

تأثیر ترکیدگی پوست نرم میوه در آلودگی پسته به آفلاتوکسین و حشرات

The influence of hull cracking on Aflatoxin contamination and
insect infestation in pistachio nuts

محمدرضا مهرنژاد و بهمن پناهی

مؤسسه تحقیقات پسته کشور، رفسنجان

(تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۸۲، تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۸۴)

چکیده

آلودگی پسته به آفلاتوکسین و حشرات در دو گروه میوه پسته شامل پسته‌های زودخندان که معمولاً در مرحله قبل از رسیدن میوه بوجود می‌آیند و میوه‌هایی که بعد از مرحله رسیدن در پوست رویی (pericarp) آن‌ها ترکیدگی ایجاد می‌شود در شرایط باغ‌های پسته رفسنجان بررسی شد. پیدایش ترکیدگی در پوست نرم پسته (hull) یک پدیده عمومی در میوه‌های پسته در مرحله بعد از رسیدن تشخیص داده شد. این نوع میوه‌ها منشاء مهم آلودگی میوه پسته به آفلاتوکسین و حشرات می‌باشند. آلودگی به آفلاتوکسین در میوه‌های پسته زودخندان محرز بود. لیکن در تمام نمونه‌های متعلق به میوه‌های رسیده با پوست رویی ترکدار اعم از دارای آلودگی به حشرات یا بدون آلودگی به حشرات آفلاتوکسین در حد بالایی یافت شد. بر اساس نتایج این تحقیق، شب‌پره خرنوب (*Apomyelois ceratoniae*)، تریپس (*Liothrips austriacus*) و مورچه‌ها (دو گونه ناشناخته) فقط از محل شکاف پوست رویی و میانی پسته (Mesocarp) در مرحله قبل و بعد از رسیدن میوه وارد آن می‌شدند. اما کرم میوه‌خوار پسته (*Recurvaria pistaciicola*) و شب‌پره پوستخوار میوه پسته (*Arimania komaroffi*) قادر به خسارت به پوست رویی پسته بودند و از مرحله قبل از رسیدن میوه به آن حمله می‌کردند.

صدمه پرندگان به میوه پسته نیز شرایط مساعد را برای آلودگی پسته به آفاتوکسین و حشرات بوجود می‌آورد. ترکیدگی در پوست روی میوه‌های رسیده در فاصله کوتاهی پس از رسیدن میوه ایجاد و توسعه می‌یافت. بنابراین توصیه می‌شود محصول پسته بلافاصله بعد از بلوغ فیزیولوژیکی میوه برداشت شود. در این مقاله ارتباط روند رسیدن میوه پسته و ایجاد ترکیدگی در پوست روی آن با تولید آفاتوکسین و آلودگی به حشرات به تفصیل بحث شده است. واژه‌های کلیدی: پسته، ترکیدگی میوه پسته، آفات پسته، آفاتوکسین، کفک‌ها، زمان برداشت، صدمه حشرات، پرندگان.

مقدمه

پسته به عنوان یک بستر مناسب برای رشد گونه‌های متعدد کپک‌ها از جمله *Aspergillus parasiticus* Speare و *Aspergillus flavus* Link:Fr شناخته شده است (Sommer et al., 1976; Denizel, 1977; Danesh et al., 1979; Mahoney & Rodriguez, 1996). علاوه بر پسته سایر میوه‌های مغزدار (nuts) نظیر بادام، گردو، فندق و بلوط، همچنین محصولاتی مانند انجیر، خرما، بذرها، غلات، بادام زمینی و پنبه در مرحله قبل و بعد از برداشت به کپک‌ها آلوده می‌شوند (Stephenson & Russell, 1974; Thomson & Mehdy, 1978; Jones et al., 1981; Doster & Michailides, 1994; Zhang et al., 1997; Rachaputi et al., 2002). اسپور این قارچ‌ها در هوا، خاک و محیط‌های کشاورزی وجود دارد (Campbell et al., 2003). رشد و توسعه قارچ‌های *A. parasiticus* و *A. flavus* بر روی محصولات غذایی، موجب تولید آفاتوکسین در این مواد می‌گردد. آفاتوکسین مشکلات جدی برای سلامتی انسان و حیوانات بوجود می‌آورد (Diener et al., 1987; Pier & Richard, 1992; Doster & Michailides, 1994).

پوست نرم میوه پسته (hull) شامل پوست رویی (pericarp) و پوست میانی (mesocarp) نقش بسیار حیاتی در حفظ مغز برای جلوگیری از آلودگی آن به کپک‌ها و حشرات ایفا می‌کند. این موضوع خصوصاً بعد از رسیدن میوه پسته که معمولاً در پوست استخوانی (shell) ترکیدگی (خندانی) پدیدار می‌گردد اهمیت دارد. در میوه پسته از زمان رشد مغز تا مرحله بعد از رسیدن میوه دو نوع ترکیدگی در پوست نرم آن بوجود می‌آید: نوع اول، پدیده زودخندانی (early splitting) نام دارد که پوست نرم در راستای محل خندانی پوست استخوانی می‌ترکد. این

حالت عموماً در میوه‌های نارس دیده می‌شود، اصطلاحاً این گروه از میوه‌های پسته atypical نام دارند (Doster & Michailides, 1994, 1995a). در نوع دوم، ترکیب‌های مختلف پوست رویی ایجاد می‌شود. این نوع ترکیب‌های در میوه‌های طبیعی (normal nuts) بعد از مرحله بلوغ فیزیولوژیکی (physiological maturity) و رسیدن میوه بوجود می‌آید (Crane, 1978; Doster & Michailides, 1995b). پدیده زودخندانی بعنوان عامل مهم در فراهم آوردن شرایط آلودگی پسته به آفلاتوکسین شناخته شده است (Sommer et al., 1986). در عین حال محققین معتقدند پسته‌هایی که ترکیب‌های و شکاف در پوست رویی آن‌ها وجود دارد علاوه بر گونه‌های متعدد کپک‌ها به حشرات نیز آلوده می‌شوند (Rice et al., 1988; Doster & Michailides, 1999). از طرف دیگر خسارت پرندگان به میوه پسته موجب پاره شدن پوست رویی آن می‌گردد (Salmon et al., 1986) و این قبیل میوه‌ها نیز شرایط مساعد برای آلودگی به کپک‌ها را دارند.

