

تأثیر تیمارهای خشکی، کوددهی، زخم و خمش بر میزان و ترکیب لیگنین نهال‌های اکالیپتوس (*Eucalyptus camaldulensis*)

چکیده

در این پژوهش، تأثیر تیمارهای خشکی، کوددهی، زخم و خمش بر میزان و ترکیب لیگنین نهال‌های دوساله اکالیپتوس (*Eucalyptus camaldulensis*) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد چوب پس از اعمال تیمار خشکی در مقایسه با سایر تیمارها، بیشترین غلظت لیگنین و واحدهای گویاسیل (G) و کمترین مقدار واحدهای هیدروکسی فنل (H) و سیرینجیل (S) و همچنین کمترین نسبت S/G را دارد. برعکس، کمترین غلظت لیگنین و واحدهای G و بیشترین مقدار واحدهای S و بیشترین نسبت S/G در تیمار کوددهی دیده شد. در این تیمار، واحدهای H افزایش نشان دادند. در تیمار زخم در مقایسه با تیمار شاهد، غلظت لیگنین تغییر محسوسی نداشت و تنها به میزان ناچیزی کاهش یافت. باین حال بر اثر این تیمار، واحدهای G افزایش چشمگیری داشته و واحدهای H و S و نسبت S/G کاهش یافتند. مهم‌ترین تغییر شیمیایی دیده شده در تیمار خمش، افزایش شدید واحدهای H، کاهش لیگنین گویاسیل و سیرینجیل و افزایش نسبت S/G بود. در مجموع، می‌توان نتیجه گرفت که شیمی بافت چوبی به گونه‌ای تغییر می‌یابد که به گیاه بهترین امکان مقابله با تنش‌های محیطی را بدهد. لیگنین گویاسیل نقش حفاظتی بیشتری داشته و افزایش لیگنین H با افزایش سرعت رشد و یا افزایش انعطاف‌پذیری ساقه مرتبط است.

واژگان کلیدی: لیگنین، تنش، بافت چوبی، بیوشیمی.

اکرم صداقت^۱

رضا اولادی^{۲*}

علی عبدالخانی^۲

داود افهامی سیسی^۳

عزیزاله خندان میرکوهی^۴

شایان مهرآمیز^۵

^۱ دانشجوی دکتری گروه علوم و صنایع چوب و کاغذ، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

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

^۳ استادیار گروه علوم و صنایع چوب و کاغذ، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

^۴ استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

^۵ کارشناس ارشد گروه علوم و صنایع چوب و کاغذ، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

مسئول مکاتبات:

oladi@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۱/۲۹

مقدمه

دیواره سلول چوبی، ساختار پیچیده‌ای متشکل از میکرو فیبریل‌های سلولزی و پلی‌ساکاریدهای خنثی غیر سلولزی است که در بافت زمینه پکتینی فعال دارای پیوند عرضی با پروتئین‌های ساختاری و لیگنین قرار گرفته است [۱]. لیگنین به‌عنوان ترکیب اصلی دیواره سلولی تراکتیوها، آوندها و فیبرها، حدود یک‌سوم زیست‌توده چوبی را تشکیل می‌دهد. لیگنین باعث مقاومت فشاری

چوب گشته و با عایق‌سازی دیواره عناصر هادی بافت چوبی، نقش مهمی در انتقال آب‌بازی می‌کند. همچنین لیگنین به زنده‌مانی درختان در شرایط محیطی نسبتاً خشک کمک می‌نماید [۲]. این ماده، زیست‌بسناری طبیعی متشکل از واحدهای فنیل پروپان با یک اتم اکسیژن در موقعیت ۴ (به صورت OH یا O-C) و یک یا دو گروه متوکسیل در موقعیت‌های ۳ و ۵ حلقه آروماتیکی است. موقعیت‌های دیگر در حلقه‌های آروماتیکی لیگنین

توانایی واکنش با مولکول‌های حیاتی از نوع پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک، لیپیدها و کربوهیدرات‌ها را داشته و سبب آسیب به آن‌ها می‌شوند. ROSها با ویژگی‌های منحصر به فرد خود می‌توانند به‌عنوان سیگنال‌های مولکولی عمل کرده و در پاسخ‌های گیاهان در برابر تنش‌ها نقش ایفا کنند. در گیاهان نقش سیگنال‌دهی ROSها و فعالیت سلول‌ها از اثرات سمی آن‌ها به ترتیب نیاز به شبکه تنظیمی و سیستم‌های دفاعی داشته، تا آنجا که میزان پاسخ هر یک از این عوامل، درجه تحمل گیاه به تنش‌های محیطی را نشان می‌دهد [۲]. تنش‌های محیطی، تعادل ROS را دچار اختلال کرده و سبب افزایش میزان آن‌ها می‌شود. اما ROSها نه تنها محصولات سمی متابولیسم‌های هوازی هستند، بلکه در مسیرهای سیگنال‌های مولکولی نیز عمل کرده و در فرآیندهای تحت تنش‌های زنده و غیرزنده مانند تنش‌های خشکی، گرما، سرما، نور شدید، فلزات سنگین، حمله پاتوژن، مرگ برنامه‌ریزی شده سلول، پیری و... مشارکت دارند. تجمع ROSها در سلول منجر به فعال کردن مسیرهای سیگنال‌دهی اختصاصی شده که با اکسید کردن پروتئین‌های خاص و تأثیر بر عوامل رونویسی، سبب تنظیم بیان ژن، تغییر در سنتز و فعالیت پروتئین می‌شود و در نهایت سلول را برای پاسخ به تنش و سازگاری با شرایط جدید آماده می‌کند [۲]. ایجاد تنش‌های محیطی و اختلال در تعادل ROS باعث افزایش بیان ژن‌هایی می‌شود که به تولید آنزیم‌های مرتبط با بیوسنتز لیگنین مرتبط بوده و بدین گونه موجب تنظیم بیوسنتز لیگنین شده و در نتیجه باعث سازگاری درخت با شرایط جدید می‌گردد [۲].

گیاهان در برابر خطرهای تنش‌های محیطی به دو روش فیزیکی و شیمیایی از خود دفاع می‌کنند. سیستم دفاعی فیزیکی شامل افزایش تراکم ساختارهایی مثل تیغ، خار و کرک است. پاسخ‌های شیمیایی نیز شامل تغییر در میزان و نوع لیگنین و تولید ترکیبات دومین دفاعی هستند که در برابر عوامل محیطی همانند سدی دفاعی عمل می‌کنند. تولید این ترکیبات تاحدی انرژی گیاه را برای رشد کاهش می‌دهد، بنابراین با این که افزایش این ترکیبات در تنش خشکی برای گیاه هزینه‌بر است و از رشد آن می‌کاهد ولی به‌عنوان سدی دفاعی بر تنش‌های

به‌ندرت توسط گروه‌های عاملی یا استخلافی اشغال می‌شوند. در عمل، تمامی انواع عناصر ساختاری قابل تشخیص در لیگنین از اکسایش P-هیدروکسی سینامیل الکل تشکیل می‌شوند. واحدهای فنیل پروپان از سه ترکیب پیش ساز الکی آروماتیکی پاراکوماریل الکل، کانیفریل الکل و سیناپیل الکل ناشی می‌شود که تفاوت این سه پیش‌ساز در تعداد گروه متوکسیل حلقه آروماتیکی می‌باشد. سیناپیل الکل دارای دو گروه متوکسیل در موقعیت‌های ۳ و ۵ حلقه آروماتیکی و کانیفریل الکل دارای یک گروه متوکسیل در موقعیت ۳ یا ۵ حلقه آروماتیکی است و پاراکوماریل الکل فاقد گروه متوکسیل حلقه آروماتیکی است [۳]. بسته به عناصر واحدهای ساختاری، لیگنین را می‌توان به چند دسته تقسیم کرد؛ آنچه که با عنوان لیگنین گواییاسیل (G) معروف است و تقریباً در همه سوزنی‌برگان یافت می‌شود، اساساً محصول بسپارش کانیفریل الکل است. لیگنین سیرینجیل (S) همبستگی از سیناپیل الکل بوده و به‌طور عمده در پهن‌برگان همراه با لیگنین گواییاسیل دیده می‌شود. لیگنین پاراهیدروکسی فنیل (H) که از مونو لیگنول‌های پاراکوماریل الکل تشکیل می‌شود به لیگنین علفی معروف بوده و این لیگنین علاوه بر گیاهان علفی (Gramineae) در بافت چوبی درختان نیز حضور دارد؛ به‌عنوان مثال چوب فشاری سوزنی‌برگان علاوه بر واحدهای گواییاسیل معمولی، درصد بالایی واحدهای پاراهیدروکسی فنیل دارد [۱]. در طی تشکیل دیواره ثانویه، مونولیگنول‌ها به‌عنوان پیش‌سازهای لیگنین در داخل فضاهای دیواره سلولی ترشح می‌شوند و به‌صورت تصادفی از طریق پلیمریزاسیون اکسایشی پیوند عرضی تشکیل می‌دهند [۲]. ترکیب مونومری لیگنین و پراکندگی آن در میان لایه‌های سلولی مختلف به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عامل‌های شیمیایی در تعیین دوام چوب به شمار می‌آیند [۴]. از آنجاکه گیاهان موجودات ساکنی هستند و توانایی فرار از تنش‌های زنده و غیرزنده را ندارند، به شبکه سیگنال‌دهی منظمی در تنظیم فرایندهای سلولی و هومئوستازی^۱ نیاز دارند. گونه‌های اکسیژن فعال^۲ (ROSها)، مولکول‌های سمی هستند که

¹ Homeostasis

² Reactive Oxygen Species (ROS)

محیطی فائق می‌آید [۴].

