



استفاده از محلول مولتی اکسیدانت در بهینه سازی گند زدایی گیاهان زینتی در آزمایشگاه

کشت بافت گیاهی شرکت مزارع نوین ایرانیان

محمد امین قنبری جهرمی^{۱*}، شهرام جعفرنیا^۲، مهناز سلاطین^۳

۱- دانش آموخته دوره دکتری، بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

۲- واحد دانش بنیان شرکت مزارع نوین ایرانیان

۳- تحقیقات شرکت مزارع نوین ایرانیان

✉ ma.ghanbari@shirazu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۶/۳۱، تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۸/۹، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۸/۱۱

چکیده

میکروارگانیزم‌های آلوده کننده در آزمایشگاه‌های کشت بافت، دارای منشا گیاهی، انسانی و یا محیطی است. بروز این آلودگی با منشا محیطی به طور گسترده رخ می‌دهد. محلول مولتی اکسیدانت برای گندزدایی آب، در مقایسه با روش‌های دیگر دارای مزایای گوناگونی مانند قدرت گندزدایی بالا، کلر کمتر باقی مانده در آب، طعم و بوی بهبود یافته، حذف بیوفilm و دارای ایمنی زیستی است. وجود عوامل مختلف گندزدایی کننده فوق موجب کارایی بالای این محلول می‌شود. این محلول موثرتر از سفید کننده (دارای هیپوکلوریت سدیم) است و می‌تواند کاربردهای گوناگونی داشته باشد. این ماده می‌تواند بدلیل ویژگی‌های بالقوه خود، گزینه خوبی به عنوان گندزدا در آزمایشگاه‌های کشت بافت باشد. اثر غلظت‌های مختلف محلول مولتی اکسیدانت (۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ پی پی ام در چهار زمان ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ دقیقه) برای کنترل آلودگی‌های قارچی و باکتریایی ریزنمونه‌های سه گونه ژربرا، ارکیده فالنوپسیس و هاورتیا و همچنین میزان بررسی آلودگی‌های قارچی و باکتریایی موجود در هوا پس از استفاده از آنولیت با چهار غلظت ۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ پی پی ام و با استفاده از فوگر به مدت ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ دقیقه به صورت مه پاشی و در چهار زمان از سال، بررسی شد. استفاده از غلظت ۴۰۰ پی پی ام محلول مولتی اکسیدانت آنولیت به مدت ۸۰ دقیقه غوطه وری ریزنمونه‌های کشت بافتی، سبب کنترل آلودگی قارچی در ریزنمونه‌های هر سه گونه گیاهی شد. اما کنترل باکتریایی بسته به گونه گیاهی مورد استفاده ممکن است به طور کامل برطرف نشود. بنابراین، استفاده از محلول ۷۰٪ اتانول بین ۳۰ تا ۶۰ ثانیه برای گندزدایی ریزنمونه‌های گیاهی در کنار استفاده از آنولیت توصیه می‌شود. همچنین، کاربرد غلظت ۴۰۰ پی پی ام آنولیت به مدت ۱۵ یا ۲۰ دقیقه، می‌تواند آلودگی‌های هوازاد را در آزمایشگاه به حداقل برساند. از مزایای دیگر استفاده از این محلول مولتی اکسیدانت، این است که موجب سمیت برای گیاه و کاربر و همچنین خوردگی فلزات نمی‌شود. محلول مولتی اکسیدانت آنولیت



به عنوان گندزدای مناسب و بدون آسیب رسانی به بافت گیاه، برای تیمار گیاهان و همچنین کنترل آلودگی هوای آزمایشگاه‌های کشت بافت گیاهی قابل توصیه است.

واژه‌های کلیدی: آلودگی قارچی و باکتریایی، کشت بافت گیاهی، گندزدایی و محلول مولتی اکسیدانت.

مقدمه

یاخته‌ها، بافت‌ها و اندام‌های گیاهی به طور گسترده‌ای در پژوهش‌ها، برای نمونه در تولید تجاری متابولیت‌های گیاهی، زیست‌دگرگونی دارویی^۱، تولید پروتئین‌هایی مانند آنتی بیوتیک‌ها، دستورزی ژنتیکی گیاهی و ریزافزایی گیاهان به کار می‌روند (Trigiano & Gray., 2016). در همه کاربردها، حذف آلودگی میکروبی (از جمله باکتریایی، قارچی و ویروسی) در کشت‌ها و توده‌های گیاهی در گام اول یک ضرورت است (Cassells., 2012; Sarmast & Salehi, 2016). میکروارگانیسم‌های آلوده کننده در آزمایشگاه‌های کشت بافت، دارای منشا گیاهی، انسانی و یا محیطی است (Odutayo *et al.*, 2007). بروز این آلودگی با منشا محیطی در همه جای دنیا رخ می‌دهد اما در برخی از مناطق این آلودگی دارای الگوی فصلی است (Reed & Tanperasert, 1995; Cassells, 2012) که نوع مدیریت هوای آزمایشگاه را در طول سال با چالش روبرو می‌کند. به طور کلی، مدیریت آلودگی درون زاد (از محیط) و برون زاد (از گیاه) در آزمایشگاه و اتاق رشد بستگی به کاربرد اصول بیماری شناسی گیاهی، میکروبیولوژی بالینی و مدیریت تحلیل زیان و کنترل نقاط بحرانی^۲ (HACCP) دارد (Leifert & Casslls, 2001; Wallace & Mortimore, 2016) و در مراحل مختلف انتخاب گیاه مادری و آماده سازی آن، استقرار کشت‌های درون شیشه ای، بازگرداندن گیاهچه‌های درون شیشه‌ای به محیط بیرون و مرحله سازگاری به کار گرفته می‌شوند. گزارش شده است که استفاده پی در پی از آنتی بیوتیک‌ها و ترکیب‌های گندزدای شیمیایی ممکن است موجب سمیت در گیاه یا کاهش رشد بافت گیاهی شود (Strange, 2003). استفاده از ترکیب‌های شیمیایی موجود برای گندزدایی آزمایشگاه و اتاق‌های رشد باید توسط افراد حرفه‌ای انجام شود و همچنین به‌کارگیری آن‌ها موجب توقف فعالیت آزمایشگاه برای یک دوره می‌شود (Cassells, 2012). از این رو، به‌کارگیری مواد شیمیایی کارا تر در گندزدایی و با سمیت کمتر برای نمونه‌های گیاهی و کاربران فعالیت‌های کشت بافتی توصیه می‌شود.

