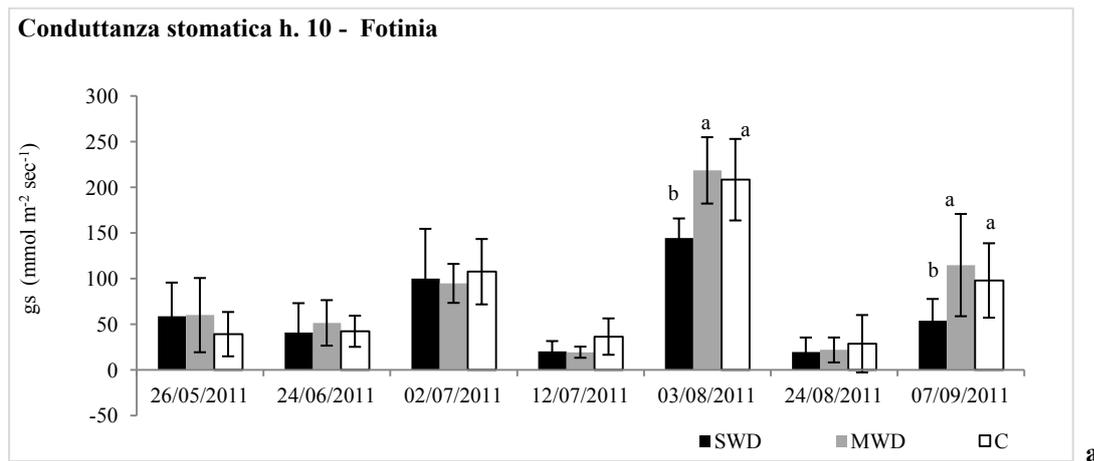
Le date in cui sono state effettuate le misure sono riportate nella tabella 1.

#### Conduttanza stomatica

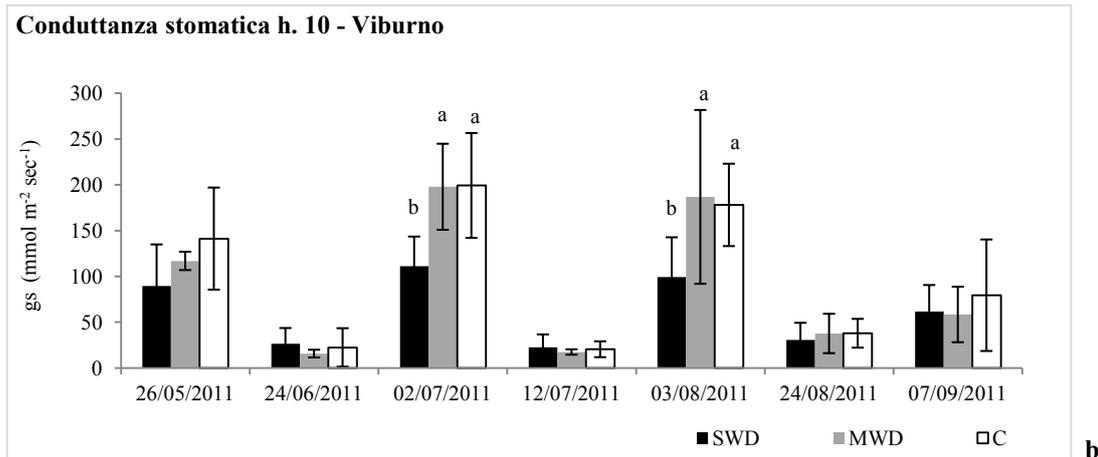
La conduttanza stomatica ( $g_s$ ) in fotinia (Fig. 21 a) ha messo in evidenza il comportamento delle piante simile nei tre trattamenti durante i primi due mesi di

condizionamento per poi mostrare delle differenze significative a partire dal 3 Agosto. Le piante in SWD hanno mostrato un maggiore controllo stomatico rispetto a quelle in MWD e C rispondendo allo stress con la chiusura stomatica. Nei giorni in cui lo stress idrico è stato molto intenso (12 Luglio e 24 Agosto, in cui la media giornaliera dell'evapotraspirazione è tra le più alte registrate: 8.3 mm e 8.1 mm rispettivamente) si sono registrati valori molto bassi rispetto il rilievo precedente e simili tra loro nei tre regimi.

Viburno ha mostrato le prime differenze significative di gs dopo un periodo più breve (Fig. 21 b): già al rilievo del 2 Luglio le piante in SWD presentavano una gs più bassa di circa il 45% rispetto a MWD e a C e ugualmente nel rilievo del 3 Agosto. Nelle date del 12 Luglio e del 24 Agosto, come in fotinia, la chiusura stomatica ha determinato in tutti e tre i regimi una riduzione della conduttanza stomatica.



**Fig. 21 a** Conduttanza stomatica alle ore 10 in *Photinia x fraseri* var. Red Robin (misurata su un campione di sei foglie per plot con CIRAS-1 (PPSystem)). Sono riportati i valori medi e le barre della deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal Test Tukey per il confronto delle medie campionarie. Le lettere indicano le differenze significative tra i valori medi in ciascuna data di rilievo per  $P < 0.05$ .

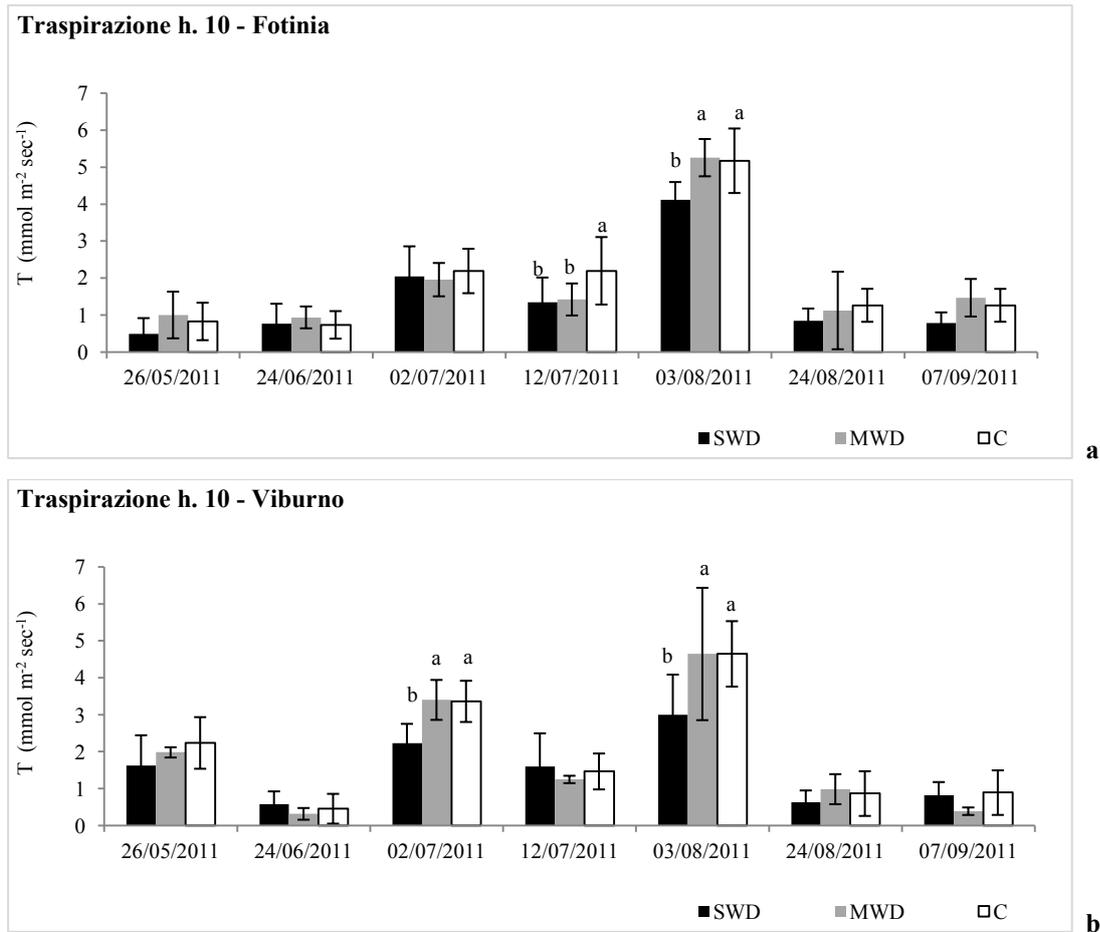


**Fig. 21 b.** Conduttanza stomatica alle ore 10 in *Viburnum opulus* L. misurata su un campione di sei foglie per plot con CIRAS-1 (PPSystem). Sono riportati i valori medi e le barre della deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal Test Tukey per il confronto delle medie campionarie. Le lettere indicano le differenze significative tra i valori medi in ciascuna data di rilievo per  $P < 0.05$ .

### Traspirazione fogliare

La traspirazione fogliare (T), mostrata in figura 22, ha il suo massimo il 3 Agosto in entrambe le specie, con i valori più bassi in SWD rispetto a MWD e al controllo.

Nelle date di intenso stress idrico (12 Luglio e 24 Agosto) in fotinia è stata misurata una riduzione di T: il 12 Luglio l'abbassamento ha interessato soprattutto i regimi SWD e MWD mentre il controllo ha registrato valori simili a quelli del rilievo precedente, il 24 Agosto tutti i regimi hanno mostrato un abbassamento di T che, vista la riduzione di  $g_s$ , dovrebbe essere associato alla chiusura stomatica.

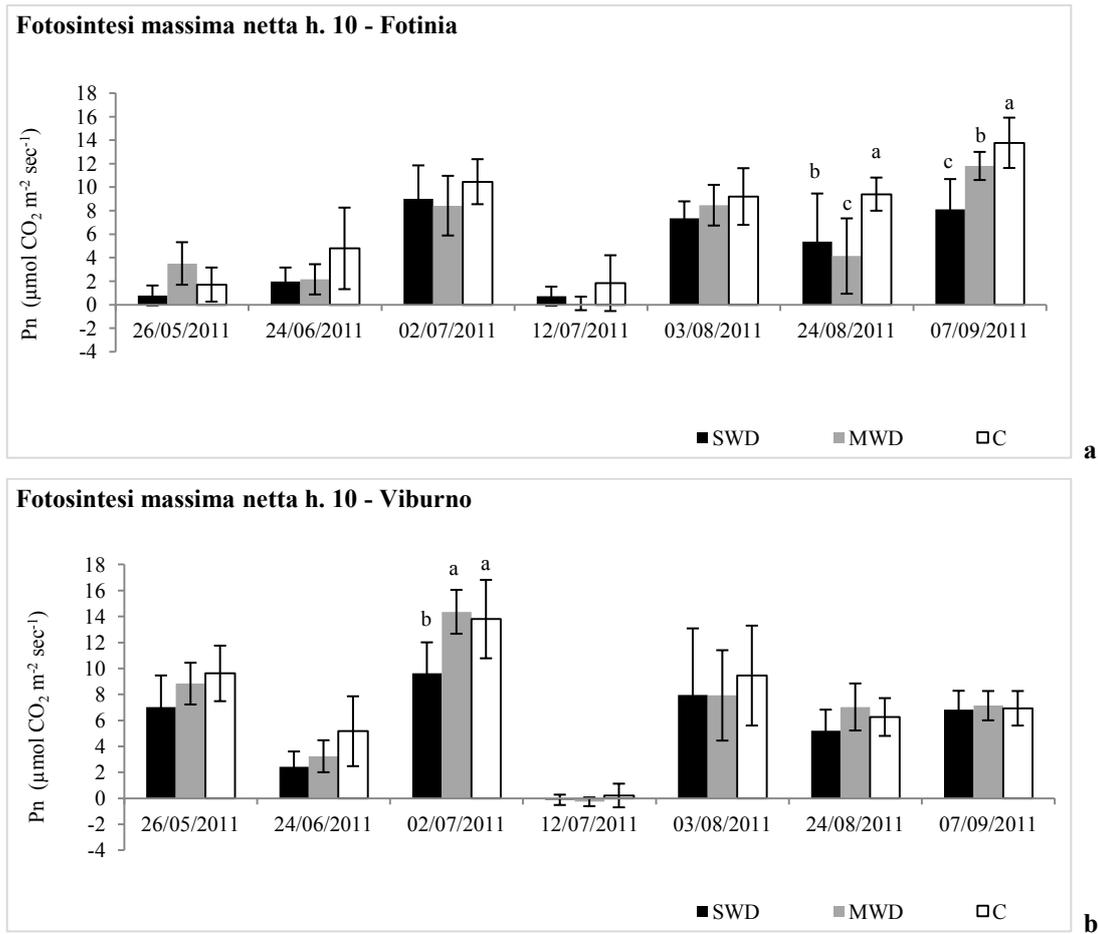


**Fig. 22 a e b.** Traspirazione fogliare alle ore 10 in *Photinia x fraseri* var. Red Robin (a) e *Viburnum opulus* L. (b) misurata su un campione di sei foglie per plot con CIRAS-1 (PPSystem). Sono riportati i valori medi e le barre della deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal Test Tukey per il confronto delle medie campionarie. Le lettere indicano le differenze significative tra i valori medi in ciascuna data di rilievo per  $P < 0.05$ .

### Fotosintesi netta massima

Venendo ora alla fotosintesi netta massima ( $P_n$ ), fotinia e viburno (Fig. 23 a e b) hanno mostrato la massima riduzione il 12 Luglio.

Fotinia (Fig. 23 a) ha mostrato differenze tra i regimi idrici a partire dalla fine Agosto, con i valori più bassi di  $P_n$  nelle piante in SWD e MWD rispetto a C. A fine prova le piante in C mostravano un valore medio di  $P_n$  maggiore del 41% rispetto a SWD e del 14% rispetto a MWD. Viburno (Fig. 23 b) invece, eccetto il 2 Luglio, generalmente non ha mostrato differenze statisticamente significative tra i regimi idrici, anche a fine prova.

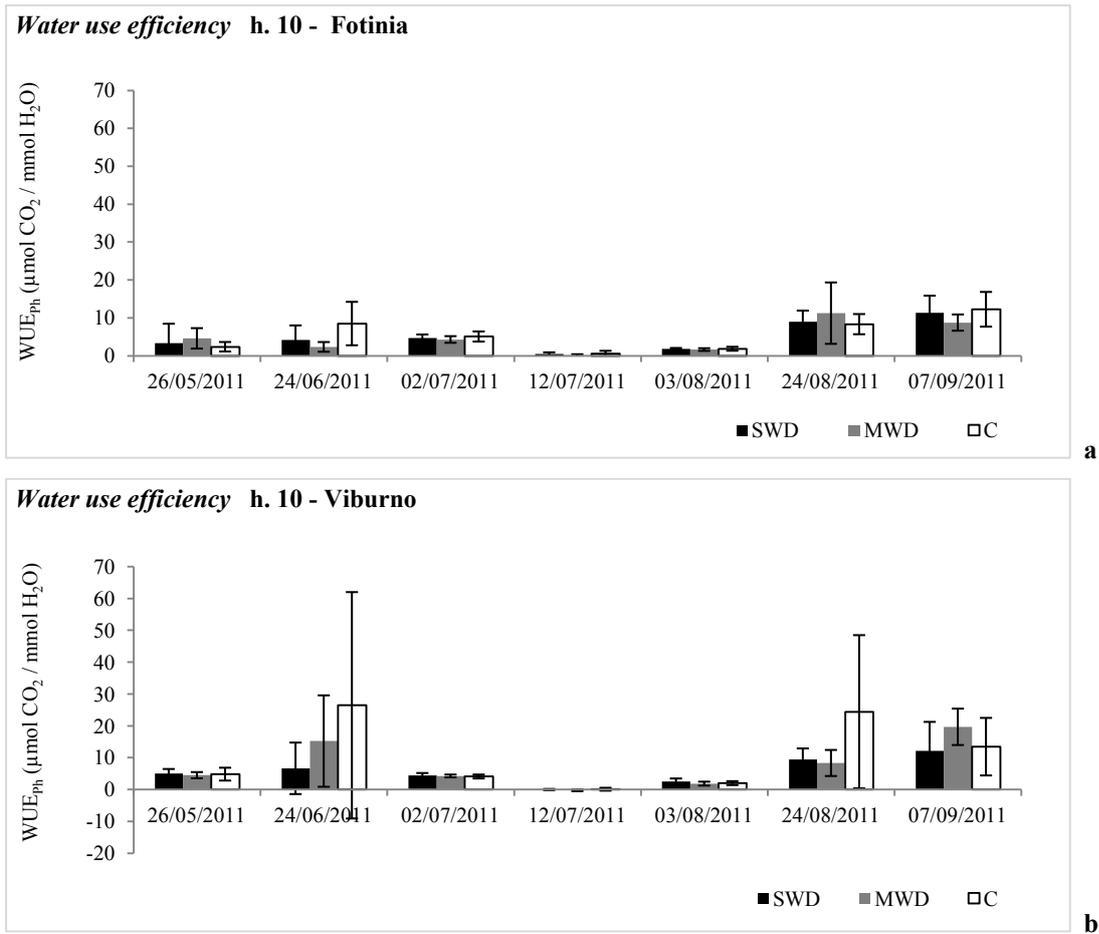


**Fig. 23 a e b.** Fotosintesi netta massima alle ore 10 in *Photinia x fraseri* var. Red Robin (a) e *Viburnum opulus* L. (b) misurata su un campione di sei foglie per plot con CIRAS-1 (PPSystem). Sono riportati i valori medi e le barre della deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal Test Tukey per il confronto delle medie campionarie. Le lettere indicano le differenze significative tra i valori medi in ciascuna data di rilievo per  $P < 0.05$ .

### Water use efficiency

Dal rapporto tra assimilazione del carbonio e traspirazione, si ottiene il parametro *water use efficiency* ( $WUE_{Ph}$ ) per la fotosintesi (Fig. 24 a e b) che indica la quantità di carbonio assimilata per unità di acqua persa.

Sia in fotinia che in viburno non si sono osservate differenze significative tra i regimi idrici ma solo un aumento di  $WUE_{Ph}$  alla fine del periodo di condizionamento.



**Fig. 24 a e b.** Water use efficiency per la fotosintesi in *Photinia x fraseri* var. Red Robin (a) e *Viburnum opulus* L. (b) calcolata come quantità di carbonio assimilata per unità di acqua persa con la traspirazione. Sono riportati i valori medi e le barre della deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal Test Tukey per il confronto delle medie campionarie. Non sono state osservate differenze significative tra i valori medi in ciascuna data di rilievo.

#### 4.4 Risposte relative alla fluorescenza della clorofilla a

L'analisi ha riguardato il confronto dei parametri che rappresentano i punti OJIP del *transient* della fluorescenza ( $F_0$ ;  $\Phi_{P0}$ ;  $\Psi_0$ ;  $\Delta V_{IP}$ ;  $F_m$ ) sulla base del regime idrico.

Parametro	Descrizione
$F_0$	Fluorescenza basale, misurata dopo 50 (20) $\mu$ s, ossia la perdita di energia tra l'antenna e il centro di reazione del PSII, emessa dalle molecole di clorofilla eccitate.
$\Phi_{P0}$	( $F_v/F_m$ ) o $TR_0/ABS$ . Resa quantica massima delle reazioni fotochimiche primarie. Esprime la massima probabilità di catturare l'energia dei fotoni assorbiti dall'antenna da parte dei centri di reazione.
$\Psi_0$	( $1-V_j$ ) o $ET_0/TR_0$ Esprime la probabilità che un elettrone catturato dal centro di reazione venga trasferito oltre $Q_A^-$ .
$\Delta V_{IP}$	( $1-V_i$ ) Ampiezza della fase I-P
$F_m$	Fluorescenza massima al punto P

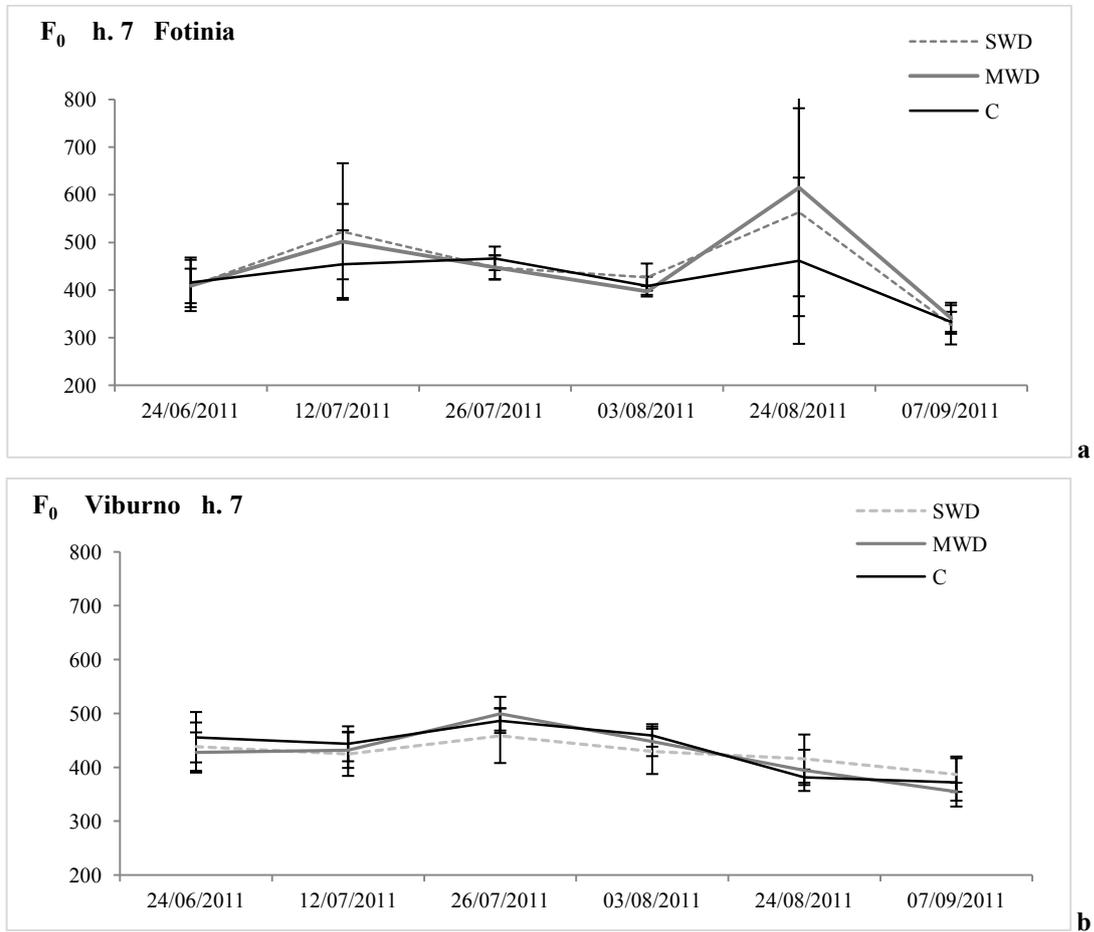
**Tabella 2.** Descrizione dei parametri osservati. (Da: Bussotti et al. 2012)

I cinque parametri misurati alle sette del mattino, ora in cui le piante non sono soggette a stress ossidativi dovuti per esempio all'alta illuminazione o un intenso stress idrico, vengono descritti qui di seguito, confrontando i tre regimi idrici.

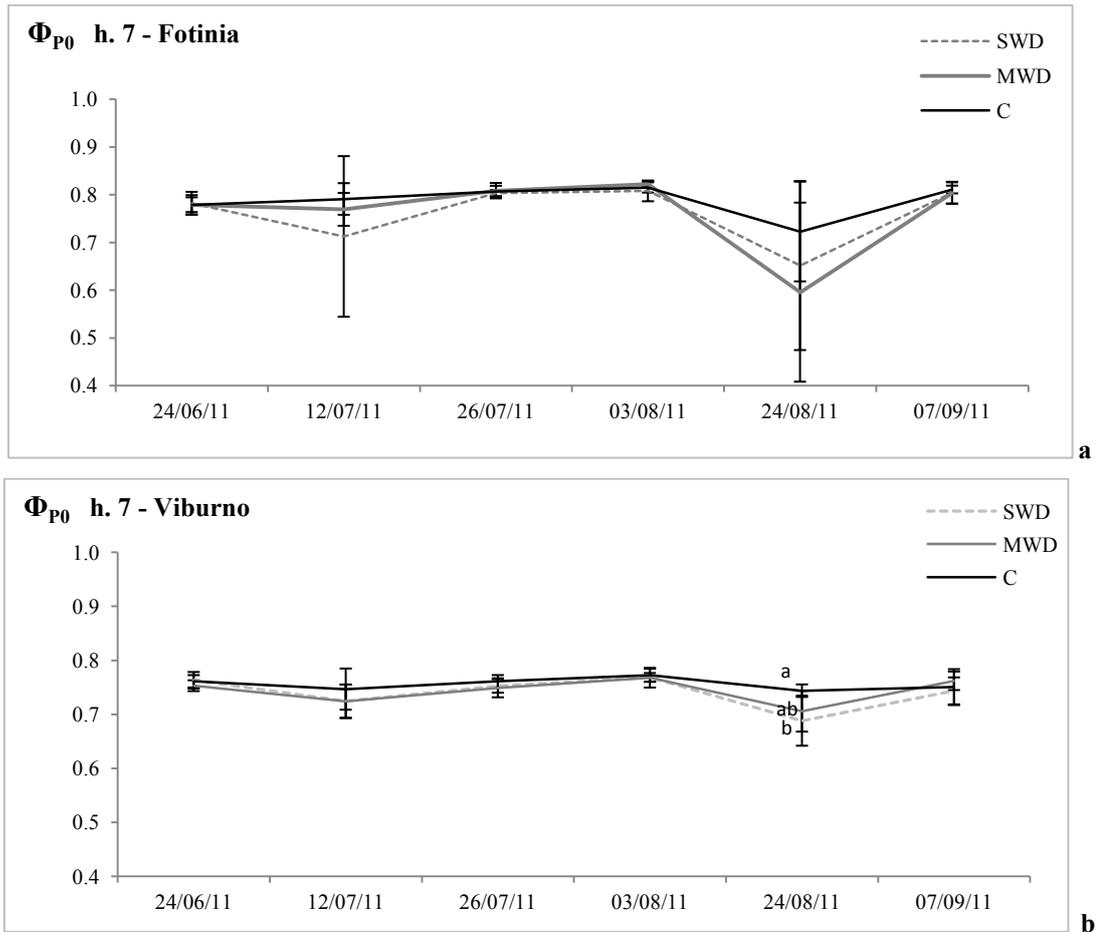
Per quanto riguarda  $F_0$  fotinia ha mostrato un andamento regolare e lineare durante il corso del condizionamento nei tre regimi, senza differenze significative tra loro (Fig. 25 a). Viburno invece ha mostrato un andamento crescente fino al 26 Luglio e decrescente nel periodo successivo, indicando una progressiva riduzione della perdita di energia da parte delle clorofille nella antenna del PSII, e quindi un migliore trasferimento di energia, fino a fine prova. Tuttavia non ha mostrato differenze significative tra i regimi (Fig. 25 b).

La resa quantica delle reazioni fotochimiche primarie ( $\Phi_{P0}$ ) in fotinia non ha registrato (Fig. 26 a) differenze significative tra i regimi idrici durante il corso del condizionamento, presentando inoltre un andamento regolare eccetto nella data del 24 Agosto in cui il valore si è abbassato in tutti i regimi, scendendo sotto il valore ottimale di 0.83 (Biörkman e Demming, 1987). Quindi, in tutti i regimi, si ha la medesima probabilità che l'elettrone catturato dall'antenna raggiunga il centro di reazione.

Allo stesso modo viburno (Fig. 26 b) ha mostrato un andamento regolare e le differenze significative tra i tre regimi si sono registrate solo il 24 di Agosto in cui le piante in SWD avevano un valore di  $\Phi_{p0}$  più basso indicando una perdita di efficienza.



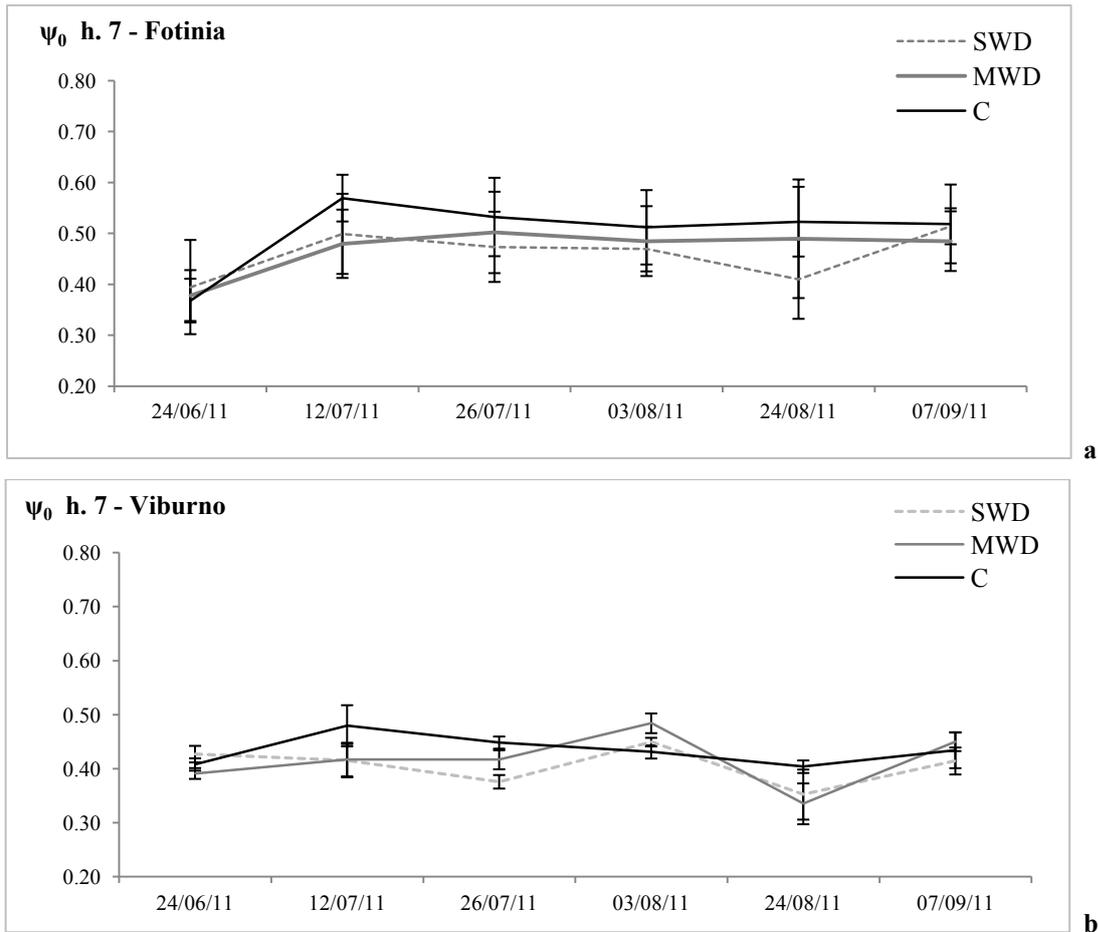
**Fig. 25 a e b.**  $F_0$  misurato alle ore 7 del mattino in *Photinia x fraseri* var. Red Robin (a) e in *Viburnum opulus* L. (b). Per ogni plot è stato preso un campione di dieci foglie mature della parte terminale dei rami principali. Sono riportati i valori medi e le barre della deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA che non ha evidenziato differenze significative tra i valori medi in ciascuna data di rilievo.



**Fig. 26 a e b.**  $\Phi_{p0}$  misurato alle ore 7 del mattino in *Photinia x fraseri* var. Red Robin (a) e in *Viburnum opulus* L. (b). Per ogni plot è stato preso un campione di dieci foglie mature della parte terminale dei rami principali. Sono riportati i valori medi e le barre della deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal Test Tukey per il confronto delle medie campionarie. Le lettere indicano le differenze significative tra i valori medi in ciascuna data di rilievo per  $P < 0.05$ .

$\Psi_0$  esprime l'efficienza del trasporto di elettroni nella fase fotochimica O-J fino alla riduzione di  $Q_A$ . Essendo calcolato come  $1 - V_J$ , dove  $V_J$  è la fluorescenza variabile in J, più il suo valore è alto, più la fluorescenza emessa è bassa e quindi maggiore è la probabilità che l'elettrone eccitato trasferito dalla clorofilla del centro di reazione al  $Q_A$  lo riduca e permetta poi il trasferimento dell'elettrone verso  $Q_B$ .

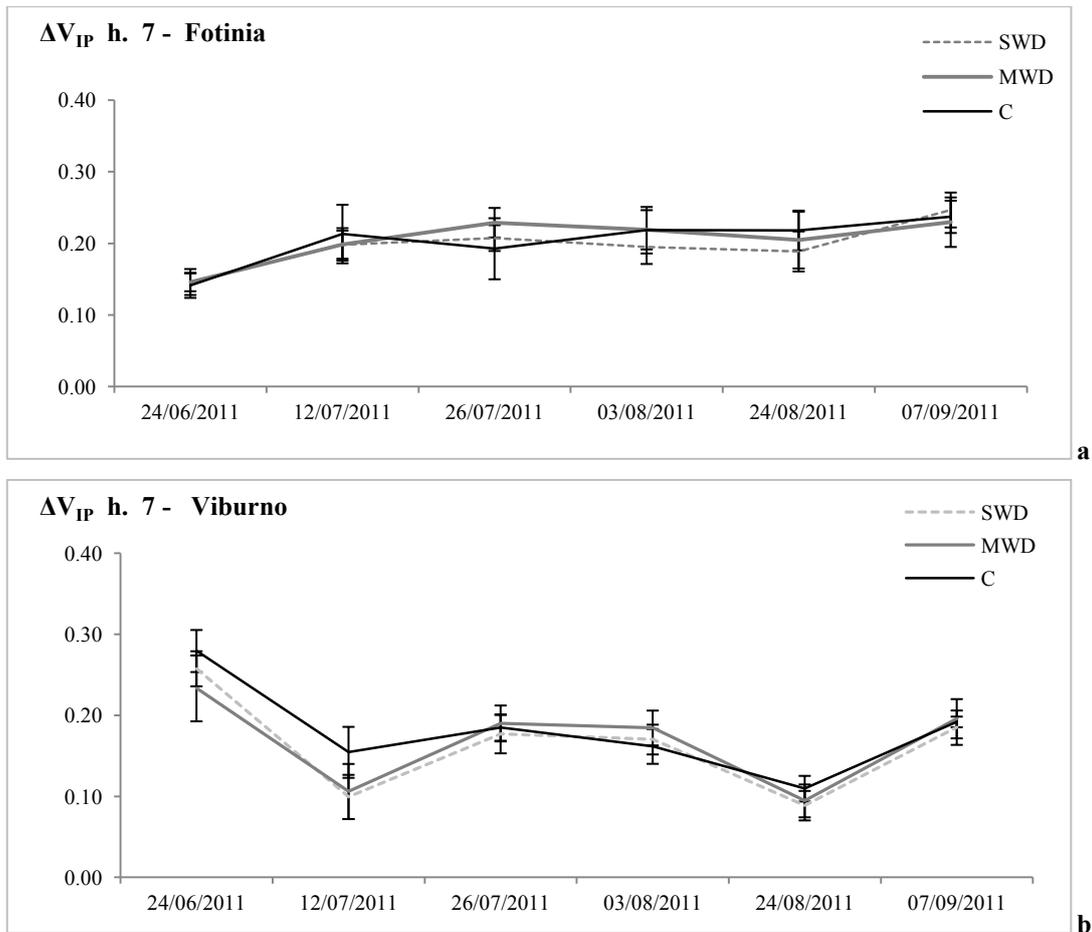
Durante il periodo di condizionamento sia in fotinia (Fig. 27 a) che in viburno (Fig. 27 b) non si sono osservate differenze significative tra  $\Psi_0$  dei tre regimi idrici e anche per questo parametro è rimasto costante durante tutta la prova.



