

نوسان جمعیت‌های متعلق به بخش‌های فلاوی و نیگری قارچ آسپرژیلوس روی میوه پسته در استان کرمان

محمد مرادی^{*}^۱، سید رضا فانی^۲ و حیدر معصومی^۱

^۱ استادیار پژوهش و کارشناس بخش گیاه پزشکی، مؤسسه تحقیقات پسته کشور.

^۲ کارشناس ارشد بخش گیاه پزشکی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی یزد.

* مسئول مکاتبه: moradi@pri.ir

تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۶/۲۶

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۱/۰۶

چکیده

ایران با بیشترین سطح زیر کشت پسته، بزرگ‌ترین تولید کننده و صادر کننده این محصول در جهان است. آلودگی به آفلاتوکسین از جمله معضلاتی است که اینمی غذایی مصرف کننده و همچنین صادرات این میوه آجیلی را تهدید می‌کند. با توجه به اهمیت امر و از آن جایی که آلودگی پسته از محیط باغ و قبل از برداشت شروع می‌شود، تراکم جمعیت قارچ‌های متعلق به عنوان Aspergillus section Flavi به عنوان مهم‌ترین عوامل توکسین‌زا و اعضای Aspergillus section Nigri به عنوان یکی از غالب‌ترین قارچ‌های گندرو، در انواع میوه‌های ترک خورده، ریخته شده روی زمین، در تماس با زمین قرار گرفته، در ارتفاع بیشتر از یک متر و در چهار جهت جغرافیایی از نیمه دوم خرداد تا نیمه اول شهریورماه طی سال‌های ۱۳۹۰ و ۱۳۹۱ بررسی شد. از روش‌های آزمایشی بلاذر، تهیه سری رقت و کشت روی محیط‌های ای‌اف‌پی‌ای و زاپک آگار استفاده گردید. نتایج نشان داد که تراکم جمعیت قارچ‌های مورد مطالعه به ترتیب در پسته‌های ترک خورده، روی زمین ریخته شده، در تماس با سطح زمین، در چهار جهت جغرافیایی و ارتفاع بیشتر از یک متر کاهش می‌یابد. فراوانی اعضای بخش نیگری در سطح معنی‌داری بیشتر از اعضای بخش فلاوی بود ($P \leq 0.05$). نتایج حاصل از بررسی تراکم جمعیت قارچ‌های بخش فلاوی و نیگری در زمان‌های مختلف نشان می‌دهد که با نزدیک شدن به زمان برداشت، تراکم آن‌ها در روی انواع پسته‌های مورد بررسی افزایش می‌یابد. نتایج این تحقیق در تعیین زمان دقیق اعمال روش‌های مختلف مدیریتی با ماهیت‌های متفاوت، جهت کاهش آلودگی میوه پسته به گونه‌های مختلف قارچ آسپرژیلوس و آفلاتوکسین مفید است.

واژه‌های کلیدی: آسپرژیلوس، آفلاتوکسین، اینمی غذایی، پسته، جمعیت

مقدمه

بهداشت جهانی^۱ و سازمان‌های ملی بهداشت در کشورهای مختلف با توجه به خطرات جدی آن‌ها، مقررات و قوانین ویژه‌ای برای تولید، مصرف و واردات مواد غذایی و خوراک دام تنظیم نموده‌اند (بی‌نام ۲۰۱۰).

آلودگی میوه پسته به گونه‌های مختلف قارچ Aspergillus و زهرابه‌های ناشی از آن‌ها از مشکلات عمده در مصرف و صادرات این محصول با ارزش است (مجتبه‌ی و همکاران ۱۹۷۹، داستر و میکائیلیدس ۱۹۹۴^۲ و ۱۹۹۹، مرادی و حکم‌آبادی ۲۰۱۱). سازمان

^۱ World Health Organization

وجود نداشته و یا خیلی جزئی است، ضمن این‌که برداشت میوه نیز نسبت به گذشته زودتر انجام می‌شود (مرادی ۱۳۹۲)، لذا به نظر می‌رسد که ارتباطی بین داده‌های فوق الذکر و آلوگی میوه پسته در سال‌های اخیر وجود نداشته باشد، اما ممکن است تعداد روزهای ابری در مراحل فرآوری و حمل و نقل پسته مشکلاتی ایجاد نموده و روی توسعه آلوگی تاثیر داشته باشند که نیاز به تحقیقات بیشتر دارد.

یکی از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار بر جمعیت‌های قارچ *Aspergillus* مایه تلچیق اولیه و ثانویه و منابع آن‌ها است (ویکلو و همکاران ۱۹۹۳، داستر و میکائیلیدس ۱۹۹۴a، سیتامو و همکاران ۱۹۹۷، مرادی و همکاران ۱۳۸۳).

تحقیقات انجام شده در مورد اکولوژی گونه‌های *Aspergillus* در باغهای پسته نشان داده است که جمعیت گونه‌های *Aspergillus* در طول سال با عواملی مانند میزان پسته‌هایی که روی زمین ریخته شده، گل‌آذین نر درختان پسته، بقایای گیاهی، دور آبیاری، عملیات باغبانی و کودهای حیوانی در ارتباط است (داستر و میکائیلیدس ۱۹۹۴b، مرادی و همکاران ۱۳۸۳). دینر و همکاران (۱۹۸۷) نیز بررسی جامعی پیرامون جنبه‌های مختلف بوم شناختی، زیست شناسی، پراکندگی، مایه تلچیق اولیه و ثانویه، روش نفوذ قارچ و آلوگی بسترها می‌خواهند، تاثیر شرایط محیطی و بستره و فاکتورهای تأثیرگذار در تولید آفلاتوكسین در

قارچ *A. flavus* در برخی محصولات انجام دادند.

پوست سبز در حالت طبیعی به عنوان مانعی فیزیکی، مغز پسته را در برابر عوامل خارجی به ویژه قارچ *Aspergillus* محافظت می‌نماید، ولی تحت تاثیر عوامل مختلف، پوست سبز ممکن است ترک خورد، مغز در معرض هوا قرار گرفته و منجر به آلوگی و تولید آفلاتوكسین گردد. ترک خوردگی میوه پسته، تحت تاثیر عوامل مختلفی مانند تنفس آبیاری، زمان برداشت، آسیب پرندگان، بافت و ساختمان خاک، چگونگی تعامل

تحقیقات انجام شده حاکی از تولید آفلاتوكسین‌ها قبل از برداشت و تحت شرایط باغی است و با تأخیر در زمان برداشت، عدم فرآوری مناسب و شرایط نامناسب انبارداری می‌تواند به تشدید رشد قارچی و تولید آفلاتوكسین منجر شود (دینزل و همکاران ۱۹۷۶، الیس و همکاران ۱۹۹۴، مرادی و همکاران ۱۳۸۳، ست و ارکمن ۲۰۱۰، بنساس و همکاران ۲۰۱۰، مرادی و حکم‌آبادی ۲۰۱۱، جورجیادو و همکاران ۲۰۱۲، مارین و همکاران ۲۰۱۲). وجود آفلاتوكسین در یک توده پسته با تعداد میوه‌های پسته ترک خورد، میزان آلوگی به آفات، خصوصیات ظاهری و آسیب دیدگی پوست استخوانی در ارتباط است (مرادی و جوانشاه ۲۰۰۶، مهرنژاد و پناهی ۲۰۰۶، شاکر اردکانی و همکاران ۲۰۱۲).

