



Design and Development of an Automated Pneumatic System for Measuring Xylem Cavitation in Plants

Hamidreza Bakhshi¹ | Gholamreza Chegini² | Akbar Arabhosseini³

1. Department of Agro-Technology, Faculty of Agricultural Technology, University of Tehran, Tehran, Iran. E-mail:

hrbakhshi@ut.ac.ir

2. Corresponding Author, Department of Agro-Technology, Faculty of Agricultural Technology, University of Tehran, Tehran, Iran. E-mail: chegini@ut.ac.ir

3. Department of Agro-Technology, Faculty of Agricultural Technology, University of Tehran, Tehran, Iran. E-mail:

ahosseini@ut.ac.ir

Article Info

Article type: Research Article

Article history:

Received: Oct. 29, 2024

Revised: Dec. 29, 2024

Accepted: Jan. 5, 2025

Published online: Autumn 2024

Keywords:

***Drought stress,
Hydraulic fracturing,
Cavitation,
Embolism resistance,
Vulnerability curve.***

ABSTRACT

Cavitation, which involves the formation of air bubbles in plant xylem, significantly impairs water transport, affecting a plant's ability to move water effectively. This phenomenon is primarily caused by water vapor, air intrusion, and is often exacerbated by drought conditions in summer, freezing temperatures in winter, and physical damage to the plant. Traditional methods for measuring cavitation are labor-intensive and require extensive laboratory sampling. This study presents an automated pneumatic system designed to directly measure cavitation resistance in plant xylem. The system includes an electronic circuit, a pressure sensor, a vacuum pump, and pneumatic connections, enabling it to evaluate the plant's response to negative pressure, with leaf potential assessed using a psychrometer. We conducted tests on seven samples each of the "Mashhad walnut cluster genotype" and the "Iran walnut genotype," with three replicates for each. The system successfully generated vulnerability curves and compared plant samples under both laboratory and field conditions. Results indicated that the Mashhad cluster walnut genotype demonstrated greater cavitation resistance compared to the Iranian walnut genotype. These findings highlight the pneumatic system's efficiency and speed in assessing pore resistance in plants, contributing significantly to research aimed at improving plant water transport systems and physiological performance, making it a valuable tool for both laboratory and field studies in plant physiology.

Cite this article: Bakhshi, H., Chegini, G.R., & Arabhosseini, Akbar (2024). Design and Development of an Automated Pneumatic System for Measuring Xylem Cavitation in Plants, *Iranian Journal of Biosystem Engineering*, 55 (3), <https://doi.org/10.22059/ijbse.2024.381242.665564>

© The Author(s).

Publisher: The University of Tehran Press.



DOI: <https://doi.org/10.22059/ijbse.2024.381242.665564>



EXTENDED ABSTRACT

Introduction

Drought stress in summer, freezing conditions in winter, and physical damage can lead to cavitation in plants. Blocked vascular channels diminish the plant's hydraulic capacity and hinder photosynthesis. Stress-induced cavitation is affected by water availability and transpiration levels, ultimately reducing water transport capacity, impairing plant performance, and potentially causing plant death. While various methods to measure cavitation exist, they are often time-consuming and require large samples. This research developed the penomatic method, a rapid technique that requires fewer samples.

Materials and Methods

This study presents an automated system for measuring plant pneumatic cavitation, consisting of an electronic circuit, pressure sensor, vacuum pump, and pneumatic connectors. This robust tool effectively investigates plant-water relationships and gas exchange, notably enabling accurate and automatic measurement of gas emissions, including gas volume in both intact and embolized channels. To validate the device, experiments were performed on seven samples each of the "Khosheh Mashhad" and "Iranian" walnut genotypes, with three replications for each.

Results and Discussion

System calibration involved comparing voltage readings from the sensor with pressure values from a manometer. The resulting ratio was implemented in Arduino programming to ensure accurate pressure data recording and display. By integrating this system with a leaf water potential device, a fully automated setup for generating precise vulnerability curves was established for both laboratory and field conditions. This setup allows for accurate plotting of air discharge rate (ADrate) and air discharge volume (AD) graphs. The combination with portable leaf water potential measuring devices further enhances the automation of obtaining vulnerability curves in various environments. The system's low energy consumption compared to similar methods is a significant benefit, enabling the measurement of multiple samples or plant organs (e.g., roots, stems, and leaves) for comparative analysis. The findings indicated that the Khosheh Mashhad genotype showed greater resistance to cavitation than the Iranian walnut genotype.

Conclusion

High-resolution measurements allow for easy and efficient assessment of emboli resistance. Vulnerability curves were used to assess resistance to drought stress, indicating a reduction in air release rate due to water deficit that eventually stabilized. This stabilization indicated a threshold at which specimens showed resilience to further water deficit. Vulnerability curves revealed variation in emboli formation among species, with some maintaining hydraulic conductivity during prolonged drought, indicating physiological adaptation.

Author Contributions

“Conceptualization, G.R. Chegini and H.R. Bakhshi; methodology, G.R.Chegini; software, H.R. Bakhshi; validation, H.R. Bakhshi, G.R.Chegini and A.Arabhosseini; formal analysis, H.R. Bakhsh.; investigation, G.R.Chegini; resources, A.Arabhosseini; data curation, H.R. Bakhsh.; writing—original draft preparation, H.R. Bakhshi; writing—review and editing, G.R.Chegini and A.Arabhosseini; visualization, A.Arabhosseini; supervision, G.R.Chegini; project administration, G.R.Chegini; funding acquisition, H.R. Bakhshi. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.”

Data Availability Statement

The measured data from the agrotechnology department located in the college of technology of aboreihan was used.

Acknowledgements

The authors would like to acknowledge the generous assistance of Dr. Sarikahni, the senior of horticulture laboratory, as well as the agricultural technical group.

The authors would like to thank all participants of the present study.

Ethical considerations

The authors avoided data fabrication, falsification, plagiarism, and misconduct.

Conflict of interest

The author declares no conflict of interest.

طراحی و توسعه سامانه نئوماتیک خودکار برای اندازه‌گیری حفره‌زایی آوند در گیاهان

حمیدرضا بخشی^۱ | غلامرضا چگینی^۲ | اکبر عرب‌حسینی^۳^۱ گروه فنی کشاورزی، دانشکده فناوری کشاورزی، دانشگاه تهران، تهران، ایران. رایانامه: hrbakhshi@ut.ac.ir^۲ نویسنده مسئول، گروه فنی کشاورزی، دانشکده فناوری کشاورزی، دانشگاه تهران، تهران، ایران. رایانامه: chegini@ut.ac.ir^۳ گروه فنی کشاورزی، دانشکده فناوری کشاورزی، دانشگاه تهران، تهران، ایران. رایانامه: ahosseini@ut.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی	یکی از مشکلات اصلی در سامانه انتقال آب در گیاهان حفره‌زایی یا تشکیل حباب‌های هوا در آوند است، که باعث کاهش ظرفیت انتقال و آسیب به گیاه می‌گردد. این پدیده به دلیل عواملی مانند تنش خشکی، انجماد یا آسیب‌های فیزیکی رخ می‌دهد و معمولاً اندازه‌گیری آن به روش‌های زمان‌بر و نیازمند نمونه‌های متعدد انجام می‌شود. در این تحقیق، یک سامانه خودکار نئوماتیک برای اندازه‌گیری حفره‌زایی طراحی و ساخته شد که شامل مدار الکترونیکی، حسگر فشار، پمپ خلأ و اتصالات نئوماتیک بود. این سامانه با اعمال فشار منفی به گیاه و اندازه‌گیری پتانسیل برگ با استفاده از دستگاه سایکرومتر، پاسخ آوندها را ثبت می‌کند. ترکیب این سامانه با دستگاه‌های قابل حمل اندازه‌گیری پتانسیل آب برگ، یک سامانه کاملاً خودکار را برای دستیابی به منحنی‌های آسیب‌پذیری دقیق، چه در شرایط آزمایشگاهی و چه در محیط مزرعه، ارائه می‌دهد. برای ارزیابی دستگاه، آزمایش‌هایی بر روی هفت نمونه از ژنوتیپ گردوی "خوشه‌ای مشهد" و هفت نمونه از ژنوتیپ گردوی "ایرانی" با سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که ژنوتیپ خوشه‌ای مشهد مقاومت بیشتری در برابر حفره‌زایی نسبت به گردوی ایرانی دارد. سامانه نئوماتیک توسعه‌یافته توانست به صورت کارآمد منحنی‌های آسیب‌پذیری را اندازه‌گیری کرده و امکان مقایسه نمونه‌ها را در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه‌ای فراهم آورد. این سامانه به‌عنوان ابزاری دقیق و سریع، می‌تواند در پژوهش‌های مرتبط با بهبود ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاهان کاربرد گسترده‌ای داشته باشد و امکان اندازه‌گیری چندین نمونه یا اندام گیاهی مختلف (مانند ریشه، ساقه و برگ) و مقایسه آن‌ها را در سطح نمونه فراهم کند.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۸/۱۲	
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۱۰/۹	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۱۶	
تاریخ انتشار: پاییز ۱۴۰۳	
واژه‌های کلیدی: تنش خشکی، شکست هیدرولیک، حفره‌زایی، مقاومت در برابر آنبولی، منحنی آسیب‌پذیری.	