**Fig. 27 a e b.**  $\Psi_0$  misurato alle ore 7 del mattino in *Photinia x fraseri* var. Red Robin (a) e in *Viburnum opulus* L. (b). Per ogni plot è stato preso un campione di dieci foglie mature della parte terminale dei rami principali. Sono riportati i valori medi e le barre della deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal Test Tukey per il confronto delle medie campionarie. Nessuna differenza statisticamente significativa è stata osservata tra le medie ad ogni data di misura.

La fluorescenza allo *step* I è indicativa dell'efficienza del trasporto elettronico verso il PSI a ridurre gli accettori NADP e la ferredossina, e quindi della capacità di PSI di produrre NADPH. Nel caso in cui PSI non sia in grado di ricevere elettroni, si manifesta un picco in I. L'ampiezza della fase IP, indicata da  $\Delta V_{IP}$  (calcolato come  $[1-V_I]$ , dove  $V_I$  è la fluorescenza variabile in I) indica quindi gli eventi fotochimici attorno al PSI.

In questa prova i tre regimi idrici non hanno manifestato differenze significative durante il condizionamento, sia in fotinia, sia in viburno (Fig. 28 a e b). Tuttavia, mentre in fotinia si osserva un trend in ascesa dall'inizio alla fine della prova con un aumento di circa il 40% comune ai regimi, in viburno il trend è complessivamente in discesa rispetto l'inizio della prova indicando una crescente problematicità nel passaggio di elettroni a livello di PSI.

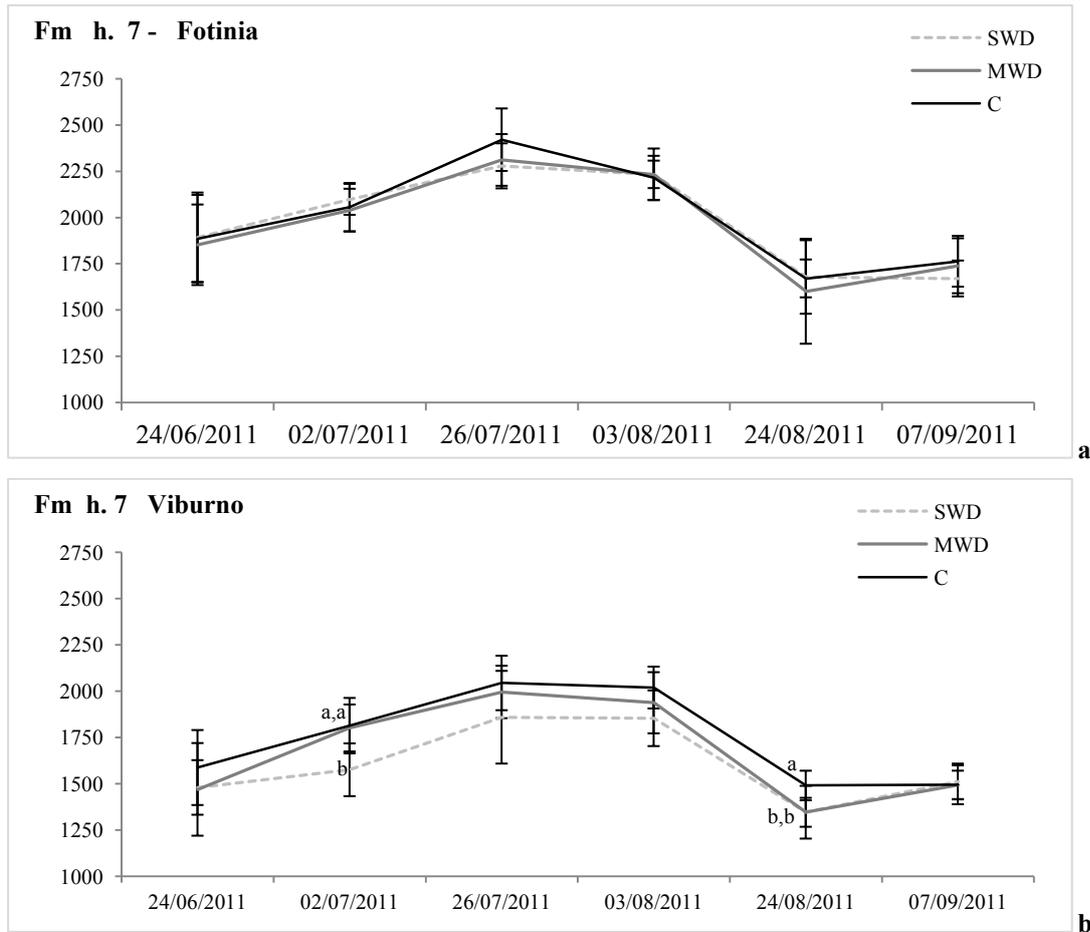


**Fig. 28 a e b.**  $\Delta V_{IP}$  misurato alle ore 7 del mattino in *Photinia x fraseri* var. Red Robin (a) e in *Viburnum opulus* L. (b). Per ogni plot è stato preso un campione di dieci foglie mature della parte terminale dei rami principali. Sono riportati i valori medi e le barre della deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA da cui non è stata evidenziata nessuna differenza statisticamente significativa tra le medie ad ogni data di misura.

Fm è la fluorescenza massima al punto P ossia quando la ferredossina  $NADP^+$  riduttasi (FNR) è inattivata e gli accettori finali di elettroni ( $NADP^+$  e FD) si sono ridotti. L'andamento alle ore sette è mostrato in figura 29.

In fotinia non si sono osservate differenze significative tra i regimi idrici per tutto il periodo di condizionamento anche se ha mostrato un andamento crescente da Giugno a Luglio e decrescente successivamente indicando una situazione di stress.

Anche in viburno si osserva il medesimo trend di fotinia. Tuttavia, in questa specie, il regime SWD ha comportato un abbassamento significativo di Fm rispetto agli altri regimi nelle data del 2 Luglio e del 24 Agosto e in questa data anche il regime MWD ha indotto un valore di Fm simile a quello del regime SWD.



**Fig. 29 a e b.** Fm misurato alle ore 7 del mattino in *Photinia x fraseri* var. Red Robin (a) e in *Viburnum opulus* L. (b). Per ogni plot è stato preso un campione di dieci foglie mature della parte terminale dei rami principali. Sono riportati i valori medi e le barre della deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal Test Tukey per il confronto delle medie campionarie. Le lettere indicano le differenze significative tra i valori medi in ciascuna data di rilievo per  $P < 0.05$ .

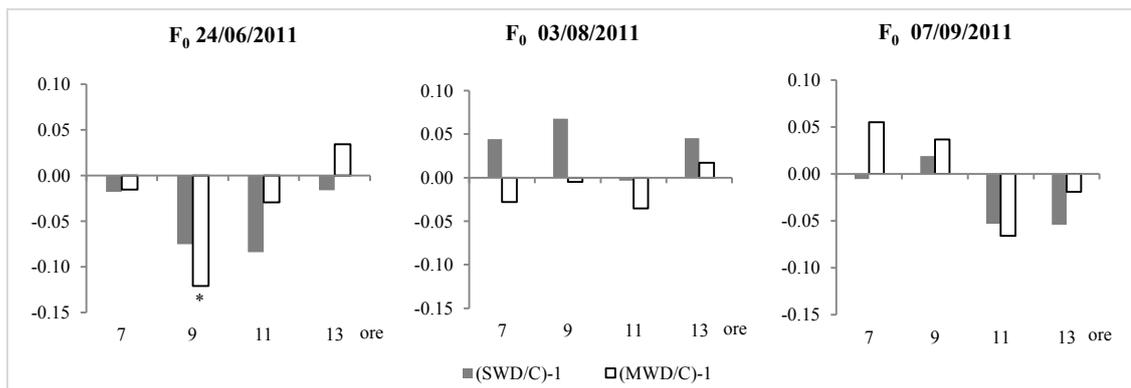
In tre date (24 Giugno, 3 Agosto, 7 Settembre) sono state effettuate delle misure in cicli semigiornalieri, dalle ore 7 alle ore 13, ogni due ore.

I valori medi dei regimi a deficit idrico relativi ai cinque parametri ( $F_0$ ;  $\Phi_{p0}$ ;  $\Psi_0$ ;  $\Delta V_{IP}$ ; Fm) sono stati relativizzati a C ossia calcolati come  $[(MWD/C)-1]$  e  $[(SWD/C)-1]$  e successivamente relativizzati all'ora di minimo stress (ore 7).

Nelle pagine seguenti vengono mostrati i risultati tenendo distinte le due specie.

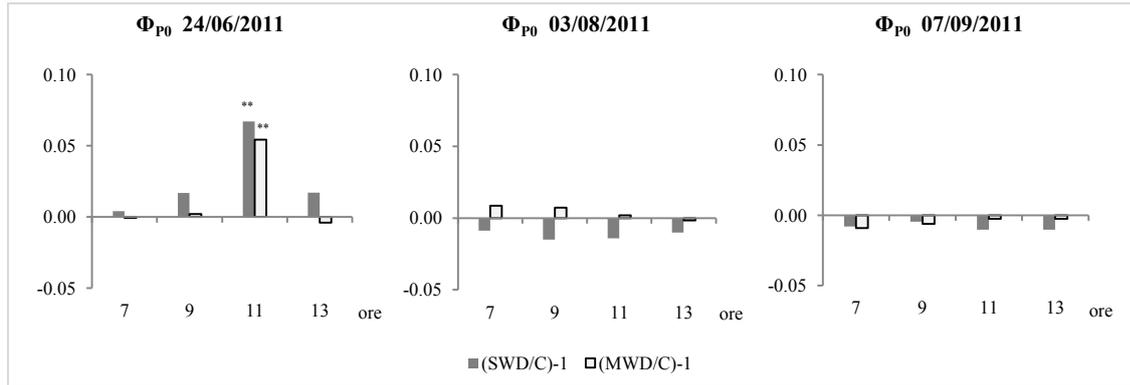
*Fotinia:*

$F_0$  dei regimi in deficit idrico (SWD e MWD) non ha mostrato differenze significative rispetto al controllo eccetto che MWD alle ore 9 del 24 Giugno ( $P < 0.05$ ) (Fig. 30). Complessivamente quindi, anche durante la mattinata, lo stress idrico non ha comportato una alterazione negativa del trasferimento di energia tra le clorofille dell'antenna e il centro di reazione del PSII.



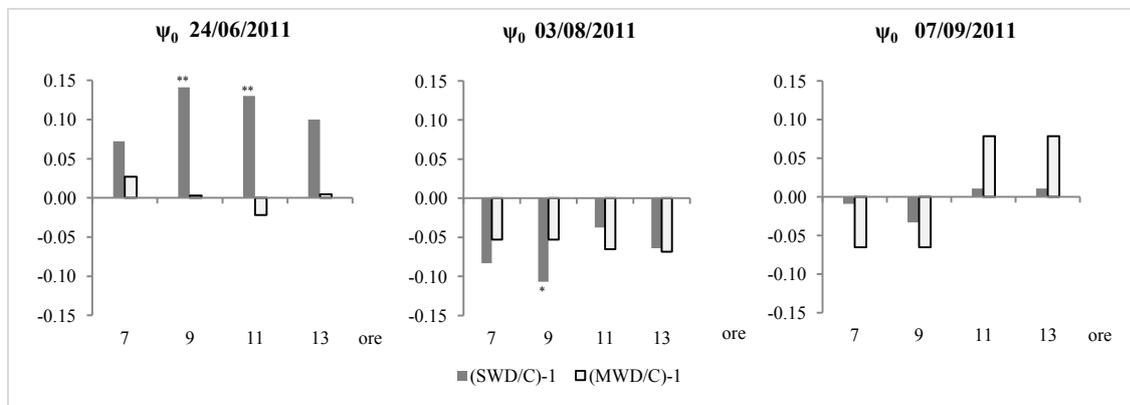
**Fig. 30** *Photinia x fraseri* var. Red Robin. A ogni ora di misura è stata fatta la relativizzazione di  $F_0$  dei regimi a deficit idrico a  $F_0$  del controllo, cui poi è stato sottratto 1. Cioè:  $[(MWD/C)-1]$  e  $[(SWD/C)-1]$ . È stata eseguita l'ANOVA seguita dal Test LSD per il confronto delle medie tra regime di deficit idrico e controllo. \* indica una significatività per  $P < 0.05$ .

$\Phi_{P0}$  dei regimi in deficit idrico (SWD e MWD) non ha mostrato differenze significative rispetto al controllo eccetto che alle ore 11 del 24 Giugno ( $P < 0.01$ ) in cui i regimi SWD e MWD hanno registrato valori più alti rispetto il controllo indicando una migliore resa quantica, quindi una maggiore probabilità che l'energia assorbita dal complesso antenna del PSII permetta la riduzione della clorofilla del centro di reazione che trasmetterà l'elettrone all'accettore primario Feofitina (Fig. 31).



**Fig. 31** *Photinia x fraseri* var. Red Robin. A ogni ora di misura è stata fatta la relativizzazione di  $\Phi_{p0}$  dei regimi a deficit idrico a  $\Phi_{p0}$  del controllo, cui poi è stato sottratto 1. Cioè:  $[(MWD/C)-1]$  e  $[(SWD/C)-1]$ . E' stata eseguita l'ANOVA seguita dal Test LSD per il confronto delle medie tra regime di deficit idrico e controllo. \*\* indica una significatività per  $P<0.01$ .

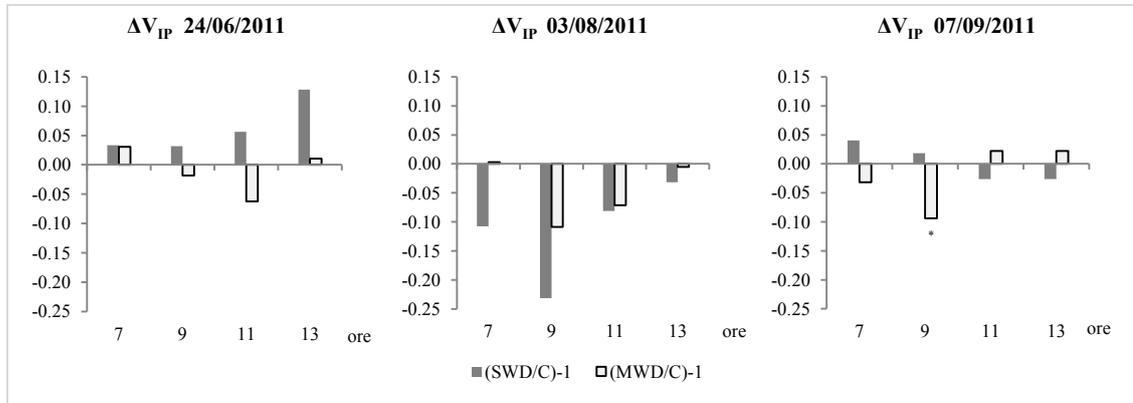
Per quanto riguarda  $\Psi_0$  (Fig. 32), solo SWD ha indotto in Giugno valori più alti rispetto al controllo, alle 9 e alle 11 del mattino ( $P<0.01$ ) e valori più bassi alle 9 del 3 Agosto ( $P<0.05$ ). Inoltre, se a Giugno  $\Psi_0$  in SWD mostrava valori sempre maggiori rispetto a C, in Agosto questi sono risultati minori indicando una riduzione della efficienza di trasporto di elettroni per la riduzione di  $Q_A$ .



**Fig. 32** *Photinia x fraseri* var. Red Robin. A ogni ora di misura è stata fatta la relativizzazione di  $\Psi_0$  dei due regimi a deficit idrico a  $\Psi_0$  del controllo, cui poi è stato sottratto 1. Cioè:  $[(MWD/C)-1]$  e  $[(SWD/C)-1]$ . E' stata eseguita l'ANOVA seguita dal Test LSD per il confronto delle medie tra regime di deficit idrico e controllo. \*\* indica una significatività per  $P<0.01$ .

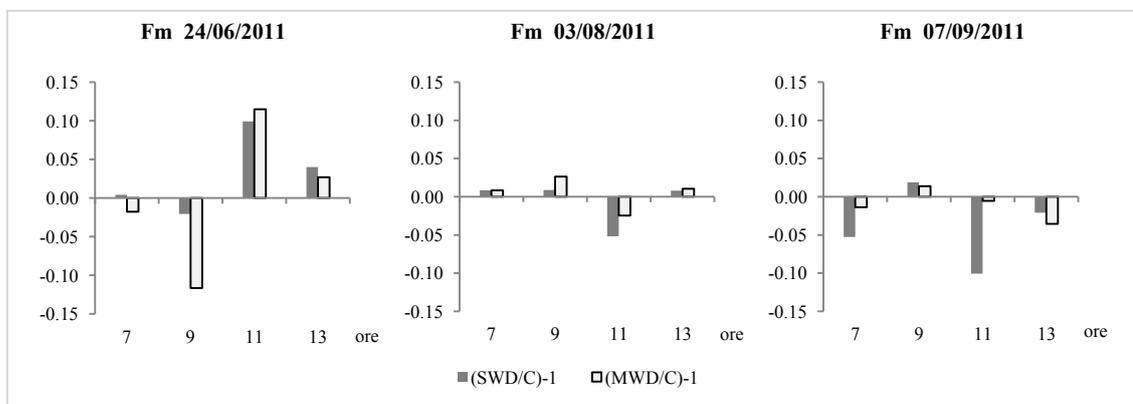
Anche  $\Delta V_{IP}$  (Fig. 33) non ha mostrato differenze significative tra i regimi a deficit idrico e il controllo. L'unica differenza è stata osservata tra MWD e C alle ore 9 del 7 Settembre ( $P<0.05$ ). Si deduce che complessivamente il funzionamento del trasporto

elettronico intorno al PSI non subisca alterazioni sotto stress idrico e il centro di reazione del PSI sia capace di accettare elettroni dal donatore Plastocianina.



**Fig. 33** *Photinia x fraseri* var. Red Robin. A ogni ora di misura è stata fatta la relativizzazione di  $\Delta V_{IP}$  dei regimi a deficit idrico a  $\Delta V_{IP}$  del controllo, cui poi è stato sottratto 1. Cioè:  $[(MWD/C)-1]$  e  $[(SWD/C)-1]$ . E' stata eseguita l'ANOVA seguita dal Test LSD per il confronto delle medie tra regime di deficit idrico e controllo. \* indica una significatività per  $P < 0.05$ .

Fm non ha mostrato differenze significative tra i regimi idrici a deficit idrico e il controllo in nessuna delle tre date e a nessuna ora, indicando un mantenimento della funzionalità nella riduzione degli accettori di elettroni del PSII (Fig. 34).



**Fig. 34** *Photinia x fraseri* var. Red Robin. A ogni ora di misura è stata fatta la relativizzazione di Fm dei regimi a deficit idrico a Fm del controllo, cui poi è stato sottratto 1. Cioè:  $[(MWD/C)-1]$  e  $[(SWD/C)-1]$ . E' stata eseguita l'ANOVA per il confronto delle medie tra regime di deficit idrico e controllo che non ha evidenziato nessuna differenza statisticamente significativa a nessuna ora.

Oltre ai punti OJIP, è stata investigata la presenza delle bande K e L nella fase O-J.

La banda K diventa visibile quando ci sono dei problemi nell'efficienza del donatore di elettroni dal OEC (*Oxygen Evolving Complex*) o quando cambia l'architettura del PSII con conseguente alterazione della distribuzione energetica nei complessi pigmento-proteina (Bussotti et al., 2012). Dopo che  $Q_A$  si è ridotto a  $Q_A^-$ , si riossida trasferendo

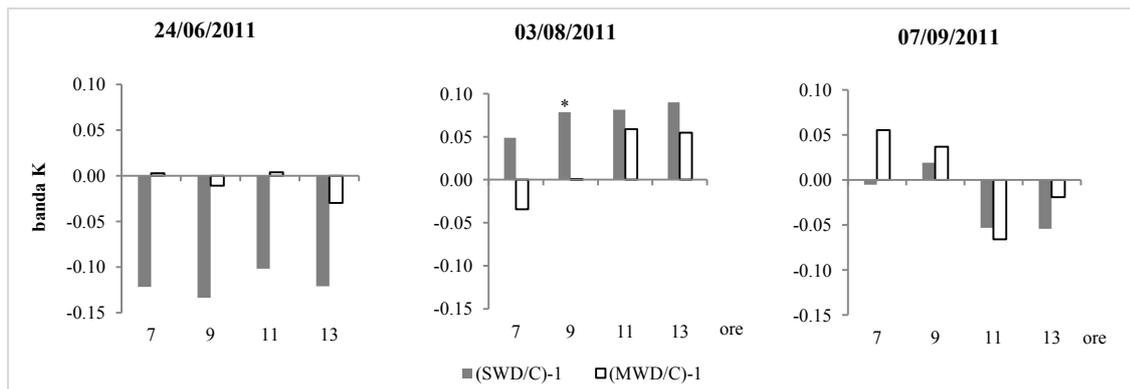
gli elettroni a  $Q_B$  ma con il mal funzionamento dell'OEC, manca il rifornimento di elettroni al centro di reazione che conduce a una nuova riduzione di  $Q_A$  e da ciò risulta un abbassamento della fluorescenza.

La banda K è calcolata con una normalizzazione del valore di fluorescenza a 300  $\mu$ s, tra  $F_0$  e  $F_J$ .

$$V_{(OJ)300} = (F_{300\mu s} - F_0)/(F_J - F_0)$$

Nei grafici sottostanti i valori della banda K sono stati relativizzati al controllo cui poi è stato sottratto 1.

In fotinia (Fig. 35) i valori dei regimi a deficit idrico (MWD e SWD) sono generalmente simili a quelli di C in tutte e tre le date. Lo stress idrico non ha provocato alterazioni nella trasmissione di elettroni tra il donatore OEC e il centro di reazione o nella trasmissione energetica nel complesso antenna del PSII.



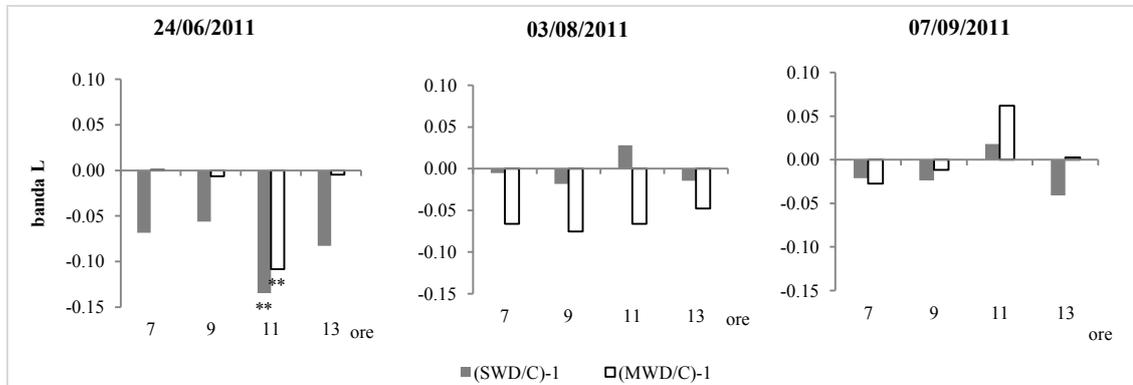
**Fig. 35** *Photinia x fraseri* var. Red Robin. La banda K è stata calcolata normalizzando il valore di  $F_{300}$  (a 300  $\mu$ s) tra  $F_0$  e  $F_J$ . A ogni ora di misura è stata fatta la relativizzazione al controllo della banda K cui è stato sottratto 1, cioè: [(MWD/C)-1] e [(SWD/C)-1]. E' stata eseguita l'ANOVA seguita dal Test LSD per il confronto delle medie tra regime di deficit idrico e controllo. \* indica la significatività rispetto al controllo per  $P < 0.05$ .

La banda L invece rappresenta la connettività tra i componenti del PSII (centro di reazione, antenna e *Light Harvesting Complex*). Se questi sono ben connessi tra loro l'energia di eccitazione può fluire tra l'antenna e il centro di reazione. Quando si evidenzia la banda L significa che si verifica una perdita di connettività all'intero delle unità del PSII. La banda L è calcolata come:

$$V_{(OK)100} = (F_{100\mu s} - F_0)/(F_{300\mu s} - F_0)$$

Nei grafici sottostanti (Fig. 36) viene presentata la banda L relativizzata al controllo, cui poi è stato sottratto 1.

Solo a Giugno i regimi di deficit idrico SWD e MWD hanno mostrato un valore di banda L significativamente più basso rispetto al controllo ( $P < 0.01$ ). Nelle altre date invece non si osservano differenze.



**Fig. 36** *Photinia x fraseri* var. Red Robin. La banda L è stata calcolata normalizzando il valore di  $F_{100}$  (a  $100 \mu s$ ) tra  $F_0$  e  $F_K$ . A ogni ora di misura è stata fatta la relativizzazione al controllo della banda K cui è stato sottratto 1, cioè:  $[(MWD/C)-1]$  e  $[(SWD/C)-1]$ . E' stata eseguita l'ANOVA seguita dal Test LSD per il confronto delle medie tra regime di deficit idrico e controllo. \*\* indica la significatività rispetto al controllo per  $P < 0.01$ .

I valori medi dei parametri sopra menzionati ( $F_0$ ,  $\Phi_{P0}$ ;  $\Psi_0$ ;  $\Delta V_{IP}$ ;  $F_m$ ) riferiti alle ore 7, 9, 11 e 13 sono stati poi relativizzati alle ore 7 in ciascun regime idrico.

Alla rappresentazione grafica (Fig. 37) segue la tabella 3 con l'analisi statistica dei confronti tra le medie relative all'ora di misurazione.

$F_0$ . Il 24 Giugno le piante in SWD non hanno mostrato differenze tra i valori di  $F_0$  misurati alle diverse ore del mattino mentre quelle del controllo e quelle in MWD hanno mostrato rispettivamente una differenza tra  $F_0$  delle 7 e quello delle 11 ( $P < 0.01$ ) e tra  $F_0$  delle 7,  $F_0$  delle 9, con quello delle ore 13 ( $P < 0.05$ ). I valori della tarda mattinata sono risultati più alti, indicando una perdita di efficienza nel trasferimento energetico tra i complessi pigmento-proteina dell'antenna e il centro di reazione del PSII.

Il 3 Agosto invece, anche il regime SWD ha mostrato un'alterazione di  $F_0$ . In tutti i regimi è stata osservata una riduzione di  $F_0$  alle 11 del mattino ( $P < 0.01$ ) rispetto quello misurato alle prime ore del mattino (ore 7, 9) ma anche rispetto alle ore 13.

Il 7 Settembre infine, tutti i regimi hanno mostrato un aumento di  $F_0$  alle ore 13 rispetto a quello delle 7 ( $P < 0.01$ ), e come in Agosto, in SWD il valore alle ore 11 è stato più basso di quello alle 7 ( $P < 0.01$ ).

$\Phi_{p0}$ . Il 24 Giugno le differenze maggiori si sono riscontrate nel gruppo C con i valori delle misure effettuate alle 7 e alle 9 più alti rispetto a quelli delle ore successive (11, 13) ( $P < 0.01$ ), indicando una diminuzione della resa quantica delle reazioni primarie nelle ore più calde del mattino.

Il 3 Agosto in tutti i regimi si sono osservate differenze tra  $\Phi_{p0}$  del primo mattino (ore 7) e quello della tarda mattinata (ore 11, 13), ridotto. Inoltre, sia in MWD sia in C la riduzione di  $\Phi_{p0}$  è stata osservata anche tra le ore 7 e le ore 9 e tra quello delle ore 9 e con quello delle ore successive ( $P < 0.05$ ).

Il 7 Settembre, è stato soprattutto il gruppo del controllo a manifestare le maggiori differenze con i valori di  $\Phi_{p0}$  registrati alle 7 e alle 9 più alti rispetto quelli successivi ( $P < 0.01$ ).

$\Psi_0$ . Il 24 Giugno  $\Psi_0$  ha registrato in tutti e tre i regimi i valori più alti nella tarda mattinata (11, 13) con una differenza significativa rispetto i rilievi del primo mattino (ore 7) ( $P < 0.01$ ). In MWD e in C,  $\Psi_0$  delle 13 era anche maggiore rispetto quello delle 9 ( $P < 0.01$ ).

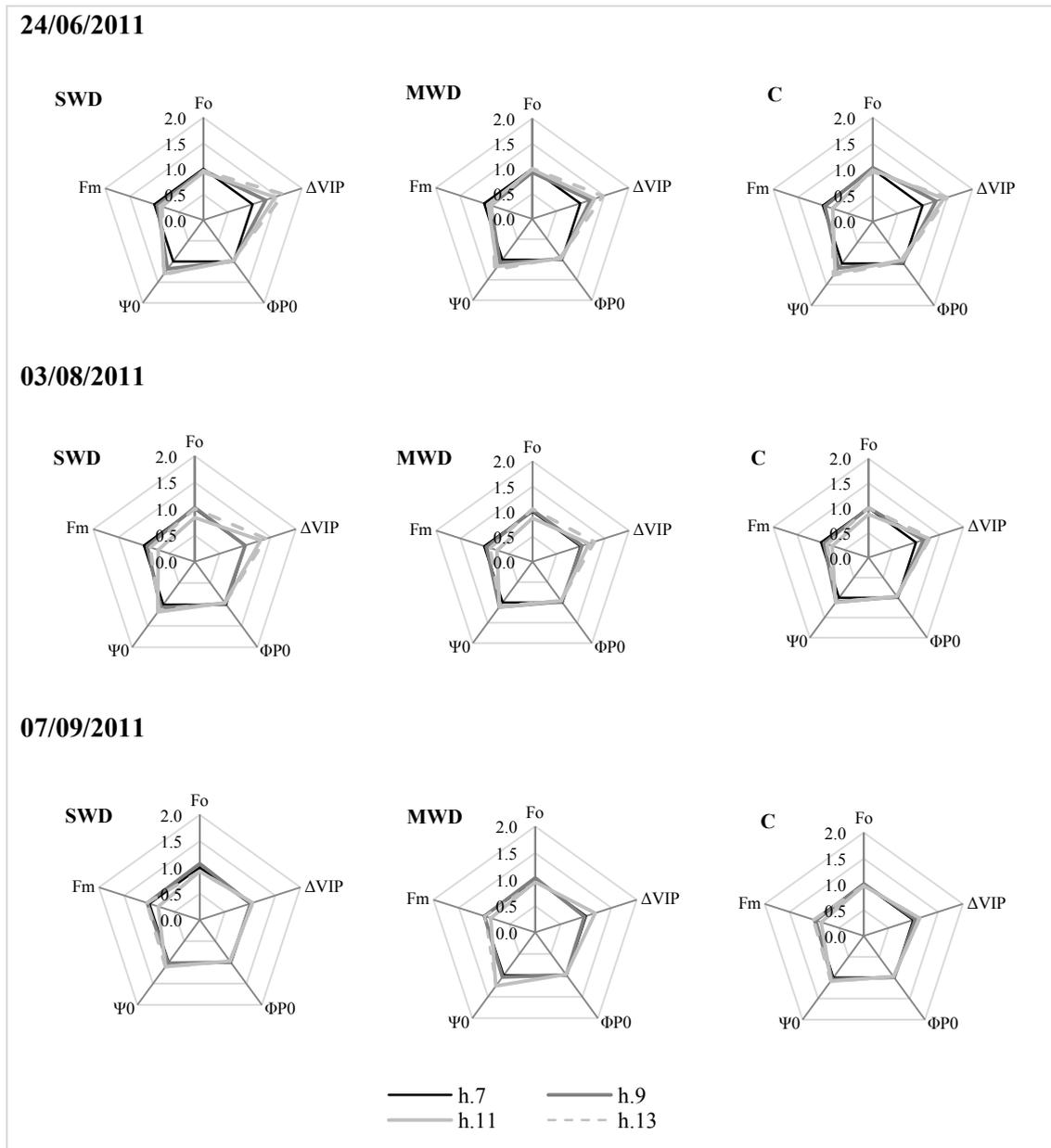
Ad Agosto però le differenze tra le misure effettuate alle diverse ore della mattinata non hanno fatto notare grandi significatività, a parte nel regime SWD in cui  $\Psi_0$  delle 11 e delle 13 è risultato più alto rispetto quello delle 7 ( $P < 0.01$  e  $P < 0.05$ ).

Ancora a Settembre, SWD manteneva lo stesso comportamento tra  $\Psi_0$  delle 7 e quello delle 13 ( $P < 0.05$ ).

$\Delta V_{IP}$ . Il 24 Giugno il regime SWD ha presentato un  $\Delta V_{IP}$  alle ore 7 significativamente più basso rispetto quello misurato alle ore 9 e soprattutto rispetto alle 11 e alle 13 ( $P < 0.05$ ;  $P < 0.01$ ). Anche  $\Delta V_{IP}$  delle 9 era più basso rispetto quello delle 13 ( $P < 0.01$ ). Sembra quindi che nel corso della mattinata aumenti l'efficacia del trasferimento di elettroni a livello del PSI.

Ad Agosto è stato confermato il risultato di Giugno, con le differenze più significative tra gli orari più estremi come tra  $\Delta V_{IP}$  delle 7 con  $\Delta V_{IP}$  delle 13 (in tutti i regimi  $P < 0.01$ ), e a Settembre, allo stesso modo, tra  $\Delta V_{IP}$  delle 7 e  $\Delta V_{IP}$  delle ore 13 ( $P < 0.1$  in SWD e in C;  $P < 0.05$  in MWD) che differiva anche da quello delle ore 9 ( $P < 0.01$  in tutti i regimi).

Fm. Il 24 Giugno è il regime C ad aver presentato differenze significative tra Fm a orari diversi. Fm delle ore 7, ma anche quello delle 9, sono risultati maggiori rispetto quello delle 11 ( $P < 0.01$ ) e delle 13 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ) indicando a queste ore una situazione di stress. Sia il 3 Agosto che il 7 Settembre, tutti i regimi hanno mostrato differenze significative tra Fm delle 7 e quello delle ore 11 e 13 che sono risultati più bassi.



