Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

شناسایی عوامل پوسیدگی ریشه و طوقه پسته در استان سیستان و بلوچستان

سید رضا فانی*[۱]، منصوره میرابوالفتحی[۲] و حمیدرضا زمانی‌زاده[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۳/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۹/۱۰

چکیده

پسته از مهم‌ترین محصولات کشاورزی در ایران است و پوسیدگی طوقه و ریشه (گموز یا انگومک) خطرناک‌ترین بیماری این محصول به شمار می‌رود. عوامل این بیماری در استان سیستان و بلوچستان با سطح زیر کشت بیش از ۷۰۰۰ هکتار ناشناخته مانده است. تعداد ۳۰ باغ پسته با سابقه آلودگی به بیماری طی دو سال در فصول مختلف مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌برداری از درختان دارای علایم تیپیک بیماری و از بافت‌های دارای آلودگی تازه و خاک ریزوسفر انجام و بعد از انتقال با جعبه یخ به آزمایشگاه، عوامل بیماری‌زا با استفاده از روش طعمه‌گذاری قطعات برگ مرکبات روی خاک اشباع اطراف درختان آلوده و روش کشت مستقیم بافت ریشه و طوقه درختان بیمار بعد از ضدعفونی سطحی و کشت در محیط نیمه انتخابی PARP هشت جدایه *Phytophthora* به دست آمد. براساس ویژگی‌های ریخت شناسی و فیزیولوژیکی دو گروه جدایه حاصل شد، گروه اول از جدایه‌ها تحت گونه *Phytophthora pistaciae* با فراوانی ۶۲/۵٪ و گروه دوم تحت گونه *P. nicotianae* با فراوانی ۳۷/۵٪ تشخیص داده شد. بیماری‌زایی جدایه‌ها با مایه‌زنی میوه گلابی نارس، میوه سیب، سرشاخه جداشده پسته و مایه زنی مصنوعی قسمت طوقه نهال به اثبات رسید. این اولین گزارش از وقوع بیماری گموز پسته و عوامل بیماری‌زا از استان سیستان و بلوچستان است

واژگان کلیدی: انگومک، سبب شناسی، سوختگی سرشاخه، فیتوفتورا

[۱] بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یزد، ایران

[۲] مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

[۳] گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران

*نویسنده مسئول: (rezafani52@gmail.com)

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

مقدمه

بر اساس آخرین آمار سازمان جهانی خواربار و کشاورزی ملل متحد (FAO)، ایران با تولید بیش از ۴۷۰ هزار تن بزرگ‌ترین تولید کننده بزرگ پسته در سال ۲۰۱۲ بوده است و ایالات متحده آمریکا بعد از ایران در رتبه دوم قرار گرفته است و به دلیل عملکرد بیش از دو برابر تولید محصول در واحد سطح به عنوان یکی از مهم‌ترین رقبای ایران در دنیا مطرح است. پسته از مهم‌ترین محصولات باغی و از عمده‌ترین محصولات صادراتی غیرنفتی به شمار میرود (۱۱). با وجود این که آمار رسمی سازمان خواروبار و کشاورزی ملل متحد نشان از برتری حجم تولید کشور ایران در جهان دارد امّا براساس منابع دیگر طی ۴ سال گذشته تولید و صادرات پسته کشور آمریکا از ایران پیشی گرفته است (۴و ۵). علیرغم کشت نسبتاً وسیع پسته در سایر نقاط دنیا از جمله آمریکا و ترکیه، به دلیل استفاده از پایه‌های مقاوم، بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه دارای اهمیت اقتصادی نبوده و از سایر کشورها نیز گزارشات پراکنده و معدودی وجود دارد و می‌توان گفت بیش‌ترین کارهای تحقیقاتی در این زمینه در ایران انجام گرفته است. این بیماری برای اولین بار توسط کویاس (۲۲) از باغات پسته یونان گزارش و عامل آن اوومیست *Phytophthora parasitica* var. *parasitica* G.M. Waterh. تشخیص داده شد. کویاس (۲۱) در بررسی‌های بعدی خود گونه‌های *Phytophthora citricola* Sawada ، *P. citrophthora* Leonian و *P. nicotianae* Breda de Haan. و یک گونه نامشخص را از درختان پسته اهلی (*Pistacia vera*) جداسازی کرد. ونینگ (۳۲) درخت پسته (*P. vera*) را جزو گیاهان حساس به *P. nicotianae* معرفی کرده است. پونتیکیس (۲۸) در یونان آزمایشی در مورد مقاومت ارقام نسبت به گونه‌های فیتوفترای فوق انجام داده و طبق نتیجه آزمایش نامبرده، گونه اهلی *P. vera* شدیداً حساس و پایه *P. terebinthus* نسبت به گونه‌های فوق به جز *P. citrophthora* حساس بوده و همچنین هیبریدهای *P. vera* × *P. terebinthus* به گونه‌های فیتوفترا فوق العاده حساس بودند. بیماری انگومک در باغات پسته آمریکا کمتر جلب توجه کرده است. مک دونالد و همکاران (۲۳) پوسیدگی ریشه و طوقه را یکی از مشکلات اساسی پسته‌کاری‌های ایران و یونان با قدمت طولانی آن در کشت پسته ذکر می‌کنند. استفاده از پایه های *P. atlantica* و *P. integrima* در ایالت کالیفرنیا بیماری پوسیدگی طوقه را کم اهمیت نموده ولی به دلیل استفاده از روش آبیاری بارانی اخیراً خشکیدگی‌ها شاخه و تنه پسته ناشی از گونه‌های *Phytophthora capsici* Leonian. و *P. cryptogea* Pethybr. & Laff. (نوع گرمادوست) جلب توجه نموده است. در ایران اولین گزارش از فیتوفترا را ونینگ (۳۲) درباره پوسیدگی طوقه پسته نوشته است، نامبرده بدون اینکه فیتوفتورا، عامل بیماری را از میزبان جدا نماید آن را *P. parasitica* var. *parasitica* دانسته است زیرا قبل از آن در یونان این فیتوفتورا بعنوان عامل پوسیدگی طوقه گزارش شده بود (۲۲). اولین گزارش مبتنی بر تحقیق توسط مستوفی‌پور (۸)

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

در سال ۱۳۴۸ با جداسازی *Phytophthora* از طوقه درختان پسته قزوین و تعیین گونه آن به نام *P. citrophthora* توسط ارشاد (۱۷) ارائه گردید. بنی‌هاشمی (۱۳) از پوست طوقه و خاک اطراف تنه درخت پسته در نیریز استان فارس و طوقه درخت پسته در ناحیه‌ای از رفسنجان *P. citrophthora* جدا نموده است. میرابوالفتحی و همکاران (۹) در سال ۱۳۶۶ بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه را یکی از مهم‌ترین بیماری‌های درختان پسته در منطقه رفسنجان گزارش نموده و درصد مرگ و میر درختان در اثر این بیماری در باغات گاه به ۱۱ و به طور متوسط ۲/۷ درصد برآورد و از خاک و نسوج درختان بیمار نواحی مختلف پسته‌کاری در رفسنجان جدایه‌هایی از گونه *P. megasperma* Drechsler و از منطقه دامغان جدایه‌های از گونه *P. citrophthora* از طوقه و ریشه جداسازی و اثبات بیماری‌زایی کردند. گونه‌های *P. drechsleri*، *P. cryptogea* و *P. nicotianae* نیز از استان‌های کرمان و یزد گزارش شده است (۲، ۳، ۶، ۷، ۱۳). مرادی و بنی‌هاشمی (۷) فراوانی نسبی گونه‌های فیتوفتورای جداشده از طوقه و ریشه درختان پسته در استان‌های فارس و کرمان را به ترتیب *P. drechsleri* Tucker ، *P. cryptogea* و *P. citrophthora* تعیین نموده و مشخص کردند که رقم قزوینی مقاوم‌ترین و سرخس حساس‌ترین رقم است. میرابوالفتحی و همکاران (۲۴) دو گونه اصلی فیتوفتورا عامل انگومک پسته یعنی *P. megasperma* و *P. drechsleri* را از نظر مولکولی مورد بازبینی قرار دادند و اعلام نمودند که هر دو گونه خویشاوندی نزدیکتری به *Phytophthora sojae* Kaufm. & Gerd. ، *P.cajani* K.S. Amin, Baldev & F.J. Williams، *P. vignae* Purss و *P. melonis* Katsura نسبت به جدایه‌های *P. megasperma* یا *P. drechsleri* به‌دست آمده غیر از میزبان پسته داشتند. جدایه‌های منسوب به *P. megasperma* جدا شده از پسته از نظر شکل‌شناسی، ترادف ITS و الگوهای AFLP متفاوت ازگونه‌های فوق بوده و گونه جدیدی را تحت عنوان *P. pistaciae* Mirab. شرح می‌دهند. جدایه‌های منتسب به *P. drechsleri* جدا شده از پسته از نظر ترادف‌های ITS با *P. melonis*، *P. sinensis* Y.N. Yu & W.Y. Zhuang و *P. drechsleri* جدا شده از خیار شباهت داشته و نقوش AFLP در *P. melonis* ، *P. sinensis* و جدایه‌های منتسب به *P. drechsleri* جدا شده از پسته عملاً شباهت دارند.

مستوفی‌زاده قلمفرسا و همکاران (۲۶) نیز گونه جدید *P. parsiana* Mostowf. را از درختان پسته مبتلا به انگومک جدا نمود.

هدف از اجرای این مطالعه تشخیص عامل بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه درختان پسته، تنوع گونه‌های بیمارگر و پراکنش بیماری در مناطق پسته‌خیز استان سیستان و بلوچستان بود.

روش تحقیق

نمونه‌برداری

طی فصول بهار، تابستان و پاییز در دو شهرستان زاهدان (مناطق حصاروئیه، کورین و دومک) و خاش (مناطق دشت آبخوان، گوهرکوه، پشتکوه، نعمت‌آباد و پایین شهر) نمونه‌برداری از درختان دارای علایم و مشکوک انجام گرفت (شکل ۱).

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

★مناطق نمونه برداری

شکل ۱. مناطق نمونه برداری از خاک و درختان بیمار در استان سیستان و بلوچستان

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

- نمونه‌برداری از طوقه و ریشه: از درختان با علایم کم‌برگی، سبزخشکی، سرخشکیدگی، زردی حاشیه برگ، پوسیدگی و تغییر رنگ طوقه به قهوه‌ای تیره، خروج قطرات صمغ تیره از ناحیه طوقه، ریشه‌های دارای شانکر و تغییر رنگ بافت به قهوه‌ای، نمونه‌برداری انجام و هر نمونه به همراه اطلاعات لازم شامل محل و تاریخ نمونه‌برداری، سن درختان و صاحب باغ درون کیسه‌های پلاستیکی به صورت جداگانه قرار داده و با استفاده از صندوق یخ به آزمایشگاه منتقل گردیدند.

- نمونه برداری از خاک: از مجاورت طوقه و ریشه درختان دارای علائم و از عمق ۵۰ تا ۷۰ سانتی‌متری حدود یک کیلوگرم خاک برداشته شده و همراه با اطلاعات لازم درون کیسه پلاستیکی قرار داده و درون صندوق یخ به آزمایشگاه منتقل شدند.

جداسازی عوامل بیماری‌زا

جداسازی از بافت طوقه و ریشه: اطراف طوقه درختان بیمارگودالی به عمق ۵۰ تا ۷۰ سانتی‌متر حفر گردید، سپس از مرز بافت سالم و آلوده طوقه و ریشه (پوست و قسمت سطحی چوب) به صورت مجزا نمونه‌برداری صورت گرفت. در مواردی نیز قطعه کاملی از طوقه یا ریشه برداشته و به آزمایشگاه منتقل شد. در آزمایشگاه عملیات کشت به سه روش انجام گرفت.

۱- کشت مستقیم: نمونه طوقه یا ریشه بعد از شسته شدن و زدودن خاک اطراف بصورت کامل با حوله کاغذی خشک شده سپس با الکل ۷۰ درصد آغشته و با قراردادن بر روی شعله ضدعفونی گردید، سپس با اسکالپل ضدعفونی شده، قطعاتی از پوست را برداشته، از زیر آن قسمت قطعه ای مناسب انتخاب و به محیط کشت نیمه انتخابی CMA+PARP (حاوی پیماریسین ۱۰ mg/L، آمپی سیلین ۲۵۰ mg/L، ریفامپیسین ۱۰ mg/L، پنتاکلرونیتروبنزن (PCNB, 75% WP) ۱۰۰mg/L در ۱ لیتر محیط ذرت آگار[1]) منتقل و تشتک‌های پتری در تاریکی و دمای ۲۵-۲۰ درجه قرار داده شدند (۱۷ و ۱۸).

۲- استفاده از آب جاری: در این روش به منظور زدودن کامل خاک و حذف گونه‌های پیتیوم یک میلی‌لیتر Tween 20 به نمونه‌ها اضافه شد و بعد از شست‌وشو با این ماده، به مدت حداقل ۲ ساعت با آب جاری شهر شسته شدند. این عمل نه تنها باکتری‌های موجود را می‌زداید بلکه تشکیل اسپورانژیوم را نیز تحریک می‌نماید. بعد از سپری

[1] Corn meal agar

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

شدن مدت لازم، نمونه‌ها با آب مقطر استریل آبکشی شده و بعد از خشک شدن سریع با حوله کاغذی سترون بر روی محیط CMA+PARP کشت گردیدند (۷، ۱۷ و ۱۸).

