

بوده که در کاهش آلدگی‌های بذرزاد همواره مورد توجه بوده و همچنان رو به توسعه است. اما کارآمدترین روش کنترل، تهیه بذر سالم با بهره‌گیری از فرآیند گواهی سلامت بذر است. ارزیابی سلامت بذر یکی از مهم‌ترین نیازهای بهداشت گیاهی است که اساس علمی قوی نیاز دارد متأسفانه این نیاز غالباً به عنوان یک مانع برای نقل و انتقالات کافی بذر مطرح می‌گردد که این امر به دلیل کمبود روش‌های معابر بین‌المللی در تشخیص سلامت بذر است. تاکنون تلاش‌های بسیاری در دنیا به منظور مرفوع نمودن این نقصان صورت گرفته است و در کشور ما نیز طی ده سال اخیر گام‌های مؤثری در راستای تولید بذر گواهی شده سالم و با کیفیت برداشته شده است.

مروجی بر تاریخچه سلامت سنجی بذر در دنیا

بیماری‌شناسی بذر در دنیا به طور اختصاصی اولین بار در سال ۱۹۴۰ بکار برده شد. در آن زمان بیماری‌شناسی بذر در ارتباط با شناسایی و ردیابی پاتوژن در سطح یا درون بذر بوده است. تحقیقات بیماری‌شناسی بذر تأکید بر روش‌های تشخیص پاتوژن‌های بذر زاد دارد. روش‌های مورد استفاده تشخیص پاتوژن‌ها در بذر می‌توانند به عنوان ابزار تحقیقاتی ارزشمند برای کسب اطلاعاتی در خصوص توسعه بیماری‌ها عمل کنند. اولین آزمایشگاه ارزیابی سلامت بذر در دنیا در سال ۱۹۱۸ در پایگاه دولتی ارزیابی بذر و اخنینگن هلند به وسیله لوئیس دویر راهاندازی شد. سپس در سال ۱۹۲۳ اولین دستورالعمل‌های ارزیابی سلامت سنجی بذر برای تعیین بیماری‌های قارچی منتشر گردید. در سال‌های بعد (۱۹۳۸) دویر دستورالعمل عمومی تشخیص بیماری‌های بذرزاد را منتشر نمود. در سال ۱۹۵۴ تشکیلات حفاظت گیاهی اروپا با حمایت FAO اولین گزارش در خصوص خطر ناشی از بیماری‌های بذرزاد را منتشر ساخت که باعث افزایش آگاهی در مورد مشکلات قرنطینه گیاهی و افزایش فشار بر روی ISTA به منظور معرفی روش‌های استاندارد گردید.

وجود آزمون‌های کمالاً معابر شرایط را برای حصول اطمینان از آنالیزهای حساس، مطمئن و تکراری‌ذیر فراهم می‌کند. اختلافات موجود بین روش‌های مورد ارزیابی می‌تواند منجر به توسعه روش‌های بهداشت گیاهی هزینه‌بر، بحث برانگیز به همراه دادخواست برای مطالبه خسارت گردد. اجتناب از وقوع این‌گونه پیامدها از طریق معرفی سیستمی که مورد



پیشینه و کاربرد روش‌های معابر بین‌المللی سلامت سنجی بذر در دنیا و ایران

کبری مسلم خانی^۱ و مریم دیوسالار^۲

۱- عضو هیئت علمی ۲- محقق مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال

مقدمه

تbadلات بین‌المللی بذر، امکان گسترش و انتشار بیماری‌های خسارت‌زا بذرزاد یا همراه با بذر را در سطح جهان فراهم آورده است. بنابراین، تاکنون تحقیقات زیادی در خصوص اپیدمیولوژی و ردیابی بیمارگرهای بذرزاد انجام شده است که اهمیت بیماری‌های بذرزاد به عنوان عوامل تهدیدکننده منابع غذایی بشر را بیش از پیش آشکار ساخته است. استانداردسازی قوانین بهداشت گیاهی و توسعه روش‌های معابر ارزیابی سلامت بذر و تیمار بذر از جمله راهکارهایی

عنوان استانداردسازی روش معرفی می‌شد. سه سازمان NSHS، ISHI و ISTA نخستین روش‌های استاندارد و معتبر ارزیابی سلامت بذر را منتشر کرده‌اند.