برخی تنش‌های محیطی مانند سرما و خشکی باعث افزایش میزان لیگنین و تغییر نوع آن (بیشتر شدن لیگنین گواییاسیل) شده و این تغییرات منجر به افزایش دوام زیستی چوب‌های حاصل از این درختان می‌شود [۵]. خشکی از مهم‌ترین عوامل تنش‌زای مؤثر بر فرایندهای فیزیولوژی و بیوشیمیایی است [۶]. تنش خشکی زمانی به وجود می‌آید که آب قابل‌دسترس برای ریشه‌ها محدود شده و یا سرعت تعرق بسیار زیاد گردد [۷]. از جمله پاسخ‌های سازگاری گیاهان به تنش خشکی می‌توان به تغییرات مورفولوژی، فیزیولوژی و بیوشیمیایی خاصی که گیاهان از خود بروز می‌دهند، اشاره نمود؛ برای مثال تغییر در میزان تانن و فنول [۸]. از دیگر تنش‌های مهمی که باعث تغییر در مقدار و نوع لیگنین بافت چوبی می‌شود، اعمال زخم بر تنه‌ی درختان است. پاسخ درختان در برابر این تنش از طریق تولید بافت چوبی با ویژگی‌های تغییر یافته، باعث افزایش مقاومت گیاهان در برابر شرایط تنش‌زا می‌شود. تغییر دیواره سلولی از طریق افزایش ضخامت یا تغییر ترکیبات دیواره سلولی، مکانیسم رایج گیاهان در پاسخ به زخم، تنش مکانیکی و فیزیکی است [۹].

درختان در طول دوره‌ی حیاتشان در معرض محرک‌های محیطی مانند باد، باران، وزن برف و... قرار می‌گیرند. از جمله عکس‌العمل‌های درختان در برابر این‌گونه عوامل محیطی، تشکیل چوب واکنشی است. چوب واکنشی پهن‌برگان که چوب‌کشی نامیده می‌شود با ویژگی‌های ساختاری و شیمیایی متفاوت با چوب نرمال به حفظ تعادل تنه و ساقه‌ها کمک می‌کند. اگرچه سلولز به‌عنوان ترکیب اصلی لایه‌ی ژلاتینی فیبرهای چوب‌کشی می‌باشد، باین‌حال مطالعات مختلفی حضور لیگنین، زایلوجلوکان، پکتین و آرابینوگالاکتان را در لایه‌ی ژلاتینی گزارش داده‌اند [۱۰].

به‌غیر از تنش‌ها، برخی شرایط مساعد نیز باعث تغییر در لیگنین چوب می‌شود؛ یکی از مهم‌ترین این تیمارها کوددهی است. کوددهی امروزه در جنگلداری به‌طور گسترده‌ای استفاده می‌شود و در پهن‌برگان بیشتر از سوزنی‌برگان متداول است. سهم عمده‌ای از کودها که برای حاصلخیزی خاک استفاده می‌شود از نیتروژن تشکیل شده

است. کودهای نیتروژنی به‌صورت تنها و یا همراه با فسفر باعث اضافه شدن مواد غذایی به خاک شده و تأثیر زیادی بر روی میزان رویش درختان دارند. معمولاً اثر نیتروژن را تنها با افزایش حجم درختان ارزیابی کرده و از اثرات احتمالی آن بر بیوشیمی و در نتیجه کیفیت چوب غفلت شده است. این کودها با افزایش سرعت رشد احتمالاً باعث کاهش میزان لیگنین در چوب می‌شوند [۱۱].

Weijde و همکاران (۲۰۱۷) تأثیر تنش خشکی (۲۸ روز بدون آبیاری) بر ۵۰ ژنو تیپ گیاه میسکانتوس^۱ را در شرایط گلخانه‌ای مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که در اثر تنش خشکی وزن گیاه تا ۴۵ درصد کاهش یافت. ترکیبات شیمیایی نیز به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای تغییر یافتند. نتایج کاهش قابل‌ملاحظه‌ای در میزان سلولز و افزایش چشمگیری در پلی‌ساکاریدهای همی‌سلولزی نشان داد، در حالی که تنش خشکی تأثیر کمی بر میزان لیگنین داشت [۱۲]. Schmitt و همکاران (۲۰۰۶)، تغییرات دیواره سلولی ناشی از تنش مکانیکی را از طریق ایجاد زخم در تنه درختان صنوبر مورد مطالعه قرار دادند. ناهمگنی توزیع لیگنین در دیواره سلولی از طریق میکرو اسپکتروفوتومتری فرابنفش مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که فیبرهای ناحیه زخم مقدار لیگنین بیشتری دارند، همچنین لایه میانی و لایه‌ی S₂ فیبرهای تغییر یافته در مقایسه با فیبرهای نرمال، واحدهای گواییاسیل بیشتری دارند [۹]. Hedenstrom و همکاران (۲۰۰۹) با استفاده از آنالیز طیف NMR دوبعدی، تغییرات ترکیب لیگنین را در چوب‌کشی مورد بررسی قرار دادند. ناحیه پیک‌های آروماتیکی نشان داد که در چوب‌کشی به‌طور نسبی میزان لیگنین سیرینجیل و پاراهیدروکسی بنزوات نسبت به چوب نرمال بیشتری می‌باشد [۱۳]. Bland و Scurfield (۱۹۶۴) بیان کردند که چوب‌کشی میزان لیگنین کمتری داشته و لیگنین چوب‌کشی دارای واحدهای سیرینجیل بیشتری است [۱۴]. Pitre و همکاران (۲۰۰۷) تأثیر افزایش مصرف نیتروژن از طریق کوددهی آمونیوم نترات (NH₄NO₃) را بر لیگنین‌سازی گونه‌ای صنوبر مورد بررسی قرار دادند. میزان لیگنین در چوب ثانویه با افزایش میزان نیتروژن کاهش یافت.

¹ Miscanthus

² P-hydroxybenzoate

پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه با بافت لوم شنی کاشته شدند. سپس نهال‌ها تحت تیمارهای خشکی، کوددهی، زخم و خمش قرار گرفتند. برای هر تیمار، ۵ نهال به‌عنوان تکرار در نظر گرفته و ۵ نهال به‌عنوان شاهد استفاده شد. لازم به ذکر است از سطوح ۱۰ لیتری برای کشت نهال‌ها استفاده شد. میانگین قطر نهال‌ها در منطقه طوقه $1/2 \pm 4/9$ سانتی‌متر بود.

نهال‌ها بر اساس میزان نیاز آبی‌شان تا پایان فصل رویش (زمان قطع نهال‌ها) آبیاری شدند. میزان آب مورد استفاده به اندازه‌ای بود که کل حجم خاک گلدان را خیس نموده و اولین قطره آب از انتهای گلدان خارج شود، که این میزان آب حدوداً برابر با ۴ لیتر اندازه‌گیری گردید. برای اعمال تیمار خشکی، این میزان آب در مرحله‌ی مشاهده اولین علائم پژمردگی در نهال‌ها، مصرف شد [۱۷]. ولی برای سایر نهال‌ها آبیاری به‌صورت منظم و هفته‌ای دو بار انجام گردید.

برای تأمین نیتروژن لازم برای رشد گیاه، در کلیه تیمارها، کوددهی ابتدایی با نیترات آمونیوم، با غلظت ۶ میلی‌مولار به همراه آبیاری به مدت یک ماه اعمال گردید. سپس برای تیمار کوددهی، کوددهی با نیترات آمونیوم و با غلظت ۱۲ میلی‌مولار به همراه آب آبیاری تا پایان فصل رویش ادامه یافت؛ میزان محلول مورد استفاده برابر با نیاز آبی نهال‌ها بود. لازم به ذکر است که در سایر تیمارها، کوددهی بعد از یک ماه متوقف گردید. به‌منظور بررسی تأثیر آسیب مکانیکی، زخم‌هایی با ابعاد ۲-۱ سانتی‌متر و عمق ۰/۵ سانتی‌متر در چهار جهت مختلف دور ساقه نهال‌ها [۱۸] ایجاد گردید، به‌شکلی که بین دو زخم کنار هم، حدود ۵ سانتی‌متر در راستای طولی فاصله باشد (شکل ۱). همچنین تیمار خمش با خم کردن ساقه نهال‌ها به میزان ۴۵ درجه از محور عمودی نهال‌ها در ابتدای فصل رویش اعمال گردید. در شکل ۱ کاشت نهال‌ها و اعمال تیمارها نشان داده شده است.

