

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO TERRITORIO E SISTEMI AGRO-FORESTALI

TESI DI LAUREA IN RIASSETTO DEL TERRITORIO E TUTELA DEL PAESAGGIO

Curr. Paesaggi, Parchi e Giardini

**Variazione assiale delle punteggiature in un  
esemplare di *Sequoiadendron giganteum***

Relatore

Prof. Tommaso Anfodillo

Correlatore

Dr. Alan Crivellaro

Laureanda

Martina Lazzarin

Matricola n. 1032147

ANNO ACCADEMICO 2013 - 2014



# INDICE

RIASSUNTO	4
ABSTRACT	5
1 INTRODUZIONE	
1.1 IL TESSUTO DI CONDUZIONE DELL'ACQUA NEGLI ALBERI	6
1.2 LE PUNTEGGIATURE NELLE TRACHEIDI	9
2 MATERIALI E METODI	
2.1 SITO DI RACCOLTA ED ALBERO CAMPIONE	12
2.2 PREPARAZIONE DEI VETRINI	13
2.3 ANALISI ANATOMICHE DEL LUME CELLULARE E DELLE PUNTEGGIATURE	13
2.4 MACERAZIONE DELLE TRACHEIDI	14
3 RISULTATI E DISCUSSIONE	15
4 CONCLUSIONI	22
RINGRAZIAMENTI	23
BIBLIOGRAFIA	24

## RIASSUNTO

Il trasporto dell'acqua nelle specie legnose avviene attraverso lo xilema che, nelle conifere, è costituito essenzialmente da tracheidi. Queste cellule hanno le estremità chiuse e comunicano con quelle adiacenti attraverso delle aperture nella parete chiamate punteggiature areolate. La rete di trasporto, quindi, si configura come complesso sistema di condotti in cui l'acqua segue un percorso tortuoso attraverso le piccole aperture delle punteggiature. E' evidente quindi, il ruolo che tali strutture rivestono nel determinare l'efficienza del trasporto idraulico complessivo.

L'obiettivo di questo lavoro è indagare la variazione assiale delle caratteristiche anatomiche delle punteggiature in un esemplare di *Sequoiadendron giganteum*. L'esemplare oggetto dello studio è alto 94,8m e si trova nel Sequoia National Park, nella Sierra Nevada. I campioni sono stati forniti da Cameron Williams dell'Università della California, Berkeley (US).

Le misure sono state condotte dalla base all'apice della pianta fino a 1,5cm dalla gemma apicale, fornendo quindi un'analisi lungo tutto il fusto dell'albero. Mediante analisi microscopiche, dopo preparazione dei campioni estratti dall'ultimo anello legnoso, sono stati misurati i seguenti caratteri anatomici: ampiezza del lume cellulare, lunghezza delle tracheidi, numero totale delle punteggiature per tracheide, area del margo, area del toro ed area dell'apertura della punteggiatura.

I risultati dimostrano che vi è un aumento del lume delle tracheidi in direzione basipeta (ossia le cellule più ampie sono verso la base del fusto). L'andamento di variazione può essere ben rappresentato da una legge potenza e l'esponente di scala ( $b$ ) è circa 0.2 che è simile a quanto misurato in altre specie. Vi è una relazione iper-allometrica tra lunghezza della tracheide e suo diametro ( $b=1,3$ ). I diametri di camera, apertura, toro e margo variano assialmente con un coefficiente di scala simile ( $b= 0,1$ ) in funzione della distanza dall'apice della pianta. Se si sommano le aree permeabili del margo (ossia di tutte le punteggiature in ogni tracheide) e si mettono in relazione con l'area del lume della stessa tracheide emerge una relazione perfettamente isometrica. Questo significa che il peso relativo della resistenza delle punteggiature è una frazione costante rispetto alla resistenza determinata dal lume della tracheide.

## ABSTRACT

Water-transport in woody species occurs through the xylem, which in conifers consists of closed ended cells, called tracheids. Thus water must travel laterally between adjacent cells through bordered pits in their side walls. The xylem network can be regarded as a number of closely packed cylindrical tubes in which water flows through small openings. Therefore pits occupy a crucial role in determining the efficiency of the overall hydraulic transport.

The aim of this work is to investigate the axial variation of pits in a *Sequoiadendron giganteum* tree. The sample of this study is 94,8m tall and is located in the Sequoia National Park, in the Sierra Nevada mountains. Wood samples were provided by Cameron Williams of the University of California, Berkeley (US).

Measurements from the base to the apex, up to 1,5cm from the apical bud, were conducted, providing an analysis along the entire stem axis. After preparing the sections from the last earlywoody ring, the following anatomical features were quantified by microscopic analysis: cells lumen diameter, tracheids length, total number of pits per cell, margo area, torus area and pits aperture area.

The results show that tracheids lumen increases towards the stem base (larger cells are at the tree bottom). Variation of conduit diameter is predicted to be a power law, where the exponent ( $b$ ) assumes a value of about 0.2, which is similar in other plants.

The findings show that between tracheid length and diameter there is an iper-allometry relationship ( $b=1,3$ ). Pits chamber, aperture, torus and margo diameter axially scale with a similar scaling exponent ( $b= 0,1$ ) versus the distance from three top. A perfectly isometric relationship was found between the margo permeable areas (the total number of pits per tracheid) and the lumen area for the same cell. This means that the relative weight of pits resistance is a constant fraction of the resistance determined by tracheids lumen.

# 1 INTRODUZIONE

## 1.1 IL TESSUTO DI CONDUZIONE DELL'ACQUA NEGLI ALBERI

L'acqua ha per le piante un ruolo essenziale nella fotosintesi, nella distribuzione delle molecole organiche ed inorganiche e conseguentemente, nel processo di crescita (McElrone *et al.* 2013). La maggior quantità d'acqua assorbita dalle piante evapora dagli stomi come conseguenza della necessità per la pianta di fissare la CO<sub>2</sub> atmosferica. Quest'acqua viene trasportata alle foglie mediante il tessuto di conduzione (lo xilema) che è organizzato in una serie di condotti cavi (cellule) che svolgono la funzione di trasporto. Nelle gimnosperme tali cellule prendono il nome di tracheidi.

Il flusso della linfa grezza delle tracheidi dello xilema può essere espresso utilizzando l'equazione generale del trasporto, per cui il flusso ( $F$ ) dipende dal gradiente di potenziale idrico ( $\Delta\Psi$ ) e dalla conducibilità del mezzo ( $K_h$ ):

$$F = K_h \cdot \Delta\Psi \quad \text{equazione 1}$$

Secondo la legge di Hagen-Poiseulle,  $K_h$  è inversamente proporzionale alla lunghezza del percorso (ovvero all'altezza della pianta) e proporzionale alla quarta potenza del diametro medio delle cellule.

