

## بررسی تأثیر کائولین بر میزان آفتاب‌سوختگی و شاخص‌های کیفی انار رقم ملس ترش ساوه

حسین میغانی<sup>۱\*</sup>، محمود قاسم‌نژاد<sup>۲</sup> و داود بخشی<sup>۲</sup>

۱. استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران

۲. دانشیاران، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۲۹ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۲/۶)

### چکیده

آفتاب‌سوختگی عارضه‌ای فیزیولوژیکی است که با کاهش کیفیت میوه انار، سالانه آسیب و زیان زیادی به باغداران وارد می‌کند. در این پژوهش، تأثیر کائولین بر حفظ کیفیت و کاهش آفتاب‌سوختگی میوه انار رقم ملس ترش ساوه بررسی شد. درختان انار طی فصل رشد در سه مرحله به ترتیب ۴۵، ۷۵ و ۱۰۵ روز پس از تشکیل میوه با چهار سطح کائولین فرآوری شده (۰، ۲/۵، ۵ و ۱۰ درصد) محلول‌پاشی شدند. نتایج نشان داد که کائولین به‌طور معنی‌داری آفتاب‌سوختگی میوه را کاهش داد. میزان مواد جامد محلول (TSS)، فلاونوئید کل و آنتوسیانین کل و میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز در میوه‌های تیمار شده کمتر از شاهد بود. همچنین میزان سیانیدین ۳- گلوکوزید، سیانیدین ۵و۳- دی گلوکوزید، دلفینیدین ۵و۳- دی گلوکوزید و پلارگونیدین ۳و۵- دی گلوکوزید در میوه‌های تیمار شده با کائولین به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد کاهش یافت. در مقابل، میزان فنل کل میوه افزایش یافت، اما تغییر معنی‌داری در ظرفیت پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی) کل و میزان TA، pH، TSS/TA و دلفینیدین ۳- گلوکوزید و پلارگونیدین ۳- گلوکوزید آب انار مشاهده نشد. در کل، سه بار محلول‌پاشی درختان انار با غلظت ۵ درصد کائولین با فاصله ۳۰ روز برای جلوگیری از آسیب و زیان آفتاب‌سوختگی میوه انار توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: انار، آنتوسیانین، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، ترکیب‌های فنلی.

## Effect of kaolin on the sunburn damage and qualitative characteristics of pomegranate fruit cv. Malas-e-Torsh-e-Saveh

Hossein Meighani<sup>1\*</sup>, Mahmood Ghasemnezhad<sup>2</sup> and Davood Bakhshi<sup>2</sup>

1. Assistant Professor, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran

2. Associate Professors, Faculty of Agriculture, University of Guilan, Rasht, Iran

(Received: Feb. 18, 2015- Accepted: Apr. 26, 2015)

### ABSTRACT

Sunburn damage is a physiological disorder, which reducing pomegranate fruits quality and result to huge loss to the gardeners yearly. In this study, the effects of kaolin on maintaining fruit quality and decreasing sunburn damage of Malas-e-Torsh-e-Saveh pomegranate was investigated. Processed Kaolin (surround® WP) with 0, 2.5, 5 and 10 % (w/v) was sprayed over the whole canopy and fruits at 45, 75 and 105 days after fruit set. The results indicated that kaolin significantly decreased fruit sunburn damage. Total soluble solid (TSS), total flavonoid content, total anthocyanin content and activity of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) enzymes reduced in kaolin treated fruits in compared to control. Furthermore, cyanidin 3-glucoside, cyanidin 3,5-diglucoside, delphinidin 3,5-diglucoside and pelargonidin 3,5-diglucoside content in kaolin treated fruits were lower than control. In contrast, fruit total phenolic content increased, but no significant difference was found for titratable acidity (TA), TSS/TA, pH, antioxidant activity and delphinidin 3-glucoside and pelargonidin 3-glucoside of pomegranate juice. Overall three times spraying with 5% kaolin concentration at 30 days intervals recommended for control of sunburn damage of pomegranate fruits.

**Keywords:** anthocyanin, antioxidant enzymes, pomegranate, phenolics compounds.

## مقدمه

انار با نام علمی *Punica granatum* L. یکی از کهن‌ترین میوه‌های خوراکی بومی ایران است که به‌عنوان یک میوه ارزشمند و دارویی در بسیاری از کشورها استفاده می‌شود (Mousavinejad *et al.*, 2009). بخش خوراکی میوه انار آریل نامیده می‌شود که مقادیر قابل‌توجهی اسیدهای آلی، قند، پلی‌ساکارید، پلی‌فنول و عناصر کانی مهم دارد (Gil *et al.*, 2000).

