

Variazioni eco-fisiologiche in tre cedui mediterranei disposti lungo un gradiente altimetrico

Di Matteo G* ⁽¹⁻²⁾, De Angelis P ⁽¹⁾, Scarascia Mugnozza G ⁽¹⁾

(1) DISAFRI, Università degli Studi della Tuscia, v. San Camillo de Lellis s.n.c., I-01100 Viterbo (Italy); (2) CRA-ISPIO, Istituto di Sperimentazione per la Pioppicoltura, v. Valle della Quistione 27, I-00100 Roma (Italy) - *Corresponding author: Giovanni Di Matteo (gdimat@unitus.it).

Abstract: *Eco-physiological variations in three Mediterranean coppices along an altitudinal gradient.* Water uptake ability and water-use efficiency (WUE) were indirectly measured utilizing hydrogen and carbon stable isotopes on Mediterranean coppices along an altitudinal gradient. Climate data showed a lower spring rainfall regime and a summer water stress to the bottom areas of gradient respects to those placed in the higher areas, with ecophysiological changes on specific leaf area and on carbon isotope discrimination. In the lower areas of altitudinal gradient we suggest that a stagger of carbohydrates during the leaf span reflects higher water-use efficiency values of trees. In this study, the opposition of isotopic trends with elevation suggests cautions in the comparisons of $\delta^{13}\text{C}$ values along altitudinal gradients.

Keywords: Stable Isotopes, Water-use efficiency, Forest Ecology, Altitudinal gradients, Silvicultural typologies, Mediterranean coppices.

Received: May 03, 2007 - Accepted: Jul 16, 2007.

Citation: Di Matteo G, De Angelis P, Scarascia Mugnozza G, 2007. Variazioni eco-fisiologiche in tre cedui mediterranei disposti lungo un gradiente altimetrico. *Forest@* 4 (3): 310-323. [online] URL: <http://www.sisef.it/>.

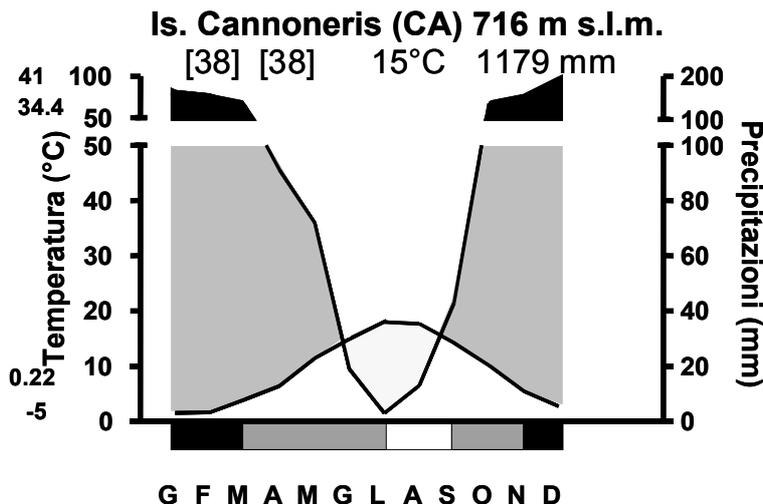
Introduzione

L'attività vegetativa delle piante lungo gradienti ambientali offre una via per valutare le potenziali risposte delle piante ai cambiamenti ambientali (Sparks & Ehleringer 1997, Gale 2004).

Variazioni della composizione isotopica del carbonio ($\delta^{13}\text{C}$) lungo gradienti altimetrici sono state ampiamente osservate da molti autori su un ampio numero di ecosistemi forestali (Körner et al. 1988, 1989, 1991, Vitousek et al. 1990, Marshall & Zhang 1994, Sparks & Ehleringer 1997, Hultine & Marshall 2000, Kogami et al. 2001, Sah & Brume 2003, De Lillis et al. 2004, Shi et al. 2006). Molti studi hanno anche riportato delle correlazioni tra il $\delta^{13}\text{C}$ e vari fattori abiotici lungo gradienti altimetrici come l'umidità del suolo (Beerling et al. 1996, Sun et al. 1996), la temperatura dell'aria (Panek & Waring 1995), la concentrazione della CO_2 atmosferica (Ehleringer & Cerling 1995, Gale 1972) e la pressione barometrica (Marshall & Zhang 1994). La distribuzione della composizione isotopica del carbonio lungo gradienti altimetrici è stata anche correlata con le caratteristiche morfome-

triche e fisiologiche che variano con l'altitudine, come l'ispessimento fogliare (Vitousek et al. 1990, Cordell et al. 1998, Kogami et al. 2001) il contenuto fogliare di azoto (Evans 1989, Friend et al. 1989, Morecroft & Woodward 1996, Cordell et al. 1999, Kogami et al. 2001, Hikosaka et al. 2002, Shi et al. 2006) e la densità stomatica (numero di stomi per area fogliare - Körner et al. 1988, Hultine & Marshall 2000). Complessivamente, molte ricerche condotte per misurare la variazione del $\delta^{13}\text{C}$ fogliare lungo gradienti altimetrici hanno osservato un arricchimento del $\delta^{13}\text{C}$ con l'altitudine ($\delta^{13}\text{C}$ meno negativo). Tra queste, numerose ipotesi sono state proposte per spiegare tali variazioni; ad esempio alcuni studi hanno osservato che elevate concentrazioni di azoto fogliare presenti su piante di alta quota mostravano un incremento dell'efficienza carbossilativa e un basso rapporto tra pressioni parziali intercellulari e atmosferiche (p_i/p_a - Field & Mooney 1986, Evans 1989, Morecroft et al. 1992). Ulteriori interpretazioni includono le differenze della composizione atmosferica (pressioni parziali della CO_2 e dell' O_2) osservate con l'au-

Fig. 1 - Diagramma Walter & Lieth della stazione Is Cannoneris. *Legenda parte alta del grafico:* [38] = anni di osservazione; 15 °C = temperatura media annua; 1179 = precipitazione media annua. *Legenda parte sinistra del grafico:* 41 °C = temperatura massima assoluta; 34.4 °C = media delle temperature massime del mese più caldo; 0.22 °C = media delle temperature minime del mese più freddo; -5 °C = temperatura minima assoluta. *Legenda parte bassa del grafico:* rettangoli neri = mesi nei quali la media delle temperature minime è minore di 0 °C (gelate sicure); rettangoli a righe = mesi nei quali le temperature minime assolute sono minori di 0 °C (gelate occasionali o probabili). Notare che la scala delle precipitazioni è il doppio della temperatura.



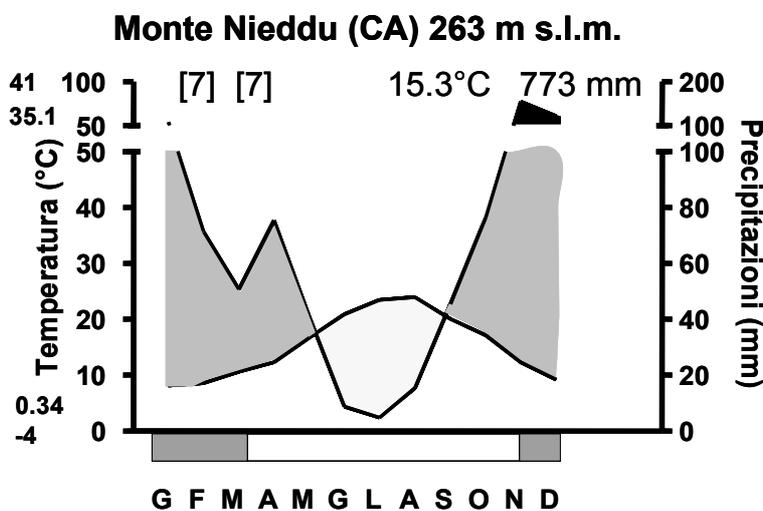
mento della quota altimetrica che può alterare la diffusione della CO₂ verso i siti di carbossilazione a causa della resistenza stomatica e del mesofillo (Woodward 1986, Körner et al. 1991, Terashima et al. 1995, Kogami et al. 2001, Sakata & Yokoi 2002).

Sebbene sia possibile trovare in letteratura molte pubblicazioni che studiano queste relazioni, è altrettanto vero che scarse sono le informazioni relative ad ecosistemi forestali tipici dell'ambiente Mediterraneo, quali i boschi cedui. Di fatto, gli ecosistemi forestali di ambiente mediterraneo sono esposti alle alee di un'impredicibilità climatica generalmente caratterizzata da estati siccitose e calde che costituiscono un possente fattore di pressione selettiva verso biocenosi vegetali adattate alle condizioni di stress e capaci di sfruttare le diverse risorse idriche ambientali per garantirsi la capacità riproduttiva ed evolutiva

(Nevo 1995 in Macuz et al. 2006).

