

تأثیر محلول‌پاشی منابع و مقادیر مختلف کلسیم بر پوسیدگی انتهای گلگاه

(*Capsicum annuum* L.) میوه فلفل دلمه

آیگین جهانگیری^۱، شهرام کیانی^{۱*} و علیرضا حسین‌پور^۱

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۲/۱۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۵/۲۲)

چکیده

پوسیدگی انتهای گلگاه یکی از ناهنجاری‌های فیزیولوژیک مرتبط با کمبود کلسیم در میوه است که منجر به کاهش عملکرد و کیفیت میوه فلفل دلمه می‌شود. بروز این عارضه در گلخانه‌های تولید فلفل دلمه در شهرستان شهرضا همه ساله خسارت زیادی را به پرورش دهنگان این محصول وارد می‌کند. این پژوهش به منظور بررسی تأثیر محلول‌پاشی منابع و مقادیر مختلف کلسیم بر غلظت عناصر غذایی و پوسیدگی انتهای گلگاه میوه فلفل دلمه در سال ۱۳۹۲ در یک گلخانه در شهرستان شهرضا انجام شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه عامل نوع کود کلسیم، غلظت کلسیم و رقم فلفل دلمه و در سه تکرار انجام شد. نوع کود کلسیم شامل کلرید کلسیم ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) و نانوکلات کلسیم بود که هر کدام در سه غلظت کلسیم صفر (محلول‌پاشی با آب مقطر)، $1/8$ و $1/4$ گرم بر لیتر محلول‌پاشی شدند. عامل نوع رقم نیز شامل اینسپریشن (قرمز)، آرنکیا (نارنجی) و تورتو (زرد) بود. نتایج نشان داد که محلول‌پاشی کلرید کلسیم منجر به کاهش معنی‌دار پوسیدگی انتهای گلگاه میوه فلفل دلمه در مقایسه با تیمار شاهد شد. در این تیمار، ظهور پوسیدگی انتهای گلگاه میوه $20/3$ تا $44/9$ درصد در مقایسه با $45/5$ درصد تیمار شاهد بود. همچنین، شدت پوسیدگی انتهای گلگاه میوه $1/3$ تا $1/6$ در مقایسه با $2/1$ تیمار شاهد بود. دلیل این مسئله افزایش غلظت کلسیم و کاهش نسبت‌های Mg/Ca , N/Ca , K/Ca در میوه بود. در حالی که محلول‌پاشی کلسیم به شکل نانوکلات کلسیم بر ظهور و شدت این عارضه بی‌تأثیر بود. بر اساس نتایج این پژوهش، محلول‌پاشی مستقیم میوه‌ها با کلسیم (غلظت $1/8$ گرم بر لیتر) از منبع کلرید کلسیم به منظور کاهش پوسیدگی انتهای گلگاه میوه فلفل دلمه در شرایط مشابه این تحقیق قابل توصیه است.

کلمات کلیدی: ارقام فلفل، عناصر غذایی، کلرید کلسیم، نانوکلات کلسیم

مقدمه

و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۲۵). پوسیدگی انتهای گلگاه یکی از ناهنجاری‌های فیزیولوژیک است که منجر به کاهش عملکرد و تعداد میوه بازارپسند در فلفل دلمه می‌شود. بروز این عارضه، در بازش زیاد میوه‌های آن و همچنین منبع عالی رنگ‌های طبیعی

فلفل دلمه (*Capsicum annuum* L.) یکی از محصولات مهم باطنی است که نه تنها به خاطر ارزش اقتصادی بلکه به دلیل ارزش زیاد میوه‌های آن و همچنین منبع عالی رنگ‌های طبیعی

۱. گروه خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد
*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: shkiani2002@yahoo.com



شکل ۱. عارضه پوسیدگی انتهای گلگاه در میوه فلفل دلمه در طول فصل رشد و پس از برداشت در منطقه شهرضا

همکاران (۹) در محلولپاشی هفتگی گوجه فرنگی با کلرید کلسیم (۰/۱ مولار) گزارش کردند که عارضه پوسیدگی انتهای گلگاه تنها در اوایل دوره تولید کاهش یافت. بر اساس نظر این محققین، کاربرد کلسیم باید تنها در اوایل دوره تولید، که شدت تابش خورشید کم است، صورت گیرد. هو و وايت (۱۲) کاهش در ظهور پوسیدگی انتهای گلگاه در گوجه فرنگی را به واسطهٔ محلولپاشی میوه‌چهها با کلسیم گزارش کردند. لایبیش و همکاران (۱۷) در محلولپاشی ارقام مختلف گوجه‌فرنگی با غلطت‌های مختلف کلسیم و بور گزارش کردند که محلولپاشی کلسیم و بور به‌طور معنی‌داری ظهور پوسیدگی انتهای گلگاه را در گوجه‌فرنگی کاهش داد؛ در حالی که منجر به ایجاد ترک در میوه شد. راب و هاک (۱۹) در محلولپاشی گوجه‌فرنگی با سطوح مختلف کلسیم و بور گزارش کردند که کاربرد کلرید کلسیم به تنها یکی ظهور عارضه پوسیدگی انتهای گلگاه را کاهش داده است.

برای محلولپاشی کلسیم، ترکیبات مختلفی از قبیل کلات کلسیم (Ca-EDTA)، کلرید کلسیم (CaCl_2)، نیترات کلسیم (۱۶) و نانوکلات کلسیم وجود دارد. نانوکودها به منظور تنظیم رهاسازی عناصر غذایی، بسته به مقدار نیاز گیاهی ساخته شده، و گزارش‌های موجود حاکی از آنست که کارایی آنها در مقایسه

گلخانه‌های تولید فلفل دلمه در شهرستان شهرضا، همه ساله خسارت زیادی را به پرورش دهنده‌گان این محصول وارد می‌کند (شکل ۱). این عارضه منجر به کاهش عملکرد میوه (تا ۵۰٪)، به خصوص در فصل‌های گرم و خشک، می‌شود (۴). بر اساس تحقیقات انجام شده، کمبود موضعی کلسیم در بافت انتهایی میوه به عنوان عامل اولیه در بروز این عارضه معرفی شده است (۱۲). مسیر عمده برای انتقال کلسیم به میوه، انتقال مستقیم از ریشه‌ها به واسطهٔ آوندهای چوبی است (۱۰). جذب و انتقال کلسیم در گیاه وابستگی زیادی به میزان تعرق دارد. به همین دلیل، غلطت کلسیم در اندام‌های غیر تعرق‌کننده، مثل میوه‌ها، از اندام‌های تعرق‌کننده، نظیر برگ‌ها، کمتر است. دلیل دیگر برای کمبود کلسیم در میوه، انتقال کم آن در گیاه از بافت‌های بالغ به جوان است (۲۱).

