

بررسی تغییرات آناتومی و بیومتری چوب‌کشتی صنوبر (*Populus alba*) تحت اثر تیمارهای خم متناوب، کوددهی نیتروژن و هورمون جیبرلین

چکیده

صنوبر از جمله گونه‌های پرکاربرد در صنعت کاغذسازی می‌باشد و نیاز به تولید چوب آن به‌صورت زراعت چوب و بررسی عوامل مؤثر در ویژگی‌های بیومتری الیاف، آناتومی، فیزیکی، شیمیایی چوب آن بسیار حائز اهمیت است. از جمله عکس‌العمل‌های درختان چوبده از جمله صنوبر به تنش‌ها و عوامل محیطی، تشکیل چوب واکنشی (چوب‌کشتی) در ساختار چوب آن‌ها می‌باشد. چوب‌کشتی منبع غنی از سلولز است که می‌توان با تولید درختانی با چوب‌کشتی بیشتر، میزان سلولز بیشتری را برای مصارف فراوان سلولز از جمله تولید کاغذ و یا سوخت‌های زیستی در اختیار داشت. هدف از این تحقیق، تحریک تشکیل چوب‌کشتی در نهال‌های دوساله صنوبر (*Populus alba*) به‌وسیله اعمال خم متناوب، کوددهی نیتروژن (NPK) و هورمون جیبرلین (G) می‌باشد. اعمال خم به‌صورت متناوب یک ماه در یک‌جهت و ماه بعدی در جهت مخالف در طول فصل رویش، تیمار کود یک‌بار در اول و یک‌بار در وسط فصل رویش و تیمار جیبرلین یک‌بار اوایل فصل رویش اعمال شدند. پس از پایان فصل رویش ویژگی‌های رویشی، فیزیکی و آناتومی موردبررسی قرار گرفت. بررسی رنگ‌آمیزی دوگانه سافرانین/آسترابلو در تصاویر مقطع عرضی نمونه‌ها نشان داد که به‌طورکلی تیمارهای تحت خم متناوب نسبت به تیمارهای قائم دارای سطح چوب‌کشتی و ضخامت لایه ژلاتینی بیشتری بودند. همچنین، تیمار خم متناوب با NPK+G دارای دانسیته بیشتر، هم‌کشیدگی طولی بیشتر، هم‌کشیدگی شعاعی و مماسی کمتر، قطر آوند و درواقع میانگین مساحت آوند کمتر، تخلخل کمتر، طول الیاف و ضخامت دیواره بیشتر، قطر کلی و قطر حفره الیاف کمتری بود. این نتایج اظهار داشت که این تیمار بیشترین اثر را در تحریک چوب‌کشتی داشت و شدت تشکیل چوب‌کشتی در این نمونه‌ها بیشتر بود.

واژگان کلیدی: صنوبر، آناتومی چوب، چوب‌کشتی، خم متناوب، نیتروژن، جیبرلین، لایه ژلاتینی.

رحمت اله گرگیج^۱
کامبیز پورطهماسی^{۲*}
رضا معالی امیری^۳
علی عبدالخانی^۴

^۱ دکتری تخصصی بیولوژی و آناتومی چوب، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج

^۲ استاد گروه علوم و صنایع چوب و کاغذ، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج

^۳ استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج

^۴ دانشیار گروه علوم و صنایع چوب و کاغذ، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج

مسئول مکاتبات:
pourtahmasi@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۵/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۷/۱۵

مقدمه

ساختار چوب آن‌ها می‌باشد. چوب واکنشی تشکیل شده در پهن برگان را چوب‌کشی می‌نامند. چوب‌کشی در سمت بالای تنه تحت خم تشکیل می‌شود و منجر به ویژگی‌های رویش نامتقارن می‌شود و برای در موقعیت درست قرار گرفتن تنه بکار گرفته می‌شود [۳]. علاوه برافزایش قابل‌توجه در تقسیمات سلول‌های کامبیومی، چوب‌کشی یک آناتومی تغییر یافته دارد و الیاف در آن دارای یک‌لایه دیواره سلولی دومین ژلاتینی غنی از سلولز اند [۴]. چوب‌کشی منبع غنی از سلولز است که می‌تواند با تولید درختانی با چوب‌کشی بیشتر، میزان سلولز بیشتری را برای مصارف فراوان سلولز از جمله تولید کاغذ و یا سوخت‌های زیستی در اختیار داشت. ساختار و مرفولوژی چوب‌کشی از چوب نرمال متفاوت است. بلورینگی (کریستالیت) سلولز در چوب‌کشی افزایش می‌یابد، درصد لیگنین کمتر است و ظهور ریزمنافذ با قطر ۶۱ آنگستروم مشاهده می‌شود. درصد بالای سلولز کریستالی در سمت کشی، درصد لیگنین آن کمتر و همچنین فراوانی ریزمنافذ باعث دسترس‌پذیری آنزیمی و بازده بالای استخراج سلولز در هیدرولیز آنزیمی می‌شود [۵]. بنابر کاربردهای ویژه چوب‌کشی که از درصد بالای سلولز آن ناشی می‌شود، می‌توان از آن به‌عنوان یک محصول هدف در زراعت چوب استفاده کرد و با روش‌های تحریک‌کننده تشکیل چوب‌کشی میزان تولید آن را در حین تشکیل چوب در درخت افزایش داد. مطالعات زیادی بر روی تحریک چوب برای تشکیل چوب‌کشی و ویژگی‌های آناتومی، شیمیایی، فیزیکی آن انجام شده است. در صنوبر، چوب‌کشی به‌وسیله رویش نامتقارن با تقسیم سلولی تسریع شده در ناحیه کامبیومی و کاهش در تعداد عناصر آوندی تولید شده و منجر به تولید الیاف ویژه چوب‌کشی (دارای لایه ژلاتینی در دیواره سلولی) می‌گردد [۶ و ۷]. لایه ژلاتینی در صنوبر عمدتاً شامل سلولز کریستالی با میکروفیبریل‌های جهت گرفته موازی با محور الیاف است [۸ و ۹]. تشکیل لایه ژلاتینی یکی از مشخصه‌های چوب‌کشی است، چون لایه ژلاتینی در الیاف چوب واکنشی با استفاده از رنگ‌آمیزی مضاعف سافرانین-آسترابلو به رنگ آبی درمی‌آیند، با استفاده از میکروسکوپ نوری می‌توان آن‌ها را مشاهده کرد.

امروزه چوب در کشورهایی که سطح ناچیزی از آن‌ها پوشیده از جنگل است (از جمله ایران) به‌عنوان یکی از مواد اولیه مهم صنایع مطرح می‌باشد؛ بنابراین، نیاز به درک بهتر از روابط بین شرایط رشد، فیزیولوژی تولید، میزان تولید چوب و زیست‌توده و ویژگی‌های چوب برای پیش‌بینی اثرات آن‌ها بر خواص کاربرد نهایی چوب و تولید الیاف وجود دارد. چوب دارای پلیمرهای غنی از کربن مانند سلولز، همی‌سلولزها و لیگنین‌ها است. عمده کربن تولید شده به‌واسطه فتوسنتز در درخت، در سلول‌های چوب ذخیره و تثبیت می‌شود [۱]. در صنعت امروز، چوب به‌عنوان ماده اولیه لیگنوسلولزی در تولید محصولات متنوعی استفاده می‌شود ولی با این‌وجود جبران کمبود این موهبت خدادادی، نیاز به برنامه‌ریزی و توجه بیشتری دارد. جنگل‌کاری‌های دست‌کاشت صنوبر یکی از راه‌حل‌های کاربردی برای جبران کمبود منابع لیگنوسلولزی در کشور می‌باشد. جنس صنوبر از خانواده بید و دارای ۴۰ گونه شامل سپیدار (*Populus alba*)، تبریزی (*Populus nigra*)، پده (*Populus euphratica Oliv*)، صنوبر لرزان (*Populus tremola*)، صنوبر اورامریکن (*Populus euramericana*)، صنوبر دلتوئیدس (*Populus deltoeides*) و سایر گونه‌های دورگه (هیبرید) می‌باشد. صنوبر از جمله گونه‌های پرکاربرد در صنعت کاغذسازی می‌باشد و نیاز به تولید چوب آن به‌صورت دست‌کاشت و بررسی عوامل مؤثر در ویژگی‌های بیومتری الیاف، آناتومی، فیزیکی، شیمیایی چوب آن بسیار حائز اهمیت است. گونه‌های مورد کاربرد در جنگل‌های طبیعی و دست‌کاشت، تحت شرایط مختلف محیطی قرار دارند و عوامل محیطی زیادی درختان را مورد تنش قرار داده و بر رویش آن‌ها مؤثر هستند.

