

# نگاهی به استانداردهای کیفیت بذر سیب زمینی با تأکید بر روش های آزمون ویروسی در سیستم گواهی بذر

فاطمه خلقتی بنا، کبری مسلم خانی و فرشید حسنی  
1- عضو هیأت علمی

سیب زمینی پس از گندم، ذرت و برنج با بیشترین سطح زیر کشت، پرمصرفترین و مهم‌ترین ماده غذایی در دنیا است. آلودگی این محصول به بیمارگرهای ویروسی و شبه ویروسی معمولاً علایم مشخصی بر روی غده بذری ندارد اما تجمع این بیمارگرها در غده بذری، کاهش عملکرد محصول در مزرعه و در ادامه زوال غده‌های بذری را به همراه دارد. سیستم‌های گواهی بذر سیب زمینی در کشورهای مختلف با استفاده از آزمون‌های تشخیص ویروس در طول فصل رشد و پس از برداشت و بر مبنای استانداردهای سلامت بذر سیب زمینی در جهت تولید غده‌های بذری سالم فعالیت می‌کنند. بنابراین، دسترسی به ابزارها، بهینه‌سازی و معرفی دستورالعمل‌های مناسب برای ردیابی و تشخیص بیمارگرهای ویروسی، از پیش نیازهای اساسی در هر سیستم گواهی بذر سیب زمینی است. کشورهای مختلف دنیا بسته به امکانات و شرایط خود در انتخاب روش مناسب برای ردیابی آلودگی‌های ویروسی، به اولویت‌های متفاوتی چون کارایی و توانایی روش، سرعت، قیمت، میزان اعتبار و تکرارپذیری روش توجه می‌کنند. در ایران سیستم رسمی گواهی بذر سیب زمینی با انجام آزمون‌های سلامت پیش از کشت و پس از آن بازرسی‌های دوره‌ای از مرحله انتخاب زمین مزرعه بذری تا کاشت، داشت و برداشت و نیز آزمون‌های ویروسی در فصل رشد، نسبت به اعمال استانداردها و دستورالعمل‌های مصوب، در جهت کاهش عوامل بیماریزای سیستمیک و تجمعی در غده‌های بذری به زیر



آستانه قابل تحمل در استانداردهای ملی اقدام می‌کند. بر این اساس ویروس PVY<sup>1</sup> مهمترین عامل بیماری‌های ویروسی سیب زمینی بوده و آزمون الیزا یکی از دقیق‌ترین روش‌های تشخیصی این ویروس‌ها در سیستم گواهی بذر ایران به شمار می‌آید. در این مقاله پس از نگاهی اجمالی به فعالیت‌های کارگروه کشاورزی در سازمان ملل در زمینه تعریف و تصویب استانداردهای کیفیت بذر سیب‌زمینی به‌طور اجمالی به روند انجام آزمون‌های ویروسی در کشورهای مختلف از نظر نوع، روش و زمان آزمون، انتخاب نمونه و تفسیر آماری نتایج آزمون پرداخته می‌شود.