۳- ضدعفونی بافت با استفاده از آب اکسیژنه: در این روش محلول ۲۰ درصد آب اکسیژنه با استفاده از ۸۰ میلی مترمکعب آب مقطر و ۲۰ میلی مترمکعب آب اکسیژنه خالص تهیه، پس از قطعه قطعه شدن نمونه ها به‌ابعاد ۳میلی‌متر مکعب درون این محلول قرارگرفته و پس از سه دقیقه دو بار با آب شست و شو شده و پس ازخشک نمودن باحوله کاغذی سترون برروی محیط نیمه انتخابی کشت گردید (۱۷ و ۱۸).

جداسازی از خاک: به منظور جداسازی فیتوفتورا از خاک، روش استفاده از میوه سیب و گلابی نارس به کار گرفته شد.

-استفاده از میوه سیب: میوه‌های سیب سالم با پوست صاف را انتخاب کرده سطح خارجی آن‌ها را با پنبه آغشته به الکل ۷۰ درصد ضدعفونی کرده و دو حفره در هر میوه با چوب پنبه سوراخ کن ایجاد و مقداری از خاک آلوده درون هر حفره قرار داد شد تا کاملاً پر شود. سپس فضای باقی‌مانده را با آب مقطر استریل پر و حفره ها را با نوار پارافیلم مسدود گردید. میوه‌های سیب در دسیکاتور ضدعفونی شده با الکل ۷۰ درصد و حاوی آب برای تامین رطوبت در دمای اتاق قرار داده شدند. بعد از ۶-۴ روز اطراف سوراخ‌ها مورد بررسی قرار گرفت و از حد فاصل قسمت قهوه‌ای و سالم گوشت میوه قطعاتی با اسکالپل یا سوزن استریل برداشته و به محیط CMA+PARPH منتقل شد (۱، ۲۵).

-استفاده از میوه گلابی نارس: مقداری از خاک مورد نظر، حدود ۵۰ سانتی‌متر مکعب درون بشر ریخته و با ۱۰۰ سانتی‌متر مکعب آب مقطر به حالت آبکی درآورده و میوه‌های سالم و نارس گلابی را به مدت ۶ تا ۷ روز درون خاک آبکی قرار داده شدند. برای جداسازی از حد فاصل قسمت سالم و قهوه‌ای (لکه‌های قهوه‌ای) با سوزن سترون برداشته و به محیط CMA+PARP منتقل شد (۱، ۲۵). برای تهیه، پس از سترون نمودن محیط ذرت آگار و رسیدن دمای آن به ۴۵ درجه سانتیگراد میزان ۱۰ میلی‌گرم پیماریسین، ۲۵۰ میلی‌گرم آمپی‌سیلین، ۱۰ میلی‌گرم ریفامپیسین و ۱۰۰ میلی‌گرم پنتاکلرونیتروبنزن (PCNB) در ۲۰ میلی‌لیتر الکل طبی حل شده و سپس با آب مقطر استریل به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد و سپس به محیط اضافه گردید و بعد از مخلوط کردن، مقدار ۱۵ میلی‌لیتر از آن درون تشتک پتری سترون ریخته شد و پس از انعقاد درون یخچال و در فضای تاریک نگهداری گردید، یادآور می‌گردد از بنومیل که قارچ‌کش با طیف وسیع ولی بی‌اثر بر روی فیتوفتورا است نیز به میزان ۲۵-۱۰ میلی‌گرم بعنوان ماده الحاقی به پیماریسین استفاده گردید (۱۹). گرچه بنومیل در آب حل نمی‌گردد لیکن مزیت دوام در حرارت‌های بالا را داشته و می‌توان بدون از دست دادن تاثیر، آن‌را به همراه محیط کشت استفاده نمود.

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

خالص‌سازی فیتوفتوراهای جداشده

بعد از رشد فیتوفتورا بر روی محیط CMA-PARP، از حاشیه پرگنه‌های در حال رشد، دیسک‌های کوچکی به قطر ۶ میلی‌متر جهت کشت مجدد به محیط CMA[1] منتقل گردید و پس از رشد مجدد جهت خالص نمودن به روش نوک ریسه و با استفاده از محیط آب آگار اقدام گردید.

نگهداری جدایه‌ها

قطعاتی از حاشیه فعال برگنه به لوله‌های حاوی محیط CMA به‌صورت شیب‌دار منتقل گردید و پس از رشد در دمای ۲۳ درجه دهانه لوله‌ها با پارافیلم بسته شد و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد درون یخچال نگهداری شدند.

شناسایی فیتوفتوراهای عامل بیماری

جهت شناسایی گونه‌های فیتوفتورا نیاز به مشاهده اندام زایشی جنسی و غیرجنسی جهت استفاده از کلیدهای شناسایی بوده لذا جهت تولید اسپورانژیوم و اُاُسپور به‌روش‌های ذیل اقلام گردید:

تولید اُاُسپور: با استفاده از محیط کشت لوبیا آگار HBS [2] تهیه شده و به صورت قرار دادن قطعاتی از حاشیه فعال پرگنه با قطر ۶ میلی لیتر بر روی این محیط بصورت وارونه و قرار دادن در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد بعد از حدود یک هفته اُاُسپور به تعداد فراوان در گونه‌های هموتال تشکیل گردید و ابعاد ۱۰۰ اُاُگونیوم، آنتریدیوم و اُاُسپور با استفاده از دستگاه آنالیز تصویری و بزرگنمایی ۲۰ گرفته شد و میانگین های حاصل ثبت گردید.

تولید اسپورانژیوم: جهت تولید اسپورانژیوم قطعاتی به قطر ۶ میلی لیتر از محیط کشت CMA حاوی فیتوفتوراهای در حال رشد به پتری حاوی آب معمولی منتقل گردید. بعد از ۲۴ ساعت پتری‌ها مورد بازبینی قرار گرفت و در صورت عدم تشکیل اسپورانژیوم آب مقطر را جایگزین آب معمولی کرده و در صورت عدم تشکیل در این حالت از عصاره خاک جهت تشکیل اسپورانژیوم استفاده شد. طول و عرض ۱۰۰-۵۰ اسپورانژیوم، نسبت طول به عرض و میانگین آنها با استفاده از میکروسکوپ نوری (Leica DM300, Mannheim, Germany) و بزرگنمایی ۲۰ گرفته و ثبت شد.

مطالعه اثر دما

این مطالعه بصورت اندازه‌گیری رشد شعاعی جدایه‌ها در محیط CMA در دماهای ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۲۷/۵، ۳۰، ۳۲/۵، ۳۵ و ۳۷/۵ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. قطعاتی از حاشیه فعال پرگنه فیتوفتورا به قطر ۶ میلی‌لیتر به

[1] Corn meal agar
[2] Haricot bean agar

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

تشتک‌های حاوی CMA تازه تهیه شده بصورت وارونه قرار داده شد. هر جدایه در سه تکرار کشت گردید. تشتک‌ها سپس به انکوباتور با دمای موردنظر منتقل گردید و بعد از گذشت ۹۶ ساعت میزان متوسط رشد شعاعی پرگنه‌ها بر حسب میلی‌متر در روز برای هر جدایه محاسبه گردید (۱۴).

بررسی بیماری‌زایی

جهت آزمون بیماری‌زایی در آزمایشگاه از میوه‌های سیب، گلابی نارس و سرشاخه پسته و به منظور آزمون بیماری‌زایی در گلخانه از نهال‌های ۹ ماهه پسته رقم سرخس استفاده گردید.

استفاده از میوه سیب: بدین منظور میوه‌های سیب با پوسته صاف و سالم انتخاب گردید و پس از ضدعفونی سطحی با الکل قطعاتی از آن بوسیله اسکالپل به اندازه حدوداً ۱ سانتی‌متر مربع و عمق ۳ میلی‌متر برداشته و به جای آن قطعه‌ای از محیط کشت CMA حاوی پرگنه فیتوفتورا قرار داده شد. میزان گسترش و سرعت گسترش فیتوفتورا و پوسیدگی درون میوه مورد بررسی قرار گرفت (۱).

استفاده از میوه گلابی نارس: به دلیل مناسب نبودن میوه سیب برای مایه‌زنی برخی از جدایه‌ها به‌ویژه جدایه‌های سریع‌الرشد از میوه گلابی نارس با پوست صاف به روش بالا استفاده گردید و میزان و سرعت گسترش فیتوفتورا درون میوه مورد بررسی قرار گرفت (۱).

استفاده از شاخه‌های بریده: جهت آزمون بیماری‌زایی به روش افک (۱۲) شاخه‌هایی با پوست صاف و سالم از رقم پسته کله‌قوچی به طول تقریبی ۲۰ و قطر حدود ۲ سانتی‌متر (برای هر جدایه ۳ عدد) تهیه، سپس شاخه‌های مورد نظر بوسیله الکل و شعله ضدعفونی سطحی گردید و با استفاده از اسکالپل سترون یا چوب پنبه سوراخ‌کن قسمتی از پوست (حدوداً وسط شاخه) را برداشته و قطعه‌ای از حاشیه فعال پرگنه را در محل برداشته شدن پوست گذاشته، پوست را بر روی آن قرار داده و جهت جلوگیری از خشک شدن بوسیله پارافیلم محل پوشانده شد. قطعات مورد نظر درون کیسه‌های سلوفان سترون قرار داده شد و جهت تامین رطوبت، تکه‌ای کاغذ صافی مرطوب شده با آب مقطر استریل نیز درون کیسه قرار داده و در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰-۸ روز نگهداری شد، پس از مدت یاد شده، سرعت و میزان گسترش فیتوفتورا و طول پیشروی فیتوفتورا مورد بررسی قرار گرفت و سپس از این سرشاخه‌ها، فیتوفتوراهای مایه‌زنی شده مجدداً جداسازی شد (۲۵).

بررسی‌های گلخانه‌ای: جهت انجام این آزمایش از نهال‌های سالم نه ماهه رقم سرخس که در گلدان‌های پلاستیکی (با قطر ۳۵-۱۵ سانتی متری) کشت شده بود، استفاده گردید. بدین منظور پسته‌های یک اندازه و یک شکل به مدت ۷۲ ساعت در آب خیسانده و سپس با قارچ‌کش پنتاکلرونیتروبنزن (PCNB) به نسبت یک در هزار خالص ضدعفونی و

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

به مدت ۴-۳ روز جهت جوانه زدن بین پارچه ململ مرطوب در دمای اتاق قرار داده شدند. سپس تعداد ۴ بذر در گلدان حاوی خاک مخلوط سترون شده (ماسه، خاک‌برگ و خاک رس به نسبت مساوی) کشت گردید. گلدان‌های کشت شده در دمای ۲۸-۲۵ درجه سانتی‌گراد در شرایط گلخانه نگهداری شدند. مجموعاً ۳۶ گلدان کاشت گردید که پس از سبز شدن در بین آنها ۱۶ گلدان با نهال‌های یکنواخت انتخاب شد. این آزمایش دارای چهار تیمار (سه جدایه فیتوفتورا + شاهد) و چهار تکرار بود.

روش مایه زنی: روی طوقه نهال، محل مناسبی جهت مایه‌زنی در نظر گرفته شد و با پنبه آغشته با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی سطحی گردید. سپس با اسکالپل استریل قطعه‌ای از پوست به ابعاد حدود ۴-۳ × ۱۰ میلی‌متر برداشته شد. به‌طوری‌که پوست برداشته شده از یک طرف به ساقه اتصال داشته باشد. آنگاه قطعه‌ای به اندازه مشابه از حاشیه فعال پرگنه فیتوفتورا رشد یافته روی محیط غذایی CMA در محل زخم گذاشته و مجدداً پوست روی آن قرار داده شد. در تیمار شاهد هم فقط از قطعه‌های CMA استریل استفاده شد. جهت جلوگیری از خشک شدن و جابجا شدن پلاگ فیتوفتورا، در محل مایه‌زنی شده، روی آن با یک لایه پارافیلم پوشانده شد. گلدان‌های تیمار شده در گلخانه با دمای ۳۰-۲۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۰-۶۰ درصد و ۱۶ ساعت نور نگهداری شدند. بعد از مایه‌زنی، آبیاری گلدان‌ها روزانه ۲ بار به فاصله ۳ روز انجام شد. در پایان آزمایش و پس از ظهور علائم در نهال‌های آلوده و جهت اطمینان از آلودگی قطعاتی از طوقه به محیط کشت PARP منتقل گردید و نسبت به جداسازی مجدد فیتوفتورا از بافت آلوده اقدام گردید (۱۸).

نتایج

نشانه‌های بیماری انگومک

نشانه‌های بیماری در باغ شامل سبزخشکی درختان، کاهش پوشش برگی، کم شدن میزان محصول، تغییر شکل برگ به‌صورت کلروز و نکروز که از انتهای برگ شروع شده، به تمام نقاط کرده و تمام برگ را فرا گرفته و باعث ریزش برگ می‌شد، مشاهده گردید. در برخی موارد اندام هوایی جوان بعد از آلودگی به پوسیدگی طوقه در فصل بهار به تدریج شروع به زرد شدن کرده ولی از درخت نمی‌افتاد و علائم بیماری به‌صورت عدم ریزش برگ درفصل خزان مشاهده شد. بررسی ناحیه طوقه و ریشه نشان داد که در غالب موارد پوسیدگی طوقه و ریشه مشهود بوده و آلودگی‌ها از طوقه یا ریشه شروع می‌گردد، گرچه کامبیوم ناحیه آلوده درخت به‌رنگ تیره در می‌آید ولی آوند چوبی تغییر رنگ نداده بودند. علائم بیشتر بصورت کاهش پوشش برگی، کم شدن میزان محصول و تغییر شکل برگ و مرگ تدریجی درخت مشاهده شد. پوسیدگی از زیر سطح خاک و از ریشه یا طوقه شروع شده و از محل شروع، آلودگی به تمام جهات

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

گسترش می‌یافت. حاشیه شانکرهای طوقه و ریشه معمولا با برداشت پوست بافت آلوده مشخص می‌گردیدند. در درختان آلوده صمغ به‌صورت قطرات ریز و درشت در سطح یا در شکاف‌های پوست درخت در محل طوقه و یا حدود ۲۰ تا ۳۰ سانتی‌متری سطح بالای خاک دیده می‌شد. چنان‌چه پوست قسمت آلوده برداشته می‌شد شیره سفیدرنگی به بیرون جریان می‌یافت.رنگ بافت آلوده از قهوه‌ای تا سیاه متغیر بود (شکل ۲).