محلول مولتی اکسیدانت^۳، یک نوع محلول گندزدا با pH خنثی است که برای گندزدایی و از بین بردن میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در آب و در کاربردهای مختلف از جمله آشامیدنی، صنعتی، تصفیه فاضلاب و پساب، گندزدایی آب استخر و ... استفاده می‌شود. محلول مولتی اکسیدانت برای گندزدایی آب، در مقایسه با روش‌های دیگر (مانند هیپوکلریت سدیم، هیپوکلریت کلسیم، گاز کلر و هوادهی از راه پخش کردن و پاشیدن قطرات آب)، دارای مزایای فراوانی مانند قدرت گندزدایی بالا، کلر کمتر باقی مانده در آب، طعم و بوی بهبود یافته، حذف بیوفیلیم و دارای ایمنی زیستی است (Venczel *et al.*, 1997). محلول مولتی اکسیدانت از الکترولیز نمک (کلرید سدیم) تولید می‌شود و یکی از ترکیبات گندزدایی است (Bradford., 2011). جزء اصلی این



محصول کلر و مشتقات آن (محلول ClO^- ، HClO و Cl_2) است. همچنین، دارای مقادیر زیادی از محلول دی اکسید کلر (ClO_2)، ازن، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و اکسیژن است. وجود عوامل مختلف گندزدایی کننده فوق موجب کارایی بالای این محلول می‌گردد به گونه‌ای که موثرتر از سفید کننده (دارای هیپوکلوریت سدیم) است و می‌تواند برای انواع کاربردها مورد استفاده قرار گیرد (Solsona & Pearson, 1995). بر اساس دانش ما، تا کنون پژوهشی در زمینه کاربرد مولتی اکسیدانت‌ها در شرایط درون شیشه‌ای و کنترل آلودگی محیطی آزمایشگاه‌های کشت بافتی، انجام نگرفته است.

هدف از این پژوهش، بررسی اثر غلظت‌های مختلف محلول مولتی اکسیدانت برای کنترل آلودگی‌های قارچی و باکتریایی ریزنمونه‌های سه گونه ژربرا، ارکیده فالنوپسیس و هاورتیا و همچنین میزان بررسی آلودگی‌های قارچی و باکتریایی موجود در هوا در چهار زمان از سال در آزمایشگاه تجاری کشت بافت گیاهی شرکت مزارع نوین ایرانیان بود.

مواد و روش‌ها

در زمینه‌ها و صنایع متفاوت از مولتی اکسیدانت‌ها استفاده شده است. در این پژوهش اقدام به بهینه سازی سیستم گندزدایی در صنعت کشت بافت با استفاده از مولتی اکسیدانت آنولیت^۱ (KMT^۲، ایران) شد. برای این منظور آزمایش‌های جداگانه‌ای برای گندزدایی ریزنمونه‌ها و هوای آزمایشگاه طراحی شد. برای گندزدایی ریزنمونه‌های برگ‌های گونه‌های ژربرا (*Gerbera aurantiaca* Sch.Bip)، ارکیده فالنوپسیس (*Phalaenopsis amabilis* Blume) و هاورتیا (*Haworthia attenuata* (Haw.) G.D.Rowley)، پس از آنبوی اولیه ریزنمونه‌ها به زیر هود لامینار انتقال یافته و با چهار غلظت ۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ پی پی ام از محلول آنولیت در چهار زمان ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ دقیقه غوطه وری، تیمار شدند. پس از آن، همه نمونه‌ها با اتانول (۷۰ درصد به مدت ۱ دقیقه) تیمار شدند. در ادامه ریزنمونه‌ها با پنس و اسکالپل در اندازه حدود ۱/۲×۱/۲ سانتی متر برای ژربرا و فالنوپسیس و حدود ۰/۷×۱/۵ سانتی متر برای هاورتیا برش داده شده و در محیط کشت PDA^۳ کشت شدند. پس از آن درب شیشه‌های کشت شده با پارافیلیم درزگیری شدند و به اتاق رشد انتقال یافتند.

برای آزمایش گندزدایی هوا، چهار غلظت ۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ پی پی ام از محلول آنولیت با استفاده از فوگر به مدت ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ دقیقه در اتاق رشد ۲۰ متری استفاده شد. این آزمایش در چهار زمان در ماه‌های شهریور، آذر، اسفند و خرداد تکرار گردید و میزان آلودگی در شیشه‌های PDA قرار گرفته در قفسه‌ها بررسی شد. در این بخش از آزمایش درب شیشه‌ها بسته بوده اما با نوار پارافیلیم درزگیری نشدند.