### کارگروه استانداردهای کیفیت در کشاورزی

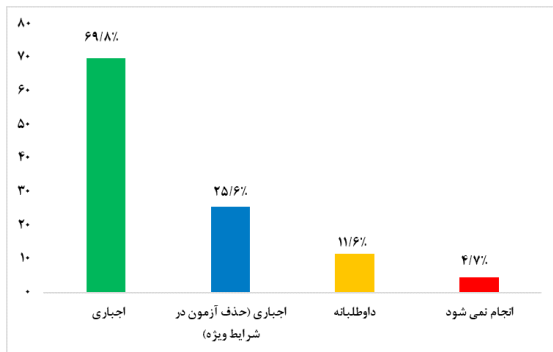
کمیسیون اقتصادی اروپا در سازمان ملل متحد<sup>۲</sup> در سال ۱۹۴۷ توسط شورای اقتصادی و اجتماعی با هدف تشویق همکاری اقتصادی بیشتر در میان ۵۶ کشور عضو و فراهم کردن امکان همکاری همه کشورهای عضو در سازمان ملل متحد تشکیل شد. کارگروه کشاورزی استانداردهای کیفیت در کمیسیون UNECE، با تدوین استانداردهای کیفیت برای محصولات کشاورزی اهدافی مانند کمک به تجارت بین‌المللی، تشویق تولید با کیفیت بالا، افزایش سوددهی و محافظت از منافع مصرف‌کننده را دنبال می‌کند. استانداردهای مصوب UNECE توسط دولت‌ها، تولیدکنندگان، بازرگانان، واردکنندگان و صادرکنندگان و سایر سازمان‌های بین‌المللی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این استانداردها دامنه گسترده‌ای از محصولات کشاورزی شامل میوه و سبزیجات، خشکبار و بذر سیب‌زمینی را در برمی‌گیرد. نتیجه فعالیت این کارگروه، تدوین و تعیین استانداردهای مشترک برای مواد غذایی فاسدشدنی و بررسی مراحل انجام شده در سطح بین‌المللی به منظور اطمینان از تصویب عمومی استانداردها و سیستم‌های کنترل کیفیت است. هدف استانداردهای UNECE هماهنگ‌سازی استانداردهای کیفیت تجاری ملی موجود برای محصولات فاسدشدنی است به گونه‌ای که (الف) تجارت بین‌المللی منصفانه را تسهیل کرده و از موانع فنی تجارت جلوگیری کند، (ب) سود تولیدکنندگان را افزایش داده و تولید محصولات با کیفیت بالا را تشویق کند و (ج) از منافع مصرف‌کننده محافظت کند. کمیسیون UNECE و چهار بخش تخصصی آن فضایی را فراهم می‌کند که کشورها بتوانند در مورد مسائل مربوط به کیفیت تجاری که ممکن است در بازارهای داخلی آن‌ها بوجود آمده و در تجارت بین‌المللی تأثیر داشته باشند، به بحث و گفتگو بپردازند. این کمیسیون با تشکیل کارگاه‌های آموزشی برای هماهنگ‌سازی استانداردهای تجاری ملی با استانداردهای بین‌المللی به کشورها کمک می‌کند.

### اهداف و محدوده استاندارد کمیسیون UNECE برای سیب زمینی بذری

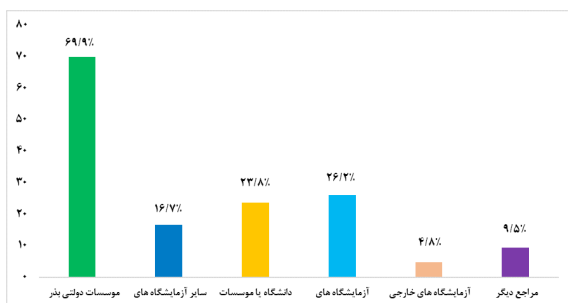
کار روی استاندارد کمیسیون UNECE برای سیب زمینی بذری در سال ۱۹۵۸ آغاز شد. پیش‌نویس اولیه استانداردهای بین‌المللی سیب زمینی بذری پس از تجزیه و تحلیل قوانین ملی موجود برای سیب زمینی بذری توسط متخصصانی از کشورهای آلمان، هلند، بریتانیا و ایرلند شمالی تهیه و نخستین نسخه این استاندارد بین‌المللی در سال ۱۹۶۳ تدوین شد. از این سال به بعد به‌روز رسانی این استانداردها به‌طور منظم انجام شده است. هدف این استاندارد این است که به‌عنوان یک مرجع جهانی عمل کند که هدف آن تسهیل تجارت عادلانه بین‌المللی، ایجاد یک سیستم صدور گواهی کیفیت تجاری، هماهنگ‌سازی و ترویج استفاده از این گواهی و تعریف الزامات کیفیت هماهنگ برای سیب زمینی بذری است. استانداردهای کیفیت در بذر سیب‌زمینی به موضوعاتی مانند بررسی و کنترل مواردی از جمله اصالت رقم و خلوص، بررسی و دسترسی به شجره‌نامه وارسته و قابلیت ردیابی آن، وضعیت سلامتی بذر از بیماری‌ها و آفات که بر کیفیت بذر از نظر تجاری یا میزان محصول اثر می‌گذارد، کیفیت ظاهری و فیزیولوژی بذر و سورتنینگ بذر از نظر اندازه و الصاق برچسب می‌پردازد. این استانداردها، موارد مطرح شده در توافق رفع موانع فنی تجارت<sup>۳</sup> که برای اطمینان از این‌که مقررات فنی، استانداردها و رویه‌های ارزیابی انطباق تبعیض‌آمیز نیستند و موانع غیرضروری برای تجارت ایجاد نمی‌کنند را نیز در نظر می‌گیرند. استانداردهایی که توسط کارگروه به تصویب رسیده است، توسط مراجع صادرکننده گواهی و برای صادرات و واردات مورد استفاده قرار می‌گیرد.

