وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم باغبانی
پژوهشکده چای

نشریه فنی

روش‌های به‌نژادی چای

نگارندگان:
صنم صفائی‌چائی‌کار، کوروش فلک‌رو و شاهین جهانگیرزاده‌خیاوی

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم باغبانی
پژوهشکده چای

نشریه فنی

روش‌های به‌نژادی چای

نگارندگان:
صنم صفائی‌چائی‌کار[1]، کوروش فلک‌رو[2] و شاهین جهانگیرزاده‌خیاوی[1]
1 -عضو هیات علمی و 2 - محقق پژوهشکده چای

مخاطبان نشریه: کارشناسان مراکز آموزشی، پژوهشی و اجرایی وابسته به وزارت جهاد کشاورزی

موسسه تحقیقات علوم باغبانی، پژوهشکده چای، نشریه فنی

روش‌های به‌نژادی چای

نگارندگان: **صنم صفائی‌چائی‌کار، کوروش فلک‌رو و شاهین جهانگیرزاده‌خیاوی**

ناشر: موسسه تحقیقات علوم باغبانی، پژوهشکده چای

سال نشر: 1397

شماره و تاریخ ثبت نشریه: 54293 مورخه : 1397/07/03

نشانی مرکز فناوری و اطلاع‌رسانی کشاورزی: تهران، بزرگراه شهید چمران، خیابان یمن، پلاک 1 - سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

فهرست مندرجات

چکیده 4

1 - گیاه‌شناسی چای 4

1 -1 - منشا و پراکنش چای 4

1 -2 - نام علمی چای، جنس‌ها و گونه‌ها 4

1 -3 - ریشه چای 6

1 -4 - برگ چای 6

1 -5 - زیست شناسی گل و مکانیسم گرده‌افشانی 8

1 -6 - کاریوتیپ 9

1 -7 - بیولوژی بذر 11

2 - انواع تیپ‌های چای زراعی در دنیا 13

2 -1 - چای زراعی چینی 13

2 -2 - چای زراعی آسامی 13

2 -3 - چای زراعی کامبوجی 14

3 - روش‌های به‌نژادی چای 14

3 -1 - معرفی 15

3 -1 -1 - معرفی اولیه 15

3 -1 -1 -1 - فرآیند معرفی رقم 17

3 -1 -2 - معرفی ثانویه 17

3 -2 - گزینش 17

3 -2 -1 - معیارهای انتخاب بوته‌های مادری چای 19

3 -2 -1 -1 - اسکلت خوب 19

3 -2 -1 -2 - تعداد شاخساره 19

3-2-1-3- همبستگی اندازه‌ی برگ و عملکرد بوته‌ی چای 20
3-2-1-4- ماده‌ی خشک 20
3-2-1-5- سازگاری گیاه 20
3-2-1-6- رقابت پذیری 20
3-2-1-7- مقاومت به آفات و بیماری‌ها 20
3-2-1-8- برگ‌دار بودن و رنگ سبز روشن برگ‌ها 20
3-2-1-9- پلی فنل‌ها 21
3-3- دورگ‌گیری 23
3-4- پلی پلوئیدی 26
3-4-1- پلی‌پلوئیدی طبیعی 26
3-4-2- پلی‌پلوئیدی مصنوعی 26
3-4-3- نشانگرهای مورفولوژیک، آناتومیکی و سیتولوژیکی در چای‌های پلی‌پلوئید 28
3-4-4- استفاده از پلی‌پلوئیدی در اصلاح چای 29
3-4-5- بهره‌برداری تجاری از پلی‌پلوئیدها 30
3-4-6- اصلاح از طریق جهش 31
3-4-7- پیش اصلاح و هیبریداسیون فاصله‌ای 31
4- برنامه‌های به‌نژادی چای در ایران 32
4-1- گزینش کلونی 32
4-2- مطالعات سیتوژنتیک 32
4-3- بررسی تنوع ژنتیکی 33
5- چالش‌های به‌نژادی چای 33

6 - نتیجه‌گیری 34

منابع 35

چکیده

اصلاح ژنتیکی چای و معرفی ارقام مناسب نقش مهمی در افزایش عملکرد و کیفیت محصول چای و مقاومت یا تحمل آن به تنش‌های زنده و غیرزنده‌ی محیطی دارد. اهداف به‌نژادی چای بسته به نیاز هر منطقه از کشوری به کشور دیگر متفاوت است، هر چند هدف کلیه‌ی کشورها کمک به بهبود عملکرد و کیفیت چای می‌باشد. امروزه ارقام جدید چای به‌واسطه‌ی تلاش‌های چندین ساله‌ی به‌نژادگران و کشاورزان باتجربه در طی مراحل مختلف تولید گیاه، گزینش، دورگ‌گیری و اصلاح فیزیکی و شیمیایی تکامل یافته‌اند.

کلمات کلیدی: اصلاح، دورگ‌گیری، گزینش.

1 - گیاه‌شناسی چای

1 -1 - منشا و پراکنش چای

واویلوف و همکاران مبدا اولیه‌ی گیاه چای را کشور چین دانسته‌اند اما استوارت در سال 1919 پس از مطالعه‌ی تفاوت‌های بین بوته‌های بومی چین و بومی آسام هند ادعا کرد که چای دارای دو منشاء است و واریته‌های ریز برگ را به شرق و جنوب شرق چین و واریته‌های درشت برگ را به هند و استان ینان چین منتسب کرد که بعدها توسط هارلر (1933) و کینگدان وارد (1950) این تئوری تایید شد. بررسی‌های سیتوژنتیک و شمارش کروموزوم واریته‌های ریزبرگ و درشت برگ نشان داد که همگی آنها دیپلوئید و واجد 2n=30 کروموزوم بودند و بر این اساس بود که سیمورا در سال 1935 تئوری دو منشایی را رد کرد. هاسیموتو در سال 1978 با بررسی صفات مورفولوژیک چای‌های موجود در ژاپن، تایوان، برمه و آسام هند و گروه‌بندی ژنوتیپ‌های تحت مطالعه مشاهده کرد که گیاهان موجود در دو منطقه‌ی تایوان و ارتفاعات هند شباهت زیادی بهم دارند در حالی‌که این مکان‌ها از نظر جغرافیایی از هم فاصله دارند. بر این اساس وجود دو منشاء برای گیاه چای را منتفی دانست و استان‌های ینان[1] و سی‌چوآن[2] در کشور چین را به عنوان تنها منشاء چای معرفی نمود. چای طی قرون هفدهم تا بیستم به کشورهای مختلف آسیایی، آفریقایی و آمریکایی راه یافته است، به طوری که دامنه‌ی پراکنش جغرافیایی آن از 43 درجه عرض شمالی در گرجستان تا 27 درجه عرض جنوبی در آرژانتین است.

1 -2 - نام علمی چای، جنس‌ها و گونه‌ها

چای با نام علمی *Camellia sinensis* (L) O. Kuntz گیاهی است یک پایه، دولپه‌ای، همیشه سبز از شاخه‌ی نهاندانگان[3]، رده‌ی دو لپه‌ای‌ها[4]، راسته‌ی گوتی فرالز[5]، خانواده‌ی Theaceae و جنس *Camellia*.

---

[1] Yunnan
[2] Sichuan
[3] Angiosperms
[4] Dicotyledone
[5] Guttiferales

خانواده‌ی چای دارای 18 جنس و حدود 240 گونه می‌باشد که در مناطق استوایی و اطراف آن پراکنده است. دانشمندان پیدایش این گیاه را در دوره کرتاسه فوقانی می‌دانند. برخی از گونه‌های این تیره در مناطقی از آمریکا و همچنین در مناطقی از آسیا مانند ژاپن، پاکستان، مناطق شمالی ایران، آذربایجان، مناطق مرکزی چین، جنوب شرقی، اتازونی همچنین در مناطقی از اروپا مانند انگلستان، فرانسه، آلمان و روسیه می‌روید. گیاهان این تیره به صورت درخت، درختچه و گاهی بالارونده هستند.

جنس *Camellia* در سال 1920 شامل 40 گونه بود. تعداد گونه‌ها در سال 1958 به 87 (سیلی[1]، 1958)، و تا سال 1982 به 267 گونه رسید (چانگ و بارتولومئو[2]، 1984). در حال حاضر تعداد گونه‌های این جنس با معرفی آخرین گونه توسط موندال[3] و همکاران در سال 2012 (*C. cherryana*) (اورل و ویلسون[4]، 2012)، به بیش از 300 گونه رسیده است که اشاره به طبیعت دگرگشن و ناپایدار این جنس دارد. طبق تخمین صورت گرفته بیش از 30000 واریته از کاملیای زینتی در سراسر جهان وجود دارد. *Camellia* بزرگترین جنس خانواده‌ی *Theaceae* محسوب می‌شود. این جنس به دلیل داشتن کافئین و آلکالوئید پورین که به عنوان محرک سیستم عصبی انسان عمل می‌کند، مورد توجه است. نگاتا و ساکای[5] گزارشی مبنی بر وجود کافئین در 23 گونه از جنس *Camellia* ارائه نمودند. میزان کافئین برخی از گونه‌ها بر اساس وزن خشک به این صورت است: *Camellia sinensis* (3/5٪)، *Camellia sinensis* var. *assamica* (4%)، *C. taliensis* (2/54%) و *C. kissi* (0/02%). از میان این گونه‌ها، گونه‌ی *C. kissi* متعلق به بخش *Paracamellia* و سایر گونه‌ها متعلق به بخش *Thea* می‌باشد. سه جنس دیگر خانواده‌ی *Theaceae* عبارتند از: *Eurya* با 140 گونه، *Ternstroemia* با 130 گونه و *Adinandra* با 100 گونه. علاوه بر این، از حدود50 گونه‌ی جنس *Camellia*، روغن برای مصارف صنعتی تولید می‌گردد (موندال، 2011).

طبقه‌بندی جنس *Camellia* چندین مرتبه توسط چندین محقق تجدید نظر شده است اما چانگ و بارتولومئو[6] جنس *Camellia* را را به چهار زیر جنس و 20 بخش تقسیم‌بندی نمودند.

با توجه به دورگ‌گیری درون گونه‌ای، از گونه‌های مختلف *Camellia*، هیبریدهای با ارزشی به‌دست آمده است. چای بواسطه‌ی برخی خویشاوندان وحشی، قابل اصلاح بوده و گیاهشناسان همواره علاقه‌مند به شناسایی اینچنین دورگ‌هایی هستند. دو گونه‌ی با ارزش چای، گونه‌های *C. irrawadiensis* و *C. taliensis* می‌باشند که از لحاظ خصوصیات مورفولوژیک با یکدیگر همپوشانی دارند (بانرجی[7]، a1992). فرض بر این است که برخی خصوصیات مطلوب مانند رنگدانه‌های آنتوسیانین و یا خصوصیات خاص کیفی چای Darjeeling ممکن است ناشی از گونه‌های وحشی باشد (وود و باروآ[8]، 1958). سایر گونه‌های جنس *Camellia*، که از از طریق دورگ‌گیری به ذخایر ژنتیکی چای کمک کردند عبارتند از: *C. flava*، *C. petelotii* (وایت[9]، 1962) و *C. lutescens* (شارما و ونکاتارامانی[10]، 1974). نقش گونه‌ی *C. taliensis* به خوبی آشکار نیست به این دلیل که این گونه هیبرید حاصل از تلاقی گونه‌های *C. sinensis* و *C. irrawadiensis* می‌باشد (وود و باروآ، 1958؛ ویسر[11]، 1969). به‌طور کلی سه گونه‌ی *C. assamica*،

[1] Sealy
[2] Chang and Bartholomew
[3] Mondal
[4] Orel and Wilson
[5] Nagata and Sakai
[6] Chang and Bartholomew
[7] Banerjee
[8] Wood and Barua
[9] Wight
[10] Sharma and Venkataramani
[11] Visser

C. sinensis و *C. assamica* sub sp. *Lasiocalyx* به عنوان ژنوم‌های چای محسوب می‌گردند. واژه‌ی چای به کلیه‌ی نتاج حاصل از این گونه‌ها و هیبریدهای آنها اطلاق می‌شود. علاوه بر وجود تنوع طبیعی در این جنس، ایستگاه‌های مختلف تحقیقات چای و باغداران ارقامی با عملکرد و کیفیت مطلوب و همچنین مقاوم به خشکی و بیماری‌ها توسعه داده‌اند. تخمین زده شده است که بیش از 1200 رقم تجاری چای برای کشت و کار در سراسر جهان معرفی شده و بسیاری از این ارقام دارای خصوصیات ویژه‌ای هستند.

1 -3 - ریشه‌ی چای

چای گیاهی با ریشه‌های سطحی و افشان است که نسبت به شرایط فیزیکی خاک از خود حساسیت نشان می‌دهد. ریشه‌های این گیاه برای نفوذ در خاک نیاز به زمین مناسب دارد به طوری که در خاک‌های نامرغوب و نامناسب به سختی نفوذ می‌نماید. با توجه به اینکه اغلب سطح خاک مملو از مواد غذایی می‌باشد، در نتیجه بیشتر ریشه‌های بوته‌ی چای در قسمت سطحی خاک پراکنده هستند. نفوذ ریشه در خاک بستگی به خصوصیات گیاه، ممکن است به صورت عمودی و افقی و یا بین این دو حالت باشد. رشد عمودی ریشه‌ها بیشتر در زمین‌های پشته اتفاق می‌افتد. چنانچه واریته‌ها دارای ریشه‌های افقی باشند و یا اینکه زمین برای رشد عمودی ریشه‌ها مساعد نباشد در برابر کمبود آب اغلب حساس بوده و از بین می‌روند (شکل 1).

شکل 1 - ریشه‌ی چای

1 -4 - برگ چای

ویژگی‌های برگ و عادات رویشی معیارهای مهم برای طبقه‌بندی درون جنس چای می‌باشد. با وجود اینکه خصوصیات رویشی به دلیل انعطاف‌پذیر بودن نسبت به ساختمان زایشی اعتبار کمتری در طبقه‌بندی چای دارند ولی هنوز هم ویژگی‌های رویشی اغلب در تشخیص تفاوت‌های ابتدائی میان تاکسون‌ها استفاده می‌شود.

ویژگی‌های مهم رویشی که عموماً در طبقه‌بندی چای استفاده می‌شوند عبارتند از:

1- نسبت طول به عرض برگ
2- زاویه‌ی میان برگ و محور (ساقه)
3- طول دمبرگ
4- اندازه‌ی برگ
5- طول میانگره
6- طول و قطر جوانه

برگ‌های بوته‌ی چای از نظر اقتصادی و بهره‌برداری، قسمت اصلی گیاه را تشکیل می‌دهند. برگ‌های این گیاه متناوب، همیشه سبز، به اشکال بیضوی، نیزه‌ای، مستطیلی و تخم‌مرغی شکل بوده و کناره‌های آن دارای دندانه‌های ریز یا صاف می‌باشد. برگ‌های بالغ به رنگ سبز درخشان، نمای چرمی و نرم و دارای طولی متغیر از پنج تا 20 سانتیمتر هستند. سطح روئی برگ بدون کرک، ولی سطح زیرین آن به خصوص در برگ‌های جوان، پوشیده از کرک‌های زیاد به رنگ زرد و یا سفید می‌باشند. برگ‌های مسن براق و بدون کرک هستند. کرک‌ها در چای موجب افزایش کیفیت و مرغوبیت می‌شوند زیرا این کرک‌ها مواد شیمیائی حاصل از شیره‌ی سلولی را در خود ذخیره کرده و در هنگام دم کردن به صورت محلول در آب در می‌آیند، جوانه‌های باز نشده حداکثر کرک را دارند. این جوانه‌ها پس از خشک شدن در چای ساخته شده، همان قسمت زرین‌چای[1] را بوجود می‌آورند که موجب کیفیت و مرغوبیت چای می‌شود.

