الإكثار الدقيق للفراولة

تتضمن مزارع القمة النامية الميرستيمية للفراولة ثلاث خطوات، كما يلى:

١ – إنتاج نباتات خالية من الأمراض والنيماتودا فى المختبر.

٢ – زراعة النباتات الناتجة من الخطوة الأولى تحت ظروف محكمة فى بيت محمىّ.

٣ – زراعة النباتات الناتجة من الخطوة الثانية فى مشتل حقلى لمدة موسم واحد فقط.

مزايا الإكثار الدقيق

من أهم مزايا الإكثار الدقيق للفراولة، ما يلى:

١ – الإكثار السريع للتراكيب الوراثية الجديدة أو النادرة المرغوب فيها، والأصناف الدائمة الحمل، فى أى وقت من السنة، وخلال فترة قصيرة، وفى مساحة محدودة.

٢ – إنتاج نباتات خالية من مختلف الإصابات المرضية – بما فى ذلك الفيروسية – والحشرات والنيماتودا.

٣ – تكون النباتات الناتجة من مزارع القمة الميرستيمية أقوى نموًّا، وذات قدرة أكبر على إنتاج المدادات، وأكثر إنتاجية عن تلك التى تنتج بطرق الإكثار التقليدية. وينطبق ذلك على أول وثانى إكثار لتلك الأمهات التى تنتج من زراعات الأنسجة، شريطة ألا تكون قد أعيدت زراعتها (نقلها) فى مزارع الأنسجة أكثر من ١٠–١٢ مرة. وتكون ظاهرة تفوق النباتات الناتجة من مزارع الأنسجة فى النمو وإنتاج المدادات أكثر وضوحًا فى الأصناف المحايدة للفترة الضوئية عنها فى الأصناف القصيرة النهار.

٤ – إمكان حفظ الجيرمبلازم المتوفر من الفراولة فى حيز ضيق.

التجهيزات التى تلزم للإكثار الدقيق للفراولة

يلزم لأجل الإكثار الدقيق للفراولة، توفر ما يلى:

١ – مختبر بسيط مزود بأجهزة عادية وزجاجيات لتحضير البيئات، والتعقيم، وتداول وفحص النباتات.

٢ – حجرة نقل transfer room مزودة بـ laminar flow cabinets، ومتصلة بالمختبر.

٣ – حجرة نمو growth room مزودة بأجهزة التكييف والإضاءة الفلورسنتية (النيون)، ومتصلة بالمختبر.

٤ – صوبة (بيت محميّ) مزودة بفتحات تهوية مغطاة بشبك دقيق مانع لدخول الحشرات الصغيرة، وبالمناضد (البنشات)، والرذاذ mist والإضاءة التنجستين من أعلى، ونظام للتبريد بطريقة المروحة والوسادة.

٥ – حجرة حرارية heat chamber.

٦ – حجرة تخزين مبردة.

٧ – حجرتا نمو مزودتان بوسائل التحكم فى درجة الحرارة وشدة الإضاءة بدقة.

إجراءات التخلص من الفيروسات والميكوبلازمات

إن مصادر نباتات الأمهات التى تستعمل فى إنتاج شتلات الفراولة فى المشاتل الحقلية يجب أن تكون ناتجة من الإكثار الدقيق لقمم ميرستيمية (ذات الخلايا الإنشائية) سبق تعريضها لحرارة ٣٥–٣٧°م لمدة ٦ أسابيع – لتثبيط تكاثر الفيروسات فيها. ويعد إكثار الفراولة باستعمال القمة الخضرية الميرستيمية (القمة الميرستيمية وحدها أو مع عدد قليل من مبادئ الأوراق) هو الوسيلة الوحيدة المؤكدة لضمان الثبات الوراثى للنسل، ولتوفير أعداد كبيرة من نباتات الأمهات الخالية من الإصابات الفيروسية خلال فترة وجيزة.

تُصاب الفراولة بأكثر من ٥٤ فيروسًا وثمانى ميكوبلازمات، ويكون الهدف من المعاملة الحرارية مع زراعة القمة الميرستيمة فقط التخلص من أى إصابة محتملة بأى من هذه الفيروسات والميكوبلازمات التى يمكن أن تقلل المحصول بنسبة تصل إلى ٨٠٪، وتقلل إنتاج المدادات بدرجة كبيرة كذلك. وتسمح المعاملة الحرارية بنمو القمة الميرستيمية – قبل زراعتها – بسرعة تزيد عن سرعة وصول الفيرس إليها. ويتم إخضاع النباتات الناتجة من مزارع القمة الميرستيمية لاختبارات الإليزا ELISA أو اختبار سَبر الدنا DNA probe للتأكد من خلوها من فيروسات معينة.