در طول دوره زندگی‌شان، گیاهان دائماً محرک‌های مکانیکی محیطی را مانند باد، باران، وزن برف یا تماس با دیگر گیاهان و حیوانات را تجربه می‌کند. گیاهان قادرند با استفاده از درک فشارهای مکانیکی و اصلاح رشدشان بر طبق آن بر این فاکتورهای محیطی چیره شوند [۲]. از جمله عکس‌العمل‌های درختان چوبده از جمله صنوبر به تنش‌ها و عوامل محیطی، تشکیل چوب واکنشی در

بیشتر شد. در نمونه‌های تحت تنش خم، دانسیته افزایش و هم کشیدگی طولی افزایش ولی هم کشیدگی شعاعی و مماسی کاهش یافت [۱۳]. بررسی تنه‌های جوان صنوبر تحت تیمار خم یک جهت کنترل شده چندمرحله‌ای (اعمال چند مرتبه تیمار خم به صورت مقطعی) به مدت ۸ هفته نشان داد که تنه‌های صنوبر در پاسخ به این تنش، در مقطع عرضی بیضوی شکل شدند [۱۴].

نیترژن برای رشد سریع در گونه‌های صنوبر ضروری است. برای زراعت چوب موفق، ارزیابی عملکرد رشد و کارایی استفاده نیترژن تحت رژیم‌های نیترژن متفاوت ضروری است [۱۵]. در تحقیقی، اثر افزایش عرضه نیترژن بر روی لیگنینی شدن چوب صنوبر با اعمال کوددهی نیترژن در طول دوره تشکیل چوب‌کشی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که عرضه نیترژن بالا، رنگ‌آمیزی لیگنین را در چوب دومین تازه تشکیل شده کاهش داد که نشان‌دهنده تحت تأثیر قرار گرفتن لیگنینی شدن بود. همچنین نتایج نشان داد که تحریک گرانشی برای تشکیل چوب‌کشی و دسترسی بالای نیترژن منجر به اثرات مشابه و اضافی بر روی ساختار و مقدار لیگنین می‌شود [۱۶]. مطالعه اثر غنی کردن دی-اکسید کربن آزاد و کوددهی نیترژن بر آناتومی جوان چوب سه گونه از صنوبر (*P. euramericana*, *P. alba*, *P. nigra*) بعد از جنگل‌کاری با اعمال کوددهی به صورت یک‌بار در هفته از ۸ جولای شروع و برای یک دوره ۱۶ هفته‌ای انجام شد. در سه کلن صنوبر بیشتر ویژگی‌های آناتومی و رویشی الگوی واکنش نایک‌نواختی را برای افزایش دی‌اکسید کربن و کوددهی نیترژن نشان دادند. در *P. nigra* کوددهی منجر به افزایش دو برابری در چوب‌کشی شد اما در کلن‌های دیگر به این شکل نبود [۱۷]. Pitre و همکاران (۲۰۰۷b) اثرات تیمار کوتاه‌مدت نیترژن بر روی تشکیل چوب و ویژگی‌های فیبر در صنوبر هیبریدی (*Populus trichocarpa* × *deltoides*) را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که در اثر تیمار کوتاه‌مدت، گیاه با اعمال تغییراتی در مرفولوژی فیبر چوب و ساختار دیواره سلولی خود را به دسترس پذیری نیترژن سازگار می‌کند. در اثر تیمار، نسبت به نمونه شاهد، طول فیبرها کمتر و پهنای آن‌ها بیشتر شد. ضخیم شدن معنی-داری در دیواره‌های سلولی فیبر و ایجاد لایه دیواره سلولی

Lashkarbolouki و همکاران (۲۰۱۵) با استفاده از روش نمونه‌گیری سطحی در درختان چندگونه صنوبر سرپا در چند رویشگاه به اندازه‌گیری طول الیاف و دانسیته تر در سه بخش نزدیک پوست، بخش میانی و نزدیک مغز درخت پرداختند. نتایج نشان داد که میانگین طول الیاف و دانسیته تر سه بخش *P. alba* به ترتیب برابر با ۸۹۸ میکرون و ۰/۷۷ بود [۱۰]. بررسی‌های Sayar و Tarmian (۲۰۱۰) بر روی تأثیر شکل‌گیری چوب‌کشی در گونه تبریزی (*P. nigra*) بر ویژگی‌های آناتومی آن نشان داد که فراوانی و قطر آوندها در چوب نرمال بیشتر از چوب‌کشی است. در مقابل، فراوانی اشعه چوبی در چوب‌کشی بیشتر از چوب نرمال بود. برخلاف طول اشعه چوبی، پهنای اشعه در چوب‌کشی در مقایسه با چوب نرمال بیشتر بوده است [۱۱]. مطالعات میکروسکوپ الکترونی نیز نشان داد که حفره سلولی بیشتر فیبرهای چوب‌کشی با لایه ژلاتینی مسدود هستند. در مطالعه مشابه دیگری بر روی همین‌گونه، نتایج نشان داد که الیاف چوب‌کشی از طول و ضخامت دیواره بیشتر، قطر کلی و قطر حفره کمتر در مقایسه با چوب نرمال برخوردار هستند و در نتیجه نسبت رانکل و نسبت لاغری بیشتری در مقایسه با الیاف چوب نرمال دارند. در مقابل، الیاف چوب نرمال نسبت به الیاف چوب‌کشی نسبت انعطاف‌پذیری بالاتری داشتند [۱۲].

Jourez و همکاران (۲۰۰۱) در مطالعه‌ای خواص آناتومی چوب‌کشی و مقابل ایجاد شده در *P. euramericana* cv 'Ghoy' را به وسیله خم کردن تا زاویه ۳۰ درجه مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که الیاف چوب‌کشی نسبت به چوب مقابل بلندتر بوده و قطر مماسی کمتری داشتند و از طرفی فراوانی و تخلخل آوندها در مقطع عرضی در چوب‌کشی کمتر از چوب نرمال مقابل بود [۶].

Fung و همکاران (۲۰۰۶) مطالعه‌ای را بر روی ارتباط تنش‌های رشد در درختان خمیده صنوبر *Populus deltoides* Bartr. cv. "Lux" ex I-69/55 با ویژگی‌های چوب مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که تحت تنش خم، طول الیاف افزایش و قطر حفره به طور جزئی افزایش، قطر کلی الیاف کاهش و ضخامت دیواره الیاف که لایه ژلاتینی از آن‌ها استخراج شده بود کاهش داشت، همچنین فراوانی آوندی کاهش و فراوانی الیاف و اشعه‌ها

در شرایط تقریباً متقارن حلقه رویش در تشکیل چوب صنوبر دوساله بررسی شد.

مواد و روش‌ها

کاشت نهال‌ها و اعمال تیمارها

در این تحقیق گونه صنوبر (*Populus alba*) دوساله تحت تیمارهای کود NPK، تیمار هورمون جیبرلین و خم متناوب در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه تهران قرار گرفتند. تیمار کود مایع نیتروژن (5-5-30 NPK) در درختان دوساله صنوبر در سایت درخت‌کاری به صورت تیمار دومرحله‌ای، یک‌بار در اول فصل رویش و یک‌بار در وسط فصل رویش به صورت ۳۰۰ میلی‌لیتر محلول ۴۰ گرم در لیتر از کود به خاک اطراف نهال اعمال شده است. تمام نمونه‌ها به‌طور منظم و هفتگی آبیاری شدند. تشکیل چوب‌کشی باخم کردن متناوب ساقه اصلی نهال‌ها به میزان ۴۵ درجه از محور عمودی نهال در حین فصل رویش القا شد. در هر ماه جهت خم در یک سمت و در ماه بعدی در خلاف جهت، خم صورت گرفت. نمونه‌های قائم بدون اعمال تیمار به عنوان نمونه کنترل در نظر گرفته شدند. تیمار هورمون جیبرلین به‌طور منفرد در اوایل فصل رویش به صورت محلول ۳۰۰ میلی‌لیتری با غلظت ppm ۵۰۰ وزنی/وزنی جیبرلین در آب مقطر به خاک اطراف نهال اضافه شد. تیمارها به دو شکل مستقل و ترکیبی اعمال شدند.