شکل 2- برگ چای

[1] Robscense

1 -5 - زیست‌شناسی گل و مکانیسم گرده‌افشانی

برخلاف قسمت‌های رویشی، ویژگی‌های زایشی مجزا بوده و تنوع کمتری دارند، بنابراین به عنوان معیار تمایز معتبرترند. گل‌های چای، سفید رنگ، خوشبو و معطر هستند. گل‌ها به صورت تک گل، خوشه‌ای و یا مجتمع و گاهی به صورت دوتایی و یا دسته‌های پنج تایی در بغل برگ‌ها ظاهر می‌شوند. قطر این گل‌ها در حدود 3/3 سانتیمتر است، که دارای پنج تا هفت گلبرگ بیضی شکل و پنج تا هفت کاسبرگ و تعداد زیادی پرچم (بیش از 200 عدد) می‌باشند (شکل 3). گلبرگ ها سفید، مومی، به شکل بیضی محدب هستند که قسمت محدب گلبرگ‌ها به خارج و در پایه با هم و به پرچم‌ها متصلند. مادگی شامل کلاله، خامه و تخمدان است.

کلاله، عضو پذیرنده دانه‌های گرده، قسمتی از خامه است که در وسط گل قرار دارد. کلاله به شکل خطی و انتهائی است. خامه شامل سه قسمت است که به صورت متنوع در طول به هم می‌پیوندند و در طبقه‌بندی چای، خامه را به انواع افراشته، زانودار و انتهائی تقسیم می کنند. خامه در ثلث بالائی شکاف دارد که گاهی تا تخمدان پائین می آید. وضعیت خامه گل نیز در گونه‌های مختلف چای تفاوت دارد. به طوری که در *C. sinensis* قسمت بیشتری از طول خامه آزاد است اما در *C. assamica* خامه‌ها در بیشتر طول خود پیوسته به هم می‌باشند و در زیر گونه *lasiocalyx* خامه‌ها تقریبا از نیمه طول خود آزاد هستند و این یکی از معیار-های تشخیص تیپ‌های چای می‌باشد.

تفاوت‌های قابل ملاحظه‌ای بین گل در تیپ‌های چینی و آسامی وجود دارد که توسط محققان مختلف گزارش داده شده است (ولنسیک، 1933؛ بزباروا[1]، 1975). خصوصیاتی مانند طول خامه، تعداد و طول پرچم و اندازه‌ی گلبرگ‌های داخلی بر این موضوع دلالت می‌کند که بین واریته‌های مختلف از لحاظ خصوصیات گل تفاوت‌هایی وجود دارد (بزباروا، 1975).

گیاه چای به میزان قابل ملاحظه‌ای دارای خودناسازگاری است (وایت[2]، 1938؛ وو[3]، 1964). به طورکلی بذور خودگشن، میزان جوانه‌زنی کمتری دارند. نتاج گیاهان خود گرده‌افشان نسبت به گیاهان دگرگرده افشان از لحاظ قدرت کمتر است. بررسی‌های مکانیسم گرده‌افشانی نشان داده که گرده‌های چای در طبیعت سنگین و چسبنده هستند و به صورت انبوه وجود دارند و شرایط برای انتقال آنها از طریق باد مناسب نیست. هر چند حشراتی مانند زنبور باعث انتقال گرده از بوته‌ای به بوته‌ی دیگر می‌گردند (باروا، 1989).

معمولا 24 تا 48 ساعت پس از گرده افشانی، جام گل پژمرده شده و به همراه لوله‌ی گرده از ساقه جدا می‌گردد. لوله‌های کاسه-ی گل به تخمدان و خامه نزدیک شده و به‌تدریج کلاله پژمرده می‌گردد. اگرچه گرده‌افشانی در خلال گلدهی اتفاق می‌افتد (در ایران از مهرماه)، ولی اولین علائم ظهور میوه قبل از اسفندماه است. میوه‌ها حاوی جنین و کوتیلدون کاملا رسیده است و جنین بالغ به همراه دو کوتیلدون توسط پوشش سخت و قهوه‌ای احاطه شده و پوسته خارجی را تشکیل می‌دهد. در هر حجره یک تا سه دانه وجود دارد. زمان رسیدن میوه حدود 12 ماه از زمان گلدهی تا رسیدگی به طول می‌انجامد (سینگ، 1999).

[1] Bezbaruah
[2] Wight
[3] Wu

شکل 3 - گل چای

1 -6 - کاریوتیپ

کاریوتیپ به عنوان مهم‌ترین نشانگر سیتولوژیک جهت شناسایی گونه‌ها محسوب می‌شود. کاریوتیپ‌های اکثر تاکسون‌های جنس کاملیا از جمله چای مشخص گردیده است (فوکوسیما[1] و همکاران، 1966؛ آکرمن[2]، 1971؛ کوندو[3]، 1975؛ داتا و آگاروال[4]، 1992). هرچند، گروه‌بندی کاریوتیپ بر اساس اندازه‌ی کروموزوم در تاکسون‌های کاملیا، به دلیل چسبندگی بالای کروموزوم‌ها موفق نبوده است. علاوه بر این، حتی در بهترین روش آماده‌سازی، جفت کروموزوم همولوگ موجود در کاملیا مشابه نیست. تنوع کاریوتیپیک درون گونه‌ای نسبتا کمی برای گونه‌های قابل کشت کاملیا مشاهده گردیده است (کوندو، 1975). کروموزوم‌های دارای ماهواره در کاریوتیپ توده جمعیت‌های گونه‌های کاملیا از لحاظ مورفولوژیک و کمی متغیر هستند. بنابراین، کاریوتیپ‌های حاوی خصوصیات کروموزوم‌های دارای ماهواره برای تاکسون‌های کاملیا از از نظر تاکسونومیک معنی‌دار نبودند. در میان گونه‌های دیپلوئیدی *Camellia*، گونه‌ی *C. japonica* L. sensu lato بیشترین تنوع کاریوتیپیک را نشان داده است؛ بسیاری از جمعیت‌های مورد مطالعه حاکی از الگوی کاریوتیپیکی مشابه بودند (کوندو، 1975). در واقع، *C. japonica* L. var macrocarpa Masamune دارای ماهواره روی چهارمین کروموزوم متاسانتریکی و جمعیتی دیگر دارای ماهواره روی دومین کروموزوم ساب‌متاسانتریک می‌باشد (کوندو و پارکس[5]، 1980). بعدها، کوندو و پارکس (1980) نشان دادند که روش C-banding می‌تواند برای کروموزوم‌های سوماتیکی اواسط متافاز در تاکسون‌های *camellia* به‌کار برده شود. این باندهای رنگ-آمیزی شده‌ی مختلف در کروموزوم‌های اواسط متافاز، اجازه‌ی شناسایی 238 کروموزوم منفرد را داده و امکان جابجایی جفت‌های همولوگ کروموزوم‌ها را دقیق‌تر کرد. تغییرات و تنوع کاریوتیپی میان 7 جمعیت *C. japonica* L. sensu lato با رنگ آمیزی

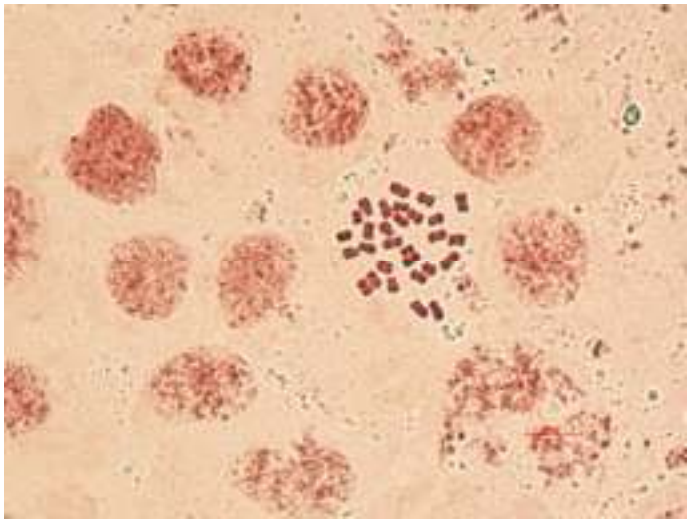
[1] Fukusima
[2] Ackerman
[3] Kondo
[4] Datta and Agarwal
[5] Kondo and Parks

استورورسئین با استفاده از روش C-banding نشان داده شده است (کوندو و پارکس، 1980). به این ترتیب، از مارکر سیتولوژیک به منظور مرتب‌سازی و طبقه‌بندی ژنوتیپ‌ها استفاده می‌شود.

اکثر گونه‌های جنس *Camellia* دیپلوئید 2n=30 می‌باشند (شکل 4). تاکنون هیچ نوع پلی‌پلوئیدی به جز گونه‌های قابل کشت *C. sinensis* و *C. assamica* گزارش نشده است. نشان داده شده است که تکامل کاریوتیپ بخش Thea عمدتا از طریق ژن و مشابه سایر گیاهان چوبی استوایی بوده و متفاوت از سایر گونه‌های جنس *Camellia* در منطقه‌ی معتدله می‌باشد. کاریوتیپ اکثر گونه‌های بخش Thea متاسانتریک و ساب متاسانتریک است و تنها بعضی از گونه‌ها دارای کروموزوم‌های ساب تلوسانتریک می-باشند، به‌طوری که تعداد کروموزوم‌های متاسانتریک بیشتر از ساب متاسانتریک و تعداد کروموزوم‌های ساب متاسانتریک بیشتر از ساب تلوسانتریک می‌باشد.

جالب توجه است که *C. reticulata* دارای سطوح پلوئیدی مختلفی با تعداد کروموزوم پایه، 15 می‌باشد که عبارتند از:2n=2x=30، 2n=4x=60 و 2n=6x=90. منشأ آلوپلوئیدی و ژنوم والدینی انواع پلی‌پلوئیدی هنوز ناشناخته است. به منظور مطالعه‌ی ساختار ژنوم و تکامل *C. reticulata* از روش دورگ‌گیری موضعی ژنومی (GISH[1]) استفاده شده است. کل DNA ژنومی گونه‌های دیپلوئیدی خویشاوند (*C. pitardii* و *C. saluenensis*) با تعداد کروموزوم 2n = 2x = 30، در حضور DNA متوقف کننده‌ی گسترش متافازی *C. reticulata* برچسب گذاری و هیبریداسیون شدند. پروب *C. pitartii* بخشی از ژنوم‌های تتراپلوئید و هگزاپلوئید *C. reticulata* را رنگ‌آمیزی نموده، در حالی‌که پروب *C. saluenensis* جزئی از ژنوم *C. reticulata* هگزاپلوئید را تشکیل می‌دهد. این نتایج، شواهد قانع کننده‌ای را در مورد منشاء آلوپلوئیدی ژنوم *C. reticulata* نشان داده و اثبات شده است که (1) گونه‌های دیپلوئید *C. reticulata*، *C. pitardii* و *C. saluenensis*، جد گونه‌ی آلو تتراپلوئید *C. reticulate* می-باشند، (2) هیبریداسیون بین گونه‌های دیپلوئید *C. reticulata* و *C. pitardii* باعث به‌وجود آمدن گونه‌ی آلوتتراپلوئید *C. reticulata* گردید و (3) پس از آن از هیبریداسیون بین گونه‌ی، گونه‌ی آلوتتراپلوئید *C. reticulata* و گونه‌ی دیپلوئید *C. saluenensis* گونه‌ی *C. reticulata* به‌وجود آمد (گو و زیائو[2]، 2003). طبق مطالعه‌ی صورت‌گرفته توسط غلامی و همکاران (1392) عنوان گردید که تمامی کلون‌های مورد ارزیابی دیپلوئید و دارای 30 عدد کروموزوم بوده و از انواع متاسانتریک و ساب متاسانتریک با فراوانی‌های متفاوت بوده و کروموزوم ماهواره‌دار مشاهده نگردید.

[1] Genomic In Situ Hybridization
[2] Gu and Xiao



شکل 4 - کروموزوم‌های میتوزی چای

1 -7 - بیولوژی بذر

تخمدان از سه برچه تشکیل شده است. تخمدان‌ها دارای سه تا چهار حجره می باشد که از کرک‌های سفیدرنگ پوشیده شده است و هر حجره شامل یک الی 4 دانه می‌باشد.

غلاف میوه چای بدون کرک است. میوه‌ی چای با قطری حدود 2/5 سانتیمتر به صورت پوشینه بوده و در داخل هر میوه آن نیز یک تا شش دانه قرار دارد. شکل ظاهری این میوه به صورت کروی یا صاف و گاهی اوقات دارای دو سرپهن است. قطر این میوه‌ها در حدود 1/27 سانتیمتر و رنگ آن قهوه‌ای تیره می‌باشد (شکل 5). عموماً دانه‌های دیررس دارای سرعت جوانه بیشتر و دوره‌ی جوانه‌زنی کوتاه‌تری هستند.

بذور چای چندین روز پس از ریزش از بوته، قدرت زنده‌مانی پایینی دارند. هر چند قدرت زنده‌مانی آنها با ضدعفونی کردن توسط محلول مرکوریک کلرید 0/01% به مدت 15 دقیقه و سپس نگهداری در سرمای چهار درجه‌ی سلسیوس حفظ می‌گردد. اگر چه بذور در گرد ذغال مرطوب به مدت چند روز می‌تواند نگهداری شود (سینگ[1]، 1999). برای تکثیر تجاری، بذور چای در باغ‌های بذری با اهداف خاص کشت می‌گردند. بعد از آزادسازی ارقام کلونی، باغ‌های بذری تجاری به منظور تولید بذور کلونی هیبرید بنا نهاده می‌شود. بعد از جمع‌آوری، بذور از روتاری عبور داده می‌شوند تا بذور بسیار کوچک حذف گردند. بذور چای به طور نرمال قطری بین 10 تا 20 میلی‌متر دارند (شکل 6).

[1] Singh

شکل 5 - میوه‌ی چای

شکل 6 -بذر چای

2 - انواع تیپ‌های چای زراعی در دنیا

2 -1 - چای زراعی چینی (*Camellia sinensis*)

حجم بوته‌های چینی، بزرگ با ساقه‌های متعدد و منشعب از یک محل، برگ‌های قائم و کوچک که طول آن‌ها بین 1/5 تا 14 سانتی‌متر و عرض آن‌ها بین 1 تا 2/5 سانتی‌متر می‌باشد (شکل 7). برگ‌ها دارای نمای واکسی یا چرمی بوده و معمولا به رنگ سبز تیره دیده می‌شوند.