L'obiettivo del lavoro è di analizzare la risposta funzionale di singole specie, appartenenti a diverse tipologie selvicolturali, poste lungo tre differenti livelli altimetrici caratterizzati da una differente disponibilità idrica nel corso dell'estate 2003. In particolare, si valuterà l'andamento degli isotopi del δ¹³C fogliare e del δD dell'idrogeno dell'acqua di falda e dell'acqua xilematica, in relazione alle caratteristiche morfologiche e funzionali e si confronteranno i risultati con l'attuale letteratura scientifica. L'utilizzo delle tecniche isotopiche ha avuto particolare risalto nell'indagine sperimentale, poiché capaci di fornire importanti informazioni sulle risposte fisiologiche degli alberi e dei popolamenti forestali alla variazione dei fattori ambientali. Infatti, in campo ecologico è assodato che la composizione isotopica del carbo-

Fig. 2 - Diagramma Walter & Lieth della stazione Monte Nieddu. *Legenda parte alta del grafico:* [7] = anni di osservazione; 15.3 °C = temperatura media annua; 773 = precipitazione media annua. *Legenda parte sinistra del grafico:* 41 °C = temperatura massima assoluta; 35.1 °C = media delle temperature massime del mese più caldo; 0.34 °C = media delle temperatura minime del mese più freddo; -4 °C = temperatura minima assoluta. *Legenda parte bassa del grafico:* rettangoli a righe = mesi nei quali le temperature minime assolute sono minori di 0 °C (gelate occasionali e probabili). Notare che la scala delle precipitazioni è il doppio di quella delle temperature.



nio dei tessuti fogliari costituisca un indice di lungo periodo dell'efficienza di uso dell'acqua (WUE) poiché riflette il bilancio tra il tasso di consumo interno di CO₂ dovuto all'attività fotosintetica e l'ingresso di CO₂ mediato dal grado di apertura stomatica (Farquhar et al. 1989). Il frazionamento isotopico del carbonio durante la fotosintesi è descritto dall'equazione (eqn. 1):

$$\Delta = \left[a(p_a - p_i) / p_a + c(p_i - p_c) / p_a + b(p_c / p_a) \right]$$

dove i termini p_i , p_c , p_a si riferiscono rispettivamente alle pressioni parziali della CO₂ presente all'interno degli spazi intercellulari della foglia, nei cloroplasti e nell'atmosfera. Le costanti a (4.4‰), c (1.8‰) e b (29.0‰) sono rispettivamente le discriminazioni del ¹³CO₂ durante la fase gassosa, liquida e per opera della *Rubisco*.

Allo stesso modo, l'impiego delle tecniche di analisi dell'idrogeno (δD o $\delta^2 H$) della linfa grezza, delle precipitazioni e dell'acqua di falda sono particolarmente utili per determinare l'utilizzazione specifica delle risorse idriche (White et al. 1985, Sternberg & Swart 1987, Dawson & Ehleringer 1991, Flanagan et al. 1992, Valentini et al. 1992, Dawson et al. 2002). Infatti, è stato ampiamente dimostrato che durante il trasporto xilematico dalle radici alle foglie non avvengono fenomeni di discriminazione isotopica (Allison et al. 1984, White et al. 1985, Dawson & Ehleringer 1991) fino a quando non avviene perdita di acqua per mezzo dei processi evaporativi. La composizione isotopica dell'idrogeno dell'acqua xilematica, estratta da porzioni di rametti, riflette esattamente la composizione dell'acqua che la pianta trasloca dal terreno al momento del campionamento. Per tale motivo lo studio relativo alla captazione e all'accesso delle risorse idriche è stato esteso su un'ampia serie di ecosistemi forestali su differenti scale temporali e spaziali (Ehleringer & Dawson 1992, Valentini et al. 1992, Dawson et al. 1998, Ehleringer et al. 2000, Walker et al. 2001, Maczuz et al 2006).

Materiali e Metodi

Aree sperimentali e descrizione dei siti

Durante l'estate del 2003 sono state individuate lungo un gradiente altimetrico, tre aree sperimentali situate a diverse quote altimetriche (rispettivamente, 850, 660 e 280 m s.l.m.). In queste aree sono in corso già da diversi anni studi sulla dinamica dei soprassuoli a seguito di interventi selvicolturali per la conversione del ceduo ad alto fusto condotti secondo di-

rettive aziendali (Azienda Foreste Demaniali della Regione Sardegna) e sperimentali (Istituto Sperimentale per la Selvicoltura di Arezzo, CRA-ISSA - Amorini et al. 1996a, Amorini et al. 1996b, Atzori 2005, Di Matteo et al. 2005b).

Le tre aree sperimentali sono localizzate nella foresta di Pula (CA) situata nella Sardegna sud-occidentale nel complesso montuoso meridionale della regione del Sulcis. Tale foresta, estesa per 9500 ettari, è in gran parte caratterizzata da popolamenti cedui di leccio (*Quercus ilex* L.) interessati recentemente da ripetuti interventi di conversione ad alto fusto. Associate al leccio si trovano altre specie caratteristiche della vegetazione mediterranea, quali: *Quercus suber* L., *Arbutus unedo* L., *Phillyrea latifolia* L. e *Juniperus communis* L., che vanno a realizzare soprassuoli densi, monoplani ed a copertura completa. L'intero complesso montuoso presenta un'altitudine media di 900 m. s.l.m., un'esposizione prevalentemente ad est e una pendenza del suolo del 15 - 20%. Il substrato geologico è quasi interamente formato da rocce granitiche a struttura porfirica (Paleozoico). I suoli sono ascrivibili agli *Eutric Cambisol* o alle terre brune mediterranee delle foreste xerofile e mesofile.

Le prime due aree di studio, situate ad altitudini di 850 e di 660 m s.l.m., sono fisionomie forestali della foresta di Is Cannoneris (39°03' N, 8°50' E) originate da una ceduzione eseguita nei primi anni sessanta e con un'età compresa tra i 40 e i 45 anni. Le matricine di leccio rilasciate durante la ceduzione hanno mostrato un'età non inferiore ai 70 anni (2T).

L'analisi strutturale dei tre popolamenti del gradiente altimetrico condotta da Atzori (2005) insieme alle indagini termo-pluviometriche, eseguite da Di Matteo (2005a) hanno mostrato come le aree situate nella parte alta del gradiente (rispettivamente, 850 e 660 metri di altitudine) fossero caratterizzate da una buona produttività in relazione a una minore limitazione idrica stagionale. Infatti, la densità delle ceppaie è stata pari a 7560 ceppaie ha⁻¹, di cui circa il 42% non più vitali. La biomassa epigea viva presente era pari a 161 Mg ha⁻¹. Il diametro medio dei polloni vivi è stato pari a 7.1 cm, quello dei morti di 2.5 cm. L'area basimetrica della popolazione viva era circa pari a 44.09 m² ha⁻¹, costituita per circa 1/3 da leccio e per la quota restante da corbezzolo.

Il clima è caratterizzato da temperatura media annua di 15 °C, del mese più freddo di 9.0 °C e del mese più caldo di 21 °C. Il regime pluviometrico è influenzato dalla vicinanza del mare ed è caratterizzato da un massimo autunnale e uno primaverile. L'esame del diagramma termopluviometrico (Fig. 1)

rende immediatamente visibile la presenza di un vero periodo di aridità estiva (da giugno a settembre) con una precipitazione totale annua di 1179 mm, distribuito in 89 giorni piovosi. Il clima secondo Thornthwaite (1948) in Amorini et al. 1996a è di tipo subumido, con forte deficienza idrica estiva.

Il terzo livello di indagine, la foresta di Monte Nieddu (39°05' N, 8°53' E) situata ad un'altitudine di 280 m. s.l.m., è costituito prevalentemente da cedui invecchiati composti di *Q. ilex*, *A. unedo* e *Q. suber* che realizza soprassuoli densi ed a copertura completa poiché tutte le specie citate partecipano all'edificazione dello strato arboreo dominante. Il soprassuolo attuale, è stato originato dall'ultimo taglio del ceduo che corrisponde al periodo in cui la foresta è stata acquisita dalla Regione Sardegna (1984), e ha quindi un'età compresa tra i 22 e i 25 anni. La pregressa gestione selvicolturale caratterizzata dall'assenza di un piano colturale, ha favorito la conservazione di alcune matricine di sughera oggi di grandi dimensioni (diametro massimo anche superiore a 45 cm) che si trovano ad occupare il piano dominante insieme ai polloni di leccio.

In questa area, la forte limitazione idrica primaverile ed estiva si riflette in una minore produttività rispetto ai siti presenti nella parte alta del gradiente altimetrico. Infatti, nonostante sia stata rilevata una densità di ceppaie superiore (8286 ceppaie ha⁻¹ di cui 8.8% non più vitali) probabilmente a causa della giovane età del popolamento, la biomassa epigea viva della popolazione è risultata pari a 81.6 Mg ha⁻¹ e pertanto inferiore rispetto a quella osservata nei siti presenti nella parte alta del gradiente. Sono risultati inferiori anche i valori relativi al diametro medio dei polloni vivi (3.8 cm), dei morti (1.7 cm) e di area basimetrica della popolazione viva (27.1 m² ha⁻¹), che risultava costituita per 2/3 dal leccio e per la restante quota dal corbezzolo, erica, fillirea e sughera. La composizione specifica mostra la prevalenza del leccio rispetto al corbezzolo, erica e fillirea, sia in termini di ceppaie sia di polloni portati.

Il clima risulta caratterizzato da una temperatura media annua di 15.3 °C, del mese più freddo di 8.2 °C e del mese più caldo di 24.0 °C. L'esame del diagramma termopluviometrico (Fig. 2) rende immediatamente visibile la presenza di un periodo di aridità estiva che inizia nel mese di maggio e termina nel mese di settembre. La precipitazione annua è di 773 mm e pertanto notevolmente inferiore a quella osservata nei siti presenti nella parte alta del gradiente. Il regime delle piogge è caratterizzato da un periodo di aridità estiva che culmina con il mese di luglio (4.8

mm) e da un picco autunnale (353 mm), pari al 45.6% della precipitazione media annuale. L'inverno si presenta ancora relativamente umido, con 230 mm di pioggia (29.7%), mentre la primavera risulta caratterizzata da un minore apporto idrico in cui cadono mediamente 125.2 mm (16.2%) che diviene ridottissimo in estate 65.6 mm (8,5%). I giorni di pioggia nell'anno sono in media 82, con un minimo in luglio coincidente con quello delle precipitazioni, ed un massimo in novembre, e dicembre-gennaio, dove avviene la coincidenza con il massimo delle precipitazioni. Il numero dei giorni piovosi si ripartisce nelle quattro stagioni come segue: autunno 33, inverno 25, primavera 14 ed estate 10.

