

На правах рукописи

Гвасалия Майя Валериановна

**СПОНТАННЫЕ И ИНДУЦИРОВАННЫЕ СОРТА И ФОРМЫ ЧАЯ
(*CAMELLIA SINENSIS* (L.) KUNTZE) ВО ВЛАЖНЫХ
СУБТРОПИКАХ РОССИИ И АБХАЗИИ, ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ
РАЗМНОЖЕНИЯ И СОХРАНЕНИЯ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO***

Специальность: 06.01.05 – селекция и семеноводство
сельскохозяйственных растений

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Краснодар – 2015

Работа выполнена в Сухумском филиале «Всесоюзное научно-производственное объединение по чаю, субтропическим культурам и чайной промышленности» в 1989 – 1992 гг. и Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт цветоводства и субтропических культур» в 2008 – 2014 гг.

Научный руководитель: доктор сельскохозяйственных наук
Туов Маджид Тахирович

Официальные оппоненты: **Щеглов Сергей Николаевич**,
доктор биологических наук, профессор
кафедры генетики, микробиологии и биотехнологии, ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный университет»
Мухина Жанна Михайловна,
доктор биологических наук, заведующая лабораторией биотехнологии и молекулярной биологии ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт риса»

Ведущая организация: ФГБНУ «Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства»

Защита состоится «17» сентября 2015 г. в 9⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 220.038.03, созданного на базе ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет» по адресу: 350044, г. Краснодар, ул. им. Калинина, 13, (главный корпус, 1-й этаж, ауд. 106), тел. / факс (8-861) 221-57-93.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет», по адресу 350044, г. Краснодар, ул. им. Калинина, 13 и на сайте – <http://www.kubsau.ru>, с авторефератом на сайтах: Высшей аттестационной комиссии – <http://www.vak.ed.gov.ru> и ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет» <http://www.kubsau.ru>.

Автореферат разослан «___» ___июля___ 2015 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук, профессор

Л. В. Цаценко

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Промышленные плантации влажной субтропической зоны России и Абхазии представлены популяциями, состоящими из китайской, индийско-китайской и японской разновидностей чая. Отличаются они большим разнообразием биологических и хозяйственных признаков, отрицательно сказывающихся на урожайности и качестве чайной продукции. Несмотря на достигнутые успехи в селекции чая и чаеводстве, до сих пор остается не решенной проблема закладки сортовых чайных плантаций. В ее решении важная роль принадлежит исследованиям, направленным на отбор, изучение, размножение и сохранение ценных генотипов чая, с использованием традиционных и высокотехнологичных методов селекции.

Цели и задачи исследований. Пополнить генофонд новыми сортами и формами чая, а также изучить возможности метода клонального микроразмножения для ускоренного размножения и депонирования ценных генотипов в культуре *in vitro*.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

1. изучить спонтанную изменчивость сорта Колхида, популяции Кимынь и местной популяции чая по частоте и спектру соматических мутаций на листовых плантациях двух агроэкологических зон Абхазии;

2. провести отбор перспективных форм чая, изучить их морфобиологические особенности, хозяйственную ценность, биохимические показатели, определить кариотип и размножить;

3. во влажных субтропиках России провести селекционную оценку биологического потенциала (урожайности, биохимических и качественных показателей сырья, экономической эффективности) спонтанных сортов Каратум, Сочи и индуцированных мутантных форм чая №№ 582, 2264, 3823 в сравнении с контрольным сортом Колхида;

4. усовершенствовать методику культивирования *in vitro* изолированных органов чайного растения сорта Колхида и местной популяции с подбором питательных сред, режимов выращивания на всех этапах клонального микроразмножения, включая депонирование *in vitro*.

Научная новизна работы. Установлена высокая спонтанная изменчивость растений чая по частоте и спектру соматических мутаций, которая зависела от генотипа и зоны произрастания. Селекционный интерес представляет популяция Кимынь, отличившаяся высокой частотой изменчивости.

В процессе изучения радиамутантных форм чая №№ 582, 3823 выявлено, что гетероплоидия в их кариотипе способствовала улучшению целого ряда наследственных признаков, таких как продуктивность, качество и адаптивность. Показатели селекционной ценности индуцированных форм превысили лучший районированный контрольный сорт Колхида.

Отработана и усовершенствована методика клонального микроразмножения чая в культуре *in vitro*. В пересадочной культуре поддерживаются микропобеги чая сорта Колхида и местной популяции. Из меристематических очагов каллуса индуцирован органогенез, получены соматклоны чая. Определены условия для длительного депонирования (в течение 12 месяцев) в культуре *in vitro* микропобегов чая.

Теоретическая и практическая значимость работы. Методом спонтанного мутагенеза выделены 23 перспективные формы чая, отличающиеся от исходного сорта Колхида, популяции Кимынь и местной популяции чая высокой продуктивностью и качеством сырья. Заложен маточно – коллекционный участок (п. Ачигвара, Абхазия).

Внедрение в производство в субтропиках России высокорентабельных спонтанных сортов Колхида, Сочи и перспективных индуцированных форм чая №№ 582 и 3823 повысит экономическую эффективность отрасли чаеводства.

Метод клонального микроразмножения позволит размножить и депонировать ценные генотипы чая в культуре *in vitro*. Высокий коэффициент размножения (1:4,8) в короткие сроки обеспечит производство высокосортным посадочным материалом.

Результаты научных исследований прошли производственную проверку и внедрены в 2014 году в ОАО «Адлерский чай» для реконструкции чайных плантаций, на площади 3 га.

Апробация работы. Основные положения диссертационной работы докладывались на ежегодных отчетных сессиях Ученого совета ФГБНУ ВНИИ-ЦиСК (2008 – 2014 гг.), на совещании «Надежность биологических систем» (Черноголовка, июнь 1989 г.), семинаре по молекулярной биологии и генетике в институте химической физики АН СССР (Москва, сентябрь 1989 г.), на международных, всероссийских и научно-практических конференциях, среди которых приоритетными являются: «Современное состояние и перспективы развития садоводства и культуры чая в Республике Адыгея» (Майкоп, 2008 г.); «Субтропическое растениеводство и южное садоводство на Черноморском побережье Краснодарского края РФ» (Сочи, 2009 г.); «Проблемы субтропического сельского хозяйства и перерабатывающей промышленности» (Грузия, Озургети – Анасеули, 2010 г.), «Актуальные вопросы плодоводства и декоративного садоводства в начале XXI века» (Сочи, 2014),

получена золотая медаль «За разработку метода клонального микроразмножения чая и сохранения ценных генотипов в культуре *in vitro*» (Москва, ВВЦ, XV Российская агропромышленная выставка «Золотая Осень», октябрь 2013 года).

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Спонтанная изменчивость сорта Колхида, популяции Кимынь и местной популяции чая на примере двух агроэкологических зон Абхазии. Влияние генотипа и зоны произрастания на частоту соматических мутаций, анализ их спектра. Отбор и изучение селекционно-ценных форм чая.

2. Во влажных субтропиках России селекционная оценка спонтанных сортов Колхида, Каратум, Сочи и индуцированных форм чая №№ 582, 2264, 3823 по основным показателям продуктивности и качества. Экономическая эффективность от внедрения в производство новых сортов и форм чая.

3. Усовершенствованная методика клонального микроразмножения чая в культуре *in vitro*, с подбором питательных сред, режимов выращивания и депонирования – от введения эксплантов в стерильную культуру, до получения укорененных и адаптированных растений.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 159 страницах машинописного текста и состоит из введения, пяти глав, заключения и рекомендаций для селекции и производства. Иллюстративный материал представлен 21 таблицей, 37 рисунками, 7 приложениями. Список литературы включает 262 источника, в том числе 83 – зарубежных авторов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Культура чая (обзор литературы). В главе представлен материал по истории, состоянию и перспективах развития отрасли чаеводства, морфо-биологическим особенностям, климату и почвам влажной субтропической зоны Краснодарского края и Абхазии, требованиям растений чая к условиям произрастания, вегетативному размножению и клональному микроразмножению *in vitro*, селекции, спонтанной изменчивости и ее роли в эволюции и селекции растений.

Глава 2. Условия, материал и методика проведения исследований.

