



وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال

دستورالعمل کنترل و نظارت بر تولید پایه و برخی ارقام تجاری باغی به روش کشت بافت

نام نویسنده(گان): عبدالرضا کاوند، شکراله حاجی‌وند

۱۳۹۷

دستورالعمل کنترل و نظارت بر تولید پایه و برخی ارقام تجاری باغی به روش کشت بافت

نویسنده(گان) و درجه علمی آنها: عبدالرضا کاوند- شکراله حاجی‌وند. محقق و عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی قزوین

تهیه‌کننده: موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، معاونت تحقیقات کنترل و گواهی نهال

نام ویراستار: ناصر بوذری- علی اکبر حبشی

شماره ثبت و شماره اختصاصی بانک اطلاعات موسسه:

فهرست مطالب

۴	کلیات.....
۴	مقدمه:.....
۴	اهداف:.....
۴	دامنه کاربرد و مخاطبین:.....
۴	تعاریف:.....
۴	گامهای اجرایی.....
۴	ماده ۱- کنترل گیاهان مادری.....
۵	ماده ۲- کنترل گیاهچه های تولیدی (مرحله اول سازگاری).....
۵	ماده ۳- کنترل گیاهچه های در حال رشد (مرحله دوم سازگاری).....
۶	ماده ۴- کنترل نهایی مواد گیاهی آماده توزیع (مرحله انتقال).....
۶	ماده ۵- فروش و تحویل پایه.....
۶	ماده ۶- کنترل آمار و اطلاعات.....

کلیات

مقدمه: از جمله مهمترین سیاست‌های وزارت جهاد کشاورزی برای حمایت از تولید داخلی پایدار و افزایش و تضمین صادرات غیرنفتی، احداث باغات مدرن و احیای باغات قدیمی می‌باشد. تولید نهال سالم و اصیل، نقش استراتژیکی در زنجیره تولید و احداث درختان میوه با بهره‌وری بالا بازی می‌کند. فناوری کشت بافت یکی از روش‌های ازدیاد پایه‌ها و برخی از ارقام تجاری محصولات باغی است که در صورت رعایت اصول علمی و فنی موجب تولید نهال‌های اصیل / شبیه والد (true-to-type)، همسان و عاری از آفات و ناقلین پاتوژن می‌گردد.

اهداف: این دستورالعمل برای کنترل و نظارت بر سلامت و اصالت مواد مادری، وضعیت استقرار در گلخانه انتظار و گلخانه سازگاری ارقام/پایه‌های کشت بافتی لازم الاجرا است.

دامنه کاربرد و مخاطبین: رعایت مفاد این دستورالعمل شامل کلیه شرکت‌های تولید کننده مواد تکثیری گیاهی کشت بافتی می‌شود و نظارت بر انجام آن بر عهده کلیه ناظرین کنترل و گواهی نهال می‌باشد.

تعاریف:

ماده اولیه تکثیری: ماده گیاهی سالم و اصیل (پایه/رقم) که برای تکثیر به روش کشت بافت مورد استفاده قرار می‌گیرد.

پایه/رقم کشت بافتی: به گیاهچه/ نهالی اطلاق می‌گردد که ماده اولیه تکثیری آن از یک پایه/رقم تجاری مشخص اخذ شده و با استفاده از فناوری کشت بافت و به صورت رویشی تکثیر شده باشد.

تولید کننده: شخص حقیقی/حقوقی واجد شرایطی که دارای مجوز تولید به روش کشت بافت از مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال باشد، تولید کننده خوانده می‌شود.

دستگاه نظارت: از این پس، مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، دستگاه نظارت خوانده می‌شود.

شرایط کنترل شده: از این پس، محیط‌هایی مانند اسکرین هاوس، نت هاوس و گلخانه که کاملاً ایزوله هستند، امور بهداشتی به خوبی در آنها اجرا می‌شود و برای نگهداری مواد گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرند، شرایط کنترل شده خوانده می‌شود.

نهال/پایه اصیل: به مجموعه گیاهان همسان و کلون که حاصل تکثیر رویشی یک رقم شناخته شده باشند، نهال/پایه اصیل اطلاق می‌گردد.

