

اثر پاکت‌گذاری بر صفات کمی و کیفی میوه دو رقم سیب (*Malus domestica* Borkh) 'فوجی' و 'گرانی‌اسمیت'

فایزه فاطمی‌نیا^۱، حسین صادقی^۲ و ویدا چالوی^{۳*}

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۳/۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۴/۲۴)

چکیده

در پژوهش حاضر، اثر پاکت‌گذاری و زمان بهینه حذف آن بر رنگدانه‌های موجود در پوست و دیگر صفات کمی و کیفی سیب‌های رقم فوجی و گرانی‌اسمیت بررسی شد. تیمارهای آزمایشی شامل، بدون پاکت (شاهد)، حذف پاکت ۷ و ۱۴ روز پیش از برداشت و باقی گذاشتن پاکت تا زمان برداشت بودند. در پایان آزمایش، میزان رنگدانه‌ها، مواد جامد محلول کل، اسیدقابل تیترا، فنل گوشت، فنل پوست، درصد آنتی‌اکسیدان، وزن و حجم میوه اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که پاکت‌گذاری از نظر آماری در تیمارهای ۱۴ روز و ۷ روز نسبت به شاهد، سبب افزایش آنتوسیانین و مواد جامد محلول گردید، ولی صفات دیگر اندازه‌گیری شده در هر دو رقم سیب را به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. میزان آنتوسیانین میوه برای رقم فوجی در تیمار ۱۴ روز بیشترین (۶۰/۹۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و برای رقم گرانی‌اسمیت در تیمار صفر روز کمترین (۱/۶۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بودند. بالاترین میزان کلروفیل a در میوه شاهد (۵/۰۹ میکروگرم بر لیتر) و کمترین (۳/۹۴ میکروگرم بر لیتر) در تیمار ۱۴ روز مشاهده شد. با توجه به آنکه کاهش میزان کلروفیل صفت مثبتی برای رقم فوجی و صفتی منفی برای گرانی‌اسمیت است. بنابراین، پاکت‌گذاری و حذف پاکت ۱۴ روز پیش از برداشت با افزایش آنتوسیانین و کاهش کلروفیل سبب رنگ‌گیری بهتر رقم فوجی می‌شود ولی برای رقم سبز گرانی‌اسمیت با کاهش کیفیت رنگ سبز میوه همراه است.

واژه‌های کلیدی: پاکت‌گذاری، رنگ‌گیری، ترکیبات فنلی، آنتوسیانین

۱، ۲ و ۳. به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران

*. مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: v.chalavi@sanru.ac.ir

مقدمه

فرابنفش B قرار می‌گیرد، رنگ‌گیری بهتری دارد (۱) ولی سایر رقم‌ها مانند 'جاناتان' است که تحت نور مرئی رنگ نسبتاً خوبی می‌گیرند (۲).

راه‌کارهای مختلفی برای بهبود رنگ و کیفیت میوه به‌وسیله کنترل میزان نور خورشید وجود دارند. در این مورد می‌توان از استفاده از مالچ‌های انعکاسی در کف باغ که سبب نفوذ نور به درون تاج می‌شوند و سنتز آنتوسیانین را افزایش می‌دهد (۱۵)، یا استفاده از مواد سایه دهنده که با کاهش نور خورشید از میزان آفتاب سوختگی می‌کاهند و سبب بهبود رنگ میوه‌ها می‌شود (۱۰) و همچنین بهره‌گیری از روش پاکت‌گذاری بر میوه نام برد (۱۹).

پاکت‌گذاری و حذف آن پیش از برداشت یکی از مؤثرترین شیوه‌ها، برای افزایش حساسیت میوه‌ها به نور است که باعث تحریک سنتز آنتوسیانین و بهبود رنگ‌گیری میوه‌ها می‌شود (۵). پاکت‌های مورد استفاده به این منظور از مواد گوناگون تهیه می‌شوند و نوع مواد سازنده پاکت، اثر قابل توجهی بر کیفیت میوه می‌گذارد. به‌طور مثال، برای برخی از میوه‌ها نظیر، میوه لیچی، خرما و سیب به ترتیب پاکت‌های سلفونی، پلی اتیلنی و کاغذی توصیه شده‌اند (۲۸). برای میوه سیب، استفاده از پاکت‌های دو لایه معمول است. لایه بیرونی پاکت معمولاً رنگ روشنی دارد و با ایجاد سایه از میزان نور ورودی می‌کاهد. لایه درونی پاکت که نازک‌تر است، می‌تواند به هر رنگی باشد و نقش آن کاهش تنش ناگهانی نوری است. به این ترتیب که پس از حذف پاکت رویی، به‌مدت چند روز، پاکت درونی برای جلوگیری از آفتاب‌سوختگی بر میوه باقی گذاشته شده و سپس حذف می‌شود.

در روش پاکت‌گذاری، با قرار دادن میوه درون کاغذ مات، کلروفیل پوست میوه کاهش می‌یابد که سبب رنگ‌گیری بهتر در زمان برداشت می‌شود. با برداشتن پاکت و قرار دادن دوباره میوه در معرض نور پیش از برداشت، سنتز رنگدانه‌های وابسته به نور آغاز می‌شوند (۱۰). بنابراین همان‌طور که اشاره شد، پاکت‌گذاری میوه، نه تنها سبب بهبود رنگ میوه شده (۱۹) بلکه

سیب (*Malus domestica* Borkh) یکی از مهم‌ترین میوه‌های مناطق معتدله می‌باشد و ایران، از نظر میزان تولید آن، در مقام هفتم جهانی قرار دارد (۹). در میان بسیاری از ویژگی‌های کیفی سیب، رنگ پوست میوه نقش مهمی در بازار پسنندی آن دارد (۲۷ و ۳۲). در رقم‌های گوناگون سیب، رنگ‌های پوست میوه بسیار متفاوت هستند. به‌عنوان مثال، در میان سیب‌های پوست قرمز با رنگ‌گیری خوب، می‌توان از جاناتان و استارکینگ دلشیز نام برد و سیب‌های پوست قرمز با رنگ‌گیری ضعیف شامل فوجی و جوناگلد هستند، که تنها در شرایط ویژه تولید رنگ مناسب می‌کنند. از جمله رنگ‌های دیگر پوست میوه سیب، می‌توان از سیب طلایی رنگ 'گلدن دلشیز' و سبز رنگ 'گرانی اسمیت' نام برد (۱۳). در ضمن، رنگ‌های زرد و سبز زمینه پوست میوه سیب توسط کلروفیل‌ها و کارتنوئیدهای موجود در پلاستیدها تولید می‌شود و رنگ قرمز سیب در اثر ترکیب این رنگدانه‌ها با آنتوسیانین تولید می‌شود (۲۰).