همچنین در روش استیل برومید، میزان لیگنین حدود ۱۰٪ کاهش یافت ولی در میزان لیگنین کلاسون تغییری مشاهده نشد. در روش تیواسیدولیز مشاهده شد که در اثر حجم بالای نیتروژن، نسبت گواپاسیل / سیرینجیل (S/G) کاهش و واحدهای پاراهیدروکسی فنیل لیگنین افزایش می‌یابد. بر این اساس، بیان گردید که ساختار لیگنین تشکیل‌شده چوب صنوبر تحت حجم بالای نیتروژن، مشابه ساختار لیگنین تشکیل‌شده در مراحل ابتدایی تشکیل چوب می‌باشد [۱۵].

طرح‌های علمی و نیمه‌صنعتی‌ای در دانش زیست‌فناوری وجود دارند که هدفشان کاهش یا افزایش لیگنین می‌باشد. این پروژه‌ها به‌طور معمول با دستکاری ژنتیکی انجام می‌شود. با این حال، دانش پایه در مورد تأثیرات محیط و به‌خصوص تنش‌های محیطی بر میزان و نوع لیگنین کم است؛ به همین دلیل در بسیاری از این شیوه‌ها نتایج غیرمنتظره و گاه غیرقابل تفسیری به‌دست آمده است. پژوهش حاضر به هدف بررسی اثر تیمارهای خشکی، کوددهی، زخم و خمش بر میزان و ترکیب لیگنین نهال‌های دوساله اکالیپتوس (*Eucalyptus camaldulensis*) انجام شده و می‌تواند علاوه بر فهم سازوکار تطابق درخت با تنش‌ها و تیمارهای محیطی، به تفسیر نتایج پژوهش‌های ژنتیکی مذکور کمک کند. گونه اکالیپتوس به این دلیل انتخاب شد که در مقایسه با دیگر گونه‌های تندرشت معمول (صنوبر، پالونیا)، میزان و تنوع لیگنین بافت چوبی آن بالاست. همچنین یکی از منابع لیگنوسلولزی مهم در جنوب ایران محسوب می‌شود [۱۶].

مواد و روش‌ها

کاشت نهال‌ها و اعمال تیمارها

در این پژوهش، نهال‌های دوساله گونه‌ی اکالیپتوس (*Eucalyptus camaldulensis*) در خاک مزرعه تحقیقاتی



شکل ۱- کاشت نهال‌ها و اعمال تیمارها؛ ایجاد زخم (شکل داخلی)

نمونه برداری

نهال‌ها در پایان فصل رویش قطع شدند. برای بررسی تأثیر تیمار خمش، دیسکی به طول تقریبی ۱۵ سانتی‌متر از منطقه حداکثر خمیدگی هر ساقه جدا شد. دیسک‌هایی به همین طول، از ناحیه دارای زخم نیز بریده شدند، به نحوی که چهار زخم اعمال‌شده در وسط آن‌ها قرار گیرند. برای تیمارهای خشکی، کوددهی و شاهد از ناحیه ابتدای ساقه به طول ۳۰ سانتی‌متر نمونه برداری انجام گردید و برای بررسی و شناسایی نوع و مقدار لیگنین، نمونه‌ها پس از پوست‌کنی به صورت آرد چوب (درجه مش ۴۰ و ۶۰) مورد استفاده قرار گرفتند. ابتدا تلاش شد که نمونه‌ها تنها از آخرین حلقه رویشی تولیدشده، جدا شوند. باین‌حال، این کار -از نظر فنی- در مورد برخی تیمارها که حلقه‌های نازک‌تری تولید کردند به‌طور کامل امکان‌پذیر نشد. از این‌رو، برای یکسان‌سازی نمونه‌ها، همه نمونه‌ها شامل دو حلقه رویشی (حلقه سال جاری و حلقه رویشی سال پیش از آن) بود. از آنجاکه همه نهال‌ها تا پیش از اعمال تیمارها در شرایط کاملاً یکسانی رشد کرده‌اند، می‌توان فرض کرد که ویژگی‌های بیوشیمیایی بافت چوبی حلقه سال پیش در آن‌ها مشابه بوده و تغییری در نتایج ایجاد نمی‌کنند.

استخراج ترکیبات استخراجی

برای حذف اثر مواد استخراجی بر نتایج، این مواد از

چوب خارج شدند. برای استخراج و حذف ترکیبات چربی دوست و آب‌دوست، نمونه‌های آرد چوب به ترتیب با استفاده از حلال هگزان و حلال اتانول: آب (۱:۹۷/۷) و با روش خیساندن استخراج شدند. به این منظور مقداری آرد چوب در بالن ریخته شد و حلال موردنظر به مقداری که روی سطح آرد چوب را قرار گیرد به آن اضافه گردید. سپس بالن در داخل شیکر قرار گرفت و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و $rpm=80$ و به مدت ۲۴ ساعت استخراج انجام شد. سپس نمونه‌های آرد چوب به مدت ۲۴ ساعت در هوای آزاد خشک شدند [۱۹].

کروماتوگرافی Py-GC/MS^۱

به‌منظور تعیین مقدار و ترکیب لیگنین (واحد‌های سیرینجیل، گوایاسیل و پاراهیدروکسی فنیل) نمونه‌های آرد چوب عاری از مواد استخراجی در سه دمای ۵۰۰، ۵۵۰ و ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد پیرولیز شدند. پیرولیز با استفاده از Curie-Point Flash Pyrolyzer متصل به کروماتوگرافی گازی Agilent 6890 GC/MS و ستون 30m×0.25m DB-5 انجام گردید. از گاز هلیوم به‌عنوان فاز حامل استفاده شد. محصولات در طیف‌سنجی جرمی نسبت به مخزن اطلاعاتی Wiley و NIST شناسایی گردیدند.

^۱ Pyrolysis – Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy

نتایج و بحث

آنالیز پیرولیز - کروماتوگرافی گازی / طیف‌سنجی جرمی (Py-GC/MS)

Py-GC/MS تکنیکی سریع برای آنالیز ساختار لیگنین است. از این تکنیک به فراوانی برای تعیین نسبت

واحدهای سیرینجیل به گوایاسیل (S/G) در پهن‌برگان استفاده شده است [۲۰]. جداول ۱، ۲ و ۳ فراوانی نسبی مولی ترکیب لیگنین تیمارهای مختلف چوب اکالیپتوس ناشی از پیرولیز چوب را به ترتیب در سه دمای ۵۰۰، ۵۵۰ و ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد نشان می‌دهند.

جدول ۱- ترکیب لیگنین شناسایی شده در چوب اکالیپتوس پس از اعمال تیمارهای مختلف روی نهال‌های این گونه. شناسایی توسط طیف‌سنجی جرمی و پس از پیرولیز در دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد انجام شده است.

S/G نسبت	S درصد	G درصد	H درصد	غلظت کل لیگنین (%)	تیمار (دمای ۵۰۰ درجه)
۰/۷۵	۴۰/۰۹	۵۳/۰۴	۶/۸۶	۳۷/۵۹	شاهد (C)
۱/۰۲	۴۴/۷۳	۴۳/۶۱	۱۱/۶۵	۳۲/۱۷	کوددهی (F)
۰/۲۶	۲۰/۲۸	۷۵/۱۸	۴/۵۲	۴۳/۲۸	خشکی (D)
۰/۳۴	۲۳/۹۷	۷۰/۱۱	۵/۹۰	۳۶/۲۴	زخم (W)
۰/۷۹	۳۵/۱۸	۴۴/۴۰	۲۰/۴۰	۳۹/۷	خمش (B)

جدول ۲- ترکیب لیگنین شناسایی شده در چوب اکالیپتوس پس از اعمال تیمارهای مختلف روی نهال‌های این گونه. شناسایی توسط طیف‌سنجی جرمی و پس از پیرولیز در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد انجام شده است.

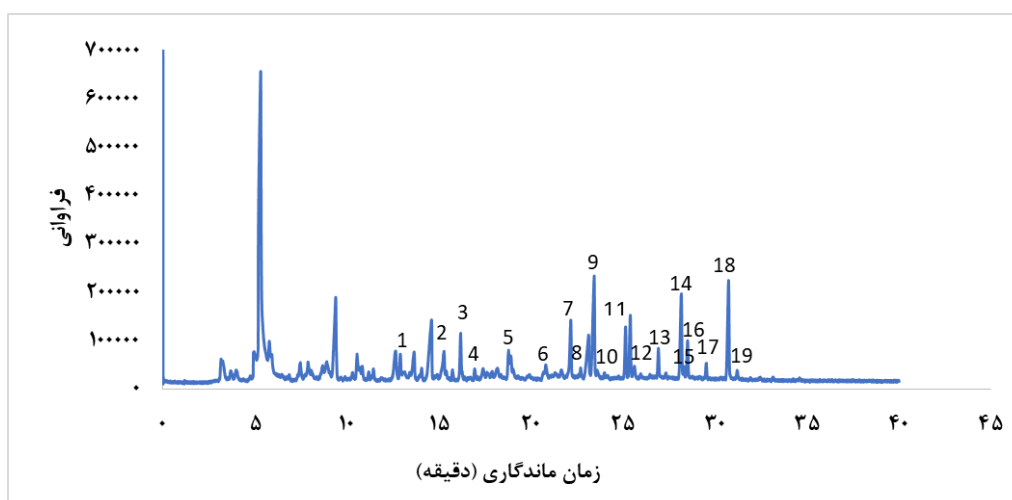
S/G نسبت	S درصد	G درصد	H درصد	غلظت کل لیگنین (%)	تیمار (دمای ۵۵۰ درجه)
۰/۰۸	۶/۳۸	۷۳/۶۴	۱۹/۹۶	۲۹/۷۵	شاهد (C)
۰/۶۲	۳۶/۲۷	۵۷/۹۰	۵/۸۱	۴۱/۲۴	کوددهی (F)
۳/۳۰	۶۸/۵۵	۲۰/۷۷	۱۰/۶۹	۲۹/۰۷	خشکی (D)
۱/۹۶	۶۶/۳۰	۳۳/۶۶	۰/۰۲۶	۳۷/۱۹	زخم (W)
۰/۷۰	۳۵/۵۳	۵۰/۰۵	۱۴/۴۱	۴۳/۰۹	خمش (B)

جدول ۳- ترکیب لیگنین شناسایی شده در چوب اکالیپتوس پس از اعمال تیمارهای مختلف روی نهال‌های این گونه. شناسایی توسط طیف‌سنجی جرمی و پس از پیرولیز در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد انجام شده است.