(International Seed Testing Association) ISTA

اعتبارسنجی روش در ISTA بدین شرح است که آزمون موردنظر به گونه‌ای بررسی می‌گردد تا اطمینان کافی از کامل و شفاف بودن شرح آزمون و اینکه نتایج حاصل از آزمون صحیح و قابل تکرار باشد، حاصل گردد. فرآیند اعتبارسنجی در وب سایت ایستا تحت عنوان "ISTA Method Validation for Seed Testing" و "Standard Operating Procedure for Method Validation Process Administration" منتشر و توضیح داده شده است.

پس از طی مراحل مختلف فرآیند اعتبارسنجی، روش اعتبارسنجی شده می‌باشد قبل از انتشار، از طریق رأی‌گیری در جلسات متداول ایستا، مورد قبول اعضاء قرار بگیرد. در حال حاضر بیش از ۲۹ روش اعتبارسنجی شده سلامت بذر در ایستا وجود دارد (برخی از آنها برای یک پاتوژن مشابه ولی روی بذور مختلف معتبر معرفی شده‌اند) که در فصل ۷ قوانین ایستا در سال ۲۰۱۳ منتشر شده‌اند.

(International Seed Health Initiative) ISHI

ISHI به عنوان یک مؤسسه بین‌المللی فعال در حوزه بذر، ضمن ارزیابی سلامت بذر به انتشار دستورالعمل‌های بررسی سلامت بذر می‌پردازد. Veg-ISHI برای سبزیجات در سال ۱۹۹۴ ISHI-H برای گیاهان علفی در سال ۱۹۹۷ و ISHI-F برای محصولات زراعی در سال ۱۹۹۸ توسعه یافت. ISHI-Veg ابتدا به صورت مؤسسه صنعت بذر سبزیجات زمانی که کمپانی‌های بذر هلند و فرانسه پروژه‌ای در خصوص مانیتورینگ سلامت بذر را در سال ۱۹۹۳ آغاز کردند، معرفی شد. آمریکا و ژاپن از اولین کشورهای عضو این مؤسسه بودند و بعدها بیش از ۷۵ درصد تأمین کنندگان بذر سبزیجات دنیا در آن عضو شدند. ISF دبیری و مدیریت مالی آنرا در سال ۲۰۱۳ پذیرفته است.

رویه‌ای که توسط کمیته سلامت بذر ISHI-Veg و ISTA دنبال می‌شود، بسیار مشابه است و براساس دستورالعمل رویه اعتبارگذاری که توسط شپرد و کوکرل در سال ۲۰۰۰ منتشر شده است، انجام می‌شود. Veg-ISHI و ISTA از آزمون‌های چندآزمایشگاهی و تجزیه و تحلیل‌ها و بررسی‌های دقیق آماری

قبول همگان باشد و استفاده از روش‌های ارزیابی استاندارد مورد تأیید عموم، امکانپذیر است. برای اطمینان از این‌که روش‌های ارزیابی سلامت از استاندارد لازم برخوردار است و نتایج قابل قبول و تکرارپذیری مطابق با معیارهای تعريف شده به همراه دارد، می‌بایست از سیستم نظارتی مشترک بین چند آزمایشگاه معتبر و استفاده از ارزیابی‌های مقایسه‌ای بهره بردار. ارزیابی‌های مقایسه‌ای، محققین مختلف در آزمایشگاه‌های متفاوت نمونه‌های بذری یکسانی را از نظر سلامت ارزیابی می‌کرند و نتایج خود را در نشست‌های سالیانه تبادل نظر و مقایسه می‌نمودند. اولین نتایج حاصل از ارزیابی مقایسه‌ای سلامت بذر جو دوسر، کتان، گندم، جو و چغندر قند در سال ۱۹۵۶ در یازدهمین کنگره ISTA گردید و تصمیم بر ادامه روند ارزیابی‌های مقایسه‌ای تصویب شد. دینیر گارد به عنوان رئیس کمیته بیماری‌های گیاهی ISTA از سال ۱۹۵۶ تا ۱۹۷۴ اولین برنامه ارزیابی مقایسه‌ای روش‌های سلامت سنجی بذر را به صورت رسمی پایه‌گذاری کرد و همین امر منجر به استانداردسازی برخی روش‌های تشخیصی بیمارگرهای گیاهی گردید. اولین کارگاه در سال ۱۹۵۸ در انگلستان برگزار گردید و در آخرین کارگوهای مشترک بین ISTA و EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization) در سال ۱۹۶۵ پیرامون گواهی سلامت بذور در صادرات بحث شد و تصمیم گردید روش‌های اختصاصی ارزیابی سلامت بذر که توسط ISTA توسعه و استانداردسازی شده است، برای بازرسی‌های قرنطینه‌ای توده‌های بذری به کار گرفته شود. اگرچه اولین قوانین بین‌المللی ISTA برای ارزیابی بذور در سال ۱۹۳۱ منتشر شد اما اولین روش اختصاصی ارزیابی سلامت در قوانین ISTA در سال ۱۹۶۶ معرفی گردید.

