مطالعه گلدهی و تاثیر روشهای مختلف گرده‌افشانی دستی در باروری برخی از گونه‌های مریم‌گلی (*Salvia* ssp.) بومی ایران

قاسم اسماعیلی؛ مجید عزیزی؛ حسین آرویی؛ جمیل واعظی

دانشگاه فردوسی مشهد

DOI: 10.22067/jhs.2021.61510.0

مقدمه

از پیش نیازهای هر برنامه اصلاحی آشنایی با جزئیات گرده‌افشانی و باروری در گیاه می‌باشد. در پژوهش پیشرو مراحل فنولوژیکی از شروع تولید برگهای رزت تا رسیدن بذر و برخی خصوصیات مرتبط با باروری گلها مثل طول پرچم و مادگی ارزیابی شد. همچنین فرایند باروری گل تحت تاثیر تیمارهای مختلف گرده‌افشانی دستی در غالب طرح کاملاً تصادفی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد تمام گونه‌ها دارای دوره گلدهی طولانی بین ۱۵ روز برای گونه *S. atropatana* تا ۴۱ روز برای گونه *S. virgata* می‌باشند. گرده‌افشانی گلها غالباً توسط زنبورها و مگسها صورت می‌گیرد که نشان‌دهنده دگرگشنی گونه‌ها می‌باشد. کمترین نرخ سازگاری در گونه‌های *S. atropatana* (۱۶/۶ درصد) و *S. syriaca* (۲۵ درصد)، مشاهده شد و گونه *S. virgata* بیشترین میزان سازگاری (۹۱ درصد) را در شرایط آب و هوایی مشهد نشان داد. دو گونه *S. atropatana* و *S. syriaca* با فاصله ۷/۱ و ۵/۲ میلیمتری بین نوک پرچم تا سطح کلاله دارای گلهای هترواستیل بودند. نتایج گرده‌افشانی دستی نشان داد، بیشترین درصد تشکیل بذر در تمام گونه‌ها با میانگین ۷۳/۶۳ درصد از طریق گرده‌افشانی آزاد حاصل گردید. تشکیل بذر در تیمار اتوگامی خودبخودی به شدت پایین و بین ۳ تا ۱۲/۲ درصد بود. تشکیل بذر در تیمار ژینوگامی[1] در محدوده بین ۱۰/۲ درصد برای گونه *S. syriaca* و ۳۲/۵ درصد برای گونه *S. frigida* بود. گونه‌های مورد مطالعه دارای ناسازگاری نسبی یا شدید بودند که از عوامل دگرگشنی در آنها می‌باشد. نتایج نشان داد تیمارهای با امکان دسترسی به منابع دانه گرده متنوع موفقیت بیشتری در تشکیل بذر داشتند.

واژه‌های کلیدی: بیولوژی گلدهی، خودناسازگاری، مریم‌گلی، گرده‌افشانی آزاد، هترواستیلی

مقدمه

جنس مریم‌گلی با بیش از ۱۰۰۰ گونه در سرتاسر جهان، بزرگترین جنس خانواده نعناعیان می‌باشد (۸). در این جنس گونه‌ها با فرم‌های رویشی یکساله، دوساله، چندساله و درختچه‌ای وجود دارند. برطبق آخرین گزارشات ۶۱ گونه از این جنس در ایران رویش دارد که ۱۸ گونه آن اندمیک می‌باشند (۱۷). استفاده ازگونه‌های مریم‌گلی بخصوص در درمان به زمانهای

1 - Xenogamy

بسیار دور برمی‌گردد و امروزه نیز با اهداف مختلف مثل ضدباکتری و التهاب، درمان سرماخوردگی، مشکلات گوارشی، درمان بیماری آلزایمر و بعنوان آنتی‌اکسیدان در مصارف دارویی و غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱).

در ده‌های اخیر اصلاح گیاهان دارویی رشد چشمگیری داشته است. در مقایسه با محصولات رایج، اصلاح گیاهان دارویی به دلیل تنوع بیولوژیکی و بیوشیمیایی هنوز در مراحل اولیه می‌باشد (۱۸). از آنجای که برنامه‌های اصلاحی، بخصوص در گیاهان دارویی همراه با هزینه‌های بالا می‌باشند بنابراین آشنایی با بیولوژی گلدهی و انتخاب سیستم تلاقی مناسب باعث کاهش این هزینه‌ها می‌گردد (۱۳، ۲۳، ۲۵). علاوه بر آن درک عمیق نقش گرده‌افشانی و سیستم‌های گلدهی گیاهان در تامین امنیت غذایی انسانها و حیوانات، فرایند تکامل گونه‌ها و حفاظت از گونه‌های درخطر انقراض می‌تواند باعث بازنگری در اهمیت آن شود (۳، ۱۴).

در گیاهان گلدار سیستم‌های باروری متنوع گرده‌افشانی از خودگشنی اختیاری تا دگرگشنی اجباری وجود دارد (۲۸). این تنوع تحت تاثیر برخی فاکتورها مثل ساختار گل، شرایط محیطی، حضور یا عدم حضور گرده‌افشانها و غیره می‌باشد (۴). بنابراین لازم است مطالعات جامعی در مورد اثرات فاکتورهای اکولوژیکی بر روی بیولوژی گلدهی، گرده‌افشانها و برهمکنش گیاه، شرایط محیطی و گرده‌افشانها صورت گیرد (۱۶). بنابراین علاوه بر ساختار گل از نظر زمان (همزمانی رسیدگی دانه گرده و پذیرش مادگی) و مکان (مورفولوژی گل و ساختار گل آذین)، حضور گرده‌افشانها تاثیر مهمی در انتخاب سیستم تلاقی دارد (۵، ۱۲)؛ چراکه هرگونه کاهش در جمعیت گرده‌افشانها مستقیماً باعث کاهش کمیت و کیفیت نتاج و تسریع خودگشنی در گونه‌های خودسازگار می‌گردد (۲۹).

با توجه به تنوع در مدلهای تولیدمثلی در گیاهان گلدار مثل دیکوگامی، تک و دو پایگی، هترواستیلی[1]، خودناسازگاری و نرعقیمی درک عمیق آنها منجربه گزینش بهترین سیستم اصلاحی می‌گردد (۱۵). هر یک از استراتژی‌های تولیدمثلی دارای مزایا و معایبی می‌باشند (۴۱)، بعنوان مثال خودگشنی منجربه تشکیل بذر در شرایط عدم حضور گرده‌افشانها و حتی در شرایط محیطی نامساعد می‌گردد (۱۰، ۱۸). این گیاهان به دلیل هموزیگوس بودن فاقد ژنهای کشنده می‌باشند و در مقابل خودگشنی مقاوم می‌باشند. از طرف دیگر این گیاهان به دلیل عدم جریان‌ژنی مقاومت پایین‌تری نسبت به شرایط محیطی متنوع دارند (۷، ۱۹، ۲۷).

