DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijrfpbgr.2013.5728

دو فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۲۰، شمارهٔ ۲، صفحهٔ ۳۳۹-۳۲۷ (۱۳۹۱)

بررسی تنوع صفات بیولوژیکی تولید مثلی در ژنوتیپ‌های نعناع

حسین زینلی*[۱]، الهام ولی[۲]، لیلی صفایی[۳] و شکوفه انتشاری[٤]

۱*- نویسنده مسئول مکاتبات، استادیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان، پست‌الکترونیک: hoszeinali@ yahoo.com
۲- کارشناس‌ارشد، زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور واحد نجف‌آباد
۳- مربی پژوهش، زیست‌شناسی گیاهی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان
٤- استادیار، گروه زیست‌شناسی دانشگاه پیام نور واحد نجف‌آباد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۵/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۸/۲۱

چکیده

به‌منظور بررسی تنوع صفات بیولوژیک تولید مثلی ژنوتیپ‌های نعناع، آزمایشی بر روی ۱۹ ژنوتیپ متعلق به ۵ گونه در ایستگاه تحقیقاتی شهید فزوه وابسته به مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان و در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار انجام گردید. صفات مورد مطالعه شامل طول و عرض دانه گرده، درصد گرده زنده، درصد گرده مرده، تعداد گرده در هر بساک، تعداد گل ماده و گل کامل در هر سنبله اصلی، تعداد بذر حاصل از خودگرده‌افشانی، آزادگرده‌افشانی و دگرگرده‌افشانی در هر سنبله اصلی بود. بر اساس نتایج بدست‌آمده ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر کلیه صفات مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری نشان دادند. به‌طوری‌که نتایج حاصل از همبستگی بین صفات نشان داد که با افزایش تعداد گل کامل، طول و عرض دانه گرده، درصد گرده زنده و تعداد دانه گرده در هر بساک، مقدار بذر حاصل از خودگرده‌افشانی، دگرگرده‌افشانی و آزادگرده‌افشانی افزایش یافت. رگرسیون مرحله‌ای نشان داد که افزایش عملکرد بذر خودگرده‌افشان و آزادگرده‌افشان با صفات درصد گرده زنده و تعداد گرده در هر بساک ارتباط داشت. همچنین طول گرده و تعداد گرده در هر بساک به‌عنوان شاخص‌های توجیه‌کننده عملکرد بذر دگرگرده‌افشان در هر سنبله اصلی بودند. به‌طورکلی تجزیه خوشه‌ای، ۱۹ ژنوتیپ نعناع را در ٤ گروه مختلف قرار داد که از تنوع مطلوبی برخوردار بودند. در مجموع نتایج حکایت از وجود تنوع قابل ملاحظه بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه داشت که می‌تواند برای اهداف اصلاحی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: نعناع، بیولوژی تولید مثلی، گرده‌افشانی.

مقدمه

خانواده نعناعیان (Lamiaceae) از بزرگترین خانواده‌های گیاهی است که با داشتن ۲۳٦ جنس و متجاوز از ۷۰۰۰ گونه گیاهی به صورت پراکنده در نقاط مختلف کره زمین بخصوص در نواحی مدیترانه‌ای گسترش یافته است. جنس نعناع (*Mentha*) یکی از جنس‌های مهم این خانواده و دارای پراکنش وسیع و اهمیت تجاری قابل ملاحظه‌ای است. این جنس به لحاظ

داشتن سطوح پلوئیدی مختلف و دورگ‌گیری بین گونه‌ها، از تنوع ژنتیکی بالایی برخوردار است. گلهای نعناع به صورت منفرد بر روی ساقه در کنار برگ‌ها ظاهر شده و گل‌آذین معمولاً به صورت چرخه‌های کاذب است. اغلب چرخه‌های گل هرچه به انتهای ساقه نزدیک می‌شوند به علت کوتاه شدن میانگره‌ها و تحلیل رفتن برگ‌ها، گل‌آذین‌های سنبله مانند پیدا می‌کنند. این گلها، کامل، نامنظم و اکثراً دوجنسی هستند و تمایل شدید به گرده‌افشانی از طریق حشرات دارند. گلهای نعناع به رنگ بنفش روشن، صورتی، ارغوانی و سفید دیده می‌شوند و عمر بسیار کوتاهی دارند و مدت کمی پس از تشکیل از گیاه جدا می‌شوند (Neyakan, 1999). دانه‌های گرده در این جنس به صورت کروی و شش شیاری با اگزین مشبک و غشای بین شیارها دانه دیده می‌شود. تحقیقات نشان داده است که ارتباطی بین اندازه گرده و عدد کروموزومی وجود دارد (Celenk, 2008). بذر نعناع معمولاً کروی تا تخم‌مرغی شکل است و رنگ آن اغلب قهوه‌ای و از نظر اندازه نیز بین ۰/۵-۰/۷ میلی‌متر می‌باشد (Lawrence, 1998).

