بررسي و ارزيابي سه شيوه اندازه‌گيري زاويه ميكروفيبريل در تراكئيدهاي چوب فشاري و مقابل‌فشاري سرو سيمين (*Cupressus arizonica*)

رضا اولادي*[۱]، داود پارساپژوه[۲] و كامبيز پورطهماسي[۳]
[۱] دانشجوي دكتري علوم و صنايع چوب و كاغذ، دانشكده منابع طبيعي، دانشگاه تهران، ايران
[۲] استاد گروه علوم و صنايع چوب و كاغذ، دانشكده منابع طبيعي، دانشگاه تهران، ايران
[۳] استاديار گروه علوم و صنايع چوب و كاغذ، دانشكده منابع طبيعي، دانشگاه تهران، ايران
(تاريخ دريافت: ۸۵/۷/۱۷، تاريخ تصويب: ۸۷/۸/۷)

چكيده

در اين پژوهش امكان بهره‌گيري ازسه شيوه "رسوب كريستال يد"، " ترک دهي ديواره تراكئيد" و "جهت‌گيري دريچه پونكتواسيون" براي اندازه‌گيري زاويه ميكروفيبريل‌هاي لايه S۲ تراكئيدهاي چوب فشاري و مقابل فشاري گونه سرو سيمين مورد بررسي قرار گرفت. علاوه براين مقايسه‌اي بين اين سه روش انجام شد. بدين منظور از قسمت فشاري و مقابل فشاري چهار درخت خميده موجود در جنگل سروسيمين دانشكده منابع طبيعي دانشگاه تهران نمونه گيري شد. به‌دليل خطاي زياد و نبود رسوب كريستال يد در ديواره تراكئيد، تعيين زاويه‌هاي ميكروفيبريلي - بويژه در نمونه‌هاي فشاري – با بهره‌گيري از روش "رسوب كريستال يد" امكان پذير نشد. با بهره‌گيري از دو شيوه ديگر يعني " ترک دهي ديواره تراكئيد" و "جهت‌گيري دريچه پونكتواسيون" ميانگين زاويه ميكروفيبريل لايه S۲ نمونه‌ها تعيين شد. همخواني خوبي بين داده‌هاي بدست آمده از اين‌دو روش در چوب سالم و عادي وجود داشت اما به‌علت مشكل بودن تعيين زاويه‌هاي بزرگ ميكروفيبريلي (بيش از ۴۰ درجه) با بهره‌گيري از روش دريچه پونكتواسيون، بهره‌گيري از اين شيوه براي اندازه‌گيري زاويه ميكروفيبريل تراكئيدهاي چوب فشاري چندان مطلوب نمي‌باشد. رابطه بين بين داده‌هاي بدست آمده از ايندو روش به قرار زير است: $Y=۹/۳-۱/۳X$ كه در آن X ميزان زاويه‌هاي ميكروفيبريلي تعيين شده با روش ترك‌دهي و Y ميزان احتمالي زاويه‌هاي ميكروفيبريلي با روش دريچه پونكتواسيون است.

واژه‌هاي كليدي: سرو سيمين، چوب فشاري، زاويه ميكروفيبريل لايه S۲، روش "رسوب كريستال يد"، روش " ترک‌دهي ديواره تراكئيد"، روش "براي‌گيري دريچه پونكتواسيون"

* نويسنده مسئول: تلفن: ۰۹۱۲-۶۰۵۳۴۲۶ فاكس: ۰۲۶۱-۲۲۴۹۳۱۱ E-mail: reza_oladi@yahoo.com

مقدمه

بسياري از رفتارهاي مكانيكي و فيزيكي چوب به‌طور مستقيم يا غير مستقيم ريشه در ويژگي‌هاي و ويژگي‌هاي آناتوميكي آن دارد. در نتيجه بررسي اين ويژگي‌ها ما را در فهم و تفسير رفتار چوب و فرآورده‌هاي مركب چوبي و كاغذي در هنگام مصرف ياري مي‌دهد.

زاويه ميكروفيبريل‌هاي لايه S2 به‌عنوان ضخيم ترين لايه سلولي و اثرگذارترين آن‌ها در شكل‌گيري ويژگي‌هاي فيزيكي - مكانيكي چوب، نقش عمده‌اي در تعيين قابليت چوب در كاربردهاي مختلف بازي ميكند. با آنكه زاويه ميكروفيبريل الياف يك ويژگي بسيار مهم چوب بشمار مي‌آيد ولي كم‌تر از آنچه بايد به آن توجه شده است. اين كم‌توجهي بيشتر به‌علت مشكل و وقت‌گير بودن روش‌هاي اندازه‌گيري آن مي‌باشد. اين روش‌ها طيف گسترده‌اي از مشاهدات ساده ميكروسكوپ نوري تا روش‌هاي بسيار پيچيدة پراكنش اشعه X را شامل مي‌شود . اعمال بعضي از اين روش‌ها به علت محدوديت‌هاي فني و نياز به تجهيزات پيشرفته در ايران امكان‌پذير نيست. با اين حال به‌نظر مي‌رسد كه بعضي شيوه‌هاي ساده‌تر و درعين حال معتبر را مي‌توان براي اندازه‌گيري زاويه ميكروفيبريل بكار برد. در سال‌هاي اخير تلاش روزافزوني براي يافتن شيوه‌هاي جديد اندازه‌گيري زاويه ميكروفيبريل و مقايسه آن‌ها با شيوه‌هاي پيشين صورت پذيرفته است. كاكرل[1] (۱۹۷۴) روش "جهت‌گيري دريچه پونكتواسيون"[2] را روشي مفيد براي اندازه‌گيري زاويه ميكروفيبريل الياف خمير كاغذ يافت و حتي پژوهشگران ديگري بهره‌گيري از اين روش را براي مقايسة درون حلقه‌اي بهتر از "روش پراكنش اشعه X "[3] يافتند (۷). روش "ترك‌دهي ديواره تراكئيد"[4] نيز شيوه ساده و مطمئني براي اندازه‌گيري زاويه ميكروفيبريل به‌شمار مي‌آيد. اين شيوه مستلزم گسترش فضاهاي بين فيبريلي است به‌طوري‌كه اين فضاهاي ترك مانند كه همراستا با ميكروفيبريل‌ها بوده، زير ميكروسكوپ نوري قابل رويت شوند. از چندي پيش تيمارهاي بهتري براي گسترش اين ترك‌ها ابداع شده است كه از آن‌جمله مي‌توان به بهره‌گيري از امواج آلتراسونيک (۱۰) و فارچ مولد پوسيدگي نرم (۱) اشاره كرد. گرچه روش "رسوب كريستال يد"[5] نسبت به ديگر روش‌هاي ذكر شده در اين بررسي، كمتر مورد بهره‌گيري قرار گرفته ولي (۱۳)[6] اعلام كردند كه با بهره‌گيري از اين روش، اندازه‌گيري زاويه ميكروفيبريل هر سه لاية ديواره ثانويه امكان‌پذير است. همخواني خوبي بين سه شيوه "گسترش ترک ديواره با بهره‌گيري از قارچ"[7] "، "رسوب كريستال يد" و "پراكنش اشعه X" وجود دارد (۲). با اين حال مواردي از وجود اختلاف بين نتايج بدست آمده از شيوه‌هاي مختلف اندازه‌گيري زاويه ميكروفيبريل گزارش شده است (۳). هدف از اين پژوهش ارائه شيوه كاربردي مناسبي براي اندازه‌گيري زاويه ميكروفيبريل در چوب سالم، عادي و فشاري سوزني برگان مي‌باشد.