آنتوسیانین‌ها، فلاونوئیدهای رنگی هستند (۲۹) که به‌طور عمده فرم سیانیدین ۳-گالاکتوزید (cy3-gal) آن در سیب‌ها وجود دارد (۲۰). در سنتز آنتوسیانین‌ها، ژنتیک، عوامل محیطی نظیر نور، دما، مواد غذایی و روش‌های مدیریت باغ مؤثر هستند (۲۷). آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز (PAL) نقش کلیدی در سنتز آنتوسیانین دارد و تنظیم فعالیت این آنزیم تحت تأثیر نور خورشید است (۲۷). بنابراین نور خورشید یکی از مؤثرترین عوامل محیطی در رنگ‌گیری میوه سیب می‌باشد.

نور خورشید سبب فعال شدن آنزیم PAL با واسطه فیتوکروم‌ها و سنتز مواد کربوهیدراتی می‌شود که در افزایش تولید آنتوسیانین نقش دارند (۲۷). میوه‌های درون تاج درخت نسبت به میوه‌های بیرون تاج به علت عدم دریافت (کمتر از ۴۰٪) نور کافی، رنگ‌گیری مناسبی ندارند. علاوه بر شدت نور، کیفیت نور نیز بر سنتز آنتوسیانین اثر دارد (۲۶). میوه سیب فوجی زمانی که در مقابل نور مرئی قرار می‌گیرد آنتوسیانین کمی خواهد داشت اما هنگامی که در مقابل تابش نور

سانتی‌متر استفاده شد. طرح آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه بلوک کامل تصادفی با ۵ تکرار بود. تیمارهای آزمایشی شامل، بدون پاکت‌گذاری (شاهد)، حذف پاکت ۷ روز پیش از برداشت، حذف پاکت ۱۴ روز پیش از برداشت و بدون حذف پاکت (صفر روز) بودند. هر واحد آزمایشی شامل سه میوه در سمت جنوب درخت بود. تخمین زمان برداشت میوه، با اندازه‌گیری هفتگی نسبت قند به اسید قابل تیتر میوه صورت گرفت. پس از حذف پاکت رویی در زمان مقرر (براساس نوع تیمار)، پاکت درونی به مدت ۲ روز بر روی میوه به منظور جلوگیری آفتاب‌سوختگی نگاه داشته شد و سپس حذف گردید. تعیین میزان آنتوسیانین پوست میوه‌ها از روش اختلاف جذب در pHهای مختلف استفاده شد (۲۱). اختلاف جذب (A) در طول موج‌های ۵۲۰ و ۷۰۰ نانومتر برای دو بافر کلرید پتاسیم ۰/۲۵ مولار با pH ۱ و بافر استات سدیم ۰/۴ مولار با pH ۴/۵ محاسبه شد (رابطه ۱).

(۱):

$A = (A_{520nm} - A_{700nm}) \text{ pH } 1 - (A_{520nm} - A_{700nm}) \text{ pH } 4.5$
 سپس، آنتوسیانین کل براساس مقدار سیانیدین ۳ گالاکتوزاید به منزله آنتوسیانین غالب برحسب میلی‌گرم در یگرم وزن تر محاسبه گردید (رابطه ۲).

(۲):

$\text{کل آنتوسیانین} = A \times MW \times DF \times 10^3 / e \times 1$
 که در آن MW، وزن مولکولی سیانیدین ۳ گالاکتوزاید (۴۴۹/۲)، DF، درجه رقت (۵)، e: ضریب جذب مولی سیانیدین-گلوکوزاید (۲۶۹۰۰)، 10^3 : فاکتور تبدیل می‌باشند.

اندازه‌گیری کلروفیل a، b و کارتنوئیدها

برای سنجش کلروفیل (a و b) و کارتنوئید ابتدا ۵ گرم وزن تر پوست میوه به دقت توزین و توسط ازت مایع پودر شده و در استون ۸۰ درصد مخلوط گردید (۲۲). بعد از سانتریفیوژ محلول، جذب عصاره حاصل در طول موج‌های ۶۴۷، ۴۷۰ و ۶۶۳ به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. غلظت کلروفیل a،

باعث کاهش آفتاب‌سوختگی میوه (۳)، نیز می‌شود. پاکت‌گذاری میوه به‌طور معمول در کشورهایمانند ژاپن، چین و اسپانیا برای هلو، سیب، گلابی، انگور و ازگیل ژاپنی به‌منظور بهبود کیفیت میوه صورت می‌گیرد. در آزمایشی، استفاده از پاکت‌گذاری با کاغذ سیاه در میوه انبه سبب بهبود فرایند سبزدایی میوه شد (۷). تأثیر پاکت‌گذاری بر عطر و رنگ پوست هلو رقم 'هاکوهو' در طول دو سال، نشان داد که این روش، میزان کلروفیل پوست میوه را کاهش و عطر و طعم میوه را افزایش می‌دهد (۱۷) همچنین در سیب 'گرانی‌اسمیت'، پاکت‌گذاری کلروفیل و کارتنوئید پوست میوه به‌طور معنی‌داری کاهش داد و هفت روز پس از حذف پاکت، بیان ژن آنتوسیانین در این میوه افزایش یافت (۳۱).