### صدور گواهی و کنترل کیفیت تجاری سیب زمینی بذری بر اساس استاندارد کمیسیون UNECE

غده‌های بذری و مینی‌تیوبرهای سیب‌زمینی از دو جنبه کلی شامل اصالت رقم و کیفیت در استانداردهای کیفی UNECE S-1 مورد ارزیابی و سنجش قرار می‌گیرند. رقم در غده‌های بذری باید مشخص، از نظر ظاهری یکدست و در طول زمان از ثبات برخوردار باشد. مشخصات رقم باید با مشخصات تعریف شده در راهنمای اتحادیه بین‌المللی حفاظت از ارقام جدید گیاهی<sup>۴</sup> برای ارقام مختلف، مطابقت داشته باشد. مقررات مربوط به کیفیت در استاندارد UNECE S-1، الزامات کیفی مورد نیاز برای غده‌های بذری را برای صادرات تعیین می‌کند. بر این اساس غده‌های بذری باید از هر گونه بیماری و آفت مهم و مخرب، صدمات مکانیکی که کیفیت



شکل ۱- جایگاه آزمون های ویروسی در تولید بذر سیب زمینی در کشورهای مورد پژوهش (برخی کشورها بیش از یک شرط برای آزمون معرفی نموده اند)



شکل ۲- مراجع معتبر در انجام آزمون ویروسی در سیستم تولید بذر سیب زمینی در کشورهای مختلف. (برخی کشورها همزمان از دو یا تعداد بیشتری از مراجع قانونی یاد شده برای انجام آزمون استفاده می کنند)

خود مسئولیت و وظیفه آزمون های ویروسی را به عهده دارند. پس از آن دانشگاه ها و مؤسسات تحقیقاتی و آزمایشگاه های خصوصی به ترتیب با ۲۶/۲ درصد و ۲۳/۸۷ درصد در جایگاه های بعدی قرار دارند (شکل ۲). البته باید توجه داشت که در بسیاری از کشورها، همزمان دو یا بیشتری از مراجع قانونی یاد شده، کار انجام آزمون های ویروسی را در روند تولید بذر سیب زمینی به عهده دارند.

### انجام داوطلبانه آزمون های ویروسی

آزمون های ویروسی معمولاً برای کلاس های بذری گواهی شده A و B انجام نمی شود. در برخی کشورها به شکل داوطلبانه این آزمون ها برای بذور گواهی شده انجام می شود.

### ویروس های مهم در تولید بذر سیب زمینی

بر اساس نتایج تحقیق انجام شده توسط کمیسیون UNECE، ویروس های PVY و PLRV بیشترین اهمیت را در تولید بذر سیب زمینی به خود اختصاص می دهند. پس از آن ویروس های PVA، PVX و PVM با اندکی تفاوت در ترتیب اهمیت در طبقات مختلف بذری، در روند تولید بذر سیب زمینی مهم بوده و مورد آزمون قرار می گیرند. افزون بر

آن ها را به عنوان بذر کاهش می دهد، پاک و عاری باشند. سطح خارجی بذر باید خشک و شکل بذر با شکل طبیعی بذر در رقم مورد نظر مطابقت داشته باشد. افزون بر این ویژگی های کیفی، احراز استانداردهای مربوط به طبقه بذری نیز در هر طبقه الزامی است. تولید کننده مجاز به استفاده از بازدارنده جوانه زنی در بوته سیب زمینی یا غده بذری نیست.

