مروری بر گواهی سلامت مواد تکثیری بخش باغبانی در ایران

مسعود نادرپور [1*]

۱-استادیار ، معاونت تحقیقات و فناوری بذر و نهال، موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج.

*نویسنده مسئول: m.naderpour@spcri.ir

چکیده

سلامت نهال یا عدم آلودگی به عوامل بیماری زای گیاهی در کنار سایر فاکتورهای نهال استاندارد، تعیین کننده ترین فاکتور در گواهی نهال، احداث، توسعه و مدیریت باغات مدرن میوه و نیز تجارت ملی، منطقه ای و بین المللی این نهاده مهم در بخش باغبانی دنیا محسوب می شود. عوامل بیماری زای مختلف تولیدات کشاورزی را در طبیعت از نظر کمی و کیفی متاثر نموده و برای تعدادی از آنها بویژه در صنعت باغبانی، روش درمانی به جز استفاده از مواد تکثیری سالم متصور نمی باشد. به همین دلایل، و همانند سایر کشورهای پیشرو در صنعت تولید و گسترش نهال گواهی شده، در قانون ثبت ارقام گیاهی و کنترل و گواهی بذر و نهال ایران نیز به کرات به سلامت بذر و نهال، استانداردهای مرتبط و لزوم گواهی مواد تکثیری بخش کشاورزی قبل از توزیع در کشور تاکید شده است. به منظور رعایت مواد قانونی مرتبط با این موضوع، موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، به عنوان تنها ارگان حاکمیتی کشور در زمینه گواهی اصالت و سلامت مواد تکثیری بخش کشاورزی، با بهره گیری از منابع بیشمار علمی و همکاری بسیار نزدیک ارگان های تحقیقاتی، اجرائی و دانشگاهی کشور بویژه در ساختار وزارت جهاد کشاورزی، استانداردهای سلامت مواد تکثیری را تدوین و تصویب نموده و معیار فعالیت های خود در ارتباط با گواهی مواد تکثیری بخش کشاورزی کشور قرار داده است. بدون شک استانداردهای مذکور اسنادی ملی و حتی منطقه ای و بین المللی برای مدیریت علمی تولید و گواهی این نهاده ارزشمند برای استفاده در باغبانی کشور و صادرات محسوب می شوند. به هر حال، عملی کردن استانداردهای مذکور در گواهی اصالت، سلامت و کیفیت مواد تکثیری کشور با تکیه بر اصول شناخته شده علمی و از همه مهمتر بومی سازی و توسعه روش های فناوری محور بویژه در ردیابی عوامل بیماری زا در مواد تکثیری باغبانی و در نهایت گسترش آن به سطح کلان اجرائی جزء اهداف عالیه و قابل انتظار است. مقاله حاضر به ضروریات فنی و حقوقی گواهی سلامت مواد تکثیری بخش باغبانی قبل از توزیع و استفاده و نیز فعالیت های تحقیقاتی و اجرائی انجام شده در کشور در پنج سال گذشته در راستای گواهی نهال می پردازد.

کلمات کلیدی: قانون ثبت ارقام گیاهی و کنترل و گواهی بذر و نهال ایران، گواهی عام و محدود، بیماری های گیاهی

مقدمه

مواد اولیه برای تولید نهال (پایه ، پیوندک، قلمه، پاجوش و ...) در سیستم های گواهی نهال، از باغات مادری سالم و اصیل موجود در فضای باز یا فضای بسته که تحت نظارت ارگانی ناظر (معمولا بخش دولتی) هستند، تامین می شود. به منظور حفظ سلامت و اصالت مواد اولیه تکثیری، درختان مادری باید از منابع تکثیری که بنام "هسته های اولیه و پیش تکثیر" خوانده شده و تحت همان نظارت در مکانی سالم و اسکرین هاوس نگهداری می شوند، تامین شده باشند. بنابراین "سیستم گواهی نهال" زمانی به واقعیت می پیوندد که این نهاده ارزشمند در صنعت باغبانی مسیر فنی و قانونی شناخته شده برای تهیه آن را طی نموده باشد:

۱. الزامات فنی:

تعداد بیشماری از عوامل بیماری زای گیاهی (ویروس ها، شبه ویروس ها، ویروئیدها، پروکاریوت ها، قارچ ها و نماتدها) گروه های مختلف محصولی را در بخش های زراعی و باغبانی آلوده می کنند. خسارت سالانه جهانی بیماری های گیاهی به طور متوسط ۱۲-۱۰٪ کل محصول تولیدی می باشد که البته بسته به سطح توسعه کشاورزی، ممکن است در برخی از کشورها

میزان خسارت به ۱۰۰٪ محصول نیز برسد(Strange and Scott, 2005). اما در این میان، اهمیت خسارت ایجاد شده در اثر عوامل بیماری زا در درختان میوه به دلایل زیادی از جمله چند ساله بودن باغات میوه (برخلاف گیاهان زراعی)، هزینه بسیار بالای احداث و نگهداری باغات میوه، تاثیر زیاد اقتصادی بر معیشت باغداران و امنیت شغلی فعالین بخش باغبانی و بالاخره مشکلات فراوان موجود در زمینه عاری سازی مواد تکثیری از برخی از عوامل بیماری زا و مسائل مرتبط با بایوتروریزم در واردات نهال، بسیار معنی دار است. تعداد زیادی از آفات و عوامل بیماری زا در صنعت باغبانی مانند همه آفات کشاورزی، اکثر قارچ های بیماری زا، نماتد ها و تعدادی زیادی از باکتریها با روش های مختلف شیمیایی، بیولوژیکی، مکانیکی و ... قابل کنترل هستند. بنابراین هر چند ممکن است خسارت برخی از این عوامل یا همه آنها در صنعت باغبانی مهم باشند، اما بالقوه از نظر گواهی نهال در دنیا به دلیل قابل درمان بودن اهمیت زیادی ندارند مگر اینکه باغبانی ارگانیک مدنظر باشد. در مقابل، برای برخی دیگر از عوامل بیماری زا نظیر ویروس ها، شبه ویروس ها، ویروئیدها، فایتوپلاسماها و تعدادی از باکتری ها (مانند عوامل بیماری های گال و آتشک) و قارچ ها (مانند گونه های ورتیسیلیوم) هیچ گونه روش درمانی متصور نبوده و تنها راه برای کنترل این بیماری ها، استفاده از مواد تکثیری سالم و عاری از این عوامل می باشد. به همین دلایل، استانداردهای ملی، منطقه ای و بین المللی برای سلامت مواد تکثیری بخش باغبانی روی این عوامل متمر کز شده و ارگان هایی بین المللی نظیر European Plant Protection Organization (EPPO, http://www.eppo.int) در اروپا، Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS, https://www.aphis.usda.gov/wps/portal/aphis/home/) در آمریکا و کانادا، (PIR, http://pir.sa.gov.au/biosecurity/plant_health) در استرالیا و ...، استانداردهایی را برای گواهی طبقات مختلف مواد تکثیری (هسته های اولیه، پیش تکثیر، باغات مادری و نهالستان ها) در کشورهای تحت پوشش خود تدوین نموده و معیار فعالیت های خود برای ساماندهی به احداث و توسعه باغات میوه و صادرات منطقه ای و بین المللی این مواد قرار داده اند (http://www.eppo.int/STANDARDS/standards.htm; https://www.aphis.usda.gov/wps/portal/aphis/ourfocus/planthealth). بنا بر همین دلائل فنی، کشور ما نیز در راستای ساماندهی ارزشمند ترین نهاده های بخش کشاورزی یعنی بذر و نهال سالم و اصیل در تاریخ ۱۳۸۲/۴/۲۹ قانون ثبت ارقام گیاهی و کنترل و گواهی بذر و نهال (که از این پس قانون خوانده می شود) را به تصویب مجلس شورای اسلامی رسانده و برای اجراء به وزارت جهاد کشاورزی که منجر به تاسیس موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال شده است، ابلاغ نمود(بی نام، ۱۳۹۰). این موسسه از بدو تاسیس خود، استانداردهایی ملی را برای گواهی سلامت و اصالت مواد تکثیری بخش های زراعی و باغبانی کشور تدوین و معیار فعالیت های خود قرار داده است. تدوین استانداردهای مربوط به گواهی مواد تکثیری بخش باغبانی از نظر بیماری های گیاهی و عملیات اجرائی در این بخش عملا از سال ۱۳۸۹ با راه اندازی بخش تحقیقات فناوری و بهبود کیفیت نهال شروع شده که در بخش های بعدی به اهم فعالیت های تحقیقاتی و اجرائی انجام شده در این زمینه در طی ۵ سال گذشته اشاره می شود.

