نگرشی کوتاه بر بهنژادی چای

مهران غلامی*[۱]

*۱- مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی گیلان؛ سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران.

***mehrangholami@yahoo.com**

بیان مسئله

چای از رایج ترین نوشیدنی‌های گرم دنیاست که توسط دوسوم مردم مصرف می‌شود و مصرف جهانی آن در حال افزایش است.

این در حالی است که اکثر باغهای بسیاری از کشورهای چای خیز دنیا که شامل نهال‌های بذری هستند، در حال حاضر قدمتی بیش از ۵۰ سال داشته و کم محصول شده‌اند. و در مواجهه با تنش‌های زنده و غیر زنده، قابلیت مقاومت و تولید محصول مطمئن را ندارند. لذا به منظور پاسخگویی به تقاضای تولید ارقام اصلاح شده چای، برای افزایش عملکرد، بهبود کیفیت، افزایش مقاومت بوته‌های چای در مقابل تنش‌های زنده و غیر زنده، سهولت در برداشت مکانیزه و توسعه مناطق کشت، بهنژادی چای در صدر برنامه‌های تحقیقاتی کشورهای چای خیز دنیا قرار دارد.

منشاء، پراکنش و گیاه‌شناسی چای

منشاء افسانه‌ای که برای چای از منابع چینی اخذ شده است نشان می‌دهد که از لحاظ تاریخی قدمت این گیاه به ۲۷۳۷ سال قبل از میلاد مسیح باز می‌گردد و اولین منبع معتبری که در آن از چای یاد شده، یک لغتنامه چینی مربوط به سال ۳۵۰ میلادی است. واویلوف و همکارانش مبداء اولیه گیاه چای را کشور چین دانسته‌اند، اما Stuart (۱۹۱۹) پس از مطالعه تفاوتهای بین بوته‌های بومی چین و بومی آسام (هند)، ادعا کرد که چای دارای دومنشاه است و واریته‌های ریز برگ را به شرق و جنوب شرق چین؛ واریته‌های درشت برگ را به هند و استان ینان چین منتسب کرد. بعدها، مطالعات Hare (۱۹۳۳) و یک گیاه‌شناس انگلیسی به نام Kingdon - Ward (۱۹۵۰) نیز تئوری دومنشایی را تایید کرد اما بررسی‌های سیتولوژیکی و شمارش کروموزوم واریته‌های ریز برگ و درشت برگ نشان داد که همگی آنها دیپلویید و واجد ۲n=۳۰ کروموزوم بودند و براین اساس بود که Simura (۱۹۳۵) تئوری دو منشایی را رد کرد. Hasimoto (۱۹۷۸) با بررسی صفات مورفولوژیکی چای‌های موجود در ژاپن. تایوان، برمه و آسام هند و گروه‌بندی ژنوتیپ های تحت مطالعه از طریق تجزیه خوشه‌ای، ژنوتیپ‌ها را در ۴ گروه خلاصه نمود، سپس واریته‌های درون هر گروه را بر حسب ناحیه، مورد مطالعه قرارداد و مشاهده کرد که گیاهان موجود در کوه Meiyuan در تایوان و ارتفاعات Naga درهند شباهتهای نزدیکی با هم دارند، در حالیکه این مکانها از نظر جغرافیایی فاصله زیادی از هم دارند. همچنین در همان گروه واریته‌های چینی و اسامی در کنار هم قرار گرفتند. بر این اساس، وی وجود دو منشاء برای گیاه چای را منتفی دانست و استانهای ینان (Yunnan) و سی‌چوان (Sichuan) در کشور چین را بعنوان تنها منشاء چای معرفی نمود. متخصصین چینی هم

خصوصیات ژنتیکی چای‌های وحشی را مورد مطالعه قرار داده و پس از تجزیه‌های بیوشیمیایی و همچنین بررسی مورفولوژی برگها گلها و بذور بوته‌های متفاوتی که همگی از استانهای جنوبی چین به دست آمده بودند. بر وجود یک منشاء برای چای تاکید کردند.