S/G نسبت	S درصد	G درصد	H درصد	غلظت کل لیگنین (%)	تیمار (دمای ۶۰۰ درجه)
۰/۶۱	۳۴/۴۰	۵۵/۹۴	۹/۶۵	۲۵/۴۹	شاهد (C)
۰/۸۳	۳۹/۹۶	۴۷/۹۲	۱۲/۱۱	۴۹/۱۲	کوددهی (F)
۰/۹۹	۴۹/۰۹	۴۹/۴۰	۱/۵۰	۳۸/۵۲	خشکی (D)
۱/۳۲	۵۶/۶۱	۴۲/۶۹	۰/۶۸	۳۵/۰۶	زخم (W)
۱/۱۷	۵۰/۱۸	۴۲/۷۹	۷/۰۱	۲۴/۰۹	خمش (B)

شاهد اکالیپتوس در شکل ۲ و ساختارهای شناسایی شده ناشی از لیگنین به همراه فراوانی نسبی مولی آن‌ها در جدول ۴ نشان داده شده است.

با توجه به مطابقت نتایج پژوهش‌های پیشین با نتایج حاصل از پیرولیز چوب اکالیپتوس تحت تیمارهای گوناگون در دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد، نتایج حاصل از این دما، ملاک قرار گرفته و تحلیل شد. پیروگرام چوب



شکل ۲- کروماتوگرام اجزاء ساختاری چوب شاهد گونه اکالیپتوس، حاصل از پیرولیز

جدول ۴- ترکیبات مونومری لیگنین شناسایی شده در چوب شاهد اکالیپتوس. شناسایی توسط طیفسنجی جرمی چوب و پس از پیرولیز انجام شده است. لیگنین هیدروکسی فنول (H)؛ گواپاسیل (G) و سیرینجیل (S)

شماره پیک	ترکیب	غلظت (%)	منشأ
1	Phenol, 4-(heptyloxy)-	۱/۰۸	H
2	Phenol	۰/۵۴	H
4	Phenol, 3-methyl-	۰/۵	H
10	Phenol, 2-methoxy-5-(1-propenyl)-, (E)-	۰/۱۷	H
12	Benzaldehyde, 4-hydroxy-2-methoxy-	۰/۲۹	H
3	Phenol, 2-methoxy-	۲/۱۱	G
7	2-Methoxy-4-vinylphenol	۳/۵۱	G
9	2,4-Dimethoxyphenol	۷/۵۹	G
11	Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-	۲/۷۴	G
13	3,4-Dimethoxy-5-hydroxybenzaldehyde	۱/۳۳	G
5	Phenol, 2-methoxy-4-methyl-	۱/۴۳	G
6	Phenol, 4-ethyl-2-methoxy-	۰/۳۹	G
8	Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-	۰/۲۵	G
15	2-Propanone, 1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-	۰/۵۹	G
14	3',5'-Dimethoxyacetophenone	۵/۶۷	S
16	Phenol, 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	۲/۰۳	S
17	Phenol, 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	۰/۶۶	S
18	Phenol, 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	۶/۳۱	S
19	Benzaldehyde, 4-hydroxy-3,5-dimethoxy-	۰/۴	S

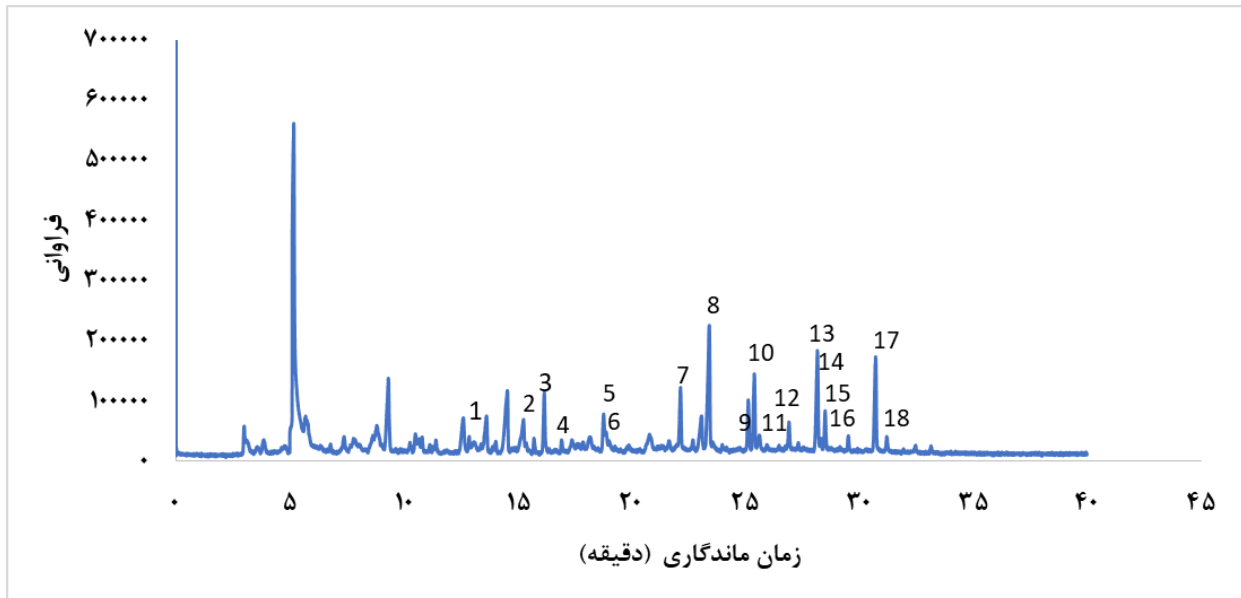
سیرینجیل تشکیل شده است. برخلاف عمده پهن برگان که لیگنین آنها بیشتر از واحدهای سیرینجیل تشکیل می شود، نتایج این تحقیق نشان داد که لیگنین گونه‌ی اکالیپتوس (*E. camaldulensis*) بیشتر از واحدهای گواپاسیل تشکیل شده است و نسبت S/G در این گونه ۰/۷۵ است.

نتایج حاصل از جدول ۴ که به طور خلاصه در جدول ۱ آورده شده است، نشان می دهد که غلظت کل لیگنین حاصل از پیرولیز چوب اکالیپتوس ۳۷/۶ درصد بود که ۶/۹ درصد آن از فنول‌های مشتق شده از پاراهیدروکسی فنول (H) و ۵۳ درصد و ۴۰/۱ درصد لیگنین این گونه به ترتیب از فنول‌های مشتق شده از واحدهای گواپاسیل و

تیمار خشکی

همراه فراوانی نسبی مولی آنها را برای این تیمار نشان می‌دهد.