Procedure di campionamento

Per ciascuna area di studio sono stati selezionati cinque alberi campione in relazione alle specie e alle tipologie selvicolturali presenti lungo il gradiente altimetrico. Le specie selezionate sono state il leccio (*Quercus ilex* L.), il corbezzolo (*Arbutus unedo* L.) e la sughera (*Quercus suber* L.) quest'ultima presente solo nel sito di bassa altitudine mentre le tipologie selvicolturali identificate sono state *Q. ilex*/matricine, *Q. suber*/matricine, *Q. ilex*/polloni e *A. unedo*/polloni. Nelle formazioni forestali studiate, su ogni singolo albero sono state raccolte 5 foglie mature, ben espanse ed esposte alla luce lungo il piano esterno della parte superiore della chioma degli alberi e formate durante la precedente stagione vegetativa. Per determinare il rapporto isotopico dell'idrogeno sono stati inoltre raccolti alcuni campioni di acqua di falda da pozzi situati in prossimità delle aree sperimentali e di acqua xilematica estratta da porzioni di rametti lignificati e distanti dall'inserzione fogliare delle piante. Tuttavia, non è stato possibile procedere alla raccolta di un sufficiente numero di campioni di acqua di pioggia, pertanto sono stati utilizzati i dati di composizione isotopica dell'idrogeno dell'acqua di pioggia estiva della stazione meteorologica dell'Agenzia Internazionale Atomica Europea (IAEA) di Genova-Sestri (44° 25' N, 8°51' E, situata ad un'altitudine di 2 m. s.l.m.) lungo un periodo temporale di circa 20 anni con un valore medio di -21.5 ± 1.4 ‰. Valori statisticamente non diversi sono stati osservati anche sui dati della stazione meteorologica dell'IAEA di Pisa (43° 43'N, 10° 24'E) su un arco temporale di 8 anni (-23.7 ± 3.8 ‰). Pertanto, il segnale isotopico dell'acqua di pioggia estiva osservato nelle due stazioni dell'IAEA pur non rispecchiando il valore isotopico delle tre aree del gradiente altimetrico, poiché non tiene conto dell'effetto elevazione sulle

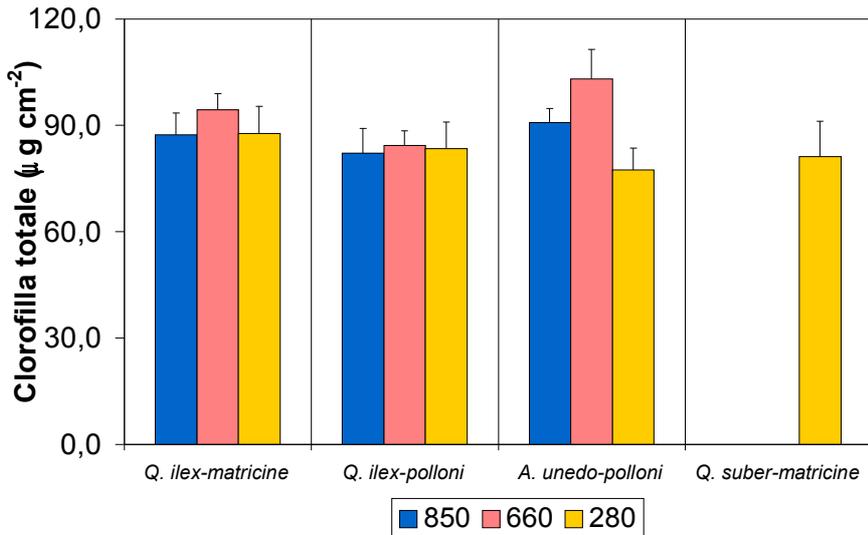


Fig. 3 - Confronto tra il contenuto medio di clorofilla totale delle tipologie selvicolturali presenti lungo le tre aree del gradiente altimetrico. Le barre indicano l'errore standard della media (n=5, per tipologia selvicolturale).

precipitazioni, è stato riportato come semplice riferimento per la comparazione con i valori di acqua di falda e xilematica.

Determinazione della concentrazione di clorofille

Per la determinazione del contenuto di clorofilla, i campioni fogliari prelevati in campo sono stati immediatamente sigillati in *cryovials* mantenuti al buio e in azoto liquido fino al momento delle analisi in laboratorio. L'estrazione delle clorofille (a & b) dai campioni fogliari è stata effettuata con Etanolo al 95%. La lettura di assorbanza è stata effettuata allo spettrofotometro (Lambda 3B, Perkin Elmer, Norwalk, USA) alle lunghezze d'onda di 664.2 nm e di 648.6 nm. Il calcolo delle concentrazioni delle clorofille è stato realizzato in accordo con quanto descritto da Lichtenthaler (1987).

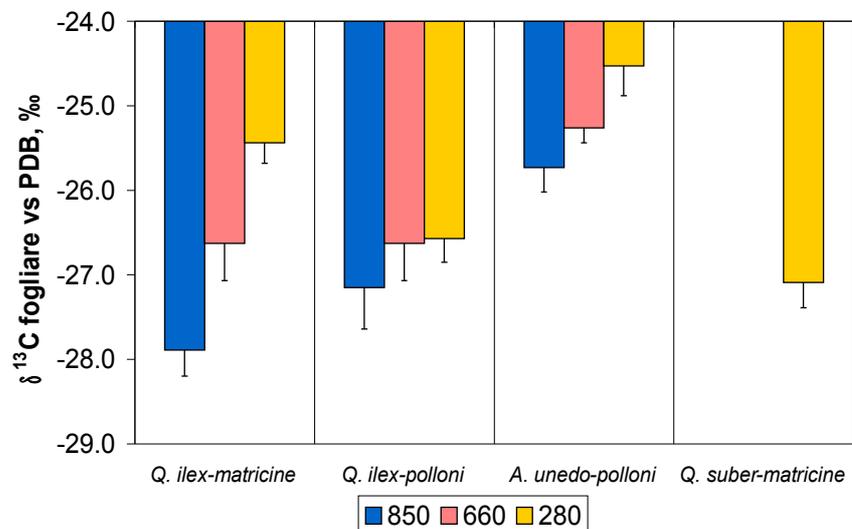
Determinazione della composizione isotopica del carbonio fogliare ($\delta^{13}C$)

I campioni fogliari, dopo la raccolta in campo, sono stati essiccati in stufa ventilata ad una temperatura di 70 °C per 48 ore. Successivamente sono stati polverizzati in azoto liquido. Sub-campioni di 1.5 mg sono stati analizzati con spettrometro di massa per gli isotopi stabili (*ThermoQuest delta S*, Brema, Germania). La composizione isotopica del carbonio ($\delta^{13}C$), relativamente allo standard *Pee Dee Belemnite* (PDB), è stata calcolata usando l'equazione (eqn. 2):

$$\delta^{13}C = [(R_{\text{campione}} / R_{\text{standard}}) - 1] \cdot 1000$$

dove R_{campione} e R_{standard} sono, rispettivamente, i rapporti isotopici assoluti del campione e dello standard. Il fattore di moltiplicazione 1000, permette di esprimere il risultato in per mille (‰).

Fig. 4 - Confronto tra i valori medi di composizione isotopica del carbonio-13 fogliare delle tipologie selvicolturali presenti lungo le tre aree del gradiente altimetrico. Le barre indicano l'errore standard della media (n=5, per tipologia selvicolturale).



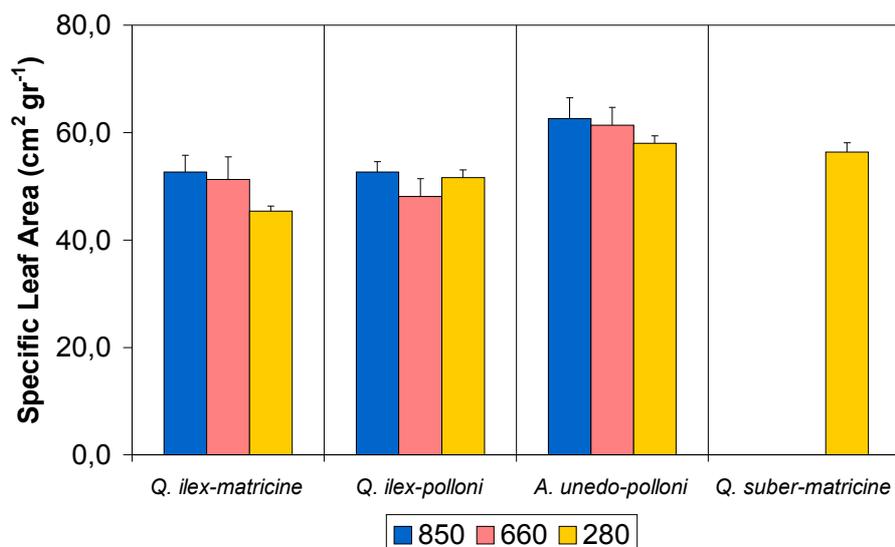


Fig. 5 - Confronto tra i valori medi di area fogliare specifica (SLA) delle tipologie selvicolturali presenti lungo le tre aree del gradiente altimetrico. Le barre indicano l'errore standard della media (n=5, per tipologia selvicolturale).

Determinazioni morfologiche fogliari

Le variabili morfometriche misurate sui campioni fogliari, raccolti e trasportati in modo da evitare modificazioni di forma, sono state: superficie fogliare, lunghezza fogliare (LI-3100, Li-Cor Inc, Lincoln, NE) e rapporto tra superficie e peso secco (SLA). Per la determinazione del peso secco, i campioni sono stati posti in stufa ventilata, ad una temperatura di 70 °C, per il periodo necessario al raggiungimento del peso secco costante.

