الكلية	العلوم
القسم	التقنيات الاحيائية
المادة باللغة الانجليزية	Plant tissue culture technique
المادة باللغة العربية	تقنية زراعة الانسجة النباتية
المرحلة الدراسية	الرابعة
اسم التدريسي	أنمار كامل مبارك
عنوان المحاضرة باللغة الانجليزية	Sterilization
عنوان المحاضرة باللغة العربية	التعقيم
رقم المحاضرة	الرابعة
المصادر والمراجع	George, E. F., Hall, M. A., & De Klerk, G.-J. (2008).** *Plant Propagation by Tissue Culture*. Springer https://uodiyala.edu.iq/uploads/PDF%20ELIBRARY%20UODIYALA/EL34/Plant%20Propagation%20by%20Tissue%20Culture%203rd%20Edition.pdf
	Pierik, R. L. M. (1997).** *In Vitro Culture of Higher Plants*. Springer
	Reed, B. M. (2008).** *Plant Tissue Culture: Techniques *and Experiments
	https://biot202.wordpress.com/wp-content/uploads/2015/09/plant-tissue-culture-third-edition-techniques-and-experiments-by-roberta-h-smith.pdf

طريقة تعقيم الجزء النباتي المستعمل في الاكثار :

تتم عملية التعقيم للجزء النباتي حسب الخطوات التالية :

أ. غسل الجزء النباتي بماء الحنفية الجاري لمدة 1-2 ساعة لغرض التخلص من الاتربة والغبار العالق على سطوح الخارجية للاجزاء النباتية أولاً ولتقليل كثافة الأحياء الدقيقة الموجودة على السطح الخارجي للجزء النباتي ثانياً .

ب. غمر الجزء النباتي في محلول التعقيم للقضاء على ما تبقى من الاحياء الدقيقة العالقة على سطحه الخارجي . ويتم ذلك أما بغمر الاجزاء المفصولة في الكحول الاثيلي بتركيز 70% لمدة خمس دقائق ، ويجب الا تزيد عن ذلك حتى لا تؤدي الى نزع الماء من الخلايا وجفافها Dehydration الذي يؤثر على طبيعة نمو الجزء النباتي على الوسط الغذائي . ثم يتم غمره بعد ذلك في محلول هايبوكورات الصوديوم NaOCl بتركيز 1% لمدة 5-30 دقيقة حسب درجة حساسية الأنسجة . يفضل اضافة 3-5 قطرات من المادة الناشرة Tween20 لتقليل الشد السطحي (التوتر السطحي) للجزء النباتي المراد تعقيمه لغرض زيادة فعالية وكفاءة مادة التعقيم من خلال ضمان وصول وتبلل جميع السطوح الخارجية بمحلول التعقيم . يمكن استعمال محلول القاصر التجاري Clorax بتركيز 10-50% لمدة 10-20 دقيقة للتعقيم السطحي للاجزاء النباتية .

ج. غسل الجزء النباتي بماء مقطر معقم عدة مرات لازالة ما تبقى من المادة المعقمة على السطح الخارجي الجزء . بعد ذلك يتم استبعاد الاجزاء النباتية المعقمة والمتضررة من مادة التعقيم .

تعتمد كفاءة تعقيم الجزء النباتي على العوامل التالية :

أ. طبيعة نبات الام الذي يؤخذ منه الجزء النباتي .

ب. مصدر الجزء النباتي المزروع (ورقة ، جذر ، قطعة من الساق ، زهرة ..الخ).

ت. نوع وكفاءة المادة المعقمة .

ث. مدة التعقيم .

ج. تركيز محلول المادة المعقمة .

ويوضح الجدول التالي بعض المواد المستعملة في تعقيم الأنسجة النباتية :

ت	أسم المادة	التركيز (%)	مدة التعقيم (دقيقة)	التأثير
1	**Calcium hypochlorite**	10-9	30-5	جيد جدا
2	**Sodium hypochlorite**	2	30-5	جيد جدا
3	**Hydrogen peroxide**	12-10	15-5	جيد
4	**Bromine water**	2-1	10-2	جيد جدا
5	**Ethyl alcohol**	95-80	1-1/3	جيد جدا
6	**Silver nitrate**	1	30-5	جيد
7	**Mercuric chloride**	1-0.1	10-2	مقبول
8	**Antibiotics**	5-4	60-30	جيد

ملاحظة : يجب مراعاة الحذر الشديد عند استخدام كلوريد الزئبق حيث يعتبر من المواد المحظورة والسامة .

هناك بعض الاجزاء النباتية ملوثة داخليا مما يجعل عملية التعقيم السطحي لها غير كافية وللتغلب على هذه المشكلة يتم اضافة مادة Benomyl أو Benolate بتركيز واحد ملغم/لتر الى الوسط الغذائي حيث تعمل هذه المواد على الحد من نشاط وفاعلية الفطريات المسببة للتلوث لكنها قد تسبب بطء نمو الاجزاء النباتية . ومن الطرق الاخرى للقضاء على التلوث الداخلي هي اضافة بعض المضادات الحيوية Antibiotics الى الوسط الغذائي المعد للزراعة النسيجية لمنع نمو البكتيريا . وللمضادت الحيوية ضرر جانبي هو تأثيرها على نمو الاجزاء النباتية وخاصة المضادات التي تؤثر على الرايبوسوم Ribosome .

ملاحظة : يجب تعقيم المضادات الحيوية من خلال مرشحات التعقيم الدقيقة Sterilization micro-filters قبل اضافتها الى الوسط الغذائي المعقم وذلك لان الحرارة العالية لجهاز المؤصدة (المعقام) Autoclave تسبب تلف المضادت الحيوية .