استناد: حمیدرضا بخشی، غلامرضا چگینی، اکبر عرب‌حسینی، نام (۱۴۰۳). طراحی و توسعه سامانه نئوماتیک خودکار برای اندازه‌گیری حفره‌زایی آوند در گیاهان، مجله

<https://doi.org/10.22059/ijbse.2024.381242.665564>، ۵۵ (۳)، مهندسی بیوسیستم ایران/ایران،

© نویسندگان.

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijbse.2024.381242.665564>

مقدمه

در دهه‌های گذشته، نوسانات آب و هوایی بی‌سابقه و پیامد خشکسالی شدید ناشی از آن، منجر به خشکی درختان در مقیاس بزرگ جهانی شده است. یکی از دلایل اصلی نابودی درختان و گیاهان اختلال هیدرولیکی در سامانه عروقی و حفره‌زایی آوندها می‌باشد. بنابراین کمی‌سازی دقیق این فرآیند حفره‌زایی برای درک مناسب از مکانیسم‌های فیزیولوژیکی که باعث مرگ و میر درختان می‌شود، ضروری است. در هنگام خشکسالی آسیب‌پذیری بافت‌های انتقال آب در گیاهان نسبت به افت عملکرد، شاخص اصلی توانایی بقای گونه‌های گیاهی است. توانایی گونه‌های گیاهان در مقاومت یا جلوگیری از حفره‌زایی یک محور اصلی سازگاری و تنوع اکولوژیکی در میان گیاهان است. با این حال ظرفیت‌های زیست محیطی و فیزیولوژیکی فوق‌العاده‌ای در درک دقیق‌تر محدودیت‌ها وجود داشته و انتظار می‌رود با گسترش بینش در زمینه حفره‌زایی گونه‌های گیاهی، پیشرفت‌هایی در جهت برطرف کردن مشکلات فنی حاصل شود (Allen et al., 2015; Allen et al., 2010; Brando et al., 2019; Gauthy et al., 2020).

به دلیل ورود هوا به داخل مجاری آوند چوبی تحت شرایط خشکی حفره‌زایی رخ می‌دهد. مقاومت در برابر تشکیل حفره‌زایی یکی از مهمترین خصوصیات گیاهی است که به شدت تعیین کننده توزیع گونه‌ها، مرگ و میر و تکامل گیاهان است و بعنوان یک شاخص مهم گیاهی مشخص شده است (Choat et al., 2012; Larter et al., 2017; Rowland et al., 2015). این شاخص قابلیت مدل‌سازی عملکرد گیاه و پیش‌بینی پاسخ گیاهان به تغییرات اقلیمی را دارد. پدیده گسترش حباب در گیاهان، حفره‌زایی نامیده شده و به فضاهای خالی پر شده از گاز، آمبولی (انسداد) گفته می‌شود. مسدود شدن این کانال‌ها در ابتدا به وسیله بخار آب و در نهایت به وسیله هوا صورت می‌گیرد. عواملی همچون تنش خشکی در تابستان، انجماد در زمستان و آسیب‌های فیزیکی باعث بروز پدیده حفره‌زایی در گیاه می‌شود. کانال‌های مسدود شده، ظرفیت هیدرولیکی گیاه را کاهش می‌دهند و می‌توانند فعالیت فتوسنتزی گیاه را محدود کند. تنش که باعث ایجاد حفره‌زایی می‌شود به میزان وجود آب و تعرق در محیط زندگی گیاه مرتبط است. با این وجود، به دلیل تنش خشکی و دوره تعرق بالا، پدیده حفره‌زایی بصورت متوالی تکرار می‌شود. حفره‌زایی و تشکیل حباب‌های هوا مشکلات عمده‌ای را در سامانه انتقال آب گیاهان ایجاد می‌کند، شکل‌گیری حفره در سامانه انتقال آب گیاهان، ظرفیت انتقال آب گیاهان را کاهش داده، عملکرد گیاه را مختل کرده و باعث مرگ و میر گیاه می‌شود (Taiz, 2015). در بیشتر روش‌هایی که برای تخمین مقاومت در برابر آمبولی استفاده می‌شود، هدایت هیدرولیکی بخشی از ساقه آمبولیزه شده اندازه‌گیری می‌شود و با هدایت هیدرولیکی ساقه بدون آمبولی مقایسه می‌شود (Melcher et al., 2012; Sperry et al., 1988). این روش‌ها وقت‌گیر و به صورت مصنوعی انجام می‌پذیرد (Brodribb, 2017; Trifilo et al., 2014; Wheeler et al., 2013).

روش جدید نئوماتیک به عنوان نوعی روش جایگزین برای تخمین مقاومت در برابر حفره‌زایی می‌تواند به صورت مستقیم وجود حفره در آوند چوبی را مشخص کند (Pereira et al., 2016). با آمبولیزه شدن گیاه، فضای اشغال شده هوا در داخل آوند چوبی افزایش می‌یابد. بنابراین حفره‌زایی خصوصیات نئوماتیک بخش‌های ساقه را تغییر می‌دهد. در روش نئوماتیک، خلا به ساقه بریده شده وارد شده و هوای جاری در خارج از ساقه به عنوان برآورد محتوای هوای آوند چوبی اندازه‌گیری می‌شود. بین جریان هوا در خارج از ساقه و میزان حفره‌زایی در آوند آن رابطه مستقیم وجود دارد (Pereira et al., 2016).

آزمایشات نئوماتیک برای بافت آوند چوبی اندام‌های مختلف گیاه، مانند ساقه‌ها و ریشه‌ها استفاده شده است که برای تخمین آسیب‌پذیری در برابر اختلال هیدرولیکی سلول‌های رسانی آب، به ویژه برای گیاهانی که تحت تنش شدید خشکی قرار می‌گیرند، کاربرد دارد. اگرچه این روش برای پاسخگویی به سؤالات در زمینه آناتومی آوند چوبی و فیزیولوژی طراحی شده است، انتظار می‌رود که این ابزار برای طیف وسیعی از مجاری متخلخل دیگر نیز به کار رود. در طول اندازه‌گیری نئوماتیک، یک خلا جزئی در یک لوله تخلیه ایجاد می‌شود تا در کمتر از یک دقیقه گاز از بافت آوند چوبی ساقه بریده، دم‌برگ یا ریشه استخراج شود (Bittencourt et al., 2018). مقدار هوای استخراج شده را می‌توان از اندازه‌گیری فشار با استفاده از قانون گاز ایده‌آل محاسبه کرد. از آنجایی که استخراج گاز از مخازن آمبولیزه شده و سالم، سریع است، تاخیر در اندازه‌گیری تغییرات فشار می‌تواند خطای اندازه‌گیری را افزایش دهد، که این مورد در سامانه پنوماترون اصلاح شده است (Jansen et al., 2015).

مزایای اصلی سامانه نئوماتیک رویکرد خودکار و سرعت بالا در حد میلی ثانیه در ایجاد خلا جزئی، اندازه‌گیری فشار، ذخیره داده‌ها

و باز یا بسته کردن دریچه‌های بین لوله تخلیه و جو است. از مزایای عمده سامانه نئوماتیک می‌توان به اندازه‌گیری خودکار و دقیق سرعت انتشار گاز، از جمله اندازه‌گیری بسیار دقیق حجم گاز در مجراهای سالم و آمبولیزه شده اشاره کرد. این دستگاه ابزاری کاربردی و قدرتمند برای تحقیق روابط آب گیاه و تبادل هوا می‌باشد با تکرار اندازه‌گیری‌ها در طول زمان، و ترکیب این داده‌های نئوماتیک با کمی‌سازی کم‌آبی نمونه، می‌توان یک "منحنی آسیب‌پذیری گیاه" را به روشی ساده و بدون هیچ گونه تحلیل زمان‌بر به دست آورد (Trabi et al., 2021). علاوه بر اندازه‌گیری مقاومت آمبولی آوند، می‌توان از این سامانه برای مطالعه سینتیک جریان گاز موجود در داخل ساقه گیاهان و توزیع در طول آوند استفاده کرد. این روش‌ها نیاز به تغییرات جزئی در برنامه نرم‌افزاری و اتصالات لوله دارند. برخلاف سایر روش‌های استاندارد مقاومت در برابر آمبولی، دستگاه پنوماترون بسیار سریع و کاربرپسند است که این دستگاه را برای اندازه‌گیری میدانی از راه دور نیز مفید می‌کند (Yang et al., 2023).