Спонтанную изменчивость растений чая изучали в двух агроэкологических зонах Абхазии (с 1989 по 1992 гг.), на базе Сухумского филиала «Всесоюзного научно-производственного объединения по чаю, субтропическим культурам и чайной промышленности».

I Зона – Приморский кластер, предгорье (Сухумский район), почва – желтоземы разной степени оподзоленности, гумус 2 – 7 %, рН 4,5;

Кластер пологого холма, предгорье (Очамчирский район), почва подзолисто-желтоземная, гумус 2 – 7 %, рН 3,8 – 4,5;

II Зона – Верхний кластер, низкогорье (Гудаутский район), почва бурая лесная, развитая на красно-бурых глинах, гумус 2 – 4 %, рН 4,5 – 5,5.

Исследования по селекции чая были продолжены во влажных субтропиках России, в ФГБНУ ВНИИЦиСК (с 2008 по 2010 гг.).

I Зона – Приморский кластер, предгорье (Сочи), плантация 1996 г. закладки, почва – желтоземы ненасыщенные оподзоленные, гумус 2 – 7 %, рН 4,0 – 5,0, площадь – 0,5 га, схема посадки – 120 x 33 см; ширина шпалеры – 100 см; повторность 3-х кратная.

Агротфон присутствовал во всех зонах, согласно методическим указаниям по технологии возделывания чая (Алексеева, 1977). Погодные условия в период проведения полевых опытов в первых двух зонах Абхазии были типичными и благоприятными для возделывания культуры чая. В I зоне влажных субтропиков

России – отмечено повышение температуры воздуха в июне, июле, августе (2008 – 2010 гг.) на 1,8 – 1,0 – 1,3 °С, осадков выпало меньше на 4,9 – 17,9 – 37,7 мм по сравнению с многолетней константой. В этих условиях спонтанные сорта и индуцированные формы чая показали высокую продуктивность, качество и адаптивный потенциал.

Опыты по клональному микроразмножению чая в культуре *in vitro* проводились в лаборатории биохимии, физиологии и биотехнологии растений ФГБНУ ВНИИЦиСК (2011 – 2014 гг.).

Объекты исследований: В Абхазии: сорт Колхида (Колелейшвили, 1973), популяция Кимынь, местная популяция чая (Абхазия). В России (Сочи): спонтанные сорта: Колхида – контроль, диплоид ($2n=30$); Каратум – анеуплоид ($2n=31$); Сочи – диплоид ($2n=30$) (Туов, 1996); индуцированные формы: № 582 – радиомутант, анеуплоид ($2n=36$); № 2264 – колхимутант, миксоплоид ($2n=38$); № 3823 – радиомутант, миксоплоид ($2n=42$) (Керкадзе, 1986). Экспланты (апикальные и латеральные почки), изолированные от многолетних растений чая сорта Колхида и местной популяции.

На листосборных плантациях двух агроэкологических зон Абхазии проводился визуальный анализ растений чая и учет частоты соматических мутаций по морфологическим и физиологическим признакам. Морфологические признаки анализировали по размеру, форме, кончику, степени зазубренности, поверхности листа; длине типса и междоузлий и др. Физиологические изменения учитывали по антоциановой окраске листа (наличие антоциана указывает на устойчивость растений чая к низким температурам, болезням и вредителям, на высокое содержание танина и экстрактивных веществ, активность фотосинтеза), а также интенсивности побегообразования. Среди пластидных мутаций отмечали периклиналильные химеры (полосы на листьях и апексе), секториальные химеры (секториальное изменение окраски).

Учет соматических мутаций на каждом из участков проводили дважды в сентябре 1989 и 1992 годах, через 2 – 3 недели после окончания сбора, когда изменения могут в достаточной степени проявиться. Естественную изменчивость изучали по общепринятым методикам (Покровский, 1928; Бахтадзе, 1948; Керкадзе, 1980, 1982).

В I зоне (Сухумский район) выделены 23 перспективные формы чая, 15 на популяции Кимынь, 4 – на сорте Колхида и 4 – на местной популяции, размножены вегетативным путем и высажены на коллекционном участке ОПХ ВНПОЧСКиЧП в п. Ачигвара (Абхазия).

Проведено изучение их морфобиологических признаков, хозяйственной ценности по среднему урожаю с 1 куста, продолжительности вегетационного периода, средней массе 3-х листовых флешей и др., а также основным биохимическим показателям. В цитологических исследованиях использовали меристематические клетки корешков чая (Паушева, 1988).

Селекционная оценка (результатов урожайности, качества заготавливаемого сырья, экономической эффективности) спонтанных сортов и индуцированных

форм чая проводилась по методике госсортоиспытания субтропических, орехоплодных культур и чая (Москва, 1962 г.), методическим указаниям по технологии возделывания чая (Алексеева, 1977). Данные по урожайности за 2007 г. предоставлены руководителем темы 04.16.02.01 – д.с.-х.н. Туовым М.Т.

Биохимический анализ по содержанию танина, кофеина и экстрактивных веществ проводился согласно ГОСТ 19885–74 и ГОСТ 28551–90 методом Левенталя, с пересчетным коэффициентом 5,82 (Воронцов, 1946; Курсанов, 1950; Джемухадзе, 1958).

Методика клонального микроразмножения базировалась на классических приемах культивирования изолированных органов растений (Бутенко, 1999). Апробировано 3 варианта ступенчатой стерилизации, с применением: этилового спирта – 70 %, и растворов диацита – 0,2 % и «Доместос» (10,0 – 15 – 20,0 %), в разных экспозициях.

Испытывались антибиотики: тетрациклин гидрохлорид 500 – 1000; доксициклин – 250; цефотаксин – 1000 мг/л. Протестированы питательные среды: М – С (Murashige, 1962), Гамборга В₅ (Gamborg, 1968) и WPM (Lloyd, 1980), в различных сочетаниях и концентрациях с 6 – БАП, НУК, ИМК, ИУК, гибберелловой кислотой, зеатином, аденином, мезоинозитом.

На этапе укоренения базовой служила ½ среда М – С, в разных сочетаниях с НУК – 2,0; ИУК – 0,5; ИМК – 1,0 мг/л. Для адаптации в вермикулите использовали микрорастения с корневой системой и микропобеги с каллусом. При посадке проводили полив 0,1 % раствором ИУК. Культивировали растения в световой комнате, при температуре 20 – 22 °С, освещенности 5 тыс. лк. Для создания повышенной влажности 80 – 90 % стеклянные сосуды накрывали полиэтиленовой пленкой. Депонирование апробировано при разных режимах культивирования, освещенности 800 – 2000 – 5000 лк, температуре + 4, 8, 20, 22 °С, фото-периоде 16/8 ч., на 4-х вариантах базовой питательной среды М – С.

Для статистической обработки пользовались критерием «хи – квадрат» (Плохинский, 1970; Лакин, 1990), методом дисперсионного анализа Фишера (Доспехов, 1985) и описательной статистики программы Microsoft Excel 2000.

Глава 3. Спонтанная изменчивость сорта Колхида, популяции Кимынь и местной популяции чая в двух агроэкологических зонах Абхазии.

Частота и спектр спонтанных соматических мутаций сорта Колхида и популяций чая. Чай в природных условиях является высокопластичной культурой, что позволяет проводить отбор ценных для селекции форм. Многочисленные факторы окружающей среды, такие как высокий фон радиации, температурные шоки, нагрузка пестицидами и удобрениями оказывают большое влияние на частоту мутирования. Подрезка и сбор чая стимулируют возникновение соматических мутаций, однако эти же мероприятия мешают их своевременному выделению.

Уровень спонтанной изменчивости является высокоспецифичным признаком, одни сорта и популяции чая имеют большую, другие меньшую частоту изменчивости.

В наших исследованиях частота соматических мутаций зависела от сорта чая и места его произрастания. Наибольшая частота растений с измененными признаками отмечена у популяции Кимынь – от $1,84 \pm 0,20$ до $3,40 \pm 0,14$ % (1989 г.) и от $2,0 \pm 0,03$ до $3,95 \pm 0,20$ % (1992 г.) Наименее изменчивым является сорт Колхида, у которого частота измененных растений в 1989 г. составила $1,05 \pm 0,17$ % – $2,55 \pm 0,35$ %, а в 1992 г. $1,10 \pm 0,22$ % – $3,10 \pm 0,39$ %. Местная популяция – средне изменчива, частота естественной изменчивости в 1989 г. составила от $1,61 \pm 0,10$ до $2,75 \pm 0,32$ %, а в 1992 г. – от $1,60 \pm 0,14$ до $3,50 \pm 0,17$ % (рисунок 1).