جدایه‌های حاصل از مناطق مختلف

طی بازدیدهای انجام گرفته طی دو سال در مناطق پسته‌کاری شهرستان‌های خاش و زاهدان و نمونه‌برداری از قسمت‌های مختلف ریشه، طوقه و خاک اطراف ریشه درختان مشکوک به بیماری و انجام عملیات جداسازی در آزمایشگاه ۸ جدایه فیتوفتورا جداسازی گردید. جداسازی ۷ مورد از جدایه‌ها در فصل بهار و جداسازی جدایه‌ی K5 در فصل تابستان انجام گرفت (جدول ۱).

مشخصات جدایه‌ها

گروه اول: رشد پرگنه در جدایه‌های این گروه روی محیط CMA به‌صورت شعاعی و منظم، شکل پرگنه یکنواخت و پس از مدتی متراکم و پنبه‌ای می‌شد. ریسه فاقد دیواره عرضی و بعضاً در محل تولید اندام‌های زایشی جنسی یا غیرجنسی دارای دیواره بود. اسپورانژیوم فاقد پاپیل، بیضوی شکل و غیرریزان، نحوه تشکیل به‌صورت افژولش داخلی (nesting) یا افژولش خارجی (external proliferation) بود و در محیط مایع پس از ۴-۳ روز به تعداد فراوان تشکیل گردید. جدایه‌های این گروه روی این محیط‌ها پس از گذشت یک هفته تولید اُاُگونیوم و آنتریدیوم فراوان کردند. شکل اُاُگونیوم کروی و دیواره آن صاف بود. آنتریدیوم کروی یا بیضوی بود و نحوه اتصال به اُاُگونیوم عمدتاً به‌صورت پاراژن و نسبت پاراژن به آمفی‌ژن ۸۵ به ۱۵ و اُاُسپور کاملاً اُاُگونیوم راپر نمی‌کرد (شکل ۲).

گروه دوم: شکل پرگنه در جدایه‌های این گروه روی محیط CMA به صورت گل‌کلمی بود. با گذشت زمان ریسه‌های هوایی نیز روی محیط کشت ظاهر گردید و پرگنه تا حدودی شکل پنبه‌ای به خود گرفت. ریسه فاقد دیواره عرضی و بعضاً در محل تولید اندام‌های زایشی جنسی یا غیرجنسی دارای دیواره بود. اسپورانژیوم تخم‌مرغی و دارای پاپیل، به‌صورت تکی در انتهای ریسه یا به‌شکل سمپودیال در طول ریسه تشکیل می‌شد. اسپورانژیوم این جدایه‌ها در محیط مایع به وفور تولید شد (جدول ۲).

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

شکل ۲- علایم بیماری انگومک روی اندام‌های هوایی و طوقه درخت (الف تا ه)، آزمایشات بیماری‌زایی روی نهال پسته رقم سرخس، سرشاخه، مایه‌زنی میوه سیب و گلابی با عامل بیماری (و تا م)، اسپورانژیوم گونه *Phytophthora nicotianae* (ن)، اُاُسپور (س) و اسپورانژیوم گونه *P. pistaciae* (ع تا ص)

جدایه‌های این گروه روی محیط‌های HBA و LBA[1] تولید هیچ‌گونه اندام جنسی نکرد. ابعاد ۵۰ اسپورانژیوم اُاُگونیوم، آنتریدیوم و اُاُسپور اندازه‌گیری و میانگین آن‌ها ثبت شد. از هرکدام از جدایه‌ها بصورت تصادفی و با استفاده از

[1] Lima bean agar

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

میکروسکپ نوری (Leica DM300, Mannheim, Germany) اندازه‌گیری شد (جداول ۲ و ۳). میزان رشد شعاعی جدایه‌ها برحسب میلی‌متر در روز نیز در دماهای ۱۰ تا ۳۷/۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری و ثبت شد (جدول ۴).

جدول ۱. مشخصات جدایه‌های به دست آمده از مناطق مختلف استان سیستان و بلوچستان

ردیف	جدایه	محل جمع‌آوری	منطقه	محل جداسازی	گونه
۱	K1	خاش	گوهرکوه	ریشه و طوقه	*P. pistaciae*
۲	K2	خاش	نعمت آباد	طوقه	*P. pistaciae*
۳	K3	خاش	سبزگز وسطی	ریشه و طوقه	*P. pistaciae*
۴	K4	خاش	نعمت آباد	طوقه	*P. pistaciae*
۵	K5	خاش	بلوچ آباد	خاک	*P. nicotianae*
۶	K6	خاش	بلوچ آباد	ریشه	*P. pistaciae*
۷	Z1	زاهدان	حصاروئیه	ریشه	*P. nicotianae*
۸	Z2	زاهدان	زاهدان	ریشه و طوقه	*P. nicotianae*

جدول ۲. ابعاد اسپورانژیوم در جدایه‌های فیتوفتورا (میکرومتر)

ردیف	جدایه	اسپورانژیوم			گونه
		طول	عرض	طول به عرض	
۱	K1	۳۹/۳۱ (۵۰/۵۱ - ۲۵/۴۲)	۳۰/۱۱ (۳۷/۴۴ - ۲۰/۲۶)	۱/۳۲ :۱	*P. pistaciae*
۲	K2	۳۸/۹۱ (۴۸/۳۱ - ۲۶/۸۲)	۲۹/۰۴ (۳۶/۹۱ - ۱۹/۴۲)	۱/۳۳ :۱	*P. pistaciae*
۳	K3	۳۵/۲۸ (۴۴/۱۱ - ۲۲/۶۳)	۲۸/۸۵ (۳۵ /۶۹ - ۲۱/۰۳)	۱/۲۵ :۱	*P. pistaciae*
۴	K4	۴۰/۲۱ (۵۱/۶۳ - ۲۷/۰۴)	۳۱/۳۹ (۳۸/۸۹ - ۲۰/۴۵)	۱/۲۸ :۱	*P. pistaciae*
۵	K5	۳۳/۵۴ (۵۳/۱۷ - ۲۲/۶۸)	۲۵/۸۸ (۴۰/۵۵ - ۱۸/۸۳)	۱/۳۲ :۱	*P. nicotianae*
۶	K6	۴۱/۱۱ (۵۰ /۴۸ - ۲۷/۷۹)	۳۲/۰۳ (۳۷/۵۶ - ۲۲/۷۱)	۱/۲۸ :۱	*P. pistaciae*
۷	Z1	۳۲/۶۲ (۴۹/۰۱ - ۲۵/۲۱)	۲۴/۶۳ (۳۸/۴۸ - ۲۰/۵۲)	۱/۳۳ :۱	*P. nicotianae*
۸	Z2	۳۱/۲۶ (۴۹/۹۱ - ۲۳/۸۳)	۲۴/۳۷ (۴۰/۱۳ - ۱۹/۹۸)	۱/۲۹ :۱	*P. nicotianae*

اثبات بیماری‌زایی

روی میوه‌های سیب و گلابی نارس: لکه‌های قهوه‌ای روی میوه‌های مایه‌زنی شده با قطعات فعال پرگنه جدایه‌های مختلف فیتوفتورا پس از ۵-۳ روز ظاهرگردید. ابعاد لکه‌های ایجاد شده پس از ۵ روز توسط جدایه‌های مختلف تفاوت

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

داشت و جدایه‌های Z1، Z2 و K5 نسبت به سایرجدایه‌ها درمحدوده زمانی یاد شده ایجاد لکه‌های بزرگتری کرد. جدایه‌های مایه‌زنی شده از حد فاصل بافت سالم و آلوده مجدداً بازیابی گردید (شکل ۲).

جدول ۳. ابعاد اندام‌های جنسی در جدایه‌های فیتوفتورا (میکرومتر)

ردیف	جدایه	قطر اُاُگونیوم	قطر اُاُسپور	قطردیواره اُاُسپور	طول آنتریدیوم	عرض آنتریدیوم	گونه
۱	K1	۳۵/۸۸	۲۸/۳۱	۴/۵۷	۱۱/۴۴	۹/۰۲	*P. pistaciae*
۲	K2	۳۳/۶۵	۲۵/۵۱	۴/۱۴	۹/۱۸	۸/۲۸	*P. pistaciae*
۳	K3	۳۵/۲۷	۲۶/۹۶	۳/۷۱	۱۱/۹۵	۹/۲۶	*P. pistaciae*
۴	K4	۳۵/۸۶	۲۹/۹۵	۳/۱۳	۱۱/۲۵	۹/۷۵	*P. pistaciae*
۵	K6	۳۴/۴۵	۲۵/۵۳	۵/۶۲	۱۰/۴۱	۷/۹۵	*P. pistaciae*

جدول ۴. میزان رشد شعاعی جدایه‌های فیتوفتورا در دماهای مختلف (میلی‌متر)

ردیف	جدایه	دما (درجه سانتی‌گراد)									گونه
		۱۰	۱۵	۲۰	۲۵	۲۷/۵	۳۰	۳۲/۵	۳۵	۳۷/۵	
۱	K1	۰	۱/۶۷	۱/۹	۴/۳۷	۳/۸۲	۳/۵۲	۱/۷۵	۰	۰	*P. pistaciae*
۲	K2	۰	۲	۳	۴/۴۷	۴	۲/۵۲	۲/۰۷	۰	۰	*P. pistaciae*
۳	K3	۰	۱/۹۲	۲/۱۲	۴/۶۸	۳/۸۸	۳/۳	۲/۱۸	۰	۰	*P. pistaciae*
۴	K4	۰	۱/۸۷	۲/۹	۴/۶۲	۳/۵۲	۳/۴۵	۲/۲۵	۰	۰	*P. pistaciae*
۵	K5	۰	۳/۲	۳/۷۵	۵/۵۵	۴	۳/۸۲	۳/۳۵	۱	۰	*P. nicotiana*
۶	K6	۰	۳	۳/۱۷	۵/۳۷	۳/۳	۲/۹	۱/۹۵	۰	۰	*P. pistaciae*
۷	Z1	۰	۴/۷۵	۵/۴۲	۶/۱۷	۵/۷۷	۴/۲۷	۲/۷۵	۱/۳۲	۰	*P. nicotiana*
۸	Z2	۰	۴/۶۳	۵/۱۲	۶/۴۲	۵/۱۱	۴/۰۸	۳/۲	۱/۱	۰	*P. nicotiana*

روی سرشاخه‌های پسته رقم کله‌قوچی: سرشاخه‌های[1] یک‌ساله با قطر حدود ۰/۷ تا ۱ سانتی‌متر، طول ۱۸-۱۲ سانتی‌متر و سطح نسبتاً صاف بعد از مایه زنی و گذشت ۸ روز، علائم قهوه‌ای شدن نسوج در طول شاخه و بعضاً در دو طرف محل مایه‌زنی ازخود نشان دادند. متوسط سطح لکه‌های ایجاد شده برحسب سانتی‌متر مربع اندازه‌گیری شد. پیشرفت آلودگی درجدایه‌های K6, K4, K3, K2 به صورت یک طرفه و در جدایه‌هایZ1، Z2 ، K5 و K1 به صورت دو طرفه بود. کلیه جدایه‌ها مجدداً از بافت‌های آلوده جداسازی گردیدند (شکل ۲).

[1] Detached stem

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

روی نهال‌های ۹ ماهه: پنج جدایه‌ی منتخب براساس محل جداسازی اولیه روی نهال‌های ۹ ماهه رقم سرخس به صورت مایه‌زنی با ایجاد زخم و در دو تکرار تحت تیمار قرار گرفتند. اولین علائم یک هفته پس از مایه‌زنی به‌صورت برگشتن برگ‌ها به پشت، سبزخشکی و کلروز در تیمارهای مایه‌زنی شده با جدایه‌های K3 و K6 مشاهده گردید و به‌تدریج تمامی تیمارها علائم مزبور را ازخود نشان دادند و سه هفته پس از مایه‌زنی کاملاً پژمرده شدند. نسوج ساقه در دو طرف محل مایه‌زنی به رنگ سیاه درآمده و خروج صمغ نیز در برخی موارد مشاهده شد. جدایه‌های مایه‌زنی شده مجدداً از محل حد فاصل بافت سالم و آلوده جداسازی شد (شکل ۲).

تشخیص جدایه‌ها

بر اساس بررسی‌های انجام شده بر روی برخی خصوصیات شکل‌شناسی ازجمله نوع و ابعاد اسپورانژیوم، وجود یا عدم وجود پاپیل، ریزان یا غیرریزان بودن اسپورانژیوم، رفتار هتروتالیک یا هموتالیک، ابعاد اُاُگونیوم، آنتریدیوم و اُاُسپور، نحوه اتصال آنتریدیوم به اُاُگونیوم و اندازه‌گیری دماهای کمینه، بهینه و بیشینه رشدی و به استناد کلیدهای شناسایی معتبر (۱۷، ۲۷ و ۳۰) و بر پایه مطالعات انجام گرفته درخصوص مقایسه شکل‌شناسی، آیزوزایمی و فیزیولوژیکی *P. megasperma* از پسته و دیگر میزبان‌ها (۷ و ۲۱) جدایه‌های Z1 ، Z2 و K5 تحت گونه *P. nicotianae* و جدایه‌های K1، K2، K3، K4 و K6 تحت گونه جدید *P. pistaciae* قرار گرفتند.