شکل ۳ پیروگرام چوب اکالیپتوس تحت تیمار خشکی و جدول ۵ ساختارهای شناسایی شده ناشی از لیگنین به



شکل ۳- کروماتوگرام اجزاء ساختاری چوب اکالیپتوس تحت تیمار خشکی، حاصل از پیرولیز

جدول ۵- ترکیبات مونومری لیگنین شناسایی شده در چوب اکالیپتوس پس از اعمال تیمار خشکی. شناسایی توسط طیف‌سنجی جرمی چوب و پس از پیرولیز انجام شده است. لیگنین هیدروکسی فنول (H)؛ گوایاسیل (G) و سیربنجیل (S)

شماره پیک	ترکیب	غلظت (%)	منشأ
1	Phenol, 4-ethoxy-	۰/۵۱	H
2	Phenol	۰/۳۹	H
4	Phenol, 3-methyl-	۰/۵۶	H
6	5-(4-Methoxyphenyl)-3,5-dioxopentanoic acid	۰/۱۲	H
11	Benzaldehyde, 4-hydroxy-2-methoxy-	۰/۳۸	H
3	Phenol, 2-methoxy-	۳/۱۹	G
5	2-Methoxy-6-methylphenol	۱/۹۷	G
7	2-Methoxy-4-vinylphenol	۳	G
8	2,4-Dimethoxyphenol	۹	G
9	Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-	۲/۶۱	G
10	Phenol, 4-methoxy-3-(methoxymethyl)-	۴/۳	G
12	3,4-Dimethoxy-5-hydroxybenzaldehyde	۱/۲۷	G
13	6-Methoxycoumaran-7-ol-3-one	۶/۸۷	G
14	2-Propanone, 1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-	۰/۳۳	G
15	Phenol, 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	۱/۸۶	S
16	Phenol, 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	۰/۵۸	S
17	Phenol, 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	۵/۷۷	S
18	Benzaldehyde, 4-hydroxy-3,5-dimethoxy-	۰/۵۷	S

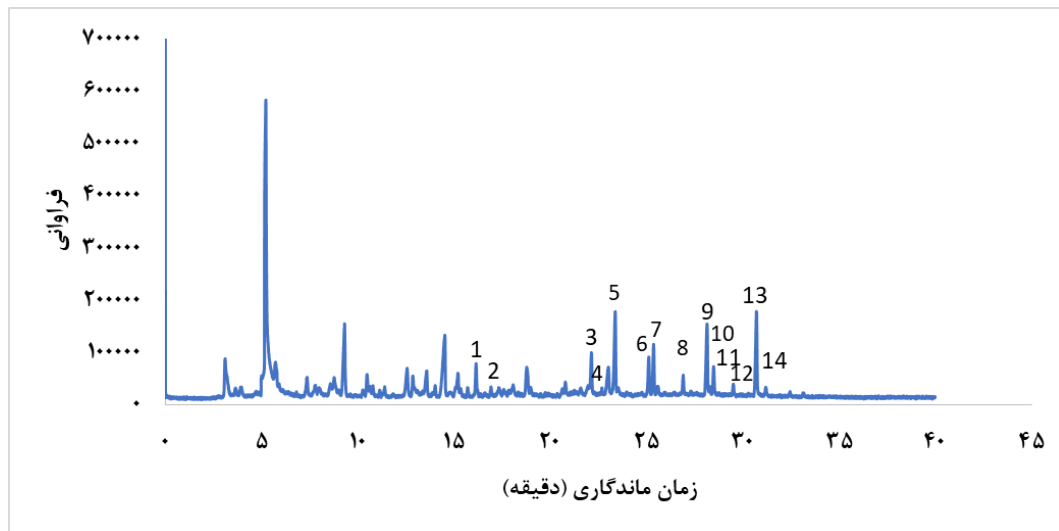
تنش‌زای خشکی وجود داشته است [۲۴] و گزارش شده است که صنوبرهایی که به شکل آزمایشگاهی، تغییر ژن یافته‌اند با کاهش لیگنین، کارایی انتقال آب در آنها کاهش می‌یابد [۲۵]. Fan و همکاران (۲۰۰۶) بیان کردند که با ایجاد تنش خشکی، میزان رشد کاهش می‌یابد. کاهش رشد با افزایش بیان ژن‌های سیناموئیل COA ردوکتاز ۱ و ۲ که مسئول بیوسنتز لیگنین می‌باشند، همراه است. می‌توان گفت با ایجاد تنش خشکی و کاهش رشد، میزان رسوب لیگنین افزایش می‌یابد. تجمع لیگنین باعث افزایش سفتی و مقاومت دیواره سلولی و همچنین باعث کاهش انبساط و قابلیت توسعه دیواره سلولی و کاهش چین‌خوردگی (کُلپس) می‌شود. در گیاهان تحت تنش خشکی، کاهش رشد و افزایش لیگنین باعث بهبود دسترس‌پذیری آب، مواد معدنی و قندها که به‌عنوان عامل‌های ضروری جهت حفظ رشد حداقل و زنده‌مانی سلول‌های جوان در ناحیه مریستم انتهایی می‌باشند، می‌شود و همچنین این امر باعث تسهیل رشد مجدد پس از تنش خشکی نیز می‌گردد [۲۶]. بنابراین می‌توان بیان کرد که با ایجاد تنش خشکی، به‌منظور جلوگیری از چین‌خوردگی و افزایش مقاومت دیواره سلولی، کاهش رشد و توسعه سلولی و همچنین کمک به تسهیل انتقال آب و زنده‌مانی، میزان لیگنین و واحدهای گواپاسیل افزایش و نسبت S/G کاهش می‌یابد.

تیمار کوددهی

شکل ۴ پیروگرام چوب تحت تیمار کوددهی و جدول ۶ ساختارهای شناسایی شده ناشی از لیگنین به همراه فراوانی نسبی مولی آنها را برای این تیمار نشان می‌دهد.

نتایج جدول ۱ و ۵ نشان می‌دهد که با اعمال تنش خشکی، غلظت کل لیگنین در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافت. از نظر نوع لیگنین، واحدهای پاراهیدروکسی فنول و سیرینجیل کاهش و واحدهای گواپاسیل افزایش یافتند. نسبت S/G در این تیمار ۰/۲۶ بوده که نسبت به تیمار شاهد کاهش چشمگیری یافته است. همچنین نتایج جدول ۱ نشان می‌دهد که تیمار خشکی در مقایسه با سایر تیمارها نیز بیشترین غلظت لیگنین و واحدهای گواپاسیل و کمترین مقدار واحدهای پاراهیدروکسی فنول و سیرینجیل و کمترین نسبت S/G را دارد. افزایش تنش خشکی باعث افزایش لیگنین‌سازی در برگ‌های *Ctenanthe setosa* می‌شود [۲۱]. در بافت چوبی نیز، در پاسخ به تنش خشکی فعالیت آنزیم‌های فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL)^۱ و پراکسیداز که باعث لیگنین‌سازی می‌شوند افزایش یافته و به دنبال آن، رسوب لیگنین نیز افزایش می‌یابد [۲۲]. در پهن‌برگان، دیواره سلولی عناصر آوندی که مانند تراکئیدهای سوزنی‌برگان مسئول انتقال آب می‌باشند یا تنها از واحدهای لیگنین گواپاسیل تشکیل شده‌اند یا سرشار از این نوع لیگنین هستند. در حالی که دیواره‌های سلولی فیبرهای چوبی که عناصر غیر هادی می‌باشند، سرشار از لیگنین سیرینجیل است [۲۳]. با توجه به خالی بودن موقعیت ۳ یا ۵ حلقه‌ای آروماتیکی در واحدهای گواپاسیل، در این واحدها اتصالات قوی‌تری نسبت به لیگنین سیرینجیل برقرار می‌شود؛ به همین دلیل سلول‌های هادی آب در پهن‌برگان و سوزنی‌برگان برای کارایی بهتر، از واحدهای لیگنین گواپاسیل تشکیل شده‌اند. در گیاهان، سازوکاری برای تنظیم بیوسنتز لیگنین گواپاسیل در سلول‌های چوبی هدایت‌کننده‌ی آب در طی تکامل گیاهان و شرایط

^۱ Phenylalanine ammonialyases



شکل ۴- کروماتوگرام اجزاء ساختاری چوب اکالیپتوس تحت تیمار کوددهی، حاصل از پیرولیز

جدول ۶- ترکیبات مونومری لیگنین شناسایی شده در چوب اکالیپتوس پس از اعمال تیمار کوددهی. شناسایی توسط طیف‌سنجی جرمی چوب و پس از پیرولیز انجام شده است. لیگنین هیدروکسی فنول (H)؛ گوایاسیل (G) و سیرینجیل (S)

شماره پیک	ترکیب	غلظت (%)	منشأ
7	Phenol, 4-methoxy-3-(methoxymethyl)-	۳/۳۲	H
2	Phenol, 3-methyl-	۰/۴۳	H
1	Phenol, 2-methoxy-	۱/۷۱	G
3	2-Methoxy-4-vinylphenol	۲/۲	G
5	2,4-Dimethoxyphenol	۶/۳۴	G
6	Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-	۲/۴۲	G
8	3,4-Dimethoxy-5-hydroxybenzaldehyde	۰/۸۹	G
4	Phenol, 2-methoxy-5-(1-propenyl)-, (E)-	۰/۱۴	G
10	2-Propanone, 1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-	۰/۳۳	G
9	3',5'-Dimethoxyacetophenone	۵/۶۵	S
11	Phenol, 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	۱/۵۵	S
13	Phenol, 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	۶/۲۷	S
12	Phenol, 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	۰/۵۵	S
14	Benzaldehyde, 4-hydroxy-3,5-dimethoxy-	۰/۳۷	S

Shupe و همکاران (۱۹۹۵) از طریق کوددهی خاک با ترکیبی از کودهای اوره گرانول (۴۵٪ نیتروژن)، سوپرفسفات (۵۳/۴٪ فسفر پنتا اکسید) و موریات پتاس (۶۰٪ پتاسیم اکسید) نشان دادند که میزان لیگنین کلاسون به طور قابل توجهی کاهش یافت [۲۷]. در حجم بالای نیتروژن، میزان کل لیگنین در چوب تازه تشکیل شده صنوبر و مقدار لیگنین گوایاسیل در آن کاهش می‌یابد [۱۱ و ۱۵]. افزایش واحدهای پاراهیدروکسی فنول در چوب درختانی که در معرض نیتروژن زیاد بوده‌اند،