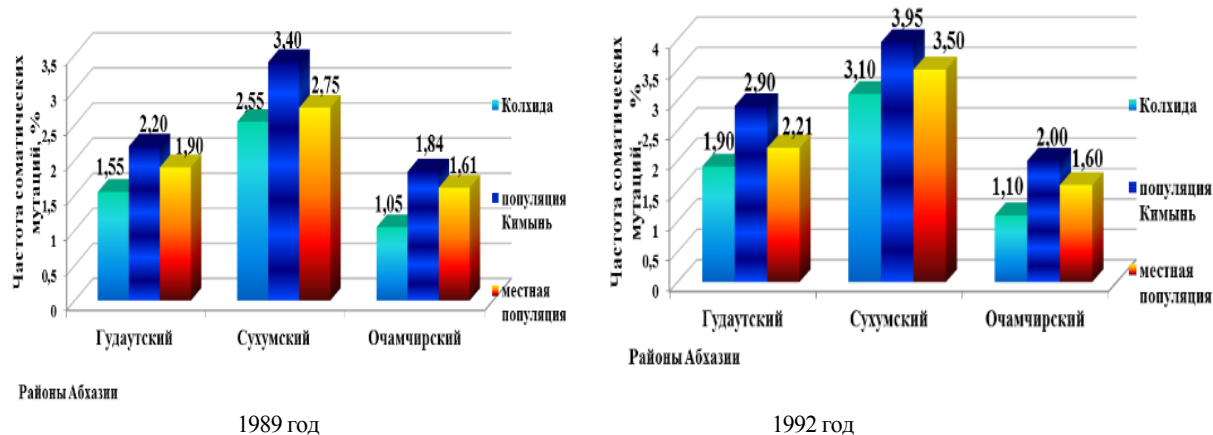


Рисунок 1 – Частота соматических мутаций сорта Колхида популяции Кимынь и местной популяции чая в двух агроэкологических зонах Абхазии, % (1989, 1992 гг.)

Математическая обработка данных методом χ^2 показала, что разница между сортами статистически достоверна ($P < 0,05$) в 1989 г. между Колхидой и Кимынь во всех зонах Абхазии, а в 1992 г. – для Колхиды и Кимынь в Гудаутском и Очамчирском районах.

Среди исследованных зон, самым неблагоприятным в экологическом отношении оказался Сухумский район, где наблюдалась самая высокая частота изменчивости, превысившая 2,0 – 3,0 %. Объясняется это тем, что на этом участке ежегодно применялись высокие дозы минеральных удобрений (NPK – 300,150,120 кг/га ДВ) и кроме этого, выше на склоне располагались цитрусовые плантации, где проводилась 5 – 6 кратная обработка высокомутагенными пестицидами БИ – 58 и Цинеб. При обильных осадках загрязненные воды со склона попадали на чайную плантацию.

Наименьшая частота спонтанной изменчивости отмечена у сорта Колхида и популяций чая в Очамчирском районе. Разница статистически достоверна ($P < 0,001$) при сравнении Сухумского района с Очамчирским в 1989 и 1992 гг. между Сухумским и Гудаутским районами в 1989 г. – для популяции Кимынь и местной популяции, в 1992 г. – для местной популяции. Главное, что следует отметить, что изменчивость чая в Сухумском и Гудаутском районе выросла в 1992 г., по сравнению с 1989 г., в то время как в Очамчирском она практически не изменилась.

В Сухумском районе в 1992 г. частота измененных растений по сравнению с 1989 г., была статистически достоверной у Кимынь и местной популяции ($P < 0,001$). Так, в 1989 г. в Сухумском районе у Кимынь и местной популяции частота измененных растений составила $3,40 \pm 0,14$ % и $2,75 \pm 0,32$, а в 1992 г. $3,95 \pm 0,20$ % и $3,50 \pm 0,17$ % соответственно.

В Гудаутском районе разница по годам была статистически не достоверной, однако она имела тенденцию к повышению в 1992 г. у представленных сорта и популяций чая.

Типы выделенных соматических мутаций были разбиты нами на три группы: морфологические, физиологические и пластидные. Анализ их спектра наглядно представлен на примере Сухумского района (рисунок 2).

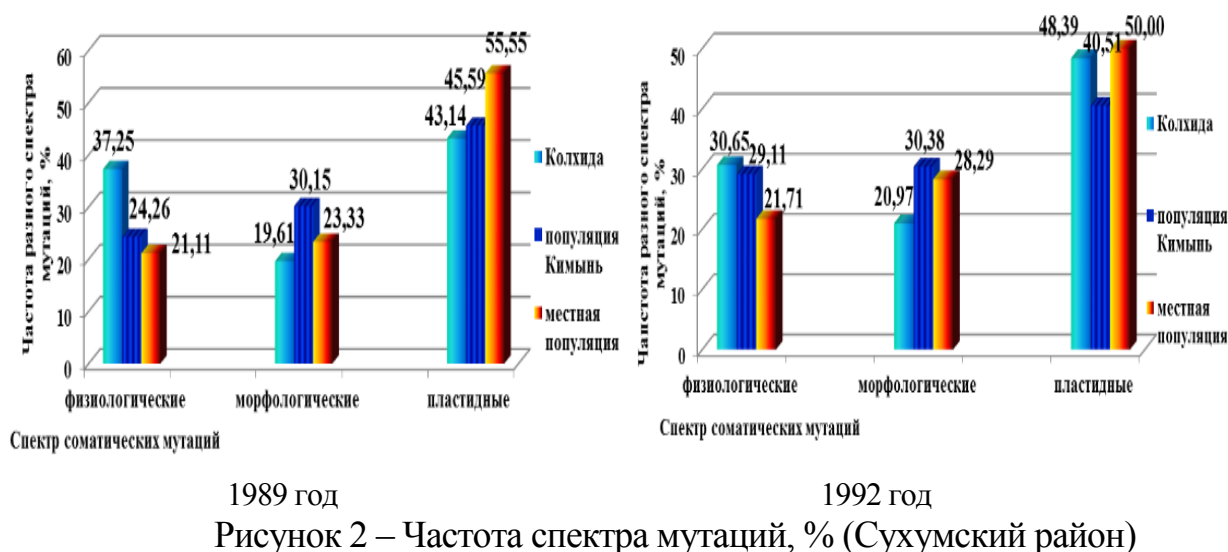


Рисунок 2 – Частота спектра мутаций, % (Сухумский район)

Морфологические изменения затронули размер, форму, кончик, края, поверхность листа, размер типса и междоузлий. Физиологические – проявлялись в антоциановой окраске листа и интенсивности побегообразования, пластидные – представлены периклинальными и секториальными химерами. Как следует из полученных данных около половины всех соматических мутаций составили пластидные мутации (40,51–55,55 %).

У сорта Колхида отмечено достоверное увеличение частоты физиологических мутаций по сравнению с морфологическими 37,25 – 19,61% (1989 г.) и 30,65 – 20,97 % (1992 г.). У популяций наблюдалась сравнительно одинаковая их частота.

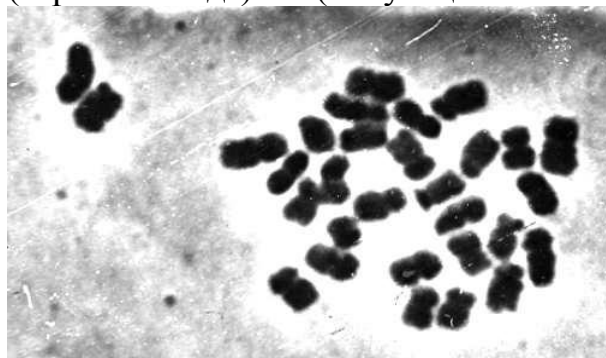
В результате исследований установлено, что не только генотип сорта, но и условия произрастания значительно влияют на частоту спонтанной изменчивости растений чая. При этом высокой частотой мутаций отличалась популяция Кимынь, среди исследованных зон – Сухумский район. Соматические мутации чая представлены широким спектром физиологических и морфологических и пластидных изменений. Около половины из них составляют пластидные химеры.

