التلوث والتعقيم

يجب تجنب التلوث بالفايروسات النباتية الملوثة عند اجراء التجارب الفايروسية، وأهم تلك الفايروسات واكثرها خطورة هي الفايروسات الثابتة Stable viruses القادرة على البقاء خارج النسيج النباتي لفترات طويلة فعالة وملوثة للأسطح والمناضد والادوات الاخرى منها فايروس *TMV* و *PVX* واذا ما حدث التلوث بها فأنه سيربك نتائج الاختبارات، لذا يتوجب اتخاذ اجراءات التعقيم المناسبة لمنع حدوث حالات التلوث بهذه الفايروسات، ولغرض تجنب التلوث فأنه يجب معرفة مصادره ثم اختيار الطريقة الانسب للتعقيم

مصادر التلوث بالفايروسات النباتية

1. الزجاجيات والأدوات المعدنية: هي اهم مصادر التلوث بالفايروسات ولاسيما الثابتة
2. ايدي العاملين وملابسهم: تعد مصدر مهم وبالأخص للفايروسات المنقولة ميكانيكياً وذلك عند ملامسة اوراق النباتات المصابة، وقد سجلت حالات من نقل فايروس موزائيك التبغ الى الشتلات بواسطة ايدي العاملين الذين تلامس ايديهم التبغ الجاف المصاب بالفايروس والذي يبقى فعالاً فيه لعدة سنوات
3. الناقلات: يشمل ذلك كل النواقل الحيوية للفايروسات كالحشرات والفطريات والنيماتودا والحلم إذ يمكن ان تنقل فايروسات والتي تجلبها من الحقول الاخرى وتدخلها الى البيوت الزجاجية والبلاستيكية مما تسبب تلوث نباتات الاختبار.
4. التربة: توجد العديد من الفايروسات الثابتة في التربة soil-borne viruses والمنتشرة بدون ناقلات حيوية اذ تلوث التربة المستعملة في الزراعة مما تؤثر اقتصادياً في المحاصيل الزراعية
5. البذور والاجزاء التكاثرية الخضرية المصابة بالفايروسات: تعد البذور مصدر مهم للتلوث اذ قد تستعمل بذوراً تحمل فايروسات معينة مما ينتج عنها نباتات مصابة، وهناك ما يقارب 185 نوعاً من الفايروسات تنقل ببذور انواع مختلفة من النباتات، وكذلك الحال مع الاجزاء التكاثرية الخضرية كالكورمات والفسائل والدرنات والابصال والاقلام عندما يكون مصدرها نباتات مصابة بالفايروسات، اذ من المعروف ان أي نبات مصاب جهازياً بفايروس معين فأن الجزء الخضري الذي سيؤخذ منه سيكون مصاب وسيعطي نباتاً مصاباً.

التعقيم Sterilization :

يقصد به القضاء على جميع الميكروبات بكتيرية او فطرية وفيروسية المتواجدة على الادوات او في الاوساط، تجري عملية التعقيم بالطرق التالية:

1. **طرق تعقيم فيزيائية Physical Sterilization ways:** وتشمل التعقيم بالحرارة الجافة dry heat (مثل اللهب المباشر Bunsen burner، التعقيم في فرن الهواء الساخن Hot air ovens). والتعقيم بالحرارة الرطبة Moist heat اهمها (المؤصدة Autoclave، الحمام المائي Water bath).
2. **طرق تعقيم كيميائية Chemical Sterilization ways:** كحول الايثانول Ethyl alcohol وهو الاكثر استعمالاً للتطهير الخارجي وبتركيز 50-70%، الفينول ومركباته Phenol لتعقيم الادوات الزجاجية، الاجهزة، أسطح المناضدBench بتركيز 2-5% او التعقيم باستخدام الاشعة فوق البنفسجية Ultraviolet light
3. **طرق تعقيم ميكانيكية Mechanical Sterilization ways:** تعتمد على ازالة خلايا الكائنات الحية الدقيقة من الوسط الكامنة فيه بطريقة ميكانيكية كأن تحجز الثقوب الدقيقة للمرشحات المستعملة خلايا الكائنات الحية ذات الاقطار التي تزيد عن اقطار ثقوبها، مثل التعقيم بالترشيح