### طبقه بندی بذر سیب زمینی بر اساس استانداردهای کمیسیون UNECE

استاندارد UNECE S-1، ویژگی های مورد نیاز را برای طبقه بندی بذور سیب زمینی تعریف می کند. بر اساس این استاندارد، کنترل رسمی بر فرایند طبقه بندی بذر سیب زمینی در کشور تولید کننده الزامی است و سازمان یا ارگان هایی که توسط قانون برای مدیریت و صدور گواهی مجاز شناخته شده اند، مسئول نگهداری اطلاعات مربوط به طبقات بذری هستند تا در صورت نیاز امکان ردیابی بذر در طبقات بذری وجود داشته باشد. بذور سیب زمینی در سه دسته مجزا شامل پیش پایه<sup>۵</sup>، پایه<sup>۶</sup> و گواهی شده<sup>۷</sup> طبقه بندی می شوند. منشأ غده های بذری پیش پایه از گیاهان کشت بافتی می باشد که در شرایط کنترل شده (گلخانه) تکثیر می شوند. منشأ بذور پایه مستقیماً از بذور پیش پایه و در مزرعه تکثیر آن صورت می گیرد.

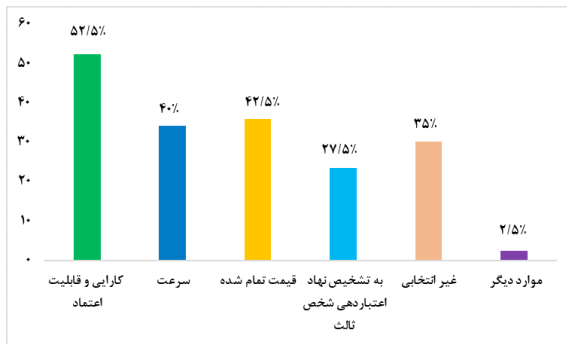
### جایگاه آزمون های ویروسی در تولید بذر سیب زمینی

تحقیقی که توسط کمیسیون UNECE در مورد ۴۳ کشور دنیا در سال ۲۰۱۹ انجام شد، نشان داد که در ۶۹/۸ درصد از کشورهای مورد تحقیق مانند هلند، مجارستان، سوئد، فلاندر، مصر، یونان، آلمان، کانادا، ایتالیا، هند و برخی از ایالت های آمریکا انجام آزمون های ویروسی در تولید بذور محصولات مختلف از جمله سیب زمینی، اجباری است. در ۲۵/۶ درصد از کشورها نیز با وجود اجباری بودن آزمون های ویروسی در سیستم تولید بذر محصولات مختلف از جمله سیب زمینی، در برخی شرایط ویژه نیازی به انجام آزمون های تشخیصی ویروسی برای ویروس های سیب زمینی نیست. همچنین در ۱۱/۶ درصد از کشورها، تولید کننده های بذر سیب زمینی در صورت نیاز و داوطلبانه از آزمون های تشخیص ویروس استفاده می کنند. تولید بذر سیب زمینی در ۴/۷ درصد از کشورها بدون انجام آزمون های تشخیصی ویروسی صورت می گیرد (شکل ۱).

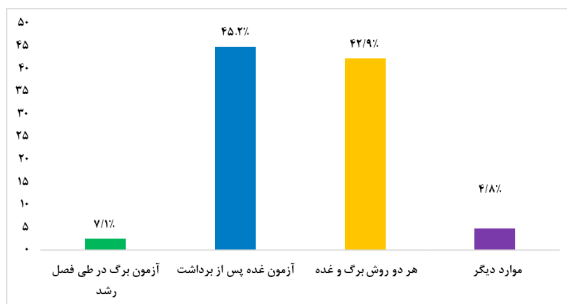
### مراجع معتبر در انجام آزمون ویروسی در سیستم تولید بذر سیب زمینی در برخی کشورها

در سیستم های تولید بذر سیب زمینی در کشورهای مختلف، مسئولیت انجام آزمون های ویروسی، با مراجع قانونی متفاوتی است. در ۶۹/۹ درصد از کشورها مؤسسات دولتی مسئول تولید بذر سیب زمینی،





شکل ۳ - عوامل موثر در انتخاب روش‌های آزمون ویروسی در تولید بذر سیب زمینی (در برخی از کشورها چندین عامل معرفی شده است)



شکل ۴ - شیوه‌های انجام آزمون‌های ویروسی در تولید سیب زمینی بذری

طبقه بذری PBCT قرار دارند. در نزدیک به ۲۵٪ تا ۳۰٪ کشورهای مورد مطالعه، هیچ آزمون ویروسی برای مواد طبقه بذری PBCT انجام نمی‌شود.