مواد و روش‌ها

- نمونه‌برداري

چهار درخت كه تنه‌شان انحراف شديدي از حالت قائم داشت، از جنگل مصنوعي سرو سيمين دانشكده منابع طبيعي دانشگاه تهران گزينش و در خردادماه سال ۱۳۸۳ قطع شدند. قطر اين درختان بين ۴۰ الي ۴۵ سانتي‌متر و ارتفاع‌شان ۲۰ الي ۲۵ متر بود. از آنجا كه كج بودن ساقه در درخت سوزني برگ باعث ايجاد چوب فشاري در قسمت زيرين آن مي‌شود ؛ انتظار مي رفت كه اين چهار درخت داراي چوب فشاري باشند. با اره موتوري صفحه‌اي به ضخامت حدود ۱۰ سانتيمتر از ارتفاع برابر سينه هر درخت تهيه شد. نشانه‌هاي ظاهري وجود چوب فشاري در برش تازه قطع شده هر چهار درخت به روشني مشاهده شد. اين

۱- Cockrell

۲- Orientation of pit aperture

۳- X-ray diffraction

۴- inducing cracks in the secondary wall

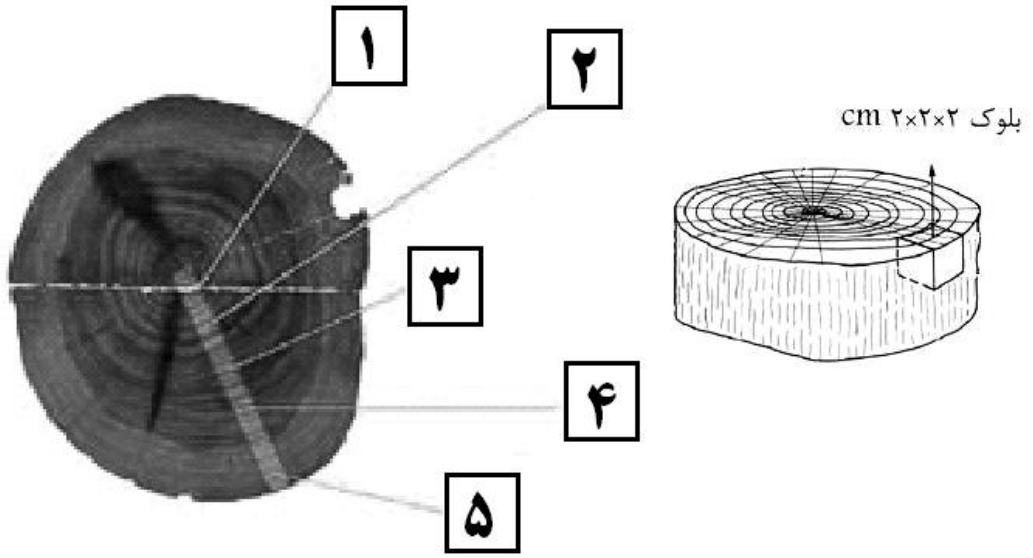
۵- iodine crystal deposition

۶- Senft, J.F. & B.A. Bendtsen

۷- soft rot cavity orientation

علامت‌ها شامل: وجود برون مركزي شديد، پهن‌تر بودن حلقه‌هاي رويشي در يك طرف و تفاوت رنگ قسمت فشاري با رنگ قسمت مقابل فشاري بود. در قسمت فشاري و از مغز تا پوست پنج مكعب ۶×۲×۲ سانتي‌متري تهيه و شماره‌گذاري شد. به همين شيوه از قسمت مقابل فشاري نيز سه مكعب تهيه شد (شكل۱). از طرف طول اين مكعب‌ها را به سه قسمت برابر تقسيم كرده تا از هر مكعب سه بلوك ۲×۲×۲ سانتي‌متري به‌دست آيد. يكي از بلوك‌ها براي تعيين زاويه ميكروفيبريل با بهره‌گيري از شيوه "دريچه پونكتواسيون"، دومي براي آزمايش رسوب كريستال و سومي براي تعيين زاويه ميكروفيبريل با روش ترك‌دهي بهره‌گيري شدند.

پس از تهيه نمونه‌ها، آن‌ها را درون نايلون‌هاي سرپوشيده جداگانه گذاشته تا براي آزمايش‌ها آماده باشند.

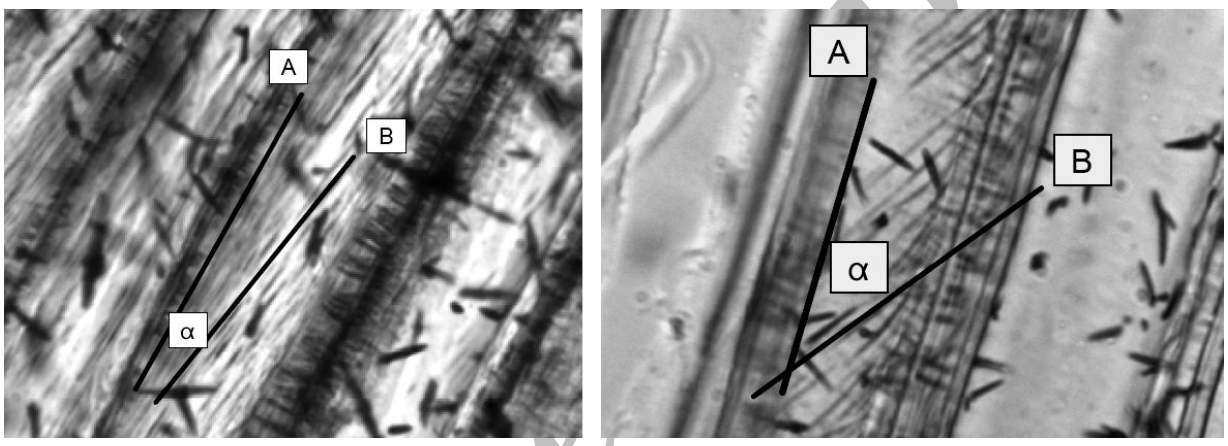


شكل ۱- تهيه پنج بلوك (نمونه) ۲×۲×۲ سانتي‌متري از مغز تا پوست در قسمت فشاري و سه بلوك متناظر از قسمت مقابل فشاري.

