المرجع	الموضوع
Alexopoulos & Beneke (١٩٦٢)	الطرق المعملية لدراسة الفطريات
Maramorosch & Koprowski (١٩٦٧)	الطرق المعملية لدراسة الفيروسات
Kadd & Agrawal (١٩٧٢)	أساسيات وطرق دراسة الفيروسات
Hill (١٩٨٤)	الطرق العملية لدراسة الفيروسات
Green (١٩٨٤)	مختصر للطرق المعملية لدراسة الفيروسات
Dhingra & Sinclair (١٩٨٥)	الطرق المعملية لدراسة البكتيريا والفطريات، مع شرح لمئات من بيئات الزراعة المناسبة لنمو وتجرثم مختلف الأنواع الفطرية.
Bos & Parlevliet (١٩٩٥)	المصطلحات المستخدمة فى مجال أمراض النبات
CMI (١٩٨٣)	أساسيات وطرق دراسة مختلف مسببات الأمراض
Starr وآخرون (٢٠٠٢)	شامل للنيماتودا
Hull (٢٠٠٢)	شامل لكل أساسيات الفيرولوجى والطرق التى تتطلبها دراسة الفيروسات
Waller وآخرون (٢٠٠٢)	شامل

طرق التطهير والتعقيم

المصطلحات المستخدمة

١ - التعقيم Sterilization:

يقصد بالتعقيم التخلص من جميع مظاهر الحياة فيما يتم تعقيمه من بيئات، أو مواد، أو أدوات، أو تربة ... إلخ، ويطلق على المواد التى تستخدم فى التعقيم اسم معقمات.

٢ - التخلص من الإصابة Disinfection:

يعنى بذلك تخليص الكائن الحى مما يوجد به من إصابات بكائنات أخرى باستخدام ما يعرف باسم Disinfectants. وإذا استخدم المصطلح مع أشياء غير حية كالأدوات، والحوائط، والأرضيات - وهو استخدام غير دقيق - فإنه يعنى تخليصها مما قد يوجد بها من كائنات دقيقة ممرضة.

٣ – مضادات الكائنات الدقيقة Antiseptics:

يعنى بذلك المواد التى تمنع، أو توقف نشاط الكائنات الدقيقة، أو تقتلها، وتستخدم هذه المواد – عادة – مع الأنسجة الحية.

٤ – المطهرات السطحية Disinfestants:

يستخدم هذا المصطلح للدلالة على المركبات أو العوامل الفيزيائية التى تستخدم فى التخلص من الكائنات الدقيقة التى توجد على الأسطح النباتية، أو فى بيئة النبات، أو على الأشياء غير الحية.

وتستخدم اللاحقة cide فى آخر الكلمات لتعنى "القاتل" (مثل: bactericide، و Fungicide)، بينما تستخدم اللاحقة stat لتعنى "موقف النمو" أو "مانع النمو" (مثل: bacteristat، و fungistat).

إجراءات النظافة والوقاية من التلوث

يتعين توخى إجراءات النظافة العامة فى مختبر التربية لمقاومة الأمراض، لتجنب تلوث مزارع المسببات المرضية بكائنات غير مرغوب فيها. حيث تلزم مراعاة ما يلى:

١ – النظافة العامة المستمرة للمختبر.

٢ – منع دخول الهواء المحمل بالأتربة بغلق النوافذ واستعمال أجهزة تكييف الهواء عند الضرورة.

٣ – ارتداء ملابس وأحذية نظيفة أثناء العمل فى المختبر.

٤ – استعمال هواء مرشح فى حجرات عزل المسببات المرضية.

٥ – تعقيم مزارع مسببات الأمراض التى يرغب الباحث فى التخلص منها – فى الأوتوكليف – قبل فتحها لغسيلها.

٦ – الحرص عند تداول العينات، أو البقايا النباتية، أو التربة الحاملة لجراثيم الفطريات، لمنع تلوث المختبر بها.