بسیاری از گونه‌های مریم‌گلی دارای گلهای جذاب، نکتار فراوان و دوره گلدهی طولانی هستند (۳۳). بنابراین از عمده گرده‌افشانهای این جنس زنبورها و مگسها می‌باشند (۶). گونه‌های مریم‌گلی دارای سیستم گرده‌افشانی منحصربه فرد با نام Staminal-Lever-Mechanism می‌باشندکه در آن به دلیل ساختار اهرم مانند پرچم‌های گل و خروج نوک کلاله از کاسه گل، در زمان فعالیت حشرات جهت جمع‌آوری شهد، منجربه حرکت روبه پایین پرچم‌ها و تماس با سطح پشتی حشرات می‌گردد. این مکانیسم به نوعی یک سازگاری محیطی برای این جنس محسوب می‌گردد (۹، ۳۱، ۳۹، ۴۰). اگرچه برخی از گونه‌های زیر جنس *Audibertia* فاقد این مکانیسم هستند (۲۶). نقش سایر گرده‌افشانها مثل پرندگان نیز در برخی از گونه های این جنس گزارش شده است (۳۰). این تنوع در گرده‌افشانها یکی از عوامل تنوع درون و بین گونه‌ای در این جنس می

1 - Long-styled morph

باشد. مکانیسم‌های مختلفی از کلیستوگامی، ژیتنوگامی، ژینوگامی[1] و آپومیکسی در تشکیل بذر گونه‌های مریم‌گلی گزارش شده است (۲، ۱۸). اگرچه برخی معتقدند بیشتر گونه‌های مریم‌گلی خودسازگار می‌باشند (۴۲). دیگوگامی[2]، هرکوگامی[3]، ژینوداشیسی[4] و خودناسازگاری از جمله عواملی هستند که دگرگشنی را در این جنس تسریع می‌کنند (۲۴، ۳۶).

تاکنون در مطالعات متعدد جنبه‌های مختلف بیولوژی گلدهی جنس مریم‌گلی شرح داده شده است که شامل اکولوژی گرده‌افشانی در گونه‌های *Salvia verbenaca* L. (۲۴)، *Salvia brandegeei* Munz (۲)، *Salvia splendens* (۲۱)، *Salvia nipponica* (۲۲) و *Salvia haenkei* (۳۷) مکانیسم‌های انتقال دانه گرده (۳۸)، تولید بذر در گونه *Salvia splendens* (۳۰) و سیستم اصلاحی در گونه *S. smyrnaea* (۳۵) می‌باشد. علی‌رغم تنوع بالای این جنس در ایران خلاء مطالعاتی فراوانی در زمینه بیولوژی تولیدمثلی این جنس و بسیاری از جنس‌های گیاهان دارویی وجود دارد.

در این پژوهش، بذر هفت گونه مریم‌گلی شامل *S. syriaca*، *S. frigida*، *S. virgata*، *S. nemorosa*، *S. macrosiphon*، *S. sclarea* و *S. atropatana* از رویشگاه‌های طبیعی جمع‌آوری شدند. تمام گونه‌های مورد اشاره تنوع بالای از نظر خصوصیات مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و گرده‌افشانی دارند. در این پژوهش بیولوژی گلدهی و سیستم تولیدمثلی گونه‌های فوق در شرایط مزرعه‌ای جهت دستیابی به اطلاعات اولیه لازم برای برنامه‌های اصلاحی مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

۱- مواد گیاهی و منطقه مورد مطالعه

مطالعه در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد طی دو سال ۹۵ و ۹۶ انجام گرفت. ارتفاع مزرعه ۱۰۳۹ متر از سطح دریا می‌باشد. بذر هفت گونه مریم‌گلی از مناطق رویشگاهی مختلف جمع‌آوری شده و نمونه‌های گیاهی در هرباریوم پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد شناسایی شدند (جدول ۱).

۲- جوانه‌زنی بذور و تولید دانهال

بذر تمام گونه‌ها با روشهای مختلف مثل، شستشو با آب روان، سرمادهی مرطوب، خراش‌دهی و اسید جیبرلیک با غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام به مدت ۲۴ ساعت تیمار شدند. سپس بذرها به پتریدیش و ژرمیناتور با شرایط نوری۱۶/۸ و دمای ۲۵ درجه سانتیگراد منتقل شدند. روند جوانه‌زنی در یک دوره ۲۰ روزه مورد مطالعه قرار گرفت. در ادامه بهترین تیمار جوانه‌زنی انتخاب و مجدد بذور تیمار و این بار به گلخانه و در سینی نشاء با محیط کشت‌های مختلف شامل خاک، خاکبرگ، ماسه با نسبت ۱:۱:۱ و همچنین پیت ماس، کوکوپیت و پرلیت با نسبت ۱:۱:۱ کشت شدند. دانهالهای با ارتفاع ۱۵ سانتیمتر یا در

1 - Xenogamy
2 - Dichogamy
3 - Hercogamy
4 - Gynodioecious

مرحله ۱۰ برگی به زمین اصلی منتقل شدند. برای هر گونه سه کرت با ابعاد ۱/۵× ۱/۵ و تعداد ۱۲ گیاهچه کشت شد. آبیاری غرقابی و سایر عملیات مثل وجین علفهای هرز در موارد لازم صورت گرفت.

جدول ۱) مشخصات محل جمع آوری گونه‌های مریم‌گلی

Table 1. Characteristics of the collected sites of *Salvia* species.

گونه Species	محل جمع آوری Collected location	طول جغرافیایی Longitude	عرض جغرافیایی Latitude	ارتفاع محل جمع آوری Altitude (m)
S. virgata (A_1)	Khorasan-e- Shomali-Darkesh	37º26´31´´	56º45´08´´	1239
S. virgata (A2)	Fars-Eghelid	30º30´45´´	52º43´51´´	2559
S. virgata (A_3)	Isfahan-Fereydan	33º08´45´´	50º16´22´´	2360
S. virgata (A_4)	Isfahan-Afous	33º00´14´´	50º00´42´´	2557
S. frigida	Azarbayijan-Targara	37º12´54´´	44º51´33´´	1995
S. nemorosa	Isfahan-Buin-e-Meyandasht	33º01´00´´	50º20´16´´	2330
S. atropatana	Khorasan-e-Shomali-Lojali	37º43´18´´	57º54´42´´	1723
S. macrosiphon	Khorasan-e-Razavi-Kalatenaderi	36º36´35´´	59º54´54´´	1821
S. sclarea	Khorasan-e- Shomali-Reein	37º23´11´´	57º23´07´´	1889
S. syriaca	Isfahan-Buin-e-Meyandasht	33º01´00´´	50º20´16´´	2699

۳- فنولوژی گونه‌ها و مورفولوژی گل

چرخه زندگی گونه‌ها در سال دوم شامل مرحله رزت، دوره گلدهی تا تشکیل بذر و خشک شدن بوته‌ها یاداشت شد. از هر گونه حداقل ۱۰ گل از گیاهان مختلف انتخاب و زمان باز شدن و ریزش گلها بصورت روزانه ثبت شد. تصویر میکروسکپی از گل با استفاده از میکروسکوپ الکترونی مدل VP 1450 (LEO – Germany Co.) برای گونه‌ها با بزرگنمایی ۱۰x تهیه شد. برخی خصوصیات گل از قبیل طول پرچم و مادگی و فاصله بین نوک پرچم تا سطح کلاله با بینوکولار مدل NTBA3 اندازه‌گیری شد. همچنین گرده‌افشانهای گل با بازدید گلها به مدت یک هفته و در ساعات مختلف روز (اوایل، اواسط و اوخر روز) شناسایی گردیدند.