بحث

پوسیدگی ریشه و طوقه یکی از مشکلات اساسی پسته‌کاری‌های ایران و یونان با قدمت طولانی آن در کشت پسته است (۲۳) و عوامل مولد انگومک پسته درتمام مناطق پسته‌کاری اعم از زمین‌های شور و غیرشور گسترش دارد (۱۳). این بیماری یکی از شایع‌ترین بیماری‌های پسته در ایران است که با پوسیدگی شدید طوقه، ریشه و به دنبال آن کاهش شدید محصول و نهایتاً مرگ گیاه همراه است. از هفت گونه معرفی شده عامل انگومک در دنیا گونه‌های *P. cryptogea*، *P citrophthora*، *P. melonis*، *P. nicotianae* و *P. pistaciae* از استان‌های قزوین، کرمان، سمنان، فارس و یزد گزارش گردیده است، دوگونه *P. capsici* و *P. citricola*, تاکنون از درختان پسته ایران جداسازی و شناسایی نگردیده و گونه *P. parsiana* فقط از ایران گزارش شده است.

نتایج به‌دست آمده از بازدید، مراقبت و نمونه‌برداری‌های ۲ ساله و انجام آزمایشات لازم جهت شناسایی فیتوفتوراهای جداشده مبنی بر شناسایی ۵ جدایه متعلق به گونه *P. pistaciae* و ۳ جدایه متعلق به گونه *P. nicotianae* نشان می‌دهد که عامل انگومک پسته در استان سیستان و بلوچستان در درجه اول گونه *P. pistaciae* (۶۲/۵ ٪ جدایه‌ها) و در درجه دوم گونه *P. nicotianae* (۳۷/۵ ٪ جدایه‌ها) است. این نتیجه‌گیری با نتایج حاصل از

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

بررسی بیماری در رفسنجان (۹) و سیرجان (۲) مبنی بر غالب بودن گونه *P. pistaciae* در پسته‌کاری‌های آن مناطق همخوانی دارد و جداسازی و شناسایی *P. nicotianae* دومین گزارش از جداسازی این گونه ازطوقه و ریشه درختان پسته کشور است.

مقایسه شکل و ابعاد اسپورانژیوم، نسبت طول به عرض اسپورانژیوم و نتایج حاصل از اندازه‌گیری قطر آگونیوم و آسپور با منابع مورد استفاده نشان داد متوسط طول اسپورانژیوم و به تبع آن نسبت طول به عرض اسپورانژیوم تا حدودی با منابع تفاوت داشته و کمتر بود ولی سایر اندازه‌گیری‌ها با منابع یکسان بود. ابعاد اسپورانژیوم و نسبت طول به عرض جدایه‌های *P. nicotianae* با کلیدهای شناسایی مطابقت داشت (۲۰، ۳۰ و ۳۳).

درکسلر (۱۵) و تامپکینز (۳۱) نیز در جدایه‌های خود تنوع زیادی در ابعاد اسپورانژیومی و قطر آگونیوم گزارش کردند و علت این امر را تاثیر عواملی از جمله نوع محیط کشت، دما، سن فیتوفتورا بر اندام‌های جنسی و غیرجنسی دانستند. ریبیرو (۲۹) نیز ضمن تاکید بر فراهم ساختن شرایط یکسان جهت تولید اندام‌های تولید مثلی، رعایت احتیاط را هنگام استفاده از ابعاد آن‌ها در مطالعات تاکسونومیکی متذکر گردیده است، با توجه به اینکه در این تحقیق برای تولید اسپورانژیوم و آگونیوم از عصاره لوبیا چیتی استفاده شده است. این تغییرات طبیعی به نظر می‌رسد.

به نظر ریبیرو (۲۹) تولید اسپورانژیوم فرآیندی پیچیده است که عوامل متعددی در آن دخالت دارند. نامبرده به عواملی همچون پتانسیل آب، مواد غذایی، استرول‌ها ، تهویه، نور، دما،کاتیون‌های Ca^{+2}، Fe^{+3}، Mg^{+3} و K^{+}، سن کشت و باکتری‌های ویژه موجود در خاک را اشاره نموده است. پتانسیل آب مهم‌ترین عامل مؤثر بر فرآیند اسپورانژیوم‌زایی است و رطوبت نسبی ۱۰۰٪ یا پتانسیل ماتریک نزدیک به صفر محرک تولید اسپورانژیوم است (۲۳ و ۲۷). محیط‌های غذایی همچون عصاره لوبیا سفید یا ذرت نیز تشکیل اسپورانژیوم را تحریک می‌کند. در صورتی که تشکیل اسپورانژیوم‌های تشکیل شده در محیط غذایی همراه با قندها (ساکارز، مالتوز و لاکتوز) و اسیدهای آمینه لازم (آرژینین، اسید آسپارتیک و گلوتامین) با دمای بالاتر از دمای رشد میسلیومی تحریک می‌شود، به عبارت دیگر اسپورانژیوم‌های تولید شده مستقیماً جوانه زده و تشکیل لوله تندشی را می‌دهد که این نیز با رشد خود تشکیل میسلیوم می‌دهد. در حالی که در حضور آب آزاد و دمای کمتر از بهینه، اسپورانژیوم‌ها تمایز یافته و تولید زئوسپور می‌کنند. به نظر می‌رسد همانطور که ریبیرو (۲۹) نیز بیان داشته است فیتوفتورا جهت تولید اسپورانژیوم به شدت تحت تاثیر محیط کشت و مواد موجود در آن قرار دارد و به احتمال قوی عصاره لوبیا حاوی مقادیر کافی استرول برای تولید اسپورانژیوم و تشکیل زئوسپور است. از طرف دیگر بنا به اظهارات نامبرده رطوبت نسبی بالا و آب آزاد و نور (نور فلورسنت) علاوه بر اینکه در تشکیل اسپورانژیوم نقش دارند، در تمایز آنها به زئوسپور، رهاسازی زئوسپورها و تشکیل

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

مجدد اسپورانژیوم نقش مثبت دارند. گونه‌های فیتوفتورا (هتروتالیک و هموتالیک) خود قادر به سنتز استرول‌ها نبوده و جهت اعمال حیاتی خود به ویژه تولید اُاُسپور نیاز مطلق به استرول دارند که مقدار مورد نیاز نسبت به گونه‌های مختلف متفاوت است. این کمبود توسط گیاه میزبان تامین می‌شود و سازگاری فیتوفتورا با میزبان نشان داده است که ترکیبات استرولی، موثرترین ماده در تحریک تشکیل اُاُسپور است. از طرفی بعضی از این ترکیبات، رشد رویشی را نیز تحریک می‌کنند. به نظر میرسد که عصاره لوبیا حاوی مقادیر کافی استرول برای تولید اُاُسپور است، از طرف دیگر بنا به اظهار الیوت (۱۶) نور نوعاً در تولید اُاُسپور نقش منفی دارد. مقایسه اندازه‌گیری میانگین رشد در دو گونه مورد بررسی در طیف دمایی ۴۰-۱۰ درجه سانتی‌گراد و تعیین کمینه ۱۵، بهینه ۲۷/۵ و بیشینه ۳۵ برای گونه منتسب به *P. pistaciae* و تعیین کمینه ۱۵، بهینه ۲۵ و بیشینه ۳۷/۵ برای گونه منتسب به *P. nicotianae* نشان می‌دهد که دماهای بهینه و بیشینه با منبع مورداستفاده تطابق داشته لیکن در میزان کمینه تفاوت دارد که به نظر می رسد نوسانات دمایی انکوباتور مورد استفاده در دمای ۱۰ درجه دلیل اصلی اختلاف در اندازه دمای کمینه هر دو گونه باشد.

نتیجه‌گیری نهایی

کشت پسته در استان سیستان و بلوچستان نوپا بوده و از ۷ هزار هکتار باغ پسته موجود حدود۲۵۰۰ هکتار آن هنوز به مرحله باروری نرسیده است. بیماری‌های پسته و به‌خصوص انگومک که بعنوان مهم‌ترین بیماری پسته درکشور مطرح است برای اکثر کشاورزان، مروجین وکارشناسان درگیر با مسائل پسته استان ناشناخته است و متاسفانه طیف وسیعی از علائم و عوارض را به این بیماری نسبت می‌دهند. مدیریت صحیح بیماری در مناطق مختلف و بسترهای متفاوت خاکی و نحوه برخورد با بیماری در باغات آلوده جهت جلوگیری از پیشرفت یا کند نمودن سرعت انتشار بیماری، استفاده اصولی از قارچ‌کش‌های توصیه شده و پرهیز از مصرف بی‌رویه آن‌ها و پیش بینی‌های لازم در باغات سالم جهت جلوگیری از ورود و استقرار بیماری به‌خصوص در باغات جدید الاحداث نیاز اصلی محسوب می گردد.

سپاسگزاری

از مسئولین و کارکنان محترم سازمان جهاد کشاورزی استان سیستان و بلوچستان به ویژه جناب آقایان مهندس یوسف ریگی معاون محترم تولیدات گیاهی سازمان و مهندس انور کرد، مسؤول محترم بخش گیاه‌پزشکی مدیریت جهاد کشاورزی شهرستان خاش به دلیل همکاری در امر نمونه‌برداری از باغ های پسته سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

۱- استخر، م.، زیبایی، م. و م. ح. طرازکار. ۱۳۸۸. ارزیابی تأثیر یارانه‌ی بیمه صادراتی بر صادرات محصولات کشاورزی. اقتصاد کشاورزی، جلد ۳، شماره (۴)، ۲۰۲-۱۸۵. ارشاد ، جعفر .۱۳۷۱ . گونه های *Phytophthora* در ایران (جداسازی - خالص سازی – شناسایی) ، سازمان تحقیقات ، آموزش و ترویج کشاورزی ، تهران ، ایران. ۲۱۷ صفحه.

۲- اشکان، م.، ابوسعیدی، د. و ج. ارشاد. ۱۳۷۶. بررسی علل خشکیدگی و شانکر شاخه‌های درختان پسته در رفسنجان، بیماری‌های گیاهی، جلد ۳۳ (شماره‌های ۲-۱)، ۲۶-۱۵.

۳- امینایی، م. و ج. ارشاد. ۱۳۶۸. بیماری خشکیدگی سرشاخه‌های درختان پسته در استان کرمان، نهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران، ۲۳-۱۸ شهریور، دانشگاه فردوسی مشهد، ۸۲.

۴- بی‌نام. ۱۳۹۲الف. مقایسه صادرات پسته ایران و آمریکا طی سال‌های ۲۰۱۱-۱۹۹۹، انجمن پسته ایران، دسترسی در http://iranpistachio.org/fa/images/2012ARCHIVE_NEWA7_2011.pdf

۵- بی‌نام. ۱۳۹۲ب. مقایسه تولید پسته ایران و آمریکا طی سال‌های ۲۰۱۰-۲۰۰۲، انجمن پسته ایران، دسترسی در http://iranpistachio.org/fa/images/archive%20persian/Comparison.pdf

۶- فتاحی اردکانی، م. ارشاد، ج. و م. میرابوالفتحی. ۱۳۷۹. شناسایی عامل بیماری انگومک (گموز) پسته در استان یزد، چهاردهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران، ۱۷-۱۴ شهریور، دانشگاه صنعتی اصفهان، ۱۲۶.

۷- مرادی، م. و ض. بنی‌هاشمی. ۱۳۷۹. فراوانی نسبی گونه‌های *Phytophthora* از طوقه و ریشه پسته در استان‌های فارس و کرمان و تعیین مقاومت طوقه و ریشه پایه‌های متداول پسته به آن‌ها. چهاردهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران، ۱۷-۱۴ شهریور، دانشگاه صنعتی اصفهان، ۱۲۷.

۸- مستوفی‌پور، پ. ۱۳۴۸. میزبان‌های جدید برای فیتوفتورا *Phytophthora* ، بیماری‌های گیاهی، جلد ۵، ۲۳.

۹- میرابوالفتحی، م.، حجارود، ق. ارشاد، ج. و ع. شریفی تهرانی. ۱۳۶۶. بررسی بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه درختان پسته، پایان نامه کارشناسی ارشد گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، ۱۴۰ ص.

۱۰- میرابوالفتحی، م.، علیزاده، ع. و ح. رحیمیان. ۱۳۷۹. مقایسه شکل‌شناسیکی، آیزوزایمی و فیزیولوژیکی *Phytophthora megasperma* از پسته و سایر میزبان‌ها، بیماری‌های گیاهی، جلد۳۶ (شماره‌های۲-۱)، ۷۶-۴۷.

11- Huffman, W.E. 1980. Farm and off-farm work decisions: the role of human capital. The Review of Economics and Statistics, 62:14-23. Anonymous, Pistachio statistics in: http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

12- Afek U., Sztejnberg A. and Z. Solel. 1990. A rapid method for evaluating citrus seedlings for resistance to foot rot caused by *Phytophthora citrophthora*. Plant Disease, 74: 66-8.

13- Banihashemi Z. 1994. Identification of Phytophthora species associated with pistachio gummosis in southern Iran. Proceedings of the first International Symposium on Pistachio 419: 349-52.

14- Conn K., Gubler W., Mircetich S. and J. Hasey. 1991. Pathogenicity and relative virulence of nine *Phytophthora* spp. from kiwifruit. Phytopathology, 81: 974-9.

15- Drechsler C. 1931. A crown rot of Hollyhocks caused by *Phytophthora megasperma*. Journal of the Washington Academy of Sciences, 21: 513-526.