طبقه بذری پیش پایه: نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که آزمون برگی برای ویروس PVY (۷۰٪)، در طبقه بذری PB بیشترین سهم این آزمون‌ها را در طبقات بذری به خود اختصاص می‌دهد. پس از آن به ترتیب برای ویروس‌های PLRV (۶۰٪)، PVA (۵۷/۹٪)، PVX (۵۲/۶٪)، PVM (۵۰٪) و PVS (۴۴/۴٪) در کشورهای مختلف آزمون برگی انجام می‌شود.

طبقه بذری پایه: انجام آزمون برگی در طبقه بذری پایه در کشورهای مختلف نسبت به پیش پایه کاهش چشمگیری نشان می‌دهد. با وجود این هنوز ویروس‌های PVY (۵۵٪) و PLRV (۴۵٪) در صدر این آزمون‌ها قرار دارند. پس از آن ویروس‌های PVA و PVX با ۳۶/۶ درصد قرار دارند. ویروس‌های PVX (۳۶/۶٪) و PVS (۲۲/۲٪) در مراتب بعدی برای این آزمون قرار دارند.

طبقه بذری گواهی شده: آزمون برگی در طبقه بذری گواهی شده در کشورهای مختلف نسبت به بذر پایه کمتر است. در این طبقه بذری نیز در بیش از نصف کشورها آزمون برگی برای دو ویروس مهم PVY (۵۴/۵٪) و PLRV (۵۰٪) انجام می‌شود اما در مورد سایر

این ویروس‌ها، در کشورهای مختلف و طبقات بذری متفاوت، ممکن است ویروس‌های دیگری نیز اهمیت داشته و مورد آزمون قرار گیرند. مانند ویروس پژمردگی لکه‌ای گوجه فرنگی (Tomato Spotted Wilt Virus, TSWV)، ویروس پیچ خوردگی انتهایی سیب‌زمینی (Potato apical leaf curl virus)، ویروس حلقه سیاه گوجه فرنگی (black ring spot virus, TBRV)، ویروس وای سیب‌زمینی (Tobacco rattle virus, TRV) و ویروس جغجه‌ای توتون (virus V, PVV) و ویروس مپ تاپ سیب زمینی (PMTV).

### روش‌های آزمون ویروسی در تولید بذر سیب‌زمینی

برای ردیابی و تشخیص بیماری‌های ویروسی در سیب‌زمینی از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود. این روش‌ها به دو دسته کلی روش‌های مبتنی بر سرولوژی مانند الیزا<sup>۸</sup> و روش‌های مولکولی مانند PCR<sup>۹</sup> گروه‌بندی می‌شوند. هریک از این روش‌ها دارای مزایا و معایبی است و بسته به نیاز می‌تواند توسط آزمایشگاه تشخیصی به کار گرفته شوند. در تحقیقی که توسط کمیسیون UNECE در مورد ۴۳ کشور دنیا انجام شد، نشان داد کشورهای مختلف در انتخاب روش‌های آزمون به معیارهای متفاوتی توجه می‌کنند. کارایی و قابل اعتماد بودن روش مهم‌ترین معیار انتخاب روش آزمون در کشورهای مختلف است. پس از آن سرعت روش و هزینه تمام شده در جایگاه‌های بعدی قرار می‌گیرند. در برخی کشورها نیز روش آزمون بسته به تشخیص نهاد اعتباردهی شخص ثالث، متفاوت خواهد بود (شکل ۳).

### شیوه‌های انجام آزمون‌های ویروسی در تولید بذر سیب زمینی

کشورهای مختلف رویکرد متفاوتی در انتخاب شیوه‌های انجام آزمون برای ردیابی و تشخیص ویروس‌های سیب‌زمینی بذری دارند. ۷/۱٪ از کشورهای مورد مطالعه از آزمون برگی در طول دوره رشد بوته‌های سیب‌زمینی استفاده می‌کنند. ۴۵/۲٪ از کشورهای، غده‌های سیب‌زمینی را پس از برداشت مورد آزمون قرار می‌دهند و ۴۲/۹٪ از کشورها از هر دو شیوه آزمایشی برگ و غده برای انجام آزمون‌های ویروسی استفاده می‌کنند (شکل ۴).