در کالیفرنیا کرم ناف پرتقال^۱، *Amyelois transitella* (Walker) به عنوان یک آفت عمده پسته شهرت دارد (Rice, 1978; Rice et al., 1988). این حشره در پسته‌هایی که پوست رویی آن‌ها صدمه یا پارگی دارد تخم‌گذاری می‌کند و لارو حشره از مغز پسته تغذیه می‌نماید. تحقیقات Sommer et al. (1986) نشان داد که فراوانی میوه‌های پسته آلوده به آفلاتوکسین در پسته‌هایی که آلودگی به کرم ناف پرتقال دارند متداول‌تر است. این محققین اظهار نمودند که آفلاتوکسین در میوه‌های با پوست رویی ترک‌دار و پاره شده وجود دارد اما در میوه‌های آلوده به کرم ناف پرتقال مقدار آن بیشتر است. در پسته‌کاری‌های ایران کرم ناف پرتقال وجود ندارد اما حشره دیگری به نام شب‌پره خرنوب^۲، *Apomyelois (=Ectomyelois) ceratoniae* (Zeller) رفتار تخم‌گذاری و خسارت مشابه با کرم ناف پرتقال به عنوان یک آفت در مرحله رسیدن میوه پسته و پس از آن به این محصول حمله می‌کند (Mehrnejad, 1993). علاوه بر شب‌پره خرنوب، چند حشره دیگر بر روی میوه پسته زندگی می‌کنند اما نقش و جایگاه آن‌ها در گسترش آلودگی آفلاتوکسین در پسته مطالعه نشده است. بر اساس منابع موجود، در ایران پسته‌های زودخندان (Tadj-abadi, 1999; Abosaidi et al., 2000; Tadj-abadi et al., 2004) بعنوان

۱- Navel Orangeworm

۲- Carob Moth

عامل اصلی آلودگی آفلاتوکسین شناخته شده‌اند و به نقش عوامل دیگر از جمله ایجاد ترکیدهای متعددی بر روی میوه پسته که بعد از مرحله رسیدن آن بوجود می‌آید کمتر توجه شده است.

در کالیفرنیا (Doster & Michailides (1994 وجود آفلاتوکسین را در پسته‌هایی که دیر برداشت شده بود گزارش و عنوان نمودند در پسته‌هایی که به موقع برداشت شدند و در پوست رویی آن‌ها ترکیدهای وجود نداشت آلودگی به آفلاتوکسین یافت نشد. بر اساس منابع موجود در کالیفرنیا ایجاد شکاف در پوست رویی میوه پسته بعد از مرحله رسیدن میوه شیوع ندارد و این موضوع می‌تواند بدلیل خصوصیات رقم پسته، شرایط اقلیمی و نحوه مدیریت باغ در آن مناطق باشد. اما در ایران پیدایش ترکیدهای متعددی در پوست رویی میوه و متعاقب آن شکاف و پاره پاره شدن پوست نرم بعد از مرحله رسیدن میوه بسیار متداول است.

تحقیق حاضر به منظور بررسی موضوع ایجاد ترکیدهای و شکاف در پوست رویی پسته از زمان رسیدن میوه و پس از آن بعنوان عامل مهم در فراهم شدن شرایط مساعد برای آلودگی پسته به کپک‌ها و حشرات و نتیجتاً تولید آفلاتوکسین در محصول پسته طراحی شده است. بدین منظور رابطه ایجاد ترکیدهای در پوست رویی پسته با آلودگی آن به آفلاتوکسین و حشرات در دو سال متوالی در شرایط باغ‌های پسته رفسنجان بررسی شد. در این مقاله به نقش حشرات از دیدگاه ایجاد صدمه به پوست رویی پسته و ایجاد منافذ مناسب برای ورود کپک‌ها به داخل میوه و متعاقباً فراهم نمودن شرایط مناسب در داخل میوه برای تولید آفلاتوکسین توجه شده است. همچنین ارتباط تولید آفلاتوکسین با روند رسیدن میوه بحث شده است.

روش بررسی

نمونه برداری در یک باغ پسته رقم اوحدی با درختان ۲۰ ساله و سیستم کشت ردیفی به مساحت ۱/۵ هکتار انجام شد. محل نمونه برداری برای دو سال این تحقیق ثابت بود. باغ دارای پوشش گیاهی پراکنده از گونه‌های گیاهی خار شتر (*Alhagi camelorum* Fisch) و مرغ (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) بود و به روش غرقابی به فاصله حدود ۴۰ روز آبیاری می‌شد. مدیریت باغبانی آن از قبیل عملیات کوددهی، هرس و کنترل آفات در حد عرف منطقه پسته‌کاری رفسنجان انجام می‌شد.

نمونه برداری بعد از ۲۵ مرداد در هر سال شروع گردید. در این تاریخ بلوغ فیزیولوژیکی میوه با مشخصه‌های تعریف شده بوسیله Crane (1978) (مانند تغییر رنگ در پوست سبز میوه، نرم بودن و جدا شدن آن از پوست استخوانی) در حداقل ۵ درصد میوه‌ها آغاز شده بود. دوره نمونه برداری تا ۲۸ آبان به فاصله ۸ و ۱۰ روز ادامه داشت. در هر نوبت نمونه برداری حدود ۵ کیلوگرم پسته بطور تصادفی از درختان چیده شد و در پاکت نایلونی به آزمایشگاه منتقل گردید. در آزمایشگاه بلافاصله دانه‌های پسته دسته‌بندی، شمارش و پوست‌گیری آن‌ها با دست انجام شد.

ابتدا میوه‌های زودخندان جدا شدند، سپس میوه‌های پسته به دو گروه اصلی پسته رسیده و نارس تقسیم شدند. میوه‌های رسیده به چهار گروه، میوه‌های با پوست رویی سالم، میوه‌های با پوست رویی ترکدار، میوه‌های صدمه دیده و آلوده به حشرات و میوه‌های صدمه دیده بوسیله پرندگان (گنجشک) دسته‌بندی و از یکدیگر جدا شدند. پس از پوست‌گیری، پسته‌های هر گروه در داخل سبد پلاستیکی بزرگ تحت اثر اشعه مستقیم آفتاب خشک شدند. سپس در کیسه‌های پلاستیکی به انضمام مشخصات نمونه به فریزر (-10°C) منتقل شدند.