نمونه‌برداری

نهال‌ها در پایان فصل رویش قطع شدند و از ارتفاع ایجاد خم برای تمامی نهال‌ها، نمونه‌گیری برای آزمون‌های موردنظر انجام شد. از نمونه قطع شده در پایان فصل رویش برای بررسی‌های میکروسکوپی و آناتومی استفاده شد. برای بررسی میکروسکوپی، نمونه‌های بافت چوبی جدا شده از هر نهال درون فرمالین استیک اسید الکل (FAA) نگهداری شدند. پوست و مغز نمونه‌های باقیمانده حذف شدند.

داخلی غنی از سلولز (لایه ژلاتینی) مشاهده شد [۱۸]. همچنین Pitre و همکاران (۲۰۱۰) بر اساس بررسی کوددهی زیاد نیتروژن و خم کردن تنه به صورت مجزا و در تیمارهای باخم بر روی تشکیل چوب در صنوبر (*Populus trichocarpa × deltoids*) بیان نمودند که هر یک از تیمارها دیواره‌های سلول ضخیم‌تری نسبت به نمونه شاهد داشتند. نیتروژن زیاد فیبرهایی کوتاه‌تر، درحالی‌که خم کردن فیبرهایی بلندتر را در درخت ایجاد کرد. در هر دو تیمار ضخامت دیواره لیاف افزایش یافت. تیمار ترکیبی خم به همراه کوددهی نیتروژن منجر به افزایش طول لیاف و ضخامت دیواره شد [۱۹].

مطالعه Funada و همکاران (۲۰۰۸) تشکیل چوب‌کشی تحریک‌شده با جیبرلین در درختان قائم چهار گونه پهن‌برگ نشان داد که با اعمال جیبرلین، چوب‌کشی همراه با لیاف دارای لایه ژلاتینی در این نمونه‌ها ایجاد می‌شود [۲۰]. مطالعه Jiang و همکاران (۲۰۰۸) بر روی استفاده از جیبرلین‌ها در تشکیل چوب‌کشی در نهال‌های گونه‌های زبان‌گنجشک نشان داد که اعمال جیبرلین به نهال‌های خم‌شده منجر به افزایش نسبت سطح لیاف دارای لایه ژلاتینی به چوب تازه تشکیل شده در حلقه رویش و کاهش فراوانی آوندها در چوب‌کشی شد. همچنین اعمال جیبرلین باعث ایجاد لایه ژلاتینی در هر دو حالت ایستاده و خم نسبت به نمونه شاهد شد ولی ضخامت لایه ژلاتینی در نمونه‌های خمیده بیشتر از نمونه‌های ایستاده بود، با اعمال جیبرلین، ضخامت دیواره افزایش و قطر کلی لیاف و قطر حفره سلولی لیاف کاهش یافت [۲۱]. نتایج حاصل از مطالعه Nugroho و همکاران (۲۰۱۲) بر روی اثر جیبرلین بر تشکیل چوب‌کشی در نهال‌های خم‌شده آکاسیا نشان داد که اعمال جیبرلین منجر به تحریک گرانج منفی و تشکیل چوب‌کشی در تنه‌های خم‌شده نهال آکاسیا می‌شود و همچنین منجر به افزایش ضخامت لایه ژلاتینی در لیاف چوب‌کشی نهال‌های خم‌شده می‌شود [۲۲].

از آنجائی که خم متناوب در هیچ‌یک از تحقیقات پیشین بررسی نشده است، در این مطالعه با تیمار خم متناوب و به همراه کود NPK (نیتروژن، فسفات و پتاسیم) و اعمال هورمون جیبرلین، تحریک تشکیل چوب‌کشی

پهنای حلقه رویشی، پهنای کل ناحیه آبکش، تعداد سلول-های ناحیه کامبیوم، فراوانی آوندی (تعداد آوند در واحد سطح^۱ (VD)، مساحت میانگین (AVLA^۲)، درصد تخلخل (مساحت کل حفره‌های آوندی در واحد سطح^۳ (TVLA) و میانگین قطر شعاعی و مماسی آوندها انجام شدند.

وابری الیاف و اندازه‌گیری ویژگی‌ها و نسبت‌های

بیومتری الیاف

برای اندازه‌گیری ویژگی‌های بیومتری، تراشه‌های چوبی در ابعاد چوب‌کبریت به‌طور تصادفی از حلقه مربوط به فصل رویش مورد مطالعه هر نمونه تهیه شد و وابری به روش فرانکلین انجام شد [۲۴]. پس از رنگ‌آمیزی الیاف وابری‌شده با محلول سافرانین، از هر نمونه ۳ اسلاید میکروسکوپی حاوی الیاف آماده شد. در نهایت با گذاشتن لام‌ها در زیر میکروسکوپ، با بزرگنمایی‌های مختلف عکس‌برداری انجام شد. پس از عکس‌برداری از اسلایدها زیر میکروسکوپ و انتقال عکس‌ها به نرم‌افزار ImageJ، طول، ضخامت دیواره و قطر کلی و قطر حفره سلولی ۱۰۰ فیبر اندازه‌گیری شد و نسبت‌های کاغذسازی (لاغری، نرمش و رانکل) بر اساس معادله‌های زیر محاسبه شدند.

$$\text{Slenderness} = \frac{L}{D} \quad (۳)$$

$$\text{Flexibility} = C/D \times 100 \quad (۴)$$

$$\text{Flexibility} = \frac{2F}{C} \quad (۵)$$

که L = طول فیبر D = قطر فیبر C = قطر حفره سلولی P = قطر یک‌طرف دیواره فیبر می‌باشند.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به‌دست‌آمده از این تحقیق (آنالیز واریانس و مقایسه میانگین‌ها در آزمون دانکن با سطح اطمینان ۹۵ درصد) با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد.

نتایج و بحث

اندازه‌گیری وزن مخصوص بحرانی و هم کشیدگی

نمونه‌ها

جهت اندازه‌گیری دانسیته و هم کشیدگی، مکعب‌های چوبی از نمونه‌ها که محورهای ارتوتروپیک و هندسی در آن‌ها کاملاً بر هم منطبق بودند، تهیه شد. برای اندازه‌گیری دانسیته و مقادیر هم کشیدگی چوب، ابتدا نمونه‌ها پس از کدگذاری به مدت یک هفته داخل آب غوطه‌ور شدند تا تحت اشباع کامل از آب قرار گیرند، سپس با یک ترازوی دیجیتالی با دقت ± 0.01 میلی‌متر وزن شده و ابعادشان در سه جهت طولی، مماسی و شعاعی با کولیس دیجیتالی با دقت ± 0.01 اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها سپس در داخل آون (2 ± 103 درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند و پس از آن، وزن و ابعاد ثانویه آن‌ها اندازه‌گیری شد. با توجه به روابط ۱ و ۲ مقادیر دانسیته پایه و هم کشیدگی در سه جهت اندازه‌گیری شد [۱۵].

$$D_b = \frac{M_{o,d}}{V_s} \quad (۱)$$

$$\% \beta = \frac{D_s - D_{o,d}}{D_s} \quad (۲)$$

که D_b دانسیته پایه (بحرانی) $M_{o,d}$ وزن خشک اجاقی V_s حجم کاملاً واکشیده، $\% \beta$ درصد هم کشیدگی D_s ابعاد اشباع با آب $D_{o,d}$ ابعاد کاملاً خشک اجاقی می‌باشد. اعداد گزارش‌شده برای هر ویژگی میانگینی از سه درخت می‌باشد.