در سال ۱۹۹۸، دستورالعملی برای ارزیابی مقایسه‌ای روش‌ها برای تشخیص پاتوژن‌های بذر زاد منتشر کردند که این دستورالعمل به عنوان پایه و مبنای کتابچه‌های ISTA در رابطه با اعتبارسنجی روش‌های تشخیص بیمارگرهای بذر زاد به شمار می‌رود. کارگروه اعتبارسنجی با بهره‌گیری از این کتابچه‌ها در سال ۲۰۰۲ به طور رسمی شروع به فعالیت و توسعه برنامه اعتبارسنجی نمودند. از سال ۲۰۰۷ تاکنون برنامه اعتبارسنجی برای تمام روش‌های ارزیابی کیفی بذر اجباری شده است. اعتبارسنجی روش (Method Validation) در حوزه ارزیابی بذر اصطلاح جدیدی است و در گذشته تحت

برای یکسان سازی مقررات بهداشت گیاهی در تجارت بین‌المللی بذر ضروری است.

مرواری بر استفاده از روش‌های معتبر بین‌المللی در گواهی سلامت بذر در ایران

اکثر محصولات کشاورزی غذایی مورد نیاز کشور نظیر غلات، حبوبات، دانه‌های روغنی، گیاهان صنعتی، گیاهان علوفه‌ای و محصولات متنوع سبزی و صیفی به‌وسیله بذر تکثیر می‌شوند. لذا وجود ارگان‌های متولی گواهی بذر از نظر سلامت و کیفیت از دیرباز مورد توجه واقع شده است. تحقیقات کشاورزی و اصلاح و توسعه ارقام جدید گیاهی در ایران در دهه ۱۳۱۰ با تشکیل بنگاه اصلاح و تهیه بذر چندرقند و انسستیتو توتون ایران آغاز گردید. در سال ۱۳۳۵، کمیته غلات وزارت کشاورزی با همکاری کارشناسان سازمان خواروبار و کشاورزی ملل متحد (فائو) اولین برنامه عمده تولید، گواهی و عرضه بذر غلات را پایه‌ریزی نمود. هم چنین این کمیته اولین برنامه ملی تولید و عرضه بذر گواهی شده را تدوین کرد. مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر براساس برنامه مصوب وزارت کشاورزی وقت، مسئولیت کنترل و گواهی بذر را به عهده گرفت. فقط عطف تولید بذر رسمی و با کیفیت در ایران به تأسیس مؤسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر برمی‌گردد. مؤسسه مذکور، رسماً مسئولیت تهیه و توزیع بذور محصولاتی مانند گندم، جو، حبوبات، پنبه، برنج، سبزیجات، دانه‌های روغنی و همچنین تولید نهال‌های اصلاح شده و غیره (به استثنای بذور چندرقند که به عهده بنگاه اصلاح و تهیه بذر چندرقند است) را بر عهده گرفت، اما علیرغم ایجاد سیستم کنترل و گواهی بذر در کشور، قسمت عمده‌ای از انتظارات بخش کشاورزی برآورده نگردید. یکی از اصول کارآمد بودن یک نظام کنترل کیفی، استقلال کامل سیستم کنترل و گواهی بذر از واحدهای تولیدی است. به همین دلیل مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال بر اساس ماده دوم قانون ثبت ارقام گیاهی و کنترل و گواهی بذر و نهال مصوب ۱۳۸۲/۴/۲۹ NSHS بسیار سریع‌تر از پذیرش و انتشار روش-ها در ISHI-VEG و ISTA است. صنعت بذر جهانی نیاز به افزایش تعداد آزمون‌های استانداردسازی شده سلامت بذر دارد، سازمان‌های دخیل در استانداردسازی روش‌های جدید باید تضمین کنند که روش‌ها معتبر هستند و در آزمایشگاه‌های سرتاسر دنیا قابل اجرا و تکرار پذیر باشند. این امر