در این بررسی میوه‌های پسته آلوده به حشرات و پسته‌هایی که علائم خسارت بوسیله حشرات در آن‌ها وجود داشت در چهار نوبت به فاصله حدود یک ماه بطور جداگانه معاینه شدند. در این بررسی نوع حشره خسارتزا و یا به عبارت دیگر نوع صدمه و ارتباط آن با حشرات آفت مورد توجه قرار گرفت و فراوانی هر یک از حشرات در نمونه پسته‌های آلوده و خسارت دیده بوسیله حشرات تعیین گردید. بدین ترتیب تنوع حشراتی که در مرحله قبل از رسیدن میوه و پس از آن به پسته حمله می‌کنند مشخص گردید و روند افزایش یا کاهش آلودگی میوه پسته به هر یک از آن‌ها نیز بدست آمد.

استخراج آفلاتوکسین از مغز پسته بر اساس روش توصیف شده بوسیله Stroka *et al.* (1999 & 2000) انجام شد. اندازه‌گیری آفلاتوکسین در عصاره بوسیله HPLC برای نمونه‌های سال ۱۳۸۱ و بوسیله TLC SCANNER برای نمونه‌های سال ۱۳۸۲ انجام گردید. به منظور تجزیه نمونه بوسیله HPLC ابتدا ۵۰ گرم از نمونه پسته آسیاب شد، سپس ۵ گرم کلرید سدیم و ۲۰۰ میلی‌لیتر متانول-آب ۸۰٪ و همچنین ۱۰۰ میلی‌لیتر n-هگزان به آن افزوده گردید. این مخلوط به مدت ۴۵ - ۳۰ دقیقه بوسیله دستگاه شیکر (shaker) تکان داده شد و

سپس از کاغذ صافی عبور داده شد. در این مرحله ۱۰ میلی‌لیتر از فاز متانولی آن به ۶۰ میلی‌لیتر محلول بافر pbs افزوده گردید و از ستون ایمونوآفینیتی بدین ترتیب عبور داده شد:

- ۱- ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر pbs از ستون IAC عبور داده شد، ۲- عصاره رقیق شده (۷۰ میلی‌لیتر) عبور داده شد، ۳- شستشوی ستون با ۱۵ میلی‌لیتر آب دیونیزه، ۴- خشک کردن ستون، ۵- نیم میلی‌لیتر متانول گرادیانته گرید ۹۹/۹ افزوده گردید، ۶- یک دقیقه تأمل شد، ۷- ۰/۷۵ میلی‌لیتر متانول گرادیانته گرید به ستون افزوده گردید و سپس تمام آن از ستون عبور داده شد. به منظور تجزیه نمونه بوسیله TLC ابتدا ۵۰ گرم از نمونه پسته آسیاب شد، سپس ۵ گرم کلرید سدیم و ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول متانول-آب ۸۰٪ و همچنین ۱۰۰ میلی‌لیتر n-هگزان به آن افزوده گردید. این مخلوط به مدت ۴۵-۳۰ دقیقه بوسیله دستگاه شیکر تکان داده شد و سپس از کاغذ صافی عبور داده شد. در این مرحله ۲۰ میلی‌لیتر از فاز متانولی آن به ۱۵۰ میلی‌لیتر محلول بافر pbs افزوده گردید و پس از تکان دادن مجدداً از کاغذ صافی (فیبر شیشه‌ای) عبور داده شد. در این مرحله به ترتیب زیر عمل شد:

ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر pbs از ستون عبور داده شد، سپس ۷۵ میلی‌لیتر عصاره متانولی از ستون عبور داده می‌شود (بر اساس سرعت یک میلی‌لیتر بر دقیقه) و متعاقباً بترتیب ۱۰-۱۵ میلی‌لیتر حلال شستشو و ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه از ستون عبور داده شد.

نتیجه و بحث

بر اساس نتایج این تحقیق ترکیدگی پوست رویی میوه پسته در بعد از مرحله رسیدن میوه نقشی مهم در آلودگی پسته به آفلاتوکسین دارد. این بررسی نشان داد رسیدن میوه از اواخر مرداد شروع می‌شود و به فاصله حدود ۱۰ روز به ۶۵ تا ۷۰ درصد می‌رسد (جدول‌های ۱ و ۲)، سپس سرعت رسیدن میوه کندتر می‌گردد اما فراوانی میوه‌های رسیده که پوست رویی آن‌ها ترکیدگی دارد بسرعت افزایش می‌یابد (جدول‌های ۱ و ۲). همزمان با ایجاد ترکیدگی در پوست رویی میوه پسته مسیر ورود و رشد کپک‌ها در میوه فراهم می‌شود و مضافاً چندین گونه حشره بداخل آن نفوذ می‌کنند. در این مطالعه موضوع پسته‌های زودخندان که در مرحله قبل از رسیدن میوه بوجود می‌آیند با میوه‌هایی که بعد از مرحله رسیدن در پوست رویی آن‌ها ترکیدگی ایجاد می‌شود بطور مجزا مورد بررسی قرار گرفت. پسته‌های زودخندان عمدتاً در

مرحله قبل از رسیدن میوه بوجود آمدند و فراوانی این گروه بسیار کمتر از میوه‌هایی بود که بعد از مرحله رسیدن در پوست رویی آن‌ها ترکیدگی ایجاد می‌شود (جدول‌های ۱ و ۲). مقدار آفلاتوکسین در این گروه از میوه‌ها بالاتر از سایر پسته‌های مورد مطالعه بود (جدول ۵).

نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد موضوع آلودگی آفلاتوکسین در میوه‌های رسیده پسته با پوست ترکدار ابعاد بسیار وسیعی دارد در این گروه از میوه‌ها اعم از آلوده به حشرات یا فاقد آلودگی به حشرات مقدار بسیار بالایی آفلاتوکسین وجود دارد (جدول ۵). در بررسی سال ۱۳۸۱ مقدار آفلاتوکسین B₁ در میوه‌های پسته با پوست رویی ترکیده ۲۹۴ ng/g بدست آمد. اما در میوه‌های پسته که آلودگی به حشرات داشتند مقدار این نوع آفلاتوکسین ۳۱۲ ng/g بود و تفاوت آن‌ها معنی‌دار نبود. در حالیکه مقدار آفلاتوکسین کل در میوه‌های پسته آلوده به حشرات بطور معنی‌دار بیش از میوه‌های پسته با پوست رویی ترکیده بود (جدول ۵). در سال ۱۳۸۲ وضعیت آلودگی آفلاتوکسین در میوه‌های پسته با پوست رویی ترکیده و میوه‌های آلوده به حشرات تفاوت معنی‌دار نداشت (جدول ۵).

این مطالعه نشان داد چندین گونه حشره در مرحله قبل و بعد از رسیدن پسته به میوه آن حمله می‌کنند. این حشرات به داخل میوه پسته نفوذ و در قسمت‌های مختلف آن از قبیل پوست میانی یا مغز (kernel) زندگی می‌کنند.

- ۱- شب‌پره خرنوب (carob moth) (*Apomyelois (=Ectomyelois) ceratoniae* (Zeller), (Lepidoptera: Pyralidae)
- ۲- کرم میوه‌خوار پسته (pistachio fruit moth) (*Recurvaria pistaciicola* Danil., (Lepidoptera: Gelechiidae)
- ۳- پروانه پوستخوار میوه پسته (pistachio fruit hull borer) (*Arimania komaroffi* Ragonot, (Lepidoptera: Pyralidae)
- ۴- تریپس (*Liothrips austriacus* (Karny), (Thysanoptera: Phlaeothripidae), (thrips)
- ۵- مورچه، دو گونه (شناسایی نشد).

جدول ۱- فراوانی نسبی (٪) میوه‌های پسته با پوست نرم سالم، ترک‌دار و صدمه دیده بوسیله حشرات و پرندگان در طول دوره ۱۰ هفته نمونه‌برداری در یک باغ پسته، رفسنجان، ۱۳۸۱

Table 1- Relative abundance (%) of pistachio fruits with hulls of different appearance and various damages by insects and birds throughout 10 weeks sampling in a pistachio orchard, Rafsanjan, 2002

تاریخ نمونه‌برداری	تعداد میوه	میوه‌های نارس	زودخندان	صدمه بوسیله حشرات	صدمه بوسیله پرندگان	میوه‌های رسیده با پوست روی ترک‌دار	میوه‌های رسیده با پوست روی سالم
Sampling date (2002)	No. fruits examined	Immature fruits	Early splits	Damaged by insects	Damaged by birds	Mature fruits with cracked hull	Mature fruits with intact hull
20, 8	1820	43.8	1.7	0.9	0	6.9	90.5
30, 8	1791	26.7	1.8	2.1	0	19.2	76.9
9, 9	1706	23.5	1.8	2.9	0	32.8	62.5
19, 9	1978	21.7	1.7	3.5	0	45.2	49.5
29, 9	1708	21.9	1.8	3.8	2.8	55.6	36.0
9, 10	1922	22.1	1.5	3.9	5.2	58.0	31.4
19, 10	3188	17.1	1.2	4.8	4.2	60.8	29.0
28, 10	3841	17.5	1.2	4.6	5.6	58.1	30.5
7, 11	4536	16.3	1.1	3.9	10.8	53.9	30.3
17, 11	3680	15.6	1.0	3.7	7.3	47.0	40.9

جدول ۲- فراوانی نسبی (%) میوه‌های پسته با پوست نرم سالم، ترک‌دار و صدمه دیده بوسیله حشرات و پرنده‌گان در طول دوره ۱۴ هفته نمونه‌برداری در یک باغ پسته، رفسنجان، ۱۳۸۲

Table 2- Relative abundance (%) of pistachio fruits with hulls of different appearance and various damages by insects and birds throughout 14 weeks sampling in a pistachio orchard, Rafsanjan, 2003

تاریخ نمونه‌برداری	تعداد میوه No. fruits examined	میوه‌های نارس Immature fruits	زودخندان Early splits	صدمه بوسیله حشرات Damaged by insects	صدمه بوسیله پرنده‌گان Damaged by birds	میوه‌های رسیده با پوست رویی ترک‌دار Mature fruits with cracked hull	میوه‌های رسیده با پوست رویی سالم Mature fruits with intact hull
Sampling date (2003)							
18, 8	2530	40.1	1.4	2.5	0	22.5	73.6
25, 8	2240	33.6	1.3	3.3	0	43.7	51.7
1, 9	1909	33.2	1.4	3.2	0	42.9	52.5
8, 9	1870	31.9	1.2	4.1	0	48.2	46.5
15, 9	2424	27.7	1.2	4.2	0	50.2	44.4
22, 9	2788	28.2	1.2	7.2	0	47.9	43.7
29, 9	2360	26.1	1.1	6.9	0	47.7	44.3
6, 10	2145	26.0	1.1	7.3	0.7	46.5	44.4
13, 10	1705	27.1	1.0	6.8	3.7	40.1	48.4
20, 10	2625	26.8	1.0	6.6	2.6	39.7	50.1
27, 10	2300	26.3	0.9	5.7	3.9	34.2	55.3
3, 11	2202	25.9	0.9	5.9	6.8	34.7	51.7
10, 11	2085	24.1	0.8	5.7	4.7	35.1	53.7
19, 11	2614	24.0	0.8	6.2	2.9	34.9	55.2

جدول ۳- درصد میوه‌های پسته آلوده به حشرات در یک باغ پسته در رفسنجان، ۱۳۸۱
 (اعداد داخل پرانتز بیانگر تعداد میوه پسته بررسی شده است)

Table 3- Percentage of pistachio fruits infested by insects in a pistachio orchard in Rafsanjan, 2002
 (Figures in parenthesis are shown the number of nuts examined)