Quindi, se le dimensioni delle cellule rimanessero invariate, si potrebbe ipotizzare che la crescita in altezza delle piante fosse limitata da un progressivo incremento della resistenza al flusso nello xilema. Tuttavia con l'ontogenesi le piante producono alla base cellule con lume via via più ampio. Questo fenomeno viene denominato come '*cell widening*'. Ciò rende la resistenza idraulica totale praticamente indipendente dall'altezza. La variazione del diametro dei condotti in relazione alla distanza dall'apice sembra avere un andamento ben spiegabile da una funzione potenza del tipo:

$$Dh = a \cdot L^b \quad \text{equazione 2}$$

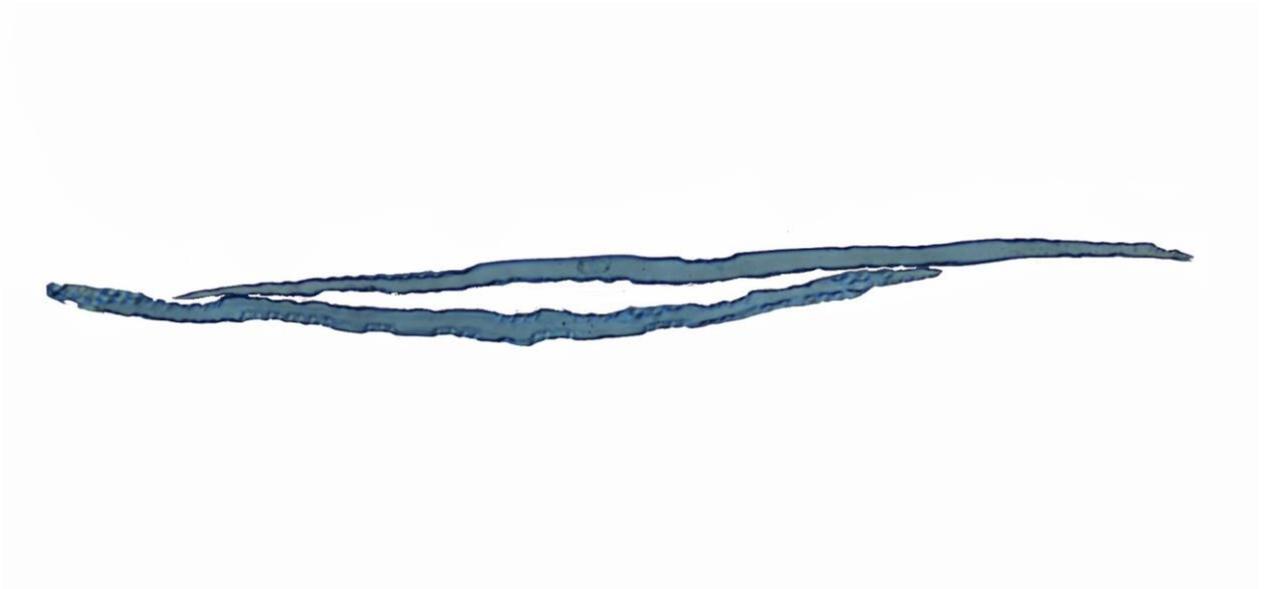
dove  $Dh$  è il diametro del condotto xilematico,  $a$  la costante allometrica,  $L$  la distanza dall'apice e  $b$  l'esponente di scala, ossia il grado di '*widening*'.



**Figura 1.1** Variazione del diametro delle tracheidi del legno primaticcio dell'ultimo anello di accrescimento. Sezioni trasversali, ingrandimento 500x (dall'alto verso il basso rispettivamente: 94,8, 90, 60, 20 m).

Per le piante l'esponente di scala è all'incirca pari a 0,20 e rappresenta il minimo grado di rastremazione necessario a superare l'effetto negativo dell'aumento della resistenza idraulica (Petit *et al.* 2008, 2010) dovuta alla crescita in altezza. Il 'widening' dei condotti xilematici, ovvero il progressivo allargamento dei condotti verso le radici, è stato ampiamente studiato e il tasso di allargamento è stato dimostrato essere simile in piante di differente altezza e specie (Olson *et al.* 2014; Petit *et al.* 2008, 2009, 2010; Coomes *et al.* 2007; Anfodillo *et al.* 2006; Weitz *et al.* 2006; Leicht 2001).

In generale l'allargamento del lume cellulare è di un fattore 4-5 nelle piante di grande altezza (60-80m). Quindi se all'apice le tracheidi sono di circa 10  $\mu\text{m}$  di diametro alla base troveremo cellule di 40-50  $\mu\text{m}$  di diametro. Tale variazione è particolarmente evidente nel legno primaticcio se si analizzano specie di ambiente temperato/boreale. La lunghezza delle tracheidi varia anch'essa ed è compresa fra 6mm e 0,5mm a seconda della posizione assiale nella pianta.

