DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijwpr.2016.105931

فصلنامه علمی – پژوهشی تحقیقات علوم چوب و کاغذ ایران

جلد ۳۱، شماره ۲، صفحه ۳۲۲-۳۰۹، (۱۳۹۵)

اثر اصلاحی سویه‌های مختلف باکتری *Bacillus subtilis* بر نفوذپذیری گونه کاج تدا (*Pinus taeda*) در دو محیط کشت مختلف

اسماعیل زاهدی تجریشی[۱]، رضا اولادی[۲*]، اصغر طارمیان[۳]، مسعود احمدزاده[۴] و حجت سعادتی[۵]

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

۲- * نویسنده مسئول، استادیار، گروه علوم و صنایع چوب و کاغذ، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، پست الکترونیک: oladi@ut.ac.ir

۳- دانشیار، گروه علوم و صنایع چوب و کاغذ، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج

۴- استاد، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج

۵- کارشناس ارشد، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۴

چکیده

یکی از علت‌های اشباع‌پذیری کم چوب‌های جنس کاج، بسته شدن دریچه منافذِ بین تراکئیدی (مکش منفذی)، طی خشک شدن در دامنه آب آزاد و یا مسدود شدن این منافذ در زمان چوب درونی شدن است. در این پژوهش، برای باز کردن منافذ مسدود تراکئیدهای درون‌چوب گونه کاج تدا (*Pinus taeda*)، از روش اصلاحی شیارزنی زیستی با باکتری استفاده گردید و تلاش شد تأثیر محیط‌های مختلف رشد و سویه‌های مختلف باکتری بر میزان افزایش نفوذپذیری گازی نمونه‌ها مقایسه شود. برای این منظور، پس از تهیه و آماده‌سازی نمونه‌های چوبی، چند سویه معروف و شناخته‌شده باکتری *Bacillus subtilis UT B96* موجود در کلکسیون گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه تهران (۲۲، ۳۵، ۴۰، ۹۶)، در دو محیط کشت مختلف، یعنی محیط کشت عصاره مغذی براث (Nutrient Broth) و محلول آب و باکتری تهیه شد. با استفاده از میکروسکوپ نوری، تلاش شد تا به شکل کیفی نحوه تأثیر باکتری بر منافذ، مورد بررسی قرار گیرد. پس از تجزیه‌وتحلیل داده‌ها مشخص گردید که سویه ۲۲ باکتری و محیط کشت محلول آبی مناسب‌ترین گزینه‌ها برای تخریب منافذ هاله‌ای بسته شده و افزایش نفوذپذیری درون‌چوب کاج تدا هستند. اثر تخریبی بیشتر سویه ۲۲ باکتری مورد مطالعه ممکن است ناشی از توانایی آن در تولید مقدار بیشتری از آنزیم‌های تجزیه‌کننده باشد. همچنین به نظر می‌رسد باکتری‌ها در محیط آبی به دلیل قابلیت حرکت راحت‌تر، دسترسی محدودتر به اکسیژن و یا عدم دسترسی به ماده غذایی جایگزین، فعالیت مؤثرتری روی چوب داشته باشند.

واژه‌های کلیدی: باکتری، سویه، چوب کاج، نفوذپذیری، کاهش وزن، مکش منفذی

مقدمه

یکی از دلایل اشباع‌پذیری کم چوب‌های سوزنی‌برگ خانواده *Pinaceae* مانند کاج، بسته شدن دریچه منافذ با توروس (سپر)[1] طی خشک شدن در دامنه آب آزاد است که از نفوذپذیری آنها کاسته و ممکن است حفاظت مؤثر این چوب‌ها حاصل نشود (Schwarze *et al*., 2011)؛ این پدیده، مکش منفذی[2] نام دارد. در این پدیده، غشای منفذ (توروس) به سمت دیواره منفذ (هاله) کشیده شده و یک پیوند هیدروژنی قوی بین آنها ایجاد می‌گردد که مانع از برگشت توروس می‌شود. در نتیجه، توروس به هاله چسبیده و باعث بسته شدن منفذ می‌گردد. این پدیده بیشتر در منافذ تراکئیدهای چوب آغاز گزارش شده و علاوه بر زمان خشک شدن چوب‌آلات، یکی از تغییراتی است که به‌طور طبیعی در زمان چوب‌درونی شدن رخ می‌دهد (Lehringer *et al*., 2009 Taylor *et al*., 2002;).

در سال‌های گذشته، روش‌های مختلفی برای افزایش نفوذپذیری چوب‌آلات سخت اشباع ارائه شده است. از آن جمله می‌توان به شیارزنی یا آج زنی[3]، فشردن[4] چوب، غوطه‌وری یا خیساندن[5] در آب، بخاردهی[6]، استفاده از امواج دی‌الکتریک مانند امواج ماکروویو[7] و استفاده از میکروارگانیسم (باکتری و قارچ) اشاره کرد (Dashti *et al*., 2013). ازآنجاکه تیمار میکروبی الوار چوبی شیوه‌ای دوستدار محیط‌زیست بوده، در سال‌های اخیر توجه ویژه‌ای را به خود معطوف کرده است؛ تا حدی که امروزه نوعی قارچ با نام تجاری *"Cartapip™"* در مقیاس صنعتی برای پیش‌تیمار چوب‌آلات مورد استفاده قرار می‌گیرد (Henriksson & Teeri, 2009). در سال‌های اخیر استفاده از میکروارگانیسم‌هایی مانند باکتری و ویروس به دلیل برخی کاربردهای ویژه در صنایع چوب و کاغذ، افزایش یافته است (Susi *et al*., 2011).

یکی از روش‌های افزایش نفوذپذیری چوب استفاده از انواع باکتری‌هاست. باکتری‌ها میکروارگانیسم‌های بسیار کوچکی هستند که در چوب مرطوب قدیمی یا گرده‌بینه‌های انبار شده در آب یا روی سکوهای اسپری آب، به منافذ دیواره تراکئیدها و پارانشیم اشعه حمله کرده و آنها را تخریب می‌کنند (Tarmian & Karimi, 2010).

تأثیر باکتری بر نفوذپذیری چوب از چندین دهه پیش به اثبات رسیده است. Suolahti و Wallen (۱۹۵۸) دریافتند که باکتری‌های خاصی باعث افزایش نفوذپذیری سوزنی‌برگان در محیط غرقابی می‌شوند. چوبی که در معرض باکتری قرار گرفته، میزان پکتین کمتری داشته و همان‌گونه که توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی نشان داده شده است در اثر آنزیم‌های باکتری، منافذ هاله‌ای غنی از پکتین تخریب می‌شوند (Adolf *et al*., 1972; Mai *et al*., 2004).