از جمله روش‌های پایش حفره‌زایی و انسداد آوند در اثر حفره‌زایی روش‌های مکانیکی انتقال سیال در آوند می‌باشد که به دو صورت هیدرولیکی و نئوماتیکی می‌باشد. در روش هیدرولیکی مقدار هدایت هیدرولیکی آوند با تشکیل آمبولی اندازه‌گیری می‌شود، که این روش بسیار زمان‌بر و هزینه‌بر بوده و نیاز به تجهیزات خاص هیدرولیکی دارد (Peng et al., 2019) در صورتیکه در روش نئوماتیکی به طور مستقیم مقدار آمبولی داخل آوند با تغییر در محتوای هوای آن تعیین می‌شود. بنابراین روش نئوماتیک روشی کاربردی و سریع برای اندازه‌گیری آمبولی گیاهان است. برآورد مقاومت در برابر آمبولی اغلب با اندازه‌گیری‌های آزمایشگاهی هیدرولیک زمان‌بر و نیاز به دقت بالا دارد. اخیراً یک روش نئوماتیک توسعه یافته است که منحنی‌های آسیب‌پذیری با وضوح زمانی بالا و کاملاً خودکار تولید می‌کند. مقاومت آمبولی با اعمال یک خلاء جزئی برای استخراج هوا از نمونه آوند چوبی بریده شده تخمین زده می‌شود، در حالی که تغییرات فشار در طول زمان نظارت می‌شود. با استفاده از این روش، دقت تخمین مقاومت در برابر آمبولی به طور قابل توجهی بهبود یافته و تشخیص تفاوت‌های ناچیز تسهیل شده است. از این رو، می‌توان منحنی‌های آسیب‌پذیری را مستقیماً و بدون هیچ گونه برازش ترسیم کرد. تاکنون منحنی‌های آسیب‌پذیری نئوماتیک برای گونه‌های مختلف گیاهی انجام شده است (Bittencourt et al., 2018; Pereira et al., 2016; Zhang et al., 2018)

برای تعیین منحنی‌های آسیب‌پذیری نیاز دستورالعمل‌های واضح در مورد ساخت سامانه نئوماتیک، عملکرد آن و تجزیه و تحلیل داده‌های نئوماتیک دارد. از جمله اشکالاتی که در تحقیقات قبلی وجود داشت عدم نمایش پارامترهای سخت‌افزاری سامانه و داده‌ها برای به دست آوردن منحنی آسیب‌پذیری می‌باشد. هدف از این تحقیق توسعه یک سامانه نئوماتیک اندازه‌گیری حفره‌زایی آوند با قابلیت کنترل و نمایش داده‌ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها

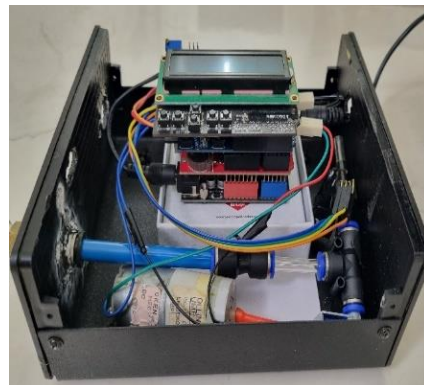
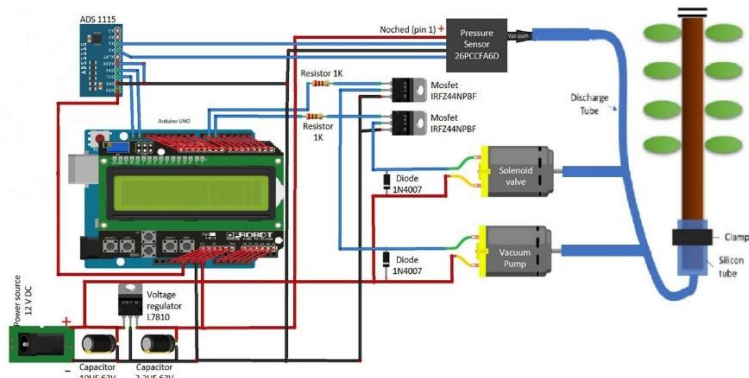
در این قسمت طراحی و ساخت سامانه اندازه‌گیری حفره زایی با اجزاء تشکیل دهنده آن، روش اندازه‌گیری خودکاری آوندی، روش ارزیابی نشتی و کالیبراسیون، روش انتخاب نمونه و روابط ترمودینامیکی توضیح داده شده است.

طراحی سامانه

شکل ۱ سامانه نیوماتیک اندازه‌گیری حفره زایی طراحی و ساخته شده را نشان می‌دهد. در این سامانه فشار توسط حسگر خلاءسنج (وکیومتر) به ولتاژ تبدیل می‌شود. سامانه شامل دو بخش الکترونیکی و پنوماتیکی است که اجزاء بکار رفته شده در هر دو قسمت توضیح داده شده است. قسمت برقی سامانه شامل میکروکنترلر (Atmega328P, Microchip, on an Arduino® Uno board)، کارت SD (جهت ذخیره‌سازی اطلاعات)، تایمر (DS1307, Maxim Integrated; both assembled on an Adafruit® Data Logger)، مبدل آنالوگ به دیجیتال ۱۶ بیتی (ADS1115, Texas Instrument)، شیر برقی (۲/۳ connection, normally closed) و دیود خروجی (a logic-level N-channel mosfet plus flyback diode) می‌باشد. اجزای نئوماتیک سامانه در جدول ۱ فهرست شده است.

سامانه مبتنی بر یک سامانه سخت‌افزاری و نرم‌افزاری منبع باز است که به کاربران امکان می‌دهد از آن به صورت خودکار یا نیمه خودکار استفاده کنند. از مزایای عمده دستگاه می‌توان به اندازه‌گیری خودکار و دقیق نرخ انتشار گاز، از جمله حجم گاز در مجراهای دست نخورده و آمبولیزه شده در مقایسه با نمونه‌های هیدرولیکی اشاره کرد. در نمونه اولیه از برد برد (breadboard) برای اتصالات استفاده

شد که در ادامه جهت توسعه مدار از یک برد مدار چاپی (PCB) برای ساخت محفظه مجموعه اتصالات و همچنین برای تسهیل اتصالات دقیق بین تمام قطعات الکترونیکی، کاهش مشکلات اتصال و ایجاد محیط ایزوله مناسب و مقاومت بالا در برابر آسیب استفاده شد. پس از مونتاژ قطعات الکترونیکی (شکل ۱)، سنسور فشار، پمپ خلاء و شیر برقی با لوله سیلیکونی به یکدیگر متصل شدند.



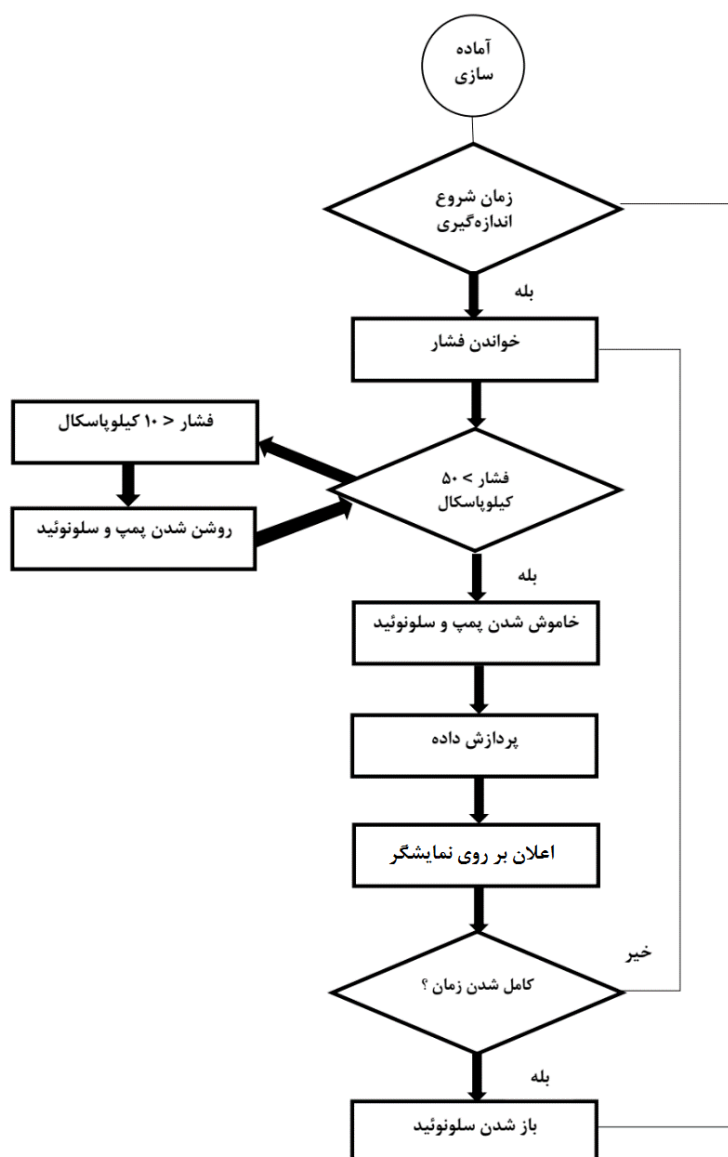
شکل ۱. سامانه نیوماتیکی اندازه گیری حفره زایی متشکل از دو قسمت الکترونیکی و پنوماتیکی