آماده‌سازی مقاطع و اندازه‌گیری ویژگی‌های

آناتومی

حلقه مربوط به فصل رویش مورد مطالعه از دیگر حلقه‌های هر نمونه جدا و در آب مقطر قرار گرفت سپس بلافاصله با استفاده از میکروتوم لغزشی مدل GSL1 ساخت کشور سوئیس، مقاطع میکروسکوپی به ضخامت ۱۰ میکرون تهیه شد و پس از انجام مراحل شستشو در آب ژاول، رنگ‌آمیزی با سافرانین-آسترابلو انجام پذیرفت [۲۳]. لام‌های تهیه‌شده از مقاطع رنگ‌آمیزی‌شده، زیر میکروسکوپ اولیمپوس BH2 مورد مطالعه قرار گرفتند و از آن‌ها عکس تهیه‌شده و در آخر نیز با نرم‌افزار ImageJ مقیاس‌گذاری عکس‌ها و اندازه‌گیری‌های کمی شامل

¹ Vessel Density

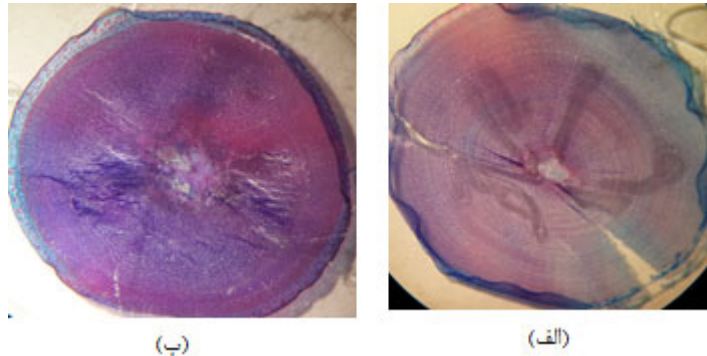
² Average Vessel Lumen Area

³ Total Vessel Lumen Area

در طول فصل رویش باوجود تشکیل چوب‌کشی و ایفای ژلاتینی، از برون مرکزی و نامتقارنی حلقه رویش در اثر خم جلوگیری کرد (شکل ۱).

ویژگی‌های فیزیکی

اعمال خم در اکثر موارد منجر به برون مرکزی و نامتقارنی حلقه رویش می‌شود ولی مشاهده تصاویر مقاطع عرضی نمونه‌ها نشان داد که اعمال خم به صورت متناوب



شکل ۱- مقاطع عرضی نمونه‌ها (الف: نمونه قائم و ب: نمونه تحت خم متناوب)

کشیدگی‌های تیمارها وجود دارد (جدول ۱). در تیمارها نسبت به نمونه شاهد، میزان هم کشیدگی طولی افزایش داشت ($F=17.1, P=0.000$). این امر به دلیل جدا شدن لایه ژلاتینی از دیواره در حین خشک شدن و جمع شدن در نمونه‌های تیمار شده می‌باشد. نمونه‌های خم متناوب همراه با NPK+G به ترتیب با ۲/۷۸، ۱/۴۱ و ۲/۳۹ بیشترین هم کشیدگی طولی و کمترین هم کشیدگی‌های شعاعی ($F=75.2, P=0.000$) و مماسی ($F=64.7, P=0.000$) را داشت. نتایج حاصل با یافته‌های مطالعه Fung و همکاران (۲۰۰۸) مطابقت داشت [۱۳].

نتایج نشان داد از نظر میزان دانسیته، در سطح ۹۵ درصد اختلاف معنی‌داری بین تیمارها وجود دارد و اکثر تیمارها نسبت به نمونه شاهد، با افزایش دانسیته همراه بودند ($F=6.2, P=0.001$). نهال‌های صنوبر قائم تیمار شده با NPK+G، افزایش معنی‌داری را در دانسیته نسبت به نمونه شاهد قائم نداشته و تقریباً دانسیته نزدیکی داشتند. بیشترین میزان دانسیته مربوط به نمونه‌های تحت خم متناوب با NPK + G با ۳۸۵/۲۸ کیلوگرم بر مترمکعب می‌باشد. این نتایج با نتایج Fung و همکاران (۲۰۰۸) مطابقت داشت (جدول ۱) [۱۳].

نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین میزان هم

جدول ۱- مقایسه ویژگی‌های رویشی و فیزیکی نهال‌های صنوبر تحت تیمار خم متناوب، NPK و G (اعداد داخل پرانتز انحراف معیار مربوط به نتایج هر تیمار می‌باشد)

ویژگی	قائم (شاهد)	قائم + NPK	قائم + G	قائم + NPK + G	تحت خم متناوب	تحت خم متناوب NPK +	تحت خم متناوب G+	تحت خم متناوب NPK + G
دانسیته (کیلوگرم بر مترمکعب)	۳۰۰/۶۳ ^a (۱۲/۱۷)	۳۲۸/۵ ^{ab} (۱۷/۱۸)	۳۶۴/۰۶ ^{bc} (۲۹/۴۸)	۳۶۱/۲۷ ^{bc} (۲۵/۲)	۳۷۴/۵۶ ^c (۱۰/۷۱)	۳۶۰/۲ ^{bc} (۲۸/۲۷)	۳۷۱/۴۳ ^c (۲/۵۴)	۳۸۵/۲۸ ^c (۷/۸۴)
هم کشیدگی طولی	۰/۷۴ ^a (۰/۴۲)	۱/۴۳ ^b (۰/۲۴)	۱/۵۵ ^{bc} (۰/۱۵)	۲/۲۱ ^d (۰/۴)	۱/۰۴ ^{ab} (۰/۲)	۲/۰۱ ^{cd} (۰/۱۹)	۲/۳۱ ^{dc} (۰/۳۵)	۲/۷۸ ^c (۰/۴۳)
شعاعی	۷/۴۵ ^f (۰/۴۶)	۳/۳۱ ^c (۰/۳)	۵/۴۳ ^c (۰/۳۵)	۵/۰۵ ^{dc} (۰/۴۷)	۲/۱۶ ^b (۰/۴۲)	۵/۱۶ ^{dc} (۰/۴۵)	۴/۴۹ ^d (۰/۷)	۱/۴۱ ^a (۰/۱۳)
مماسی	۹/۲۹ ^d (۰/۴)	۸/۱۲ ^c (۰/۷۵)	۷/۹۹ ^c (۰/۵۸)	۶/۱۳ ^b (۰/۴۶)	۳/۲۶ ^a (۰/۱۴)	۶/۷۱ ^b (۰/۴)	۷/۹ ^c (۰/۷۵)	۲/۳۹ ^a (۰/۴۴)

ویژگی‌های آناتومی

پهنای حلقه رویش در تمامی تیمارهای تحت خم متناوب که بدون برون مرکزی بودند، نسبت به نمونه شاهد کمتر بود و این امر می‌تواند به دلیل تنش بودن نهال و فعالیت و تقسیم سلولی کمتر ناحیه کامبیوم و به ازای آن الیاف با لایه ژلاتینی و تشکیل چوب‌کشی جهت مقاوم کردن ساقه در مقابل تنش خم باشد. اختلاف معنی‌داری در میانگین پهنای حلقه تیمار در فصل رویش مورد بررسی مشاهده شد ($F=112.6, P=0.000$). در مقابل در تیمارهای قائم، پهنای حلقه رویش نسبت به نمونه شاهد بیشتر بود ولی چوب‌کشی با شدت کمتری از نمونه‌های تحت خم تشکیل شد. در تمامی تیمارها با اضافه کردن NPK و G، منجر به افزایش پهنای حلقه رویش شد. تیمار تحت خم متناوب با ۱۲۶۰ میکرون کمترین و تیمار قائم + G با ۴۲۵۷ میکرون بیشترین پهنای حلقه رویش را داشتند.