۲. الزامات قانونی:

در قانون ثبت ارقام گیاهی و کنترل و گواهی بذر و نهال مصوب ۱۳۸۲ مجلس شورای اسلامی و آئین نامه اجرائی قانون مذکور، تقریبا به همه جوانب فنی و اجرائی تولید بذر سالم و به عمده موارد مرتبط با تولید و گواهی نهال از بعد سلامت پرداخته شده است که به اهم آنها در زیر اشاره می شود:

الف) بند (ب) ماده ۴ قانون: به منظور حصول اطمینان از این که بذر و نهال تولید شده حاصل از ارقام جدید دارای همان خصوصیات رقم در زمان ثبت آن می باشد و خصوصیات مورد نظر در زمان تکثیر، بوجاری و توزیع تغییر نیافته و از سلامت و استانداردهای تعیین شده برخوردار است، موسسه موظف است نسبت به سلامت بذر و نهال تولیدی اعمال نظارت نموده و بذر و نهال تولیدی را کنترل و گواهی نماید.

ب) بند (ج) ماده ۴ قانون: رعایت استانداردهای ملی یا بین المللی که اجرای آنها برای تولید بذر و نهال به طریق رسمی یا قانونی مورد پذیرش جمهوری اسلامی ایران قرار گرفته است. سطح استانداردهای ملی بالاتر از استانداردهای بین المللی تعیین خواهد شد.

ت) بند (د) ماده ۶ قانون: به موسسه اجازه داده می شود استانداردهای طبقات مختلف (تکثیری) بذر پرورش ۳ (سوپر الیت). را تعیین و پس از تصویب هیئت امناء سازمان اعلام نماید.

ث) بند (ه) ماده ۷ قانون: تولید و تکثیر بذر و نهال برای عرضه به بازار بدون کسب گواهی موسسه (اصالت و سلامت) تخلف محسوب و با متخلفان مطابق قوانین و مقررات رفتار خواهد شد (تبصره ۱ همان ماده).

ج) ماده ۱۱ قانون: از تاریخ تصویب این قانون ورود انواع بذر و نهال در سطح تجاری پس از کسب مجوز وزارت جهاد کشاورزی با رعایت مقررات قرنطینه کشور و استانداردهای بذر و نهال صورت خواهد گرفت.

ح) بند ۲۵ ماده ۱ آئین نامه اجرائی قانون: گواهی یعنی تایید مطابقت کیفیت و سلامت بذر، نهال یا مواد رویشی قابل تکثیر با استانداردهای ملی توسط موسسه.

خ) ماده ۱۱ آئین نامه اجرائی قانون: به منظور حصول اطمینان از کیفیت و سلامت بذر، نهال یا مواد رویشی قابل تکثیر، موسسه حسب مورد از آنها نمونه برداری نموده و آزمایش های لازم را به عمل می آود و چنانچه بذر یا نهال یا مواد رویشی قابل تکثیر تولیدی واجد استانداردهای طبقه مورد نظر باشد، گواهی های لازم را برای نصب و حک شناسه صادر خواهد نمود.

د) ماده ۲۹ آئین نامه قانون: بذر، نهال یا مواد رویشی قابل تکثیر وارداتی که با استانداردهای اعلام شده توسط موسسه منطبق نباشد، باید بر اساس نظر موسسه مرجوع یا معدوم شوند.

بندهای اشاره شده فوق فقط بخشی از مواد قانونی و آئین نامه های اجرائی قانون مذکور در رابطه با تکثیر نهاده های اساسی بخش کشاورزی کشور است که به صراحت به لزوم تدوین استانداردهای ملی "سلامت" و "اصالت" مواد تکثیری بخش های زراعی و باغبانی اشاره داشته و گواهی این مواد را بویژه از "بعد سلامت" بر اساس بیماری های ذکر شده در استانداردهای مذکور بسیار حیاتی و" هم سطح اصالت" این مواد دانسته است.

مواد و روش ها

۱. بررسی سیستم های گواهی نهال در دنیا

راه اندازی سیستم گواهی نهال در کشور بدون داشتن پس زمینه فکری و اجرائی کارا، نیازمند مطالعه دقیق و اساسی و موشکافی در سیستم های گواهی نهال درکشورهایی بود که در این زمینه سرآمد دنیا شده اند. بدون شک، مطالعه هدفدار فرآیندهای گواهی نهال این کشورها بویژه کشورهای اروپایی، آمریکای شمالی (آمریکا و کانادا) و استرالیا که از نیمه دوم قرن بیستم برای فرایندهای گواهی نهال برنامه ریزی و مطالعه کرده و به اصلاحاتی در این فرایندها دست یافته اند، می توانست برای راه اندازی و بومی سازی این فرایندها در کشور بسیار راهگشا باشد. بویژه اینکه در قانون ثبت ارقام گیاهی و کنترل و گواهی بذر و نهال به دلیل پس زمینه فعالیت های قبلی (بخش تحقیقات کنترل و گواهی بذر (موسسه فعلی)، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر) بیشتر مبحث بذر مد نظر بوده است و نیازمند ارائه تعاریفی علمی برای گواهی نهال بویژه از منظر طبقات مختلف تکثیری به منظور حفظ سلامت این مواد بوده که متاسفانه در قانون مذکور اشاراتی به این مباحث صورت نگرفته و فقط به طبقات مختلف تکثیری بذر (به عنوان نمونه بند (د) ماده ۶ قانون) اشاره شده است.

نکته مهم دیگر در این زمینه، عدم وجود اطلاع از نوع بیماری های مرتبط با گواهی سلامت در بخش باغبانی بود. همچنانکه می دانیم، بیماری های مختلفی در طبیعت درختان میوه را از نظر کمی و کیفی تحت تاثیر قرار می دهند. از

طرف دیگر ارگانهایی تحقیقاتی(موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور) و اجرائی (سازمات حفظ نباتات) در زمینه مسائل گیاهپزشکی کشور فعال هستند و بنابراین لزوم عدم دخالت در فعالیت های سایر ارگان ها نیز مورد اهتمام جدی موسسه متبوع بوده است. نگاهی به فرآیندهای گواهی نهال در اتحادیه اروپا مسیری روشن را فراروی موسسه متبوع قرار داده و نوع بیماری های گیاهی مد نظر در سیستم گواهی نهال را برای مطالعات دقیق تر و بومی سازی در ایران مشخص نمود.

۲. تدوین و تصویب استانداردهای ملی سلامت نهال

قضاوت در موردکیفیت هر نوع محصولی مستلزم وجود و تعریف استانداردهای معین و مخصوص آن محصول است تا تولید کننده در یک محیط رقابتی سالم و شایسته به نحوی که شایسته سالاری در آن محیط حکمفرما باشد، فعالیت نماید. بر اساس قانون، موسسه متبوع ارگانی با وظایف حاکمیتی تعریف شده است و قضاوت علمی و فنی در تولیدات بذر، نهال و سایر اندام های تکثیری بخش کشاورزی کشور به عهده آن گذاشته شده است. قضاوت زمانی علمی و قابل دفاع است که معیاری تعریف شده برای آن مستند و مورد پذیرش اهل فن بوده و توسط ارگان دولتی صلاحیت دار تصویب و برای اجراء ابلاغ شده باشد. این معیار در قانون بنام "استانداردهای بذر و نهال" نام گرفته و همچنانکه در قسمت بالا به آن اشاره شد، در بند بند قانون از آن به عنوان معیار ارزیابی سلامت و کیفیت مواد تکثیری یاد شده است. بر اساس بند (د) ماده ۶ قانون، تدوین استانداردهای مرتبط با سلامت، اصالت و کیفیت مواد تکثیری بر عهده موسسه گذاشته شده و مقرر گردیده که پس از طرح و تصویب در کمیسیون دائمی هیئت امناء سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی توسط وزیر جهاد کشاورزی برای اجراء ابلاغ شود. استانداردهای مرتبط با سلامت مواد تکثیری باغبانی کشور با الگوبرداری از استانداردهای بین المللی بویژه استانداردهای EPPO و با بهره گیری از داده های اطلاعاتی کشور در زمینه حضور، شیوع و اهمیت بیماری های مطرح در گواهی نهال، در ساختار وزارت متبوع (موسسه) تعیین و تعریف شد.