تعقيم الادوات الزجاجية والمعدنية

الطريقة (1): طريقة تعقيم الادوات الزجاجية والمعدنية بالفرن الكهربائي

أ- تغسل الادوات المراد تعقيمها جيداً بالماء والصابون، ثم تنشف

ب- توضع في الفرن الكهربائي oven وتثبت درجة حرارته عند 180° سيليزية لمدة ساعة

ت- تخرج الادوات من الفرن وتبرد بوضعها على اوراق نظيفة على طاولات المختبر ويمكن استعمالها مباشرةً او بعد حين لأنه لا توجد خطورة من اعادة تلويثها لأنه لا توجد فايروسات نباتية ملوثة للهواء الجوي.

الطريقة (2): تعقيم الادوات الزجاجية والمعدنية بالحمام مائي

أ- تغمر المواد المعدنية والزجاجية في الاناء

ب- تترك لحين الغليان لمدة 15 دقيقة وهي مدة كافية للتخلص من كل انواع الفايروسات النباتية

ت- تخرج المواد وتجفف بورق معقم ويمكن استعمالها مباشرةً او تخزن لحين الحاجة.

الطريقة (3): تعقيم الادوات الزجاجية والمعدنية بالأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet light

أ- تغسل الادوات المستعملة وتجفف

ب- توضع الادوات على دون تكديس على طاولة نظيفة معقمة مباشرة تحت مصباح الاشعة فوق البنفسجية ولمدة تعريض 10دقائق مع تجنب وقوف الباحث قرب المصباح اثناء فترة التعريض، يمكن استعمال غرفة الزرع Laminar air flow cabinet (Hood) المزودة بمصابيح الأشعة البنفسجية

ت- يطفأ المصباح فور انتهاء مدة التعقيم، ويمكن استعمال الادوات مباشرة او فيما بعد.

الطريقة (4): تعقيم الادوات الزجاجية والمعدنية بجهاز المؤصدة Autoclave

أ- تهيأ الادوات المراد تعقيمها ثم تغسل جيداً

ب- يشغل الجهاز بضغط 1،5 كغم/ سم^2 وحرارة 121°م ولمدة 15 دقيقة

ت- تخرج المواد وتجفف بورق معقم وتستعمل مباشرة او فيما بعد.

الطريقة (5): تعقيم الايدي

1. غسل الايدي جيداً ولعدة مرات بالماء والصابون وتجفيفها مع مراعاة عدم لمس أي اداة يحتمل ان تكون ملوثة
2. استعمال قفازات طبية معقمة من قبل العاملين ورميها بعد كل استعمال
3. غمر الايدي بالحليب منزوع الدسم Skim milk بعد كل استعمال.

الطريقة (6): تعقيم التربة: تعقم الترب للتخلص من الفايروسات المنقولة بها وكذلك من الفطريات والنيماتودا وكذلك بذور الادغال، فضلاً عن التخلص من الفطريات الممرضة للنبات وخاصة تلك المسببة لأمراض تعفن الجذور والذبول وسقوط البادرات.

1- تعقيم التربة بالفورمالين 40%

أ- تهيأ التربة الجافة المراد تعقيمها وتعبأ بأكياس بلاستيكية سعة 25كغم خالية من أي ثقوب

ب- يضاف محلول الفورمالين 40% بمقدار 50مل لكل كيس تربة ثم يقفل جيداً بحيث لا يسمح لبخار الفورمالين بالتسرب منه ويترك مقفل لمدة اسبوعين

ت- تفتح الاكياس لغرض التهوية لمدة اسبوع للتخلص من الفورمالين المتبخر وتكون التربة بعدها صالحة للاستعمال.

2- تعقيم التربة بالفرن الكهربائي او المؤصدة: يمكن اعتمادها إذا كانت كميات التربة قليلة

أ- تهيأ التربة الجافة

ب- توضع في الجهاز وتفرش دون تكديس، يشغل الفرن على درجة 180°م ويستمر التعقيم لمدة ساعة ونصف من لحظة وصول، فيما يستعمل جهاز المؤصدة عند حرارة °م121 لمدة نصف ساعة.