به منظور ارزیابی یک روش جدید آزمون سلامت بذر سود می‌برند. این روش‌ها با روش‌هایی که NSHS دنبال می‌کند بسیار متفاوتند.

اطلاعات مربوط به اعتبارسنجی روش و بازینی دقیق آن-ها در پایگاه اطلاعاتی ISHI نگهداری می‌شود. اخیراً Veg ۲۱ روش معتبر آزمون سلامت بذر معرفی کرده است که ۱۱ روش آن تحت قوانین ایستا و ۱۱ روش نیز تحت استانداردهای NSHS پذیرفته شده‌اند.

(U.S. National Seed Health system) NSHS

در سیستم اعتبارسنجی روش در NSHS، معیارهای زیر برای بررسی روش‌های آزمون سلامت بذر به کار می‌روند: ۱- اطلاعات تجربی که حساسیت، اختصاصی بودن، تکرارپذیری و قابلیت اطمینان آزمون را تعیین می‌کنند؛ ۲- اطلاعات مقایسه‌ای از طریق مقایسه آزمون مورد بررسی با روش‌های به کار گرفته شده قبلی؛ ۳- اطلاعات درمورد سابقه روش مورد استفاده در صنعت یا دانشگاه‌ها و ثبت تعداد موارد استفاده؛ ۴- معیارهای دیگری که ممکن است بر پیشنهاد استفاده از یک آزمون اثر بگذارد. هریک از روش‌های مورد ارزیابی براساس این معیارها به صورت زیر رتبه بندی می‌شوند:

کلاس A: آزمون یا روشی که به عنوان آزمون استاندارد مورد قبول است.

کلاس B: آزمون یا روشی که قبل از پذیرفته شدن به عنوان آزمون استاندارد، نیاز به تحقیق بیشتر دارد. این امر می‌تواند برای بهبود خود روش یا توصیه برای آزمون مقایسه‌ای با یک روش شناخته شده دیگر باشد.

کلاس C: آزمون نباید به عنوان یک آزمون استاندارد پذیرفته شود.

از آنجایی که در سیستم اعتبارسنجی روش در NSHS، آزمون‌ها در چند آزمایشگاه مورد مقایسه قرار نمی‌گیرند و همکاری چندین آزمایشگاه مشمول آن نمی‌شود، لذا تأیید روش‌های جدید توسط NSHS بسیار سریع‌تر از پذیرش و انتشار روش-ها در ISTA و ISHI-VEG است. صنعت بذر جهانی نیاز به افزایش تعداد آزمون‌های استانداردسازی شده سلامت بذر دارد، سازمان‌های دخیل در استانداردسازی روش‌های جدید باید تضمین کنند که روش‌ها معتبر هستند و در آزمایشگاه‌های سرتاسر دنیا قابل اجرا و تکرار پذیر باشند. این امر

جو در بذور گواهی شده بر اساس دستواعمل توصیه شده توسط ISTA با استفاده از آزمون اسمزی بررسی گردید. نتایج این آزمون‌ها درجه اهمیت این بیماری را در کشور مشخص نمود و در بازنگری استانداردهای ملی سلامت بذر به کار گرفته خواهد شد.

قارچ *Phoma lingam* (Tode) Desm. ساقه سیاه کلزا به دلیل بذرزد بودن از طریق توده‌های بذری آلوده باعث تحمیل خسارات قابل توجهی به تولیدکنندگان این محصول در دنیا می‌گردد. این قارچ با استفاده از روش بلاتر و بهره‌گیری از تیمار نور UV به دقت در توده‌های بذری ردیابی و شناسایی می‌شود.