۳. بومی سازی روش های سنتی و مدرن بررسی سلامت نهال

برای تشخیص و ردیابی گروه های مختلف عوامل بیماری زای گیاهی [(ویروس ها، ویروئیدها، شبه ویروس ها)، پروکاریوت ها (باکتری ها و فایتوپلاسما ها)، قارچ ها و نماتد ها)] از روش های میدانی، گلخانه ای و آزمایشگاهی استفاده می شود. روش های میدانی به طور عمده بر پایه ظهورعلائم بیماری روی درخت و تشخیص ماکروسکوپی آنها استوار است. هر چند که این نوع تشخیص ممکن است اطلاعاتی در مورد احتمال وجود برخی آلودگی ها در هسته های اولیه و درختان مادری به دلیل مسن بودن این درختان و امکان ظهور علائم بیماری ارائه نماید، اما علائم شناسی در نهال تازه رشد یافته (۳-۲ ساله) معمولا از کارایی مناسبی برای ردیابی آلودگی برخوردار نیست، مگر اینکه با یکسری روش های آزمایشگاهی و گلخانه ای همسو باشد. روش های تشخیصی آزمایشگاهی بر حسب نوع عامل بیماری متفاوت بوده و دارای مزایا و معایبی هستند. معمولا روش های سرولوژیکی مبتنی بر آنتی بادی های اختصاصی برای ردیابی اکثر عوامل بیماری زا باستثنای ویروئیدها و شبه ویروس ها مورد استفاده قرار می گیرند. این روش ها علیرغم داشتن سرعت بالا و امکان انجام تعداد زیادی آزمون در واحد زمان، بویژه در فرایندهای گواهی نهال، در مقایسه با برخی دیگر از روش های تشخیصی (از جمله روش های بیولوژیکی (گلخانه ای) و مولکولی مبتنی بر اسید نوکلئیک) از دقت پایینی برخوردار هستند. از طرف دیگر آنتی بادی های اختصاصی برای ردیابی همه عوامل بیماری زا به صورت تجاری موجود نبوده و برخی دیگر از آنتی بادی های اختصاصی موجود برای ردیابی برخی از جدایه های ویروسی قادر به تشخیص جدایه های دیگر از همان ویروس نیستند (Nasrollahnejad and Ebadi, 2011). روش های بیولوژیکی و استفاده از گیاهان محک نیز هر چند که در ارزیابی سلامت نهال از کارایی بالایی برخوردار هستند اما به دلیل زمانبر بودن حصول نتایج، عدم وجود گیاهان محک چوبی/علفی برای تعدادی از عوامل بیماری زا بویژه ویروس ها، ویروئیدها و شبه

ویروس ها و نیاز به شرایط خاص محیطی و نیز نیروی انسانی مجرب، فقط برای ارزیابی سلامت هسته های اولیه و درختان مادری کارایی دارند (Albanese et al., 2012). روش های مولکولی مبتنی بر اسید نوکلئیک به دلیل سرعت، دقت، حساسیت و کارایی فوق العاده معمولا جزء پرطرفدارترین روش ها در ارزیابی سلامت طبقات مختلف تکثیری نهال هستند و در سطح وسیع تحقیقات و اجراء در دنیا مورد استفاده قرار می گیرند (Sanchez-Navarro et al., 2005; Pantaleo et al., 2001; Naderpour et al., 2014; Naderpour et al., 2013; Naderpour and Sadeghi, 2015; Naderpour and Shahbazi, 2015; Grieco et al., 2000; Menzel *et al*., 2002; Mercado, 2003; Hassan *et al*., 2006; Almeyda-Leon *et al*., 2007; Gadiou et al., 2010; Kundu, 2003; Bernard and Duran-Vila, 2006; Bissani et al., 2007; Malandraki et al., 2015;) که دلیل اصلی آن حساسیت فوق العاده این روش ها و عدم وجود معضلات اشاره شده در روش های فوق می باشد. اما به هر حال حساسیت بالای اسید نوکلئیک استخراج شده بویژه RNA در مراحل مختلف استخراج در اثر ریبونوکلئازها، پلی فنول ها و ... در بافت های گیاهی، عدم تکثیر یا تکثیر ضعیف DNA و نیز نتایج دروغین مثبت/منفی از موانع عمده در این روش ها هستند (Gibb and Padovan, 1994; Singh et al., 2001; Menzel et al., 2002; Sanchez-Navarro et al., 2005; Naderpour et al., 2011; 2013).

به منظور بهینه سازی و بومی سازی روش های فوق بویژه روش های مولکولی مبتنی برRNA وDNA برای برنامه های گواهی نهال کشور در آزمایشگاه مرجع ملی در موسسه، طرح ها/پروژه های متفاوتی در دیسیپلین های مختلف گیاهپزشکی در سطح کشور اجراء شده و نمونه های آلوده به عوامل بیماری زای مندرج در استانداردهای سلامت دانه داران، هسته داران، مرکبات، زیتون و پسته از سطح کشور جمع آوری شد. تعدادی دیگر از عوامل بیماری زا بویژه عوامل بیماری زای ویروسی از شرکت های تامین کننده آنتی بادی های اختصاصی [Agdia, AC Diagnostics (USA), Bioreba (Switzerland)] به صورت بافت خشک شده برگ تهیه شد. استخراج RNA وDNA به روش فنل-کلروفرم یا با استفاده از کیت های استخراج شرکت های(Qiagen (Germany یا Gene All (South Korea) انجام شد. آغازگرهای مورد استفاده، آغازگرهای توصیه شده توسط محققین دیگر (Sanchez-Navarro *et al*., 2005; Pantaleo *et al*., 2011; Menzel *et al*., 2002; Hassan *et al*., 2006; Almeyda-Leon *et al*., 2007; Grieco et al., 2000; Kundu, 2003; Faggioli et al., 2005; Jarosova and Kundu, 2010; Bereswill at al., 1992; Gundersen and Lee, 1996; Deng and Hiruki, 1991; Yokomi et al., 2008; Mercado, 2003) یا آغازگرهای طراحی شده توسط نگارنده (Naderpour, unpublished data) بود که در آزمون های Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) برای ردیابی ویروس ها و ویروئیدها وPCR برای ردیابی پروکاریوت ها و قارچ ها با تغییراتی اساسی در شرایط آزمایشگاه ملی و مرجع سلامت نهال کشور در موسسه انجام شدند.

۴. انجام تحقیقات بنیادین برای توسعه روش های ردیابی عوامل بیماری زای گیاهی در نهال

ردیابی عوامل بیماری زا در برنامه های گواهی نهال بویژه ردیابی عوامل بیماری زای ویروسی، شبه ویروسی و ویروئیدی، با روش های سرولوژیکی، بیولوژیکی و مولکولی امری پیچیده و چالش برانگیز بوده است (Naderpour *et al*., 2013; Naderpour and Sadeghi, 2015; Naderpour and Shahbazi, 2015; Albanase et al., 2012; Nasrullahnejad and Ebadi, 2011; Snachez-Navarro et al., 2005, Singh et al., 2002; Menzel et al., 2002; Gibb and Padovan, 1994) که به مواردی از آنها در بخش قبل اشاره شد. روش های مولکولی مبتنی بر اسید نوکلئیک، علیرغم دقت فوق العاده در ردیابی تمام یا بخشی از ژنوم عامل بیماری، دارای معایبی ذاتی هستند که البته باسانی و با کمی دقت قابل رفع هستند. اطمینان از صحت RNA وDNA استخراج شده، واکنش نسخه برداری معکوس انجام شده، درستی واکنش هایPCR وRT-PCR در تکثیر ژنوم عامل بیماری و بالاخره همخوانی نتایج آنها با نتایج مثبت آزمون های سرولوژیکی نکاتی هستند که باید در یک آزمون مولکولی مبتنی بر اسید نوکلئیک مورد توجه قرار گیرند.