بیولوژی تولیدمثلی شامل فنولوژی، بیولوژی گل، گرده‌افشانی و نظام‌های تولید مثلی است. بیولوژی تولید مثلی در گیاهان گلدار برای مشخص کردن موانع تشکیل میوه و دانه و اطلاع از گرده‌افشانی و سیستم‌های تولید مثلی که ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها را تنظیم و کنترل می‌کند مهم است (Tandon *et al*., 2003). اصلاح‌کنندگان ژنتیکی از این مطالعات برای تولید محصول بیشتر، شناخت صفات برتر و افزایش مقاومت در برابر بیماری‌ها استفاده می‌کنند. اطلاعات حاصل از بیولوژی تولید مثلی برای بالا بردن کیفیت و کمیت دانه‌ها استفاده می‌گردد. داشتن اطلاعات پیرامون تغییرات ژنتیکی در طول نمو دانه گرده و آندوسپرم اهمیت دارد. یکی دیگر از اهداف مطالعه بیولوژی تولید مثلی، شناسایی و حفاظت از گونه‌های در معرض خطر و حساس در محیط است. بنابریان با اطلاع از بیولوژی تولید مثلی نظام‌های تولید مثلی، هیبرید در محصولات گیاهی بیشتر رواج می‌یابد. همچنین بیولوژی تولید مثلی زمینه را برای مطالعات بیوتکنولوژیکی متنوع فراهم می‌کند. به‌طوری‌که اطلاعات کمی از بیولوژی تولید مثلی در گیاه نعناع وجود دارد اما نتایج نشان داده که در بین گونه‌های نعناع از نظر فنولوژی و بیولوژی گل تفاوتهایی وجود دارد. به‌عنوان‌مثال، بعضی گونه‌ها مانند نعناع فلفلی فقط دارای گل ماده و بعضی گونه‌ها مانند نعناع اسپیکاتا و لونگیفولیا دارای گل کامل (دارای پرچم و مادگی) و گل ماده هستند. این تفاوت باعث اختلاف در مقدار بذر تولیدی می‌گردد. بنابراین اصلاح‌کنندگانی که هدف آنها افزایش عملکرد بذر است باید به این صفت توجه بیشتری داشته باشند. با استفاده از بیولوژی تولید مثلی در نعناع می‌توان از نظام گرده‌افشانی اطلاعات مفیدی به‌دست آورد. اطلاع از فرایندهای تولید مثلی، اندازه دانه گرده، تعداد دانه گرده در هر گل و بساک، درصد دانه گرده زنده و مرده شرط لازم و پیش نیاز برای پیشرفت در تولید محصولات گیاهی محسوب می‌شود (Raina *et al*., 2003). با توجه به اطلاعات کمی که در این زمینه وجود دارد، تحقیق حاضر به‌منظور بررسی تنوع صفات بیولوژی تولید مثلی در برخی ژنوتیپ‌های گونه‌های نعناع و با هدف چگونگی بکارگیری سازوکارهای گرده‌افشانی جهت حصول حداکثر بذر و تولید هیبرید به اجرا در آمد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق ۱۹ ژنوتیپ نعناع (جدول ۱) در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در ایستگاه تحقیقاتی شهید فزوه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان و طی سالهای زراعی ۱۳۸٦ تا ۱۳۸۷ مطالعه گردید. هر کرت آزمایشی از پنج ردیف به طول سه متر تشکیل شد. ابعاد کرتها ۳× ۳ متر مربع بود. ریزوم‌های ۱۰ سانتی‌متری گیاه با تراکم ۱۰ بوته در هر متر مربع (فاصله بین ردیف‌ها ٤۰ سانتی‌متر و فاصله بین بوته‌ها ۲۵ سانتی‌متر) کاشته شدند. آبیاری مطابق با عرف محل و در حد ظرفیت زراعی انجام گردید. مبارزه با علف‌های هرز مزرعه نیز در سه نوبت به صورت مکانیکی و توسط دست صورت گرفت. صفات مورد مطالعه عبارت بودند از طول گرده، شکل گرده، درصد گرده زنده، درصد گرده مرده، تعداد گرده در هر بساک، تعداد گل ماده در هر سنبله اصلی، تعداد گل کامل در هر سنبله اصلی، تعداد بذر حاصل از خودگرده‌افشانی در هر سنبله اصلی، تعداد بذر حاصل از آزادگرده‌افشانی در هر سنبله اصلی و تعداد بذر حاصل از دگرگرده‌افشانی در هر سنبله اصلی که بر روی ۵ بوته از هر ژنوتیپ و به صورت تصادفی اندازه‌گیری گردید.