آلدگی‌های بذرزد بذور ذرت کشور با استفاده از

و مهم مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال کشور به شمار می‌رود که در آن سلامت بذور اعم از وارداتی و تولید داخلی (در برخی بذور تنها بر اساس درخواست متقاضی)، از نظر وجود عوامل بیماری‌زا مانند قارچ‌ها، باکتری‌ها، ویروس‌ها، نماتدها و حشرات ارزیابی می‌گردد. صدور گواهی سلامت توسط آزمایشگاه ملی سلامت بذر و نهال منوط به انجام آزمون‌های مربوطه و براساس دستورالعمل‌های انجمن بذر و سایر نهادهای بین‌المللی مورد تأیید مانند ISTA است. مهم‌ترین وظایف و فعالیت آزمایشگاه ملی سلامت بذر کشور عبارتند از:

- انجام آزمون‌های استاندارد سلامت بذر و صدور گواهی‌های مربوطه

- بررسی و تعیین میزان بذرزدی

بیماری‌های مختلف گیاهی

- تحقیق و بررسی در مورد روش‌های

نوین تشخیص بیماری‌های بذر

- بررسی و تحقیق در مورد مناسب

ترین روش‌های کنترل بیماری‌های بذرزد و توصیه آنها به تولیدکنندگان بذر کشور است.

از بدو تأسیس مؤسسه بیشترین آزمون‌های معتبر که براساس دستورالعمل ارائه شده توسط ISTA در آزمایشگاه ملی سلامت بذر مورد استفاده قرار گرفته است: آزمون شستشو، بلاتر، بلاتر منجمد، کشت بر روی محیط، آزمون شمارش جنین، بررسی علائم برروی گیاهچه است.

البته استفاده از آزمون‌های تشخیصی

نوین مانند روش‌های مبتنی بر تشخیص اسیدنوكلئیک در پروردهای تحقیقاتی مختلف برای تشخیص بیماری‌های بذرزد مورد استفاده قرار می‌گیرد، ولی در حال حاضر در سیستم اجرایی و معمول ارزیابی‌های سلامت بذر کشور مورد استفاده قرار نمی‌گیرد. سلامت بذور گندم از نظر بیماری‌های بلاست فوزاریومی سنبله با استفاده از روش بلاتر منجمد و کشت در محیط آگاردار، سیاهک پنهان با استفاده از روش شستشو، سیاهک آشکار با استفاده از آزمون شمارش جنین مورد بررسی قرار گرفته است. بیماری لکه نواری



روش‌های بلاتر، بلاتر منجمد، کشت بر روی محیط آگاردار و شستشو بذر بر اساس روش‌های توصیه شده ISTA در کشور مشخص گردید و انواع آلدگی‌های بذرزد شامل *Sphacelotheca reiliana* (J.G. Kühn) G.P.(DeCandolle) Corda *Nigrospora oryzae* *Acremonium strictum* W. Gams ، Clinton *Penicillium* spp. *Aspergillus* spp. (Berk. & Broome) Petch *Fusarium* spp. جداسازی و تشخیص داده شده است.

در بررسی دیگری قارچ‌های بذرزد سورگوم با روش‌های بلاتر، بلاتر منجمد، کشت بر روی محیط آگاردار مشخص



گردید. قارچ‌های شناسایی شده شامل *Bipolaris sorghicola*, *Penicillium*, *Cladosporium* sp. (Lefebvre & Sherwin) Alcom, *Cephalosporium*, *Fusarium* sp., *Alternaria* spp., spp. *acremonium* (corda) گزارش شدند و همچنین با استفاده از روش شستشوی بذر و مطالعه میکروسکوپی تلیوسپورهای *Sphacelotheca cruenta*, *Sporisorium sorghi* Ehrenberg. ex Link (J.G. Kühn) Potter عامل سیاهک‌های بذر زاد نظیر شناسایی شدند.