یکی از راههایی که برای کاهش خسارت عارضه پوسیدگی انتهای گلگاه میوه پیشنهاد شده، محلولپاشی ترکیبات حاوی کلسیم است. اما زمانی این روش کارا است که محلولپاشی کلسیم به‌طور منظم روی میوه‌های جوان، تا قبل از ظهور علائم پوسیدگی انتهای گلگاه، صورت گیرد (۲۲). هو و همکاران (۱۱) نشان دادند که محلولپاشی مستقیم میوه‌های کوچک تأثیر معنی‌داری بر رفع پوسیدگی انتهای گلگاه در آن‌ها داشت. هاو و

تأثیر محلول پاشی منابع و مقادیر مختلف کلسیم بر پوسیدگی انتهای گلگاه ...

جدول ۱. نتایج برخی از ویژگی های فیزیکی و شیمیایی خاک گلخانه مورد مطالعه

قابلیت هدایت الکتریکی (dS/m)	پ-هاش ** معادل	کربنات کلسیم ماده آلی نیتروژن	رسور پتاسیم آهن منگنز روی مس	بافت خاک	قابل دسترس (mg/kg)											
					لوام	۰/۱۶	۳/۲	۱/۶	۵/۱	۲۰۰/۰	۱۰/۰	٪	۰/۰۸	۱/۲	۳۰/۰	۷/۵
در عصاره اشباع خاک، ** در سوپاپنسیون ۱ به ۲ خاک به آب مقطر																

۲۷/۲ درصد کلسیم) و کود نانوکلات کلسیم (حاوی ۷٪ کلسیم) بود که هر کدام در سه غلاظت کلسیم صفر (محلول پاشی با آب مقطر)، ۰/۹ و ۱/۸ گرم بر لیتر اعمال شدند. لازم به ذکر است که بر اساس پژوهش های انجام شده، کاربرد کلسیم با غلاظت ۱/۸ گرم بر لیتر از منبع کلرید کلسیم منجر به کاهش ظهور پوسیدگی انتهای گلگاه در گوجه فرنگی شده است (۱۲). همچنین، عامل رقم نیز شامل سه رقم فلفل دلمه ای با نام های اینسپریشن (Inspiration، آرنکیا Arenkia) (قرمز)، (زرد) بود. قبل از اجرای آزمایش، نارنجی) و تورنتو (Toronto، زرد) بود. در این تولید شده، حاوی ۷٪ کلسیم می باشد. این کود، به صورت پودری و کاملاً محلول در آب بوده و قابلیت مصرف از طریق محلول پاشی و مصرف خاکی را دارد. در بررسی منابع صورت گرفته، هیچگونه تحقیقی در ارتباط با اثر کاربرد نانوکلات کلسیم بر عارضه پوسیدگی انتهای گلگاه میوه فلفل دلمه مشاهده نشد. بر این اساس، و با توجه به ضرورت رفع مشکل پوسیدگی انتهای گلگاه در گلخانه های تولید فلفل دلمه در شهرستان شهرضا، تحقیق حاضر سعی دارد تا تأثیر استفاده از غلاظت های مختلف دو کود کلرید کلسیم و نانوکلات کلسیم را بر غلاظت عناصر غذایی و پوسیدگی انتهای گلگاه میوه در سه رقم فلفل دلمه مورد بررسی قرار دهد.

با کودهای معمول مورد استفاده در بخش کشاورزی بیشتر است (۱۸). نانوکودها با آزادسازی انتخابی عناصر غذایی در طول زمان و یا بر حسب شرایط محیطی، در کاهش آلودگی های زیست محیطی نقش مؤثری دارند. نانوکودهای گندها، با قابلیت کنترل رهاسازی عناصر غذایی، در بهبود کیفیت خاک از طریق کاهش آثار مخرب ناشی از مصرف بیش از حد کودهای شیمیایی مؤثر هستند (۲۴). نانوکلات کلسیم که به تازگی در ایران تولید شده، حاوی ۷٪ کلسیم می باشد. این کود، به صورت پودری و کاملاً محلول در آب بوده و قابلیت مصرف از طریق محلول پاشی و مصرف خاکی را دارد. در بررسی منابع صورت گرفته، هیچگونه تحقیقی در ارتباط با اثر کاربرد نانوکلات کلسیم بر عارضه پوسیدگی انتهای گلگاه میوه فلفل دلمه در مشاهده نشد. بر این اساس، و با توجه به ضرورت رفع مشکل پوسیدگی انتهای گلگاه در گلخانه های تولید فلفل دلمه در شهرستان شهرضا، تحقیق حاضر سعی دارد تا تأثیر استفاده از غلاظت های مختلف دو کود کلرید کلسیم و نانوکلات کلسیم را بر غلاظت عناصر غذایی و پوسیدگی انتهای گلگاه میوه در سه رقم فلفل دلمه مورد بررسی قرار دهد.

مواد و روش ها

این تحقیق به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه عامل منبع کود کلسیم، غلاظت کلسیم و نوع رقم در سه تکرار در گلخانه های واقع در منطقه وشاره در ۲۰ کیلومتری شهرضا روی گیاه فلفل دلمه انجام گرفت. عامل منبع کود شامل کود کلرید کلسیم دو آبه ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) حاوی

مورد نظر خیس شدند. به دلیل عدم بارگیری کلسیم در آوند آبکش و به تبع آن عدم تأثیر کلسیم برگ‌ها بر کلسیم میوه (۲۱)، برگ‌ها با کلسیم محلول‌پاشی نشدند. لازم به ذکر است که در تیمار شاهد (محلول‌پاشی آب مقطر) برای ایجاد شرایط یکسان هم از کود لاورسون (برای تنظیم پ-هاش) و هم مایع ظرفشویی (برای کاهش کشش سطحی) با غلظت‌های فوق الذکر استفاده شد.