جدول ۱- مشخصات نوزده ژنوتیپ نعناع مورد مطالعه و محل جمع‌آوری جغرافیایی آنها

شماره ژنوتیپ	نام گونه شناسایی شده	محل جمع‌آوری نمونه
۱	*M. spicata*	کاشان
۲	*M. spicata*	اصفهان
۳	*M. spicata*	کاشان
٤	*M. pulegium*	اصفهان
۵	*M. spicata*	محلات
٦	*M. longifolia*	کاشان
۷	*M. spicata*	اصفهان
۸	*M. spicata*	اصفهان
۹	*M. longifolia*	کاشان
۱۰	*M. piperita*	کاشان
۱۱	*M. piperita*	اصفهان
۱۲	*M. spicata*	محلات
۱۳	*M. spicata*	خور و بیابانک
۱٤	*M. suaveolens*	خور و بیابانک
۱۵	*M. spicata*	کاشان
۱٦	*M. spicata*	کاشان
۱۷	*M. spicata*	کاشان
۱۸	*M. spicata*	کاشان
۱۹	*M. spicata*	اصفهان

به‌منظور شمارش دانه‌های گرده، بساک به کمک پنس از گلهای تازه جدا و در مخلوطی از ٤٠٠ میکرولیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر رنگ استوکارمن اسکواش گردید. سپس یک قطره از مخلوط رنگ و گرده بر روی لام هموسایتومتر گذاشته شد ویک لامل به آرامی روی آن قرار گرفت. در مرحله بعد لام هموسایتومتر زیر میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین بررسی گردید و تعداد دانه‌های گرده زنده (رنگ شده) و مرده (رنگ نشده) در لام شمارش و درصد گرده زنده و مرده محاسبه شد. به‌منظور تعیین تعداد دانه گرده در هر میلی‌لیتر بساک از فرمول زیر استفاده شد (Nuckles & Kuc, 2008):

دانه گرده موجود در محدوده ۵×۵ لام ×۵۰ =تعداد گرده در میلی‌متر مربع×۱۰۰۰=تعداد گرده در هر میلی‌لیتر بساک

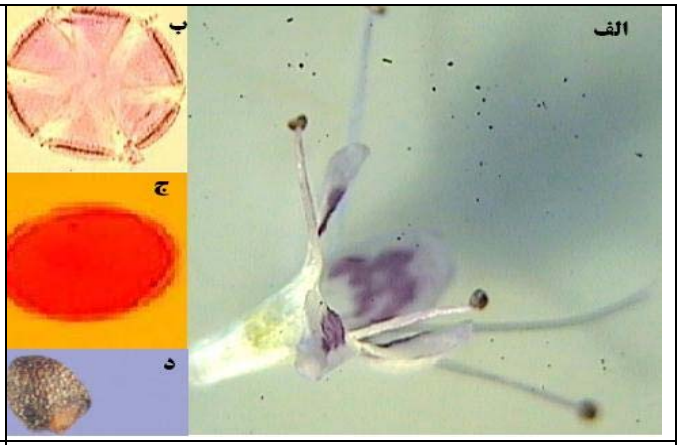
همچنین تصاویر دانه‌های گرده به کمک عدسی با بزرگنمایی ۱۰۰ و با استفاده از دوربین متصل به میکروسکوپ و نرم‌افزار Photograb -Z300 تهیه گردید.