نام حشرات Insects' name	تاریخ نمونه برداری Sampling date			
	20, 8, 2002 (1820)	19, 9, 2002 (1978)	19, 10, 2002 (3188)	17, 11, 2002 (3680)
Carob moth <i>Apomyelois ceratoniae</i>	0.30	1.15	2.75	3.25
Pistachio fruit moth <i>Recurvaria pistaciicola</i>	0.25	0.50	0.50	0.25
Pistachio fruit hull borer moth <i>Arimania komaroffi</i>	0.35	0.40	0.25	0.15
Ants Unknown species	0.00	1.05	0.95	0.00
Thrips <i>Liothrips austriacus</i>	0.00	0.40	0.35	0.10
Total insects infestation in each sample (%)	0.9	3.5	4.8	3.75

جدول ۴- درصد میوه‌های پسته آلوده به حشرات در یک باغ پسته در رفسنجان، ۱۳۸۲
 (اعداد داخل پرانتز بیانگر تعداد میوه پسته بررسی شده است)

Table 4- Percentage of pistachio fruits infested by insects in a pistachio orchard in Rafsanjan, 2003
 (Figures in parenthesis are shown the number of nuts examined)

نام حشرات Insects' name	تاریخ نمونه برداری Sampling date			
	18, 8, 2003 (2530)	22, 9, 2003 (2788)	20, 10, 2003 (2625)	19, 11, 2003 (2614)
Carob moth <i>Apomyelois ceratoniae</i>	1.01	2.82	3.70	4.46
Pistachio fruit moth <i>Recurvaria pistaciicola</i>	0.91	1.05	0.86	0.46
Pistachio fruit hull borer moth <i>Arimania komaroffi</i>	0.58	0.88	0.45	0.25
Ants Unknown species	0.00	1.70	0.91	0.62
Thrips <i>Liothrips austriacus</i>	0.00	0.75	0.68	0.41
Total insects infestation in each sample (%)	2.5	7.2	6.6	6.2

جدول ۵- ارتباط میوه‌های پسته دارای پوست نرم سالم، ترکدار، آلوده به حشرات و صدمه دیده بوسیله پرندگان با آلودگی مغز آن‌ها به آفلاتوکسین

Table 5- The relationship between pistachio hull appearances, insect infestation and bird damages with aflatoxin in kernels of pistachio (n shows number of samples collected from August to November)

تاریخ نمونه‌برداری	نوع آفلاتوکسین	زودخندان	حشرات	صدمه بوسیله پرندگان	صدمه بوسیله حشرات	میوه‌های رسیده با پوست رویی سالم	میوه‌های رسیده با پوست رویی ترکدار	میوه‌های رسیده با پوست رویی سالم	P value
Sampling year	Aflatoxin	Early splits	Damaged by insects	Damaged by birds	Damaged by insects	Mature fruits with intact hull	Mature fruits with cracked hull	Mature fruits with intact hull	P value
2002 (n=10*) ng/g±SE	B ₁	299.8±1.5a	312.4±2.9a	258.6±16.2b	293.9±2.4a	ND	293.9±2.4a	ND	0.001
	B ₂	39.7±2.7a	21.9±2.5b	18.3±1.9b	19.6±2.5b	ND	19.6±2.5b	ND	0.001
	G ₁	1.5±0.24a	ND**	ND	0.29±0.3b	ND	0.29±0.3b	ND	0.001
	G ₂	0.05±0.01b	1.04±0.3a	0.07±0.01b	0.13±0.06b	ND	0.13±0.06b	ND	0.001
	Total	341±7.4a	335.3±3.5a	277±7.2c	313.9±4.5b	ND	313.9±4.5b	ND	0.01
2003 (n=14*) ng/g±SE	B ₁	2753±216a	1453±112a	217±19b	1301±99a	ND	1301±99a	ND	0.05
	B ₂	1224±69a	417±31b	48.2±8.6c	282.6±18b	ND	282.6±18b	ND	0.025
	G ₁	3.26±0.80	2.25±0.9	4.6±1.02	5.85±1.2	ND	5.85±1.2	ND	0.08
	G ₂	1.00±0.23b	3.85±1.0b	2.1±0.28b	9.11±2.3a	ND	9.11±2.3a	ND	0.022
	Total	3982±237a	1876±148ab	272±19b	1598±146ab	ND	1598±146ab	ND	0.05

Means in rows followed by different letters are significantly different (one-way ANOVA, Fisher's test at 0.05).

*No of samples for birds' damaged were 6. **ND = Not Detected.

کرم میوه‌خوار پسته و پروانه پوستخوار میوه پسته قبل از رسیدن پسته به پوست روی میوه صدمه می‌زنند اما سایر حشرات مورد بحث در این بررسی فقط از محل ترکیبگی پوست روی بدخل میوه راه می‌یابند. در بین حشرات مورد مطالعه شب‌پره خرنوب بیشترین جمعیت نسبی در مرحله پس از رسیدن میوه را دارد، اما سایر حشرات در مرحله پس از رسیدن با گذشت زمان جمعیت و فعالیت آن‌ها کاهش می‌یابد (جدول‌های ۳ و ۴). در تمام نمونه‌برداری‌های انجام شده نمونه‌های آلوده به حشرات دارای آفلاتوکسین نیز بودند (جدول ۵).

نتایج این بررسی نشان می‌دهد در میوه‌های خسارت دیده بوسیله پرندگان مقدار زیادی آفلاتوکسین وجود دارد (جدول ۵). پرندگان با پاره کردن پوست روی میوه پسته (در میوه‌های رسیده) مسیر ورود کپک‌ها را به داخل میوه باز می‌کنند. تحقیق حاضر نشان می‌دهد که در میوه‌های پسته با پوست روی سالم (بدون ترکیبگی یا بدون صدمه بوسیله حشرات و پرندگان) آفلاتوکسین وجود ندارد (جدول ۵).

هر چه از زمان رسیدن میوه بگذرد و محصول برداشت نشود، علاوه بر افزایش آلودگی آن به حشرات و آفلاتوکسین، بدلیل زیادرسی رطوبت میوه کاهش می‌یابد و همچنین ریزش میوه اتفاق می‌افتد. درصد میوه‌های زودخندان و میوه‌های با پوست روی ترکدار از اواسط مهر بطور محسوسی کاهش می‌یابد. این موضوع بدلیل ریزش میوه‌های رسیده پیر یا زیادرس است (جدول‌های ۱ و ۲). ریزش میوه در مورد پسته‌های آلوده به حشرات و صدمه دیده بوسیله پرندگان نیز وجود دارد.

