

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشکده کشاورزی  
گروه گیاهپزشکی

پایان نامه تحصیلی برای دریافت درجه کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی

---

بررسی برهمکنش بین باکتریهای جداسازی شده از خاک مناطق پسته  
کاری استان کرمان بر روی رشد قارچ *Aspergillus flavus* و تولید  
آفلاتوکسین

---

اساتید راهنما :

دکتر حسین معصومی

دکتر محمد مرادی

استاد مشاور :

دکتر حمید محمدی

مؤلف :

فاطمه غفاری

اردیبهشت ماه ۱۳۹۰



این پایان نامه به عنوان یکی از شرایط درجه کارشناسی ارشد به

**گروه گیاهپزشکی**

**دانشکده کشاورزی**

**دانشگاه شهید باهنر کرمان**

تسلیم شده است و هیچگونه مدرکی به عنوان فراغت از تحصیل دوره مزبور شناخته نمی شود.

دانشجو: فاطمه غفاری

استاد راهنما: دکتر حسین معصومی، دکتر محمد مرادی

استاد مشاور: دکتر حمید محمدی

داور ۱: دکتر اکبر حسینی پور

داور ۲: دکتر جعفر ذوالعلی

معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشکده: دکتر احمد غضنفری مقدم

**حق چاپ محفوظ و مخصوص به دانشگاه شهید باهنر کرمان است.**

تقدیم به:

پروردگار مهربانی و عطوفت

تقدیم به:

ساحت مقدس امام عصر (عج)

تقدیم به:

پدر و مادر بزرگوارم

و

همسر مهربانم

که حضور مجسم و زنده محبت خدایی اند،

و تقدیم به همه کسانی که دوستشان دارم.

## تشکر و قدردانی :

" هذا من فضل ربي "

از پروردگار مهربانم با تمام وجود سپاسگذارم که در تمام مراحل زندگی ام وجود ناسپاس مرا در سایه عطف و رحمت خود قرار داده است.

از پدر و مادر بزرگوaram که در تمام مراحل زندگی و تحصیل همواره پشتیبانم بودند، سپاسگذارم. از همسر مهربانم که در تمام مراحل زندگی، همراهی و صبوریش دستمایه پیشرفتم بوده است، سپاسگذارم.

از استاد بزرگوaram جناب آقای دکتر مرادی که تلاش ها و راهنمایی های ایشان در جهت ارتقا هر چه بیشتر این پژوهش در موسسه تحقیقات پسته کشور بی دریغ بوده است، سپاسگذارم.

از استاد بزرگوaram جناب آقای دکتر معصومی به دلیل همراهی و راهنمایی در انجام این پژوهش، سپاسگذارم.

از استاد بزرگوaram جناب آقای دکتر حمید محمدی به دلیل راهنمایی های ایشان در پیشبرد این پژوهش، سپاسگذارم.

از جناب آقای دکتر دورکی و همکاران ارجمند ایشان خانم ها جلالی، رحمانی و محیط در آزمایشگاه مواد غذایی موسسه تحقیقات استاندارد رفسنجان به دلیل مساعدت و همراهی ایشان در انجام آزمایشات، سپاسگذارم.

از دوست عزیزم خانم علیپور به دلیل همراهی و کمک بی دریغش، سپاسگذارم. از زحمات بی دریغ آقای معصومی و آقای فرج پور در موسسه تحقیقات پسته کشور نهایت تشکر را دارم.

از کمک های بی دریغ خانم سلمانی و خانم درگاهی در موسسه تحقیقات پسته کشور سپاسگذارم.

از همراهی آقای محمدی در امر استفاده از مطالب کتابخانه موسسه تحقیقات پسته کشور سپاسگذارم.

از دوستان بزرگوaram رفعتی، احمدی، شکاری، جعفری نژاد، حاج عبداللهی و تمام دوستانی که در این پژوهش همراهی کردند، نهایت سپاسگذاری را دارم.