از جمله عواملی که در توسعه آلوگی قارچی بعد از برداشت نقش دارد دما، آلوگی به آفات، جوندگان، بر همکنش میکروبی، ترکیب گازهای جوی، رطوبت محیط و رطوبت میوه پسته در زمان فرآوری، انبارداری و حمل و نقل هستند (دینزل و همکاران ۱۹۷۶، دانش و همکاران ۱۹۷۹ و ۱۹۸۰، موس ۲۰۰۴، کوتی و جیمی گارسیا ۲۰۰۷، جیرونی و همکاران ۲۰۰۸، مرادی ۱۳۹۲). مجتهدی و همکاران (۱۹۸۰) ضمن بررسی فلور قارچی میوه پسته ثابت نمودند که جدایه‌های مختلفی از *Aspergillus flavus* که از باغ به دست آمده‌اند قادر به تولید آفلاتوكسین بودند. ارتباط بین داده‌های هواشناسی، آلوگی به آفلاتوكسین و میزان محموله‌های مرجوعی پسته ایران از ایالات متحده طی سال‌های ۱۹۷۰ تا ۱۹۷۴ نشان داده است که بین بارندگی در زمان رسیدن و قبل از برداشت و تعداد روزهای ابری (از مردادماه تا آبان ماه) با میزان محموله‌های مرجوعی رابطه‌ای مستقیم وجود دارد (دانش و همکاران ۱۹۷۹)، لیکن بررسی داده‌های هواشناسی سال‌های اخیر نشان می‌دهد که در مناطق پسته‌کاری کشور طی ماه‌های مرداد تا مهر بارندگی

پسته در فصل بهار و تابستان، و ب) مطالعه منابع مایه تلقیح اولیه و ثانویه مؤثر در افزایش جمعیت گونه‌ها فوق در باغ‌های پسته بود.

مواد و روش‌ها

انتخاب باغ و زمان اندازه‌گیری جمعیت قارچی متعلق به بخش‌های *Nigri* و *Flavi*

در این مطالعه چهار باغ تجاری در شهرستان‌های کرمان، رفسنجان، سیرجان و زرند انتخاب و تراکم جمعیت قارچ‌های مورد نظر در فواصل دو هفته‌ای از ۱۵ خردادماه (زمان تشکیل مغز در میوه پسته) تا ۱۵ شهریورماه در سالهای ۱۳۹۰ و ۱۳۹۱ اندازه‌گیری شد. نمونه‌برداری

برای این منظور از پسته‌های ترک خورده، ریخته شده روی زمین، در چهار جهت جغرافیایی، ارتفاع ۰-۱ متر و بیشتر از یک متر در هر باغ به صورت مجزا نمونه‌برداری صورت گرفت. لازم به ذکر است که برای تیمارهای چهار جهت جغرافیایی، در ارتفاع ۰-۱ متر و در ارتفاع بیشتر از یک متر از پسته‌های سالم درختان، نمونه‌برداری صورت گرفت. برای هر تیمار تعداد ۲۰۰ عدد میوه پسته از هشت درخت (هر درخت ۲۵ عدد) که بصورت تصادفی در هر باغ انتخاب شده بودند (به استثنای پسته‌های روی زمین ریخته شده که از کف باغها جمع آوری گردید)، برداشت شد. نمونه‌ها در کیسه‌های پلاستیکی استریل، به آزمایشگاه منتقل و در یخچال با دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

جداسازی قارچ‌ها

از روش بلاتر^۱ (دینگرا و سینکلر ۱۹۸۵) و روش سری رقت^۲ برای بررسی تراکم جمعیت بر روی میوه پسته استفاده گردید. تعداد ۱۰۰ میوه پسته در هر روش مورد بررسی قرار گرفت.

عناصر غذایی در خاک و برخی عوامل دیگر است که موجب افزایش یا کاهش ترک خورده‌گی می‌گردند (مجتبه‌ی و همکاران ۱۹۷۹، سومر و همکاران ۱۹۸۶، داستر و میکائیلیدس ۱۹۹۴a، ۱۹۹۵، ۱۹۹۹، مرادی و حکم آبادی ۲۰۱۱).

داستر و میکائیلیدس (۱۹۹۴b) چهارده گونه از آسپرژیلوس را از مغز میوه‌های پسته به ویژه پسته‌های زودخندان جدا کرده و گزارش نمودند که بیشترین فراوانی مربوط به گونه *A. niger* بود و دو گونه *A. parasiticus* و *A. flavus* (که توانایی تولید آفلاتوكسین را دارند)، در بیشتر باغ‌های مورد مطالعه با فراوانی کمتر وجود داشتند. آن‌ها هم‌چنین گزارش کردند که پسته‌های زودخندان با پوست سبز رویی چروکیده بیشتر از ۹۹ درصد کل آفلاتوكسین‌ها را به خود اختصاص می‌دهند.

بررسی آلدگی میوه پسته به آفلاتوكسین B1 قبل از برداشت و حین فرآوری پسته نشان داد که مقدار آفلاتوكسین با پسته‌های زودخندان، ترک خورده نامنظم، روآبی، لکه‌دار و ریز در ارتباط است (فانی و همکاران، ۱۳۹۲)

کمبود اطلاعات در مورد حضور گونه‌های مختلف قارچی روی میوه پسته در طول مدت رشد و نمو و تغییرات در تراکم آن‌ها می‌تواند نقش مهمی در مدیریت آلدگی میوه پسته به گونه‌های قارچ *Aspergillus* و تولید آفلاتوكسین داشته باشد. این امر از آن جهت مهم است که برای اعمال روش‌های مدیریتی، اطلاع از زمان شروع آلدگی میوه پسته ضرورت دارد تا بر این اساس اقدام به کنترل نمود. به عنوان مثال با توجه به نتایج بدست آمده، بهترین زمان کاربرد عوامل کنترل بیولوژیک، زمانی است که جمعیت گونه‌های توکسین‌زا در حداقل هستند تا جایگزینی محل‌های اکولوژیکی به تدریج صورت پذیرد. لذا هدف از اجرای این تحقیق، الف) بررسی نوسان جمعیت قارچ‌های متعلق به بخش‌های *Nigri* و *Flavi* طی فصل رشد و نمو میوه

¹ Blotter test

² Serial dilution

قارچی در دو بخش نیگری و فلاوی بر پایه طرح کاملاً تصادفی در برنامه آماری MSTATC مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده گردید.

نتایج

میزان آلودگی در انواع میوه‌ها

نتایج حاصل از بررسی آلودگی انواع میوه‌های پسته شامل ترک‌خورده، روی زمین ریخته شده یا در تماس با سطح زمین قرار گرفته (شاخه‌هایی که به علت هرس نامناسب خوش‌های آن‌ها در تماس با سطح زمین قرار گرفته‌اند)، در ارتفاع بیشتر از یک متر و در چهار جهت جغرافیایی شامل شمال، جنوب، غرب و شرق به *Aspergillus section Aspergillus* و *Nigri* و *Flavi* جمعیت‌های قارچی متعلق به *Aspergillus section Nigri* و *Flavi* جمعیت قارچی در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری در شهرستان‌های کرمان، رفسنجان، سیرجان و زرند به دو روش سری‌های رقت و بلاستر در جداول و شکل‌های ۱ و ۲ ارایه شده است.