در سال‌های اخیر وقوع عارضه آفتاب‌سوختگی میوه انار آسیب فراوانی به باغداران وارد کرده است. آفتاب‌سوختگی عارضه‌ای فیزیولوژیکی است که در اثر دمای بالا و شدت زیاد نور خورشید ایجاد می‌شود. جذب بیش‌ازحد تشعشعات خورشیدی و تنش دمای بالا در گیاهان منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن<sup>۱</sup> می‌شود که تنش‌های اکسایشی (اکسیداتیو) را به همراه دارد. این واکنش‌ها منجر به آفتاب‌سوختگی در میوه‌های گوشتی می‌شوند (Weerakkody *et al.*, 2010). پوست میوه‌های آفتاب‌سوخته به رنگ قهوه‌ای تا سیاه تغییر کرده و در قسمت زیرین بخش آفتاب‌سوخته، آریل‌ها کم آب و اغلب بی‌رنگ می‌شوند (شکل ۱- B). این پدیده به‌شدت کیفیت میوه را تحت تأثیر قرار داده و از بازاریابی آن کاسته و زیان اقتصادی فراوانی به باغداران وارد می‌کند (Yazici & Kaynak, 2009b).

در میوه انار آفتاب‌سوختگی قهوه‌ای، آفتاب‌سوختگی قهوه‌ای همراه با لکه‌های سیاه و آفتاب‌سوختگی سیاه<sup>۲</sup> هنگامی رخ می‌دهد که دمای سطح میوه به ترتیب به ۳۵، ۴۰ و ۴۵ درجه سلسیوس رسیده باشد (Yazici & Kaynak, 2009b). میزان آسیب و زیان ناشی از عارضه آفتاب‌سوختگی در برخی نواحی ۴۰ تا ۵۰ درصد گزارش شده است (Yazici & Kaynak, 2009a). در میوه‌های دیگر مانند سیب میزان آسیب و زیان آفتاب‌سوختگی ۲۰-۱۰ درصد و گاهی به ۵۰-۳۰ درصد نیز می‌رسد (Wand *et al.*, 2006). انتخاب ردیف‌های کاشت در جهت مناسب، خنک کردن تبخیری (Melgarejo *et al.*, 2004)، پوشش میوه‌ها

(Yazici & Kaynak, 2009a) و استفاده از مواد منعکس‌کننده نور مانند کائولین (Melgarejo *et al.*, 2004) می‌تواند در کاهش آسیب و زیان آفتاب‌سوختگی مؤثر باشد. کائولین یکی از مهم‌ترین رس‌های صنعتی است که از نظر شیمیایی خنثی و غیر سمی بوده و از کائولینیت<sup>۳</sup> (آلومینیوم سیلیکات آبدار) مشتق شده و به‌صورت یک نوع پودر قابل‌حل (وتابل) با ذراتی به قطر کمتر از ۱۰ میکرون فرموله شده است (Cantore *et al.*, 2009). مهم‌ترین ویژگی آن داشتن رنگ سفید و خاصیت انکسار نور است که برای کاهش مؤثر آفتاب‌سوختگی پاشش محلول آن روی میوه‌های مختلف پیشنهاد شده است (Glenn *et al.*, 2002; Wand *et al.*, 2006). به نظر می‌رسد کائولین با کاهش دمای سطح میوه در کنترل آفتاب‌سوختگی مؤثر است. در پژوهشی کائولین دمای میوه و برگ انار را به ترتیب به میزان ۴/۹ و ۵/۲ درجه سلسیوس کاهش داد، که در این حالت میزان آفتاب‌سوختگی میوه‌ها از ۹/۲۱ درصد در میوه‌های شاهد به ۴/۹ درصد کاهش یافت (Melgarejo *et al.*, 2004). میزان کاهش دمای سطح میوه سیب در نتیجه کاربرد کائولین ۱/۸ درجه سلسیوس گزارش شد (Parchomchuk & Meheriuk, 1996).

رنگ قرمز پوست و آریل انار مربوط به رنگیژه آنتوسیانین است (Miguel *et al.*, 2004). تشکیل آنتوسیانین تحت تأثیر عامل‌های مختلفی از جمله عامل‌های محیطی مانند دما و نور، عملیات باغی مانند آبیاری و تغذیه و عامل‌های درونی مانند هورمون‌های گیاهی، متابولیت‌های ثانویه و مواد غذایی قرار می‌گیرد (He *et al.*, 2010). نور از یکسو پیش‌نیاز ساخت (سنتز) آنتوسیانین است و از سوی دیگر عامل مهمی در کاهش رنگ از راه تخریب آنتوسیانین است (He *et al.*, 2010). دما نیز عامل دیگری است که بر میزان تجمع آنتوسیانین مؤثر است. دمای پایین ساخت آنتوسیانین را افزایش و دمای بالا غلظت رنگیژه آنتوسیانین را کاهش می‌دهد (Meighani *et al.*, 2014).

1. Reactive oxygen species (ROS)

2. Blacking

3. Kaolinite

شرقی) انجام شد. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تیمار شامل غلظت‌های ۰، ۲/۵، ۵ و ۱۰ درصد (وزنی:حجمی) کاتولین فرآوری شده (پودر سپیدان WP) و در سه تکرار اجرا شد که هر تکرار شامل سه درخت بود. محلول کاتولین در سه نوبت در زمان‌های ۴۵، ۷۵ و ۱۰۵ روز پس از تشکیل میوه روی سطح شاخ و برگ و میوه درختان انار پاشیده شد. میوه‌ها در مرحله بلوغ تجاری (۱۸۰ روز پس از تشکیل میوه) برداشت شدند. وجود لکه‌های قهوه‌ای روشن تا سیاه در سطح پوست میوه به‌عنوان نشانه‌های آفتاب‌سوختگی در نظر گرفته شد (شکل ۱- B) و درصد میوه‌های آفتاب‌سوخته محاسبه شد.