٧ – تنظيف الزجاجيات جيدًا بالماء والصابون والفرشاة قبل استخدامها. ويعتبر

حامض الكروميك Chromic Acid أكثر المحاليل استخدامًا لتنظيف الزجاجيات لأغراض الدراسات الكمية، وللتخلص مما قد يوجد بها من صبغات. يحضر الحامض بوضع ٢٥٠ مل من حامض الكبريتيك المركز فى دورق مخروطى سعة ٥٠٠ مل، ووزن ٢٠-٣٠ جم من ثانى كرومات البوتاسيوم، ثم إضافاتها ببطء مع التقليب بقضيب زجاجى إلى أن يتفاعل كل حامض الكبريتيك مع الملح المضاف، ويتبقى ما يزيد منه مترسبًا فى قاع الدورق. يخزن حامض الكروميك فى زجاجة حامض، ويغلق جيدًا بسدادة زجاجية، ويوضع على قاعدة خشبية لاستقبال قطرات الحامض التى قد تنزلق على جانب الزجاجة.

المطهرات

من أكثر المحاليل المطهرة Disinfecting Solutions استخدامًا ما يلى:

١ — محلول كلوريد الزئبقيك Mercuric Chloride بتركيز واحد فى الألف:

يستخدم هذا المحلول لتطهير الأيدى، والأسطح التى يجرى العمل عليها، والعينات النباتية، ويحضر بإذابة جرام واحد من كلوريد الزئبقيك فى لتر ماء. وتتوفر أقراص من كلوريد الزئبقيك موزونة سلفا، وتحتوى على صبغة مميزة للتحذير.

٢ — محلول الهيبوكلوريت Hypochlorite Solution:

يستخدم هذا المحلول فى تطهير العينات النباتية، ويحضر بإضافة ٣٠ جم من هيبوكلوريت الكالسيوم إلى ٤٢٠ مل ماء، مع الرج جيدًا. ثم الترشيح فى دوق مخروطى وإغلاقه بإحكام. كما يمكن استخدام الكلوراكس التجارى فى تحضير محلول الهيبوكلوريت بعد تخفيفه بالماء بنسبة ١ : ١٠، ويحضر المحلول أولاً بأول حسب الحاجة إليه.

ويراعى عند الرغبة فى تطهير العينات النباتية - التى يصعب بلّها تمامًا بالمحلول المطهر - غسلها بكحول إيثيلى ٧٠٪، أو بمحلول المادة مبللة مثل التوين ٢٠ Tween 20 (نقطة أو نقطتان فى لتر ماء) قبل معاملتها بالمطهر.

المعقمات ومعاملات التعقيم

فيما يلى بيان بأهم المركبات الكيميائية، والمعاملات الفيزيائية التى تستخدم فى التعقيم:

السوائل والمحاليل

١ - الكحولات Alcohols:

إن أهم الكحولات التى تستخدم لأغراض التعقيم هى كحول الإثيل Ethyl، والأيزوبروبيل Isopropyl، والبنزيل Benzyl. ويعاب على الكحولات أنها ليست قاتلة للجراثيم البكتيرية. ويعتبر كحول الإثيل المطلق (١٠٠٪) أقل فاعلية - فى قتل البكتيريا - من الكحول المخفف ببعض الماء. وأفضل تركيز لهذا الغرض يتراوح من ٦٠٪ إلى ٨٠٪. وتزداد سمية الكحولات كمعقمات كلما ازداد وزنها الجزيئى. ولذا .. فإن كحول الأيزوبروبيل أكثر سمية من كحول الإثيل.

٢ - الفينولات Phenols:

تعمل الفينولات إما كمعقمات Germicides، أو كموقفات لنشاط الكائنات الدقيقة Germistatic. ويتوقف ذلك على تركيزها. وتكون بعض الفينولات شديدة الفاعلية ضد الفطريات. وتزداد فاعلية الفينولات عند احتوائها على الكلور أو الهالوجنيات الأخرى. تستخدم الفينولات بتركيزات منخفضة. وهى سامة للإنسان ويلزم تجنب ملامستها أو استنشاقها.