بررسی‌ها نشان می‌دهد که چای در طی قرون هفدهم تا بیستم به کشورهای مختلف آسیایی، آفریقایی و آمریکایی راه یافته است. به طوریکه دامنه پراکنش جغرافیایی آن از ۴۳ درجه عرض شمالی در گرجستان تا ۲۷ درجه عرض جنوبی در آرژانتین است. با توجه به دامنه پراکنش این گیاه که تابعی از نیاز حرارتی، رطوبتی، نوری و ارتفاع محل کشت از سطح دریا می‌باشد. فصل تولید محصول چای زراعی از کمترین مقدار یعنی ۵ تا ۶ ماه در گرجستان تا ۱۲ ماه در هند، سیلان کنیا و مالاوی متغیر است.

از نظر گیاه‌شناسی، چای گیاهی دائمی و خزان ناپذیر است. که از شاخه نهاندانگان، رده دولپه ای ها، خانواده نیاسه و جنس Camellia می‌باشد.

مطالعات Chang و Bartholomew در سال ۱۹۸۴ نشان داد که در جنس Camellia، ۴ زیر جنس (Subgenus) وجود دارد که هر یک از آنها نیز به یک یا چند بخش (Section) تقسیم می‌شوند. زیر جنس Camellia شامل ۴ بخش (furfuracea, Oleifera, Paracamellia, Camellia)، زیر جنس Protocamellia واجد یک بخش (Archecamellia)، زیر جنس Metacamellia دارای ۲ بخش (Theopsis, Camelliopsis) و زیر جنس Thea که دارای یک بخش معروف و شناخته شده به نام Thea می‌باشد و واریته‌های زراعی چای (assamica, sinensis) متعلق به همین بخش می‌باشند. جنس Camellia شامل ۸۲ گونه است که از بین آنها فقط C. sinensis بطور تجارتی و در سطح وسیع کشت شده و منبعی برای چای نوشیدنی است. البته برخی از گونه‌های دیگر نظیر ptilophylla، tachangensis، kwangsiensis، gymnogyna، grandibractiata، crassicolumna، irrawadiensis و taliensis نیز واجد پتانسیل اقتصادی. برای تولید چای نوشیدنی هستند و در بخش‌هایی از آسیا مورد استفاده قرار می‌گیرند (Chang & Bartholomew, ۱۹۸۴). از سوی دیگر، بذر حاصل از گونه‌های japonica و oleifera بطور وسیعی در ژاپن و چین برای روغن کشی استفاده میشود (Sealy – ۱۹۵۸) وبخش عظیمی از گونه‌های کاملیا نیز صرفا ارزش تزئینی دارند.

بنایه عقیده Sealy (۱۹۵۸)، برای سالهای مدیدی، چای زراعی در سه واریته مشتق از گونه sinensis طبقه بندی می شد. این واریته ها بومی مناطق مختلف جنوب شرق آسیا بوده و متعلق به منطقه آسام در هند هندوچین و چین هستند. Sealy گیاهان ریز برگ را بعنوان واریته چینی و درشت برگها را به عنوان واریته آسامی معرفی کرد. اما در مورد اشتقاق گونه‌های چای، نظریه دیگری هم وجود دارد. بطوریکه Wight (۱۹۶۲) و Barua (۱۹۶۳ و ۱۹۶۵) با استفاده از مشخصه‌های مورفولوژیک و جغرافیایی تیپ‌های چینی و اسامی چای را به صورت گونه‌های جنس کاملیا گزارش کردند و نیز فرم جنوبی یا تیپ کامبوجی چای را شناسایی و بعنوان زیرگونه‌ای از گونه آسامی (Camellia assamica ssp Jasiocalyx) معرفی نمودند.

آزادانه وسیع در بین گونه‌های ذکر شده، هیبریدهای مشهوری به دست آمده است که اکنون بطور تجاری کشت می‌شوند. این هیبریدهای طبیعی مجموعه‌های ناهمگن هستند که دارای اشتراک هایی در صفات مورفولوژی، فیزیولوژی و بیوشیمیایی می‌باشند و بر طبق نظر Bezbaraah و Dutta (۱۹۷۷)، بسته به غلبه خصوصیات مورفولوژیک شان می‌توانند در یک گروه از افراد کم و بیش مشابه مرتب شوند و بعنوان "هیبریدهای چینی" یا "هیبریدهای آسامی" نامگذاری و به یکی از دوگونه زراعی چای منتسب گردند.