سیب 'فوجی' به‌دلیل داشتن طعم خوب و امکان نگهداری در زمان طولانی محبوبیت زیادی دارد اما رنگ‌گیری ضعیف این رقم در بازاریابی این میوه مشکلات جدی ایجاد می‌کند. از طرف دیگر در میوه 'گرانی‌اسمیت' که رنگ سبز پوست آن مورد پسند مصرف‌کنندگان است، تابش شدید آفتاب سبب کاهش کیفیت رنگ سبز میوه می‌شود. در پژوهش حاضر، اثر پاکت‌گذاری بر رنگ‌گیری بهتر سیب 'فوجی' و حفظ رنگ سبز مطلوب سیب 'گرانی‌اسمیت' و سایر صفات کیفی و کمی میوه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در باغی در منطقه کیاسر از توابع شهر ساری در طول جغرافیایی ۵۳/۲۸، عرض جغرافیایی ۳۶/۱۶ و در ارتفاع ۱۲۰۰ متری از سطح دریا بر روی درختان سیب شش‌ساله 'فوجی' و 'گرانی‌اسمیت' بر روی پایه‌های رویشی مالینگ شماره نه (M9) در بهار و تابستان ۱۳۹۴ انجام گرفت. برای انجام پاکت‌گذاری، ۶۵ روز پس از تمام گل از پاکت‌های دو لایه، که لایه بیرونی از کاغذ گراف سبک به رنگ کرم روشن و لایه دورنی از کاغذ روغنی سفید رنگ در اندازه، 15×21

$$\% DPPH = (A \text{ cont} - A \text{ samp}) / A \text{ cont} \times 100 \quad (3)$$

که در آن، %DPPH درصد بازدارندگی، A cont میزان جذب DPPH، A samp میزان جذب (نمونه + DPPH)

اندازه گیری وزن و حجم میوه

حجم میوه با استفاده از روش وزن کردن میوه‌ها در زیر آب انجام شد و وزن (گرم) میوه، توسط ترازو دیجیتالی با دقت ۰/۱ اندازه گیری گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹.۱ استفاده شد و مقایسه میانگین‌ها نیز براساس آزمون LSD در سطح (۰/۰۵) انجام گرفت. و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج به دست آمده نشان دادند که پاکت‌گذاری و حذف پاکت در زمان‌های مختلف بر صفات کمی و کیفی میوه اثر داشت. برهمکنش رقم و پاکت‌گذاری بر همه صفات به غیر از وزن، حجم و رنگدانه‌های کلروفیل و کارتنوئید اثر معنی‌داری داشت.

میزان آنتوسیانین

با توجه به جدول ۱ برهمکنش رقم بر پاکت‌گذاری در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. براساس مقایسه میانگین داده‌های آزمایش، بیشترین میزان آنتوسیانین در تیمار ۱۴ روز در رقم 'فوجی' (۶۰/۹۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کمترین، در تیمار صفر روز رقم 'گرانی اسمیت' (۶۴/۱ میلی‌گرم بر گرم) مشاهده شد (شکل ۱). روند تغییرات آنتوسیانین نشان داد که نگره داشتن پاکت بر میوه تا زمان برداشت، سبب کاهش معنی‌دار آنتوسیانین میوه شد و با حذف پاکت پیش از برداشت، و معرض نور قرار گرفتن میوه، سنتز این رنگدانه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۱). با توجه به آن که آنتوسیانین‌ها و فلاونون‌ها می‌توانند

کلروفیل b کارتنوئید غلظت بر حسب میکروگرم بر لیتر محاسبه گردید.

اندازه گیری مواد جامد محلول واسید قابل تیتراژ

مواد جامد قابل حل (TSS) توسط رفرکتومتر دیجیتالی (Palette PR-32) به دست آمد و اسیدیته قابل تیتراژ از روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال به صورت درصد بیان گردید.

اندازه گیری میزان ترکیبات فنلی

میزان فنل کل در عصاره‌های پوست و گوشت با معرف (Folin-Ciocalteu) اندازه‌گیری شد (۶). بدین‌منظور، مقدار یک گرم از بافت پوست و گوشت به‌طور جداگانه وزن و با سه میلی‌لیتر حلال متانول اسیدی (۸۵ درصد متانول و ۱۵ درصد استیک اسید) مخلوط شدند. برای اندازه‌گیری مقدار فنل کل به ۷۰ میکرولیتر از عصاره رقیق متانولی ۱۳۰ میکرولیتر آب مقطر و یک میلی‌لیتر فولین ده درصد اضافه و مخلوط شد و پس از شش دقیقه، ۸۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد به آنها اضافه گردید. سپس نمونه‌ها به مدت یک و نیم ساعت در تاریکی و در دمای اتاق نگهداری شدند و به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر (Model Jenway 6102) میزان جذب خوانده شد. میزان فنل کل بر حسب میلی‌گرم اسیدگالیک در یک گرم بافت تر بیان شد.

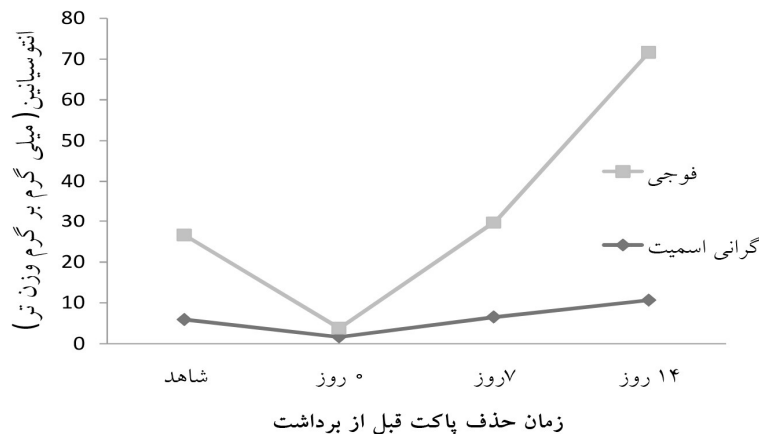
تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها از روش خشتی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH استفاده شده است. بدین‌منظور ۵۰ میکرولیتر عصاره متانولی با ۹۵۰ میکرولیتر DPPH ۰/۱ نرمال اضافه کرده و پس از ۳۰ دقیقه در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Model Jenway 6102) خوانده شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی به صورت درصد بازماندگی DPPH و با استفاده از رابطه ۳ محاسبه شد.