### آزمون ویروسی طبقات مختلف بذر سیب‌زمینی در طول دوره رشدی (آزمون‌های برگی)

طبقه بذری PBCT<sup>۱۰</sup>: بیش از نیمی از کشورهای مورد مطالعه، برگ گیاهان کشت بافتی از طبقه بذری PBCT را در طول دوره رشد برای سه ویروس PVA (۵۷/۷٪)، PVX (۵۳/۸٪) و PLRV (۵۱/۹٪) مورد آزمون قرار می‌دهند. ویروس‌های PVA، PVS و PVM با ۴۴٪، ۳۷٪ و ۴۴٪، به ترتیب در اولویت‌های بعدی برای آزمون مواد رویشی

ویروس‌های مهم سیب‌زمینی بذری، انجام آزمون برگی در طبقه بذر گواهی شده به شدت کاهش یافته و به ۱۱ تا ۱۵ درصد می‌رسد.

### روش‌های مورد استفاده در آزمون‌های ویروسی برگی

در این آزمون‌ها به طور عمده از دو روش الیزا و PCR استفاده می‌شود. نتایج تحقیق کمیسیون UNECE در سال ۲۰۱۹ نشان می‌دهد که الیزا مهمترین روش تشخیص و ردیابی ویروس‌های معمول و مهم سیب‌زمینی در آزمون‌های برگی برای همه طبقات بذری است. در طبقات بذری پایه و پیش پایه تقریباً در بیش از ۹۰ درصد موارد از روش الیزا جهت تشخیص ویروس‌های PVA، PVX، PVS و PVM در آزمون‌های برگی استفاده می‌شود. استفاده از PCR تنها محدود به طبقات بذری PBTC و پیش پایه است. در این طبقات بذری نیز الیزا مهمترین روش تشخیص محسوب می‌شود اما در مورد ویروس‌های PVY و PLRV از PCR نیز برای تشخیص این ویروس‌ها استفاده می‌شود (حدود ۷/۵ درصد). نکته جالب توجه این که برخلاف روش‌های مورد استفاده در تشخیص ویروس‌های معمول سیب‌زمینی، استفاده از PCR یکی از روش‌های مهم در تشخیص دیگر ویروس‌های مهم در تولید بذر سیب‌زمینی در همه طبقات بذری به شمار می‌رود.

### آزمون‌های ویروسی پس از برداشت (آزمون مستقیم غده بذری، آزمون جوانه یا برگ‌های بوته رشد یافته از جوانه)

نیمی از کشورهای مورد تحقیق، از آزمون‌های ویروسی پس از برداشت برای تشخیص ویروس‌های PVY و PLRV در طبقه بذری PBTC استفاده می‌کنند. این نسبت در مورد دیگر ویروس‌های مهم سیب‌زمینی اندکی کمتر است (۴۱ تا ۴۷ درصد). نکته جالب توجه این که برخلاف آزمون‌های برگی، دیگر ویروس‌های سیب‌زمینی سهم بسیار کمتری را در آزمون‌های پس از برداشت در طبقه بذری PBTC دارند (۷/۱٪). در طبقه بذری پیش پایه، آزمون‌های پس از برداشت مهمترین آزمون در میان کشورهای مختلف شمرده می‌شود این میزان ۵۸/۷٪ برای ویروس PVY و تا ۵۷٪ برای ویروس‌های PVM و PVS است. کاربرد آزمون‌های ویروسی پس از برداشت در طبقه بذری پایه نیز در مورد ویروس‌های PVY (۹۲/۶٪) و PLRV (۷۲٪) تقریباً مشابه بوده و روندی مشابه با طبقه بذری PBTC را دنبال می‌کند، اما استفاده از آزمون‌های پس از برداشت برای دیگر ویروس‌های مهم و معمول سیب‌زمینی به میزان چشمگیری از ۳۳/۳ درصد تا ۵۴/۵ درصد کاهش می‌یابد. در طبقه بذری گواهی شده روند کاربرد آزمون‌های پس از برداشت کاملاً مشابه طبقه بذری پایه است. برای ویروس‌های PVY و PLRV به ترتیب با ۸۹/۷ درصد و ۸۰/۸

درصد و در مورد ویروس‌های PVA، PVX، PVS و PVM از ۳۰ تا ۴۲/۴۲ درصد از کشورها از روش‌های آزمون پس از برداشت برای تشخیص و ردیابی استفاده می‌کنند.