بوته‌های تیپ چینی دمای هوا تا 15 - درجه سلسیوس را تحمل می‌کنند. برگ سبز حاصل از بوته‌های این گروه زراعی، برای تولید چای سبز و نیمه تخمیر مناسب است. محصول حاصل در گروه چینی کمتر از سایر گروه‌های باغی است اما کیفیت چای تولیدی آن‌ها بسیار خوب می‌باشد. نوشابه‌ی چای در این گروه کم رنگ‌تر از نوع آسامی است اما عطر و طعم بهتری دارد. این گروه از چای بیشتر در کشورهای چین، ژاپن، ایران، ترکیه و گرجستان کشت می‌شود. ارقام گروه چینی می‌توانند یخبندان‌های خفیف را تحمل کنند اما گروه آسامی در برابر سرما حساس هستند.

شکل 7 - بوته‌ی چای رقم چینی

2 -2 - چای زراعی آسامی (*Camellia assamica*)

بوته‌های گروه آسامی دارای حجم کوچک با تنه‌ای واحد و مشخص، برگ‌هایی بزرگ با طول بین 8 تا 20 سانتی متر و عرض 3/5 تا 7/5 سانتی‌متر می‌باشند (شکل 8). زاویه‌ی برگ‌ها، معمولا 90 درجه (افقی) و رگبرگ‌های مشخصی روی برگ‌ها مشاهده می‌شود. محصول یا عملکرد بوته‌های این گروه، از عملکرد بوته‌های چینی بیشتر است. بوته‌های گروه آسامی، سرمای هوا تا 4 - درجه سلسیوس را تحمل می‌کنند. مقادیر تانن و کافیین موجود در برگ سبز این گروه از چای بیشتر از گروه چینی است بنابراین، برگ سبز حاصل از گروه آسامی برای ساخت چای سیاه مناسب‌تر از گروه چینی است. رنگ نوشابه‌ی چای حاصل از این گروه، پررنگ‌تر از نوع چینی می‌باشد. این تیپ بیشتر در شمال شرق هند و آفریقا و مناطق گرمسیری کشت می‌شود. این گروه از چای به صورت انواع برگ روشن و برگ تیره وجود دارد.

شکل 8 - بوته‌ی چای رقم آسام

2 -3 - چای زراعی کامبوجی یا فرم جنوبی (*Camellia assamica* ssp. *lasiocalyx*)

مشخصات بوته‌های گروه کامبوجی کم و بیش مشابه با گروه آسامی است. برگ‌های کم و بیش قائم داشته و رنگ آن‌ها معمولا سبز و روشن است. این گروه از لحاظ مقاومت، میزان محصول وکیفیت، حد واسط بین گروه‌های سردسیری چینی و گرمسیری آسامی می‌باشند. کشت این گروه، بیشتر در مناطق چای‌کاری چین، ژاپن و برمه توسعه یافته است.

3 - روش‌های به‌نژادی چای

در جهان از سال 1939 با وجود مشکلات برنامه‌های به‌نژادی، پیشرفت قابل توجهی در رابطه با چای و سایر گونه‌های جنس *Camellia* از طریق اصلاح کلاسیک انجام و به‌دنبال آن پیشرفت‌های مختلفی در زمینه‌ی ژنتیک و اصلاح چای صورت گرفته که در ذیل بحث خواهند گردید:

اصلاح ژنتیکی چای و معرفی ارقام مناسب نقش مهمی در افزایش عملکرد و کیفیت محصول چای و مقاومت یا تحمل آن به تنش‌های زنده و غیرزنده‌ی محیطی دارد. هدف از به‌نژادی چای مانند هر گیاه دیگری، افزایش عملکرد در واحد سطح و زمان، بهبود و افزایش مقاومت چای در مقابل تنش‌های زنده‌ای هم‌چون آفات، بیماری‌های مهم چای و تنش‌های غیرزنده‌ای مانند خشکی، گرما، سرما و یخبندان می‌باشد.

اهداف به‌نژادی چای بسته به نیاز هر منطقه از کشوری به کشور دیگر متفاوت است، هر چند هدف کلیه‌ی کشورها کمک به بهبود عملکرد و کیفیت چای می‌باشد. به‌طور کلی برنامه‌های اصلاحی در کشورهای تولیدکننده‌ی چای سیاه نظیر هندوستان، کنیا و سریلانکا مبنی بر توسعه‌ی کلون‌های با عملکرد و کیفیت بالا است، در حالی‌که در کشورهای دورتر به خط استوا مانند چین و ژاپن (کشورهایی که تولید چای سبز در درجه‌ی اول اهمیت قرار داشته و کیفیت چای ساخته شده تاثیر چندانی بر قیمت چای ندارد)، توسعه‌ی کلون‌های متحمل به سرما و یخبندان می‌باشد. امروزه ارقام جدید چای به‌واسطه‌ی تلاش‌های چندین ساله‌ی به‌نژادگران و

کشاورزان باتجربه در طی مراحل مختلف تولید گیاه، گزینش، دورگ‌گیری و اصلاح فیزیکی و شیمیایی، تکامل یافته‌اند. روش-های مختلف به‌نژادی چای به شرح ذیل توصیف خواهند گردید (موندال، 2014).

3 -1 - معرفی

معرفی ممکن است شامل وارد نمودن واریته‌های جدید، خویشاوندان وحشی و گونه‌های جدید در یک ناحیه‌ی مشخص باشد. در رابطه با چای، معرفی اولیه توسط عوامل غیرسازمان‌یافته مانند زیارت بودایی یا سربازان مستعمراتی ایجاد گردیده است، هر چند معرفی ثانویه در کشورهای تحت کشت چای توسط باغ‌داران باتجربه‌ی انگلیسی یا جوامع علمی همان‌گونه که در ذیل بحث خواهد گردید، صورت گرفته است (موندال، 2014).

تبادل ریخته‌ی ارثی بین کشورها یکی از منابع مهم معرفی گیاهان است. ریخته‌های ارثی به عنوان منابع ژنتیکی مفیدی هستند که پس از ورود به یک کشور و طی مراحل قرنطینه مورد ارزیابی قرار گرفته و در صورت سازگاری برای تولید در سطح تجاری آزادسازی می‌شوند. علاوه بر این منابع ژنتیکی وارداتی دست‌مایه‌های خوبی برای برنامه‌های به‌نژادی نیز محسوب می‌شوند. منابع ژنتیکی اجزای انتقال یافته در چای ارزشمند هستند و می‌توانند به طور مستقیم یا غیرمستقیم برای اهداف تجاری اصلاحی و تولیدی استفاده شوند (موندال، 2014).

3 -1 -1 -معرفی اولیه

ورود چای به کشور کره، توسط سربازان امپراطور وو دی[1] در طی تهاجم‌شان از چین به کره صورت گرفت. چای در کشور ژاپن، طی 8 قرن وارد شد، زمانی‌که راهب بودایی به نام سیاکو[2] بذر چای را وارد ژاپن نمود و آنها را در دامنه‌ی کوه هی یی[3] روستای ساکوموتو[4] شهر اومی[5] کشت نمود. سپس در سال 1191 بعد از میلاد مسیح، راهب دیگری به نام یی سای[6] مجددا بذر چای را از چین به ژاپن وارد و بر روی تپه‌های کوه سبوری[7] (جنوب شرقی قلعه‌ی فوکوکا[8] در استان چیکوزن[9]) کشت نمود. یی سای نه تنها چای را کشت نمود بلکه آن را به عنوان دارویی مقدس معرفی نمود (موندال، 2014).

---

[11] Wu Di
[2] Siacho
[3] Hi Yei
[4] Sakomoto
[5] Omi
[6] Yei Sai
[7] Seburi
[8] Fukuoka
[9] Chikuzen

در سال 1690 بعد از میلاد مسیح، والی اندونزی جی.کامفوییجس[1] بذور چای را از کشور چین وارد و نزدیک به منطقه‌ی جاکارتا[2] کشت نمود. بین سال‌های 1828 تا 1833 جکسون[3] از شرق هند به چین رفته و مجددا بذور چای را که در اندونزی کشت کشت شده بود، وارد کرد (موندال، 2014).

چای در سال 1567 وارد روسیه شد. سپس در سال 1735 چای از راه زمینی توسط کاروان‌های حکومتی وارد گردید. این افسانه از مرز چین به سمت شمال غربی در میان 800 مایل از بیابان گوبی[4] از طریق اولان باتور[5] در مونگولیا[6] به سمت روسیه، دریاچه‌ی بایاکال[7] به شهر ایرکوتسک[8] ادامه یافت (موندال، 2014).

سریلانکا در ابتدا شروع به کشت قهوه کرد اما به موفقیتی دست نیافت و به دنبال آن در سال 1841 تصمیم به کشت چای نمود. ورمز[9]شخص آلمانی که در سیلون[10] زندگی می‌کرد، از چین بازدید نمود و گیاهچه‌های چای را به پوسلاوا[11] برد، همزمان، بذر چای نیز از باغ گیاهشناسی کالکوتا[12] هند در سال 1839 آورده شد و در خزانه‌ی باغ گیاهشناسی سلطنتی در پرادنیا[13] نزدیک کندی[14] در سریلانکا کشت گردید (موندال، 2014).

بر اساس اسناد و مدارک موجود، برای نخستین بار در سال 1261 هجری شمسی شخصی به نام حاج محمد اصفهانی کشت چای را آغاز نمود لیکن به علل نامعلومی رونق نیافت. یکی از غیور مردان ایران در سال 1278 هجری شمسی به نام مرحوم محمدمیرزا ملقب به کاشف‌السلطنه به عنوان سرکنسول ایران در هند که شاهد خروج مبالغ هنگفتی ارز از کشور برای خرید چای بود، مصمم گردید کشت چای را در ایران با آوردن بذر و نهال از کشور هند شروع نماید. وی پس از تحمل رنج و مشقات زیاد، کار آموزش در امور مختلف کشت و صنعت چای در هند را به پایان رساند. پس از آن اقدام به ورود بذر و نهال چای از هند نمود و چون آب و هوای گیلان به خصوص لاهیجان را مناسب کشت چای تشخیص داد، کلیه‌ی نهال‌ها و بذور وارده را در دامنه‌ی کوه چاهانسر لاهیجان کشت نمود. پس از سال‌ها زحمت و مرارت نهال‌ها به بار نشستند و اولین محصول از باغ چای احداثی استحصال گردید که فوق‌العاده معطر و خوش‌طعم بود. مرحوم کاشف‌السلطنه پس از احداث باغ و اطمینان از ادامه‌ی تولید چای و چای‌کاری و رفع مزاحمت‌های عده‌ای که با تغییر وضعیت مخالف بودند، باغ‌های چای را توسعه داد. کشت چای پس از سال‌های متمادی و طی فراز و نشیب‌های زیاد در ایران رواج یافت.

---

[1] J. Camphuijs
[2] Djakarta
[3] Jacson
[4] Gobi
[5] Ulan Bator
[6] Mongolia
[7] Bayakal
[8] Irkutsk
[9] Worms
[10] Ceylon
[11] Pussellawa
[12] Calcutta
[13] Peradeniya
[14] Kandy

3 -1 -1 -1 - فرآیند معرفی رقم

ثبت و یا تجاری سازی ارقام جدید گیاهی اعم از داخلی یا وارداتی (پس از طی مراحل قرنطینه‌ای) با تکمیل و ارائه‌ی اظهارنامه‌های ثبت و تجاری سازی به طور جداگانه و در موعد مقرر به موسسه ثیت و گواهی بذر و نهال آغاز می‌شود. در این اظهارنامه‌ها اطلاعاتی شامل مشخصات متقاضی، مشخصات رقم کاندیدای ثبت یا تجاری شدن، سوابق ثبت در ایران یا سایر کشورها، سوابق معرفی رقم در سایر کشورها، سوابق اولین عرضه تجاری و سوابق رسمی بررسی فنی رقم از حیث انجام آزمون تمایز، یکنواختی و پایداری (DUS[1]) منعکس می‌گردد (موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال).

3 -1 -2 -معرفی ثانویه

هر چند اطلاعات مربوط به معرفی ثانویه به دلیل وجود قوانین سرسخت در سراسر جهان در رابطه با ورود قطعات قابل تکثیر گیاه از مرزها در سال‌های اخیر، بسیار اندک است، علاوه بر آن، معرفی ثانویه‌ی چای توسط تولیدکنندگان تجاری به صورت مسکوت باقی مانده است. جالب توجه است که تاریخ ابتدایی کشت چای به وضوح بر این موضوع تاکید می‌کند که قدیمی‌ترین موسسه‌ی تحقیقات چای دنیا (TES)، آسام، در هند، به‌طور قابل توجهی در معرفی ثانویه‌ی چای در سراسر جهان نقش دارد. طی یک برآورد، 60% از زمین‌های زیر کشت دنیا مواد گیاهی قابل کشت اولیه‌ی خود را به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم از ذخایر ژنتیکی موسسه‌ی تحقیقات چای (TES) آسام، در هند دریافت می‌کنند. در ابتدا شرکت‌های تجاری چای تاسیس شدند و سپس به عنوان منابع مادری به منظور توسعه‌ی ارقام جدید، مورد استفاده قرار گرفتند.

3 -2 - گزینش

اصلاح چای به روش گزینش شامل سه تکنیک جداگانه است: گزینش توده‌ای[2]، اصلاح رگه[3] و گزینش کلونی[4]. در روش گزینش توده‌ای، بذوری را که به طور توده جمع‌آوری شده‌اند در چند خزانه‌ی بذری کاشته و نسبت به انتخاب نهال‌های بذری مناسب بر اساس خصوصیات مورفو -فیزیولوژی اقدام می‌نمایند. برخی از این خصوصیات عبارتند از ارتفاع نهال، تعداد برگ، قطر ساقه، اندازه‌ی برگ، طول ریشه، کرک‌دار بودن غنچه و برگ‌های جوان، عادت رشد و شاخه‌دهی و .... پس از انتخاب تک نهال‌های بذری برتر، آنها را به پلات‌هایی معروف به Holding Plot منتقل نموده و با فواصل ثابتی کشت می‌کنند. مطالعه‌ی خصوصیات مختلف تک بوته‌ها بر اساس معیارهای مورفو -فیزیولوژیک در زمین اصلی ادامه یافته و بوته‌های نامطلوب حذف و نسبت به پرکردن جاهای خالی باغ با نهال‌های حاصل از تکثیر غیرجنسی بوته‌های مطلوب باقیمانده، اقدام می‌گردد. پس از تشکیل باغ بذری، گیاهان موجود با مدیریت صحیح هرس و تغذیه، به بوته‌های بذری تبدیل شده و از این باغ بذرگیری خواهد شد. به بذور حاصل از این باغ Jat یا واریته بذری عمومی گفته می‌شود که بر حسب منطقه‌ای که در آنجا تولید می‌شوند نام‌گذاری می‌گردند. در بین نتاج حاصل از یک واریته‌ی بذری عمومی، تنوع زیادی از لحاظ پارامترهای مورفولوژیک، عملکرد و کیفیت با وجود منبع بذری یکسان، وجود دارد که این امر به دلیل طبیعت دگرگشن گیاه چای است. اولین تلاش علمی به منظور گزینش چای اصلاح

---

[1] Distinctness, Uniformity and Stability
[2] Mass Selection
[3] Line Breeding
[4] Clonal Selection

شده در شمال‌شرقی هندوستان توسط برادران استیفلهاگن[1] در سال 1860 با تاسیس منابع استاندارد بذور چای صورت گرفت. به‌طور همزمان پیشرفت‌های علمی چای از طریق گزینش، در بسیاری از کشورها مانند اندونزی (ولنسیک، 1934)، جاوا (کوهن سفوآرت[2]، 1929)، روسیه (بختادز[3]، 1935) و شمال شرقی هندوستان (وایت[4]، 1939) انجام شد. در این روش، بوته‌های مادری بر اساس خصوصیات مورفولوژیک و به دنبال آن ویژگی‌های آناتومیکی (وایت، 1956) و حسی چای (تیموشنکو[5]، 1936) انتخاب می‌گردند.