مطالعات انجام شده در سطح کشور در ۵ سال گذشته نشان داده است که صرف بومی سازی روش های توصیه شده توسط محققین دیگر خارج از کشور، برای ردیابی عوامل بیماری زای مندرج در استانداردهای ملی سلامت مواد تکثیری درختان باغی کشور

کفایت نمی کند. نمونه بارز این ادعا عدم توانایی برخی از آنتی بادی های اختصاصی وارد شده از خارج از کشور در ردیابی جدایه های برخی از عوامل ویروسی مانند ویروس پسوروز مرکبات بوده است(Nasrullahnejad and Ebadi, 2011). بعلاوه، آزمون های مولکولی مبتنی برRT-PCR با آغازگرهای توصیه شده توسط سایر محققین در برخی از موارد یا قادر به ردیابی ویروس (ها) از نمونه هایی که آلودگی آنها با آزمون های سرولوژیکی تایید شده بود، نبودند یا اینکه منجر به نتایج دروغین مثبت می شدند (Naderpour et al., 2013; Naderpour et al., 2014; Naderpour and Shabazi, 2015; Naderpour and Sadeghi, 2015; Naderpour, unpublished data). برای تعدادی از این عوامل از جمله ویروس های *Cherry leafroll Nepovirus*، *Arabis mosaic Nepovirus*، *Prunus necrotic ringspot Ilarvirus* و... آغازگرهای جدید یونیورسال بر اساس ترادف ژنومی منتشر شده برای این عوامل در اطلاعات ژنومی طراحی و واکنش های RT-PCR با این آغازگر ها انجام شد.

۵. گواهی سلامت نهال کشور در سطوح کلان اجرایی

پروتکل های بومی سازی شده/ توسعه یافته توسط محققین گیاهپزشکی موسسه پس از نتیجه گیری های موفقیت آمیز در سطوح تحقیقاتی، در عرصه اجراء برای گواهی نهال/پایه های رویشی تولید کنندگان مطرح کشور در عرصه های مختلف تولید نهال مورد استفاده قرار گرفته و کماکان ادامه دارد.

یکی از چالش های موجود در گواهی نهال کشور، عدم وجود منابع رسمی برای تهیه مواد تکثیری سالم و اصیل در تولید نهال گروه های مختلف محصولی است. به منظور معرفی باغات مدرن سالم تر (گواهی محدود) و اصیل برای تهیه پیوندک، موسسه متبوع در دو طرح جداگانه اقدام به بررسی سلامت و اصالت تعدادی از باغات منتخب دانه دار و هسته دار در استان های آذربایجان غربی و خراسان رضوی بر اساس استانداردهای ملی سلامت مواد تکثیری هسته داران و دانه داران نمود تا بتواند در شرایط فعلی تولید کنندگان نهال دانه دار و هسته دار را در این دو استان که سرآمد استان های کشور در زمینه تولید نهال این محصولات هستند، به منبعی نسبتا سالم برای تهیه مواد تکثیری بویژه پیوندک هدایت نماید. بررسی سلامت نمونه های برگرفته از حدود ۶۰ باغ مدرن در دو استان با پروتکل های بومی سازی شده/توسعه یافته در موسسه انجام گرفت. مطالعات مربوط به چنین منابعی تا زمان معرفی رسمی منابع تکثیری در کشور ادامه خواهد یافت. موسسه متبوع در اقدامی دیگر برای جبران این کمبود در کشور، با حمایت های مالی معاونت علمی و فناوری ریاست جمهوری اقدام به تهیه مواد تکثیری سالم و اصیل هسته دار و دانه دار نموده است که قسمت های عمده تحقیقاتی آن که مربوط به ارزیابی سلامت بر اساس استانداردهای ملی است، با استفاده از پروتکل های تهیه شده برای آزمون های سرولوژیکی، مولکولی، بیولوژیکی و بیوشیمیایی محققین موسسه انجام می شود.

نتایج و بحث

بررسی سیستم های گواهی نهال در کشور های پیشرفته تولید نهال گواهی شده در اروپا (EPPO)، آمریکا (APHIS) و استرالیا (PIR) نشان داد که از بین عوامل مختلف بیماری زای گیاهی (ویروس ها، ویروئیدها، شبه ویروس ها، پروکاریوت ها، قارچ ها، نماتد ها و علف های هرز) گروه های مختلف محصولی، بیماری هایی در فرآیندهای تولید و گواهی نهال مطرح هستند که اولا" در کوتاه مدت یا بلند مدت باعث زوال درختان میوه برگرفته از نهال آلوده می شوند. ثانیا برای این بیماری ها هیچ نوع روش درمانی به جز استفاده از مواد تکثیری سالم متصور نمی باشد. ثالثا، برخی از این عوامل (مانند علف های هرز و نماتدها) یا به بقاء چنین عوامل بیماری زایی بویژه در باغات مادری و نهالستان ها کمک می کنند یا اینکه باعث انتقال این عوامل از باغات آلوده به محل های تکثیر نهال می شوند. بر این اساس بیماری های ویروسی، ویروئیدی، شبه ویروسی، فایتوپلاسمایی و تعداد معدودی از باکتری ها و قارچ ها (از جمله بیماری های آتشک درختان میوه دانه دار در اثر باکتری *Erwinia amylovora* و پژمردگی درختان

میوه هسته دار در اثر .*Verticillium* sp به دلیل ایجاد زوال) و نماتد های (از جمله گونه هایی از جنس های *Longidorous* و *Xiphinema* به عنوان ناقلین بیماری های ویروسی) گزارش شده از کشور معیار تصمیم گیری در راه اندازی گواهی سلامت نهال در کشور مورد توجه قرار گرفتند. حسب ماده ۱۱ قانون و لزوم رعایت مقررات قرنطینه کشورکه متولی آن سازمان حفظ نباتات است، بیماری های قرنطینه ای در این فرایندها و در لیست استانداردها قرار نگرفتند. بعلاوه، طبقات تکثیری نهال [هسته های اولیه (pre-basic)، پیش تکثیر(basic)، باغات مادری (Mother blocks) و نهالستان ها (nurseries)] و نیز گواهی محدود (virus tested) و تام (Virus free)] برای مواد تکثیری بخش باغبانی کشور تعریف شد. تدوین استانداردهای مربوط به سلامت هر یک از طبقات تکثیری نهال با الگو برداری از استانداردهای EPPO، APHIS وPIR و بر اساس مطالعات گسترده در مورد حضور، شیوع و پراکنش بیماری های سیستمیک گروه های مختلف محصولی در کشور از بدو گزارش بیماری ها استوار بوده است. علیرغم اینکه بر اساس بند (د) ماده ۶ قانون، موسسه اختیار تدوین استانداردها را داشته است ولی سعی شد در تدوین استانداردهای مذکور از تجربیات علمی و فنی سایر ارگان های تحقیقاتی (مانند موسسات تحقیقات گیاهپزشکی کشور، اصلاح و تهیه نهال و بذر، علوم باغبانی کشور، مرکبات کشور، پسته کشور، خرما و محصولات گرمسیری، مراکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان ها و دانشگاهها) و اجرائی (سازمان حفظ نباتات کشور و معاونت باغبانی وزارت متبوع) استفاده نموده و استانداردهایی منطقی تر و علمی تر برای اجراء در گواهی نهال کشور تدوین شوند. اساس علمی استانداردهای مذکور، مقالات منتشر شده در کنفرانس ها و منابع علمی کشور (و حتی خارج از کشور در ارتباط با بیماری های شایع در کشور) و نیز تجربیات منتشر نشده اعضاء تدوین کننده استانداردها بوده است. استانداردهای مذکور بر اساس گروههای محصولی (دانه داران، هسته داران، مرکبات، گرمسیری) یا به تفکیک محصولی (پسته، گردو، فندق، عناب، زرشک، توت فرنگی، کیوی، خرمالو، انار، انجیر) تدوین شده است. در استانداردهای مذکور، استانداردهایی مجزا برای هر یک از طبقات تکثیری نهال از نظر بیماری های ویروسی، ویروئیدی، شبه ویروسی، فایتوپلاسمایی، باکتریایی، قارچی و نماتدی، مکان و نحوه نگهداری، نحوه آبیاری و نیز فاصله ایزولاسیون آنها از سایر منابع آلودگی برای جلوگیری از انتقال عوامل بیماری زای مذکور توسط ناقلین بیولوژیک (بذر، دانه گرده، ناقلین بیولوژیکی) تهیه و در نهایت به نحوه ردیابی عوامل بیماری زا برای صدور گواهی سلامت اشاره شده است (شکل ۱). استانداردهای تدوین شده توسط هیئت امناء سازمان تحقیقات ، آموزش و ترویج کشاورزی تصویب شده و برای اجراء به موسسه ابلاغ شده اند(http://www.spcri.ir/Pages/estandard.aspx). نمونه ای از این استانداردها که مربوط به استانداردهای سلامت طبقات مختلف تکثیری هسته داران (هلوو شلیل) می باشد در شکل ۱ آورده شده است.