به طور کلی بر اساس نتایج بدست آمده، بیشترین تراکم قارچی در باغ‌های پسته در طول فصل تابستان مربوط به پسته‌های ترک‌خورده، ریخته شده روی زمین و ارتفاع ۰-۱۰ متر است (جدول ۱). به نحوی که میانگین آلودگی کل به روش سری‌های رقت در شهرستان‌های مورد بررسی در پسته‌های ترک‌خورده از ۱۲۸۳ تا ۶۳۷۱، روی زمین ریخته شده از ۹۰ تا ۱۰۳۳ برابر و در ارتفاع ۰-۱۰ متر ۵ تا ۱۲ برابر بیشتر از میانگین آلودگی در پسته‌های سالم (میانگین آلودگی در چهار جهت جغرافیایی و برداشته شده از ارتفاع بیشتر از یک متر) بود. این موضوع بیان کننده نقش مهم این پسته‌ها در ریسک آلودگی است.

تراکم آلودگی در روش‌های مختلف

مقایسه دو روش مورد استفاده جهت تعیین تراکم آلودگی در میوه نشان داد که روش سری‌های رقت

روش بلاستر

تعداد ۱۰ عدد میوه پسته در تشکهای پتری ۲۰ سانتی‌متری روی کاغذ صافی استریل بر روی دو لام استریل قرار داده شدند. تشکهای پتری در دمای ۲۸ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد و تاریکی به مدت ۷ تا ۱۰ روز نگهداری شدند. تشکهای پتری، هر دو روز یک بار جهت بررسی پرگنهای رشد کرده مورد بازبینی قرار گرفتند. جدایه‌های به دست آمده به روش تک اسپور خالص و در محیط شیب‌دار^۱ حاوی پسی‌دی‌ای نگهداری شدند. نتایج حاصله بر اساس تعداد پرگنه در ۱۰۰ میوه پسته نمایش داده شده است.

روش سری رقت

از محیط‌های کشت زاپک آگار^۲ (راپر و همکاران ۱۹۶۵) با کمی تغییرات شامل ۵۰ گرم زاپک آگار، ۱۰۰ میلی گرم کلاموفنیکل، ۵۰ میلی گرم استریپتومایسین، ۵ میلی دای کلران در یک لیتر آب و محیط کشت نیمه انتخابی ای اف پسی ای^۳ (گوراما و بولمن ۱۹۹۵) استفاده گردید. پس از تهیه سری‌های رقت از سوسپانسیون حاصل، از هر رقت شش تکرار و هر تکرار حاوی ۱۰۰ میکرونلیتر روی تشکهای پتری حاوی محیط‌های ای اف پسی ای و زاپک آگار (هر کدام سه پتری) با میله شیشه‌ای سترون پخش گردید. تشکهای پتری در دمای ۲۸ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد و تاریکی به مدت ۸-۱۰ روز نگهداری شدند. پس از ۴۸ ساعت تا ۱۰ روز تشکهای پتری مورد بازبینی قرار گرفتند و پرگنهای رشد کرده شمارش و با استفاده از کلید تشخیص کلیچ (۲۰۰۲) تا حد بخش شناسایی شدند. داده‌های به دست آمده در صورت نیاز تبدیل گردیده و با استفاده از آزمایش فاکتوریل، با فاکتورهای منطقه شامل سیرجان، زرند، کرمان و رفسنجان، ۶ زمان نمونه برداری در ۶ نوبت، انواع مختلف پسته‌های نمونه برداری شده در ۸ گروه متفاوت و تراکم جمعیت‌های

¹ Slant tube

² Cz (Czapeck agar)

³ AFPA (*Aspergillus Flavus* and *Parasiticus* Agar)

مورد مطالعه بر روی میوه پسته افزایش می‌یابد. به نحوی که تعداد پرگنه گونه‌های قارچی مورد مطالعه در واحد میوه پسته از $4/9 \times 10^2$ تا $4/1 \times 10^4$ تا $3/3 \times 10^2$ تا $4/9 \times 10^1$ ، $2/9 \times 10^1$ تا $6/7 \times 10^1$ ، $3/3 \times 10^1$ تا $1/6 \times 10^1$ تا $1/9 \times 10^1$ و کمتر از $1/2 \times 10^1$ به ترتیب برای زمان‌های نمونه‌برداری نیمه اول شهریور، نیمه دوم مرداد، نیمه اول مرداد، نیمه دوم تیر و قبل از آن متغیر است (جدول ۲).

مقایسه جمعیت‌های قارچی متعلق به *Aspergillus* در *Aspergillus* section *Nigri* و *Flavi* شهرستان‌های مورد مطالعه نشان می‌دهد که تراکم جمعیت قارچی متعلق به بخش *Nigri* در سطح معنی‌داری بالاتر از *Flavi* است و در روش کشت سوسپانسیون و بلاذر تراکم جمعیت‌های قارچی متعلق به بخش *Nigri* به ترتیب ۹ و ۴ برابر جمعیت *Flavi* است (جدول ۱ و ۲ و شکل‌های ۱ و ۲).

بررسی موقعیت پرگنه‌های رشد یافته روی میوه پسته در روش بلاذر نشان داد که از هر قسمت میوه پسته و پوست سبز، قارچ‌ها قادر به رشد هستند، ولی آسیب‌دیدگی پوست سبز باعث افزایش تراکم آلودگی و رشد بهتر قارچ‌ها می‌گردد.

بحث

نتایج حاصله نشان داد که گونه‌های مختلف قارچ *Aspergillus* قادر به آلودگی و رشد روی مغز میوه‌های پسته در باغ هستند و پسته‌هایی که پوست سبز آن‌ها در طول دوره توسعه میوه پسته ترک می‌خورد یکی از مهم‌ترین منابع غذایی برای رشد آن‌ها است (شکل ۱). در بعضی موارد کلونیزاسیون گونه‌های مختلف قارچ *Aspergillus* (توده‌های اسپوری) روی مغز پسته به راحتی با چشم غیرمسلح قابل مشاهده بود و به نظر می‌رسد رطوبت مغز میوه پسته و دمای محیط از عواملی هستند که باعث رقابت موفقیت‌آمیز گونه‌های مختلف قارچ *Aspergillus* در مقایسه با سایر

نسبت به روش بلاذر که یک روش کیفی محسوب می‌شود، تراکم جمعیت قارچی را به میزان بیشتری نشان می‌دهد. بر اساس روش بلاذر، پسته‌های روی زمین ریخته شده سطوح بیشتری از تعداد کلی در میوه پسته (با میانگین ۴۵ تا ۲۲۶ کلی برای ۱۰۰ میوه پسته) را نسبت به پسته‌های ترک خورده (با میانگین ۴۰ تا ۱۸۸ کلی برای ۱۰۰ میوه پسته) از خود نشان دادند. در حالی که در روش سری‌های رقت و کشت سوسپانسیون بیشترین تراکم جمعیت قارچ‌های مورد مطالعه مربوط به پسته‌های ترک خورده بود (تفاوت‌ها در سطح آماری ۰/۵٪ نیز معنی‌دار بود). پسته‌های برداشت شده از چهار جهت جغرافیایی از نظر آماری تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند. مقایسه تراکم جمعیت قارچ‌های مورد مطالعه در انواع پسته‌های مورد بررسی نشان داد که میانگین آلودگی به ترتیب در پسته‌های ترک‌خورده با میانگین دامنه آلودگی $727/4$ تا $727/4$ ، 160617 تا $76,5$ تا 30145 ارتفاع -1 متر 27 تا $177/5$ ، چهار جهت جغرافیایی ۴ تا ۲۸ و بیشتر از یک متر از دو تا ۲۹ پرگنه در واحد میوه پسته در روش سری‌های رقت کاهش می‌یابد.