اصلاح رگه[6]، روشی است که به دنبال عدم دستیابی گزینش توده‌ای به اهداف مورد نظر، در سال 1963 طراحی گردید. در این روش بوته‌های بذری خاصی که بر اساس بررسی صفات معینی انتخاب شده‌اند، به صورت تک یا جفت نشانه‌گذاری می‌شوند. سپس بذور بوته یا بوته‌های نشانه‌گذاری شده بطور مجزا از هم، جمع‌آوری و کاشته می‌شوند. نتاج هر والد به صورت نهال‌های بذری مورد آزمون و بررسی قرار می‌گیرند. در صورتی که بهترین نتاج با بیشترین محصول و یکنواختی لازم شناسایی شوند، از والدین یا جفت‌های والدینی برای تشکیل یک باغ بذری جدید استفاده می‌شوند. استفاده از اصلاح رگه برای ترکیب کردن خصوصیات مطلوب آسانتر است و نیز هم‌شکلی مورفولوژیک بیشتری نسبت به گزینش توده‌ای ایجاد می‌نماید.

پس از کشف روش تکثیر غیرجنسی از طریق قلمه‌های تک برگی برای گیاه چای که توسط تانستال در سال 1931 صورت گرفت، اصلاح به روش گزینش کلونی پایه‌گذاری شد (شکل 10). اما در آن زمان، معیارهای مناسبی برای گزینش در گیاه چای شناخته نشده بود و این روش بعدها تکامل یافت. این روش دارای سه مرحله‌ی اساسی است که به ترتیب عبارتند از: انتخاب تک بوته‌های برتر از باغ‌های بذری و قدیمی چای، آزمایش‌های خزانه‌ای و آزمایش‌های بلندمدت مزرعه‌ای. پس از انتخاب بصری تک بوته‌های برتر بر اساس معیارهای مورفو -فیزیولوژیک و نشانه‌گذاری آنها، بوته‌ها در طول یک سال مورد ارزیابی‌های مختلف قرار می‌گیرند. از جمله این مطالعات، بررسی مقاومت به تنش‌های زنده و غیرزنده و اندازه‌گیری مقدار ترکیبات موثر بر کیفیت برگ سبز تک بوته‌ها (نظیر تانن، کافئین، ماده خشک و ...) همچنین سنجش میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز می‌باشد که از طریق آزمون کلروفرم ارزشیابی می‌گردد. سپس از بهترین بوته‌های انتخابی، قلمه‌گیری شده و قلمه‌های آماده شده به منظور انجام آزمایش‌های ریشه‌زایی در خزانه‌های آماده شده کشت می‌شوند. بررسی‌های مورفولوژیک، یک سال پس از کاشت قلمه‌ها در خزانه انجام شده و مرحله‌ی دوم گزینش نیز با جمع بندی نتایج آزمایش‌های خزانه‌ای شامل اندازه‌گیری ارتفاع نهال، قطر ساقه، طول ریشه و ... به پایان می‌رسد. 18 ماه پس از کاشت قلمه‌ها در خزانه، اقدام به حذف ژنوتیپ‌های نامطلوب و انتقال ژنوتیپ‌های برتر به زمین اصلی می‌گردد. کشت ژنوتیپ‌های انتخابی در مزرعه با فواصل ثابت و در قالب یک طرح آزمایشی تکراردار خواهد بود. از کاشت نهال تا اسکلت‌بندی نهایی بوته به 5 سال زمان نیاز است و در طول این سال‌ها یادداشت برداری‌های لازم انجام خواهد شد. پس از اسکلت‌بندی نهایی و تشکیل بوته، مقایسه‌ی عملکرد برگ سبز و چای ساخته شده‌ی ژنوتیپ‌ها انجام شده و بهترین ژنوتیپ به عنوان رقم کلونی اصلاح شده برای همان منطقه آزادسازی می‌شود.

---

[1] Stiefelhagen
[2] Cohen Stuart
[3] Bakhtadze
[4] Wight
[5] Timoshenko
[6] Line Breeding

شکل 9– بوته‌ی گزینش شده

3 -2 -1 - معیارهای انتخاب بوته‌های مادری چای

اسکلت قوی، اندازه‌ی بوته (قطر بوته)، تعداد شاخساره، اندازه‌ی شاخساره، اندازه‌ی برگ، زاویه‌ی برگ با ساقه، طول میانگره، تراکم نقاط برگچینی، تعداد جوانه روی سطح هرس شده، توانایی رقابت در رشد، جهش رشد (فلاش دهی)[1] ، تولید ماده‌ی خشک، وزن بقایای هرس، رگبرگ جوان، کرک‌دار بودن پشت برگ، پایداری عملکرد، مقاومت به تنش های زنده و غیر زنده و.. می‌باشند که به اجمال بهترین آنها مرور می گردند:

3 -2 -1 -1 - اسکلت خوب

اسکلت خوب و عادت رشدی مطلوب از صفات مهم و مرتبط با عملکرد هستند که در انتخاب مشاهده‌ای استفاده می‌شوند. همچنین همبستگی معنی‌داری بین سطح بوته و عملکرد و نیز بین سطح بوته و تعداد شاخساره‌ها به دست آمده که در انتخاب تک بوته‌های برتر مورد توجه قرار می‌گیرد. به‌علاوه، اندازه‌ی بوته اگر به همراه ظرفیت فلاش‌دهی در نظر گرفته شود، به عنوان یک پارامتر مهم در تخمین ظرفیت تولید محصول چای محسوب می گردد.

3 -2 -1 -2 - تعداد شاخساره

تعداد شاخساره معیار بسیار مهمی در انتخاب بوته است، اما باید بین تعداد شاخساره‌ی فعال و راکد[2] تفاوت قائل شد. چرا که عدم توجه به نسبت آنها روی یک بوته می تواند انتخاب را به سوی بوته هایی با جوانه‌های راکد بیشتر منحرف کند. بنابراین تراکم نقاط

[1]- Flushing
[2] Banjhi

برگ‌چینی روی سطح بوته و به همان نسبت تعداد شاخساره‌ها، معیارهای مفیدی برای برآورد عملکرد بالقوه‌ی یک بوته مادری هستند.

3 -2 -1 -3 - همبستگی اندازه‌ی برگ و عملکرد بوته‌ی چای

همبستگی مثبتی بین اندازه‌ی برگ و عملکرد گیاه چای به دست آمده است که حاکی از اثر اندازه‌ی برگ روی عملکرد این گیاه است. تصور عمومی بر آن است که به طور معقول، گیاهان ریز برگ دارای عملکرد کمتری نسبت به گیاهان دارای برگ‌های بزرگ می‌باشند.

3 -2 -1 -4 -ماده‌ی خشک

صرف نظر از تغییر در اندازه‌ی گیاه، اندازه‌ی برگ و تراکم شاخساره، ظرفیت تولید محصول در گیاه چای به طور اساسی تحت تاثیر مقدار ماده‌ی خشک تولیدی و تقسیم آن در بوته قرار دارد.

3 -2 -1 -5 - سازگاری گیاه

عملکرد چای فقط تحت تاثیر محل کاشت و فصول سال نیست، بلکه تاثیر ژنوتیپ، عوامل اقلیمی و خاکی و نیز ارتفاع از سطح دریا بر تغییر عملکرد محرز گردیده است. از این رو ثبات یا پایداری عملکرد که ناشی از سازگاری گیاه در محیط است نیز در انتخاب بوته مورد توجه قرار می‌گیرد.

3 -2 -1 -6 -رقابت‌پذیری

توان رقابت‌پذیری بوته‌های چای نیز با اندازه‌گیری عملکرد آنها میسر است. برای این منظور، عملکرد تک بوته‌های انتخابی در بوته و واحد سطح بوته محاسبه شده و با عملکرد بوته‌های رقابت‌کننده مجاور آنها مقایسه می‌شود.

3 -2 -1 -7 - مقاومت به آفات و بیماری‌ها

برای انتخاب بوته‌های مقاوم به آفات و بیماری‌های خسارت‌زا به برگ، مانند شته و بیماری‌های قارچی، توجه به خصوصیات برگ بسیار مهم است. هم‌چنین برای انتخاب بوته‌های مقاوم به خشکی، انتخاب گیاهانی که اپی‌کوتیکول برگ آنها دارای موم[1] بیشتری باشد مطلوب خواهد بود.

3 -2 -1 -8 - برگ‌دار بودن و رنگ سبز روشن برگ‌ها

چای یک محصول کیفی است و کیفیت ضروری‌ترین جزء در اصلاح چای است. انتخاب بوته‌هایی که پشت برگ‌های جوان آن‌ها مملو از کرک بوده و این برگ‌ها به رنگ سبز روشن باشند، می‌تواند دستیابی به چای کیفی را تضمین کند.

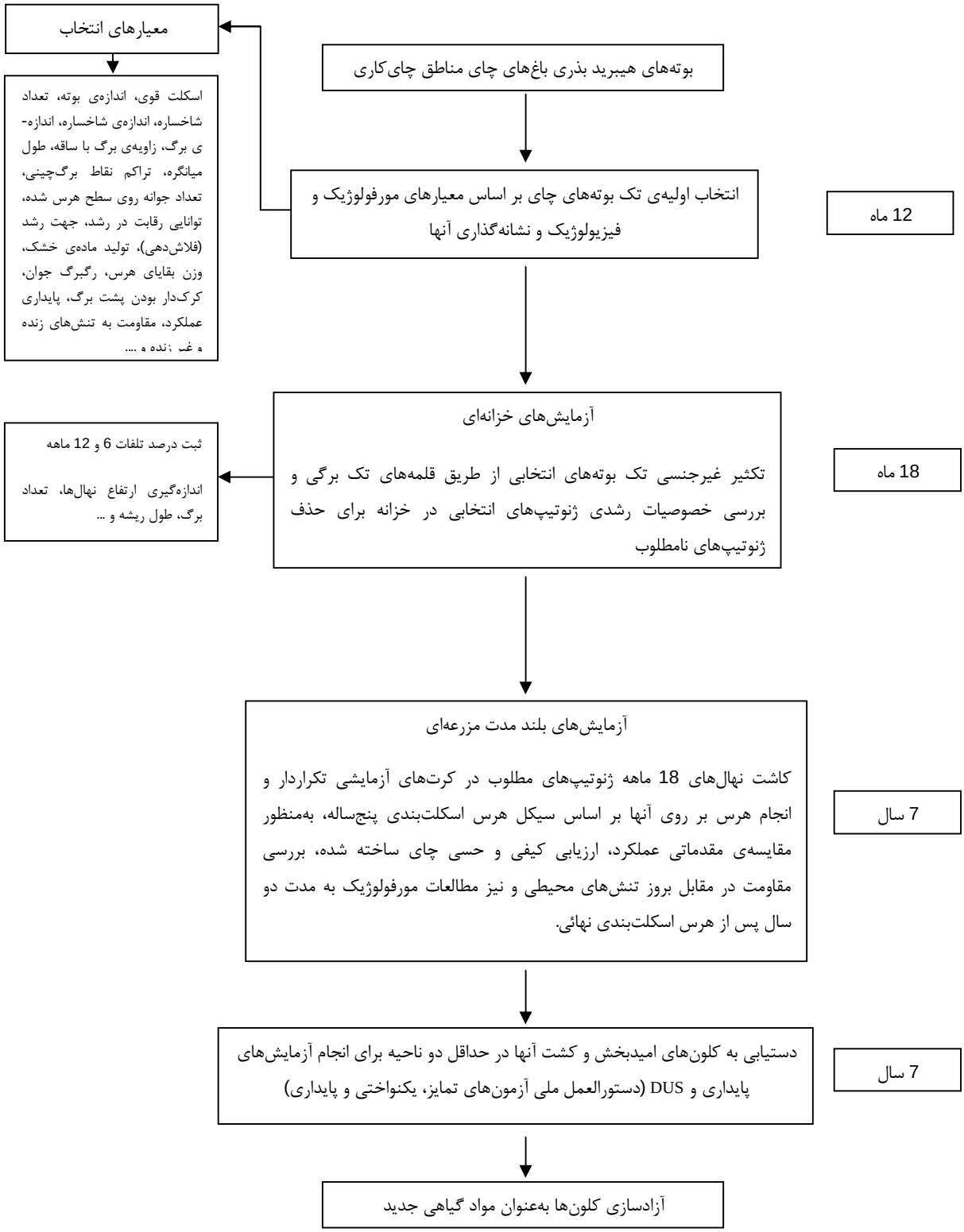
[1] Wax

3 -2 -1 -9 -پلی فنل‌ها

مقدار کل پلی فنل‌ها و میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز نیز از عوامل مهم کنترل‌کننده کیفیت چای هستند که در انتخاب تک بوته‌ها لحاظ می‌شوند. به همین منظور در انتخاب بوته‌ی مناسب برای تعیین میزان پلی فنل‌ها به‌عنوان یک عامل کیفی انجام تست کلروفرم توصیه می‌گردد.

بنا بر عقیده‌ی وایت (1956) به ازای هر 40 تا 100 هزار بوته در باغ‌های بذری قدیمی، فقط یک بوته دارای عملکرد و کیفیت مطلوب است. همچنین بزباروآ (1975) تخمین زده است که فقط 0/002 درصد از بوته‌هایی که مراحل اولیه‌ی گزینش را طی کرده‌اند، به طور موفقیت آمیزی به عنوان کلون اصلاح شده معرفی می‌شوند. همچنین وی 67 درصد از تغییرات عملکرد بوته‌های چای را به واسطه‌ی اثر محیط و 33 درصد باقیمانده را ناشی از تفاوت های ژنتیکی برآورد کرده است. بر طبق منابع موجود طول عمر مفید یک رقم کلونی چای به شرط عدم ظهور بیوتیپ‌های جدید از آفات و بیماری‌ها و نیز عدم وقوع تنش خشکی شدید و طولانی، حداکثر 40 سال است. در باغ‌های بزرگ، نباید تمامی قطعات را به کشت یک رقم کلونی اختصاص داد، بلکه تا 40 درصد از یک باغ را می‌توان با دو کلون اصلاح شده مشابه کشت نمود. ارقام کلونی کشت شده در یک باغ باید خصوصیات رشدی مشابه داشته و برگ‌های چیده شده آنها خصوصیات پلاس، مالش، تخمیر و قابلیت اختلاط را داشته باشند.