فاطمه غفاری

اردیبهشت ۱۳۹۰

## چکیده:

آلودگی میوه پسته به گونه های زهرابه زای *Aspergillus* یکی از معضلات جامعه بشری در امر سلامت و امنیت مواد غذایی انسان و دام می باشد. به منظور ارزیابی کنترل بیولوژیکی قارچ *A. flavus* توکسین زا و بررسی توکسین زدایی در شرایط آزمایشگاهی، طی تابستان سال ۱۳۸۸ تا ۱۳۸۹ نمونه برداری از خاک سطحی و ریزوسفر مناطق مختلف استان کرمان، خراسان رضوی و یزد صورت گرفت. قارچ *A. flavus* از خاک منطقه فیض آباد نوق از توابع رفسنجان جداسازی و بر اساس خصوصیات مورفولوژیکی و میکرومورفولوژیکی شناسایی گردید. در این بررسی از ۱۸۶ نمونه خاک جمع آوری شده، ۱۶۰ جدایه باکتریایی و ۶۰ جدایه مخمری جداسازی گردید. بر اساس نتایج حاصل از کشت متقابل جدایه های بدست آمده با قارچ *A. flavus*، ۳۰ جدایه باکتریایی و ۱۳ جدایه مخمری که دارای خاصیت آنتاگونیستی بیشتری بودند انتخاب گردیدند. بر اساس خصوصیات بیوشیمیایی و مورفولوژیکی از ۳۰ جدایه باکتریایی بدست آمده، دو جدایه *Bacillus subtilis*، ۵ جدایه *B. cereus* و ۲۳ جدایه هم به عنوان *Pseudomonas fluorescens* شناسایی گردیدند. بر اساس نتایج حاصل از کشت متقابل بین جدایه های باکتریایی انتخاب شده با قارچ *A. flavus*، دو جدایه ۱۰۰ و ۱۲۳ از *P. fluorescens* با ۷۱/۴٪ و ۴۲/۸٪ به ترتیب بیشترین و کمترین تاثیر را در جلوگیری از رشد قارچ نشان دادند. در آزمون تولید ترشحات فرار توسط باکتری بر روی رشد قارچ نیز دو جدایه ۹۷ و ۶۵ از *P. fluorescens* با ۶۶/۸٪ و ۱۰/۵٪ به ترتیب بیشترین و کمترین بازدارندگی را نشان دادند. نتایج حاصل از بررسی ترشحات غیر فرار باکتری ها در سه غلظت عصاره (۵، ۱۵ و ۲۵٪ حجم به حجم) نشان داد که جدایه ۱۰۰ و جدایه ۶۶ از *P. fluorescens* به ترتیب بیشترین و کمترین بازدارندگی را نشان دادند. در آزمون تولید آنتی بیوتیک، جدایه ۳۸ و جدایه ۱۲۳ از *P. fluorescens* با ۹۱/۸٪ و ۱۰/۵٪ به ترتیب بیشترین و کمترین بازدارندگی را نشان دادند. جهت بررسی بر همکنش بین باکتری ۱۰۰ و قارچ *A. flavus* روی تولید آفلاتوکسین، نتایج حاکی از توانایی بالای این باکتری در جلوگیری از تولید آفلاتوکسین های B<sub>1</sub> و B<sub>2</sub> به ترتیب به میزان ۹۹/۴٪ و ۱۰۰٪ بود. بر اساس آزمون کشت متقابل بین جدایه های مخمری انتخاب شده با قارچ مذکور نیز دو جدایه YE39 و YE10 با ۶۰/۴٪ و ۳۱/۷٪ به ترتیب بیشترین و کمترین بازدارندگی را از رشد قارچ نشان دادند. در آزمون تولید ترکیبات فرار توسط مخمرها، جدایه YE43 و جدایه YE15 با ۳۰/۵٪ و ۱۲/۵٪ به ترتیب بیشترین و کمترین بازدارندگی را از رشد قارچ نشان دادند. نتایج حاصل از بررسی آزمون تولید ترشحات غیر فرار مخمرها در سه غلظت عصاره (۵، ۱۵ و ۲۵٪ حجم به حجم) نشان داد که جدایه YE39 و

جدایه YE24 به ترتیب بیشترین و کمترین بازدارندگی را از خود نشان دادند. همچنین در آزمون تولید آنتی بیوتیک نیز جدایه YE43 و YE34 با ۹۱/۸٪ و ۳۰٪ به ترتیب بیشترین و کمترین بازدارندگی را از رشد قارچ نشان دادند.

کلمات کلیدی: *Pseudomonas*، مخمر، آفلاتوکسین B<sub>1</sub>، آفلاتوکسین B<sub>2</sub>، کنترل بیولوژیک، *B. cereus*، *Bacillus subtilis*، *Aspergillus flavus*، *B. fluorescens*

## فهرست

۱	..... فصل اول: مقدمه
۱	..... ۱-۱- منشا و تاریخچه پسته
۱	..... ۲-۱- سابقه کشت پسته در ایران و جهان
۳	..... ۳-۱- اهمیت اقتصادی و ارزش صادرات
۳	..... ۴-۱- ارزش غذایی پسته و خواص دارویی آن
۴	..... ۵-۱- شرایط اقلیمی و اکولوژیکی لازم برای پسته
۴	..... ۶-۱- گیاهشناسی پسته
۵	..... ۷-۱- بیماریهای مهم پسته
۵	..... ۱-۷-۱- بیماری ماسوی پسته <i>Nematospora coryli</i>
۵	..... ۲-۷-۱- پوسیدگی طوقه و ریشه (انگومک پسته) <i>Phytophthora Spp.</i>
۶	..... ۳-۷-۱- پژمردگی ورتسیلیومی پسته <i>Verticillium dahlia</i>
۶	..... ۴-۷-۱- پوسیدگی ریزوکتوسیایی طوقه و ریشه پسته <i>Rhizoctonia solani</i>
۷	..... ۵-۷-۱- کپک ناشی از آسپرژیلوس <i>Aspergillus flavus</i>
۷	..... ۸-۱- روش های کنترل
۹	..... فصل دوم: مروری بر تحقیقات
۹	..... ۱-۲- <i>Aspergillus spp.</i>
۱۱	..... ۲-۲- گونه های آسپرژیلوس جدا شده از میوه پسته
۱۱	..... ۳-۲- زهرابه های قارچی
۱۲	..... ۴-۲- تاریخچه کشف و شناسایی آفلاتوکسین
۱۴	..... ۵-۲- اهمیت اقتصادی و بهداشتی آلودگی در اثر آفلاتوکسین
۱۴	..... ۶-۲- روشهای سنجش و اندازه گیری آفلاتوکسین ها
۱۴	..... ۱-۶-۲- کروماتوگرافی لایه نازک TLC
۱۵	..... ۲-۶-۲- کروماتوگرافی گازی (GC)
۱۶	..... ۳-۶-۲- رادیوایمونواسی (RIA)
۱۷	..... ۴-۶-۲- الایزا (ELISA)
۱۷	..... ۵-۶-۲- کروماتوگرافی مایع با کارکرد عالی (HPLC)
۱۸	..... ۷-۲- عوامل موثر بر توسعه بیماری