٤- سیستم اصلاحی

برای مطالعه سیستم اصلاحی گونه‌های مختلف مریم‌گلی تیمارهای مختلف گرده‌افشانی بر اساس روش دافنی (۱۹۹۲) و گان و همکاران (۲۰۱۳) در طی بهار و تابستان سال ۱۳۹۶ اعمال گردید. برای این کار گلها پیش از باز شدن در بوته‌های انتخاب شده بوسیله پارچه‌های مناسب که مانع ورود گرده‌افشانها به آن گردند پوشانده شدند. برای گرده‌افشانی دستی پوشش روی گلها برداشته و تیمارهای زیر اعمال گردید: ۱) برای اتوگامی خودبخودی[1] گلها مجدداً بدون اخته‌کردن پوشانده شدند،

1 - Spontaneous autogamy

۲) برای بررسی امکان وجود آپومیکسی در گونه‌های مورد مطالعه ابتدا گلها پیش از گرده‌افشانی بوسیله پنس و لوپ اخته و مجدداً پوشانده شدند، ۳) برای ژیتنوگامی، گلها ابتدا اخته شده و در ادامه با گرده‌های که از گلهای همان گیاه تهیه شده بودند تلاقی داده و مجدداً پوشانده شدند، ۴) ژینوگامی، در این تیمار گلها اخته شده و بوسیله گرده حاصل از گیاه دیگر از همان گونه تلاقی و پوشانده شدند، ۵) گرده‌افشانی آزاد بدون هیچ گونه محدودیت اجازه گرده‌افشانی به گلها بوسیله گرده‌افشانها داده شد.

قبل از ریزش بذرها همه آنها جمع‌آوری شدند و برای هر گونه و تیمار تعداد بذر سالم (دارای البومن و جنین) و بذرهای پوک حاصل از هر گل ثبت گردید (در جنس مریم‌گلی گلها چهار برچه‌ای بوده و هر گل پتانسیل تولید ۴ بذر را دارا می‌باشد). علاوه برآن شاخص خودناسازگاری[1] (ISI) بر اساس تقسیم تعداد بذر تشکیل شده در تیمار ژیتنوگامی بر تعداد بذر تشکیل شده در تیمار ژینوگامی محاسبه گردید بر این اساس اگر ISI بزرگتر از یک باشد بیانگر خودسازگاری، اگر بین ۰/۲ و یک باشد بیانگر خودناسازگاری نسبی و اگر کمتر از ۰/۲ باشد بیانگر خودناسازگاری شدید گونه مذکور می‌باشد (۱۸).

۵- آنالیز آماری

میانگین و انحراف معیار داده‌ها با نرم افزار اکسل ۲۰۱۳ محاسبه گردید. جهت بررسی میزان تشکیل بذر گونه‌های مختلف در گرده‌افشانی دستی آزمون کاملاً تصادفی اجرا و نتایج با نرم افزار جامپ (JMP.8) آنالیز و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد انجام گرفت ($p = 0.01$).

نتایج و بحث

۱- جوانه‌زنی بذر و تولید دانهال

مطالعه جوانه‌زنی گونه‌های مختلف مریم‌گلی نشان داد شستشوی بذرها برای مدت ۲۴ ساعت و کاربرد جیبرلیک اسید ۱۰۰ پی‌پی‌ام به مدت ۲۴ ساعت بیشترین تاثیر را در افزایش جوانه‌زنی تمام گونه‌ها داشت. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که این گونه‌ها دارای ترکیبات بازدارنده جوانه‌زنی و همچنین خواب[2] از نوع شیمیایی می‌باشند. اغلب گیاهان در طبیعت جهت حفظ بقاء سیستم‌های خواب مختلف دارند و اغب این دسته بذور دارای برخی ترکیبات بازدارنده جوانه‌زنی هستند که با شستشو از بین می‌روند. نقش مثبت اسیدجیبرلیک در این پژوهش احتمالاً به دلیل نیاز سرمایی بذرها می‌باشد. شرایط محیطی و تعادل هورمونی بذر نقش کلیدی در جوانه‌زنی بذور دارند (۳۲).

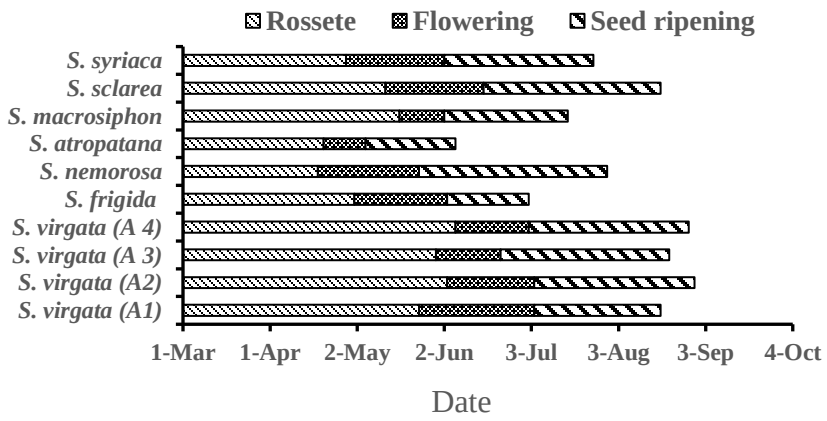
کاربرد محیط کشتهای مختلف در تولید دانهال نشان داد این گونه‌ها (بخصوص در مراحل اولیه رویش) نیازمند به محیط کشت سبک و با نفوذپذیری بالا دارند، همانند محیط رویشگاه‌های طبیعی این گونه‌ها، همچنین به خشکی و EC بالا در این مرحله بسیار حساس می‌باشند. در این پژوهش میزان سازگاری گونه‌های مختلف پس از انتقال به مزرعه در پروسه زمانی ۱۶ ماهه مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۲). منظور از سازگاری گونه‌های که دارای رشد مناسب بوده، تولید گل و بذور

1 - Self-Incompatibility Index
2 - Dormancy

با قابلیت جوانه‌زنی نمودند می‌باشد. طول دوره گلدهی نقش کلیدی در تعداد گرده‌افشانهای بازدید کننده از گل و همچنین تشکیل بذر دارد (۴). نتایج نشان داد بیشترین سازگاری متعلق به گونه *S. virgata* به میزان (۹۱/۶ درصد) و پس از آن گونه *S. nemorosa* (۸۳/۳ درصد) و کمترین سازگاری متعلق به گونه *S. atropatana* (۱۶/۶ درصد) می‌باشد.

۲- فنولوژی گونه‌ها و مورفولوژی گل

روند فنولوژیکی گونه‌های مختلف در شکل یک آورده شده است. تمام دانهالها در اوایل بهار به زمین اصلی انتقال داده شدند. دو گونه *S. virgata* و *S. nemorosa* سه ماه پس از انتقال به گلدهی رفتند در صورتی که سایر گونه‌ها در سال دوم به گل رفتند. همانطور که در شکل یک مشخص هست تمام گونه‌ها نیازمند به تولید تعداد مشخصی برگ و طی مدت مشخص قبل از شروع گلدهی هستند (۴۸ تا ۹۶ روز). تنوع وسیعی در طول دوره گلدهی گونه‌ها مشاهده شد. طولانی‌ترین (۴۱ روز) و کوتاه ترین (۱۵ روز) دوره گلدهی به ترتیب متعلق به دو گونه *S. virgata* و*S. atropatana* بود. افزایش دوره گلدهی منجربه افزایش شانس همزمانی باز شدن گلها و در نهایت انتقال دانه گرده بین گیاهان و گونه‌های مختلف می‌گردد (۳۳). اندازه گیری فاصله بین نوک مادگی تا نوک پرچم‌ها بین صفر تا ۰/۳۳ ± ۷۰/۱ میلیمتر بود (جدول ۲). بجز دو گونه *S. atropatana* و *S. syriaca* در سایر گونه‌ها فاصله موجود بین نوک مادگی و نوک پرچم‌ها به دلیل بلوغ زودتر پرچم‌ها و آزاد سازی دانه گرده قبل از بلوغ و رسیدن به حداکثر اندازه مادگی می‌باشد. به همین دلیل در برخی مطالعات، گلدهی در گونه‌های مریم‌گلی به مراحل مختلف شامل: بازشدن گل، مرحله نرینگی، مرحله دو جنسی و مرحله مادگی تقسیم‌بندی می‌شود (۲۶).