٣ - المعادن الثقيلة وأملاحها:

إن أهم المعادن الثقيلة هى: الزئبق، والفضة (وكلاهما قاتل للبكتيريا والفطريات)، والنحاس (وهو قاتل للفطريات فقط). تكون هذه العناصر فعالة بتركيزات منخفضة للغاية، تصل فى حالة الفضة إلى جزء واحد فى كل ١٠٠ مليون جزء. وتكون هذه العناصر مثبطة فقط لنمو الكائنات الدقيقة فى التركيزات الأقل من ذلك.

٤ - الهالوجينات Halogens:

يعتبر الفلورين أكثر الهالوجنيات سمية، يليه الكلورين والبرومين، بينما يعد

الأيودين أقلها سمية. وبينما لا يشيع استخدام البرومين لما يسببه من مضايقات للعاملين به، فإن الكلورين يعد أكثرها استخدامًا ويستخدم لذلك هيبوكلوريت الصوديوم (الكلوراكس التجارى)، وهو يتبخر، لذا .. يلزم تحضيره أولاً بأول حسب الحاجة.

الغازات والأبخرة

إن أكثر المعقمات استخدامًا على صورة غازات، أو أبخرة هى تلك التى تستعمل للتخلص من البكتيريا، وهى: الفورمالدهيد، والأوزون، وأكسيد الإثيلين، وأكسيد البروبلين، وجميعها تستخدم فى تعقيم العينات النباتية أيًّا كانت، حيث توضع فى حيز مغلق لمدة لا تقل عن ثلاث ساعات مع كمية معينة من المركب (مثلاً .. يستعمل ملليلتر واحد من أى من أكسيد الإثيلين أو من أكسيد البروبلين/لتر من الحيز الذى تجرى فيه عملية التعقيم)، علمًا بأن أكسيد البروبلين يتبخر على درجة ٣٣,٩°م، بينما يتبخر أكسيد الإثيلين على ١٠,٧°م، وبينما يكون الأول قابلاً للإشتعال، فإن الثانى متفجر، ولذا .. فإنهما يحفظان دائمًا فى الثلاجة.

أما الفورمالدهيد فإنه يستعمل أساسًا فى التعقيم السطحى بتركيز ٥٪-١٠٪ محلول فورمالين. ولكنه يستعمل - كذلك - على صورة غازية بتركيز يتراوح بين ٣. و ١٠ مجم لكل لتر من حيز التعقيم.

ويحافظ التعقيم بالغازات على المركبات الحساسة للحرارة التى قد تفقد خصائصها المميزة إذا ما عقمت بالحرارة.

الحرارة

تعتبر "الحرارة الرطبة" Wet Heat (مثل: بخار الماء أو الماء) أكثر فاعلية من الحرارة الجافة Dry Heat (مثل الأفران) فى التخلص من الكائنات الدقيقة عند تساوى درجة الحرارة المستخدمة فى كليهما، حيث يكون انتقال الحرارة الرطبة أسرع، ونفاذيتها أكبر من الحرارة الجافة، ولذا .. فإن التعقيم بها يكون لفترة أقصر مما فى حالة التعقيم بالحرارة الجافة.

ويكفى - عادة - التعقيم لمدة ١٠ دقائق فى ماء يغلى للتخلص من الطرز الخضرية

للكائنات الدقيقة. ولكن ذلك لا يكون كافيًا للتخلص من الجراثيم البكتيرية وبعض الجراثيم الفطرية. ويمكن التخلص من غالبية الجراثيم بتعريض البيئة التى يراد تعقيمها لماء يغلى لمدة ٢٠-٣٠ دقيقة يوميًا خلال ثلاثة أيام متتابعة. كذلك يتم التخلص من معظم الجراثيم لدى التعرض لحرارة ١٢١°م لمدة ١٥-٢٠ دقيقة. وهو ما يجرى فى الأوتوكليف.