Перспективные спонтанные формы чая. В природных условиях можно наблюдать, как отдельные изменения на кустах, появляющиеся в результате соматических мутаций, так и полностью измененные растения. Последние часто возникают на участках семенного размножения и могут быть результатом, как спонтанного мутагенеза, так и рекомбиногенеза и служат материалом для клоновой селекции чая.

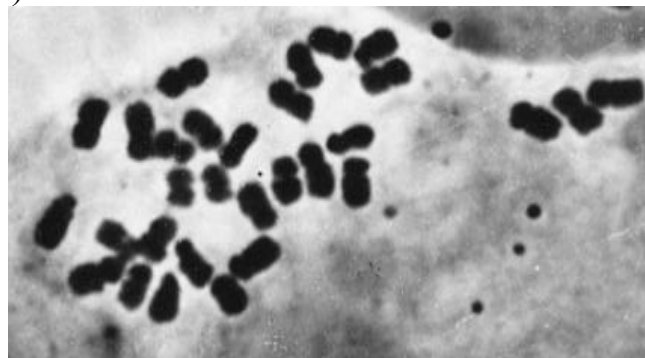
В I зоне (Сухумский район) в 1989 – 1992 г., среди обследованных 64 тыс. растений чая, были выделены 23 селекционно-ценные формы чая (частота составила 0,03 %). Больше всего измененных растений отобрано на популяции Кимынь – 15 форм, 4 – у сорта Колхида и 4 – местной популяции.

Среди выделенных типов наследственных изменений некоторые представляют селекционный интерес. Это формы с пузырчатými листьями, крупными по массе флешами с антоциановой окраской, продолжительным вегетационным периодом, сниженной генеративной активностью, интенсивным побегообразованием. Изучены их морфобиологические особенности и хозяйственная ценность, проведены цитологический анализ по определению кариотипа и биохимические исследования по содержанию танина, кофеина и экстрактивных веществ, а также титестерская оценка по вкусу и аромату чайного напитка.

Кариологический анализ спонтанных форм чая. У выделенных 23-х перспективных спонтанных форм чая был проведен кариологический анализ. На рисунке 3 представлен диплоидный набор хромосом на примере форм №№ 555 (сорта Колхида) и 8 (популяции Кимынь).



№ 555 (сорт Колхида)



№ 8 (популяция Кимынь)

Рисунок 3 – Набор хромосом ($2n = 30$) у форм чая (1990 г.)

Несмотря на спонтанные изменения, которые затронули целый ряд селекционно-ценных признаков, кариотип изученных форм не изменился и остался на диплоидном уровне ($2n = 30$).

Хозяйственная ценность спонтанных форм чая. Среди выделенных 23-х форм чая наибольшую хозяйственную ценность представляют формы: №№ 8, 11, (п. Кимынь); 553, 555, 574 (Колхида) и 864 (м. популяции).

Показатели этих форм превысили исходные сорт и популяции по урожайности с 1 куста на 230 – 340 г; продолжительности вегетационного периода на 5 –

14 дней; массе 3-х листовых флешей на 0,3 – 0,9 г, площади листа на 19,2 – 33,6 см² (таблица 1).

Таблица 1 – Характеристика хозяйственной ценности перспективных форм чая (1989 – 1991 гг.)

Исходные сорт, популяция, № формы	Продолжительность вегетационного периода, дни	Средняя масса 3-х листовых флешей, г	Средняя площадь листа, см ²	Средний урожай с куста, кг
Колхида	215	1,2	58,8	0,750
553	225	1,5	79,2	0,980
555	220	1,5	78,0	0,990
574	220	1,5	86,6	1,000
НСР ₀₅	---	0,13	6,4	0,1
п. Кимынь	209	0,7	34,3	0,650
8	220	1,4	65,2	0,990
11	223	1,4	67,8	0,990
НСР ₀₅		0,3	7,2	0,15
местная популяция	210	0,5	31,2	0,750
864	220	1,4	64,8	0,990
НСР ₀₅	---	0,4	7,6	0,1

Биохимический анализ спонтанных форм чая. Проведенные биохимические исследования подтвердили высокое качество готовой продукции у всех выделенных 23 форм чая. На общем фоне высокими показателями отличились все те же шесть форм чая №№ 8, 11, (п. Кимынь); 553, 555, 574 (Колхида) и 864 (м. популяции) (таблица 2).

Таблица 2 – Биохимические и органолептические показатели перспективных форм чая, % (1989 – 1991 г.)

Исходные сорт, популяция, № формы	Танин	Кофеин	Экстрактивные вещества	Вкус и аромат, в баллах
Колхида	26,7	3,2	46,1	5,25
553	29,8	3,4	48,8	5,75 розанистый
555	29,6	3,3	48,6	6,0 розанистый
574	30,2	3,4	48,4	6,0 розанистый
п. Кимынь	26,1	3,2	44,7	5,25
8	30,1	3,4	48,8	6,0 розанистый
11	30,6	3,4	48,5	6,0 розанистый
местная популяция	25,4	2,8	44,0	5,25
864	30,8	3,4	48,6	6,0 розанистый

Так, содержание танина у них было выше по сравнению с исходным сортом и популяциями на 2,9 – 5,4 %, экстрактивных веществ на 2,2 – 4,6 %, а напиток по вкусу был оценен выше на 0,5 – 0,75 баллов и имел розанистый аромат. По наличию кофеина различий не найдено.

Таким образом, все 23 спонтанные формы чая представляют интерес для селекции. Вместе с тем, наибольшую ценность представляют формы №№ 553, 555, 574 (сорта Колхида), 8, 11 (популяции Кимынь) 864 (местной популяции), измененные сразу по целому комплексу полезных признаков и одновременно сочетающие в себе высокую продуктивность, качество, неповторимый вкус и

аромат. Все выделенные 23 формы чая размножены и высажены на коллекционном участке.

Глава 4. Селекционная оценка спонтанных сортов и индуцированных форм чая в условиях влажных субтропиков России.

Продуктивность спонтанных сортов и индуцированных форм чая. Вегетационный период местной популяции чая, которой заложено большинство чайных плантаций Краснодарского края, протекает в определенном ритме. Период активного побегообразования в мае, сменяется депрессией в июне, обусловленным биологическими и сортовыми особенностями культуры чая. На интенсивность побегообразования оказывают влияние и погодные условия, в частности, периодически повторяющиеся летние засухи. Несмотря на это спонтанные сорта и индуцированные формы чая продемонстрировали высокий продуктивный и адаптивный потенциал, депрессивный период у них не был ярко выражен, вегетация протекала значительно интенсивнее, последствия риска летней засухи были сведены к минимуму.

Большая роль в наших исследованиях была отведена изучению динамики поступления чайного листа к сбору. При проведении учетов и наблюдений подтвердилась общая закономерность в отношении майских пиков урожайности у всех изученных спонтанных сортов и индуцированных форм чая, обусловленных накоплением осенне-зимней влаги в почве (таблица 3).

Таблица 3 – Динамика поступления урожая чайного листа по отношению к средней урожайности, ц/га, % (2007 – 2009 гг.)

Сорт, форма	май		июнь		июль		август		Среднее ц/га	
	ц/га	%	ц/га	%	ц/га	%	ц/га	%		
Колхида контроль	спонтанные	15,8	36,0	3,9	8,9	10,4	23,7	13,8	31,4	43,9
Каратум		25,3	63,2	2,4	6,0	6,6	16,5	5,7	14,3	40,0
Сочи		14,6	35,5	4,2	10,2	12,2	29,7	10,1	24,6	41,1
№ 582	индуцированные	16,8	33,7	4,7	9,4	14,3	28,7	14,0	28,2	49,8
№ 2264		14,0	46,5	4,4	14,6	6,0	19,7	5,8	19,2	30,2
№ 3823		17,5	31,7	6,1	11,1	15,9	28,8	15,7	28,4	55,2
НСР ₀₅		1,4		0,5		1,6		1,8		3,8

Больше всего урожая собиралось в мае, от 14,0 ц/га у формы № 2264, до 25,3 ц/га у сорта Каратум, чьи показатели превысили контрольный сорт Колхида (15,8 ц/га) на 60,1 %. Лучший адаптивный потенциал к июньской депрессии показали индуцированные радиомутантные формы №№ 582 и 3823, их показатели урожайности в июне были выше контроля Колхида на 20,5 – 56,4 %. Можно предположить, что высокая адаптивность обусловлена их гетероплоидной природой. В июле высокую урожайность также продемонстрировали формы №№ 582 и 3823, превысив контроль на 37,5 – 52,9

%, в августе преимущество над контролем в 13,8 % принадлежит также форме № 3823.