شکل ۱- مقایسه مراحل فنولوژیکی گونه‌های مریم‌گلی در سال دوم پس از انتقال دانهالها.

Figure 1- Comparison of three important phenology steps of *Salvia* species at second year life

جدول ۲- طول دوره گلدهی، سازگاری و شدت هترواستیلی در گونه‌های مریم‌گلی در شریط آب و هوایی مشهد

Table 2- Flower duration, adaptation and heterostyly rate of different *Salvia* species at Mashhad weather condition

گونه Species	نرخ سازگاری پس از یک سال Ratio of adaptability after a year(%)	دوره گلدهی Flowering duration (Day)	تاریخ شروع گلدهی Date of start flowering	تاریخ اتمام گلدهی Date of end flowering	فاصله بین نوک پرچم تا سطح کلاله distance between anther tip and stigma surface (mm)	طول پرچم Stamen length (mm)	طول مادگی Pistil length (mm)
S. virgata (A_1)	65.0±5.7	40.7±2.5	30 April 2017	June 2017 10	2.5±0.08	11.1±0.2	16.1±0.2
S. virgata (A_2)	91.0±2.4	30.7±2.9	16 May 2017	June 2017 16	2.4±0.12	11.1±0.2	18.0±0.5
S. virgata (A_3)	65.3±2.5	22.7±2.5	8 May 2017	May 2017 31	2.1±0.21	12.0±0.3	17.9±0.3
S. virgata (A_4)	74.7±2.1	26.0±2.2	10 May 2017	June 2017 5	2.1±0.08	12.0±0.2	17.2±0.3
S. frigida	32.3±2.1	32.7±2.6	8 May 2017	June 2017 10	2.0±0.26	10.0±0.2	16.0±0.2
S. nemorosa	83.3±3.9	35.0±2.4	22 April 2017	May 2017 31	1.1±0.08	9.1±0.2	24.9±0.5
S. atropatana	16.3±2.9	15.3±2.5	20 April 2017	May 2017 5	7.1±0.33	13.1±0.3	32.1±0.6
S. macrosiphon	33.3±1.2	15.7±0.5	20 May 2017	June 2017 5	0.5±0.05	11.0±0.3	28.1±0.2
S. sclarea	75.3±2.5	34.7±2.9	14 May 2017	June 2017 18	0.0.0±0	10.9±0.1	25.0±0.2
S. syriaca	25.0±4.1	35.3±1.2	26 April 2017	May 2017 31	5.2±0.37	9.0±0.3	20.9±0.5

* برابر با میانگین سه تکرار ± انحراف استاندارد.

* Values are means ± SE of three replicate

تمام گونه‌ها دارای تعداد زیادی گل آذین در هر گیاه و هر گل آذین دارای تعداد زیادی گل آذین جانبی[1] می‌باشد که در هر کدام بین ۳ تا ۸ گل وجود داشت. گلها دارای مادگی با خامه دوشاخه‌ای می‌باشد و تخمدان دارای چهار برچه می‌باشد. گلها دارای دو لوپ و دارای رنگهای متنوع می‌باشند (جدول یک- شکل دو). دو گونه *S. frigida* و *S. atropatana* به ترتیب با سه و چهار ماه کمترین طول دوره زندگی را داشتند و دو گونه *S. virgate* و *S. sclarea* با ۶ ماه بلندترین دوره رشد و زندگی را در سال دوم داشتند.

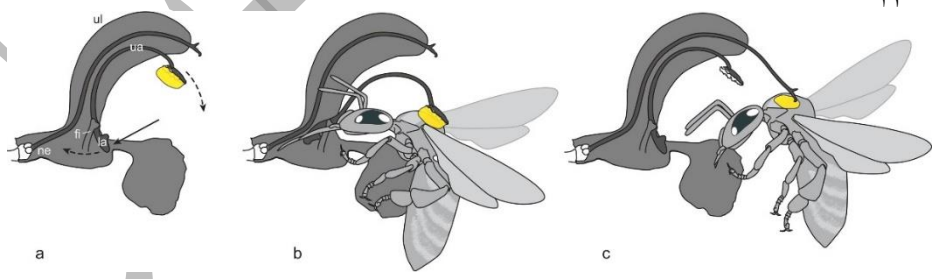
در تمام گلهای بالغ مادگی بطور قابل توجهی از پوشش گل خارج شده بودند و پرچم‌ها محتوی مقدار بسیار زیادی دانه گرده بودند (شکل I -۲). فاصله بین نوک مادگی و نوک پرچم‌ها پس از باز شدن گلها ایجاد می‌شود بنابراین هترواستیلی واقعی نمی‌باشد. اگرچه در دو گونه *S. atropatana* و *S. syriaca* با فاصله ۷/۱ و ۵/۲ میلیمتر بین نوک مادگی و نوک پرچم‌ها هترواستیلی مشاهده شد. در این پژوهش نرعقیمی مشاهده نشد (جدول ۲). هر چند نیاز به مطالعات گسترده تر در فصل گلدهی برای نتیجه‌گیری در مورد وضعیت جنسیت گلها در این گونه‌ها می‌باشد. نتایج مربوط به مشاهده گرده‌افشان کننده‌ها نشان داد زنبورها و مگسها نقش عمده گرده‌افشانی و تشکیل بذر را در این گونه‌ها برعهده دارند. سایر حشرات مثل تعداد محدودی از گونه‌های پروانه‌ها و سوسکها نیز مشاهده شدند اما بنظر می‌رسید سطح بدن این حشرات با پرچم‌ها و مادگی در تماس نبوده و بیشتر در جمع‌آوری دانه گرده یا شکار سایر حشرات نقش دارند.

1 - Verticillaster

شکل ۲- تصویر گل در گونه‌های مختلف مریم‌گلی. (A) *S. frigida*، (B) *S. virgata*-A1، (C) *S. virgata*-A2، (D) *S. virgata*-A3، (E) *S. virgata*-A4، (F) *S. nemorosa*، (G) *S. macrosiphon*، (H) *S. sclarea*، (I) آزاد شدن دانه گرده پس از بلوغ بساک در گونه *S. nemorosa* (100x)

Figure 2- Flower pictures in various *Salvia* species. A, *S. frigida*; B, *S. virgata* (A1); C, *S. virgata* (A2); D, *S. virgata* (A3); E, *S. virgata* (A4); F, *S. nemorosa*; G, S. *macrosiphon*; H, *S. sclarea*; I, The pollens release after anther maturation (100x, *S. nemorosa*).