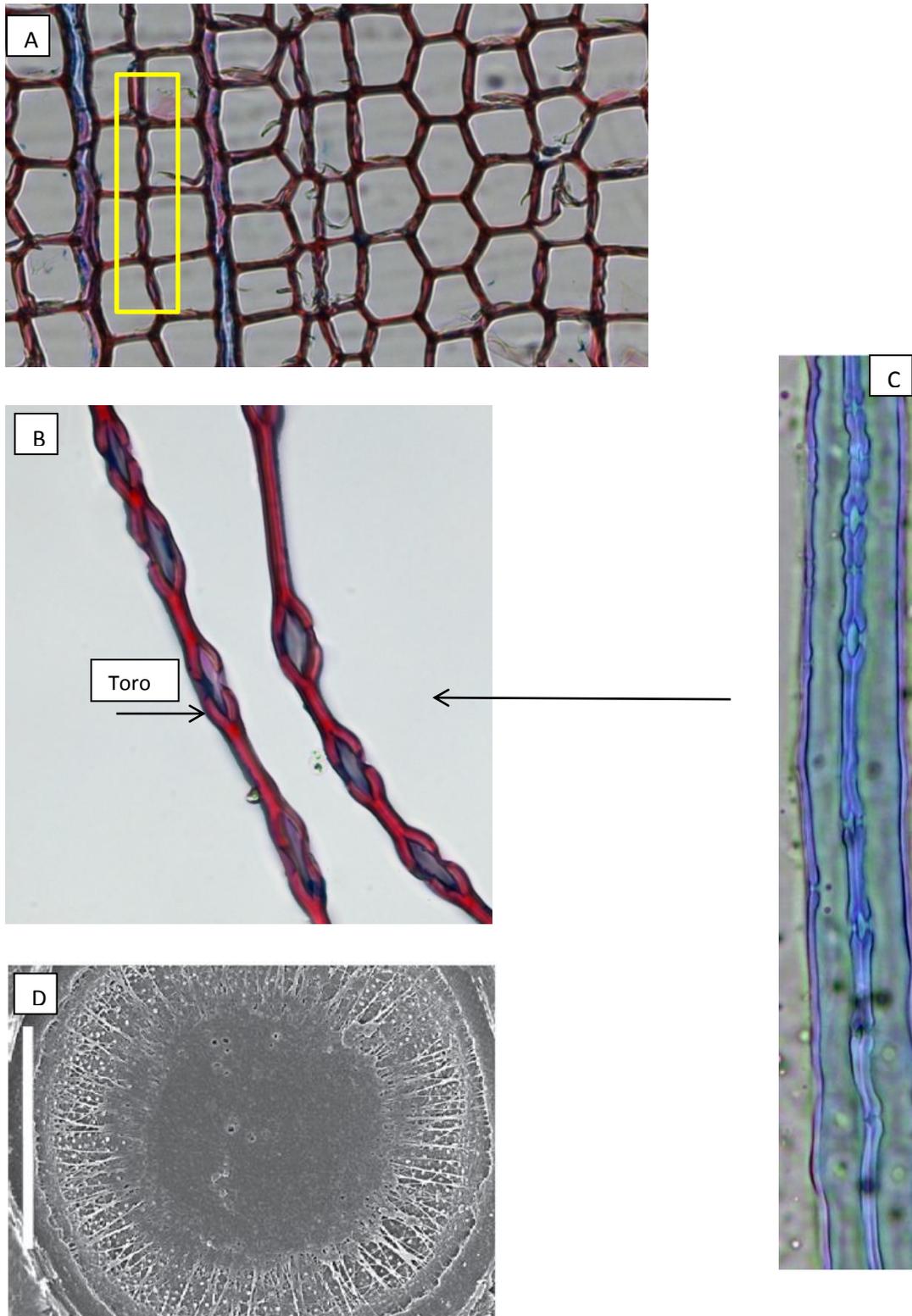


**Figura 1.2** Coppia di tracheidi in seguito a separazione mediante macerazione. Lunghezza:  $\sim 0,72\text{mm}$ , diametro  $\sim 10,36\ \mu\text{m}$  (campione 94,8 m di altezza, ovvero 1,5 cm dall'apice dell'albero).

## 1.2 LE PUNTEGGIATURE NELLE TRACHEIDE

Le estremità delle tracheidi sono rastremate e chiuse (Siau 1971). Esse pertanto sono interconnesse dalle punteggiature. L'acqua entra in una tracheide dalla coppia di punteggiature di un'estremità, si sposta lungo la cellula, ed esce dalla coppia dell'estremità opposta. Vari sono i tipi di punteggiatura a seconda delle cellule adiacenti, nel caso di due tracheidi adiacenti, le punteggiature si dicono 'areolate' (Nardi Berti 1994). Esse sono situate principalmente sulle pareti radiali delle tracheidi, disposte in file singole a formare quelle che vengono chiamate 'collane di perle' (Nardi Berti 1994). In genere le punteggiature nel legno primaticcio sono più grandi e più numerose rispetto a quelle nel legno tardivo (Jinxing 1989).

Il numero di punteggiature per tracheide può variare assialmente da 50 a 250 a seconda della specie e della posizione assiale nella pianta. La punteggiatura areolata nelle tracheidi delle conifere è formata da un innalzamento a volta della parete secondaria che delimita la camera, ovvero una cavità. Nelle conifere la camera della punteggiatura ha un diametro compreso tra i 7  $\mu\text{m}$  e i 47  $\mu\text{m}$  nel legno primaticcio. Entrambe le pareti secondarie presentano un'apertura, l'orifizio della punteggiatura. La membrana della punteggiatura è formata dalle pareti primarie e dalla lamella mediana di due tracheidi adiacenti. Nella maggior parte delle gimnosperme la membrana della punteggiatura presenta due regioni distinte. Quella centrale consiste in un ispessimento lenticolare, detto 'toro', che è ritenuto essere impermeabile. L'esterno della membrana, il margo, è invece poroso e consente il movimento di acqua (Choat, Cobb e Jensen. 2007). Il margo della punteggiatura è costituito da una rete di microfibrille di cellulosa ed emicellulosa in una matrice di polisaccaridi di pectina (Boyce *et al.* 2004; Bauch e Berndt. 1973; Thomas e Nicholas. 1968). Il margo presenta pori con diametro mediamente di 200nm (Liese e Johann. 1954).



**Figura 1.3** Struttura dello xilema e delle punteggiature. (A) Sezione trasversale che mostra le tracheidi collegate da punteggiature situate sulle pareti radiali (campione 20m). Lunghezza: 6 mm e diametro 43µm. (B) Collana di punteggiature (campione 60m). (C) Coppia di tracheidi con punteggiature (campione 94,8 m). (D) Toro punteggiato, scala = 5 µm (Jansen *et al.* 2012)

La resistenza idraulica totale dello xilema è data dalla somma di due resistenze: la resistenza del lume delle tracheidi e delle punteggiature. Rispetto alla resistenza delle tracheidi il contributo delle punteggiature è più problematico da stimare. Ciò in parte è dovuto alle dimensioni micrometriche che rendono difficoltosa la misurazione delle loro caratteristiche anatomiche. Non sono molte le informazioni circa il numero e la distribuzione delle punteggiature, specialmente in direzione assiale. Le punteggiature infatti sono situate sulla parete radiale delle tracheidi. Infine non è ancora stato chiarito bene in che misura la dimensione dell'apertura della camera e la permeabilità del margo influiscano sulla resistenza totale della punteggiatura.

Secondo Sperry (*et al.* 2006) il rapporto fra resistenza delle punteggiature e quella del lume sarebbe costante. In particolare, i dati sperimentali evidenziano che nelle gimnosperme il contributo della parete radiale ammonta circa il 64% della resistenza idraulica totale, ovvero della somma della resistenza del lume e delle punteggiature. Lancashire (*et al.* 2002) invece sostiene che il contributo della resistenza delle punteggiature aumenti con il diametro delle tracheidi: essa quindi rappresenterebbe un fattore limitante la crescita in ampiezza delle tracheidi.

Vista l'importanza che le punteggiature rivestono nel determinare l'efficienza complessiva del trasporto e quindi della produttività della pianta è essenziale avere informazioni anatomiche più dettagliate relativamente a questi caratteri. L'obiettivo principale di questo lavoro è di verificare se le dimensioni delle punteggiature varino assialmente come il lume delle tracheidi. L'analisi è stata condotta lungo il fusto di un albero di grande altezza con un campionamento specifico atto a tener conto della forte variazione nelle parti distali. Le informazioni potranno chiarire se le punteggiature rappresentino un 'collo di bottiglia' al trasporto nelle piante di grandi dimensioni oppure se gli alberi siano in grado di mantenere un 'aggiustamento ottimale' di tutte le caratteristiche anatomiche.