استانداردهای سلامت هسته های اولیه، باغات مادری و نهالستان های هلو و شلیل

تعاریف:

۱. هسته های اولیه و پیش تکثیری نهال (Basic & Pre-basic):

هسته های اولیه: مواد گیاهی محدودی از ارقام تجاری هستند که اصالت و سلامت آنها توسط موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال محرز شده و در مکانی محافظت شده و غیر قابل نفوذ به حشرات نگهداری می شوند.

پیش تکثیر: مواد گیاهی برگرفته از هسته های اولیه بوده که اصالت و سلامت آنها توسط موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال محرز شده است. این طبقه به عنوان حلقه بین هسته های اولیه و باغات مادری قرار دارد و مواد گیاهی مورد استفاده برای احداث باغ مادری از آنها تهیه می شود. این مواد گیاهی در مکانی محافظت شده و غیر قابل نفوذ به حشرات نگهداری میشوند

توضیحات:

۱. هسته های اولیه و پیش تکثیر باید عاری از کلیه پاتوژن های گیاهی بویژه ویروسهای (PDV) *Prune dwarf Ilarvirus*، *Prunus necrotic ringspot Ilarvirus* (PNRSV)، *Plum pox Potyvirus*(PPV)، *Tobacco ringspot Nepovirus*(TRSV)، *Tomato ringspot Nepovirus* (ToRSV)، *Apple chlorotic leaf* (ApMV)، *Apple mosaic Ilarvirus* (ArMV)، *Arabis mosaic Nepovirus* و فایتوپلاسماها از جمله Almond witche's broom (ACLSV) *spot Trichovirus* باشند.

۲. هسته های اولیه و پیش تکثیری باید در اسکرین هاوس های مجزا در خاکی کاملا استریل در گلدان و بدون تماس با خاک که اسکرین هاوس نگهداری شوند.

۳. جهت جداسازی گلدانهای حاوی هسته های اولیه و پیش تکثیری، کف اسکرین هاوس باید حداقل تا عمق ۸۰ سانتیمتر از سنگریزه پوشیده شده و گلدانها بر روی سکوهای بتنی یا پلاستیکی نگهداری شوند.

۴. به غیر از هسته های اولیه و پیش تکثیری، گیاهان دیگری نباید در اسکرین هاوس موجود باشند. به شعاع ۲۰ متری اسکرین هاوس هم نباید گیاهی موجود باشد.

۵. ضمن ارزیابی چشمی مرتب از نظر سلامت در برابر پاتوژن ها و بیماری های خاکزاد و هوازاد نظیر *Rosellinia necatrix*، *Phytophthora* spp.، *Armillaria mellea*، *Verticillium dahliae* ، شانکرباکتریایی و ...، باید سالیانه دو بار از نظر عدم آلودگی به بیماری ذکر شده در بند ۱ مورد ارزیابی آزمایشگاهی قرار گیرند.

۶. با توجه به انتقال تعدادی از ویروس های گیاهی از طریق بذر، هسته های اولیه و پیش تکثیری نباید به مرحله گلدهی برسند.

(الف)

۲. درختان مادری (Mother blocks):

به باغات گیاهانی از ارقام تجاری محصولات سردرختی باغبانی با اصالتی معلوم و کاملا سالم اطلاق می شود که تحت نظارت موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال در مکانی با فاصله ایزولاسیون استاندارد کاشته شده و از مواد گیاهی آنها برای تولید نهال استفاده می شود.

توضیحات:

۱. درختان مادری باید عاری از ویروس های PDV، PNRSV، PPV، TRSV، ToRSV، ACLSV، ApMV، ArMV، و فایتوپلاسماها از جمله Almond witche's broom و قارچ *V. dahliae* باشند.

۲. پایه و پیوند که درختان مادری از مواد پیش تکثیر تهیه می شود.

۳. باغات مادری درون از گلخانه در خاک طبیعی باغ که عاری از نماتدهای *Longidorous* spp.، *Xiphinema* spp. *M.hapla*، *Meloidogyne arenaria*، و قارچهای *V. dahliae*، *R. necatrix*، *A. mellea*، بوده و به تائید سازمان حفظ نباتات رسیده، احداث میشوند.

۴. تعیین فاصله حریم امن (فقدان منابع آلوده گیاهی) برای باغات مادری به نوع استفاده از باغ ؛ بیماریهای قابل انتقال و برد پروازی حشرات ناقل بستگی دارد. در مورد هلو و شلیل ، حریم امن باغات ۱۰۰۰ متر تعیین میشود.

۵. جهت اطمینان از عدم انتقال بیماریهای خاکزی ، باید آبیاری از نوع تحت فشار باشد و توسط لوله های آبیاری مستقیما از منبع تامین آب به زمین اصلی منتقل گردد.

۶. همه درختان مادری ضمن ارزیابی چشمی مرتب (۳-۲ بار در سال در اواخر بهار و اواسط تابستان) از نظر سلامت عمومی (عدم وجود علائم بیماری) در برابر پاتوژن ها و بیماری های خاکزاد و هوازاد نظیر *R. necatrix*، *Phytophthora* spp.، *A. mellea*، *V. dahliae* و شانکرباکتریایی، باید سالیانه یکبار از نظر عدم آلودگی به ویروس های PDV، PNRSV، ToRSV، PPV و هر پنج سال یکبار از نظر عدم آلودگی به ویروس های CLRV، ArMV، ApMV، ACLSV، TRSV مورد ارزیابی آزمایشگاهی قرار گیرند. در صورت مشاهده آلودگی ضروری است درخت (درختان) آلوده حذف و با درخت سالم جایگزین شود.

۷. با توجه به انتقال تعدادی از ویروس های گیاهی از طریق بذر، باغات مادری بجز باغاتی که برای بذرگیری مورد استفاده قرار میگیرند، نباید به مرحله گلدهی برسند.

(ب)

۳. نهال گواهی شده (Certified):

به نهالی اطلاق می شود که اصالت، سلامت و مشخصات ظاهری آن مطابق با استانداردهای مصوب بوده و مواد اولیه آن از باغات مادری تهیه می شود.

توضیحات:

۱. پایه و پیوند که باید متجانس و از ارقام تجاری شناخته شده بوده و عمل پیوند در زمان مناسب انجام شده باشد.

۲. نهال گواهی شده باید عاری از ویروسهای PDV، PNRSV، PPV، ToRSV، باکتری *Pseudomonas syringae*، نماتدهای *Longidorous* spp.، *Pratylenchus vulnus*، *Xiphinema* spp.، *Meloidogyne hapla*، *M. arenaria*، *M. javanica*، *M. incognita* و قارچهای *V. dahliae*، *Phytophthora* spp.، *A.mellea* و *R. necatrix* باشند.

۳. نهالستان ها باید از سایر منابع آلودگی ۱۰۰۰ متر فاصله داشته باشند.

(ج)

شکل ۱) نمونه ای از استانداردهای ملی مربوط به سلامت طبقات تکثیری هسته های اولیه و پیش تکثیر (الف)، باغات مادری (ب) و نهالستان های (ج) هسته داران (هلو و شلیل).