**Fig. 37** *Photinia x fraseri* var. Red Robin. Relativizzazione alle ore 7 dei parametri del *transient* OJIP ( $F_0$ ,  $\psi_0$ ,  $\Phi_{P0}$ ,  $\Delta V_{IP}$ ,  $F_m$ ), misurati alle ore successive (9; 11; 13) in ciascun regime idrico (SWD, MWD e C) e in tre date distinte (24 Giugno, 3 Agosto e 7 Settembre).

24/06/2011		F <sub>0</sub>				Φ <sub>P0</sub>				Ψ <sub>0</sub>				ΔV <sub>IP</sub>				F <sub>m</sub>				
		ore	7	9	11	13	7	9	11	13	7	9	11	13	7	9	11	13	7	9	11	13
SWD	7		--	--	--		--	--	--		--	*	**		*	**	**		--	--		*
	9		--		--	--	--		--	--	--		--	--	*		--	**	--	--		--
	11		--	--		--	--	--		--	*	--		--	**	--		--	--	--		--
MWD	7		--	--	*		--	--	*		--	*	**		*	**	**		*	--		*
	9		--		--	--	--		--	--	--		--	*	*		--	**	*		--	--
	11		--	--		--	--	--		--	*	--		--	**	--		--	--	--		--
C	7		--	**	**		--	**	**		--	**	**		**	**	**		--	**	**	**
	9		--		**	*	--		**	*	--		*	**	**		*	**	--		**	*
	11		**	**		--	**	**		--	**	*		--	**	*		--	**	**		--
03/08/2011																						
SWD	7		--	**	*		--	**	*		--	**	*		--	*	**		--	**	**	**
	9		--		--	--	--		--	--	--		--	--	--		*	**	--		**	--
	11		**	--		--	**	--		--	**	--		--	*	*		--	**	**		**
MWD	7		*	**	**		*	**	**		--	--	--		--	--	**		--	**	**	**
	9		*		*	*	*		*	*	--		--	--	--		--	*	--		**	--
	11		**	*		--	**	*		--	--		--	--	--	--	--	--	**	**		**
C	7		*	**	**		*	**	**		--	--	--		--	**	**		--	**	**	**
	9		*		*	*	*		*	*	--		--	--	--		--	--	--		**	--
	11		**	*		--	**	*		--	--		--	--	**	--		--	**	**		**
07/09/2011																						
SWD	7		--	*	*		--	*	*		--	--	*		--	--	**		--	**	**	**
	9		--		--	--	--		--	--	--		--	--	--		--	**	--		**	--
	11		*	--		--	*	--		--	--	--	--	--	--	--		*	**	**		**
MWD	7		--	--	*		--	--	*		--	*	--		--	*	*		--	**	**	**
	9		--		--	*	--		--	*	--	*	--		--		**	**	--		**	--
	11		--	--		--	--	--		--	*	*	--		*	**		--	**	**		**
C	7		--	**	**		--	**	**		--	--	--		--	**	**		--	**	**	--
	9		--		*	**	--		*	**	--		--	--	--		--	**	--		**	--
	11		**	*		*	**	*		*	--	--	--		**	--		--	*	--		*

**Tabella 3.** *Photinia x fraseri* var. Red Robin. Per ogni regime idrico sono indicati i livelli di significatività delle differenze tra le medie dei parametri (F<sub>0</sub>, Φ<sub>P0</sub>, Ψ<sub>0</sub>, ΔV<sub>IP</sub>, F<sub>m</sub>) misurati alle ore 7, 9, 11 e 13 nelle tre date indicate. E' stata eseguita l'ANOVA seguita dal Test LSD per il confronto delle medie misurate alle diverse ore della mattinata in ciascun regime idrico. \* indica una significatività per P<0.05; \*\* indica una significatività per P<0.01; -- indica nessuna significatività.

*Indice di clorofilla*

Oltre all'analisi della fluorescenza della clorofilla *a*, è stato valutato il contenuto della clorofilla in unità di SPAD. Non sono state rilevate differenze significative tra le medie dei regimi idrici e i valori si sono mantenuti costanti durante il periodo di condizionamento.

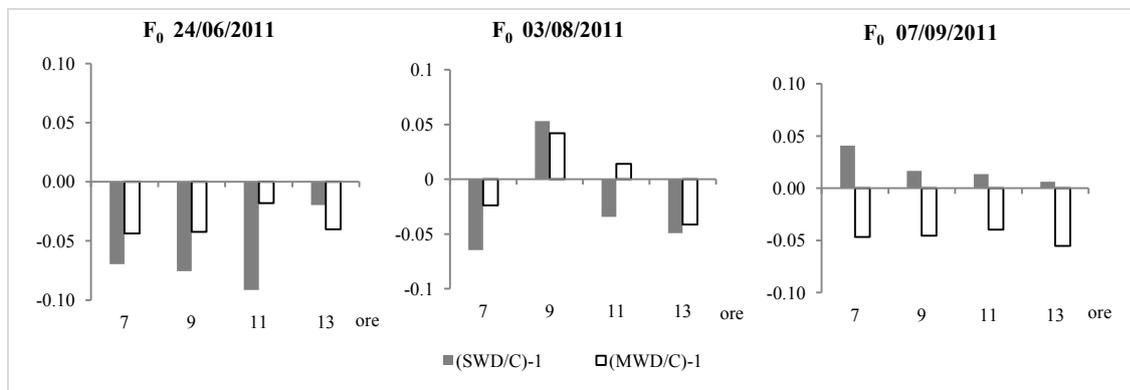
<b>Fotinia</b>	<b>12/7/11</b>	<b>3/8/11</b>	<b>24/8/11</b>	<b>7/9/11</b>	<b>media±s.d.</b>
SWD	74.5±9.5	76±5	77.6±6.9	80.8±10	77.2±7.9
MWD	72±5.3	76.1±7	77.4±8.5	74.9±8.8	75.1±7.4
C	71.7±6.4	74.7±5.3	74.1±5.7	82.2±13.3	75.7±7.7

**Tabella 4.** Per ogni regime idrico è stato misurato il contenuto di clorofilla in unità di Spad su 18 foglie, prendendo tre misure per ogni foglia. E' stata eseguita l'ANOVA per il confronto delle medie dei regime idrici ma non è stata rilevata nessuna significatività. Sono indicati i valori medi ± s.d.

*Viburno:*

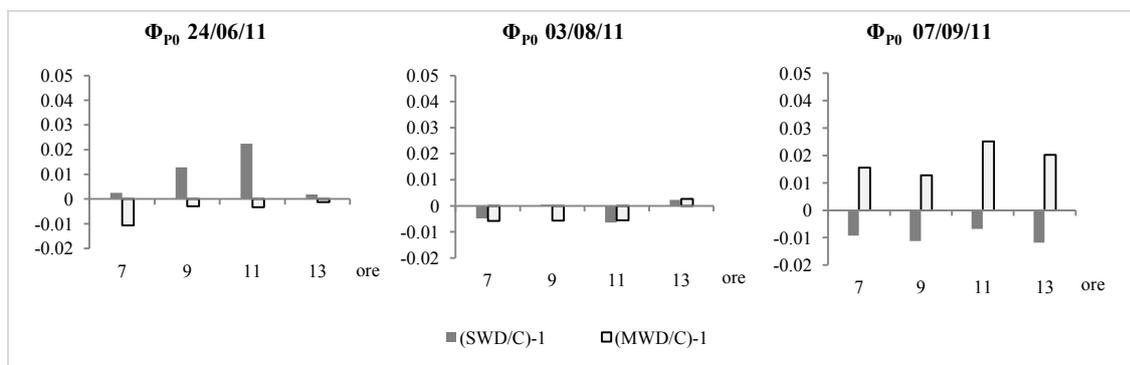
I risultati sulla relativizzazione dei valori medi dei regimi a deficit idrico rispetto il controllo nelle date del 24 Giugno, 3 Agosto e 7 Settembre sono esposti di seguito.

Per quanto riguarda  $F_0$  (Fig. 38), nelle tre date di rilievo non si sono osservate differenze significative tra  $F_0$  dei regimi in deficit idrico e il controllo, indicando che lo stress idrico non ha indotto un'alterazione negativa della capacità di trasferimento di energia dal complesso antenna del PSII al centro di reazione.



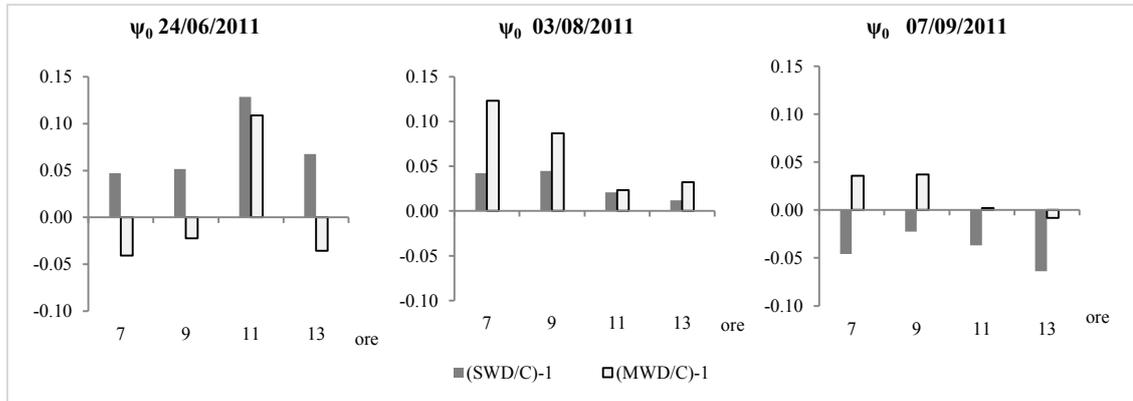
**Fig. 38** *Viburnum opulus* L. Relativizzazione di  $F_0$  dei due regimi a deficit idrico a  $F_0$  del controllo, cui poi è stato sottratto 1. Cioè:  $[(MWD/C)-1]$  e  $[(SWD/C)-1]$ . E' stata eseguita l'ANOVA per il confronto delle medie tra regime di deficit idrico e controllo che non ha evidenziato nessuna differenza statisticamente significativa a nessuna ora.

$\Phi_{p0}$ , come nelle misure alle 7 del mattino, durante il corso della mattina non ha mostrato differenze significative tra i regimi a deficit idrico e il controllo (Fig. 39) indicando una resa quantica delle reazioni primarie a livello del PSII simile nei tre regimi idrici.



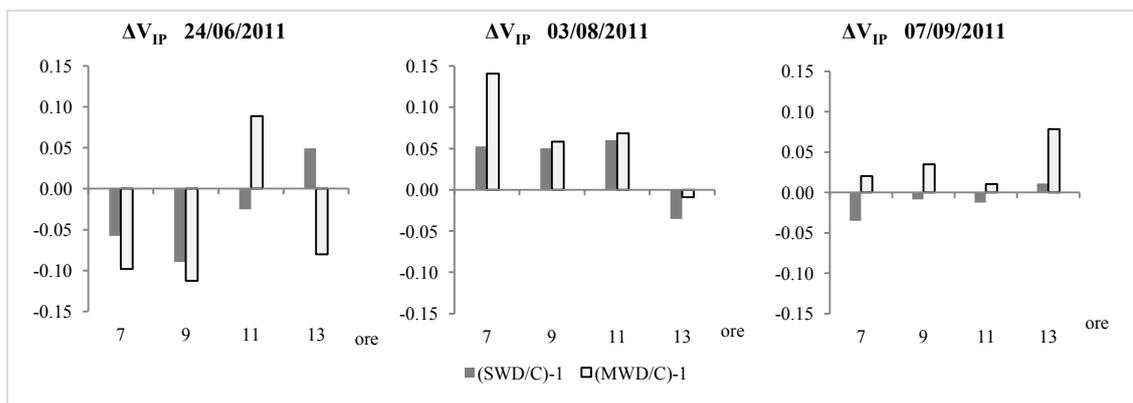
**Fig. 39** *Viburnum opulus* L. Relativizzazione di  $\Phi_{p0}$  dei due regimi a deficit idrico a  $\Phi_{p0}$  del controllo, cui poi è stato sottratto 1. Cioè:  $[(MWD/C)-1]$  e  $[(SWD/C)-1]$ . E' stata eseguita l'ANOVA per il confronto delle medie tra regime di deficit idrico e controllo che non ha evidenziato nessuna differenza statisticamente significativa a nessuna ora.

Anche riguardo a  $\psi_0$  non si sono osservate differenze significative tra i regimi a deficit idrico e il controllo (Fig. 40). Tutti i regimi hanno presentato la medesima efficienza nel trasporto degli elettroni nella fase O-J.



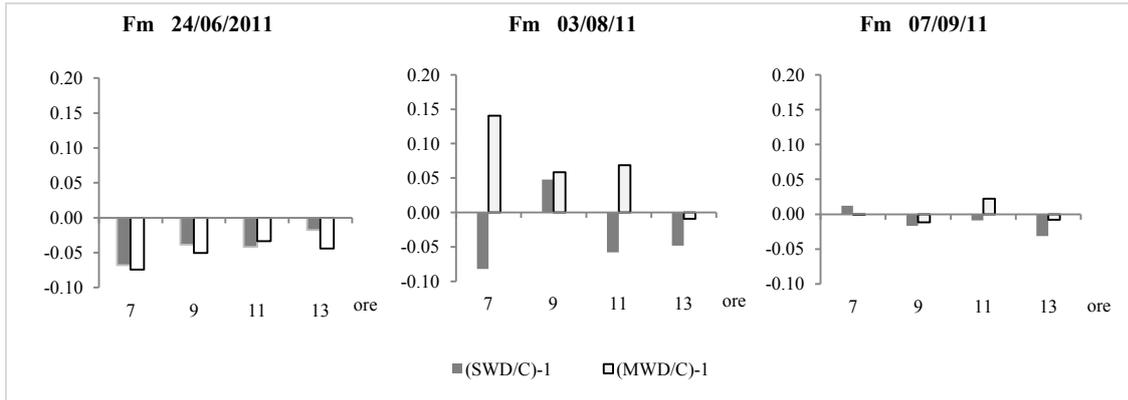
**Fig. 40** *Viburnum opulus* L. Relativizzazione di  $\psi_0$  dei regimi a deficit idrico a  $\psi_0$  del controllo, cui poi è stato sottratto 1. Cioè: [(MWD/C)-1] e [(SWD/C)-1]. E' stata eseguita l'ANOVA per il confronto delle medie tra regime di deficit idrico e controllo che non ha evidenziato nessuna differenza statisticamente significativa a nessuna ora.

Stesso risultato per il parametro  $\Delta V_{IP}$  (Fig. 41) che non ha mostrato differenze significative tra i regimi SWD, MWD e C, lo stress idrico quindi non ha determinato un'alterazione del trasporto elettronico a livello del PSI.



**Fig. 41** *Viburnum opulus* L. Relativizzazione di  $\Delta V_{IP}$  dei due regimi a deficit idrico a  $\Delta V_{IP}$  del controllo, cui poi è stato sottratto 1. Cioè: [(MWD/C)-1] e [(SWD/C)-1]. E' stata eseguita l'ANOVA per il confronto delle medie tra regime di deficit idrico e controllo che non ha evidenziato nessuna differenza statisticamente significativa a nessuna ora.

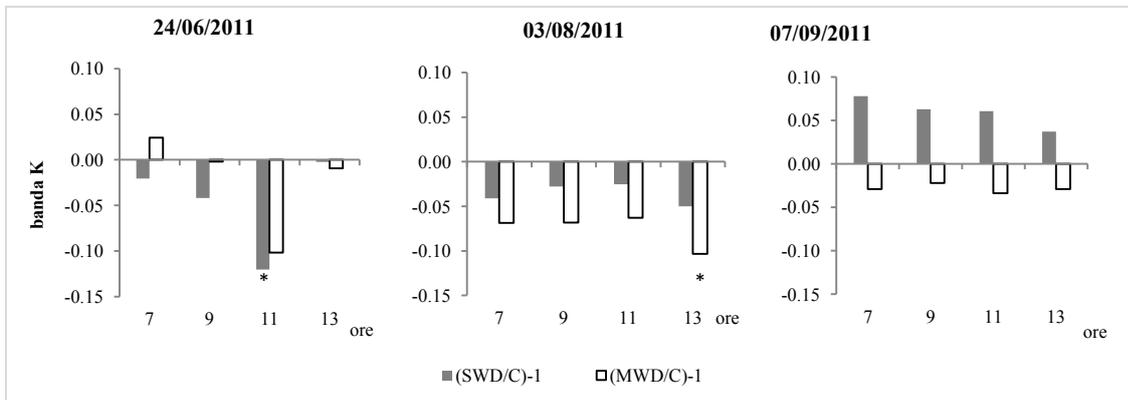
Anche per  $F_m$ , non si sono osservate differenze significative tra i regimi a deficit idrico e il controllo (Fig. 42).



**Fig. 42** *Viburnum opulus* L. Relativizzazione di Fm dei due regimi a deficit idrico a Fm del controllo, cui poi è stato sottratto 1. Cioè: [(MWD/C)-1] e [(SWD/C)-1]). E' stata eseguita l'ANOVA per il confronto delle medie tra regime di deficit idrico e controllo che non ha evidenziato nessuna differenza statisticamente significativa a nessuna ora.

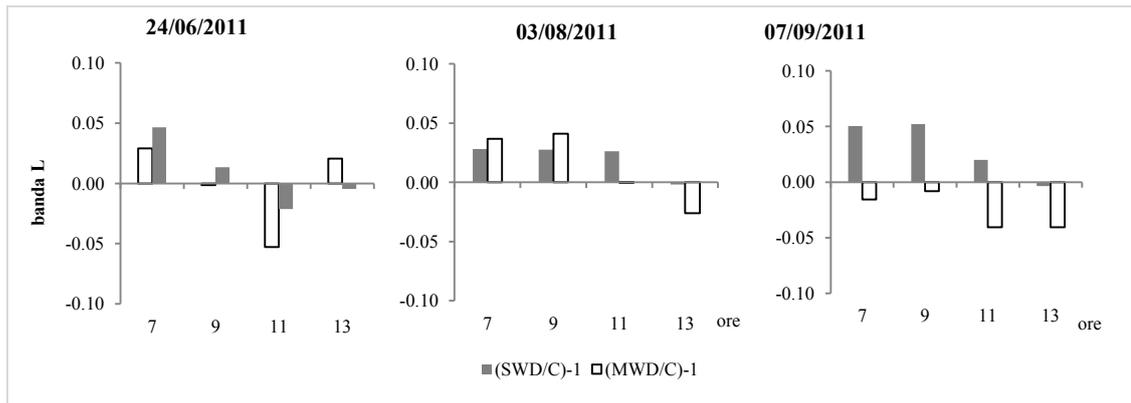
In Viburno, la banda K (Fig. 43) ha in genere valori più bassi in SWD e MWD rispetto a C, ma in modo significativo solo alle ore 11 del 24 Giugno ( $P < 0.05$  per SWD;  $P = 0.06$  per MWD), mentre il 3 Agosto solo in MWD alle 13 è significativamente più bassa rispetto alla banda K di C ( $P = 0.045$ ).

Il 7 Settembre invece non si osservano differenze tra i regimi in deficit e il controllo, piuttosto differenze tra gli stessi regimi a deficit idrico, con i valori in SWD maggiori rispetto quelli di MWD ( $P < 0.05$ ).



**Fig. 43** *Viburnum opulus* L. La banda K è stata calcolata normalizzando il valore di  $F_{300}$  (a  $300 \mu s$ ) tra  $F_0$  e  $F_j$ . A ogni ora di misura è stata fatta la relativizzazione al controllo della banda K cui è stato sottratto 1, cioè: [(MWD/C)-1] e [(SWD/C)-1]). L'analisi statistica ANOVA, seguita dal test LSD ha evidenziato piccole differenze tra i regimi a deficit idrico e il controllo in alcune ore della mattinata (\* per  $P < 0.05$ ).

La banda L (Fig. 44) invece non ha mostrato differenze tra i regimi a deficit idrico e il controllo in nessuna data.



**Fig. 44** *Viburnum opulus* L. La banda L è stata calcolata normalizzando il valore di  $F_{100}$  (a  $100 \mu s$ ) tra  $F_0$  e  $F_K$ . A ogni ora di misura è stata fatta la relativizzazione al controllo della banda L cui è stato sottratto 1, cioè:  $[(MWD/C)-1]$  e  $[(SWD/C)-1]$ . L'analisi statistica ANOVA non ha evidenziato differenze tra i regimi a deficit idrico e il controllo in nessuna data e a nessuna ora di misura durante la mattinata.

I valori dei parametri  $F_0$ ,  $\Phi_{P0}$ ,  $\psi_0$ ,  $\Delta V_{IP}$ ,  $F_m$ , misurati ogni due ore nell'arco della mattina e relativizzati alle ore 7, sono mostrati in figura 45, mentre la significatività del confronto tra le medie dei tre regimi idrici è riportata nella tabella 5.

Per quanto riguarda  $F_0$ , a Giugno nelle ore più calde della mattina, ad esempio alle 13, ha presentato in tutti i regimi idrici valori più elevati rispetto  $F_0$  rilevato alle 7 ( $P < 0.01$ ). In misura minore è stata osservata anche una differenza tra  $F_0$  delle 7 e quello delle ore 11 nei regimi MWD e C ( $P < 0.01$  e  $P < 0.05$ ).

Ad Agosto invece le differenze si riscontrano tra  $F_0$  delle 7 con quello delle 11 ( $P < 0.05$  in SWD;  $P < 0.01$  in MWD e C) che registrava però un valore più basso rispetto agli altri, più basso anche rispetto quello delle 13 ( $P < 0.05$  in SWD e MWD;  $P < 0.01$  in C).

Ad ogni modo a Settembre in tutti e tre i regimi  $F_0$  delle 11 ( $P < 0.01$ ) e delle 13 ( $P < 0.01$ ) erano più alti rispetto  $F_0$  del mattino.

$\Phi_{P0}$  ha fatto osservare i valori più alti alle 7 del mattino rispetto alle ore successive e le maggiori differenze significative tra  $\Phi_{P0}$  misurato alle diverse ore del mattino, si sono registrate il 24 Giugno. In questa data, in tutti i regimi,  $\Phi_{P0}$  delle ore 7 è risultato significativamente maggiore rispetto a quelli della tarda mattinata (ore 11 e 13;  $P < 0.01$ ), indicando un abbassamento della resa quantica delle reazioni primarie nel corso del mattino. Nel regime MWD, anche  $\Phi_{P0}$  misurato alle ore 9 risulta maggiore rispetto a quello delle ore successive ( $P < 0.01$ ). Nelle date successive invece non sono state

riscontrate importanti differenze significative tra  $\Phi_{P0}$  a orari diversi. Il regime SWD ha mantenuto nel tempo lievi differenze tra  $\Phi_{P0}$  delle 7 e quello delle 11 ( $P < 0.05$ ).

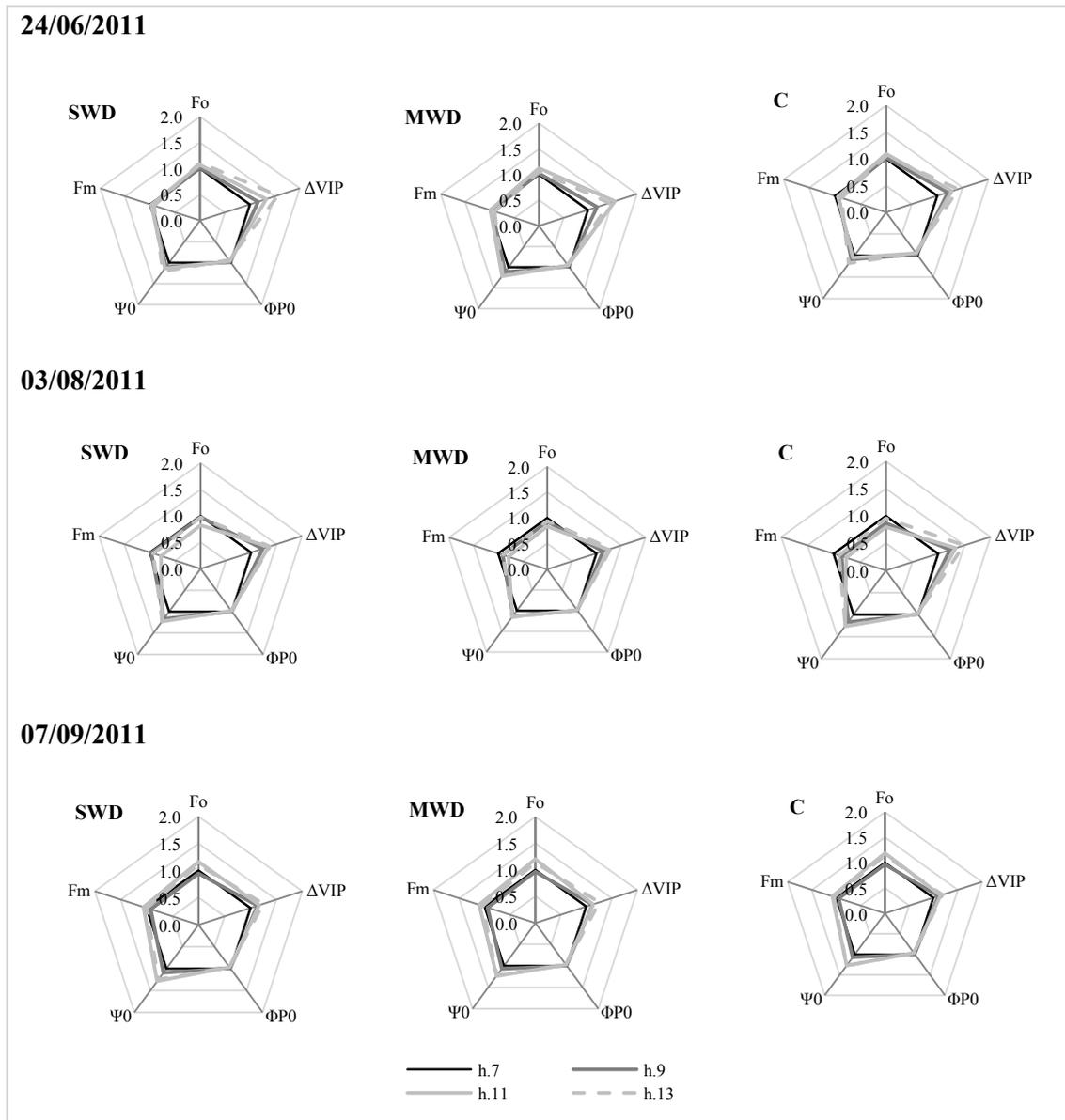
$\Psi_0$  ha mostrato differenze significative tra quello delle ore 7 e quelli delle 11 e delle 13 che sono risultati più elevati, in tutte e tre le date anche se con probabilità diverse e in tutti i regimi idrici, indicando una maggiore efficienza nel trasporto di elettroni nella fase O-J. Il 24 Giugno si è registrata nel regime MWD anche una differenza tra  $\Psi_0$  delle ore 9 e quello delle 13 ( $P < 0.01$ ). Lo stesso risultato è stato riscontrato anche il 7 Settembre in tutti i regimi idrici ( $P < 0.01$ ) e anche rispetto  $\Phi_{P0}$  delle ore 11 ( $P < 0.01$ ).

Il 24 Giugno,  $\Delta V_{IP}$  ha mostrato valori significativamente più alti alle 11 e alle 13 ( $P < 0.01$ ) rispetto quello delle 7 e, con probabilità diverse a seconda del regime, anche rispetto le ore 9. Questo è stato osservato in tutti e tre i regimi idrici.

Nei rilievi successivi sono stati registrati i medesimi andamenti seppur le differenze viste sopra siano state più forti in SWD e in C al 3 Agosto e in MWD e SWD al 7 Settembre. In questa data il controllo non ha fatto registrare differenze significative.

Fm non ha registrato differenze significative nel rilievo del 24 Giugno, eccetto in C, in cui quello delle 7 risultava più alto di quello delle ore 13 ( $P < 0.05$ ).

Nelle date successive, il 3 Agosto e il 7 Settembre, invece in tutti i regimi sono state registrate differenze tra Fm alle 9 e Fm alle 11 ( $P < 0.01$ ), e nel regime MWD anche tra quello delle 7 e quello delle 11 ( $P < 0.01$ , in entrambe le date). Ad agosto inoltre, Fm delle ore 13 ha registrato valori più alti rispetto a quello delle 11 in tutti e tre i regimi ( $P < 0.01$ ) come se a quell'ora le piante avessero una capacità di recupero.



**Fig. 45** *Viburnum opulus* L. Relativizzazione alle ore 7 dei parametri del *transient* OJIP ( $F_0$ ,  $\psi_0$ ,  $\Phi_{P0}$ ,  $\Delta V_{IP}$ ,  $F_m$ ), misurati alle ore successive (9; 11; 13) in ciascun regime idrico (SWD, MWD e C) e in tre date distinte (24 Giugno, 3 Agosto e 7 Settembre).

24/06/11		F <sub>0</sub>				Φ <sub>P0</sub>				Ψ <sub>0</sub>				ΔV <sub>IP</sub>				F <sub>m</sub>			
ore		7	9	11	13	7	9	11	13	7	9	11	13	7	9	11	13	7	9	11	13
SWD	7	--	--	**		--	**	**		--	*	**		--	**	**		--	--	--	
	9	--		--	*	--		--	**	--		--		--		--	**	--	--	--	
	11	--	--		--	--	--		**	--	--		--	**	--		--	--	--	--	
MWD	7	--	**	*		*	**	**		*	**	**		--	**	**		--	--	--	
	9	--		--	--	*		*	**	*		*	**	--		*	*	--	--	--	
	11	**		--	--	**	*		--	**	*		--	**	*		--	--	--	--	
C	7	--	*	**		*	**	**		--	--	*		*	**	**		--	--	*	
	9	--		--	--	*		--	*	--	--	--		*		--	*	--	--	--	
	11	*				**	--		--	--	--	*		**	--		--	--	--	--	
03/08/11																					
SWD	7	--	--	--		--	*	--		**	**	**		**	**	**		--	**	--	
	9	--		*	--	--		*	--	**		--	--	**		--	*	--		**	--
	11	--	--		*	*	*		--	**	--		--	**	--		--	**	**	**	**
MWD	7	--	**	--		--	*	*		--	*	*		--	*	*		*	**	*	
	9	--		*	--	--		--	--	--		--	--	--		--	--	*		**	--
	11	**	*		*	*	--		--	*	--		--	*	*		--	**	**	**	**
C	7		*	**	--	--	--	--		**	**	**		*	**	**		**	**	*	
	9	*		--	**	--		--	--	**		--	--	*		--	**	**		--	--
	11	**	--		**	--	--	--	--	**	--		--	**	--		--	**	--	**	**
07/09/11																					
SWD	7	--	**	*		--	*	*		--	**	**		--	*	**		--	--	--	
	9	--		**	**	--		--	--	--		**	*	--		--	--	--		**	--
	11	**	**		--	*	--		--	**	**		--	*	--		--	--	**		--
MWD	7	--	**	**		--	--	*		--	**	**		*	**	**		--	**	--	
	9	--		**	**	--		--	--	--		**	**	*		--	**	--		**	**
	11	**	**		--	--	--		--	**	**		--	**	--		*	**	**		--
C	7	--	**	**		--	--	--		--	**	**		--	--	--		--	--	--	
	9	--		**	*	--		--	--	--		**	**	--		--	--	--		**	*
	11	**	**		--	--	--	--	--	**	**		--	--	--		--	--	**		--

**Tabella 5.** *Viburnum opulus* L. Per ogni regime idrico sono indicati i livelli di significatività delle differenze tra le medie dei parametri (F<sub>0</sub>, Φ<sub>P0</sub>, Ψ<sub>0</sub>, ΔV<sub>IP</sub>, F<sub>m</sub>) misurati alle ore 7, 9, 11 e 13 nelle tre date indicate. E' stata eseguita l'ANOVA seguita dal Test LSD per il confronto delle medie misurate alle diverse ore della mattinata in ciascun regime idrico. \* indica una significatività per P<0.05; \*\* indica una significatività per P<0.01; -- indica nessuna significatività.

*Indice di clorofilla*

Dall'analisi del contenuto della clorofilla in unità di Spad (tabella 6) non sono state rilevate differenze significative tra le medie dei regimi idrici e i valori si sono mantenuti costanti durante il periodo di condizionamento.

<b>Viburno</b>	<b>12/7/11</b>	<b>3/8/11</b>	<b>24/8/11</b>	<b>7/9/11</b>	<b>media±s.d.</b>
SWD	44.5±3.3	45.8±3.44	48.2±8.1	45.9±6.1	45.1±5.2
MWD	46.1±4.6	50.5±3.8	44.5±6.3	48.6±3.4	47.4±4.5
C	46.1±2	48.1±3.7	47.4±7.1	44.8±9.55	46.6±5.6

**Tabella 6.** Per ogni regime idrico è stato misurato il contenuto di clorofilla in unità di Spad su 18 foglie, prendendo tre misure per ogni foglia. E' stata eseguita l'ANOVA per il confronto delle medie dei regime idrici ma non è stata rilevata nessuna significatività. Sono indicati i valori medi ± s.d.

#### **4.5 Biomassa**

In fotinia (Tabella 7A) SWD ha provocato principalmente una riduzione dell'allungamento dei rami principali su cui è stata misurata l'altezza della pianta, e la differenza è risultata significativa rispetto a C ( $P < 0.01$ ), mentre il regime MWD ha prodotto una crescita intermedia agli altri regimi.

Entrambe i regimi a deficit idrico hanno indotto in generale un minore accrescimento in termini di biomassa prodotta.

Rispetto al controllo, la biomassa aerea, sia quella fogliare sia quella legnosa, è risultata inferiore nei regimi a deficit idrico, in cui è stata registrata anche una minore area fogliare e minor numero di foglie in SWD ( $P < 0.05$ ).

In viburno (Tabella 7B) il deficit idrico non ha avuto effetti sull'accrescimento in altezza, piuttosto sulla produzione di biomassa aerea, fogliare e legnosa risultando minore ( $P < 0.05$ ) in SWD rispetto il controllo. Dalle analisi è emersa anche un'area fogliare ridotta in SWD.

Il rapporto tra biomassa aerea e radicale è risultato più basso in SWD confermando l'induzione del deficit idrico a un maggiore sviluppo dell'apparato radicale piuttosto che della parte aerea.

