

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 آفاتوکسین 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 آفاتوکسین 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 آفاتوکسین 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 آفاتوکسین در محصول پسته طراحی شده است. بدین منظور رابطه ایجاد ترکیدهای در پوست رویی پسته با آلودگی آن به آفاتوکسین 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 آفاتوکسین توجه شده است. همچنین ارتباط تولید آفاتوکسین 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