### روش‌های مورد استفاده در آزمون‌های ویروسی پس از برداشت

در این آزمون‌ها به طور عمده از دو روش الیزا و PCR استفاده می‌شود. نتایج تحقیق کمیسیون UNECE در سال ۲۰۱۹ نشان می‌دهد که الیزا مهمترین روش تشخیص و ردیابی ویروس‌های معمول و مهم سیب‌زمینی در آزمون‌های پس از برداشت در همه طبقات بذری است. برخلاف آزمون‌های برگی (برداشت شده از مزرعه)، از PCR در آزمون‌های پس از برداشت غده‌های بذری در همه طبقات بذری استفاده می‌شود.

### انتخاب بافت و زمان در آزمون ویروسی غده بذری

برای آزمون‌های مختلف از بافت متفاوتی استفاده می‌شود، مانند الف) آزمون PCR: آزمون مستقیم بافت غده، ۲ هفته پس از برداشت، ب) الیزا: آزمون جوانه‌های سبز (۵-۳ میلی‌متری)، ۲۸ روز پس از برداشت، ج) آزمون الیزا: روی گیاهچه‌های حاصل از رشد غده‌ها

### تجمیع نمونه‌ها در آزمون الیزا

۶۱ درصد از کشورهای مورد تحقیق برای آزمون الیزا تعدادی از نمونه‌های را تجمیع کرده و از نمونه مرکب استفاده می‌کنند. بر اساس دستورالعمل مصوب در سیستم گواهی بذر کشورهای مختلف هر نمونه مرکب ممکن است شامل ۴ یا ۵ زیرنمونه باشد.

### تجمیع نمونه‌ها در آزمون PCR

الف) نمونه‌های برگی: بر اساس دستورالعمل مصوب در سیستم گواهی بذر کشورهای مختلف نمونه مرکب از تجمیع تعداد ۵، ۱۰، ۲۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ زیرنمونه برای انجام آزمون PCR ایجاد می‌شود. ب) نمونه‌های غده: بر اساس دستورالعمل مصوب در سیستم گواهی بذر کشورهای مختلف تعداد ۵، ۸، ۱۰، ۲۰، ۲۵، ۵۰ زیر نمونه برای تهیه نمونه مرکب برای انجام آزمون PCR تجمیع می‌شوند.

### آنالیز آماری نتایج آزمون‌ها

۲۸ درصد از کشورهای مورد تحقیق از ISTA seedcalc<sup>۱۱</sup> استفاده می‌کنند. ۱۴ درصد از کشورها نتایج را به صورت درصد آلودگی گزارش می‌کنند. در برخی از کشورها از نتایج آزمون الیزا بدون آنالیزهای آماری استفاده شده اما برای تفسیر نتایج آزمون‌های PCR از آنالیزهای آماری ایستا استفاده می‌شود. در برخی کشورها نیز بر اساس دستورالعمل مصوب ملی نیازی به آزمون آماری نیست و نتیجه آزمون باید منفی (ردیابی نشدن ویروس) و مواد مورد آزمون باید

سالم باشد (حذف مواد آلوده). دیگر کشورها از روش‌های دیگری برای تفسیر آماری نتایج به دست آمده بهره می‌گیرند، مانند جداول آماری، فرمول ارائه‌شده توسط گیبس و گوور در ۱۹۶۰، محاسبه ۸ درصد ISTA seedcale، دستورالعمل‌های اعتباردهی DANAK و دستورالعمل‌های ملی هماهنگ شده با استانداردها و قوانین اتحادیه اروپا.