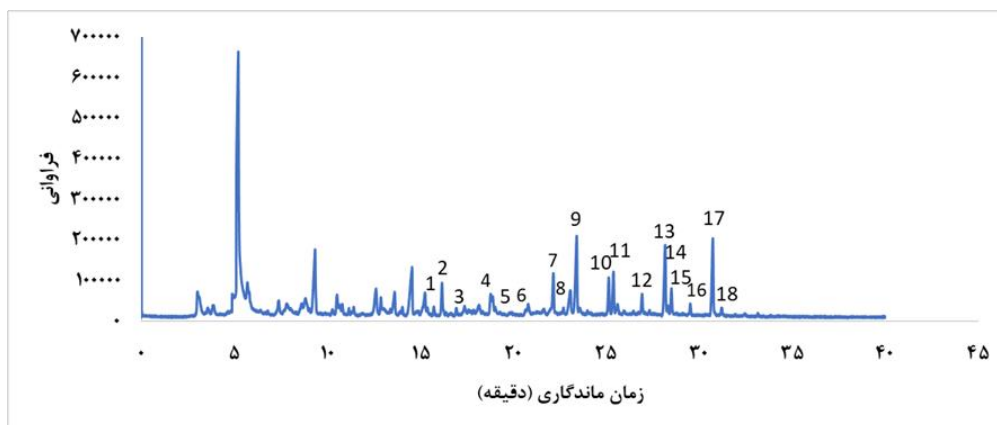
نتایج جداول ۱ و ۶ نشان می‌دهند که با اعمال تیمار کود دهی در مقایسه با تیمار شاهد، غلظت کل لیگنین کاهش یافت و واحدهای پاراهیدروکسی فنول و سیرینجیل افزایش و واحدهای گوایاسیل کاهش یافتند. نسبت S/G در این تیمار حدود ۱ بوده که در مقایسه به تیمار شاهد افزایش زیادی را نشان می‌دهد. همچنین تیمار کوددهی در مقایسه با سایر تیمارها، کمترین غلظت لیگنین و واحدهای گوایاسیل، و بیشترین مقدار واحدهای سیرینجیل و نسبت S/G را دارد (جدول ۱).

سرعت رشد زیست‌توده و حجم تنه، سبب کاهش میزان لیگنین و واحدهای گویاباسیل و افزایش نسبت S/G می‌شود.

تیمار زخم

شکل ۵ پیروگرام چوب اکالیپتوس تحت تیمار زخم را نشان داده و در جدول ۷ ساختارهای شناسایی شده ناشی از لیگنین به همراه فراوانی نسبی مولی آنها برای این تیمار فهرست شده‌اند.

ساختار لیگنین آن‌ها را مشابه ساختار لیگنین در مراحل ابتدایی تشکیل چوب می‌کند [۱۵]. علاوه بر این، افزایش مصرف نیتروژن از طریق کوددهی باعث افزایش زیست‌توده و حجم -به‌خصوص- در تنه و کاهش دانسیته می‌شود. از آنجا که در لیگنین گویاباسیل اتصالات قوی‌تری نسبت به لیگنین سیرینجیل برقرار است، کاهش لیگنین گویاباسیل در اثر کوددهی، درخت را قادر به افزایش و توسعه حجم بیشتری می‌سازد [۱۱]. بنابراین می‌توان بیان کرد که افزایش مصرف نیتروژن در تیمار کوددهی به‌منظور افزایش



شکل ۵- کروماتوگرام اجزاء ساختاری چوب اکالیپتوس تحت تیمار زخم، حاصل از پیرولیز

جدول ۷- ترکیبات مونومری لیگنین شناسایی شده در چوب اکالیپتوس پس از اعمال زخم بر روی نهال‌های این گونه. شناسایی توسط طیف‌سنجی جرمی چوب و پس از پیرولیز انجام شده است. لیگنین هیدروکسی‌فنول (H)؛ گویاباسیل (G) و سیرینجیل (S)

شماره پیک	ترکیب	غلظت (%)	منشأ
1	Phenol	۰/۲۴	H
3	Phenol, 3-methyl-	۰/۴۵	H
5	Phenol, 2,6-dimethyl-	۰/۳۶	H
12	Phenol, 2,6-dimethyl-4-nitro-	۱/۰۹	H
2	Phenol, 2-methoxy-	۱/۸۴	G
4	Phenol, 2-methoxy-4-methyl-	۱/۴۲	G
6	Phenol, 4-ethyl-2-methoxy-	۰/۳۶	G
7	2-Methoxy-4-vinylphenol	۲/۴۲	G
8	Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-	۰/۲۶	G
9	3-Hydroxy-4-methoxybenzyl alcohol	۶/۹۹	G
10	Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-	۲/۵۱	G
11	3-Hydroxy-4-methoxybenzoic acid	۲/۷۹	G
13	6-Methoxycoumaran-7-ol-3-one	۶/۲۸	G
14	2-Propanone, 1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-	۰/۵۴	G
15	Phenol, 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	۱/۶۵	S
16	Phenol, 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	۰/۶۳	S
17	Phenol, 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	۶/۱	S
18	Benzaldehyde, 4-hydroxy-3,5-dimethoxy-	۰/۳۱	S

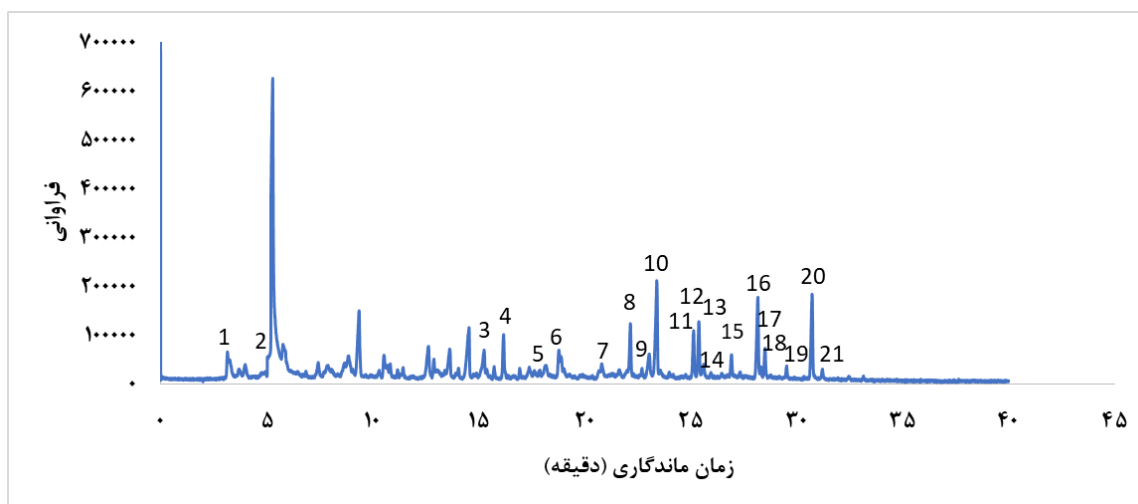
فیبرهای چوبی در ناحیه زخم به سه شیوه و متفاوت از فیبرهای نرمال بوده که ممکن است الگوی خاصی از ضخیم‌شدگی فیبرها توزیع ناهمگن لیگنین را به همراه داشته باشد [۲۹].

در این پژوهش، افزایش میزان واحدهای گویاسیل در ناحیه زخم نسبت به تیمار شاهد، مطابق با سایر تحقیقات انجام‌شده بود [۳ و ۱۹]. از آنجاکه لیگنین گویاسیل مقاومت زیستی بیشتری نسبت به سیرینجیل دارد، درخت از افزایش واحدهای گویاسیل در ناحیه زخم به‌عنوان سازوکاری دفاعی سود برده تا از حمله و یا گسترش عوامل پاتوژن جلوگیری نماید.

تیمار خمش

در شکل ۶ پیروگرام چوب اکالیپتوس پس از اعمال خمش و در جدول ۸، ساختارهای شناسایی‌شده ناشی از لیگنین به همراه فراوانی نسبی مولی آنها برای این تیمار آمده است. با اعمال تیمار خمش در مقایسه با تیمار شاهد، غلظت کل لیگنین اندکی افزایش و واحدهای گویاسیل و سیرینجیل کاهش یافتند. بیشترین تغییر در میزان واحدهای پاراهیدروکسی فنول دیده شد که این واحدها به مقدار قابل‌ملاحظه‌ای افزایش یافتند. در مجموع، تیمار خمشی در مقایسه با سایر تیمارها، بیشترین مقدار واحدهای پاراهیدروکسی فنول را داشت (جدول ۱).