اما شدت آفتاب‌سوختگی بر پایه رنگ پوست میوه در چهار گروه شامل: ۱- بدون آسیب آفتاب‌سوختگی، ۲- آفتاب‌سوختگی ملایم شامل لکه‌های زردرنگ، ۳- آفتاب‌سوختگی متوسط شامل لکه‌های برنزی و قهوه‌ای‌رنگ و ۴- آفتاب‌سوختگی شدید شامل لکه‌های سیاه درجه‌بندی شدند (Yazici & Kaynak, 2009b). شمار نه میوه بدون هیچ نشانه‌های آفتاب‌سوختگی (شکل ۱- A) به‌طور تصادفی از هر تکرار انتخاب و صفات زیر اندازه‌گیری شدند.

یکی از واکنش‌های گیاهان در برابر تنش گرما، تولید بیش‌ازحد گونه‌های فعال اکسیژن است که تولید کنترل‌نشده آن‌ها می‌تواند مضر باشد. گیاهان سامانه دفاع پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی) برای رویارویی با گونه‌های فعال اکسیژن دارند که ترکیب‌های بیوشیمیایی فعال و آنزیم‌های پاداکسندگی از آن جمله‌اند. فعال شدن آنزیم‌های پاداکسندگی در دامنه دمایی متفاوتی رخ می‌دهد که فعالیت آن‌ها با افزایش دما زیاد می‌شود (Hasanuzzaman *et al.*, 2013). بنابراین، به‌نظر می‌رسد کاتولین با انعکاس نور و کاهش دمای سطح میوه در ساخت رنگیزه آنتوسیانین و کاهش آسیب و زیان آفتاب‌سوختگی میوه انار مؤثر باشد. لذا این پژوهش با هدف بررسی تأثیر کاربرد کاتولین بر میزان آفتاب‌سوختگی و شاخص‌های کیفی میوه انار رقم ملس ترش ساوه که یکی از رقم‌های مهم تجاری و صادراتی ایران است، انجام شد.

### مواد و روش‌ها

این آزمایش روی درختان شش ساله انار رقم ملس ترش ساوه در یک باغ تجاری واقع در شهرستان ساوه (۳۴/۹۹ درجه عرض شمالی و ۵۰/۲۵ درجه طول



شکل ۱. میوه سالم (A) و آفتاب‌سوخته (B) انار ملس ترش ساوه

Figure 1. Healthy and sunburned of pomegranate fruit cv. Malas-e Torsh-e- Saveh

روش Meighani *et al.* (2014) و ظرفیت پاداکسندگی از راه خاصیت خنثی‌شوندگی رادیکال آزاد DPPH<sup>۲</sup> اندازه‌گیری شد (Brand-Williams *et al.*, 1995). اندازه‌گیری نوع آنتوسیانین‌ها با استفاده از دستگاه فام‌نگار (کروماتوگرافی) مایع با کارایی بالا (HPLC) انجام شد. سامانه مورد استفاده مدل Unicam-Crystal-200

میزان TSS آب‌میوه با استفاده از دستگاه شکست‌سنج (رفراکتومتر) دیجیتالی (Euromex RD (Holland, 635))، TA به روش عیارسنجی (تیتراسیون) با استفاده از هیدروکسید سدیم یک‌دهم نرمال تا رسیدن به pH برابر ۸/۲، فنل کل با استفاده از روش فولین-سیکالچو<sup>۱</sup> (Singleton *et al.*, 1999)، فلاونوئید کل برابر

2. 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)

1. Folin-Ciocalteu

در مقایسه با شاهد کاهش یافت (شکل ۲- A). تحقیقات پیشین نشان داد، در میوه انار، آفتاب سوختگی هنگامی رخ می‌دهد که دمای هوا بیش از ۳۰ درجه سلسیوس و تشعشعات خورشیدی بیش از ۶۰۰ وات بر مترمربع باشد، یا هنگامی که دمای سطح میوه به بالاتر از ۴۵-۵۰ درجه سلسیوس رسیده باشد (Yazici & Kaynak, 2009b). از سوی دیگر گزارش شده که در طول روز اختلاف دمای سطح میوه سیب با دمای محیط به ۱۲-۱۰ درجه سلسیوس می‌رسد که نشان‌دهنده جذب بالای تشعشعات خورشیدی توسط میوه است که به دنبال آن باعث آسیب و زیان آفتاب سوختگی می‌شود (Gindaba & Wand, 2005).