إجراءات التحقق من هوية الأصناف المكثرة

يتم التحقق من هوية أصناف الفراولة باختبارات الـ finger printing، وأكثرها شيوعًا - حاليًا - اختبارات الـ PCR (=Polymerase Chain Reaction)، مثل الـ RAPDs (=Amplified Polymorphic DNAs) (Fiola ١٩٩٦).

دورة الإكثار الدقيق للفراولة

اختيار النباتات التى يُراد إكثارها ومعاملتها حراريًا

تبدأ عملية الإكثار الدقيق للفراولة باختيار النباتات التى يُراد إكثارها، وزراعتها فى أصص، ومعاملتها بالحرارة (٣٦°م لمدة ٦ أسابيع)، ثم وضعها فى الصوبة، وتوفير الظروف المناسبة لها لكى تنتج مدادات بوفرة (شكل ٥-١، يوجد فى آخر الكتاب)؛ لأن القمم النامية لتلك المدادات هى التى تتم زراعتها.

مرحلة فصل القمة الميرستيمية وزراعتها فى البيئة الصناعية

تبدأ عملية الإكثار الدقيق سنويًا بغمس قمم المدادات التى يُراد استعمالها فى الإكثار فى محلول هيبوكلوريت صوديوم بتركيز ٠,٩٪ لمدة ١٠ دقائق، ثم غسلها ثلاث مرات بالماء المعقم قبل قطع القمة الميرستيمية النامية مباشرة. يجب اختيار القمم النامية الحديثة التكوين، وقطعها بطول ٠,١-٠,٥مم، علمًا بأن فرصة نجاح زراعة القمة النامية تقل كلما صغر الميرستيم القمى المفصول إلى أن تنعدم تقريبًا عندما يبلغ طوله ٠,١ مم، كما أن القمم النامية التى يزيد طولها عن ٠,٧مم قد لا تكون خالية تمامًا من الإصابات الفيروسية. يوضع الميرستيم المفصول - تحت ظروف معقمة - فى أنابيب اختبار تحتوى على ١٠ مل (سم٣) من بيئة آجار مغذية سبق تعقيمها فى الأوتوكليف لمدة ١٥ دقيقة تحت ضغط كيلو جرام واحد على السنتيمتر المربع.

تستعمل البيئة المغذية رقم ١ (جدول ٥-١) فى مزارع القمة الميرستيمية meristem tip culture، وهى عبارة عن محلول نوب Knop's solution مزود بالعناصر الدقيقة والمكونات العضوية لبيئة موراشيج وسكوج Murashige-Skoog medium، ومع استعمال إندول حامض البيوتريك IBA بدلاً من إندول حامض الخليك IAA، والسيتوكنين:

6-benzylaminopurine (اختصارًا: BAP) بدلاً من الكينتين Kinetin (وذلك بهدف تحفيز إنقسام الخلايا الميرستيمية، حيث تعطى الفراولة فى وجودة عديدًا من البراعم الإبطية التى ينمو كل منها إلى فرع يعطى براعم إبطية أخرى ... وهكذا)، والجلوكوز بدلاً من السكروز.

توضع المزارع فى حجرة النمو على حرارة ٢٥°م وإضاءة لمدة ١٦ ساعة يوميًّا، مع توفير الإضاءة من لمبات فلورسنتية بقوة ٢٠٠٠-٢٥٠٠ لكس lux عند مستوى الجزء النباتى المزروع.

وعادة .. تبلغ نسبة تلوث المزارع فى هذه المرحلة - فى الظروف الجيدة - حوالى ٢٠٪.

وبعد نحو أربعة أسابيع من البقاء فى حجرة النمو تكون الميرستيمات قد نمت بالقدر الكافى لنقلها إلى بيئة الإكثار.

مرحلة الإكثار Proliferation أو التكاثر Multiplication

تستعمل البيئة رقم ٢ (جدول ٥-١) فى الإكثار، وهى بيئة موراشيج وسكوج قياسية مزودة بالـ BAP، ومع استعمال IBA بدلاً من IAA، و BAP بدلاً من الكينتين، والجلوكوز بدلاً من السكروز.