جدول ۱. میانگین مربعات اثر پاکت‌گذاری بر صفات کمی و کیفی میوه سیب

منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن	حجم	آنژیوساین	کلروفیل a	کلروفیل b	کارنوئید	مواد جامد قابل حل	اسید قابل تیتر	فصل گوشت	فصل پوست	آنتی اکسیدان
بلوک	۴	۱۱۸۲/۸۳**	۱۵۱۰/۰۸**	۸/۵۴ ^{ns}	۰/۵۱ ^{ns}	۱/۴۰ ^{ns}	۰/۹۳ ^{ns}	۳/۹۶**	۰/۰۵**	۰/۳۵ ^{ns}	۱/۶۶۴ ^{ns}	۷۸/۷۳**
رقم	۱	۷۰۹۵/۸۳**	۶۱۲۱/۱۷**	۴۲۷/۰/۸*	۱۲۶/۰**	۹۴/۳۱**	۳/۳۳**	۲۱۱/۷۸**	۳/۶۴**	۰/۵۹ ^{ns}	۶۹۳/۹۸**	۱۱۹۱/۴۰**
پاکت‌گذاری	۳	۱۸۵۵/۸۴**	۲۴۶۶/۱۷**	۱۹۸/۲۵**	۲/۳۵**	۰/۸۹ ^{ns}	۰/۲۴**	۹/۷۸**	۰/۰۴**	۱/۲۸**	۱۱۴/۳۶**	۱۵۳/۹۷**
رقم × پاکت‌گذاری	۳	۵۰۳/۸۳ ^{ns}	۴۶۸/۲۷ ^{ns}	۱۱۰/۲/۹۱**	۰/۶۴ ^{ns}	۲/۲۳ ^{ns}	۰/۱۵ ^{ns}	۱/۲۰**	۰/۰۳**	۰/۵۶*	۴۲/۱۶۷**	۳۵/۷۴*
خطا	۲۸	۱۷۳/۱۴	۲۱۱/۹۳	۱۹/۶۸	۰/۵۲	۰/۷۹	۰/۰۶۹	۰/۳۴	۰/۰۰۳	۰/۱۷	۵/۵۸	۱۰/۹۷
ضریب تغییرات (%)		۱۰/۷۹	۱۰/۵۵	۲۶/۸۴	۱۵/۹۹	۲۷/۶۱	۲۹/۸۸	۴/۸۶	۷/۵۸	۶/۸۵	۱۲/۴۲	۹/۸۸

** و * به ترتیب غیر معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد



شکل ۱. اثر پاکت‌گذاری بر آنتوسیانین پوست میوه سیب

از برداشت (۳/۹۴ میکرو گرم بر لیتر) مشاهده شد. پس از حذف پاکت هرچه میوه مدت زمان بیشتری در معرض نور قرار گرفت، میزان کلروفیل بیشتری کاهش یافت (جدول ۲). غلظت کارتنوئید پوست میوه، با توجه به آنکه در رقم 'فوجی' بالاتر بود. نیز تحت تأثیر پاکت‌گذاری قرار گرفت. بیشترین غلظت در میوه شاهد (۰/۷ / میکروگرم بر لیتر) و کمترین آن در تیمار صفر روز (۰/۷ میکروگرم بر لیتر) دیده شد (جدول ۲). نتایج بیانگر آن است که تیمارهای پاکت‌گذاری سبب کاهش کلروفیل و کارتنوئید نسبت به میوه شاهد شدند.

با توجه به روند تغییرات رنگدانه‌های کلروفیل a در جدول (۲) و آنتوسیانین (شکل ۱) تحت تیمارهای یکسان، مشاهده شد که کلروفیل پوست میوه با حذف پاکت میزان به‌طور معنی‌داری کاهش، ولی میزان آنتوسیانین پوست آن افزایش یافت. از آنجا که ساخته شدن رنگدانه کلروفیل و فتوستتوز در حضور نور خورشید صورت می‌گیرد. به‌نظر می‌رسد با جلوگیری از تابش نور خورشید توسط پاکت، کلروفیل پوست میوه کاهش یافته و پس از حذف پاکت، توانایی میوه در جذب نور خورشید کاهش می‌یابد (۲۴). بنابراین، پس از حذف پاکت، گیاه به‌منظور کاهش اثر زیان آور نور شدید خورشید بر سیستم‌های فتوستتزی میوه، رنگدانه‌های غیر کلروفیلی مانند

نور مرئی و فرابنفش B را برای حفاظت برگ و میوه از آسیب نور جذب نمایند، استفاد از پاکت روی میوه، با جلوگیری از نور خورشید سبب کاهش شدید غلظت این ترکیبات در میوه پاکت‌گذاری شده می‌شود (۵). با برداشت پاکت و قرار گرفتن دوباره میوه در برابر نور، حساسیت میوه به نور مرئی و فرابنفش B بالا می‌رود که موجب سنتز دوباره این مواد می‌شود (۵). در پژوهشی دیگر، سه روز پس از حذف پاکت در سیب 'رد دلشز'، میزان آنتوسیانین میوه افزایش یافت (۱۹). در مورد پاکت‌گذاری رقم‌های 'گلدن دلشز' و 'گرانی اسمیت'، پس از حذف پاکت و در معرض نور قرار دادن میوه به‌مدت ۱۴ روز، میزان آنتوسیانین میوه در هر دو رقم نسبت به شاهد افزایش یافت (۲۳). اثر مثبت پاکت‌گذاری در این گزارش‌ها بر رنگ‌گیری میوه سیب که با نتایج این پژوهش همسو هستند، نشان‌دهنده نقش مهم نور در تغییرات میزان آنتوسیانین هستند.