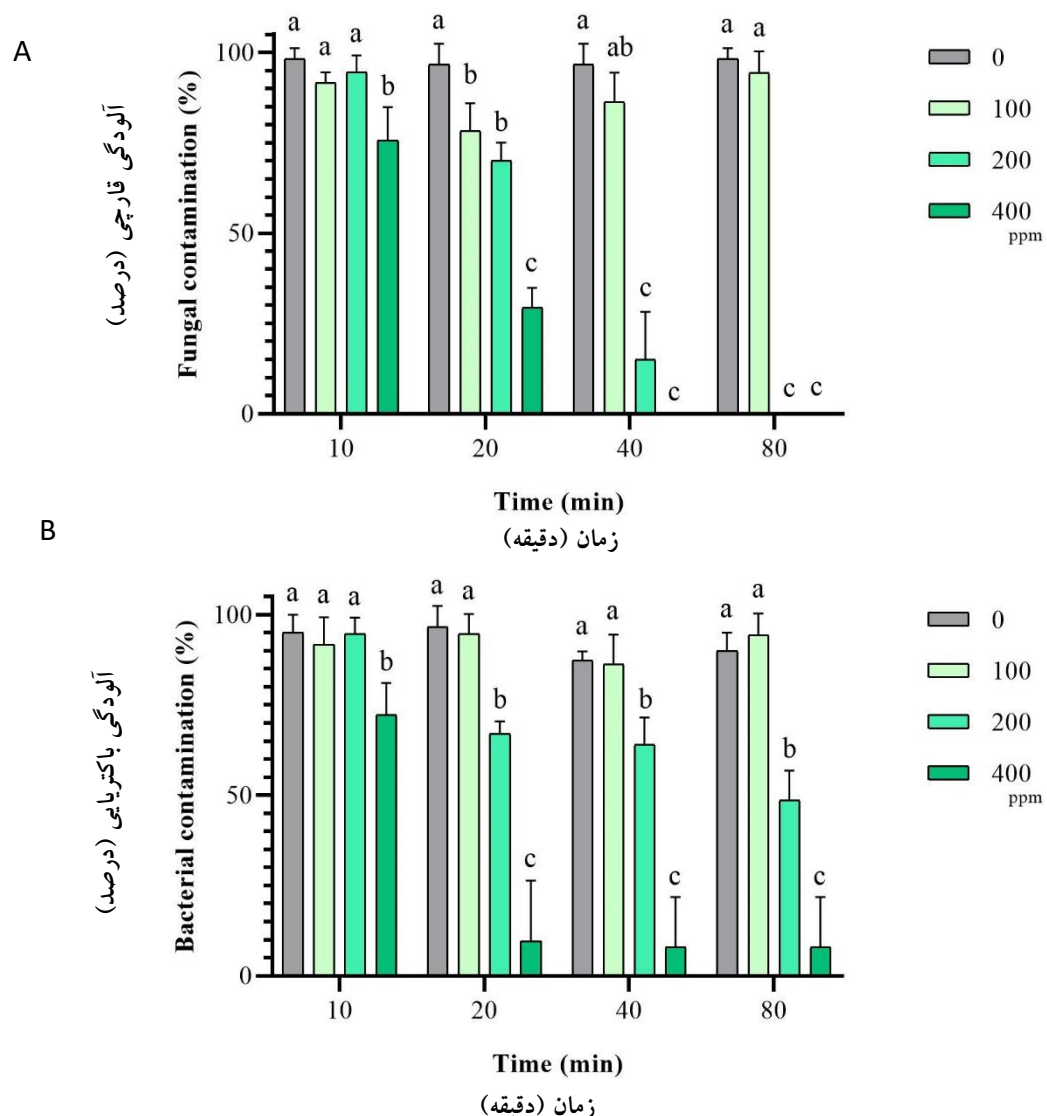
در این پژوهش، آلودگی‌های باکتریایی پس از ۱۵ روز و قارچی پس از ۱۰ روز از انجام تیمارها مورد ارزیابی و داده برداری گرفت. بررسی‌ها با استفاده تشخیص چشمی نوع (قارچی یا باکتریایی) و تعیین درصد آلودگی ریزنمونه‌ها و شیشه‌ها انجام شد. آزمایش‌ها به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی (برای آزمایش گندزدایی ریزنمونه‌ها) و کرت دوبار خورد شده در



زمان (برای آزمایش گندزدایی هوا) با چهار تکرار و پنج زیرتکرار و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح ۵ درصد انجام شد. داده‌ها با نرم افزار SAS 9.0 مورد آنالیز قرار گرفت.

نتایج و بحث

غوطه وری ریزنمونه‌های گیاه ژربرا در محلول‌های ۲۰۰ پی پی ام آنولیت به مدت ۸۰ دقیقه و ۴۰۰ پی پی ام به مدت ۴۰ و ۸۰ دقیقه توانست میزان آلودگی قارچی ریزنمونه‌ها را تا صفر درصد کاهش دهد. همچنین، استفاده از محلول ۴۰۰ پی پی ام آنولیت به مدت ۴۰ و ۸۰ دقیقه، توانست میزان آلودگی باکتریایی در ریزنمونه‌های گیاه ژربرا را به ۸ درصد برساند (شکل ۱).