نتایج نشان دادند که داده‌های پهنای ناحیه آبکش در تیمارهای مختلف، اختلاف معنی‌داری داشت ($F=13.1, P=0.000$) و تقریباً مشابه نتایج حاصل از پهنای حلقه رویش بودند. پهنای بافت آبکشی در نمونه‌های تحت خم کمتر و در نمونه‌های قائم بیشتر از نمونه شاهد بود. بیشترین پهنای بافت آبکش مربوط به نمونه‌های قائم + NPK با ۱۲۷۲ میکرون و کمترین پهنای بافت آبکش مربوط به نمونه‌های تحت خم متناوب + G با ۵۰۷ میکرون بود.

به‌طور کلی تعداد سلول‌های ناحیه کامبیومی در تمامی تیمارها نسبت به تیمار شاهد قائم کمتر بود و کمترین تعداد سلول ناحیه کامبیومی مربوط به نهال تحت خم متناوب با اعمال جیبرلین بود. این امر می‌تواند به دلیل افزایش تقسیمات سلولی و افزایش تعداد بافت زمینه فیبری در چوب‌کشی باشد.

مساحت میانگین آوندها در نمونه‌ها در سطح ۹۵ درصد تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($F=18.2, P=0.000$). میانگین مساحت آوندها در نمونه‌های تیمار شده دارای چوب‌کشی نسبت به نمونه شاهد کمتر بود. کاهش مساحت آوندها در مقایسه با نمونه شاهد، در نمونه‌های خم متناوب نسبت به نمونه‌های تیمارهای قائم، بیشتر بود. کمترین میزان میانگین مساحت آوند مربوط به نمونه تیمار خم متناوب بود. قطر شعاعی و مماسی آوندها نیز در تمامی تیمارها در ناحیه چوب‌کشی کمتر از چوب نرمال بود. نتایج حاصل با نتایج به‌دست‌آمده از مطالعات Sayar و Tarmian (۲۰۱۰) مطابقت داشت [۱۱].

درصد تخلخل در جدول ۲ ارائه شده است. به دلیل کاهش فراوانی آوندی و قطر و میانگین مساحت آوندها، میزان تخلخل در نمونه‌های تحت خم و تیمار شده نسبت به نمونه شاهد کمتر بود. افزایش فراوانی آوندها در نمونه‌های قائم با تیمارهای متفاوت تأثیر چندانی در افزایش تخلخل نداشت و فقط در نمونه قائم تیمار شده با NPK+G افزایش تخلخل در ناحیه چوب‌کشی نسبت به چوب نرمال مشاهده شد. نتایج حاصل با نتایج Jourez و همکاران (۲۰۰۱) مطابقت داشت [۶].

فراوانی آوندها در نمونه‌های تیمار شده نسبت به نمونه شاهد افزایش یافت و این افزایش در نمونه‌های دارای تیمار خم متناوب شدت بیشتری داشت. نهال‌های خم شده و تیمار شده با ترکیبات شیمیایی مختلف، فراوانی آوندی کمتری را در چوب‌کشی نسبت به چوب نرمال نشان دادند. نتایج حاصل با نتایج Sayar و Tarmian (۲۰۱۰)، Jourez و همکاران (۲۰۰۱) و Fung و همکاران (۲۰۰۶) مطابقت داشت. در حالی که نهال قائم تیمار شده با ترکیبات شیمیایی مختلف فراوانی آوندی بیشتری را در چوب‌کشی نسبت به چوب نرمال نشان دادند [۶، ۱۱ و ۱۲].

جدول ۲- مقایسه ویژگی‌های آناتومی چوب نهال‌های صنوبر تیمار شده باخم متناوب، NPK و G (اعداد داخل پرانتز انحراف معیار مربوط به نتایج هر تیمار می‌باشد)

ویژگی	قائم	قائم + NPK	قائم + G	قائم + NPK + G	تحت خم متناوب	تحت خم متناوب + NPK	تحت خم متناوب + G	تحت خم متناوب + NPK + G
پهنای حلقه رویش (میکرون)	۲۳۸۹/۴۶ ^d (۴۱/۵۶)	۳۹۴۶/۲۳ ^{ef} (۸۹/۳۵)	۴۲۵۶/۹۶ ^f (۲۹۵/۱)	۳۶۳۷/۳۶ ^e (۲۵۴/۷۶)	۱۲۵۹/۶۶ ^a (۶۰/۶۱)	۱۵۷۵/۴۶ ^{ab} (۶۱/۹۴)	۱۶۹۳/۴ ^b (۹۵/۴)	۲۰۴۷/۳ ^c (۱۳۲/۲۸)
پهنای ناحیه آبکش (میکرون)	۷۴۵/۵۳ ^{abc} (۲۴/۶۷)	۱۲۲۰/۹۶ ^d (۲۴۷/۱۹)	۸۴۱/۴۳ ^c (۴۷/۴۶)	۱۲۷۳/۵ ^d (۳۷/۴۲)	۷۳۵/۱۶ ^{abc} (۱۵/۸۵)	۷۶۴/۹۶ ^{bc} (۱۲۷/۶۱)	۵۰۶/۸۶ ^a (۹۵/۸۶)	۵۷۸/۷ ^{ab} (۴۹/۶۷)
تعداد سلول‌های ناحیه کامبیوم AVLA (میکرون) چوب‌کشی	۷	۶	۵	۶	۵	۵	۴	۶
چوب نرمال	۹۹۲/۹ ^{ef} (۱۸/۱)	۱۱۱۲/۷ ^{fg} (۲۲/۵)	۹۶۰/۲ ^{def} (۲۸/۵)	۶۹۴/۹ ^{abc} (۲۳/۵۴)	۱۲۹۷/۴ ^h (۳۰/۹)	۹۵۶/۴ ^{def} (۳۲/۵)	۶۳۹/۵ ^{ab} (۲۹/۸)	۱۲۲۰/۵ ^{def} (۲۶/۱)
VD (تعداد بر میلی‌متر) چوب‌کشی نرمال	۱۸۲	۲۰۲/۴	۲۹۶/۹۶	۳۱۰/۱۴	۲۴۲/۵۲	۳۵۲/۳۳	۴۸۳/۰۴	۲۳۸/۸۸
TVLA (درصد) چوب‌کشی نرمال	۱۸/۰۹	۲۲/۵۲	۲۸/۵۱	۲۱/۵۵	۳۱/۴۶	۳۳/۶۹	۳۰/۸۹	۲۷/۰۵
قطر شعاعی آوند (میکرون) چوب‌کشی نرمال	۲۹/۳ ^{de} (۱۰/۷۶)	۳۳/۷ ^f (۷/۹۳)	۲۹/۴ ^{de} (۱۰/۷۴)	۲۳/۹ ^{ab} (۹/۳)	۳۴/۶ ^f (۱۳/۸۱)	۳۰/۴ ^c (۹/۶)	۲۴/۸ ^{ab} (۸/۱۸)	۲۸/۵ ^{cde} (۱۰/۵)
قطر مماسی آوند (میکرون) چوب‌کشی نرمال	۴۶/۶ ^{def} (۱۳/۲)	۴۹/۱ ^{ef} (۱۱/۵)	۵۰/۸ ^{fg} (۱۶/۶۲)	۳۹ ^{ab} (۱۱/۲۶)	۵۴/۴ ^{gh} (۱۸/۴۸)	۴۶/۵ ^{def} (۱۰/۹۶)	۴۰/۸ ^{abc} (۱۱/۶۳)	۵۸/۵ ^{ef} (۱۶/۸۵)

ویژگی‌ها و نسبت‌های بیومتری الیاف

اندازه‌گیری طول الیاف نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین طول الیاف نمونه شاهد و نمونه‌های تیمار شده وجود دارد (F= 2.956, P= 0.005) و الیاف نمونه‌های

تیمار شده نسبت به نمونه شاهد قائم، از طول بیشتری برخوردار بودند (جدول ۳). الیاف چوب‌کشی نسبت به چوب نرمال دارای طول بیشتری می‌شوند و به دلیل اعمال تنش تحت تیمارهای انجام شده و ایجاد

(۲۰۰۱) و Lou و همکاران (۲۰۰۶) و Hosseinzadeh و همکاران (۲۰۱۵) مطابقت داشت [۶، ۱۲ و ۱۷]. اعمال نیتروژن به نمونه‌های قائم منجر به افزایش طول الیاف و ضخامت دیواره شد که با نتایج Pitre و همکاران (۲۰۰۷a) و (۲۰۱۰) از نظر ضخامت دیواره مطابقت داشت [۱۶ و ۱۹]. و در مورد طول الیاف عکس بود، همچنین تیمار خم متناوب و تیمار ترکیبی خم متناوب به همراه نیتروژن باعث افزایش طول و ضخامت دیواره الیاف شد که با نتایج Pitre و همکاران (۲۰۱۰) مطابقت داشت [۱۹]. نتایج تیمار جیبرلین که موجب افزایش ضخامت دیواره و کاهش قطر کلی و قطر حفره سلولی شد با نتایج Jiang و همکاران (۲۰۰۸) مطابقت داشت [۲۱].