داده‌های هواشناسی نشان داد، در ماه‌های تیر و مرداد در حدود ۱۷ روز دمای هوا در باغ محل آزمایش به بیش از ۴۰ درجه سلسیوس رسیده بود (شکل ۲- B)، که در چنین شرایطی با توجه به گزارش‌های پیشین انتظار می‌رود دمای سطح میوه به بیش از ۵۰ درجه سلسیوس رسیده باشد، بنابراین رخداد آفتاب سوختگی میوه انار محتمل است.

کاهش آسیب و زیان آفتاب سوختگی در نتیجه کاربرد کائولین در انار (Yazici & Kaynak, 2009a; Gindaba & Weerakkody *et al.*, 2010)، سیب (Gindaba & Wand, 2005) و گوجه‌فرنگی (Cantore *et al.*, 2009) نیز پیشتر گزارش شده است. در واقع کاهش آسیب و زیان آفتاب سوختگی انار با کاربرد کائولین می‌تواند به واسطه کاهش دمای سطح میوه و افزایش انعکاس تشعشعات خورشیدی باشد.

#### ویژگی‌های کیفی مرتبط با طعم میوه

نتایج نشان داد که میزان TSS تحت تأثیر تیمار کائولین قرار گرفت، به گونه‌ای که TSS در تیمار ۱۰ درصد کائولین به طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد کاهش یافت، اما بین غلظت‌های ۲/۵ و ۵ درصد کائولین با شاهد تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. از سوی دیگر تیمار کائولین بر میزان pH، TA و TSS/TA اثر معنی‌داری نداشت (جدول ۱).

مجهز به آشکارساز UV-Visible بود. برای جداسازی از ستون Bondapack-C18 مدل (Waters 2487) به طول ۱۵۰ میلی‌متر و قطر ۴/۶ میلی‌متر با منافذی به اندازه ۱۰ میکرومتر استفاده شد. محاسبه غلظت با استفاده از روش استاندارد خارجی و با مقایسه زمان‌های بازداری آنتوسیانین‌های موجود در نمونه با استانداردهای خالص انجام گرفت (Miguel *et al.*, 2004). سپس با استفاده از سطح زیر منحنی هر آنتوسیانین، نوع و غلظت آنتوسیانین‌های موجود در آب انار تعیین شد. از حاصل جمع تک تک آنتوسیانین‌ها، آنتوسیانین کل محاسبه شد (Miguel *et al.*, 2004).

استخراج عصاره آنزیمی بر پایه روش Beauchamp & Fridovich (1971) صورت گرفت. سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD)<sup>۱</sup> به روش Cesar *et al.* (2010) و فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)<sup>۲</sup> به روش Chance & Maehly (1995) و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)<sup>۳</sup> با اندازه‌گیری توانایی این آنزیم در جلوگیری از کاهش فتوشیمیایی نیترو بلو تترازولیوم (NBT)<sup>۴</sup> (Giannopolitis & Ries, 1977) تعیین شد. فعالیت آنزیمی در نهایت بر حسب میکرومول بر ۱۰۰ گرم وزن تر آریل در دقیقه ( $\mu\text{Mol/g FW.min}$ ) بیان شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (V. 9.1) و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

## نتایج و بحث

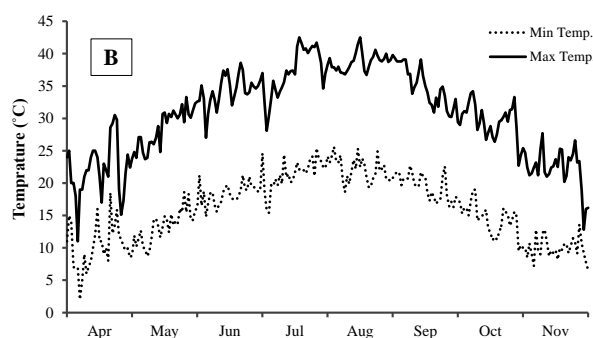
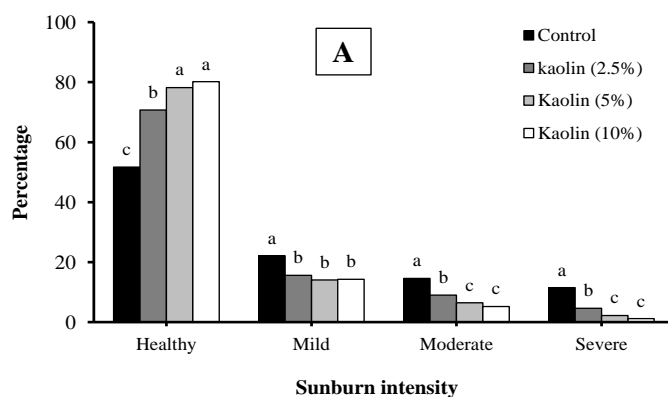
### آفتاب سوختگی میوه

نتایج نشان داد، کاربرد کائولین درصد آفتاب سوختگی میوه‌های انار رقم ملس ترش ساوه را به طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد کاهش داد (جدول ۱). بیشترین درصد آفتاب سوختگی میوه با میانگین ۴۸/۳ درصد از میوه‌های گروه شاهد و کمترین میزان با میانگین ۱۹/۸ درصد از تیمار ۱۰ درصد کائولین به دست آمد. همچنین شدت آفتاب سوختگی میوه با درجه‌های مختلف نیز در نتیجه کاربرد کائولین به طور معنی‌داری