ويلزم - عند استخدام الأوتوكليف - التخلص تمامًا مما يوجد فيه من هواء قبل السماح بزيادة الضغط بداخله، لأن الهواء يعد عازلاً حراريًا جيدًا. وتحسب الفترة اللازمة للتعقيم - على درجة الحرارة المرغوبة - بعد وصول الحرارة داخل الأوتوكليف إلى تلك الدرجة. وتتوقف فترة التعقيم المناسبة على حجم الدوارق أو الأجسام التى يراد تعقيمها. حيث تزيد الفترة طرديًا مع الزيادة فى الحجم؛ لضمان وصول جميع أجزاء المادة المعقمة إلى درجة الحرارة المرغوبة.

وتعقم البيئات والزجاجيات بالحرارة الرطبة (بخار الماء تحت ضغط) فى الأوتوكليف تحت ضغط ١٥ رطل/البوصة المربعة (١٠° نيوتن/م^{٢}) لمدة ١٥ دقيقة. علمًا بأن درجة حرارة بخار الماء تتوقف على مقدار الضغط الذى يتعرض له البخار. كما يلى:

الضغط (رطل / بوصة مربعة)	الحرارة (°م)
٥	١٠٧
٧	١١٠
١٠	١١٥
١٥	١٢١
٢٠	١٢٦

هذا .. ويكون التعقيم باستخدام "الحرارة الجافة" - أى فى الأفران - على درجات حرارة أعلى مما يكون عليه التعقيم باستخدام "الحرارة الرطبة". فمثلاً .. يكون التعرض لحرارة ١٦٠°م لمدة ٦٠ دقيقة فى الفرن مساويًا - تقريبًا - للتعريض لحرارة ١٢١°م لمدة ١٠-١٢ دقيقة فى الأوتوكليف. وتعقم الزجاجيات، والزيوت، والأدوات فى الأفران على ١٦٠-١٧٠°م لمدة ساعة ونصف الساعة إلى ساعتين.

تعقم الزجاجيات (وهى فى أكياس ورقية أو فى أى أوعية مغلقة لكى لا يحدث لها تلوث بعد تعقيمها) فى الهواء الساخن (فى أى فرن عادى، لكن مع عدم تكديسه بشدة للسماح بدوران الهواء فيه) لمدد تختلف حسب درجة حرارة الفرن، كما يلى:

الحرارة (°م)	المدة
١٢٠	٨ ساعات
١٤٠	٣ ساعات
١٦٠	ساعة واحدة
١٨٠	٢٠ دقيقة

يتعين حساب المدة التى تلزم للتعقيم بالحرارة الجافة - حسب درجة الحرارة - وذلك ابتداء من وصول حرارة الأشياء التى يُراد تعقيمها إلى درجة الحرارة المطلوبة؛ علمًا بأن هواء الفرن يسخن أسرع من الأشياء التى بداخلة. ويتطلب الأمر - عادة - زيادة فترة التعقيم المحددة - لكل درجة حرارة - بمقدار ساعة واحدة إلى ساعة ونصف؛ لضمان أن تكون الفترة المحددة - كلها - على درجة الحرارة المطلوبة.

ويجب أن تكون الزجاجيات جافة تمامًا قبل وضعها فى فرن التعقيم لأن الزجاجيات المبتلة قد تكسر.

يتعين بعد انتهاء فترة التعقيم ترك الفرن ليبرد هو وما بداخله تمامًا حتى درجة حرارة الغرفة، وذلك لتجنب حدوث أى تكسير فى الزجاجيات، وأى تلوث من جراء اندفاع الهواء الخارجى البارد إلى داخل الأشياء المعقمة.