شناسنامه‌دار نمودن باغ‌های چای کشور برای اطلاع کامل از وضعیت موجود می‌تواند به‌عنوان یک برنامه‌ی ملی مورد توجه قرار گرفته و بدین لحاظ اکیداً توصیه می‌گردد.

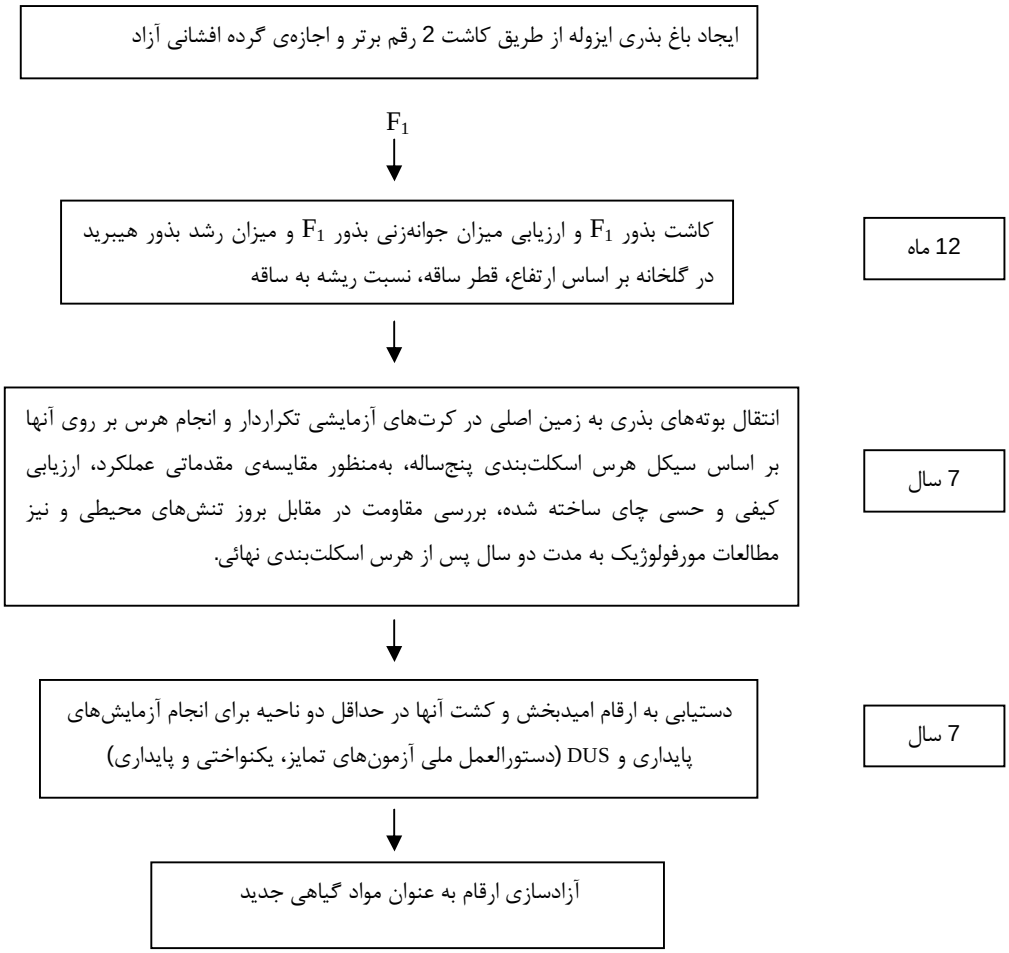


شکل 10– گزینش کلونی چای (Singh, 1999).

3 -3 - دورگ‌گیری

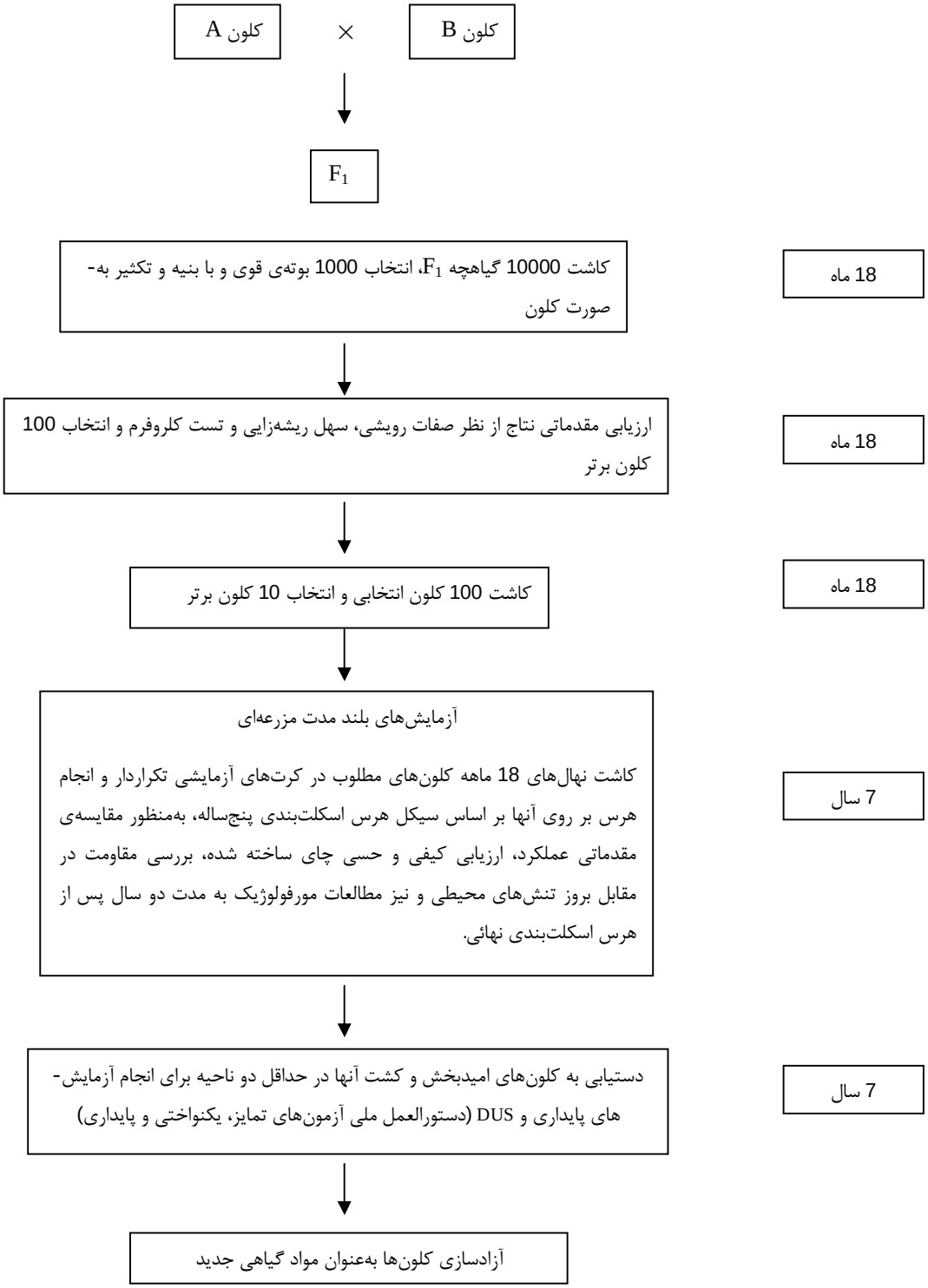
در دورگ‌گیری طبیعی (شکل 11)، دو والد بر اساس خصوصیات مطلوب، مانند عملکرد، کیفیت یا تحمل به بیماری در کنار یکدیگر و به صورت ایزوله کشت و پس از آن بذور F_1 برداشت شده و مجددا کشت می‌گردند. اگر متوسط عملکرد این گیاهان از والدینشان بهتر باشد، این بذور به عنوان بذور هیبرید معرفی خواهند گردید. به دنبال آن برخی نتاج برتر برای انجام آزمایش‌های چند ناحیه‌ای انتخاب می‌گردند و در صورت مناسب بودن، به عنوان رقم بذری دو کلونی[1] یا هیبرید معرفی می‌شوند. این کلون‌ها از لحاظ جغرافیایی، خاص بوده و اکثر موسسات تحقیقات چای دنیا کلون‌هایی برای مناطق خود تولید نموده‌اند. گاهی طی فرآیند ذکر شده بیش از دو والد به منظور تولید بذور چند کلونی[2] مورد استفاده قرار می‌گیرند و هدف از انجام این کار ایجاد تنوع بیشتر در میان بذور F_1 است. مدت زمان لازم برای تولید یک واریته‌ی بذری دو یا چند کلونی از حداقل 21 تا حداکثر 26 سال متغیر است زیرا برای گزینش اجداد کلونی به 6 تا 8 سال، برای رشد بوته‌های بذری به 5 تا 6 سال، برای آزمون نتاج به 4 تا 5 سال و برای تاسیس باغ‌های بذری دو یا چند کلونی جهت آزمایش‌های منطقه‌ای به 6 تا 7 سال زمان نیاز می‌باشد. لازم به ذکر است که بعد از دورگ‌گیری برای انتخاب کلون‌های برتر از روش گزینش کلونی همان‌طور که توضیح داده از آنجایی که دستیابی به شجره‌ی هر رقم دشوار است، شانس بازآفرینی مجدد عملکرد پایین بوده و در نتیجه در حال حاضر این فرآیند ترجیح داده می‌شود.

[1] Biclonal seed
[2] Polyclonal seed



شکل 11 - دورگ‌گیری طبیعی (Willson and Clifford, 2012)

از دورگ‌گیری مصنوعی (گرده‌افشانی دستی یا تلاقی کنترل شده) (شکل 12) نیز در اصلاح چای استفاده می‌شود و حتی برخی از ارقام کلونی چای از این طریق به وجود آمده‌اند. در این روش ابتدا غنچه‌های گل والد نر با پاکت‌های پلیتنی (پرگامین) و در مرحله پیش بالن یعنی 18 تا 24 ساعت قبل از گرده افشانی پوشانده می‌شوند. غنچه‌های گل والد ماده نیز در مرحله بالن (صبح روز باز شدن گل‌ها) اخته شده و پاکت‌گذاری می‌شوند. گرده افشانی دستی به‌صورت تکان دادن گل‌های دانه‌ی گرده‌ی رسیده بر روی کلاله گل ماده انجام شده و پاکت‌های ایزولاسیون گل‌های ماده، 48 ساعت پس از گرده افشانی حفظ شده و سپس با خشکیده شدن کلاله، پاکت‌ها برداشته می‌شوند. سازگاری تلاقی بین کلون‌های چای با انجام گرده افشانی دستی و مقایسه نتاج با والدین قابل ارزیابی است. این روش به دلایلی همچون 1 -میزان موفقیت پایین 2 -در دسترس بودن گل‌های چای در دوره‌ی زمانی کوتاه (2 -3 ماه) 3 - مدت زمان طولانی رسیدن بذر (14 -12 ماه) و 4 -زمان متفاوت گلدهی کلون‌های مختلف، به عنوان یک روش اصلاحی چای به موفقیت کمی دست یافته است.



شکل 12 - دورگ‌گیری مصنوعی

3 -4 - پلی پلوئیدی

عملکرد چای، به عنوان معیار اصلی کشت چای تجاری، بستگی به اندازه و تراکم برگ در زمان برداشت دارد. طبق گزارش‌های ساتیانارایان و شارما (1982)[1]، همبستگی مثبتی بین اندازه‌ی برگ و عملکرد چای وجود دارد، بنابراین توسعه‌ی ژنوتیپ‌های چای با برگ‌های بزرگ‌تر به روش پلی‌پلوئیدی ممکن است برای افزایش عملکرد چای مفید باشد. به علاوه، در گیاهانی که به روش رویشی تکثیر می‌یابند، اصلاح به روش پلی‌پلوئیدی می‌تواند موثر واقع شود. اصلاح چای به روش پلی‌پلوئیدی به میزان زیادی صورت گرفته است که در ذیل به شرح آن‌ها می‌پردازیم (گوناسکارا و راناتونگا[2]، 2003):

3 -4 -1 - پلی‌پلوئیدی طبیعی

با وجود دیپلوئیدی بودن گونه‌های کشت شده‌ی چای (مورینگو و همکاران[3]، 1929؛ باروآ، 1989)، پلی‌پلوئیدی درون و بین گونه-ای چای (جاناکی آمال[4]، 1952؛ بزباروآ، 1971؛ جایاسوریا و گووینداراجولو[5]، 1975؛ واچیرا و کیپلانگات[6]، 1991) و خویشاوندان وحشی آن گزارش گردیده است. جالب توجه است که وجود پلی‌پلوئیدهای طبیعی در جمعیت‌های چای کشور ژاپن نسبت به سایر کشورها متداول است (بانرجی، 1992؛ سیمورا و ایناب[7]، 1952). بزباروا[8] (1968) گزارش نمود که تری‌پلوئیدی، تتراپلوئیدی، پنتاپلوئیدی و آنیوپلوئیدی در چای، ناشی از دگرگرده‌افشانی طبیعی نتاج با فراوانی بسیار پایین است.