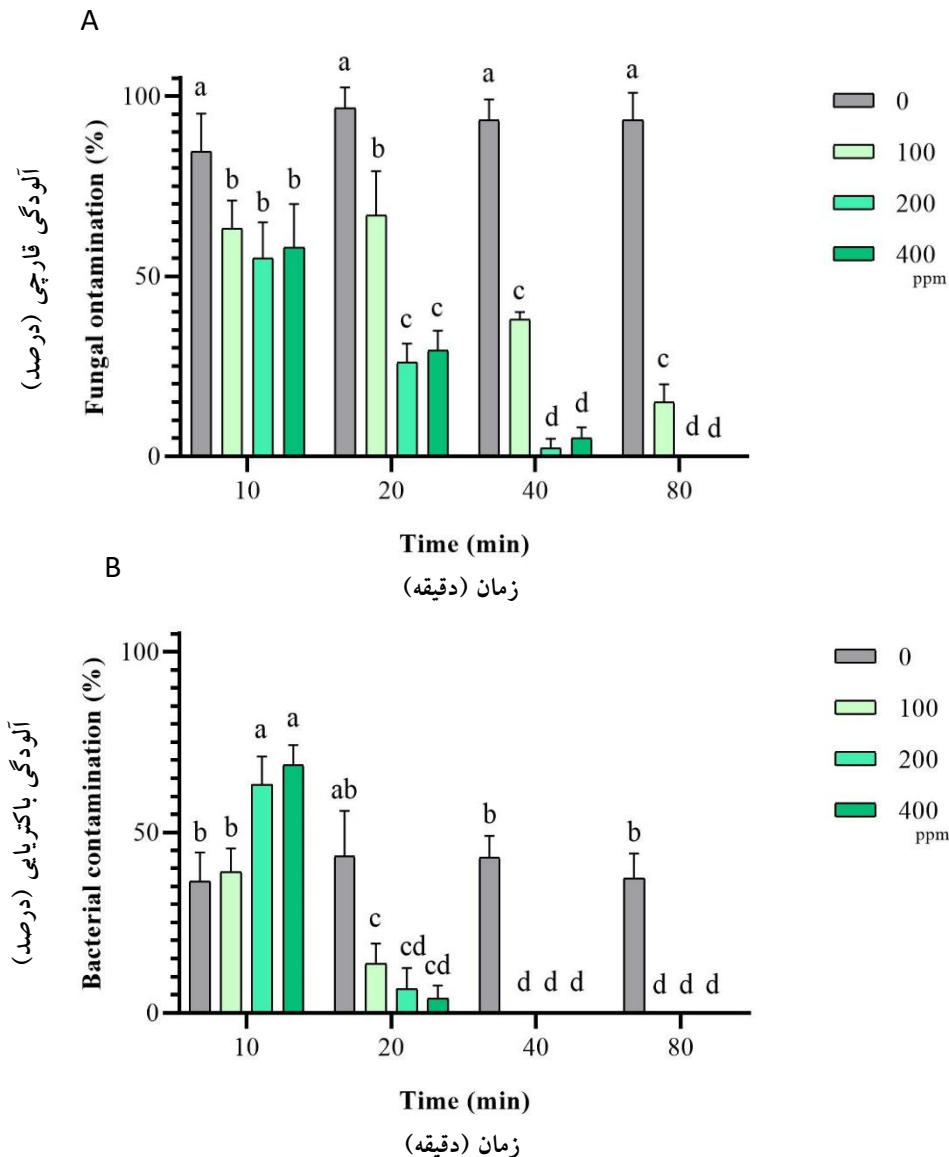


شکل ۱- اثر گندزدایی غلظت‌های مختلف آنولیت بر ریزنمونه‌های گیاه ژربرا. A. درصد آلودگی قارچی B. درصد آلودگی باکتریایی. * ستون‌هایی که دارای حروف یکسان هستند در سطح ۵٪ آزمون LSD تفاوت معنی دار با هم ندارند.

Figure 1. Effects of different concentrations of anolite on gerbera explants' contaminations. A. Percentage of fungal contamination B. Percentage of bacterial contamination. * Columns with the same letters are not significantly different at the 5% level of the LSD test.



افزون بر این، غوطه وری ریزنمونه‌های گیاه ارکید فالتوپسیس پیش از کاشت در محلول ۲۰۰ و ۴۰۰ پی پی ام آنولیت به مدت ۸۰ دقیقه، توانست میزان آلودگی قارچی را به طور معنا داری کاهش دهد و به صفر برساند. کاربرد ماده آنولیت با غلظت ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ پی پی ام در مدت زمان‌های ۴۰ و ۸۰ دقیقه، میزان آلودگی باکتریایی را در ریزنمونه‌های فالتوپسیس از بین برد و به صفر رسانید (شکل ۲).