1. Peroxidase
2. Catalase
3. Superoxide dismutases
4. Nitroblue tetrazolium

جدول ۱. تأثیر کائولین بر میزان آفتاب‌سوختگی و ویژگی‌های کیفی میوه انار رقم ملس ترش ساوه  
Table 1. The effect of kaolin treatment on sunburn and qualitative characteristics of pomegranate fruit cv. Malas-e-Torsh-e-Saveh

Kaolin (%)	Sunburn (%)	TSS (%)	TA (%)	TSS/TA	pH
0	48.3 a	17.8 a	1.44 a	12.4 a	3.43 a
2.5	29.2 b	17.1 ab	1.53 a	11.2 a	3.35 a
5	21.8 c	16.4 ab	1.45 a	11.3 a	3.46 a
10	19.8 c	15.9 b	1.50 a	10.7 a	3.52 a



شکل ۲. تأثیر کائولین بر شدت آفتاب‌سوختگی میوه انار رقم ملس ترش ساوه (A)، میانگین کمینه و بیشینه دمای روزانه در چرخه رشد و نمو میوه در منطقه ساوه (B).

Figure 2. The effect of kaolin treatment on sunburn intensity of pomegranate fruit cv. Malas-e-Torsh-e-Saveh (A), Mean of minimum and maximum daily temperatures during fruit development in Saveh region (B).

و pH میوه ایجاد نکرد (Cantore *et al.*, 2009). کاهش TSS که در نتیجه کاربرد کائولین رخ می‌دهد می‌تواند به دلیل افزایش اندازه میوه (Aly *et al.*, 2010)، تأخیر در بلوغ و رسیدن میوه (Glenn *et al.*, 2001)، تأخیر در تبدیل نشاسته به قند (Wand *et al.*, 2006) و کاهش جذب و ساخت (آسیمیلایون) دی‌اکسید کربن (Gindaba & Wand, 2005) باشد.

#### ترکیب‌های پاداکسندگی

میزان فنل کل آب انار با کاربرد کائولین به‌طور

در ارتباط با تأثیر کائولین بر ویژگی‌های کیفی میوه‌ها نتایج متفاوتی گزارش شده است. در سیب رقم کریپس پینک<sup>۱</sup> اثر معنی‌داری بر میزان TSS نداشت (Gindaba & Wand, 2005). در صورتی که در سیب رقم آنا<sup>۲</sup> میزان TSS را کاهش داد و با افزایش غلظت کائولین (۱، ۲ و ۳ درصد) درصد کاهش بیشتر بود، اما بر میزان TA تأثیری نداشت (Aly *et al.*, 2010). در گوجه‌فرنگی نیز تغییر معنی‌داری در میزان TSS، TA

1. Cripps Pink  
2. Anna

(Wand *et al.*, 2006) و انگور (Song *et al.*, 2012) کاربرد کائولین تأثیر معنی‌داری بر میزان فنل کل نداشت، اما در انار رقم رباب نیریز با کاربرد کائولین میزان فنل کل افزایش یافت (Ehteshami *et al.*, 2011). افزایش فنل کل در میوه‌های تیمارشده با کائولین شاید به دلیل تأخیر ایجادشده در بلوغ و رسیدن میوه باشد چراکه گزارش شده میزان ترکیب‌های فنلی در میوه‌های نابالغ بیشتر است و در طول فصل رشد به تدریج کاهش پیدا می‌کند (Kulkarni & Aradhya, 2005). از سوی دیگر غلظت کائولین، زمان کاربرد آن، شرایط آب و هوایی منطقه و رقم موردبررسی روی میزان ترکیب‌های بیوشیمیایی تأثیرگذار است (Weerakkody *et al.*, 2011; Gleen *et al.*, 2001).

معنی‌داری در مقایسه با شاهد افزایش یافت و در تیمار ۱۰ درصد کائولین به بیشترین میزان خود (۱۵۶/۶ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب‌میوه) رسید، اگرچه تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های ۵ و ۱۰ درصد کائولین مشاهده نشد (جدول ۲). برعکس، میزان فلاونوئید کل با افزایش غلظت کائولین کاهش یافت. کمترین میزان فلاونوئید کل از تیمار ۱۰ درصد کائولین با میانگین ۷۱/۹۳ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب‌میوه و بیشترین میزان آن با میانگین ۸۲/۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب‌میوه از میوه‌های گروه شاهد به دست آمد (جدول ۲). به‌طور کلی، اطلاعات کمی در زمینه تأثیر کائولین بر میزان فنل و فلاونوئید کل میوه‌ها وجود دارد. در انار رقم واندرفول (Weerakkody *et al.*, 2010)، سیب

جدول ۲. تأثیر کائولین بر میزان ترکیب‌های بیوشیمیایی و آنزیم‌های پاداکسندگی میوه انار رقم ملس ترش ساوه