میانگین تعداد پرگنه گونه‌های متعلق به بخش *Flavi* در ۱۰۰ عدد میوه پسته در روش بلاذر نشان می‌دهد که تعداد پرگنه برای میوه پسته‌های سالم بدون ترک خورده‌گی شامل برداشت شده از چهار جهت جغرافیایی و بیشتر از یک متر (در باغ از چهار تا ۱۷۷، در تماس با سطح زمین قرار گرفته از هشت تا ۱۶۱، روی زمین از ۴۵ تا ۲۲۶ و ترک‌خورده از ۴۰ تا ۱۸۸ پرگنه در ۱۰۰ عدد میوه پسته متغیر است.

مقایسه تراکم جمعیت‌های قارچی متعلق به بخش‌های *Nigri* و *Flavi* در زمان‌های مختلف نشان می‌دهد که تراکم به ترتیب در نیمه اول شهریورماه، نیمه دوم مردادماه، نیمه اول مردادماه، نیمه دوم تیرماه، نیمه اول تیرماه و نیمه دوم خردادماه کاهش می‌یابد و با نزدیک شدن به زمان برداشت تراکم جمعیت قارچ‌های

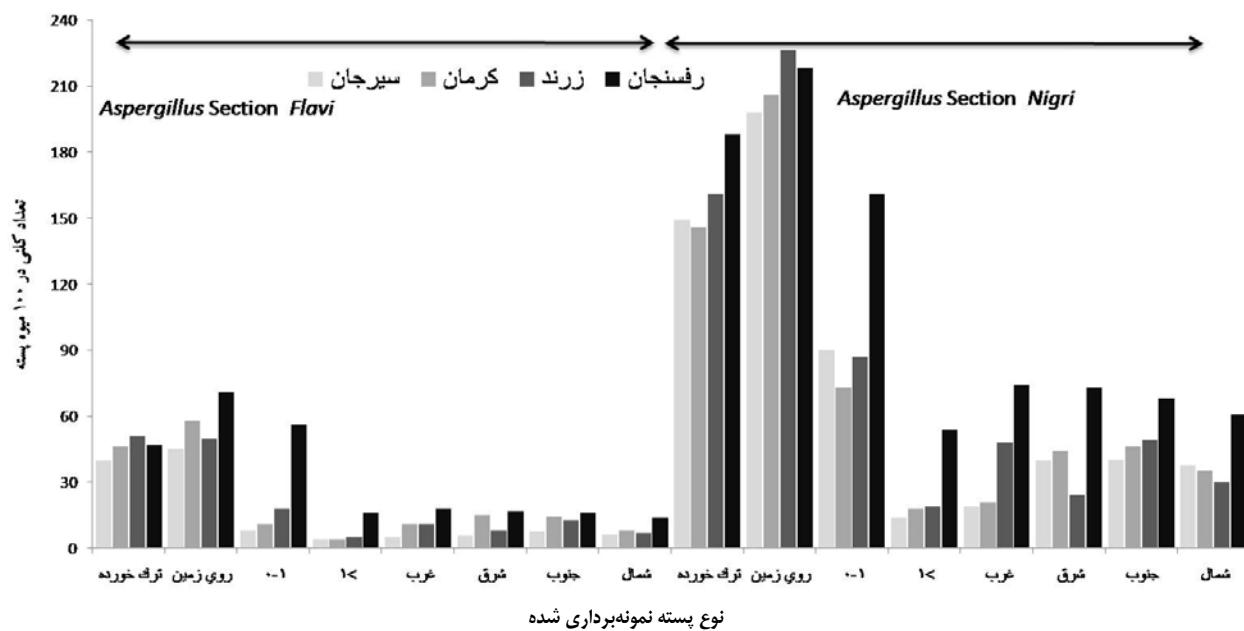
جدول ۱- تراکم جمعیت‌های قارچی متعلق به بخش‌های نیگری و فلاوی در میوه‌های پسته ترک‌خورده، روی زمین، در ارتفاع ۰-۱ متر، در ارتفاع بیشتر از یک متر و در چهار جهت جغرافیایی در سال‌های ۱۳۹۰ و ۱۳۹۱ در استان کرمان (پرگنه در میوه پسته).

شهرستان	بخش	شمال	جنوب	شرق	غرب	۱>	۰-۱ متر	روی زمین	ترک خورده
سیرجان	<i>Flavi</i>	۴/۲ gh	۵/۴ gh	۵/۶ g	۴/۶ h	۳/۸ h	۲۶/۹ f	۴۲۰ d	۷۳۴/۴ c
نیگری	<i>Nigri</i>	۸ f	۳۰ de	۱۷/۷ e	۲۳/۸ d e	۲۳/۵ de	۱۴۸/۳ d	۴۲۲۵ b	۴۰۴۵۹ a
کرمان	<i>Flavi</i>	۴ h	۵/۴ h	۵/۸ h	۴/۶ h	۱/۹ i	۶۸/۸ d	۲۲۶ c	۲۷۴۰/۲ b
نیگری	<i>Nigri</i>	۲۷ de	۱۲/۵ f	۱۵/۸ ef	۲۵ d e	۱۱ g	۱۹۶ d	۱۸۲۹ b	۲۶۵۰۲ a
زرند	<i>Flavi</i>	۴/۴ h	۵/۲ h	۶ h	۴/۶ h	۴۰/۲ de	۷۶/۰ d	۷۶/۰ c	۱۳۹۶/۹ c
نیگری	<i>Nigri</i>	۳۰ de	۱۴ eg	۲۴/۸ ef	۲۰/۲ ef	۸۲/۹ d	۱۱۸۶/۹ b	۱۱۸۶/۹ a	۴۳۹۲۷ a
رفسنجان	<i>Flavi</i>	۴/۴ g	۷/۳ g	۷/۵ g	۶/۵ g	۸/۱ g	۴۸/۵ d	۶۱۱/۵ d	۲۸۹۹۴/۸ c
نیگری	<i>Nigri</i>	۳۵ ef	۱۸ ef	۲۸/۱ ef	۲۹/۲ ef	۱۷۷/۵ de	۳۰۱۴۵/۵ b	۳۰۱۴۵/۵ a	۱۶۰۶۱۷/۱ a

- هر عدد میانگین ۷۲ داده (۲ سال نمونه‌برداری × ۶ زمان یا مرتبه نمونه‌برداری × ۶ تکرار برای هر نمونه).

- هر شهرستان به صورت مجزا مقایسه گردید.

- داده‌های هر ردیف که دارای حرف مشترک هستند در آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ معنی دار نیستند.



شکل ۱- مقایسه تراکم جمعیت‌های قارچی متعلق به بخش‌های نیگری و فلاوی در میوه‌های پسته ترک‌خورده، ریخته شده روی زمین، ارتفاع ۰-۱ متر، در ارتفاع بیشتر از یک متر و در چهار جهت جغرافیایی در باغ‌های استان کرمان با استفاده از روش بلاتر (تعداد پرگنه در ۱۰۰ دانه پسته).