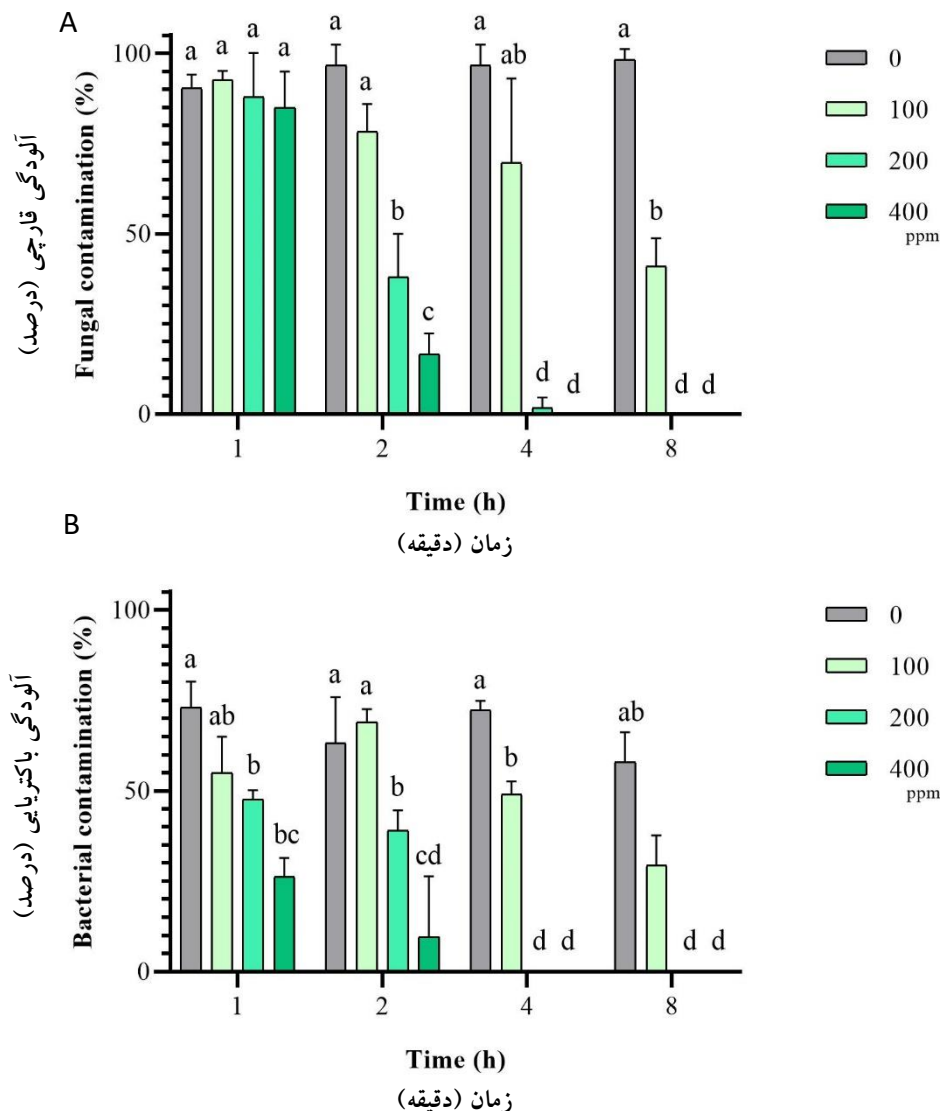


شکل ۲- اثر گندزدایی غلظت‌های مختلف آنولیت بر ریزنمونه‌های گیاه ارکید فالتوپسیس. A. درصد آلودگی قارچی B. درصد آلودگی باکتریایی. * ستون‌هایی که دارای حروف یکسان هستند در سطح ۵٪ آزمون LSD تفاوت معنی دار با هم ندارند.

Figure 2. Effects of different concentrations of anolite on phalaenopsis explants' contaminations. A. Percentage of fungal contamination B. Percentage of bacterial contamination. * Columns with the same letters are not significantly different at the 5% level of the LSD test.



به کارگیری آنولیت با غلظت ۲۰۰ پی پی ام به مدت ۸۰ دقیقه و استفاده از غلظت ۴۰۰ پی پی ام به مدت ۴۰ و ۸۰ دقیقه برای ریزنمونه‌های هاورتیا، موجب گندزدایی کامل قارچی شد. همچنین استفاده از غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ پی پی ام به مدت ۴۰ و ۸۰ دقیقه آلودگی باکتریایی را در ریزنمونه‌های گیاه هاورتیا به صفر رساند (شکل ۳). در شکل ۴ نمونه‌های کشت شده برای بررسی این پژوهش و همچنین نحوه گسترش آلودگی‌های قارچی و باکتریایی آورده شد.



شکل ۳- اثر گندزدایی غلظت‌های مختلف آنولیت بر ریزنمونه‌های گیاه هاورتیا. A. درصد آلودگی قارچی B. درصد آلودگی باکتریایی. * ستون‌هایی که دارای حروف یکسان هستند در سطح ۵٪ آزمون LSD تفاوت معنی دار با هم ندارند.

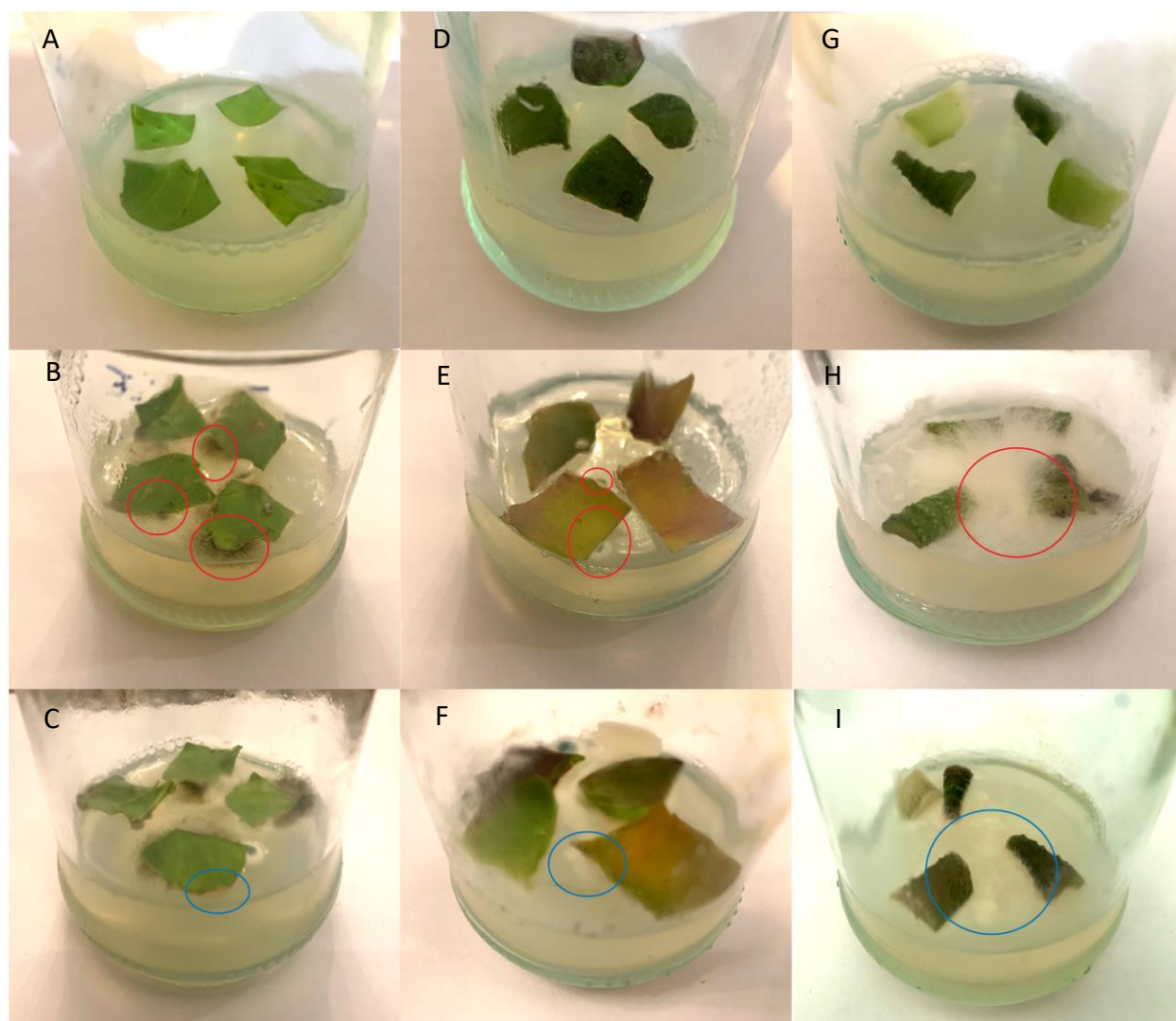
Figure 3. Effects of different concentrations of anolite on haworthia explants' contaminations. A. Percentage of fungal contamination B. Percentage of bacterial contamination. * Columns with the same letters are not significantly different at the 5% level of the LSD test.