اطلاعات بسیار وسیع و دقیق علمی در زمینه نقش میوه‌های زودخندان در گسترش آلودگی آفلاتوکسین در میوه پسته وجود دارد و محققین متعددی روش‌ها و راهکارهای متنوعی برای کاهش یا حذف این دسته از میوه‌ها به آزمایش گذاشته‌اند (Thomson & Mehdy, 1978; Mojtabedi *et al.*, 1979; Sommer *et al.*, 1986; Doster & Michailides, 1995a, 1995b, 1999; Pearson *et al.*, 1994, 2001). مشاهده می‌شود که در میوه‌های رسیده با پوست ترکدار علاوه بر آلودگی به حشرات، مقدار بسیار زیادی آفلاتوکسین یافت می‌شود و این موضوع در شرایط پسته کاری‌های ایران کمتر مورد توجه قرار گرفته است. این تحقیق نشان می‌دهد ایجاد ترکیبگی در پوست روی میوه‌های رسیده یک عامل عمده در توسعه آلودگی آفلاتوکسین در پسته است زیرا در دهه اول شهریور میزان میوه‌های رسیده با

پوست ترکدار بیش از ده برابر میوه‌های زودخندان در همین زمان است و این نسبت با گذشت زمان افزایش می‌یابد. عموماً پس از ایجاد ترکیب‌گی ظریف و باریک در پوست روی میوه، رطوبت پوست میانی که بافت اسفنجی دارد سریعاً کاهش می‌یابد و نتیجتاً شکاف به تدریج بزرگتر می‌شود. از این محل کپک‌ها به داخل میوه نفوذ می‌کنند و همچنین ورود حشرات و فعالیت آن‌ها در میوه نیز شرایط مساعدتری برای رشد کپک‌ها فراهم می‌آورد. تحقیق حاضر به روشنی نشان می‌دهد که میوه‌های رسیده با پوست ترکدار همانند میوه‌های زودخندان شدیداً آلودگی به آفلاتوکسین دارند و آلودگی آن‌ها در تمام نمونه‌برداری‌های این بررسی مشخص گردید. (Sommer *et al.* (1986) عنوان نمودند که در پسته کاری‌های کالیفرنیا زمانی که برداشت پسته با تأخیر انجام شود پوست روی میوه پژمرده و پاره پاره می‌شود و در این قبیل میوه‌ها آفلاتوکسین یافت شده است. در همین رابطه (Doster & Michailides (1994) گزارش نمودند در محصول پسته که به موقع برداشت شده بود آفلاتوکسین دیده نشد. این محققین معتقدند در محصولی که دیر برداشت شود فرصت کافی برای قارچ در نفوذ به میوه و تولید آفلاتوکسین وجود دارد.

حشرات با نفوذ به داخل میوه پسته مسیر مناسب برای ورود کپک‌ها را ایجاد می‌کنند. مضافاً در محلی که حشرات در میوه پسته زندگی می‌کنند اعم از زیر پوست میانی یا روی مغز رشد کپک‌ها شایع‌تر است. وضعیت مشابه در رابطه با کرم ناف پرتقال گزارش شده است. (Sommer *et al.* (1986) و (Doster & Michailides (1994, 1995) گزارش نمودند که میزان آفلاتوکسین در میوه‌های آلوده به کرم ناف پرتقال به طور معنی‌دار بیش از میوه‌های زودخندان بوده است. این محققین دلیل آن را وجود شرایط مناسب برای رشد قارچ در محل زندگی حشره در میوه پسته می‌دانند. (Campbell *et al.* (2003) معتقدند مبارزه با حشرات در میوه‌های مغزدار مانند پسته، بادام و گردو یک روش اساسی در حفظ آن‌ها به آلودگی به آفلاتوکسین است زیرا خسارت حشرات به میوه‌های مغزدار می‌تواند منجر به آلودگی آن‌ها به کپک‌ها و آفلاتوکسین شود.

شب‌پره خرنوب، کرم میوه‌خوار پسته و پروانه پوستخوار میوه پسته از آفات شناخته شده پسته ایران محسوب می‌شوند. این حشرات در مرحله قبل از رسیدن میوه فعالیت خود را روی پسته شروع می‌کنند. دو حشره اول پس از رسیدن میوه نیز زندگی خود را روی پسته ادامه

می‌دهند اما گونه سوم فقط در مرحله قبل از رسیدن میوه به پوست رویی و میانی میوه صدمه می‌زند. تریپس فقط در میوه‌های پسته که پوست رویی آن‌ها ترکیب‌دگی داشت جمع‌آوری گردید. این حشره در لابلای پوست میانی و زیر آن همراه با توده کپک‌ها زندگی می‌کند. در این مطالعه تغذیه مورچه‌ها از مغز پسته تازه روی درخت مشاهده گردید و این موضوع در پسته کاری‌های ایران عمومیت دارد. همه این حشرات علاوه بر خسارت فیزیکی به میوه پسته، در توسعه آلودگی پسته به کپک‌ها نقش دارند، خصوصاً اینکه اگر محصول پسته به موقع برداشت نشود. همچنین کنه‌های متعددی در داخل میوه پسته دیده می‌شوند. در این مطالعه وضعیت فراوانی این گروه از جانوران ریز در رابطه با آلودگی آفلاتوکسین در پسته بررسی نگردید. هر چند خسارت کنه‌ها از دیدگاه صدمه فیزیکی به مغز پسته قابل ملاحظه نیست، اما با توجه به تنوع و جثه کوچک آن‌ها، همواره موضوع انتقال اسپور قارچ‌ها به داخل میوه پسته توسط این گروه از جانوران می‌تواند بسیار حائز اهمیت باشد.