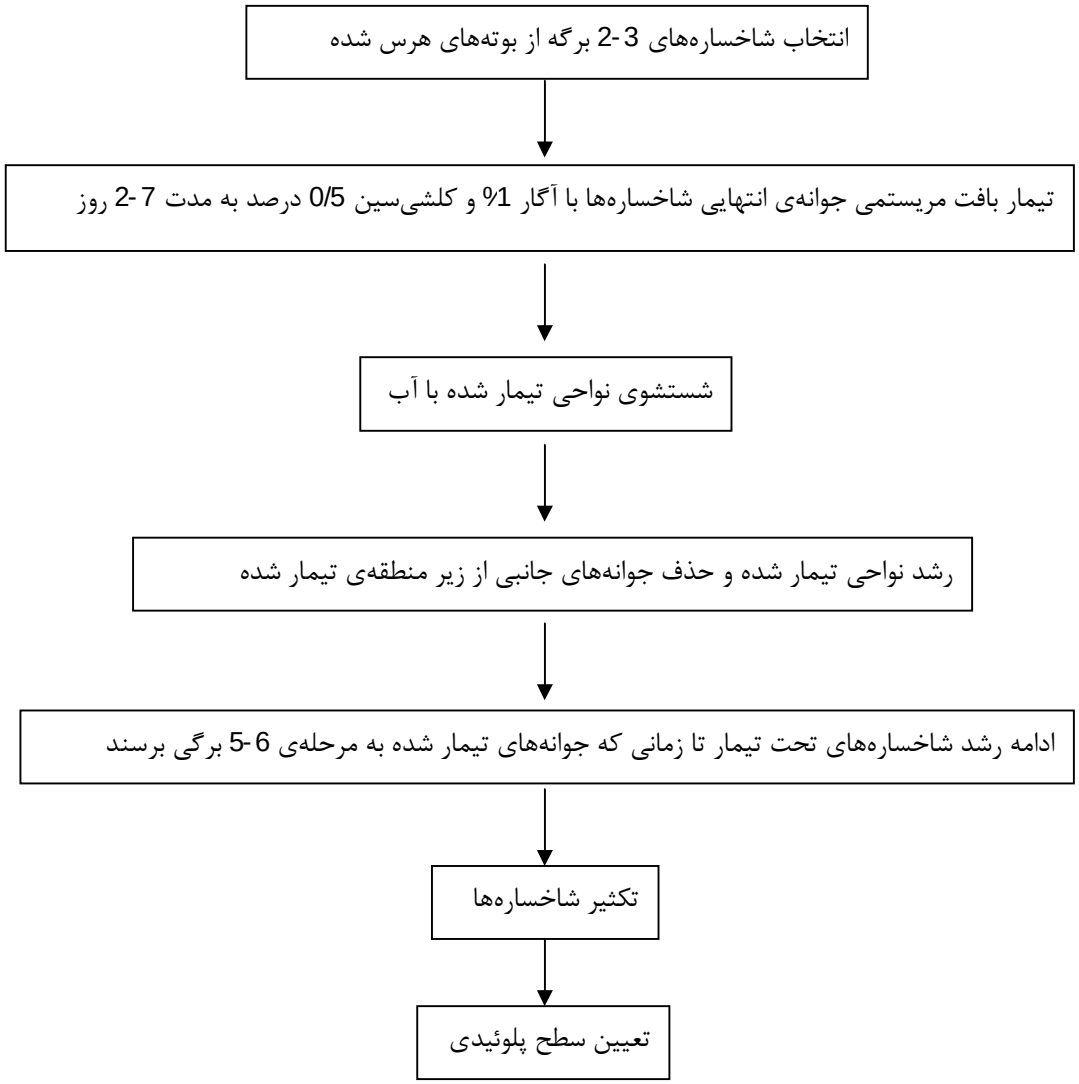
3 -4 -2 - پلی‌پلوئیدی مصنوعی

از زمان کشف (دهه 1930) اثر کلشی‌سین به‌منظور دو برابر کردن تعداد کروموزوم‌ها در تقسیم سلولی، به‌طور گسترده از این روش برای افزایش سطح پلی‌پلوئیدی در گیاهان استفاده گردید (بلاکسلی و آوری[9]، 1937). کلشی‌سین در تقسیم میتوز سلول‌های مریستمی از تشکل دوک‌های پروتئینی تقسیم سلولی جلوگیری نموده و یا باعث قطع آنها می‌گردد. لذا کروموزوم‌های دوبل شده به قطبین سلول مهاجرت ننموده و بدین ترتیب باعث دوبرابر شدن تعداد کروموزوم داخل سلول می‌گردد. در چای نیز مشابه سایر گیاهان، از کلشی‌سین به منظور القاء پلی‌پلوئیدی مصنوعی استفاده گردیده است. در سریلانکا، سباستیامپیلای[10] (1976) 5 گیاه تتراپلوئید به نام‌های TRI 2023، 2024، 2025، 2026 و DT 95 از طریق تیمار بافت‌های مریستمی جوانه‌ی انتهایی با کلشی‌سین آغشته به آگار به مدت 7 -2 روز، تولید کرده است. اگرچه وی با پاسخ متفاوت ژنوتیپ‌های چای به تیمار کلشی‌سین دریافت که

---

[1] Satyanarayan and Sharma
[2] Gunasekara and Ranatunga
[3] Morinago
[4] Janaki Ammal
[5] Jayasuriya and Govindarajulu
[6] Wachira and Kiplangat
[7] Simura and Inabe
[8] Bezbaruah
[9] Blakeslee and Avery
[10] Sebasthiampillai

گیاهان پلی‌پلوئید وی، نظیر آنچه که از طریق بررسی سیتولوژیک سلول‌های نوک ریشه دست یافت، تتراپلوئید بودند. هر چند تلاش‌ها برای القاء پلی‌پلوئیدی با استفاده از اتیل متان سولفانات (EMS) در گونه‌های آسام و هند موفقیت‌آمیز نبوده است. با این وجود، پس از آن زمان در همان موسسه، بیش از 170 و 70 پلی‌پلوئید به ترتیب از طریق هیبریداسیون متداول و تیمار کلشی‌سین تولید شده است (سینگ[1]، 1999). در عین حال، در چای بیش از 80% پلوئیدی با استفاده از کلشی‌سین به عنوان عامل جهش‌زا، بدست آمده است.



شکل 13 -تعیین سطح پلوئیدی در پلی‌پلوئیدی مصنوعی

[1] Singh

3 -4 -3 - نشانگرهای مورفولوژیک، آناتومیکی و سیتولوژیکی در چای‌های پلی‌پلوئید

شناسایی نشانگرهای مرتبط با مورفولوژی، آناتومی یا سیتولوژی در غربال پلی‌پلوئیدی، چه به‌صورت القاء مصنوعی و چه طبیعی، اهمیت بسیار زیادی دارد. به‌طورکلی سطح پلوئیدی چای از طریق شمارش تعداد کروموزوم‌ها در بافت‌های مریستمی به‌عنوان مثال در سلول‌های نوک ریشه یا سلول‌های مادری گرده تعیین می‌گردد. چادهوری[1] (1979) دریافت که طیف گسترده‌ای از تنوع فنوتیپی و آناتومیکی از قبیل فراوانی و اندازه‌ی روزنه و اسکلریدها در میان نتاج چای تریپلوئید وجود دارد (چادهوری و بزباروآ، 1985). به‌طور مشابه به منظور بررسی اثرات سطح پلی‌پلوئیدی بر ریخت‌شناسی جمعیت گیاهچه‌های F_1 حاصل از تلاقی بین ارقام دیپلوئید و تتراپلوئید، رابطه‌ی واضحی بین سطوح پلوئیدی و تغییرات ریخت‌شناسی نشان داده شده است (رشید[2] و همکاران، 1985).

در بین نشانگرهای مختلف مورفولوژیک، سطح برگ در چای تریپلوئید بزرگ‌تر است، درحالی‌که گسترش برگ یا به عبارتی میزان رشد برگ در گونه‌های تریپلوئید در مقایسه با گونه‌های دیپلوئید پایین‌تر است (انگتیچ و واچیرا[3]، 1992). علت این امر ممکن است به این دلیل باشد که صفات مذکور در گونه‌های دیپلوئید نسبت به گونه‌های پلی‌پلوئید بیشتر تحت تاثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرند.

نشانگرهای آناتومیکی مانند تراکم روزنه به منظور تشخیص تریپلوئیدی از دیپلوئیدی مورد استفاده قرار گرفتند، به‌طوری‌که تراکم روزنه در ارقام تریپلوئید کمتر از ارقام دیپلوئید است (آما[4]، 1974؛ چادهوری و بزباروآ، 1985؛ واچیرا، 1994). به طور مشابه، اندازه‌ی سلول‌های محافظ همانند اندازه‌ی روزنه در چای تریپلوئید و تتراپلوئید بیشتر از دیپلوئید است (آما، 1974). هر چند این نشانگرها نمی‌توانند همیشه به عنوان یک نشانگر قابل اعتماد برای شناسایی پلی‌پلوئیدی در چای مورد استفاده قرار گیرد. در حقیقت چادهوری و بزباروا (1985) گزارش نمودند که بین سطح پلوئیدی و تراکم روزنه همبستگی وجود ندارد. از طرف دیگر، واچیرا[5] (1994) دریافت که از لحاظ نسبت طول به عرض سلول‌های محافظ در بین دیپلوئیدها و تریپلوئیدها تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. همچنین تعداد کلروپلاست در سلول‌های محافظ به عنوان یک نشانگر قابل اعتماد پلوئیدی در چای شناسایی شده است (احمد و سینگ[6]، 1993؛ کوسکی و واچیرا[7]، 2000؛ راناتونگا و گوناسکار[8]، 2002؛ چن و یی[9]، 1989). علاوه بر آن، کوسکی و واچیرا (2000) دریافتند که نسبت تعداد کلروپلاست سلول‌های محافظ در دیپلوئیدها، تریپلوئیدها و تتراپلوئیدها 4:3:2 می‌باشد که همانند نسبت تعداد کروموزوم‌های آنها است (60:45:30) (احمد و سینگ، 1993). بنابراین، یافته‌ها بر این موضوع دلالت می‌کنند که سطح پلوئیدی چای می‌تواند به درستی و سریعا از طریق روش شمارش کلروپلاست نسبت به معیارهای اندازه و تراکم روزنه شناسایی گردد.

---

[1] Chaudhuri
[2] Rashid
[3] Ngetich and Wachira
[4] Amma
[5] Wachira
[6] Ahmed and Singh
[7] Koskey and Wachira
[8] Ranatunga and Gunasekare
[9] Chen and Ye

اندام‌های زایشی مانند دانه‌ی گرده در اکثر ارقام تتراپلوئید بیشتر از همتای دیپلوئیدیشان است (گوناسکارا، 2000). در حالی‌که در جوانه‌زنی درون شیشه‌ای، دانه‌ی گرده در ارقام تتراپلوئید ضعیف‌تر از ارقام دیپلوئید است (تیروکوماران و گوناسکار[1]، 2001). تنها 2% از دانه‌ی گرده‌ی تریپلوئیدهای طبیعی قابل زنده ماندن هستند (بزباروآ، 1971). گزارش گردیده است که درصد زنده‌مانی گرده و باروری ارقام تریپلوئید به گونه‌ای است که قادر به تبدیل شدن به دانه و میوه نیستند. به‌طورکلی این چنین نشانگرهای مورفولوژیک همانند نشانگرهای آناتومیکی پایدار نبوده و توسط به‌نژادگران مورد قبول واقع نمی‌شوند.

بنابراین، نشانگر سیتولوژیکی همانند شمارش کروموزوم‌ها به منظور شناسایی تریپلوئیدها از دیپلوئیدها به عنوان یک نشانگر قابل اعتماد یافت شده است. تعداد کروموزوم‌ها در سلول‌های مادری گرده، سلول‌های نوک ریشه و سلول‌های بافت مریستمی نوک ریشه، در چای استاندارد شده‌اند (گوناسکارا و راناتونگا، 2001). واچیرا و موکی[2] (1997) یک روش سیتولوژیکی جدید به منظور ارزیابی فعالیت هستک و نواحی سازماندهی شده‌ی هسته‌ی پلی‌پلوئیدها و دیپلوئیدها ابداع نموده‌اند. مطالعات آنها نشان داد که تعداد هستک با مضربی از تعداد سلول‌های سوماتیک مطابقت دارد. از این‌رو، به عنوان یک نشانگر مناسب برای پی بردن به سطح پلوئیدی مورد استفاده قرار می‌گیرد. فرض بر این است که خصوصیات مربوط به ویژگی‌های آناتومیکی بسیار دقیق‌تر از خصوصیات مورفولوژیک که برای غربال ژنوتپ‌های پلی‌پلوئید چای مورد استفاده قرار می‌گرفته، می‌باشند و به دلیل این حقیقت است که نسبت به گذشته تحت تاثیر شرایط محیطی بیشتری قرار می‌گیرند.

3 -4 -4 -استفاده از پلی‌پلوئیدی در به‌نژادی چای

به‌طورکلی اغلب پلی‌پلوئیدهای طبیعی چای فاقد صفات مطلوب می‌باشند (بزباروآ، 1968؛ سارما و بزباروآ[3]، 1984) و اصلاح به روش پلی‌پلوئیدی نیازمند هیبریداسیون طراحی شده، گزینش پلی‌پلوئیدهای امیدبخش و ارزیابی دقیق می‌باشد تا عملکردشان به عنوان ارقام بالقوه تایید گردد. پلی‌پلوئیدهای با عملکرد بالا و کیفیت پایین چای، از طریق تلاقی با رقم دیپلوئید دارای کیفیت بالا، بهبود یافته است (سارما و بزباروآ، 1984). در ژاپن (اوسون[4]، 1985)، هند (چادهوری، 1979) و بنگلادش (رشید و همکاران، 1985) چای تریپلوئید از طریق تلاقی چای تتراپلوئید با چای دیپلوئید به‌دست آمده است.

روش متداول تولید تریپلوئید از طریق لقاح مصنوعی، تلاقی تتراپلوئیدها با ارقام دیپلوئید است. به عنوان مثال، بیش از 238 هیبرید از طریق تلاقی بین تتراپلوئیدها و دیپلوئیدها در ایستگاه تحقیقات توکلای، آسام و هند تولید شده که فقط 79 هیبرید تریپلوئید بوده‌اند (باربورا[5]، 1996). از آنجایی که القاء دیپلوئیدی زمان‌بر است، اوسون (1958) از دانه‌ی گرده‌ی دیپلوئید گل‌های نارس برای برای گرده‌افشانی گیاهان دیپلوئید به منظور تولید تریپلوئیدی استفاده نمود. هرچند، شواهدی وجود ندارد که نشان دهد این روش در برنامه‌های اصلاحی پلی‌پلوئیدی به طور گسترده قابل اجرا باشد. اخیرا، داس[6] و همکاران (2013) به منظور بررسی کیفیت ارقام

[1] Thirukkumaran and Gunasekare
[2] Muoki
[3] Sarmah and Bezbaruah
[4] Osone
[5] Barbora
[6] Das

تریپلوئید چای، میزان کافئین و کاتچین 97 نتاج در حال تفرق، والدین تتراپلوئید و دیپلوئید را مورد بررسی قرار دادند. سطح کافئین و کاتچین نتاج تریپلوئید با والدین دیپلوئیدشان مقایسه شدند. بعضی از نتاج نسبت به والدین دیپلوئیدشان، کلون‌های با کیفیت بهتری بودند. اکثر نتاج حاصل از تلاقی گونه‌ی دیپلوئید *C. sinensis* و گونه‌ی تتراپلوئید، هتروزیس بالایی را از لحاظ کافئین و کاتچین نشان دادند. مشارکت ژنومی والدین دیپلوئید به عنوان یک فاکتور مهم در تنوع بین دو جمعیت محسوب می‌گردد. این محققان افزایش کمی برخی از معیارهای مربوط به کیفیت در چای را اثبات نمودند و یک چهارچوب به منظور تمرکز بر روی روش اصلاحی کلاسیک برای توسعه‌ی کیفیت ارقام چای فراهم نمودند.