Determinazione della concentrazione di azoto e carbonio fogliare

Gli stessi campioni fogliari utilizzati per le determinazioni isotopiche sono stati sottoposti ad analisi elementare (Analizzatore Elementare Carlo Erba, 1108, Milano, Italia). I risultati elaborati mediante software *via*- Carlo Erba, sono espressi in percentuale del peso di ogni campione.

Risultati e Discussione

Clorofille

Nella Fig. 3 sono riportati i risultati del contenuto di clorofilla totale, espressi per unità di superficie fogliare, delle quattro tipologie selvicolturali presenti lungo le tre aree del gradiente altimetrico.

Il contenuto di clorofilla totale misurato sulle matricine di *Q. ilex* non ha mostrato differenze significative lungo le tre aree di studio. Valori più elevati sono stati osservati nel sito di altitudine intermedia (94.4 ± 6.2 m g cm⁻²) mentre valori simili sono stati rilevati nelle aree a 850 e 280 metri s.l.m. (rispettivamente, 87.3 ± 4.6 e 87.7 ± 7.7 m g cm⁻²). Allo stesso modo anche sui polloni di *Q. ilex* non sono state os-

servate differenze significative lungo il gradiente altimetrico, con valori di clorofilla totale simili tra i siti (82.2 ± 6.9 m g cm⁻² a 850 m., 84.4 ± 7.2 m g cm⁻² a 660 m. e 83.4 ± 7.5 m g cm⁻² a 280 m s.l.m.). Al contrario, *A. unedo* è stata l'unica specie che ha mostrato una marcata e significativa variabilità lungo il gradiente, con valori più elevati nelle aree a 660 e 850 m. (rispettivamente, 103.1 ± 8.3 e 90.8 ± 3.9 m g cm⁻², $P < 0.05$ tra area a 660 e 850 m s.l.m.) e valori inferiori nel sito a bassa altitudine (77.4 ± 6.15 m g cm⁻², $P < 0.01$ rispetto all'area di 660 m s.l.m.). Considerando i valori medi di ciascuna tipologia selvicolturale lungo le tre aree del gradiente, valori più elevati sono stati osservati sui polloni di *A. unedo* (90.4 m g cm⁻²) rispetto alle altre tipologie del gradiente altimetrico (rispettivamente, 89.8 e 83.3 m g cm⁻² per le matricine e i polloni di *Q. ilex*). Rispetto al nostro studio, contenuti di clorofilla totale notevolmente più bassi sono stati osservati in ambienti Mediterranei composti prevalentemente di *A. unedo*, *Q. ilex* e *Q. suber* da Faria et al. (1998) e Oliveira & Penuelas (2000), i quali riportavano valori compresi tra 42.8 e 62.8 m g cm⁻². Inoltre, negli stessi ambienti, variazioni stagionali sul contenuto di clorofille e xantofille sono state descritte da numerosi autori (Kyparissis et al. 1995, Garzia-Plazaola et al. 1997, Munné-Bosch & Penuelas 2004). Molti di questi studi hanno osservato una riduzione del contenuto di clorofilla durante il periodo estivo relativamente ad un decremento dell'assorbimento fogliare per aumentare la fotoprotezione in condizioni di stress idrico. Nel nostro studio, tranne *A. unedo*, nessuna delle tipologie selvicolturali a *Q. ilex* del sito a bassa altitudine ha mostrato una riduzione del contenuto di clorofille. Tali risultati indicherebbero un aggiustamento del contenuto di clorofille lungo il

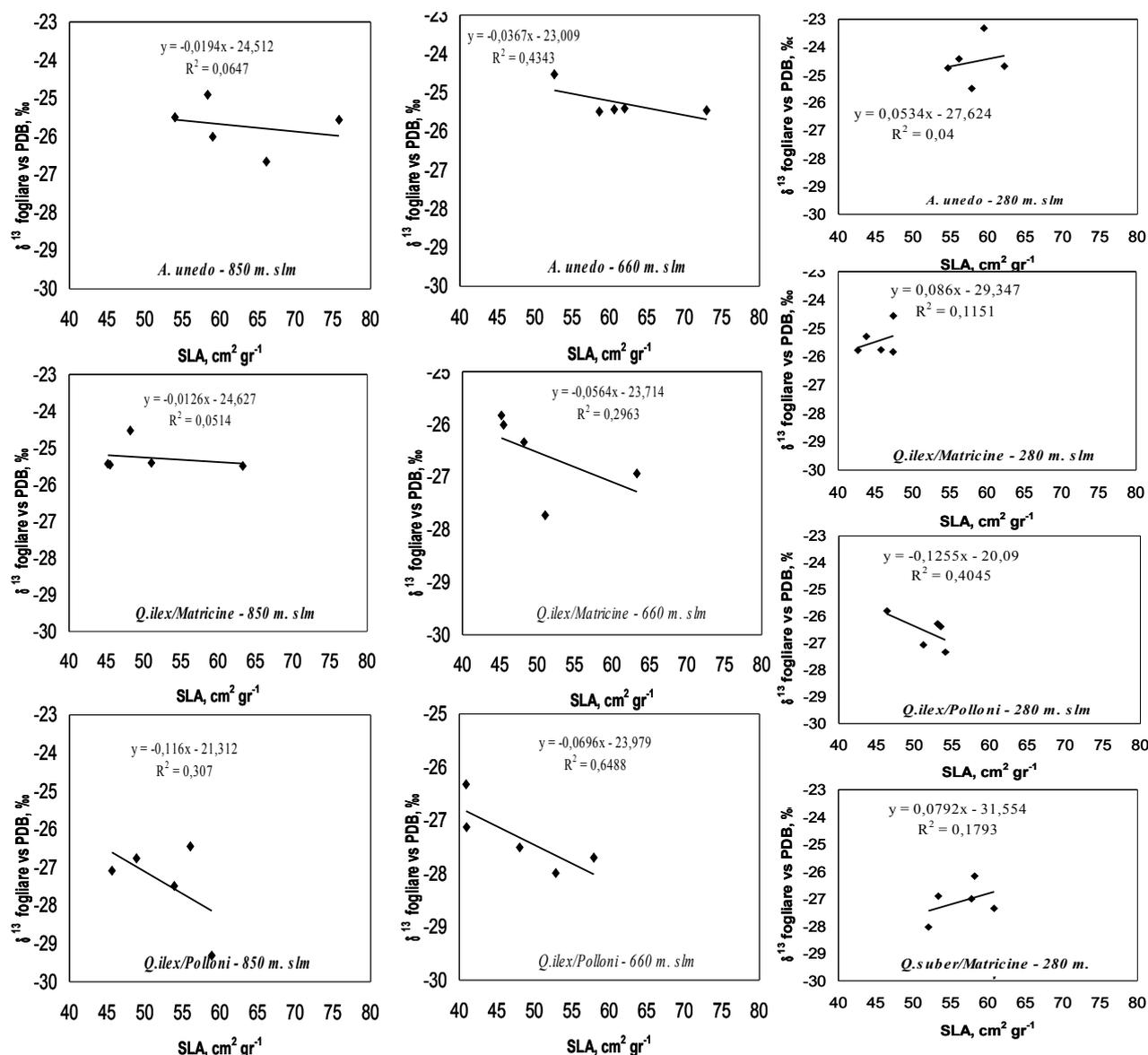


Fig. 6 - Relazioni tra i valori di SLA e di $\delta^{13}\text{C}$ fogliare delle tipologie selvicolturali presenti lungo le tre aree del gradiente altimetrico (n = 15 nell'area a 850 m.; n = 15 nell'area di 660 m.; n = 20 nell'area di 280 m.).

gradiente altimetrico e suggeriscono che i processi di fotoprotezione non sono la principale risposta fisiologica a periodi di stress idrico.

Composizione isotopica del carbonio ($\delta^{13}\text{C}$)

In ordine altimetrico decrescente è stato osservato un generale incremento della composizione isotopica del carbonio (Fig. 4). Tutte le tipologie presenti lungo il gradiente altimetrico hanno evidenziato un aumento dell'efficienza di uso dell'acqua (WUE) concomitante ad un grado di aridità crescente dal sito più elevato a quello più basso. La comparazione dei valori di $\delta^{13}\text{C}$ sulle matricine di *Q. ilex* ha mostrato delle differenze significative tra i siti a 850 e di 660 m. di altitudine (rispettivamente, $-27,9 \pm 0,3 \%$, $-26,6 \pm 0,4$

$\%$, $P < 0,05$) e un incremento altamente significativo dei valori di $\delta^{13}\text{C}$ nell'area a 280 m. rispetto ai siti a 850 e 660 m. s.l.m. ($-25,4 \pm 0,2 \%$, $P < 0,001$). Le matricine di sughera, presenti nel solo sito di bassa altitudine, hanno mostrato un valore medio del $\delta^{13}\text{C}$ di $-27,1 \pm 0,3 \%$. Il corbezzolo è risultato la specie con valore medio del $\delta^{13}\text{C}$ più alto ($-24,7 \pm 0,3 \%$) rispetto alle altre tipologie studiate, evidenziando una maggiore efficienza di uso dell'acqua. Per tale tipologia l'analisi della varianza ha mostrato differenza significativa ($P < 0,05$) tra i siti a 850 e 280 m. di altitudine.