کلروفیل و کارتنوئید

با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر، رقم 'گرانی اسمیت' کلروفیل بالاتری نسبت به رقم 'فوجی' داشت و تحت تیمار پاکت‌گذاری، بالاترین میزان کلروفیل a در میوه شاهد (۵/۰۹ میکروگرم بر لیتر) و کمترین در تیمار حذف پاکت ۱۴ روز قبل

جدول ۲. اثر پاکت‌گذاری و رقم بر میزان کلروفیل a و کارتنوئید پوست میوه سیب

اثر رقم**	شاهد و دوره پاکت‌گذاری*		صفت	
گرانی اسمیت	فوجی	۱۴ روز	۷ روز	بی‌پاکت
۶/۲۹A	۲/۷۴B	۳/۹۴c	۴/۳۷bc	۴/۶۵ab
۱/۶۹B	۴/۷۶A	۵/۸۳ab	۵/۹۱ab	۵/۰۹a
				۱/۰۷a

* برای شاهد و دوره پاکت‌گذاری در هر ردیف میانگین‌هایی که دارای حرف مشابه‌ای هستند، در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.
** برای اثر رقم در هر ردیف میانگین‌هایی که دارای حرف نامشابه‌ای هستند، در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری دارند.

ترکیب را عامل مهمی در بیوستنز رنگدانه آنتوسیانین معرفی کردند (۲۳). نتایج این پژوهش هم نشان داد که با افزایش مواد جامد محلول میوه میزان آنتوسیانین پوست میوه هم افزایش می‌یابد. از آنجا که عمده‌ترین مواد جامد محلول میوه، ترکیبات قندی نظیر ساکاروز، فروکتوز و غیره می‌باشند، به نظر می‌رسد ترکیبات قندی در سنتز آنتوسیانین نقش دارند.

اسید قابل تیتر

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد بر همکنش پاکت‌گذاری و رقم در سطح ۱٪ بر اسید قابل تیتر اثر معنی‌داری داشت.

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین اسید قابل تیتر در میوه شاهد رقم 'گرانی اسمیت' (۱/۱۹٪) و کمترین مقدار آن در تیمار صفر روز رقم 'فوجی' وجود داشت (جدول ۳). بین تیمارهای پاکت‌گذاری شده در رقم فوجی اختلاف معنی‌داری نسبت به میوه شاهد از نظر آماری وجود نداشت، اما در رقم 'گرانی اسمیت'، پاکت‌گذاری سبب کاهش اسید قابل تیتر میوه نسبت به شاهد شده است. نتایج این پژوهش با گزارشات لیو و همکاران (۲۳) در رقم 'گرانی اسمیت' مطابقت دارد.

فصل گوشت و فصل پوست

با توجه به جدول تجزیه واریانس، برهمکنش رقم و پاکت‌گذاری در سطح ۵٪ بر میزان ترکیبات فنلی گوشت میوه معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌های آزمایشی

آنتوسیانین و کارتنوئید که نسبت به کلروفیل ثبات بیشتری در مقابل نور خورشید دارند افزایش می‌دهد (۲۴). همانند نتایج این آزمایش، در آزمایشی دیگر هم پاکت‌گذاری در سیب 'گرانی اسمیت' میزان کلروفیل پوست میوه را کاهش و آنتوسیانین میوه را افزایش داد (۳۲).

میزان مواد جامد محلول

با توجه به جدول تجزیه واریانس، برهمکنش پاکت‌گذاری و رقم در سطح ۱٪ بر میزان مواد جامد محلول میوه اثر معنی‌داری داشت (جدول ۳). بررسی مقایسه میانگین داده‌های آزمایش نشان داد بیشترین میزان مواد جامد محلول در تیمار ۱۴ روز، رقم 'فوجی' (۱۵/۴۱ بریکس) و پایین‌ترین، در تیمار صفر روز، رقم 'گرانی اسمیت' (۸/۸۰ بریکس) مشاهده شد (جدول ۳). با حذف پاکت پیش از برداشت و در معرض نور قرار گرفتن میوه‌ها، مواد جامد محلول افزایش یافت (جدول ۳). نگه داشتن پاکت تا زمان برداشت میوه (تیمار صفر) با جلوگیری از نور خورشید و به تأخیر انداختن تخریب مواد نشاسته‌ای سبب کاهش مواد جامد محلول میوه می‌شود (۱۱). گزارش شده که پس از حذف پاکت میوه سیب، تجمع قندهای محلول به سرعت افزایش یافت (۳۰). از طرف دیگر نتایج به دست آمده در این پژوهش نشان داد که در تیمارهایی که دارای مواد جامد محلول بیشتری بودند (جدول ۳)، سنتز آنتوسیانین بالاتری هم مشاهده شد (شکل ۱). پاکت‌گذاری در سیب 'گلدن دلشیز' و 'گرانی اسمیت' سبب افزایش ساکاروز گردید و پژوهشگران این

جدول ۳. اثر پاکت‌گذاری بر برخی صفات کیفی میوه دو رقم سیب

زمان حذف پاکت قبل برداشت			شاهد (بدون پاکت)	رقم	صفت
۱۴ روز	۷ روز	۰ روز			
۱۵/۴۱ ^a	۱۵/۱۱ ^a	۱۲/۴۴ ^c	۱۴/۲۸ ^b	فوجی	مواد جامد محلول (Brix ^o)
۱۰/۲۸ ^d	۱۰/۰۱ ^d	۸/۸۰ ^c	۹/۷۳ ^d	گرانی اسمیت	
۰/۴۷ ^d	۰/۴۸ ^d	۰/۴۱ ^d	۰/۴۶ ^d	فوجی	اسید قابل تیتر (%)
۱۱/۰۱ ^{bc}	۱/۰۸ ^b	۰/۹۴ ^c	۱/۱۹ ^a	گرانی اسمیت	
۳۰/۱۲ ^d	۲۵/۶۲ ^c	۲۱/۴۵ ^c	۳۴/۹۳ ^c	فوجی	آنتی اکسیدان (%)
۳۹/۸۶ ^{ab}	۳۸/۴۳ ^{bc}	۳۶/۳۴ ^c	۴۱/۱۵ ^a	گرانی اسمیت	
۶/۲۰ ^{ab}	۶/۲۵ ^{ab}	۶/۲۰ ^{ab}	۶/۵۴ ^a	فوجی	فنل گوشت (mg GA/g)
۶/۳۲ ^{ab}	۵/۷۸ ^{bc}	۵/۳۹ ^c	۶/۷۲ ^a	گرانی اسمیت	
۱۵/۳۱ ^{dc}	۱۴/۷۳ ^{dc}	۱۳/۰۹ ^d	۱۶/۲۶ ^c	فوجی	فنل پوست (mg GA/g)
۲۴/۹۴ ^b	۲۲/۰۹ ^b	۱۶/۳۶ ^c	۲۹/۳۲ ^a	گرانی اسمیت	

میانگین‌های دارای حروف مشابه هر صفت، اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد در آزمون LSD ندارند.