باکتری‌های سرده (جنس) باسیلوس (*Bacillus* spp) به‌عنوان هوازی‌های اجباری[8] شناخته‌شده‌اند که در حضور اکسیژن فعالیت می‌کنند (Greaves, 1971). بااین‌حال، شواهدی وجود دارد که در عدم حضور اکسیژن با تنفس بی‌هوازی نیز قادر به ادامه حیات‌اند. این باکتری‌ها از پرکاربردترین باکتری‌ها در صنعت بوده، به‌نحوی‌که شرکت‌های زیست‌فناوری به شکل تجاری از آنها برای ساخت آنزیم استفاده می‌کنند. از این باکتری‌ها برای افزایش نفوذپذیری چوب نیز استفاده می‌شود. در چندین پژوهش نشان داده شده است که سویه‌های این خانواده به غشای منافذ هاله‌ای و نیمه‌هاله‌ای موجود در دیواره سلول حمله برده و توروس و هاله را تخریب می‌کنند. با تخریب انتخابی توروس و هاله، میزان نفوذپذیری عرضی و طولی چوب‌های سخت‌اشباع افزایش می‌یابد (Panek *et al*., 2012; Lehringer, 2011). در پژوهش دیگری، Reinprecht و

1- Torus
2- Pit Aspiration
3- Incising
4- Compression
5- Immersion
6- Steaming
7- Microwave
8- Obligate aerobe

Panek (۲۰۱۱) دریافتند که نفوذپذیری گونه نوئل پس از آلوده‌سازی با باکتری *Bacillus subtilis* در زمان‌های ۹، ۶، ۳ و ۱ هفته، بدون هیچ‌گونه کاهش معنی‌دار مقاومت‌های مکانیکی، افزایش می‌یابد. گونه دیگری از این باکتری (*B. licheniformis*) جذب ماده حفاظتی *CCA* را تا حدود ۱۸ تا ۱۰۳ درصد نسبت به نمونه شاهد بهبود داد (Yildiz *et al.*, 2012). علاوه بر این، به علت ویژگی آنتاگونیستی (رقابت شدید با عوامل مخرب دیگر و جلوگیری از نفوذ و گسترش آنها در محیط)، این باکتری باعث افزایش مقاومت به پوسیدگی قارچی در چوب نیز می‌شود. به‌عنوان مثال، Tiralova و همکاران (۲۰۰۷) در تحقیق اثر پیش‌تیمار گونه نوئل با باکتری *B. subtilis* بر افزایش نفوذپذیری و مقاومت در برابر پوسیدگی قارچی، مشاهده کردند که مقاومت به پوسیدگی چوب نوئل پیش‌تیمار شده با باکتری *B. subtilis* در برابر قارچ عامل پوسیدگی سفید (*Trametes versicolor*) به دلیل تولید ترکیبات شیمیایی توسط باکتری که سبب کاهش رشد قارچ مخرب می‌شود، بهبود یافت. همچنین، عمق نفوذ چوب‌آلات تیمار شده به‌واسطه فعالیت باکتری نیز افزایش یافت. بااین‌حال، تأثیر محیط بر شدت و نحوه فعالیت این باکتری کمتر مورد توجه قرار گرفته است. Nilsson و Bjordal (۲۰۰۸) میزان اثر تخریبی باکتری موجود در محیط کشت آبی و همچنین تأثیر میزان اکسیژن موجود در محیط کشت محلول را مطالعه کردند. نتایج کار آنان نشان داد که در محیط کشت آبی، فعالیت باکتری مناسب بوده و بر اثر فعالیت باکتری‌ها میزان اکسیژن محیط کاهش یافته و گاز سولفید هیدروژن تولید می‌گردد و حتی ممکن است تا مرحله بی‌هوازی نیز پیش رود، ولی باکتری اثر تخریبی خود را ادامه می‌دهد. Greaves (۱۹۷۱) نیز در بررسی نحوه فعالیت باکتری *Bacillus subtilis* و تأثیر آن بر افزایش نفوذپذیری درون‌چوب گونه *Pinus radiata*، مشاهده کرد که قدرت حرکت باکتری نقش مهمی در عملکرد آن دارد و شاید در محیط آبی قدرت حرکت بالاتر باشد.

جداسازی و خالص‌سازی باکتری‌هایی که گونه‌های چوبی را مورد حمله قرار می‌دهند کار دشواری بوده، ازاین‌رو بررسی سازوکار و قدرت تخریب گونه‌ها و سویه‌های مختلف باکتری‌ها هنوز به‌طور کامل شناخته نشده است (Daniel, 2014). سویه‌های مختلفی از باکتری *B. subtilis* در گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه تهران خالص‌سازی و شناسایی شده است ولی تاکنون مقایسه‌ای بین عملکرد این سویه‌ها در افزایش نفوذپذیری چوب انجام نشده است. ازاین‌رو، تعیین مؤثرترین سویه این گونه باکتری در بهبود نفوذپذیری چوب کاج تدا، هدف اصلی این تحقیق است. علاوه بر این، مقایسه قدرت تخریب و عملکرد باکتری در دو محیط متفاوت (آبی و محیط کشت *nb*) هدف دیگر این پژوهش محسوب می‌گردد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق به‌منظور اصلاح زیستی و افزایش نفوذپذیری گازی درون‌چوب کاج تدا، از چهار سویه شناخته و جداسازی شده باکتری *Bacillus subtilis* UT B96 موجود در گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه تهران (۲۲، ۳۵، ۴۰، ۹۶) در دو محیط کشت متفاوت عصاره مغذی براث (Nutrient Broth) و سوسپانسیون آب و باکتری استفاده شد. این سویه‌ها به‌عنوان باکتری پروبیوتیک نقش مهمی در افزایش رشد گیاهان و کنترل زیستی بیماری‌های گیاهی دارند (Ahmadzadeh, 2014).

نمونه‌برداری

سه اصله بینه یک متری گونه کاج تدا (*Pinus taeda*) با قطر بیش از ۴۰ سانتیمتر از جنگل‌های تالش تهیه و به کارگاه صنایع چوب دانشگاه تهران منتقل گردید. پس از تهیه چهارتراش، از ناحیه چوب درون تخته‌هایی بریده شده، و در هوای آزاد خشک شدند. سپس نمونه‌های آزمونی به ابعاد ۱۵×۳۰×۳۰ میلی‌متر (L×T×R) برای تعیین درصد کاهش وزن (Panek *et al.*, 2012) و نمونه‌های استوانه‌ای به قطر ۱۸ میلی‌متر و ارتفاع ۲۰ میلی‌متر به‌منظور ارزیابی

نفوذپـذیری طـولی گـازی، از ایـن قسـمت جـدا شـدند (Taghiyari *et al.*, 2011).

روش جداسازی سویه‌های مختلف باکتری باسیلیوس:

باکتری‌ها از مناطق مختلف جمع‌آوری شده‌انـد. پـس از انجام آزمون‌های بیوشیمیایی و مقایسـه تـوالی ژنـومی زیـر واحد کوچک ریبوژوم (*16s rRNA*) این باکتری با ژن‌هـای موجود در بانک‌هـای اطلاعـاتی ازجملـه *NCBI* مشـخص گردید که این باکتری‌ها با شباهت بالای ۹۷٪ مربوط به گونه *B. subtilis* هستند. اما دارای درصدی تفـاوت بـا ژن‌هـای موجود در این پایگاه نیز می‌باشـند. بـر همـین اسـاس ایـن باکتری‌ها مربوط به یک گونـه (باسـیلوس) امـا سـویه‌هـای مختلف آن هستند.