- اندازه‌گيري زاويه ميكروفيبريل با بهره‌گيري از شيوه "رسوب كريستال يد"

براي رسوب كريستال يد از روش (۱۳) بهره‌گيري شد. بلوك‌هاي ۲*۲*۲ سانتيمتري را به مدت ۲۴ ساعت درون آب مقطر قرار داده و سپس آن‌ها را درون اون با دماي۱۰۳ درجه سلسيوس گذاشته شد تا خشک شوند. اشباع كردن نمونه‌ها با آب و سپس خشک كردن سريع آن‌ها چند بار تكرار شد. اين‌كار به گسترش ترك‌هاي ديواره كمک ميكند. هنگامي بلوك‌هاي خشک را براي آخرين بار از آون بيرون آورديم دوباره آن‌ها را به مدت ۴۸ ساعت درون آب مقطر قراردادیم تا نرم شده و براي برش‌گيري آماده شوند. سپس با بهره‌گيري از ميكروتوم برشهاي نازک شعاعي به ضخامت ۱۵ ميكرون از اين بلوک‌ها تهيه شدند (حدود ۵ تا ۱۰ برش از هر بلوک). براي آسان‌تر ديدن نمونه‌ها زير ميكروسكوپ مقدار كمي وايتكس يا آب اكسيژنه روي نمونه‌ها ريخته شد تا رنگ آن‌ها سفيد شود. پس از سفيد شدن نسبي نمونه‌ها، آن‌ها را آبشويي كرده و درون الكل ۵۰ درصد ذخيره كرديم. آنگاه نمونه‌ها دوبار با الكل مطلق به مدت ۵ دقيقه آب گيري شدند. نمونه‌هارا يكي يكي و با بهره‌گيري از قلم مو به مدت ۲ تا ۱۰ ثانيه در محلول ۲ درصد يد- يديد پتاسيم قرار داديم. براي تهيه اين محلول ۲ گرم يد و ۲ گرم يديد پتاسيم را درون ۱۰۰ ميلي ليتر آب مقطر ريخته، محلول را آنقدر بهم زديم تا اشباع شده و هيچ ذره يدي در محلول ديده نشود. پس از بيرون آوردن نمونه‌ها آن‌ها را روي لام گذاشته و محلول اضافي با دستمال كاغذي از روي نمونه‌ها خشک شد. به آرامي يک

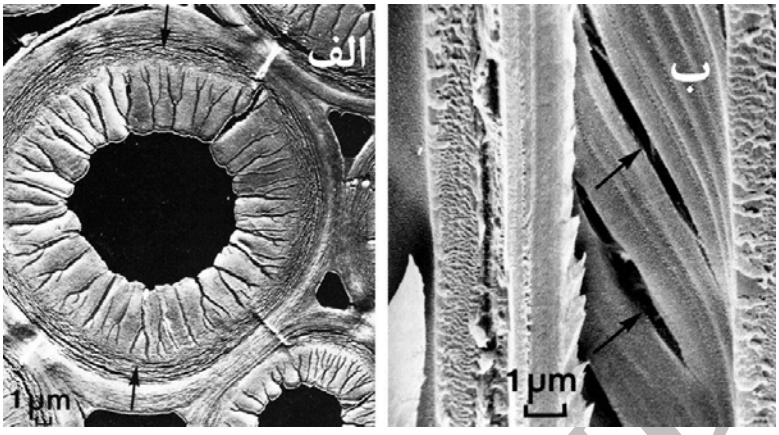
يا دو قطره اسيد نيتريک ۶۰ درصد را روي نمونه‌ها ريخته و لامل روي آن گذاشته شد. لام‌هاي آماده شده را به سرعت زير ميكروسكوپ با عدسي شيئي ۴۰X قرار داده و با بهره‌گيري از دوربين ديجيتال از آن‌ها عكس تهيه شد. از هر بلوک ۱۰- ۵ برش ميكروتومي شعاعي تهيه و در هربرش زاويه ميكروفيبريل۷ يا ۸ تراكئيد عكس برداري و اندازه‌گيري شد (به‌طور ميانگين ۶۵ تراكئيد در هر نمونه). اسيد نيتريک با محلول واكنش داده و كريستال‌هاي خطي سياه رنگ يد ايجاد شدند. اين كريستال‌ها بويژه در ترک و شكاف‌هاي ديواره جاي گرفته و ديدن آن‌ها را در زير ميكروسكوپ آسان‌تر ميكنند. عكس‌هاي گرفته شده را به رايانه منتقل كرده و با بهره‌گيري از نرم‌افزار فتوشاپ زاويه اين خطوط سياه رنگ (كريستال‌ها) با محور طولي سلول تعيين شدند (شكل ۲). اين زاويه همان زاويه ميكروفيبريل‌هاست.



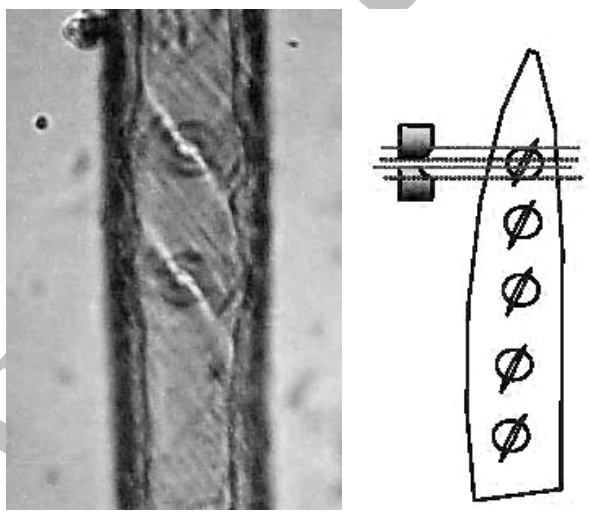
شكل ۲- شكل نشان دهنده‌ي براي ديواره سلولي (**A**)، براي ميكروفيبريل‌ها (**B**) و زاويه بين آن‌ها (**α**) در تراكئيد چوب آغاز (سمت راست) و چوب پايان (سمت چپ) كاج قرمز است (۱۲۰۰*). خطوط كوتاه سياه رنگ، كريستال‌هاي يد ميباشند. (برگرفته از ديريس ۱۹۹۸).

- اندازه‌گيري زاويه ميكروفيبريل با بهره‌گيري از شيوه " ترک دهي ديواره تراكئيد"

يك شيوة اندازه‌گيري زاويه ميكروفيبريل‌ها كه زياد كاربرد دارد، بهره‌گيري از فضاهاي بين فيبريلي است. فضاهاي بين فيبريلي را مي‌توان با خشك‌كردن بلوك‌هاي كوچك چوبي در دماي ۲ ± ۱۰۳ درجه سلسيوس گسترش داد. هم‌كشيدگي سريع و تنش‌هاي خشك‌شدگي بالا باعث مي‌شود كه ديواره سلولي و بويژه لاية ضخيم S۲ در براي ميكروفيبريل‌هايشان ترك بردارند (شكل۳). رنگ‌آميزي پسي، ديدن اين ترك‌ها را زير ميكروسكوپ نوري آسان‌تر مي‌كند. زاويه‌اي كه اين ترك‌هاي كوچك با محور طولي سلول ايجاد مي‌كنند در واقع همان زاويه ميكروفيبريل‌ها مي‌باشد. ديدن اين ترك‌ها با رنگ‌آميزي ساده ديواره در زير ميكروسكوپ نوري چندان آسان نمي‌باشد. از اين رو به‌طور عموم شيوه‌هايي براي گسترش و بزرگ كردن اين ترك‌ها و يا اعمال تيمار ويژه‌اي براي قابل ديدن بهتر آنها لازم مي‌باشند.