جدول ۱. اجزای تکمیلی بخش نیوماتیک سامانه

ردیف	اجزا	توضیحات
۱	پمپ خلا	Arduino UNO R3 _ ATmega328
۲	سنسور فشار	محدوده فشار ۱۰۰ کیلو پاسکال و خروجی پل واتسون مدل 26PCCFA6D
۳	شیر برقی	شیر برقی کوچک هوا سه موقعیت دو طرفه
۴	اتصالات نیوماتیک	سه راهی، تبدیل و زانویی
۵	لوله نیوماتیک	اندازه: ۴-۶-۸-۱۰
۶	میکروکنترلر آردوینو	Arduino UNO R3 _ ATmega328
۷	اتصالات	سیم‌های جامپر
۸	برد بورد	تعداد: ۴
۹	شیلد دیتالاگر	Arduino Data Logging Shield
۱۰	کارت ذخیره سازی	16GB
۱۱	رگولاتور	
۱۲	ترانزیستور ماسفت	Mosfet IRFZ44NPBF
۱۳	دیود	Diode 1N4007
۱۴	مقاومت	Resistor 220ohm , Resistor 10K , Resistor 1K
۱۵	کلید	
۱۶	منبع تغذیه	12V DC, 33A
۱۷	جعبه	اندازه: ۱۰*۲۵*۳۵
۱۸	شیلد نمایشگر	Arduino LCD Keypad Shield 1602

روش اندازه گیری خودکار فشار آوندی

فلوچارت شکل ۲ روش اندازه گیری فشار آوندی گیاه را نشان می دهد که با یک آردوینو پمپ و شیر برقی کنترل می شد و داده‌های سنسور فشار با مبدل ۱۶ بیتی ADC قرائت گردید.



شکل ۲. فلوجارت مراحل عملیاتی در حالت خودکار

با رسیدن به خلاء جزئی در داخل لوله تخلیه (حدود ۴۰ کیلو پاسکال فشار مطلق) پمپ خلا متوقف شده و مقادیر فشار به مدت یک دقیقه که زمان اندازه گیری پیش فرض بود، ثبت گردید. با تکرار آزمایشات و مدل سازی زمان بهینه برای ترسیم منحنی های آسیب پذیری برای یک دوره استخراج، ۱۵ ثانیه به دست آمد. در دوره های طولانی استخراج (بیش از ۳۰ ثانیه) نسبت گاز از منابع دیگر غیر از مجراهای دست نخورده آمبولیزه شده، مانند گاز محلول در شیره آوند افزایش می یافت. در طول این دوره اندازه گیری، اطلاعات ثبت و ذخیره سازی بر روی نمایشگر نشان داده شد. در نهایت، فشار داخل دستگاه می بایست از طریق باز و بسته شدن مکرر شیر برقی در یک بازه زمانی کوتاه (۵ ثانیه) به فشار اتمسفر باز گردد تا دستگاه برای اندازه گیری بعدی آماده شود. حداقل فاصله زمانی پیشنهادی بین اندازه گیری ها ۱۵ دقیقه بود تا به گاز موجود در بافت آوند چوبی اجازه دهد تا قبل از اندازه گیری بعدی با فشار اتمسفر مجدد متعادل شود (Pereira et al., 2020). کتابخانه های مورد استفاده (<https://www.arduino.cc/en/main/howto>) در این نسخه در جدول ۲ نشان داده شده است. پس از آپلود برنامه، تجهیزات برای کالیبراسیون و آزمایش آماده شد.

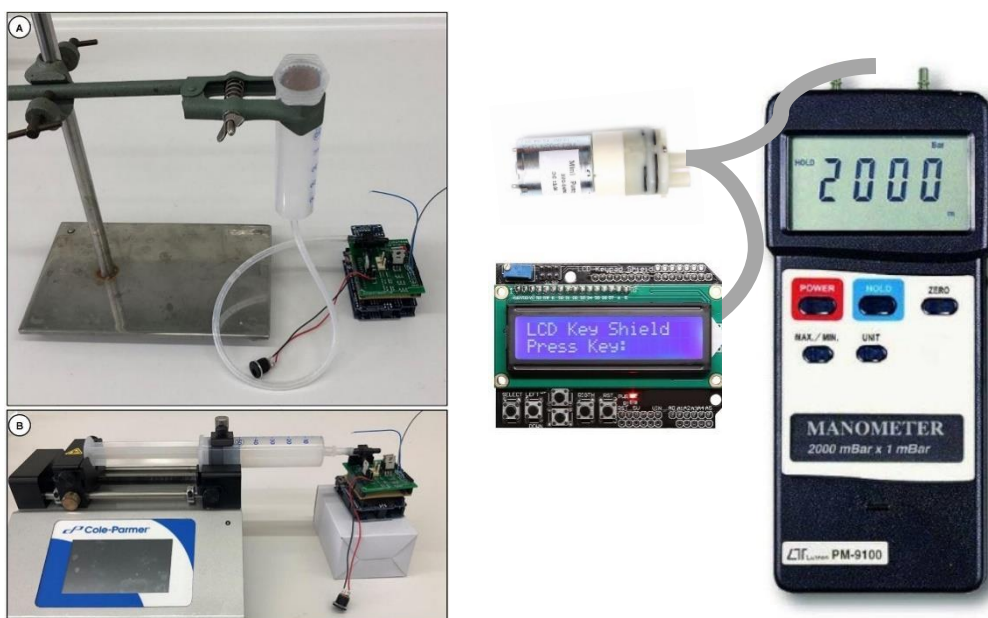
روش ارزیابی نشتی و کالیبراسیون سامانه

برای ارزیابی نشتی، در چند دوره اندازه گیری سامانه در حالت نیمه خودکار راه اندازی شد و سپس با مسدود کردن لوله های اتصال به نمونه، آزمایش ها ادامه پیدا کرد. اگر پمپ به طور دائم یا مکرر کار می کرد دستگاه خاموش می شد و کارت SD از مدار خارج می شد. با ارسال فایل csv در Microsoft Office Excel® و انتخاب تنها ستون داده های اصلی و ترسیم داده های استخراج گاز اگر داده ها به طور منظم

با هر اندازه‌گیری بیش از ۵ درصد کاهش می‌یافت نشان دهنده نشتی دستگاه بود. اختلاف فشار اولیه و نهایی در لوله تخلیه اندازه‌گیری و کالیبراسیون اندازه‌گیری‌ها بر اساس مقادیر نسبی درصد تخلیه هوا محاسبه شد. عمل کالیبراسیون به دو روش انجام گرفت، یکی بر اساس ارتفاع ستون آب (شکل ۳-الف)، و دیگری با پمپ سرنگ (شکل ۳-ب). علاوه بر این برای کالیبره کردن و صحه‌گذاری سنسور نیز از مانومتر استفاده شد (شکل ۳-ج). در این روش با اشتراک قرار دادن ورودی پمپ خلا در سامانه و مانومتر، عدد نمایشگر کالیبره شد. بعد از اندازه‌گیری‌ها، فایل داده‌های csv سامانه با استفاده از برنامه Microsoft Office Excel بررسی و تحلیل گردید.