برای بررسی میزان خودگرده‌افشانی ژنوتیپ‌های نعناع، تعداد ۵۰ سنبله در زمان غنچه‌دهی پاکت‌گذاری شدند تا از انتقال دانه‌های گرده از اطراف جلوگیری گردد. سپس تعداد بذر ایجاد شده در آنها شمارش گردید. همچنین در مرحله گلدهی، تعدادی از سنبله‌های هر کرت انتخاب و پس از برداشتن پرچم‌ها و عقیم کردن آنها، هیبریداسیون انجام شد. پس از آن تعداد بذر تشکیل شده در این سنبله‌ها شمارش شد. بذرهای حاصل تحت عنوان بذرهای حاصل از دگرگرده‌افشانی نام‌گذاری گردیدند.

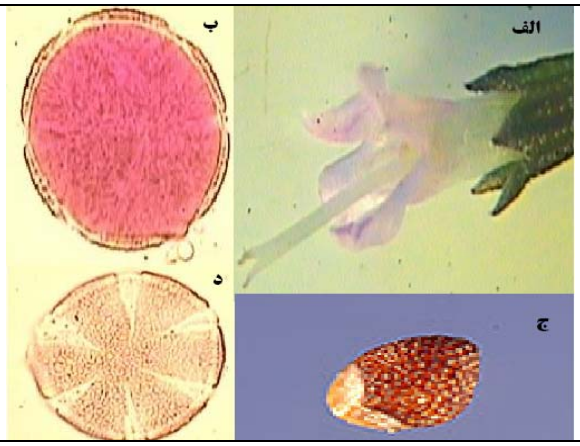
پارامترهای آماری شامل میانگین، ضریب تنوع فنوتیپی وحداقل و حداکثر صفات در کل جامعه محاسبه شد. به‌منظور بررسی روابط همبستگی بین صفات، ضرایب همبستگی بین آنها با استفاده از روش پیرسون محاسبه گردید. مقایسه میانگین داده‌ها با روش دانکن صورت گرفت. از تجزیه خوشه‌ای به‌منظور دستیابی به والدین مناسب برای انجام دورگ‌گیری استفاده شد. از نرم‌افزارهای SAS و SPSS برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد.

نتایج

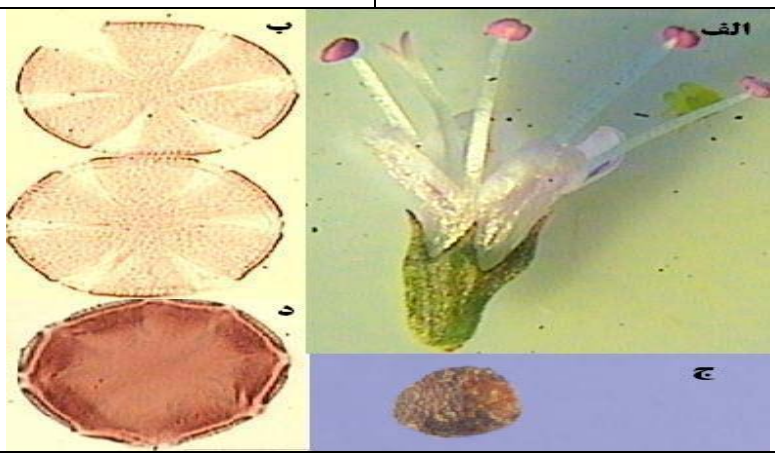
دانه گرده در ژنوتیپ‌های دارای گل کامل (۲، ٦، ۷ و ۱۹) به صورت کروی و هشت شیاری و در بقیه ژنوتیپ‌های دارای گل کامل کروی شش‌شیاری بودند (شکل‌های ۱ تا ۳).



شکل ۱- گل (الف)، گرده مرده (ب)، گرده زنده (ج)، بذر (د) *M. longifolia* عکس از نتایج تحقیق (بزرگنمایی ۱۶۰۰)



شکل ۲- گل (الف)، گرده زنده (ب)، بذر (ج)، گرده مرده (د) *M. pulegium* عکس از نتایج تحقیق (بزرگنمایی ۱۶۰۰)



شکل ۳- گل (الف)، گرده مرده (ب)، بذر (ج)، گرده زنده (د) *M. spicata* عکس از نتایج تحقیق (بزرگنمایی ۱۶۰۰)

شکل ٤- گل (الف) و بذر (ب) *M. suaveolens* عکس از نتایج تحقیق (بزرگنمایی ۱۶۰۰)