نسبت‌های بیومتری شامل نسبت انعطاف‌پذیری، نسبت رانکل و نسبت لاغری الیاف نمونه‌ها در جدول ۲ ارائه شده است. الیاف چوب‌کشی از نسبت رانکل و نسبت لاغری بیشتر در مقایسه با الیاف چوب نرمال و نسبت انعطاف‌پذیری کمتر از الیاف چوب نرمال برخوردار هستند [۱۲]. نتایج حاصل نشان داد که نمونه‌های تیمار شده به دلیل تشکیل چوب‌کشی، نسبت به نمونه شاهد، دارای نسبت انعطاف‌پذیری کمتر و نسبت رانکل و نسبت لاغری بیشتری بودند. از آنجایی که دیواره ضخیم‌تر الیاف منجر به کاهش قابلیت چاپ پذیری کاغذ حاصله [۱۰] و افزایش ماتی و زبری و بهبود مقاومت و طول پاره شدن کاغذ حاصله [۲۵] می‌شود، انتظار می‌رود که تیمارهای انجام شده با ضخامت دیواره الیاف بیشتر و در نتیجه نسبت رانکل بیشتر، کاغذی با چاپ پذیری کمتر و ماتی و زبری بیشتری تولید کنند. طول بیشتر و قطر کمتر در نمونه‌های تیمار شده منجر به نسبت لاغری بیشتر شد که این امر باعث شکل‌گیری بهتر الیاف روی توری ماشین کاغذ و بهبود کیفیت کاغذ می‌شود [۱۰].

چوب‌کشی در تیمارها به نسبت‌های مختلف، طول الیاف در آن‌ها بیشتر از نمونه شاهد بود. بیشترین طول الیاف مربوط به نمونه‌های تحت تیمار خم متناوب و خم متناوب همراه با NPK+G به ترتیب با میانگین طول ۸۹۵/۸۶ و ۸۳۵/۵۷ میکرون بود. میانگین طول الیاف در نمونه شاهد برابر با ۷۸۶/۲۲ میکرون بود. نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج Jourez و همکاران (۲۰۰۱)، Pitre و همکاران (۲۰۰۷b)، Pitre و همکاران (۲۰۱۰)، Sayar و Tarmian (۲۰۱۰) و Hosseinzadeh و همکاران (۲۰۱۵) مطابقت داشت [۶، ۱۱، ۱۲، ۱۶ و ۱۸].

نتایج میانگین قطر کلی، قطر حفره سلولی و ضخامت دیواره الیاف در جدول ۲ نشان داده شده است. مشخص شد که تفاوت معنی‌داری بین قطر کلی، قطر حفره سلولی وجود داشت ولی تفاوت میانگین ضخامت دیواره الیاف نمونه شاهد و نمونه‌های تیمار شده که دارای چوب‌کشی بودند، معنی‌دار نبود (به ترتیب، $F=3.8, P=0.001$; $F=10.2, P=0.000$; $F=0.85, P=0.546$). الیاف نمونه‌های شاهد در مقایسه با الیاف نمونه‌های تیمار شده از قطر کلی و قطر حفره سلولی بیشتری برخوردار بودند. میانگین قطر کلی و قطر حفره الیاف نمونه‌های شاهد به ترتیب ۲۵/۰۶ و ۱۴/۳۵ میکرون بود، در حالی که نمونه‌های تحت خم متناوب به همراه NPK+G به ترتیب با ۲۰/۹۸ و ۸/۸۵ میکرون، دارای کمترین میزان قطر کلی و قطر حفره سلولی بودند. همچنین، ضخامت دیواره الیاف نمونه‌های تیمار شده نسبت به نمونه شاهد بیشتر بود. میانگین ضخامت دیواره الیاف نمونه شاهد برابر با ۵/۳۵ میکرون و نمونه تحت تیمار خم متناوب با ۶/۲۵ میکرون بیشترین ضخامت دیواره الیاف را دارا بود. این افزایش ضخامت دیواره الیاف به دلیل اضافه شدن لایه با ضخامت زیاد در سطح داخلی الیاف نمونه‌های دارای چوب‌کشی بود. نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج Jourez و همکاران

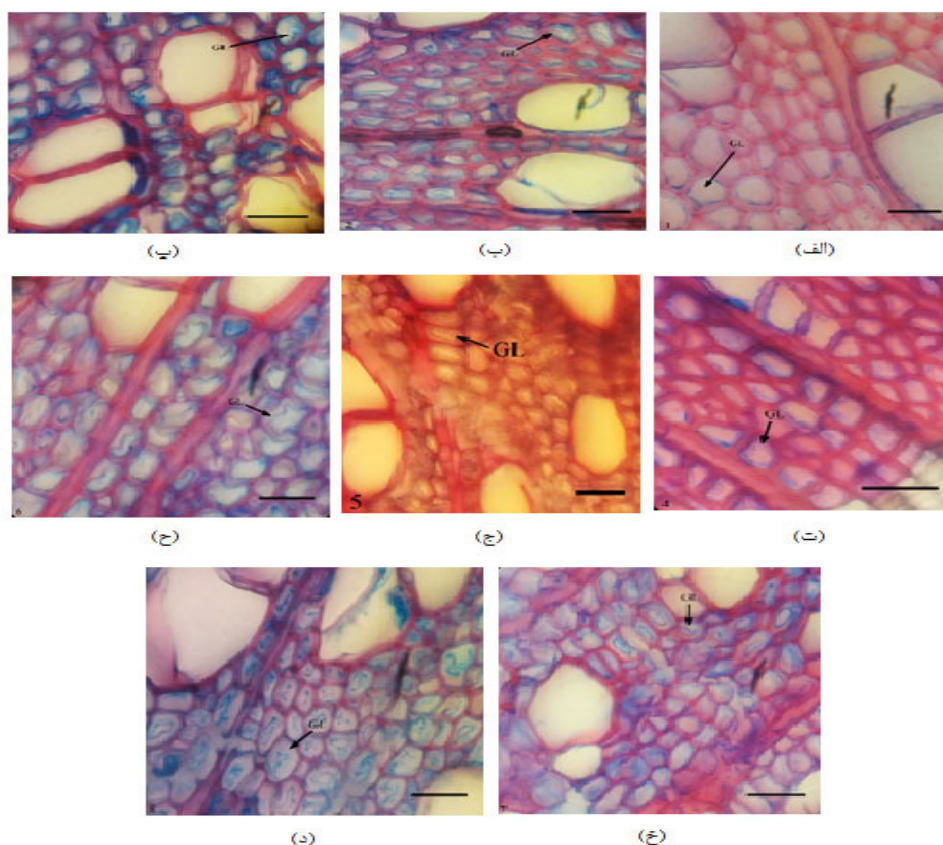
جدول ۳- مقایسه ویژگی‌های بیومتری الیاف چوب نهال‌های صنوبر تیمار شده باخم متناوب، NPK و G (اعداد داخل پرانتز انحراف معیار مربوط به نتایج هر تیمار می‌باشد)