## 2 MATERIALI E METODI

### 2.1 Sito di raccolta e scelta dell'albero campione

Il presente lavoro di ricerca è stato svolto su un esemplare di sequoia (*Sequoiadendron giganteum*) denominato Brunelleschi alto 94,8 m dal quale sono state campionate alcune carote di legno del diametro di 10mm a varie altezze lungo il fusto (Tab. 1).

L'esemplare si trova nel Sequoia National Park sulle montagne della Sierra Nevada, in California. I campioni sono stati forniti da Cameron Williams del laboratorio del prof. Todd Dawson dell'università della California, Berkeley (US), che ha raccolto le carote legnose arrampicandosi sull'albero (tree climbing). Il materiale è stato quindi spedito nel laboratorio del TESAF.

	Altezza campionamento carota	Distanza dall'apice
Brunelleschi	94.4	0.4
Brunelleschi	92.3	2.5
Brunelleschi	90.0	4.8
Brunelleschi	85.0	9.8
Brunelleschi	80.0	14.8
Brunelleschi	75.0	19.8
Brunelleschi	70.0	24.8
Brunelleschi	60.0	34.8
Brunelleschi	50.0	44.8
Brunelleschi	40.0	54.8
Brunelleschi	30.0	64.8
Brunelleschi	20.0	74.8
Brunelleschi	10.0	84.8
Brunelleschi	3.0	91.8

## **2.2 Preparazione dei vetrini**

Per facilitare il taglio ed evitare rotture del legno, i campioni prima di venire tagliati, sono stati fatti bollire in acqua per qualche minuto. Mediante l'uso di microtomo rotativo sono state tagliate una sezione radiale, una trasversale ed una tangenziale per ciascun campione, mediamente dello spessore di 20 $\mu$ m. Le sezioni sono state colorate con una soluzione contenente safranina ed astrablu in uguali percentuali in acqua. La safranina si lega alla lignina, mentre l'astrablu si lega alla cellulosa e in questo modo è possibile, in base alla composizione del tessuto, visualizzare meglio al microscopio la parti in esame. Infatti, a seguito di questo processo, il toro si colora di blu e risulta facilmente distinguibile all'interno della punteggiatura, che invece diviene di colore rosa. Il colorante viene fatto agire qualche minuto e successivamente rimosso con risciacqui di acqua. I campioni sono stati poi disidratati con soluzioni di alcol, prima al 50% e poi al 70%. Una volta asciugati i campioni è stato applicato il balsamo fissante (Gartner e Schweingruber, 2013).

## **2.3 Analisi anatomiche del lume cellulare e delle punteggiature**

Le sezioni sono state osservate con un microscopio ottico (Nikon Eclipse 80i, Tokio, Japan) a un ingrandimento di 400x. Nel caso delle sezioni tangenziali è stato usato l'ingrandimento 500x per visualizzare meglio il toro. Mentre si procede alla visualizzazione e analisi delle sezioni al microscopio è possibile contemporaneamente fotografarle, il microscopio è collegato ad un monitor sul quale è possibile visualizzare quello che contemporaneamente si osserva al microscopio. Per le sezioni trasversali è stata scattata per ciascun campione l'immagine dell'ultimo anello di accrescimento del fusto. Infatti secondo recenti studi sono gli ultimi anelli a contribuire a >50% del totale flusso di acqua ( Domec *et al*, 2006). Nelle sezioni trasversali le tracheidi appaiono come cellule subpoligonali a pareti più o meno spesse e a lume cellulare più o meno ampio. Sono state analizzate un centinaio di aree del lume delle tracheidi per ciascuna differente altezza. Le sezioni tangenziali sono state ingrandite a 500x per visualizzare meglio il toro. Da ciascuna sezione di ciascun campione sono state fotografate dieci

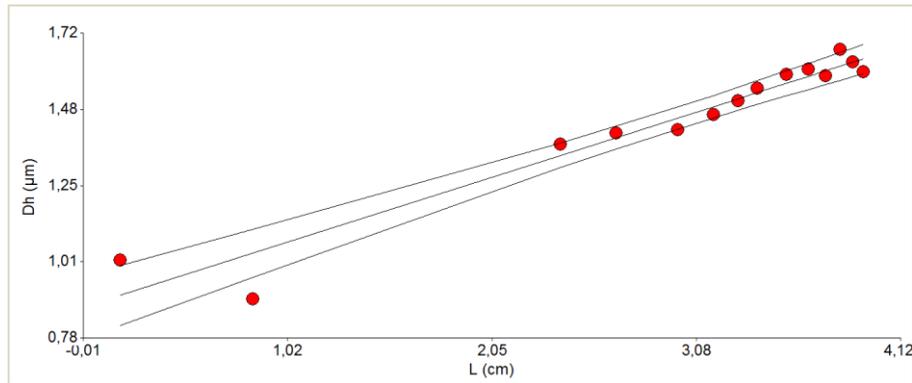
punteggiature che avessero il toro e l'apertura ben visibili e distinti. Per effettuare le misure anatomiche delle punteggiature è stato usato *ImageJ*.

#### **2.4 Macerazione delle tracheidi**

Per misurare la lunghezza delle tracheidi sono state tagliate sezioni radiali dello spessore di un paio di millimetri. Le sezioni radiali provenivano da quattro altezze sulla pianta: 20, 70, 90 e 94,78m. I campioni sono stati fatti bollire per un'ora in acqua distillata. Successivamente sono stati fatti macerare con bollitura per alcune ore in una soluzione di perossido di idrogeno al 40%, acido acetico e acqua distillata in parti uguali. Questa soluzione va a delignificare il legno e sciogliere la lamella mediana che unisce le singole tracheidi. Sui vetrini è stato disteso del tessuto permeabile all'acqua, ma non al colorante. Le soluzioni contenenti le tracheidi ormai separate le une dalle altre sono state trasferite con una pipetta sui vetrini dove il tessuto impedisce che i successivi risciacqui di acqua lavino via le cellule (Gärtner e Schweingruber. 2013). Le successive fasi della preparazione dei vetrini seguono le indicazioni di Gärtner e Schweingruber (2013) precedentemente utilizzate e descritte al paragrafo 2.2. Per l'analisi anatomica della lunghezza delle cellule e il numero di punteggiature contenute in esse è stato utilizzato il programma *ImageJ*. Sono stati utilizzati ingrandimenti a 100x e a 200x, a secondo della nitidezza dei campioni. Dato il tempo che l'operazione di macerazione richiede sono state considerate soltanto quattro altezze. Esse però sono rappresentative: una alla base, una circa a metà del fusto, una nella parte terminale ed infine una distante 1,5 cm dalla gemma apicale. Inoltre vista la difficoltà di ottenere cellule intatte in tutta la loro lunghezza, l'analisi è stata ristretta a sole tre tracheidi per altezza.