أما التعقيم باللهب فإنه يستعمل فى تعقيم الأشياء المعدنية، مثل إبر النقل transfer needles وأطراف الملاقط، والأشياء الزجاجية، مثل فوّهات الدوارق المخروطية وأنابيب البيئات والشرائح الميكروسكوبية وأغطيتها، وأسطح بعض المواد البلاستيكية. وبينما تعرض الأشياء المعدنية لقمة اللهب - وهى بزاوية ٤٥° م - حتى الاحمرار، حيث تبقى معقمة مادامت ساخنة، فإن الأشياء الزجاجية تمرر عدة مرات على اللهب، مع تجنب وضعها فى الحال على سطح بارد حتى لا تتكسر.

الترشيح Filtration

يمكن فصل البكتيريا والكائنات الدقيقة الأكبر منها حجمًا عن معظم السوائل بالترشيح. ولكنه لا يفيد فى فصل الفيروسات. وإذا ما أريد الإبقاء على السائل المرشح معقمًا، فإنه يتعين تعقيم جهاز الترشيح والإناء الذى يستقبل فيه السائل المرشح قبل إجراء عملية الترشيح. وتعقم بهذه الطريقة جميع السوائل التى يتغير تركيبها إذا ما عقمت بالحرارة أو بالكيماويات.

ويستخدم فى تعقيم السوائل عدة أنواع من المرشحات، منها ما يلى:

Chamberland Filter	Unglazed membranes
Diatomaceous Earth Filters	Cellulose membranes
Asbestos Pad Filter (Seitz)	Ester membranes
Sintered Glass Filters	Plaster-of-Paris Filters
Millipore Filters	

تختلف هذه المرشحات فى الشحنة الكهربائية التى تحملها. وفى سعة ثقوبها، وفى قدرتها على ادمصاص جزيئات معينة — مثل الإنزيمات والفيروسات — من السوائل التى تمر من خلالها، وفى صلاحيتها لتكرار استعمالها، وكذلك فى الوسائل المناسبة لتنظيفها عقب استخدامها.

التعريض للإشعاع Irradiation

يتميز التعقيم بالإشعاع بإمكان تجنب التأثير السلبى للحرارة العالية، وكثير من التغيرات الكيمائية التى يحدثها التعقيم بالحرارة، أو بالكيماويات .. وتقسم الأشعة التى تستخدم فى التعقيم إلى نوعين كما يلى:

١ — الأشعة المؤينة Ionizing Radiations:

من أمثلتها أشعة X، وأشعة جاما Gamma، وبيتا Beta، والنيترونات، والبروتونات، والديوترونات Deuterons ... إلخ. تستخدم هذه الأشعة فى تعقيم البيئات والأدوات التى يخشى عليها من الحرارة العالية، وهى تختلف من حيث قدرتها

على اختراق الأجسام التى تكون فى طريقها، وتعد أشعة جاما أكثرها قدرة، يليها أشعة X.

٢ – الأشعة الكهرومغناطيسية والأشعة فوق الصوتية Utrasonic Rays:

من أمثلتها الأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet، وتحت الحمراء Infra Red، والموجات فوق الصوتية. وليس للأشعة تحت الحمراء تأثير قاتل على البكتيريا باستثناء تأثيرها الحرارى. وأكثر موجات الأشعة فوق البنفسجية تأثيرًا هى التى تتراوح أطوال موجاتها بين ٢٤٠ و ٢٨٠ مللى ميكرونًا. ونظرًا لأن قدرتها على اختراق الأجسام محددة .. لذا فإنها تستخدم فى تعقيم الأسطح والهواء (عن CMI ١٩٨٣، و Dhingra & Sinclair ١٩٨٥).

وسائل التعقيم السطحى بصورة عامة

تتنوع الطرق التى تستخدم فى التعقيم السطحى حسب طبيعة ما يُراد تعقيمه، كما يلى:

١ – تعقم الأجزاء النباتية (مثل البذور والجذور والسيقان والثمار) سطحيًّا بغمرها فى محلول السليمانى (كلوريد الزئبقيك) بتركيز ٠,١٪ لمدة ٥ دقائق، ثم شطفها عدة مرات بالماء المعقم.