За весь период исследований прослеживается повышение урожайности практически у всех сортов и форм чая (таблица 4).

Таблица 4 – Урожайность спонтанных сортов и индуцированных форм чая, ц/га (2007 – 2009 гг.)

Сорт, № формы	2007			2008			2009			Сред. ц/га	% к контро- лю Колхида
	ц/га	ц/га	ц/га	ц/га	ц/га	ц/га	ц/га	ц/га			
Колхида контроль	Спонтанные	37,7	36,3	57,6	43,9	100					
Каратум		25,9	44,9	49,1	40,0	91,1					
Сочи		34,4	48,1	40,7	41,1	93,6					
№ 582	Индуциро- ванные	33,2	55,0	61,1	49,8	113,4					
№ 2264		24,7	28,8	37,1	30,2	69,0					
№ 3823		36,3	59,9	69,5	55,2	125,7					
НСР₀₅		3,5	1,6	3,2	3,8	-----					

На общем фоне высокой продуктивностью отличились радиамутанты №№ 582 и 3823, их показатели были выше контрольного сорта Колхида на 13,4 – 25,7 %. Урожайность спонтанного сорта Сочи находилась на уровне с контролем. Уступила контролю, причем с существенной разницей в 31,0 % колхимутантная форма № 2264.

Одним из основных показателей продуктивности является средняя масса 3-х листовых флешей. Крупные по массе флешей способствуют получению большего урожая с единицы площади и гарантируют повышение производительности труда чаеборщиков в 2–3 раза. Масса 3х листовых флешей напрямую зависит от сорта и месяца проведения сбора. Самые крупные флешей собирались в мае – от 0,89 г у сорта Сочи и формы № 2264, до 1,2 г у сорта Каратум и форм №№ 582 и 3823 (рисунок 4).

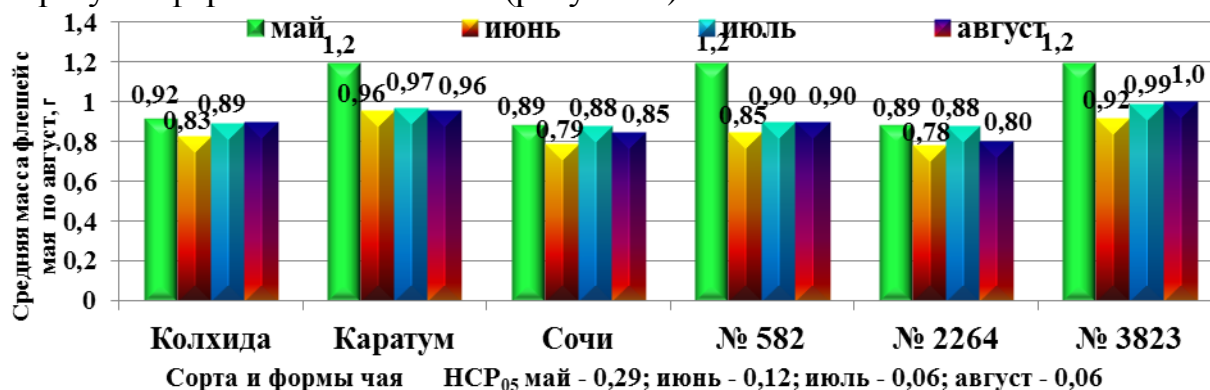


Рисунок 4 – Средняя масса флешей спонтанных сортов и индуцированных форм чая с мая по август, (2008 – 2010 г.)

За весь период исследований (2008 – 2010 гг.) установлено, что все сорта и формы чая отличились крупными по массе 3-х листовыми флешами, от 0,84 до 1,0 г (рисунок 5).

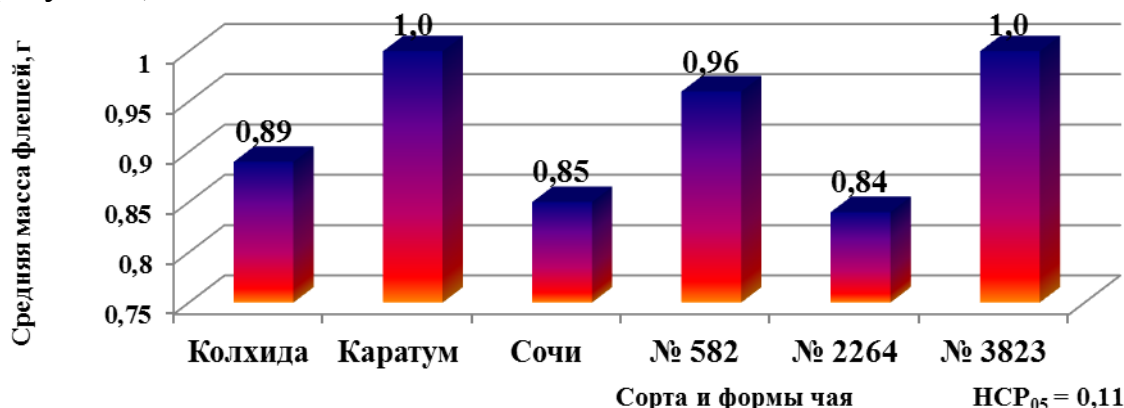


Рисунок 5 – Средняя масса флешей спонтанных сортов и индуцированных форм чая, г (2008 – 2010 гг.)

Лидировали по этой позиции спонтанный сорт Каратум и индуцированная форма № 3823, с массой флешей – 1,0 г, превысив контрольный сорт Колхида (0,89 г) на 12,4 %. Следует отметить, что на плантациях заложенных местной популяцией чая, средняя масса флешей составляет 0,3 – 0,5 г, тогда как этот показатель у представленных сортов и форм чая превышает 0,8 – 1,0 г.

Таким образом, преимущество над спонтанными сортами по основным показателям продуктивности и адаптивному потенциалу имели индуцированные радиомутантные формы № 3823 и № 582.

Основные показатели качества чайного сырья спонтанных сортов и индуцированных форм чая. Одновременно с продуктивностью нами изучалось и качество заготовленного сырья. Механический анализ по содержанию нормальных флешей в 100 г фракции чайного листа дает нам полное представление о проведенном сборе. Высокое качество сырья определяется наличием в 100 г сырья 2 и 3-х листовых флешей, допускаются 4-х листовые, с небольшой примесью огрубевшей фракции глушков (побег с апикальной заглохшей почкой). Самое нежное сырье на 99,8 – 99,9 % состоящее из нормальных флешей собрано у сорта Каратум и индуцированных форм №№ 582 и 3823, при незначительном 0,2 – 0,1 % содержании глушков.

Содержание нормальных 2-х, 3-х, 4-х листовых флешей по сортам и формам чая в среднем за все годы исследований составило 44,6 : 48,9 : 3,2 %, содержание глушков – 3,3 %. Это соотношение является идеальным, поскольку основная масса в собранном урожае принадлежит 2-х и 3-х листовой фракции, которая дает самое нежное, богатое танинами и экстрактивными веществами сырье (рисунок 6).



Рисунок 6 – Содержание нормальных флешей у сортов и форм чая в 100 г фракции чайного сырья, % (2008 – 2010 гг.)

Селекционную ценность сортов и форм чая изучали по основным биохимическим показателям чайного сырья. Данные исследований показывают, что в июле месяце происходит закономерное накопление танина и экстрактивных веществ, которые придают вкус, настой и аромат чайному напитку. Высоким содержанием танина отличились сорт Каратум и форма № 582, их показатели превысили контрольный сорт Колхида на 2,1 – 2,6 %, по наличию экстрактивных веществ преимущество у формы № 582, с результатом 0,9 % выше контроля (таблица 5).

Таблица 5 – Биохимический анализ 3-х листовых флешей спонтанных сортов и индуцированных форм чая, % на сухую массу (2008 – 2010 гг.)