Morfologia fogliare

Analisi morfometriche relative a superficie foglia-

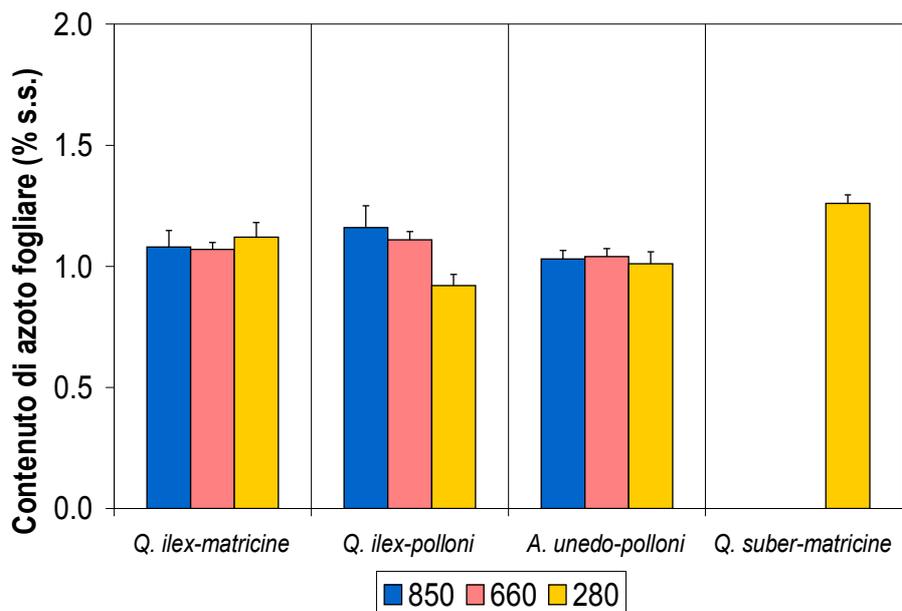


Fig. 7 - Confronto tra i valori medi di azoto fogliare delle tipologie selvicolturali presenti lungo le tre aree del gradiente altimetrico. Le barre indicano l'errore standard della media (n=5, per tipologia selvicolturale).

re, lunghezza fogliare e del parametro SLA sono state condotte lungo il gradiente altimetrico.

A. unedo ha mostrato una lamina fogliare di dimensioni mediamente superiori rispetto alle altre specie con valori massimi di superficie fogliare riscontrati nel sito di altitudine intermedia ($9.70 \pm 0.26 \text{ cm}^2$) e di lunghezza fogliare nel sito di altitudine superiore ($6.5 \pm 0.4 \text{ cm}$). Il leccio e la sughera, come atteso, hanno presentato foglie di superficie limitata (rispettivamente, 4.1 ± 0.7 e $3.95 \pm 0.3 \text{ cm}^2$) con valori massimi nel sito a 660 m s.l.m. e minimi in quello a 850 m. Nonostante tali variazioni, l'analisi della varianza non ha evidenziato differenze significative lungo il gradiente altimetrico relativamente alla superficie fogliare (*Q. ilex/matricine* $P = 0.42$, *Q. ilex/polloni* $P =$

0.44 , *A.unedo/polloni* $P = 0.32$), ed alla lunghezza fogliare (*Q. ilex/matricine* $P = 0.33$, *Q. ilex/polloni* $P = 0.06$, *A. unedo/polloni* $P = 0.19$).

In *A. unedo/polloni* e *Q. ilex/matricine* il rapporto superficie/peso fogliare è diminuito con l'altitudine di 4.6 e 7% rispettivamente. Nelle matricine di leccio tali valori sono risultati significativamente più bassi nel sito a bassa altitudine ($45.4 \pm 0.95 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$, $P < 0.05$) rispetto al sito di 850 metri ($52.7 \pm 3.1 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$), mentre sui polloni di corbezzolo non si è osservato un effetto significativo dovuto al gradiente altimetrico (Fig. 5). Se consideriamo i valori medi di ciascuna tipologia selvicolturale lungo le tre aree del gradiente, sono state osservate differenze inter-specifiche relativamente significative in *A. unedo* ($60.7 \pm 2.8 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$, P

Fig. 8 - Confronto tra i valori medi di composizione isotopica del deuterio dell'acqua xilematica delle tipologie selvicolturali presenti lungo le tre aree del gradiente altimetrico. Le barre indicano l'errore standard della media (n=5, per tipologia selvicolturale).

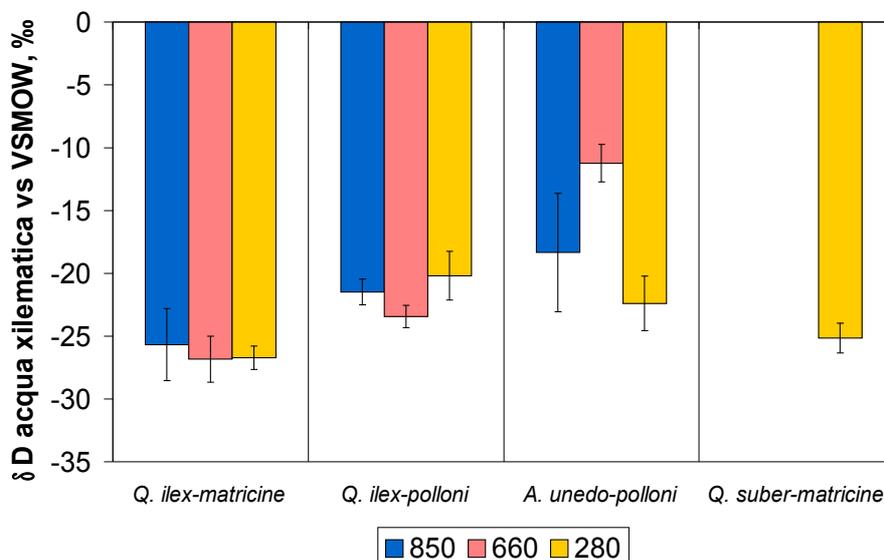
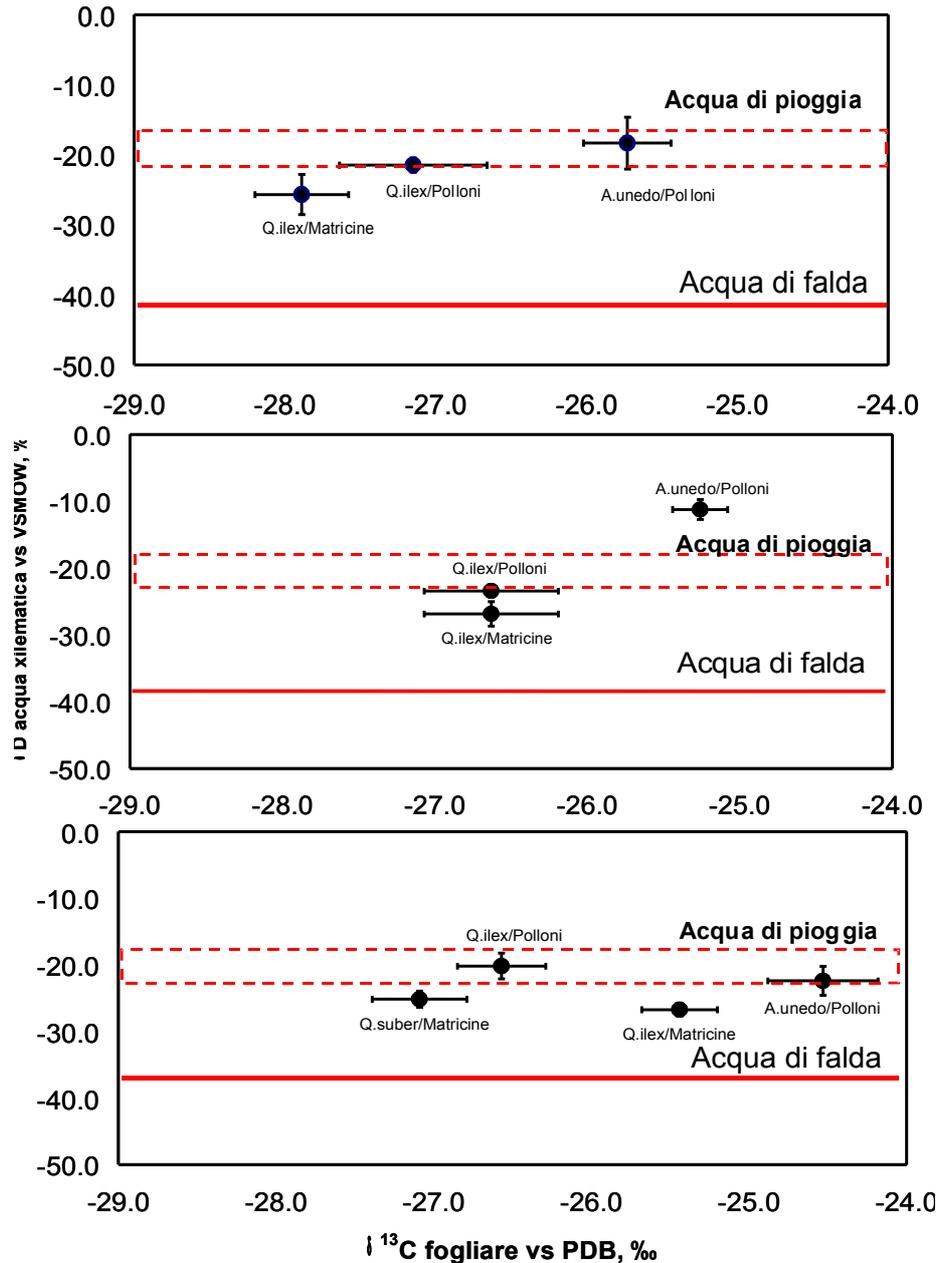


Fig. 9 - Comparazione dei valori di $\delta^{13}\text{C}$ fogliare e di δD dell'acqua di pioggia estiva, di falda e xilematica delle tipologie selvicolturali presenti lungo le tre aree del gradiente. I livelli medi dell'acqua di pioggia estiva sono indicati dalla barra tratteggiata rossa mentre il segnale dell'acqua di falda è indicato dalla linea rossa. Le barre indicano l'errore standard della media ($n=5$, per tipologia selvicolturale).