٢ – تعقم الأدوات المصنوعة من الصلب غير القابل للصدأ أو المغطاة بالكروم، مثل الملاقط، والمشارط، والمقصات ... إلخ بغمرها فى الكحول ثم تعريضها للهب.

٣ – يعقم ورق الترشيح والمواد المشابهة له بتعريضها لأبخرة أكسيد البروبلين propylene oxide فى حيز مغلق لمدة ١٢–١٥ ساعة بتركيز حوالى ١ مل/لتر، ثم تهويتها جيدًا قبل استعمالها. هذا مع العلم أن أكسيد البروبلين شديد القابلية للتبخر والاشتعال، كما يعد سامًّا، لذا يتعين الحرص الشديد عند استعماله.

وبالمقارنة .. يعد أكسيد الإثيلين أكثر سمية وقابلية للاشتعال، كما أنه متفجر، ولكنه يكون آمنًا للاستعمال عند خلطة بثانى أكسيد الكربون، وهو يستعمل تجاريًّا فى تعقيم البوليثيلين والمواد البلاستيكية الأخرى.

٤ – يستخدم هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز ١٪ (محاليل التبيض التجارية مثل الكلوراكس مخففة إلى تركيز ٢٠٪) فى التعقيم السطحى للأوراق والأنسجة النباتية الأخرى بغمرها فيه لمدة ١٠ دقائق.

٥ – يمكن استعمال الأشعة فوق البنفسجية فى عملية التطهير السطحية، إلاّ إنه لا يكون لها أى قدرة على الاختراق (عن CMI ١٩٨٣).

طرق تعقيم البذور

يجب أن تكون البذور التى يراد تعقيمها سليمة تمامًا، وخالية من الجروح والإصابات الميكانيكية. وتعقم البذور بإحدى الوسائل التالية:

١ – غمر البذور فى مخلوط من الكلوراكس Chlorax، والإيثانول ٩٥٪ بنسبة ١:١ لمدة دقيقة ونصف إلى دقيقتين، على أن تغسل بعد ذلك مباشرة – عدة مرات – بالماء المعقم، ثم تجفف باستخدام ورق ترشيح معقم.

٢ – وضع البذور فى طبقة رقيقة فى طبق بترى، ويوضع بجانبها زجاجة ساعة بها ورقة ترشيح مطوية يوضع عليها أربع نقط من البانوجن Panogen (وهو مركب Methyl Mercury dicyandiamide بتركيز ٢,٢٪). يغطى الطبق ويترك داخل كيس بلاستيكى فى حرارة الغرفة لمدة ٤٨ ساعة، حيث تصبح البذور بعد ذلك معقمة تمامًا.

٣ – غمر البذور فى حامض الكبريتيك المركز لمدة ٣٠ دقيقة فى حرارة تقل عن ٢٥°م مع التقليب كل عدة دقائق، ثم يصفى الحامض، وتغسل البذور بعد ذلك مباشرة من ثمانى مرات إلى تسع مرات بالماء المقطر المعقم، على أن تستخدم كميات كبيرة من الماء – خاصة فى المرة الأولى – لتجنب أى ارتفاع حاد فى درجة حرارة البذور. ويلى ذلك غسيل البذور فى ١٠٠ مل من الماء المقطر المعقم المضاف إليه ٢–٣ مل من ٣٠٪ فوق أكسيد الأيدروجين.

تعقيم النيماتودا

يلزم تعقيم النيماتودا عند الرغبة فى نقلها إلى الآجار فى أنابيب الاختبار، أو عند الرغبة فى إكثارها على مزارع الجذور أو الكالس. وتتم عملية تعقيم النيماتودا كما يلى:

١ – يحصل على النيماتودا المرغوب فيها من التربة أو النباتات المصابة باستخدام قمع بيرمان Baermann، وتبدأ إجراءات التعقيم بعد ذلك مباشرة وهى مازالت فى حالة نشطة.