بطور کلی، بیشتر گونه‌های مریم‌گلی به داشتن پرچم‌های متحرک و بازوی متحرک در پایه پرچم که باعث تماس بساکها با سطح بدن حشرات می‌شود شهرت دارند. این مکانیسم در مطالعه حاضر نیز مشاهده شد بدین صورت که با تلاش حشرات جهت نفوذ به داخل گل و جمع‌آوری شهد و با برخورد به بازوی که در قاعده پرچم‌ها وجود دارد باعث خم شدن پرچم ها به سمت پایین و تماس بساک با سطح پشتی حشرات می‌گردد (شکل-۳). سنول و همکاران (۲۰۱۷) تاکسونهای مختلفی از حشرات مثل دو بالان (Diptera) و Hymenoptera را برای گرده‌افشانی گونه *S. sclarea* معرفی کردند. اوتا و همکاران (۲۰۱۶) در بررسی ساختار گلِ گونه *S. apiana* سیستم گرده‌افشانی اختصاصی برای این گونه معرفی کردند. در این گیاه بشترین مشاهده مربوط به زنبورعسل بود اما زنبورهای بزرگتر نقش موثرتری در گرده‌افشانی این گونه برعهده داشتند. بر طبق نتایج پژوهش‌های پیشین گلهای مریم‌گلی حشرات مختلفی را به سمت خود جلب می کنند که بیانگر منشاء[1] هر گونه می‌باشد به این صورت که در مطالعات تکامل این جنس گونه‌های موجود در مناطق جغرافیایی مختلف دنیا از نظر ساختار پرچم و مادگی (طول و نحوه استقرار این اندام ها در جام گل) تفاوت داشته و مناسب برای گرده‌افشانی توسط حشرات خاص می‌باشد (۳۸).



1 - Origin

شکل ۳- مکانسیم اختصاصی گرده‌افشانی دانه گرده در برخی از گونه‌های مریم‌گلی (Staminal-Lever-Mechanism). a) برش طولی گل شامل: نکتار (ne)، میله پرچم (fi)، بازوی پایینی پرچم (la)، بازوی بالای پرچم (ua) و لپ بالای گل (ul)؛ b) گرده‌افشان جهت جمع آوری نکتار بازوی پایینی را به سمت پایین فشار می‌دهد که منجربه حرکت روبه پایین و تماس با سطح پشتی حشره می‌گردد و دانه‌های گرده در سطح بدن حشره قرار می‌گیرند؛ c) گرده‌افشان در بازدید از گل دیگر دانه گرده موجود در سطح پشتی به کلاله گل جدید منتقل می‌شود.

Figure 3- Exclusive mechanism of pollination in some *Salvia* species. Longitudinal sections of flower; Nectar (ne), Filament (fi), Lower lever arm (la), Upper lever arm (ua), Upper lip (ul); b) The pollinator has to push the lower lever arm backwards to reach the nectar. Thereby, the upper lever arms swing downwards and deposit pollen (black) on its body; c) The pollinator visits another flower, pollen may be transferred to the stigma.

(شکل اقتباس از منبع شماره ۳۴)

۳- سیستم اصلاح

نتایج مربوط به تیمارهای مختلف گرده‌افشانی در جدول ۳ آورده شده است. نتایج آنالیز آماری داده‌ها نشان داد اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد ($p < 0.01$) بین تیمارهای مختلف گرده‌افشانی و گونه‌های مریم‌گلی وجود دارد. همانطور که مشخص هست بیشترین درصد تشکیل بذر برای همه گونه‌ها در گرده‌افشانی آزاد بدست آمد (بین ۵۱/۵ تا ۹۰/۸ درصد). مقایسه سایر تیمارها نشان داد بیشترین درصد تشکیل بذر به ترتیب در تیمار ژینوگامی، ژیتنوگامی و اتوگامی خودبخودی مشاهده شد. تشکیل بذر تیمار اتوگامی خودبخودی بین ۲/۹۸ تا ۱۲/۲ درصد بود که نشان‌دهنده اهمیت گرده‌افشانی و احتمالاً خودناسازگاری در این گونه‌ها می‌باشد. در تیمار مربوط به بررسی آپومیکسی هیچ گونه تشکیل بذر به جز در گونه *S. virgata* به میزان ۲/۸۹ درصد مشاهده نشد. البته برای نتیجه‌گیری قطعی در این باره نیاز به مطالعات بیشتری می‌باشد. مقایسه تشکیل بذر در گونه‌های مختلف نشان داد در سه ژنوتیپ شامل: گونه *S. virgate* (جمعیت یک و دو) و گونه *S. macrosiphone* تشکیل بذر بیش از ۸۰ درصد بود. در این پژوهش هیچ گونه همبستگی بین طول دوره گلدهی و تشکیل بذر مشاهده نشد اما روشن هست که با افزایش طول دوره گلدهی شانس بازدید گل توسط گرده‌افشان‌ها و تشکیل بذر افزایش می‌یابد (۵).

جدول ۳- تاثیر تیمارهای مختلف گرده‌افشانی دستی بر تشکیل بذر در گونه‌های مختلف مریم‌گلی *.

Table 2. The effect of different hand pollination treatment on *Salvia* seed set*.

گونه Species	گرده‌افشانی آزاد				اتوگامی خودبخودی Spontaneous autogamy			
	تعداد گل تیمار شده Number of treated flowers	حداکثر بذر قابل تشکیل Max. formable seeds	بذرهای کامل Full seeds %	بذرهای پوک Aborted seeds %	تعداد گل تیمار شده Number of treated flowers	حداکثر بذر قابل تشکیل Max. formable seeds	بذرهای کامل Full seeds %	بذرهای پوک Aborted seeds %
S. virgata (A_1)	38	152	90.3a	5.9d	33	132	3.0d	1.5g
S. virgata (A_2)	52	208	66.6d	6.8d	35	140	12.2a	2.8f
S. virgata (A_3)	37	148	81.1b	9.4bc	70	280	6.8c	1.0g
S. virgata (A_4)	20	80	66.5d	8.7c	57	228	12.1a	13.3a
S. frigida	37	148	75.7c	11.5b	55	220	9.1b	3.2ef
S. nemorosa	44	176	67.2d	17.0a	42	168	6.8c	4.6d
S. atropatana	28	112	76.9c	8.6c	32	128	4.3d	4.0de
S. macrosiphon	32	128	88.5a	5.9c	35	140	8.3b	10.7b
S. sclarea	42	168	75.5c	7.2cd	30	120	11.7a	7.5c
S. syriaca	55	220	51.5e	14.6a	42	168	3.4d	2.4f
	ژیتنوگامی Geitonogamy				ژینوگامی Xenogamy			
S. virgata (A_1)	22	88	17.3a	2.2f	22	88	26.8b	3.3c
S. virgata (A_2)	15	60	17.2a	5.0c	15	60	17.7de	3.8b
S. virgata (A_3)	31	124	2.6f	3.3d	26	104	24.0c	0.0g
S. virgata (A_4)	24	96	15.2b	0.0g	24	96	23.3c	1.0f
S. frigida	15	60	3.2f	6.0b	15	60	32.5a	0.0g
S. nemorosa	25	100	2.6f	2.0f	25	100	14.5fg	1.5e
S. atropatana	36	144	13.5c	2.8e	20	80	15.3ef	2.7d
S. macrosiphon	40	160	11.2d	0.0g	28	112	18.2d	5.5a
S. sclarea	38	152	8.6e	0.0g	22	88	12.2gh	0.0g
S. syriaca	35	140	2.8f	7.6a	18	72	10.2h	2.5d
	آپومیکسی Apomixis				ISI	رفتار تولیدمثلی Fertilization Behavior		
S. virgata (A_1)	22	88	0	0	0.65	Relatively self-incompatible		
S. virgata (A_2)	16	64	0	0	0.99	Relatively self-incompatible		
S. virgata (A_3)	26	104	0	0	0.11	Severely self-incompatible		
S. virgata (A_4)	26	104	2.89	0	0.65	Relatively self-incompatible		
S. frigida	31	124	0	0	0.10	Severely self-incompatible		
S. nemorosa	27	108	0	0	0.18	Severely self-incompatible		

S. atropatana	24	100	0	0	0.91	Relatively self-incompatible
S. macrosiphon	22	88	0	0	0.61	Relatively self-incompatible
S. sclarea	30	120	0	0	0.71	Relatively self-incompatible
S. syriaca	18	72	0	0	0.28	Relatively self-incompatible

*اعداد با حروف مشترک دارای اختلاف معنی‌داری ($p= 0.01$) با استفاده از آزمون LSD نمی‌باشند.