- هر عدد میانگین ۱۲ داده (۶ زمان نمونه‌برداری × ۲ سال نمونه‌برداری) است.

- میانگین‌هایی که تفاوت‌های آنها کمتر از $9/3$ می‌باشد از نظر آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ معنی دار نیست.

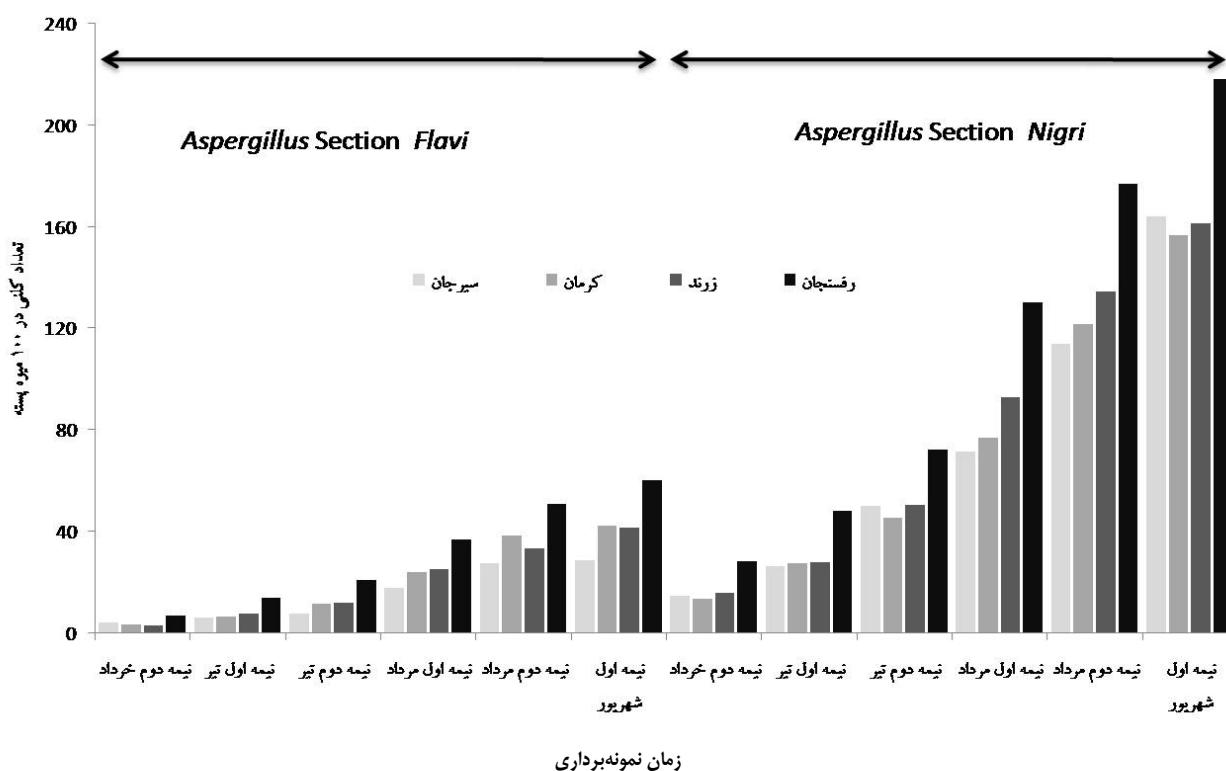
جدول ۲- تراکم جمعیت‌های قارچی متعلق به بخش‌های نیگری و فلاوی در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری به روش سری رقت در شهرستان‌های استان کرمان (پرگنه در میوه پسته).

شهرستان	بخش	نیمه دوم خرداد	نیمه اول تیر	نیمه دوم تیر	نیمه اول مرداد	نیمه دوم مرداد	نیمه اول شهريور
سیرجان	Flavi	•	j	h	g	e	c
	Nigri	۸/۳	j	f	d	b	a
کرمان	Flavi	k	i	h	f	d	c
	Nigri	۷/۱۱	i	g	e	b	a
زرند	Flavi	i	•	g	f	d	d
	Nigri	h	۸/۴	e	c	b	a
رفسنجان	Flavi	k	۲/۵	h	f	e	d
	Nigri	j	۱۲	g	c	b	a

هر عدد میانگین ۹۶ داده (۸ تیمار نمونه‌برداری × ۲ سال نمونه‌برداری × ۶ تکرار برای هر نمونه).

- هر شهرستان به صورت مجزا مقایسه گردید.

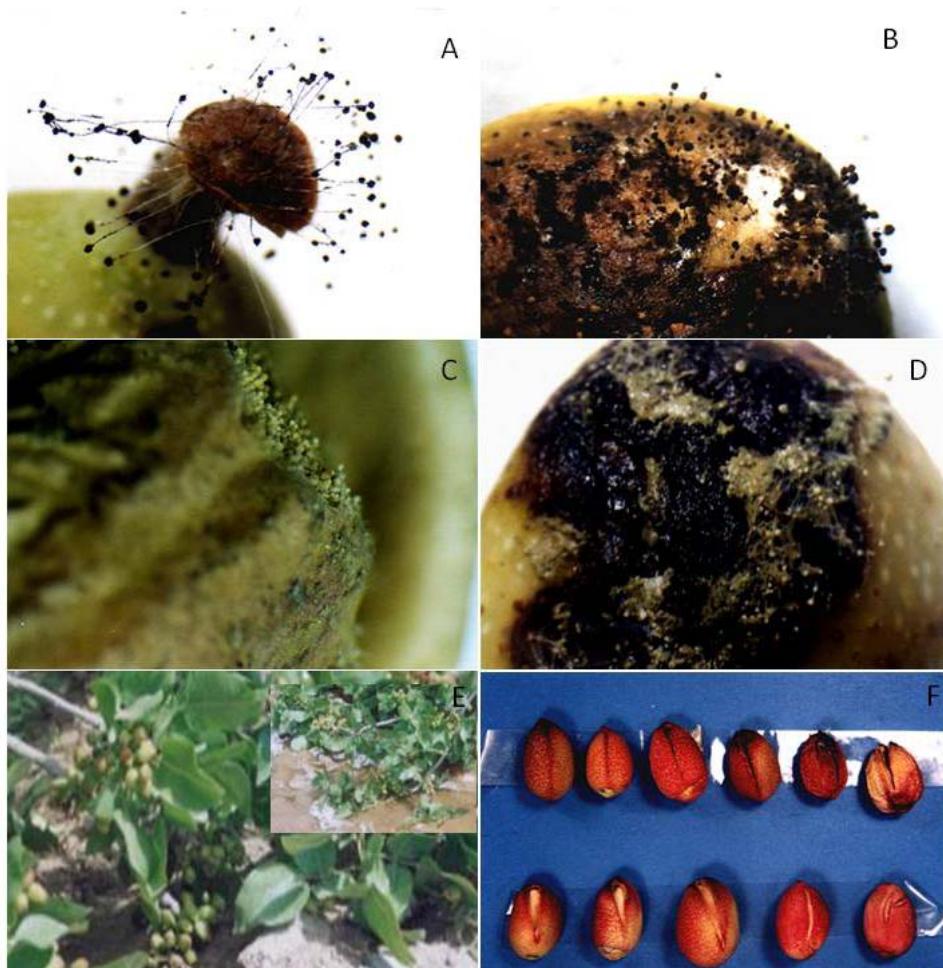
- داده‌هایی که هر ردیف دارای حرف مشترک هستند در آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ معنی دار نیستند.