۲۰	..... ۸-۲- کنترل آفلاتوکسین
۲۱	..... ۱-۸-۲- شیمیایی
۲۲	..... ۲-۸-۲- فیزیکی
۲۴	..... ۳-۸-۲- زراعی
۲۵	..... ۴-۸-۲- بیولوژیکی
۳۲	..... <b>فصل سوم : مواد و روش ها</b>
۳۲	..... ۱-۳- نمونه برداری
۳۲	..... ۲-۳- جداسازی
۳۲	..... ۱-۲-۳- جداسازی <i>Aspergillus flavus</i> از خاک
۳۳	..... ۲-۲-۳- جداسازی باکتری و مخمر از خاک
۳۴	..... ۳-۳- خالص سازی جدایه ها
۳۴	..... ۱-۳-۳- شناسایی و خالص سازی <i>Aspergillus flavus</i>
۳۴	..... ۲-۳-۳- خالص سازی باکتری و مخمر
۳۴	..... ۴-۳- نگهداری جدایه ها
۳۴	..... ۱-۴-۳- نگهداری جدایه <i>A. flavus</i>
۳۴	..... ۲-۴-۳- نگهداری باکتری و مخمرها
۳۵	..... ۵-۳- بررسی اثرات آنتاگونیستی جدایه های بدست آمده بر <i>A. flavus</i>
۳۵	..... ۱-۵-۳- کشت متقابل باکتری و قارچ
۳۵	..... ۲-۵-۳- بررسی تولید ترکیبات فرار ضد قارچی
۳۵	..... ۳-۵-۳- بررسی تولید آنتی بیوتیک
۳۶	..... ۴-۵-۳- بررسی ترشحات خارج سلولی
۳۶	..... ۶-۳- بررسی تاثیر باکتری در تولید آفلاتوکسین
۳۷	..... ۷-۳- شناسایی باکتریهای آنتاگونیست
۳۸	..... ۱-۷-۳- آزمونهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی جهت شناسایی سودوموناسهای فلورسنت
۳۸	..... ۲-۷-۳- آزمونهای فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و مرفولوژیک جهت شناسایی جدایه های باسیلوس ...
۳۹	..... <b>فصل چهارم : نتایج</b>
۳۹	..... ۱-۴- جداسازی و شناسایی عامل بیماری
۳۹	..... ۲-۴- جداسازی باکتری و مخمر

۳۹	..... بررسی نتایج آزمونهای آنتاگونیستی
۳۹	..... اثر کشت متقابل باکتریهای آنتاگونیست و <i>A. flavus</i>
۴۰	..... بررسی تولید ترکیبات فرار توسط جدایه های باکتری روی <i>A. flavus</i>
۴۰	..... بررسی آزمون کلروفرم (آنتی بیوتیک) توسط جدایه های باکتری روی <i>A. flavus</i>
۴۰	..... بررسی تولید ترکیبات غیرفرار توسط جدایه های باکتری روی <i>A. flavus</i>
۴۰	..... بررسی نتایج کشت متقابل مخمرهای آنتاگونیست روی <i>A. flavus</i>
۴۱	..... بررسی تولید ترکیبات فرار جدایه های مخمری روی <i>A. flavus</i>
۴۱	..... بررسی آزمون کلروفرم (آنتی بیوتیک) جدایه های مخمری روی <i>A. flavus</i>
۴۱	..... بررسی تولید ترکیبات غیرفرار جدایه های مخمری روی <i>A. flavus</i>
۴۱	..... بررسی تاثیر جدایه (۱۰۰) <i>Pseudomonas fluorescens</i> بر تولید آفلاتوکسین <i>A. flavus</i>
۴۲	..... شناسایی جدایه های باکتری آنتاگونیست
۴۲	..... خصوصیات افتراقی باکتریهای آنتاگونیست
۴۲	..... خصوصیات جدایه های سودوموناس فلورسنت براساس آزمونهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی
۴۲	..... خصوصیات جدایه های باسیلوس براساس آزمونهای مرفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی
۴۳	..... بیوشیمیایی
۴۴	..... <b>فصل پنجم : بحث</b>
۴۹	..... <b>فصل ششم: منابع</b>
۵۷	..... <b>پیوست</b>