<b>A. Fotinia</b>												
	$\Delta\text{Øcolletto}_{\text{fin-ini}}$ (mm)	$\Delta H_{\text{fin-ini}}$ (cm)	$H_{\text{fin}}$ (cm)	$NF_{\text{fin}}$	$AF_{\text{fin}}$ (cm <sup>2</sup> )	$AF_{\text{unitaria}}$ (cm <sup>2</sup> )	$DW_{\text{Foglie}}$ (g)	$DW_{\text{Rami}}$ (g)	$DW_{\text{Radici}}$ (g)	$\frac{DW_{\text{aerea}}}{DW_{\text{radici}}}$		
SWD	6.9 ± 2.1	50.2 ± 12.4b	97.9 ± 10.9b	209.7 ± 80ab	3888 ± 1595b	18.5 ± 1.7	59.7 ± 28.3b	63.9 ± 19.8b	34.8 ± 6.9ab	1.7 ± 0.3		
MWD	7.4 ± 1.9	69.8 ± 10.3ab	115.1 ± 12.7ab	197.3 ± 67b	3954 ± 1023b	20.4 ± 2	60.1 ± 15.3b	72.5 ± 6.5b	23.8 ± 16.7b	1.6 ± 0.07		
C	11.7 ± 2.4	89.4 ± 9.4a	135.4 ± 8.7a	343 ± 69a	6393 ± 773a	18.9 ± 2.2	109.7 ± 8.1a	128 ± 24.6a	58.4 ± 21.9a	1.8 ± 0.53		
	n.s.	P<0.01	P<0.01	P=0.048	P<0.05	n.s.	P<0.05	P<0.05	P<0.05	n.s.		
<b>B. Viburno</b>												
	$\Delta\text{Øcolletto}_{\text{fin-ini}}$ (mm)	$\Delta H_{\text{fin-ini}}$ (cm)	$H_{\text{fin}}$ (cm)	$NF_{\text{fin}}$	$AF_{\text{fin}}$ (cm <sup>2</sup> )	$AF_{\text{unitaria}}$ (cm <sup>2</sup> )	$DW_{\text{Foglie}}$ (g)	$DW_{\text{Rami}}$ (g)	$DW_{\text{Radici}}$ (g)	$\frac{DW_{\text{aerea}}}{DW_{\text{radici}}}$		
SWD	3.4 ± 0.5	23.3 ± 6.4	59.4 ± 8.7	120.7 ± 44.6	2068 ± 382b	18 ± 3.4	18.9 ± 5.1b	29.6 ± 3.5b	58.7 ± 17.8	0.9 ± 0.3b		
MWD	5.7 ± 1.5	39.5 ± 10.1	64.9 ± 6.7	149.7 ± 75.6	3725 ± 1042ab	28 ± 9	32 ± 7.1a	44.1 ± 1.4a	34.8 ± 7.9	2.3 ± 0.6a		
C	6.5 ± 3.8	55.7 ± 15.4	70.5 ± 9.5	164 ± 72	4242 ± 1085a	27.2 ± 5	37.7 ± 7.1a	56.3 ± 8.8a	64.7 ± 33.3	1.7 ± 0.9ab		
	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	P<0.05	n.s.	P<0.05	P<0.01 tra C e SWD; P<0.05 tra C MWD	n.s.	P<0.05		

**Tabella 7A e B** Biomassa e accrescimenti in *Photinia x fraseri* var. Red Robin (A) e in *Viburnum opulus* L. (B). Sono indicati i valori medi ± s.d. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal test L-SD nel caso di significatività dal confronto tra le medie. Le differenze sono indicate dalle lettere.

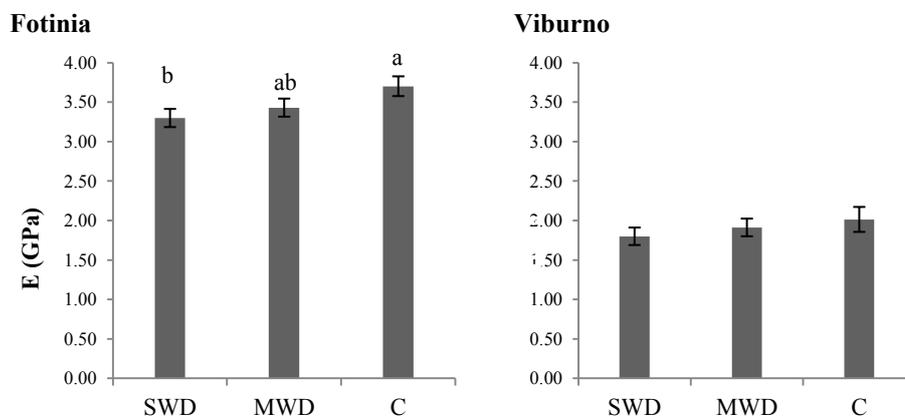
Parametri:

$\Delta\text{Øcolletto}_{\text{fin-ini}}$  = differenza di accrescimento del diametro al colletto tra fine e inizio prova;  $\Delta H_{\text{fin-ini}}$  = differenza di accrescimento in altezza tra fine e inizio prova;  $H_{\text{fin}}$  = altezza della pianta a fine prova;  $NF_{\text{fin}}$  = numero totale di foglie a fine prova;  $AF_{\text{fin}}$  = Area fogliare a fine prova;  $DW_{\text{Foglie}}$  = Peso secco della massa fogliare a fine prova;  $DW_{\text{Rami}}$  = Peso secco della massa legnosa a fine prova;  $DW_{\text{Radici}}$  = Peso secco della massa radicale a fine prova.

#### 4.6 Proprietà del legno

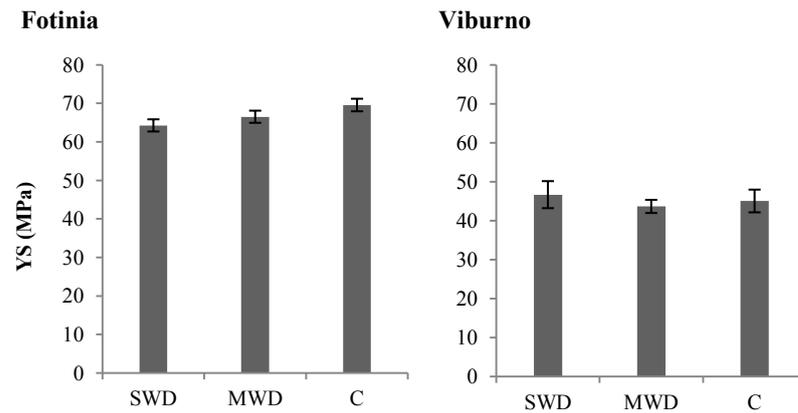
##### Proprietà meccaniche

Per quanto riguarda le proprietà meccaniche del legno misurate sui campioni sottoposti al test di rottura alla flessione, fotinia è risultata avere un legno più rigido rispetto a viburno. Il regime SWD ha anche prodotto delle modificazioni rispetto il modulo di elasticità (E) che è risultato minore, seppur con bassa significatività, rispetto al controllo. Viburno invece non ha mostrato nessuna differenza tra i plots (Fig. 46).



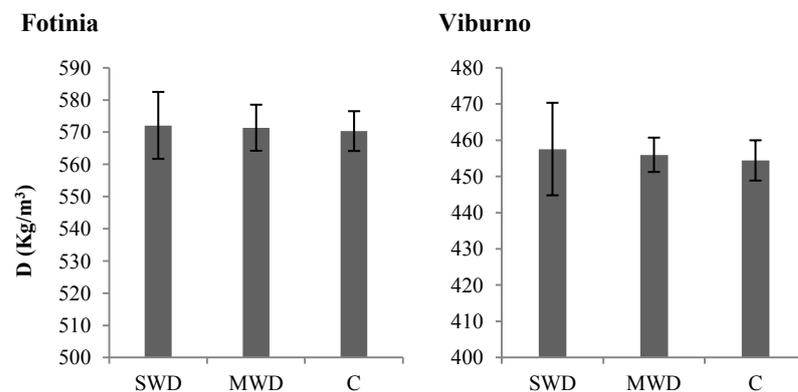
**Fig. 46** Modulo di elasticità in *Photinia x fraseri* var. Red Robin (sinistra) e in *Viburnum opulus* L. (destra). Indica la rigidità del legno. Sono indicati i valori medi e le barre dell'errore standard. E' stata eseguita l'ANOVA seguita dal test Tukey per il confronto delle medie. Le lettere indicano la significatività delle differenze tra regimi idrici per  $P < 0.05$ .

La tensione alla rottura dà una misura della resistenza del legno (YS) che raggiunge il massimo valore prima che si verifichi la deformazione plastica del materiale. All'inizio della prova era stato ipotizzato che lo stress idrico aumentasse la densità del legno e quindi comportasse una maggiore YS. Tuttavia, i regimi idrici non hanno portato differenze significative in entrambe le specie (Fig. 47).



**Fig. 47** La resistenza del legno (tensione di rottura) in *Photinia x fraseri* var. Red Robin (sinistra) e in *Viburnum opulus* L. (destra). Indica la massima pressione che si può esercitare sul legno senza causare una deformazione plastica. Sono riportati i valori medi e barre dell'errore standard per ogni plot. E' stata eseguita l'ANOVA che non ha rilevato differenze significative tra i regimi idrici.

Guardando quindi la densità, è stata osservata la maggiore densità del legno di fotinia rispetto quello di viburno ma in entrambe le specie, i regimi idrici non hanno modificato questa proprietà (Fig. 48).



**Fig. 48** Densità del legno in *Photinia x fraseri* var. Red Robin (sinistra) e in *Viburnum opulus* L. (destra). Il volume di sezioni legnose di circa 5 cm è stato ottenuto attraverso il principio secondo cui il volume di un corpo immerso in un liquido (nel nostro caso acqua distillata) è uguale al peso del liquido spostato. Sono indicati i valori medi e le barre di errore standard per ogni regime idrico. E' stata eseguita l'ANOVA che non ha rilevato differenze significative tra i regimi idrici.

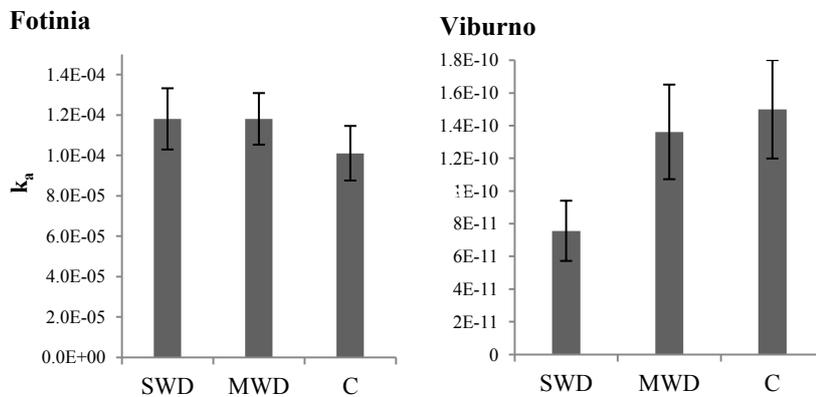
La relazione tra densità del legno e proprietà meccaniche (E e YS) è stata analizzata tramite l'analisi di regressione. In nessuna delle specie le relazioni sono significative ma in viburno, contrariamente alla maggior parte degli studi, è stata trovata una relazione negativa tra D e E ma positiva tra D e YS.

*Proprietà idrauliche*

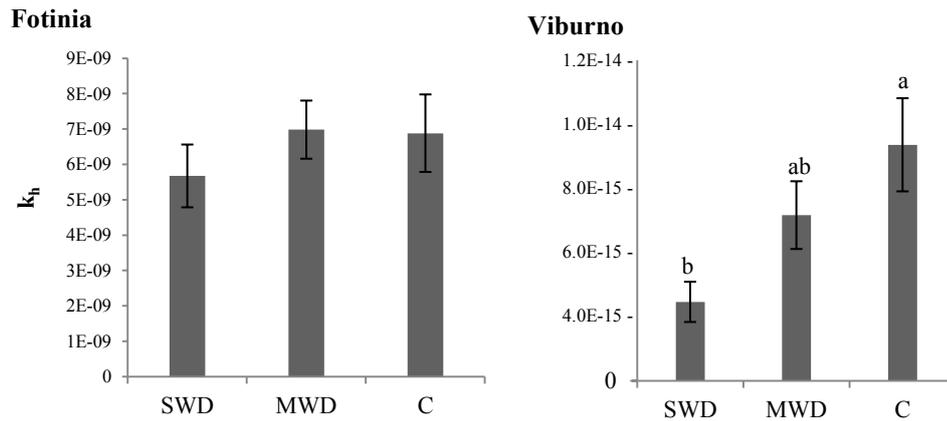
Le proprietà idrauliche del legno sono state descritte attraverso la conduttanza idraulica potenziale dei rametti. La conduttanza idraulica è infatti indicativa della capacità di trasporto dell'acqua fino alle foglie e dipende dalle caratteristiche anatomiche dei vasi ma anche dalle resistenze interne al flusso (tille, lumen di piccole dimensioni). In campo inoltre, si aggiunge il problema della cavitazione per la diminuzione del carico interno verso le pareti dei vasi e l'aumento quindi delle pressioni esterne.

Tuttavia, mentre è stato ipotizzato che le piante sottoposte a deficit idrico avessero sviluppato un legno più denso con conseguenze anche sulla conduttanza idraulica, le differenze in  $k_a$  (Fig. 49) tra i tre plots non sono risultate significative sia in viburno ( $P=0.21$ ) che in fotinia ( $P=0.64$ ). La conduttanza specifica della lunghezza  $k_h$  (Fig. 50) invece è risultata maggiore nelle piante del controllo di viburno che sono risultate differenti in modo significativo da SWD ( $P=0.0305$ ).

Fotinia non ha riportato differenze significative tra i regimi idrici. Il valore della  $k_h$  è risultato comunque maggiore rispetto a quello di viburno.



**Fig. 49** Conduttanza idraulica specifica per la sezione,  $k_a$ , in *Photinia x fraseri* var. Red Robin (sinistra) e in *Viburnum opulus* L. (destra). Sono riportati i valori medi e le barre dell'errore standard. E' stata eseguita l'ANOVA che non ha rilevato differenze significative tra i regimi idrici.



**Fig. 50** Conduttanza specifica della lunghezza  $k_h$ , in *Photinia x fraseri* var. Red Robin (sinistra) e in *Viburnum opulus* L. (destra). Sono riportati i valori medi e le barre di errore standard. E' stata eseguita l'ANOVA seguita dal test Tukey per il confronto delle medie. Le lettere indicano la significatività per  $P < 0.05$ .

I campioni di segmenti legnosi relativi ai regimi idrici su cui sono state misurate le proprietà del legno differivano in diametro. I campioni, di rami in fotinia e di fusti in viburno, in SWD sono risultati di diametro inferiore rispetto al controllo ( $P=0.014$  in viburno;  $P < 0.01$  in fotinia) e in fotinia, anche rispetto MWD (tabella 8).

$\emptyset$ segmenti	Fotinia		Viburno	
	Media	s.e.	Media	s.e.
SWD	7.6 b	0.408	6.9 b	0.181
MWD	8.7 a	0.272	7.7 ab	0.233
C	9.2 a	0.342	8.7 a	0.201
	P < 0.01		P < 0.05	

**Tabella 8.** Diametro dei segmenti di ramo in *Photinia x fraseri* var. Red Robin e di fusti di *Viburnum opulus* L., prelevati dalla parte bassa del materiale di origine. Sono indicati i valori medi e l'errore standard. E' stata eseguita l'ANOVA seguita dal test Tukey per il confronto delle medie. Le lettere indicano la significatività per  $P < 0.05$ .

L'analisi di regressione ha mostrato una relazione negativa tra D e la conduttanza idraulica nel plot del controllo di viburno ( $k_h = -1 \times 10^{-16}D + 7.1 \times 10^{-14}$ ;  $R^2=0.19$ ;  $P=0.0374$ ) e nel plot MWD di fotinia ( $k_h = -4 \times 10^{-11}D + 3 \times 10^{-8}$ ;  $R^2=0.135$ ;  $P=0.0458$  e  $k_a = -1 \times 10^{-6}D + 0.0005$ ;  $R^2=0.149$ ;  $P=0.035$ ). Una ulteriore analisi ha riguardato la relazione tra proprietà meccaniche e idrauliche. La regressione tra E e  $k_a$  e  $k_h$  è positiva ma non significativa in entrambe le specie, mentre quella tra YS e  $k_a$  e  $k_h$  è positiva in fotinia (senza significatività) ma negativa in viburno in C ( $P=0.016$ ).

## 5. DISCUSSIONI DELLA PROVA 1

La prova 1 ha esaminato le risposte fisiologiche di due specie ornamentali arbustive (*Photinia x fraseri* var. 'Red Robin' e *Viburnum opulus* L.) alla *deficit irrigation* in un campo sperimentale all'aperto.

Le misure degli scambi gassosi sono state effettuate alle 10 del mattino in modo da evitare le ore centrali della giornata, in cui l'aumentare progressivo delle temperature e dello stress idrico è tale da provocare alterazioni non controllate in tutti i parametri. La conduttanza stomatica a quest'ora inoltre è correlata con  $g_s$  media giornaliera (Medrano et al, 2002).

Le maggiori differenze di comportamento delle due specie si sono osservate proprio nella conduttanza stomatica, che indica il grado di apertura e di chiusura degli stomi.

La strategia di evitanza è messa in atto da molte specie del clima mediterraneo (Savé et al., 1999; Galmés et al., 2007; Tezara et al., 2005) e comporta la chiusura progressiva degli stomi durante il progredire dello stress idrico, innescata da un segnale chimico (ABA) sintetizzato nelle radici in risposta all'inaridimento del suolo e trasportato fino alle foglie attraverso lo xilema. Alla chiusura stomatica fa seguito la riduzione della fotosintesi netta.

Molti altri fattori come la specie, le condizioni ambientali e di stress incidono sullo stato idrico e la conduttanza stomatica e non è semplice interpretare le risposte in base a questi parametri. Tuttavia Medrano et al. (2002) affermano che durante lo stress idrico il potenziale idrico fogliare e la conduttanza stomatica sono tra loro ben correlati, anche se la chiusura stomatica può avvenire prima che si registrino dei cambiamenti nel potenziale idrico (Socias et al. 1997).

*Photinia* ha mostrato le prime differenze di  $g_s$  tra i tre regimi idrici a partire da Agosto, circa tre mesi dopo l'inizio della prova, con i valori più bassi nel regime SWD, mentre le piante sottoposte a uno stress idrico moderato hanno mostrato un comportamento simile al controllo.

La risposta di viburno è stata invece più rapida con una riduzione di gs in SWD fin da luglio, quindi mostrando una maggiore sensibilità allo stress idrico, contro il quale ha attuato tale strategia più rapidamente, a limitare la perdita d'acqua (Larcher, 1995).

Drastiche riduzioni di gs si sono registrate in corrispondenza di periodi particolarmente caldi, in cui i valori di evaporazione erano tra i più alti dell'estate. Il 12 Luglio e il 24 Agosto, giorni in cui si sono registrate temperature massime sopra i 35°C e alti valori di evaporazione, si sono registrati valori molto bassi di gs in tutte le piante, senza distinzione di regime idrico.

La chiusura stomatica in queste date ha comportato quindi un effetto anche sugli scambi gassosi di vapore acqueo e anidride carbonica.

La traspirazione per esempio ha mostrato una flessione e l'effetto è stato più marcato nel regime più severo.

Sia viburno che fotinia nel regime di deficit idrico moderato in genere hanno registrato valori di traspirazione simili al controllo.

Per quanto riguarda l'assimilazione del carbonio, è stato visto che le piante soggette a regimi di deficit idrico complessivamente hanno comunque mantenuto un bilancio positivo, fotosintetizzando anche in condizioni di stress.

L'ipotizzata riduzione dell'assimilazione del carbonio con il deficit idrico è stata osservata solo in fotinia e dopo più di tre mesi dall'inizio del condizionamento. Viburno ha mostrato complessivamente valori di fotosintesi netta simili tra i diversi regimi idrici. In condizioni ambientali estreme (come è accaduto il 12 Luglio) la riduzione di Pn è stata drastica in entrambe le specie.

Molti studi hanno dibattuto negli anni passati sulle possibili cause alla riduzione della fotosintesi durante la siccità, valutando se fosse più determinante la chiusura stomatica o la limitazione del mesofillo a seguito di disattivazione degli enzimi connessi al ciclo di Calvin. La conduttanza stomatica è stata accettata come la causa principale (Medrano et al., 2002), tuttavia, anche altri processi non stomatici come la fotofosforilazione (Havaux et al., 1987; Meyer e de Kouchkovsky, 1992), la rigenerazione della RuBP (Giménez et al., 1992) e l'attività della Rubisco (Medrano et al., 1997; Parry et al. 2002) tendono a essere danneggiati durante eventi di siccità estremi, compromettendo la fotosintesi.

Nella vite è stato visto che riducendo  $g_s$  fino a  $100 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , la fotosintesi si riduce del 50%, e del 70% quando  $g_s$  raggiunge  $50 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , mentre sotto questa soglia si registra un aumento della concentrazione interna di carbonio facendo presupporre che a questo punto, la diminuzione della fotosintesi sia determinata da limiti non più connessi agli stomi (Medrano et al., 2002), come una limitata rigenerazione della RuBP connessa per esempio a un danneggiamento della sintesi di ATP. La progressiva condizione di stress può quindi condurre a una riduzione dell'efficienza fotochimica e della carbossilazione (Medrano et al. 2002).

Tuttavia, nonostante il 24 Agosto si fossero registrate condizioni ambientali e valori di conduttanza stomatica simili a quelle del 12 Luglio, la fotosintesi netta non è stata compromessa completamente, facendo pensare che la relazione tra  $g_s$  e  $P_n$  sia molto più complessa e che, nonostante la riduzione di  $g_s$ , altri fattori abbiano concorso a mantenere un tasso di assimilazione della  $\text{CO}_2$ .

Nella stessa data difatti si registra una maggiore efficienza nell'uso dell'acqua ( $WUE_{Ph}$ ) rispetto l'assimilazione della  $\text{CO}_2$ , ma a differenza di quanto trovato da altri autori (Evans, 1993; Fereres e Soriano, 2007), non si sono osservate differenze tra i regimi idrici.

E' possibile quindi che il 12 Luglio, altre siano state le cause dell'abbassamento dell'assimilazione del carbonio, non tanto legate a una ridotta diffusione della  $\text{CO}_2$ , quanto per esempio alla inibizione della sintesi di RuBP dovuta a un minore contenuto di ATP (derivante da una perdita di ATP sintetasi) (Tezara et al., 1999).

Dai dati ottenuti, è stato possibile osservare che il regime MWD invece, ha indotto complessivamente una risposta simile a quella del controllo da cui si potrebbe dedurre che una riduzione del 30% dell'approvvigionamento idrico rispetto al controllo, potrebbe essere sufficiente a mantenere la funzionalità della pianta (Tognetti et al. 2007).

Il mantenimento del turgore cellulare è uno dei meccanismi principali per preservare le attività metaboliche.

Dai valori di potenziale idrico fogliare *pre-dawn* ( $\Psi_p$ ) è stato possibile definire lo stato idrico iniziale delle piante, in quanto prima dell'alba il sistema suolo-pianta-aria viene associato a uno stato di equilibrio. Il regime SWD durante il periodo di

condizionamento ha registrato per viburno valori *pre-dawn* tra -0.18 a -0.7 MPa e per fotinia valori tra -0.2 e -0.5 MPa, mentre gli altri regimi non sono scesi sotto -0.5 MPa in viburno e -0.4 MPa in fotinia, dimostrando il recupero notturno dello stato di stress idrico diurno grazie all'irrigazione del tardo pomeriggio e alle condizioni ambientali notturne.  $\Psi_p$  ha mostrato una lieve tendenza alla diminuzione durante il corso del condizionamento in tutti i regimi idrici e questa tendenza è stata più marcata in viburno rispetto a fotinia. I valori più bassi sono stati misurati in SWD, nell'una e nell'altra specie.

I valori del potenziale minimo ( $\Psi_m$ ) in SWD non sono scesi sotto -2.1 MPa per viburno e -2.2 MPa in fotinia, mentre negli altri regimi, MWD e C, hanno registrato valori minimi più alti: -1.7 e -1.5 MPa rispettivamente in viburno e -1.9 e -1.7 rispettivamente in fotinia. In condizioni di stress idrico severo quindi, le piante abbassano il potenziale idrico fogliare. Anche nel caso del  $\Psi_m$ , fotinia ha mostrato una risposta più lenta rispetto a viburno che già dalla fine di Giugno presentava valori più bassi nel plot SWD. L'abbassamento del potenziale idrico è una strategia di adattamento allo stress idrico per mantenere il turgore cellulare e la funzionalità della foglia attraverso l'aggiustamento osmotico, incrementando la concentrazione dei soluti come ioni inorganici, proline, saccarosio, carboidrati solubili (Moghaieb et al., 2004; Carvalho, 2005), acidi organici e soluti compatibili (Munns, 1988; Savé et al., 1993; Touchette et al., 2007; Munns e Tester, 2008) nel citoplasma.

Il *transient* della fluorescenza di una foglia adattata al buio e illuminata da una luce attinica, mostra una curva polifasica che distingue i punti detti O-J-I-P. L'andamento della curva dà molte informazioni sulla fotochimica del PSII come il trasporto elettronico tra donatori e accettori di elettroni e l'efficienza nell'utilizzazione dell'energia di eccitazione da parte del centro di reazione.

Nelle misure effettuate alle sette del mattino, né in fotinia né in viburno sono osservati stati di stress dato che non sono risultate differenze significative tra i regimi idrici per nessuno dei parametri  $F_0$ ,  $\Phi_{p0}$ ,  $\Psi_0$ ,  $\Delta V_{IP}$ ,  $F_m$  (eccetto il 24 Agosto in cui viburno in SWD registrava un  $\Phi_{p0}$  più basso degli altri in modo significativo).

Alcuni studi hanno mostrato che l'efficienza fotochimica del PSII viene in minima parte alterata dallo stress idrico (Genty et al., 1987; Cornic e Briantais 1991) e in foglie

adattate al buio,  $\Phi_{p0}$  è poco influenzato dallo stress idrico (Lu e Zhang, 1999). I danni maggiori si possono osservare quando le piante sono soggette a un'alta irradianza, che induce alla fotoinibizione (Björkman e Powles, 1984; Lu e Zhang, 1998), ma ciò non si è verificato a quell'ora di misura.

Sia fotinia che viburno, in tutti i regimi idrici, hanno mantenuto durante il condizionamento la capacità di intrappolare l'energia luminosa assorbita, mantenendo bassa la dissipazione di energia e permettendo la riduzione della clorofilla del centro di reazione, e non hanno presentato alterazioni del trasporto di elettroni destinati alla riduzione del  $Q_A$ . E oltre la prima riduzione di  $Q_A$ , il trasporto elettronico verso il PSI non sembra essere alterato dal deficit idrico da cui si deduce la capacità di portare alla formazione di NADPH. Solo nella fluorescenza massima ( $F_m$ ), ossia quella che corrisponde allo stato di inattivazione della ferredossina NADP<sup>+</sup> riduttasi (FNR), si è registrato un livello massimo tra Luglio e Agosto e un trend decrescente successivamente. Per  $F_m$  solo viburno ha registrato, in due date (2 Luglio e 24 Agosto), valori più bassi in SWD rispetto gli altri regimi idrici mentre fotinia non ha mostrato differenze tra regimi idrici.

Dalle misure effettuate nell'arco della mattinata in tre date indicative durante il periodo iniziale, intermedio e finale del condizionamento, in fotinia non si sono osservate molte differenze tra i regimi a deficit idrico e il controllo e le più interessanti sono state osservate nel rilievo del 24 Giugno:

- $F_0$  (ore 9) più basso in MWD rispetto agli altri regimi;
- la migliore resa quantica ( $\Phi_{p0}$ ) in SWD e MWD rispetto al controllo (ore 11)
- la maggiore connettività tra le unità del PSII (indicata dalla banda L) in SWD e MWD (ore 11) rispetto al controllo.
- la maggiore capacità in SWD nel trasferimento degli elettroni durante la fase O-J ( $\Psi_0$ ) rispetto al controllo anche se il 3 Agosto in SWD  $\Psi_0$  si riduce e si individua la banda K (ore 9), indicando una minore efficienza nella donazione di elettroni da parte dell'OEC.

Dalle relativizzazioni dei valori medi alla media delle ore 7 si sono ottenuti i risultati più interessanti. Se da un lato i confronti tra i regimi idrici non hanno evidenziato delle differenze sostanziali nei parametri considerati, il confronto tra le misure a diverse ore del giorno, all'interno di ciascun regime idrico, ha portato alla luce alcune osservazioni e considerazioni.

Nelle foglie adattate al buio e illuminate con una luce attinica,  $F_0$  è la fluorescenza iniziale, ossia l'energia dissipata durante il trasferimento energetico all'interno del complesso antenna. Il trasferimento di energia è collegato allo stato di ossidazione di  $Q_A$  perché quando  $Q_A$  è ossidato significa che i centri di reazione sono aperti e pronti a ricevere elettroni. Se il trasferimento di energia dal LHCI (Light Harvesting Complex) al centro di reazione attivo del PSII è efficiente, ci sarà una minore fluorescenza  $F_0$  e una maggiore capacità di trasmettere l'energia di eccitazione al centro di reazione che trasferirà l'elettrone allo stesso  $Q_A$ . Alcuni studi non hanno mostrato incidenze dello stress idrico su  $F_0$  (Lu e Zhang, 1998). I bassi valori di  $F_0$  in tarda mattinata riscontrati nel controllo a Giugno e in tutti i regimi ad Agosto, possono essere collegati agli effetti dello stress idrico sul PSI con la perdita dei centri di reazione (Oukarroum et al., 2009). Essendo che circa il 30% di  $F_0$  è attribuito al PSI (Pfündel, 1998), è possibile che la riduzione complessiva di  $F_0$  nelle situazioni più stressanti o nelle piante meno tolleranti (controllo) sia quindi determinata da uno stato alterato di PSI.

I regimi a maggiore disponibilità idrica (soprattutto C) nelle ore più calde (ore 13) di Giugno e di Settembre e anche SWD il 3 Agosto, hanno fatto registrare un abbassamento della capacità di intrappolare energia ( $\Phi_{P0}$ ) a livello del centro di reazione.

Questo comportamento è associato a un danneggiamento del meccanismo fotosintetico (fotoinibizione) indotto dalla degradazione della proteina D1 (Ohira et al., 2004) che si osserva ad elevati valori di irradianza (Lu e Zhang, 1998) oppure rappresenta un meccanismo di *down-regulation* (Stroch et al., 2008). In questo caso il flusso di elettroni viene ridotto quando la fotosintesi è limitata e il potenziale riducente non può essere utilizzato nel metabolismo (Lu et al., 2001).

Tuttavia, i valori di  $\Psi_0$  alle 13 del 24 Giugno e in tutti i regimi, sono più alti nella tarda mattinata rispetto alle 7 in quanto alte temperature e luce stimolano, anche in condizioni di stress, il trasporto elettronico. Questo risultato è stato anche trovato in altre specie come *Quercus ilex* L. (Bussotti, 2004) e in *Fagus sylvatica* L. (Desotgiu et al., 2012).

Rispetto altre date, i livelli di fotosintesi registrati il 24 Giugno sono stati piuttosto bassi (una media di circa  $2 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , senza differenze significative tra i regimi idrici). L'aumento registrato del trasporto elettronico nella mattinata potrebbe far pensare

all'attuazione di un trasporto elettronico verso vie alternative come la fotorespirazione (Flexas et al., 1998). In queste condizioni il flusso di elettroni non viene utilizzato nel metabolismo (Lu et al., 2001; Baraldi et al., 2008; Guidi et al., 2009), e può portare alla formazione di ROS (*Reactive Oxygen Species*) (Hald et al. 2008).

Non si osserva, a nessuna ora, la presenza della banda K per cui il rifornimento di elettroni al centro di reazione da parte del OEC non è stato alterato e inoltre, anche la connettività tra le unità del PSII (banda L) non è danneggiata, anzi, nei regimi a deficit idrico, nelle ore più calde, risulta anche maggiore.

Nelle date successive tuttavia,  $\Psi_0$  ha registrato solo pochi casi in cui si evidenziano differenze tra significative tra gli orari. I trattamenti MWD e C il 3 Agosto presentano dei valori stabili anche a temperatura e irradianza maggiore mentre in SWD si osserva ancora un aumento di  $\Psi_0$  alle 11 e alle 13 (mentre alle 9 era stata osservata la banda K) e il 7 Settembre  $\Psi_0$  aumenta ma con bassa significatività nei rilievi delle 13 in SWD e delle 11 in MWD.

La fase I-P è indicativa di ciò che avviene intorno al PSI: dal trasporto elettronico attraverso la plastocianina, trasportatore mobile, fino al centro di reazione, che, accettando l'elettrone, è determinante la fase successiva di riduzione degli accettori finali  $\Delta V_{IP}$  indica quindi lo stato di funzionamento del trasporto elettronico tra PSII e PSI e la sua capacità di accettarli (Schansker et al., 2005). In tutte le date,  $\Delta V_{IP}$  mostra valori più elevati nelle ore centrali della mattinata, e il 24 Giugno anche alle 9, rispetto al primo mattino indicando una maggiore capacità di trasporto elettronico nelle ore più calde e in tutti i regimi, anche in condizioni di stress.

Infine, la fluorescenza massima che viene raggiunta allo *step* P in cui si ha riduzione della ferredossina e la formazione di NADPH, ha mostrato valori più alti alle 7 del mattino piuttosto che nelle ore successive indicando che alla ripresa dell'attività fisiologica si verifica una maggiore dissipazione di energia piuttosto che in tarda mattinata come è stato osservato nel controllo.

Riassumendo dunque, al di là del regime idrico, le piante di fotinia sembrano acquisire maggiore capacità di assorbire energia e indurre il trasporto elettronico tra le unità del PSII fino alla riduzione degli accettori finali, nelle ore centrali e tarde della mattinata piuttosto che nel primo mattino quando l'intensità luminosa e le temperature sono minori. Il trasporto elettronico che conduce alla riduzione degli accettori finali è

stimolato da alte temperature e intensità luminose come quelle che si riscontrano tra le 11 e le 13.

Il fatto che non si siano osservate particolari differenze tra i regimi idrici, presuppone che piante anche in stress idrico abbiano acquisito o mantenuto la loro efficienza fotosintetica visto anche l'aumento in  $WUE_{Ph}$  riscontrato a fine prova.

Anche in viburno, i parametri della fluorescenza misurati alle sette del mattino non hanno mostrato differenze significative tra i regimi idrici e anche confrontandoli durante il corso della mattinata, non sono state trovate delle differenze significative.

Dai confronti tra le ore di tre mattine indicative si possono invece fare alcune considerazioni.

A differenza di fotinia, in viburno  $F_0$  ha presentato i valori più alti alle ore 13 il 24 Giugno e il 7 Settembre, quindi quando la temperatura dell'aria e l'irradianza erano elevate, indicando una maggiore sensibilità alla perdita di energia durante il trasferimento dell'energia di eccitazione tra il complesso antenna e il centro di reazione del PSII. Tuttavia, il 3 Agosto,  $F_0$  misurato alle stesse ore era più basso rispetto quello delle 7. Bassi valori di  $F_0$  sono considerati un indice di buona funzionalità del PSII e dato che le condizioni ambientali erano meno favorevoli rispetto quelle delle altre date (bassa umidità relativa e alta temperatura massima dell'aria), sembra che né le condizioni ambientali e né lo stress idrico abbiano concorso a tale risultato.

Ancora il 24 Giugno, si è osservata inoltre una ulteriore riduzione di  $\Phi_{P_0}$  alle 11 e alle 13, indifferentemente dal regime idrico indicando una risposta alla luce e alle temperature con la fotoinibizione. Nelle date successive tuttavia,  $\Phi_{P_0}$  è rimasto piuttosto stabile nel corso del mattino.