بر اساس بررسی‌های پژوهشگران این مطالعه، تا کنون از مواد مولتی اکسیدانت در شرایط کشت بافتی استفاده نشده است اما مطالعه‌های قابل توجهی از عملکرد مثبت این محصولات برای برطرف کردن آلودگی‌ها در فراورده‌ها کشاورزی به چاپ رسیده است. گزارش شده است که استفاده از مولتی اکسیدانت ECAS^۱ می‌تواند به عنوان یک گندزدای ایمن، کارا، دوستدار طبیعت و ارزان قیمت، آلودگی‌های میکروبی در پس از برداشت اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) را کنترل کند (AD Ogunniyi et al., 2021). همچنین، استفاده از آنولیت برای پس از برداشت گیاه کاهو (*Lactuca sativa* L.) در مقایسه با مواد دارای کلورین (هیپوکلوریت سدیم)، توانسته است تا ۹۹/۹ درصد آلودگی‌ها را در برگ‌ها کنترل کند و چهار روز به عمر پس از برداشت آن بیافزاید. همچنین برگ‌های تیمار شده نیاز به آب کشی نداشتند (Alexandrovich et al., 2018). بنابراین، می‌توان انتظار داشت که استفاده از مولتی اکسیدانت‌ها در شرایط درون شیشه ای، می‌تواند امکان استفاده از غلظت‌های بالا و گندزدایی کامل را فراهم کند، زیرا سوختگی بافتی تا کنون برای استفاده از این ماده گزارش نشده است.

آلودگی‌های هوازاد می‌توانند در شرایط بیمارستانی (do Nascimento et al., 2019)، صنایع غذایی (Massoti et al., 2019)، آزمایشگاه‌های بیولوژیک (Umana et al., 2018)، آب آشامیدنی (Babič et al., 2017) و حتی درون خانه (Madureira et al., 2015) به صورت مستقیم و غیر مستقیم آسیب رسان شوند و گاهی تا مدت طولانی و به صورت اپیدمی (همه گیری)، مجموعه مورد هدف را با مشکلات زیادی روبرو کنند. آلودگی‌ها با منشا هوایی در شیشه‌های قرار گرفته در قفسه‌ها همگی به صورت قارچی بروز نمودند. میزان آلودگی قارچی بدون استفاده از آنولیت در هوای اتاق رشد در ماه‌های شهریور، آذر، اسفند و خرداد به ترتیب ۹۳/۷۵، ۸۳/۳۳، ۱۰۰ و ۸۱/۲۵ درصد بود که نشان دهنده حضور دائمی و بالای آلودگی قارچی در هوای آزمایشگاه بود. شیشه‌های کشت در آذر ماه بعد از تیمار ۱۰۰ پی پی ام آنولیت در هوا به مدت ۲۰ دقیقه و یا ۲۰۰ و ۴۰۰ پی پی ام به مدت ۱۵ و یا ۲۰ دقیقه آلودگی قارچی صفر درصد را نشان دادند. در شهریور ماه آلودگی قارچی تنها پس از تیمار ۴۰۰ پی پی ام و به مدت ۱۵ و یا ۲۰ دقیقه به حداقل (صفر درصد) رسید. شیشه‌های کشت شده در خرداد ماه با تیمار ۱۰۰ پی پی ام آنولیت به مدت ۲۰ دقیقه و یا ۲۰۰ و ۴۰۰ پی پی ام به مدت ۱۵ یا ۲۰ دقیقه آلودگی قارچی به همراه نداشتند. همچنین در اسفند ماه استفاده از ۴۰۰ پی پی ام آنولیت به مدت ۱۵ یا ۲۰ دقیقه رشد قارچ‌های هوازاد را در شیشه‌ها محدود کرد (جدول ۱).