نتایج جداول ۱ و ۷ نشان می‌دهد که با اعمال زخم، غلظت کل لیگنین در مقایسه با شاهد، تغییر محسوسی نداشت و تنها به میزان ناچیزی کاهش یافت. واحدهای پاراهیدروکسی فنول و سیرینجیل نیز بر اثر زخم‌زنی کاهش و واحدهای گویاسیل افزایش یافتند. با این حال، تفاوت اصلی با شاهد در نسبت S/G (۰/۳۴) است که کاهش شدیدی نشان داد. در پاسخ به زخم، لیگنین در هر دو ناحیه پوست و چوب گونه‌ای اکالیپتوس تجمع یافت و ناحیه‌ی زخم نسبت به بافت چوبی نرمال، مونومرهای سیرینجیل کمتر و گویاسیل بیشتری داشت [۱۹]. زخم‌زنی و حذف نوک ساقه اکالیپتوس باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های مرتبط با بیوسنتز لیگنین مانند سیناپیل الکل دهیدروژناز^۱ و سینامیل الکل دهیدروژناز^۲ و در نتیجه تجمع لیگنین در ناحیه زخم می‌شود [۲۸]. همچنین در گونه صنوبر نیز نشان داده شده است که میزان لیگنین در فیبرهای تغییر یافته بافت زخم بیشتر بوده و به‌صورت ناهمگن در لایه میانی و دیواره ثانویه توزیع شده‌اند [۲۹]. با این حال، از نظر تغییر میزان لیگنین در بافت نزدیک زخم، نتیجه این پژوهش مغایر با تحقیقات مذکور است. عدم تغییر میزان لیگنین یا کاهش اندک آن پس از اعمال زخم را می‌توان به تشکیل بافت کالوز نسبت داد که از سلول‌های پارانشیمی عمدتاً لیگنینی نشده تشکیل می‌شود. همچنین روند ضخیم شدن دیواره سلولی



شکل ۶- کروماتوگرام اجزاء ساختاری چوب اکالیپتوس پس از تیمار خمش، حاصل از پیرولیز

^۱ Sinapyl alcohol dehydrogenase

^۲ Cinnamyl alcohol dehydrogenase

جدول ۸- ترکیبات مونومری لیگنین شناسایی شده در چوب اکالیپتوس پس از اعمال تیمار خمش. شناسایی توسط طیف‌سنجی جرمی چوب و پس از پیرولیز انجام شده است. لیگنین هیدروکسی فنول (H)؛ گوایاسیل (G) و سیربنجیل (S)

شماره پیک	ترکیب	غلظت (%)	منشأ
1	4-[1-Hydroxy-2-(methylamino)propyl]phenol	۱,۱۴	H
2	6-(4-Hydroxybenzyl)-3-sulfanyl-1,2,4-triazin-5(2H)-one	۰/۸۹	H
3	Phenol	۰/۳۵	H
5	Phenol, 3-methyl-	۰/۳۴	H
12	Phenol, 4-methoxy-3-(methoxymethyl)-	۳/۳۴	H
13	4-Hydroxy-2-methoxybenzaldehyde	۰/۸۵	H
15	Phenol, 2,6-dimethyl-4-nitro-	۱/۱۹	H
4	Phenol, 2-methoxy-	۲/۲۷	G
6	2-Methoxy-6-methylphenol	۱/۶۱	G
7	Phenol, 4-ethyl-2-methoxy-	۰/۵۶	G
8	2-Methoxy-4-vinylphenol	۲/۶۸	G
9	Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-	۰/۲۸	G
10	2,4-Dimethoxyphenol	۷/۱۸	G
11	Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-	۲/۵	G
17	Phenol, 2-methoxy-4-propyl-	۰/۵۵	G
14	Methyl benzoate, 2-carboxylic acid-3,4-dimethoxy-	۰/۰۱	S
16	3',5'-Dimethoxyacetophenone	۵/۹۷	S
18	Phenol, 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	۱/۶	S
19	Phenol, 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	۰/۵۲	S
20	Phenol, 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	۵/۴۹	S
21	Benzaldehyde, 4-hydroxy-3,5-dimethoxy-	۰/۳۸	S

واحدهای پاراهیدروکسی فنول [۳۶ و ۳۷] و نسبت S/G [۱۴، ۳۱، ۳۶ و ۳۷]، در چوب‌کشی نسبت به چوب نرمال افزایش می‌یابد. افزایش نسبت S/G در چوب‌کشی برای بهبود خواص مکانیکی این چوب است [۳۸]. با افزایش واحدهای پاراهیدروکسی فنول در چوب‌کشی، ساختار لیگنین در آن مشابه ساختار لیگنین تشکیل شده در مراحل ابتدایی تشکیل چوب می‌باشد [۱۵].

نتیجه‌گیری

در مجموع گیاه برای مقابله با تنش یا تغییر شرایط محیطی، میزان و نوع لیگنین را در بافت چوبی‌اش برای تطبیق‌پذیری بیشتر، تغییر می‌دهد: در تنش خشکی، برای جلوگیری از چین‌خوردگی و ممانعت از حجیم‌شدن زیاد سلول‌های هادی، کمک به تسهیل انتقال آب و زنده‌مانی، میزان لیگنین و واحدهای گوایاسیل افزایش و نسبت S/G کاهش یافت. افزایش مصرف نیتروژن در تیمار کوددهی، از

بیشتر پژوهش‌ها نشان از لیگنین کمتر چوب‌کشی در مقایسه با چوب نرمال دارند [۱۴، ۳۰، ۳۱]. با این حال، مواردی از افزایش میزان لیگنین در چوب‌کشی نیز گزارش شده است. برای نمونه، Merier و Norberg (۱۹۹۶) و Bentum و همکاران (۱۹۶۹) با مطالعه پراکنش لیگنین در چوب‌کشی نشان دادند لایه S₂ در فیبرهای ژلاتینی چوب‌کشی میزان لیگنین بیشتری دارد [۳۲ و ۳۳]. با توجه به حضور اندک لیگنین در لایه ژلاتینی [۳۴] و افزایش شدت لیگنینی شدن لایه S₂ در چوب‌کشی، در برخی موارد مقدار لیگنین کل در طی تشکیل چوب‌کشی کاهش نمی‌یابد [۳۵]. لازم به توضیح است که در پژوهشی مستقل بر روی همین نمونه‌ها، با بررسی‌های میکروسکوپی از تشکیل چوب واکنشی دارای لیاف ژلاتینی در نمونه‌های آزمون اطمینان حاصل شد (نتایج در این مقاله آورده نشده‌اند). هم‌سو با نتایج پژوهش‌های پیشین، در اینجا نیز مشخص شد که مقدار

دفاعی از حمله عوامل پاتوژن جلوگیری می‌نماید. در تیمار خمش، غلظت کل لیگنین -برخلاف انتظار- افزایش اندکی داشت. باین‌حال، افزایش واحدهای پاراهیدروکسی فنول درچوب کششی به نیاز به انعطاف‌پذیری بیشتر ساقه در آن منطقه مرتبط است.

طریق کاهش لیگنین و واحدهای گواپایسیل و افزایش نسبت S/G، احتمالاً درخت را قادر به تولید سلول‌های هادی بزرگ‌تر و رشد بیشتری می‌سازد. باین‌حال، اثبات این فرضیه نیاز به بررسی‌های کمی میکروسکوپی دارد. پس از ایراد زخم به تنه، اکالیپتوس از طریق افزایش واحدهای گواپایسیل در ناحیه زخم به‌عنوان یک مکانیسم

منابع

- [1] Sjostrom, E., 1993. Mirshokvaei, S. A (Ed). Wood chemistry fundamentals and applications. Tehran, Ayyijh press, 67-79.
- [2] Gall, H. L., Philippe, F., Domon, J. M., Gillet, F., Pelloux, J. and Rayon, C., 2015. Cell wall metabolism in response to abiotic stress. *Plants*, 4: 112-166.
- [3] Partovi, T. and Mirshokraie, S. A., 2013. The structural study of milled wood and dioxane lignin of *Cupressus sempervirens* using DFRC method. *Journal of Forest and Wood Products*, 65 (4): 391-404. (In Persian).
- [4] Poulos, H. M., 2007. Drought response of two Mexican oak species, *Quercus laevis* and *Q. sideroxyla* (Fagaceae), in relation to elevational position. *American Journal of Botany*, 94 (5): 809-818.
- [5] Talukde, K., 2006. Low-lignin wood-a case study. *Nature biotechnology*, 24: 395-396.
- [6] Nazari, M., Zolfaghari, R. and Fayyaz, P., 2013. Variation in secondary metabolites under water stress in three oak saplings. *Journal of Forest and Wood Products*, 66 (1): 1-14. (In Persian).
- [7] Reddy, A. R., Claitanya, K. V. and vivekanadan, M., 2004. Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology*, 161: 1189-1202.
- [8] Mansweld, T. J. and Atkinson, C. J., 1990. Stomatal behavior in water stressed plant in: Alscher, R. G. and Cumming, J. R (Eds) "stress responses in plants: adaptation and acclimation mechanisms". Wiley- Liss, New York. 241-264.
- [9] Schmitt, V., Singh, A., Frankenstein, C. and Moller, R., 2006. Cell wall modifications in woody stems induced by mechanical stress. *Journal of Forestry Science*, 36 (1): 72-86.
- [10] Pilate, G., Chabbert, B., Cathala, B., Yoshinaga, A., Leple, J.C. and Laurans, F., 2004. Lignification and tension wood. *Comptes Rendus Biologies*, 327:889-901.
- [11] Euring, D., Lo'fke, Ch., Teichmann, Th. and Polle. A., 2012. Nitrogen fertilization has differential effects on N allocation and lignin in two *Populus* species with contrasting ecology. *Trees*, 26:1933-1942.
- [12] Weijde, T. V., Huxley, L. M., Hawkins, S., Sembiring, E. H., Farrar, K., Dolstra, O., visser, R. and Tvindade, L. M., 2017. Impact of drought stress on growth and quality of miscanthus for biofuel production. *GCB Bioenergy*, 9: 770-782.
- [13] Hedenström, M., Wiklund-Lindström, S., Öman, T., Lu, F., Gerber, L., Schatz, P., Sundberg, B. and Ralph, J., 2009. Identification of lignin and polysaccharide modifications in *Populus* wood by chemometric analysis of 2D NMR spectra from dissolved cell walls. *Molecular Plant*, 2(5):933-942.
- [14] Bland, D.E. and Scurfield, G., 1964. Chemistry of reaction wood. IV. Distribution and nature of the lignin in seedlings of hardwood. *Holzforschung*, 18:161-166.