بومی سازی روش های مرسوم مبتنی بر آزمون های بیولوژیکی، بیوشیمیایی، سرولوژیکی (Enzyme-linked Immunosorbent Assay, ELISA) و مولکولی (PCR و RT-PCR) برای ردیابی عوامل بیماری زای مندرج در استانداردهای ملی سلامت مواد تکثیری گروه های محصولی زیر در قالب بیش از ۱۵ پروژه تحقیقاتی از سال ۱۳۸۹ تاکنون انجام شده است. بومی سازی پروتکل های ردیابی عوامل بیماری زای مندرج در استانداردهای مواد تکثیری سایر محصولات باغبانی در قالب ۱۰ پروژه تحقیقاتی دیگر در دست اجراء است:

۱. دانه داران (سیب، گلابی و به):

ویروس های *Apple mosaic Ilarvirus* (ApMV)، *Apple chlorotic leafspot Trichovirus* (ACLSV)، *Apple stem pitting Foveavirus* (ASPV)، *Apple stem grooving Capillovirus* (ASGV)، *Tobacco ringspot Nepovirus* (TRSV) و *Tomato ringspot Nepovirus* (ToRSV)، پروکاریوت های عامل Fire Blight، Pear Decline و Apple Proliferation.

۲. هسته داران (هلو، شلیل، زردآلو، آلبالو، گیلاس، گوجه، آلو و بادام):

ویروس های *Cherry leafroll Nepovirus* (CLRV)، ArMV، TRSV، ToRSV، ApMV، *Prune dwarf Ilarvirus* (PDV)، PNRSV، *Plum pox Potyvirus* (PPV)، ACLSV، وپروکاریوت های عامل Almond's witches broom و قارچ *Verticillium* spp.

۳. مرکبات:

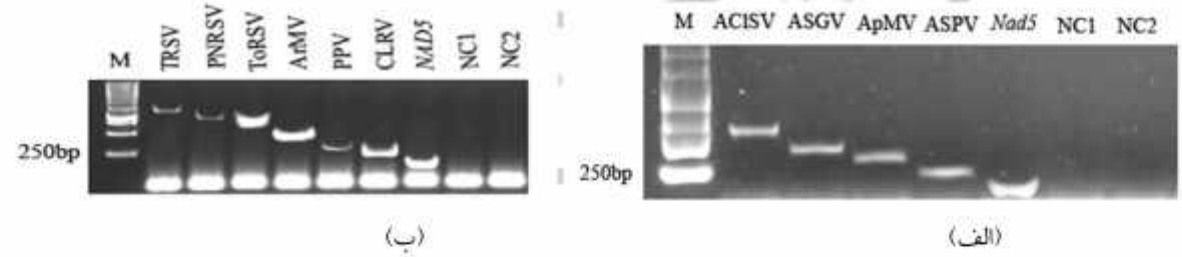
ویروس های *Citrus tristeza Closterovirus* (CTV)، *Citrus psorosis Ophiovirus*، *Citrus tatter leaf Capillovirus*، ویروئیدهای *Citrus exocortis viroid* (CEVd)، *Hope stunt viroid* (HSVd)، *Citrus viroid IV*، *Citrus viroid V* و پروکاریوت های *Spiroplasma citri*، *Candidatus Liberibacter asiaticus*، *Xylella fastidiosa*

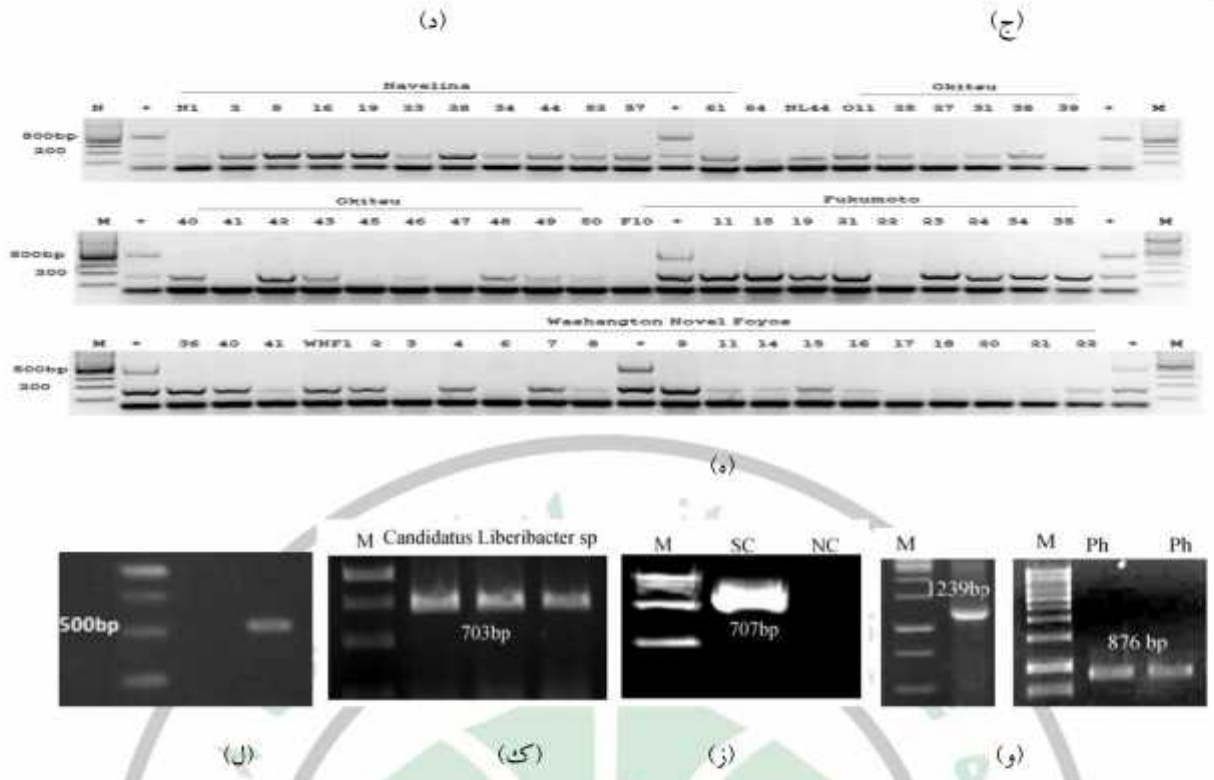
۴. زیتون:

ویروس های ArMV، CLRV، *Cucumber mosaic Cucumovirus* (CMV) و *Strawberry latent ringspot virus* (SLRSV) و فایتوپلاسمای عامل جاروی جادوگر

۵. پسته:

فایتوپلاسمای عامل جاروی جادوگر





شکل2) تکثیر قطعات ژنومی مربوط به تعدادی از عوامل بیماری زای هسته داران، دانه داران، مرکبات و زیتون در برنامه گواهی نهال با استفاده از واکنش های PCR و RT-PCR به همراه تکثیر قطعه ای از ژن کنترل داخلی (*Nad5*) برای تایید درستی آزمون ها. (الف) تکثیر قطعاتی از ژن های (181 bp) *Nad5*، (264 bp) *CP*، (499 bp) *RdRp*، (450 bp) *CP* و(677 bp) *CP* مربوط به ژن کنترل داخلی و ویروس های ASPV، ASGV، ApMV و ACLSV، (ب) تکثیر قطعاتی از ژن های (766 bp) *RdRp*، (599 bp) *MP+CP*،(580 bp) *RdRp*،(427 bp) *CP*، (345 bp) *Nib*، (331 bp) *CP* و اگزون های (181 bp) I-II به ترتیب مربوط به ویروس های TRSV، PNRSV، ToRSV، ArMV، PPV، CLRV و ژن کنترل داخلی (*NAD5*) در برنامه های گواهی نهال دانه داران و هسته داران، (ج) تکثیر قطعات ژنومی از ژن های (513 bp) *2a*، (513 bp) *RdRp*، (427 bp) *CP* و (331 bp) *CP* مربوط به ویروس های CMV، SLRSV، ArMV و CLRV (به ترتیب) در برنامه های گواهی نهال زیتون، (د) تکثیر قطعات ژنومی مربوط به ژنوم ویروئید (174 bp) CEVd، ژن کنترل داخلی (*Nad5*, 181 bp) به همراه قطعات ژنومی به طول های 296 bp و 504 bp به ترتیب مربوط به ویروئید عامل بیماری کاچکسیا (N-H) و ویروس عامل بیماری تریستزا (N-C) و نیز ردیابی همزمان هر سه قطعه (N-H-C) در برنامه های گواهی مرکبات، (ه) ردیابی همزمان عامل بیماری تریستزا به همراه ژن کنترل داخلی در سطح کلان اجرائی گواهی مرکبات (Naderpour et al., 2013; 2014; Naderpour and Sadeghi, 2015; Naderpour and Shahbazi, 2015)، (و، ز، ک) ردیابی قطعات ژنومی مربوط به فایتوپلاسمای عامل جاروی جادوگر، استابورن و بیماری Greening (Moslemkhani *et al.*, 2010)در برنامه های گواهی مرکبات، (ل) ردیابی قارچ *Verticillium dahliae* (Khelghatibana *et al.*, unpublished) در برنامه های گواهی نهال با تکثیر قطعه 530 bp از ژنوم قارچ در واکنش های PCR. M نشاندهنده مارکر مولکولی (Fermentas) 1 kb (بجز (د) که از مارکر مولکولی 100 bp استفاده شده است)، NCکنترل منفی در واکنش های PCR، NC1کنترل منفیRNA و NC2کنترل منفی cDNA در واکنش های RT-PCR است.نتایج روی ژل آگارز ۱/۵٪ نشان داده شده است.