پس از رسیدن و رنگ گرفتن میوه‌ها، برداشت به صورت هفتگی از اوایل مردادماه تا اوایل مهرماه ۱۳۹۲ صورت گرفت. برای محاسبه شاخص پوسیدگی انتهای گلگاه، از دو شاخص جداگانه به صورت همزمان استفاده شد. این دو شاخص عبارت بودند از: ۱- درصد میوه‌های مبتلا به پوسیدگی انتهای گلگاه که از تقسیم تعداد میوه‌های دارای عارضه به تعداد کل میوه‌ها در هر تیمار محاسبه شد (ظهور) و ۲- شدت عارضه پوسیدگی انتهای گلگاه از طریق رتبه‌بندی اندازه‌گیری گردید. بدین منظور، به میوه‌های فالل بر اساس شدت عارضه پوسیدگی انتهای گلگاه اعداد ۱ تا ۷ اختصاص داده شد (۶). رتبه‌بندی در این روش به صورت: $7 = ٪ ۱۰۰ - ٪ ۶ = ٪ ۷۴$ درصد، $5 = ٪ ۵۱ - ٪ ۷۵$ درصد، $3 = ٪ ۲۱ - ٪ ۵۰$ درصد، $2 = ٪ ۱۱ - ٪ ۲۰$ درصد، $1 = ٪ ۱ - ٪ ۰$ درصد و $0 = ٪ ۰$ انجام شد (۶). اعداد ذکر شده بر حسب درصد عبارتند از سطح عارضه سوختگی انتهای گلگاه به سطح کل آن میوه. به منظور بررسی ارتباط بین عناصر غذایی میوه با عارضه پوسیدگی انتهای گلگاه میوه، غلظت عناصر غذایی نیتروژن، پتاسیم، کلسیم و منزیم در میوه‌ها اندازه‌گیری شد. میوه‌ها با استفاده از مخلوط اسید سولفوریک، اسید سالیسیلیک و آب اکسیژنه هضم شده و غلظت عناصر غذایی پتاسیم، کلسیم و منزیم تعیین گردید. غلظت عناصر غذایی پتاسیم، کلسیم و منزیم میوه‌ها نیز پس از تهیه عصاره به روش خاکسترگیری خشک و ترکیب با اسید کلریدریک تعیین شد. پتاسیم با استفاده از دستگاه فلیم‌فтомتر و کلسیم و منزیم به روش تیتراسیون با EDTA اندازه‌گیری شدند (۱). نتایج حاصله توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ تجزیه و تحلیل شد و برای مقایسه و

غذایی، نسبت به مصرف ۵ تن در هکتار کود گاوی، ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار سوپرفسفات تریپل و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار سولفات پتاسیم اقدام شده و کودهای فوق با خاک به طور کامل مخلوط شدند.

بذرهای ارقام فلفل پس از سبز شدن در سینی نشا و در مرحله ظهور ۴ برگ حقیقی در ۹ اردیبهشت ۱۳۹۲ به زمین اصلی انتقال داده شدند، به طوری که فاصله بین خطوط کشت یک متر و فاصله بین بوته‌ها در هر ردیف نیز ۳۵ سانتی‌متر بود. سپس، مراقبت‌های زراعی معمول در حین دوره داشت در گلخانه شامل کنترل دما و رطوبت نسبی هوای داخل گلخانه، آبیاری و مبارزه با علف‌های هرز به صورت فیزیکی انجام شد. متوسط دمای روز و شب گلخانه به ترتیب ۳۲-۳۵ و ۱۵-۱۲ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی در محدوده ۶۵-۷۵ درصد قرار داشت. نوع سامانه آبیاری، قطره‌ای بود که در اوایل و اواخر دوره کشت (به ترتیب در اردیبهشت و مهرماه ۱۳۹۲) آبیاری یک روز در میان و در اواسط دوره کشت (تابستان ۱۳۹۲) هر روز صورت می‌گرفت. پس از این که بوته‌ها به اندازه کافی رشد کردند، توسط نخ‌های کنفی به قرقره‌هایی که روی قیمهای سیمی بالای هر ردیف تعییه شده بودند، بسته شدند. عمل هرس به صورت دو شاخه‌ای (V شکل) و هرس شاخه‌های فرعی به صورت مرتب انجام شد. پس از فندقی شدن میوه‌ها تا زمان برداشت، محلول‌پاشی مستقیم میوه‌ها با غلظت‌های مختلف کلسیم از هر دو کود کلرید کلسیم و نانوکلات کلسیم در فواصل هفتگی (مجموعاً ۱۲ مرتبه) انجام گردید. برای تهیه محلول‌های مورد نظر از آب مقطر استفاده شد. برای افزایش میزان جذب کلسیم و به منظور تنظیم پ-هاش محلول، با استفاده از کود لاورسون با غلظت ۰/۰۲ درصد حجمی، پ-هاش محلول روی ۷ تنظیم شد. کود لاورسون حاوی ۱۵٪ وزنی اوریک نیتروژن و ۴۰٪ وزنی ایندرات سولفوریک می‌باشد. همچنین، برای کاهش کشش سطحی آب، از مایع ظرفشویی با غلظت ۰/۵ در هزار استفاده شده و در هر نوبت محلول‌پاشی، فقط میوه‌ها به صورت کامل با محلول‌های

تأثیر محلول پاشی منابع و مقادیر مختلف کلسیم بر پوسیدگی انتهای گلگاه ...