La scarsa efficienza nell'intrappolamento dell'energia di eccitazione non ha compromesso il flusso di elettroni tra le singole unità del PSII e nemmeno verso il PSI.

$\Psi_0$  nelle ore più calde ha raggiunto i valori più alti indifferentemente dal regime idrico. Il miglioramento del trasporto elettronico esclude quindi un meccanismo di *down-regulation*, confermato anche dai valori di  $\Delta V_{IP}$  che aumentano alle stesse ore e sono indice di una progressione ottimale del metabolismo verso il ciclo di Calvin.

La differenza maggiore tra fotinia e viburno è, al di là del regime idrico, la maggiore capacità della prima e la minore capacità della seconda specie, nel corso della mattinata, ad intrappolare l'energia di attivazione del trasporto elettronico tra le unità del PSII, che

condurrà alla riduzione degli accettori primari. Il trasporto elettronico a livello del PSI che determina la riduzione degli accettori finali non sembra alterarsi nel tempo.

Il fatto che non si siano osservate delle particolari differenze tra i regimi idrici, presuppone che piante anche in stress idrico abbiano acquisito o mantenuto la loro efficienza fotosintetica.

Le piante, quando sono sottoposte a una riduzione progressiva della disponibilità idrica, mostrano risposte differenti a seconda della specie nella crescita e nella allocazione della biomassa prodotta. Il ridotto approvvigionamento idrico generalmente agisce in modo significativo sulla crescita, sia nella distensione cellulare, sia nella produzione di biomassa.

Il tasso di assimilazione registrato in alcune date durante il periodo di condizionamento, aveva mostrato in fotinia una riduzione nei regimi a deficit idrico, anche se a lunga distanza di tempo dall'inizio della prova. La minore assimilazione del carbonio nel tempo ha comportato una minore produzione di biomassa nelle piante in deficit idrico, in particolar modo quella fogliare e legnosa. Se in fotinia però il rapporto tra biomassa aerea e radicale non ha mostrato differenze tra regimi, in viburno lo stress idrico ha indotto un maggiore investimento di biomassa a livello radicale, che si traduce in un valore più basso del rapporto, come trovato anche da altri autori (Rubio et al. 2001). In questa specie la biomassa fogliare è stata anche ridotta dall'abscissione fogliare, cosa che non è stata osservata in fotinia. In fotinia inoltre solo il deficit idrico severo ha comportato una forte riduzione dell'allungamento del fusto.

Il deficit idrico può anche comportare dei cambiamenti permanenti nella struttura del legno. Piante che vivono in ambienti aridi mostrano per esempio una forte correlazione tra diametro dei vasi, densità del legno e resistenza alla cavitazione (Hacke et al., 2000). Ridurre la dimensione dei vasi attraverso l'ispessimento delle pareti o l'aumento del numero di vasi dà alla pianta una maggiore capacità di trasporto idraulico alle foglie e alcune caratteristiche permettono una maggiore resistenza al carico di pressione negativa che si verifica in condizione di stress, causando la cavitazione.

In questo studio fotinia, specie che tollera condizioni di moderata siccità, è risultata avere una densità del legno molto più alta di viburno ma non si sono osservate differenze tra i regimi idrici.

La densità può dipendere sia da un incremento dello spessore delle pareti rispetto al diametro del lumen ma anche dalla diminuzione del diametro del lumen a parità di spessore della parete (Pitterman et al. 2006). Probabilmente il condizionamento al deficit idrico su materiale di un anno non permette di identificare le modificazioni permanenti della densità del legno in quanto la maggior parte del diametro è stato formato precedentemente al condizionamento, mentre le modificazioni si dovrebbero riscontrare nei vasi di nuova formazione.

Mantenere un'elevata traspirazione in una condizione di carenza idrica induce a rischi connessi al trasporto idraulico per l'effetto di elevati valori di pressione negativa all'interno dei vasi xilematici (Hacke et al. 2000; Pratt et al. 2007) che possono indurre fenomeni di cavitazione compromettendo l'approvvigionamento idrico alle foglie.

Per questo, un legno denso, caratterizzato quindi anche da una forza meccanica, è necessario per evitare che si creino delle implosioni.

Fotinia ha un tessuto legnoso più resistente e rigido di viburno, caratteristiche che giocano a favore della conduttanza idraulica (che si correla positivamente con E e YS), ma non ha mostrato cambiamenti nei parametri meccanici e idraulici quando sottoposta a deficit idrici di diversa intensità. Viburno, specie a porosità diffusa, ha invece mostrato una riduzione della conduttanza idraulica nel regime di deficit severo e anche una relazione negativa, ma non significativa, tra densità e rigidità che si verifica in caso di legno di compressione o quando l'angolo delle microfibrille è ampio (Walker, 2006) o nel caso di legno ricco di estratti.

Le due specie hanno mostrato una strategia diversa riguardo il trasporto idrico. Entrambe hanno mostrato un meccanismo di resistenza allo stress in campo riducendo il potenziale idrico fogliare in SWD. Mentre in viburno questo comportamento potrebbe essere associato a una alterazione del tessuto conduttore, vista la riduzione della conduttanza idraulica in SWD, in fotinia, potrebbe essere legato maggiormente a dei meccanismi di osmoregolazione a livello fogliare o a fenomeni di cavitazione. La cavitazione si verifica quando la pressione all'interno dei vasi è fortemente negativa e si creano delle bolle d'aria embolizzando il vaso. Le misure di conduttanza idraulica in laboratorio però non permettono di verificare la reale *performance* del trasporto idraulico in campo in quanto i segmenti legnosi vengono spurgati ad alta pressione.

Per concludere, viburno, nonostante la riduzione della conduttanza idraulica indotta da una condizione di stress severo persistente, ha mostrato una bassa capacità di ridurre la perdita idrica per traspirazione (non presentava differenze tra i regimi eccetto che in due date), supportando l'idea che la specie abbia delle strategie poco conservative dell'uso dell'acqua e quindi un comportamento anisoidrico, mentre fotinia, nonostante non rilevi modificazioni alla conduttanza idraulica, abbia acquisito con il condizionamento maggiore funzionalità nel controllo stomatico, minimizzando anche i rischi connessi al collasso del sistema conduttore (Tognetti et al., 2009).

## 6. RISULTATI DELLA PROVA 2 – Condizionamento in serra

In questo capitolo vengono esaminati in paragrafi separati le risposte di condizionamento delle due specie, *Photinia x fraseri* var. Red Robin e *Viburnum opulus* L. alla *deficit irrigation* in serra.

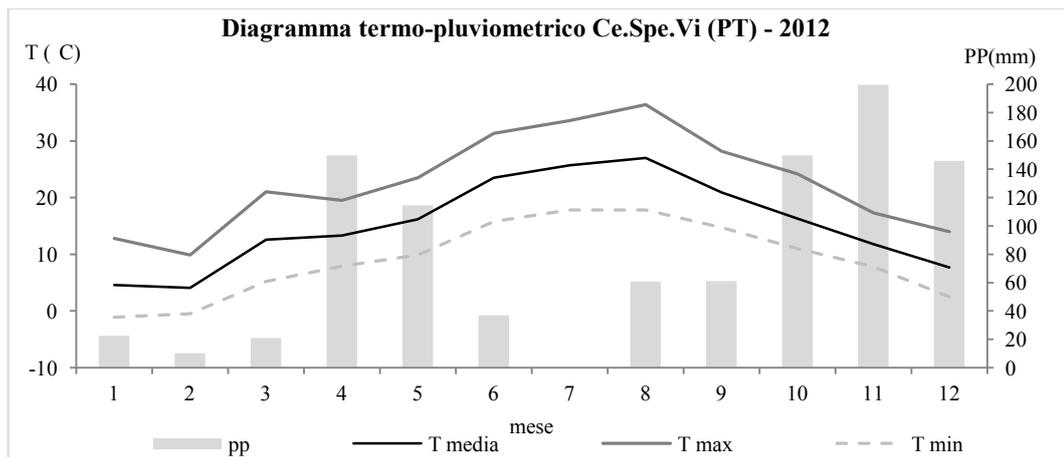
La serra era predisposta di portelloni autoregolanti per la temperatura interna.

Il 20 Giugno inoltre, è stata aumentata l'irrigazione per bilanciare l'evapotraspirazione in aumento.

### 6.1 Dati meteorologici e ambientali

L'estate 2012, si è attestata come la seconda estate più calda degli ultimi due secoli con una anomalia di +2.32 gradi rispetto alla media del periodo di riferimento 1971-2000. Le anomalie termometriche sono state registrate nei mesi estivi di Giugno (+ 2.57 °C), Luglio (+ 1.94 °C) e Agosto (+ 2.45 °C).

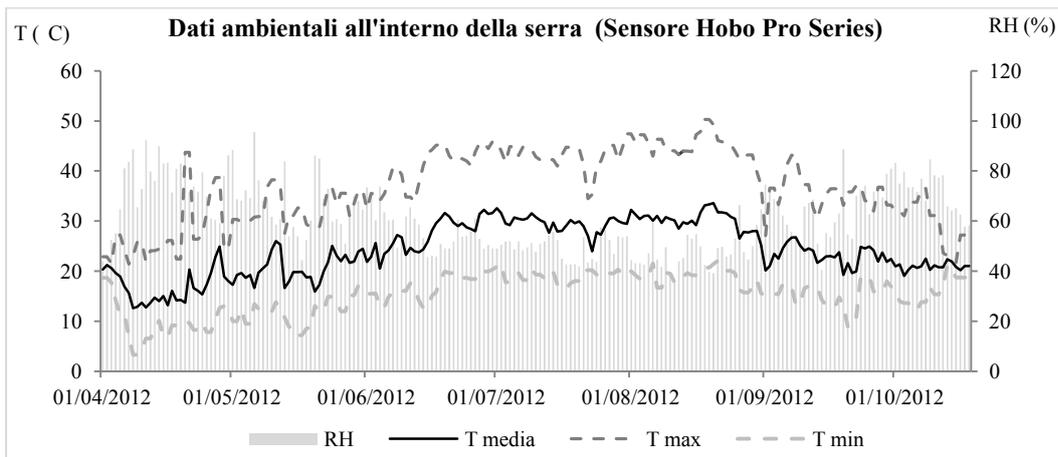
Anche le precipitazioni hanno fatto registrare importanti anomalie negative con un deficit di pioggia del 48% rispetto alla media.



**Fig. 51** Diagramma termo-pluviometrico con valori di temperatura media mensile, media delle temperature massime e media delle temperature minime e precipitazioni cumulate mensili. (Dati della stazione meteorologica del Ce.Spe.Vi.)

All'interno della serra sperimentale è stato installato un sensore Hobo® Pro Series (Onset, Cape Cod, Massachusetts, USA) con sensori di temperatura e umidità relativa dell'aria. I dati elaborati mostrano un periodo prolungato di temperature massime sopra la soglia dei 30 °C con punte massime che hanno superato ripetutamente 45 °C.

I valori di umidità relativa dell'aria nel periodo considerato oscillavano tra 35 % e il 74 % (prevalentemente nei mesi primaverili e in tarda estate) (Fig. 52).



**Fig. 52** Dati ambientali all'interno della serra: temperatura massima, media e minima giornaliera; umidità media giornaliera.(Dati del sensore Hobo® Pro series).

Dato che il sensore registrava i parametri ogni 30 minuti, è stato possibile individuare le condizioni ambientali al momento delle misure fisiologiche (ore 10-11). Nella tabella sottostante sono indicate le date di misura e le medie orarie dei parametri.

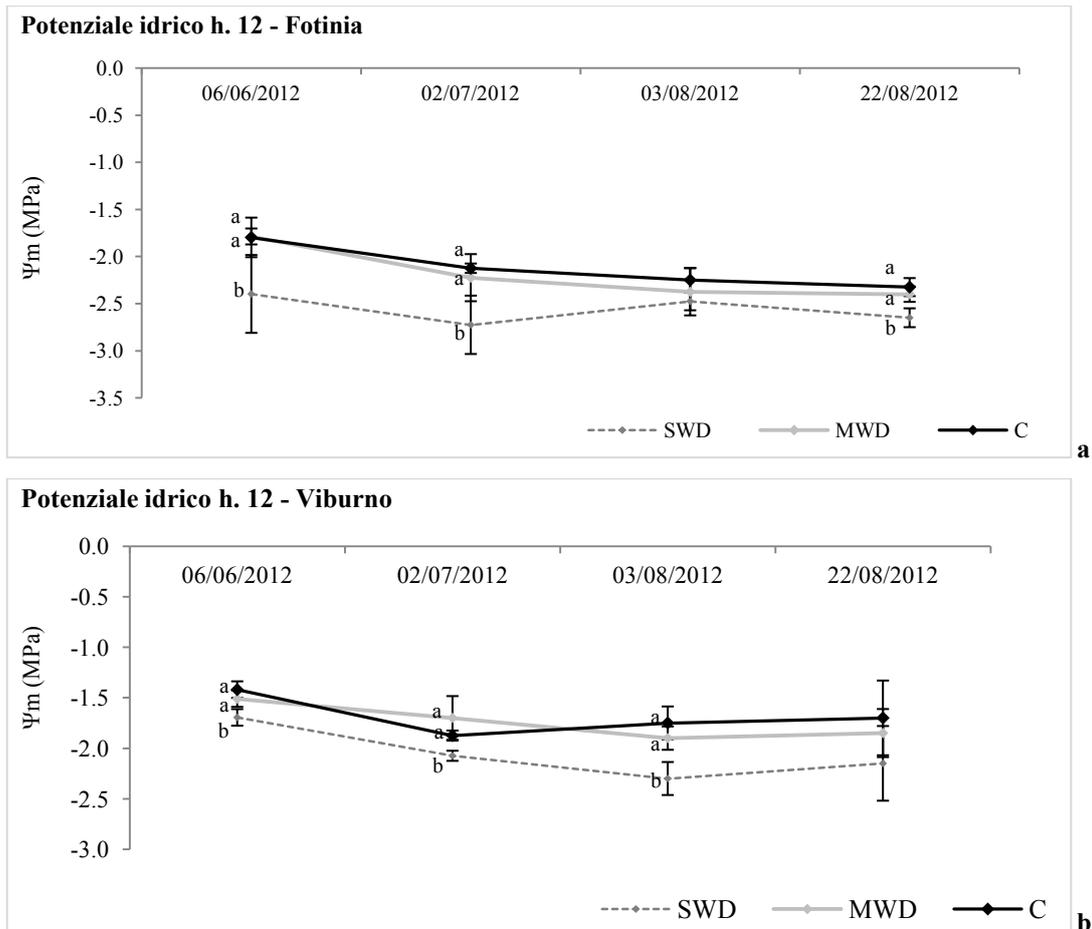
	<b>Date dei rilievi fisiologici</b>									
	13/04	26/04	13/05	24/05	09/06	19/06	26/06	14/07	03/08	22/08
<b>T (°C)</b>	22.7	26.3	18.4	30.9	34.2	38.2	37.3	36.3	36.8	36.9
<b>RH (%)</b>	42.1	32.3	60.3	44.5	24.0	29.4	33.2	33.7	26.6	36.9

**Tabella 9.** Medie orarie della temperatura e dell'umidità relativa dell'aria all'ora di misura (10-11 del mattino delle date indicate).

### 6.2 Risposte relative al potenziale idrico fogliare

Il potenziale idrico minimo (Fig. 53 a e b), misurato alle ore 12 ca. ha registrato i valori più bassi in SWD in entrambe le specie. In fotinia i valori variavano tra -1.8 e -2.6 MPa e in viburno tra -1.4 e -2.3 MPa.

Il regime MWD ha mostrato in entrambe valori simili al controllo.



**Fig. 53 a e b** Potenziale idrico minimo ( $\Psi_m$ , misurato nelle ore di massimo stress idrico, ore 12-13) di *Photinia x fraseri* var. Red Robin (a) e *Viburnum opulus* L. (b) misurato *in loco*, per ogni plot, su un campione di sei foglie mature staccate dalla parte terminale dei rami principali, con la camera a pressione. Sono riportati i valori medi e le barre della deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal test Tukey per il confronto delle medie campionarie. Le lettere indicano le differenze significative tra le medie in ciascuna data per  $P < 0.05$ .

### 6.3 Risposte relative agli scambi gassosi

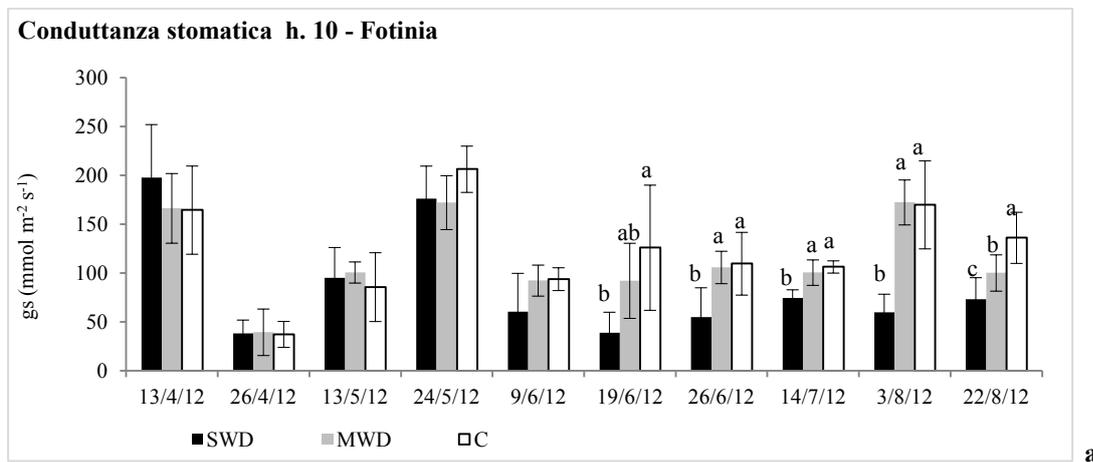
I dati relativi agli scambi gassosi sono stati monitorati regolarmente durante il periodo di condizionamento utilizzando l'analizzatore di gas per CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O CIRAS 1 con lampada al Tungsteno e PAR (Radiazione Fotosinteticamente Attiva) impostata a 1800  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  per ottenere i valori di massima fotosintesi.

#### Conduttanza stomatica

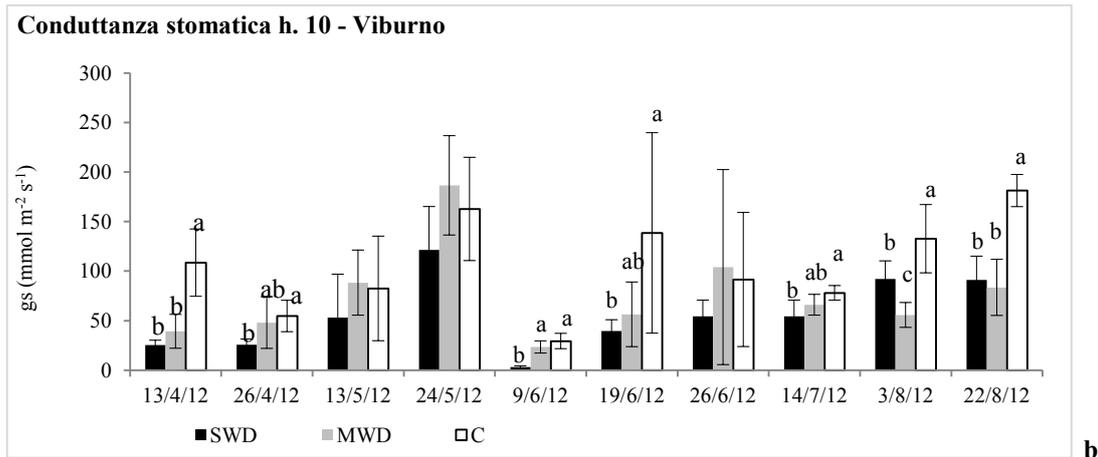
La conduttanza stomatica (gs) in fotinia (Fig. 54 a) non ha mostrato differenze tra i tre trattamenti nel periodo di condizionamento iniziale, da Aprile a Giugno. Dal 19 Giugno invece hanno cominciato a evidenziarsi le differenze tra i tre regimi con i valori più bassi in SWD rispetto MWD e C ( $P < 0.05$ ).

Le piante in SWD hanno mostrato quindi un maggiore controllo stomatico a 3 mesi dall'inizio del condizionamento.

Viburno ha mostrato delle differenze in gs già all'inizio della prova con i valori più alti nelle piante del controllo ( $P < 0.05$ ). Nel corso del condizionamento le piante in MWD hanno mostrato un comportamento intermedio agli altri regimi, ma a fine prova i valori più alti di gs sono stati misurati in C mentre i valori più bassi in SWD (Fig. 54 b).



**Fig. 54 a.** Conduttanza stomatica alle ore 10 in *Photinia x fraseri* var. Red Robin (a) misurata su un campione di 6 foglie per plot con CIRAS-1 (PPSystem) con PAR a 1800  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Sono riportati i valori medi e le barre della deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal test Tukey per il confronto delle medie campionarie. Le lettere indicano le differenze significative tra le medie in ciascuna data per  $P < 0.05$ .



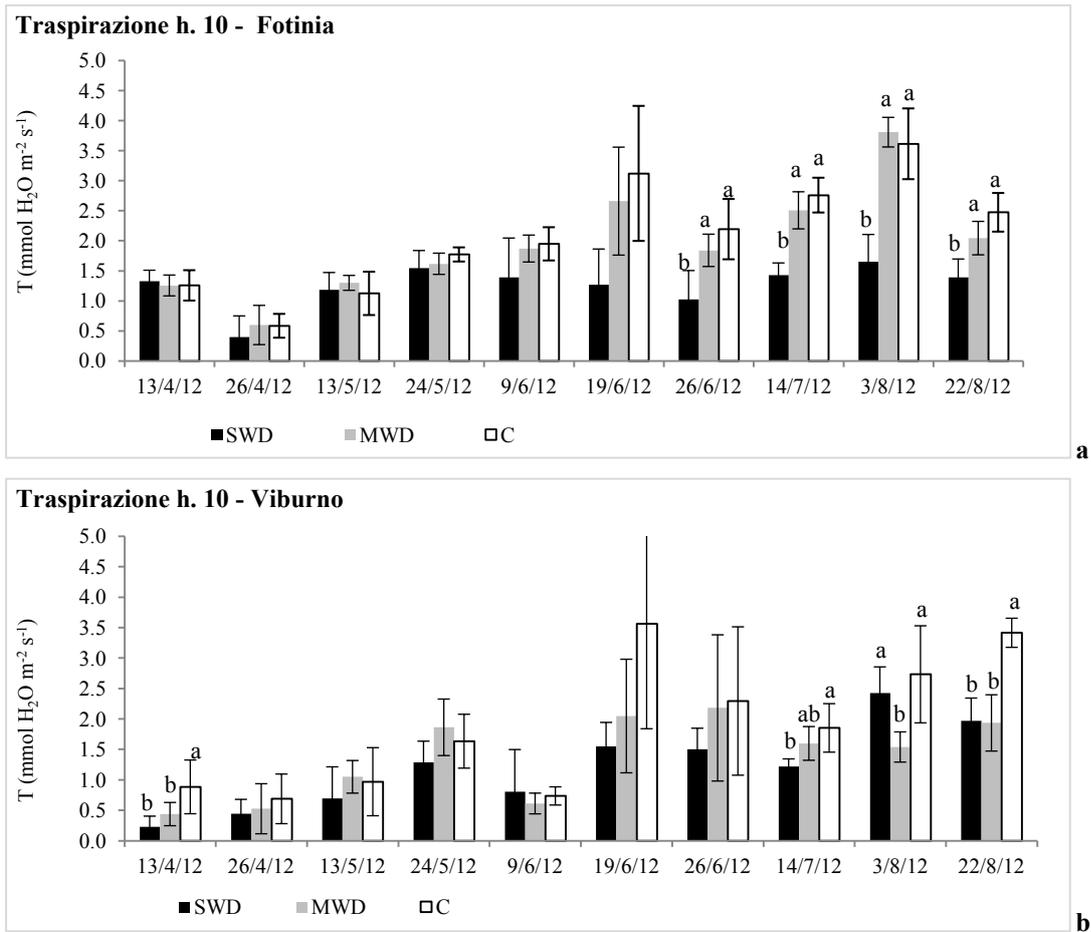
**Fig. 54 b** Conduttanza stomatica alle ore 10 in *Viburnum opulus* L. (b) misurata su un campione di 6 foglie per plot con CIRAS-1 (PPSystem) con PAR a  $1800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Sono riportati i valori medi e le barre della deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal test Tukey per il confronto delle medie campionarie. Le lettere indicano le differenze significative tra le medie in ciascuna data per  $P < 0.05$ .

### Traspirazione fogliare

Come è stato notato per  $g_s$ , anche per quanto riguarda la traspirazione (T) fotinia ha mostrato differenze significative tra i regimi idrici a partire da Giugno. Il 26 di Giugno le piante in SWD hanno registrato una riduzione di T del 50% ca. rispetto a C e del 20% ca. rispetto MWD. T in SWD si è mantenuta più bassa che negli altri regimi anche nelle date successive (Fig. 55 a).

In viburno le differenze tra la traspirazione in SWD e quella in C si sono acuite a partire da Luglio ma a differenza di fotinia, a fine prova il regime MWD ha riportato dei valori simili a quelli misurati in SWD (Fig. 55 b).

Entrambe le specie hanno mostrato un trend crescente della traspirazione dall'inizio alla fine del condizionamento.



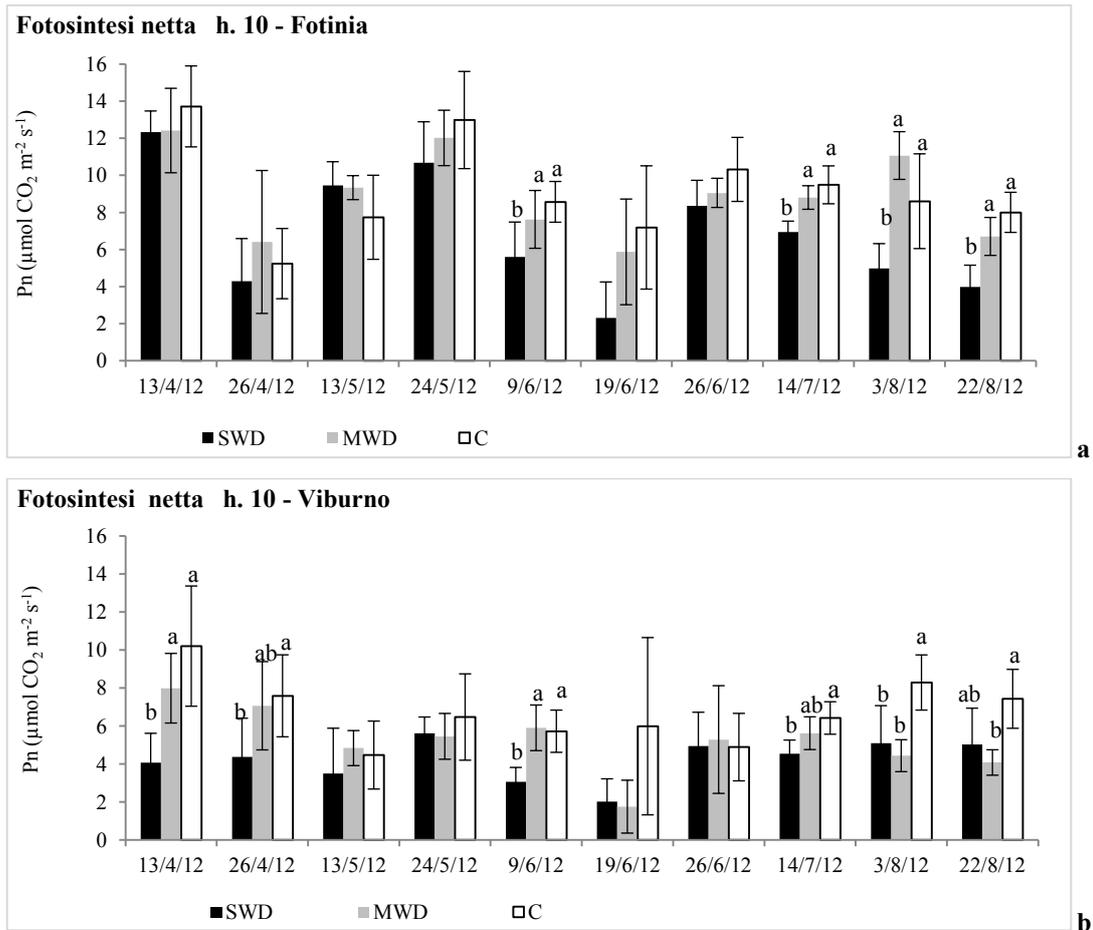
**Fig. 55 a e b** Traspirazione fogliare alle ore 10 in *Photinia x fraseri* var. Red Robin (a) e *Viburnum opulus* L. (b) misurata su un campione di 6 foglie per plot con CIRAS-1 (PPSystem) con PAR a  $1800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Sono riportati i valori medi e le barre della deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal test Tukey per il confronto delle medie campionarie. Le lettere indicano le differenze significative tra le medie in ciascuna data per  $P < 0.05$ .

### Fotosintesi massima netta

Per quanto riguarda l'assimilazione del carbonio, fotinia (Fig. 56 a) ha mostrato le prime differenze significative di Pn nel rilievo del 9 Giugno.

In seguito, dal 14 Luglio sono state rilevate ulteriori differenze significative tra i regimi con una riduzione di Pn a fine prova di circa il 50 % in SWD rispetto a C, mentre i valori in MWD sono risultati simili a quelli in C.

In viburno (Fig. 56 b) Pn ha mostrato fin dall'inizio del condizionamento una differenza significativa tra i regimi idrici con i valori più bassi in SWD. Anche in viburno, dal 14 Luglio fino alla fine della prova, SWD ha fatto registrare, insieme a MWD valori più bassi rispetto il controllo.

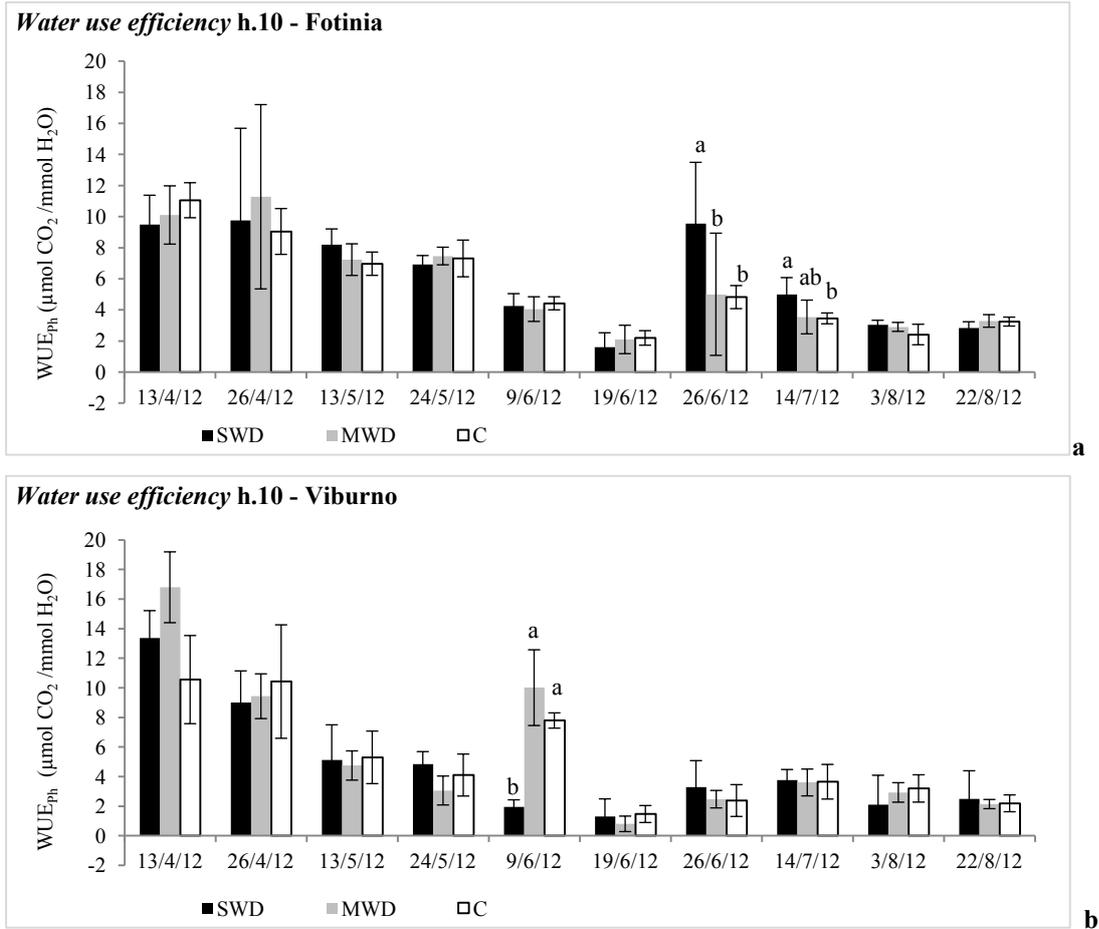


**Fig. 56 a e b** Fotosintesi netta massima alle ore 10 in *Photinia x fraseri* (a) e *Viburnum opulus L.* (b) misurata su un campione di 6 foglie per plot con CIRAS-1 (PPSystem) con PAR a  $1800 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Sono riportati i valori medi e le barre della deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal test Tukey per il confronto delle medie campionarie. Le lettere indicano le differenze significative tra le medie in ciascuna data per  $P < 0.05$ .

### Water use efficiency

Per quanto riguarda la *water use efficiency* per la fotosintesi ( $WUE_{Ph}$ ) che indica la quantità di carbonio assimilata per unità di acqua persa, sia in fotinia sia in viburno non si sono osservate differenze significative tra i regimi idrici nella maggior parte delle date di misura (Fig. 57 a e b).

Il 26 di Giugno e il 14 Luglio le piante di fotinia in SWD hanno dimostrato avere i valori più alti di  $WUE_{Ph}$  rispetto gli altri regimi, mentre in viburno differenze significative sono state rilevate solo il 9 Giugno, con il valore più alto di  $WUE_{Ph}$  nelle piante in MWD e C.



**Fig. 57 a e b** Water use efficiency in *Photinia x fraseri* var. Red Robin (a) e *Viburnum opulus* L. (b) calcolata con il rapporto tra Pn e T. Sono riportati i valori medi e le barre della deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal test Tukey per il confronto delle medie campionarie. Le lettere indicano le differenze significative tra le medie in ciascuna data per P<0.05.

#### 6.4 Risposte relative alla fluorescenza della clorofilla a

L'analisi ha riguardato il confronto dei parametri che rappresentano i punti OJIP del *transient* della fluorescenza ( $F_0$ ,  $\Phi_{P0}$ ;  $\Psi_0$ ;  $\Delta V_{IP}$ ;  $F_m$ ) sulla base del regime idrico, come nella prova 1.