ثانویه هستند که نقش محافظتی در برابر طیف وسیعی از تنش‌ها ایفا می‌کند و بیوسنتز این ترکیبات توسط نورخورشید تنظیم می‌شود (۱۸ و ۲۵). به‌نظر می‌رسد پاکت‌گذاری با جلوگیری از نور خورشید میزان ترکیبات فنلی را کاهش می‌دهد که با در معرض نور قرار دادن میوه این ترکیبات جهت محافظت میوه در برابر شدت نور، دوباره سنتز می‌شوند.

میزان آنتی‌اکسیدان گوشت

برهمکنش رقم و پاکت‌گذاری در سطح ۵٪ بر درصد آنتی‌اکسیدان گوشت میوه اثر معنی‌داری داشت. مقایسه میانگین داده‌های آزمایشی نشان داد که بیشترین درصد آنتی‌اکسیدانی در میوه شاهد 'گرانی اسمیت' (۴۱/۱۵ درصد) بود و کمترین آن (۲۱/۴۵ درصد) در تیمار صفرروز میوه 'فوجی' مشاهده شد (جدول ۳). نتایج این پژوهش با مشاهدات زی و همکاران (۳۲) در میوه پرتقال مطابقت دارد. با توجه به وجود ارتباط بین

نشان داد، بیشترین میزان فنل گوشت در میوه شاهد هر دو رقم و کمترین در تیمار صفر روز رقم 'گرانی اسمیت' (۵/۳۹ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم) مشاهده شد (جدول ۳). در رقم 'فوجی' بین تیمارهای ۷ روز و ۱۴ روز اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، اما در رقم 'گرانی اسمیت' مدت زمان در معرض نور قرار گرفتن میوه بر سنتز ترکیبات فنلی گوشت آن اثرگذار بود. تفاوت معنی‌داری در سطح ۱٪ بین ترکیبات فنلی پوست میوه تحت تیمار در دو رقم وجود داشت (جدول ۱). با توجه به جدول ۳ پاکت‌گذاری سبب کاهش میزان فنل در پوست میوه نسبت به شاهد شد. بالاترین مقدار فنل در میوه شاهد رقم 'گرانی اسمیت' (۲۹/۳۲ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم) و کمترین در تیمار صفر روز رقم 'فوجی' (۱۳/۰۹ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم) مشاهده شد. نتایج این پژوهش با مشاهدات فنگ و همکاران (۱۱) در سیب 'جوناکلد' و هوانگ و همکاران (۱۴) در میوه گلابی مطابقت دارد. ترکیبات فنلی از متابولیسیم‌های

جدول ۴. اثر رقم بر حجم و وزن میوه سیب

رقم	وزن (گرم)	حجم (سانتی‌متر مکعب)
فوجی	۱۳۵/۱۸ ^a	۱۵۰/۲۷ ^a
گرانی اسمیت	۱۰۸/۵۴ ^b	۱۲۵/۳۵ ^b

میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ در آزمون LSD ندارند.

جدول ۵. اثر پاکت‌گذاری بر حجم و وزن میوه سیب

صفت	شاهد (بدون پاکت)	روز ۰ (با پاکت)	زمان حذف پاکت قبل از برداشت
			روز ۷
وزن (گرم)	۱۳۴/۶۵ ^a	۱۰۳/۶۵ ^c	روز ۱۴
حجم (سانتی‌متر مکعب)	۱۵۴/۴۹ ^a	۱۱۶/۶۲ ^c	روز ۷

میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ در آزمون LSD ندارند.

مرحله خاصی از سن میوه به دلیل جلوگیری از نور خورشید و اختلال در فتوسنتز سطح میوه و همین‌طور کاهش منبع کربوهیدراتی نزدیک میوه، می‌تواند بر رشد و اندازه میوه اثرگذار باشد (۸ و ۲۸). تاکنون گزارشات متفاوتی از اثر پاکت‌گذاری بر وزن و اندازه میوه به دست آمده است که می‌تواند به علت تفاوت در نوع و جنس پاکت، زمان حذف و زمان پاکت‌گذاری، سن میوه، نوع رقم باشد (۲۸). پاکت‌گذاری در میوه گلابی (۱۵) نیز سبب کاهش وزن میوه شد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. به نظر می‌رسد پاکت‌گذاری مانع از متابولیسم کربوهیدرات در میوه‌ها شده و در نتیجه قدرت مصرف‌کنندگی (sink) میوه را کاهش می‌دهد (۳۳).

نتیجه‌گیری

تشکیل رنگدانه قرمز پوست میوه سیب در بهبود ارزش غذایی و افزایش بازارپسندی محصول، تأثیر قابل توجهی دارد و همچنین از نظر اقتصادی در بازار، سیب‌هایی که رنگ بهتری دارند با قیمت بیشتری به فروش می‌رسند که این موضوع برای باغداران بسیار حائز اهمیت می‌باشد. در این آزمایش پاکت‌گذاری میوه

میزان فنل کل و درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۱۲)، احتمالاً علت کاهش در فعالیت آنتی‌اکسیدانی گوشت میوه‌ها مربوط به تغییرات فنل گوشت می‌باشد.