Сорт, № формы		Июнь		Июль		Август		Среднее	
		экстрактивные вещества, %	танин, %	экстрактивные вещества, %	танин, %	экстрактивные вещества, %	танин, %	экстрактивные вещества, %	танин, %
Колхида контроль	спонтанные	43,77	28,95	45,94	29,79	43,84	27,50	44,52	28,75
Каратум		42,70	28,95	44,20	32,08	44,93	31,50	43,94	30,84
Сочи		43,18	27,76	43,57	29,60	41,47	25,21	42,74	27,52
№ 582	индуцированные	44,49	28,55	45,34	32,08	46,35	33,34	45,39	31,32
№ 2264		42,85	29,95	45,54	30,93	43,64	25,97	44,00	28,62
№3823		43,57	27,56	43,51	32,08	44,75	26,73	43,94	28,79

Согласно полученным данным, исключительно все сорта и формы чая продемонстрировали высокое качество заготовленного сырья, как по фракционному составу, так и биохимическим показателям.

Экономическая эффективность сортов и форм чая. Внедрение в производство рекомендуемых спонтанных сортов и индуцированных форм чая

будет способствовать повышению экономической эффективности отрасли чаеводства (таблица 6).

Таблица 6 – Экономическая эффективность спонтанных сортов и индуцированных форм чая, в расчете на 1 га (2007 – 2009 гг.)

Показатели	Местная популяция	Колхида	Каратум	Сочи	№ 582	№ 2264	№ 3823
Урожайность ц/га	35,0	43,9	40,0	41,1	49,8	30,2	55,2
Производственные затраты, руб.	195000	212800	205000	207200	224600	185400	235400
Реализационная цена 1 ц продукции, руб.	7000	7000	7000	7000	7000	7000	7000
Стоимость валовой продукции, руб.	245000	307300	280000	287700	348600	211400	386400
Себестоимость 1 ц продукции, руб.	5571,4	4847,4	5125,0	5041,4	4510,0	6139,1	4264,5
Прибыль, руб.	50000	94500	75000	80500	124000	26000	151000
Рентабельность, %	25,6	44,4	36,6	38,9	55,2	14,0	64,1

Рентабельность индуцированных форм №№ 582 (55,2 %) и 3823 (64,1 %), превысила не только местную популяцию на 29,6 – 38,5 %, но и лучший районированный контрольный сорт Колхида на 10,8 – 19,7 %. Чистая прибыль при возделывании индуцированных форм №№ 582 и 3823 будет больше на 74,0 – 101,0 тыс. руб. по сравнению с местной популяцией, которой заложено большинство чайных плантаций, и больше на 29,5 – 56,5 тыс. руб. по сравнению с лучшим районированным контрольным сортом Колхида.

Вследствие высокой экономической эффективности во влажных субтропиках России, индуцированные формы №№ 582 и 3823 представляют значительный интерес для производства.

Глава 5. Клональное микроразмножение чая и сохранение ценных генотипов в культуре *in vitro*.

Введение эксплантов чая в стерильную культуру *in vitro*. Успех введения эксплантов чая в стерильную культуру *in vitro* зависит от правильного выбора дезинфицирующих веществ, их концентрации и экспозиции. Было апробировано три варианта ступенчатой стерилизации, с использованием 70 % этилового спирта и растворов: «Доместос» и диацида. Базовой питательной средой служила минеральная основа по прописи Мурасиге – Скуга (Murashige, Skoog, 1962) с добавлением 6 – БАП 2,0 мг/л.

Критический момент для введенных в стерильную культуру *in vitro* эксплантов чая наступал на 3 – 5 день, когда наблюдалась их массовая гибель от микробиальной флоры и некрозов, вследствие агрессивного воздействия дезинфицирующих веществ.

Из испытанных приемов стерилизации, самым эффективным оказался вариант, с применением 70 % этилового спирта (30 сек.) и раствора «Доместос» 10 % (25 мин.). Этот способ позволил ввести в стерильную культуру до 38,3 % эксплантов чая (таблица 7).

Таблица 7 – Эффективность стерилизующих агентов на этапе введения в культуру *in vitro* эксплантов чая, % (2011 г.)

Варианты стерилизации		Тип экспланта, количество, шт.		Контаминация, некроз, %	Выход стерильных эксплантов		Всего, %
		апи-каль-ные почки	лате-раль-ные почки		апи-каль-ные почки	лате-раль-ные почки	
1	этиловый спирт – 70 % (25сек.); р-р «Доместос» – 20 % (15 мин.); диацид – 0,2 % (15 мин.)	Питательная среда Мурасиге–Скуга, с 6 – БАП 2,0 мг/л		88,3	шт.	шт.	11,7
		60	60		4	3	
					%	%	
		60	60	88,3	6,7	5,0	
2	этиловый спирт – 70 % (30сек); р-р «Доместос» – 15 % (20 мин.)	60	60	81,7	шт.	шт.	18,3
					5	6	
					%	%	
		60	60	81,7	8,3	10,0	
3	этиловый спирт – 70 % (30 сек); р-р «Доместос» – 10 % (25мин.)	60	60	61,7	шт.	шт.	38,3
					12	11	
					%	%	
		60	60	61,7	20,0	18,3	

В целях подавления эндофитной микробиальной флоры в тканях экспланта были протестированы антибиотики широкого спектра антимикробного действия (таблица 8).

Таблица 8 – Эффективность применения антибиотиков на этапе введения эксплантов чая в стерильную культуру *in vitro* (2011 г.)

Антибиотик, мг/л	Питательная среда М – С	Стерилизация				
		этиловый спирт – 70 % (30 сек); р-р «Доместос» – 10 % (25мин.)				
		количество эксплантов	некрозы, %	контаминация, %	получено эксплантов	выход стерильных-эксплантов, %
Тетрациклин 1000		60	93,3	6,7	0	0
Тетрациклин 500		60	11,7	35,0	32	53,3
Доксициклин 250		60	13,3	75,0	7	11,7
Цефотаксин 1000		60	58,3	35,0	4	6,7
Без антибиотиков (контроль)		60	0	100,0	0	0

Отсутствие стойкого стерилизующего эффекта было обусловлено не только эктофитной, но и эндофитной инфекцией, находящейся в симбиозе с тканями экспланта. Базовой на этом этапе служила питательная среда М – С, с добавлением 6 – БАП – 2,0 мг/л.

Из апробированных антибиотиков в питательной среде, лучший результат показал тетрациклин гидрохлорид (500 мг/л), позволивший повысить выход жизнеспособных эксплантов до 53,3 %. Концентрация – 500 мг/л была оптимальной и одновременно щадящей для выживания эксплантов.

Морфогенез начинался с набухания почек с дальнейшей пролиферацией тканей. Для выживания эксплантов значение имел их размер, чем он крупнее (0,5 см), тем лучше приживаемость и активнее пролиферация.

Таким образом, для получения стерильной культуры чая рекомендуется использовать ступенчатую стерилизацию, с применением: 70 % этилового спирта (30 сек.) и 10 % раствора «Доместос» (25 мин.). На этом этапе рекомендуется использовать питательную среду М – С, с добавлением 6 – БАП 2,0 мг/л. Для ингибирования экто и эндофитной микробальной флоры, обязательным является наличие антибиотика тетрациклина гидрохлорида – 500 мг/л.

Индукция морфогенеза и получение микропобегов чая в культуре *in vitro*. Для индукции морфогенных структур и поддержания тканей в активно пролиферирующем состоянии, были испытаны 6 вариантов модифицированных питательных сред. Антибиотики на данном этапе были исключены, поскольку ингибировали морфогенез. Микроразмножение проводили сегментами микропобегов с латеральной или апикальной почкой. Сортные особенности и тип экспланта не имели здесь решающего значения, все зависело от концентрации и сочетания регуляторов роста (таблица 9).

Таблица 9 – Влияние питательной среды и регуляторов роста на развитие микропобегов чая в культуре *in vitro* (2012 г.)