- [15] 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.
- [16] Hosseini, S.Z., Akhavan hejazi, F.S., Talaei pour, M. and Bazyar, B., 2014. Study of above ground biomass of *Eucalyptus camadulensis* in Garbayegan Fasa, the province of Fars, Iran. *Journal of Wood and Forest Science and Technology*, 21(1):121-136. (In Persian).
- [17] Moura, JCMS., Bonine, CAV., Viana, JOF., Dornelas, MC. and Mazzafera, P., 2011. Drought stress and changes in the lignin content and composition in Eucalyptus. From IUFRO Tree Biotechnology Conference: From Genomes to Integration and Delivery Arraial d'Ajuda, Bahia, Brazil. 26 June - 2 July 2011, BMC Proc 5(suppl 7):P103.
- [18] Hawkins, S. and Boudet, A., 1996. Wound-induced lignin and suberin deposition in a woody angiosperm (*Eucalyptus gunnii* Hook.): histochemistry of early changes in young plants. *Protoplasma*, 191: 96-104.
- [19] Abdulkhani, A., Sedaghat, A., Khodayian Chegini, F., Ghasemi, M.H., 2015. The effect of extraction method on bioactive phenolic compounds of *Cupressus arizonica*. *Forest and Wood Products*, 68(1):161-168. (In Persian).
- [20] Del RiI, O. J. C., GutieI rrez, A., RodriI guez, I. M., Ibarra, D. and MartiI nez, A. T., 2007. Composition of non – woody plant lignins and cinnamic acids by Py – GC/MS, Py/TMAH and FT-IR. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 79, 39.
- [21] Terzi, R., Saruhan Güler, N., Kutlu Çalışkan, N. and Kadioğlu, A., 2013. Lignification response for rolled leaves of *Ctenanthe setosa* under long-term drought stress. *Turkish Journal of Biology*, 37: 614-619. <http://dx.doi.org/10.3906/biy-1210-27>.
- [22] Bruce, R.J. and West, C.A., 1989. Elicitation of lignin biosynthesis and isoperoxidase activity by pectic fragments in suspension cultures of castor beans. *Plant Physiology*, 91:889–897.
- [23] Li, L., Cheng, X.F., Leshkevich, J., Umezawa, T., Harding., S.A. and Chiang, V.L. 2001. The last step of syringyl monolignol biosynthesis in angiosperms is regulated by a novel gene encoding sinapyl alcohol dehydrogenase. *The Plant Cell*, 13(7): 1567-1586. <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.13.7.1567>. PMID: 11449052.
- [24] Peter, G. and Neale, D., 2004. Molecular basis for the evolution of xylem lignification. *Current Opinion in Plant Biology*, 7(6): 737-742.
- [25] Kitin, P., Voelker, S.L., Meinzer, F.C., Beekman, H., Strauss, S.H., Lachenbruch, B., 2010. Tyloses and phenolic deposits in xylem vessels impede water transport in lowlignin transgenic poplars: a study by cryo-fluorescence microscopy. *Plant Physiology*, 154(2): 887-898.
- [26] Fan, L., Linker, R., Gepstein, S., Tanimoto, E., Yamamoto, R., Neumann, P.M., 2006. Progressive inhibition by water deficit of cell wall extensibility and growth along the elongation zone of maize roots is related to increased lignin metabolism and progressive stelar accumulation of wall phenolics. *Plant Physiology*, 140:603–612.
- [27] Shupe, T, F., Choong, E.T. and Yang, Ch.H., 1996. The effects of silvicultural treatments on the chemical composition of plantation grown Loblolly pine wood. *Wood and Fiber Science*, 28(3): 295-300.
- [28] Hawkins, S. and Boudet, A., 2003. 'Defence lignin' and hydroxycinnamyl alcohol dehydrogenase activities in wounded *Eucalyptus gunnii*. *European Journal of Plant Pathology*, 33:91–104.
- [29] Frankenstein, C., Schmitt, U. and Koch, G., 2006. Topochemical studies on modified lignin distribution in the xylem of poplar (*Populus* spp.) after wounding. *Annals of Botany*, 97:195–204.

- [30] Plomion, C., Pionneau, C., Bailleres, H., 2003. Analysis of protein expression along the normal to tension wood gradient in *Eucalyptus gunnii*. *Holzforschung*, 57:353–358.
- [31] Okuyama, T., Takeda, H., Yamamoto, H. and Yoshida, M., 1998. Relation between growth stress and lignin concentration in the cell wall: ultraviolet microscopic spectral analysis. *Journal of Wood Science*, 44:83–89.
- [32] Norberg, P.H. and Meier, H., 1966. Physical and chemical properties of gelatinous layer in tension wood fibers of aspen (*Populus tremula* L.). *Holzforschung*, 20:174–178.
- [33] Bentum, A.L.K., Co'te', W.A., Day, A.C. and Timell, T.E., 1969. Distribution of lignin in normal and tension wood. *Wood Science and Technology*, 3:218–231.
- [34] Lehringer, C., Gierlinger, N. and Koch, G., 2008. Topochemical investigation on tension wood fibres of *Acer* spp., *Fagus sylvatica* L., *Quercus robur* L. *Holzforschung*, 62:255–263.
- [35] B. Gardiner (eds.), 2014. *The Biology of Reaction Wood*, Springer Series in Wood Science, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- [36] Hedenstro'm, M., Wiklund-Lindstro'm, S., Oman, T., Lu, F., Gerber, L., Schatz, P., Sundberg, B., Ralph, J., 2009. Identification of lignin and polysaccharide modifications in *Populus* wood by chemometric analysis of 2D NMR spectra from dissolved cell walls. *Molecular Plant*, 2(5):933–942.
- [37] Foston, M., Hubbell, C.A., Samuel, R., Jung, S., Fan, H., Ding, S-Y., Zeng, Y., Jawdy, S., Davis, M., Sykes, R., Gjersing, E., Tuskan, G.A., Kalluri, U., Ragauskas, A.J., 2011. Chemical, ultrastructural and supramolecular analysis of tension wood in *Populus tremula* x *alba* as a model substrate for reduced recalcitrance. *Energy and Environmental Science*, 4(12): 4962-4971.
- [38] Weng, J.K. and Chapple, C., 2010. The origin and evolution of lignin biosynthesis. *New Phytologist*, 187:273–285.

Effect of drought, fertilization, wounding and bending treatments on lignin content and composition of eucalyptus seedlings (*Eucalyptus camaldulensis*)

Abstract

In this study, the effects of drought, fertilization, wounding and bending treatments were investigated on the content and composition of wood lignin in two-year-old eucalyptus seedlings (*Eucalyptus camaldulensis*). Results showed that drought-induced xylem had the highest concentration of lignin and guaiacyl (G) units and the lowest amount of hydroxyphenyl (H) and syringyl (S) units as well as the lowest S/G ratio compared with other treatments. In contrast, the lowest concentration of lignin and G units and the highest amount of S units and the highest S/G ratio were observed in fertilization treatment. Due to this treatment, H units increased. After wounding, lignin concentration did not change significantly compared with the control treatment and only slightly decreased. However, as a result of this treatment, G units increased significantly and H and S units and S/G ratio decreased. The most important chemical change observed in bending treatment was a sharp increase in H units and a decrease in guaiacyl and syringyl and an increase in the S/G ratio. Overall, it can be concluded that the chemistry of xylem is altered to give the plant the best ability to withstand environmental stresses. Guaiacyl lignin has a more protective role, and increased H lignin is associated with increased growth rate or increased stem flexibility.

Keywords: lignin, stress, xylem, biochemistry.

A. Sedaghat¹
R. Oladi^{2*}
A. Abdulkhani³
D. Efhamisi⁴
A. Khandan Mirkohi⁵
Sh. Mehrmiz⁶

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

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

³ Associate Prof., Department of wood and paper sciences and technology, Faculty of natural resources, University of Tehran, Karaj, Iran

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

⁵ Assistant Prof., Department of horticultural sciences, college of agriculture and natural resources, University of Tehran, Karaj, Iran

⁶ MS.C., Department of wood and paper sciences and technology, Faculty of natural resources, University of Tehran, Karaj, Iran

Corresponding author:
oladi@ut.ac.ir

Received: 2020/03/16
Accepted: 2020/04/17