## فهرست جداول

- جدول ۴-۱- مشخصات جدایه های باکتریایی جمع آوری شده با فعالیت آنتاگونیستی بیشتر از استان  
های کرمان، خراسان رضوی و یزد ..... ۵۷
- جدول ۴-۲- مشخصات جدایه های مخمیری جمع آوری شده با فعالیت آنتاگونیستی بیشتر از استان  
های کرمان، خراسان رضوی و یزد ..... ۵۸
- جدول ۴-۳- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی رشد *Aspergillus flavus* توسط جدایه های  
باکتریایی در آزمون کشت متقابل ..... ۶۳
- جدول ۴-۴- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی رشد *A. flavus* توسط جدایه های باکتریایی در  
آزمون تولید ترکیبات فرار ..... ۶۵
- جدول ۴-۵- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی رشد *A. flavus* توسط جدایه های باکتریایی در  
آزمون کلروفورم ..... ۶۸
- جدول ۴-۶- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی رشد *A. flavus* توسط جدایه های باکتریایی در  
آزمون تولید ترکیبات فرار (عصاره ۵٪ حجم/حجم) ..... ۷۱
- جدول ۴-۷- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی رشد *A. flavus* توسط جدایه های باکتریایی در  
آزمون تولید ترکیبات فرار (عصاره ۱۵٪ حجم/حجم) ..... ۷۳
- جدول ۴-۸- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی رشد *A. flavus* توسط جدایه های باکتریایی در  
آزمون تولید ترکیبات فرار (عصاره ۲۵٪ حجم/حجم) ..... ۷۵
- جدول ۴-۹- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی رشد *A. flavus* توسط جدایه های مخمیری در  
آزمون کشت متقابل ..... ۷۷
- جدول ۴-۱۰- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی رشد *A. flavus* توسط جدایه های مخمیری در  
آزمون تولید ترکیبات فرار ..... ۷۹
- جدول ۴-۱۱- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی رشد *A. flavus* توسط جدایه های مخمیری در  
آزمون کلروفورم ..... ۸۱
- جدول ۴-۱۲- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی رشد *A. flavus* توسط جدایه های مخمیری در  
آزمون تولید ترکیبات غیرفرار (عصاره ۵٪ حجم/حجم) ..... ۸۴
- جدول ۴-۱۳- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی رشد *A. flavus* توسط جدایه های مخمیری در  
آزمون تولید ترکیبات غیرفرار (عصاره ۱۵٪ حجم/حجم) ..... ۸۶

جدول ۴-۱۴- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی رشد <i>A. flavus</i> توسط جدایه های مخمری در	
آزمون تولید ترکیبات غیرفرار (عصاره ۲۵٪ حجم/حجم) .....	۸۸
جدول ۴-۱۵- بررسی خصوصیات افتراقی جدایه های باکتریایی آنتاگونیست .....	۹۲
جدول ۴-۱۶- بررسی خصوصیات جدایه های سود و مونس های فلورسنت بر اساس آزمونهای	
فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی .....	۹۴
جدول ۴-۱۷- بررسی خصوصیات مرفولوژیکی و بیوشیمیایی جدایه های <i>Bacillus subtilis</i> .....	۹۷
جدول ۴-۱۸- بررسی خصوصیات مرفولوژیکی و بیوشیمیایی جدایه های <i>Bacillus cereus</i> .....	۹۸

### فهرست اشکال

شکل ۱-۱- علائم ظاهری آلودگی میوه پسته به <i>A. flavus</i> .....	۵۹
شکل ۱-۳- تشکک های پتری حاوی رقت های $10^{-2}$ ... $10^{-5}$ نمونه خاک در محیط کشت NA .....	۵۹
شکل ۲-۳- تشکک های پتری حاوی رقت های $10^{-2}$ ... $10^{-5}$ نمونه خاک در محیط کشت YMA ...	۶۰
شکل ۱-۴- کنیدیوم ها، سلول پایه؛ وزیکل و استریگما و رنگ پرگنه قارچ در محیط کشت	
AFPA .....	۶۱
شکل ۲-۴- رنگ سبز زیتونی <i>A. flavus</i> روی محیط کشت MEA .....	۶۲
شکل ۳-۴- اثر بازدارندگی جدایه باکتریایی (۱۲۳) <i>Pseudomonas fluorescens</i> در آزمون کشت	
متقابل با <i>A. flavus</i> .....	۶۲
شکل ۴-۴- اثر بازدارندگی جدایه های باکتریایی (۱۲۳) <i>P. Fluorescens</i> و (۸۴) <i>B. cereus</i> در	
کشت متقابل با <i>A. flavus</i> .....	۶۲
شکل ۵-۴- تاثیر مواد فرار تولید شده توسط جدایه (۹۷) <i>P. fluorescens</i> در جلوگیری از رشد	
میسلیومی <i>A. flavus</i> .....	۶۴
شکل ۶-۴- آزمون کلروفورم و تاثیر آنتی بیوتیک تولید شده توسط جدایه های (۱۰۰ و ۳۸) <i>P.</i>	
<i>fluorescens</i> در جلوگیری از رشد مسلیومی <i>A. flavus</i> .....	۶۶
شکل ۷-۴- مراحل انجام آزمون کلروفورم .....	۶۷
شکل ۸-۴- اثر بازدارندگی جدایه (۹۷) <i>P. fluorescens</i> در جلوگیری از رشد مسلیومی <i>A.</i>	
<i>flavus</i> در آزمون تولید ترکیبات غیرفرار .....	۶۹
شکل ۹-۴- مراحل استخراج ترکیبات غیرفرار .....	۷۰
شکل ۱۰-۴- اثر بازدارندگی جدایه مخمری YE39 در آزمون کشت متقابل با <i>A. flavus</i> .....	۷۶