شکل ۵- گل (الف) و بذر (ب) *M. piperita* عکس از نتایج تحقیق (بزرگنمایی ۱۶۰۰)

مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه (جدول ۲) نشـان داد که ژنوتیپ‌های نعناع از نظر کلیه صفات مـورد بررسـی دارای تنوع معنی‌داری بودند. طول دانه گـرده در بـین ژنوتیـپ‌هـا از ۲٤/۸۸ تا ۳٦/۱۵ میکرون متغیر بود و ژنوتیپ‌های شـماره ٤ و ۱۸ بیشترین طول گرده را به‌ترتیب معـادل بـا ۳٦/۱۵ و ۳٦/۱۳ میکرون داشتند. بیشترین تعداد گرده در هر بساک در ژنوتیـپ ۱۹ (۳۷۵۰۰ عدد) مشاهده شد. به‌طوری‌کـه بیشـترین درصـد گرده زنـده در ژنوتیـپ شـماره ۱ (۷۵/٦۷٪) بـه‌دسـت آمـد.

ژنوتیپ شماره ۵ با داشتن ٤۳۲ عدد گل ماده بیشترین تعداد را به خود اختصاص داد که تفاوت معنی‌داری بـا ژنوتیـپ‌هـای شماره ۸ و ۹ (به‌ترتیب ٤۱٤ و ۳۹۰ عدد) نداشـت. بیشـترین تعداد گل کامل نیز در ژنوتیپ شماره ۱۷ و معادل با ۹٦۱ عدد مشـاهده گردیـد. ژنوتیـپ شـماره ۱۹ از گونـه *M. spicata* بیشترین تعداد بذر حاصل از خـودگرده‌افشـانی (٤۰۳ عـدد)، آزادگرده‌افشانی (۷۲۰ عدد) و دگرگرده‌افشـانی (٤۷۳ عـدد) را در بین ژنوتیپ‌ها به خود اختصاص داد.

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه در ۱۹ ژنوتیپ نعناع

ژنوتیپ	طول دانه گرده (میکرومتر)	گرده مرده (٪)	گرده زنده (٪)	تعداد گرده در هرمیلی‌لیتر	تعداد گل ماده	تعداد گل کامل	تعداد بذر خودگرده‌افشان	تعداد بذر آزادگرده‌افشان	تعداد بذر دگرگرده‌افشان
۱	۳۲/۲٦abc	۲٤/۳۲m	۷۵/٦۷a	۱۸۷۵۰c	۰e	۵۷۹b	۳٤۹/٤۰ab	٦۱۵/٤۰ab	۳۹۹/٤۰abc
۲	۳۲/٦۳abc	۳۸/٤٦i	٦۱/۵٤e	۱۲۵۰۰d	۰e	٤٦۹bcde	۱۹٤cde	٤۲۲/۲۰cde	۳۰۵/۸۰cde
۳	۳۲/۲۲abc	۳٤/٦۵j	٦۵/۳۵d	۱۲۵۰۰d	۰e	۳۸۱def	۱۰۷def	۳۹۲/٤۰def	۲۸۱/۲۰defg
٤	۳٦/۱۵a	۵۳/۰۹f	٤٦/۹٦h	۱۲۵۰۰d	۰e	۳۰۹ef	۳۰۲/٦۰abc	۵٦۵/٤۰bc	٤۱۸ab
۵	۰e	۰n	۰n	٤۳۲a	۰f	۰g	۰f	۲۵۳f	۱۷٦/۲۰gh
٦	۳۰/۰۹bc	۷۰/٤۵b	۲۹/۵۵l	۱۲۵۰۰d	٦/٦۰e	٤۸۵/٤۰bcd	۱۷۸/٦۰cde	۳٦٦/٤۰def	۳۱۳/۲۰bcde
۷	۳۱/٦۰bc	۳٤/۵۸j	٦۵/٤۲d	۱۸۷۵۰c	۰e	٤٤۹bcde	۹۲/٦۰def	۳٦۲/٤۰def	۳۲۸bcd
۸	۳۱/۱۹bc	٦٤/۷۰d	۳۵/۳۰j	۰f	٤۱٤a	۰g	۰f	۳۳۳def	۲۸۸/۲۰cdef
۹	۳۰/۲۳c	۸٤/۲۱a	۱۵/۷۹m	۱۸۷۵۰c	۳۹۰a	۷g	۱٦۵cde	٤۳۱/٤۰cde	۳۲٤/۸۰bcde
۱۰	۰e	۰n	۰n	۰f	۲۷٤c	۰g	۰f	۹٤g	۹۰h
۱۱	۰e	۰n	۰n	۰f	۲۲٦d	۰g	۰f	۸۹g	۷۸h
۱۲	۰e	۰n	۰n	۰f	۳۱٦bc	۰g	٦٦/٦۰ef	٤۲٤cde	۲۹۵/۸۰cde
۱۳	۲٤/۸۸d	۳۹/۷۸h	٦۰/۲۲f	٦۲۵۰e	۲۵/٦۰e	۲٦٤/٤f	۸۸/۲۰def	۲۸۸/٤۰ef	۲۱۳efg
۱٤	۰e	۰n	۰n	۰f	۳۲۹b	۰g	۷f	۹۵/۲۰g	۸٦/٦۰h
۱۵	۳۳/۲۳ab	٦۰/٦۵e	۳۹/۳۵i	۰f	۳۰۳bc	۰g	۱۱۹def	۲۷۷ef	۱۸۵/۸۰fgh
۱٦	۳۱/۳۹bc	٦٦/۰۳c	۳۳/۹۷k	۱۸۷۵۰c	۰e	۳۵٦def	۱۹۳/٦۰cde	٤٦۱/٤۰cd	۲۹۵cde
۱۷	۳۳/۰۳ab	۲۹/٤۵k	۷۰/۵۵c	۱۲۵۰۰d	۰e	۹٦۱a	۲۳۲/۸۰bcd	۵۵٤/٦۰bc	۳۳۱bcd
۱۸	۳٦/۱۳a	٤۷/۰۵g	۵۲/۹۵g	۳۱۲۵۰b	۰e	۵۹٤b	۲۰۷/٤۰cde	٤۰٤/٦۰cdef	۳۰۱/۲۰cde
۱۹	۳۰/۹۷bc	۲٦/۸۲l	۷۳/۱۸b	۳۷۵۰۰a	۰e	۵٤۰bc	٤۰۳a	۷۲۰/٦۰a	٤۷۲/۸۰a