جدول ۲. کتابخانه‌های (نرم افزار آردوینو) استفاده شده

ردیف	کتابخانه	جهت
۱	SPI	جهت ارتباطات SPI و I2C
۲	Wire (v.2.3.5)	جهت استفاده از ساعت بدون توقف DS1307
۳	RTCLib	جهت استفاده از مبدل آنالوگ به دیجیتال ADS1115
۴	Adafruit_ADS1X15 (v.1.0.1)	جهت استفاده از کارت SD
۵	FAT32	



شکل ۳. روش‌های کالیبراسیون سنسور فشار سامانه اندازه‌گیری حفره‌زایی

روش انتخاب نمونه‌ها و اتصال به دستگاه

آزمایش‌ها بر روی دو ژنوتیپ گردوی ایرانی و ژنوتیپ خوشه‌ای مشهد که در ارزیابی قبلی در برابر تنش خشکی در مزرعه تحقیقاتی دانشکده فناوری ابوریحان استفاده شده بود، انجام شد. بر خلاف روش نمونه‌برداری هیدرولیکی، در روش نئوماتیک، گیاهان می‌توانند در هوا بریده شوند؛ زیرا مجراهای باز شده باید عمداً با هوا پر شوند. مجراهای بریده شده نمایانگر گسترش لوله‌های تخلیه هستند (Jansen et al., 2019; Pereira et al., 2016). طول نمونه‌ها بهتر است از حداکثر طول آوند بیشتر باشد و در صورت امکان از ساقه‌های انتهایی (با یک برگ منفرد) استفاده شود. همچنین باید بخش‌هایی از گیاه انتخاب شوند که در نقطه ابتدایی یا انتهایی سامانه انتقال آوندی سالم بوده و فاقد برش‌های اضافی باشند (شکل ۴-الف). نمونه‌برداری باید در ساعات اولیه صبح و ترجیحاً در فصل مرطوب انجام شود و در یک کیسه پلاستیکی مشکی پوشانده شده تا از کم‌آبی جلوگیری شود. پس از آماده‌سازی نمونه‌ها مطابق شرایط ذکر شده، آن‌ها با استفاده از اتصالات نئوماتیک به سامانه متصل شدند (شکل ۴-ب).



الف



ب

شکل ۴. (الف) روش آماده سازی نمونه و (ب) نحوه اتصال نمونه به سامانه اندازه‌گیری حفره‌زایی

روش تعیین حجم لوله تخلیه

برای تخمین حجم لوله تخلیه می‌توان از نمونه‌های کاملاً آبگیری شده با اندازه مشابه نمونه‌های مورد نظر استفاده کرد. زمانیکه دستگاه به فشار ماکزیمم رسید اندازه‌گیری‌های تکراری در فواصل زمانی ۱۵ دقیقه انجام شد تا اطمینان حاصل شود که حداکثر مقدار گاز در وضعیت ثابت قرار دارد. بر اساس شواهد تجربی، حجم ایده‌آل لوله تخلیه بر حسب میلی‌لیتر را می‌توان با تقسیم حداکثر حجم گاز تخلیه شده بر حسب میکرولیتر بر مقدار ثابت تجربی با دقت بالا تخمین زد (Jansen et al., 2019; Pereira et al., 2016).

روش اندازه‌گیری پتانسیل آب

برای ترسیم منحنی‌های آسیب‌پذیری، اندازه‌گیری پتانسیل آب آوند چوبی ضروری است که با روش‌های مختلف، از جمله محفظه فشار یا سایکرومتر، می‌توان اندازه‌گیری کرد (شکل ۵). قبل از اندازه‌گیری پتانسیل آب، ساقه‌ها را حداقل ۳۰ دقیقه درون یک کیسه و در محیطی تاریک (مانند کیسه پلاستیکی سیاه) قرار داده تا پتانسیل آب آوند چوبی ساقه با پتانسیل آب برگ به تعادل برسد. در این شرایط، می‌توان پتانسیل آب برگ را برابر با پتانسیل آب آوند چوبی در نظر گرفت. برای اندازه‌گیری، یک یا دو برگ از ساقه جدا شده و محل برش برای جلوگیری از ورود هوا چسب زده شد و پتانسیل آب برگ با استفاده از محفظه فشار اندازه‌گیری گردید (شکل ۵). برای ایجاد تغییرات معنی‌دار در پتانسیل آب برگ، ساقه‌ها در فواصل زمانی حدود ۲ ساعت در محیط گرم قرار داده شدند تا به تدریج خشک شوند. آزمایش‌ها در فواصل زمانی ۱۵ دقیقه انجام شده و بسته به تعداد برگ‌های موجود در ساقه‌های پنج تا ده اندازه‌گیری برای تخمین کاهش پتانسیل آب در کل دوره کم‌آبی انجام شد.



شکل ۵. نحوه قرار گیری برگ در دستگاه اندازه‌گیری پتانسیل آب برگ

روابط ترمودینامیکی

برای به دست آوردن مقدار گاز تخلیه شده از روابط ترمودینامیکی مربوطه استفاده شد. مطابق با قانون گاز ایده آل، افزایش مول‌های تخلیه هوا (Air Discharge) AD در لوله‌ها (Δn , mol) با استفاده از فشار اولیه (P_i) و فشار نهایی (P_f) اندازه‌گیری می‌شود:

$$\Delta n = n_f - n_i = \frac{P_f V_r}{RT} - \frac{P_i V_r}{RT} \quad \text{رابطه (۱)}$$

در این رابطه n_i تعداد اولیه مولهای هوا و n_f عدد نهایی پس از یک زمان از پیش تعیین شده است. R ثابت گاز (8.314 kPa.L.mol⁻¹)، T دمای اتاق (293.15 K) و V_r حجم لوله تخلیه (L) است. حجم معادل هوا (AD در μL) در فشار جو ($P_{\text{atm}}=98 \text{ kPa}$) به شرح زیر محاسبه شد:

$$AD = \left(\frac{\Delta n RT}{P_{\text{atm}}} \right) \times 10^6 \quad \text{رابطه (۲)}$$

حداقل تخلیه هوا (AD_{min})، زمانی است که ساقه به خوبی هیدراته شده باشد و حداکثر تخلیه هوا (AD_{max})، زمانی است که AD با کاهش پتانسیل آب نیز تغییر نکرده و متوقف شود. همچنین از اندازه‌گیری‌های AD برای محاسبه درصد هوای تخلیه شده (PAD) می‌توان استفاده کرد.

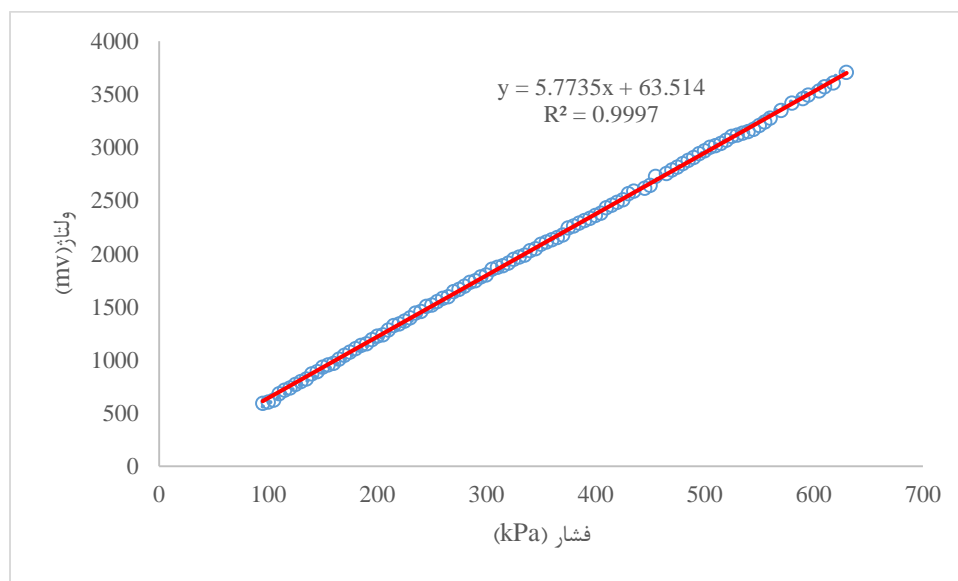
$$PAD = 100 \times (AD - AD_{\text{min}}) / (AD_{\text{max}} - AD_{\text{min}}) \quad \text{رابطه (۳)}$$

نتایج

در این قسمت ابتدا نتایج حاصل از کالیبراسیون دستگاه آمده است. در ادامه طرح نهایی ساخت سامانه نیوماتیک و نتایج ارزیابی آن شرح داده شده است.

نتایج کالیبراسیون

در تعیین فشار، بسته به نوع سنسور فشار به کار رفته، پاسخ سامانه متفاوت خواهد بود. در صورتی که سنسور فشار مورد استفاده در این تحقیق با سنسوری که در ابتدا پیشنهاد شده است، تفاوت داشته باشد، لازم است که اطلاعات دیتاشیت سنسور مربوطه در خصوص نحوه پاسخ آن به فشار اعمال شده، به دقت مورد بررسی قرار گیرد. به منظور تطبیق داده‌های خروجی سنسور با فشار واقعی، ابتدا معادله‌ای که در برنامه‌نویسی آردوینو پیاده‌سازی شده، مورد ارزیابی قرار گرفت. فرآیند کالیبراسیون با مقایسه ولتاژ خروجی سنسور و فشار اندازه‌گیری شده توسط مانومتر انجام شد. ضریب به دست آمده از نسبت این دو پارامتر در برنامه آردوینو اعمال گردید تا سامانه بتواند داده‌های خروجی سنسور را به صورت فشار ثبت کرده و امکان نمایش آن را فراهم سازد (شکل ۶).