شکل ۲- مقایسه تراکم جمعیت‌های قارچی متعلق به بخش‌های نیگری و فلاوی در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری در شهرستان‌های استان کرمان به روش بلاذر.

- هر عدد میانگین ۱۶ داده (۸ زمان نمونه‌برداری طی ۲ سال) است.

- میانگین‌هایی که تفاوت‌های آن‌ها کمتر از ۰/۰۶ است از نظر آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ معنی دار نیست.



شکل ۳- آلدگی میوه پسته به جمعیت‌های قارچی متعلق به بخش‌های نیگری و فلاوی در باغ و در روش بلاتر.

A و B رشد گونه‌های قارچی متعلق به بخش *Nigri* بر روی میوه پسته به ترتیب تحت شرایط آزمایشگاهی به روش بلاتر و بافی، C و D رشد گونه‌های قارچی متعلق به بخش *Flavi* بر روی میوه پسته به ترتیب در میوه‌های پسته ترک خورده و قرار گرفته در تماس با سطح زمین تحت شرایط بااغی، E شاخه‌های در تماس با سطح زمین و قرار گرفته در آب، F انواع پسته‌های ترک خورده زودخندان و پایین پسته‌های ترکخورده نامنظم.

زمین ریخته شده و در تماس با سطح زمین قرار گرفته به قارچ‌های مورد مطالعه در این تحقیق است. همچنین می‌توان به زمان بیشتر در معرض قرار گرفتن پسته‌های فوق با اسپورهای موجود در فضای باغ‌ها اشاره کرد. بررسی نوسان تراکم اسپور در فضای باغ‌های استان کرمان نشان داد که با نزدیک شدن به زمان برداشت، تراکم اسپور در فضا افزایش می‌یابد و این امر می‌تواند موجب افزایش آلدگی میوه پسته گردد (مرادی و همکاران ۲۰۱۰).

یکی از عوامل مهم در آلدگی میوه پسته به گونه‌های مختلف *Aspergillus* و زهابه‌ها ناشی از زمان برداشت است، تا خیر در زمان برداشت باعث

میکروارگانیسم‌ها می‌شوند. این موضوع توسط تعدادی از محققین مورد بررسی قرار گرفته است. داستر و میکائیلیدس (۱۹۹۵) گزارش نمودند که وقتی پوست سبز میوه پسته ترک می‌خورد رطوبت مغز کاهش یافته و ممکن است برای توسعه گونه‌های مختلف قارچ *Aspergillus* مطلوب باشد. گونه‌های *Aspergillus* قادرند در رطوبت پایین‌تر بستره نسبت به سایر قارچ‌ها بهتر رشد کنند (داستر و میکائیلیدس ۱۹۹۴b).

نتایج این مطالعه نشان داد که تراکم جمعیت‌های قارچی متعلق به بخش‌های *Nigri* و *Flavi* با نزدیک شدن به زمان برداشت افزایش می‌یابد. از دلایل آن افزایش فراوانی و آلدگی پسته‌های ترک خورده، روی

نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان داد که یکی از منابع مایه تلقیح ثانویه درباغ، پسته‌های ترک خورده هستند که با نزدیک شدن به زمان برداشت، فراوانی و تراکم آلودگی در آن‌ها افزایش می‌یابد. تعداد زیادی اسپور در حین فرآوری (به ویژه مراحل چرخ و شست و شو) از پسته‌های ترک خورده آزاد می‌شود که باعث آلودگی خفته پسته‌های سالم (پسته‌هایی که در باغ پوست سبز آنها ترک خورده نبوده و مغز آنها عاری از آلودگی قارچی است) می‌شود، این وضعیت می‌تواند باعث بروز مشکلاتی در مراحل بعدی انبارداری و انتقال گردد. نقش پسته‌های ترک خورده در آلودگی میوه پسته به گونه‌های مختلف آسپرژیلوس و مایکوتوكسین‌های ناشی از آن‌ها توسط تعدادی از محققین مورد بررسی قرار گرفته است (مجتبی و همکاران ۱۹۸۰، داستر و میکائیلیدس ۱۹۹۵، ۱۹۹۹، ستمو و همکاران ۱۹۹۷، ۱۹۹۷، فانی و همکاران ۱۳۹۳).

گونه‌های مختلف قارچ *Aspergillus* قادرند میوه‌های پسته‌ای که در طول فصل بهار و تابستان روی زمین ریخته می‌شوند را کلوئیزه کرده و موجب افزایش جمعیت شوند. مشاهدات باگی هیچ کلوئیزاسیون سطحی که با چشم غیرمسلح قابل تشخیص باشد را نشان نداد ولی وقتی این میوه‌ها در محیط کشت مرطوب قرار داده شدند پس از چند روز سطح آن‌ها توسط گونه‌های مختلف قارچ *Aspergillus* کلوئیزه گردید که این نشان دهنده وجود آلودگی بالا در این نوع پسته‌ها می‌باشد. سطوح آلودگی در پسته‌هایی که روی زمین ریخته شده‌اند ممکن است با دور آبیاری باگ و وجود بقایای گیاهی دیگر به ویژه انواع کودهای آلى در ارتباط باشد. این پسته‌ها نیز مانند پسته‌های ترک خورده می‌توانند بعنوان منابع مایه تلقیح ثانویه (در فصل بهار و تابستان) عمل کرده و در زمستان گذرانی گونه‌های مختلف *Aspergillus* در باغ‌های پسته نقش داشته باشند. بررسی نقش بقایای گیاهی در آلودگی میوه پسته به *Aspergillus* نشان داده است که

افزایش آلودگی یا افزایش تراکم اسپور گردیده و می‌تواند در افزایش مایه تلقیح در فصل برداشت نقش مهمی داشته باشد که نیاز به مطالعه بیشتر دارد. بررسی اثرات زمان برداشت بر آلودگی میوه پسته و تعدادی از محصولات دیگر توسط محققین مختلف مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج نشان می‌دهد که بیشترین مایه تلقیح مربوط به زمان برداشت است و تأخیر در زمان برداشت می‌تواند باعث افزایش تراکم آلودگی، ایجاد آلودگی جدید، آلودگی به آفات میوه‌خوار و افزایش مقدار آفلاتوکسین در محصول گردد (مهرنژاد و پناهی ۲۰۰۶، پناهی و خضری ۲۰۱۱). نتایج نشان داد که آبیاری در طول فصل تابستان ممکن است در افزایش جمعیت قارچ در پسته‌های روی زمین ریخته شده و در تماس با سطح زمین قرار گرفته نقش مهمی داشته باشد. همان‌گونه که در برخی از نمونه‌برداری‌ها بین زمان آبیاری و افزایش تراکم جمعیت قارچ‌های یادشده ارتباط روشی مشاهده گردید. در این مورد میکائیلیدس و مورگان (۱۹۹۰) گزارش نمودند که نیاز حرارتی تعدادی از قارچ‌ها بیان‌گر فراوانی فصلی آن‌ها است و تراکم مایه تلقیح *Nigri* در باغ‌های پسته در طول فصل تابستان افزایش می‌یابد، بر این اساس داستر و میکائیلیدس (۱۹۹۵) اعلام کردند که باید انتظار داشت بیشترین سطح مایه تلقیح مرتبط با زمان برداشت باشد، آن‌ها هم‌چنین گزارش نمودند که اولین پسته‌های ترک خورده زمان بیشتری برای آلودگی قارچی و رشد دارند. جونز و همکاران (۱۹۸۱) گزارش کردند که عواملی مانند تاریخ کاشت، تنش رطوبتی، آلودگی به آفات، تأخیر در زمان برداشت، بارندگی اواخر فصل و آسیبدیدن پری‌کارپ^۱ در آلودگی دانه ذرت به آفلاتوکسین نقش دارند و با نزدیک شدن به زمان برداشت، جمعیت مایه تلقیح افزایش می‌یابد.