16- Elliott C.G. 1983. Physiology of sexual reproduction in Phytophthora. Phytophthora: Its Biology, Taxonomy, Ecology and Pathology. DC Erwin, S. Bartnicki-Garcia, and PH Tsao, eds. American Phytophthological Society, St. Paul, Minn, 71-80.

17- Ershad D. 1971. A contribution to the study of *Phytophthora* varieties of Iran and their phytopathological importance. Mitt. Biol. Bund. Anst. Ld. Forstwirtsch. 140pp.

18- Erwin D.C. and O.K. Ribeiro. 1996. Phytophthora diseases worldwide. American Phytopathological Society (APS Press).

19- George S. and R. Milholland. 1986. Inoculation and evaluation of strawberry plants with *Phytophthora fragariae*. Plant Disease, 70: 371-5.

20- Ho H. 1981. Synoptic keys to the species of Phytophthora [Fungi, plant pathogens]. Mycologia (USA).

21- Kouyeas H. 1973. Pathogenicity of Phytophthora species to pistachio tree. Proceedings of the Annales de l'Institut Phytopathologique Benaki, 333-41.

22- Kouyeas V. 1952. The foot rot of pistachio tree (*Pistacia vera* L.) Ann. Inst. Phytopath., Benaki 6, 81-7.

23- Macdonald J., Bolkan L., Banihashemi Z. and S. Mircetich. 1991. Trunk and branch canker of pistachio caused by *Phytophthora* spp. Californian Pistachio Industry Annual Report, Crop Year 1992, 167-70.

24- Mirabolfathy M., Cooke D., Duncan J.M., Williams N.A., Ershad D. and A. Alizadeh. 2001. *Phytophthora pistaciae* sp. nov. and *P. melonis*: the principal causes of pistachio gummosis in Iran. Mycological Research, 105: 1166-75.

25- Mircetich S.M. and M. Matheron. 1976. Phytophthora root and crown rot of cherry trees. Phytopathology, 66: 549-58.

26- Mostowfizadeh-Ghalamfarsa R., Cooke D. and Z. Banihashemi. 2008. *Phytophthora parsiana* sp. nov., a new high-temperature tolerant species. Mycological Research, 112: 783-94.

27- Pfender, W.F., Hine, R.B. and M.E. Stanghellini. 1977. Production of sporangia and release of zoospores by *Phytophthora megasperma* in soil. Phytopathology, 67(5): 657-663.

28- Pontikis K. 1977. Contribution to studies on the resistance of some hybrids and species of the genus Pistacia (as rootstocks) to *Phytophthora* spp. Nea Agrotiki Epitheorisis, 14-6.

29- Ribeiro O.K. 1983. Physiology of asexual sporulation and spore germination in Phytophthora in: Phytophthora, its biology, taxonomy, ecology, and pathology, 55-70.

30- Stamps D.J., Waterhouse G.M., Newhook, F. and G.S. Hall. 1990. Revised Tabular Key to the Species of Phytophthora. Mycol. Pap.; No. 162.

31- Tompkins C.M., Tucker C. and M. Gardner. 1936. Phytophthora root rot of Cauliflower. Journal of Agricultural Research, 53: 685-92.

32- Vening, F.D. 1962. Foot rot of gummosis of pistachio in Iran (unpublished).

33- Waterhouse G.M. 1963. Key to the species of *Phytophthora* de Bary. Commonwealth Mycological Institute Kew, Surrey, England.

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

تأثیراستفاده از اسانس نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) بر مدت زمان ماندگاری روغن پسته

معین اسماعیلی [۱]، سید امیرحسین گلی [۲] و احمد شاکراردکانی* [۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۶/۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۹/۱

چکیده

در این مطالعه اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس نعناع فلفلی (در غلظت های ۱۵۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بر پایداری اکسیداسیونی روغن پسته طی مدت نگهداری مورد بررسی قرار گرفت. به منظور بررسی پایداری اکسیداتیو، برخی خصوصیات کیفی روغن از جمله عدد پراکسید (PV)، شاخص پایداری به اکسیداسیون (OSI) و ترکیب اسیدهای چرب روغن هر ۲۰ روز یکبار اندازه‌گیری شد. نتایج بررسی نشان دهنده تأثیر ترکیبات آنتی اکسیدانی مورد استفاده بر روند اکسیداسیون روغن در طی دوره نگهداری بود. از نظر طعم و مزه بین غلظت‌های صفر (شاهد)،۷۵۰، ۱۵۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. در تمامی تیمارها عدد پراکسید روند افزایشی از خود نشان داد، به طوری که در پایان این دوره، بیشترین عدد پراکسید در بین همه نمونه‌ها به ترتیب متعلق به نمونه شاهد، نعناع (۱۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر)، BHT و نعناع (۳۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) بود. بیشترین درصد افزایش این شاخص در نمونه شاهد مشاهده شد (۵۱/۱۷) و تیمارهای حاوی اسانس نعناع (۳۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و BHT اختلاف معنی داری نشان دادند ($P\leq ۰/۰۵$). در روز هشتادم به دلیل تشدید اکسیداسیون، شاخص OSI به کمترین مقدار خود رسیده است، به طوری که نمونه شاهد و اسانس نعناع فلفلی در غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به ترتیب کمترین و بیشترین شاخص پایداری به اکسیداسیون را نشان دادند (۵/۱ و ۱۲/۱ساعت). اسانس طبیعی نعناع فلفلی در همه شاخص‌های مورد اندازه‌گیری عملکرد بهتری نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT داشته و در غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بدون تاثیر بر عطر و طعم، جایگزین مناسبی برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی است.

واژگان کلیدی: اسانس نعناع فلفلی، اسید چرب، پایداری اکسیداسیونی، روغن پسته

---

[۱] دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران.
[۲] استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران.
[۳] عضو هیئت علمی پژوهشکده پسته کشور.
* ایمیل نویسنده مسئول: (shaker@pri.ir)

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

مقدمه

پسته گیاهی نیمه گرمسیری از تیره آناکاردیاسه (Anacardiaceae) و جنس *Pistacia* است که بسیار نیروزا و سرشار از مواد پروتئینی، چربی، ویتامین‌ها و املاح است. ۳۰ گرم پسته بیش از ۱۰ درصد نیاز روزانه انسان به فیبر، ویتامین B6، تیامین، منیزیم، فسفر و مس را تامین می کند (۵). پسته حاوی مقدار زیادی استرول گیاهی است (تقریباً ۶۰ میلی‌گرم در ۳۰ گرم) که موجب کاهش ابتلاء به بیماری‌های قلبی و سرطان می‌شود. علاوه بر این پسته منبع بسیار خوبی از اسیدهای چرب تک غیراشباعی است که به افزایش سطح کلسترول خوب، بدون افزایش کلسترول بد در بدن انسان کمک می کند (۱۱). مغز پسته منبع خوبی از چربی (۶۰/۶-۵۲/۴ درصد) می‌باشد و در مقایسه با بیشتر مغزهای درختی (میوه های آجیلی) و دانه‌های روغنی حاوی روغن بیشتری است و به همین دلیل روغن پسته یکی از فرآورده‌های جانبی آن است. روغن پسته حاوی اسیدهای چرب ضروری غیراشباع (اولئیک، لینولئیک و لینولنیک اسید) است که با توجه به خواص تغذیه‌ای بسیار مناسب می‌تواند از بروز بیماری‌های قلبی- عروقی و تجمع کلسترول در بدن جلوگیری کند (۱۴). نسبت بالای اسیدهای چرب غیراشباع به اشباع، موجب بالا بردن ارزش تغذیه‌ای روغن پسته شده ولی از طرف دیگر حساسیت این روغن را به اکسیداسیون افزایش می‌دهد. اکسیداسیون روغن در طول دوره نگهداری موجب توسعه طعم و رنگ نامطلوب، تندی و کاهش خواص تغذیه‌ای در محصول می‌شود که کیفیت روغن را کاهش داده و موجب کاهش مدت زمان نگهداری می‌شود. عواملی چون حرارت، نور، و بعضی مواد پراکسیدان مثل فلزات می‌توانند باعث تسریع این نوع فساد شوند (۱۸). یکی از راه‌های مهم مقابله با اکسیداسیون روغن استفاده از آنتی-اکسیدان‌ها است که با توجه به اینکه تنها افزودنی مجاز در روغن پسته به‌شمار می‌آیند، استفاده از آن‌ها ضرورت می-یابد. اگر چه به طور طبیعی توکوفرول‌ها به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در روغن‌های گیاهی وجود دارند اما امروزه برای جلوگیری از اکسیداسیون روغن اکثراً از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مانند ترشیو بوتیل هیدروکینون (TBHQ)، بوتیلات هیدروکسی تولوئن (BHT) و بوتیلات هیدروکسی آنیزول (BHA) استفاده می‌کنند. امروزه با توجه به آثار جانبی و معایب استفاده از ترکیبات نگهدارنده سنتزی از جمله احتمال ابتلاء به سرطان، در برخی از کشورها از جمله ژاپن، کانادا و کشورهای اروپایی استفاده از TBHQ ممنوع شده و به‌طور مشابه BHA نیز از لیست ترکیبات ایمن[1] حذف گردیده است، مطالعه و بررسی منابع مختلف گیاهی و ترکیبات طبیعی جهت معرفی جایگزینی مناسب برای آنتی-اکسیدان‌های سنتزی افزایش یافته است (۳).

[1] Generally recognize as safe (GRAS)

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

اسانس‌ها هم از نظر مقدار و هم از نظر ترکیبات سازنده تحت تاثیر عوامل مختلف محیطی و درونی هستند. عوامل بیرونی مانند دما، رطوبت، نور، موقعیت جغرافیایی، خاک و غیره اهمیت دارند. با بررسی مطالعات و تحقیقات مختلف، بیشترین درصد ترکیبات اسانس نعناع فلفلی را به ترتیب منتول (۳۹/۸درصد)، منتون (۱۹/۵درصد)، نئومنتول (۸/۸ درصد)، منتول استات (۸/۶ درصد) تشکیل می‌دهند (Sivropoulou *et al*, 1996). درمان و همکاران (۵) به مطالعه و بررسی ترکیبات فنولیک و قدرت آنتی‌اکسیدانی ۷ گونه از گیاه نعناع شامل آگاتیکا (*M. aquatica*)، آرونسیس (*M. arvensis*)، دالماتیکا (*M. dalmatica*)، هاپلوکالیکس (*M. haplocalyx*)، موراکو (*M. Morocco*)، ورتیکالاتا (*M. verticillata*) و پایپریتا (*M. piperita*) پرداختند. نتایج نشان داد در بین گونه‌های مذکور نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) دارای بیشترین ترکیبات فنولی (۲۳۰ میلی‌گرم گالیک اسید در کیلوگرم روغن) و در نتیجه دارای بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده و به عنوان یک منبع آنتی‌اکسیدان طبیعی جهت کاربرد در صنعت غذا معرفی شد. همچنین در بررسی اجزا اسانس این گیاه با HPLC ترکیبات غالب منتول (حدود ۳۹ درصد) و منتون (حدود ۱۹ درصد) معرفی شدند (۵). اسانس نعناع فلفلی اثر آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی قوی دارد (۹). بررسی مدت زمان ماندگاری روغن گردو با استفاده از اسانس طبیعی رزماری و آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ توسط مارتینز و همکاران (۲۰۱۳) انجام شد. نتایج نشان داد که آنتی‌اکسیدان طبیعی رزماری (۸۰۰μg/g oil) جایگزین مناسبی برای آنتی-اکسیدان سنتزی (آسکوربیل پالمیتات و TBHQ) است (۱۲).

کامکار و همکاران (۲۰۱۰) اسانس نعناع را در ۵ غلظت (۱۰۰۰ و۸۰۰،۶۰۰،۴۰۰،۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و آنتی-اکسیدان سنتزی BHT را در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر جهت بررسی پایداری اکسیداتیو به روغن آفتابگردان اضافه کرده و مدت ۷ روز در دمای ۶۰°C نگهداری کردند. در طول مدت زمان نگهداری در نمونه‌های حاوی اسانس نعناع عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید کمتری در مقایسه با نمونه شاهد مشاهده شد (۱۰). هدف از این پژوهش بررسی اثر اسانس نعناع فلفلی، به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی در افزایش پایداری اکسیداتیو و بهبود پروفایل اسیدهای چرب روغن خام پسته رقم اوحدی طی دوره نگهداری بود.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه

پسته (*Pistacia vera* L.) رقم اوحدی از باغ های پسته شهرستان رفسنجان و گیاه نعناع فلفلی (Mentha piperita) از مزارع دانشگاه صنعتی اصفهان به صورت تازه برداشت شد. مواد شیمیایی از شرکت مرک آلمان با درجه خلوص بالا تهیه گردید.

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

استخراج روغن پسته

پس از برداشت پسته و پوست‌گیری ابتدا مغز تازه پسته به مدت یک روز درون آون با دمای ۲ ±۳۰ درجه سانتی گراد تا رطوبت ۵ درصد خشک گردید (۸). سپس توسط دستگاه Cold press (مدل ۸۰mm ساخت شرکت ایران کلد پرسینگ) روغن پسته استخراج و جهت جدا کردن نرمه‌ها، روغن از صافی سلولزی با مش‌های ۱۰ میکرونی عبور داده شد.

استخراج اسانس

برای استخراج اسانس، از روش تقطیر با آب (Hydrodistilation) و دستگاه اسانس‌گیری (Clevenger) استفاده گردید (۶). عمل آب‌گیری از اسانس حاصل توسط سولفات سدیم بدون آب (Na_2so_4) صورت پذیرفت. بلافاصله اسانس استخراج شده به یک شیشه تیره حاوی فویل آلومینیوم منتقل و تا زمان استفاده در یخچال در دمای ۴°C نگهداری شد.