چای گیاهی است که ارتفاع آن تحت شرایط طبیعی تا ۱۵ متر هم می‌رسد، اما در شرایط زراعی این گیاه به صورت بوته‌ای و در ارتفاعی کمتر از یک متر نگهداری می‌شود. برگهای آن به شکل بیضی، دارای نمای چرمی و حاشیه های دندانه‌دار بوده و بطور متناوب بر روی ساقه‌های کوتاه قرار گرفته‌اند (Kato, ۱۹۸۹). گلهای دوجنسه چای، به صورت منفرد یا خوشه‌ای بوده و مرکب از ۵ تا ۷ گلبرگ، ۵ تا ۷ کاسبرگ، تعداد زیاد و نامشخصی پرچم (بیش از ۲۰۰ عدد) و یک تخمدان ۳ تا ۴ خانه‌ای واکثرا با کلاله ۳ شاخه‌ای می‌باشند. وضعیت خامه گل نیز در گونه‌های

مختلف چای تفاوت دارد. به طوریکه 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، خامه ها تقریبا از نیمه طول خودآزاد هستند و این یکی از معیارهای تشخیص تیپهای چای می‌باشد. البته از خصوصیات مورفولوژیک دیگری نظیر شکل، اندازه. رنگ و موقعیت برگ روی ساقه، طول وعرض ونسیت طول به عرض برگ، طول میانگره، طول دمبرگ، طول و محیط غنچه انتهایی طول شاخساره، وزن شاخاره و .... نیز در بررسی قرابت تیپ‌های چای و حتی گروه‌بندی ارقام اصلاح شده استفاده می‌شود.

ژنتیک چای

چای زراعی گیاهی یکپایه و دیپلویید با ۲n=۳۰ کروموزوم است که ساختار کروموزومی آن شبیه به سایر گونه‌های دیپلویید جنس Camellia می‌باشد. برخی از گونه‌های وحشی چای مانند irrawadiensis، kissi و caudata نیز دیپلویید بوده و از این نظر مشابه چای زراعی هستند. وجود ثبات در تعداد کروموزوم‌های گونه‌های دیپلویید وحشی و اهلی، یک منشاء واحد را برای تمام گونه‌های چای متصور می‌کند. اما انحراف از تعداد طبیعی کروموزومها نیز در گونه‌های japonica (۲n=۴۵)، rosaeflora (۲n=۴۵) و sasanqua (۲n=۹۰) گزارش شده است.

Ackerman (۱۹۷۳) و Kondo (۱۹۷۷) تنوع تعداد کروموزوم را در هیبریدهای بین گونه‌ای و درون گونه‌ای چای گزارش کرده و از آن بعنوان شاخصی برای رده بندی گیاهی استفاده کرده‌اند. مطالعه Magambo و Marangu (۱۹۸۴) نیز بر روی تعداد کروموزومهای کلونهای چای در کنیا، نشان داد که اگر چه کلونهای مذکور دارای تعداد کروموزوم برابر بودند، ولی ناهنجارهای طبیعی نظیر کراسینگ اور، تشکیل کیاسما، ترانسلو کاسیون و شکستهای کروموزومی می‌توانند منتج به نوترتیبی ژنها بر روی کروموزومها شده و عامل ایجاد تنوع در کلونها گردند. همچنین مطالعات Wachira (۱۹۹۷) بر روی تقسیم میوز در برخی از کلونهای تریپلویید گلدار، نشان داد که تنوع بسیار زیادی از لحاظ جفت شدگی کروموزومها به اشکال یونی والان و مولتی والان در بین کلونها وجود دارد. این قضیه موید آن است که با وجود تعداد کروموزوم ثابت در همه این گیاهان، تفاوتهای ساختاری در ژنوم آنها بسیار زیاد است.