شکل ۶. نمودار مقایسه‌ای نسبت ولتاژ و فشار در کالیبراسیون سامانه نیوماتیک

نتایج طراحی و ساخت

سامانه طراحی شده دارای یک مدار الکترونیکی، جهت کنترل و اندازه‌گیری داده‌ها، یک حسگر فشار، پمپ خلا و اتصالات نئوماتیک بود (شکل 1). سامانه اندازه‌گیری آسیب‌پذیری آوند گیاه با افزودن قابلیت نظارت (مانیتورینگ) و توسعه برنامه‌نویسی به‌طور قابل‌توجهی بهبود یافت. در این راستا، از یک نمایشگر LCD کاراکتری (Keypad) به‌عنوان شیلد استفاده شد که امکان اتصال به برد میکروکنترلر آردوینو UNO مدل R3 را فراهم می‌کند. به‌دلیل محدودیت‌های مربوط به اضافه کردن نمایشگر به سامانه، دو برد رابط دیگر برای ذخیره و انتقال داده‌ها (شیلد دیتالاگر آردوینو، شیلد پروتوتایپ آردوینو برای اتصال سایر قطعات الکترونیکی به سامانه افزوده شد.

نتایج ارزیابی دستگاه

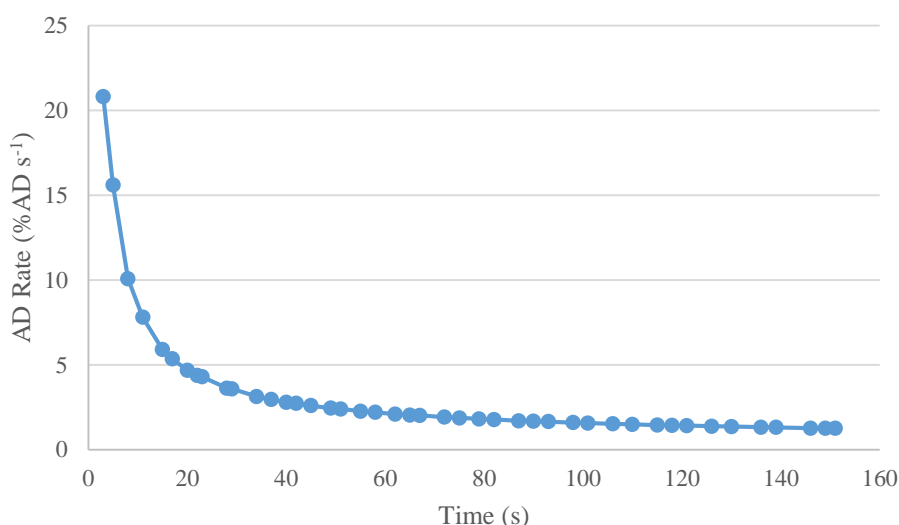
جدول ۳، نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار تخلیه و پتانسیل آب دو نمونه ژنوتیپ گردوی ایرانی و ژنوتیپ خوشه‌ای مشهد را نشان می‌دهد.

جدول ۳. پارامترهای محاسبه شده جهت اندازه‌گیری مقدار تخلیه و پتانسیل آب

ژنوتیپ خوشه‌ای مشهد				ژنوتیپ گردوی ایرانی			
پتانسیل آب برگ (Ψ) (Mpa)	گاز تخلیه شده (AD) (μl)	درصد گاز تخلیه شده (PAD)	شماره نمونه	پتانسیل آب برگ (Ψ) (Mpa)	گاز تخلیه شده (AD) (μl)	درصد گاز تخلیه شده (PAD)	شماره نمونه
-۱۳/۸	۱۲۱/۳۴	۷/۱۰۵	۱	-۱۴/۸	۲۰۵/۱۲	۳۵	۱
-۱۶	۱۴۳/۱۳	۱۴/۴۲۳	۲	-۱۶/۲	۲۱۰/۸۲	۳۶/۹۴۲	۲
-۱۷/۶	۱۷۵/۶۹	۲۵/۲۳	۳	-۱۹/۶	۲۳۵/۹۲	۴۵/۳۰۸	۳
-۱۹/۳	۲۰۵/۸۱	۳۵/۲۶۹	۴	-۲۰/۸	۲۶۱/۰۲	۵۳/۶۷۵	۴
-۲۱/۴	۲۶۱/۰۲	۵۳/۶۷۵	۵	-۲۲	۳۰۶/۲۰	۶۸/۷۳۶	۵
-۲۳	۳۲۱/۲۶	۷۳/۷۵۳	۶	-۲۴/۵	۳۶۱/۴۲	۸۷/۱۱۳۹	۶
-۲۵/۱	۳۵۲/۴۳	۸۴/۱۴۳	۷	-۲۶/۷	۳۸۵/۴۰	۹۵	۷

نرخ تخلیه هوا

شکل 7 نرخ تخلیه هوا در طول زمان را نشان می‌دهد. با استفاده از سامانه آزمایشی مقدار تخلیه هوای (AD) نمونه‌ها با وضوح زمانی بالا اندازه‌گیری شد. در آزمایشات انجام شده، نرخ AD در طول زمان با توجه به کم‌آبی نمونه‌های گردو کاهش یافته و پس از مدتی به یک وضعیت نسبتاً ثابتی رسید.

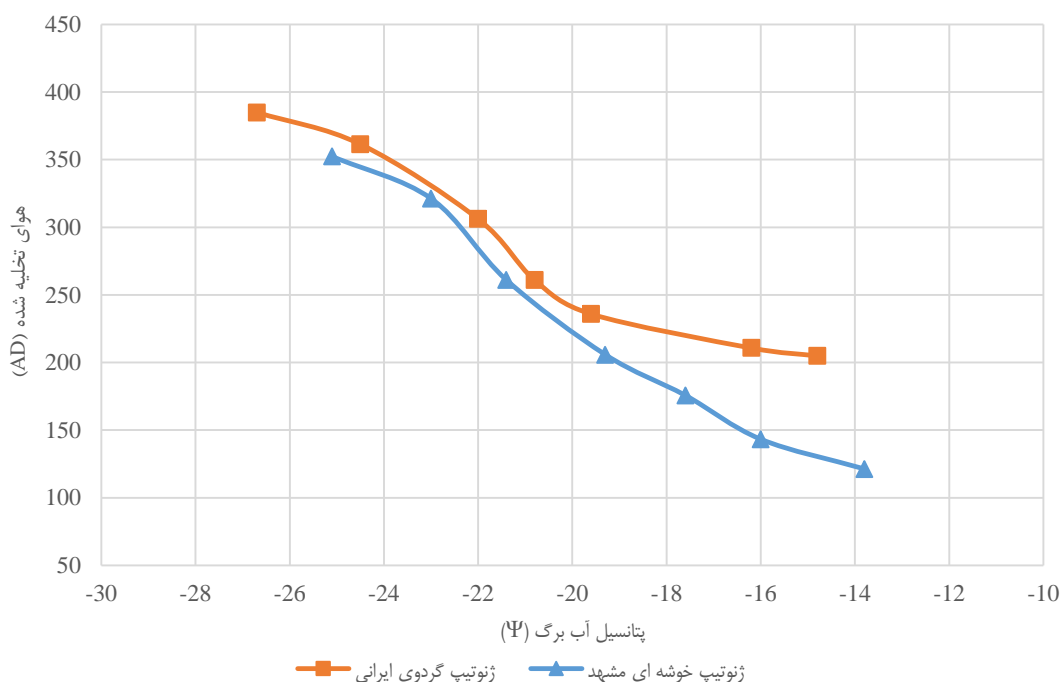


شکل 7. میزان کل تخلیه هوا AD در طول زمان

نمودار شکل 7 نشان می‌دهد که نرخ AD به‌طور مستقیم با شروع حفره‌زایی مرتبط است و اندازه‌گیری آن در زمان واقعی اطلاعات

ارزشمندی درباره واکنش گیاه به تنش آبی فراهم می‌کند. در گیاه گردو، این نرخ ابتدا کاهش می‌یابد و پس از مدتی به یک وضعیت ثابت می‌رسد که نشان‌دهنده تغییر در توانایی گیاه برای انتقال آب به‌طور مؤثر است. این اطلاعات برای درک آستانه‌های وقوع حفره‌زایی و مدت زمانی که گیاه نیاز دارد تا از آمبولیسم بهبود یابد یا به تنش آبی عادت کند، بسیار حیاتی است. اندازه‌گیری فوری AD با استفاده از سامانه‌های خودکار، این امکان را فراهم می‌آورد تا سلامت گیاهان و استرس آبی آن‌ها به دقت پایش شده و روش‌های بهینه مدیریت درختان مانند گردو تدوین گردد. همانطور که در شکل ۷ نشان داده شده است میزان AD در طول زمان کاهش یافته که این الگو با همه گونه‌های تجزیه و تحلیل شده سازگار است. سامانه، AD نمونه‌ها را با وضوح زمانی بالایی اندازه‌گیری کرد.