Table 2. The effect of kaolin treatment on biochemical composition and antioxidant enzyme of pomegranate fruit cv. Malas-e-Torsh-e-Saveh

Kaolin (%)	Total phenol (mg/100 ml)	Total flavonoids (mg/100 ml)	Antioxidant activity (%DPPHsc)	Enzyme activity ( $\mu\text{mol}/100 \text{ g aril. min}$ )		
				SOD	POD	CAT
0	135.2 c	82.5 a	49.7 a	45.63 a	12.31 a	19.23 a
2.5	145.3 b	77.2 b	50.9 a	40.51 b	10.73 b	15.70 b
5	152.2 ab	73.3 bc	51.4 a	38.92 b	10.09 b	17.12 ab
10	156.6 a	71.9 c	51.2 a	38.03 a	10.17 b	14.63 b

حساس در ۳۵ درجه سلسیوس گزارش شده است. (Hasanuzzaman *et al.*, 2013). همچنین، در نارنگی انشو و پرتقال ناول در واکنش به دمای ۳۸ درجه سلسیوس تولید رادیکال سوپراکسید، غلظت پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم‌های SOD، APX، دهیدروآسکوربات ریداکتاز (DHAR) و CAT زیاد شد (Guo *et al.*, 2006). در این پژوهش به نظر می‌رسد کاربرد کائولین با کم کردن دمای سطح برگ و میوه انار باعث کاهش تولید گونه‌های فعال اکسیژن، تنش اکسایشی و به دنبال آن کاهش میزان فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی شده باشد.

#### نوع و میزان آنتوسیانین کل

میزان آنتوسیانین کل و نوع آنتوسیانین‌های میوه انار تحت تأثیر تیمار کائولین قرار گرفتند. آنتوسیانین‌های شناسایی شده در آب انار رقم ملس ترش ساوه به همراه میزان هر یک از آن‌ها در جدول ۳ نشان داده شد. میزان

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تیمار کائولین به‌طور معنی‌داری فعالیت آنزیم‌های SOD و POD را در مقایسه با شاهد کاهش داد و با افزایش غلظت کائولین میزان فعالیت این آنزیم‌ها بیشتر کاهش پیدا کرد، اما تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف کائولین مشاهده نشد (جدول ۲). همچنین غلظت‌های ۲/۵ و ۱۰ درصد کائولین به‌طور معنی‌داری فعالیت آنزیم CAT را کاهش داد، اما بین غلظت‌های مختلف کائولین و غلظت ۵ درصد کائولین با شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲).

آنزیم‌های پاداکسندگی در دامنه دمایی متفاوتی فعال می‌شوند و به‌طور معمول میزان فعالیت آن‌ها با افزایش دما زیاد می‌شود. از سوی دیگر میزان فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی بسته به مقاوم و یا حساس بودن رقم، مرحله رشد و فصل رشد متفاوت است. بیشترین فعالیت پاداکسندگی کل در رقم‌های مقاوم گندم در دمای ۴۰-۳۵ درجه سلسیوس و در رقم‌های

کمترین و بیشترین میزان آنتوسیانین کل با میانگین ۲۳۲/۳ و ۲۶۷/۷ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب از تیمار ۱۰ درصد کائولین و شاهد به دست آمد (جدول ۳).

آنتوسیانین کل در تیمار ۵ و ۱۰ درصد کائولین به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد کاهش یافت، اما تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف کائولین وجود نداشت.

جدول ۳. تأثیر کائولین بر نوع و میزان آنتوسیانین‌های مختلف انار رقم ملس ترش ساوه

Table 3. The effect of kaolin treatment on concentration and individual anthocyanins of pomegranate fruit cv. Malas-e-Torsh-e-Saveh

Kaolin (%)	Monoglucoside anthocyanins (mg/l)			Diglucoside anthocyanins (mg/l)			Total anthocyanins (mg/l)
	Dp <sup>1</sup>	Cy <sup>2</sup>	Pg <sup>3</sup>	Dp	Cy	Pg	
0	23.3 a	36.8 a	3.81 a	48.2 a	149.0 a	6.52 a	267.7 a
2.5	22.3 a	35.6 ab	3.74 a	44.1 b	141.8 ab	5.95 ab	251.5 ab
5	21.7 a	30.8 b	3.63 a	41.6 b	133.6 b	5.55 b	236.7 b
10	20.2 a	29.3 b	3.60 a	40.2 b	132.7 b	5.28 b	232.3 b