ت- تخرج التربة بعد الانتهاء ويمكن استعمالها فوراً او خزنها لحين الحاجة

3- تعقيم الشمسي للتربة (البسترة الشمسية) Solarization

تعتمد هذه الطريقة على الاستفادة من اشعة الشمس المباشرة خلال شهري تموز واب اذ تصل حرارة الشمس الى ما يزيد على60 °م لتعقيم التربة وخاصة البيوت الزجاجية والبلاستيكية والتخلص من انواع الطفيليات كلها وبذور الادغال الموجودة فيها وتنفذ بالطريقة التالية:

أ- تهيأ التربة المراد تعقيمها اذ يتم فرشها بسمك 30سم وهي جافة على قطعة مزدوجة من النايلون الزراعي الشفاف في مكان مفتوح وجاف

ب- تغطى التربة بطبقة من البلاستك الاسود وتثبت جوانبه جيداً لمنع دخول الهواء

ت- تترك لمدة ستين يوماً وفي هذه المدة تتعرض لأشعة الشمس المباشرة وسترتفع داخلها الى ما يقرب 65°م

ث- يرفع الغطاء البلاستيك الاسود وتستعمل التربة.

ملاحظة: ان هذه الطريقة متلفة للمواد العضوية في التربة نتيجة الحرارة العالية مما يتطلب اضافة كمية من السماد العضوي الى التربة بعد انتهاء البسترة الشمسية.

تجنب الناقلات الحاملة للفايروسات الملوثة

يجب تجنب الناقلات المتواجدة في البيت الزجاجي وهي الاكثر خطورة في نشر الفايروسات وافساد التجارب الفايروسية، ويتم باتخاذ الاجراءات الاتية:

1. تغطية الشبابيك وفتحات البيت الزجاجي والبلاستيكي كافة بسلك مانع للحشرات ذو فتحات صغيرة للحد الذي لا يسمح لأصغر الحشرات بالدخول مع ضمان توفيره التهوية للبيت.
2. يزود البيت الزجاجي بأخر اضافي مصنوع من السلك المشبك المانع للحشرات.
3. معاملة البيت الزجاجي اسبوعياً بمبيد حشري عام لقتل الحشرات كافة.
4. مكافحة الناقلات التي تقطن التربة وهي الفطريات والنيماتودا عن طريق تعقيم التربة.

تجنب استعمال البذور الحاملة للفايروسات

تنقل العديد من الفايروسات النباتية بالبذور اما عن طريق الاجنة او الاندوسبرم او من خلال اغلفة البذور، ان استعمال الباحث لبذور حاملة للفايروسات سيؤدي الى ادخال انواع من الفايروسات غير مرغوب فيها عند اجراء التجارب لذا يتوجب استعمال بذور مصدقة خالية من الاصابة وعدم استعمال بذور مجهولة المصدر وخاصة بذور البقوليات لأنها العائلة النباتية الاكثر نقلاً للفايروسات ببذورها، علماً ان اغلبية الفايروسات المنقولة بالبذور لا تعطي اعراض خارجية لذا لا يمكن الاعتماد على الفحص البصري، ومن الاجراءات المتخذة مع نقل الفايروسات بالبذور:

1. استعمال بذور من موثوقة ومصدقة منتجة من قبل شركات تضمن خلوها من الفايروسات
2. الحصول على البذور من نباتات يقوم الباحث بإكثارها في البيت الزجاجي وانه متأكد من خلوها من الفايروسات الملوثة
3. يمكن التخلص من الفايروسات المحمولة في اغلفة البذرة مثل فايروس موزائيك الطماطة *ToMV* بأجراء عملية التعقيم السطحي للبذور باستعمال محاليل مثل الكلوركس او الكحول الاثيلي (الايثانول) وبذلك يضمن اتلاف الجسيمات الفايروسية من الطبقة السطحية للبذور، فضلاً عن قتل طفيليات اخرى.