شکل ۸، رابطه هوای تخلیه‌شده را با پتانسیل آب آوندی در دو نمونه گردو نشان می‌دهد. منحنی شکل ۸ محدوده ساقه‌های غیر آمبولیزه (با پتانسیل آب بالا) و کاملاً آمبولیزه (با پتانسیل آب پایین) را مشخص کرده و نسبت AD و پتانسیل آب آوندی را تخمین می‌زند. روش نمونه‌برداری پتانسیل آب آوندی در فواصل زمانی ۱ تا ۲ ساعت و تجزیه و تحلیل داده‌ها، امکان ترسیم منحنی‌های آسیب‌پذیری با دقت بالا را فراهم نمود. اگرچه خطای اندازه‌گیری غیرقابل اجتناب است، اما روند داده‌های سامانه نئوماتیک همبستگی زیادی با داده‌های پتانسیل آب آوند داشت و منحنی‌های حاصل مشابه منحنی‌های سیگموئیدی دیگر مطالعات بودند. مقایسه منحنی‌های دو نمونه ژنوتیپ گردو نشان داد که در پتانسیل ثابت، مقدار هوای تخلیه‌شده در نمونه ژنوتیپ خوشه‌ای مشهد تفاوت زیادی با نمونه ژنوتیپ گردوی ایرانی نداشت. این مقایسه نشان‌دهنده مقاومت بیشتر نمونه ژنوتیپ خوشه‌ای مشهد نسبت به آسیب‌پذیری آمبولی بود. همچنین، این نتایج نشان داد که مقاومت ژنوتیپ خوشه‌ای مشهد در برابر تنش خشکی بیشتر از ژنوتیپ گردوی ایرانی است.



شکل ۸. منحنی‌های تابع پتانسیل آب برگ ساقه دو نمونه گردو نسبت به روند تغییرات هوای تخلیه شده (منحنی‌های آسیب‌پذیری)

در تحلیل ساختاری آوندها در ژنوتیپ‌های مختلف گردو اندازه آوندها و تراکم آن‌ها، دو عامل کلیدی در تعیین مقاومت گیاهان به تنش‌های آبی هستند. آوندهای کوچک‌تر، مانند آنچه در ژنوتیپ خوشه‌ای مشهدی مشاهده می‌شود، معمولاً قابلیت حمل آب کمتری دارند اما در برابر پدیده آمبولی مقاوم‌تر هستند. در مقابل، آوندهای بزرگ‌تر ژنوتیپ گردوی ایرانی ظرفیت حمل آب بیشتری دارند، اما این ویژگی آن‌ها را در معرض خطر بیشتری از بابت پخش‌شدگی هوا و قطع جریان آوندی به‌ویژه در شرایط تنش آبی شدید قرار می‌دهد. مطالعات مختلف بر این موضوع تأکید دارند که در شرایط کم‌آبی، میزان هوای از دست رفته در آوندها، به‌ویژه در گیاهان با ژنوتیپ‌های مقاوم‌تر، در مقایسه با گیاهان حساس‌تر کمتر است. همچنین، تفاوت‌های موجود در منحنی‌های آسیب‌پذیری بین این ژنوتیپ‌ها نشان می‌دهد که ژنوتیپ خوشه‌ای مشهد از ظرفیت بالاتری در مقابله با تنش‌های خشکی و تشکیل حباب‌های هوا برخوردار است. با توجه به رشد ژنوتیپ گردوی خوشه‌ای مشهدی در مناطق کم‌آب، این ژنوتیپ دارای مقاطع آوندی کوچکتری در مقایسه با ژنوتیپ گردوی ایرانی است. این تفاوت

ساختاری باعث می‌شود که میزان پرشدگی هوای آوندها در ژنوتیپ گردوی ایرانی بیشتر از ژنوتیپ خوشه‌ای مشهد باشد. منحنی‌های ارائه شده نشان می‌دهند که در سطوح مختلف پتانسیل آب، میزان هوای از دست رفته در آوندهای هر یک از ژنوتیپ‌ها چگونه تغییر می‌کند و تفاوت‌های قابل توجهی بین آن‌ها را برجسته می‌سازد. تحلیل و بحث درباره تفاوت‌های آوندی در ژنوتیپ‌های مختلف گردو و تأثیر آن بر عملکرد آن‌ها در شرایط کم‌آبی نیازمند توجه به عوامل چندگانه‌ای است که در پژوهش‌های مرتبط بررسی شده‌اند (Knipfer et al., 2015).

مطالعات مشابه بر روی گونه‌های دیگر نیز این یافته‌ها را تأیید کرده‌اند. به عنوان مثال، تحقیقات در درختان بلوط و اکالیپتوس نشان داده که گونه‌هایی با آوندهای کوچک‌تر توانایی بیشتری در مقاومت به تنش‌های کم‌آبی دارند، اگرچه این ویژگی ممکن است منجر به کاهش رشد در شرایط عادی شود (Choat et al., 2012; Hacke et al., 2001). این یافته‌ها بر سازگاری ژنوتیپ خوشه‌ای مشهدی به مناطق کم‌آب تأکیدی دارد. در ارتباط منحنی‌های از دست دادن هوا نسبت به پتانسیل آب منحنی‌های ارائه شده در این پژوهش نشان‌دهنده تغییرات نرخ از دست دادن هوا در آوندها با کاهش پتانسیل آب هستند. این منحنی‌ها می‌توانند اطلاعات ارزشمندی در مورد نقطه شکست آوندهای هر ژنوتیپ ارائه دهند. برای ژنوتیپ‌هایی که آوندهای بزرگ‌تر دارند (مانند گردوی ایرانی)، این نقطه به احتمال زیاد در سطوح بالاتر پتانسیل آب رخ می‌دهد، که نشان‌دهنده حساسیت بیشتر آن‌ها به تنش‌های آبی است. در مقابل، ژنوتیپ خوشه‌ای مشهدی با آوندهای کوچک‌تر ممکن است توانایی حفظ عملکرد هیدرولیکی خود را در پتانسیل‌های پایین‌تر حفظ کند. تحقیقات مشابه بر روی تاکستان‌ها نشان داده‌اند که گونه‌های مقاوم به خشکی معمولاً منحنی‌های پایدارتری دارند و در پتانسیل‌های پایین‌تر آب عملکرد خود را بهتر حفظ می‌کنند (Schultz, 2003).

پیشنهادات برای پژوهش‌های آینده

بررسی طولانی‌مدت عملکرد هر ژنوتیپ در شرایط تنش آبی متغیر برای ارزیابی سازگاری پایدار آن‌ها. انجام مطالعات مولکولی برای شناسایی ژن‌های مرتبط با اندازه و تراکم آوندها. بررسی تأثیر سایر عوامل محیطی مانند دما و شوری بر عملکرد هیدرولیکی ژنوتیپ‌ها. این پژوهش با ارائه داده‌های کمی و کیفی درباره تفاوت‌های ساختاری و عملکردی آوندها در ژنوتیپ‌های مختلف گردو، گامی در راستای درک بهتر سازگاری گیاهان به تغییرات اقلیمی و مدیریت پایدار منابع کشاورزی برداشته است.