### 3 RISULTATI E DISCUSSIONE

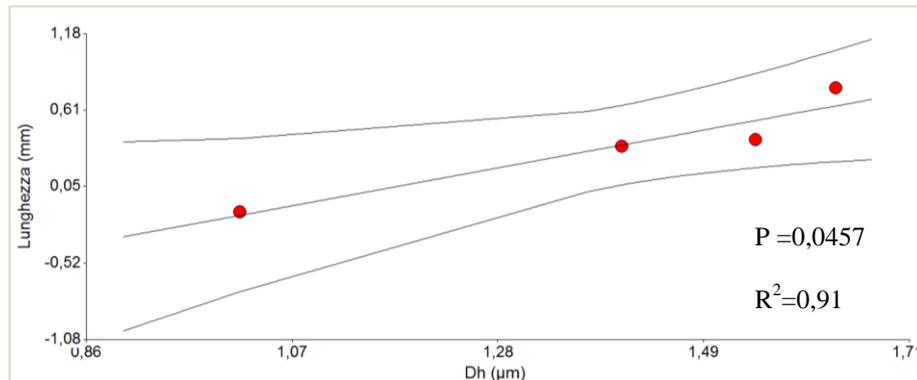
Come atteso, il lume delle tracheidi (Dh) aumenta in direzione basipeta con una funzione potenza che graficata in log-log appare come una retta (Figura 3.1). L'esponente della potenza è  $b = 0,20$  che è compatibile con la compensazione idraulica per la crescita in altezza.



**Figura 3.1** Variazione del diametro idraulico delle tracheidi (Dh) vs. della distanza dall'apice (L). Assi del grafico in scala log-log. CI 95%: 0,16-0,23.  $P < 0,0001$ .  $a = 7.5$  micron.  $R^2 = 0,94$ . Il campione prelevato a 3 m dal suolo (91,8 m dall'apice) è stato escluso dall'analisi in quanto il diametro dei condotti in esso misurati era inferiore rispetto a quelli misurati sul campione prelevato a 10 m dal suolo (84,8 m dall'apice). L'esclusione di questo campione è giustificata dal fatto che l'area del lume dei condotti in prossimità del colletto è inferiore a causa di una risposta a meccanismi di stress meccanici (Spicer e Gartner, 2001).

Questo significa che per effetto del 'widening' la conducibilità totale lungo la pianta è mantenuta approssimativamente costante. La forma complessiva delle tracheidi cambia significativamente: infatti la lunghezza (L) scala con un esponente  $> 1$  (1,31) rispetto al Dh. Tale relazione può essere espressa con  $L \propto Dh^{1,3}$ . Questo significa che le cellule più ampie sono proporzionalmente più lunghe. Tale relazione è l'opposto di quella che si verifica negli alberi in cui, invece  $L \propto D^{2/3}$ , dove D è il diametro, L l'altezza dell'albero e l'esponente  $b < 1$ . Seppure con soli quattro punti la relazione sembra indicare un esponente  $b = 1,31$  e si avvicina al  $b = 1,5$  predetto dal modello della resistività idrodinamica di Lancashire ed Ennos (2002). Inoltre i risultati riportati nella figura 3.2 sono in accordo con precedenti studi condotti da Hacke e Jansen (2009) dove, confrontando la variazione del diametro vs. la lunghezza delle tracheidi in *Abies balsamea*, *Picea glauca* e *Picea mariana*, è stato riportato  $b = 0,77$  e  $R^2 = 0,93$ . Infatti

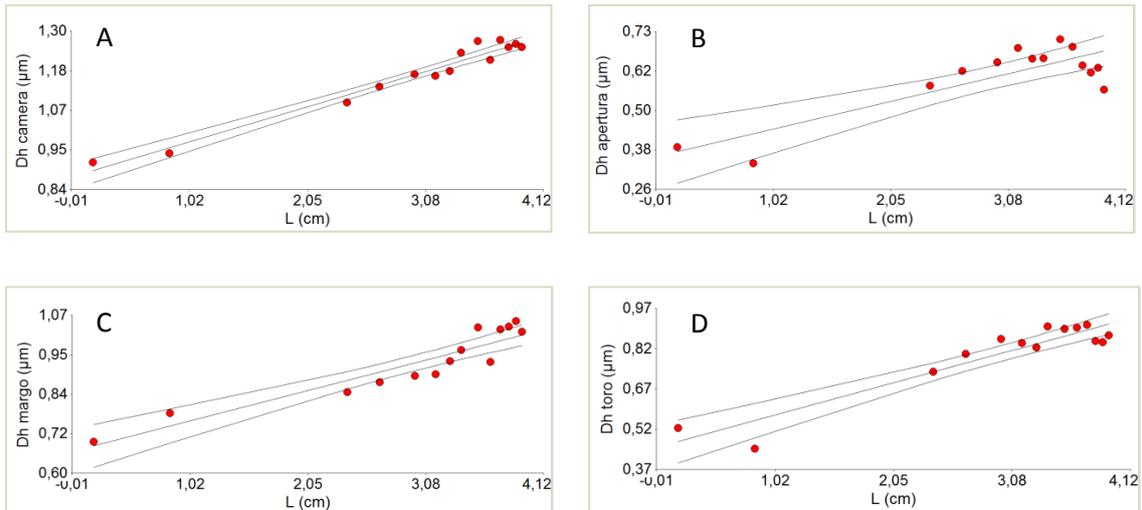
graficando il diametro idraulico vs. la lunghezza delle tracheidi (ovvero l'inverso del grafico 3.2) risulta  $b=0,69$ .



**Figura 3.2** Scaling allometrico tra lunghezza della tracheide e Dh.  $\mu\text{m}$  per i campioni dei 20, 70, 90, 94,78m di altezza. Assi in scala logaritmica.  $a=0,03$  CI 95%: 0,06-2,56.

L'organizzazione complessiva con cui le tracheidi sono disposte a formare lo xilema rende possibile il fatto che le cellule crescano proporzionalmente più in lunghezza che in diametro. Infatti, una singola tracheide è sostenuta meccanicamente da altre 3-5 tracheidi, essendo essa di forma poligonale.

Come detto, il passaggio dell'acqua avviene anche attraverso le punteggiature situate sulla parete radiale delle tracheidi. Quindi la resistenza delle punteggiature si aggiunge a quella del lume. E' possibile ipotizzare che le dimensioni delle punteggiature e il loro numero scalino in modo da mantenere un contributo costante alla resistenza totale come suggerito da Sperry (2006). Tutte le caratteristiche strutturali delle punteggiature variano assialmente, ovvero con la distanza dall'apice, in modo significativo e con esponenti relativamente simili (figura 3.3). Il diametro della camera, il diametro del margo e il diametro del toro scalano con L con un  $b \sim 0,1$ .