### چگونگی بهره‌برداری از نتایج آزمون‌های ویروسی در تعیین کلاس سیب‌زمینی بذری

الف) استفاده از استانداردهای UNECE (ب) استفاده از استانداردهای ملی برای تعیین کلاس

#### روند اعتباردهی به آزمایشگاه سلامت بذری سیب‌زمینی

در کشورهای مختلف نهاد تاییدکننده و روند دریافت اعتبارنامه و تایید آزمایشگاه سلامت بذری سیب‌زمینی متفاوت است. در برخی کشورها نهادی مستقل برای گواهی بذری سیب‌زمینی در درون وزارت یا دانشگاه کشاورزی وجود دارد مانند دانشگاه Stellenbosch. در برخی مسئولیت به عهده سازمان یا نهادی مجزا در داخل یا خارج کشور است از جمله NZ Seed Potato Certification، United Kingdom Accreditation Service، DANAK، Accreditation Body Polish

#### سیستم کنترل کیفیت داخلی آزمایشگاه سلامت بذری

##### سیب‌زمینی

بیشتر کشورهای مورد تحقیق (۹۲ درصد) برای اطمینان از درستی نتایج آزمون‌ها از یک سیستم داخلی برای کنترل کیفیت بهره می‌گیرند. در سایر کشورها سیستم کنترل کیفیت داخلی معرفی نشده است.

#### تایید درستی و اعتباردهی به آزمون‌های PCR به

##### شکل داخلی و خارجی

در ۵/۸ درصد از کشورها، آزمایشگاه‌ها به شکل داخلی درستی نتایج آزمون‌های PCR را ارزیابی می‌کنند. ۲۳ درصد از کشورهای در حال توسعه دارای این سیستم بوده و ۱۷ درصد از کشورها چنین سیستمی برای ارزیابی درستی نتایج آزمون ندارند. استفاده از نتایج آزمون PCR در گواهی بذری سیب‌زمینی در ۲۵ درصد از کشورها توسط یک نهاد مستقل خارجی مورد ارزیابی و بررسی قرار می‌گیرد. این ارزیابی در ۲۷ درصد از کشورها وجود ندارد. ۴۸ درصد از کشورها از این آزمون استفاده نمی‌کنند.

#### نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج به دست آمده در بیشتر کشورهای تولیدکننده، انجام آزمون‌های ویروسی در تولید بذری سیب‌زمینی، اجباری است.

با وجود این در شرایط ویژه (مانند وضعیت سالم مزرعه در مراحل متعدد بازرسی یا مقاومت رقم) که در برخی از کشورها تعریف شده است ممکن است از انجام آزمون‌های ویروسی صرف نظر شود. در بیشتر کشورها موسسات دولتی تولید بذری سیب‌زمینی، مسئولیت و وظیفه آزمون‌های ویروسی را به عهده دارند. در کشور ما نیز فرآیند ارزیابی سلامت و صدور گواهی بذری سیب‌زمینی توسط مؤسسه دولتی تحقیقات ثبت و گواهی بذری و نهال انجام می‌شود و آزمون‌های آزمایشگاهی (به صورت عمومی با استفاده از ELISA و در صورت نیاز به بررسی‌های تکمیلی از آزمون RT-PCR) در طبقات پیش‌پایه و پایه مورد استفاده قرار می‌گیرد و در طبقات گواهی شده صرفاً در صورت مشاهده آلودگی ویروسی بیش از حد معمول و صلاحیت بازرسی مزرعه از آزمون‌های آزمایشگاهی استفاده می‌شود که این روند به همراه ارزیابی گیاهچه‌های حاصل از کشت غده‌های بذری (از طریق اجرای کرت‌های کنترلی) نشان می‌دهد ایران در بین کشورهای تولیدکننده بذری سیب‌زمینی از روند رو به رشدی در فرآیند کنترل و گواهی بذری سیب‌زمینی بهره می‌برد و زیرساخت‌های توسعه روزافزون این سیستم فراهم می‌باشد.

- 1- Potato virus Y
- 2-United Nations Economic Commission for Europe, UNECE
- 3-Technical Barriers to Trade, TBT 1
- 4-International Union for the Protection of New Varieties of Plants, UPOV
- 5-Pre-basic category
- 6-Basic category
- 7-Certified category
- 8-ELISA
- 9-Polymerase chain reaction
- 10- Pre-basic Tissue Culture
- 11-International Seed Testing Association, Statistical Tools for Seed Testing

#### منابع

- Vreugdenhil, D. (2007). The canon of potato science: 39. Dormancy. Potato Research, 50(3-4), 371.
- UNECE secretariat (2019). Findings of the survey of Seed Potato Virus Testing Methods associated with Seed Potato Certification.