نتیجه‌گیری

توسعه یک سامانه نئوماتیک خودکار، گامی مهم در جهت پیشرفت روش‌های کمی‌سازی انتشار گاز است که با ارائه تفکیک زمانی بالا و دقت بیشتر در ثبت حجم تخلیه هوا (AD) نسبت به روش‌های دستی، تحولی ارزشمند ایجاد می‌کند. یافته‌های این پژوهش نشان داد که حجم گاز استخراج شده از برگ‌های گردو با میزان حفره‌زایی شناسایی شده در آوند برگ به کمک سایر روش‌ها قابل دسترسی‌تر و کم‌هزینه‌تر است. این سامانه امکان ترسیم نمودارهای دقیق از نرخ تخلیه هوا (ADrate) و حجم تخلیه هوا (AD) را فراهم می‌سازد. همچنین، ترکیب این سامانه با دستگاه‌های قابل حمل اندازه‌گیری پتانسیل آب برگ، یک سامانه کاملاً خودکار را برای دستیابی به منحنی‌های آسیب‌پذیری دقیق، چه در شرایط آزمایشگاهی و چه در محیط مزرعه، ارائه می‌دهد. این سامانه به دلیل مصرف کم انرژی نسبت به روش‌های مشابه، از مزیت قابل توجهی برخوردار است و امکان اندازه‌گیری چندین نمونه یا اندام گیاهی مختلف (مانند ریشه، ساقه و برگ) و مقایسه آن‌ها را در سطح نمونه فراهم می‌کند. قابلیت ثبت دقیق زمان رسیدن به سطح معین حفره‌زایی، فرآیند انجام آزمایش‌های مربوط به حفره‌زایی در گیاهان را تسهیل می‌نماید. با این حال، محدودیت‌های موجود در روش‌های فعلی و تفسیر ما از تغییرات انتشار گاز در بافت آوند چوبی طی تنش کم‌آبی، نیازمند تحقیقات بیشتری است که در تفسیر نتایج باید مورد توجه قرار گیرد. به‌رغم این محدودیت‌ها، اندازه‌گیری‌های با وضوح بالا، امکانات جدیدی را برای کاربردهای متنوع علمی فراهم می‌کند و فرآیند ارزیابی مقاومت در برابر آمبولی گیاهی را به روشی آسان، سریع و عملی تبدیل می‌نماید.

REFERENCES

- Allen, C. D., Breshears, D. D., & McDowell, N. G. (2015). On underestimation of global vulnerability to tree mortality and forest die-off from hotter drought in the Anthropocene. *Ecosphere*, 6(8), 1-55.
- Allen, C. D., Macalady, A. K., Chenchouni, H., Bachelet, D., McDowell, N., Vennetier, M., Kitzberger, T., Rigling, A., Breshears, D. D., & Hogg, E. T. (2010). A global overview of drought and heat-induced tree



- mortality reveals emerging climate change risks for forests. *Forest ecology and management*, 259(4), 660-684.
- Bittencourt, P. R., Pereira, L., & Oliveira, R. S. (2018). Pneumatic method to measure plant xylem embolism. *Bio-protocol*, 8(20), e3059-e3059.
- Brando, P. M., Paolucci, L., Ummenhofer, C. C., Ordway, E. M., Hartmann, H., Cattau, M. E., Rattis, L., Medjibe, V., Coe, M. T., & Balch, J. (2019). Droughts, wildfires, and forest carbon cycling: A pantropical synthesis. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 47(1), 555-581.
- Brodribb, T. J. (2017). Progressing from 'functional' to mechanistic traits. *New Phytologist*, 215(1), 9-11.
- Choat, B., Jansen, S., Brodribb, T. J., Cochard, H., Delzon, S., Bhaskar, R., Bucci, S. J., Feild, T. S., Gleason, S. M., & Hacke, U. G. (2012). Global convergence in the vulnerability of forests to drought. *Nature*, 491(7426), 752-755.
- Gauthey, A., Peters, J. M., Carins-Murphy, M. R., Rodriguez-Dominguez, C. M., Li, X., Delzon, S., King, A., López, R., Medlyn, B. E., & Tissue, D. T. (2020). Visual and hydraulic techniques produce similar estimates of cavitation resistance in woody species. *New Phytologist*, 228(3), 884-897.
- Hacke, U. G., Stiller, V., Sperry, J. S., Pittermann, J., & McCulloh, K. A. (2001). Cavitation fatigue. Embolism and refilling cycles can weaken the cavitation resistance of xylem. *Plant physiology*, 125(2), 779-786.
- Jansen, S., Guan, X., Kaack, L., Trabi, C., Miranda, M. T., Ribeiro, R., & Pereira, L. (2019). The Pneumatron estimates xylem embolism resistance in angiosperms based on gas diffusion kinetics: a mini-review. XI International Workshop on Sap Flow 1300,
- Jansen, S., Schuldt, B., & Choat, B. (2015). Current controversies and challenges in applying plant hydraulic techniques. *New Phytologist*, 205(3), 961-964.
- Knipfer, T., Brodersen, C. R., Zedan, A., Kluepfel, D. A., & McElrone, A. J. (2015). Patterns of drought-induced embolism formation and spread in living walnut saplings visualized using X-ray microtomography. *Tree Physiology*, 35(7), 744-755.
- Larter, M., Pfautsch, S., Domec, J. C., Trueba, S., Nagalingum, N., & Delzon, S. (2017). Aridity drove the evolution of extreme embolism resistance and the radiation of conifer genus *Callitris*. *New Phytologist*, 215(1), 97-112.
- Melcher, P. J., Michele Holbrook, N., Burns, M. J., Zwieniecki, M. A., Cobb, A. R., Brodribb, T. J., Choat, B., & Sack, L. (2012). Measurements of stem xylem hydraulic conductivity in the laboratory and field. *Methods in Ecology and Evolution*, 3(4), 685-694.
- Pereira, L., Bittencourt, P. R., Oliveira, R. S., Junior, M. B., Barros, F. V., Ribeiro, R. V., & Mazzafera, P. (2016). Plant pneumatics: stem air flow is related to embolism—new perspectives on methods in plant hydraulics. *New Phytologist*, 211(1), 357-370.
- Pereira, L., Bittencourt, P. R., Pacheco, V. S., Miranda, M. T., Zhang, Y., Oliveira, R. S., Groenendijk, P., Machado, E. C., Tyree, M. T., & Jansen, S. (2020). The Pneumatron: An automated pneumatic apparatus for estimating xylem vulnerability to embolism at high temporal resolution. *Plant, Cell & Environment*, 43(1), 131-142.
- Pereira, L., Bittencourt, P. R., Rowland, L., Brum, M., Miranda, M. T., Pacheco, V. S., Oliveira, R. S., Machado, E. C., Jansen, S., & Ribeiro, R. V. (2021). Using the pneumatic method to estimate embolism resistance in species with long vessels: a commentary on the article "A comparison of five methods to assess embolism resistance in trees". *Forest ecology and management*, 479, 118547.
- Peng, G., Yang, D., Liang, Z., Li, J., & Tyree, M. T. (2019). An improved centrifuge method for determining water extraction curves and vulnerability curves in the long-vessel species *Robinia pseudoacacia*. *Journal of experimental botany*, 70(18), 4865-4876.
- Rowland, L., da Costa, A. C. L., Galbraith, D. R., Oliveira, R. S., Binks, O. J., Oliveira, A. A., Pullen, A., Doughty, C. E., Metcalfe, D., & Vasconcelos, S. S. (2015). Death from drought in tropical forests is triggered by hydraulics not carbon starvation. *Nature*, 528(7580), 119-122.
- Schultz, H. R. (2003). Differences in hydraulic architecture account for near-isohydric and anisohydric behaviour of two field-grown *Vitis vinifera* L. cultivars during drought. *Plant, Cell & Environment*, 26(8), 1393-1405.
- Sperry, J., Donnelly, J., & Tyree, M. (1988). A method for measuring hydraulic conductivity and embolism in xylem. *Plant, Cell & Environment*, 11(1), 35-40.
- Taiz, L. (2015). Plant physiology and development. In: Sinauer Associates. Incorporated.
- Trabi, C. L., Pereira, L., Guan, X., Miranda, M. T., Bittencourt, P. R., Oliveira, R. S., Ribeiro, R. V., & Jansen, S. (2021). A user manual to measure gas diffusion kinetics in plants: pneumatron construction, operation, and data analysis. *Frontiers in Plant Science*, 12, 633595.

- Trifilo, P., Raimondo, F., Lo Gullo, M. A., Barbera, P. M., Salleo, S., & Nardini, A. (2014). Relax and refill: xylem rehydration prior to hydraulic measurements favours embolism repair in stems and generates artificially low PLC values. *Plant, Cell & Environment*, 37(11), 2491-2499.
- Wheeler, J. K., Huggett, B. A., Tofte, A. N., Rockwell, F. E., & Holbrook, N. M. (2013). Cutting xylem under tension or supersaturated with gas can generate PLC and the appearance of rapid recovery from embolism. *Plant, Cell & Environment*, 36(11), 1938-1949.
- Yang, D., Pereira, L., Peng, G., Ribeiro, R. V., Kaack, L., Jansen, S., & Tyree, M. T. (2023). A Unit Pipe Pneumatic model to simulate gas kinetics during measurements of embolism in excised angiosperm xylem. *Tree Physiology*, 43(1), 88-101.
- Zhang, Y., Lamarque, L. J., Torres-Ruiz, J. M., Schuldt, B., Karimi, Z., Li, S., Qin, D.-W., Bittencourt, P., Burlett, R., & Cao, K.-F. (2018). Testing the plant pneumatic method to estimate xylem embolism resistance in stems of temperate trees. *Tree Physiology*, 38(7), 1016-1025.