آلوده کردن چوب با باکتری در محیط عصاره مغـذی بـراث *(nb) (Nutrient Broth):*

در این شیوه، باکتری در محیط کشت *nb* رشد و پرورش یافت؛ سپس نمونه های چوبی در این محـیط قـرار گرفتنـد. برای تهیه ۸ گرم محیط کشت *nb*، مقـدار ۵۰ سـی‌سـی آب مقطر در ارلن ریخته و بـا ۰/۴ گـرم پـودر آمـاده *nb* روی همزن به مدت ۱۵ دقیقه و دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس قـرار گرفتند. سپس، به همراه نمونه‌های چوبی و آب مقطر استریل در داخل اتوکلاو در دمای ۱۲۰ درجه سلسـیوس و فشـار ۱۵psi و مدت ۱۶ دقیقه استریل شدند. پس از سـرد شـدن محیط کشت باکتری، سویه‌های مختلـف بـاکتری *Bacillus subtilis* (۲۲، ۳۵، ۴۰، ۹۶) در آن کشت شـده و بـه مـدت ۴۸ ساعت در همزن انکوباتور با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه و دمای ۲۸ درجه سلسیوس قرار گرفتند تـا بـاکتری رشـد کند. بعدازاین مرحلـه بـا کمـک دسـتگاه اسـپکتروفتومتر و محیط کشت تازه و استریل شده، میزان جمعیت بهینه باکتری محاسبه شده و بـه cfu $۱۰^{۸}$ (تعـداد بـاکتری بـه ازای هـر میلی‌لیتر آب مقطر) رسانده شد. در مرحلـه آخـر زیـر هـود استریل، نمونه‌های آزمونی در محیط کشت *nb* قرار گرفته و در ژرمیناتور به مدت ۶ هفته باقی ماندنـد. پـس از ۶ هفتـه مجاورت نمونه‌های آزمونی با باکتری‌های مورد نظر، نمونه‌ها از محیط‌های کشت خارج شده و پس از شستشو، به‌منظـور متوقف کردن فعالیت و از بین بردن باکتری‌ها، در دمای ۱۲۱ درجه سـانتی‌گـراد و فشـار psi ۱۵ و مـدت ۱۶ دقیقـه در اتوکلاو، استریل نهایی شدند.

آلوده کردن چوب با باکتری در آب مقطر خالص:

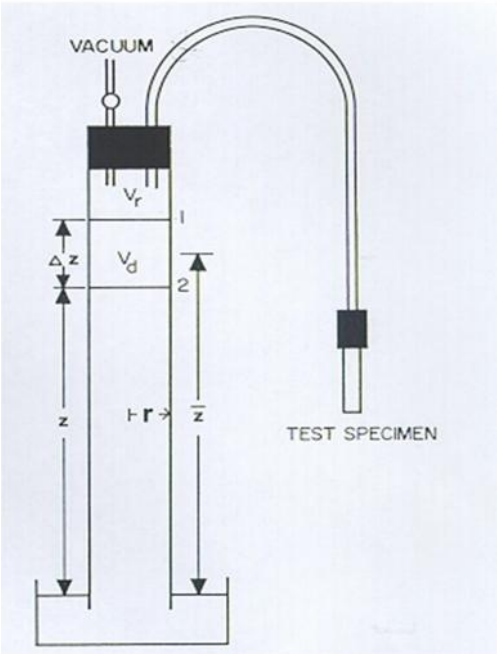
در این شـیوه، بـاکتری در محـیط کشـت *nb* رشـد و پرورش یافت ولی با سانتریفیوژ، باکتری از محیط کشـت *nb* جدا گردید و در آب مقطر خالص قرار گرفت، سـپس نمونه‌های چوبی بـه سوسپانسـیون آب و بـاکتری اضـافه شدند. به همان روشی که در بالا ذکر شد، ۸ گـرم محـیط کشت *nb* تهیه شد. پس از سرد شدن محیط کشت، باکتری در آن کشـت شـده و بـه مـدت ۴۸ سـاعت در همـزن انکوباتور با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه و دمای ۲۸ درجه سلسیوس قرار گرفت تا باکتری رشد کنـد. از هـر سـویه باکتری (۲۲، ۳۵، ۴۰، ۹۶) میزان ۲۵ سی‌سی محیط کشت مایع حاوی باکتری جدا شده و داخل فالکون ۵۰ سی‌سی قرار گرفت. فالکون‌ها داخـل دسـتگاه سـانتریفیوژ قـرار گرفته و با سرعت ۸۰۰۰ دور بر دقیقه به مـدت ۶ دقیقـه سانتریفیوژ شدند تا باکتری رسوب کرده و از مرحله رویی که حـاوی محـیط کشـت اسـت، جـدا شـود. سـپس بـه باکتری‌های موجود در فالکون، آب مقطر اسـتریل اضـافه شده و با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جمعیت بهینه باکتری محاسبه شده تا به میزان cfu $۱۰^{۸}$ (تعداد بـاکتری به ازای هر میلی‌لیتر آب مقطر) برسد. در مرحله آخر زیر هود استریل، نمونه‌هـای چـوبی در محـیط کشـت آب و باکتری قرار گرفته و در ژرمیناتور به مدت ۶ هفته بـاقی ماندند. پس از ۶ هفته مجاورت نمونـه‌هـای آزمـونی بـا باکتری‌های مورد نظر، نمونه‌ها از محیط‌های کشت خارج شده و پس از شستشو، به‌منظور متوقف کردن فعالیت و از بین بردن باکتری‌ها، در دمای ۱۲۱ درجه سـانتی‌گـراد و فشار psi ۱۵ و مدت ۱۶ دقیقه در اتوکلاو، استریل نهایی شدند.

اندازه‌گیری کاهش جرم

به‌منظور ارزیابی خاصیت تهاجمی و تخریبی سویه‌های مختلف باکتری *Bacillus subtilis* نمونه‌های آزمونی به ابعاد ۱۵×۳۰×۳۰ میلی‌متر (L×T×R) برای تعیین درصد کاهش وزن تهیه شدند. برای هریک از سویه‌های باکتری (۲۲، ۳۶، ۴۰، ۹۰) ۳ تکرار و با توجه به وجود دو محیط کشت مختلف (*nb* و محیط کشت محلول آب و باکتری) در مجموع ۲۴ نمونه در نظر گرفته شد. ابتدا نمونه‌ها در دمای ۲±۱۰۳ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند و وزن خشک آنها ثبت گردید. سپس نمونه‌ها استریل شده و در محیط کشت‌های *nb* و محلول آب و باکتری در ژرمیناتور در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت ۵±۶۵ درصد قرار گرفتند. پس از ۶ هفته نمونه‌ها خارج گردیده، شستشو داده شده و استریل شدند. در پایان در دمای ۲±۱۰۳ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند و وزن خشک آنها اندازه‌گیری شد. با داشتن وزن خشک اولیه و ثانویه (پس از تأثیر باکتری)، میزان کاهش وزن نمونه‌ها محاسبه گردید.

اندازه‌گیری نفوذپذیری گازی:

برای اندازه‌گیری نفوذپذیری گازی در مجموع از ۲۷ نمونه استوانه‌ای استفاده گردید. برای هریک از سویه‌های باکتری (۲۲، ۳۶، ۴۰، ۹۰) ۳ تکرار و با توجه به وجود دو محیط کشت مختلف (*nb* و محیط کشت محلول آب و باکتری) در مجموع ۲۴ نمونه بعلاوه ۳ تکرار به‌عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد. بعد از متعادل‌سازی رطوبت نمونه‌ها تا ۱۲ درصد (دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۶۵٪ طی دو هفته و توزین نمونه‌ها)، نفوذپذیری آنها به‌وسیله دستگاه اندازه‌گیری نفوذپذیری گازی به روش حجم آب جابه‌جا شده از آب در حال سقوط اندازه‌گیری گردید (Taghiyari, 2008). سرعت جابه‌جایی ستون آب در این دستگاه بر اساس وجود تخلخل پیوسته در چوب و میزان عبور هوا از چوب می‌باشد. اندازه‌گیری نفوذپذیری گازی به روش ستون آب (ستون در حال سقوط آب) با استفاده از فرمول Siau (۱۹۹۵) برای به‌دست آوردن ضریب نفوذپذیری ظاهری (K_g) انجام می‌شود. طرح شماتیک این دستگاه در شکل ۱ آمده است (USPTO, 2009).