I grafici sottostanti rappresentano l'andamento durante il periodo di condizionamento dei cinque parametri registrati alle dieci del mattino, confrontando i tre regimi idrici.

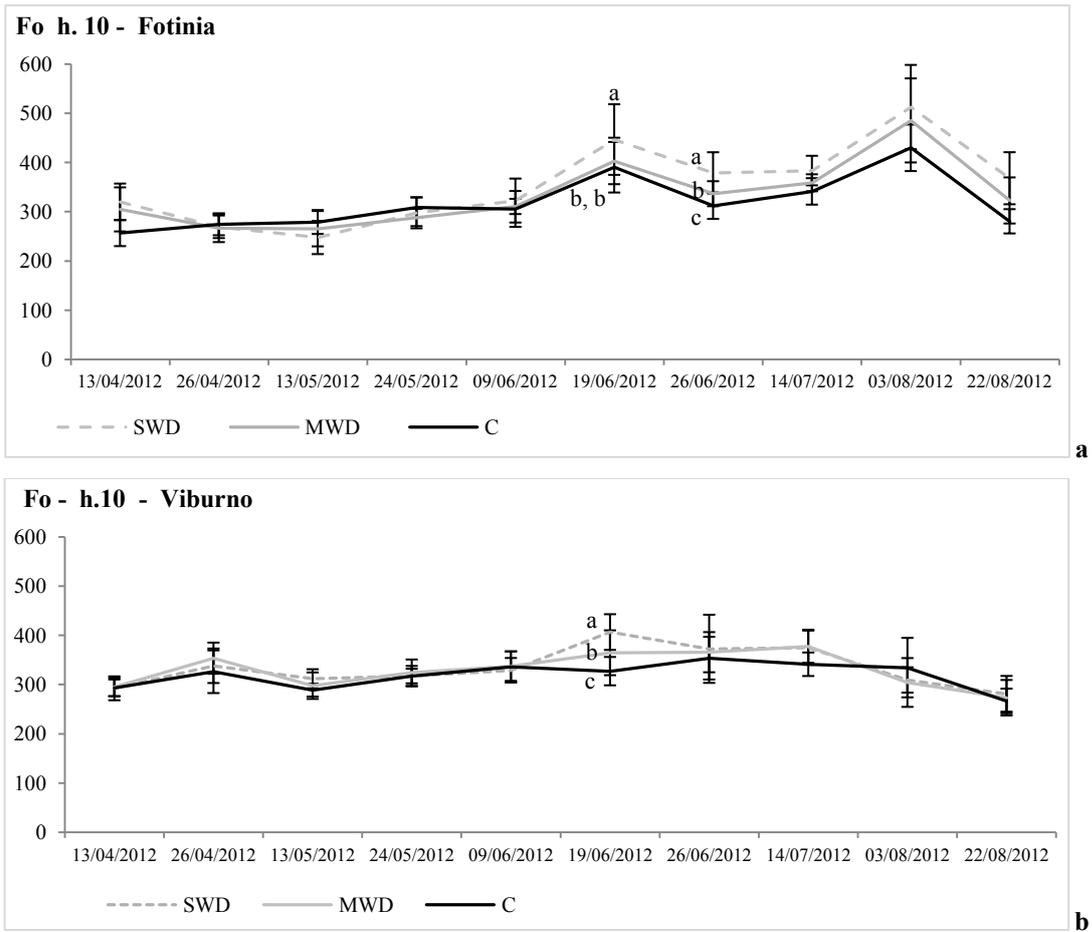
La fluorescenza iniziale ( $F_0$ ) che indica lo stato del complesso antenna per ciò che riguarda il trasferimento dell'energia tra le molecole di clorofilla fino al centro di reazione, non ha mostrato segnali di alterazione nei regimi di deficit idrico.

Eccetto il 19 Giugno, quando entrambe le specie (Fig. 58 a e b) hanno registrato un aumento di  $F_0$  in SWD (rispetto a MWD e C in fotinia,  $P < 0.05$ ; rispetto C in viburno,  $P < 0.05$ ), nel corso del condizionamento i valori dei tre regimi non sono risultati discosti e il trend è apparso piuttosto stabile eccetto che nell'ultima data di rilievo in cui è stata registrata una diminuzione di  $F_0$ .

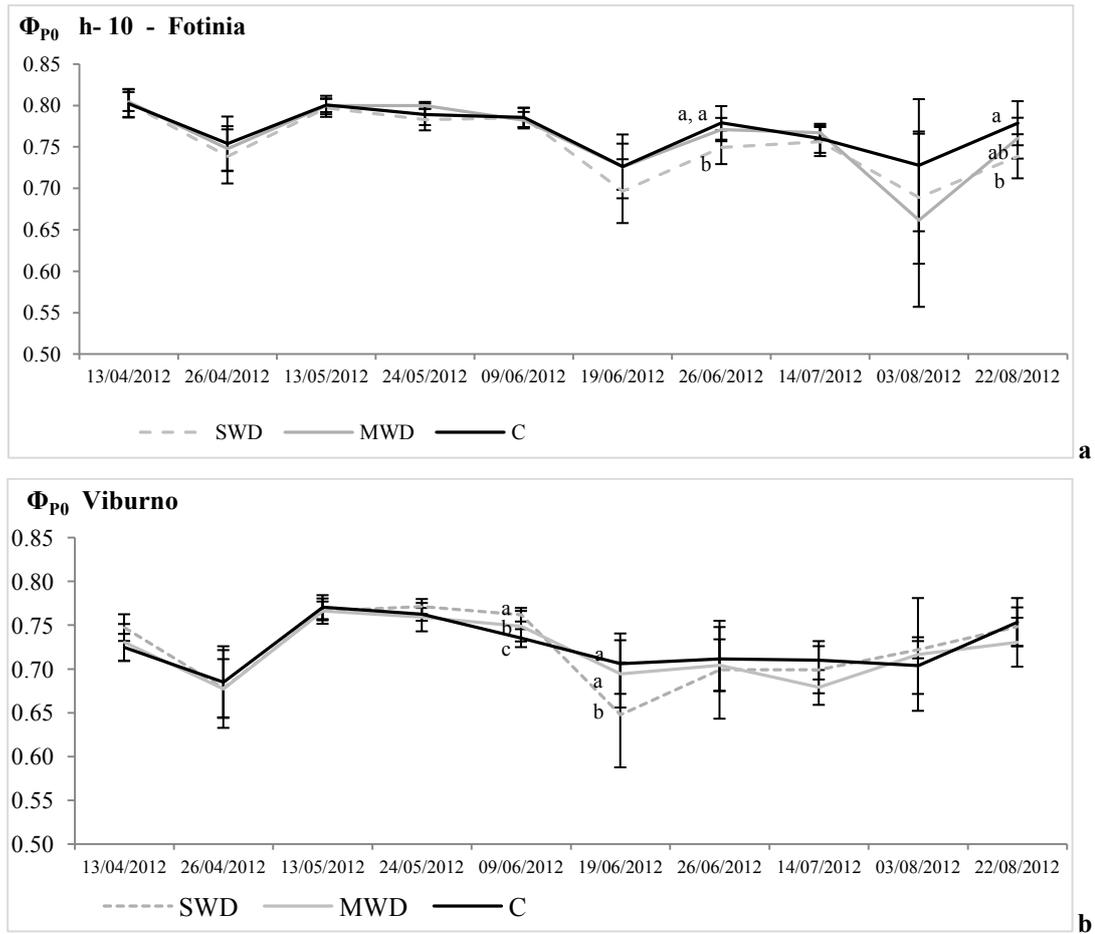
Da Aprile al 19 Giugno, fotinia non ha registrato per  $\Phi_{P0}$  (Fig. 59 a) differenze significative tra i regimi idrici.

Il 26 Giugno e a fine prova (22 Agosto) si sono invece registrati i valori più bassi nel regime SWD indicando una riduzione della resa quantica delle reazioni primarie.

Viburno (Fig. 59 b) invece ha mostrato un andamento di  $\Phi_{P0}$  decrescente da Maggio fino ad Agosto ma senza evidenziare differenze significative tra i regimi, eccetto che a Giugno, quando le piante in SWD hanno presentato valori più bassi rispetto a C e a MWD indicando una perdita di efficienza nella riduzione del centro di reazione del PSII, necessaria ai passaggi successivi di trasporto elettronico.



**Fig. 58 a e b**  $F_0$  misurato alle ore 10 del mattino in *Photinia x fraseri* var. Red Robin (a) e in *Viburnum opulus* L. (b). Per ogni plot è stato preso un campione di dieci foglie mature della parte terminale dei rami principali. Sono riportati i valori medi e le barre della deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal test Tukey per il confronto delle medie campionarie. Le lettere indicano le differenze significative tra le medie in ciascuna data per  $P < 0.05$ .

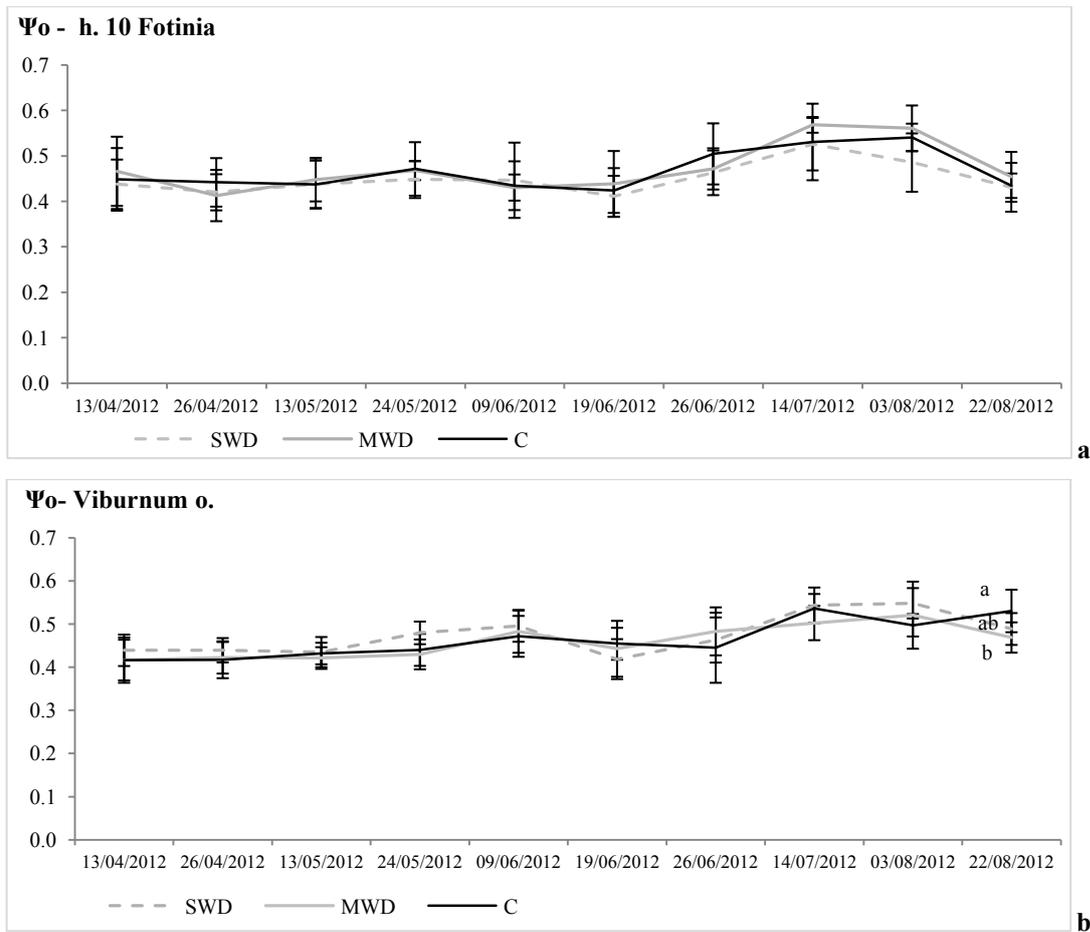


**Fig. 59 a e b**  $\Phi_{p0}$  misurato alle ore 10 del mattino in *Photinia x fraseri* var. Red Robin (a) e in *Viburnum opulus* L. (b). Per ogni plot è stato preso un campione di dieci foglie mature della parte terminale dei rami principali. Sono riportati i valori medi e le barre della deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal test Tukey per il confronto delle medie campionarie. Le lettere indicano le differenze significative tra le medie in ciascuna data per  $P < 0.05$ .

$\Psi_0$ , che esprime l'efficienza del trasporto di elettroni nella fase fotochimica O-J fino alla riduzione di  $Q_A$ , non ha mostrato in fotinia nessuna alterazione in base al regime idrico indicando una grande stabilità nonostante lo stress idrico.

Durante il periodo di condizionamento, sempre in fotinia (Fig. 60 a), è stato anche osservato un aumento di  $\Psi_0$  da Giugno fino a Luglio, per poi registrare una diminuzione il 22 Agosto. Nel corso del condizionamento quindi sembra che fotinia mostri una crescente capacità nel trasporto elettronico tra gli accettori del PSII, anche se questa ritorna ai valori iniziali a fine prova.

In viburno (Fig. 60 b) si è riscontrato un trend in aumento durante il condizionamento, tuttavia senza differenze significative tra regimi idrici, eccetto che nell'ultima data di rilievo in cui  $\Psi_0$  del controllo registrava i valori più alti. ( $P < 0.05$ ).

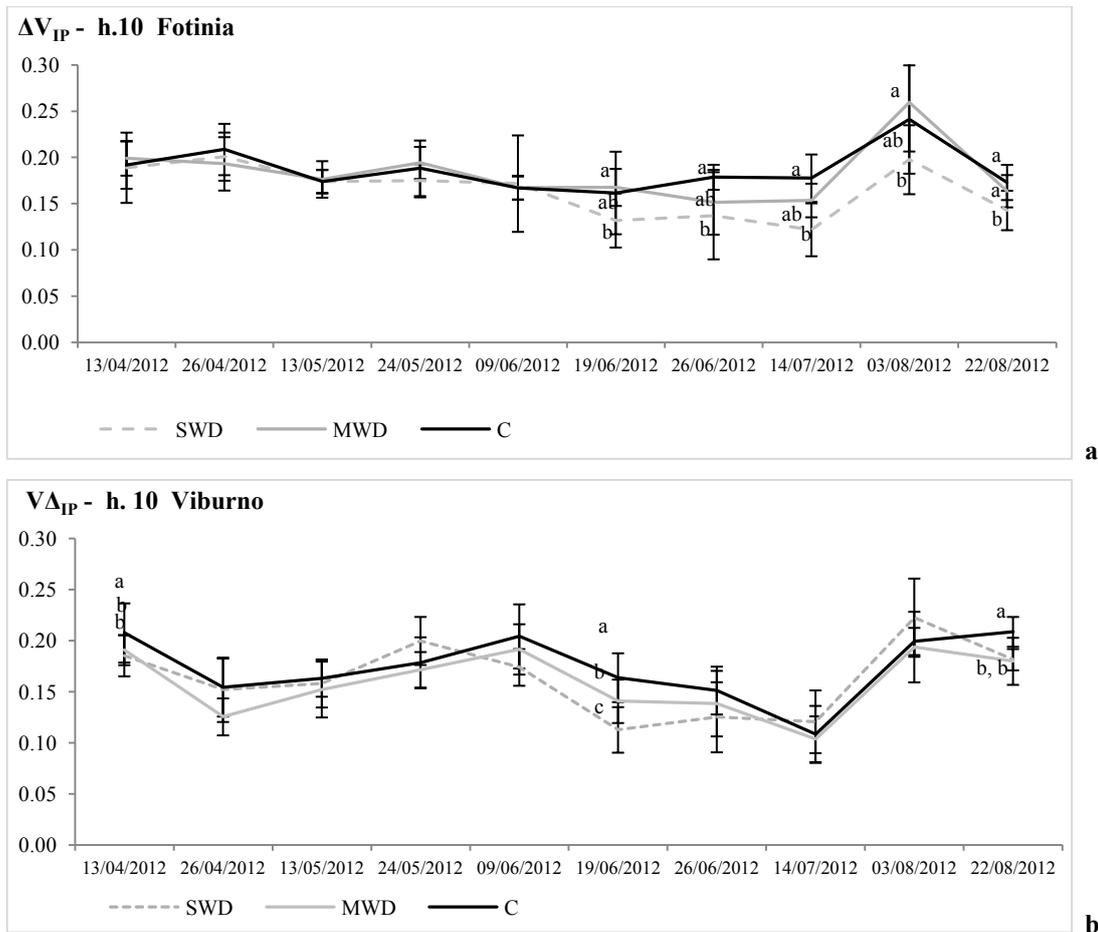


**Fig. 60 a e b**  $\Psi_0$  misurato alle ore 10 del mattino in *Photinia x fraseri* var. Red Robin (a) e in *Viburnum opulus* L. (b). Per ogni plot è stato preso un campione di dieci foglie mature della parte terminale dei rami principali. Sono riportati i valori medi e le barre della deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal test Tukey per il confronto delle medie campionarie. Le lettere indicano le differenze significative tra le medie in ciascuna data per  $P < 0.05$ .

$\Delta V_{IP}$  (ampiezza della fase IP), indicativa dell'efficienza del trasporto elettronico verso il PSI a ridurre gli accettori finali per la produzione di NADPH, ha mostrato differenze significative tra i regimi idrici in entrambe le specie.

Fotinia (Fig. 61 a) ha presentato dei valori nel controllo piuttosto stabili nel tempo e ha cominciato a mostrare differenze significative a partire dal 19 Giugno con valori di  $\Delta V_{IP}$  in SWD più bassi ( $P < 0.05$ ) e MWD in una posizione intermedia tra SWD e C.

Viburno (Fig. 61 b) ha mostrato invece un andamento più irregolare con un trend decrescente fino al 14 Luglio, indicando una problematica nel trasporto elettronico intorno al PSI. A fine prova i valori dei regimi in deficit idrico avevano valori inferiori rispetto a C ( $P < 0.05$ ).



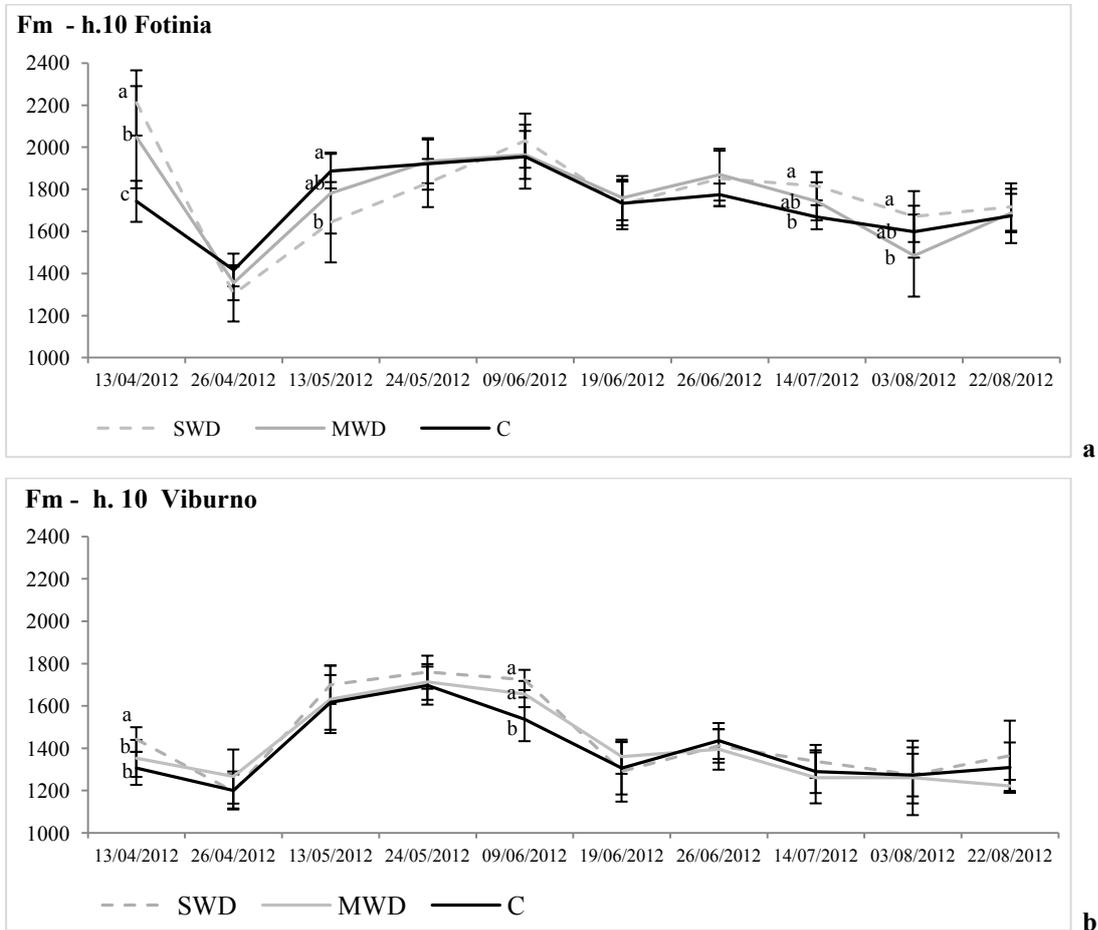
**Fig. 61 a e b**  $\Delta V_{IP}$  misurato alle ore 10 del mattino in *Photinia x fraseri* var. Red Robin (a) e in *Viburnum opulus* L. (b). Per ogni plot è stato preso un campione di dieci foglie mature della parte terminale dei rami principali. Sono riportati i valori medi e le barre della deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal test Tukey per il confronto delle medie campionarie. Le lettere indicano le differenze significative tra le medie in ciascuna data per  $P < 0.05$ .

Per ciò che riguarda la fluorescenza massima  $F_m$ , fotinia ha presentato un andamento variabile durante il condizionamento (Fig. 62 a): all'inizio della prova sono state individuate delle differenze tra i regimi, con i valori più bassi nel controllo. Successivamente, la situazione di stress ha indotto una riduzione di  $F_m$  in tutti i regimi tra cui SWD ha mostrato in modo significativo valori più bassi il 13 Maggio.

Il trend, leggermente decrescente, ha rilevato poi un aumento di  $F_m$  in SWD rispetto gli altri regimi nelle date del 14 Luglio e del 3 Agosto, indicando una migliore funzionalità delle piante in stress idrico nella riduzione degli accettori del PSII.

Viburno (Fig. 62 b) ha presentato i valori più elevati di  $F_m$  nel periodo tra il 13 Maggio e il 9 Giugno, quando le piante in deficit idrico hanno presentato i valori di  $F_m$  più alti

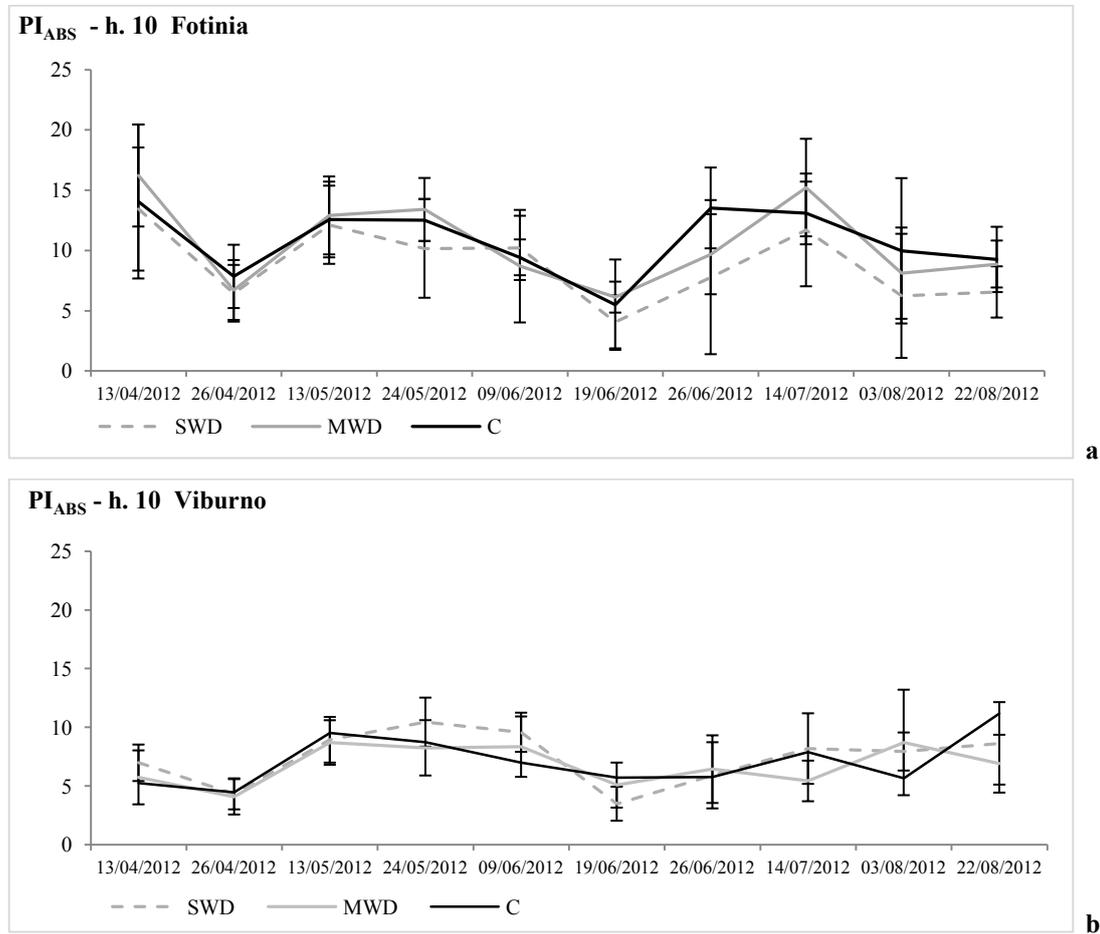
rispetto il controllo. Dopodiché è stata registrata un trend decrescente nel periodo successivo, senza però registrare differenze significative tra i regimi.



**Fig. 62 a e b** Fm misurata alle ore 10 del mattino in *Photinia x fraseri* var. Red Robin (a) e in *Viburnum opulus* L. (b). Per ogni plot è stato preso un campione di dieci foglie mature della parte terminale dei rami principali. Sono riportati i valori medi e le barre della deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal test Tukey per il confronto delle medie campionarie. Le lettere indicano le differenze significative tra le medie in ciascuna data per  $P < 0.05$ .

$PI_{ABS}$  esprime la capacità potenziale per la conservazione dell'energia, dai fotoni assorbiti dal PSII alla riduzione degli accettori di elettroni nell'intersistema fra PSII e PSI. Fotinia presenta un andamento variabile con due periodi ad andamento decrescente. Il 20 Giugno, giorno in cui è stata aumentata l'acqua di irrigazione,  $PI_{ABS}$  ha mostrato nuovamente un valore più elevato mentre successivamente  $PI_{ABS}$  ha registrato valori sempre più bassi a significare la riduzione dell'efficienza con l'intensificazione delle condizioni di stress ambientali. Non si osservano differenze tra i regimi idrici (Fig. 63 a).

In viburno i valori di  $PI_{ABS}$  sono molto più bassi rispetto a fotinia ma il trend durante il condizionamento è più regolare. Allo stesso modo, non si osservano differenze significative tra i regimi idrici (Fig. 63 b).



**Fig. 63 a e b**  $PI_{ABS}$  misurato alle ore 10 del mattino in *Photinia x fraseri* var. Red Robin (a) e in *Viburnum opulus* L. (b). Per ogni plot è stato preso un campione di dieci foglie mature della parte terminale dei rami principali. Sono riportati i valori medi e le barre della deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal test Tukey per il confronto delle medie campionarie che non ha evidenziato differenze significative tra le medie in ciascuna data.

### Indice di clorofilla

L'analisi del contenuto della clorofilla, misurata con lo Spad, in fotinia ha rilevato un contenuto inferiore nelle piante del regime SWD rispetto gli altri regimi mentre in viburno il contenuto di clorofilla in SWD è intermedio tra MWD e C (tabella 10).

<b>Fotinia</b>	<b>25/06/2012</b>	<b>02/08/2012</b>	<b>22/08/2012</b>
SWD	46.3±3.1 b	57.6±4.3b	60.2±7
MWD	50.1±3.4 a	60±4.3a	62.5±3.9
C	50.1±3.4 a	60±5.1a	62.1±3.8
	P<0.01	P<0.01	

<b>Viburno</b>	<b>25/06/2012</b>	<b>02/08/2012</b>	<b>22/08/2012</b>
SWD	36.1±4.8	33.6±4.3ab	36.8±4.7ab
MWD	36.9±8.6	36.5±7.7a	32±6.2b
C	33.4±2.9	31.7±3.3b	41.7±7.3a
		P=0.004	P=0.02

**Tabella 10.** Per ogni regime idrico è stato misurato il contenuto di clorofilla in unità di Spad su 18 foglie, prendendo tre misure per ogni foglia. E' stata eseguita l'ANOVA per il confronto delle medie dei regime idrici seguita dal test Tukey. Sono riportati i valori medi ± s.d. Le differenze tra le medie sono indicate dalle lettere.

### 6.5 Biomassa

Per quanto riguarda la produzione di biomassa, è risultato che i regimi SWD e MWD hanno indotto in fotinia un minore accrescimento in termini di biomassa fogliare (anche in termini di numero di foglie e area fogliare) e legnosa rispetto il controllo ( $P<0.05$ ). Il rapporto tra massa aerea e radicale ha dimostrato un maggior investimento nell'apparato radicale da parte delle piante in deficit idrico (tabella 11A).

Anche viburno ha registrato in SWD e in MWD una riduzione della biomassa fogliare, con una riduzione di area fogliare in SWD rispetto al controllo, mentre MWD ha registrato un valore intermedio agli altri. Inoltre, ancora in viburno, SWD e MWD hanno indotto a una riduzione della massa legnosa e radicale rispetto al controllo da cui è derivato che il rapporto tra parte aerea e parte radicale è risultato non significativamente diverso tra i tre regimi (tabella 11B).

Nei tre regimi si sono osservate anche delle differenze significative nell'incremento radiale tra inizio e fine prova in entrambe le specie con i minori accrescimenti nelle piante in deficit idrico severo. Altro effetto dello stress idrico è stata la riduzione dell'allungamento dei getti. Sia nel controllo che in MWD le piante di fotinia hanno mostrato un allungamento quasi doppio rispetto le piante in SWD mentre in viburno la maggiore differenza è stata riscontrata tra SWD e il controllo.

<b>A. Fotinia</b>										
	$\Delta\phi_{fin-ini}$ colletto (mm)	$H_{fin}$ (cm)	$\Delta H_{fin-ini}$ (cm)	$NF_{fin}$	$AF_{unitaria}$ (cm <sup>2</sup> )	$AF_{fin}$ (cm <sup>2</sup> )	DW foglie (g)	DW rami (g)	DW radici (g)	$\frac{DW_{aerea}}{DW_{radici}}$
SWD	5.4±0.9 c	112.2±18.6b	56.3±24.8b	318±95b	17.4 ± 2.8	5451±1572 b	49.3±19.1b	80.5±23.8 c	46.7±27	3.4±0.8 b
MWD	7.4±0.6 b	154.3±19.4a	101±18.8a	409±61b	18 ± 2.7	7241±659 b	54.2±12.7b	128.7±8.8 b	58.2±13.5	3.3±0.7 b
C	9.7±0.9 a	162.1±21.3a	115.3±24.5a	521±56a	17.7 ± 1.2	9255±1388 a	77.5±13.8a	178±18.2 a	45.2±9.4	5.8±1.2 a
	P<0.01	P<0.01	P=0.01 tra SWD e MWD; P<0.01 tra SWD e C	P=0.04 tra MWD e C; P<0.01 tra SWD e C	n.s.	P=0.03 tra MWD e C; P<0.01 tra SWD e C	P=0.02 tra SWD e C; P=0.048 tra MWD e C	P<0.01	n.s.	P<0.01
<b>B. Viburno</b>										
	$\Delta\phi_{fin-ini}$ colletto (mm)	$H_{fin}$ (cm)	$\Delta H_{fin-ini}$ (cm)	$NF_{fin}$	$AF_{unitaria}$ (cm <sup>2</sup> )	$AF_{fin}$ (cm <sup>2</sup> )	DW foglie (g)	DW rami (g)	DW radici (g)	$\frac{DW_{aerea}}{DW_{radici}}$
SWD	1.1±0.5 b	62.4±10.3b	10.3±10.8	288±81	16.7 ± 1.2c	4837±1494b	28.7±8.6b	55.7±24.2b	61.3±15c	1.4±0.2
MWD	1.4±0.6 ab	66.8±8.9ab	10.4±3.8	221±64	23.3 ± 1.1b	5188±1611ab	34.5±11.9b	68.1±13.7b	85.2±7.6b	1.2±0.1
C	2.2±1.1 a	82.3±18.8a	29±24	274±76	26 ± 4.2	7100±1858a	46.8±6.5a	106.8±21.1a	118.7±13.1a	1.3±0.2
	P<0.05	P=0.02	n.s.	n.s.	P<0.01	P=0.03 tra SWD e C	P>0.01 tra SWD e C; P=0.04 tra MWD e C	P<0.01	P<0.01 tra SWD e C e tra MWD e C; P=0.04 tra SWD e MWD	n.s.

**Tabella 11 A e B.** Biomassa e accrescimenti in *Photinia x fraseri* var. Red Robin (A) e in *Viburnum opulus* L. (B). Sono indicati i valori medi ± deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal test Tukey per il confronto delle medie campionarie. Le lettere indicano, per ogni parametro, le differenze significative tra i regimi idrici per P<0.05. Parametri:  $\Delta\phi_{colletto}$  fin-ini = differenza di accrescimento del diametro al colletto tra fine e inizio prova;  $\Delta H_{fin-ini}$  = differenza di accrescimento in altezza tra fine e inizio prova;  $H_{fin}$  = altezza della pianta a fine prova;  $NF_{fin}$  = numero totale di foglie a fine prova;  $AF_{fin}$  = Area fogliare a fine prova;  $DW_{Foglie}$  = Peso secco della massa fogliare a fine prova;  $DW_{rami}$  = Peso secco della massa legnosa a fine prova;  $DW_{Radici}$  = Peso secco della massa radicale a fine prova.

A fine prova, al ritorno di condizioni ambientali meno critiche, viburno del regime di deficit idrico severo ha mostrato una ripresa vegetativa maggiore rispetto gli altri regimi con un 20% delle piante che hanno emesso nuovi getti dalla ramificazione principale, al contrario delle piante del controllo che non hanno prodotto nuovi getti.

Ad Aprile, in coincidenza con la fioritura, è stata valutata la produzione fiorale di viburno nei tre regimi idrici. I fiori del viburno sono ermafroditi, riuniti a formare ombrelle espanse. Nella tabella 12 sottostante, sono raccolti i dati relativi alle infiorescenze.

Differenze significative sono state osservate nel diametro delle infiorescenze e nel loro peso fresco. Il regime SWD ha indotto una produzione di infiorescenze più piccole rispetto sia a MWD ( $P < 0.01$ ) sia a C ( $P < 0.01$ ). Le infiorescenze in SWD sono risultate anche con un peso fresco minore rispetto a C mentre non si sono registrate differenze nel peso secco.