^۱ Pericarp

ارتفاع بیشتر از یک متر قرار دارند، بیشتر است. از دلایل آن می‌توان به جریان هوا اشاره کرد. جریان هوا می‌تواند موجب زخمی شدن پسته‌های نزدیک به سطح زمین یا در تماس با آن شده و راه نفوذ قارچ‌های مختلف به مغز را فراهم کند. در موقع آبیاری این پسته‌ها در آب قرار گرفته و رطوبت مورد نیاز در محل اتصال پوست سبز به خاک فراهم می‌گردد، در نتیجه پوسیدگی پوست سبز و آلوگی به گونه‌های قارچ *Aspergillus* ایجاد می‌شود. این اتفاق در خاک‌های سنگین (شکل ۱)، در باغ‌هایی که علف‌های هرز در آنها کنترل نمی‌گردد و در باغ‌هایی که بقایای گیاهی فراوانی در آن وجود دارد، تشدید می‌گردد. یکی دیگر از عواملی که باعث افزایش پتانسیل آلوگی این پسته‌ها می‌گردد، وجود گرد و غبار روی سطح آن‌ها است. با توجه به خاک‌زاد بودن گونه‌های مختلف *Aspergillus* بطور طبیعی این میکروارگانیسم‌ها در گرد و غبار نیز وجود دارند، لذا می‌توانند باعث افزایش تراکم جمعیت قارچی به ویژه گونه‌های *Aspergillus* در مراحل فرآوری شوند. وجود اسپورهای *Aspergillus* در گرد و غبار ناشی از دیسک زدن باغ‌های پسته در کالیفرنیا توسط داستر و میکائیلیدس (۱۹۹۴a) و ارتباط بین آلوگی میوه انجیر و وجود گرد و غبار بر روی برگ‌ها توسط مجتهدی و همکاران (۱۹۷۹) و افزایش تراکم جمعیت اسپورهای *Aspergillus* در باغ‌های پسته ایران نیز قبلاً گزارش شده است. بنابراین هرس شاخه‌های در تماس با سطح زمین می‌تواند در کاهش آلوگی میوه پسته به گونه‌های مختلف *Aspergillus* و آفلاتوكسین نقش بهسزایی داشته باشد.

میوه‌های پسته روی درخت و روی زمین ممکن است در زمستان گذرانی گونه‌های *Aspergillus* و تولید مایه تلقیح در فصل بعدی نقش داشته باشند (داستر و میکائیلیدس ۱۹۹۴b، مرادی و همکاران ۲۰۰۴).

با توجه به آلوگی بالا در پسته‌های روی زمین ریخته شده، باید از مخلوط کردن آن‌ها با پسته‌های چیده شده از درخت خودداری گردد. این قبیل پسته‌ها می‌توانند بعنوان یک منبع آلوگی عمل کرده و باعث سرایت آلوگی به پسته‌های دیگر در حین فرآوری شوند، از آنجایی که آلوگی این نوع میوه‌های پسته به آفلاتوكسین اغلب بالاست، لذا مخلوط شدن آن‌ها با پسته‌های دیگر موجب آلوگی یک توده پسته خواهد شد.

تفاوت نتایج بدست آمده در مورد تراکم جمیت قارچی در پسته‌های ریخته شده روی زمین و ترک خورده در دو روش مورد استفاده می‌تواند به دلیل ماهیت نمونه‌های پسته باشد. به عنوان مثال در پسته‌های روی زمین ریخته شده، عموماً تمامی پسته‌ها آلوگی پایینی را نشان می‌دهند، در حالی که پسته‌های ترک خورده به دلیل در معرض و دسترس بودن مغز پسته، تراکم آلوگی بالاتری را نشان می‌دهند.

نتایج بدست آمده در مورد آلوگی پسته در چهار جهت جغرافیایی نشان داد که از نظر آماری بین چهار جهت تفاوتی وجود ندارد و آلوگی تحت تأثیر منابع آن در یک توده پسته است.

مقایسه میوه‌های پسته‌ای که در ارتفاع -۱۰ متری و در ارتفاع بیشتر از یک متر بودند نشان داد که آلوگی به گونه‌های *Aspergillus* در میوه‌هایی که در تماس با سطح زمین هستند نسبت به پسته‌هایی که در

منابع

- فانی س، ر، جوانشاه الف و مرادی م، ۱۳۹۲. بررسی شیوع آفلاتوکسین در نمونه‌های پسته رفسنجان طی سال‌های ۹۰ تا ۹۱، عوامل مؤثر و ارتباط آن با زمان نمونه برداری. مجله طلوع بهداشت، جلد ۴۲، صفحه‌های ۱۷۵ تا ۱۸۹.
- فانی س، ر، مرادی م، تاج‌آبادی‌پور ع، درگاهی ر و میرابوالفتحی م، ۱۳۹۳. نقش زودخندانی در آلودگی میوه پسته به گونه‌های آسپرژیلوس و آفلاتوکسین در استان کرمان، مجله علوم غذایی و تغذیه، جلد ۱۳، صفحه‌های ۹۷ تا ۱۰۵.
- مجتهدی ح، دانش د، حقیقی ب و فتحی ش، ۱۳۵۹. رطوبت نسبی انبار در رفسنجان و بررسی امکان آلودگی پسته‌ها با سم آفلاتوکسین پس از برداشت. مجله بیماری‌های گیاهی، جلد ۱۶، صفحه‌های ۸۰ تا ۸۵.
- مرادی م، ۱۳۹۲. تأثیر پارامترهای مؤثر بر *Aspergillus flavus* و تولید آفلاتوکسین در طول مدت انبارداری پسته، گزارش نهایی طرح تحقیقاتی، مؤسسه تحقیقات پسته کشور، ۳۴ صفحه.
- مرادی م، ارشاد ج، میرابوالفتحی م و پناهی ب، ۱۳۸۳. نقش بقاوی‌گیاهی، خاک و کودهای حیوانی روی تراکم جمعیت قارچ‌های گروه *Aspergillus niger* و *Aspergillus flavus* در باغ‌های پسته استان کرمان. مجله بیماری‌های گیاهی، شماره ۴۰، صفحه‌های ۲۲۱ تا ۲۲۴.
- Anonymous, 2010. Codex Alimentarius. Codex General Standard for contaminants and toxins in food and feed. Codex Standards. 193-195. World Wide Web electronic publication. http://www.codexalimentarius.net/download/standards/17/CXS_193e.pdf. [Accessed: 5-4-2011]
- Bensass F, Rhouma A, Ghrab M, Bacha H and Rabeh Hajlaoui M, 2010. Evaluation of cultivar susceptibility and storage periods towards aflatoxin B1 contamination on pistachio nuts. Mycotoxin Research, 26:199–203.
- Cotty PJ and Jaime-Garcia R, 2007. Influences of climate on aflatoxin producing fungi and aflatoxin contamination, International Journal of Food Microbiology, 119(1): 109-115.
- Danesh D, Mojtabaei H, Barnett R and Cambell A, 1979. Correlation between climatic data and aflatoxin contamination of Iranian pistachio nuts. Phytophthology, 69:715-716.
- Denizel T, Jarvis B and Rolfe EJ, 1976. A field survey of pistachio (*Pistacia vera*) nut production and storage in Turkey with particular reference to aflatoxin contamination. Journal of the Science of Food and Agriculture, 27(11): 1021-1026.
- Dhingra OD and Sinclair JB, 1985. Basic Plant Pathology Methods. CRC Press, 355p.
- Diener UL, Cole RJ, Sanders TH, Payne GA, Lee LS and Klich MA, 1987. Epidemiology of aflatoxin formation by *Aspergillus flavus* Annal Review Phytopathology.25: 249-70.
- Doster MA and Michailides TJ, 1994a. *Aspergillus* molds and aflatoxin in pistachio nuts in California. Phytopathology, 84: 583-590.
- Doster MA and Michailides TJ, 1994b. Development of *Aspergillus* molds in litter from pistachio trees. Plant Disease.78: 393-397.
- Doster MA and Michailides TJ, 1995. The relationship between date of hull splitting and decay of pistachio nuts by *Aspergillus* species. Plant Disease.79:766-769.
- Doster MA and Michailides TJ, 1999. Relationship between shell discoloration of pistachio nuts and incidence of fungal decay and insect infestation. Plant Disease.83: 259-264.
- Ellis WO, Smith JP, Simpson BK, Ramaswamy H, and Doyon G, 1994. Growth of and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in peanuts stored under modified atmosphere packaging (MAP) conditions. International Journal of Food Microbiology, 22: 173-187.