شکل ۱- دستگاه اندازه‌گیری نفوذپذیری با گاز

$$k_g = \frac{V_d\, C\, L\, (P_{atm} - ۰/۰۷۴z)}{tA(۰/۰۷۴z)(P_{atm} - ۰/۰۳۷z)} \times \frac{۰/۷۶۰\ mHg}{۱/۰۱۳\times۱۰^{۶}\ Pa}$$

$$C = ۱ + \frac{V_r\,(۰/۰۷۴\,\Delta z)}{V_d\,(P_{atm} - ۰/۰۷۴z)}$$

در این فرمول:

k_g = نفوذپذیری ویژه طولی ($\mu m^{۳}/\mu m$)

$V_d = \pi r^{۲} \Delta z$ [r = شعاع لوله اندازه‌گیری (m)] ($m^{۳}$)

C = فاکتور تصحیح در نتیجه انبساط هوا

L = طول نمونه (m)

P_{atm} = فشار جوی (mHg)

z = میانگین بلندای آب از نقطه ۱ در طول انجام آزمون (m)

t = زمان (s)

A = مساحت سطح مقطع نمونه چوبی ($m^{۲}$)

Δz = تغییر ارتفاع سطح آب در طی زمان آزمایش (یعنی زمان t) (m) هر نمونه

V_r = کل حجم بالای نقطه ۱ (شامل حجم لوله‌ها و شلنگ‌ها) (m^3)

بررسی‌های میکروسکوپی

برای بررسی میکروسکوپی نحوه عملکرد سویه‌های مختلف باکتری در نمونه‌های آزمونی و مقایسه آنها با نمونه‌های شاهد، نمونه‌ها ۲ ساعت در آب مقطر خالص قرار گرفتند. سپس از جهات عرضی و شعاعی، مقاطع میکروسکوپی به ضخامت ۱۰ میکرون تهیه شد. برای مشاهده دقیق‌تر مقاطع، رنگ‌آمیزی مضاعف با محلول سافرانین ۰/۵ درصد و آسترابلو انجام شد. ابتدا رنگ‌بری مقاطع به مدت ۲ دقیقه در آب ژاول و شستشو با آب مقطر انجام گردید. سپس مقاطع به مدت ۲ دقیقه در محلول سافرانین و آسترابلو قرار گرفتند. در مرحله آخر، رنگ‌بری با درصدهای مختلف الکل (۵۰، ۷۵، ۱۰۰) انجام گردید تا رنگ اضافه از مقاطع خارج گردد. سپس مقاطع با چسب انتلان بر روی لام و لامل مستقر شدند. پس از خشک شدن چسب، مقاطع زیر میکروسکوپ نوری BEL FLUO-3 (متصل به دوربین عکس‌برداری دیجیتال) مورد ارزیابی دقیق قرار گرفتند.

تجزیه‌وتحلیل آماری

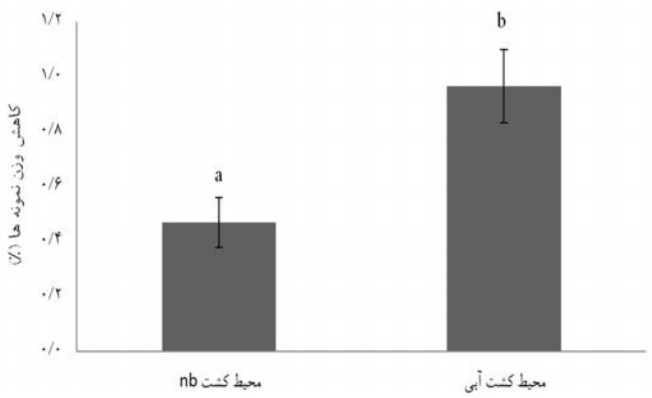
به‌منظور تعیین معنی‌داری اثر تیمارها (سویه‌های مختلف باکتری، محیط کشت‌های مختلف) بر میزان کاهش وزن و بهبود نفوذپذیری گازی چوب، از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) در قالب طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. مقایسه میانگین و گروه‌بندی داده‌ها به کمک آزمون چند دامنه دانکن با سطح اطمینان ۹۵٪ انجام شد.

نتایج

پس از بررسی آماری مشخص گردید که ارتباط بین سویه‌ها و محیط کشت‌های مختلف باکتری با نفوذپذیری و کاهش وزن نمونه‌ها معنی‌دار است.

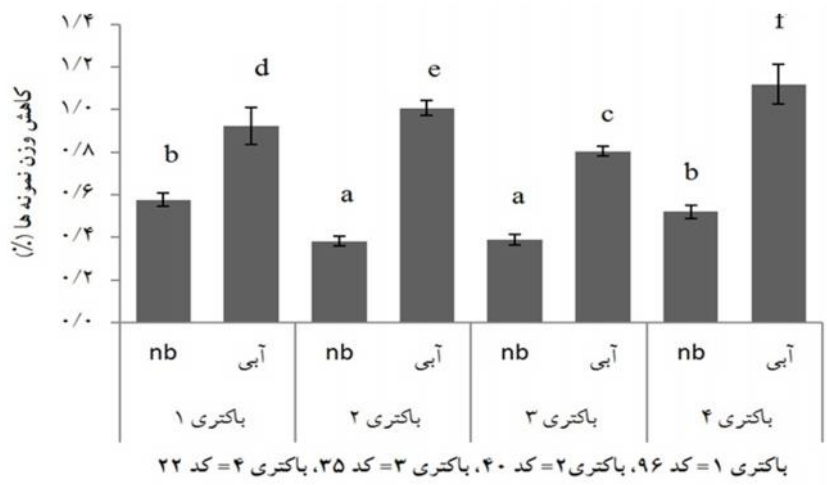
کاهش جرم:

شکل ۲ نشان‌دهنده تأثیر محیط کشت‌های مختلف بر میزان کاهش وزن نمونه‌های چوبی پس از ۶ هفته است. اختلاف بین دو محیط کشت از نظر آماری در سطح ۹۹٪ معنی‌دار بوده و در دو دسته مختلف طبقه‌بندی شدند. باکتری در محیط کشت آبی نسبت به محیط کشت *nb*، کاهش وزن بیشتری در نمونه‌های چوبی ایجاد کرد. بااین‌حال، کاهش وزن نمونه‌های آزمونی در هر دو محیط کشت زیاد نیست (کمتر از ۱ درصد است).



شکل ۲- میانگین تأثیر محیط کشت‌های مختلف باکتری بر کاهش وزن نمونه‌ها پس از ۴۲ روز

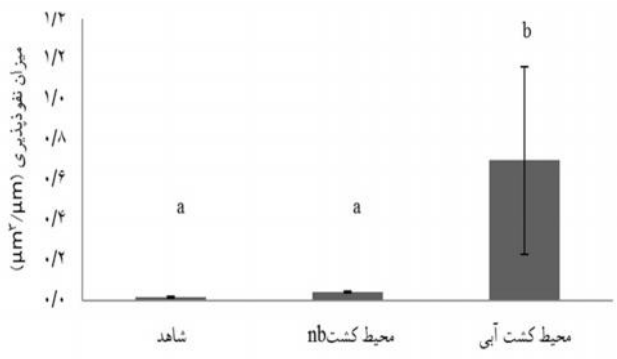
شکل ۳ نشان دهنده تأثیر سویه های مختلف باکتری بر کاهش وزن نمونه ها در دو محیط کشت *nb* و آبی پس از ۶ هفته مجاورت است. اختلاف بین گروه‌ها معنی‌دار بوده و در شش دسته مختلف طبقه‌بندی گردیدند. همان‌گونه که مشاهده می‌شود برای هر سویه باکتری، میزان کاهش وزن چوب‌ها در محیط کشت آبی بیشتر از محیط کشت *nb* است. در محیط کشت آبی، باکتری سویه ۴ (کد ۲۲) بیشترین کاهش وزن (کمی بیشتر از ۱٪) را در نمونه‌های چوبی ایجاد کرده است.