میانگین‌های موجود در هر ستون که دارای حروف مشترک هستند در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

بررسی ضرایب تنوع فنوتیپی در جدول ۳ نشان داد که صفات درصد گرده زنده و مرده (۷۳/۹۷ و ۷۵/۷۸)، تعداد گرده در هر میلی‌لیتر (۹۹/۵۷)، تعداد گل ماده (۱۲۲/۱۱)، تعداد گل کامل در هر سنبله اصلی (۱۰۰/۵۰) و تعداد بذر حاصل از خودگرده‌افشانی بالا بود.

جدول ۳- مقادیر میانگین، حداقل و حداکثر، انحراف معیار و ضریب تنوع فنوتیپی(٪) صفات مورد بررسی در ژنوتیپ‌های مختلف نعناع

صفات	طول گرده	گرده مرده (٪)	گرده زنده (٪)	تعداد گرده در هر بساک	تعداد گل ماده	تعداد گل کامل	تعداد بذر خودگرده	تعداد بذر آزادگرده	تعداد بذر دگرگرده
میانگین	۲۳/٤۷	۳٥/٤۸	۳۸/۲۰	۱۱۱۸٤	۱٤۲/۹٥	۲۸۳/۹۳	۱٤۲/٤٦	۳۷٦/۳۳	۲۷۲/۸٤
حداقل	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۸۹	۷۸
حداکثر	۳٦/۱٥	۸٤/۲۱	۷٥/٦۷	۳۷٥۰۰	٤۳۲	۹٦۱	٤۰۳	۷۲۰/٦۰	٤۷۲/۸۰
انحراف معیار	۱٤/٥۹	۲٦/۸۹	۲۸/۲٦	۱۱۱۳۷	۱۷٤/٥۷	۲۸٥/۳۷	۱۲۲/۰۹	۱۷۲/٤۳	۱۰۹/۹٥
ضریب تنوع فنوتیپی	٦۲/۱٦	۷٥/۷۸	۷۳/۹۷	۹۹/٥۷	۱۲۲/۱۱	۱۰۰/٥۰	۸٥/۷۰	٤٥/۸۱	٤۰/۲۹