در پژوهشی (Massoti et al., 2019) گزارش شده که روش‌های گندزدایی برای به حداقل رساندن تعداد میکروب‌ها در هوا به عنوان ضمانت اضافی پروتکل‌های بهداشتی شیمیایی استاندارد مورد بررسی قرار می‌گیرد. روش‌های پیشنهاد شده برای گندزدایی هوا، استفاده از مه پاشی مواد شیمیایی، ازن زنی، تابش پرتو فرابنفش یا پلاسما سرد هستند. استفاده از مولتی اکسیدانت‌ها به عنوان یک گندزدای قوی افزون بر تضمین پیشگیری آلودگی در فصل‌های مختلف، بر خلاف دیگر مواد شیمیایی، موجب خورندگی سطوح فلزی و مسمومیت برای انسان نمی‌شوند.



شکل ۴- نمونه‌های کشت شده و نوع پراکنش آلودگی گیاهان ژربرا (A تا C)، فالنوپسیس (D تا F) و هاورتیا (G تا I). دایره قرمز نشان‌دهنده آلودگی‌های قارچی و دایره آبی نشان‌دهنده آلودگی باکتریایی است.

Figure 4. Cultivated samples and type of infection distribution of Gerbera (A to C), Phalaenopsis (D to F) and Haworthia (G to I) plants. The red circle indicates fungal contamination and the blue circle indicates bacterial contamination.

جدول ۱- میزان درصد آلودگی قارچی در شیشه‌های کشت بافتی پس از کاربرد غلظت‌های مختلف مولتی اکسیدانت آنولیت.

Table 1. Percentage of fungal contamination in plant tissue culture jars after application of anolite.

زمان				مدت زمان	غلظت آنولیت
Time				مه افشانی	(پی پی ام)
آذر	شهریور	خرداد	اسفند	Fogging duration	Anolite conc. (ppm)
December	September	June	March		
83.33a	93.75a	81.25ab	100a		0
62.5b	100a	95a	93.75a	5 min	100
52.25b	25.56bc	75.25a	87a	10 min	
37.5bc	12.5c	12.5c	2.25c	15 min	
0.0c	5c	0.0c	1.25c	20 min	
87a	75.25a	100a	81.25a	5 min	200
37.5bc	37.5bc	12.5c	62.5b	10 min	
0.0c	6.25c	0.0c	5c	15 min	
0.0c	5c	0.0c	0.25c	20 min	
37.5bc	52.25b	29.25bc	62.5b	5 min	400
1.37c	0.25c	0.0c	12.5c	10 min	
0.0c	0.0c	0.0c	0.0c	15 min	
0.0c	0.0c	0.0c	0.0c	20 min	

* میانگین‌هایی که دارای حروف یکسان هستند در سطح ۵٪ آزمون LSD تفاوت معنی دار با هم ندارند.

*The means with the same letters are not significantly different at the 5% level of the LSD test.

نتیجه گیری

به طور کلی، بر اساس نتیجه‌های این پژوهش می‌توان گفت استفاده از غلظت ۴۰۰ پی پی ام محلول مولتی اکسیدانت آنولیت به مدت ۸۰ دقیقه غوطه وری ریزنمونه‌های کشت بافتی، می‌تواند موجب کنترل آلودگی قارچی در نمونه‌ها شود. اما کنترل باکتریایی بسته به گونه گیاهی مورد استفاده ممکن است به طور کامل برطرف نشود. بنابراین، استفاده از محلول ۷۰٪ اتانول بین ۳۰ تا ۶۰ ثانیه برای گندزدایی ریزنمونه‌های گیاهی در کنار استفاده از آنولیت توصیه می‌شود. از مزایای دیگر استفاده از این محلول مولتی اکسیدانت این است که بافت‌ها بر خلاف استفاده از کلراکس دارای سوختگی نیستند و این به احتمال زیاد به دلیل وجود pH خنثی این ماده است. همچنین بر اساس نتیجه‌های به دست آمده برای برطرف کردن آلودگی قارچی هوازاد می‌توان از محلول ۲۰۰ پی پی ام آنولیت به مدت ۱۵ دقیقه فوگر در هوا برای رفع آلودگی در شروع فصل‌های زمستان و تابستان (که عمدتاً هوا در این فصل‌ها دارای مقدار کمتری آلودگی قارچی است) استفاده نمود و آن را به طور ماهانه تکرار نمود. اما برای آغاز فصل‌های پاییز و بهار که حضور اسپورهای قارچی در هوا بسیار بیشتر است، استفاده از غلظت ۴۰۰ پی پی ام آنولیت به مدت ۱۵ یا ۲۰ دقیقه می‌تواند آلودگی‌های هوازاد را در آزمایشگاه به حداقل برساند. از دیگر مزایای استفاده از آنولیت غیر سمی بودن آن برای بدن انسان و عدم خورندگی آن برای قفسه‌ها و اتصالات موجود در آزمایشگاه است.