در مجموع، هدف اصلی تحقیق و بررسی بیماری‌های بذرزاد، تولید و توزیع بذر با کیفیت بالا و عاری از بیماری با بیشترین پتانسیل تولید محصول در کشور است. در دهه اخیر ارزیابی سلامت بذر به همراه رعایت قوانین بین‌المللی بهداشت گیاهی جایگاه بسیار مهمی در تجارت بین‌المللی پیدا کرده است، لذا پیشنهاد می‌شود بخش‌های خصوصی تولیدکننده بذر در کشور با همکاری سازمان‌های درگیر در ارزیابی‌های سلامت بذر، تلاش‌های خود را در زمینه بهبود کیفی بذر خصوصاً در زمینه سلامت دوچندان نمایند. البته این هدف تها در صورتی به وقوع می‌پیوندد که منابع علمی مفید و مناسب در خصوص بیماری‌های بذرزاد مهم در مناطق مختلف کشور، برای تدوین استانداردهای منطبق با نیازهای کشور فراهم گردد و این مهم جزء همکاری مؤسسات تحقیقاتی مرتبط و دانشگاه‌ها و بخش‌های خصوصی فعال در حوزه بذر میسر نمی‌گردد.

منابع

- Agarwal, V. K. and Sinclair J. B. (1997). Principles of Seed Pathology. 2nd ed. Boca Raton, CRC Press, Florida, USA, 539 p.
- Doyer, L. C. (1938). Manual for the determination of seed-borne diseases. International Seed Testing Association, Wageningen, 58 p.
- Hampton J. (2009). Report of the ISTA method validation advisory group. In: ISTA annual meeting. 2009, Zurich html.
- ISF. (2013). The International Seed Health Initiative (ISHI). <http://www.worldseed.org/isf/ishi>.
- Mathur, S. B. and Jorgensen, J. (2002). A review of the activities of the plant disease committee of ISTA through its 75 years of existence, 1924–1999. ISTA Historical Paper. 1, 1–34
- Munkvold, G. P. (2009). Seed pathology progress in academia and industry. Annual Review of Phytopathology. 47, 285–311
- NSHS. (2013). National seed health system. www.seedhealth.org

طی سال‌های زراعی ۹۳ و ۹۴ بیش از ۱۰۰۰ پارت بذری در طبقه گواهی شده از نظر بیماری‌های بذرزاد مختلف مورد بررسی قرار گرفته که عمدهاً مربوط به محصولات اساسی گندم و جو بوده است. همچنین در راستای نظارت بر سلامت هسته‌های بذری پرورشی ۲ و ۳ گندم و جلوگیری از انتقال آلودگی‌های بذرزاد به طبقات پایین-تر بذری، در سال ۹۵ پایش سلامت ۲۳۵۲ پارت بذری در طبقات پرورشی ۲ و ۳ و مادری گندم با استفاده از آزمون‌های شستشو (به منظور بررسی بیماری سیاهک پنهان گندم و سیاهک سخت جو)، شمارش جنین (به منظور بررسی بیماری سیاهک آشکار گندم)، اسمزی (به منظور بررسی بیماری لکه قهوه‌ای نواری جو) و بلاستر انجماد (به منظور بررسی بیماری فوزاریوم سنبله) انجام و درجه اهمیت هر یک از بیماری‌های ذکر شده در استانهای مختلف کشور مشخص گردید (برگرفته از ماهنامه مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال. ۱۳۹۵).

نتیجه‌گیری

علیرغم تمام پیشرفت‌های قابل توجه در امر تولید بذر گواهی شده و سالم در کشور، آمار تولید بذر محصولات اساسی در طبقات مختلف تحت نظارت مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال و نیز واردات انواع محصولات کشاورزی خصوصاً سبزی و صیفی، گویای این مهم است که هنوز حجم وسیعی از بذور در کشور نیاز به بررسی‌های سلامت دارند اما به دلیل عواملی چون هزینه‌های بالای آزمون‌های سلامت سنجی، مقاومت زارعین و واردکنندگان در پرداخت هزینه‌های مرتبط با ارزیابی سلامت، عدم اطمیاق تعداد نیروی انسانی متخصص با حجم بسیار زیاد نمونه‌های بذری و ... امکان بررسی سلامت همه بذور بر طبق استانداردهای مصوب ملی (موجود در سایت <http://www.spcri.ir>) تا کنون فراهم نگردیده است.