ارزیابی حسی

جهت انتخاب غلظت مناسب اسانس، ارزیابی حسی در مقیاس هدونیک توسط ۲۰ ارزیاب نیمه آموزش دیـده (۱۰ مرد و ۱۰ زن) انجام گردید. در مقیاس هدونیک بهترین نمونه از نظر طعم و مزه امتیاز ۵ و بدترین نمونـه امتیـاز ۱ در نظر گرفته شد. ۵ غلظت صفر (شاهد)، ۷۵۰، ۱۵۰۰، ۳۰۰۰ و ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از اسانس نعناع فلفلی در روغـن پسته استفاده شد و سپس نمونه‌های روغن توسط ارزیاب‌ها از نظر طعم و مزه مورد ارزیابی قرار گرفت. ارزیـابی حسـی قبل از بررسی های شیمیایی انجام گردید.

آماده سازی روغن پسته

پس از استخراج روغن به منظور بررسی روند اکسیداسیون، روغن با اسانس نعناع فلفلی در دو غلظت ۱۵۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مخلوط و به مدت ۱۵ دقیقه با هموژنایزر مخلوط گردید. سپس نمونه‌های روغن پسته حاوی اسانس طبیعی، آنتی‌اکسیدان سنتزی همراه با نمونه شاهد (بدون آنتی‌اکسیدان) درون ظروف شیشه‌ای تیره رنگ بسته‌بندی و به مدت ۸۰ روز در انکوباتور با دمای ۶۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد. خصوصیات فیزیکوشیمیایی روغن مطابق روش AOCS هر ۲۰ روز یک‌بار بررسی شد (۱).

عدد پراکسید

مطابق روش AOCS به شماره ۵۳-۸ Cd انجام شد (۱). مقدار ۰/۰۵± ۵ گرم نمونه روغن را در یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتری وزن کرده و ۳۰ میلی لیتر محلول اسید استیک - کلروفرم به آن افزوده و مخلوط هم زده شد تا

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

روغن در آن حل شود. به این محلول ۰/۵ میلی لیتر محلول یدید پتاسیم اشباع شده افزوده و بعد از یک دقیقه ۳۰ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. محلول به آرامی با تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تیتر شد. بعد از آنکه رنگ زرد از بین رفت، تقریباً ۰/۵ میلی لیتر شناساگر نشاسته ۱ درصد به آن افزوده و تیتراسیون تا از بین رفتن رنگ آبی ادامه یافت. در حین تیتراسیون محلول به شدت تکان داده شد تا ید از لایه کلروفرم آزاد گردد. درصورتی که در تیتراسیون کمتر از ۰/۵ میلی لیتر محلول تیوسولفات مصرف می گردید، آزمایش با محلول ۰/۰۱ نرمال تکرار می شد.

برای آزمایش شاهد کلیه عملیات اصلی بدون نمونه انجام شد. عدد پراکسید روغن (میلی اکی والان پراکسید در هر کیلوگرم روغن) با فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{عدد پراکسید} = \frac{\text{۱۰۰۰*نرمالیته تیوسولفات× (حجم تیوسولفات مصرفی برای نمونه - حجم مصرفی شاهد)}}{\text{گرم وزن نمونه}}$$

تعیین پروفیل اسیدهای چرب به روش کروماتوگرافی گازی [1](GC)

برای تعیین پروفیل اسیدهای چرب از دستگاه کروماتوگرافی گازی Agilent مدل 6890N ساخت آمریکا و از روش گلی و همکاران (۲۰۰۸)، (۷) برای تولید متیل استر اسیدهای چرب استفاده شد. به منظور شناسایی اسیدهای چرب ابتدا استانداردهای اسید چرب شامل اسید پالمتیک، اسید استئاریک، اسید اولئیک، اسیدلینولئیک و اسیدلینولنیک تهیه و پس از رقیق سازی به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق گردید. برای تعیین اسیدهای چرب ۵۰ میکرولیتر از روغن در ۱ میلی‌لیتر هگزان حل شد، سپس ۱۰۰ میکرولیتر از متوکسید سدیم متانولی ۰/۵ نرمال به آن اضافه شده و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق تکان داده شد. در انتها نمونه متیله شده در تماس با سولفات سدیم بدون آب قرار گرفت تا رطوبت آن خارج شود. ستون مورد استفاده HP-88 به طول ۱۰۰ متر، قطر ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت فاز ثابت ۰/۲۰ میکرومتر بوده و از گاز نیتروژن به عنوان گاز حامل با جریان ۱/۱ میلی‌لیتر بر دقیقه استفاده شد. برنامه دمایی ستون به این صورت بود که در دمای ۱۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه ثابت مانده، سپس با سرعت ۵ درجه سلسیوس در دقیقه به دمای ۱۹۰ درجه سلسیوس رسیده و به مدت ۲ دقیقه نیز در این دما قرار گرفت و پس از آن با سرعت ۵ درجه سلسیوس در دقیقه به دمای ۲۴۰ درجه سلسیوس رسیده و به مدت ۸ دقیقه دیگر در این دما نگه‌داشته شد. آشکارساز دستگاه از نوع یونش شعله ای ۲ با دمای ۲۵۰ درجه سلسیوس، دمای تزریق

[1] Gas Chromatography
[2] FID (Flame Ionization Detector)

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

۱۵۰ درجه سلسیوس و حجم تزریق ۱ میکرولیتر تقسیم شده[1] در مقیاس ۱ به ۳۰ انجام گردید. بر اساس زمان خروج پیک، اسید چرب شناسایی شده و سطح زیر پیک، میزان اسید چرب مورد نظر را نشان داد (۷).

پایداری به اکسیداسیون (OSI)

دستگاه رنسیمت (مدل ۶۷۹، Metrohm-سوئیس) مطابق با AOCS (۲۰۰۴) روش (Cd ۱۲ b-۹۲) به منظور اندازه گیری پایداری اکسیداتیو (OSI) مورد استفاده قرار گرفت (۱). جریانی از هوای خشک و تمیز با سرعت ۱۵ لیتر بر ساعت به درون ظرف حاوی ۳ گرم نمونه روغن دمیده شد. شاخص پایداری اکسایشی به طور خودکار در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس اندازه‌گیری شد (۱).

آنالیز آماری

تمام آزمون‌ها با ۳ تکرار انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. تیمارهای تحت بررسی شامل غلظت آنتی‌اکسیدان‌ها و زمان بودند. آزمون مقایسه میانگین‌ها نیز به روش LSD (حداقل تفاوت های معنی دار) در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد. برای تمام تجزیه و تحلیل‌های آماری از نرم افزار SAS 9.1 استفاده شد.

نتایج و بحث

ارزیابی حسی

جدول ۱- مقایسه میانگین نتایج ارزیابی حسی از نظر طعم و مزه

برای غلظتهای مختلف اسانس نعناع فلفلی

غلظت اسانس (میلی‌گرم بر لیتر)	نعناع فلفلی
۰	۴/۹۰ a
۷۵۰	۴/۷۵ a
۱۵۰۰	۴/۷۵ a
۳۰۰۰	۴/۷۰ a
۵۰۰۰	۲/۴۰ b

حروف کوچک غیر مشترک بیان گر تفاوت معنی دار در سطح ۵٪ می باشد.

[1] Split

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

بر طبق نتایج جدول ۱ از نظر طعم و مزه بین غلظت‌های صفر (شاهد)،۷۵۰، ۱۵۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. از آنجایی که با افزایش غلظت اسانس خاصیت آنتی‌اکسیدانی نیز افزایش می‌یابد بنابراین جهت انجام آزمایش غلظت‌های ۱۵۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از اسانس نعناع فلفلی به روغن پسته اضافه شد.

عدد پراکسید

در تمامی تیمارها عدد پراکسید روند افزایشی از خود نشان داد، به طوری که در پایان این دوره، بیشترین عدد پراکسید در بین همه نمونه‌ها به ترتیب متعلق به نمونه شاهد، نعناع (۱۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر)، BHT و نعناع (۳۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) بود. بیشترین درصد افزایش این شاخص در نمونه شاهد مشاهده شد (۵۱/۱۷) و تیمارهای حاوی اسانس نعناع (۳۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و BHT اختلاف معنی داری نشان دادند ($P\leq ۰/۰۵$) (جدول ۲). عدد پراکسید روغن پسته خام، ۰/۸۸۵ میلی‌اکی‌والان به دست آمد که با توجه به اینکه استاندارد کدکس عدد پراکسید برای روغن-های خام را کمتر از ۱۰ میلی‌اکی‌والان اکسیژن در هر کیلوگرم روغن اعلام کرده است عدد به دست آمده نشان دهنده کیفیت خوب روغن است (۴). هیدروپراکسیدها محصولات اولیه اکسیداسیون می باشند که در اثر واکنش اکسیژن و اسیدهای چرب غیراشباع تشکیل می‌شوند. در اثر اکسیداسیون و افزایش مدت زمان نگهداری میزان این ترکیبات افزایش می‌یابد. چن و همکاران (۲۰۱۴) جهت افزایش مدت زمان نگهداری روغن آفتابگردان از اسانس طبیعی رزماری در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ وBHT در همین غلظت استفاده نمودند (۲). در بررسی این محققین پس از ۳ هفته انبارداری روند افزایشی در عدد پراکسید مشاهده گردید و بیشترین عدد پراکسید در پایان انبارداری مربوط به نمونه شاهد بود. اسانس رزماری در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آنتی‌اکسیدان طبیعی بسیار قوی تشخیص داده شد و در این غلظت جایگزینی مناسب برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی همچون BHT بود (۲). شهسواری و همکاران (۲۰۰۸) اثر اسانس آویشن شیرازی (غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHT و BHA (غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) را بر روغن سویا به مدت ۳۲ روز با اندازه‌گیری عدد پراکسید مورد مطالعه قرار دادند. این محققین مشاهده نمودند که عدد پراکسید به غلظت آنتی‌اکسیدان بستگی دارد و با افزایش غلظت آنتی‌اکسیدان، عدد پراکسید به طور چشم‌گیری کاهش یافت. همچنین اسانس قادر به کاهش سرعت اکسیداسیون روغن سویا در شرایط تسریع شده (دمای ۶۰ درجه سلسیوس) و قابل مقایسه با آنتی اکسیدان سنتزی است (۱۷).

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

جدول ۲- تغییرات عدد پراکسید (میلی اکی والان اکسیژن در کیلوگرم روغن) روغن پسته خام طی ۸۰ روز نگهداری در دمای ۶۰°C.

	روز نگهداری				
تیمار (میلی‌گرم بر لیتر)	۰	۲۰	۴۰	۶۰	۸۰
نعناع فلفلی ۳۰۰۰	n ۰/۸۸ ±۰/۰۱	m ۴/۲۶ ±۰/۰۵	j ۸/۱۶ ±۰/۰۶	g ۱۲/۷۹ ±۰/۰۹	e ۱۶/۳۱ ±۰/۱
نعناع فلفلی ۱۵۰۰	n ۰/۸۸ ±۰/۰۱	k ۷/۰۵ ±۰/۱	h ۱۰/۹۸ ±۰/۱	e ۱۵/۸۸ ±۰/۲	b ۱۸/۸۹ ±۰/۰۹
BHT	n ۰/۸۸ ±۰/۰۱	l ۶/۱۶ ±۰/۰۷	i ۱۰/۱۵ ±۰/۰۹	f ۱۴/۴۶ ±۰/۰۹	d ۱۷/۳۸ ±۰/۰۸
شاهد	n ۰/۸۸ ±۰/۰۱	i ۹/۵۷ ±۰/۱	c ۱۹/۰۶ ±۰/۳	b ۲۸/۱۶ ±۰/۳	a ۵۱/۱۷ ±۱/۰

حروف کوچک غیر مشترک بیان گر تفاوت معنی دار در سطح ۵٪ می باشد.

پایداری به اکسیداسیون (OSI)

نتایج (جدول ۳) نشان می‌دهد که شاخص OSI برای روغن پسته خام در دمای ۱۲۰°C، ۱۶ ساعت می باشد. این میزان بالای شاخص OSI نشان دهنده پایداری اکسیداتیو بالای روغن پسته بوده که می‌تواند به دلیل وجود آنتی-اکسیدان‌های طبیعی در روغن پسته باشد. همچنین این روغن دارای میزان بالایی از اسیدهای چرب تک غیراشباعی می‌باشد که باعث پایداری خوب روغن پسته به اکسیداسیون شده است (۱۶).

نتایج (جدول ۳) نشان می‌دهد بین تیمارها و نمونه شاهد در مجموع زمان‌ها تفاوت معنی‌داری ($P <$ ۰/۰۵) وجود دارد. در روز هشتادم به دلیل افزایش مدت زمان نگهداری و به تبعیت از آن تشدید اکسیداسیون، شاخص OSI به کمترین مقدار خود رسیده است، به طوری که نمونه شاهد کمترین (۵/۱ ساعت) شاخص پایداری به اکسیداسیون را دارا می باشد و پس از آن اسانس نعناع فلفلی در غلظت ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (۷/۷ساعت) و بالاترین مقدار (۱۲/۱ساعت) نیز متعلق به اسانس نعناع فلفلی در غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر است. بر اساس گزارش مازینانی (۲۰۱۱)، در هر سه دمای ۱۲۰،۱۱۰ و ۱۳۰°C روغن پسته خام نسبت به دو روغن دیگر بیشترین پایداری به اکسیداسیون را نشان داد (۱۰،۱۶و۶ ساعت) و پس از آن روغن بادام (۱۵/۵، ۹/۶ و۵/۸) و در نهایت روغن گردو به دلیل غنی بودن از اسیدهای چرب چند غیراشباعی دارای پایین‌ترین پایداری به اکسیداسیون بود (۱۰، ۴ و ۲/۱ ساعت) (۱۳). نتایج پژوهش حاضر نشان داد در مدت زمان نگهداری به دلیل اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع به‌خصوص اسید اولئیک (شاخص پایداری روغن پسته) از پایداری روغن کاسته شده در نتیجه شاخص OSI در مدت زمان انبارداری روند کاهشی داشته است. مارتینز و همکاران (۲۰۱۳) برای بررسی روند اکسیداسیون روغن گردو در طول مدت زمان ۱۸۰ روز انبارداری شاخص پایداری اکسیداسیونی را اندازه‌گیری کردند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

دادکه به طور کلی شاخص OSI در طول مدت زمان انبارداری روند کاهشی ناچیزی داشت و کمترین میزان این اندیس در پایان مدت انبارداری مربوط به نمونه شاهد (بدون آنتی اکسیدان) بود (۱۲).