شكل ۳- ترك‌هاي ايجاد شده در تراكئيدهاي چوب فشاري در اثر خشك شدن شديد. الف: برش عرضي يك تراكئيد ***Larix laricina*** كه ليگنين‌زدايي جزئي شده. **TEM** (برگرفته از كوت[1] و همكاران، ۱۹۶۸). ب: برش طولي يك تراكئيد فشاري كه پيش از خشك شدن در آب جوشانده شده. **SEM** (برگرفته از كاكرل، ۱۹۷۴).



شكل ۴- شكاف‌هاي روشن در ديواره تراكئيد، دريچه پونكتواسيون بوده كه با ميكروفيبريل‌ها هم براي است. شكل سمت راست برگرفته از كارلكوئست[2]، ۱۹۸۸ و شكل سمت چپ مربوط به چوب فشاري پژوهش جاري است (۴۰۰*).

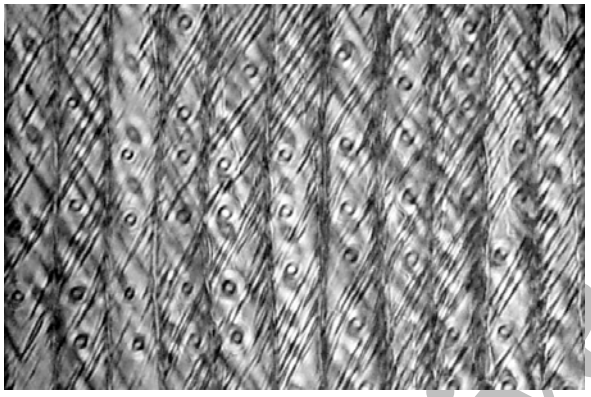
۱- Cote

۲- Carlquist

نوع تيمار به‌كار رفته در اين پژوهش براي ترك‌دهي ديواره تراكئيد، ابداعي و تلفيقي از تيمارهاي پيشنهادي (۱۶)[1] و (۲۱)[2] مي‌باشد. براي اينكار پس از تهيه خلال‌هايي به ضخامت چوب كبريت از بلوك‌هاي ۲×۲×۲ سانتيمتري و خشك و تر كردن متناوب، آن‌ها را با به‌كار بردن محلول ۱:۱ آب اكسيژنه و اسيد استيک وابري (دفيبره)[3] كرديم. جوشاندن نمونه‌ها در حين وابري شدن به گسترش ترك‌هاي ديواره كمک ميكند. بهتر است پيش از وابري شدن كامل الياف نمونه‌ها بهم زدن محلول متوقف شود. در اين صورت مجموعه‌هايي از بيست تا پنجاه الياف بهم چسبيده به‌وجود خواهد آمد. در اين مجموعه‌ها آسان‌تر ميتوان تشخيص داد كه يک تراكئيد از طرف ديواره شعاعي روي لام قرار گرفته يا ديواره مماسي؛ زيرا ميدان تلاقي كه دربعضي ازاين مجموعه‌ها ديده مي‌شود معرف خوبي از ديواره شعاعي تراكئيدها مي‌باشد. باتوجه به اينكه بنا به نظر برخي دانشمندان زاويه ميكروفيبريل‌ها در ديواره شعاعي و مماسي اندكي باهم تفاوت دارند؛ بنابراين اگر همه‌اندازه‌گيري‌ها از يک ديواره انجام مي‌گرفت، خطاي آزمايش كمتر بود. پس از وابري شدن نسبي الياف آن‌ها را با سفرانين رنگ‌آميزي كرده و پس از قرار دادن برروي لام، آن‌ها را زير ميكروسكوپ گذاشته وعكس‌برداري انجام گرفت (شكل۴). براي تعيين شمار تراكئيدهايي كه مي‌بايست درهربلوک اندازه‌گيري شوند از شيوه پيشنهادي (۹)[4] بهره‌گيري شد. با بهره‌گيري از اين روش معين شد كه لازم است درهر بلوک زاويه ميكروفيبريل ۳۰ تراكئيد اندازه‌گيري شود. در اين بررسي سعي شد اندازه‌گيري‌ها از ديواره شعاعي و در يک منطقه ثابت تراكئيد (ميانه آن) انجام شود. پس از انتقال عكس‌ها به رايانه با كمک نرم‌افزار فتوشاپ زاويه‌اي كه ترک‌ها با محور طولي تراكئيد مي‌سازند اندازه گرفته شد. اين زاويه همان زاويه ميكروفيبريل‌هاي لايه‌ي S۲ مي‌باشد.

- اندازه‌گيري زاويه ميكروفيبريل با به‌كار بردن از شيوه "جهت‌گيري دريچه پونكتواسيون"

پونكتواسيون‌ها، فرورفتگي‌هايي در ديواره ثانويه بين سلول‌هاي مجاور مي‌باشند. اين روزنه‌ها بيشتر در ديوارة شعاعي تراكئيدها و ميدان تلاقي تشكيل مي‌شوند. در نورقطبي شده، دريچة پونكتواسيون‌ها در تراكئيدهاي سوزني‌برگان به شكل بيضي‌هاي كشيده روشن ديده مي‌شوند و بر پايه ديدگاه‌هاي (۷)[5]، محور اصلي اين بيضوهاي كشيده با محور ميكروفيبريل‌ها هم‌براي است. بنابراين با تعيين زاوية اين خطوط سلولي مي‌توان به زاويه ميكروفيبريل‌ها پي برد (شكل ۵).



شكل ۵- ترک‌ها در ديواره تراكئيد چوب فشاري سرو سيمين (۲۵۰*).

براي اندازه‌گيري زاويه ميكروفيبريل‌ها با روش دريچه پونكتواسيون از شيوه بكار گرفته شده توسط (۹) با اعمال تغييراتي در آن بهره‌گيري شد. شيوه آماده‌سازي نمونه‌ها در اين روش شامل جداسازي الياف با بهره‌گيري از محلول آب اكسيژنه و اسيد استيک و قراردادن آن‌ها زير ميكروسكوپ نوري مجهز به صافي‌هاي رنگي است. در زير ميكروسكوپ پونكتواسيون‌ها سرو مانندي به شكل بيضوي‌هاي كشيده روشن ديده مي‌شدند. با تغييرميزان نور و تنظيم پيچ كوچک بزرگنمايي، اين بيضي‌هاي كشيده به شكل خطوط مستقيم درمي‌آيند. با عكس برداري از نمونه‌ها، انتقال عكس‌هاي ديجيتالي به رايانه و بهره‌گيري از نرم‌افزار فتوشاپ زاويه‌اي كه اين خطوط روشن با محور طولي