وزن و حجم میوه

با توجه به جدول تجزیه واریانس (۱) پاکت‌گذاری بر وزن میوه در سطح ۱٪ معنی‌دار شد و وزن و حجم میوه رقم 'فوجی' بالاتر از رقم دیگر بوده است (جدول ۴). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بیشترین و کمترین وزن با ۱۳۴/۶۵ گرم و ۱۰۳/۶۵ گرم به ترتیب در میوه شاهد و میوه‌های که با پاکت برداشت می‌شوند (تیمار صفر روز) مشاهده شدند (جدول ۵). میزان حجم میوه تحت پاکت‌گذاری تفاوت معنی‌داری در سطح ۱٪ بین تیمارهای پاکت‌گذاری نشان داد. بیشترین حجم در میوه شاهد (۱۵۴/۴۹ سانتی‌متر مکعب) و کمترین در تیمار صفر روز (۱۱۶/۶۲ سانتی‌متر مکعب) دیده شد. نتایج نشان داد وزن و حجم میوه تحت تأثیر پاکت‌گذاری کاهش یافتند (جدول ۴). پس از تشکیل میوه، میوه به آهستگی شروع به افزایش اندازه می‌کند تا به بلوغ برسد. پوشش‌دهی میوه با پاکت در

نظر رنگ‌گیری در شرایط معمول کاملاً متفاوت عمل می‌کنند، هر دو رقم را وادار به تولید رنگدانه آنتوسیانین کرد. پاکت‌گذاری سبب کاهش صفات کمی مانند وزن و حجم و کیفیت مانند کلروفیل و کارتنوئید، اسید قابل تیتر، ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در میوه‌ها شد که با حذف پاکت و در معرض نور قرار گرفتن دوباره میوه، این صفات تا حدودی بهبود یافتند. انجام این پژوهش تنها برای رقم 'فوجی' توصیه می‌شود که پاکت‌گذاری و حذف پاکت ۱۴ روز پیش از برداشت پاکت سبب افزایش آنتوسیانین پوست و بهبود رنگ میوه گردید.

سیب در طول رشد، موجب افزایش حساسیت میوه‌ها به نور گردید که با حذف پاکت، رنگ‌گیری پوست میوه افزایش یافت. استفاده از پاکت‌گذاری در رقم 'فوجی' که رنگ‌گیری مطلوبی ندارد سبب رنگ‌گیری مطلوب آن شده است. از طرفی دیگر با توجه به گزارشات محلی کشاورزان منطقه مورد پژوهش، آفتاب‌سوختگی یکی از مشکلات رایج برای سیب رقم 'گرانی‌اسمیت' می‌باشد که پاکت‌گذاری با پاکت‌های دو لایه بر میوه این رقم موجب کاهش کلروفیل پوست و افزایش رنگدانه آنتوسیانین در تیمار هایی با حذف پاکت شد، که به دلیل اهمیت رنگ سبز میوه، برای مصرف‌کنندگان این تغییر رنگ مطلوب نیست. نتایج حاصل بیان کرد، می‌توان با ایجاد شرایط تنش نوری به کمک پاکت‌گذاری بر دو رقم از میوه سیب که از

منابع مورد استفاده

1. Arakawa, O., Y. Hori and R. Ogata. 1985. Relative effectiveness and interaction of ultraviolet-B, red and blue light in anthocyanin synthesis of apple fruit. *Physiologia Plantarum* 64:323-327.
2. Arakawa, O. 1988. Characteristics of color development in some apple cultivars: changes in anthocyanin synthesis during maturation as affected by bagging and light quality. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 57: 373-380.
3. Bentley, W. and J. Viveros. 1992. Brown-bagging 'Granny Smith' apples on trees stops codling moth damage. *California Agriculture* 46: 30-32.
4. Bakhshi, D., S. Fathollahi and O. Arakawa. 2010. Evaluation of the relationship between phenolic compounds and skin color in three red apple cultivars in Japan. *Iranian Journal of Horticultural Sciences* 24: 258- 251 (In Farsi).
5. Chen, C., D. Zhang, Y. Wang, P. Li and F. Wang. 2012. Effects of fruit bagging on the contents of phenolic compounds in the peel and flesh of 'Golden Delicious', 'Red Delicious', and 'Royal Gala' apples. *Scientia Horticulturae* 142: 68-73.
6. D'Angelo, S., C. Amelia, M. Raimo, A. Salvatore, V. Zappia and P. Galletti. 2007. Effect of reddening-ripening on the antioxidant activity of polyphenol extracts from CV. 'Annurca' apple fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 9977-9985.
7. Ding, P. and M. N. Syakirah. 2010. Influence of fruit bagging on postharvest quality of 'Harumanis' mango (*Mangifera indica* L.). *Acta Horticulturae* 877:169-174.
8. Ehteshami, S., H. Sarikhani, A. Ershadi and P. G. Amiri. 2014. Effect of bagging on fruit quality and reducing of sunburn in pomegranate cv. Rabab Neiriz. *Iranian Journal of Horticultural Sciences* 4: 353-360 (In Farsi).
9. Faostat. 2012. Food and agriculture orgnation of the United Nations Statistics Division. Available online at: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Accessed 15 May 2016.
10. Ferec, D. C. and I. J. Warrington. 2003. Apples: botany, production, and uses. pp. 210-213, *In*: L. C. Grappadelli (Ed.), *Ligh Relations*. CBI International, New York.
11. Feng, F., M. Li, F. Ma and L. Cheng. 2014. The effects of bagging and debagging on external fruit quality, metabolites and the expression of anthocyanin biosynthetic genes in 'Jonagold' apple (*Malus domestica* Borkh.). *Scientia Horticulturae* 165:123-131.
12. Ghorbani, E., D. Bakhshi, H. Hajnajari, M. Ghasemnezhad and P. Taghidoost. 2010. Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Some Native and Imported Apple Cultivars in Karaj Region. *Iranian Journal of Horticultural Science* 24: 83-90 (In Farsi).