1. Dp: delphinidin; 2. Cy: Cyanidin; 3. Pg: pelargonidin.

۱. Dp: دلفینیدین؛ ۲. Cy: سیانیدین؛ ۳. Pg: پلارگونیدین.

در پژوهشی دیگر تغییری در میزان آنتوسیانین رقم‌های سیب مورد بررسی مشاهده نشد (Wand *et al.*, 2006). اما در انار رقم رباب نی‌ریز کاربرد کائولین میزان آنتوسیانین کل را به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد کاهش داد (Ehteshami *et al.*, 2011). نتایج این پژوهش نیز نشان داد که کائولین سبب کاهش معنی‌دار میزان آنتوسیانین کل، آنتوسیانین‌های دی‌گلوکوزیدی و سیانیدین ۳-گلوکوزید در مقایسه با شاهد شد که این کاهش می‌تواند به‌واسطه کاهش آسیمیلایسیون دی‌اکسید کربن (Gindaba & Wand, 2005) و کاهش کربوهیدرات‌ها (Wand *et al.*, 2006) که پیش‌ماده لازم برای ساخت آنتوسیانین‌ها هستند، باشد. از سوی دیگر نور ماوراءبنفش (UV) برای ساخت آنتوسیانین لازم است و می‌تواند با تنظیم بیان ژن‌های زیست‌ساخت (بیوسنتز) آنتوسیانین، میزان ساخت آنتوسیانین را تحت تأثیر قرار دهد (He *et al.*, 2010). به نظر می‌رسد که کائولین با کاهش نور UV رسیده به گیاه و تأثیر بر ژن‌های زیست‌ساخت آنتوسیانین، میزان آنتوسیانین را کاهش داده است.

#### نتیجه‌گیری کلی

کاربرد کائولین به‌طور فراوانی میزان آسیب و زیان آفتاب‌سوختگی میوه انار را در مقایسه با شاهد کاهش داد و بدین طریق کیفیت میوه انار و میزان میوه‌های بازاری پسند را بهبود بخشید. به نظر می‌رسد کائولین با کاهش دمای سطح میوه و تشعشعات خورشیدی دریافت‌شده توسط میوه‌ها، تنش گرمایی را کاهش داد.

نتایج نشان داد که میزان سیانیدین ۳-گلوکوزید، سیانیدین ۳و۵-دی‌گلوکوزید، دلفینیدین ۳و۵-دی‌گلوکوزید و پلارگونیدین ۳و۵-دی‌گلوکوزید به‌طور معنی‌داری در میوه‌های تیمار شده با کائولین در مقایسه با شاهد کاهش یافت، درحالی‌که تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف کائولین مشاهده نشد. همچنین مجموع آنتوسیانین‌های مونوگلوکوزیدی و دی‌گلوکوزیدی به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد کاهش یافتند. هرچند تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف کائولین از نظر میزان آنتوسیانین‌های مونوگلوکوزیدی مشاهده نشد، اما میزان آنتوسیانین‌های دی‌گلوکوزیدی در تیمار کائولین ۱۰ درصد به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد و تیمار ۲/۵ درصد کائولین کاهش یافت (جدول ۳).

آنتوسیانین غالب در انار ملس ساوه سیانیدین ۳و۵-دی‌گلوکوزید بود که با نتایج گزارش شده در شماری از رقم‌های انار ایرانی (Alighourchi *et al.*, 2008) همخوانی داشت. اما در انار رقم واندرفول<sup>۱</sup> (Gil *et al.*, 2000) سیانیدین ۳-گلوکوزید، در انار رقم آساریا<sup>۲</sup> دلفینیدین ۳-گلوکوزید (Miguel *et al.*, 2004) و در شماری دیگر از رقم‌های ایرانی (Mousavinejad *et al.*, 2009) دلفینیدین ۳و۵-دی‌گلوکوزید به‌عنوان آنتوسیانین غالب گزارش شدند.

گزارش‌های پیشین نشان داد که در سیب رقم آنا کاربرد کائولین باعث افزایش میزان آنتوسیانین پوست در مقایسه با شاهد شد (Aly *et al.*, 2010). درحالی‌که

1. Wonderful  
2. Assaria

چراکه میزان آنتوسیانین یکی از عامل‌هایی است که انتخاب مصرف‌کننده را تحت‌الشعاع قرار می‌دهد. اما در میزان شاخص بلوغ یا شاخص طعم میوه (TSS/TA) تغییر معنی‌داری مشاهده نشد. در مجموع کاربرد غلظت ۵ درصد کائولین سه نوبت طی فصل رشد برای جلوگیری از آسیب و زیان آفتاب‌سوختگی میوه انار مؤثر و سودمند بوده و توصیه می‌شود.

پایین بودن میزان فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی در میوه‌های تیمارشده با کائولین در مقایسه با شاهد می‌تواند نشان‌دهنده تنش دمایی کمتر و در نتیجه آفتاب‌سوختگی کمتر در این میوه‌ها باشد. میزان TSS و آنتوسیانین در نتیجه کاربرد کائولین اندکی کاهش یافت که با توجه به گزارش‌های ارائه‌شده در دیگر پژوهش‌ها می‌تواند به دلیل تأخیر در بلوغ میوه باشد و نیازمند بررسی بیشتر است.