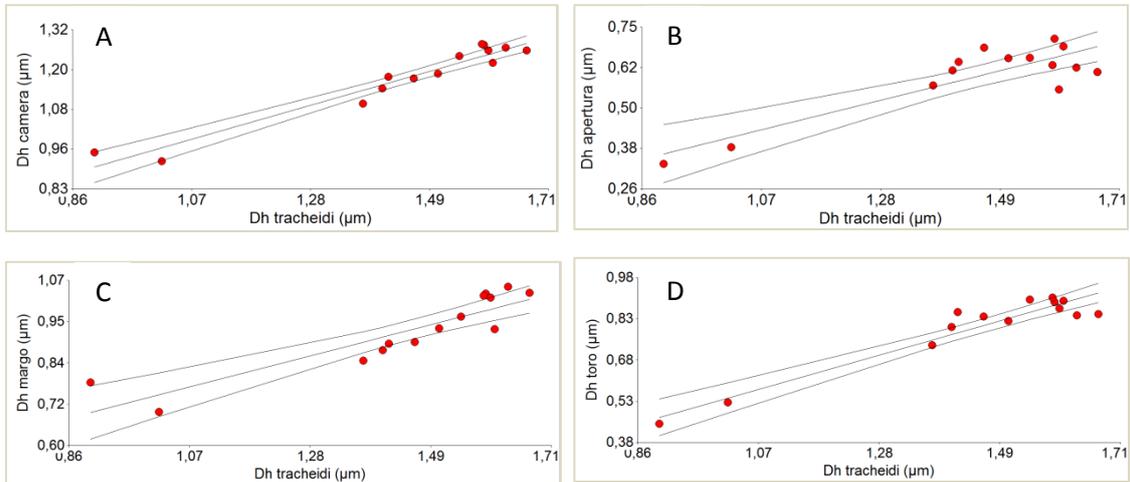
**Figura 3.3** Variazione delle caratteristiche anatomiche delle punteggiature ( $\mu\text{m}$ ) in funzione della distanza dall'apice (L). Assi in scala logaritmica. (A) Diametro apertura.  $R^2=0,72$ . (B) Diametro camera.  $R^2=0,97$  (C) Diametro margo.  $R^2=0,87$ . (D) Diametro toro.  $R^2=0,88$ .  $b=0,1$ . CI 95% 0,09-0,4.  $P < 0,0001$ .

I dati sperimentali confermano quindi che la variazione delle caratteristiche anatomiche delle punteggiature segue un andamento potenza correlato a quello del diametro delle tracheidi. Le misure effettuate in prossimità degli apici, ovvero a  $-0,7\text{m}$  e  $-0,015\text{m}$  dalla gemma apicale, evidenziano una diminuzione marcata delle dimensioni delle punteggiature (figura 3.3), che, come detto, è caratteristico degli andamenti a funzione di potenza. Il contributo delle parti più distali è quindi essenziale per la comprensione dell'andamento complessivo delle caratteristiche anatomiche delle punteggiature. Precedenti studi condotti senza misure in prossimità degli apici, non avevano evidenziato alcuna variazione dell'anatomia delle punteggiature (Domec *et al.* 2008).



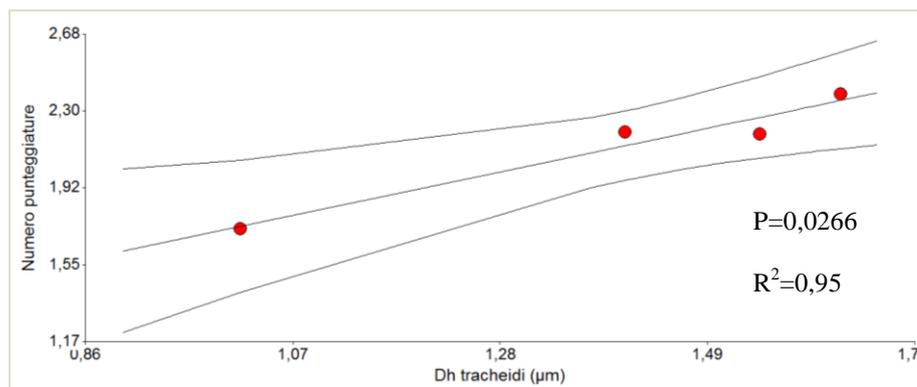
**Figura 3.4** Variazione assiale delle tracheidi e delle punteggiature in sezioni tangenziali. Ingrandimento 500x (dall'alto verso il basso: campione 94,8 m , 90m, 20m).

Similmente, vista la relazione tra L delle punteggiature e Dh, tutti i parametri anatomici scalano in accordo con il diametro delle tracheidi (figura 3.5) con esponenti simili di circa 0,5.



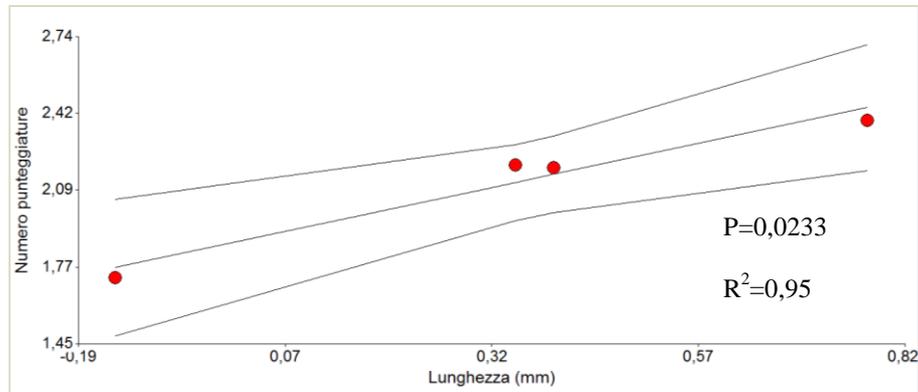
**Figura 3.5** Variazione del diametro delle caratteristiche anatomiche delle punteggiature ( $\mu\text{m}$ ) in funzione del diametro delle tracheidi ( $\mu\text{m}$ ).  $P < 0,0001$ . Assi in scala logaritmica. (A) Diametro del toro.  $b=0,59$ . CI 95%: 0,48-0,70.  $R^2=0,92$ . (B) Diametro del margo.  $b=0,42$ . CI 95%: 0,29-0,54.  $R^2=0,81$ . (C) Diametro camera.  $b=0,48$ . CI 95%: 0,41-0,56. (D) Diametro apertura.  $b=0,42$ . CI 95%: 0,27-0,56.