13. Honda, C., N. Kotoda, M. Wada, S. Kondo, S. Kobayashi, J. Soejima, Z. Zhang, T. Tsuda and T. Moriguchi. 2002. Anthocyanin biosynthetic genes are coordinately expressed during red coloration in apple skin. *Plant Physiology and Biochemistry* 40:955-962.
14. Huang, C., B. Yu, Y. Teng, J. Su, Q. Shu, Z. Cheng and L. Zeng. 2009. Effects of fruit bagging on coloring and related physiology, and qualities of red Chinese sand pears during fruit maturation. *Scientia Horticulturae* 121:149-158.
15. Hudimia, M. and F. Stamper. 2011. Effect of fruit bagging on quality of 'Conference' pear (*Pyrus communis* L.). *European Journal of Horticultural Science* 76:410-414.
16. Jakopic, J., R. Veberic and F. Stampar. 2007. The effect of reflective foil and hail nets on the lighting, color and anthocyanins of 'Fuji' apple. *Scientia Horticulturae* 115: 40-46.
17. Jiaa, H. J., A. Arakib and G. Okamoto. 2005. Influence of fruit bagging on aroma volatiles and skin coloration of 'Hakuho' peach (*Prunus persica* Batsch). *Postharvest Biology and Technology* 35: 61-68.
18. Ju, Z. G., Y. B. Yuan, C. L. Liou and S. H. Xin. 1995. Relationship among phenylalanine ammonia-lyase activity, simple phenol concentrations and anthocyanin accumulation in apple. *Scientia Horticulturae* 61: 215-226.
19. Ju, Z. G. 1998. Fruit bagging, a useful method for studying anthocyanin synthesis and gene expression in apples. *Scientia Horticulturae* 77: 155-164.
20. Lancaster, J. E., J. E. Grant and C. E. Lister. 1994. Skin color in apples-influence of copigmentation and plastid pigments on shade and darkness of red color in five genotypes. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 119:63-69.
21. Lee, J., R. W. Durst and R. E. Wrolstad. 2005. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. *Journal of AOAC International* 88:1269-1278.
22. Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic bio membranes. *Methods in Enzymology* 147: 350-382.
23. Liu, Y., X. Zhang and Z. Zhao. 2013. Effects of fruit bagging on anthocyanins, sugars, organic acids and color properties of 'Granny Smith' and 'Golden Delicious' during fruit maturation. *European Food Research Technology* 236: 329-339.
24. Merzlyak, M. N. and O. B. Chivkunova. 2000. Light-stress-induced pigment changes and evidence for anthocyanin photo protection in apples. *Journal of Photochemistry and Photobiology B, Biology* 55:155-163.
25. Oh, M. M., E. E. Carey and C. B. Rajashekar. 2009. Environmental stresses induce health promoting phytochemicals in lettuce. *Plant Physiology and Biochemistry* 47:578-583.
26. Retinour, M. and H. Khamira. 2007. Red color development of apple: A Literature Review-Tree Fruit Research and Extension Center. Available online at: <http://postharvest.tfrec.wsu.edu/REP2007A.pdf>. Accessed 15 May 2016.
27. Saure, M. C. 1990. External control of anthocyanin formation in apple. *Scientia Horticulturae* 42:181-218
28. Sharma, R., S. Reddy and M. Halegar. 2014. Pre-harvest fruit bagging: a useful approach for plant protection and improved post-harvest fruit quality. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 89:101-113.
29. Taiz, L. and E. Zeiger. 2006. *Plant Physiology*. Sinauer Associates, Sunderland.
30. Wang, S. M., H. J. Gao and X. B. Zhang. 2002. Effects of bagging on pigment, sugar and acid development in 'Red Fuji' apple fruit. *Acta Horticulturae Sinica* 29:263-265.
31. Wang, L., X. Zhang, Y. Liu, X. Shi, Y. Wang, C. Zhang and Z. Zhao. 2013. The effect of fruit bagging on the color, phenolic compounds and expression of the anthocyanin biosynthetic and regulatory genes on the 'Granny Smith' Apples. *European Food Research Technology* 237:875-885.
32. Xie, R., L. Zheng, L. Jing, S. L. He, W. P. Xi, Q. Lv, S. L. Yi, Y. Q. Zheng and L. Deng. 2013. The effect of cultivar and bagging on physicochemical properties and antioxidant activity of three sweet orange cultivars (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). *American-Eurasian Journal of Agriculture & Environmental Science* 13:139-147.
33. Yan-yan, H., R. Hon-gwei and G. Pin-gyi. 2011. Effects of bagging on the accumulation and transformation of photo- synthates in apple fruits. *Acta Horticulturae Sinica* 38:233-233-239.

Effect of Bagging on Quantitative and Qualitative Characteristics of 'Fuji' and 'Granny Smith' Apples (*Malus domestica* Borkh) Fruit

F. Fateminia¹, H. Sadeghy² and V. Chalavi^{3*}

(Received: May 25-2016; Accepted: July 15-2017)

Abstract

In present study, the effect of bagging and its optimum removing time on the amount of peel pigments and other fruit quantitative and qualitative characteristics was investigated for 'Fuji' and 'Granny Smith' apples. The experimental treatments were no bag (control), debagging at 7 and 14 days before harvest, and keeping the bag until harvest time. At the end of experiment, the amount of pigments, total soluble solids, titratable acidity, pulp phenol, peel phenol, antioxidants percentage, fruit weight and volume were measured. The results showed that in debagging at 7 and 14 days before harvest treatments, the amount of anthocyanin and soluble solids statistically increased as compared with control; however other measured characteristics were significantly reduced in both apple cultivars. The maximum amount of fruit anthocyanin (60.96 mg/g fresh weight) belonged to 'Fuji' cultivar in 14 days treatment and the least amount of fruit anthocyanin (1.64 mg/g fresh weight) belonged to Granny Smith cultivar in no bag treatment. The highest amount of fruit chlorophyll a (5.09 µg/l) was observed in no bag fruit and the lowest amount of fruit chlorophyll a (3.94 µg/l) was observed in 14 days treatment. The decrease of chlorophyll concentration is a positive characteristic for the 'Fuji' and a negative one for 'Granny Smith'. Therefore, bagging and 14 days before harvest debagging treatment increased the anthocyanin and decreased the chlorophyll concentrations. The latter bagging-associated modifications in fruit quality attributes are beneficial and deteriorating for 'Fuji' and 'Granny Smith', respectively.

Keywords: Bagging, Fruit coloring, Phenolic compounds, Anthocyanin

1, 2, 3.MSc. Student, Associate Professor and Assistant Professor, Respectively, Department of Horticulture, Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

*. Corresponding Author, Email: v.chalavi@sanru.ac.ir