*Numbers followed by the same letters are not significantly different (P <0.01) based on LSD test .

اگرچه در تمام گلها پتانسیل تشکیل چهار بذر در هر گل وجود دارد (۱۸) اما این حالت تنها در تیمار گرده‌افشانی آزاد مشاهده شد و در سایر تیمارها بسیار کمتر از پتانسیل تئوری بود. بنابراین علاوه بر فاکتور گرده‌افشان‌کننده سایر عوامل مثل ژنتیک گیاه و شرایط محیطی در گرده‌افشانی موثر و تشکیل بذر نقش دارند (۱۵، ۲۰). در نتایج حاضر تفاوت در بین جمعیتهای مختلف یک گونه نیز مشاهده شد. بین جمعیتهای مختلف گونه *S. virgata* بیشترین درصد تشکیل بذر در جمعیت یک و در تیمار گرده‌افشانی آزاد مشاهده شد. بنابراین علی‌رغم کشت همه گونه و جمعیتها در یک محل، شرایط جغرافیایی بر روی سیستم تلاقی و تکامل ساختار گل تاثیرگذار می‌باشد (۱۴، ۲۰).

در پایان آزمایش گرده‌افشانی، شاخص خودناسازگار[1] (ISI) برای همه گونه محاسبه شد (جدول ۳). نتایج نشان داد این شاخص در گونه‌های مختلف متفاوت می‌باشد. بر این اساس گونه‌های *S. virgata* (جمعیت سوم)، *S. frigida* و *S. nemorosa* خودناسازگاری شدید دارند (ISI < 0.2). بیشتر گونه‌ها نسبتاً خودناسازگار می‌باشند. نکته قابل توجه تفاوت این شاخص در جمعیتهای مختلف یک گونه (گونه *S. virgata* و *S. frigida*) می‌باشد که نشان‌دهنده نقش کلیدی منابع گرده در باروری گلها می‌باشد (۱۸، ۳۵). بطور کلی بیشترین درصد تشکیل بذر در شرایط گرده‌افشانی آزاد تولید شد. مقایسه تیمار ژیتنوگامی و ژینوگامی نشان داد در شرایطی که دانه گرده از منابع دیگر (گیاه دیگر از همان گونه) تامین گردد بخصوص در گونه‌های خودناسازگار شاخص تشکیل بذر افزایش می‌یابد. بنابراین منشاء دانه گرده بطور معنی‌داری تشکیل بذر را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱۸). در پژوهش‌های پیشین سطوح مختلفی از خودناسازگاری در گونه‌های مریم‌گلی گزارش شده است. در این مطالعه نیز شاهد تنوع در شاخص ISI بودیم (جدول ۳). شاخص تشکیل بذر در تیمار اتوگامی خودبخودی بسیار پایین می باشد که احتمالاً به دلیل هترواستیلی از نوع پین[2] یا دیکوگامی (بلوغ پرچم‌ها زودتر از مادگی اتفاق می‌افتد) در برخی از گونه ها می‌باشد و منجربه افزایش شانس دگرگشنی می‌گردد (۸، ۱۵). گرده‌افشانی آزاد منجربه بازدید به تناوب گل توسط گرده افشانها و درنهایت گرده‌افشانی و تشکیل بذر موثر می‌گردد. سنول و همکاران (۲۰۱۷) نیز بهترین تیمار (۹۸٪ تشکیل بذر) را برای گونه *S. sclarea*، گرده‌افشانی آزاد معرفی کردند.

1 - Self-Incompatibility Index
2 - Pin

در دهه‌های اخیر گزارشات محدودی از هتروستیلی در خانواده نعناعیان ارائه شده است. بیشتر به این دلیل که تصور می شد این پدیده تنها در خانواده‌های گیاهی با گلهای دارای یک محور تقارن[1] رخ می‌دهد. بارت و همکاران در سال ۲۰۰۰ هتروستیلی را در گونه *S. brandegeei* گزارش کردند و اظهار داشتند که میزان آن به شرایط محیطی بستگی دارد. در مطالعه حاضر دو گونه *S. atropatana* و *S. syriaca* دارای گهای هتروستیل از نوع پین[2] (گلهای با مادگی بلندتر از پرچم ها) بودند. بنابراین یکی از دلایل دگرگشنی در برخی از گونه‌های مریم‌گلی حضور گلهای هتروستیل می‌باشد. از آنجای که هتروستیلی به نوعی عامل محدود کننده انتقال دانه گرده به کلاله همان گیاه می‌باشد بنابراین اهمیت گرده‌افشانها در این گونه از گیاهان کلیدی می‌باشد. هر چند در دهه‌های اخیر عدم توجه به مسائل زیست محیطی منجربه تهدید برخی از این گرده افشانها و بطور غیرمستقیم زادآوری گیاهان گردیده است (۲۱). حضور فاصله مکانی بین پرچم‌ها و سطح دانه گرده در برخی از گونه‌های مریم‌گلی توسط سانچز و همکاران (۲۰۰۰) نیز گزارش شده است. پدیده دیگری که تشکیل بذر را در برخی گونه های مریم‌گلی تحت تاثیر قرار می‌دهد پروتاندری (فاصله زمانی بین بلوغ دانه گرده و پذیرش کلاله) می‌باشد. البته در برخی از گونه‌ها به دلیل تعداد زیاد گل این فاصله زمانی در یک گل بوسیله سایر گلها به شرط گرده‌افشانی موثر بی‌تاثیر می‌شود.

موفقیت تشکیل بذر در تیمارهای با تنوع دانه گرده نشان دهنده تاثیر محدودیت دانه گرده بر تشکیل بذر هست و اینکه گرده‌افشانی در این گونه‌ها لازمه تولیدمثل موثر می‌باشد. در مطالعات قبلی نیز سطوح مختلفی از خودناسازگاری در گونه‌های مریم‌گلی ارائه شده است. به عنوان مثال گونسن و سوباسی (۲۰۱۱) خودناسازگاری نسبی را در گونه *Salvia smyrnaea* گزارش کردند یا گونه *Eriope blanchetii* متعلق به خانواده نعناعیان به عنوان گونه نسبتا خودسازگار معرفی شده است (۳۳). سنول و همکاران (۲۰۱۷) گونه *S. sclarea* را بعنوان گونه نسبتا خودناسازگار معرفی کردند (ISI = 0.49). در پژوهش مشابه دیگر بر روی گونه *Salvia spelendens* نرخ تشکیل بذر در گیاهان پوشانده شده (با محدودیت گرده‌افشانی) و گرده‌افشانی آزاد به ترتیب۰/۷۶ و ۱/۳۰ بذر در هر گل گزارش شد (۲۰). در گزارش دیگر سانچز و همکاران (۲۰۰۲) نتیجه گرفتند که منشاء دانه گرده نمی‌تواند در نرخ تشکیل بذر گونه تاثیر گذار باشد. بررسی سطح خودسازگاری در گونه *Salvia verbenac* نشان داد این گونه خودسازگار بوده و نیازی به حضور گرده‌افشانها ندارد (۲۴)، اگرچه در مطالعه دیگر بر روی گونه *Salvia verbenaca* عنوان شد این گونه نیز خودسازگار می‌باشد اما عدم حضور گرده‌افشانها مهمترین محدودیت در تشکیل بذر آن می‌باشد (۲۶).