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی دانه‌های روغنی به میزان زیادی بستگی به ترکیب اسیدهای چرب آن‌ها دارد (۱۵). نتایج مختلف نشان می‌دهد که اولئیک (۶۶/۲۳۷-۶۱/۵۷۰٪)، لینولئیک (۲۵/۱۸۰-۱۷/۴۸۵٪) و پالمتیک اسید (۱۰/۵۶۰-۹/۹۲۶٪) به ترتیب سه اسید چرب غالب روغن پسته هستند. ترکیب و درصد اسیدهای چرب روغن مورد نظر در این پژوهش در زمان صفر با نتایج ییلدیز و همکاران (۱۹۹۸) مطابقت داشت (۱۹).

جدول۳- تغییرات شاخص OSI (ساعت) در تیمارهای مختلف در طی ۸۰ روز نگهداری در دمای ۶۰°C.

تیمار (میلی‌گرم بر لیتر)	روز نگهداری				
	۰	۲۰	۴۰	۶۰	۸۰
نعناع ۳۰۰۰	۱۶/۰۱± ۰/۲^{E}	۱۴/۸±۰/۲^{Aa}	۱۴/۰۵±۰/۱^{Ba}	۱۲/۸۵±۰/۱^{Ca}	۱۲/۱۰±۰/۱^{Da}
نعناع ۱۵۰۰	۱۶/۰۱± ۰/۲^{E}	۱۰/۹±۰/۱ ^{Ab}	۹/۸۵±۰/۱^{Bb}	۸/۲۵±۰/۰۷^{Cb}	۷/۷۲±۰/۱^{Db}
BHT ۱۰۰	۱۶/۰۱± ۰/۲^{E}	۱۳/۰۷±۰/۳^{Ac}	۱۲/۸۴±۰/۲^{Bc}	۱۱/۱۲±۰/۱^{Cc}	۱۰/۸۱±۰/۰۸^{Dc}
شاهد (بدون آنتی اکسیدان)	۱۶/۰۱± ۰/۲^{E}	۸/۱±۰/۱^{Ad}	۷/۴۲±۰/۱^{Bd}	۶/۱۹±۰/۱^{Cd}	۵/۱۶±۰/۰۶^{Dd}

حروف کوچک در هر ستون، و حروف بزرگ در هر ردیف غیر مشترک بیانگر تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵٪ است.

در طول مدت زمان نگهداری میزان اسیدهای چرب اشباع (پالمتیک و استئاریک) به میزان ناچیزی افزایش ولی از میزان اسیدهای چرب غیراشباع (اولئیک، لینولئیک و لینولنیک) کاسته شده است. در مجموع زمان‌ها در مورد همه اسیدهای چرب بین تیمارها تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P<۰/۰۵$). در پایان روز هشتادم نمونه شاهد میزان بیشتری از اسیدهای چرب غیراشباع را از دست داد (اسید اولئیک ۶۲/۰۲٪ و اسید لینولئیک ۲۵/۹۹٪). پس از آن در نمونه حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی بیشترین کاهش اسیدهای چرب غیراشباع (اسید اولئیک ۶۲/۴۴ ٪ و اسید لینولئیک ۲۶/۲۹٪) رخ داده است. اما اسانس طبیعی نعناع فلفلی در غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به خوبی توانسته میزان غیراشباعیت روغن را حفظ کند (اسید اولئیک ۶۲/۴۵٪ و اسید لینولئیک ۲۶/۳۰٪).

پروفیل اسیدهای چرب

همانطور که در جدول ۴ مشاهده می‌شود میزان اسیدهای چرب اشباع (پالمتیک و استئاریک) روغن پسته پایین بوده در حالی که این روغن غنی از اسیدهای چرب غیراشباع (اولئیک، لینولئیک و لینولنیک) است.

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

روغن با میزان بالای اسیدهای چرب غیراشباع به شدت به فرآیند اکسیداسیون حساس بوده و برای جلوگیری از واکنش‌های نامطلوب و فساد روغن باید دقت زیادی در فرآوری و نگهداری آن کرد. بنابراین به لحاظ غیراشباعیت بالای روغن پسته شرایط نگهداری و بسته‌بندی آن بسیار مورد توجه است. از اسیدهای چرب چند غیراشباعی (PUFA) مانند اسید لینولئیک و اسید لینولنیک جهت تعیین میزان حساسیت روغن‌های مختلف به اکسیداسیون استفاده می شود.

جدول۴- تغییرات پروفیل اسیدهای چرب در تیمارهای مختلف روغن پسته در طی ۸۰ روز نگهداری در دمای ۶۰°C.

اسید چرب	زمان (روز)	شاهد	نعناع ۱۵۰۰mgL^{-1}	نعناع ۳۰۰۰mgL^{-1}	BHT ۱۰۰mgL^{-1}
اسید پالمتیک	۰	۹/۴۷±۰/۰۳^{C}	۹/۴۷±۰/۰۳^{C}	۹/۴۷±۰/۰۳^{C}	۹/۴۷±۰/۰۳
	۲۰	۹/۷۸±۰/۰۰۹^{Aa}	۹/۶۲±۰/۰۰۵^{Ad}	۹/۵۸±۰/۰۰۶^{Ab}	۹/۵۹±۰/۰۰۶^{Ac}
	۸۰	۱۰/۰۰±۰/۰۱^{Ba}	۹/۸۹±۰/۰۰۷^{Bd}	۹/۷۴±۰/۰۰۷^{Bb}	۹/۷۶±۰/۰۰۷^{Bc}
اسید استئاریک	۰	۱/۳۶±۰/۰۰۹^{C}	/۳۶±۰/۰۰۹^{C}	۱/۳۶±۰/۰۰۹^{C}	۱/۳۶±۰/۰۰۹^{C}
	۲۰	۱/۵۹±۰/۰۱^{Aa}	۱/۴۷±۰/۰۰۶ ^{Ad}	۱/۴۲±۰/۰۰۶^{Ab}	۱/۴۶±۰/۰۰۷^{Ac}
	۸۰	۱/۸۲±۰/۰۰۸^{Ba}	۱/۶۹±۰/۰۱^{Bd}	۱/۶۵±۰/۰۰۸^{Bb}	۱/۶۷±۰/۰۰۹^{Bc}
اسید اولئیک	۰	۶۲/۷۹±۰/۰۱^{C}	۶۲/۷۹±۰/۰۱^{C}	۶۲/۷۹±۰/۰۱^{C}	۶۲/۷۹±۰/۰۱^{C}
	۲۰	۶۲/۳۹±۰/۰۱^{Aa}	۶۲/۶۰±۰/۰۰۵^{Ad}	۶۲/۶۵±۰/۰۰۸^{Ab}	۶۲/۶۳±۰/۰۰۸^{Ac}
	۸۰	۶۲/۰۲±۰/۰۰۹^{Ba}	۶۲/۴۱±۰/۰۰۶^{Bd}	۶۲/۴۵±۰/۰۰۷^{Bb}	۶۲/۴۴±۰/۰۰۶^{Bc}
اسید لینولئیک	۰	۲۶/۶۷±۰/۰۵^{C}	۲۶/۶۷±۰/۰۵^{C}	۲۶/۶۷±۰/۰۵^{C}	۲۶/۶۷±۰/۰۵^{C}
	۲۰	۲۶/۲۲±۰/۰۰۸^{Aa}	۲۶/۴۲±۰/۰۰۵^{Ad}	۲۶/۴۹±۰/۰۰۸^{Ab}	۲۶/۴۸±۰/۰۱^{Ac}
	۸۰	۲۵/۹۹±۰/۰۲^{Ba}	۲۶/۲۶±۰/۰۰۸^{Bd}	۲۶/۳۰±۰/۰۰۵^{Bb}	۲۶/۲۹±۰/۰۰۷^{Bc}
اسید لینولنیک	۰	۰/۸۱±۰/۰۱^{C}	۰/۸۱±۰/۰۱^{C}	۰/۸۱±۰/۰۱^{C}	۰/۸۱±۰/۰۱^{C}
	۲۰	۰/۶۲±۰/۰۱^{Aa}	۰/۷۰±۰/۰۰۵ ^{Ad}	۰/۷۵±۰/۰۰۵^{Ab}	۰/۷۳±۰/۰۰۶ ^{Ac}
	۸۰	۰/۴۰±۰/۰۱^{Ba}	۰/۵۴±۰/۰۰۷ ^{Bd}	۰/۶۰±۰/۰۰۷^{Bb}	۰/۵۹±۰/۰۰۷ ^{Bc}

در هر ستون، حروف کوچک و در هر ردیف، حروف بزرگ غیرمشترک بیانگر تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵٪ است.

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

نتیجه‌گیری کلی

نتیجه حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که بر اساس نتایج عدد پراکسید اسانس طبیعی نعناع فلفلی در غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر ، عملکرد بهتری در کاهش اکسیداسیون نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT داشته و مدت زمان ماندگاری روغن پسته را بدون تاثیر منفی بر عطر و طعم، افزایش داده است. اما این اسانس در غلظت ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نتوانسته جایگزینی مناسب برای آنتی‌اکسیدان سنتزی باشد. تمامی تیمارها از نظر عدد پراکسید، شاخص پایداری به اکسیداسیون (OSI) و تغییرات پروفیل اسیدهای چرب تفاوت معنی داری با نمونه شاهد نشان دادند. با توجه به نتایج عدد پراکسید و شاخص پایداری به اکسیداسیون اسانس طبیعی عملکرد بهتری در کاهش اکسیداسیون داشته است. بنابراین پیشنهاد می‌شود با توجه به خواص مفید اسانس نعناع و عملکرد مناسب آن در کاهش اکسیداسیون روغن، از غلظت‌های مناسب اسانس بدون آنکه بر عطر و طعم روغن تاثیر بسزایی داشته باشد، جهت جایگزینی مناسب برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در صنایع مختلف غذایی به‌خصوص صنعت روغن استفاده شود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از پژوهشکده پسته به خاطر همکاری در انجام این پروژه تحقیقاتی صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

منابع

1- AOCS. 2004. Official Methods and Recommended Practices of the American oil Chemists' Society (4 ed.). Champaign, IL: AOCS Press.

2- Chen, X., Zhang, Y., Zu, Y., Yang, L., Lu, Q., and W. Wang,. 2014. Antioxidant effects of rosemary extracts on sunflower oil compared with synthetic antioxidants. International Journal of Food Science & Technology, 49(2): 385-391.

3- Cicerale, S.C., Xavier A. B., Neil .W. and Russell S.J. 2013. Storage of extra virgin olive oil and its effect on the biological activity and concentration of oleocanthal. Food Research International, 50(2): 597-602.

4- Codex, A. 2010. Fats, oils and related products (2nd Ed.). Rome, Italy: FAO/WHO Food Standards Programme.

5- Dorman, HJ. Damien, K. ,Müberra, K., Kirsti, H.Y. and R. Hiltunen. 2003. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from Mentha species, hybrids, varieties, and cultivars. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51(16): 4563-4569.

6- Feyzi ,P., Kamali, H., Yazdani, A., and Hashemimoghadam, H. 2012. Comparison of solvent extraction and hydrodistillation of essential oil from Biebersteinia multifida DC. Conjunction with gas chromatography–mass spectroscopy. Journal of North Khorasan University of Medical Sciences, 4: 35-41.

7- Goli, A.H., Barzegar, M., and M.A. Sahari. 2005. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistacia vera* L.) hull extracts. Food Chemistry, *92*(3): 521-525.

8- ISIRI. 2014. Natural Open Pistachio– Specifications. Karaj: Iranian National Standardization Organization.

9- Izadi, Z., Ahmadvand, G., Esna-Ashari, M., Piri, K.H. and P. Davoodi. 2010. Biochemical and Antimicrobial Activities of Salvia Officinalis L. and Mentha Piperita L. Essential oils. Armaghane-Danesh, 15(1): 19-29.

10- Kamkar, A., Jebelli Javan, A., Asadi, F., & Kamalinejad, M. 2010. The antioxidative effect of Iranian Mentha pulegium extracts and essential oil in sunflower oil. Food and Chemical Toxicology, 48(7): 1796-1800.

11- Kornsteiner, M., Wagner, K.H., & Elmadfa, I. 2006. Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types. Food Chemistry, 98(2): 381-387.

12- Martínez, M.L, Penci, M.C., Ixtaina, V., Ribotta, P.D., and D. Maestri. 2013 .Effect of natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of walnut oil under different storage conditions. LWT-Food Science and Technology, 51(1): 44-50.

13- Mazinani, S., Elhamirad, A.H., Piravivanak, Z., and M. Taghavi. 2011. Evaluation of thermal stability, the characteristics and of phenolic compound antioxidants and profile fatty acids in the oils, (pistachionut, walnut and almond). Journal of Food Science and Technology, 2(3): 46-52.