پروتکل های بومی سازی شده/ توسعه یافته توسط محققین موسسه پس از نتیجه گیری های موفقیت آمیز در سطوح تحقیقاتی، در عرصه اجراء برای گواهی نهال/پایه های رویشی تولید کنندگان مطرح کشور در عرصه های فضای باز (مجتمع اقتصادی سبز دشت فارس، شرکت باغداری فجر اصفهان)، گلخانه/ اسکرین هاوس (شرکت کشاورزی و باغداری فجر ساری) و کشت بافت

(شرکت رویان پژوهش آذربایجان، شرکت کشت بافت وابسته به پژوهشکده ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری) مورد استفاده قرار گرفته است. به دلیل تقاضای شرکت های مذکور یا بر اساس بیماری های ردیابی شده، به تولیدات نهال این شرکت ها گواهی سلامت محدود صادر شده است.

از مجموع ۱۴ باغ دانه دار و ۲۱ باغ هسته دار مطالعه شده در باغات تقریبا صنعتی استان های آذربایجان غربی و خراسان رضوی، به ترتیب ۳ و ۹ باغ بدون آلودگی به عوامل بیماری زای مندرج در استانداردهای ملی گروه های محصولی فوق شناسایی شده و برای تهیه پیوندک به اطلاع باغداران کشور رسانده شد. بعلاوه، درختان بررسی شده در باغات سالم این دو استان، معیار فعالیت های موسسه متبوع در تهیه منابع تکثیری سالم و اصیل هسته دار و دانه دار قرار گرفته و از پیوندک های برگرفته از همین درختان، نهال های در دست بررسی طرح های مذکور، ایجاد شده اند.

نتیجه گیری کلی

توسعه باغداری صنعتی و مدرن با پشتوانه "تفکر اقتصادی و سلامت جامعه"، بدون استفاده از نهال سالم عملا امکان ناپذیر است. در صورت استفاده از نهال بدون هویت و سلامت مشخص، نه تنها امکان رقابت در بازار محصول از دست می رود، بلکه عملا آلودگی از طریق استفاده از نهال بدون گواهی وارد باغات میوه شده و به نوبه خود ضمن شیوع زوال زود هنگام یا تدریجی در باغات و کاهش طول عمر مفید درختان میوه، هزینه تولید را به دلیل افزایش حساسیت درختان میوه به عوامل بیولوژیک و غیر بیولوژیک افزایش می دهد. جبران تبعات منفی این واقعه، بی شک با اقداماتی که سلامت غذایی جامعه و محیط زیست را به خطرمی اندازد، انجام پذیرفته و در نهایت به دلیل تغییر سلیقه غذایی مصرف کنندگان و گرایش آنها به سوی مواد غذایی سالم، امنیت شغلی فعالین این بخش از کشاورزی را نیز تحت تاثیر قرار خواهد داد. در ابعاد مدیریتی و حاکمیتی، تهیه نهال (نهال پیوندی، پاجوش، قلمه، ...) گواهی شده از منابع تکثیری سالم و اصیل (به ترتیب هسته های اولیه، پیش تکثیر، درختان مادری)، ارائه تعریفی صحیح و علمی از بحث گواهی نهال مطابق آنچه که دیگران پذیرفته اند و رعایت شرایط فنی لازم برای احداث محل های نگهداری مواد اولیه تکثیری بر اساس موارد مطرح شده در استانداردهای سلامت به منظور جلوگیری از ورود آلودگی، لازمه یک سیستم کارای گواهی نهال است. اما راه اندازی و گسترش این واقعه مهم در کشور نیازمند عزمی ملی بویژه در زمینه فرهنگ سازی در مورد ضرورت تولید و استفاده از نهال گواهی شده است. خوشبختانه در قانون ثبت ارقام گیاهی و کنترل و گواهی بذر و نهال و آئین نامه های اجرائی آن به این ضرورت مهم اشاره شده و حتی سازو کارهای قانونی هم برای جلوگیری از تولید و مبادله نهال بدون گواهی سلامت و اصالت ارائه شده است.بدیهی است که اجرای همین قانون شفاف نیز بدون همگرایی و هماهنگی ارگان های دولتی بویژه معاونت باغبانی وزارت متبوع، سازمان حفظ نباتات، سازمان های جهاد کشاورزی و مراکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان ها با موسسه متبوع با مشکلاتی همراه خواهد بودکه بحث در مورد آن در این مقال نمی گنجد. از طرف دیگر، با توجه به اینکه بر اساس اطلاعات موجود حداقل در اکثر کشورهای منطقه تاکنون چنین اقداماتی صورت نگرفته است، تقویت صنعت گواهی نهال و تولید نهال گواهی شده می تواند برای تبدیل کشورمان به ارگانی بین المللی یا حداقل منطقه ای برای تولید نهال گواهی شده و/یا صدور گواهی سلامت به مواد تکثیری بخش باغبانی منطقه تاثیر گذار بوده و اعتباری سیاسی به همراه داشته باشد.

استانداردهای ملی سلامت مواد تکثیری بخش کشاورزی کشور از جمله نهال بر اساس اطلاعات موجود پایه گذاری شده اند. با توجه به اینکه عوامل بیماری زای گیاهی معمولا به طور مرتب و به طرق مختلف (واردات مواد تکثیری غیر جنسی، انتقال از طریق دانه گرده، بذر، ناقلین بیولوژیکی، اداوات کشاورزی و باغبانی و ...) وارد کشور می شوند، بنابراین لزوم انجام مطالعات مستمر در مورد امکان حضور/ورود عوامل بیماری زای مرتبط با استانداردهای سلامت برای استفاده در بازنگری آنها بسیار ضروری می نماید.

منابع

۱. بی نام، ۱۳۹۰. مجموعه قوانین و مقررات ثبت ارقام گیاهی و کنترل و گواهی بذر و نهال. انتشارات موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ۴۹ صفحه.