۷۸	شکل ۴-۱۱- تاثیر مواد فرار تولید شده توسط جدایه مخمري YE43 در رشد میسلیمیومی <i>A. flavus</i>
	شکل ۴-۱۲- آزمون کلروفرم و تاثیر آنتی بیوتیک تولید شده توسط جدایه مخمري YE43 در
۸۰	جلوگیری از رشد میسلیمیومی <i>A. flavus</i> .....
	شکل ۴-۱۳- اثر بازدارندگی جدایه YE39 در جلوگیری از رشد میسلیمیومی <i>A. flavus</i> در آزمون
۸۳	تولید ترکیبات غیر فرار .....
	شکل ۴-۱۴- خصوصیات جدایه های <i>P. fluorescens</i> بر اساس آزمونهای مرفولوژیکی
۹۰	بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی .....
	شکل ۴-۱۵- خصوصیات جدایه های <i>Bacillus sp.</i> بر اساس آزمونهای مرفولوژیکی بیوشیمیایی و
۹۱	فیزیولوژیکی .....
۹۹	شکل ۴-۱۶- بررسی محیط کشت بدون تلقیح در آزمون HPLC .....
۱۰۰	شکل ۴-۱۷- استاندارد افلاتوکسین های B2=G2, B1=G1 .....
۱۰۱	شکل ۴-۱۸- بررسی آزمون HPLC از محیط کشت حاوی <i>A. flavus</i> .....
۱۰۲	شکل ۴-۱۹- بررسی آزمون HPLC از محیط کشت حاوی <i>A. flavus</i> .....
۱۰۳	شکل ۴-۲۰- بررسی آزمون HPLC از محیط کشت حاوی <i>A. flavus</i> .....
	شکل ۴-۲۱- بررسی آزمون HPLC از محیط کشت حاوی <i>A. flavus</i> و جدایه (۱۰۰) <i>P.</i>
۱۰۴	..... <i>fluorescens</i>
	شکل ۴-۲۲- بررسی آزمون HPLC از محیط کشت حاوی <i>A. flavus</i> و جدایه (۱۰۰) <i>P.</i>
۱۰۵	..... <i>fluorescens</i>
	شکل ۴-۲۳- بررسی آزمون HPLC از محیط کشت حاوی <i>A. flavus</i> و جدایه (۱۰۰) <i>P.</i>
۱۰۶	..... <i>fluorescens</i>

### فهرست نمودارها

	نمودار ۴-۱- مقایسه درصد بازدارندگی رشد <i>A. flavus</i> توسط جدایه های باکتریایی در آزمون
۶۴	کشت متقابل .....
	نمودار ۴-۲- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی رشد <i>A. flavus</i> توسط جدایه های باکتریایی در
۶۶	آزمون تولید ترکیبات فرار .....
	نمودار ۴-۳- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی رشد <i>A. flavus</i> توسط جدایه های باکتریایی در
۶۹	آزمون کلروفرم .....

- نمودار ۴-۴- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی رشد *A. flavus* توسط جدایه های باکتریایی در  
 ۷۲ ..... آزمون تولید ترکیبات غیر فرار (عصاره ۰.۵٪ حجم/حجم)
- نمودار ۴-۵- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی رشد *A. flavus* توسط جدایه های باکتریایی در  
 ۷۴ ..... آزمون تولید ترکیبات غیر فرار (عصاره ۰.۱۵٪ حجم/حجم)
- نمودار ۴-۶- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی رشد *A. flavus* توسط جدایه های باکتریایی در  
 ۷۶ ..... آزمون تولید ترکیبات غیر فرار (عصاره ۰.۲۵٪ حجم/حجم)
- نمودار ۴-۷- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی رشد *A. flavus* توسط جدایه های مخمری در  
 ۷۸ ..... آزمون کشت متقابل
- نمودار ۴-۸- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی رشد *A. flavus* توسط جدایه های جدایه های  
 ۸۰ ..... مخمری در آزمون تولید ترکیبات فرار
- نمودار ۴-۹- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی رشد *A. flavus* توسط جدایه های مخمری در  
 ۸۲ ..... آزمون کلروفورم
- ۴-۱۰- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی رشد *A. flavus* توسط جدایه های جدایه های مخمری  
 ۸۵ ..... در آزمون تولید ترکیبات غیر فرار (عصاره ۰.۵٪ حجم/حجم)
- ۴-۱۱- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی رشد *A. flavus* توسط جدایه های جدایه های مخمری  
 ۸۷ ..... در آزمون تولید ترکیبات غیر فرار (عصاره ۰.۱۵٪ حجم/حجم)
- ۴-۱۲- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی رشد *A. flavus* توسط جدایه های جدایه های مخمری  
 ۸۹ ..... در آزمون تولید ترکیبات غیر فرار (عصاره ۰.۲۵٪ حجم/حجم)