< 0.001) che ha mostrato delle foglie più sottili rispetto alle altre tipologie del gradiente altimetrico (rispettivamente, 49.8 ± 2.8 e 52.2 ± 1.7 $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$ per le matricine e i polloni di *Q. ilex*).

Relazioni tra morfologia fogliare e $\delta^{13}\text{C}$

Relazioni tra il parametro-SLA e il $\delta^{13}\text{C}$ fogliare sono state elaborate per valutare se le differenze inter-specifiche osservate nelle tre distinte situazioni ambientali possono aver evidenziato effetti eco-fisiologici della SLA sul $\delta^{13}\text{C}$ fogliare (Fig. 6).

Non sono emerse delle relazioni significative sulle tipologie selvicolturali del gradiente, eccetto che sui polloni di *Q. ilex* del sito a 660 m ($R^2 = 0.64$). Nei siti presenti nella parte alta del gradiente (850 e 660 me-

tri) sono state osservate deboli relazioni inverse tra SLA (aumento della SLA, e in altri termini una diminuzione dello spessore fogliare) e il $\delta^{13}\text{C}$ fogliare (diluzione del $\delta^{13}\text{C}$, e in altri termini una riduzione dell'efficienza di uso dell'acqua). Un'inversione del trend (eccetto *Q. ilex*/Polloni), seppur non significativo, tra la SLA (aumento della SLA, e in altri termini un incremento dello spessore fogliare) e il $\delta^{13}\text{C}$ (incremento del $\delta^{13}\text{C}$, e in altri termini un decremento dell'efficienza di uso dell'acqua) è stato osservato su tre delle quattro tipologie selvicolturali del sito di bassa altitudine (rispettivamente, *A. unedo*/polloni, *Q. ilex*/matricine e *Q. suber*/matricine) probabilmente a causa del forte grado di stress idrico estivo osservato lungo il sito a bassa altitudine. Tale condizione si ri-

percuote con un segnale isotopico arricchito in ^{13}C che riflette un decremento del grado di apertura stomatica e quindi dell'attività fotosintetica, che in ambiente mediterraneo si risolve in una maggiore limitazione idrica all'accrescimento. Infatti, i diagrammi di Walter & Lieth (Fig. 1 e 2) mostrano un maggior periodo di aridità primaverile-estivo nel sito di bassa altitudine (Maggio-Settembre) rispetto ai siti presenti nella parte alta del gradiente (Giugno-Settembre) e un diverso regime udometrico primaverile. In particolare, lungo il periodo Aprile-Giugno sono state registrate nel sito di bassa altitudine precipitazioni medie complessive di 125.2 mm che sono state inferiori del 32.2% rispetto alle fisionomie forestali delle aree più alte del gradiente (182 mm). Tali risultati suggeriscono che le differenze inter-specifiche osservate sul $\delta^{13}\text{C}$ fogliare non dipendono completamente dagli effetti esercitati dalla SLA.

Contenuto di azoto e carbonio fogliare

L'azoto fogliare, espresso in % del peso secco, ha raggiunto valori medi massimi sulle matricine di *Q. suber* (1.26 ± 0.04 %) e minimi sui polloni di *Q. ilex* (0.92 ± 0.05 %). Entrambi i valori sono stati misurati sul sito di bassa altitudine (Fig. 7). Trasformando i dati per unità di superficie fogliare, sono stati osservati rispettivamente valori mediamente più elevati sulle matricine di leccio, di sughera e sui polloni di leccio ($0.22 \mu\text{g cm}^{-2}$) e più bassi sui polloni di corbezzolo ($0.17 \mu\text{g cm}^{-2}$). Una relazione diretta tra $\delta^{13}\text{C}$ fogliare e azoto (quando espresso in percentuale del peso secco) è stata osservata su *Q.ilex*/Matricine dell'area a 280 m. ($Y = 3.37x - 29.21$, $R^2 = 0.73$), considerando anche che la stessa tipologia aveva mostrato un decremento significativo della SLA. Un meccanismo che potrebbe collegare tali relazioni è che sulle foglie spesse sarebbero contenuti grandi quantità di enzimi fotosintetici (cioè, alti contenuti di azoto) che aumentano l'efficienza carbossilativa, diminuendo il rapporto p_i/p_a (pressioni parziali intercellulari e atmosferiche della CO_2 - Cordell et al. 1999, Hultine & Marshall 2000).

A. unedo ha mostrato mediamente una percentuale di carbonio fogliare più alta (50.9%) rispetto alle altre tre tipologie selvicolturali (rispettivamente, *Q. ilex*/matricine 48.9%, *Q.ilex*/polloni 48.4% e *Q. suber*/matricine 49.2%) nonostante non sia stato osservato alcun effetto significativo lungo il gradiente altimetrico.

Complessivamente, lungo le tre aree del gradiente altimetrico, il rapporto C/N non è variato per le matricine di leccio (valori compresi tra 44.0 e 45.5 %),

per i polloni di leccio (valori compresi tra 42.2 e 44.1 %) e per quelli di corbezzolo (valori compresi tra 45.9 e 49.4 %).

Composizione isotopica dell'idrogeno (δD)

Comparando i valori di δD di acqua xilematica lungo le tre aree del gradiente altimetrico è stato possibile osservare in tutte le piante di età avanzata (matricine di leccio e di sughera) valori più negativi di δD rispetto alle tipologie giovani (polloni di leccio e di corbezzolo - Fig. 8). In particolare nelle aree di 660 e 280 metri di altitudine le matricine hanno mostrato valori di δD intermedi tra il segnale di falda e quello delle precipitazioni estive delle stazioni IAEA di Genova-Sestri e di Pisa. Le tipologie selvicolturali più giovani, al contrario, hanno mostrato valori di δD dell'acqua xilematica molto simili al segnale isotopico delle precipitazioni estive delle stazioni IAEA evidenziando probabilmente un apparato radicale superficiale capace di approvvigionarsi dell'acqua di pioggia. Considerando i valori medi di ciascuna tipologia selvicolturale lungo le tre aree del gradiente, *A. unedo* ha mostrato i valori di δD meno negativi e pertanto con un maggiore contenuto di deuterio (-17.3 ‰). In particolare, per i polloni di *A. unedo* dell'area a 660 m. di altitudine è risultato evidente un valore medio del δD particolarmente arricchito in deuterio (-11.2 ± 1.5 ‰) quando comparato con le stesse tipologie delle altre aree del gradiente in relazione al fatto che in questo sito, alcuni giorni precedenti al campionamento, erano caduti circa 0.7 mm di pioggia. Essendo la foresta di Pula situata a pochi chilometri dal Mar Mediterraneo è probabile che le precipitazioni cadute sulla foresta provengano dalle prime nuvole formate sul mare (assenza di effetto continentale).

La Fig. 9 mostra come la composizione isotopica dell'acqua di falda sia diventata più negativa con l'altitudine. L'area di altitudine più elevata (850 m.) ha mostrato un valore medio di δD di -42.8 ± 0.7 ‰ mentre le aree di 660 e 280 metri si sono attestate rispettivamente a valori di -38.7 ± 0.9 e -36.4 ± 0.0 ‰. L'impovertimento in deuterio dell'acqua di falda con l'altitudine potrebbe essere causato da una diversa origine geografica delle falde freatiche e dalla mescolanza delle differenti fonti di precipitazioni (cioè, pioggia, nebbia e/o dalla neve sciolta) esistenti nell'acqua del terreno. Un'ipotesi aggiuntiva è che il deuterio delle precipitazioni diminuisce con la quantità di pioggia caduta e con l'altitudine (effetto temperatura ed effetto altimetrico) (Ziegler 1989, Rebezz et al. 2003, Celle-Jeanton et al. 2004). In questo

modo, essendo l'acqua di falda costituita da varie componenti idriche tra cui quella principale è attribuita al valore medio delle precipitazioni locali (Gat & Tzur 1967) è lecito pensare che la composizione isotopica dell'idrogeno dell'acqua di falda rispecchi in larga misura quello delle precipitazioni locali.

Relazioni tra δD e $\delta^{13}C$

Alcune interessanti comparazioni tra il δD e il $\delta^{13}C$ sono state osservate lungo il gradiente altimetrico (Fig. 9). In particolare per quasi tutte le tipologie di studio è stato osservato un diverso comportamento nell'efficienza di uso dell'acqua delle piante in relazione al tipo di approvvigionamento idrico. In questo senso le tipologie selvicolturali capaci di approvvigionarsi delle risorse idriche presenti a profondità maggiori (*Q. ilex*/matricine e *Q. suber*/matricine) risultavano impoverite in ^{13}C , evidenziando bassi valori di efficienza di uso dell'acqua, quando comparati con le tipologie selvicolturali capaci di approvvigionarsi direttamente di risorse idriche di superficie (*Q. ilex*/polloni e *A. unedo*/polloni). Inoltre, sulle matricine di leccio, un aumento dei valori di azoto associati ad una riduzione della SLA potrebbe spiegare l'incremento dell'efficienza di uso dell'acqua. Una minore efficienza di uso dell'acqua può indicare, a parità di flussi di assimilazione, una maggiore perdita di acqua dovuta a traspirazione sostenuta. A parità di traspirazione, variazioni di WUE possono essere determinate però da differente capacità fotosintetica. Tuttavia, la relazione indicata per i siti in quota non è stata osservata nel sito di bassa altitudine poiché alcune tipologie selvicolturali (*Q. ilex*/matricine e *A. unedo*/polloni) pur riflettendo il segnale del δD delle stesse tipologie degli altri siti mostrava un segnale del $\delta^{13}C$ meno negativo (-25.44 ± 0.24 ‰) rispetto a quelle presenti nei siti di 660 e 850 metri di altitudine (rispettivamente, -26.63 ± 0.44 e -27.89 ± 0.24 ‰).