ویژگی	قائم (شاهد)	قائم + NPK	قائم + G	قائم + NPK + G	تحت خم متناوب	تحت خم متناوب + NPK	تحت خم متناوب + G	تحت خم متناوب + NPK + G
طول الیاف (میکرون)	۷۸۶/۲۳ ^a (۱/۱۴۶)	۸۰۱/۲۴ ^a (۱۲/۱۳۰)	۸۲۲/۳۷ ^a (۱۹/۱۴۵)	۸۱۸/۷۶ ^a (۱۳۳/۴۳)	۸۹۵/۸۶ ^b (۲۴۸/۳)	۷۹۸/۹۵ ^a (۹۵/۱۵)	۷۹۳/۶۴ ^a (۱۷۵/۸۹)	۸۳۵/۵۷ ^a (۱۳۲/۵۹)
قطر کلی الیاف (میکرون)	۲۵/۰۶ ^c (۴/۷۸)	۲۳/۵۵ ^{abc} (۳/۳۷)	۲۲/۶۳ ^{abc} (۴/۱)	۲۲/۲۴ ^{ab} (۳/۶۷)	۲۱/۶۱ ^a (۳/۳۲)	۲۳/۰۶ ^{abc} (۴/۰۴)	۲۴/۷۵ ^{bc} (۴/۳۴)	۲۰/۹۸ ^a (۴/۴۳)
قطر حفره سلولی (میکرون)	۱۴/۳۵ ^d (۳/۷۱)	۱۲/۱۶ ^{bc} (۳/۴۸)	۱۱/۳ ^{bc} (۳/۴۵)	۱۰/۳۸ ^{ab} (۲/۶)	۹/۱ ^{ab} (۲/۵۹)	۱۲/۰۱ ^{bcd} (۳/۷۶)	۱۲/۷۵ ^{cd} (۳/۷۱)	۸/۸۵ ^a (۳)
ضخامت دیواره الیاف (میکرون)	۵/۳۵ ^a (۱/۰۷)	۵/۶۹ ^a (۰/۸۴)	۶/۱۲ ^a (۱/۱۹)	۵/۹۳ ^a (۱/۴۲)	۶/۲۵ ^a (۱/۰۶)	۵/۵۲ ^a (۱/۱۲)	۵/۹۹ ^a (۰/۸۷)	۶/۰۳ ^a (۲/۱۲)
نسبت انعطاف‌پذیری	۵۷/۲۶	۵۱/۶۲	۴۷/۳۸	۴۶/۶۸	۴۶/۷۷	۵۲/۱	۵۱/۵۳	۴۲/۲۹
نسبت رانکل	۰/۷۴	۰/۹۳	۱/۱۱	۱/۱۴	۱/۱۳	۰/۹۱	۰/۹۴	۱/۳۶
نسبت لاغری	۳۱/۳۷	۳۴/۰۱	۳۴/۷۹	۳۶/۸	۴۱/۴۵	۳۴/۶۳	۳۲/۰۵	۳۹/۸۱

دربر گرفته است (شکل ۲ مقاطع شماره ۵، ۶ و ۷) که نتایج حاصل با نتایج تحقیق Pitre و همکاران (۲۰۱۰) که بر روی کلن *P. trichocarpa* (Torr. & Gray) × *P. deltooides* Bartr. ex Marsh مطالعه کردند در مورد تیمار خم مطابقت داشت [۱۹] ولی تیمار خم همراه با کود نیتروژن در تحقیق حاضر نتوانست مانند مطالعه مذکور باعث افزایش ضخامت مشهودی نسبت به تیمار خم شود. نتایج تیمار خم متناوب همراه با G با نتایج مطالعه Jiang و همکاران (۲۰۰۸) مطابقت داشت و این تیمار نتوانست مشابه مطالعه ذکر شده با اعمال جیبرلین به نهال‌های خم، بر ضخامت لایه ژلاتینی حاصل الیاف چوب‌کشی بیفزاید ولی با نتایج Nugroho و همکاران (۲۰۱۲) بر روی نهال-های خم‌شده آکاسیا مطابقت نداشت [۲۱ و ۲۲]. نمونه‌های تیمار شده باخم متناوب + NPK + G بیشترین ضخامت لایه ژلاتینی تشکیل‌شده در دیواره داخلی الیاف چوب‌کشی را داشتند و تقریباً سطح داخلی حفره سلولی با لایه ژلاتینی پر شده بود و می‌توان نتیجه گرفت که این تیمار از نظر فاکتور ضخامت لایه ژلاتینی بیشترین تأثیر را در تحریک تشکیل چوب‌کشی داشته است (شکل ۲ مقطع ۸).

بررسی شدت تشکیل چوب‌کشی با استفاده از رنگ آمیزی دوگانه

بررسی تشکیل لایه ژلاتینی در دیواره داخلی الیاف چوب نشان داد که در تیمار شاهد در اکثر الیاف چوب لایه ژلاتینی تشکیل نشد و به‌طور بسیار پراکنده در برخی از الیاف و خیلی جزئی مشاهده شد (شکل ۳ مقطع شماره ۱). در نمونه قائم + NPK لایه ژلاتینی در سطح داخلی الیاف مشخص است (شکل ۲ مقطع شماره ۲) این نتایج با نتایج تحقیق Pitre و همکاران (۲۰۰۷b) مطابقت داشت [۱۸]. در نمونه‌های قائم تیمار شده با G نیز لایه ژلاتینی ایجاد شده در الیاف قابل مشاهده است نتایج این نمونه‌ها با نتایج Funada و همکاران (۲۰۰۸) و Jiang و همکاران (۲۰۰۸) مطابقت داشت [۲۰ و ۲۱]. ضخامت این لایه نسبت به نمونه‌های تیمار شده با NPK کمتر است (شکل ۲ مقطع شماره ۳). در نمونه‌های قائم تیمار شده با NPK + G بیشترین ضخامت لایه ژلاتینی ایجاد شده در چوب‌کشی مشاهده شد. در تمامی نمونه‌های تحت خم متناوب، الیاف دارای لایه ژلاتینی در قسمت داخلی حفره سلولی مشاهده شد. ضخامت این لایه در الیاف نمونه‌های خم متناوب، خم متناوب + NPK و خم متناوب + G تقریباً برابر باهم بود و حدوداً یک‌سوم از حفره سلولی را



شکل ۲- مقایسه تشکیل لایه ژلاتینی در الیاف تیمارهای مختلف: الف: تیمار قائم؛ ب: تیمار قائم + NPK؛ پ: تیمار قائم + G؛ ت: تیمار قائم + G + NPK؛ ج: تیمار خم متناوب؛ ح: تیمار خم متناوب + NPK؛ خ: تیمار خم متناوب + G؛ د: تیمار خم متناوب + G + NPK؛ لایه ژلاتینی: GL

فاکتورهای ذکرشده، تیمارهای تحت خم متناوب نسبت به تیمارهای قائم، تأثیر بیشتری را در تشکیل چوب‌کشی داشتند و تیمار خم متناوب با NPK+G از همه تیمارها بیشترین اثر را داشت. در این تیمار بیشترین مساحت تغییر رنگ آبی در اثر رنگ‌آمیزی دوگانه و در واقع بیشترین الیاف دارای چوب‌کشی در سطح مقطع مشاهده شد و همچنین بیشترین ضخامت لایه ژلاتینی را دارا بود.

نتیجه‌گیری

برون‌مرکزی در چوب‌های دارای چوب‌کشی امری متداول است که می‌تواند در کاربردهای مختلف چوب موجب محدودیت در استفاده شود، با این وجود، اگر بتوان با اعمال روشی، از ایجاد برون‌مرکزی در چوب‌کشی جلوگیری کرد، می‌توان این مشکل را تا حدودی حل کرد. از این رو خم متناوب به‌عنوان یکی از راه‌حل‌های تولید چوب‌کشی مورد بررسی قرار گرفت. به‌طور کلی با بررسی

منابع

- [1] Mellerowicz, E. J., Baucher, M., Sundberg, B. and Boerjan, W. 2001. Unravelling cell wall formation in the woody dicot stem. *Plant Molecular Biology*, 47: 239–274.
- [2] Moulia B, Coutand C. and Julien, J-L. 2015. Mechanosensitive control of plant growth: bearing the load, sensing, transducing, and responding. *Frontiers in Plant Science*, 6(52). doi: 10.3389/fpls.2015.00052.