جدول ۲. برهمکنش نوع کود با غلظت کلسیم و نوع رقم با غلظت کلسیم (میلی گرم بر گرم ماده خشک) میوه تمام رنگی ارقام فلفل دلمه

نانوکلات کلسیم						کلرید کلسیم			غلظت کلسیم (گرم بر لیتر)		
میانگین	آرنکیا	اینسپریشن	تورنتو	آرنکیا	اینسپریشن	تورنتو	آرنکیا	اینسپریشن	تورنتو	آرنکیا	
۰/۵۹B	۰/۵۳ef	۰/۶۰ef	۰/۴۰f	۰/۵۳ef	۰/۷۳C-f	۰/۷۳C-f	۰/۷۳C-f	۰/۷۳C-f	۰/۷۳C-f	۰/۷۳C-f	صفرا
۰/۶۷B	۰/۵۳ef	۰/۶۰ef	۰/۵۳ef	۰/۸۷a-d	۰/۶۷def	۰/۸۰b-e	۰/۸۰b-e	۰/۸۰b-e	۰/۸۰b-e	۰/۸۰b-e	۰/۹
۰/۹۷A	۰/۸۰b-e	۰/۶۰ef	۱/۰۰a-d	۱/۱۳ab	۱/۲۰a	۱/۰۷abc	۱/۰۷abc	۱/۰۷abc	۱/۰۷abc	۱/۰۷abc	۱/۸
۰/۶۲B						۰/۸۶A			میانگین نوع کود		
۰/۷۳A						۰/۷۳A			میانگین نوع رقم		

میانگین‌های با حداقل یک حرف مشابه در هر ستون و ردیف، فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ هستند. اثرهای اصلی با حروف بزرگ نشان داده شده است (آزمون LSD).

بر اساس نتایج این تحقیق، تأثیر غلظت ۱/۸ گرم بر لیتر کلسیم مصرفی در افزایش غلظت کلسیم میوه بیشتر بود. البته تفاوت‌هایی نیز در پاسخ ارقام مختلف فلفل دلمه نسبت به محلول پاشی هر دو کود مورد استفاده در غلظت‌های مختلف دیده می‌شود. تفاوت بین ارقام گوجه‌فرنگی در پاسخ به محلول پاشی کلسیم و بور در تحقیقات لاییش و همکاران (۱۷) نیز مشاهده شده است که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. اغلب تحقیقاتی که در مورد تأثیر محلول پاشی کودهای حاوی کلسیم بر غلظت کلسیم میوه صورت گرفته است حاکی از افزایش معنی‌دار غلظت کلسیم میوه در نتیجه محلول پاشی است که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد، به طوری که ریز و دریک (۲۰) در محلول پاشی گلابی با کودهای مختلف حاوی کلسیم گزارش کردند که در اثر محلول پاشی با کلرید کلسیم، غلظت کلسیم در پوست و گوشت میوه به طور معنی‌داری بیشتر از میوه‌های شاهد بود. دوماً‌گالا-سویاتکویز و بلازرسزیک (۷) در محلول پاشی نیترات کلسیم در هر دو سال اجرای آزمایش، محلول پاشی نیترات کلسیم در گلگاه انتهای افزایش داده است. غلظت کلسیم میوه را به طور معنی‌داری افزایش داده است. لاییش و همکاران (۱۷) در محلول پاشی ارقام مختلف گوجه‌فرنگی با غلظت‌های مختلف کلسیم و بور گزارش کردند که محلول پاشی منجر به افزایش معنی‌دار غلظت کلسیم در بخش‌های مختلف میوه هر دو رقم گوجه‌فرنگی مورد تحقیق

کلاسه‌بندی میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ استفاده شد.

نتایج و بحث

تأثیر محلول پاشی کلسیم بر غلظت کلسیم میوه
 نتایج تجزیه واریانس تیمارهای آزمایشی حاکی از آنست که تأثیر نوع کود کلسیم، برهمکنش نوع کود کلسیم با غلظت کلسیم، غلظت کلسیم با نوع رقم و برهمکنش نوع کود با غلظت کلسیم و نوع رقم در سطح ۵٪ آماری و تأثیر غلظت کلسیم در سطح ۱٪ آماری بر غلظت کلسیم میوه فلفل دلمه معنی‌دار شده است (جدول ۲). در رقم اینسپریشن، محلول پاشی کلسیم از منبع کلرید کلسیم با غلظت ۱/۸ گرم بر لیتر منجر به افزایش معنی‌دار غلظت کلسیم میوه فلفل دلمه به ترتیب به میزان ۶۴/۴ و ۷۹/۱ درصد در مقایسه با شاهد و سطح ۰/۹ گرم بر لیتر کلسیم شد (جدول ۲). به طور مشابه، در رقم آرنکیا، محلول پاشی کلسیم از منبع کلرید کلسیم با غلظت‌های ۰/۹ و ۱/۸ گرم بر لیتر منجر به افزایش معنی‌دار غلظت کلسیم میوه فلفل دلمه در مقایسه با شاهد به ترتیب به مقدار ۶۴/۲ و ۱۱۳/۲ درصد شد. در رقم تورنتو، محلول پاشی کلسیم از منبع نانوکلات کلسیم با غلظت ۱/۸ گرم بر لیتر منجر به افزایش معنی‌دار غلظت کلسیم میوه فلفل دلمه در مقایسه با شاهد به میزان ۱۵۰٪ شد (جدول ۲).

جدول ۲. تأثیر محلول‌پاشی نوع کود کلسیم و غلظت کلسیم بر نسبت‌های Mg/Ca، N/Ca و K/Ca میوه فلفل دلمه

Mg/Ca	K/Ca	N/Ca		
۷/۰B	۳۲/۹A	۱۹/۳B	کلرید کلسیم نانوکلات کلسیم	نوع کود کلسیم
۳/۳A	۲۵/۱B	۲۹/۱A		
۳/۵A	۳۶/۱A	۳۰/۹A	صفر	غلظت کلسیم (گرم بر لیتر)
۲/۷AB	۳۰/۹A	۲۵/۰A		
۱/۸B	۲۰/۲B	۱۶/۶B	۰/۹	
			۱/۸	

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون، قادر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ هستند (آزمون LSD).

نتایج تجزیه واریانس تیمارهای آزمایشی نشان داد که تأثیر نوع کود کلسیم و غلظت کلسیم در سطح ۵٪ آماری بر نسبت Mg/Ca میوه فلفل دلمه معنی‌دار گردیده است. نتایج نشان داد که محلول‌پاشی کلرید کلسیم منجر به کاهش معنی‌دار نسبت Mg/Ca میوه فلفل دلمه در مقایسه با محلول‌پاشی نانوکلات کلسیم به میزان ۳۹/۴ درصد شد. همچنین، محلول‌پاشی کلسیم با غلظت ۱/۸ گرم بر لیتر منجر به کاهش معنی‌دار نسبت Mg/Ca میوه فلفل دلمه در مقایسه با تیمار شاهد به میزان ۴۸/۶ درصد شد. اگرچه تفاوت معنی‌داری بین دو غلظت ۰/۹ و ۱/۸ گرم بر لیتر کلسیم از لحاظ تأثیر بر نسبت Mg/Ca میوه فلفل دلمه مشاهده نشد (جدول ۳).