نتیجه‌گیری

گل اندامی است که تاثیر مستقیم در جذب گرده‌افشانها دارد و ساختار آن به شدت باروری آن را تحت تاثیر قرار می‌دهد. گونه‌های مورد مطالعه سازگاری خوبی در شرایط آب و هوایی مشهد نشان دادند و به جهت دوره گلدهی طولانی علاوه بر کاربرد بعنوان گیاه دارویی می‌توان از آنها در فضای سبز نیز استفاده کرد. در پژوهش حاضر کاهش تشکیل بذر در گلهای پوشانده شده به دلیل عدم گرده‌افشانی موثر می‌باشد بنابراین برای باروری موثر حضور گرده‌افشان‌ها بخصوص در گونه‌های

1 - Zygomorphic
2 - Pin

خودناسازگار اهیمت حیاتی دارد. خودناسازگاری و ساختار خاص گل در گونه‌های مریم‌گلی منجربه دگرگشنی و ایجاد تنوع درون و بین گونه‌ای می‌گردد. حضور گلهای خودناسازگار بعنوان یک وسیله ارزان در برنامه‌های اصلاحی برای جلوگیری از خودگشنی و حذف پس‌روی خویش‌آمیزی استفاده می‌شود. نتایج این پژوهش کمک به درک عمیق‌تر از فرایند گرده‌افشانی گونه‌ها و باعث فراهم شدن راهبردهای موثر در حفظ ذخایرژنتیکی و بهبود فرایند تولید می‌گردد.

منابع

1- Bahadori M.B., Dinparast L., Zengin G., Sarikurkcu C., Bahadori S., Asghari B., Movahhedin N. 2017. Functional components, antidiabetic, anti-Alzheimer's disease, and antioxidant activities of *Salvia syriaca* L. International Journal of Food Properties, 20 (8): 1761–1772.

2- Barrett S.C.H., Wilken D.H., Cole W.W. 2000. Heterostyly in the Lamiaceae: The case of *Salvia brandegeei*. Plant Systematics and Evolution, 223(3–4): 211–219.

3- Campos C.C., Duarte J.F., Tristão R.A., Borém D.M.C. 2009. Floral Biology and Breeding Mechanisms of *Tibouchina heteromalla* Cogn. In Rocky Outcrops in the South of Minas Gerais. Brazilian Journal of Ecology, 8(2): 85–97.

4- Castro S., Silveira P., Navarro L. 2008a. How flower biology and breeding system affect the reproductive success of the narrow endemic Polygala vayredae Costa (Polygalaceae). Botanical Journal of the Linnean Society, 157(1): 67–81.

5- Castro S., Silveira P., Navarro L. 2008b. Effect of pollination on floral longevity and costs of delaying fertilization in the out-crossing *Polygala vayredae* Costa (Polygalaceae). Annals of Botany, 102(6): 1043–1048.

6- Celep F., Atalay Z., Dikmen F., Doğan M., Classen-Bockhoff R. 2014. Flies as pollinators of melittophilous *Salvia* species (Lamiaceae). American Journal of Botany, 101(12): 2148–2159.

7- Charlesworth D. 2006. Evolution of Plant Breeding Systems. Current Biology, 16(17): R726–R735.

8- Claßen-Bockhoff R., Wester P., Tweraser E. 2003. The staminal lever mechanism in *Salvia* L. (Lamiaceae) - A review. Plant Biology, 5(1): 33–41.

9- Claßen-Bockhoff R., Speck T., Tweraser E., Wester P., Thimm S., Reith M. 2004. The staminal lever mechanism in *Salvia* L. (Lamiaceae): A key innovation for adaptive radiation? Organisms Diversity and Evolution, 4(3): 189–205.

10- Cursach J., Rita J. 2012. Reproductive biology of *Ranunculus weyleri* (Ranunculaceae), a narrowly endemic plant from the Balearic Islands with disjunct populations. Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants, 207(10): 726–735.

11- Dafni A. 1992. Pollination Ecology: A Practical Approach. IRL Press at Oxford University Press, UK, 250 pp.

12- Dudash M.R., Fenster C.B. 2001. The role of breeding system and inbreeding depression in the maintenance of an outcrossing mating strategy in *Silene virginica* (Caryophyllaceae). American Journal of Botany, 88(11): 1953–1959.

13- Evans M.E.K., Menges E.S., Gordon D.R. 2003. Reproductive biology of three sympatric endangered plants endemic to Florida scrub. Biological Conservation, 111(2): 235–246.

14- Gan X., Cao L., Zhang X., Li H. 2013. Floral biology, breeding system and pollination ecology of an endangered tree *Tetracentron sinense* Oliv. (Trochodendraceae). Botanical Studies, 54(1): 50.
15- Gaudeul M., Till-Bottraud I. 2004. Reproductive ecology of the endangered alpine species Eryngium alpinum L. (Apiaceae): Phenology, gene dispersal and reproductive success. Annals of Botany, 93(6): 711–721.
16- Harder L.D., Johnson S.D. 2009. Darwin's beautiful contrivances: Evolutionary and functional evidence for floral adaptation. New Phytologist, 183(3): 530–545.
17- Jamzad Z. 2013. A survey of Lamiaceae in the flora of Iran. Rostaniha, 14(1): 59–67.
18- Jorge A., Loureiro J., Castro S. 2015. Flower biology and breeding system of *Salvia sclareoides* Brot. (Lamiaceae). Plant Systematics and Evolution, 301(5): 1485–1497.
19- Kalisz S., Vogler D.W. 2003. Benefits of autonomous selfing under unpredictable pollinator environments. Ecology, 84(11): 2928–2942.
20- Miyajima D. 1996. Seed-producing system in Salvias. Journal of the American Society for Horticultural Science, 121(3): 419–422.
21- Miyajima D. 2001. Floral variation and its effect on self-pollination in *Salvia splendens*. Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 76(2): 187–194.
22- Miyake Y.C., Sakai S. 2005. Effects of number of flowers per raceme and number of racemes per plant on bumblebee visits and female reproductive success in *Salvia nipponica* (Labiatae). Ecological Research, 20(4): 395–403.
23- Nautiyal B.P., Nautiyal M.C., Khanduri V.P., Rawat N. 2009. Floral biology of Aconitum heterophyllum wall.: A critically endangered alpine medicinal plant of Himalaya, India. Turkish Journal of Botany, 33(1): 13–20.
24- Navarro L. 1997. Is the dichogamy of *Salvia verbenaca* (Lamiaceae) an effective barrier to self-fertilization? Plant Systematics and Evolution, 207(1–2): 111–117.
25- Nebot A., Cogoni D., Fenu G., Bacchetta G. 2016. Floral biology and breeding system of the narrow endemic *Dianthus morisianus* Vals. (Caryophyllaceae). Flora, 219: 1–7.
26- Ott D., Hühn P., Claßen-Bockhoff R. 2016. *Salvia apiana* — A carpenter bee flower? Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants, 221Elsevier GmbH., : 82–91.
27- Pannell J.R., Barrett S.C.H. 1998. Baker's Law Revisited: Reproductive Assurance in a Metapopulation. Source: Evolution, 52(3): 657–668.
28- Qu L., Widrlechner M.P. 2011. Digital Repository Iowa State University Variation in the Breeding System of *Prunella Variation* in the Breeding System. Hortscience, 46(5)NIH Public Access, : 688–692
29- Rodríguez-Pérez J. 2005. Breeding system, flower visitors and seedling survival of two endangered species of Helianthemum (Cistaceae). Annals of Botany, 95(7): 1229–1236.
30- Sanchez L.A., Picado A., Sommeijer M.J., Slaa E.J. 2002. Floral biology, pollination ecology and seed production of the ornamental plant *Salvia splendens* Sello. Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 77(4): 498–501.
31- Şenol S.G., Eroğlu1 V., Şentürk O., kaçmaz F., Avcl A.B. 2017. The pollination and reproduction success of *Salvia sclarea* Serdar. Biological Diversity and Conservation, 3: 130–135.
32- Shu K., Liu X.D., Xie Q., He Z.H. 2016. Two Faces of One Seed: Hormonal Regulation of Dormancy and Germination. Molecular Plant, 9(1): 34–45.
33- Silva F.O Da Viana B.F., Jacobi C.M. 2005. Floral biology of *Eriope blanchetii*