فى بيئة الإكثار يبدأ التكاثر سريعًا وتتكون تكتلات أو باقات tufts من السيقان؛ ففى خلال ١٢-١٥ يومًا من النقل إلى بيئة الإكثار تتكون براعم جانبية على النموات النامية من الميرستيم، تعطى بدورها نموات صغيرة يحتوى كل منها على ٢-٣ وريقات صغيرة. تنقل تلك التكتلات - منفردة - إلى بيئة جديدة كل ٤-٥ أسابيع، ولكن لا يجرى سوى ٣-٤ نقلات متتالية خلال فترة التكاثر لتقليل احتمالات ظهور الطفرات أثناء التكاثر، إلاّ أن بعض المختبرات تُجرى من ٥-١٠ نقلات متتالية. وفى كل عملية نقل تفصل التكتلات الكبيرة إلى نبيتات explants مفردة أو إلى تكتلات صغيرة يحتوى كل منها على ٣-٥ نبيتات صغيرة. وتجرى جميع عمليات النقل فى laminar flow cabinets فى ظروف معقمة. تختلف أصناف الفراولة فى سرعة تضاعف أعداد نباتاتها كل ٤ أسابيع بين ٤، و ٧ أضعاف، بمتوسط عام قدره ٥ أضعاف كل ٤ أسابيع.

جدول (٥-١): البيئات المستخدمة فى الإكثار الدقيق للفراولة.

المكونات	الكمية بالمليجرام /لتر من البيئة		
	بيئة ١ لزراعة الميرستيم	بيئة ٢ للتكاثر	بيئة ٣ للتجذير
أملاح العناصر الكبرى			
NH_4NO_3	—	١٦٥٠	١٦٥٠
$Ca(NO_3)_2\ 4H_2O$	١٠٠٠	—	—
$Ca\ Cl_2\ 2H_2O$	—	٤٤٠	٤٤٠
KNO_3	٢٥٠	١٩٠٠	١٩٠٠
$MgSO_4\ 7H_2O$	٢٥٠	٣٧٠	٣٧٠
KH_2PO_4	٢٥٠	١٧٠	١٧٠
أملاح العناصر الصغرى			
$MnSO_4\ 4H_2O$	١٦,٠	١٦,٠	١٦,٠
$ZnSO_4\ 4H_2O$	٨,٦	٨,٦	٨,٦
H_3BO_3	٦,٢	٦,٢	٦,٢
KI	٠,٨٣	٠,٨٣	٠,٨٣
$NaMoO_4\ 2H_2O$	٠,٢٥	٠,٢٥	٠,٢٥
$CuSO_4\ 5H_2O$	٠,٠٢٥	٠,٠٢٥	٠,٠٢٥
$CoCl_2\ 6H_2O$	٠,٠٢٥	٠,٠٢٥	٠,٠٢٥
حديد مخلبى [أ]	(أ)	(أ)	(أ)
فيتامينات			
Nicotinic Acid	٠,٥	٠,٥	٠,٥
Pyridoxine	٠,٥	٠,٥	٠,٥
Thiamine	٠,١	٠,١	٠,١
Glycine	٢,٠	٢,٠	٢,٠
Meso-Inositol	١٠٠	١٠٠	١٠٠
منظمات النمو			
IBA	١,٠	١,٠	١,٠
BAP	٠,١	٠,٥	صفر
GA_3	٠,١	٠,١	٠,١
الجلوكوز	٣٠٠٠٠	٣٠٠٠٠	٣٠٠٠٠
الآجار	٧٠٠٠	٢٠٠٠	٢٠٠٠
البكتين	صفر	٦٠٠٠	٦٠٠٠
معدل الـ pH إلى ٥,٧			

(أ) يستعمل الحديد المخلبى بمعدل ٥مل/لتر من محلول قياسى يحتوى ٥,٥٧ جـم/لتر من $FeSO_4\ 7H_2O$ + ٧,٤٥ جم/لتر من Na_2EDTA.

تُنتج نباتات الفراولة التى يُحصل عليها بعد عدد كبير من دورات الإكثار multiplication cycles فى مزارع الأنسجة .. تُنتج عددًا كبيرًا غير طبيعى من الأزهار بالنورة مقارنة بالنباتات التى تنتج من الإكثار بالطرق العادية، أو بعد عدد قليل من دورات الإكثار فى مزارع الأنسجة. ويمكن تمييز النباتات التى يُحصل عليها بعد عدد كبير من دورات الإكثار – مقارنة بتلك التى يُحصل عليها بعد عدد قليل من دورات الإكثار – بأنها تفتقر إلى الشمع الذى يغطى الأديم، وبانغلاق ثغورها، وبازدياد حجم بلاستيداتها الخضراء فى الخلايا البرانشمية (Jemmali وآخرون ١٩٩٥).