Dal momento che le dimensioni delle punteggiature scalano meno di meno delle tracheide, è stato esaminato come il numero delle punteggiature vari dall'apice verso la base. E' risultato che il numero di punteggiature cresce linearmente ( $b=1,00$ ) con il diametro idraulico (figura 3.6).



**Figura 3.6** Scaling allometrico fra numero di punteggiature e diametro idraulico ( $\mu\text{m}$ ) delle tracheidi per i campioni dei 20, 70, 90, 94,78m di altezza. Assi in scala logaritmica.  $a=5,21$ . CI 95%: 0,28-1,72.

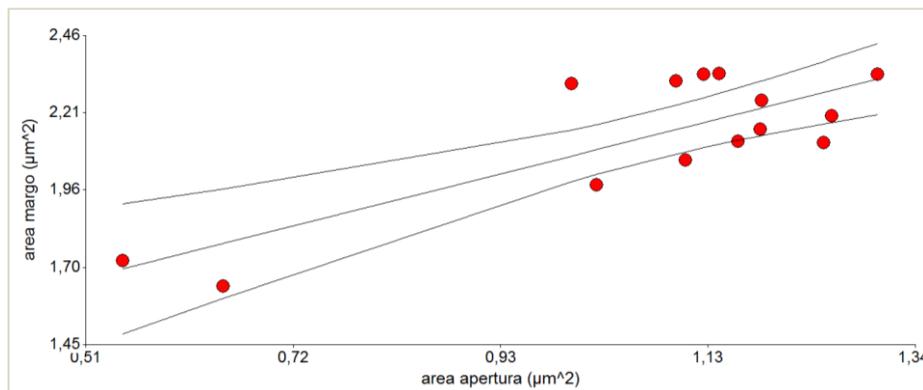
Il numero di punteggiature aumenta con la lunghezza delle tracheidi, ma meno che proporzionalmente (figura 3.7).



**Figura 3.7** Scaling allometrico fra numero di punteggiature lunghezza delle tracheidi (mm) per i campioni dei 20, 70, 90, 94,78m di altezza. Assi in scala logaritmica.  $b=0,73$ . CI 95%: 0,24-1,22.  $a=74,7$

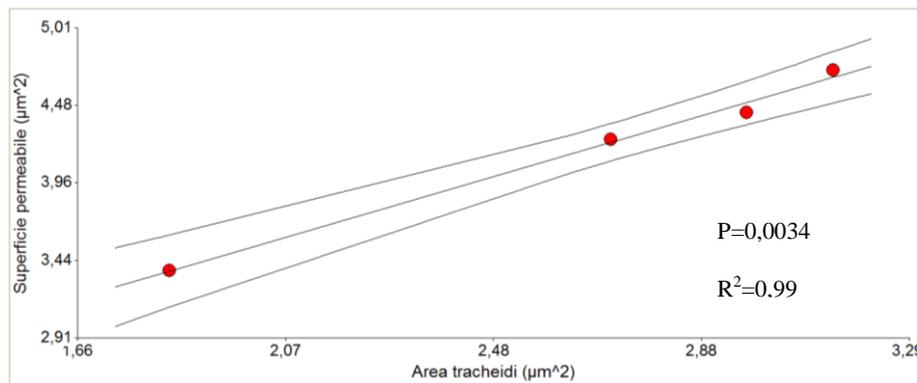
La densità delle punteggiature diminuisce con il  $D_h$  e quindi le punteggiature sono mediamente più dense nelle tracheidi all'apice. L'esponente con cui aumenta la densità è pari al doppio di quello con cui cresce il diametro idraulico rispetto alla lunghezza delle tracheidi. Ciò fa pensare che il massimo diametro raggiungibile da una tracheide non sia limitato dalle punteggiature e che quindi la resistenza delle stesse non cresca con il diametro delle cellule, come invece Lancashire (*et al.* 2002) aveva ipotizzato.

E' naturale anche attendersi delle variazioni sincrone tra i caratteri di un singolo elemento delle punteggiature. Ad esempio vi è una relazione tra l'area del margo e l'apertura (figura 3.8).



**Figura 3.9** Variazione dell'area del margo vs. l'area dell'apertura ( $\mu\text{m}^2$ ). Assi in scala logaritmica.  $P < 0,0001$ . Area margo.  $b = 0,82$ . CI 95%: 0,45-1,20.  $R^2=0,66$ .

Un aspetto particolarmente importante è chiarire come mai molti autori (ad esempio Sperry *et al.* 2006) riportano che la resistenza delle punteggiature è una frazione costante della resistenza totale dello xilema. I dati in nostro possesso ci hanno consentito di calcolare l'area totale permeabile delle punteggiature come area del margo delle singole punteggiature moltiplicate per il loro numero totale. Questa superficie è stata messa in relazione con l'area del lume alla stessa altezza. Ne è emersa una relazione lineare (figura 3.9). Il rapporto tra la superficie permeabile e l'area della tracheide è costante e quindi l'efficienza di trasporto idrico viene mantenuta durante l'ontogenesi della pianta. Questo è in accordo con la teoria di Sperry *et al.*(2006) secondo cui la conduttività della punteggiatura è una frazione costante di quella della tracheide, e quindi la resistenza delle punteggiature non costituirebbero nessun 'collo di bottiglia' al flusso perchè le due permeabilità ( lume e punteggiatura) scalano isometricamente.



**Figura 3.9** Superficie permeabile calcolata come rapporto fra numero di punteggiature e area del margo vs. l'area delle tracheidi ( $\mu\text{m}^2$ ) per le altezze dei 20, 70, 90 e 94,78m. Assi in scala logaritmica.  $b= 1,00$ . CI 95%: 0,75-1,25.  $a=0,03$ .

## 4. CONCLUSIONI

Questo studio ha analizzato la variazione assiale delle caratteristiche anatomiche dei condotti e delle punteggiature in un esemplare di *Sequoiadendron giganteum*.

L'esemplare di sequoia studiato è tra i più alti della specie (94,8 m), e la sua altezza è prossima alle piante più alte del pianeta, ragione per cui i risultati di questo studio, seppur limitati ad osservazioni condotte su un solo individuo, sono originali. Inoltre, il campionamento lungo il fusto della sequoia è stato condotto dalla base all'apice, anche questo fatto di novità in quanto precedenti studi si erano limitati ad analisi lungo il fusto, ma fermandosi molto distante dall'apice.

I risultati evidenziano che camera, apertura, toro e margo delle punteggiature variano assialmente in modo significativo con un esponente di scala di circa 0,1 rispetto a L. E' stato dimostrato che la lunghezza delle tracheidi aumenta con il Dh, in accordo con quanto riportato dai dati sperimentali di Hacke e Jansen (2009) ( $L \propto Dh^{1,3}$ ) e dal modello teorico di Lancashire ed Ennos (2002) ( $L \propto Dh^{1,5}$ ). Si è osservato infine come la superficie permeabile delle tracheidi (lume) e quella delle punteggiature (somma dell'area del margo) varino in maniera isometrica lungo l'asse della pianta a confermare che il contributo alla resistenza delle punteggiature è costante. Le piante, quindi, costituiscono gli elementi conducenti in modo che le caratteristiche idrauliche si 'aggiustino' in modo ottimale alle diverse altezze.