# فصل اول:

مقدمه

## ۱-۱- منشا و تاریخچه پسته

در مورد منشا اصلی پسته در منابع متأخر اظهار نظرهای متفاوتی شده است. در این منابع سرزمین های بسیاری به عنوان رویشگاه اصلی اولین درختان پسته معرفی می گردد. در برخی از این منابع از سرزمین هایی با اسامی آسیای مرکزی، خاورمیانه، خاور نزدیک به عنوان مبدا اولیه درختان پسته یاد می شود، در حالی که اسامی فوق محدوده جغرافیایی کاملاً دقیقی را مشخص نمی کنند. در بعضی از منابع از یک یا چند سرزمین از جمله نام ایران، افغانستان، ترکمنستان، آسیای صغیر، سوریه و فلسطین به عنوان خاستگاه اولیه درختان پسته ذکر گردیده است. برخی هم سواحل مدیترانه و مخصوصاً کرانه های شرقی این دریا را مبدا نخستین درختان پسته معرفی کرده اند (ابریشمی، ۱۳۷۳).

محمدبن جریر طبری (قرن سوم ه-ق) مبدا پیدایش پسته را همزمان با استقرار حضرت آدم در کره زمین نقل کرده است. بدینگونه که خداوند عزوجل میوه هایی که هنگام هبوط آدم داد سی جور بود: ده میوه پوست دار، ده میوه هسته دار و ده میوه پوست دار و بی هسته. میوه های پوست دار: گردو، بادام، پسته، فندق، خشخاش، بلوط، شاه بلوط، انار و موز بوده. میوه های هسته دار: شفتالو، زردآلو، گیلاس، خرما، نارگیل، سنجید، کنار، عناب، زالزالک و کندر بود، میوه های بی هسته: سیب، گلابی، انگور، توت، انجیر، اترج، شاه توت، بالنگ، خیار و خربزه. مطابق مستندات تاریخی و موجود چنین محدوده ای در قلمرو فرهنگی ایران بوده که در شمال شرقی آن استقرار یافته است. سرزمینی که بعدها پارت و سپس خراسان نام گرفت، رویشگاه اصلی و اولیه درختان پسته است. حد غربی دامنه رویش درختان پسته تا نواحی نیشابور و حد شرقی آن تا نواحی بلخ در دو سوی جیحون بوده است. در کرمان اگر از یک گزارش استثنایی که اشاره به وجود درخت پسته در جیرفت در اواخر قرن هفتم دارد صرف نظر شود، پیشینه اش از قرن ۱۲ هجری فراتر نمی رود (ابریشمی، ۱۳۷۳).

## ۱-۲- سابقه کشت پسته در ایران و جهان

کشت پسته از سالیان دراز در ایران مرسوم بوده و محصول آن جز تنقلات اشراف و دربار به شمار می رفت. موطن اصلی این درخت ایران است و مدارک بدست آمده نشان می دهد که این درخت از پنج هزار سال پیش در ایران وجود داشته و کاشت این درخت از ۱۶۰۰ سال پیش در قزوین معمول بوده و از آنجا به دامغان - اردکان - رفسنجان و کرمان منتقل شده است.



طبق تحقیقات گیاه شناسان گونه های مختلف نوع *P.vera* در دنیا منحصرأ در منطقه ای واقع بین ترکمنستان - افغانستان و ایران بصورت جنگلهای انبوه وجود دارد و احتمال قطعی دارد که این منطقه موطن اصلی پسته هایی است که اکنون در ایران و سایر نقاط جهان کشت و بهره برداری می شود.

انتشار و کشت درخت پسته در اروپای جنوبی و سواحل مدیترانه در سده اول مسیحیت صورت گرفته است و ابتدا به وسیله یکی از امپراتوران رم از ایران به رم برده شده است. کشت پسته در سال ۱۸۹۰ به کالیفرنیا رسید و در سال ۱۹۷۳ سطح زیر کشت پسته در کالیفرنیا به ۳۰۰۰ هکتار و در سال ۱۹۸۱ به ۴۷۵۰ هکتار رسید. امروزه آمریکا با توجه به توسعه باغات تجاری پسته در کالیفرنیا، بعنوان یکی از عمده ترین تولیدکنندگان پسته در دنیا مطرح می باشد.