۱- Wang

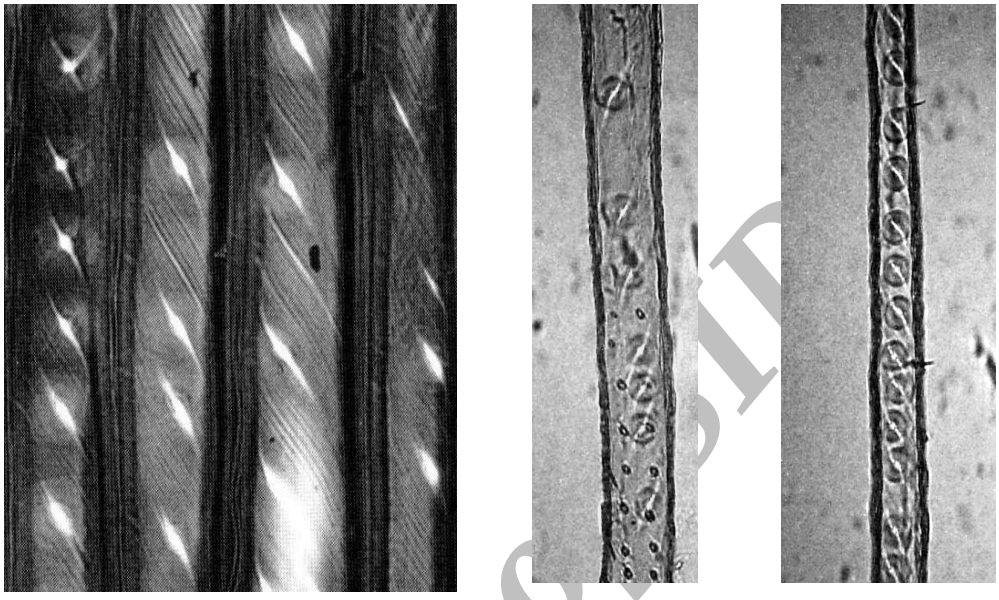
۲- Anagnost

۳- defiberation

۴- Donaldson

۵- Crosby, C.M., & R.E. Mark

تراكئيد مي‌سازند اندازه گرفته شد. اين زاويه معرف زاويه ميكروفيبريل‌هاي لايه S۲ مي‌باشد (شكل ۶). در اين شيوه نيز براي بدست آوردن ميانگين زاويه ميكروفيبريل در هر بلوک، زاويه‌هاي ميكروفيبريلي حدود ۳۰ تراكئيد اندازه‌گيري شد.



شكل ۶- دريچه پونكتواسيون‌ها كه زير ميكروسكوپ نوري به شكل خطوط نوراني ديده مي‌شود . زاويه‌ي اين خطوط با ديواره تراكئيد، همان زاويه ميكروفيبريل‌هاي لايه **S۲** است. دو شكل سمت راست برگرفته از اين پژوهش (قسمت مقابل فشاري) و شكل سمت چپ كه تراكيدهاي چوب فشاري گونه ***Picea rubens*** را نشان ميدهد برگرفته از تيمل (۱۹۸۶) مي‌باشد.

نتايج

- روش "رسوب كريستال يد"

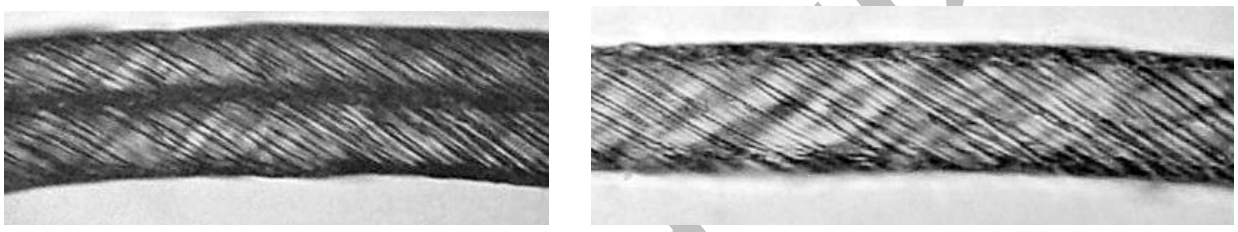
در عكس‌هاي گرفته شده با اين شيوه شمار بسيار زيادي كريستال در سطح برش‌ها ديده مي‌شدند كه به شكل تصادفي در جهات مختلف قرار گرفته بودند. گرچه بعضي از اين كريستال‌ها را ميتوان با آرايش نامنظم و غير موازي‌شان از كريستال‌هايي كه در ترک‌هاي ديواره سلولي رسوب كرده و در براي ميكروفيبريل‌ها قرار گرفته بودند تمييز داد ولي بيشتر وقت‌ها تشخيص اين مساله مشكل بوده و باعث ايجاد خطاهايي در برآورد زاويه ميكروفيبريل‌ها مي‌شود . گرچه در منابع آمده است كه امكان ديدن ميكروفيبريل‌هاي ديگر لايه‌هاي ديواره ثانويه با تغيير فوكوس ميكروسكوپ وجود دارد ولي در نمونه‌هاي اين پژوهش تنها براي‌گيري ميكروفيبريل‌هاي لايه ضخيم S۲ قابل ديدن بود. البته اين امر تا حدودي قابل انتظار است زيرا غالب نمونه‌هاي اين پژوهش از چوب فشاري تهيه شده بودند و ديواره ثانويه چوب فشاري بدون+ لايه S۳ است.

برش‌هاي آماده شده تنها براي چند ساعت (۶-۳ ساعت) قابل بهره‌گيري بودند و پس از آن سياه مي‌شدند. قرار دادن طولاني مدت (بيش از ۱۰ ثانيه) برش‌ها در محلول ياد شده باعث مي‌شد كه رنگ برش‌ها قهوه‌اي تيره شود ولي اگر اين مدت كوتاه بود، برش‌هايي با رنگ روشن ايجاد مي‌شدند كه ديدن كريستال‌هاي يد در آن‌ها به آساني بيشتري انجام ميگرفت. متاسفانه اين روش چندان قابل اعتماد نيست. در بعضي نمونه‌ها كريستال‌هاي يد به روشني در ترک‌هاي ديواره قابل ديدن بودند واندازه‌گيري زاويه ميكروفيبريل‌ها از روي آن‌ها به آساني انجام پذيرفت ولي در شماري از نمونه‌ها (بيشتر از قسمت فشاري) به‌هيچوجه كريستال‌ها در ترک‌هاي ديواره رسوب نكرده بلكه به‌طور نامنظم در سطح برش پراكنش يافتند. حتي در نمونه‌هايي كه كريستال‌هاي يد در ترک‌ها رسوب كرده بودند نيز تشخيص

اين كريستال‌ها از كريستال‌هاي تصادفي تا حدودي مشكل بود. در شماري از نمونه‌ها نتايج بدست آمده نسبت به دو روش ديگر كه پس از اين توضيح داده خواهد شد، انحراف شديدي نشان داده و در اصل در بيشتر نمونه‌ها هيچ زاويه ميكروفيبريلي اندازه‌گيري نشد و داده‌اي بدست نيامد.