تأثیر محلول‌پاشی کلسیم بر نسبت‌های عناصر غذایی در میوه از قبیل Mg/Ca، K/Ca، N/Ca و Mg/Ca مورد توجه پژوهشگران مختلفی قرار گرفته است. مطالعه این نسبت‌ها از آن جهت مهم است که مقادیر زیاد این نسبت‌ها احتمال بروز ناهنجاری‌های فیزیولوژیک را افزایش داده (۷ و ۱۶) و کاهش آنها عموماً منجر به ایجاد تأثیر مثبت بر کیفیت انبارداری میوه‌ها می‌شود. نسبت‌های K/Ca، N/Ca و Mg/Ca کم اغلب منجر به بهبود کیفیت انبارداری میوه شده و حساسیت کمتری به ناهنجاری‌های فیزیولوژیک را منجر می‌شود (۸). لانیوسکاس و همکاران (۱۶) گزارش کردند که غلظت زیاد کلسیم و نسبت K/Ca، N/Ca و Mg/Ca برای انبارداری مطلوب میوه سبب لازم است.

پژوهش‌های انجام شده حاکی از آنست که محلول‌پاشی کلسیم منجر به کاهش نسبت‌های فوق شده است. لانیوسکاس

شده است. کوتیناس و همکاران (۱۴) در محلول‌پاشی کیوی با کودهای تجاری حاوی کلسیم گزارش کردند که محلول‌پاشی منجر به افزایش معنی‌دار غلظت کلسیم در بافت میوه شده است.

تأثیر محلول‌پاشی کلسیم بر نسبت‌های K/Ca، N/Ca و Mg/Ca میوه

نتایج تجزیه واریانس تیمارهای آزمایشی نشان داد که تأثیر نوع کود کلسیم و غلظت کلسیم در سطح ۱٪ آماری بر نسبت N/Ca میوه فلفل دلمه معنی‌دار گردید. نتایج نشان داد که محلول‌پاشی کلرید کلسیم منجر به کاهش معنی‌دار نسبت N/Ca میوه فلفل دلمه در مقایسه با محلول‌پاشی نانوکلات کلسیم به مقدار ۳۳/۷ درصد شد. همچنین، افزایش غلظت کلسیم تا ۱/۸ گرم بر لیتر منجر به کاهش معنی‌دار نسبت N/Ca میوه فلفل دلمه در مقایسه با شاهد به مقدار ۴۶/۳ درصد شد (جدول ۳). نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای آزمایشی نشان داد که تأثیر نوع کود کلسیم در سطح ۵٪ آماری و غلظت کلسیم در سطح ۰/۹ آماری بر نسبت K/Ca میوه فلفل دلمه معنی‌دار گردید. نتایج نشان داد که محلول‌پاشی نانوکلات کلسیم منجر به کاهش معنی‌دار نسبت K/Ca میوه فلفل دلمه در مقایسه با محلول‌پاشی کلرید کلسیم به مقدار ۳۱/۱ درصد شد. همچنین، افزایش غلظت کلسیم تا ۱/۸ گرم بر لیتر منجر به کاهش معنی‌دار نسبت K/Ca میوه فلفل دلمه در مقایسه با تیمار شاهد و غلظت ۰/۹ گرم بر لیتر کلسیم به ترتیب به مقدار ۴۴/۰ و ۳۴/۶ درصد شد (جدول ۳).

تأثیر محلول پاشی منابع و مقادیر مختلف کلسیم بر پوسیدگی انتهای گلگاه ...

جدول ۴. برهمکنش نوع کود با غلظت کلسیم بر ظهور و شدت پوسیدگی انتهای گلگاه میوه فلفل دلمه

نوع کود	غلظت کلسیم (گرم بر لیتر)			
	صفر	۰/۹	۱/۸	میانگین نوع کود
ظهور پوسیدگی انتهای گلگاه میوه (%)				
۶۵/۵a	۴۴/۹b	۳۰/۳c	۴۶/۹B	کلرید کلسیم
۷۲/۰a	۶۴/۵a	۶۸/۸a	۶۸/۴A	نانوکلات کلسیم
۶۸/۸A	۵۴/۷B	۴۹/۶B	۴۶/۹B	میانگین غلظت کلسیم
شدت پوسیدگی انتهای گلگاه میوه				
۲/۱a	۱/۶bc	۱/۳c	۱/۷B	کلرید کلسیم
۲/۲a	۱/۹ab	۲/۰a	۲/۰A	نانوکلات کلسیم
۲/۲A	۱/۸B	۱/۷B	۱/۷B	میانگین غلظت کلسیم

میانگین های با حروف مشابه در هر ستون و ردیف برای هر شاخص، فاقد اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ هستند.
اثرهای اصلی با حروف بزرگ نشان داده است (آزمون LSD).

معنی دار گردید. نتایج مقایسه میانگین برهمکنش نوع کود با غلظت کلسیم نشان داد که محلول پاشی کلسیم از منبع کلرید کلسیم با غلظت های ۰/۹ و ۱/۸ گرم بر لیتر منجر به کاهش معنی دار ظهور پوسیدگی انتهای گلگاه میوه فلفل دلمه به ترتیب به مقدار ۳۱/۵ و ۵۳/۷ درصد در مقایسه با تیمار شاهد شد. در حالی که محلول پاشی کلسیم از منبع نانوکلات کلسیم تأثیر معنی داری بر ظهور پوسیدگی انتهای گلگاه میوه فلفل دلمه نداشته است. بر اساس نتایج حاصل، محلول پاشی کلسیم از منبع کلرید کلسیم با غلظت ۱/۸ گرم بر لیتر منجر به بروز کمترین ظهور پوسیدگی انتهای گلگاه در میوه فلفل دلمه (۳۰/۳ درصد) شد (جدول ۴).