٢ – تغسل النيماتودا ٤–٥ مرات بماء مقطر معقم، مع ترسيب النيماتودا – بعد كل مرة غسيل – باستخدام جهاز طرد مركزى، والتخلص من ماء الغسيل (الرائق العلوى) باستعمال ماصة.

٣ – توضع النيماتودا بعد ذلك فى محلول Hibitane diacetate بتركيز ٠,١–٠,٥٪، لمدة ٥–٢٠ دقيقة، حيث يستخدم التركيز المنخفض – لفترة طويلة – مع النيماتودا الحساسة للمركب.

٤ – تعقيم النيماتودا الحساسة للـ Hibitane بتعريضها ٤–٥ مرات لمخلوط، مكون من ٢٠٠ جزء فى المليون من الـ malachite green، و ١٠٠٠ جزء فى المليون من كبريتات الاستربتومايسين Streptomycin sulfate.

٥ – تنقل النيماتودا بعد ذلك إلى مزارع الكالس، أو إلى مزارع الجذور، ويكون نقل النيماتودا إما مفردة باستخدام إبرة تشريح، وإما متجمعة بواسطة ماصة. ويمكن تحضير نسيج الكالس بتطهير بذور البرسيم الحجازى بواسطة محلول السليمانى، ومعاملة البادرات بالـ 2,4-D بتركيز ٤ مجم/لتر لمدة دقيقة واحدة، ثم تنميتها لمدة أسبوع على بيئة White فى أنابيب اختبار.

تعقيم البيئات

يكون تعقيم كل أنواع البيئات فى الأوتوكليف على ١٢١°م، وتتوقف المدة اللازمة لاكتمال التعقيم على حجم أوعية البيئات كما يلى:

الوعاء	المدة
دوارق مخروطية سعة ٢٠٠٠–٣٠٠٠ مل	٢٠ دقيقة
دوارق مخروطية سعة ١٠٠٠–١٥٠٠ مل	١٥ دقيقة
دوارق مخروطية سعة ٥٠٠ مل	١٢ دقيقة
دوارق مخروطية سعة ١٢٥–٢٥٠ مل	١٠ دقائق

الوعاء	المدة
دوارق مخروطية سعة ٥٠ مل	٣-٦ دقائق
أنابيب اختبار	٣-٦ دقائق

الماء المعقم

يطلق على أنابيب الاختبار التى يحفظ فيها الماء المعقم (ماء **الصنبور أو الماء المقطر**) اسم Water Blanks. ويوضع عادة نحو ١٠-١٥ مل من الماء فى **كل أنبوبة اختبار**، ثم تغلق بالقطن وتعقم. كما قد تستخدم أحجام مختلفة من **الدوارق المخروطية** لنفس الغرض. وتفيد الـ Water Blanks فى تخفيف البيئات المعقمة، وفى تحضير معقمات البكتيريا أو الجراثيم الفطرية ... إلخ.

بيئات زراعة مسببات الأمراض

البيئات الشائعة الاستخدام

١ - بيئة البطاطس والدكستروز والآجار Potato-Dextrose-Agar (PDA):

تستخدم هذه البيئة لمزارع الفطريات بوجه عام، وتحضر من المكونات التالية:

المكون	الكمية
شرائح بطاطس كاملة	٢٠٠ جم
دكستروز	٢٠ جم
آجار مطحون	١٧ جم
ماء	١٠٠٠ مل

تقطع البطاطس إلى شرائح وتوضع فى ٥٠٠ مل ماء على درجة الغليان لمدة ٤٠ دقيقة. يسخن ٥٠٠ مل أخرى من الماء إلى درجة الغليان. ثم يضاف إليها الآجار المطحون مع التقليب. ويراعى تقليل اللهب أثناء إضافة الآجار حتى لا يحدث فوران. يستمر التقليب لحين ذوبان كل الآجار. يلى ذلك إضافة الدكستروز إلى الآجار، ثم يضاف إليها مستخلص البطاطس، ويكمل الحجم إلى ١٠٠٠ مل.