- Georgiadou M, Dimou A and Yanniotis S, 2012. Aflatoxin contamination in pistachio nuts: A farm to storage study. *Food Control*, 26 :580-586.
- Giorni P, Battilani P, Pietri A and Magan N, 2008. Effect of a_w and CO₂ level on *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin production in high moisture maize post-harvest. *International Journal of Food Microbiology* 122:109–113.
- Gourama H and Bullerman LB, 1995. *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*: Aflatoxigenic fungi of concern foods and feeds: A review. *Journal of Food Protection*. 58: 1395-1404.
- Jones RK, Duncan HE and Hamilton PB, 1981. Planting date, harvest date, and irrigation effects on infection and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in field corn. *Phytopathology*. 71: 810-16.
- Klich MA, 2002. Identification of common *Aspergillus* species. Central voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands. Pp.116.
- Marín S, Ramos AJ and Sanchis V, 2012. Modelling *Aspergillus flavus* growth and aflatoxins production in pistachio nuts. *Food Microbiology*,32:378-388.
- Mehrnejad MR and Panahi B, 2006. The influence of hull cracking on aflatoxin contamination and insect infestation in pistachio nuts. *Applied Entomology and Phytopathology*,73(2):39-42.
- Michailides TJ and Morgan DP, 1990. Mycoflora of pistachio fruits throughout the season and manipulation trials. Pp. 112-117. In: California Pistachio Industry. Annual report crop year 1989-1990. California Pistachio Commission Fresno.
- Mojthahedi H, Rabie CJ, Lubben A, Steyn M and Danesh D, 1979. Toxic *Aspergillus* from pistachio nuts. *Mycopathologia*, 67: 123-127.
- Moradi M and Hokmabadi H, 2011. Control of Mycotoxin Bioactives in Nuts: Farm to Fork. Pp 253-273. In: Tokusoglu Ö (ed), *Fruit and Cereal Bioactives Sources, Chemistry, and Applications*, CRC Press.
- Moradi M, Hokmabadi H and Mirabolfathy M, 2010. Density fluctuations of two major *Aspergillus* species airborne spores in pistachio orchards growing regions of Iran. *International Journal of Nut and Related Science*,1: 60-70.
- Moradi M and Javanshah A, 2006. Distribution of aflatoxin in processed pistachio nut terminals. *Acta Horticulture*,(ISHS), 726:431-436.
- Moss M, 2004. Toxigenic fungi. Pp. 479-488. In: Blackburn CW, McClure PJ (eds.), *Food-borne pathogens, hazards, risk analysis and control*. Boca Raton: Woodhead Publishing CRC Press.
- Panahi B and Khezri M, 2011. Effect of harvesting time on nut quality of pistachio (*Pistacia vera L.*) cultivars. *Science Horticulture*, 129:730–734.
- Raper KB, Fennell D-I and Astwick PK, 1965. The genus of *Aspergillus*. Huntington, New York.
- Set E and Erkmen O, 2010. The aflatoxin contamination of ground red pepper and pistachio nuts sold in Turkey. *Food Chemistry Toxicology*, 48:2532-2537.
- Setamou M, Cardwell KF and Hell F, 1997. *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin contamination of preharvest maize in Benin. *Plant Disease*. 81: 1323-1327.
- Shakerardekani A, Karim R and Mirdamadiha F, 2012. The effect of sorting on aflatoxin reduction of pistachio nuts. *Journal of Food Agriculture and Environment*,10 (1): 459-461.
- Sommer NF, Buchanan JR and Fortlage RJ, 1986. Relation of early splitting and tattering of pistachio nuts to aflatoxin in the orchard. *Phytopathology*,76: 692-694.
- Wicklow DT, Wilson DM and Nelson TC, 1993. Survival of *Aspergillus flavus* sclerotia and conidia buried in soil in Illinois and Georgia. *Phytopathology* 83:1141-1147.

Population Density of *Aspergillus* Species Belong to Section *Flavi* and *Nigri* on Pistachio Nut in Kerman Province

M Moradi^{1*}, SR Fani² and H Masoumi¹

¹ Department of Plant Protection Pistachio Research Institute, Iran.

² Department of Plant Protection Agriculture and Natural Resources Research Centre, Yazd, Iran.

* Corresponding author: moradi@pri.ir

Received: 26 Jan 2014

Accepted: 17 Sep 2014

Abstract

Iran is one of the biggest producer and exporter of pistachio nut around the world as well as the area under cultivation. Aflatoxin contamination is a major issue in food safety affecting the whole chain pistachio production. As pistachio nut infection occurs during the maturation period before harvest, the population density of *Aspergillus* sections *Flavi* (aflatoxin producers) and *Aspergillus* section *Nigri* (dominant saprophytic) were determined in cracked, fall to the ground, in contact with the ground, located at a height of more than one meter and four cardinal directions pistachios, during the second half of June to early September 2011-2012. To determine the density of fungal species, Blotter test and serial dilution method by AFPA and CZ media were used. Overall, the density of the fungal species in different assessed pistachios decreased in the order of cracked, fall to the ground, in contact with the ground, the four cardinal directions, and more than one meter in height, respectively. The frequency of *Nigri* section significantly was higher than *Flavi* ones. There were also significant differences between sampling times, and density of fungal species was at the highest level closer to harvest time. The results could show the critical points to manage aflatoxin contamination in pistachio nuts using different approaches.

Key words: Aflatoxin, *Aspergillus*, Food safety, Pistachio, Population.