گام‌های اجرایی

ماده ۱- کنترل گیاهان مادری

نماینده دستگاه نظارت (ناظر کنترل و گواهی نهال) باید در قالب نظارت‌های ادواری وضعیت گیاه/گیاهان مادری را که مجموعه کشت بافتی از آن/آنها ریز نمونه تهیه می‌نماید، مشخص کند. در صورتیکه خود آن مجموعه کشت بافتی، مواد مادری را نگهداری می‌نماید، نماینده دستگاه باید شرایط نگهداری (اسکرین هاوس) را کنترل کند و مستندات احراز سلامت و اصالت آنها را تایید نماید. در غیر این صورت، باید محل تهیه ریز نمونه مشخص شود و مستندات لازم برای حصول اطمینان از سلامت و اصالت مواد مادری احصاء و کنترل گردد. بدیهی است در صورت مشاهده هر گونه علائم آلودگی و یا نشانه‌های بروز تنوع ژنتیکی، گیاهان مادری حذف می‌گردد.

تبصره- در صورتیکه شناسنامه گیاهان مادری منشا تهیه ریز نمونه، مشخص نباشد، تولیدکننده برای اخذ ریزنمونه از گیاه مادری به مراکز معتبر معرفی شود.

ماده ۲- کنترل گیاهچه های تولیدی (مرحله اول سازگاری)

در دوره اول سازگاری و مطابق با استاندارد تولیدات کشت بافتی، گیاهچه ها از درون شیشه به سینی و محیط کشت ترکیبی (کوکوپیت، پرلیت و...) منتقل و در شرایط کنترل شده (گلخانه) نگهداری می شوند. در هنگام انتقال لازم است تا گیاهچه های غیرطبیعی (برگ تغییر شکل یافته، گیاه رزت، ساقه بد شکل، ریشه نافرم) حذف شوند. نماینده دستگاه نظارت با عنایت به استاندارد آن گونه، ضمن بازدید از گیاهچه ها، وضعیت عمومی، میزان یکنواختی، رشد و آلودگی احتمالی را کنترل می نماید.

تبصره ۱- با هدف جلوگیری از هر گونه اختلاط فیزیکی، گیاهچه ها باید در این دوره لیبل (شناسه) داشته باشند تا امکان ردیابی آنها توسط مدیر فنی تولید فراهم شود و اطلاعات مورد نیاز در اختیار نماینده دستگاه نظارت قرار گیرد.

تبصره ۲- مدیر فنی تولید باید در حین کاشت گیاهچه ها در سینی کشت، گیاهان غیر طبیعی را حذف نماید.

تبصره ۳- رعایت اصل دسته بندی مواد گیاهی در این مرحله به کنترل یکنواختی و احراز کیفیت کمک می نماید.

تبصره ۴- با توجه به احتمال شیوع آفات و بیماری ها در این مرحله ناظرین باید به وضعیت ایزوله بودن محدوده گلخانه سازگاری اول توجه ویژه داشته و موارد نقص را به اطلاع مدیر فنی برسانند.

تبصره ۵- چنانچه گیاهچه ها در پایان این مرحله و قبل از تعویض گلدان به فروش برسند، لازم است که خریدار در اولین فرصت نسبت به تعویض گلدان اقدام نماید.

تبصره ۶- در پایان این مرحله، گیاهچه ها باید با هدف جلوگیری از پیچیدگی و بدشکل شدن ریشه به گلدان نیم لیتری منتقل شوند.

ماده ۳- کنترل گیاهچه های در حال رشد (مرحله دوم سازگاری)

این مرحله از تعویض سینی کشت با گلدان نیم لیتری شروع می شود که باید در گلخانه و محیط کاملاً ایزوله انجام گیرد. ساقه گیاهچه ها در این مرحله باید نیمه خشبی باشد. حجم گلدان با ریشه پر شده باشد. نماینده دستگاه نظارت باید حین بازدید در این مرحله، میزان رشد و یکنواختی گیاهچه ها را با شاخص های تعداد برگ بر حسب گونه، قطر ساقه، یک تنه بودن ساقه، طبیعی بودن رشد ساقه و ریشه کنترل نماید و هرگونه ناهنجاری رشد یا آلودگی احتمالی را به مدیر تولید منعکس نماید. لازم به ذکر است که:

- گیاهچه با ساقه غیر طبیعی (رزت، خوابیده، چنگالی، کج شده و...) غیر استاندارد است و مورد تایید قرار نخواهد گرفت.