Infiorescenze				
	$\varnothing_{\text{infior}}$ (cm)	$N_{\text{infior}}$	$FW_{\text{infior}}$ (g)	$DW_{\text{infior}}$ (g)
SWD	5.8±0.8 c	37±13	96.8±32.3 b	15±5
MWD	8.3±0.9 b	32±14	110.1±53.5 ab	15.5±7.3
C	10.6±0.9 a	42±16	158.4±54.8 a	20.4±6.5
	P<0.01		P<0.05	

**Tabella 12** Produzione fiorale di *Viburnum opulus* L. Sono indicati i valori medi ± deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal test Tukey per il confronto delle medie campionarie. Le lettere indicano, per ogni parametro, le differenze significative tra i regimi idrici per  $P < 0.05$ .

### 6.6 Caratteristiche fogliari

Qui di seguito vengono esaminate le caratteristiche fogliari esaminate nelle due specie.

#### *Fotinia*

Le foglie di fotinia sono semplici, a lamina ovata-lanceolata e liscia in entrambe le pagine.

La maggiore modificazione che ha indotto il regime SWD ha riguardato la biomassa. In termini di area fogliare i tre regimi non hanno fatto registrare differenze significative, soprattutto per l'alta variabilità all'interno dei campioni. In termini di biomassa invece, nel regime SWD le foglie avevano un peso secco (DW) minore rispetto quelle di C ( $P < 0.05$ ) (tabella 13).

Sono stati calcolati gli indici di sclerofillia LMA (*leaf mass per area*) e SLA (*specific leaf area*).

LMA è risultato più basso nelle foglie in SWD e in MWD rispetto a C ( $P < 0.05$ ) mentre SLA, suo reciproco, maggiore in SWD e MWD rispetto a C ( $P < 0.05$ );

La succulenza fogliare invece è risultata più bassa in SWD e in MWD rispetto a C ( $P < 0.05$ ).

Fotinia	LA (cm <sup>2</sup> )	DW (g)	LMA (g dm <sup>-2</sup> )	SLA (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	Succulenza (TW-DW)/LA (gH <sub>2</sub> O cm <sup>-2</sup> )
SWD	17.49±5.28	0.277±0.09 b	1.563±0.11 b	64.27±4.45 a	0.022±0.0015 b
MWD	21.98±5.21	0.346±0.08 ab	1.576±0.11 b	63.76±4.6 a	0.023±0.0018 b
C	22.03±3.69	0.375±0.06 a	1.709±0.06 a	58.58±2.14 b	0.024±0.0021 a
		P<0.05	P<0.05	P<0.05	P<0.05

**Tabella 13** Caratteristiche fogliari in *Photinia x fraseri* var. Red Robin. Sono indicati i valori medi ± deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal test Tukey per il confronto delle medie campionarie. Le lettere indicano, per ogni parametro, le differenze significative tra i regimi idrici per  $P < 0.05$ .

Dall'analisi dei tessuti fogliari (Fig. 64 e tabella 14) è risultato che il regime SWD ha determinato una diminuzione del tessuto palizzata del 27% rispetto al controllo ( $P < 0.05$ ) e mentre nel regime MWD si sono osservati valori simili ad esso. Al contrario, il tessuto lacunoso in SWD è risultato del 36% più spesso di quello misurato nel controllo ( $P < 0.01$ ) e del 19% di quello in MWD ( $P < 0.05$ ).

Tuttavia, non si sono registrati cambiamenti nello spessore dell'epidermide e della cuticola.

Fotinia	Spessore dei tessuti fogliari						
	Cuticola Superiore ( $\mu\text{m}$ )	Epidermide Superiore ( $\mu\text{m}$ )	Palizzata ( $\mu\text{m}$ )	Lacunoso ( $\mu\text{m}$ )	Epidermide Inferiore ( $\mu\text{m}$ )	Cuticola Inferiore ( $\mu\text{m}$ )	Spessore totale ( $\mu\text{m}$ )
SWD	2.01 $\pm$ 0.29	6.88 $\pm$ 1.15	24.55 $\pm$ 4.60b	58.83 $\pm$ 5.42 a	4.78 $\pm$ 0.72	2.48 $\pm$ 1.01	99.52 $\pm$ 7.21
MWD	2.48 $\pm$ 0.33	6.69 $\pm$ 0.60	33.14 $\pm$ 3.61ab	49.28 $\pm$ 3.66 b	6.02 $\pm$ 0.76	2.39 $\pm$ 0.17	100 $\pm$ 0.29
C	2.48 $\pm$ 0.33	6.49 $\pm$ 0.17	33.62 $\pm$ 5.10a	43.36 $\pm$ 2.44 b	4.68 $\pm$ 0.83	2.20 $\pm$ 0.17	92.84 $\pm$ 6.04

P=0.047      P=0.003  
tra SWD e C;  
P=0.02 tra  
SWD e MWD

**Tabella 14** Spessori fogliari in *Photinia x fraseri* var. Red Robin. Sono indicati i valori medi  $\pm$  deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal test Tukey per il confronto delle medie campionarie. Le lettere indicano, per ogni parametro, le differenze significative tra i regimi idrici per  $P < 0.05$ .

Dall'analisi della pagina inferiore (Fig. 65) è risultato che i regimi di deficit idrico SWD e MWD non hanno indotto una maggiore densità stomatica rispetto il controllo, ma una riduzione della lunghezza della rima stomatica. Gli stomi sono risultati più piccoli di circa 0.4  $\mu\text{m}$  rispetto a quelli del controllo (tabella 15).

Fotinia	Densità stomatica ( $\text{N mm}^{-2}$ )		Lunghezza rima stomatica ( $\mu\text{m}$ )	
	Media	s.d.	Media	s.d.
SWD	414.95	33.95	2.63 b	0.22
MWD	410.93	34.14	2.47 b	0.38
C	409.01	48.18	3.05 a	0.35

P<0.01

**Tabella 15** Densità stomatica per  $\text{mm}^2$  e lunghezza della rima in *Photinia x fraseri*. var. Red Robin. Le misure sono state fatte su un campione di 18 sezioni di pagina inferiore ( $330 - 440 \mu\text{m}^2$ ) per regime idrico. Sono indicati: valore medio e deviazione standard per ogni regime idrico. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal test Tukey per il confronto delle medie campionarie. Le lettere indicano, per ogni parametro, le differenze significative tra i regimi idrici per  $P < 0.01$ .

*Viburno*

Le foglie di viburno sono semplici ed opposte a lamina trilobata o palmato-lobata, con lobi acuti, base arrotondata e margine da intero a grossolanamente dentato. La pagina inferiore è verde-grigiasta e pelosa.

SWD ha causato una riduzione dell'area fogliare determinando anche un minor peso fogliare. Tuttavia LMA è minore rispetto agli altri regimi e il suo reciproco SLA maggiore. Il livello di succulenza è maggiore nelle foglie del controllo rispetto a quello in SWD ( $P<0.01$ ). Le foglie in MWD invece hanno mostrato un comportamento intermedio per area fogliare e indice di succulenza, mentre peso secco, LMA e SLA sono risultati simili a quelli in SWD (tabella 16).

Viburno	LA (cm <sup>2</sup> )	DW (g)	LMA (g dm <sup>-2</sup> )	SLA (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	Succulenza (TW-DW)/LA (gH <sub>2</sub> O cm <sup>-2</sup> )
SWD	18.44±3.8c	0.075±0.01b	0.409±0.04b	247.34±26.7a	0.010±0.002b
MWD	25.81±5.8b	0.104±0.03b	0.402±0.04b	251.1±6.7a	0.011±0.001ab
C	32.25±6.6a	0.154±0.04a	0.476±0.06a	212.83±23.8b	0.013±0.002a
	P<0.05	P<0.01	P<0.05	P<0.05	P<0.01

**Tabella 16** Caratteristiche fogliari in *Viburnum opulus* L.. Sono indicati i valori medi ± deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal test Tukey per il confronto delle medie campionarie. Le lettere indicano, per ogni parametro, le differenze significative tra i regimi idrici per  $P<0.05$ .

Per quanto riguarda i tessuti fogliari (Fig. 66 e tabella 17), le piante nei regimi di deficit idrico (SWD e MWD) hanno prodotto foglie con uno spessore maggiore del 19% e del 16% rispettivamente rispetto al controllo. Il mesofillo ha presentato un incremento del tessuto lacunoso che è risultato più spesso mediamente del 21% in SWD e del 28% in MWD rispetto il controllo. Epidermide e cuticola della pagina inferiore hanno mostrato differenze significative tra i regimi, in SWD l'epidermide inferiore è risultata maggiore rispetto MWD e la cuticola maggiore del 13% rispetto a quella misurata in C. Nel regime di deficit moderato invece, sia l'epidermide inferiore che la cuticola sono risultate più sottili sia rispetto a SWD che al controllo.

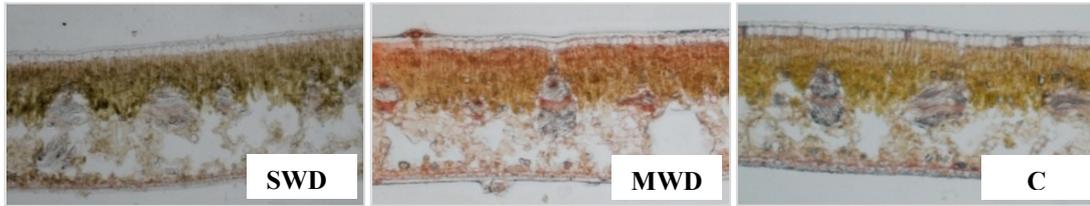
Viburno	Spessore dei tessuti fogliari						
	Cuticola Superiore ( $\mu\text{m}$ )	Epidermide superiore ( $\mu\text{m}$ )	Palizzata ( $\mu\text{m}$ )	Lacunoso ( $\mu\text{m}$ )	Epidermide inferiore ( $\mu\text{m}$ )	Cuticola Inferiore ( $\mu\text{m}$ )	Spessore totale ( $\mu\text{m}$ )
SWD	1.49±0.41	4.94±1.55	13.72±3.08	26.05±1.35a	5.48±0.88a	1.80±0.13a	53.49±3.03 a
MWD	1.46±0.13	4.02±.34	11.88±3.56	28.66±0.63a	3.52±0.18b	1.41±0.18b	50.96±4.11 a
C	1.03±0.11	3.07±0.53	11.92±1.74	20.54±2.66b	4.83±0.11a	1.57±0.18ab	42.95±0.99 b
				P=0.02 tra SWD e C; P<0.01 tra MWD e C	P=0.009 tra SWD e MWD; P=0.05 tra MWD e C	P<0.05	P=0.01 tra SWD e C; P=0.04 tra MWD e C

**Tabella 17** Spessori fogliari in *Viburnum opulus* L. Sono indicati i valori medi  $\pm$  deviazione standard. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal test Tukey per il confronto delle medie campionarie. Le lettere indicano, per ogni parametro, le differenze significative tra i regimi idrici per  $P<0.05$ .

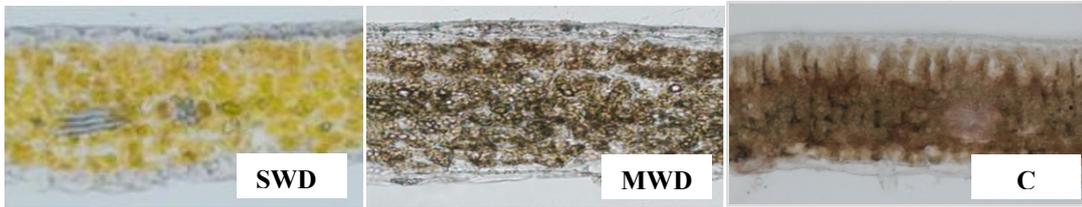
Dall'analisi degli stomi (Fig. 67), non si sono osservate variazioni tra regimi idrici per la densità stomatica mentre le piante in SWD hanno presentato stomi più piccoli di circa  $1 \mu\text{m}$ , rispetto a quelli degli altri regimi idrici (tabella 18).

Viburno	Densità stomatica ( $\text{N mm}^{-2}$ )		Lunghezza rima stomatica ( $\mu\text{m}$ )	
	Media	s.d.	Media	s.d
SWD	134.9	31.50	5.88 b	0.65
MWD	135.4	22.53	6.88 a	0.86
C	132.8	25.24	6.75 a	1.07
			P<0.01	

**Tabella 18** Densità stomatica per  $\text{mm}^2$  e lunghezza della rima su un campione di 18 sezioni di pagina inferiore ( $330-440 \mu\text{m}^2$ ) in *Viburnum opulus* L. Sono indicati: valore medio e deviazione standard per ogni regime idrico. E' stata effettuata l'ANOVA seguita dal test Tukey per i parametri che hanno presentato una differenza significativa. Le lettere indicano, le differenze significative tra i regimi idrici per  $P<0.01$ .

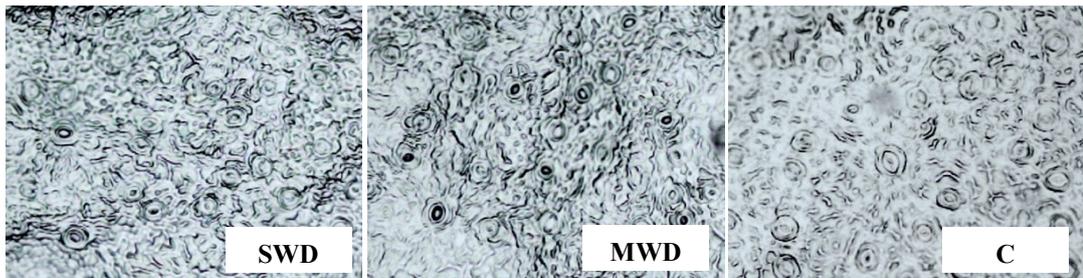


**Fig.64** Sezioni dello spessore fogliare di *Photinia x fraseri* Red Robin nei tre regimi.

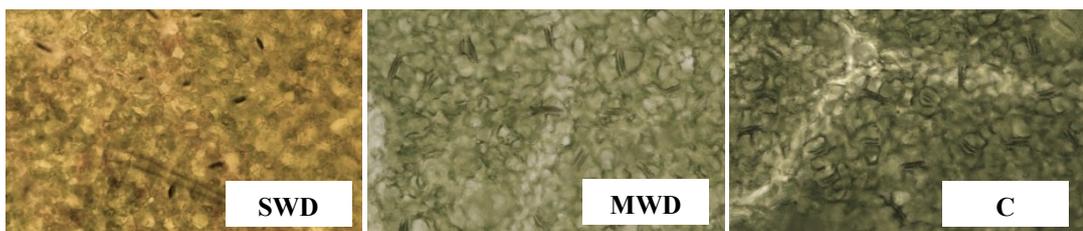


**Fig.66** Sezioni dello spessore fogliare di *Viburnum opulus* L. nei tre regimi.

Le sezioni di 30  $\mu\text{m}$  di spessore sono state tagliate con il crio-microtomo da porzioni fogliari in posizione internervale e sono state osservate e fotografate al microscopio per poi essere analizzate successivamente in Adobe Photoshop.



**Fig. 65** Porzioni di impronta stomatica in *Photinia x fraseri* var. Red Robin effettuate con smalto trasparente in quanto non era fattibile l'individuazione degli stomi sulle porzioni fogliari. Le impronte sono state osservate e fotografate al microscopio per poi essere successivamente analizzate in Adobe Photoshop.



**Fig. 67** Porzioni di foglia di *Viburnum opulus* L. tenute in acqua distillata per tre giorni. Le immagini sono state osservate e fotografate al microscopio per poi essere successivamente analizzate in Adobe Photoshop.

## 7. DISCUSSIONI DELLA PROVA 2

La prova 2 ha esaminato le risposte fisiologiche di due specie ornamentali arbustive (*Photinia x fraseri* var. Red Robin e *Viburnum opulus* L.) alla *deficit irrigation* in campo sperimentale al chiuso, in serra.

In serra, lo stress idrico è stato acuito dalle condizioni ambientali che fin dal mattino hanno fatto registrare temperature molto alte. Per questo le misure degli scambi gassosi sono state effettuate alle 10.

In questa prova è stata confermata la risposta più lenta di fotinia allo stress idrico rispetto viburno, con una differenziazione significativa tra i regimi nelle misure di conduttanza stomatica, traspirazione e fotosintesi netta dopo circa due mesi e mezzo dall'inizio del condizionamento. Se in fotinia il regime moderato bastava per mantenere la stessa funzionalità del regime del controllo, in viburno lo stesso regime ha indotto una funzionalità o intermedia o più simile al deficit severo, mostrando una sensibilità maggiore allo stress.

Le due specie, a giudicare dalla riduzione della conduttanza stomatica, sono state in grado di rispondere allo stress idrico tramite la regolazione dell'apertura degli stomi e abbassando il potenziale idrico fogliare per mantenere il turgore.

L'approvvigionamento idrico in serra è stato peraltro limitato alla sola acqua irrigua, e oltre il deficit idrico, fattori ambientali come temperatura e umidità relativa dell'aria possono aver esacerbato la condizione di stress.

Complessivamente il condizionamento in serra ha ridotto nel tempo la  $WUE_{ph}$  in entrambe le specie, ma nelle date in cui si sono osservate delle differenze significative tra regimi, SWD ha fatto registrare i valori più alti di  $WUE_{ph}$ , come trovato anche da altri autori (Evans, 1993; Fereres e Soriano, 2007). Si nota inoltre l'incremento del  $WUE_{ph}$  dopo che è stato aumentato l'approvvigionamento idrico (20 Giugno), per poi diminuire progressivamente fino alla fine della prova.

I parametri derivati dall'analisi della fluorescenza diretta della clorofilla *a*, descrittivi delle polifasi del *transient* della fluorescenza, non hanno rilevato un peggioramento dell'efficienza dell'apparato fotosintetico in condizione di deficit idrico.

Differenze significative si sono riscontrate il 19 Giugno in una condizione ambientale ben lontana da quella ottimale e in cui si è misurato, nelle piante sottoposte a deficit idrico severo, un valore più alto di  $F_0$  in entrambe le specie, una riduzione di  $\Phi_{P_0}$  in viburno e una riduzione della capacità di trasmissione degli elettroni verso il PSI (che in fotinia si è protratta fino a fine prova), così come una riduzione di  $F_m$ .

Nella stessa data, la riduzione della fotosintesi e del flusso di elettroni in SWD fanno pensare all'attivazione della *down-regulation* (Stroch et al., 2008) in entrambe le specie. Si può asserire che in serra, alle dieci del mattino, l'efficienza fotochimica del PSII sia stata comunque in minima parte alterata dallo stress idrico (Genty et al., 1987; Cornic e Briantais 1991) e che gli effetti maggiori siano stati circoscritti (ma solo in fotinia) alla fase IP che corrisponde alla fluorescenza rilasciata dal pool del plastochinone fino alla riduzione degli accettori finali.

Altra osservazione ha riguardato la fluorescenza massima che ha registrato un trend decrescente durante il condizionamento, molto marcato in viburno. Siccome  $F_m$  viene raggiunta quando tutti gli accettori del PSII sono stati ridotti e i centri di reazione sono temporaneamente chiusi, se c'è un'incapacità di riduzione degli accettori il suo valore si abbassa, indicando uno stato di stress.

La resistenza fisica ad un ambiente è dimostrabile con indici morfologici e viene acquisita durante la crescita (Cornelissen, 1999), ma può essere anche indotta da cambiamenti dell'ambiente stesso in cui vivono (Wylie, 1951).

Per quanto riguarda la biomassa, lo stress idrico ha indotto una riduzione della sostanza organica prodotta, sia fogliare che legnosa sia in fotinia che in viburno e la riduzione della crescita diametrale e dell'altezza.

Saltuariamente durante il condizionamento si sono verificati delle interruzioni di corrente che hanno interrotto l'approvvigionamento idrico. E' plausibile che la domanda evapotraspirativa di questi eventi sia stata dunque alta, tale da indurre in viburno l'abscissione fogliare. Tuttavia, a fine prova, al ritorno di condizioni ambientali meno critiche, viburno del regime di deficit idrico severo ha mostrato una ripresa vegetativa maggiore rispetto gli altri regimi con un 20% delle piante che hanno emesso nuovi getti

dalla ramificazione principale, al contrario delle piante del controllo che non hanno prodotto nuovi getti.

L'area fogliare è una espressione fenotipica del potenziale fotosintetico e della crescita: più grande è, maggiore sarà il tasso di crescita (Grime, 1979; Raven et al., 1999; Gianoli e Gonzalez-Teuber, 2005; Maseda e Fernández, 2006; Xu e Zhou, 2008). In entrambe le specie il deficit idrico severo ha indotto una riduzione dell'area fogliare totale che in fotinia potrebbe essere legata principalmente ad un numero più basso di foglie rispetto agli altri regimi e in viburno a una ridotta distensione delle foglie.

I regimi di deficit idrico solo in viburno hanno portato a una riduzione della superficie unitaria fogliare, mentre le differenze maggiori sono state proprio in relazione al peso secco fogliare. Un aumento in SLA, come è risultato per le piante in deficit idrico, significa che c'è una perdita di peso in relazione all'espansione fogliare a compensazione di un'assimilazione del carbonio ridotta (Anyia e Herzog 2004).

Usualmente, per capire quanto una specie si è acclimatata a certe condizioni ambientali si utilizzano gli indici di sclerofillia come LMA. La sclerofillia inizia quando  $LMA > 7.5 \text{ mg cm}^{-2}$  (Bussotti, 2008) e nelle specie sempreverdi è maggiore rispetto quello delle specie decidue (Coley 1988; Cornelissen et al. 1999) in quanto devono acquisire resistenze fisiche in periodi sfavorevoli alla sopravvivenza (Chabot e Hicks 1982; Kikuzawa 1995). LMA in natura varia secondo un gradiente ecologico ma si suppone che sia anche una caratteristica geneticamente stabile (Bussotti, 2008).

La sclerofillia è generalmente collegata a un uso più conservativo dell'acqua (Mediavilla et al., 2001; Mediavilla e Escudero, 2003) e un alto valore di LMA associato a una ridotta superficie fogliare, permette alla pianta di essere più efficiente nell'attività fotosintetica.

In questo studio fotinia riporta un indice LMA di circa  $15 \text{ mg cm}^{-2}$ , tuttavia, le condizioni di allevamento in deficit idrico non hanno apportato le modifiche ipotizzate. Le piante del controllo per esempio sia in viburno che in fotinia hanno mostrato un LMA più alto rispetto i trattamenti a deficit idrico.

Castro-Diez (2000) ha affermato che le variazioni di LMA possono dipendere da molti fattori come la densità fogliare, e lo spessore del mesofillo, connesso per esempio a un

maggior strato di cellule dei tessuti. Un mesofillo più spesso garantisce alla foglia una più alta capacità fotosintetica per unità di area e migliora la competizione tra cellule per la CO<sub>2</sub> e la luce, soprattutto in quegli ambienti dove l'assimilazione della CO<sub>2</sub> viene limitata Givnish (1979). Inoltre, all'interno di una stessa specie, densità e spessore fogliare sono spesso correlati (Bussotti et al., 2005).

Dall'analisi degli spessori fogliari, fotinia è risultata avere foglie più spesse rispetto a viburno, e ha mostrato differenze significative tra gli spessori del parenchima palizzata, maggiore nel controllo, e di quello lacunoso, maggiore in deficit idrico. In viburno invece, lo stress idrico ha inciso non solo sul lacunoso, ma anche sullo spessore totale, con le foglie in deficit idrico severo più spesse. In viburno le foglie presentavano anche una epidermide e una cuticola inferiori più spesse proprio nel deficit idrico severo.

Alcuni autori hanno riportato che LMA può dipendere dall'accumulo di amido che può influire dal 30 al 40% della massa totale secca (McDonald et al. 1986; Rufty et al. 1988). Questa analisi però non è stata effettuata.

La struttura anatomica, legata allo spessore totale fogliare può variare con la specie ma anche con l'ambiente. Un mesofillo più spesso comporta una maggiore capacità fotosintetica per unità di area e aumenta anche la competizione tra le cellule per CO<sub>2</sub> e luce (Fraser et al., 2009), per questo è caratteristico di specie che hanno basso assorbimento di queste risorse a livello delle cellule del mesofillo (Givnish, 1979).

L'aumento del tessuto lacunoso nelle piante a deficit idrico può essere visto come risposta allo stress, volta a favorire la diffusione della CO<sub>2</sub> verso i siti di fissazione e quindi facilitare l'aumento del gradiente di CO<sub>2</sub> tra la camera sottostomatica e l'atmosfera in modo da favorirne l'assorbimento.

Le piante in deficit idrico hanno infatti mostrato una dimensione ridotta dello stoma, misurata come lunghezza della rima stomatica. Questa caratteristica potrebbe aver influito sugli scambi gassosi, facendo ridurre la conduttanza potenziale e incrementando l'efficienza nell'uso dell'acqua dato che dagli stomi dipende essenzialmente la quantità di acqua perduta. Tale parametro diventa importante soprattutto negli ambienti o nelle condizioni di scarsità idrica (Xu e Zhou, 2008).

## 8. CONCLUSIONI

La crescente necessità di utilizzare in modo più congruo la risorsa idrica sia negli usi civili che nei settori economici, tra cui il vivaismo, ha portato all'attuazione di misure economiche volte a introdurre nuove tecnologie per la gestione dell'acqua, che potrebbero trovare complemento con pratiche di coltivazione basate su un ridotto uso dell'acqua.

In questo studio sono state analizzate le risposte allo stress idrico di due specie arbustive ornamentali, *Photinia x fraseri* var. Red Robin e *Viburnum opulus* L. allevate in vaso, per verificare la possibile applicazione della *deficit irrigation* in campo vivaistico.

Dalle prove effettuate, si può concludere che la scelta della specie è prioritaria a questa tecnica di coltivazione e dipende dal tipo di risposta allo stress e dalla sensibilità allo stesso, soprattutto quando il fine è commerciale.

Per mantenere il turgore cellulare e la funzionalità, sia fotinia sia viburno hanno risposto allo stress idrico abbassando il potenziale idrico fogliare minimo, una strategia che si attua attraverso l'incremento della concentrazione di soluti a livello citoplasmatico. Inoltre, per evitare la perdita idrica per traspirazione, entrambe le specie hanno mostrato una strategia di evitanza attraverso la regolazione della apertura stomatica, rispondendo allo stress con la chiusura degli stomi tale da ridurre la conduttanza stomatica. Tra le due, viburno si è dimostrata la specie più sensibile allo stress idrico, con una risposta diversificata tra i regimi idrici più pronta rispetto fotinia che oltretutto, se sottoposta a deficit idrico moderato, ha mantenuto la stessa funzionalità del controllo.

Riguardo l'efficienza dell'apparato fotosintetico, lo stress idrico, anche severo, non ha indotto malfunzionamento nella trasmissione dell'energia e nel trasporto elettronico anche se fotinia si è dimostrata più efficiente di viburno nella capacità a intrappolare l'energia di attivazione del trasporto elettronico.

Dal punto di vista della produzione biomassa prodotta, in entrambe le specie è stata osservata una riduzione della massa legnosa e fogliare come l'area fogliare, accentuata in viburno dall'abscissione fogliare come ulteriore strategia per ridurre la superficie traspirante.

Nella prova all'aperto viburno ha mostrato però una maggiore allocazione di biomassa a livello radicale delle radici, cosa che non è stata osservata in serra, in cui lo stress idrico ha penalizzato lo sviluppo radicale. In fotinia l'effetto più marcato dello stress idrico ha riguardato la riduzione

dell'allungamento dei rami mentre in serra ha mostrato un investimento a livello radicale con un basso rapporto parte aerea:parte radicale.

A livello fogliare viburno ha reagito allo stress idrico riducendo la superficie unitaria e incrementando lo spessore totale, grazie al maggior spessore del tessuto lacunoso, dell'epidermide e della cuticola inferiori. Tuttavia non ha mostrato alcuna differenza nella densità stomatica tra i regimi idrici. Fotinia invece non ha ridotto la superficie unitaria e neppure lo spessore totale fogliare, ma ha risposto allo stress con un maggiore tessuto lacunoso a migliorare la diffusione della CO<sub>2</sub> verso i siti di fissazione, e aumentando la densità degli stomi che nel deficit severo erano anche di dimensioni ridotte rispetto gli altri regimi.

In questo studio è stato dimostrato che la *deficit irrigation*, che è generalmente applicata a semenzali, può indurre dei meccanismi di risposta allo stress idrico anche in piante di un anno e che si presta ad essere applicata nel settore vivaistico pur essendo prioritaria la scelta della specie. Specie sensibili lo stress idrico come in questo caso *Viburnum opulus* L. che ha risposto con riduzione dell'area fogliare, ma anche delle infiorescenze, non sono adatte a questo tipo di tecnica mentre *Photinia x fraseri* var. Red Robin ha dimostrato un'elevata potenzialità in condizioni di stress idrico moderato. In questo regime infatti, oltre a mantenere una funzionalità fisiologica pari al controllo, non ha subito alterazioni in termini di accrescimento e forma estetica. Un risparmio idrico del 30% rispetto il regime del controllo potrebbe quindi essere incentivato anche quando i fini sono commerciali.

La durata del condizionamento pari a sei mesi è ottimale per innescare reazioni morfologico-strutturali nelle piante e l'allestimento all'aperto è preferibile per non incorrere in condizioni ambientali estreme come quelle che si possono creare all'interno di una serra nel periodo estivo, soprattutto in mancanza di dispositivi protettivi o impianti di irrigazione regolabili automaticamente.

**BIBLIOGRAFIA**

- Abdel Rahman AA, Shalaby AF, El Monayeri MO. 1971. Effect of moisture stress on metabolic products and ions accumulation. *Plant and Soil* 34, 65-90.
- Akinci Ş, Lösel DM. 2012. Plant Water-Stress Response Mechanisms, Water Stress. Rahman IMM (Ed.). InTech, <http://www.intechopen.com/books/water-stress/plant-water-stress-response-mechanisms> ISBN: 978-953-307-963-9.
- Alam SM. 1999. Nutrient uptake by plants under stress conditions.. In: Pessarakli M (Ed.). *Handbook of plant and crop stress*. 2<sup>nd</sup> ed. New York. pp. 285-313.
- Anyia AO, Herzog H. 2004. Water-use efficiency, leaf area and leaf gas exchange of cowpeas under mid-season drought. *European Journal of Agronomy* 20, 327–339.
- Baas P, Ewers FW, Davis SD, Wheeler EA. 2004. Evolution of xylem physiology. In: Hemsley AR, Poole I (Eds). *The Evolution of Plant Physiology*. Elsevier Academic Press, Oxford. pp. 273–295
- Baker NR., Rosenqvist E. 2004. Application of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: and examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany* 55, 1607-1621.
- Bañón S, Ochoa J, Franco JA, Alarcón JJ, Sánchez-Blanco MJ. 2006. Hardening of oleander seedlings by deficit irrigation and low air humidity. *Environmental and Experimental Botany* 56, 36–43.
- Baraldi R, Canaccini F, Cortes S, Magnani F, Rapparini F, Zamboni A, Raddi S. 2008. Role of xanthophyll cycle-mediated photoprotection in *Arbutus unedo* plants exposed to water stress during the Mediterranean summer. *Photosynthetica* 46, 378-386
- Barbour MM, Farquhar GD. 2000. Relative humidity and ABA-induced variation in carbon and oxygen isotope ratios of cotton leaves. *Plant, Cell and Environment* 23, 473-485.
- Begg JE. 1980. Morphological adaptations of leaves to water stress. In: Turner C, Kramer PJ (Eds.), *Adaptation of Plants to Water and High Temperature Stress*. Wiley, New York, USA.

- Bendtsen BA, Senft J. 1986. Mechanical and anatomical properties in individual growth rings of plantation-grown eastern cottonwood and loblolly pine. *Wood and Fiber Science* 18, 23-38.
- Berti A, Bàrberi P, Vidotto F, Ferrero A, Zanin G. 2010. Acqua e malerbe: un binomio da gestire per la produttività e l'ambiente. Consultato in data: 10 Novembre 2012 in: [www.agronomyjournal.it/index.php/agro/article/download/ija.../105](http://www.agronomyjournal.it/index.php/agro/article/download/ija.../105)
- Björkman O, Powles B. 1984. Inhibition of photosynthetic reactions under water stress: interaction with light level. *Planta* 161, 490-504.
- Björkman O, Demmig B. 1987. Photon yield of O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170, 489-504.
- Boyer JS. 1985. Water transport. *Annual Review of Plant Physiology* 36, 473-516.
- Brodribb TJ, Hill RS. 1999. The importance of xylem constraints in the distribution of conifer species. *New Phytologist* 143, 365-372.
- Brodribb TJ, Bowman DJMS, Nichols S, Delzon S, Burrett R. 2010. Xylem function and growth rate interact to determine recovery rates after exposure to extreme water deficit. *New Phytologist* 188(2), 533-542.
- Brunetti M, Buffoni L, Mangianti F, Maugeri M, Nanni T. 2004. Temperature, precipitation and extreme events during the last century in Italy. *Global and Planetary Change* 40(1-2), 141-149.
- Burr K. 1990. The target seedling concepts: bud dormancy and cold-hardiness. In: Rose R, Campbell S, Landis T (Eds.). *Target Seedlings Symposium: Proceedings, combined meeting of the Western Forest Associations*. Oregon. pp. 79-90.
- Bussotti F. 2004. Assessment of stress conditions in *Quercus ilex* L. leaves by O-J-I-P chlorophyll a fluorescence analysis. *Plant Biosystems* 138, 101-109.
- Bussotti F, Pancrazi M, Matteucci G, Gerosa G. 2005. Leaf morphology and chemistry in *Fagus sylvatica* L. (beech) trees as affected by site factors and ozone: results from Level II permanent monitoring plots in Italy. *Tree Physiology* 25, 211-219.
- Bussotti F. 2008. Functional leaf traits, plant communities and acclimation processes in relation to oxidative stress in trees: a critical overview. *Global Change Biology* 14, 2727-2739. doi: 10.1111/j.1365-2486.2008.01677.x

- Bussotti F, Hazem Kalaji M, Desotgiu R, Pollastrini M, Łoboda T, Bosa K. 2012. *Misurare la vitalità delle piante per mezzo della fluorescenza della clorofille*. Strumenti per la didattica e la ricerca. University Press, Firenze.
- Carvalho CJR. 2005. Responses of *Schizolobium amazonicum* [*S. parahyba* var. *Amazonicum*] and *Schizolobium parahyba* [*Schizolobium parahybum*] plants to water stress. *Revista Árvore* 29, 907–914.
- Castro-Díez P, Puyravaud JP, Cornelissen JHC. 2000. Leaf structure and anatomy as related to leaf mass per area variation in seedlings of a wide range of woody plant species and types. *Oecologia* 124, 476–486.
- Chabot BF, Hicks DJ. 1982. The ecology of leaf life spans. *Annual Review of Ecology and Systematics* 13, 229-259
- Clarkson DT, Robards AW. 1975. The endodermis, its structural development and physiological role. In: Torrey JG, Clarkson DT. (Eds.). *The Structure and Function of Roots*. Academic Press, London, pp. 415–436.
- Cochard H, Tyree MT. 1990. Xylem dysfunction in *Quercus*: vessel sizes, tyloses, cavitation and seasonal changes in embolism. *Tree Physiology* 6, 393–407.
- Coley PD. 1988. Effects of plant growth rate and leaf lifetime on the amount and type of antiherbivore defense. *Oecologia* 74, 531-536.
- Cornelius J. 1994. Heritabilities and additive genetic coefficients of variation in forest trees. *Canadian Journal of Forestry Research* 24, 372-379.
- Cornelissen JHC, Pérez-Harguindeguy N, Díaz S, Grime JP, Marzano B, Cabido M, Vendramini F, Cerabolini B. 1999. Leaf structure and defence control litter decomposition rate across species and life forms in regional floras of two continents. *New Phytologist* 143, 191–200.
- Cornic G, Briantais JM. 1991. Portioning of photosynthetic electron flow between CO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub> reduction in a C3 leaf (*Phaseolus vulgaris* L.) at different CO<sub>2</sub> concentrations and during drought stress. *Planta* 183, 178.184.
- Cornic G. 2000. Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture – not by affecting ATP synthesis. *Letters to Trends in Plant Science* 5(5), 187-188.
- Cornic C, Fresnau C. 2002. Photosynthetic carbon reduction and carbon oxidation cycles are the main electron sinks for Photosystem II activity during a mild drought. *Annals of Botany* 89, 887-894.