2. Albanese, G., Saponari, M., Faggioli, F. 2012. Phytosanitary Certification. p.107-128. In: Olive Germplasm-The Olive Cultivation, Table Olive and Olive Oil Industry in Italy. Rijeka, Croatia: InTech Press.
3. Almeyda-Leon, I. H., Rocha-Pena, M. A, Iracheta-Cardenas, M. M.Orona-Castro, F., and Kahlke, C. J. 2007. A simple method for the multiple detection of citrus viroids. Agrociencia 41: 87-93.
4. Bereswill, S., Pahl, A., Bellemann, P., Zeller, W., and Geider, K. 1992. Sensitive and species-specific detection of *Erwinia amylovora* by polymerase chain reaction analysis. Applied and Environmental Microbiology 58: 3522-3526.
5. Bernard, L., and Duran-Vila, N. 2006. A novel RT-PCR approach for detection and characterization of citrus viroids. Molecular and Cellular Probes 20: 105-113.
6. Bissani, R., Botti, S., and Cardoni, M. 2007. Verification of phytoplasma presence in certified fruit tree material in Emilia Romagna region. Bulletin of Insectology 60: 321-322.
7. Deng, S. J., and Hiruki, C. 1991. Amplification of 16S rRNA genes from culturable and nonculturable mollicutes. Journal of Microbiology Methods 14: 53-61.
8. Faggiloi, F., Ferretti, L., Albanese, G., Sciarroni, R., Pasquini, G., Lumia, V., and Barba, M. 2005. Distribution of olive tree viruses in Italy as revealed by one-step RT-PCR. Journal of Plant Pathology. 87: 49-55.
9. Gibb, K., and Padovan, 1994. A. A DNA extraction method that allows reliable PCR amplification of MLO DNA from difficult plant host species. PCR Methods and Applications. 4: 56-58.
10. Grieco, F., Alkowni, R., Saponari, M., Savino, V., and Martelli, G. P. 2000. Molecular detection of olive viruses. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 30: 469-473.
11. Gadiou, S., Kundu, J. K., Paunovic, S., Garcia-Diez, P., Komorowska, B., Gospodaryk, A., Handa, A., Massart, S., Birisik, N., Takur, P. D., and Polischunk, V. 2010. Genetic diversity of flexiviruses infecting pome fruit trees. Journal of Plant Pathology 92: 685-691.
12. Gundersen D. E., and Lee, I. M. 1996. Ultrasensitive detection of phytoplasmas by nested-PCR assay using two universal primer pairs. Phytopathologia Mediterrannea 35:144-151.
13. Jarosova, J., and Kundu, J. K. 2010. Simultaneous detection of stone fruit viruses by one-step multiplex RT-PCR. Scientia Horticulturae 125: 68-72.
14. Kundu, J. K. 2003. The occurrence of *Apple stem pitting virus* and *Apple stem grooving virus* within field-grown apple cultivars evaluated by RT-PCR. Plant Protection Science 39: 88-92.
15. Hassan, M., Myrta, A., and Polak, J. 2006. Simultaneous detection and identification of four pome fruit viruses by one-tube pentaplex RT-PCR. Journal of Virological Methods 133: 124-129.
16. Malandraki, I., Varveri, C., Olmos, A., and Vassilakos, N. 2015. One-step multiplex quantitative RT-PCR for the simultaneous detection of viroids and phytoplasmas of pome fruit trees. Journal of Virological Methods 213: 7-12.
17. Menzel, W., Jelkmann, W., and Maiss, E. 2002. Detection of four apple viruses by multiplex RT-PCR assays with coamplification of planty mRNA as internal control. Journal of Virological Methods 99: 81-92.
18. Mercado-Blanco, J., Rodriguez-Jurado, D., Parrilla-Aruajo, S., and Jimenez-Diaz, R. M. 2003. Simultaneous detection of the defoliating and nondefoliating verticillium infected olive plants by duplex, nested polymerase chain reaction. Plant Disaese 87: 1487-1494.
19. Moslemkhani, K., shahbazi, R., Khodayegan, P., and Motieshare, B. 2010. Optimization of citrus fastidious prokaryote detecting methods and health survey of some citrus nuclear stocks. Final Report, Center for Agriculture Information and Scientific Documentation, Areo, Ministry of Agriculture, Iran, pp. 52.
20. Naderpour, and Sadeghi, L. 2015. Investigation of stone fruit orchards in Western Azarbaijan and Khorasan Razavi provinces to introduce healthier orchards for stone fruit propagation industries. Final Report, Center for Agriculture Information and Scientific Documentation, Areo, Ministry of Agriculture, Iran, no. 47168, pp. 69.
21. Naderpour, and Shahbazi, R. 2015. Investigation of pome fruit orchards in Western Azarbaijan and Khorasan Razavi provinces to introduce healthier orchards for stone fruit propagation industries. Final Report, Center for Agriculture Information and Scientific Documentation, Areo, Ministry of Agriculture, Iran, no. 47282, pp. 69.
22. Naderpour, M., Kavand, A., and Kavand, M. 2014. Assessement of virus and virus-like diseases in genetically established olive trees in Iran and standardization of detection protocols. Final Report, Center for Agriculture Information and Scientific Documentation, Areo, Ministry of Agriculture, Iran, no. 44353, pp. 67.

23. Naderpour, M., Arefi, H. M., Sadeghi, L., and Khelghatibana, F. 2013. Assessement of virus and virus-like diseases of some citrus nuclear stocks of Iran and standardization of detection methods. Final Report, Center for Agriculture Information and Scientific Documentation, Areo, Ministry of Agriculture, Iran, 44555, pp. 76.
24. Naderpour, M., Shahbazi, R., Sadeghi, M., and Maddah Arefi, H. 2013. Simultaneous detection of *Arabis mosaic virus*, *Cherry leafroll virus* and *Cucumber mosaic virus* in olive certification programs. Iranian Journal of Virology 7: 7-12.
25. Naderpour, M., Sadeghi, L., Nouri, Z., and Kavand, A. 2011. Development of a multiplex RT-PCR assay for detection of the causal agents of citrus tristeza and cachexia diseases with coamplification of plant mRNA as an internal control. Iranian Journal of Virology 5: 28-33.
26. Nasrollahnejad S, Ebadi E. Serological and molecular detection of *Citrus psorosis virus* in Golestan province. New Genet. 2011; 6: 65-74.
27. Pantaleo, V., Saponari, M., and Gallitelli, D. 2001. Development of a nested PCR protocol for detection of olive-infecting viruses in crude extracts. Journal of Plant Pathology 83: 143-146.
28. Sanchez-Navarro, J. A., Aparicio, F., Herranz, M. C., Minafra, A., Myrta, A., and Pallas, V. 2005. Simultaneous detection and identification of eight stone fruit viruses by one-step RT-PCR. European Journal of Plant Pathology 111: 77-84.
29. Singh, R. P., Nie, X., Singh, M., Coffin, R., and Duplessis, P. 2002. Sodium sulphite inhibition of potato and cherry polyphenolics in nucleic acid extraction for virus detection by RT-PCR. Journal of Virological Methods. 99: 123-131.
30. Strange, R. N., and Scott, P. R. 2005. Plant disease: A threat to global food security. Annual Review of Phytopathology 43: 83-116.
31. Yokomi, R. K., Mello, A. F. S., Saponari, M., and Fletcher, J. 2008. Polymerase chain reaction-based detection of Spiroplasma citri associated with citrus stubborn disease. Plant Disaese 92: 253-260.

Certification of horticultural plant propagating materials in Iran: A Review

M. Naderpour [1*]

1-Assistant professor of molecular plant virology, Seed and Plant Research and Technology Deputy, Seed and Plant Certification Research Institute, Agricultural Research, Extension and Education Organization, Karaj.

*Corresponding author: m.naderpour@spcri.ir

Abstract

The health status of plant propagating materials (PM), beside the other standard criteria, plays an important role in certification schemes, developing of modern fruit tree orchards and national, local and international trade of horticultural PM worldwide. Plant pathogens influence the quality and quantity of both horticultural and agronomical industries. Moreover, using the so-called virus-free PM for some of these agents, preferentially in horticulture, is the only effective way of disease control. Like the other pioneer countries in producing healthy PM, the producing pathogen-free seed and other plant PM on the basis of national standards have been the focal points of the Iranian act for "Plant Variety Registration and Plant and Seed Certification". The Iranian Seed and Plant Certification Research Institute as the government institute, has been compiled the national standards for plant PM including standards for the health status with close collaborations with academic and administrative staff within the ministries of science, Research and Technology, and Agriculture using numerous national and international scientific documentations. These standards could be applied at the national, local and international levels for managing plant PM production and certification. However, practical operation of these standards using the classical and modern methodologies with specific consideration of detection methods of plant pathogens for certification schemes as well as developing practically high throughput and sensitive technologies supposed to be a national superior expectation. The present review illustrates the technical and logical aspects of certification of plant PM prior to production and delivery as well as the implemented technical and applied activities within the last five years in the Iranian certification schemes.

Key words: The Iranian seed and plant legislation, Certification, Virus-free, Virus-tested, Plant pathogens