شب‌پره خرنوب در ایران بنام کرم گلوگاه انار شهرت دارد. خسارت این آفت بر روی میوه پسته از اواخر تیر همزمان با پیدایش میوه‌های زودخندان در پسته آغاز می‌گردد. فقط وجود شکاف و ترکیب‌دگی در پوست رویی شرایط مناسب را برای تخم‌گذاری این حشره در پسته فراهم می‌آورد. تخم‌گذاری و تغذیه این حشره در میوه‌های با پوست رویی سالم هیچگاه وجود ندارد. مطالعات (Mehrnejad 1993, 1995) نشان داد که جمعیت شب‌پره خرنوب در پسته کاری‌های رفسنجان همزمان با افزایش میوه‌های پسته با پوست رویی ترکدار، سیر صعودی دارد. این حشره تا اواخر آذر بر روی درختان پسته زندگی می‌کند. به عبارت دیگر مادامی‌که میوه پسته برداشت نشده است و بر روی درختان پسته میوه‌هایی با پوست ترکیده وجود دارد، شب‌پره خرنوب در آن‌ها تخم‌گذاری و لارو به تغذیه از مغز پسته ادامه می‌دهد. لارو این حشره از پوست نرم پسته تغذیه نمی‌کند و فقط با تغذیه از مغز پسته قادر به رشد می‌باشد. ورود لارو به داخل میوه معمولاً از محل خندانی پوست سخت آن صورت می‌پذیرد. در عین حال در میوه‌هایی که پوست استخوانی آن‌ها شکاف ندارد ورود لارو به داخل میوه از محل دم میوه که بافت نرم‌تری دارد مشاهده شده است. در مطالعه حاضر به روشنی مشخص گردید که خسارت میوه پسته بوسیله شب‌پره خرنوب در مرحله رسیدن میوه پسته و خصوصاً پس از آن افزایش می‌یابد. تغذیه لارو این حشره در میوه پسته همواره با رشد کپک‌ها بر روی مغز و

بویژه در محل تغذیه حشره همراه است. خسارت شب‌پره خرنوب به میوه پسته از پسته کاری‌های کالیفرنیا گزارش نگردیده است. در پسته کاری‌های کالیفرنیا کرم ناف پرتقال (Rice, 1978) زندگی مشابهی با شب‌پره خرنوب در ایران دارد. در هر دو حشره وضعیت حمله به میوه پسته، رفتار تخم‌گذاری و تغذیه لارو و همچنین نحوه زمستان‌گذرانی بسیار مشابه است. در ایران شب‌پره خرنوب فقط در مناطقی که میزبان بهاره آن (مانند انار، انجیر و ...) وجود داشته باشد، از اواسط تابستان به بعد روی پسته دیده می‌شود. شب‌پره خرنوب روی میوه‌های نارس و همچنین رسیده که پوست رویی آن‌ها سالم باشد تخم‌گذاری نمی‌کند. در شرایط فعلی باغ‌های پسته ایران، بدلیل توسعه سیستم تک کشتی پسته، معمولاً درختان انار و همچنین انجیر در مناطق پسته کاری حذف شده‌اند، در عین حال درختان انار بصورت پراکنده و تعداد کم در حاشیه باغ‌های پسته وجود دارد. حضور جمعیت‌های پایین این حشره در مناطق پسته کاری بدلیل نقش عمده در گسترش آلودگی آفلاتوکسین در میوه پسته بسیار قابل توجه است.

کرم میوه خوار پسته معمولاً آفت درختان پسته مسن است. در نیمه دوم تابستان لاروهای این حشره پوست رویی میوه پسته را سوراخ و به زیر آن نفوذ می‌کنند. لاروها عمدتاً از پوست میانی پسته تغذیه می‌کنند. لارو ممکن است از قسمت خندانی پوست استخوانی وارد میوه شود و به مقدار جزئی از مغز تغذیه کند، اما این حشره قادر است بدون تغذیه از مغز نیز رشد خود را کامل کند (Samet, 1984; Mehrnejad, 2001). میوه‌های آلوده به کرم میوه‌خوار پسته همیشه همراه با کپک زدگی است. در میوه‌های آلوده به کرم میوه‌خوار پسته در سطح رویی پوست استخوانی لکه‌های سیاه تیره ایجاد می‌گردد و به این حالت به اصطلاح محلی «چربو» گفته می‌شود. هر چند خسارت نسل اول این آفت بر روی میوه پسته از نظر کمی حائز اهمیت می‌باشد اما خسارت نسل دوم این حشره بواسطه فراهم ساختن شرایط مناسب برای رشد کپک‌ها و آلودگی میوه پسته به آفلاتوکسین بسیار قابل توجه می‌باشد. میزان آلودگی مناطق مختلف پسته کاری به این حشره متفاوت است. در عین حال این حشره پراکنش وسیعی در مناطق پسته کاری دارد و جمعیت‌های پایین این حشره خصوصاً در نسل دوم بدلیل گسترش آلودگی آفلاتوکسین در میوه پسته اهمیت دارند.

پروانه پوستخوار میوه پسته در سال‌های اخیر افزایش جمعیت داده است و پراکنش آن رو به گسترش می‌باشد. این حشره در نسل اول از میوه‌های کوچک و جوان پسته در نیمه اول

بهار تغذیه می‌کند. اما در نسل دوم لاروها فقط از پوست نرم میوه پسته تغذیه می‌کنند. اگر تغذیه لارو نزدیک به زمان رسیدن میوه و مواجه با ترکیدن (خندان شدن) پوست استخوانی پسته باشد، مغز در معرض حمله کپک‌ها قرار می‌گیرد (Samet, 1985; Mehrnejad, 2001).

حداقل یک گونه تریپس *Liothrips austriacus* در داخل میوه‌های رسیده پسته و عمدتاً در ناحیه پوست میانی آن زندگی می‌کند. تریپس از محل ترکیدگی پوست روی میوه وارد پسته می‌شود. در هر میوه چندین تریپس با هم حضور دارند و رشد کپک‌ها در میوه‌های آلوده به تریپس شیوع دارد. رژیم غذایی این تریپس در مرحله قبل از رسیدن میوه و بطور کلی روی درختان پسته مشخص نیست و در این زمینه نیاز به مطالعات وسیع می‌باشد.