نتایج تجزیه واریانس تیمارهای آزمایشی نشان داد که تأثیر نوع کود کلسیم، غلظت کلسیم و نوع رقم فلفل دلمه در سطح ۱٪ آماری و برهمکنش نوع کود با غلظت کلسیم در سطح ۵٪ آماری بر شدت پوسیدگی انتهای گلگاه میوه فلفل معنی دار گردید. نتایج مقایسه میانگین برهمکنش نوع کود با غلظت کلسیم نشان داد که محلول پاشی کلسیم از منبع کلرید کلسیم با غلظت های ۰/۹ و ۱/۸ گرم بر لیتر منجر به کاهش معنی دار شدت پوسیدگی انتهای گلگاه میوه فلفل دلمه به ترتیب به مقدار ۳۸/۱ و ۲۳/۸ درصد در مقایسه با شاهد شده است (جدول ۴).

و ویکلین (۱۵) در محلول پاشی کودهای حاوی کلسیم در سیب عنوان کردند که کمترین نسبت K/Ca در میوه با کاربرد کودهای کلسیم آزمایشی و کلرید کلسیم حاصل شد. دوماًگالا-سویاتکویز و بلازرسیک (۷) در محلول پاشی درختان سیب با کلسیم در فاصله زمانی ۳۰ روز قبل از برداشت عنوان کردند که نسبت های N/Ca و K/Ca در میوه در هنگام برداشت در نتیجه محلول پاشی اواخر دوره رشد به طور معنی داری کاهش یافت. لانایوسکاس و همکاران (۱۶) گزارش کردند که محلول پاشی کلسیم منجر به کاهش نسبت های Mg/Ca, K/Ca, N/Ca و Mg/Ca در میوه سیب شد؛ اگرچه تغییراتی در شاخص های کیفی میوه سیب دیده نشد. نتایج تمامی این پژوهش ها در تطابق با نتایج این پژوهش مبنی بر کاهش نسبت های Mg/Ca, K/Ca, N/Ca و Mg/Ca در میوه فلفل دلمه است.

تأثیر محلول پاشی کلسیم بر ظهور و شدت پوسیدگی انتهای گلگاه میوه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر نوع کود کلسیم، غلظت کلسیم و برهمکنش آنها با هم دیگر بر ظهور پوسیدگی انتهای گلگاه میوه فلفل در سطح ۱٪ آماری معنی دار شده است. در حالی که تأثیر نوع رقم بر شاخص فوق در سطح ۵٪ آماری

پاشی نیترات کلسیم با غلظت $0/8$ درصد در دوره قبل از برداشت، درصد ناهنجاری‌های فیزیولوژیک از قبیل لکه تلخی و پوسیدگی داخلی را کاهش داد، که دلیل این مسئله افزایش کلسیم و کاهش نسبت Ca/K میوه بود (۷).

بر اساس نتایج این پژوهش، محلول‌پاشی نانو کلات کلسیم تأثیر معنی‌داری بر کاهش پوسیدگی انتهای گلگاه میوه فلفل دلمه نداشت (جدول ۴). این در حالی است که محلول‌پاشی این کود در افزایش غلظت کلسیم در میوه در رقم تورنتو (جدول ۲) مؤثر بوده است. از طرف دیگر، محلول‌پاشی این کود در کاهش نسبت Ca/K میوه مؤثرتر از کلرید کلسیم بوده است (جدول ۳). این مسئله نشان می‌دهد که کلسیم محلول‌پاشی شده احتمالاً در فضای بین سلولی قرار گرفته و درگیر استحکام دواره سلولی و غشای سیتوپلاسمایی و به تبع آن کاهش پوسیدگی انتهای گلگاه میوه نشده است (۵). به طور مشابه، بوزو و کورتز (۵) در محلول‌پاشی کودهای کلسیم (نیترات کلسیم، کلات کلسیم و کلسیم آلی) در هندوانه چنین نتایجی را گزارش کردند که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد. عدم تأثیر محلول‌پاشی کلسیم بر پوسیدگی انتهای گلگاه میوه در تحقیقات دیگر پژوهشگران نیز مشاهده شده است. به طور مشابه، کاشی و همکاران (۱۳) عنوان کردند که کاربرد نیترات کلسیم به صورت تغذیه برگی، تأثیر چندانی بر کاهش پوسیدگی انتهای گلگاه هندوانه نداشته است.

نتایج این پژوهش نشان داد که محلول‌پاشی کلسیم از منبع کلرید کلسیم با غلظت‌های $0/9$ و $1/8$ گرم بر لیتر منجر به کاهش معنی‌دار پوسیدگی انتهای گلگاه میوه فلفل دلمه در مقایسه با تیمار شاهد شد. اگرچه تفاوت معنی‌داری بین 3 رقم فلفل دلمه از نظر پوسیدگی انتهای گلگاه میوه مشاهده نشد. در این بین، محلول‌پاشی با نانوکلات کلسیم تأثیر معنی‌داری بر پوسیدگی انتهای گلگاه میوه فلفل دلمه نداشته است. نکته مهمی که در این پژوهش می‌بایستی به آن توجه شود میزان نفوذ کوتیکولی نانوکلات کلسیم است. شونهر (۲۳) در مطالعه میزان نفوذ کوتیکولی نمک‌های کلسیم دریافت که میزان نفوذ کلسیم به

در این بین، تفاوت معنی‌داری بین دو غلظت $0/9$ و $1/8$ گرم بر لیتر کلسیم از منبع کلرید کلسیم از لحاظ تأثیر بر شدت پوسیدگی انتهای گلگاه میوه فلفل دلمه مشاهده نشد. بر مبنای نتایج حاصل، افزایش غلظت کلسیم از منبع نانوکلات کلسیم در محلول‌پاشی تا $1/8$ گرم بر لیتر منجر به ایجاد اختلاف معنی‌دار در شدت پوسیدگی انتهای گلگاه میوه فلفل دلمه در مقایسه با شاهد و غلظت $0/9$ گرم بر لیتر کلسیم از این کود نشد. نتایج نشان داد که محلول‌پاشی کلسیم از منبع کلرید کلسیم با غلظت $1/8$ گرم بر لیتر منجر به بروز کم‌ترین شدت پوسیدگی انتهای گلگاه در میوه فلفل دلمه (۱/۳) شد (جدول ۴).