منابع

- Alexandrovich, S.O., Yurievna, V.S., Olegovich, P.I., Yurievna, K.N., Ilyinichna, V.L., Pavlovna, Y.T. (2018). Provision of microbiological safety in the food industry based on special technological supporting solutions. *International Journal of Pharmaceutical Research, Allied Sciences*, 7(1), 103-113.
- Babič, M.N., Gunde-Cimerman, N., Vargha, M., Tischner, Z., Magyar, D., Veríssimo, C., Brandão, J. (2017). Fungal contaminants in drinking water regulation? A tale of ecology, exposure, purification and clinical relevance. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(6), 636.
- Bradford. (2011). The Differences between On-Site Generated Mixed-Oxidant Solution and Sodium Hypochlorite, MIOX Master Features Summary.
- Cassells, A.C. (2012). Pathogen and biological contamination management in plant tissue culture: phytopathogens, vitro pathogens, and vitro pests. In: V.M. Loyola-Vargas (ed.), *Plant Cell Culture Protocols* (pp. 57-80). Humana Press, Totowa, NJ.
- do Nascimento, J.P.M., López, A.M.Q., Andrade, M. (2019). Airborne fungi in indoor hospital environments. *International Journal of Current Microbiology Applied Science*, 8(1), 2749-2772.
- Leifert, C., Cassells, A.C. (2001). Microbial hazards in plant tissue and cell cultures. *In Vitro Cellular, Developmental Biology-Plant*, 37(2), 133-138.
- Madureira, J., Paciência, I., Rufo, J.C., Pereira, C., Teixeira, J.P., de Oliveira Fernandes, E. (2015). Assessment and determinants of airborne bacterial and fungal concentrations in different indoor environments: Homes, child day-care centres, primary schools and elderly care centres. *Atmospheric Environment*, 109, 139-146.
- Masotti, F., Cattaneo, S., Stuknytė, M., De Noni, I. (2019). Airborne contamination in the food industry: An update on monitoring and disinfection techniques of air. *Trends in Food Science, Technology*, 90, 147-156.
- Odutayo, O.I., Amusa, N.A., Okutade, O.O., Ogunsanwo, Y.R. (2007). Determination of the sources of microbial contaminants of cultured plant tissues. *Plant Pathology Journal*, 6(1), 77-81.
- Ogunniyi, A.D., Tenzin, S., Ferro, S., Venter, H., Pi, H., Amorico, T., Trott, D.J. (2021). A pH-neutral electrolyzed oxidizing water significantly reduces microbial contamination of fresh spinach leaves. *Food Microbiology*, 93, 103614.
- Reed, B.M., Tanprasert, P. (1995). Detection and control of bacterial contaminants of plant tissue cultures. A review of recent literature. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 1(3), 137-142.
- Sarmast, M.K., Salehi, H. (2016). Silver nanoparticles: an influential element in plant nanobiotechnology. *Molecular Biotechnology*, 58(7), 441-449.
- Solsona, F., Pearson, I. (1995). *Non-conventional Disinfection Technologies for Small Water Systems*. WRC Report No. 449/1/95, CSIR, Pretoria, SA,
- Strange, R. N. (2003). *Introduction to Plant Pathology*. John Wiley, Sons.
- Trigiano, R.N., Gray, D.J. (2016). *Plant Tissue Culture, Development, and Biotechnology*. CRC Press.
- Umana, S., Edet, N., Uko, M., Agbo, B., Bassey, M. (2018). Microbiological quality of indoor and outdoor air within biological sciences Laboratories in Akwa Ibom State University, Nigeria. *Frontiers in Environmental Microbiology*, 4(6), 124-132.
- Venczel, M., Arrowood, M., Sobsey, M.D. (1997). Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts and *Clostridium perfringens* spores by a mixed-oxidant disinfectant and by free chlorine. *Applied Environmental Microbiology*, 63(11), 4625.
- Wallace, C.A., Holyoak, L., Powell, S.C., Dykes, F.C. (2014). HACCP—the difficulty with hazard analysis. *Food Control*, 35(1), 233-240.



Use of multioxidant solution for optimizing the disinfection of ornamental explants in the plant tissue culture laboratory of Mazare Novin Iranian Company

Mohammad Amin Ghanbari Jahromi^{1*}, Shahram Jafarnia², Mahnaz Salatin³

1. Former Graduate Student, Department of Horticultural Sciences, School of Agriculture, Shiraz University
2. Knowledge Base Unit of Mazare Novin Iranian Company
3. Research Center of Mazare Novin Iranian Company

✉ ma.ghanbari@shirazu.ac.ir

Received: 2021/09/22, Revised: 2021/10/29, Accepted: 2021/11/02

Abstract

Contaminating microorganisms in tissue culture laboratories are from plant, human or environmental sources. The occurrence of this contamination of environmental origin occurs globally. The multioxidant solution for water disinfection, compared to other methods, has several advantages such as high disinfectant power, less chlorine residue in the water, improved taste and smell, biofilm removal and biosafety. The presence of above-mentioned various disinfecting factors causes the high efficiency of this solution. This solution is more effective than bleach and can be used for a variety of applications. Effect of different concentrations of multioxidant solution (0, 100, 200 and 400 ppm for 10, 20, 40 and 80 min) to control fungal and bacterial contamination of explants of three species of *Gerbera*, *Phalanopsis* orchid and *Hawortia* as well as the rate of fungal and bacterial contamination in the air after the use of anolyte (four concentrations of 0, 100, 200 and 400 ppm of anolyte solution using fogger for 5, 10, 15 and 20 min to Fog application) was examined at four times of the year in the commercial plant tissue culture laboratory of New Iranian Farms Company. The use of 400 ppm of anolytic multioxidant solution for 80 min of immersion in tissue culture explants can control fungal contamination in the explants. But bacterial control may not be completely eliminated depending on the plant species used. Therefore, the use of 70% ethanol solution for 30 to 60 seconds is recommended for disinfection of plant explants along with the use of anolyte. Another advantage of using this multioxidant solution is that the tissues do not burn, unlike the use of sodium hypochlorite, and this is most likely due to the neutral pH of this substance.

Keywords: Anolyte, Disinfection, Fungal and bacterial contaminations, Multioxidant solution, Plant tissue culture.