متاسفانه مطالعات ژنتیکی پایه برای گیاه چای بسیار کم است که دلایل آن عبارتند از:

(۱) طبیعت دگرگشتی چای که سبب ایجاد ناهمگنی وسیع در بین بوته‌های چای شده است (۲) طول دوره زایشی آن طولانی است و تقریبا یک دوره زایشی چای از بذر تا بذر بسته به اقلیم و نوع ژنوتیپ گیاه، بین ۵ تا ۱۰ سال طول می‌کشد. (۳) بیشتر خصوصیات مهم چای دارای توارث کمی هستند و با توجه به چوبی و چند ساله بودن این گیاه، مطالعه توارث پذیری در آن آسان نیست. (۴) چای گیاهی خود ناسازگار است که بدست آوردن لاین‌های هموزیگوس در آن به راحتی امکان پذیر نیست. (۵) وجود پتانسیل تکثیر غیر جنسی برای این گیاه، سبب عدم تکیه بهنژادگران به رهیافتهای مطالعاتی در زمینه ژنتیک پایه آن شده است.

از جمله مطالعات ژنتیکی انجام شده بر روی چای می‌توان به مطالعه Toyao (۱۹۸۴) اشاره کرد. وی نشان داد که در بین نتاج حاصل از تلاقی‌های دو طرفه، هیچ اختلافی برای میزان تخمیر وجود ندارد و توزیع رتبه‌ها در بین نتاج دارای تغییرات کمی است. براین اساس وی قابلیت تخمیر را تحت کنترل ژنهای هسته‌ای دانست. Wight نیز توارث فراوانی کریستالهای اکسالات کلسیم (شاخص آوند آبکش) در دمبرگ چای را کمی گزارش کرده است. مطالعه ژنتیکی Bezbaruah هم غلبه ناقص کوچک برگی واریته‌های چینی به بزرگ برگی واریته‌های آسامی رانشان داده است. وی کیفیت چای سپاه حاصل از هیبریدهای F_1

را عموماً نزدیک به ارزش حد واسط والدین گزارش کرده و در این مورد هیچ غلبه یا اثر متقابلی را بین ژنهای والدین مشاهده نکرد. برای تعیین سیستم خود ناسازگاری چای نیز، fuchinoue (۱۹۷۹) تعدادی خودگشتی اجباری و دگرگشتی کنترل شده را بین سه رقم چای ژاپنی انجام داد و پس از بررسی نتاج اظهار نمود که سیستم خود ناسازگاری چای از نوع گامتوفیتیک می‌باشد. همچنین تجزیه ژنتیکی مکانیسم مقاومت چای نسبت به بیماری سوختگی لکه خاکستری که توسط Takeda (۱۹۸۸) انجام شد نشان داد که عامل مقاومت به این بیماری توسط دو ژن مقاوم غالب و مستقل از هم، به نامهای PI_1 و PI_2 کنترل میشود.

کلکسیون ژرم پلاسم وارزش آن برای بهنژادی چای

مبادی اولیه گیاه چای به جهت دارا بودن فرمهای متنوع زراعی و وحشی و خویشاوندان وابسته به آنها از اهمیت به سزایی در تامین منابع ژنتیکی برخوردار بوده و به اصطلاح چشمه‌های جوشان تنوع ژنتیکی هستند. یکی از بررسیهای انجام شده نشان داده است که بین نیم تا دوسوم از گونه‌های Camellia به صورت وحشی در نواحی آسام، برمه و غرب چین یافت شده‌اند و در حقیقت این مناطق دارای بیشترین تنوع ژنتیکی هستند که باید برای جمع آوری و حفظ ژرم پلاسم متنوع و ارزشمند چای مورد جستجو قرار گیرند. روشهای متنوعی برای حفاظت از ذخایر توارثی وجود دارد که از آن جمله، حفاظت از گیاهان در رویشگاههای طبیعی، باغهای ایزوله، بانکهای بذر، و یا ایجاد بانکهای مریستمی (از طریق کشت بافت) می‌باشند. از آنجا که اساس بهنژادی بر تنوع و گزینش استوار است، جمع آوری و حفظ ژرم پلاسم بومی چای به عنوان ستون فقرات برنامه‌های اصلاحی این گیاه بوده و امروزه ذخایر ژرم پلاسم گیاهی موجود در هر کشوری، یکی از گرانبهاترین منابع بقا و ثبات آن کشور به شمار می‌آیند. برای آنکه تنوع ژنتیکی مورد استفاده بهنژادگر قرار گیرد، باید ارزشیابی و طبقه‌بندی شود. فلسفه مطالعه تنوع ژنتیکی را می‌توان در چند مقوله از جمله بررسی میزان تنوع یک یا چند صفت در جامعه مورد مطالعه، وراثت پذیری صفات، بازده ژنتیکی، همبستگی‌های فنوتیپی وژنوتیپی صفات و گروه‌بندی افراد بر اساس خصوصیات مورد بررسی خلاصه نمود. روشهای مختلفی که برای ارزیابی کلکسیونها استفاده می‌شوند، عبارتند از استفاده از نشانگرهای مورفولوژیک، مطالعه مستقیم ژنوم و تجزیه نشانگرهای بیوشیمیایی که شامل نشانگرهای ملکولی کوچک، الکتروفورز پروتئینها و نشانگرهای DNA می‌باشند.