Conclusioni

Il gradiente altimetrico di questo studio si è rivelato un utile strumento per monitorare le variazioni microclimatiche legate alla funzionalità fogliare. La letteratura internazionale riporta chiaramente che il $\delta^{13}C$ e la concentrazione fogliare di azoto aumentano, la conduttanza stomatica si riduce con l'altitudine mentre la SLA o resta invariata o decresce all'aumentare dell'altitudine (ad esempio: Körner et al. 1988, Körner & Diemer 1994, Friend & Woodward 1990, Kelly & Woodward 1995, Sparks & Ehleringer 1997, Cordell et al. 1998, 1999, Hultine & Marshall 2000, Kogami et al. 2001, Shi et al. 2006). Recenti studi han-

no anche dimostrato che l'incremento del $\delta^{13}C$ fogliare con l'altitudine è correlato a un decremento delle pressioni parziali dei gas presenti a quote più elevate (inclusi CO_2 e O_2) influenzando in questo modo le caratteristiche diffusionali (conduttanza stomatica e conduttanza del mesofillo) e non-diffusionali della fotosintesi (Terashima et al. 1995, Kogami et al. 2001, Sakata & Yokoi 2002, Shi et al. 2006). I risultati del nostro studio sono invece specularmente opposti a quelli osservati in letteratura poiché riportano rispettivamente un decremento del $\delta^{13}C$ fogliare, un effetto non-significativo sul contenuto di azoto fogliare e sul contenuto di clorofilla totale e un aumento della SLA, associati con l'incremento di altitudine. E' da notare, tuttavia, che molti lavori in letteratura sono stati focalizzati in regioni umide, dove la disponibilità idrica non è un fattore limitante rispetto ad altri fattori biotici e abiotici. In questo studio la variazione altitudinale è accompagnata da un diverso grado di aridità, causato dal ridursi delle precipitazioni e dalle più alte temperature del sito di bassa quota ma non da una riduzione delle temperature invernali, che non sono comunque particolarmente severe. Con tali presupposti si può affermare che il decremento della composizione isotopica del carbonio (valori del $\delta^{13}C$ più negativi) osservato nei siti a 660 e 850 metri di altitudine sia direttamente proporzionale a un minore grado di stress idrico rispetto al sito di bassa altitudine. Tali risultati, sono in accordo con quanto osservato da Van de Water et al. (2002) lungo un gradiente altimetrico caratterizzato rispettivamente da ambienti aridi e umidi.

Le variazioni osservate sul regime udometrico primaverile, sul parametro SLA e sul $\delta^{13}C$ fogliare del sito di bassa altitudine dimostrano che in ambiente mediterraneo le precipitazioni primaverili sono in grado di influenzare marcatamente l'efficienza di uso dell'acqua delle piante, così come stimato via- $\delta^{13}C$ fogliare. Eventuali effetti della disponibilità idrica primaverile andrebbero tuttavia presi in considerazione poiché capaci di influenzare lo sviluppo fogliare con effetti su $\delta^{13}C$ dovuti al ricircolo, al turnover o alla neo-sintesi di pool carboniosi isotopicamente distinti.

L'assenza di differenze marcate del δD tra le matricine, ovvero quelle tipologie che dovrebbero affidarsi alle acque più profonde, lascerebbe supporre l'uso preponderante per tutte di acque solo relativamente negative (valori mediamente di -25 ‰) ma ben distanti dai valori delle falde, presumibilmente troppo profonde anche per gli apparati radicali più agguerriti. Le acque profonde del suolo si accumulano ge-

neralmente in corrispondenza di abbondanti precipitazioni autunno-vernine nelle aree mediterranee generando una relativa somiglianza isotopica alle acque di falda. La forte discrepanza desumibile dall'acqua xilematica delle matricine potrebbero indicare che le acque profonde si sono stratificate in condizioni meteorologiche anomale rispetto alle medie di lungo periodo.

In conclusione, i risultati di questo studio hanno evidenziato comportamenti contrastanti su molte delle variabili eco-fisiologiche misurate, in quanto le condizioni di aridità osservate nel sito a bassa altitudine hanno in gran parte dominato gli effetti fisiologici sull'efficienza di uso dell'acqua, sull'uso delle risorse idriche e sulla morfologia fogliare, rendendo trascurabile l'effetto altitudinale.

Ringraziamenti

Un sentito ringraziamento è rivolto a due anonimi revisori per il prezioso contributo al miglioramento del manoscritto.

Studio finanziato dal programma di ricerca del Ministero per le Politiche Agricole e Forestali RISEL.VITALIA - Sottoprogetto 3.2. "Selvicoltura, funzionalità e gestione sostenibile dei cedui nell'area appenninica e mediterranea", coordinato dal Dr. Gianfranco Fabbio, area di ricerca 3.2.1 "Efficienza funzionale e interventi selvicolturali in boschi cedui mediterranei", coordinato dal Prof. Giuseppe Scarascia Mugnozza.

Gli autori ringraziano il personale dell'Azienda Foreste Demaniali della regione Sardegna, in particolare, i tecnici dei cantieri forestali di "Is Cannoneris" e di "Monte Nieddu" e il dott. Tiziano Mei per la preziosa collaborazione durante le indagini sperimentali. Si ringraziano inoltre G. Fabbio, E. Amorini e A. Cutini, (CRA - Istituto Sperimentale Selvicoltura di Arezzo), per il contributo nell'ideazione e la realizzazione delle aree sperimentali. Un ringraziamento particolare a Paolo Atzori per la collaborazione durante i rilievi, Matilde Tamantini (tecnico presso il DISAFRI dell'Università di Viterbo) per il contributo durante la fase di analisi di laboratorio e Ermenegildo Magnani (tecnico presso il laboratorio Isotopi Stabili del Consorzio Agrital-Ricerche di Maccarese, Roma) per il contributo durante le analisi isotopiche ed elementari.

Bibliografia

Allison GB, Barnes CJ, Hughes MW, Leaney FW (1984). Effect of climate and vegetation on oxygen-18 and deuterium profiles in soils. In: *Isotopes Hydrology*, IAEA, Vienna pp 105-122.

Amorini E, Di Lorenzo MG, Fabbio G (1996a). Studi su struttura e processi ecologici in popolamenti di leccio della Sardegna meridionale. *Comunicazioni di ricerca dell'ISAFSA* 96/1: 35-48.

Amorini E, Bruschini S, Cutini A, Fabbio G, Manetti MC (1996b). Silvicultural treatment of holm oak (*Quercus ilex* L.) coppices in Southern Sardinia: thinning and related effects on stand structure and canopy cover. *Annali Istituto Sperimentale Selvicoltura Arezzo* 27: 167-175.

Atzori P (2005). Interventi selvicolturali di avviamento all'alto fusto di cedui mediterranei: analisi strutturale ed osservazioni ecofisiologiche. Tesi di Laurea in Scienze Forestali e Ambientali. Università di Viterbo.

Beerling DJ, Heath J, Woodward FI, Mansfield TA (1996). Interaction in trees: observations and mechanism. *New Phytologist* 134: 235-242.

Celle-jeanton H, Gonfiantini R, Travi Y, Sol B (2004). Oxygen-18 variations of rainwater during precipitation: application of the Rayleigh model to select rainfalls in Southern France. *Journal of Hydrology* 289: 165-177.

Coleman ML, Shepherd TJ, Durham JJ, Rouse JE, Moore GR (1982). Reduction of water with zinc for hydrogen isotope analysis. *Analytical Chemistry* 54: 993-995.

Cordell S, Goldstein G, Mueller-Dombois D, Webb D, Vitousek PM (1998). Physiological and morphological variation in *Metrosideros polymorpha*, a dominant Hawaiian tree species, along an altitudinal gradient: role of phenotypic plasticity. *Oecologia* 113: 188-196.

Cordell S, Goldstein G, Meinzer FC, Handley L (1999). Allocation of nitrogen and carbon in leaves of *Metrosideros polymorpha* regulates carboxylation capacity and $\delta^{13}\text{C}$ along altitudinal gradient. *Functional Ecology* 13: 811-818.

Dawson TE, Ehleringer JR (1991). Streamside trees that do not use stream water. *Nature* 350: 335-337.

Dawson TE, Pausch RC, Parker HM (1998). The role of H and O stable isotopes in understanding water movement along the soil-plant-atmospheric continuum. In: "Stable Isotopes: Integration of Biological, Ecological and Geochemical Processes". Oxford, BIOS Sci.

Dawson TE, Mambelli S, Plamboeck AH, Templer PH, Tu KP (2002). Stable Isotopes in Plants Ecology. *Annual Review Ecology System* 33: 507-559.

De Lillis M, Matteucci G, Valentini R (2004). Carbon assimilation, nitrogen, and photochemical efficiency of different Himalayan tree species along an altitudinal gradient. *Photosynthetica* 42 (4): 597-605.

Di Matteo G (2005a). Applicazione di tecniche isotopiche per valutare gli impatti ecofisiologici di trattamenti di conversione in ecosistemi forestali mediterranei. Tesi di dottorato di ricerca. Università di Viterbo.