شکل ۳- تأثیر سویه‌های مختلف باکتری بر کاهش وزن نمونه‌ها در دو محیط کشت *nb* و آبی پس از ۴۲ روز

نفوذپذیری گازی

شکل ۴ نشان‌دهنده تأثیر محیط کشت‌های مختلف بر بهبود نفوذپذیری نمونه‌های چوبی پس از ۶ هفته است. اختلاف بین گروه‌ها معنی‌دار بوده و در دو دسته مختلف طبقه‌بندی گردیدند. همانطور که مشاهده می‌شود، تأثیر محیط کشت آب بر بهبود نفوذپذیری نمونه‌های چوبی نسبت به محیط کشت *nb* مناسب‌تر است. به‌طور متوسط پس از کشت نمونه‌ها با باکتری در محیط آبی، نفوذپذیری به میزان ۴۵ برابر نمونه شاهد افزایش یافت.

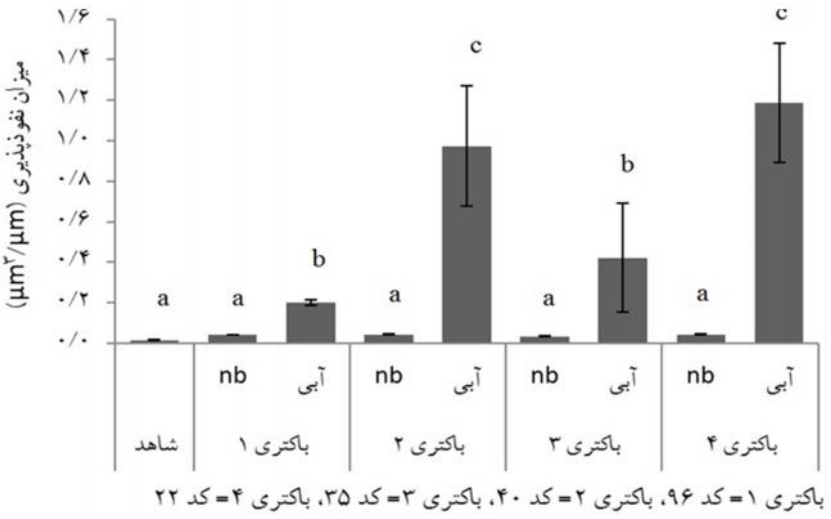


شکل ۴- میانگین میزان نفوذپذیری نمونه‌های کشت‌شده در مقایسه با شاهد پس از ۴۲ روز

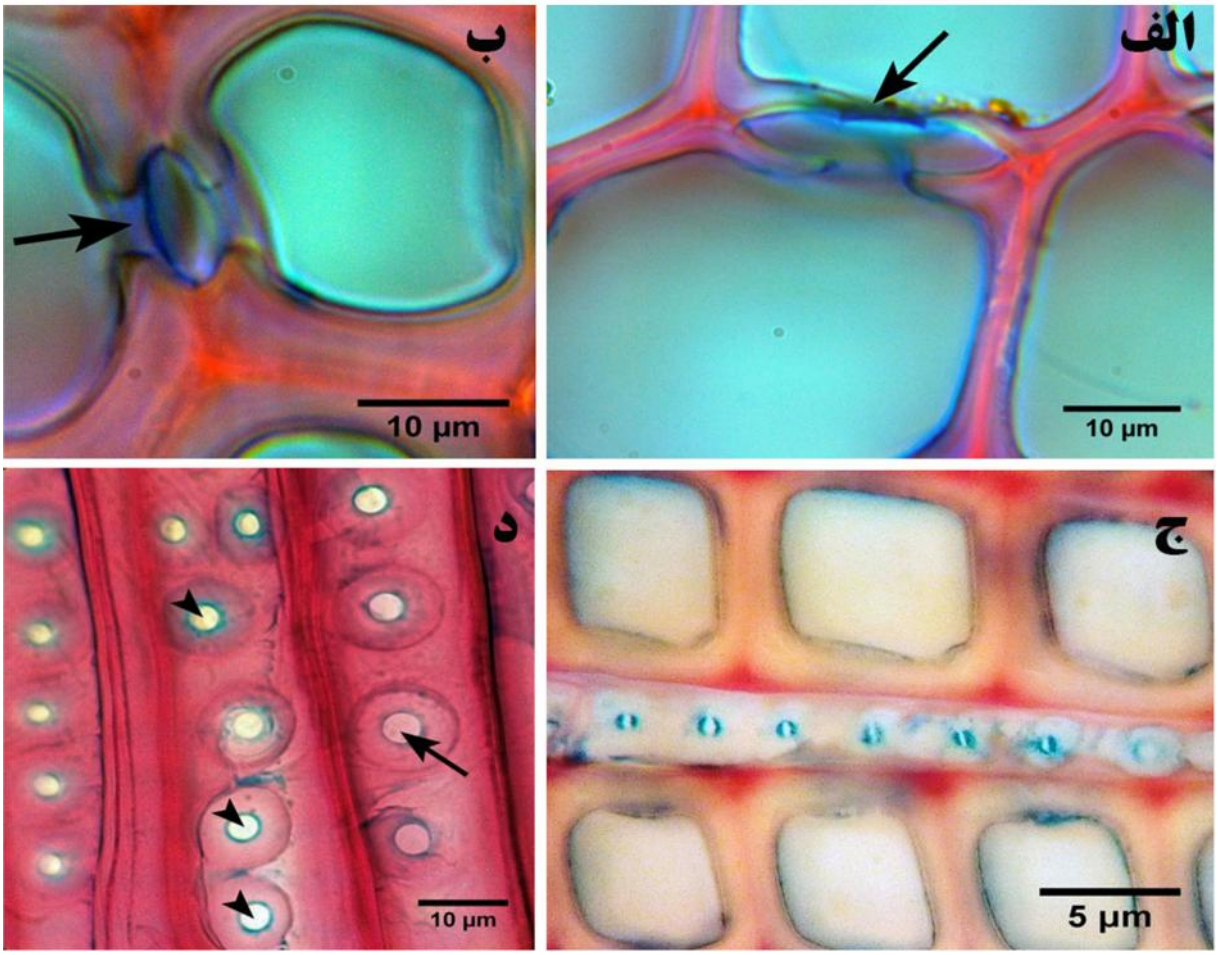
شکل ۵ نشان‌دهنده تأثیر سویه‌های مختلف باکتری بر افزایش نفوذپذیری چوب‌ها در دو محیط کشت مختلف *nb* و آبی پس از ۶ هفته مجاورت است. اختلاف بین گروه‌ها معنی‌دار بوده و در سه دسته مختلف طبقه‌بندی گردیدند. همانطور که مشاهده می‌شود، نمونه‌های موجود در محیط کشت آبی دارای میزان نفوذپذیری بیشتری از محیط کشت *nb* می‌باشند. سویه‌های ۴ (کد ۲۲) و ۲ (کد ۴۰) باکتری در محیط آبی بیشترین میزان نفوذپذیری را در چوب نسبت به سایر سویه‌ها ایجاد کردند. با آنکه از نظر آماری، تفاوت معنی‌داری بین اثر این دو سویه دیده نشد، ولی با توجه به بیشتر بودن نسبی نفوذپذیری نمونه‌ها در مجاورت باکتری سویه ۴ (کد ۲۲) و همچنین کاهش وزن بیشتر چوب در مجاورت با آن، این سویه به‌عنوان مناسب‌ترین گزینه انتخاب شد. باکتری سویه ۲۲ توانست نفوذپذیری طولی نمونه‌ها را به میزان ۷۷ برابر نمونه شاهد بهبود ببخشد.