## REFERENCES

- Alighourchi, H., Barzegar, M. & Abbasi, S. (2008). Anthocyanins characterization of 15 Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) varieties and their variation after cold storage and pasteurization. *European Food Research and Technology*, 227, 881-887.
- Aly, M., El-Megeed, N. A. & Awad, R. M. (2010). Reflective particle films affected on, sunburn, yield, mineral composition and fruit maturity of 'Anna' apple (*Malus domestica*) trees. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 6, 84-92.
- Beauchamp, C. & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: improved assays and applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44, 276-287.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28, 25-30.
- Cantore, V., Pace, B. & Albrizio, R. (2009). Kaolin-based particle film technology affects tomato physiology, yield and quality. *Environmental and Experimental Botany*, 66, 279-288.
- Chance, B. & Maehly, A.C. (1955). Assay of catalase and peroxidase. *Methods in Enzymology*, 2, 764-775.
- Ehteshami, S., Sarikhani, H. & Ershadi, A. (2011). Effect of kaolin and gibberellic acid application on some qualitative characteristics and reducing the sunburn in pomegranate Fruits (*Punica granatum*) cv. 'Rabab Neiriz'. *Plant Production Technology*, 3, 15-24. (in Farsi)
- Gil, M.I., Tomas-Barberan, F.A. Hess-Pierce, B. Holcroft, D.M. & Kader, A.A. (2000). Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 4581-4589.
- Gindaba, J. & Wand, S. (2005). Comparative effects of evaporative cooling kaolin particle film and shade net on sunburn and fruit quality in apples. *HortScience*, 40, 592-596.
- Glenn, D. M., Prado, E. Erez, A. McFerson, J. & Puterka, G. J. (2002). A reflective, processed-kaolin particle film affects fruit temperature, radiation reflection, and solar injury in apple. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 127, 188-193.
- Glenn, D.M., Putreka, G.J. Drake, S.R. Unruh, T.R. Knight, A.L. Baherle, P. Prado, E. & Baugher, T.A. (2001). Particle film application influence apple leaf physiology, fruit yield, and fruit quality. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 126, 175-181.
- Guo, Y.P., Zhou, H.F. & Zhang, L.C. (2006). Photosynthetic characteristics and protective mechanisms against photooxidation during high temperature stress in two citrus species. *Scientia Horticulturae*, 108, 260-267.
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Alam, M. Roychowdhury, R. & Fujita, M. (2013). Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 9643-9684.
- He, F., Mu, L., Yan, G. L., Liang, N. N., Pan, Q. H., Wang, J., Reeves, M. J. & Duan, C. Q. (2010). Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes. *Molecules*, 15, 9057-9091.
- Kulkarni, A. P. & Aradhya, S. M. (2005). Chemical changes and antioxidant activity in pomegranate arils during fruit development. *Food Chemistry*, 93, 319-324.
- Meighani, H., Ghasemnezhad, M. & Bakhshi, D. (2014). Evaluation of biochemical composition and enzyme activities in browned arils of pomegranate fruits. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 1, 53-65.
- Melgarejo, P., Mrtinez, J. J., Hernandez, F., Martinez-Font, R., Barrows, P. & Erez, A. (2004). Kaolin treatment to reduce pomegranate sunburn. *Scientia Horticulturae*, 100, 349-353.
- Miguel, G., Fontes, C., Antunes, D., Neves, A. & Martins, D. (2004). Anthocyanin concentration of 'Assaria' pomegranate fruits during different cold storage conditions. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 5, 338-342.



19. Mousavinejad, G., Emam-Djomeh, Z., Rezaei, K. & Haddad-Khodaparast, M.H. (2009). Identification and quantification of phenolic compounds and their effects on antioxidant activity in pomegranate juices of eight Iranian cultivars. *Food Chemistry*, 115, 1274-1278.
20. Parchomchuk, P. & Meheriuk, M. (1996). Orchard cooling with pulsed over tree irrigation to prevent solar injury and improve fruit quality of Jonagold apples. *HortScience*, 31, 802-804.
21. Singleton, V. L., Orthofer, R. & Lamuela-Raventós, R. S. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin- Ciocalteau Reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
22. Song, J., Shellee, K.C. Wang, H. & Qian, M.C. (2012). Influence of deficit irrigation and kaolin particle film on grape composition and volatile compounds in Merlot grape (*Vitis vinifera* L.). *Food Chemistry*, 134, 841-850.
23. Wand S. J. E., Theron, K. I., Ackerman, J. & Marais, S. J. S. (2006). Harvest and post-harvest apple fruit quality following applications of kaolin particle film in South African orchards. *Scientia Horticulturae*, 107, 271-276.
24. Weerakkody, P., Jobling, J., Infante, M. & Rogers, G. (2010). The effect of maturity, sunburn and the application of sunscreens on the internal and external qualities of pomegranate fruit grown in Australia. *Scientia Horticulturae*, 124, 57-61.
25. Yazici, K. & Kaynak, L. (2009a). Effects of kaolin and shading treatment on sunburn on fruit of Hicnazar cultivar of pomegranate (*Punica granatum* L. cv. Hicnazar). *Acta Horticulturae*, 818, 167-174.
26. Yazici, K. & Kaynak, L. (2009b). Effects of air temperature, relative humidity and solar radiation on fruit surface temperatures and sunburn damage in pomegranate (*Punica granatum* L. cv. Hicnazar). *Acta Horticulturae*, 818, 181-186.