3 -4 -5 - بهره‌برداری تجاری از پلی‌پلوئیدها

اگرچه به شناسایی پلی‌پلوئیدهای طبیعی و توسعه‌ی پلی‌پلوئیدهای مصنوعی تاکید شده است، میزان گزارش‌های حاصل از ارزیابی عملکرد و کیفیت صفات بسیار کم است. بعد از کشف پلی‌پلوئیدهای طبیعی چای (کاراساوا[1]، 1932؛ بزباروآ 1971؛ آما، 1974؛ کاتسو[2]، 1966؛ سباستیامپیلای، 1976)، پلی‌پلوئیدهای طبیعی در برنامه‌های گزینش ارقام به منظور شناسایی صفات زراعی مطلوب وارد شدند. مطالعات بر این موضوع دلالت می‌کنند که پلی‌پلوئیدهای طبیعی در جنوب هند یافت شده و دارای عملکرد و کیفیت بالایی می‌باشند (شارما و رانگاناتان[3]، 1986). از طرف دیگر، بانرجی(b1992)[4] گزارش نمود که اگرچه پلی‌پلوئیدها قدرت بالایی داشته و متحمل به تنش‌های محیطی هستند اما در بعضی مواقع کیفیت پایینی را نشان می‌دهند (بزباروآ، 1968؛ سارما و بزباروآ، 1984). رشد زیاد در پلی‌پلوئیدها ممکن است با افزایش فتوسنتز با توجه به افزایش تعداد کلروپلاست در سلول‌های محافظ ارتباط داشته باشد.

اثرات پلوئیدی بر عملکرد و اجزای عملکرد چای مطالعه شده است (آما، 1974؛ بانرجی، b1992؛ واچیرا و انگتیچ، 1999). مشخص شده که ارقام تریپلوئید در مقایسه با ارقام دیپلوئید، شاخساره‌های قابل برداشت بزرگ‌تر، سنگین‌تر اما در واحد سطح کمتر، تولید می‌کنند به این دلیل که علی‌رغم وزن شاخساره‌ی بیشتر، عملکرد تریپلوئیدها کمتر از دیپلوئیدها است (واچیرا، 1994). در مطالعه‌ی دیگر که توسط سینگ[5] (1980) انجام شده، دریافت که نوع متفاوتی از پلی‌پلوئید در هند تولید شده به‌طوری‌که وزن خشک 5 برگ کاملا شکل یافته در تریپلوئیدها و تتراپلوئیدها به ترتیب 14 و 109 درصد بیشتر از برگ‌های دیپلوئید بوده است. هر چند سایر پنتاپلوئیدها و آنیوپلوئیدها وزن خشک برگ نسبتا پایینی داشتند.

اگرچه نشان داده شده است که پلی‌پلوئیدی در چای میزان عملکرد را افزایش می‌دهد (جایاسوریا و گووین داراجولو[6]، 1975؛ کولاسگارام[7]، 1980؛ شارما و رانگاناتان، 1986) ولی این مورد همیشه صدق نمی‌کند و مواردی وجود دارد که افزایش پلی‌پلوئیدی پلوئیدی منجر به کاهش تولید گردیده است (بانرجی، b1992؛ واچیرا، 1994). هر چند، تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها در سطوح

[1] Karasawa
[2] Katsuo
[3] Sharma and Ranganathan
[4] Banerjee
[5] Singh
[6] Jayasuriya and Govindarajulu
[7] Kulasegaram

پلوئیدی مشابه از لحاظ عملکرد می‌تواند وجود داشته باشد. در موارد خاص، که تریپلوئیدها عملکرد بالاتری از دیپلوئیدها دارند، به پتانسیل برای گزینش و یا توسعه‌ی ارقام پلی‌پلوئید با عملکرد بالا دلالت دارد. با این اوصاف، توانایی ریشه‌دهی، اندازه‌ی برگ و وزن خشک برگ تریپلوئیدها و تتراپلوئیدها بیشتر از دیپلوئیدها است در حالی که در پنتاپلوئیدها و آنیوپلوئیدها کمتر است (بانرجی، b1992).

دو رقم تریپلوئید در صنعت چای سریلانکا از لحاظ تجاری موفق بوده است. اولین رقم TRI 3069 می‌باشد که تتراپلوئید ناشی از TRI 2025 است و به‌صورت تجاری پذیرفته شده و دارای صفات بهبودیافته‌ی بسیاری است و دیگری HS 10A تریپلوئید طبیعی که از باغ بذری چای در ایستگاه Hethersett سریلانکا گزینش شده است و نسبت به ارقام دیپلوئید به سطوح جغرافیایی بالا سازگاری دارد (کولاسگارام، 1980). گزارش شده است که فرم‌های تریپلوئید چای نسبت به فرم‌های دیپلوئید به سرما مقاوم‌تر بوده و کلونی که برای کاشت در جنوب هندوستان به طور گسترده پیشنهاد می‌شود تریپلوئید طبیعی است (جایاسوریا و گووین داراجولو، 1975).

اگرچه تلاش‌های زیادی برای شناسایی نشانگرهای مشخص برای سطح پلوئیدی در چای انجام شده است، ولی نتایج ثابت شده نیست. هر چند در بین معیارهای مورد مطالعه، تعداد کلروپلاست در سلول‌های محافظ و تراکم روزنه به عنوان یک معیار قابل اعتمادتر برای تجزیه و تحلیل سطح پلوئیدی می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. این نشانگرها ممکن است برای گزینش پلی‌پلوئیدها در میان تعداد زیادی ژنوتیپ‌های چای به‌کار روند، اگر چه تعداد کروموزوم به عنوان قابل اعتمادترین معیار بوده و این روش می-تواند زمان و منابع لازم برای مطالعات سیتولوژیکی بعدی را کاهش دهد.

3 -5 - اصلاح از طریق جهش

اصلاح چای به‌واسطه‌ی جهش در خلال سال‌های 1968 -1967 در ایستگاه تحقیقات آسام در هند با هدف افزایش تنوع ژنتیکی به منظور استفاده در ارزیابی مواد گیاهی برتر آغاز گردید. هر چند به استثنای یک گزارش در رابطه با تابش اشعه‌ی گاما بر قلمه‌ها، تاکنون پیشرفتی صورت نگرفته است (سینگ، 1984). مطالعات دیگر نشان داده است که می‌توان طیف گسترده‌ای از تنوع را از طریق پرتوتابی به بخش‌های مختلف گیاه مانند بذر، قلمه‌های برگی و جوانه‌های نوک ساقه و جانبی ایجاد نمود که این امر منجر به ایجاد جهش می‌گردد (تاوادگیریدز، 1979).

3 -6 - پیش اصلاح و هیبریداسیون فاصله‌ای

چای به‌واسطه‌ی دو گونه‌ی قابل کشت یعنی *C.sinensis* و *C. assamica* و چندین خویشاوند وحشی قابل اصلاح است. در ابتدا وایت و بارو (1957) دو گونه‌ی *C. irrawadiensis* و *C.sinensis* را تلاقی دادند. سپس بازباروآ و گوگیی[1] (1972) تلاقی موفقی بین دو گونه‌ی *C.sinensis* و *C. japonica* انجام دادند. نتاج حاصل از لحاظ مورفولوژیک بین دو گونه قرار داشتند در حالی‌که

[1] Bazbarua and Gogoi

عملکرد و کیفیت پایین‌تری را نشان دادند. هر چند کلون تجاری TV-24 به عنوان کلون با عملکرد بالا در ایستگاه تحقیقات (TES) در آسام هند از تلاقی بین هیبریدهای F1، *C. irrawadensis* و TV-2 بدست آمد. شش نتاج حاصل از بک کراس بین‌گونه‌ای از طریق تلاقی‌های *C. saluensis* × *C. japonica* (بک کراس با *C. japonica*) ایجاد گردید. پنج صفت در این شش نتاج مورد بررسی قرار گرفت که سه صفت مربوط به فلاوونوئید و دو صفت در رابطه با خصوصیات رویشی بود. به نظر می‌رسید که در هر مورد یک ژن بزرگ اثر دخیل بوده و دو صفت حالت لینکاژی را نشان دادند. لی و همکاران (2005) بین دو گونه‌ی با کیفیت *C. sinensis* و *C. ptilophylla* تلاقی انجام دادند، از میان 62 نتاج، سه نتاج بر اساس پارامترهای بیوشیمیایی و تست ارگانولیپتیک دارای ارزش تجاری بودند. همچنین این سه نتاج متحمل به سرما بوده که گونه‌ی *C. ptilophylla* دارای این خصوصیت بود.

4 - برنامه‌های به‌نژادی چای در ایران

فعالیت‌های به‌نژادی انجام شده در ایران را می‌توان به سه دسته تقسیم نمود:

4 -1 - گزینش کلونی

غلامی و همکاران با انجام پروژه‌ای با عنوان گزینش کلنی برای انتخاب بوته‌های برتر چای و معرفی کلون‌های اصلاح شده که از سال 1378 آغاز گردید، 5 کلون امیدبخش با نام‌های 451، 482، 100، 101 و 444 را معرفی نمودند (گزارش نهائی ارائه نشده است). امید است با انجام پروژه‌های اصلاحی جدید بتوان ارقامی با عملکرد و کیفیت مطلوب معرفی نمود. طبق دستاوردها و برنامه-های تحقیقات ژنتیک و به‌نژادی چای (1396) در سال‌های آتی برنامه‌هایی همچون ارزیابی مقاومت به نماتود مولد زخم ریشه‌ی چای در شرایط خزانه و معرفی پایه‌های متحمل به نماتود، احداث کلکسیون و ارزیابی خصوصیات ارقام تجاری و کلون‌های انتخابی چای و معرفی ارقام سازگار جدید، ارزیابی سازگاری ژنوتیپ‌های امیدبخش و معرفی ارقام جدید قابل اجرا خواهد بود.

4 -2 - مطالعات سیتوژنتیک

غلامی (1386) به منظور انجام مطالعه سیتوژنتیکی و همبستگی کاریوتیپی ژنوتیپ‌های چای، 13 ژنوتیپ از منابع ژنتیکی داخلی و خارجی را انتخاب و پس از مقایسه اثر دو نوع نمونه گیاهی (نوک ریشه و نوک جوانه انتهایی)، دو محلول پیش تیمار (آلفا برومو نفتالین و 8- هیدروکسی کینولئین 0/002 مولار) با سه تیمار زمانی (چهار، شش و هشت ساعت)، دو محلول تثبیت‌کننده (محلول فارمر و محلول لویتسکی) و نیز رنگ‌آمیزی کروموزوم‌ها با دو رنگ استوکارمن و استوآیرون هماتاکسیلین، بهترین شرایط برای مطالعات کاریوتیپی چای را تعیین نمودند. نتایج مشاهده‌ای نشان داد که استفاده از آلفابرمونفتالین (به مدت 8 ساعت) برای پیش‌تیمار، محلول فارمر برای تثبیت و در نهایت رنگ‌آمیزی کروموزوم‌های چای با محلول آستوآیرون هماتاکسیلین می‌تواند اسلایدهای میکروسکوپی واضح‌تری را برای عکس‌برداری و مطالعه خصوصیات کروموزوم‌های چای فراهم آورد. مطالعه کروموزومی نُه ژنوتیپ از مجموعه فوق نشان داد که همه ژنوتیپ‌های چای‌های مورد مطالعه، دیپلویید بوده و 2n=30 کروموزوم داشتند.

عاشوری (1397) تنوع ژنتیکی 26 ژنوتیپ چای از منابع ژنتیکی داخلی و خارجی را مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه دست یافتند که کلیه ژنوتیپ‌ها به جز یک ژنوتیپ دیپلوئید بوده و دارای 2n=30 کروموزوم می‌باشند، طبق گزارش این محققین ژنوتیپ 2021 تریپلوئید بوده و 2n=3x=45 کروموزوم داشت.

طبق دستاوردها و برنامه‌های تحقیقات ژنتیک و به‌نژادی چای (1396) در سال‌های آتی برنامه‌ی اصلاحی چای به روش پلی‌پلوئیدی با عنوان تولید ارقام پلی‌پلوئید از کلون‌های تجاری با هدف دستیابی به ارقام پرمحصول و با کیفیت مطلوب قابل اجرا خواهد بود.

4 -3 - بررسی تنوع ژنتیکی

فلک‌رو (1395) تنوع ژنتیکی ارقام وارداتی و ژنوتیپ‌های انتخابی چای ایران را با استفاده از نشانگر RAPD مورد بررسی قرار داده و عنوان نمود که ژنوتیپ‌های انتخابی دارای تنوع ژنتیکی بالایی بوده و می‌توان در برنامه‌های اصلاحی آینده مورد استفاده قرار گیرند.

جهانگیرزاده و فلک‌رو (1395) و جهانگیرزاده و همکاران (1395، 1396 و Jahangirzadeh *et al.*, 2017) نیز تنوع ژنتیکی ارقام وارداتی و ژنوتیپ‌های انتخابی چای ایران را با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیک، کلروپلاستی، ISSR، SRAP، PCR-RFLP مورد بررسی قرار دادند و عنوان نمودند که ژنوتیپ‌های انتخابی دارای تنوع ژنتیکی بالایی بوده و می‌توان در برنامه‌های اصلاحی آینده مورد استفاده قرار گیرند.

طبق دستاوردها و برنامه‌های تحقیقات ژنتیک و به‌نژادی چای (1396) در سال‌های آتی برنامه‌ی اصلاحی چای به روش دورگ‌گیری با هدف دستیابی به اقرام متحمل به خشکی با کیفیت مطلوب و معرفی ارقام جدید قابل اجرا خواهد بود.

5 - چالش‌های به‌نژادی چای

چالش‌های به‌نژادی چای عبارتند از:

(1) طبیعت چند ساله،

(2) دوره‌ی باروری طولانی، (3)

رکود درون زادآوری،

(4) خودناسازگاری،

(5) عدم دسترسی به موتانت‌های متمایز ناشی از تنش زیستی و غیرزیستی

(6) کمبود معیارهای انتخاب مشخص

(7) کم بودن میزان موفقیت در گرده‌افشانی دستی

(8) زمان گلدهی کوتاه (2 -3 ماه)

9) دوره‌ی طولانی رسیدگی بذر (12 -18 ماه)

10) تفاوت کلون‌ها از نظر زمان گل‌دهی و رسیدن میوه.

به‌طور مشابه، هرچند تکثیر رویشی روشی مؤثر در ازدیاد چای به‌شمار می‌آید، اما توسط چندین عامل مانند:

(1) نرخ کند تکثیر،

(2) عدم دسترسی به مواد گیاهی مناسب به علت خواب عمیق زمستانی و خشکسالی در بعضی از مناطق تحت کشت چای،

(3) نرخ پایین بقاء در خزانه به علت ضعیف شدن ریشه‌ی برخی از کلون‌ها و

(4) توانایی ریشه زایی قلمه‌ها بسته به فصل قلمه‌گیری و ... محدود می‌گردد.

بنابراین، به‌منظور غلبه بر مشکلات مربوط به اصلاح چای، دانشمندان در سراسر جهان شروع به یافتن برخی از روش‌های مکمل از طریق روش‌های بیوتکنولوژی نموده‌اند.