ویژگی‌های میکروسکوپی

همانطور که در شکل ۶ مشاهده می‌شود، پدیده بسته شدن منافذ (اتصال توروس به هاله) در سلول‌های چوب آغاز (شکل ۶-الف) و پایان (شکل ۶- ب) در هنگام خشک شدن نمونه‌ها انجام می‌شود. شکل ۶ (الف، ب) نشان‌دهنده جابجا شدن غشای منفذ (توروس) و اتصال آن به دیواره منفذ (هاله) در مقطع عرضی نمونه‌های شاهد می‌باشد. توروس به دلیل ترکیب پکتینی و لیگنینی نشدن، به رنگ آبی دیده شده و دیواره‌های سلول به‌دلیل جذب سافرانین توسط لیگنین موجود در دیواره‌های سلولی به رنگ قرمز دیده می‌شوند.



شکل ۵- میانگین نفوذپذیری نمونه‌های کشت شده با سویه‌های مختلف باکتری در محیط کشت nb و آبی در مقایسه با نمونه شاهد پس از ۴۲ روز



شکل ۶- بسته شدن منافذ به‌دلیل کشیده شدن و اتصال غشا به هاله منفذ در چوب آغاز (الف) و چوب پایان (ب) گونه کاج. تأثیر باکتری بر سلول‌های پارانشیمی اشعه در مقطع عرضی (ج) و تخریب توروس و باز شدن (سر فلش) منافذ بسته شده (فلش) در مقطع شعاعی نمونه (د).

اولین نقاط اثر باکتری پس از ورود به چوب، بافت اشعه است. در شکل ۶-ج، تأثیر باکتری سویه ۲۲ بر منافذ موجود در سلول‌های پارانشیمی بافت اشعه در نمونه‌های در معرض محیط کشت محلول آب و باکتری، پس از ۶ هفته مجاورت، مشاهده می‌شود. در اثر فعالیت باکتریایی، منافذ پارانشیم‌ها دچار تخریب جزئی شده که از روی رنگ آبی آنها مشخص است. در مقطع شعاعی، دریچه منافذ بسته شده نسبت به منافذ معمولی تیره‌تر دیده می‌شود. تخریب جزئی غشای منفذ توسط باکتری منجر به سهولت عبور نور میکروسکوپ شده و این منافذ روشن‌تر دیده می‌شوند. همچنین به دلیل اثر تخریبی فعالیت باکتری‌ها در غشای منافذ هاله‌دار، بافت‌های پکتینی باقی‌مانده از توروس به رنگ آبی دیده می‌شوند (شکل ۶-د).

بحث

در جدول ۱ میزان نفوذپذیری انواع گونه‌های چوبی و فراورده‌های مرکب چوبی با روش‌های مختلف پیش‌تیمار (قارچ، باکتری و حرارت) در جهات مختلف طولی و عرضی، مورد مقایسه قرار گرفته است. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش، بهبود میزان نفوذپذیری طولی نمونه‌های آزمونی با پیش‌تیمار باکتری در مقایسه با پژوهش‌های گذشته قابل‌توجه است.

جدول ۱- مقایسه میزان نفوذپذیری گونه‌های مختلف چوبی و فراورده مرکب چوبی با پیش‌تیمارهای مختلف

ردیف	گونه چوبی یا فراورده چوبی	نوع یا روش نفوذپذیری	نوع پیش‌تیمار	میزان یا درصد تغییر نفوذپذیری نسبت به نمونه شاهد	مؤلفان
۱	کاج (*Pinus tadea*)	نفوذپذیری طولی (۴۲ روز مجاورت)	پیش‌تیمار باکتری *Bacillus subtilis*	۷۷ برابر افزایش	پژوهش جاری
۲	نوئل (*Picea abies*)	نفوذپذیری طولی (۴۲ روز مجاورت)	پیش‌تیمار باکتری *Bacillus subtilis*	۱/۴۳ برابر افزایش	Panek et al. (2012)
۳	نوئل (*Picea abies* L.)	نفوذپذیری طولی (۶۳ روز مجاورت)	پیش‌تیمار باکتری *Bacillus subtilis*	۵۹ برابر افزایش	Panek & Reinprecht (2011)
۴	نوئل (*Picea abies*)	نفوذپذیری طولی (۴۲ روز مجاورت)	پیش‌تیمار قارچ *Trichoderma viride*	۱/۲۵ برابر افزایش	Panek et al. (2012)
۵	صنوبر (*Poplus nigra*)	نفوذپذیری عرضی (۴۵ روز مجاورت)	پیش‌تیمار قارچ *Physisporinus vitreus*	۱۱۹ درصد کاهش	Emaminasab et al. (2015)
۶	صنوبر (*Poplus nigra*)	نفوذپذیری عرضی (۴۵ روز مجاورت)	پیش‌تیمار قارچ *Xylaria longipes*	۷۷ درصد کاهش	Emaminasab et al. (2015)
۷	نوئل (*Picea orientalis* L.)	نفوذپذیری طولی	پیش‌تیمار با آنزیم قلیایی پکتیناز	۱/۳ برابر افزایش	Durmaz et al. (2015)
۸	برون چوب بلوط (*Quercus infactoria*)	نفوذپذیری طولی	روش خشک کردن در کوره در مقایسه با روش ترکیبی کوره و هوای آزاد	۱/۵ برابر افزایش	Salehpour & Tarmian (2014)
۹	درون چوب بلوط (*Quercus infactoria*)	نفوذپذیری طولی	روش خشک کردن در کوره در مقایسه با روش ترکیبی کوره و هوای آزاد	۱/۲ برابر افزایش	Salehpour & Tarmian (2014)

جدول ۱- مقایسه میزان...

ردیف	گونه چوبی یا فراورده چوبی	نوع یا روش نفوذپذیری	نوع پیش‌تیمار	میزان یا درصد تغییر نفوذپذیری نسبت به نمونه شاهد	مؤلفان
۱۰	صنوبر (*Poplus nigra*)	نفوذپذیری طولی نمونه استوانه‌ای	تیمار حرارتی با درجه حرارت ۵۰ ºC	۴/۵٪ افزایش	Taghiyari & Moradi Malek (2014)
۱۱	راش (*Fagus orientalis*	نفوذپذیری طولی نمونه استوانه‌ای	تیمار حرارتی با درجه حرارت ۵۰ ºC	۵/۵٪ افزایش	Taghiyari & Moradi Malek (2014)
۱۲	راش (*Fagus orientalis*)	نفوذپذیری طولی	بخاردهی	۹۱/۶٪ کاهش	Taghiyari et al. (2011)
۱۳	صنوبر (*Poplus nigra*)	نفوذپذیری عرضی	بخاردهی در دمای ۱۶۰ºC	۳ برابر کاهش	Sayar et al. (2013)
۱۴	نراد (*Abies alba* L.)	نفوذپذیری عرضی	پیش‌تیمار با ماکروویو	۷۱٪ افزایش	Dashti et al. (2013)
۱۵	MDF حاصل از الیاف چوبی	–	استفاده از نانو زایکوسیل (NZ-150)	۳ برابر افزایش	Taghiyari (2013)
۱۶	MDF حاصل از الیاف چوبی	–	استفاده از نانو ذره رس	۱/۲۴ برابر افزایش	Zahedsheijani et al. (2011)
۱۷	MDF حاصل از کنف	–	با ۵ دقیقه پالایش، تخته حاصل از پوست نسبت به مغز	۱۲۷ برابر افزایش	Dehghan et al. (2014)

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تأثیر محیط کشت آبی برای فعالیت باکتری به‌منظور افزایش نفوذپذیری به‌مراتب مناسب‌تر از محیط کشت *nb* است. این مطلب تأییدکننده نظر Reinprecht و Panek (۲۰۱۱) می‌باشد که از روش کشت باکتری در محیط آبی برای انجام آزمایش‌های خود استفاده کردند. انتخاب محیط کشت آبی توسط آنان خود می‌تواند تأییدکننده نظر Greaves (۱۹۷۱) باشد، زیرا قدرت حرکت باکتری نقش مهمی در عملکرد آن دارد و در محیط آبی این قدرت حرکت بیشتر است. علاوه بر این، طبق نظر Nilsson و Bjordal (۲۰۰۸) دسترسی آزاد این باکتری به اکسیژن، فعالیت تخریبی آن را متوقف کرده و بهترین شرایط برای فعالیت باکتری، دسترسی محدود به اکسیژن در محیط آبی است. همچنین می‌توان حدس زد که اولویت انتخاب باکتری در محیط کشت *nb*، تغذیه از ماده غذایی موجود در محیط است، به همین دلیل تخریب نمونه‌های آزمونی با شدت کمتری انجام می‌شود.