- روش " ترک دهي ديواره تراكئيد"

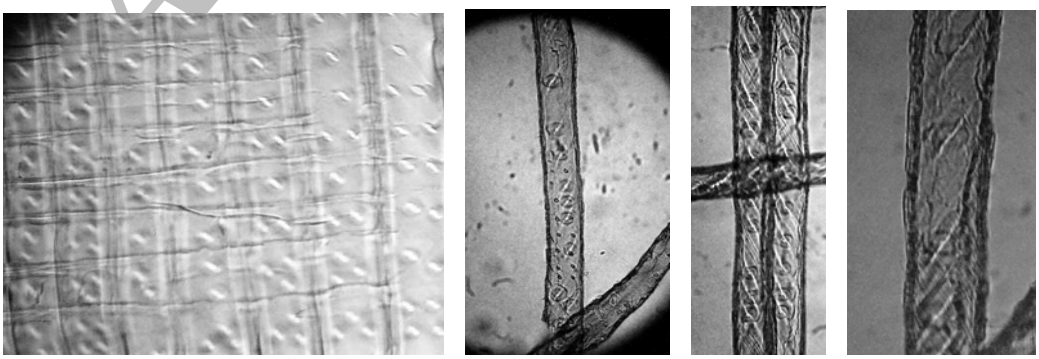
ايجاد و گسترش تركها و اندازه‌گيري زاويه آن‌ها با محور طولي تراكئيد درهر دو نوع چوب فشاري و مقابل فشاري امكان‌پذير بود. با اين حال شمار تراكئيدهايي كه در آن‌ها ترک ديده مي‌شد و آساني اندازه‌گيري آن‌ها در نمونه‌هاي نزديک پوست چوب فشاري بيشتر از ديگر نمونه‌ها بود. نكته ديگر اينكه ترک‌ها بيشتر در ديواره تراكئيدهاي طويل و نازک – كه ازمشخصه‌هاي تراكئيدهاي چوب پايان ميباشند – ايجاد مي‌شدند تا تراكئيدهاي كوتاه و قطور و اندازه‌گيري‌ها – ناخواسته- بيشتر روي اين تراكئيدها صورت پذيرفت (شكل۷).



شكل ۷- نمونه‌هايي از عكس‌هاي گرفته شده براي اندازه‌گيري زاويه ميكروفيبريل‌ها با روش ترك‌دهي ديواره.
(هر دو تصوير ازنمونه‌هاي چوب فشاري اخذ شده است) (۴۰۰*)

- روش "جهت‌گيري دريچه پونكتواسيون"

در اين آزمايش زاويه ميكروفيبريل حدود ۳۰ تراكئيد در هر نمونه‌اندازه‌گيري شد و به‌طور ميانگين ۱۵ تا ۲۵ پونكتواسيون در ديواره هر تراكئيد قابل ديدن بود. گرچه براي‌گيري دريچه اين پونكتواسيون‌ها در طول يک تراكئيد، در نزديك به همه تراكئيدها يكسان بود ولي در شمار كمي از تراكئيدها – بويژه تراكئيدهاي بسيار پهن و كوتاه – همه خطوط روشن درطول يک تراكئيد موازي هم نبوده و بي نظمي‌هايي دربين‌شان ديده مي‌شد. زاويه ميكروفيبريل اين تراكئيدها اندازه‌گيري نشد. در تراكئيدهاي نازک وطويل نمونه‌هاي نزديک پوست، دريچه پونكتواسيون به شكل خطوط مستقيم بسيار طويلي ديده مي‌شد كه نزديك به كل پهناي تراكئيد را در بر ميگرفت. ديدن و اندازه‌گيري زاويه اين خطوط آسان‌تر و دقيق‌تر از خطوط كلفت و كوتاه تراكئيدهاي چوب آغاز و نمونه‌هاي نزديك مغز بود (شكل ۸).



شكل ۸- نمونه‌هايي از عكس‌هاي گرفته شده براي اندازه‌گيري زاويه ميكروفيبريل‌ها با روش دريچه پونكتواسيون.
(عكس سمت چپ مربوط به نمونه داراي چوب مقابل فشاري و بقيه عكس ها مربوط به نمونه‌هاي داراي چوب فشاري است. (۲۵۰*)

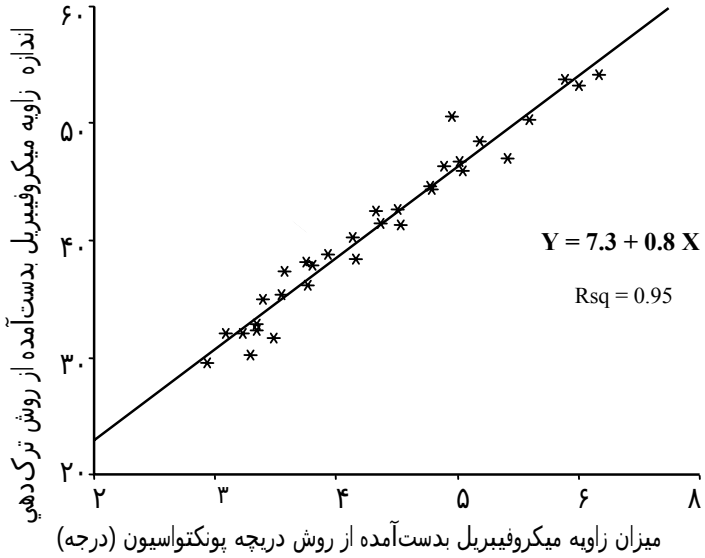
- مقايسه دو روش انـدازه‌گيـري زاويـه ميكروفيبريـل لايه S۲

به‌دليل خطاي زياد و بدست نيامدن داده‌هاي كافي با روش "رسوب كريستال يد"– بويژه در نمونه‌هاي فشاري؛ از نتـايج بدست آمـده از ايـن روش صـرفنظر كـرده و تنهـا دو روش ديگر با هم مقايسه شدند.

آزمون آماري T-Student نشان دادكه تفاوت معنـي‌داري بـين نتـايج بدسـت آمـده از ايـن دو روش در هيچيـك از نمونه‌ها وجود ندارد. شكل ۹ نتايج بدست آمـده از مقايـسه دو روش اندازه‌گيري زاويه ميكروفيبريل را براي نمونـه‌هـاي مختلف نشان ميدهد. به‌نظر مي‌رسد كـه هـر انـدازه زاويـه ميكروفيبريلي كوچكتر باشد، نتايج بدست آمده از دو روش همخواني بيـشتري بـا هـم پيـدا ميكننـد، در حـالي‌كـه در نمونه‌هايي با زاويه‌هاي ميكروفيلي بزرگ ايـن زاويـه‌هـا بـا بهره‌گيري از روش دريچه پونكتواسيون چند درجه بيشتر از روش ترك‌دهي برآورد ميشوند. همبستگي بسيار خوبي بين ايندو روش وجودداشته (ضريب همبستگي = ۰/۹۸) و يك رابطه خطي بين آن‌ها يافت شده اسـت. معادلـه ايـن خـط بقرار زير است:

$$Y = ۹/۳ - ۱/۳ X$$

كه در آن X ميزان زاويه‌هاي ميكروفيبريلي تعيين شده بـا روش تـــرك‌دهـــي و Y ميـــزان احتمـــالي زاويـــه‌هـــاي ميكروفيبريلي با روش دريچه پونكتواسيون است.