نتایج این پژوهش نشان داد که محلول‌پاشی کلسیم از منبع کلرید کلسیم با غلظت‌های $0/9$ و $1/8$ گرم بر لیتر منجر به کاهش پوسیدگی انتهای گلگاه میوه فلفل دلمه گردید؛ اگرچه منجر به رفع کامل این عارضه نگردید. در این بین، محلول‌پاشی کلسیم از منبع کلرید کلسیم با غلظت $1/8$ گرم بر لیتر مؤثرتر از غلظت $0/9$ گرم بر لیتر آن بود (جدول ۴). کاهش عارضه پوسیدگی انتهای گلگاه میوه فلفل دلمه در نتیجه محلول‌پاشی کلسیم از منبع کلرید کلسیم را می‌توان به افزایش غلظت کلسیم Mg/Ca و K/Ca N/Ca و Ca میوه (جدول ۲) و کاهش نسبت‌های میوه (جدول ۳) نسبت داد. عمله پژوهش‌های انجام شده حاکی از آنست که محلول‌پاشی کلسیم منجر به کاهش ناهنجاری‌های فیزیولوژیک میوه از قبیل لکه تلخی، پوسیدگی انتهای گلگاه و لکه چوب پنبه‌ای شده است (۱۰ و ۲۲). بر اساس پژوهش‌های انجام شده، محلول‌پاشی هفتگی کلرید کلسیم با غلظت $0/1$ مولار منجر به کاهش ظهور پوسیدگی انتهای گلگاه میوه گوجه‌فرنگی شد (۹). در پژوهشی دیگر، محلول‌پاشی کلسیم و بور به طور معنی‌داری ظهور پوسیدگی انتهای گلگاه را در گوجه‌فرنگی کاهش داد (۱۷). همچنین، در محلول‌پاشی گوجه‌فرنگی با سطوح مختلف کلسیم و بور، مشخص شد که کاربرد کلرید کلسیم به تنها یکی با غلظت $0/6$ درصد، ظهور عارضه پوسیدگی انتهای گلگاه میوه را کاهش داده است (۱۹). در محلول‌پاشی درختان سیب با کلسیم، مشخص شد که محلول-

لیتر) بر غلظت عناصر غذایی و پوسیدگی انتهای گلگاه میوه سه رقم فلفل دلمه‌ای (اینسپریشن، آرنکیا و تورتو) در گلخانه‌ای واقع در منطقه شهرضا انجام گرفت. نتایج نشان داد که در رقم اینسپریشن، محلولپاشی کلرید کلسیم با غلظت ۱/۸ گرم بر لیتر منجر به افزایش معنی‌دار غلظت کلسیم میوه به ترتیب به میزان ۶۴/۴ و ۷۹/۱ درصد در مقایسه با شاهد و سطح ۰/۹ گرم بر لیتر کلسیم شد. در رقم آنکیا، محلولپاشی کلرید کلسیم با غلظت‌های ۰/۹ و ۱/۸ گرم بر لیتر منجر به افزایش معنی‌دار غلظت کلسیم میوه در مقایسه با شاهد به ترتیب به مقدار ۶۴/۲ و ۱۱۳/۲ درصد شد. در رقم تورتو، محلولپاشی نانوکلات کلسیم با غلظت ۱/۸ گرم بر لیتر منجر به افزایش معنی‌دار غلظت کلسیم میوه در مقایسه با شاهد به میزان ۱۵۰٪ شد. محلولپاشی کلرید کلسیم منجر به کاهش معنی‌دار نسبت N/Ca میوه در مقایسه با محلولپاشی نانوکلات کلسیم شد. محلولپاشی کلسیم منجر به کاهش نسبت‌های K/Ca, N/Ca, Mg/Ca در میوه گردید. محلولپاشی کلرید کلسیم با غلظت‌های ۰/۹ و ۱/۸ گرم بر لیتر منجر به کاهش معنی‌دار ظهور پوسیدگی انتهای گلگاه میوه به ترتیب به مقدار ۳۱/۵ و ۵۳/۷ درصد در مقایسه با تیمار شاهد شد. در حالی که محلولپاشی نانوکلات کلسیم تأثیر معنی‌داری بر ظهور پوسیدگی انتهای گلگاه میوه نداشته است. بر اساس نتایج حاصل، محلولپاشی کلرید کلسیم با غلظت ۱/۸ گرم بر لیتر منجر به بروز کمترین ظهور پوسیدگی انتهای گلگاه در میوه فلفل دلمه (۳۰/۳ درصد) گردید.

طور قابل توجهی تحت تأثیر میزان رطوبت اطراف کوتیکول و نم‌گیری (Hygroscopicity) نمک قرار دارد. نفوذ یون‌ها نیازمند حلالیت نمک است که این امر تحت تأثیر نقطه نم‌پذیری (point of deliquescence) نمک و رطوبت اطراف نمک باقیمانده قرار دارد. وی نتیجه‌گیری کرد که نمک‌های مناسب برای محلولپاشی می‌باشند نقطه نم‌پذیری پایین داشته باشند. نقطه نم‌پذیری کلرید کلسیم ۳۳٪ و نیترات کلسیم ۵۶٪ است. در حالی که نمک‌هایی که دارای نقطه نم‌پذیری بیش از ۹۰٪ هستند (از قبیل استات کلسیم، لاکات کلسیم و پروپینات کلسیم) برای تغذیه برگی مناسب نیستند، زیرا آنها در رطوبت نسبی نزدیک به ۱۰۰٪ نفوذ می‌کنند. بر این اساس، می‌باشند پژوهش‌های لازم برای تعیین میزان نفوذ کوتیکولی نانوکلات کلسیم صورت پذیرد.

با وجود تأثیر مثبت محلولپاشی کلسیم بر کاهش پوسیدگی انتهای گلگاه میوه فلفل دلمه، این عارضه به صورت کامل رفع نگردید. بدیهی است درجه موفقیت در این روش بر حسب زمینه طبیعی نشانه کمود، رقم و شرایط محیطی فرق می‌کند. بر اساس نتایج این پژوهش، محلولپاشی کلسیم با غلظت ۱/۸ گرم بر لیتر از منبع کلرید کلسیم برای کاهش عارضه پوسیدگی انتهای گلگاه در شرایط مشابه این تحقیق قابل توصیه است.