بهنژادی چای

محصول قابل برداشت چای (دو برگ و یک غنچه)، فقط ۱۰ تا ۱۸ درصد از کل بیوماس (زیست توده) گیاه را تشکیل می‌دهد و این امر با توجه به چوبی و چند ساله بودن چای بهنژادی آن را با کندی و مشکل مواجه می‌سازد. با این وجود هدف از بهنژادی چای مانند هر گیاه دیگری، افزایش عملکرد در واحد سطح و زمان، بهبود کیفیت و افزایش مقاومت چای در مقابل تنش‌های زنده‌ای همچون آفات و بیماریهای مهم چای و تنش‌های غیرزنده‌ای مانند خشکی، گرما، سرما و یخبندان می‌باشد.

روشهای بهنژادی چای شامل معرفی یا وارد سازی ارقام اصلاح شده از کشورهای پیشرو در اصلاح چای، گزینش، دورگ گیری، پلی‌پلوئیدی و جهش می‌باشند که مختصرا در مورد هر یک توضیحاتی داده می‌شود.

تبادل ریخته 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 وطی مراحل قرنطینه، مورد ارزیابی قرار گرفته و در صورت سازگاری برای تولید در سطح تجاری آزاد سازی می‌شوند. علاوه بر این، منابع ژنتیکی وارداتی دستمایه‌های خوبی

برای برنامه‌های دورگ گیری نیز محسوب می‌شوند. اصلاح چای به روش گزینش (Selection) شامل ۳ تکنیک جداگانه است.

در روش گزینش توده‌ای (Mass selection)، بذوری راکه بطور بالک یا توده جمع آوری شده‌اند در چند خزانه 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، اندازه برگها، طول ریشه، کرک دار بودن غنچه و برگهای جوان، عادت رشد و شاخه دهی و ...). پس از انتخاب تک نهال‌های بذری برتر، آنها را به پلاتهایی معروف به Holding Plot منتقل نموده و با فواصل ثابتی کشت می‌کنند. مطالعه خصوصیات مختلف تک بوته‌ها بر اساس معیارهای مورفولوژیک و فیزیولوژیک در زمین اصلی ادامه یافته و بوته‌های نامطلوب حذف و نسبت به پر کردن جاهای خالی باغ بانهال‌های حاصل از تکثیر غیر جنسی 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 "وارینه بذری عمومی" گفته می‌شود که برحسب منطقه‌ای که در آنجا تولید می‌شوند نامگذاری می‌گردند.

اصلاح رگه (Line breeding) روشی است که به دنبال عدم دستیابی گزینش توده‌ای به اهداف مورد نظر و در سال ۱۹۶۳ طراحی گردید. در این روش بوته‌های بذری خاصی که بر اساس بررسی صفات معینی انتخاب شده‌اند، به صورت تک یا جفت نشانه گذاری می‌شوند. سپس بذور بوته یا بوته‌های نشانه گذاری شده بطور مجزا از هم، جمع آوری و کاشته می‌شوند. نتاج هر والد، به صورت نهال‌های بذری، مورد آزمون و بررسی فرار می‌گیرند. در صورتیکه بهترین نتاج با بیشترین محصول و یکنواختی لازم شناسایی شوند از والدین یا جفت های والدینی برای تشکیل یک باغ بذری جدید استفاده می‌شود. استفاده از اصلاح رگه برای ترکیب کردن خصوصیات مطلوب آسانتر است و نیز همشکلی مورفولوژیکی بیشتری نسبت به گزینش توده‌ای ایجاد می‌نماید.