Di Matteo G, De Angelis P, Scarascia Mugnozza GE

- (2005b). Applicazione di tecniche isotopiche per valutare la risposta funzionale di cedui mediterranei al taglio di avviamento all'alto fusto. *Forest@*, 2 (4): 367-377. [online] URL: <http://www.sisef.it/>
- Ehleringer JR, Dawson TE (1992). Water uptake by plants: perspectives from stable isotope composition. *Plant, Cell and Environment* 15: 1073-1082.
- Ehleringer JR, Cerling TE (1995). Atmospheric CO₂ and the ratio of intercellular to ambient CO₂ concentrations in plants. *Tree Physiology* 15: 105-111.
- Ehleringer JR, Roden J, Dawson TE (2000). Assessing ecosystem-level water relations through stable isotope ratio analyses. In: "Methods in Ecosystem Science" (Sala OE, RB Jackson, HA Mooney, Howarth RW eds). Springer-Verlag, Heidelberg, pp.181-198.
- Evans JR (1989). Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C3 plants. *Oecologia* 78: 9-19.
- Faria T, Silvério D, Breia E, Cabral R, Abadia A, Abadia J, Pereira JS, Chaves MM (1998). Differences in the response of carbon assimilation to summer stress (water deficits, high light and temperature) in four Mediterranean tree species. *Physiologia Plantarum* 102: 419-429.
- Farquhar GD, Ehleringer JR, Hubick KT (1989). Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual Review Plant Physiology. Plant Molecular Biology* 40: 503-537.
- Field C, Mooney HA (1986). The photosynthesis-nitrogen relationship in wild plants. In: *The Economy of Plants Form and Function* (eds Givinish TJ), pp. 25-55. Cambridge University Press, Cambridge.
- Flanagan LB, Ehleringer JR, Marshall JD (1992). Differential uptake of summer precipitation among co-occurring trees and shrubs in a pinyon-juniper woodland. *Plant, Cell and Environment* 15: 831-836.
- Friend AD, Woodward FI, Switsur VR (1989). Field measurements of photosynthesis, stomatal conductance, leaf nitrogen and $\delta^{13}\text{C}$ along altitudinal gradients in Scotland. *Functional Ecology* 3: 117-122.
- Friend AD, Woodward FI (1990). Evolutionary and Ecophysiological Responses of Mountain Plants to the Growing Season Environment. *Advances in Ecological Research* 20: 58-124.
- Gale J (1972). The availability of carbon dioxide for photosynthesis at high altitudes: theoretical considerations. *Ecology* 53: 494-497.
- Gale J (2004). Plants and altitude – revisited. *Annals of Botany* 94: 199.
- Garzia-Plazaola JI, Faria T, Abadia J, Abadia A, Chaves MM, Pereira JS (1997). Seasonal changes in xanthophyll composition and photosynthesis in cork oak (*Quercus suber* L.) leaves under Mediterranean climate. *Journal of Experimental Botany* 48: 1667-1674.
- Gat JR, Tzur Y (1967). Modification of the isotopic composition of rainwater by processes which occur before groundwater recharge. In *Isotopes in Hydrology*, IAEA, Vienna, pp. 49-60.
- Hikosaka K, Nagamatsu D, Ishii HS, Hirose T (2002). Photosynthesis-nitrogen relationships in species at different altitudes on Mount Kinabalu, Malaysia. *Ecological Researches* 17: 305-313.
- Hultine KR, Marshall JD (2000). Altitude trends in conifer leaf morphology and stable carbon isotope composition. *Oecologia* 123: 32-40.
- Kelly CK, Woodward FI (1995). Ecological correlates of carbon isotope composition of leaves: a comparative analysis testing for the effects of temperature, CO₂ and O₂ partial pressures and taxonomic relatedness on $\delta^{13}\text{C}$. *Journal Ecology* 83: 506-515.
- Kyparissis A, Petropoulou Y, Manetas Y (1995). Summer survival of leaves in a soft-leaved shrub (*Phlomis fruticosa* L., Labiatae) under Mediterranean field conditions: avoidance of photoinhibitory damage through decreased chlorophyll contents. *Journal of Experimental Botany* 46: 1825-1831.
- Kogami H, Hanba YT, Kibe T, Terashima I, Masuzawa T (2001). CO₂ transfer conductance, leaf structure and carbon isotope composition of *Polygonum cuspidatum* leaves from low and high altitudes. *Plant, Cell and Environment* 24: 529-538.
- Körner C, Farquhar GD, Roksandic S (1988). A global survey of carbon isotope discrimination in plants from high altitude. *Oecologia* 74: 623-632.
- Körner C, Neumayer M, Palaez Menendez-Reidl S, Smeets-Schell A (1989). Functional morphology of mountain plants. *Flora* 182: 353-383.
- Körner C, Farquhar GD, Wong SC (1991). Carbon isotope discrimination by follows latitudinal and altitudinal trends. *Oecologia* 88: 30-40.
- Körner C, Diemer M (1994). Evidence that plants from high altitudes retain their greater photosynthetic efficiency under elevated CO₂. *Ecology* 8: 58-68.
- Lichtenthaler HK (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic apparatus biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 349-382.
- Macuz A, Tinelli A, Lauteri M, Scarascia Mugnozza GE (2006). Diversificazione dell'uso delle risorse idriche in biocenosi forestali mediterranee ed analisi degli isotopi stabili dell'acqua. In: "Scritti e documenti" XXXVII. Il sistema ambientale della Tenuta Presidenziale di Castelporziano. Ricerche sulla complessità di un ecosistema forestale costiero mediterraneo. Eds: Accademia Nazionale delle Scienze detta dei Quaranta.
- Marshall JD, Zhang J (1994). Carbon isotope discrimination and water use efficiency of native plants of the north-

- central Rockies. *Ecology* 75: 1887-1895.
- Morecroft MD, Woodward FI, Marrs RH (1992). Altitudinal trends in leaf nutrient contents, leaf size and $\delta^{13}\text{C}$ of *Alchemilla alpina*. *Functional Ecology* 6: 730-740.
- Morecroft MD, Woodward FI (1996). Experiments on the causes of altitudinal differences in leaf nutrient contents, size, and $\delta^{13}\text{C}$ of *Alchemilla alpina*. *Functional Ecology* 6: 730-740.
- Munné-Bosch S, Penuelas J (2004). Drought-induced oxidative stress in strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) growing in Mediterranean field conditions. *Plant Science* 166: 1105-1110.
- Nevo E (1995). Aridity stress and climatic unpredictability as selective agents in molecular and organismal adaptations in nature. In *Time Scales of Biological Responses to Water Constraints* (Eds. J. Roy, J. Aronson and F. di Castri) pp. 141-166. SPB Academic Publishing, Amsterdam.
- Oliveira G, Penuelas J (2000). Comparative photochemical and phenomorphological responses to winter stress of an evergreen (*Quercus ilex* L.) and a semi-deciduous (*Cistus albidus* L.) Mediterranean woody species. *Acta Oecologica* 21 (2): 97-107.
- Panek JA, Waring RH (1995). Carbon isotope variation in Douglas-fir foliage: improving the $\delta^{13}\text{C}$ -climate relationship. *Tree Physiology* 15: 657-663.
- Rebetz M, Saurer M, Cherubini P (2003). To what extent can oxygen isotopes in tree rings and precipitation be used to reconstruct past atmospheric temperature? A case study. *Climatic change* 61: 237-248.
- Sah SP, Brume R (2003). Altitudinal gradients of natural abundance of stable isotopes of nitrogen and carbon in the needles and soil of a pine forest in Nepal. *Journal Forest Science* 49: 19-26.
- Sakata T, Yokoi Y (2002). Analysis of the O_2 dependency in leaf-level photosynthesis of two *Reynoutria japonica* populations growing at different altitudes. *Plant, Cell and Environment* 25: 65-74.
- Shi Z, Shirong L, Xingliang L, Centritto M (2006). Altitudinal variation in photosynthetic capacity, diffusional conductance and $\delta^{13}\text{C}$ of butterfly bush (*Buddleja davidii*) plants growing at high elevations. *Physiologia Plantarum* 128: 722-731.
- Sparks JP, Ehleringer JR (1997). Leaf carbon isotope discrimination and nitrogen content for riparian trees along elevational transects. *Oecologia* 109, 362-367.
- Sternberg LSL, Swart PK (1987). Utilization of fresh water and ocean water by coastal plants of southern Florida. *Ecology* 68: 1898-1905.
- Sun ZJ, Livingston NJ, Guy RD, Ethier GJ (1996). Stable carbon isotopes as indicators of increased water use efficiency and productivity in white spruce [*Picea glauca* (Moench) Voss] seedlings. *Plant Cell and Environment* 19: 887-894.
- Terashima I, Masuzawa T, Ohba H, Yokoi Y (1995). Is photosynthesis suppressed at higher elevation because of low CO_2 pressure? *Ecology* 76: 2663-2668.
- Thorntwaite CW (1948). An Approach toward a natural classification of climate. *Geographical Review* 38: 55-94.
- Valentini R, Scarascia Mugnozza GE, Ehleringer JR (1992). Hydrogen and carbon isotope ratios of selected species of a Mediterranean macchia ecosystem. *Functional Ecology* 6: 627-631.
- Van de Water PK, Leavitt SW, Betancourt JL (2002). Leaf $\delta^{13}\text{C}$ variability with elevation, slope aspect, and precipitation in the southwest United States. *Oecologia* 132: 332-343.
- Vitousek PM, Field CB, Matson PA (1990). Variation in foliar $\delta^{13}\text{C}$ in Hawaiian *Metrosideros polymorpha*: a case of internal resistance? *Oecologia* 84: 362-370.
- Ziegler H (1989). Hydrogen isotope fractionation in plant tissues. In: Rundel PW, Ehleringer JR, Nagy KA (eds). *Stable isotopes in ecological research*. (Ecological studies, vol. 68). Springer, Berlin Heidelberg New York, pp. 105-123.
- Walker G, Brunel JP, Dighton J, Holland K, Leaney F (2001). The use of stable isotopes of water for determining sources of water for plant transpiration. *Stable Isotope Techniques in the Study of Biological Processes and Functioning of Ecosystem*. Dordrecht: Kluwer Academic.
- White JWC, Cook ER, Lawrence JR, Broecker WS (1985). The D/H ratios of sap in trees: implications for water sources and tree ring D/H ratios. *Geochimical, Cosmochimical Acta* 49: 237-246.
- Woodward FI (1986). Ecophysiological studies on the shrub *Vaccinium myrtillus* L. taken from a wide altitudinal range. *Oecologia* 70: 580-586.