نتیجه‌گیری

این تحقیق به منظور بررسی تأثیر محلولپاشی کلرید کلسیم و نانوکلات کلسیم و غلظت کلسیم (صفر، ۰/۹ و ۱/۸ گرم بر

منابع مورد استفاده

۱. امامی، ع. ۱۳۷۵. روش‌های تجزیه گیاه. نشریه فنی شماره ۹۸۲، مؤسسه تحقیقات خاک و آب، تهران، ۲۰۲ ص.
۲. علی احیائی، م. و ع. ا. بهبهانی زاده. ۱۳۷۲. شرح روش‌های تجزیه شیمیایی خاک. نشریه فنی شماره ۸۹۳، مؤسسه تحقیقات خاک و آب، تهران، ۱۲۹ ص.
۳. همایی، م. ۱۳۸۱. واکنش گیاهان به شوری. کمیته ملی آبیاری و زهکشی ایران، تهران، ۹۷ ص.
4. Bar-Tal, A., B. Aloni, L. Karni and R. Rosenberg. 2001. Nitrogen nutrition of greenhouse pepper. I. Effects of nitrogen concentration and NO₃:NH₄ ratio on yield, fruit shape and the incidence of blossom-end rot in relation to plant mineral composition. HortSci. 36: 1244-1251.

5. Bouzo, C.A. and S.B. Cortez. 2012. Effect of calcium foliar application on the fruit quality of melon. *Revista de Investigaciones Agropecuarias* 38: 1-6
6. Capdeville, G.D., L.A. Maffia, F. Finger and U.G. Batista. 2005. Pre-harvest calcium sulfate applications affect vase life and severity of gray mold in cut roses. *Sci. Hort.* 103: 329-338.
7. Domagala-Swiatkiewicz, I. and J. Blaszczyk. 2009. Effect of calcium nitrate spraying on mineral contents and storability of 'Elise' apples. *Polish J. Environ. Stud.* 18: 971-976.
8. Guerra, M. and P.A. Casquero. 2010. Summer pruning: An ecological alternative to postharvest calcium treatment to improve storability of high quality apple cv. 'Reinette du Canada'. *Food Sci. Technol. Int.* 16: 343-350.
9. Hao, X., A.P. Papadopoulos, M. Dorais, D.L. Ehret, G. Turcotte and A. Gosselin. 2000. Improving tomato fruit quality by raising the EC of NFT nutrient solution and calcium spraying: Effects on growth, photosynthesis, yield and quality. *Acta Hort.* 511: 213-224.
10. Ho, L.C., R. Belda, M. Brown, J. Andrews and P. Adams. 1993. Uptake and transport of calcium and the possible cause of blossom-end rot in tomato. *J. Exp. Bot.* 44: 509-518.
11. Ho, L.C., R.I. Grange and A.J. Picken. 1987. An analysis of the accumulation of water and dry matter in tomato fruit. *Plant Cell Environ.* 10: 157-162.
12. Ho, L.C. and P.J. White. 2005. A cellular hypothesis for the induction of blossom-end rot in tomato fruit. *Ann. Bot.* 95: 571-581.
13. Kashi, A., H. Marschner and W. Kohen. 1982. Investigation in to blossom-end rot in watermelons. Implementation and Result of Joint Agricultural Research Project, Inter-University Cooperation: Berlin-Tehran.
14. Koutinas N., T. Sotiropoulos, A. Petridis, D. Almaliotis, E. Deligerorgis, I. Therios and N. Voulgarakis. 2012. Effect of preharvest calcium foliar sprays on several fruit quality attributes and nutrition status of the kiwifruit cultivar Tsechelidis. *HortSci.* 45: 984-987.
15. Lanauskas, J. and N. Kviklienė. 2005. Effect of calcium fertilizer sprays on storage quality of Shampion apples. *Hort. Veg. Grow.* 24: 20-28.
16. Lanauskas, J., N. Kviklienė, N. Uselis, D. Kviklys, L. Buskienė, R. Mažeika and G. Staugaitis. 2012. The effect of calcium foliar fertilizers on cv. Ligol apples. *Plant Soil Environ.* 58: 465-470.
17. Liebisch, F., J. Max, G. Heine and W. Horst. 2009. Blossom-end rot and fruit cracking of tomato grown in net-covered greenhouses in central Thailand can partly be corrected by calcium and boron sprays. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 172: 140-150.
18. Liu, X., Z. Feng, S. Zhang, J. Zhang, Q. Xiao and Y. Wang. 2006. Preparation and testing of cementing nano-subnano composites of slow or controlled release of fertilizers. *Sci. Agric. Sin.* 39: 1598-1604.
19. Rab, R. and I. Haq. 2012. Foliar application of calcium chloride and borax influences plant growth, yield and quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruit. *Tur. J. Agric.* 36: 695-701.
20. Raese, J.T. and S.R. Drake. 1993. Effects of preharvest calcium sprays on apple and pear quality. *J. Plant Nutr.* 16: 1807-1819.
21. Saure, M.C. 2005. Calcium translocation to fleshy fruit: Its mechanism and endogenous control. *Sci. Hort.* 105: 65-89.
22. Schmitz-Eiberger, M., R. Haefs and G. Noga. 2002. Calcium deficiency influence on the antioxidative defense system in tomato plants. *J. Plant Physiol.* 159: 733-742.
23. Schonherr, J. 2001. Cuticular penetration of calcium salts: Effect of humidity and adjuvants. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 164: 225-231.
24. Suman, P.R., V.K. Jain and A. Varma. 2010. Role of nano materials in symbiotic fungus growth enhancement. *Sci. Cor.* 99: 1189-1191.
25. Topaz, A. and F. Ozdem. 2007. Assessment of carotenoids, capsaicinoids and ascorbic acid composition of some selected pepper cultivars (*capsicum annuum* L.) grown in Turkey. *J. Food Comp. Anal.* 20: 596-602.