شكل ۹- رابطه بين ميزان اندازه‌گيري شده با دو روش.

بحث

روش "رسوب كريستال يد" روش مناسبي براي اندازه‌گيـري زاويه ميكروفيبريل تراكئيدها بويژه در گونه‌هايي كـه داراي چوب فشاري‌اند نمي‌باشد. گرچه پژوهشگراني چـون (۱۱)[۱]، (۹ و ۸)[۲] بـا بهـره‌گيـري از ايـن روش – بـه‌طـور رضـايت بخشي- قادر به‌اندازه‌گيري زاويه ميكروفيبريلي در گونه‌هاي مختلف كاج شده‌اند اما در اين بررسي اينكـار نـه در چـوب فشاري و نه در چوب مقابل فشاري گونه سرو امكـان پـذير نشد. شيوه "براي‌گيري دريچه پونكتواسيون" نسبت به روش

۱- Kretschmann

۲- Donaldson and Deresse

"رسوب كريستال يد" به آماده‌سازي كم‌تري نياز داشته، ساده‌تر بوده و با بهره‌گيري از آن و بدون نياز به تجهيزات پيچيده به آساني مي‌توان زاويه ميكروفيبريل‌ها را در الياف جداگانه يا برش‌هاي نازك شعاعي نمونه‌ها تعيين كرد. با اين حال امكان به‌كارگيري اين روش در مورد همه گونه‌هاي چوبي وجود ندارد. اين روش تنها براي الياف سوزني‌برگان قابل اجراست زيرا دريچة پونكتواسيون الياف پهن‌برگان آن اندازه بزرگ نيست كه بتوان اندازه‌گيري كرد. در مورد پونكتواسيون‌ها هاله‌اي، همان‌طور كه (۱۲)[1] اعلام كرده‌اند، دريچة پونكتواسيون را تنها مي‌توان در تراكئيدهاي طويل با ديواره قطور – كه از ويژگي‌هاي چوب‌پايان و يا چوب فشاري است. بدين‌سان نمونه‌گيري تنها به اين دو نوع الياف محدود مي‌شود. همان‌طور كه بيشتر بيان شد اندازه‌گيري زاويه‌هاي بزرگ ميكروفيبريلي (بالاي ۴۰ درجه) با بهره‌گيري از روش دريچه پونكتواسيون داراي خطاي به‌نسبت زيادي است. در زاويه‌هاي بزرگ ميكروفيبريلي، شكاف پونكتواسيون به‌شكل خط روشن قطور و كوتاهي ديده مي‌شود كه تعيين زاويه آن با محور سلول با نرم‌افزار به‌سختي امكان‌پذير است در حالي‌كه اين خط در زاويه‌هاي كوچك، باريك و نازك بوده و به‌تقريب سرتاسر عرض تراكئيد را مي‌پوشاند. همبستگي بين دو روش دريچه پونكتواسيون و ترك‌دهي ديواره با كوچك‌تر شدن زاويه‌هاي مورد اندازه‌گيري افزايش مي‌يابد. اين مساله باعث مي شودكه در نمونه‌هاي مقابل فشاري و نزديك پوست – كه زاويه ميكروفيبريل تراكئيد درآن‌ها كم است – نتايج بدست آمده از دو روش نزديك به هم شوند در حالي‌كه در نمونه‌هاي فشاري و نزديك مغز نتايج بدست آمده از ايندو روش حدود پنج تا هشت درجه با هم اختلاف داشته باشند. اين واقعيت نظر (۲) را مورد تاييد قرار ميدهد. دركل بهره‌گيري از اين شيوه براي اندازه‌گيري زاويه ميكروفيبريل تراكئيدهاي چوب فشاري به‌علت بزرگ بودن زاويه‌ها در اين نوع چوب چندان مطلوب نمي‌باشد البته اگر اندازه‌گيري‌ها تنها به چوب پايان محدود باشد يا نمونه‌هاي مورد بررسي در نزديك مغز قرار نگرفته باشند؛ ميتوان با اطمينان بيشتري از اين شيوه بهره گرفت.

روش ترك‌دهي ديواره روش ساده و مطمئن‌تري نسبت به روش دريچه پونكتواسيون به‌شمار مي‌آيد زيرا ديدن و اندازه‌گيري زاويه‌هاي بزرگ ميكروفيبريلي(بالاي ۳۵ درجه) به‌همان آساني اندازه‌گيري زاويه‌هاي كوچك(زير ۳۵ درجه) امكان‌پذير مي‌باشد. با اين حال اين روش اين عيب را دارد كه به‌طور معمول - و بويژه در چوب مقابل فشاري- تنها در نيمي از تراكئيدهايي كه تحت اين روش قرار ميگيرند، ترك ايجاد مي‌شود و اين مساله ممكن است اصل گزينش تصادفي تراكئيدها در يك نمونه را تحت‌الشعاع قرار دهد. نكته جالب توجه در اين روش اين بود كه ايجاد ترك در ديواره تراكئيدهاي چوب فشاري با آساني بيشتري انجام پذيرفت به‌طوري‌كه در بيشتر نمونه‌هاي فشاري بدون اعمال هيچ تيمارثانويه‌اي و تنها با رنگ آميزي ساده تراكئيدها پس از ليگنين زدايي جزئي ترك‌هاي فراوان و روشني در ديواره تراكئيدها ديده مي‌شد. اين در حالي بود كه ايجاد ترك‌هاي قابل رويت در ديواره تراكئيدهاي مقابل فشاري مستلزم خشك و تر كردن‌هاي متناوب و جوشاندن نمونه‌ها پيش از ليگنين‌زدايي بود. دليل اين مساله وجود ترك‌هاي جزئي مارپيچي (حفره‌هاي مارپيچي) در ديواره تراكئيدهاي چوب فشاري است. وجود اين ترك‌هاي جزئي _ كه يك ويژگي ذاتي تراكئيدهاي چوب فشاري بشمار آمده و در چوب سالم و عادي ديده نمي‌شود _ زمينه را براي ايجاد ترك‌هاي بزرگ مورد نظر ما فراهم ميكند.

يك عيب ديگر كه درمورد اين روش وجود دارد و توسط چند پژوهشگر بويژه (۱۴)[2] بر آن تاكيد شده است، تداخل لايه‌هاي S1 و S3 در ديدن ترك‌هاي لايه S2 است. با اين حال اين عيب در مورد چوب فشاري به‌دليل نبود لايه S3 و ايجاد نشدن ترك‌ها در لايه S1 به كمترين خود مي‌رسد .

بر پايه آنچه در بالا گفته شد؛ به‌نظر مي‌رسد بهره‌گيري از روش ترك‌دهي ديواره براي اندازه‌گيري زاويه

۱- Lichtenegger

۲- Shupe

ميكروفيبريل‌هاي لايه S۲ تراكئيدهاي چوب فشاري روش بسيار ساده و مطمئني بشمار آيد. با اين‌حال بهره‌گيري از اين روش در مورد چوب مقابل فشاري و سالم و عادي درصورتي توصيه مي‌شود كه بهره‌گيري از روش‌هاي دقيق‌تر ديگر مانند پراكنش اشعه X امكان‌پذير نباشد.