پس از کشف روش تکثیر غیر جنسی (از طریق قلمه‌های تک برگی) برای گیاه چای که توسط Tunstall (۱۹۳۱) صورت گرفت، اصلاح به روش گزینش کلونی (Clonal selection) پایه‌گذاری شد. اما در آن زمان، معیارهای مناسبی برای گزینش در گیاه چای شناخته نشده بود و این روش بعدها تکامل یافت. این روش دارای سه مرحله اساسی است که به ترتیب عبارتند از انتخاب تک بوته‌های برتر از باغهای بذری و قدیمی چای، آزمایشات خزانه‌ای و آزمایشات طویل المدت مزرعه‌ای. بنا به عقیده Wight (۱۹۵۶)، به ازای هر ۴۰ تا ۱۰۰ هزار بوته در باغهای بذری چای، فقط یک بوته دارای عملکرد و کیفیت مناسب می‌باشد. با توجه به این مطلب، پس از انتخاب بصری تک بوته‌های برتر بر اساس معیارهای مورفولوژیک و فیزیولوژیک و نشانه گذاری آنها، بوته‌ها در طول یکسال مورد ارزیابی‌های مختلف قرار می‌گیرند. از جمله این مطالعات بررسی مقاومت به تنشهای زنده و غیر زنده و اندازه‌گیری مقدار ترکیبات موثر بر کیفیت برگ سبز تک بوته‌ها (نظیر تانن، کافیین، ماده خشک و ....) و همچنین سنجش میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز می‌باشد که از طریق آزمون کلروفرم ارزشیابی می‌گردد. سپس از بهترین بوته‌های انتخابی قلمه‌گیری شده و قلمه‌های استحصالی به منظور انجام آزمایشات ریشه زائی در خزانه‌های آماده شده کشت می‌شوند. بررسیهای مورفولوژیک، یکسال پس از کاشت قلمه ها در خزانه انجام شده و مرحله دوم گزینش نیز با جمع‌بندی نتایج آزمایشات خزانه‌ای شامل اندازه‌گیری ارتفاع نهال، قطر ساقه، طول ریشه و ... به پایان می‌رسد. ۱۸ 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 تکرار دار خواهد بود. از کاشت نهال تا اسکلت‌بندی نهایی بوته به ۵ سال زمان نیاز است، و در طول این سالها یادداشت برداری‌های لازم انجام خواهد شد. پس از اسکلت‌بندی نهایی و تشکیل بوته، مقایسه عملکرد برگ سبز و چای ساخته شده ژنوتیپها، انجام شده و بهترین ژنوتیپ بعنوان رقم کلونی اصلاح شده برای همان منطقه آزادسازی می‌شود.

در صورت نیاز به معرفی یک رقم کلونی در چند منطقه، انجام یک آزمایش یکنواخت سراسری در حداقل ۳ منطقه تیپیک چابکاری و تجزیه پایداری عملکرد و کیفیت ارقام معرفی شده نیز قابل توصیه می‌باشد.

استفاده از دورگ گیری طبیعی برای ترکیب نمودن ژنهای مطلوب و معرفی ارقام بذری چای به روشهای تولید بذر دوکلونی و چند کلونی صورت می‌گیرد. در روش تولید رقم "بذری دو کلونی (Bi - clonal seed)" ۲ رقم کلونی برتر و معرفی شده، بطور متناوب در یک باغ بذری ایزوله کشت شده و اجازه گرده افشانی آزادانه به آنها داده می‌شود. در روش تولید رقم "بذری چند کلونی (Poly- clonal seed)" نیز از ۵ تا ۷ رقم کلونی اصلاح شده استفاده می‌شود و این ارقام با آرایش تصادفی خاصی در کنار هم چیده می‌شوند تا بذر سنتتیک تولید نمایند. مدت زمان لازم برای تولید یک واریته بذری دو یا چند کلونی از حداقل ۲۱ تا حداکثر ۲۶ سال متغیر است. زیرا برای گزینش اجداد کلونی به ۶ تا ۸ سال، برای رشد بوته‌های بذری به ۵ تا ۶ سال، برای آزمون نتاج به ۴ تا ۵ سال و برای تاسیس باغهای بذری دو یا چند کلونی برای آزمایشات منطقه ای به ۶ تا ۷ سال زمان نیاز می‌باشد.