6 - نتیجه‌گیری

اصلاح متداول در چای به خوبی صورت گرفته و تعدادی از کلون‌های منطقه‌ای و هیبریدهای دو والدی در سراسر مناطق چای-خیز دنیا توسعه یافته‌اند. با این حال، چندین جنبه‌ی مهم اصلاح چای در مراحل اولیه خود باقی مانده‌اند که نیاز به تقویت دارند، برخی از این جنبه‌ها عبارتند از: (1) نقشه‌برداری ارتباطی[1] که دارای پتانسیل بسیار بالایی برای مکان‌یابی ژن‌های کنترل کننده‌ی صفات کمی (QTL) به ویژه در چای هستند. (2) توسعه‌ی نشانگرهای مولکولی در مقیاس بزرگ و استفاده از آنها در اصلاح به کمک نشانگر؛ (3) توسعه‌ی نقشه‌ی لینکاژی اولیه.

[1] Association mapping

فهرست منابع

- آزادی گنبد، ر، ش. جهانگیرزاده خیاوی،ک. فلک‌رو و ص. صفائی چائی کار. 1396. تاثیر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و سولفات روی بر ریشه‌زایی قلمه‌های چای. مجله علمی - ترویجی یافته‌های تحقیقاتی در گیاهان زراعی و باغی. (در دست داوری).

- جهانگیرزاده خیاوی، ش.، آ. پیشداد، م. محقق منتظری و س. مظفری. 1396. ارزیابی گوناگونی ژنتیکی در بین برخی ژنوتیپ‌های چای منطقه لاهیجان با استفاده از نشانگرهای مورفولوژی. نخستین کنفرانس بین المللی و دهمین کنگره ملی علوم باغبانی ایران، 13 -16، تهران (دانشگاه تربیت مدرس).

- جهانگیرزاده خیاوی، ش.، ک. فلک‌رو. 1395. بررسی میزان تفاوت ژنتیکی برخی درختچه چای بر پایه نشانگرهای ISSR، اولین همایش ملی اکولوژی، تنوع و حفاظت گیاهی، 27 الی 28 بهمن ماه، تهران، (دانشگاه شهید بهشتی).

- جهانگیرزاده خیاوی، ش.، ک. فلک‌رو، ح. چایچی سیاهکلی، ش. کشاورزی. 1395. مطالعه تنوع موجود در بین ژنوتیپ‌های چای منطقه لاهیجان، سومین همایش بین‌المللی و ششمین همایش ملی گیاهان دارویی و کشاورزی پایدار، 11 آذرماه، همدان.

- عاشوری، ذ. ا. 1397. ارزیابی تنوع ژنتیکی کلون های چای (*Camellia sinensis*) با استفاده از الگوی نواربندی C. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی. پژوهشکده چای.

- غلامی، م. 1379. نگرش کوتاه بر به‌نژادی چای. مجله‌ی چای، سال اول، شماره 1، 33 صفحه.

- غلامی، م. 1382. گزینش کلونی چای، نشریه‌ی فنی شماره 20. اداره‌ی کل خدمات پژوهشی چای.

- غلامی، م. 1386. مطالعه‌ی سیتوژنتیکی و همبستگی کاریوتیپی در ژنوتیپ‌های چای. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی. مرکز تحقیقات چای کشور.

- غلامی، م.، م. جمال امیدی و ک. فلک‌رو. 1392. مطالعه‌ی کاریولوژیکی ژنوتیپ‌های چای (*Camellia sinensis* L.) موجود در ایران. مجله‌ی علمی -پژوهشی زیست‌فناوری گیاهان زراعی. شماره چهارم. صفحات 97 -87.

- فلک‌رو، ک. 1395. ارزیابی تنوع ژنتیکی ارقام وارداتی و ژنوتیپ‌های انتخابی چای در ایران با استفاده از نشانگر رپید. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی. پژوهشکده چای.

- فلک‌رو، ک.، ع. سراجی و ر. آزادی گنبد. 1396. دستاوردها و برنامه‌های تحقیقات ژنتیک و به‌نژادی چای. موسسه تحقیقات علوم باغبانی. 32 صفحه.

- Ackerman, W. L. 1971. Genetics and cytological studies with Camellia and related genera. Technical Bull. No 1427. USDA, US Gov Print Office, Washington, DC, p 115.
- Ahmed, N., I. D. Singh. 1993. A technique for rapid identification of ploidy level in tea. *Two Bud*. 40:31–33.
- Amma, S. 1974. Characteristic of tetraploid tea induced from gamma irradiated Yabukita variety. *Study Tea*. 46:1–6.
- Banerjee, B. 1992a. Botanical classification of tea. In: Wilson KC, Clifford MN (eds) Tea cultivation to consumption. *Chapman and Hall, London*. pp 25–51.

- Banerjee, B. 1992b. Selection and breeding of tea. In: Willson, K. C., M. N. Clifford (eds) *Tea cultivation to consumption*. Chapman and Hall, London, pp 53–86.
- Barbora, B. C., D. N. Barua, B. Bera. 1996. Tea breeding at Tocklai. *Two Bud*. 43:3–9.
- Barua, D. N. 1989. *Science and practice in tea culture*. Tea Research Association, Jorhat, pp 56–58.
- Bezbarua, H. P. 1968. Genetic improvement of tea in North East India- its problem and possibilities. *Indian J Genet*. 28:126–134.
- Bezbaruah, H. P. 1971. Cytological investigation in the family theaceae-I. Chromosome numbers in some *Camellia* species and allied genera. *Carylogia*. 24:421–426.
- Bezbaruah, H. P. 1975. Development of flower, pollination and seed set in tea in North-East India. *Two Bud*. 22:25–30.
- Bezbaruah, H. P., S. C. Gogoi. 1972. An interspecific hybrid between tea (*C. sinensis* L.) and C. Japonica L. *Proc Ind Aca Sci*. B76:219–220.
- Blakeslee, A. F., A. G. Avery. 1937. Methods of inducing doubling of chromosome in plants treated with colchicines. *J Hered*. 28:394–411.
- Chang, H. T., B. Bartholomew. 1984. *Camellia*. Timber Press, Portland.
- Chaudhuri, T. C. 1979. Studies on the morphology and cytology of the progenies of triploid tea (*C. sinensis* L.). Ph.D thesis. Assam Agricultural University, Jorhat, p 176.
- Chaudhuri, T. C., H. P. Bezbaruah. 1985. Morphology and anatomy of the aneupolid and polyploidy tea {*C. sinensis* (L.) O. Kuntze}. *J Plant Crop*. 13:22–30.
- Chen, S., D. Ye. 1989. Cytological studies on polyploid tea. *J Tea Sci*. 9:117–126.
- Cohen Stuart, C. P. 1929. Research on leaf yielding capacity of tea plants (Dutch). *Arch Tree Cult Ned Ind* 4: 276–288.
- Das, S. K., S. Sabhapondit, G. Ahmed, S. Das. 2013. Biochemical evaluation of triploid progenies of diploid 3 tetraploid breeding populations of Camellia for genotypes rich in catechin and caffeine. *Biochem Genet*. 51:358-376.
- Datta, M. B. Agarwal.1992. Intervarietal differences in karyotype of tea. Cytologia 57:437–441.
- Fukusima, E. S. Iwasa, N. Endo, T. Yoshinari. 1966. Cytogenetic studies in *Camellia*. I. Chromosome survey in some *Camellia* species. Jap J Hort 35:413–421.
- Gu, Z. H. Xiao. 2003. Physical mapping of the 18S-26S rDNA by fluorescent in situ hybridization (FISH) in C. reticulata polyploid complex (Theaceae). Plant Sci 164:279–285.
- Gunasekara, M. T. K. 2000. Anatomical characteristics of polyploid tea cultivars. Annual Report, Tea Res Ins of Sri Lanka, p 164.
- Gunasekara, M. T. K., M. A. B. Ranatunga. 2003. Polyplody in tea (*C. sinensis* L.) and its application in tea breeding:a review. *Sri Lanka J Tea Sci*. 68:14–26.
- Jahangirzadeh Khiavi, S., K. Falakro, R. Azadi Gonbad, S. Safaie Chaeikar. Assessment of genetic diversity and relationships among tea genotypes in Iran Based on RAPD and ISSR markers. Horticulture Environment and Biotechnology. (under review)

- Janaki Ammal, E. K. 1952. *Chromosome relationship in cultivated species of Camellia*. Amer Camellia Year Book .
- Jayasuriya, P., V. Govindarajulu. 1975. Chromosome number of some tea clones. *Planters Chron*. LXXX: 185–186.
- Karasawa, K. 1932. On triploid tea. *Bot Mag*. 46:458–460.
- Kondo, K. 1975. Cytological studies in cultivated species of *Camellia*. Ph.D thesis. Univ NC, Chapel Hill, p 260.
- Kondo, K., C. R. Parks. 1979. Giemsa C-banding and karyotype of *Camellia* C-banned karyotypes. Am *Camellia* Y Book 34:40–47.
- Kondo, K., C. R. Parks. 1980. Giemsa C-banding and karyotype of *Camellia*. Proc Internal *Camellia* Cong Kyoto pp 55–57.
- Koskey, J. K., F. N. Wachira. 2000. The use of plastid chloroplast count technique to determine ploidy levels in tea. *Tea*. 21:15–18.
- Kulasegaram, S. 1980. Technical development in tea production. *Tea Q*. 49:157–183.
- Li, X., T. Ye, Q. Huang, D. fu, C. Zhang, L. Zeng. 2005. Study on distant hybridization for commercial tea production. 2005 international symposium on innovation in tea science and sustainable development in tea Industry, TRA, CAAS, China Tea Science Society, Nov 11–15 Hangzhou, China pp 389–395.
- Mondal, T. K. 2011. Camellia. In: Kole, C. (ed) *Wild crop relatives: genomics and breeding resources plantation and ornamental crops*. Springer, USA, pp 15–40.

- Morinago, T., E. Fukusima, T. Kano, Y. Maruyama, Y. Yamasaki. 1929. Choromosome number in cultivated plants. *Bot Mag*. 43:569–594.
- Ng'etich, W. K., F. N. Wachira. 1992. Use of a non-destructive method of leaf area estimation in triploid and diploid tea plants (*C. sinensis*). *Tea*. 13:11–17.
- Oreal, G., P. G. Wilson. 2012. *C. cherryana* (theaceae), a new species from China. *Ann Bot Fennici*. 49:248–254.
- Osone, K. 1958. Studies on the breeding of triploid plants by diplodising gamete cells. *Jap J Breed*. 8:171–177.
- Ranatunaga, M. A. B., M. T. K. Gunasekare. 2002. *Identification of polyploid marker in tea* (*C. sinensis* L.). Proc Annual sessions Sri Lanka Assoc for the Adv of Sci, p 38.
- Rashid, A., M. Chowdhary, A. F. M. Badrul Alam. 1985. Studies on the progenies of a cross between diploid and tetraploid tea. *Sri Lanka J Tea Sci*. 54:54–61.
- Sarmah, P. C., H. P. Bezbaruah. 1984. Triploid breeding in tea. *Two Bud*. 31:55–59.
- Satyanarayan, N., V. S. Sharma. 1982. Biometric basis for yield prediction in tea clonal selection. Proc. PLACROSYM IV, Dec 3–5, 1981, Mysore, India pp 237–243.
- Sealy, J. R. 1958. *A revision of the genus Camellia*. R. Hortic Soc., London, pp 58–60.
- Sebasthiampillai, A. R. 1976. A simple technique for the polyploids in tea. *Tea Q*. 46:12–15.
- Sharma ,V. S., K. S. Venkataramani. 1974. The tea complex. I. Taxonomy of tea clones. *Proc Ind Aca Sci*. 53:178–187.
- Sharma, V. S., V. Ranganathan. 1986. *Present status and future need of tea research*. In: Srivastava, H. C. (ed) Plantation crops, vol II. Oxford and IBH Publishing Co., New Delhi, pp 37–50.
- Simura, T., T. Inabe. 1952. Studies on polyplody of tea plants. Tokai-Kinki National Agricultural Experimental Station. *Res Prog Rep*. 1:1–14.
- Singh, I. D. 1980. Non-conventional approaches in the breeding of tea in North East India. *Two Bud*. 27:3–6.
- Singh, I. D. 1999. *Plant Improvement*. In: Jain, N. K. (ed) Global advances in Tea. Aravali Book International (P) Ltd., New Delhi, pp 427–448.
- Tavadgiridze, S. K. 1979. Biology of growth and development in some polyploid forms of tea obtained by colchicines treatment and of irradiation. *Subtropicheska Lenltry*. 3:137–139.
- Thirukkumaran, G., M. T. K. Gunasekare. 2001. Use of pollen morphology and physiology to different ploidy level of tea (*C. sinensis*) clones. *Proc Jaffna Sci Assoc*. 9:6–7.
- Timoshenko, M. T. 1936. The selection of tea for its chemical composition. *Sov Sub-Tropical* 1: 25–31.
- Visser, T. 1969. Tea *C. sinensis* (L.) O. Kuntze. In: Ferwerdu EP, Wit F (eds) Outlines of perennial crop breeding in the Tropics. *Veenaran and Zonen, Wageningen*, pp 459–493.
- Wachira, F. N. 1994. Triploidy in tea (*C. sinensis*): effect on yield and yield attributes. *J Hort Sci*. 69:53–60.
- Wachira, F. N., J. K. Kiplangat. 1991. Newly identified Kenyan Polyploid tea strains. *Tea* 12:10–13.
- Wachira, F. N., R. C. Muoki. 1997. Nucleolar and nucleolus organizer regions in tea as visualized by silver staining. *Afr Crop Sci*. J 5:253–258.
- Wachira, F. N., W. K. Ng'etich. 1999. Dry-matter production and partition in diploid, triploid and tetraploid tea. *J Hort Sci Biotech*. 74:507–512.
- Wellensiek, S. J. 1933. Floral biology and technique of crossing with tea. *Arch Thea Cult* 12:27–40.
- Wellensiek, S. J. 1934. Research on quantitative tea selection. I. The Pajoeng reform see garden in Tjihirocan (Dutch). Arch Theecult Ned Ind 8:9–37 Wight, W. 1938. Recent advance in the classification.
- Wight, W. 1938. Recent advance in the classification and selection of tea plant. In: Proc 2nd Tocklai Annual Conference Tockali, Assam India, p 38.
- Wight, W. 1939. Report Indian tea association. *Sci Dept Tocklai Assam* pp 22–24.
- Wight, W. 1956. Genetic basis of yield. Proc 13th Tocklai Ann Conf., Tea Res Assoc., Assam.
- Wight, W. 1962. Tea classification revised. *Curr Sci*. 31:298–299.
- Wight, W., P. K. Barua. 1957. What is tea? Nat 179:506–507 Wood DJ, Barua, D. N. 1958. Species hybrids of tea. *Nat*. 181:1674–1675.
- Willson, K. C., M. N. Clifford. 2012. Tea, cultivation to consumption. Springer-Science Business Media, B. V. 769 pp.
- Wood, D. J., D. N. Barua. 1958. Species hybrids of tea. *Nat*.181:1674–1675.
- Wu, C. T. 1964. Studies on hereditary, variation and morphology of pubisence on the young shoots of tea plants (China). *Bull Pinchen Tea Exp Stn*. 20:1–23.