14- Miraliakbari, H., and F. Shahidi. 2008. Oxidative stability of tree nut oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56(12): 4751-4759.

15- Padley, F., Gunstone, B., Frank, D., and L.J. Harwood. 1986. Occurrence and characteristics of oils and fats. The lipid handbook. Springer. 49-170.

16- Riveros, C.G., Mestrallet, M.G., Gayol, M.F., Quiroga, P.R., Nepote, V., and N.R. Grosso. 2010. Effect of storage on chemical and sensory profiles of peanut pastes prepared with high-oleic and normal peanuts. Journal of the Science of Food and Agriculture, 90(15): 2694-2699.

17- Shahsavari, N., Barzegar, M., Sahari, M.A., and H. Naghdibadi. 2008. Antioxidant activity and chemical characterization of essential oil of Bunium persicum. Plant Foods for Human Nutrition, 63(2): 183-188.

18- Tavakolipour, H ,.Armin, M., & Kalbasi-Ashtari, A. 2010. Storage stability of Kerman pistachio nuts *(Pistacia vera* L.). International Journal of Food Engineering, 6(6): 1-11.

19- Yildiz, M., Gurcan, S.T., and Ozdemir, M. 1998. Oil composition of pistachio nuts (*Pistacia vera* L.) from Turkey. Fett-Lipid, 100(3): 84-86.

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

Effect of Using *Mentha piperita* Essential Oil on the Shelf Life of Pistachio Oil

M. Esmaeili[1], S. A. H. Goli[2] and A. Shakerardakani[3*]

Abstract

In this study, the antioxidant effect of *mentha piperita* essential oils in the concentrations of 1500 and 3000 mgL^{-1}) and synthetic antioxidant BHT in concentration of 100 mgL^{-1} on oxidation stability of pistachio oil was investigated. To evaluate the oil oxidative stability, some quality specifications of oils such as peroxide value (PV), oxidation stability index and the fatty acid composition of oil were measured during the interval of each 20 days. The results showed antioxidant components were effective on the oxidation rate of pistachio oil during storage. There was no significant difference among concentrations of 0 (control), 750, 1500 and 3000 mgL^{-1} in terms of flavor. The peroxide value showed increasing rate in all treatments. The highest PV was belong to control, *Mentha piperita* (1500 mgL^{-1}), BHT, and *Mentha piperita* (3000 mgL^{-1}) at the end of storage time, respectively. The highest increase of PV was observed in control (51.17). The treatments containing *Mentha piperita* (3000 mgL^{-1}) and BHT showed significant difference ($p \leq 0.05$). OSI indicator reached to lowest amount in day 80 due to oxidation acceleration. The control and *Mentha piperita* showed the lowest and highest OSI (5.1 and 12.1 hr), respectively. Natural essence of *mentha piperita* showed much better performance in all measured parameters than BHT synthetic antioxidant and in concentration of 3000 mgL^{-1} without affecting on taste, is a good alternative for synthetic antioxidants.

Key words: Essential oil, *Mentha piperita*, Oxidation stability, Pistachio oil

[1] M.Sc. Student, Department of Food Science and Technology, Isfahan University of Technology, Iran
[2]Assistant Prof., Department of Food Science and Technology, Isfahan University of Technology, Iran
[3] Academic Member of Pistachio Research Institute of Iran
*Corresponding author: Email: (shaker@pri.ir)

Identification of Pistachio Root and Crown Rot Casual Agents in Sistan Province

S. R. Fani[1*], M. Mirabolfathy[2] and H.R. Zamanizadeh[3]

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

Abstract

Pistachio is the most important commercial product in Iran and root and crown rot (gummosis) is the most serious disease of pistachio trees in Iran. Causal agents of the disease were unknown in Sistan and Baluchistan province where 7000 ha are under cultivation of pistachio. During 2 years, thirty pistachio orchards including pistachio trees of different ages were inspected throughout different seasons. Eight *Phytophthora* isolates were also isolated via using citrus leaf pieces as baits on water-saturated soils collected from around the infected trees and cultured on PARP medium. Some isolates were also isolated via culturing the surface disinfected tissues of root and crown of infected trees directly on PARP as the semi-selective medium. Two groups of isolates were obtained. Based on the morphological and physiological characteristics of the Sistan and Bluchistan pistachio isolates, the first group of isolates was identified as *Phytophthora pistaciae* with 62.5% frequency and the second group identified as *Phytophthora nicotianae* with 37.5 frequency. The two *Phytophthora* species were found to be pathogenic using unripe pear and apple fruits inoculation method, detached pistachio twigs inoculation method and artificial inoculation of the crown area with a plug from *Phytophthora* isolates colonies. This is the first report of incidence of pistachio tree gummosis and identification of its causal agents from Sistan and Baluchistan province.

Key words: Gummosis, *Phytophthora*, Etiology, Twig Blight

[1] Plant Protection Research Department, Yazd Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Yazd, Iran
[2]Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
[3] Plant Pathology Department, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran
*Corresponding author, Email: (rezafani52@gmail.com)

The Effect of Texture, Depth and Soil Sampling Locations on Some Indicators of Soil Quality in Pistachio Orchards of Rafsanjan

H. Shirani[1*], M. A. Hajabbas[2] and R. Hadad Rezaee[3]

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of texture (sandy loam and sandy clay loam), and the sampling depth and locations on some soil properties, such as particulate organic matter (POM), carbohydrates and microbial respiration in pistachio orchards of Rafsanjan. Soil samples were taken from orchards with different texture but similar management and at two positions (under and out of the shading) in three depths (zero to 5, 5 to 15 and 15 to 30 cm). A factorial randomized design with 4 replications was used. The EC, pH, percent nitrogen, organic carbon, the C/N ratio, POM, carbohydrates and stimulated respiration was determined. The results showed that, for the sandy loam at the shading position, the MWD was a significantly higher than the outside of shading. In the sandy clay loam and at the shading salinity was significantly higher than out of shading, but this effect was not seen in the sandy loam soil. Organic carbon content and C/N ratio in the surface depths (0-5 and 5-15 cm) and at shading positions were higher than the lower depth (15-30 cm), but these properties were not significantly different among the soil types and positions. Soil carbohydrates at the shading position for the sandy clay loam were significantly higher compared to the sandy loam, but the effect for POM was vice versa. At both positions the sandy clay loam compared to sandy loam greater had better protective effects for soil microorganisms.

Key words: Particulate organic matter, Carbohydrates, Microbial Respiration, Pistachio Orchards

[1]Associate Professor, Department of soil science, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Iran
[2] Professor , Department of soil science,Isfahan University Of Technology Iran
[3] M.Sc Student, Department of Soil science, Isfahan University Of Technology Iran
*Corresponding author, Email: (shirani@vru.ac.ir)

Crown and Root Rot Disease of Pistachio Seedlings Caused by *Fusarium solani* in Kerman Province

F. Salajegheh Tezerji[1*], H. Mohammadi [2] and M. Sarcheshmehpour [3]

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

Abstract

In order to determine the fungal pathogens associated with seedling decline, a survey was conducted in some pistachio nurseries at Kerman province during spring and summer of 2012. Plants showing different symptoms include of chlorosis, wilting, defoliation, growth reduction and root rot were collected and transferred to the laboratory. Diseased roots were cut into small pieces, disinfected in10 % NaOCl, plated onto Potato Dextrose Agar (PDA) and incubated at 25°C. Totally 81 fungal isolates were isolated from seedlings showing diseased symptoms which *F. solani* and *Rhizoctonia solani* with 46 (56.79% of total isolates) and 3 isolates (3.71 % of total isolates) had highest and lowest numbers of isolates respectively. Two isolates of *F. solani* were used in the pathogenicity trial. Pathogenicity test was conducted on pistachio seedling cvs. Badami, Sarakhs and Qazvini under greenhouse conditions. The experimental design was arranged in factorial based a completely randomized design (CRD) with three treatments and four replications. The soil of pots was infected with 50 gkg-1 of inoculum (fungus colonised wheat seeds: sterilized sand, 50:50) and non-infested soils were used as control. Plant growth parameters include of shoot length and number of leaves and disease index were measured 2 months after inoculation. Data were analyzed by SAS software and Duncan's multiple range test was used for means comparison. According to the results obtained in the pathogenicity tests, Qazvini and Badami considered as resistant and susceptible cultivars respectively. The inoculated fungus, *F. solani*, was re-isolated and identified from inoculated plants to confirm pathogenicity test.

Key words: *Fusarium solani*, Kerman province, pathogenesis, pistachio, root rot

[1] M.Sc student of Soil Science Department, Shahid Bahonar University of Kerman
[2] Assistant professor of Plant Pathology Department, Shahid Bahonar University of Kerman
[3] Assistant professor of Soil Science Department Shahid Bahonar University of Kerman.
*Corresponding author, Email: (hmohammadi@uk.ac.ir)

Role of Mycorrhizal Symbiosis on Water Relations and Some Osmolytes of Three Pistachio Rootstocks (Sarakhs, Bane-baqi and Abareqi) Under Salinity Stress

M. Fattahi[1], M. H. Shamshiri[2]*

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

Abstract

In order to investigate the role of arbuscular mycorrhizal symbiosis (*Glomus mossea*) on water relations and some osmolytes accumulation in three pistachio rootstocks under different salt stress levels, a greenhouse expriment was achieved based on completely rhandomized design (CRD) as factoriel with three factors of mycorrhizae at two levels (with and without mycorrhizae), saltness of irrigation water at four levels (0.5, 5, 10 and 15 dSm^{-1}) and rootstocks at three levels (Sarakhs, Abareqi and Bane-baqi). Results showed that water relations parameters (leaf osmotic potential and relative water content) and osmoregulators concentration were changed as the effect of salinity. Mycorrhizal sambiosis improved water relations of treated plants in comparison with non-mycorrhizal plants especially at higher salt intensities. Used pistachio rootstocks in this experiment showed different responses to salt stress levels which can be attributed to their genetic traits and mycorrhizal symbiosis extent. Bane-baqi had higher leaf relative water content and osmotic potential (less ngative) and showed more resistant to salt stress in camparison with two other rootstocks.

Key words: Gummosis, *Phytophthora*, Etiology, Twig Blight

[1] M.Sc. Student of Horticultural Sciences Department, Vali-e-Asr university of Rafsanjan,Iran

[2] Associate Professor of Horticultural Science Department, Vali-e-Asr university of Rafsanjan ,Iran

*Corresponding author, Email: (shamshiri88@gmail.com)

Arbuscular Mycorhizal Fungi Associated with Pistachio Trees in Rafsanjan

S. Aminizadeh[1], H. Alaei [2*], E. Sedaghati[2] and M. Moradi [3]

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

Abstract

In order to identify arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) associated with pistachio (*Pistacia vera*) trees, root samples were collected in winter 2010 to spring 2011 in Rafsanjan. The root staining and spores population measurement were investigated in different pistachio varieties and seasons (winter and spring). Trap culture method using maize (*Zea mays*) and Sorghum (*Sorghum vulgaris*) were performed to produce healthy and abundant spores for identification. Wet sieving and decanting methods were used to extract AMF spores from soil. Species were identified using morphological and morphometrical characteristics. Root staining results showed a high symbiosis of arbuscular mycorrhizal fungi with pistachio roots. Spore populations per gram soil were higher in winter than spring. Based on this research, one species of *Claroideoglomus*, *Funneliformis* and *Simiglomus* as well as four species of *Glomus* were isolated and identified. All species are new records for pistachio mycoflora and this is the first record of *Simiglomus hoi* for Iran.

Key words: Arbuscular mycorhizal, *Claroideoglomus*, *Funneliformis*, *Glomus*, *Simiglomus*

[1] M.Sc Student, Department of Plant Protection, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Iran
[2] Assistant Prof., Department of Plant Protection, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Iran
[3] Academic Member of Pistachio Research Institute of Iran
*Corresponding author, Email: (samia_aminir@yahoo.com)

Downloaded from pistachioj.ir at 1:40 +0430 on Sunday March 25th 2018

IN THE NAME OF ALLAH, THE COMPASSIOATE, THE MERCIFUL

Journal of Pistachio Science and Technology

Publisher: Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Faculty of Agriculture.

Executive Director: Mirdehghan, S.H. Ph.D. Vali-e-Asr University of Rafsanjan.

Editor-in-Chief: Tajabadi Pour, A. Ph.D. Vali-e-Asr University of Rafsanjan.

Editor:

Tajabadi Pour, A. Associate Pro. Vali-e-Asr University of Rafsanjan.

Rahemi, M. Professor. Shiraz University.

Baninasab, B. Associate Pro. Isfahan University of Technology.

Mirdehghan, S.H. Associate Pro. Vali-e-Asr University of Rafsanjan.

Hosseini Pour, A. K. Associate Pro. Shahid Bahonar University of Kerman.

Karimi, H.R. Associate Pro. Vali-e-Asr University of Rafsanjan.

Javanshah, A.A. Academic Member of Iran Pistachio Research Center.

Panahi, B. Academic Member of Iran Pistachio Research Center.

Shaker Ardakani, A. Academic Member of Iran Pistachio Research Center.

Business Officer: F. Nazoori, Ph.D.

Type Setting: Gh. Zorriyeh, M.Sc.

Aims and scope: The aims of Journal of Pistachio Science and Technology are to improve and promote the pistachio situation in the field of science and technology production and processing, and also to create communication and coordination between researchers, experts and students at universities and other research centers to expand the boundaries of knowledge.

Address: Rafsanjan, Vali-e-Asr University, Faculty of Agriculture. P.O Box: 518
Phone Number: (034)31312041 Telefax: (034)31312042
Journal Site: www.pistachioj.ir E-mail: pistachioj@gmail.com