از دورگ‌گیری مصنوعی 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 ۱۸ تا ۲۴ ساعت قبل از گرده افشانی پوشانده می‌شوند. غنچه‌های گل والد ماده نیز در مرحله "بالن" اخته شده و پاکت گذاری می‌شوند. پاکتهای ایزولاسیون گلهای والد ماده، ۴۸ ساعت پس از گرده افشانی حفظ شده و سپس با خشکیده شدن کلاله‌ها پاکتها برداشته می‌شوند. سازگاری تلاقی بین کلونهای چای، با انجام گرده افشانی دستی و مقایسه نتاج با والدین قابل ارزیابی است. مطالعات انجام شده در خصوص سازگاری تلاقی بین سه تیپ زراعی (چینی، آسامی و کامبوجی)، تفاوتهای زیادی را از نظر درصد میوه بستن و میزان تشکیل بذر در نتاج نشان داده است. البته قبل از دورگ‌گیری، لازم است که شناخت ژنتیکی کاملی از سازگاری پایه‌های مورد تلاقی وصفات آنها و همچنین اساس ژنتیکی تلاقی‌ها در دسترس باشد تا دورگ‌گیری با اطمینان بیشتری انجام شود. لذا توجه به نکاتی همچون چگونگی کنترل صفات توسط ژنها، مقدار وراثت پذیری صفات، قابلیت ترکیب پذیری صفات و ... برای انجام یک دورگ‌گیری موفق لازم می‌باشد.

مطالعه Singh (۱۹۸۰) بر روی پایه‌های چای با سطوح مختلف پلوئیدی، نشان داد که وزن خشک برگها در تریپلوییدها، ۱۴ درصد و در تتراپلوئیدها، ۱۰۹ درصد بیشتر از دیپلوییدها می‌باشد. وی متوسط سطح برگ تترا پلوییدها را ۵۴/۵ درصد بیشتر و در تریپلوییدها ۷ درصد کمتر از دیپلوئیدها گزارش نمود. مطالعات Wachira (۱۹۹۴) نیز نشان داد که گرچه تعداد شاخساره در واحد بوته برای ارقام تریپلوییدکمتر از والدین دیپلوئیدشان می‌باشد، ولی وزن شاخساره برداشت شده در تریپلوییدها بیشتر است. در مطالعه وی، کلونهای تریپلوییدشاخساره‌های با برگهای بزرگتر و میانگره‌های باطول بیشتر نسبت به کلونهای دیپلوییدداشتند. بر این اساس Sarmah و Bezbarush (۱۹۸۴) سه روش را برای تولید ارقام تریپلوییدچای پیشنهاد کردند که عبارتند از: (۱) تلاقی ارقام دیپلوییدو تترا پلوییدو، (۲) تولید تریپلوییدازطریق تشکیل گامتهای بدون کاهش کروموزومی و (۳) تولید یک تریپلوییدازتریپلوییدیگر. در مجموع، افزایش سطوح پلوئیدی در گیاه چای با تغییراتی نظیر افزایش قدرت و اندازه بوته، افزایش عملکرد و ضخامت برگها و افزایش مقدار برخی از آلکالوییدها همراه بوده و از این روش نیز در بهنژادی چای استفاده می‌شود.

اصلاح جهشی چای از طریق القاء جهش در سلولهای این گیاه، روشی است که از سال ۱۹۶۷ در توکلای هند آغاز شده است. در این روش با تیمار کردن جوانه‌های فعال نهال‌های چای به کمک موتاژنهای شیمیایی (مانند EMS) و یا تیمار کردن بذور، قلمه‌ها و دانه‌های گرده با موتاژنهای فیزیکی (مانند اشعه های X و گاما)، به دنبال افزایش تنوع ژنتیکی و گزینش موتانت‌های مطلوب بوده و اگر موتانت مناسبی بدست آید، با توجه به قابلیت تکثیر غیر جنسی، می‌توان صفت را در جامعه تثبیت کرد.