- Cutler JM, Rains DW, Loomis RS. 1977. The importance of cell size in the water relations of plants. *Physiologia Plantarum* 40, 225–260.
- Dalla-Salda G, Martinez-Meier A, Cochard H, Rozenberg P. 2009. Variation of wood density and hydraulic properties of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) clones related to a heat and drought wave in France. *Forest Ecology and Management* 257, 182–189.
- Dalla-Salda G, Martinez-Meier A, Cochard H, Rozenberg P. 2011. Genetic variation of xylem hydraulic properties shows that wood density is involved in adaptation to drought in Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.)). *Annals of Forest Science* 68, 747-757.
- David TS, Ferreira MI, Cohen S, Pereira JS, David JS. 2004. Constraints on transpiration from an evergreen oak tree in southern Portugal. *Agricultural and Forest Meteorology* 122, 193–205.
- Desotgiu R, Cascio C, Pollastrini M, Gerosa G, Marzuoli R, Bussotti F. 2012. Short and long term photosynthetic adjustments in sun and shade leaves of *Fagus sylvatica* L., investigated by fluorescence transient (FT) analysis. *Plant Biosystems* 146(1), 206-216.
- Domec JC, Gartner B. 2002. How do water storage differ in coniferous earlywood and latewood? *Journal of Experimental Botany* 53, 2369–2379.
- Ennajeh M, Tounekti T, Vadel AM, Khemira H, Cochard H. 2008. Water relations and drought-induced embolism in olive (*Olea europaea*) varieties ‘Meski’ and ‘Chemlali’ during severe drought. *Tree Physiology* 28, 971–976.
- Evans LT. 1993. *Crop Evolution, Adaptation and Yield*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Faraloni C, Cutino I, Petruccelli R, Leva AR, Lazzeri S, Torzillo G. 2011. Chlorophyll fluorescence techniques as a rapid tool for *in vitro* screening of olive cultivars (*Olea europaea* L.) tolerant to drought stress. *Environmental Experimental Botany* 73, 49-56.
- Fereres, E, Soriano A. 2007. Deficit irrigation for reducing agricultural water use. *Journal of Experimental Botany* 58, 147–159.

- Flexas J, Escalona JM, Medrano H. 1998. Down-regulation of photosynthesis by drought under field conditions in grapevine leaves. *Australian Journal of Plant Physiology* 25(8), 893-900.
- Fonseca D. 1999. Manipulación de las características morfo-estructurales de plantones de especies forestales mediterráneas producida en vivero. Tesis de Maestría CIHEAM-IAMZ, Zaragoza, España.
- Fournier M, Stokes A, Coutand C, Fourcaud T, Moulia B. 2006. Tree biomechanics and growth strategies in the context of forest functional ecology. In: Herrel A, Speck T, Rowe NP (Eds.) *Ecology and biomechanics. A mechanical approach to the ecology of animals and plants*. CRC, Boca Raton, FL. pp 1-33.
- Franke R, Briesen I, Wojciechowski T, Faust A, Yephremov A, Nawrath C, Schreiber L. 2005. Apoplastic polyesters in Arabidopsis surface tissues – A typical suberin and a particular cutin. *Phytochemistry* 66, 2643-2658.
- Franke R, Schreiber L. 2007. Suberin - a biopolyester forming apoplastic plant interfaces. *Current Opinion in Plant Biology* 10, 252-259.
- Fraser LH, Greenall A, Carlyle C, Turkington R, Ross Friedman C. 2009. Adaptive phenotypic plasticity of *Pseudoroegneria spicata*: response of stomatal density, leaf area and biomass to changes in water supply and increased temperature *Annals of Botany* 103(5), 769-775. doi:10.1093/aob/mcn252.
- Galmés J, Flexas J, Savé R, Medrano H. 2007. Water relations and stomatal characteristics of Mediterranean plants with different growth forms and leaf habits: responses to water stress and recovery. *Plant and Soil* 290, 139–155.
- Garnier E, Shipley B, Roumet C, Laurent G. 2001. A standardized protocol for the determination of specific leaf area and leaf dry matter content. *Functional Ecology* 15, 688–695.
- Genty B, Briantais JM, Viera da Silva JB. 1987. Effects of drought on primary photosynthetic processes of cotton leaves. *Plant Physiology* 83, 360-364.
- Gianoli E, González-Teuber M. 2005. Environmental heterogeneity and population differentiation in plasticity to drought in *Convolvulus chilensis* (Convolvulaceae). *Evolutionary Ecology* 19, 603-613.

- Gindro K, Pezet R, Viret O. 2003. Histological study of the responses of two *Vitis vinifera* cultivars (resistant and susceptible) to *Plasmopara viticola* infections. *Plant Physiology and Biochemistry* 41, 846-853.
- Giordano G, 1999. *Tecnica delle costruzioni in legno. Caratteristiche, qualificazione e formazione dei legami da costruzione-Progettazione e controllo delle strutture lignee*. Hoepli, Milano.
- Givnish T. 1979. On the adaptative significance of leaf form. In: Solbrig OT, Jain S, Johnson GB, Raven PH (Eds.). *Topics in plant population biology*. Columbia University Press, New York, pp. 375-407.
- Grant OM, Davies MJ, James CM, Johnson AW, Leinonen I, Simpson DW. 2012. Thermal imaging and carbon isotope composition indicate variation amongst strawberry (*Fragaria x ananassa*) cultivars in stomatal conductance and water use efficiency. *Environmental and Experimental Botany* 76, 7-15.
- Grime JP. 1979 *Plant strategies and vegetation processes*. Wiley Ltd., Chichester, New York-Brisbane-Toronto.
- Guidi L, Degl'Innocenti E, Martinelli F, Piras M. 2009. Ozone effects on carbon metabolism in sensitive and in sensitive *Phaseolus* cultivars. *Environmental Experimental Botany* 66, 117-125.
- Hacke UG, Sperry JS, Pitterman J. 2000. Drought experience and cavitation resistance in six shrubs from Great Basin, Utah. *Basic and Applied Ecology* 1, 31-41.
- Hacke UG, Sperry JS, Pockman WT, Davis SD, McCulloh KA. 2001. Trends in wood density and structure are linked to prevention of xylem implosion by negative pressure. *Oecologia* 126, 457-461.
- Hald S, Nandha B, Gallois P, Johnson GN. 2008. Feedback regulation of photosynthetic electron transport by NADP(H) redox poise. *Biochimica et Biophysica Acta* 1777, 433-440.
- Hargrave KR, Kolb KJ, Ewers FW, Davis SD. 1994. Conduit diameter and drought-induced embolism in *Salvia mellifera* Greene (Labiatae). *New Phytologist* 126, 695-705.
- Havaux M, Canaani O, Malkin S. 1987. Inhibition of photosynthetic activities under slow water stress measured in vivo by the photoacoustic method. *Physiologia Plantarum* 70, 530-510.

- Havaux M. 1992. Stress tolerance of Photosystem II in vivo. Antagonistic effects of water, heat and photoinhibition stress. *Plant Physiology* 100, 424-432.
- Hinckley TM, Duhme F, Hinckley AR, Richter H. 1980. Water relations of drought hardy shrubs: osmotic potential and stomatal reactivity. *Plant, Cell and Environment* 3, 131-140.
- Hogg EH, Hurdle PA. 1997. Sap flow in trembling aspen: implications for stomatal responses to vapor pressure deficit. *Tree Physiology* 17, 501-509.
- Hogg EH, Black TA, Hartog G, Neumann HH, Zimmermann R, Hurdle PA, Blanken PD, Nesic Z, Yang PC, Staebler RMM, McDonald KC, Oren R. 1997. A comparison of sap flow and eddy fluxes of water vapor from a boreal deciduous forest. *Journal of Geophysical Research* 102(D24), 28929-28937.
- Jacobsen AL, Ewers FW, Pratt RB, Paddock WA, Davis SD. 2005. Do xylem fibers affect vessel cavitation resistance? *Plant Physiology* 149, 546-556.
- Jarbeau J, Ewers F, Davis S. 1995. The mechanism of water-stress-induced embolism in two species of chaparral shrubs. *Plant, Cell and Environment* 18, 189-196.
- Johnson GR, Gartner BL. 2006. Genetic variation in basic density and modulus of elasticity of coastal Douglas-fir. *Tree Genetics and Genomes* 3, 25-33. doi:10.1007/s11295-006-0054-0.
- Jones HG, Corlett JE. 1992. Current topics in drought physiology. *Journal of Agricultural Science* 119, 291-296.
- Khalil AM, Grace J. 1992. Acclimation to drought in *Acer pseudoplatanus* L. seedlings. *Journal of Experimental Botany* 43, 1591-1602.
- Kikuzawa K. 1995. Leaf phenology as an optimal strategy for carbon gain in plants. *Canadian Journal of Botany* 73, 158-163.
- Kohler L, Speck T, Spatz HC. 2000. Micromechanics and anatomical changes during early ontogeny of two lianescent *Aristolochia* species. *Planta* 210, 691-700.
- Kozłowski TT, Pallardy SG. 2002. Acclimation and adaptive responses of woody plants to environmental stresses. *Botanical Review* 68, 270-334.
- Kramer PJ, Boyer JS. 1995. *Water Relations of Plants and Soils*. Academic Press, San Diego.

- Lawlor DW, Cornic G. 2002. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell and Environment* 25, 275-294.
- Larcher W. 1995 *Physiological Plant Ecology*. 3<sup>rd</sup> edition. Springer.
- Larcher W. 2000. Temperature stress and survival ability of Mediterranean sclerophyllous plants. *Plant Biosystem* 134, 279-295.
- Lawlor DW, Cornic G. 2002. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell and Environment* 25, 275-294.
- Lecoeur J, Wery J, Turc O, Tardieu F. 1995. Expansion of pea leaves subjected to short water-deficit: cell number and cell-size are sensitive to stress at different periods of leaf development. *Journal of Experimental Botany* 46, 1093–1101.
- Levitt J. 1980. Responses of plants to environmental stress. Academic press, New York.
- Loewenstein NJ, Pallardy SG. 1998. Drought tolerance, xylem sap abscisic acid and stomatal conductance during soil drying: a comparison of young plants of four temperate deciduous angiosperms. *Tree Physiology* 18(7), 421-430.
- Lo Gullo MA, Salleo S, Piaceri EC, Russo R. 1995. Relations between vulnerability to xylem embolism and xylem conduit dimensions in young trees of *Quercus cerris*. *Plant, Cell and Environment* 18, 661-669.
- Lopushinsky W. 1969. Stomatal closure in conifer seedlings in response to leaf moisture stress. *Botanical Gazette* 130, 258-263.
- Lu C, Zhang J. 1998. Effects of water stress on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and photoinhibition in wheat plants. *Australian Journal of Plant Physiology* 25, 883-892.
- Lu C, Zhang J. 1999. Effects of water stress on photosystem II photochemistry and its thermostability in wheat plants. *Journal of Experimental Botany* 50(336), 1199-1206. doi: 10.1093/jxb/50.336.1199
- Lu C, Lu Q, Zhang J, Zhang Q, Kuang T. 2001. Xanthophyll cycle, light energy dissipation and photosystem II down regulation in senescent leaves of wheat plants grown in the field. *Australian Journal of Plant Physiology* 28, 1023-1030.
- Maherali H, De Lucia EH, Sipe TW. 1997. Hydraulic adjustment of maple saplings to canopy gap formation. *Oecologia* 112, 472–480.

- Maherali H, Pockman WT, Jackson RB. 2004. Adaptive variation in the vulnerability of woody plants to xylem cavitation. *Ecology* 85(8), 2184-2199.
- Mantovani A. 1999. A method to improve leaf succulence quantification. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 42(1), 9-14. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-89131999000100002>
- Martínez-Vilalta J, Prat E, Oliveras I, Pinol J. 2002. Xylem hydraulic properties of roots and stems of nine Mediterranean woody species. *Oecologia* 133, 19-29.
- Martinez JP, Silva H, Ledent JF, Pinto M. 2007. Effect of drought stress on the osmotic adjustment, cell wall elasticity and cell volume of six cultivars of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *European Journal of Agronomy* 26, 30–38.
- Maseda PH, Fernández RJ. 2006. Stay wet or else: three ways in which plants can adjust hydraulically to their environment. *Journal of Experimental Botany* 57(15), 3963–3977. doi:10.1093/jxb/erl127.
- McCree KJ, Davis SD. 1974. Effect of water stress and temperature on leaf size and number of epidermal cells in grain sorghum. *Crop Science* 14, 751–755.
- McDonald AJS, Lohammer T, Ericsson A. 1986. Growth response to step decrease in nutrient availability in small birch (*Betula pendula* Roth). *Plant, Cell and Environment* 9, 427–432.
- Mediavilla S, Escudero A, Heilmeyer H. 2001. Internal leaf anatomy and photosynthetic resource-use efficiency: interspecific and intraspecific comparisons. *Tree Physiology* 21, 251–259.
- Mediavilla S, Escudero A. 2003. Stomatal response to drought at a Mediterranean site: a comparative study of co-occurring woody species differing in leaf longevity. *Tree Physiology* 23, 987–996.
- Medrano H, Parry MA, Socias X, Lawdor DW. 1997. Long term water stress inactivates Rubisco in subterranean clover. *Annals of Applied Biology* 131, 419-501.
- Medrano H, Escalona M, Bota J, Gulías J, Flexas J. 2002. Regulation of photosynthesis of C3 plants in response to progressive drought: stomatal conductance as a reference parameter. *Annals of Botany* 89, 895-905.
- Mencuccini M, Grace J. 1995. Climate influences the leaf area/sapwood area ratio in Scots pine. *Tree Physiology* 15, 1–10.

- Mencuccini M, Grace J, Fioravanti M. 1997. Biomechanical and hydraulic determinants of tree structure in Scots pine: anatomical characteristics. *Tree Physiology* 17, 105-113.
- Meyer S, de Kouchkovsky Y. 1992. ATPase state and activity in thylakoids from normal and water stressed lupin. *FEBS Letters* 303. 233-236.
- Mittler R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 9, 405-410.
- Moghaieb REA, Saneoka H, Fujita K. 2004. Effect of salinity on osmotic adjustment, glycinebetaine accumulation and betaine aldehyde dehydrogenase gene expression in two halophytic plants, *Salicornia europaea* and *Suaeda maritime*. *Plant Science* 166, 1345–1349.
- Mollá Molaes S, Villar-Salvador P, García-Fayos P, Peñuelas JL. 2003. Influencia de la localización del vivero sobre la resistencia a la helada y el desarrollo en campo del *Quercus ilex*. *Montes* 74, 23-30.
- Munns R. 1988. Why measure osmotic adjustment? *Australian Journal of Plant Physiology* 15, 717–726.
- Munns R, Tester M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 59, 651–681.
- Nahar K, Gretzmacher R. 2002. Effect of water stress on nutrient uptake, yield and quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) under subtropical conditions. Consultato il 28 ottobre 2012 in:  
<http://www.boku.ac.at/diebodenkultur/volltexte/band-53/heft-1/nahar.pdf>
- Nanni T, Brunetti M, Maugeri M. 2007. Variazioni nella frequenza e nell'intensità delle precipitazioni giornaliere in Italia negli ultimi 120 anni. In: Carli B, Cavarretta G, Colacino M, Fuzzi S (Eds). *Clima e cambiamenti climatici: le attività di ricerca del CNR*. Consiglio Nazionale delle Ricerche, Roma. ISBN 9788880800750.
- Nawaz F, Ahmad R, Waraich EA, Naeem MS, Shabbir RN. 2012. Nutrient uptake, physiological responses and yields attributes of wheat (*Triticum aestivum* L.) exposed to early and late drought stress. *Journal of Plant Nutrition* 35, 961-974.
- Ni BR, Pallardy SG. 1991. Response of gas-exchange to water stress in seedling of woody angiosperms. *Tree physiology* 8(1), 1-9.

- Ogasa M, Miki N, Yoshikawa K. 2010. Changes of hydraulic conductivity during dehydration and rehydration in *Quercus serrata* Thunb. and *Betula platyphylla* var. japonica Hara: the effect of xylem structures. *Tree Physiology* 30, 608–617.
- Ohira S, Morita N, Suh HJ, Jung J, Yamamoto Y. 2004. Quality control of Photosystem II under light stress – turnover of aggregates of the D1 protein in vivo. *Photosynthesis Research* 84, 29-33.
- Oukarroum A, El Madidi, S, Schanskser G, Strasser RJ. 2007. Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll a fluorescence OLKJIP under drought stress and re-watering. *Environmental Experimental Botany* 60, 438-446.
- Oukarroum A, Schanskser G, Strasser RJ. 2009. Drought stress effects on photosystem I content and photosystem II thermotolerance analyzed using Chl a fluorescence kinetics in barley varieties differing in their drought tolerance. *Physiologia Plantarum* 137(2), 188–199.
- Pallardy SG, Kozlowsky TT. 1980. Cuticle development in the stomatal region of *Populus* clones. *New Phytologist* 85(3), 363-368.
- Pallardy SG. 1981. Closely related woody plants. In: Kozlowski TT (Ed). *Water deficits and plant growth, VI*. Academic Press, Inc. New York, pp. 511–548.
- Pallardy SG. 2008. *Physiology of Woody Plants*. Academic Press, pp. 454.
- Palta JA, Gregory PJ. 1997. Drought affects the fluxes of carbon to roots and soil in <sup>13</sup>C pulse-labelled plants of wheat. *Soil Biology and Biochemistry* 29, 1395–1403.
- Paoletti E, Miglietta F, Raschi A, Manes F, Grossoni P. 1997 Stomatal numbers in holm oak (*Quercus ilex* L.) leaves grown in naturally and artificially CO<sub>2</sub> enriched environments. In: Raschi A, Miglietta F, Tognetti R, van Gardingen PR (Eds.). *Plant responses to elevated CO<sub>2</sub>. Evidence from Natural Springs*. Cambridge University Press. pp.197-208.
- Parry MAJ, Androlojc PJ, Khan S, Lea PJ, Keys AL. 2002. Rubisco activity: effects of drought stress. *Annals of Botany* 89, 833-839.
- Pfeiffer TŽ, Štolfa I, Hoško M, Žanić M, Pavičić N, Cesar V, Lepeduš H. 2012. Comparative study of leaf anatomy and certain biochemical traits in two olive cultivars. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 75(2), 91-97.
- Pfündel E. 1998. Estimating the contribution of Photosystem I to total leaf chlorophyll fluorescence. *Photosynthesis Research* 56, 185-195.

- Pitterman J, Sperry JS, Wheeler JK, Hacke UG, Sikkema EH. 2006. Mechanical reinforcement of tracheids compromises the hydraulic efficiency of conifer xylem. *Plant, Cell and Environment* 29, 1618-1628.
- Pockman WT, Sperry JS. 2000. Vulnerability to cavitation and the distribution of Sonoran desert vegetation. *American Journal of Botany* 87, 1287-1299.
- Poorter H, Niinemets Ü, Poorter L, Wright IJ, Villar R. 2009. Causes and consequences of variation in leaf mass per area (LMA): a meta-analysis. *New Phytologist* 182, 565–588. doi: 10.1111/j.1469-8137.2009.02830.x
- Pratt RB, Jacobsen AL, Ewers FW, Davis SD. 2007. Relationships among xylem transport, biomechanics and storage in stems and roots of nine Rhamnaceae species of the California chaparral. *New Phytologist* 174, 787-798.
- Preston KA, Cornwell WK, DeNoyer JL. 2006. Wood density and vessel traits as distinct correlates of ecological strategy in 51 California coast range angiosperms. *New Phytologist* doi: 10.1111/j.1469-8137.2006.01712.x
- Raven PH, Evert RF, Eichhorn, SE. 1999. *Biology of Plants*. 6<sup>th</sup> ed. W.H. Freeman and Company, New York.
- Ros Barceló A. 1997. Lignification in plant cell walls. *International Review of Cytology* 176, 87-132.
- Ruban AV, Horton P. 1995. Regulation on non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in plants. *Australian Journal of Plant Physiology* 22, 221–230.
- Rubio G, Vilagrosa A, Cortina J, Bellot J. 2001. Modificaciones morfofisiológica en plantones de *Pistacia lentiscus* y *Quercus rotundifolia* como consecuencia del endurecimiento hídrico en vivero. Efectos sobre supervivencia y crecimiento en campo. Granada. *Actas del III Congreso Forestal Español* 3, 527-532.
- Rufty TW, Huber SC, Volk RJ. 1988. Alterations in leaf carbohydrate metabolism in response to nitrogen stress. *Plant Physiology* 88, 725–730.
- Sanchez-Rodriguez E, del Mar Rubio-Wilhelmi M, Miguel Cervilla L, Blasco B, Jose Rios J, Leyva R, Romero L, Ruiz JM. 2010. Study of the ionome and uptake fluxes in cherry tomato plants under moderate water stress conditions. *Plant and soil* 35(1-2), 339-347.

- Savé R, Peñuelas J, Marfá O, Serrano L. 1993. Changes in leaf osmotic and elastic properties and canopy structure of strawberries under mild water stress. *Horticultural Science* 28, 925–927.
- Savé R, Castell C, Terradas J. 1999. Gas exchange and water relations. In: Roda F, Retana J, Gracia CA, Bellot J (Eds.). *Ecology of Mediterranean Evergreen Oak Forests*. Springer-Verlag, Berlin. pp. 135–147.
- Scarascia-Mugnozza G, De Angelis P, Matteucci G, Valentini R. 1996. Long-term exposure to elevated [CO<sub>2</sub>] in natural *Quercus ilex* L. community: net photosynthesis and photochemical efficiency of PSII at different levels of water stress. *Plant, Cell and Environment* 19, 643–654.
- Schansker G, Tóth SZ, Strasser RJ. 2005. Methylviologen and dibromothymouinone treatments of pea leaves reveal the role of photosystem I in the Chl a fluorescence rise OJIP. *Biochimica et Biophysica Acta* 1706, 250–261.
- Sharkey TD, Seemann JR. 1989. Mild water stress effects on carbon-reduction cycle intermediates, ribulose biphosphate carboxylase activity, and spatial homogeneity of photosynthesis in intact leaves. *Plant Physiology* 89, 1060–1065.
- Schniewind AP, Gammon B. 1986. Strength and related properties of bishop pine. II. Properties of juvenile wood from young stems of various provenances. *Wood and Fiber Science* 18, 361–368.
- Schreiber U, Bilger W, Neubauer C. 1994. Chlorophyll fluorescence as a nonintrusive indicator for rapid assessment of *in vivo* photosynthesis. In: Schulze ED, Caldwell MM (Eds.). *Ecophysiology of Photosynthesis*. Springer, Berlin. pp. 49–70.
- Singh B, Singh G. 2006. Effects of controlled irrigation on water potential, nitrogen uptake and biomass production in *Dalbergia sissoo* seedlings. *Environmental and Experimental Botany* 55(1-2), 209–219.
- Smith VC, Ennos AR. 2003. The effects of air flow and stem flexure on the mechanical and hydraulic properties of the stems of sunflowers *Helianthus annuus* L. *Journal of Experimental Botany* 54(383), 845–849.
- Socias FX, Correia MJ, Medrano H. 1997. The role of abscissic acid and water relations in drought responses of subterranean clover. *Journal of Experimental Botany* 48, 1281–1288.

- Sofa A, Dichio B, Xiloyannis C, Masia A. 2004. Lipoxygenase activity and proline accumulation in leaves and roots of olive tree in response to drought stress. *Physiologia Plantarum* 121(1), 58-65.
- Sofa A, Dichio B, Tataranni G, Xiloyannis C. 2010. Risposte fisiologiche e biochimiche alla coltivazione in carenza idrica. *Frutticoltura* 6, 64-69.
- Sperry JS, Tyree MT. 1988. Mechanism of water stress-induced xylem embolism. *Plant Physiology* 88, 581-587.
- Sperry JS, Sullivan JE. 1992. Xylem embolism in response to freeze-thaw cycles and water stress in ring porous, diffuse porous and conifer species. *Plant Physiology* 100, 605-613.
- Sperry JS, Nichols KL, Sullivan JE, Eastlack SE. 1994. Xylem embolism in ring-porous, diffuse-porous and coniferous trees in northern Utah and interior Alaska. *Ecology* 75, 1736-1752.
- Sperry JS. 2003. Evolution of water transport and xylem structure. *International Journal of Plant Science* 164, S115-S127.
- Sperry JS, Hacke UG, Wheeler JW. 2005. Comparative analysis of end wall resistance in xylem conduits. *Plant, Cell and Environment* 28, 456-465.
- Srivastava A, Guissé B, Greppin H, Strasser RJ. 1997. Regulation of antenna structure and electron transport in Photosystem II of *Pisum sativum* under elevated temperature probed by the fast polyphasic chlorophyll *a* fluorescence transient: OKJIP. *Biochimica et Biophysica Acta* 1320, 95-106.
- Stedle E, 1994. Water transport across roots. *Plant Soil* 167, 79-90.
- Strasser RJ. 1978. The grouping model of plant photosynthesis. In: Akayunoglou G, Argyroudi-Akoyunoglou J (Eds.) *Chloroplast Development*. Amsterdam, the Netherland. pp. 513-524.
- Strasser RJ. 1981. The grouping model of plant photosynthesis: heterogeneity of photosynthetic units in thylakoids. In: Akoyunoglou G (Ed.) *Photosynthesis III. Structure and Molecular Organisation of the Photosynthetic Apparatus*. Balaban International Science Services, Philadelphia, Pa. pp 727-737.
- Strasser RJ, Tsimilli-Michael M, Srivastava A. 2004. Analysis of the chlorophyll fluorescence transient. In: Papageorgiou GC, Govindjee (Eds.) *Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis*. Springer, Dordrecht. pp. 321-362.

- Stroch M, Kuldova K, Kalina J, Sounda V. 2008. Dynamics of the xanthophylls cycle and non-radiative. *Journal of Plant Physiology* 165, 612-622.
- Struve DK, Ferrini F, Fini A, Pennati L. 2009. Relative Growth and Water Use of Seedlings from three Italian *Quercus* Species. *Arboriculture and Urban Forestry* 35(3), 113-121.
- Taiz L, Zeiger E. 2002. Water and Plant cells. In: Taiz L, Zeiger E.(Eds.) *Plant Physiology*. 3<sup>rd</sup> ed. Sinauer Associates, Inc.. pp. 33-46.
- Tanguilig VC, Yambao EB, O' Toole JC, De Satta SK. 1987. Water stress effects on leaf elongation, leaf water potential transpiration and nutrient uptake of rice, maize and soybean. *Plant Soil* 193, 193-203.
- Tenhunen JD, Lange OL, Gebel J, Beyschlag W, Weber JA. 1984. Changes in photosynthetic capacity, carboxylation efficiency and CO<sub>2</sub> compensation point associated with midday depression of net CO<sub>2</sub> exchange in leaves of *Quercus suber*. *Planta* 193, 193-203.
- Tezara W, Mitchell VJ, Driscoll SD, Lawlor DW. 1999. Water stress inhibits plant photosynthesis by decreasing coupling factor and ATP. *Letters to Nature, Nature* 401, 914-917
- Tezara W, Marín O, Rengifo E, Martínez D, Herrera A. 2005. Photosynthesis and photoinhibition in two xerophytic shrubs during drought. *Photosynthetica* 43, 37-45.
- Tinus R. 1996. Root growth potential as an indicator of drought stress history. *Tree Physiology* 16, 795-799.
- Tognetti R, Longobucco A, Raschi A. 1998. Vulnerability of xylem to embolism in relation to plant hydraulic resistance in *Quercus pubescens* and *Quercus ilex* co-occurring in a Mediterranean coppice stand in central Italy. *New Phytologist* 139, 437-447.
- Tognetti R, d'Andria R, Sacchi R, Lavini A, Morelli G, Alvino A. 2007. Deficit irrigation affects seasonal changes in leaf physiology and oil quality of *Olea europaea* (cultivars Frantoio and Leccino). *Annual of Applied Biology* 150(2), 169-189.
- Tognetti R, Giovannelli A, Lavini A, Morelli G., Fragnito F, d'Andria R. 2009. Assessing environmental controls over conductances through the soil-plant-

- atmosphere continuum in an experimental olive tree plantation of southern Italy. *Agricultural and Forest Meteorology* 149, 1229–1243.
- Touchette BW, Iannacone LR, Turner GE, Frank AR. 2007. Drought tolerance versus drought avoidance: a comparison of plant–water relations in herbaceous wetland plants subjected to water withdrawal and repletion. *Wetlands* 27, 656–667.
- Tyree MT, Sperry JS. 1989. Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. *Annual Review of Plant Physiology* 40, 19–38.
- Tyree MT, Ewers FW. 1991. The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *New Phytologist* 119, 345–360.
- Tyree MT, Davis SD, Cochard H. 1994. Biophysical perspectives of xylem evolution: is there a tradeoff of hydraulic efficiency for vulnerability to dysfunction? *IAWA Journal* 15, 335–360.
- van Arendonk JJCM, Poorter H. 1994. The chemical composition and anatomical structure of leaves of grass species differing in relative growth rate. *Plant, Cell and Environment* 17, 963–970.
- Van den Driessche R. 1991a. Influence of container nursery regimens on drought resistance of seedlings following planting. I. Survival and growth. *Canadian Journal Forest Research* 21, 555–565.
- Van den Driessche, R., 1991b. Influence of container nursery regimens on drought resistance of seedlings following planting. II. Stomatal conductance, specific leaf area and root growth capacity. *Canadian Journal Forest Research* 21, 566–572.
- Vilagrosa A, Villar-Salvador P, Puértolas J. 2006. El endurecimiento en vivero de especies forestales mediterráneas. In: Cortina J (Ed). *Calidad de planta forestal para la restauración en ambientes mediterráneos. Estado actual de conocimiento*. Ministerio de Medio Ambiente, Serie forestal, Madrid. pp. 119–140.
- Villar-Salvador P, Ocaña L, Peñuelas J, Carrasco I. 1999. Effect of water stress conditioning on the water relations, root growth capacity, and the nitrogen and non-structural carbohydrate concentration of *Pinus halepensis* Mill. (Aleppo pine) seedlings. *Annals of Forest Science* 56, 459–465.
- Villar-Salvador P, Planelles R, Oliet J, Peñuelas-Rubira JL, Jacobs DF, González M. 2004. Drought tolerance and transplanting performance of holm oak (*Quercus ilex*) seedlings after drought hardening in the nursery. *Tree Physiology* 24, 1147–1155.

- Wagner KR, Ewers FW, Davis SD. 1998. Tradeoffs between hydraulic efficiency and mechanical strength in the stems of four co-occurring species of chaparral shrubs. *Oecologia* 117, 53-62.
- Walker JCF. 2006. *Primary wood processing. Principles and practice*. 2<sup>nd</sup> ed. Springer, Dordrecht.
- Weng JH, Lai MF. 2005. Estimating heat tolerance among plant species by two chlorophyll fluorescence parameters. *Photosynthetica* 43, 439-444.
- Woodrum CL, Ewers FW, Telewski FW. 2003. Hydraulic, biomechanical and anatomical interactions of xylem from five species of *Acer* (Aceraceae). *American Journal of Botany* 90, 693-699.
- Woodward FI. 1987. Stomatal numbers are sensitive to increases in CO<sub>2</sub> from pre-industrial levels. *Nature* 327, 617-618.
- Wylie RB. 1951. Principles of foliar organization shown by sunshade leaves from ten species of deciduous dicotyledonous trees. *American Journal of Botany* 38, 355-361.
- Xu Z, Zhou G. 2008. Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass. *Journal of Experimental Botany* 59(12), 3317-3325.
- Yamane Y, Shikanai T, Kashino Y, Koike H, Satoh K. 2000. Reduction of Q<sub>A</sub> in the dark: Another cause of fluorescence F<sub>0</sub> increases by high temperature in higher plants. *Photosynthesis Research* 63, 23-34.
- Zanin G, Sattin M, Berti A. 1993. *Zea mays* L. – *Abutilon theophrasti* Medicus: valutazione di alcuni aspetti della fisiologia della competizione. *Rivista di Agronomia* 27, 350-359.
- Zhao S, Chen W, Ma D, Zhao F 2006. Influence of different salt level on stomatal character in rice leaves. *Reclaiming and Rice Cultivation* 6, 26-29.
- Zimmermann MH. 1983. Xylem structure and the ascent of sap. Springer-Verlag. Berlin.
- Zlatev Z.S. 2005. Effects of water stress on leaf water relations of young bean plants. *Journal of Central European Agriculture* 6, 5-14

**Siti web consultati**

[http://www.regione.toscana.it/regione/multimedia/RT/documents/2010/01/29/a57b7b1817f159b315bbdbcd9d327db1\\_allegatodelibera45pt.pdf](http://www.regione.toscana.it/regione/multimedia/RT/documents/2010/01/29/a57b7b1817f159b315bbdbcd9d327db1_allegatodelibera45pt.pdf) Analisi settoriale. Consultato in data 3 Settembre 2012.

<http://www.lamma.rete.toscana.it/news/estate-2012-la-seconda-pi%C3%B9-calda-dal-1800>. Consultato in data: 29 Settembre 2012

[http://www.ilverdeeditoriale.com/atti/Atti\\_convegno\\_acqua\\_e\\_paesaggi/](http://www.ilverdeeditoriale.com/atti/Atti_convegno_acqua_e_paesaggi/)

<http://www.cespevi.it/>

[http://www.cremona.polimi.it/msa/get\\_img.php?id\\_appdisp=159](http://www.cremona.polimi.it/msa/get_img.php?id_appdisp=159) Dispensa: *BILANCI AGROIDROLOGICI. LEZIONE 3 - 5 MARZO 2004*. Luigi Mariani. Consultato in data: 29 Settembre 2012