	Питательная среда, регуляторы роста, мг/л	Средняя высота микропобегов, см	Культивирование, месяц	Коэффициент размножения
1	М – С; 6 – БАП – 2,0; зеатин – 0,5; аденин – 0,5; НУК – 0,5	2,2	1,5 – 2	2,8
2	Гамборга В ₅ ; 6 – БАП – 2,5; гибберелловая кислота – 2,0; НУК – 0,5	1,7	2 – 2,5	1,6
3	WPM; 6 – БАП – 3,0; аденин – 0,9	2,7	1,5	3,5
4	½ М – С; ИМК – 1,0; ИУК – 0,5	3,0	2,5	3,1
5	М – С; 6 – БАП – 2,0; гибберелловая кислота – 1,0; НУК – 0,2; мезоинозит – 100	3,5	1,5	4,8
6	М – С – контроль, без гормонов	1,3	2,5	1,0
	НСР ₀₅	0,1	----	0,2

Высокий коэффициент размножения 1:4,8 с одного экспланта был получен на среде М – С, с 6 – БАП – 2,0, гибберелловой кислотой – 1,0, НУК – 0,2 и мезоинозитом – 100 мг/л. При этом срок культивирования составил 1,5 месяца.

Укоренение микропобегов чая в культуре *in vitro*. Индукцию ризогенеза проводили на ½ по минеральному составу базовой питательной среде М – С, с добавлением: ИМК, НУК и ИУК, в разных концентрациях (таблица 10).

Таблица 10 – Влияние ауксинов на рост и укоренение микропобегов чая в культуре *in vitro* (2013 г.)

Питательная среда, мг/л	Высажено микропобегов, шт.	Всего получено шт.	Продолжительность культивирования, месяц	Средняя высота микро-растений, см	Конта-минация, %	Ризо-генез, %	Каллусо-генез, %
½ МС; ИМК – 1,0	60	56	2,5	1,5 ± 0,1	6,7	0	93,3
½ МС; ИМК – 1,0; ИУК – 0,5	60	58	2,5	6,0 ± 0,3	3,3	0	96,7
½ МС; ИМК–1,0; НУК – 2,0	60	49	2,5	2,5 ± 0,4	3,3	82,0	14,7

Во 2 варианте опыта, с ИМК – 1,0 мг/л и ИУК – 0,5 мг/л, несмотря на отсутствие корнеобразования, отмечен активный морфогенез. Микропобеги достигли максимальных размеров в высоту 6,0 ± 0,3 см и характеризовались наличием мощного каллуса.

Следует отметить, что этот вариант питательной среды можно использовать на этапе микроразмножения, а также на этапе адаптации, благодаря мощному каллусу и развитию морфогенных структур.

Лучшей питательной средой для укоренения микропобегов чая является минеральный состав ½ М – С, с ИМК – 1,0 и НУК – 2,0 мг/л. Через 2,5 месяца было получено до 82,0 % укорененных микро-растений чая.

Индукция органо-генеза из каллусной ткани в культуре *in vitro*. Для индукции органо-генеза из меристематических очагов каллуса были протестированы 3 варианта питательных сред на минеральной основе М – С.

Соматические клоны были получены на среде, дополненной 6 БАП – 2,0, НУК – 0,2, гибберелловой кислотой – 1,0 и мезоинозитом – 100 мг/л. Органо-генез из каллуса составил 53,3 % (таблица 11). Для продолжения исследований соматические клоны чая поддерживаются в пересадочной культуре *in vitro*.

Способ размножения, включающий регенерацию морфогенных структур из неорганизованной клеточной каллусной массы, может быть использован как источник генетического разнообразия и позволит создать в условиях лаборатории новые селекционно-ценные формы чая.

Таблица 11 – Влияние питательной среды на индукцию органогенеза из каллусной ткани чая в культуре *in vitro* (2013 г.)

Питательная среда, мг/л	Период культивирования, месяц	Количество высаженного каллуса, шт.	Количество соматклонов, шт.	Органогенез, %
М – С; 6 – БАП – 3,0 контроль	24	90	----	----
М – С; 6 – БАП – 4,0	3	30	2	6,7
М – С; 6 – БАП – 2,5	3	30	----	----
М – С; 6 – БАП – 2,0; гибберелловая кислота – 1,0; НУК – 0,2; мезоинозит – 100,0	3	30	16	53,3

Адаптация микрорастений чая к условиям *ex vitro*. Для адаптации были использованы практически все растения, полученные в результате клонального микроразмножения (с каллусом и корневой системой). Весной была проведена их пересадка из культуральных сосудов в стеклянные банки, наполненные вермикулитом. Для создания максимальной влажности 80 – 90 %, банки сверху накрывались пленкой. Температурный режим в культуральной комнате поддерживался на уровне 20 – 22 °С, освещенность 5 тыс. лк. Приживаемость в адаптационной камере в вермикулите у микрорастений с корневой системой составила – 87,0 %, у микропобегов с каллусом – 64,0 %.

Таким образом, для адаптации к условиям *ex vitro* вполне подходят микрорастения, как с развитой корневой системой, так и микропобеги с каллусом. Выращенные в условиях лаборатории микрорастения чая служат исходным материалом для дальнейшего микроразмножения и селекционных исследований.

Депонирование микропобегов чая в культуре *in vitro*. Микропобеги сорта Колхида и местной популяции чая находятся на депонировании в пересадочной культуре на безгормональной среде М – С и на длительном депонировании, с приостановкой роста в условиях холодильной камеры (таблица 12).

Таблица 12 – Влияние режима культивирования и питательной среды на продолжительность депонирования микропобегов чая в культуре *in vitro* (2014 г.)

Режимы культивирования	Питательные среды, Регуляторы роста, мг/л	Продолжительность депонирования, месяц
800 лк.; + 8 °С; 16/8 ч.	½ М – С	12
5000 лк.; 22°С; 16/8 ч.	½ М – С; 6 – БАП – 1,0; сорбит 20,0	2
2000 лк.; + 10 °С; 16/8 ч.	½ М – С; 6 – БАП – 2,0	1,5
5000 лк.; 20 °С; 16/8 ч. контроль	М – С, без гормонов контроль	4

Максимальный срок хранения – 12 месяцев был отмечен на $\frac{1}{2}$ безгормональной питательной среде М – С, при температуре + 8 °С, освещенности 800 лк, режиме 16/8 ч. Несмотря на ингибирование пролиферации в течение длительного времени, при помещении микропобегов в обычные условия культивирования способность к размножению у них сохранилась.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. На плантациях чая двух агроэкологических зон Абхазии установлена высокая частота спонтанных соматических мутаций сорта Колхида, популяции Кимынь и местной популяции чая, которая зависела от особенностей генотипа, зоны произрастания, года, и варьировала в пределах 1,05 – 3,95 %. Высокой частотой изменчивости отличилась популяция Кимынь – 3,95 %, среди исследованных зон – Сухумский район (3,10 – 3,95 %). Анализ частоты спектра соматических мутаций, представленных морфологическими, физиологическими и пластидными изменениями показал, что половина из них – пластидные химеры (40,51 – 55,55 %).

2. В I зоне (Сухумский район) отобраны и изучены 23 перспективные спонтанно измененные формы чая. Особую ценность представляют формы №№ 8, 11 (Кимынь); 553, 555, 574 (Колхида); 864 (местная популяция), сочетающие в себе комплекс хозяйственных признаков и превосходящие по продуктивности и биохимическим показателям исходный сорт и популяции чая. По вкусу и аромату их напитков был оценен высшей титестерской оценкой в 5,75 – 6,0 баллов. Цитологический анализ показал наличие в их кариотипе диплоидного набора хромосом ($2n = 30$). Для продолжения селекционных исследований они размножены и высажены на опытном участке в п. Ачигвара (Абхазия).

3. Селекционная оценка, проведенная во влажных субтропиках России (I зона) спонтанных сортов чая Колхида, Каратум, Сочи и индуцированных форм № 582, 2264 и 3823 показала, что все они представляют интерес для селекции и производства. Вместе с тем, отмечено достоверное преимущество по урожайности индуцированных радиамутантных форм чая №№ 582 (49,8 ц/га) и 3823 (55,2 ц/га), их показатели превысили контрольный сорт Колхида (43,9 ц/га) на 13,4 – 25,7 %.

4. Все спонтанные сорта и индуцированные формы чая продемонстрировали высокое качество заготавливаемого сырья. По выходу нежной фракции – 99,9 % (контроль 91,9 %), средней массе 3-х листовых флешей 0,96 – 1,0 г (контроль 0,89 г) – отличился спонтанный сорт Каратум и индуцированные формы №№ 582 и 3823. По содержанию танина сорт Каратум и форма № 582 превысили контрольный сорт Колхида на 2,1 – 2,6%.