(Lamiaceae) in coastal sand dunes of NE Brazil. Austral Ecology, 30(3): 243–249.
34- Stöbbe J., Schramme J. and Claßen-Bockhoff R. 2016. Training experiments with Bombus terrestris and Apis mellifera on artificial 'Salvia'flowers. Flora, 221: 92-99.
35- Subaşi Ü., Güvensen A. 2011. Breeding systems and reproductive success on *Salvia smyrnaea*. Turkish Journal of Botany, 35: 681–687.
36- Takano A. 2013. Gynodioecy in *Salvia omerocalyx* Hayata (Lamiaceae). APG: Acta phytotaxonomica et geobotanica, 63(3): 149–153.
37- Wester P., Claßen-Bockhoff R. 2006. Hummingbird pollination in *Salvia haenkei* (Lamiaceae) lacking the typical lever mechanism. Plant Systematics and Evolution, 257(3–4): 133–146.
38- Wester P., Claßen-Bockhoff R. 2007. Floral diversity and pollen transfer mechanisms in bird-pollinated *Salvia* species. Annals of Botany. Oxford University Press, pp 401–421.
39- Will M., Schmalz N., Classen-Bockhoff R. 2015. Towards a new classification of *Salvia* s.l.: (re)establishing the genus Pleudia Raf. Turkish Journal of Botany, 39(4): 693–707
40- Will M., Claßen-Bockhoff R. 2017. Time to split *Salvia* s.l. (Lamiaceae) – New insights from Old World Salvia phylogeny. Molecular Phylogenetics and Evolution 109: 33–58.
41- Wright S.I., Kalisz S., Slotte T. 2013. Evolutionary consequences of self-fertilization in plants. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 280(1760): 20130133.
42- ZhenQiao S., JianHua W., HongGang W., FuJuan Z., LiWu H. 2009. Studies of the floral biology, breeding characters of *Salvia miltiorrhiza*. Acta Horticulturae Sinica, 36: 905–910.

Flowering Study and Effect of Various Hand Pollination Methods on Fertility of Some Iranian Native *Salvia* Species

Introduction: The genus *Salvia* L. (Lamiaceae) is one of the most interesting plant genera with a variety of annual, biennial, perennial and shrub forms. According to recent reports, there are 61 species of *Salvia* genus in Iran, among which 18 species are endemic. The use of *Salvia* species dates back to ancient times, and they are now being used for different purposes such as antimicrobial, anthelmintic, anti-inflammatory, tonic, carminative, digestive, Alzheimer's disease, antispasmodic as well as for traditional medicines and food industries. Compared to crop plants, the breeding programs of medicinal plants are still in nascent stages due to high biological and biochemical variations. Since breeding programs, especially in medicinal plants, are expensive, suitable mating can help reduce the costs of breeding programs. Understanding the flowering biology, reproductive systems and pollination mechanism is essential to management and protection of ecosystems and mating programs. Despite the high diversity of *Salvia* genus in Iran, there is a paucity of studies on reproductive biology.

Materials and methods: seeds of seven *Salvia* species including *S. virgata* (with four accessions), *S. frigida*, *S. nemorosa*, *S. atropatana*, *S. macrosiphon*, *S. sclarea*, and *S. syriaca* were collected from different geographical regions. The seeds were treated by various methods such as washing, cold treatment (stratification), scarification (sand and sulfuric acid), Gibberellic acid (GA_3) and KNO_3 to enhance germination. The seedlings were produced at the greenhouse and after growing as high as 15 cm or reaching the10-leaf stage, the seedlings were transferred to the farm. Plants phenology and flowering duration were recorded in the second year. Furthermore, some flower characteristics and pollinator were monitored. The Various pollination treatments were designed to investigate the breeding system of *Salvia* species including open pollination, spontaneous autogamy, geitonogamy, xenogamy, apomixis, and control. The self-incompatibility index (ISI) was calculated for each species in different pollination treatment.

Results and discussion: The germination study exhibited that washing seeds for 24 h and applying 250 ppm GA_3 exerted the highest effect on seed germination. The seedlings in early growth stages required medium to high porosity (high permeability to water and air) like natural habitat, but they were sensitive to dry and high EC at these stages. The phenology studies were shown *Salvia virgata* (all accessions) and *S. nemorosa* flowered three months after cultivation and other species flowered in the second year. The results showed that all species had long flowering periods ranging from 15 (*S. atropatana*) to 41 days (*S. virgata*). Increased flowering period led to the enhancement of flower over-lapping and the sharing of the pollen among different plants or species. Two species including *S. atropatana* and *S. syriaca* had heterostyly flowers (long-styled morph). The staminal-lever-mechanism was observed in all species. The results of manual pollination indicated that open pollination provided the best treatment with the highest average of seed set (73.63%) in all species. *Salvia virgata* (A_1) with a seed set of 90.3% was the best species, and *S. syriaca* with a seed set of 51.5% demonstrated the poorest performance in open pollination system. The seed set in the xenogamy treatment of different species and accessions was in the range of 10.2 (*S. syriaca*) to 32.5% (*S. frigida*). It was observed that seed set among different species in geitonogamy and spontaneous autogamy varied widely from 2.60 - 17.30% and 2.98 - 12.18%, respectively. In treatments with a wide variety of pollen sources, the fruit set was higher, indicating that the pollen limitation triggered low seed set.

Conclusion: *Salvia* species in the present study have a high potential for cultivation as medicinal and ornamental due to suitable adaptability and long flowering period. *Salvia* species were relatively self-incompatible that intention to the out-crossing and breeders can use in breeding programs as a valuable characteristic. The self-incompatible and specific structure in flower and pollination are the reasons for the diversity of this taxa.

Keywords: Flower biology, Heterostyly, Open pollination, *Salvia*, self-incompatibility

نسخه پیش انتشار