مرحلة التجذير

تستعمل البيئة رقم ٣ (جدول ٥–١) فى التجذير (rooting medium)، وهى لا تختلف عن البيئة رقم ٢ سوى فى عدم احتوائها على الـ BAP.

توضع المزارع المنقولة إلى بيئة التجذير فى إضاءة جيدة لمدة ١٢ ساعة يوميًّا. وفى خلال ٥–٦ أسابيع يكون النمو الجذرى قد أصبح كافيًّا لشتل النباتات فى بيئات خاصة فى الصوبة.

ويتعين التخلص من أى طفرات يتم التعرف عليها وتتبع أصولها قدر الإمكان.

مرحلة الأقلمة Acclamation

تنقل النباتات من بيئة التجذير إلى أصص بقطر ١٢سم أو شتلات بعيون كبيرة تحتوى على بيئة زراعة يكون أساسها البيت موس، وتوضع على بنشات (مناضد) تحت المست، وفى حرارة ٢٠–٢٢°م. يكفى – عادة – تشغيل جهاز المست مرة واحدة أو مرتين يوميًّا لمدة ٧–١٠ أيام. وتحت هذه الظروف .. لا تزيد – عادة – نسبة النباتات التى تفشل فى النمو عن ٣–٥٪. وتروى النباتات بعد ذلك بالطريقة العادية، ويستغرق ذلك – عادة – حوالى أربعة أسابيع فى البيت المحمىّ. وبنهاية هذه الفترة تكون نباتات النواة قد أكملت نموها.

تخزين نباتات النواة

قد يتطلب الأمر أحيانا تخزين نباتات النواة – وهى بأعمار مختلفة – ويكون ذلك

فى حرارة ٣° ± ٠,٥°م أو صفر ± ٢°م. كما يمكن تخزين نباتات النواة قبل أقلمتها، وذلك بغسيل البيئة من جذورها ثم حفظها فى أكياس بلاستيكية على حرارة ٣° ± ٠,٥°م لمدة يمكن أن تصل إلى ٦ شهور (Scott & Zanzi ١٩٨١، و Fiola ١٩٩٦).

إنتاج شتلات رتبتى السوبر إيليت والإيليت (رتبتا الأساس)

بعد حوالى ٢٨–٣٠ يومًا من بداية أقلمة نباتات النواة فى البيت المحميّ فإنها تبدأ فى إنتاج المدادات، ويكون مجموعها الجذرى قد نما بشكل جيد. تشتل هذه النباتات فى تربة معقمة فى بيت محميّ منيع ضد الحشرات حيث تنمو بقوة وتنتج مدادات بوفرة. ويمكن أن يعطى النبات الواحد أكثر من ١٥٠ نبات بنهاية الموسم، وتلك هى دورة الإكثار الأولى لتقاوى النواة والتى ينتج عنها تقاوى رتبة الأساس أو السوبر إيليت.

وتستخدم رتبة السوبر إيليت فى دورة أخرى من الإكثار – تكون كذلك فى تربة معقمة فى بيت محميّ منيع ضد الحشرات – وينتج عنها تقاوى الإليت .. وهى – كذلك – من تقاوى رتبة الأساس.

ويخضع إنتاج تقاوى رتبتى السوبر إيليت والإيليت لكافة الاختبارات التى تضمن مطابقتها التامة للصنف، وخلوها التام من كافة المسببات المرضية والآفات.

إنتاج الشتلات المسجلة والمعتمدة

تستخدم الشتلات المسجلة والمعتمدة فى الإنتاج التجارى لمحصول الفراولة، وهى تنتج فى مشاتل تجارية حقلية معتمدة، ويستخدم فى إنتاجها شتلات من رتبتى الإيليت أو المسجلة، حيث تعطى الأولى شتلات من رتبة المسجلة، بينما تعطى المسجلة شتلات من رتبة المعتمدة.

تُنتج مشاتل الفراولة فى مصر كلا من الشتلات الطازجة والمجمدة، دونما تمييز بين طريقة إنتاج كلا منهما.

اختيار أرض المشتل

يتم أولاً اختيار أرض المشتل بحيث تتوفر فيها الشروط الواردة فى قانون إنشاء