- [3] Hellgren, J. M., Olofsson, K. and Sundberg, B. 2004. Patterns of auxin distribution during gravitational induction of reaction wood in poplar and pine. *Plant Physiology*, 135: 212–220.
- [4] Clair, B., Déjardin, A., Pilate, G. and Pilate, T. 2018. Is the G-layer a tertiary cell wall? *Frontiers in Plant Science*, 9(623).
- [5] Sawada, D., Kalluri, U. C., O'Neill, H., Urban, V., Langan, P., Davison, B. and Pingali, S. V. 2018. Tension wood structure and morphology conducive for better enzymatic digestion. *Biotechnology for Biofuels*, 11(44).
- [6] Jourez, B., Riboux, A. and Leclercq, A. 2001. Anatomical characteristics of tension wood and opposite wood in young bended stem of poplar (*Populus euramericana* cv' ghoy). *International Association of Wood Anatomist Journal*, 22(2): 133-157.
- [7] Mellerowicz, E.J. and Gorshkova, T.A. 2012. Tensional stress generation in gelatinous fibers: a review and possible mechanism based on cell-wall structure and composition. *Journal of Experimental Botany* 63: 551–565.
- [8] Fujita, M., Sakai, H. and Harada, H. 1974. Electron microscopy of microtubules and cellulose microfibrils in secondary wall formation of poplar tension wood. *Journal of Wood Science*, 20: 147–156.
- [9] Clair, B., Almeras, T., Pilate, G., Jullien, D., Sugiyama, J. and Riekkel, C. 2011. Maturation stress generation in poplar tension wood studied by synchrotron radiation microdiffraction. *Plant Physiology*, 155: 562–570.
- [10] Lashkarbolouki, E. and Parsapajouh, D. 2005. A study of anatomical characteristics, fiber biometry and some other physical properties of one of the most important clones of Poplar (*Populus deltoides* 77.51) in Gilan. *Iranian Journal of Natural Resources*, 58(1): 194-207.
- [11] Sayar, M. and Tarmian, A. 2010. The effect of tension wood formation on the anatomical characteristics and gelatinous layer formation in the fibers of poplar (*P. nigra*). *Journal of Wood & Forest Science and Technology*, 17(2): 133-144.
- [12] Hossein Zadeh, J., Abdolkhani, A., Emami Nasab, M., Khodabandeh Lou, H. and Ahmadi, M. 2015. Investigation the properties of paper made from tension and normal wood of *Populus nigra*. *Iranian Journal of Wood and Paper Science Research*, 30(4): 653-661.
- [13] Fung, Ch.H., Guibal, D., Clair, B., Gril, J., Liu, Y.M. and Liu, Sh.Q. 2008. Relationships between growth stress and wood properties in poplar I-69 (*Populus deltoides* Bartr. cv. "Lux" ex I-69/55). *Annals of Forest Sciences*, 65(307).
- [14] Roignant, J., Badel, E., Leblanc-Fournier, N., Brunel-Michac, N., Ruelle, J., Moulia, B. and Decourteix, M. 2018. Feeling stretched or compressed? The multiple mechanosensitive responses of wood formation to bending. *Annals of Botany*, 121(6): 1151-1161.
- [15] Luo, J., Zhou, J., Masclaux-Daubresse, C., Wang, N., Wang, H. and Zheng, B. 2019. Morphological and physiological responses to contrasting nitrogen regimes in *Populus cathayana* is linked to resources allocation and carbon/nitrogen partition. *Environmental and Experimental Botany*, 162: 247-255.
- [16] Pitre, F.E., Cooke J.E.K. and Mackay, J.J. 2007. Short-term effects of nitrogen availability on wood formation and fiber properties in hybrid poplar. *Trees*, 21: 249-259.
- [17] Luo, Z.B., Langenfeld-Heyser, R., Calfapietra, C. and Polle, A. 2005. Influence of free air CO₂ enrichment (EUROFACE) and nitrogen fertilization on the anatomy of juvenile wood of three poplar species after coppicing. *Trees*, 19: 109-118.

- [18] Pitre, F.E., Pollet, B., Lafarguette, F., Cooke, J.E.K., MacKay, J.J. and Lapierre, C. 2007. Effects of increased nitrogen supply on the lignification of poplar wood. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 10306-10314.
- [19] Pitre, F.E., Lafarguette, F., Boyle, B., Pavy, N., Caron, S., Dallaire, N., Poulin, P., Ouellet, M., Morency, M., Wiebe, N., Ly Lim, E., Urbain, A., Mouille, G., Cooke, J.E.K. and Mackay, J.J. 2010. High nitrogen fertilization and stem leaning have overlapping effects on wood formation in poplar but invoke largely distinct molecular pathways. *Tree Physiology*, 30: 1273-1289.
- [20] Funada, R., Miura, T. and Shimizu, Y. 2008. Gibberellin-induced formation of tension wood in angiosperm trees. *Planta*, 227(6): 1409–1414.
- [21] Jiang, S. Li, Y.F. Chen, X.H. and Xu, K. 2008. Control of negative gravitropism and tension wood formation by gibberellic acid and indole acetic acid in *Fraxinus mandshurica* Rupr. var. *japonica* maxim seedlings. *Journal of Integrative Plant Biology*, 48(2): 161-168.
- [22] Nugroho, W.D., Yamagishi, Y., Nakaba, S., Fukuhara, S., Begum, S., Marsoem, S.N., Ko, J.H., Jin, H.O. and Funada, R. 2012. Gibberellin is required for the formation of tension wood and stem gravitropism in *Acacia mangium* seedlings. *Annals of Botany*, 110: 887–895.
- [23] Gärtner, H. and Schweingruber, F.H. 2013. *Microscopic preparation techniques for plant stem analysis*. Verlag Dr. Kessel, 78 p.
- [24] Franklin, G.L. 1945. *A rapid method of softening wood for microtome sectioning tropical wood*. Oxford University Press, 36-88.
- [25] Mahdavi, S., Faezipour, M., Resalati, H. and Familian, H., 2003. The effects of provenance and age variations on wood properties of eastern cottonwood. *Iranian Journal of Natural Resources*, 56(3): 281-292.

Anatomical Variations in Tension Wood of *Populus alba* under alternate bending, nitrogen fertilization and gibberellin treatments

Abstract

Poplar is one of the most widely used species in wood and paper industries, and there is a high demand for plantation of this species. Therefore, studying the factors affecting the biometric properties of fibers, anatomy, and physical properties of poplar wood is important. Reaction wood formation (tension wood) in woody plant like poplars is reaction against stress and environmental factors. Tension wood is a rich source of cellulose that can be used for some products including paper or biofuels. The aim of this study was to stimulate the formation of tension wood in two-years-old white poplar (*Populus alba*) saplings by using alternate bending, nitrogen fertilization (NPK) and inducing gibberellin (G) hormone. Saplings were bended alternately for one month in one direction, and the next month in the opposite direction during the growing season, fertilizer application was applied twice i.e. at the beginning and in the middle of the growing season and gibberellin induction was applied once in the early growing season. Physical and anatomical characteristics of xylem were investigated after the end of the growing season. Studying of specimen transverse section after Safranin/Astra-blue staining showed that in general, alternate bending treatments had more tension wood area in growth ring and thicker gelatinous layer than straight specimens. Alternate bending treatment with NPK+G had a higher wood density, more longitudinal shrinkage, less radial and tangential shrinkage, smaller and less frequent vessels, longer and thicker fibers. The results showed that this treatment was the most effective on the stimulation of the tension wood and the intensity of the formation of the tension wood in these specimens was higher.

Keywords: poplar, wood anatomy, tension wood, alternate bending, nitrogen, gibberellin, gelatinous layer.

R. Gorgij¹
K. Pourtahmasi²
R. Maali Amiri³
A. Abdolkhani⁴

¹ Ph.D. graduated, Department of wood and paper science and technology, Faculty of natural resources, University of Tehran, Karaj, Iran

² Prof., Department of wood and paper science and technology, Faculty of natural resources, University of Tehran, Karaj, Iran

³ Prof., Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Science and Engineering College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.

⁴ Associate Prof., Department of wood and paper science and technology, Faculty of natural resources, University of Tehran, Karaj, Iran

Corresponding author:
pourtahmasi@ut.ac.ir

Received: 2019/08/07

Accepted: 2019/10/07