## **RINGRAZIAMENTI**

Desiro ringraziare Cameron Williams del laboratorio del prof. Todd Dawson dell'università della California, Berkeley (US), che ha raccolto le carote legnose e le ha spedite al laboratorio di ecofisiologia vegetale del TESAF.

## BIBLIOGRAFIA

**Anfodillo T, Petit G, Crivellaro A. 2013.** Axial conduit widening in woody species: a still neglected anatomical pattern. *IAWA Journal*, 34: 352-364.

**Anfodillo T, Deslauriers A, Menardi R, Tedoldi L, Gai P, Rossi S. 2011.** Widening of xylem conduits in a conifer tree depends on the longer time of cell expansion downwards along the stem. *American Journal of Botany*, 63: 2117-2126.

**Anfodillo T, Carraro V, Carrer M, Fior C, Rossi S. 2006.** Convergent tapering of xylem conduits in different woody species. *New Phytologist*, 169: 279-290.

**Bauch J, Berndt H. 1973.** Variability of chemical composition of pit membranes in bordered pits of gymnosperms. *Wood Science and Technology*, 7: 6–19.

**Bettiati D, Petit G, Anfodillo T. 2012.** Testing the equi-resistance principle of the xylem transport system in a small ash tree: empirical support from anatomical analyses. *Tree Physiology*, 32: 171-177.

**Boyce CK, Zwieniecki MA, Cody GD, Jacobsen C, Wirick S, Knoll AH, Holbrook NM. 2004.** Evolution of xylem lignification and hydrogel transport regulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 101: 17555–17558.

**Burgess SO, Pittermann J, Dawson TE. 2006.** Hydraulic efficiency and safety of branch xylem increases with height in *Sequoia sempervirens* (D. Don) crowns. *Plant, Cell and Environment*, 29: 229-239.

**Choat B, Cobb AR, Jansen S. 2009.** Structure and function of bordered pits: new discoveries and impacts on whole-plant hydraulic function. *New Phytologist*, 182: 675-686.

**Coomes DA, Jenkins KL, Cole LES. 2007.** Scaling of tree vascular transport system along gradients of nutrient supply and altitude. *Biology Letters*, 3: 86–89.

**Domec JC, Lachenbruch B, Meinzer FC, Woodruff DR, Warren JM, McCulloh KA. 2008.** Maximum height in a conifer is associated with conflicting requirements for xylem design. *PNAS*, 105: 12069-12074.

- Domec JC, Lachenbruch B, Meinzer FC. 2006.** Bordered pit structure and function determine spatial patterns of air-seeding thresholds in xylem of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*; Pinaceae) trees. *American Journal of Botany*, 93: 1588-1600.
- Gärtner H. e Schweingruber FH. 2013.** Microscopic preparation techniques for plant stem analysis. *Kessel Publishing House, Remagen*, 30-32.
- Hacke UG, Jansen S. 2009.** Embolism resistance of three boreal conifer species varies with pit structure. *New Phytologist*, 182: 675-686.
- Hacke UG, Sperry JS, Pittermann J. 2004.** Analysis of circular bordered pits function II. Gymnosperm tracheids with torus-margo pit membranes. *American Journal of Botany*, 91: 386-400.
- Jansen S, Lamy JB, Burlett R, Cochard H, Gasson P, Delzon S. 2011.** Plasmodesmatal pores in the torus of bordered pits membranes affect cavitation resistance of conifer xylem. *Plant, Cell and Environment*, 35: 1109-1120.
- Jinxing L. 1989.** Distribution, size and effective aperutre area of the inter-tracheid pits in the radial wall of *Pinus radiata* tracheids. *IAWA Bulletin n.s.*, 10: 53-58.
- Lancashire JR, Ennos AR. 2002.** Modelling the hydrodynamic resistance of bordered pits. *Journal of Experimental Botany*, 53: 1485-1493.
- Liese W, Johann I. 1954.** Experimentelle Untersuchungen über die Feinstruktur der Hoftüpfel bei den Koniferen. *Naturwissenschaften*, 41: 579-579.
- Leicht MA. 2001.** Vessel-element dimensions and frequency within the most current growth increment along the length of Eucalyptus globules stems. *Trees*, 15: 353-357.
- McElrone AJ, Choat B, Gambetta GA, Brodersen CR. 2013.** Water uptake and transport in vascular plants. *Nature Education Knowledge*, 4: 6.
- Nardi Berti R. 1994.** La struttura anatomica del legno ed il riconoscimento dei legnami italiani di più corrente impiego. *Consiglio Nazionale delle Ricerche. Istituto del Legno, Firenze*, 25-48.

**Olson EM, Anfodillo T, Rosell AJ, Petit G, Crivellaro A, Isnard S, Calixto LG, Alvarado-Cardenas LO, Castorena M. 2014.** Universal hydraulics of the flowering plants: vessel diameter scales with stem length across angiosperm lineages, habits and climates. *Ecology letters*, 17: 891-1052.

**Petit G, Pfautsch S, Anfodillo T, Adams MA. 2010.** The challenge of tree height in *Eucalyptus regnans*: when xylem tapering overcomes hydraulic resistance. *New Phytologist*, 187: 1164-1153.

**Pittermann J, Sperry JS, Hacke UG, Wheeler JK, Sikkema EH. 2006.** Inter-tracheid pitting and the hydraulic efficiency of conifer wood: the role of tracheid allometry and cavitation protection. *American Journal of Botany*, 93: 1265-1273.

**Sperry JS, Hacke UG, Pittermann J. 2006.** Size and function in conifer tracheids and angiosperm vessels. *American Journal of Botany*, 93: 1490-1500.

**Siau JF. 1971.** Flow in wood. *Syracuse wood science series*, 11-34.

**Siau JF. 1984.** Transport Processes in Wood. *Springer Series in Wood Science*, 40-52.

**Thomas RJ, Nicholas DD. 1968.** Ultrastructure of pinoid pit in southern yellow pine. *Tappi*, 51: 84-88.

**Weitz JS, Ogle K, Horn HS. 2006.** Ontogenetically stable hydraulic design in woody plants. *Funct. Ecol*, 20: 191-199.

**West GB, Brown JH, Enquist BJ. 1999.** A general model for the structure and allometry of plant vascular systems. *Nature*, 400: 664-667.

**Zimmermann MH. 1983.** *Xylem structure and the ascent of sap*. Berlino, Germania: Springer-Verlag.