- گیاهچه با برگ های تغییر شکل یافته و غیر طبیعی باید حذف شود.

- گیاهچه با ریشه های غیر طبیعی (بد فرم، پیچ خورده، کلاف شده و فنی) حذف شود.

- گیاهچه در این مرحله باید حداقل شاخص های فیزیکی مندرج در استاندارد تولیدات کشت بافتی را داشته باشد.

تبصره - چنانچه گیاهچه ها در پایان این مرحله و قبل از تعویض گلدان به فروش برسند، لازم است که خریدار در اولین فرصت نسبت به تعویض گلدان و بازکاشت گیاهچه ها در گلدان های یک لیتری اقدام نماید. در غیر این صورت تولیدکننده باید شخصا نسبت به تعویض گلدان و بازکاشت در گلدان یک لیتری اقدام نماید.

ماده ۴- کنترل نهایی مواد گیاهی آماده توزیع (مرحله انتقال)

در این مرحله گیاهچه ها باید حداقل در گلدان یک لیتری باشند. نهال/ پایه‌ها باید دارای ساقه خشبی بوده و یک فصل خزان را پشت سر گذاشته باشند و بر حسب نوع گونه از ارتفاع و قطر لازم برخوردار باشند. در این مرحله نماینده دستگاه نظارت باید با عنایت به استانداردهای هر گونه گیاهی، شاخص‌های طول ساقه، قطر ساقه، نسبت طول به قطر ساقه را کنترل نماید. در این مرحله لازم است که:

- پایه/ نهال قبل از توزیع یک فصل خزان را پشت سر بگذارد.
- پایه/ نهال دارای یک تنه بوده و ایستا باشد.
- پایه/ نهال دارای ریشه غیر طبیعی (بد شکل، کج و معوج، پیچ خورده، کلاف شده و فتری) باید حذف شود.
- پایه/ نهال شناسه‌دار شده و در قالب فاکتور فروش به تولید کننده تحویل داده شود.
- پایه/ نهال باید در شرایط کنترل شده (گلخانه / نت هوس) نگهداری شود.

ماده ۵- فروش و تحویل پایه

تولیدکننده باید قبل از عرضه و تحویل، گواهی بهداشت نباتی را از مدیریت حفظ نباتات منطقه برای مواد گیاهی آماده توزیع دریافت نموده و تولیدات خود را در قالب فاکتور فروش و به صورت شناسه‌دار به خریدار تحویل نماید.

ماده ۶- کنترل آمار و اطلاعات

تولیدکننده باید آمار و اطلاعات دقیق مواد گیاهی توزیع شده را در هر مرحله به تفکیک نوع پایه، رقم نهال، تعداد پایه/ نهال تحویل شده، مشخصات خریدار و شماره فاکتور فروش را در بانک اطلاعات خود نگهداری نماید.

منابع مورد استفاده

1. Debergh, P. (1985). A few academic approaches to problems in tissue culture propagation. *Arxius de l'Escola Superior d'Agricultura de Barcelona*, (8), 11-13.
2. Benelli, C., Germana, M. A., Ganino, T., Beghe, D., & Fabbri, A. (2010). Morphological and anatomical observations of abnormal somatic embryos from anther cultures of *Citrus reticulata*. *Biologia plantarum*, 54(2), 224-230.
3. Low cost options for tissue culture technology in developing countries. *Proceedings of a Technical Meeting organized by the Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture*. Vienna, 26-30 August 2002.
4. Mujib, A., S. Banerjee and P.D. Ghosh. (2013). Tissue culture induced variability in some horticultural important ornamentals: Chromosomal and molecular basis-A review. *Biotechnology*, 12: 213-224.
5. Van der Linde, P. C. G. (1999, August). Certified plants from tissue culture. In *International Symposium on Methods and Markers for Quality Assurance in Micropropagation* 530 (pp. 93-102).
6. Dale, A., Hughes, B. R., & Donnelly, D. (2008). The role of micropropagation in producing specific pathogen-tested plants. *HortScience*, 43(1), 74-77.
7. ELHANAN, S. (1991). Tissue culture and international phytosanitary controls. *EPPO Bulletin*, 21(2), 207-209.