جنگل های وحشی و خودروی پسته در مناطق شمال شرق ایران در ناحیه سرخس و مناطق جنوبی آن تا تربت جام بطور گسترده ای وجود دارد. سرزمین باستانی کرمان، که امروزه بزرگترین منطقه تولید پسته در جهان می باشد، بسیار پهناور است. به نظر می رسد که در حدود قرن دوازدهم هجری قمری تا اوایل قرن سیزدهم درختان پسته در استان کرمان مورد توجه قرار گرفته است و شاید اولین درختان پسته، که منشاء باغ های عظیم کنونی پسته می توان به حساب آورد، در این قرن به استان کرمان منتقل شده است.

پسته بومی کشورهای آسیایی است. در ایران جنس *Pistacia* بصورت وحشی در مناطق مختلف پراکنده میباشد (ابریشمی، ۱۳۷۳). ثابتی گونه های وحشی پسته در ایران را *P. mutica* (بنه یا چاقلانقوش) و دیگری *P. khinjuk* (خنجک یا کسور) ذکر کرده است (ثابتی، ۱۳۴۴). پسته اهلی *P. vera* در نقاط مهم پسته کاری کشت می گردد و در شمال شرق ایران در استان خراسان بصورت خودرو بوده و به نام پسته سرخس شهرت دارد (ثابتی، ۱۳۴۴). ارقام باغی پسته در ایران متنوع بوده و بیش از ۶۰ رقم آن گزارش شده است و از درختانی است که عمر بسیار طولانی داشته به گونه ای که عمر آن تا بیش از ۹۰۰ سال نیز ذکر شده است (ابریشمی، ۱۳۷۳). در حال حاضر استان کرمان و منطقه رفسنجان بعنوان مهمترین منطقه پسته کاری در ایران و جهان محسوب می شوند به طوری که از ۴۴۶ هزار منطقه پسته کاری در ایران ۸۰ درصد مزارع در استان کرمان و ۱۲۰ هزار هکتار در رفسنجان می باشد (ابریشمی، ۱۳۷۳).

### ۱-۳- اهمیت اقتصادی و ارزش صادرات پسته

ارزش اقتصادی محصول پسته در بین سایر محصولات کشاورزی با ارزش ترین محصول محسوب می شود و قابل مقایسه با دیگر محصولات کشاورزی نیست. بر اساس گزارش های سالانه در سال جاری محصول پسته خشک ایران حدود ۳۰۰ هزار تن است که مصرف داخلی در حدود ۳۰ هزار تن بوده و ۸۵ درصد بقیه صادر خواهد شد که در آمد ارزی حاصل حدود ۱ میلیارد دلار می باشد. به علت ارزش اقتصادی بالای پسته توسعه کاری در ایران رو به افزایش است علاوه بر این پسته یکی از محصولات عمده صادراتی ایران است که علاوه بر ارزش آن در داخل کشور مشتریان زیادی در خارج از کشور دارد به همین جهت به عنوان یک محصول ارز آور و صادراتی محسوب می شود از طرف دیگر به علت اینکه تعداد کشور های تولید کننده پسته محدود و تقریباً محصول انحصاری می باشد بنابراین به علت تولید انبوه و مرغوبیت پسته ایران این محصول در بازار های جهانی بین تولید کنندگان رتبه اول را به خود اختصاص داده است.

### ۱-۴- ارزش غذایی پسته و خواص دارویی آن

ترکیب محتویات پسته بر اساس رقم، مراحل رسیدن، برداشت پسته و میزان رطوبت آن در میوه متفاوت است اما در حد رسیدن میوه (پس از فراوری) هنگامی که رطوبت دانه به ۴-۶ درصد رسید مجموع میزان قند و سایر مواد جامد و محلول در آن به اندازه کافی رسیده و در طعم و مزه مطلوب آن تاثیر زیادی خواهد داشت. با توجه به ترکیبات مغذی موجود در پسته از نظر روغن و پروتئین و انرژی زا بودن آن مورد توجه خانواده ها می باشد. مغز پسته دارای هورمون های جنسی بسیار مفید برای تقویت قوای جنسی است و در تقویت حافظه و قلب و معده بسیار مفید است. جوشانده برگ و پوست درختان پسته در درمان بیماری های پوستی مثل جرب و خارش و درد های رحمی در بانوان بسیار موثر است. از نظر میزان انرژی زایی پسته در ردیف بالا و حاوی بیش از ۶۰۰ کالری انرژی می باشد. علاوه بر این پوست رویی نازک آن در درمان درد های کبدی و روده ای و حالت تهوع و استفراغ و یرقان و سرفه های مزمن نیز موثر است.

## ۱-۵- شرایط اقلیمی و اکولوژیکی لازم برای پسته

تابستان های گرم، طولانی و خشک و زمستان های نسبتاً سرد شرایط مطلوب رشد پسته است. پسته سرمای زمستان تا ۲۰- درجه سانتی گراد را به خوبی تحمل می کند به طور کلی مناطق پسته خیز جهان در عرض جغرافیایی ۲۹ تا ۴۲ درجه شمالی و تا ارتفاع ۳۵۰۰ متری از سطح دریا قرار گرفته اند (ابریشمی، ۱۳۷۳).