در جدول ۱ مقايسه‌اي بين سه روش اندازه‌گيري زاويه ميكروفيبريل ياد شده انجام گرفته است.

جدول ۱- مقايسه روش هاي بكارگرفته شده براي اندازه‌گيري زاويه ميكروفيبريل در اين بررسي

نام روش	امكان بهره‌گيري	دقت		آساني	برتري‌ها	عيب‌ها
		چوب فشاري	چوب مقابل فشاري			
رسوب كريستال يد	امكان اندازه‌گيري هر سه لايه ديواره ثانويه با تغيير فوكوس ميكروسكوپ (دونالدسون ۱۹۹۱)	به‌علت نبود وجود لايه S۳ دقيق	به‌علت تداخل لايه‌هاي S۱ و S۳ دقت كم‌تر	وقت‌گير، نيازمند مهارت و دقت فراوان در آماده‌سازي		- درمورد چوب آغاز داراي خطاي زيادي است. - از ريخت افتادگي و تورم ديواره سلول به‌علت تيمار شديد
ترك‌دهي ديواره	اندازه‌گيري زاويه ميكروفيبريلي لايه S۲	به‌علت وجود حفره‌هاي مارپيچي، دقيق	مناسب	ساده و آسان، بي‌نيازي به تجهيزات پيچيده يا مهارت فراوان	- امكان اندازه‌گيري زاويه‌هاي بزرگ و كوچك ميكروفيبريلي	- ترك نخوردن در همه تراكئيدها - تداخل لايه‌ها در چوب مقابل فشاري
دريچه منفذ	اندازه‌گيري زاويه ميكروفيبريلي لايه S۲ سوزني برگان	كم	دقيق	طولاني و خسته كننده، بدون نياز به تجهيزات يا آماده‌سازي فراوان	- امكان اعمال آن براي اندازه‌گيري اين مشخصه در خمير كاغذ	- خطاي زياد در اندازه‌گيري زاويه‌هاي بزرگ ميكروفيبريلي (بالاي ۴۰ درجه)

منابع

1 - Anagnost, S.E., 1998. Light microscopic diagnosis of wood decay, IAWA Journal, 19(2):141-167.

2 - Anagnost, S.E., R.E. Mark & R.B. Hanna, 2000. Utilization of soft rot cavity orientation for the determination of microfibril angle, Wood and Fiber Science, 32(1):81-87.

3 - Bergander, A., J. Brändström, G. Daniel & L. Sahnen, 2002. Fibril angle variability in earlywood of Norway spruce using soft rot cavities and polarization confocal microscopy, Journal of Wood Science, 48(4): 255 – 263.

4- Carlquist, S., 1988. Comparative wood anatomy. London, Springer Verlag.

5 - Cockrell, R.A., 1974. A comparison of latewood pits, fibril orientation and shrinkage of normal and compression wood of Giant Sequoia, Wood Science and Technology, 8(3): 197–206.

6 – Cote, W.A., N.P. Kutscha & T.E. Timell. 1968. Studies on compression wood. VII. Formation of cavaties in compression wood tracheids of Abies balsama L. Holzforschung 22:138– 144.

7 - Crosby, C.M., & R.E. Mark, 1974. Precise S2 angle determination in pulp fibers', *Svensk Papperstidning*17: 636-642.

8 - Deresse, T, 1998. The influence of age and growth rate on selected properties of Maine-grown red pine, University of Maine, Orono, ME. Ph.D. Thesis, 177p.
9 - Donaldson, L.A., 1991. The use of pit apertures as windows to measure microfibril angle in chemical pulp fibres, Wood and Fiber Science, 23(2): 290–295.
10 - Herman, M., P. Dutilleul & T. Avella-Shaw, 1999. Growth rate effects on intra-ring and inter-ring trajectories of microfibril angle in Norway spruce (*Picea abies*). IAWA Journal, 20: 3–21.
11 - Kretschmann, D.E., H.A. Alden & S. Verrill, 1997. Variations of microfibril angle in loblolly pine: comparison of iodine crystallization and x-ray diffraction techniques. The Proceedings of the IAWA/IUFRO International Workshop on the *Significance of Microfibril Angle to Wood Quality*, New Zealand: 157-176.
12– Lichtenegger, H. C., M. Müller, R. Wimmer & P. Fratzl, 2003. Microfibril angles inside and outside crossfields of Norway spruce tracheids. Holzforschung, 57:13-20.
13- Senft, J.F. & B.A. Bendtsen. 1985. Measuring microfibrillar angles using light microscopy. Wood and Fiber Science, 17(4): 564–567.
14- Shupe, T.F., E.T. Choong, D.D. Stokke & M.D. Gibson, 1996. Variation in cell dimensions and fibril angle for two fertilized even-aged loblolly pine plantations. Wood Fiber Sci, 28:268– 275.
15 - Timell, T.E., 1986. Compression Wood in Gymnosperms, Springer- Verlag, Berlin, vol I:85–205.
16 - Wang, H.H., J.G. Drummond, S.M. Reath, K. Hunt & P.A. Watson. 2001. An improved fibril angle measurement method for wood fibres, Wood Science and Technology, 34(6):493–503.

A comparison between three methods of measuring microfibril angle in compression and opposite wood of *Cupressus arizonica*

R. Oladi[*1], D. Parsapajouh[2] and K. Pourtahmasi[3]
[1] Ph.D. Student, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, I.R.Iran
[2] Professor, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, I.R.Iran
[3] Assistant Prof., Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, I.R.Iran
(Received: 09 October 2006, Accepted: 28 October 2008)

Abstract
In this study, the microfibril angle was determined utilizing three methods; "iodine crystal deposition", "inducing cracks in the secondary wall" and "Orientation of pit aperture". Besides, a comparison was made between these methods. Hence, samples were taken from compression and opposite side of four leaned cypress stand in cypress plantation of University of Tehran. Iodine crystal-stained sections did not produce satisfactory mocrofibril angle data because crystals hardly deposit on cell wall cracks and therefore it was impossible to determine MFA using this technique. The mean MFA of samples were measured using two other techniques. The results demonstrate good agreement between these two methods. But since it was hard to determine great MFA (more than 40 degree) using pit aperture method; it is not recommended to utilize this technique when compression and latewood are concerned. The relationship between data of these two methods was described as the following equation: $Y = 9.3 + 1.3\ X$. Where "X" is the value of MFA obtained by the method of "inducing cracks in the secondary wall" and "Y" is probable value which will be obtained by the other method.

Keywords: *Cupressus arizonica*, Microfibril angle, Compression wood, Iodine crystal deposition method, Inducing cracks in the secondary wall method, Orientation of pit aperture method

*Corresponding author: Tel: +98 912 6053426 , Fax: +98 261 2249311 , E-mail: reza_oladi@yahoo.com