5. Высокий уровень рентабельности индуцированных форм №№ 582 (55,2 %) и 3823 (64,1 %) по сравнению с контролем Колхида (44,4 %) обеспечит повышение экономической эффективности отрасли чаеводства.

6. Усовершенствована методика на всех этапах клонального микроразмножения чая в культуре *in vitro*, включая: ступенчатую стерилизацию (в 70 % этиловом спирте – 30 сек. и 10 % растворе «Доместос» – 25 мин.), морфогенез (с коэффициентом размножения 1:4,8 на среде М – С, с 6 – БАП – 2,0, гибберелловой кислотой – 1,0, НУК – 0,2, мезоинозитом – 100 мг/л) и ризогенез (на ½ М – С, ИМК – 1,0 и НУК – 2,0 мг/л).

7. Получены укорененные и адаптированные к условиям *ex vitro* микрорастения чая сорта Колхида и местной популяции. Индуцирован органогенез и получены соматклоны чая на питательной среде М – С, с добавлением 6 – БАП 2,0, гибберелловой кислоты – 1,0, НУК – 0,2 и мезоинозита 100 мг/л.

8. Определены условия для длительного депонирования (в течение 12 месяцев) микропобегов чая в культуре *in vitro*, при температуре + 8 °С, фото – периоде 16/8 ч., освещенности – 800 лк. Для продолжения селекционной работы на депонировании в пересадочной культуре *in vitro* поддерживаются микропобеги и соматклоны чая.

РЕКОМЕНДАЦИИ СЕЛЕКЦИИ И ПРОИЗВОДСТВУ

1. Отбор ценных для селекции форм чая следует проводить на популяции Кимынь, которая отличилась высокой частотой спонтанной изменчивости и уже дала начало многим известным сортам чая, и ее возможности на этом не исчерпаны.

2. Маточно – коллекционный участок, где произрастают 23 спонтанные формы чая в п. Ачигвара (Абхазия), можно использовать в качестве исходного материала для селекции.

3. Закладку и реконструкцию чайных плантаций рекомендуется проводить перспективными урожайными спонтанными сортами Колхида, Каратум, Сочи и индуцированными формами чая №№ 582 и 3823, которые необходимо внести в Госреестр селекционных достижений РФ.

4. Метод клонального микроразмножения чая в культуре *in vitro*, благодаря высокому коэффициенту размножения, позволит в короткие сроки, даже при дефиците исходного материала, обеспечить производство высокосортным посадочным материалом.

5. Депонированные *in vitro* микропобеги и соматклоны чая могут быть использованы в селекции для создания новых высокопродуктивных сортов.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

Публикации в изданиях, рекомендуемых ВАК:

1. Гвасалия, М.В. Продуктивность сортов и форм чая разного происхождения в условиях влажных субтропиков / М.В. Гвасалия // Вестник РАСХН. – 2013. – № 4. – С. 16 – 18. – авт. 0,5 п. л.
2. Гвасалия, М.В. Клональное микроразмножение растений чая (*Thea sinensis* L.) в культуре *in vitro* / М.В. Гвасалия // Садоводство и виноградарство. – 2013. – № 4. – С. 20 – 22. – авт. 0,4 п. л.
3. Гвасалия, М.В. Частота и спектр aberrаций хромосом у сортов и форм чая при спонтанном мутагенезе / М.В. Гвасалия // Сельскохозяйственная биология. – 2014. – № 3. – С. 65 – 70. – авт. 0,7 п. л.
4. Коломиец Т.М. Микроразмножение *in vitro* субтропических, декоративных культур и эндемиков Западного Кавказа: оригинальные и оптимизированные протоколы / Т.М. Коломиец, В.И. Маляровская, **М.В. Гвасалия**, и др. // Сельскохозяйственная биология. – 2014. – № 3. – С. 49 – 59. – авт. 0,3 п. л.

Публикации в других изданиях:

5. Гвасалия, М.В. Естественная изменчивость грузинских сортов чая в современных условиях производства / М.В. Гвасалия // Субтропические культуры. – Ананасули, 1989. – № 4 (222). – С. 43 – 47. – авт. 0,4 п. л.
6. Гвасалия, М.В. Изучение генетической изменчивости сортов чая Колхида, Кимынь, местная популяция по тесту aberrаций хромосом / М. В. Гвасалия // Современное состояние и перспективы развития садоводства и культуры чая в республике Адыгея: матер. науч.- практ. конф. – Майкоп, 2008. – С. 144 – 149. – авт. 0,4 п. л.
7. Гвасалия, М.В. Спонтанный мутагенез сортов чая Колхида, Кимынь, местная популяция в современных условиях производства / М. В Гвасалия // Современное состояние и перспективы развития садоводства и культуры чая в республике Адыгея: матер. науч. – практ. конф. – Майкоп, 2008. – С. 149 – 156. – авт. 0,5 п. л.
8. Туов М.Т. Продуктивность перспективных сортов и сортоформ чая в зависимости от площади листосборной поверхности в условиях Краснодарского края / М.Т. Туов, **М.В. Гвасалия** // Субтропическое и южное садоводство России: сб. науч. тр. межд. науч.– практ. конф. – Вып. 42. – Т. II. – Сочи, 2009. – С. 60 – 70. – авт. 0,4 п. л.
9. Гвасалия, М.В. Изучение хозяйственной ценности выделенных спонтанных мутантных форм сортов чая Колхида, Кимынь, местная популяция / М.В. Гвасалия // Субтропическое и южное садоводство России: сб. науч. тр. межд. науч. – практ. конф. – Вып. 42 – Т. II. – Сочи, 2009. – С. 70 – 77. – авт. 0,6 п. л.

10. Гвасалия, М.В. Биологический потенциал новых сортов чая при разной листосборной поверхности / М.В. Гвасалия // Совершенствование сортимента и технологий возделывания плодовых и ягодных культур: матер. межд. науч. – практ. конф. – Орел: ВНИИСПК, 2010. – С. 54 – 57. – авт. 0,5 п. л.
11. Гвасалия, М.В. Естественная изменчивость растений чая / М.В. Гвасалия // Интродукция нетрадиционных и редких растений: матер. IX межд. науч.– метод. конф. – Т. I. – Мичуринск: ГАУ, 2010. – С. 76 – 80. – авт. 0,4 п. л.
12. Гвасалия, М.В. Интродуцированные формы чая и перспективы их возделывания в условиях Краснодарского края / М.В. Гвасалия // Проблемы субтропического сельского хозяйства и перерабатывающей промышленности: матер. межд. науч. конф. // Субтропические культуры. – 2010. – № 1 – 4 (261 – 264). – С. 42 – 45. – авт. 0,3 п. л.
13. Гвасалия, М.В. Урожайность диплоидных и гетероплоидных сортов чая в условиях влажных субтропиков России / М.В. Гвасалия // Новации в горном и предгорном садоводстве: матер. межд. науч. – практ. конф. – Нальчик, 2011. – С. 91 – 95. – авт. 0,3 п. л.
14. Гвасалия, М.В. Потенциальные возможности продуктивности сортов чая, созданных нетрадиционными методами селекции / М.В. Гвасалия // Субтропическое и декоративное садоводство. – сб. науч. тр. – Вып. 44. – Сочи, 2011. – С. 82 — 87. – авт. 0,6 п. л.
15. Гвасалия, М.В. Особенности получения асептической культуры при клональном микроразмножении чая (*Thea sinensis* L.) / М.В. Гвасалия // Дендрология, цветоводство и садово-парковое строительство: мат. межд. науч. конф. – Т. – 2. – Ялта, 2012. – С. 93. – авт. 0,08 п. л.
16. Гвасалия, М.В. Некоторые вопросы клонального микроразмножения чая (*Camellia sinensis* L.) / М.В. Гвасалия // Субтропическое и декоративное садоводство: сб. науч. тр. – Вып. 46. – Сочи, 2012. – С. 133 – 137. – авт. 0,5 п. л.
17. Гвасалия, М.В. Укоренение микрорастений чая (*Thea sinensis* L.) в культуре *in vitro* / М.В. Гвасалия // Научные исследования в субтропиках России: сб. тр. мол. учен., аспиран. и соиск. ВНИИЦиСК. – Сочи, 2013. – С. 85 — 91. – авт. 0,4 п. л.