مطالعات نشان داده است که قلمه‌های چای، تا ۴ کیلوراد پرتوتابی را تحمل می‌کنند. این در حالی است که با افزایش مقدار در اشعه به بیش از ۲ کیلوراد، درصد جوانه زنی بذور چای کاهش می‌یابد. بررسی ها نشان می‌دهد که

از تکنیک اصلاح جهشی می‌توان برای القاء جهش‌های مطلوب برای افزایش کیفیت فنجانی چای، مقاومت به آفات و بیماریها، و خشکی استفاده کرد.

جدیدترین روش غیرسنتی بهنژادی چای، استفاده از تکنیک کشت بافت است. اهداف اصلی استفاده از این تکنیک در بهنژادی چای عبارتند از: (۱) بعنوان روشی سریع هاپلویید ولاینهای دیپلویید هموزیگوس از طریق کشت بساک و پرچم، (۳) تولید گیاه تریپلویید از طریق کشت اندوسپرم دانه چای و (۴) نگهداری از ژرم پلاسم های گیاهی. البته استفاده از تنوع سوماکلونال، امتزاج پروتوپلاستها و گزینش موتانت‌ها در سطح کشت بافت نیز به بهنژادی چای کمک نموده و تحقیقات در این زمینه ادامه دارد. با این وجود کشت بافت چای در طول ۲۰ سال گذشته پیشرفت کمتری را نسبت به کشت بافت سایر گیاهان داشته است که دلایل این امر عبارتنداز: (۱) مقدار زیاد ترکیبات فنلی در چای که تحت اکسیداسیون در شرایط In vitro به ترکیبات سمی تبدیل می‌شوند، (۲) بسیاری از گونه‌های چوبی گیاهان در کشت بافت، ریکالسیترانت می‌باشند که این ریکالسیترانتی به مقدار زیادی با فقدان پدیده نونهالی در آنها مرتبط است، (۳) بسیاری از گونه‌های چوبی گیاهان به واسطه دارا بودن سطوح بالایی از باکتریهای درونزا در آغاز کشت بافت با مشکل مواجه می‌شوند و (۴) ریشه‌زایی بسیاری از گیاهان چوبی در شرایط کشت بافت مشکل است و نتایج متنوعی برای چای به دست آمده است.

تشکر و قدردانی

در اینجا از تمامی همکارانی که در اجرای پروژه تحقیقاتی همکاری داشتند تشکر و قدردانی می‌نمایم.

پیام ترویجی

دورنمای فنون کشت بافت گیاهی در کنار روش‌های سنتی بهنژادی بسیار روشن بنظر می‌رسد. اما هیچ یک از این فنون جایگزین روشهای عادی اصلاحی نخواهند شد. ولی شکی نیست که در صورت تلفیق با آنها می‌توانند به عنوان ابزار مناسبی در دست بهنژادگران گیاهی باشند.

منابع مورد استفاده:

Anandappa T.1. (1986) Planting material In Sivapalan. P. S. Kulasegaram and A. Kathiravetpillai (eds). Hand Book on. Tea, Tea Research Institute of Srilanka.pp.6-19

Dodd W.A. (1994). Tissue culture of Tea - A Review. Intern. J. Trop Agric. 7

Fuchinoue, Y. (1979). Analysis of self Incompatibility alleles of major Variefies of Tea JARQ, 13 (1):43-48.

Hasimoto M. (1985). The origin of the Tea plant. JARQ, 19(1):40-43.

Magambo, MJ. Sand, J.P. Marangu. (1984). Preli minary observation on chromosome numbers of some Kenyan Tea clones. Tea, 5(1):23-27.

Sarmah, P. C and H.P. Bezbaruah. (1984) Triploid breeding in Tea. Two and a bud, 3(2):55-59 .

Singh, I.D. (1978). Application of plant Tissue and organ Cultures in Tea cell research and development. Two and a bud 25(2):65-69.

Singh I.D. (1984). Advances in Tea breeding in north east India. proceeding symposium on the fifth Annual plantation crops. PP, 88-106.

Toyao, T. (1984). Varietal difference and breeding behavior of fermentation ability (polyphenol oxidase activity) in Tea plants JARQ 18 (1): 37-42.

Wachira F. N. (1997). Advances in Tea genetics Tea, 18 (2): 101-115.