مورچه‌ها بطور وسیع روی درختان پسته تحرک دارند. در طول فصل‌های بهار و تابستان آفاتی مانند زنجره پسته (*Idiocerus stali* Fieb.) و پسپل معمولی پسته (*Agonoscena pistaciae* Burckhardt & Lauterer) ترشحات قندی زیادی در روی درختان پسته تولید می‌کنند که این مواد برای مورچه‌ها بسیار جذاب است. مورچه‌ها بطور گروهی از تنه درختان بالا می‌روند و از ترشحات قندی تغذیه می‌کنند. اما در پسته‌هایی که پوشش رویی میوه صدمه دیده و پوست استخوانی نیز باز شده است، مورچه‌ها وارد میوه می‌شوند و از مغز تغذیه می‌کنند. در غالب موارد مورچه‌ها از مغز پسته بطور کامل تغذیه می‌کنند. ولی میوه‌هایی نیز وجود دارد که قسمتی از مغز بوسیله مورچه‌ها تغذیه می‌شود و این دسته از میوه‌ها نیز شرایط کاملاً مساعد برای رشد کپک‌ها دارند. دو گونه مورچه در زمان رسیدن میوه از مغز آن تغذیه می‌کنند اما گونه آن‌ها در این مطالعه شناسایی نگردید. معمولاً بیشترین حضور مورچه‌ها در شهرپور و مهر بر روی خوشه‌های پسته مشاهده می‌شود.

پرندهگان از عوامل صدمه به پوست میوه پسته محسوب می‌شوند. در ایران گنجشک‌ها (گونه شناسایی نشد) پوست رویی میوه‌های رسیده پسته را پاره می‌کنند تا از مغز آن تغذیه نمایند. خسارت گنجشک به میوه‌های رسیده پسته بسیار رایج است و این وضعیت در غالب مناطق پسته کاری کشور وجود دارد. بر اساس نتایج تحقیق حاضر خسارت پرندهگان به پسته در مهر و آبان چشم‌گیر است. اما بر اساس تجربیات موجود زمان حمله پرندهگان به میوه پسته در مناطق پسته کاری متفاوت می‌باشد. مضافاً اینکه حمله پرندهگان به میوه پسته در ارقام زودرس و بویژه ارقامی که خوشه‌های درشت و پرمیوه دارند شایع‌تر است. در این تحقیق

میوه‌های صدمه دیده بوسیله پرنندگان (گنجشک) در شهرپور، مهر و آبان بررسی شدند و آلودگی بالایی به آفلاتوکسین داشتند. در پسته کاری‌های کالیفرنیا چندین گونه پرنده به میوه پسته صدمه می‌زنند. در این گروه از میوه‌ها نیز آلودگی به آفلاتوکسین گزارش شده است (Salmon *et al.*, 1986; Doster & Michailides, 1994).

تحقیق حاضر ثابت نمود که نقش زمان برداشت به عنوان عامل جلوگیری از توسعه ترکیدگی در میوه‌های رسیده پسته و متعاقباً آلودگی آن‌ها به آفلاتوکسین یک فاکتور کلیدی در موضوع تولید محصول سالم پسته است. ایجاد هر گونه صدمه و شکاف در پوست روی میوه پسته اعم از میوه‌های نارس یا میوه‌های رسیده مسیر ورود حشرات و همچنین کپک‌ها را بداخل میوه باز می‌نماید. بر اساس نتایج این تحقیق در کلیه میوه‌های پسته که پوست رویی آن‌ها ترکیدگی داشت یا بوسیله عواملی نظیر حشرات و پرنندگان صدمه دیده بود آفلاتوکسین در حد بسیار بالا یافت شد. وجود آفلاتوکسین B_1 و B_2 در تمام نمونه برداری‌ها اثبات شد. اما مقدار آفلاتوکسین G_1 و G_2 معمولاً در حد پایینی بود و در بعضی از نمونه‌ها تشخیص داده نشد.

تولیدکنندگان پسته در ایران معتقدند که عدم برداشت محصول و نگهداشتن آن روی درخت موجب افزایش درصد خندانی و افزایش وزن پسته می‌گردد. این تفکر موجب عدم توجه به کیفیت و سلامت محصول شده است. در این زمینه تحقیقات Crane (1978) نشان داد که بعد از مرحله رسیدن میوه یا بلوغ فیزیولوژیکی (physiological maturity)؛ وزن، چربی و درصد خندانی پسته به مقدار جزئی افزایش دارد و این مقدار معنی‌دار نیست، اما هر چه از زمان رسیدن میوه بگذرد از کیفیت آن کاسته می‌شود. تحقیق حاضر نشان می‌دهد که نقطه شروع آلودگی محصول پسته ایران در شرایط باغ و قبل از برداشت محصول اتفاق می‌افتد. نتایج این مطالعه گزارشات Emami *et al.* (1977) و Thomson & Mehdy (1978) در زمینه آلودگی پسته به قارچ *A. flavus* و آفلاتوکسین در روی درخت در مرحله قبل از رسیدن و در دوره رسیدن میوه را تأیید می‌کند. بر اساس نتایج تحقیق حاضر، در مورد پسته رقم اوحدی (رقم پسته غالب تجاری ایران) بیش از ۶۵ درصد میوه‌ها در دهه اول شهرپور کاملاً شرایط میوه رسیده را دارند. پس از آن در پوست رویی میوه‌ها به سرعت ترکیدگی ایجاد می‌شود و شرایط برای آلودگی‌های بعدی مانند خسارت حشرات و آفلاتوکسین مساعد می‌گردد. به

منظور برخورداری از پسته با کیفیت مطلوب، توصیه می‌شود محصول پسته بلافاصله پس از رسیدن میوه در فاصله زمانی کوتاه برداشت گردد.

سپاسگزاری

از خانم مهدخت ارجمند به منظور تجزیه نمونه‌های پسته در رابطه با تعیین آلودگی به آفلاتوکسین تشکر می‌شود. این تحقیق با حمایت شورای پژوهش‌های علمی کشور و مؤسسه تحقیقات پسته کشور اجرا گردید.

نشانی نگارندگان: محمدرضا مهرنژاد و بهمن پناهی، مؤسسه تحقیقات پسته کشور، صندوق پستی ۷۷۱۷۵/۴۳۵، رفسنجان، ایران.