مناطق از کشور از لحاظ آب و هوایی و شرایط محیطی مناسب کاشت و پرورش پسته می باشند که دارای زمستان خیلی سرد و تابستان گرم و طولانی باشند و معمولاً این شرایط در بالاتر از ارتفاع ۸۰۰ تا ۹۰۰ متر از سطح دریا فراهم بوده و در کرمان تا ارتفاع ۱۸۵۰ متر نیز کاشته شده است. به هر حال میزان حرارت تابستان برای رشد و نمو مغز پسته لازم بوده و باید کافی باشد. از آنجایی که پسته به شوری آب و خاک مقاوم است زمین های کویری و شوره زاری که تولید سایر محصولات کشاورزی در آن به راحتی مقدور نیست یا محصول مناسب و اقتصادی از آن برداشت نمی شود می توان برای احداث باغات پسته اختصاص داد معمولاً قیمت این اراضی بسیار پایین بوده و با سرمایه گذاری کمتر سطح بیشتری را می توان به زیر کشت پسته برد. با توجه به تحمل پسته به خشکی و کم آبی و مقاومت نسبی آن به سرما و گرما و سازگاری زیادی که در شرایط مختلف از خود نشان می دهد، احداث باغات پسته ریسک کمتری در بر دارد خصوصاً اینکه مصرف آب باغات پسته در مقایسه با سایر میوه ها خیلی کمتر است (ابریشمی، ۱۳۷۳).

## ۱-۶- گیاهشناسی پسته

پسته گیاهی است نیمه گرمسیری از خانواده Anacardiaceae و جنس *Pistacia* که در سال ۱۷۳۷ توسط لینه نامگذاری شده است (ثابتی، ۱۳۴۴). این خانواده به صورت درخت یا درختچه بوده و شامل ۷۵ جنس و ۶۰۰ گونه می باشد (ابریشمی، ۱۳۷۳). پسته بومی آسیای شرقی و صغیر بوده و رویشگاه آن منطقه ای بین مرز های ایران، ترکمنستان و افغانستان است در این منطقه تنوع وسیعی از گونه ها به صورت جنگل های وحشی و خودرو مشاهده می شود (ثابتی، ۱۳۴۴). تنوع وسیعی از گونه های جنس پسته بصورت وحشی و خودرو در این مناطق دیده می شود.

جنس *Pistacia* دارای یازده گونه به شرح زیر می باشد:

1- *P. terebintus* 2- *P. mutica* 3- *P. texana* 4- *P. atlantica* 5- *P. vera* 6- *P. mexicana* 7- *P. lentiscus* 8- *P. khinjuk* 9- *P. integerrima* 10- *P. chinensis* 11- *P. palaestina*

از بین گونه های فوق فقط *P. vera* یا پسته اهلی قابل کشت و تولید بوده و میوه آن به اندازه کافی درشت و اقتصادی می باشد. سایر گونه های ذکر شده بیشتر بعنوان پایه برای اصلاح پسته یا به عنوان گیاه زینتی مورد استفاده قرار می گیرند.

## ۱-۷- بیماری های مهم پسته:

۱-۷-۱- بیماری ماسوی پسته (*Nematospora coryli*):

در این بیماری مغز پسته کوچک، کم رشد، به رنگ سبز تیره با تخمچه های قهوه ای رنگ دیده می شود. گاهی مغز پسته رشد کرده کمی مرطوب دارای بوی کپک زدگی و سطح پوست خارجی این دسته از مغز پسته آلوده چسبنده، لیز، باریک و لاغر است و در پاره ای از مواقع مغز پسته ها به رنگ سفید یا زرد روشن در آمده و شباهت زیادی به رنگ مغز استخوان پیدا می کنند (فریور مهین، ۱۳۷۰).

۱-۷-۲- پوسیدگی طوقه و ریشه (انگومک) پسته (*Phytophthora spp.*):

گونه های مختلفی از جنس فیتوفتورا که به عنوان عامل بیماری از نقاط مختلف جهان گزارش شده است عبارتند از:

*Ph. Citrophthora*, *Ph. parasitica*, *Ph. nicotiana*, *Ph. citricola*, *Ph. drechsleri*, *Ph. Cryptogea*, *Ph. megasperma*

از نشانه های این بیماری می توان به پوسیدگی طوقه و ریشه درختان به صورت لکه ای اشاره کرد. این نشانه ها به صورت تراوش قطرات شفاف، ریز و درشت صمغ در روی یا در شکاف های پوست درخت، در مکان طوقه و یا ۲۰-۳۰ سانتی متری بالاتر از سطح خاک دیده می شود. پوست قسمتی از طوقه درخت بیمار که در داخل خاک قرار دارد به آسانی از چوب جدا می شود و حفاصل پوست و چوب لایه ای از ترشحات سفید شیری یا چرکی ناشی از هجوم عوامل ساپروفیت که پس از مرگ بافت ها به آن حمله می کنند، دیده می شود (ارشاد، ۱۳۷۴).

این بیماری سالانه خسارت های قابل توجهی را وارد می سازد به طوری که در برخی مناطق استان کرمان میزان آلودگی این بیماری به بیش از ۵۰ درصد نیز گزارش شده است