مقایسه نتایج کاهش وزن و افزایش نفوذپذیری در دو محیط کشت باکتری مشخص می‌کند که میزان کاهش وزن نمونه‌های آزمونی در هر دو محیط کشت بسیار اندک (کمتر از ۱ درصد) می‌باشد (Yildiz *et al.*, 2012) ولی از سوی دیگر، محیط کشت *nb* تأثیر بسیار اندکی در افزایش نفوذپذیری چوب داشت؛ بنابراین به‌طورکلی محیط کشت آبی برای پیش‌تیمار چوب‌آلات به‌منظور افزایش نفوذپذیری با این باکتری پیشنهاد می‌شود. در مقایسه بین عملکرد باکتری‌ها، باکتری سویه ۴ (کد ۲۲) شرایط بهتری به لحاظ افزایش نفوذپذیری نمونه‌ها نشان داد. طبق بررسی‌های تکمیلی که

توسط میکروسکوپ نوری در بزرگنمایی‌های مختلف انجام شد، مشاهده گردید که تعداد زیادی از منافذ هم در دیواره تراکئیدهای چوب آغاز و هم در چوب پایان، مسدود شده بودند. پس از کشت باکتری، افزایش نفوذپذیری نمونه‌ها به‌دلیل تخریب منافذ هاله‌ای در سلول‌های چوبی (تراکئیدها) انجام گردید (Johnson, 1978; Tiralova *et al.*, 1978; Reinprecht & Panek, 2011; Yildiz *et al.*, 2012). ازآنجاکه غشای منفذ هاله‌ای از ساختاری فیبری ساخته شده و آغشته به ترکیب ژله‌ای پکتین با خاصیت آب‌گریزی می‌باشد (Lee *et al.*, 2012)؛ برای تخریب آن نیاز به آنزیم پکتیناز است. شدت و نوع تولید آنزیم در گونه، یا سویه‌های مختلف باکتری باسیلیوس متفاوت بوده (Zhang *et al.*, 2014) و سویه یا سویه‌هایی از این باکتری که قابلیت تولید این آنزیم را دارند می‌توانند برای افزایش نفوذپذیری چوب به‌کار گرفته شوند.

باکتری بعد از وارد شدن در بافت چوب ابتدا وارد سلول‌های پارانشیم اشعه شده و در آنجا کلونی می‌کند (Eriksson *et al.*, 1990). سپس برای حرکت عرضی، از منافذ نیمه هاله‌ای بین سلول پارانشیمی اشعه و تراکئید گذشته و وارد تراکئیدهای مجاور اشعه می‌شود. ازآنجاکه باکتری، منافذ را بر دیواره ترجیح می‌دهد (Eriksson *et al.*, 1990)، به‌سرعت به تخریب ترکیبات پکتینی توروس پرداخته و بدین ترتیب منافذ هاله‌ای و نیمه هاله‌ای برای عبور سیال باز می‌شوند.

افزایش نفوذپذیری چوب‌آلات با استفاده از میکروارگانسیم‌ها نتایج امیدبخشی را نشان داده است. قارچ‌های مولد پوسیدگی سفید به‌ویژه قارچ *Physisporinus vitreus* به‌طور مؤثری باعث افزایش نفوذپذیری گونه‌های سخت اشباع کاج، داگلاس‌فر، نوئل، نراد و لاریکس شده‌اند (Schwarze & Landmesser, 2000; Lehringer, 2011). بااین‌حال، استفاده از قارچ به علت رشد و تجمع هیف‌ها در داخل عناصر هادی بافت چوب – به‌ویژه در پهن برگان– ممکن است گاهی حتی به کاهش نفوذپذیری بینجامد (Taghiyari *et al.*, 2015). ازاین‌رو استفاده از باکتری‌ها ممکن است دارای مزیت باشد.

بنابراین با بررسی دقیق گونه‌های چوبی مختلف و فراورده‌های مرکب در جهات مختلف با پیش‌تیمارهای مختلف (جدول ۱)، مشخص شد که در حال حاضر روش استفاده از باکتری به‌منظور بهبود نفوذپذیری گونه‌های سخت اشباع یکی از مؤثرترین روش‌ها در این زمینه است. بااین‌حال، به‌عنوان پژوهشی تکمیلی پیشنهاد می‌شود که چوب‌های پیش‌تیمار شده توسط باکتری با مواد حفاظتی اشباع شده و عمق و یکنواختی نفوذ آنها مورد بررسی قرار گیرد. علاوه بر این، ازآنجاکه باکتری باسیلوس خاصیت ضد قارچی نیز دارد (Zhang *et al.*, 2014)، مطالعه تأثیر این باکتری برای جلوگیری از ایجاد و گسترش پوسیدگی‌ها و باختگی‌ها می‌تواند موضوع پژوهش‌های آینده باشد.

منابع مورداستفاده

-Adolf, F., Gerstetter, E. and Liese, W., 1972. Untersuchungen über einige Eigenschaften von Fichtenholz nach dreijähriger Wasserlagerung. Holzforschung 26:18–25.

-Ahmadzadeh, M., 2014. Biological control of plant disease-Plant probiotic bacteria, University of Tehran, Press. 479 p.

-Daniel, G., 2014. Fungal and bacterial biodegradation: White rots, brown rots, soft rots, and bacteria, Deterioration and Protection of Sustainable Biomaterials. ACS Symposium Series, American Chemical Society, pp. 23-58.

-Dashti, H., Tarmian, A., Faezipour, M., Hedjazi, S. and Shahverdi, M., 2013. Mass transfer through microwave-treated Fir wood (*Abies alba* L.): A gymnosperm species with torus margo pit membrane, drying technology: An International journal, 31(3): 359-364.

-Dehghan, M., Tahir, P., Taghiyari, H. 2014. Medium-density fiberboard made from Kenaf bast and core: Effects of refining pressure and time on specific gas permeability. Bioresources 9(4), 7198-7208.

-Durmaz, S., Yildiz, U. C., Yildiz, S., 2015. Alkaline enzyme treatment of Spruce wood to increase permeability. Bioresources 10(3), 4403-4410.

-Emaminasab, M., Tarmian, A., Pourtahmasi, K., 2015. Permeability of poplar normal wood and tension wood bioincised by Physisporinus vitreus and Xylaria longipes. International Biodeterioration & Biodegradation 105. 178-184.

-Eriksson, K. E., Blanchette, R., Ander, P., 1990. Morphological aspects of wood degradation by fungi and bacteria. In: Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components. Springer Series in Wood Science. Springer Berlin Heidelberg, pp 1-87.

-Greaves, H., 1971. The bacterial factor in wood decay. Wood Science and Technology, 5. p.6-16 by Springer-Verlag 1971.

-Henriksson, G. and Teeri, T., 2009. Biotechnology in the forest industry. In: M. Ek, G. Gellerstedt and G. Henriksson (Editors), Wood Chemistry and Biotechnology. Walter de Gruyter, pp. 273-300.

-Lee, J., Holbrook, N. M. and Zwieniecki, M. A., 2012. Ion induced changes in the structure of bordered pit membranes. Frontiers in Plant Science 3, 55.

-Lehringer, C., Richter, K., Schwarze, F. and Militz, H. 2009. A review on promising approaches for liquid permeability improvement in softwoods. Wood and Fiber Science, 41(4), pp. 373–385. the Society of Wood Science and Technology.

-Lehringer, C., 2011. Permeability improvement of Norway spruce wood with the white rot fungus physisporinus vitreus. Ph.D. thesis, Gottingen, the Faculty of Forest Sciences and Forest Ecology, Georg-August-University.

-Mai, C., Militz, H. and Kües, U., 2004. Biotechnology in the wood industry. Applied Microbiology and Biotechnology, 63(5): 477-494.

-Nilson, T. and Bjordal, C., 2008. Culturing wood-degrading erosion bacteria. International Journal of Biodeterioration and biodegradation 61 (2008) 3-10.

-Panek, M., Reinprecht, L. and Babiak, M., 2012. Improving of spruce wood impregnability with *Bacillus subtilis* and *Trichoderma viride*. Faculty of wood sciences and technology, technical university in Zvolen, Masarykova 24, SK-960 53 Zvolen, Slovakia. P: 11.

-Panek, M. and Reinprecht, L., 2011. Bacillus subtilis for improving spruce wood impregnability. Bioresources 6(3): 2912-2931.

-Salehpour, sh., Tarmian, A., 2014. Effect of Drying Method on the Permeability Coefficient of Oak Wood (*Quercus infactoria.* Iranian Journal of Wood and Paper Industries, Vol. 5, No. 1. 1-9.

-Sayar, M., Tarmian, A., Azadfallah, M., Taghiyari, H. R., 2013. Thermal treatment and its effect on the gas ermeability of *Populus nigra*. Iranian Journal of Wood and Paper In dustries, Vol.4, No. 1. pp. 151-159.

-Schwarze, W. M. R. F., Richter, K., Lehringer, C. and Militz, H., 2011. A Review on promising approaches for liquid permeability improvement in softwoods. The Society of Wood Science and Technology. Wood and Fiber Science, 41(4): 373–385.

-Siau, J.F., 1984. Transport processes in wood. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 245pp.

-Suolahti, O. and Wallen, A., 1958. Der Einfluss der Nasslagerung auf das Wasseraufnahmevermögen des Kiefernsplintholzes. Holz Roh Werkst 16:8–17.

-Susi, P., Aktuganov, G., Himanen, J. and Korpela, T., 2011. Biological control of wood decay against fungal infection. Journal of Environmental Management, 92(7): 1681-1689.

-Taghiyari, H. R., Parsapajouh, D., Karimi, A. N. and Pourtahmasi, K., 2008. Study on Gas Permeability of Juvenile wood and mature wood in *Populus deltoids* (69/55) *and Populus* × *euroamericana* (cv. I-214), Grown in Gillan Province, Iran; The Second National Congress on Poplar and Potential Use in Poplar Plantation, 2, PP. 133 – 140, 5th to 7th May, 2008.

-Taghiyari, H.R., Kalantari, A., Ghorbani, M., Bavaneghi, F., Akhtari, M., 2015. Effects of fungal exposure on air and liquid permeability of nanosilver- and nanozincoxide-impregnated Paulownia wood International Biodeterioration and Biodegradation 105:51-57.

-Taghiyari, H.R., Moradi, M. B., 2014. Effect of heat treatment on longitudinal gas and liquid permeability of circular and square-shaped native hardwood specimens. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Heat Mass Transfer (2014) 50:1125–1136.

-Taghiyari, H. R., 2013. Nano-zycosil in MDF: gas and liquid permeability. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Eur. J. Wood Prod. (2013) 71:353–360.

-Taghiyari, H.R., Talaei, A., Karimi, A., 2011. A correlation between the Gas and Liquid permeability of Beech wood heat-treated in hot waterand steam mediums. Maderas. Ciencia y tecnología 13(3): 329-336.

-Tarmian, A. and Karimi, A., 2010. Conservation of wood artifacts. University of Tehran Press, 789p.

-Taylor, A. M., Gartner, B. L., Morrell, J. J., 2002. Heartwood formation and natural durability - A review. Wood and Fiber Science 34 (4):587-611.

-Tiralova, Z., Panek, M. and Novak, S., 2007. Durability of spruce wood pre-treated with bacteria *Bacillus subtilis* and microscopic fungus *Trichoderma viride* against selected wood-destroing fungi. Acta facultatis-xylologiae. Xlix (1): 45-51.

-USPTO (2009) Gas permeability measurement apparatus; patent number US 8079249 B2

-Zahedsheijani, R., Gholamiyan, H., Tarmian, A., Yousefi, H., 2011. Mass transfer in medium density fiberboard (MDF). Maderas. Ciencia y tecnología 13(2): 163-172.

-Zhang, X., Zhao, G., Li, D., Li, S. and Hong, Q., 2014. Identification and evaluation of strain B37 of *Bacillus subtilis* antagonistic to sapstain fungi on poplar wood. Scientific World Journal. 149342.

-Yildiz, S., Canakci, S., Yildiz, U., Ozgenc, O. and Tomak, E., 2012. Improving of the impregnability of refractory spruce wood by *Bacillus licheniformis* pretreatment. Bioresources 7(1): 565-577.

The modifying effect of different *Bacillus subtilis* strains on permeability of pine (*Pinus taeda*) in two different culture media

I. Zahedi Tajrishi[1], R. Oladi[2*], A. Tarmian[3], M. Ahmadzadeh[4] and H. Saadati[5]

1- Phd, Department of Wood and Paper Science & Technology, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
2*- Corresponding author, Assistant Prof., Department of Wood and Paper Science & Technology, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran, Email: oladi@ut.ac.ir
3- Associate Prof., Department of Wood and Paper Science & Technology, University of Tehran, Karaj, Iran
4- Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences and Engineering, University of Tehran, Karaj, Iran
5- Master of science, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences and Engineering, University of Tehran, Karaj, Iran

Received: Dec., 2014 Accepted: March, 2016

Abstract

One of the main reasons for low treatability of pine wood is its pit aspiration during drying in free water domain or heartwood formation. In this research, for opening the aspirated pits in heartwood of loblolly Pine (*Pinus taeda*), biological incising modification method with bacteria was used and the impacts of different environments and strains of bacteria on the wood gas permeability were studied. Several famous and known strains of *Bacillus subtilis* UT B96 bacteria in the collection of plant protection department of University of Tehran (22, 35, 40, and 96) were supplied in two different culture media of bacteria, namely Nutrient Broth and water bacteria solution. Optical microscopy was used to identify the qualitative bacterial effect on the tracheid pit pairs. Data analysis revealed that bacteria strain no.22 and water bacteria solution are the most suitable selections to open the aspirated pits and improve the wood permeability. The more destructive effect of the strain 22 of bacteria may be due to its ability to produce more degrading enzyme. The higher impact of bacteria in the aquatic environment is probably due to their easier mobility, limited access to oxygen or lack of access to an alternative food.

Key words: bacteria, strain, pine wood, permeability, weight loss, pit aspiration.