ضرایب همبستگی ساده پیرسون بین صفات مختلف اندازه‌گیری شده (جدول ٤) نشان داد که صفات طول گرده با درصد گرده زنده، تعداد گرده در هر میلی‌لیتر، تعداد گل کامل، تعداد بذر حاصل از خودگرده‌افشانی، آزادگرده‌افشانی و دگرگرده‌افشانی مثبت و با صفت تعداد گل ماده همبستگی منفی و معنی‌داری نشان دادند. درصد گرده زنده با طول گرده، تعداد گل کامل، تعداد بذر حاصل از خودگشنی، دگرگشنی و آزادگرده‌افشانی مثبت و با تعداد گل ماده همبستگی منفی و معنی‌داری را نشان داد. تعداد گرده در هر بساک، با همه صفات مورد بررسی به‌استثنای تعداد گل ماده در سنبله اصلی همبستگی مثبت و معنی‌داری داشتند. صفت تعداد گل ماده در هر سنبله اصلی با کلیه صفات مورد مطالعه بجز صفات تعداد گل کامل و بذرهای حاصل از خودگشنی، دگرگشنی و آزادگرده‌افشانی همبستگی منفی، معنی‌دار و قوی نشان داد. صفت تعداد بذر حاصل از خودگرده‌افشانی با صفات تعداد بذر آزادگرده و تعداد بذر دگرگرده در هر سنبله ساقه اصلی همبستگی مثبت، معنی‌دار و بسیار قوی نشان داد.

رگرسیون مرحله‌ای بر روی عملکرد بذر خودگرده‌افشان در هر سنبله اصلی نشان داد که درصد گرده زنده و تعداد گرده در هر بساک به‌ترتیب وارد مدل شده و در مجموع ۸۳ درصد از تغییرات عملکرد بذر خودگرده‌افشان در هر سنبله اصلی را توجیه کردند (جدول ۵).

جدول ٤- همبستگی بین صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های مختلف نعناع

صفات	۱	۲	۳	٤	٥	٦	۷	۸	۹
۱- طول گرده	۱								
۲-درصد گرده مرده	۰/۷۹**	۱							
۳-درصد گرده زنده	۰/۸۲**	۰/۳٤ns	۱						
٤-تعداد گرده در هر میلی‌لیتر	۰/٦۳**	۰/۳٥ ns	۰/٦٤**	۱					
٥-تعداد گل ماده	-۰/٦۱**	-۰/۱۹ns	-۰/۷۸**	-۰/٦٥**	۱				
٦-تعداد گل کامل	۰/٦۳**	۰/۱۸ns	۰/۸۰**	۰/٦۷**	-۰/۸٤**	۱			
۷-تعداد بذر خودگرده‌افشان	۰/٦۷**	۰/۳٤ns	۰/۷۰**	۰/۷۹**	-۰/٦۷**	۰/۷۰**	۱		
۸-تعداد بذر آزادگرده‌افشان	۰/٦۸**	۰/۳٦ns	۰/۷۰**	۰/۷۳**	-۰/٥٥*	۰/٦۷**	۰/۹۰**	۱	
۹-تعداد بذر دگرگرده‌افشان	۰/۷۳**	۰/٤٦*	۰/٦۹**	۰/۷٤**	-۰/٥٥*	۰/٦۲**	۰/۸٤**	۰/۹٦**	۱

** و * به‌ترتیب در سطوح احتمال ۱و٥ درصد و ns عدم تفاوت معنی‌دار

جدول ٥- رگرسیون مرحله‌ای برای عملکرد بذر خودگرده در هر سنبله اصلی به‌عنوان متغیر تابع و سایر صفات به‌عنوان متغیر مستقل

متغیر اضافه شده به مدل	مقدار ثابت	ضرایب رگرسیون		ضریب تشخیص تجمعی
		b_1	b_2	
درصد گرده زنده	۱۷/۱۹**	۰/۰۱**		۰/٥۸**
تعداد گرده در هر بساک	٤٤/٤۳**	۰/۰۱**	۱/۳۷**	۰/۸۳**

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

نتایج رگرسیون مرحله‌ای بر روی عملکرد بذر آزادگرده‌افشان در هر سنبله اصلی به‌عنوان متغیر وابسته نشان داد که درصد گرده زنده به‌عنوان اولین متغیر وارد مدل شده و به تنهایی ۵۳ درصد از تغییرات عملکرد بذر آزادگرده‌افشان در هر سنبله اصلی را توجیه نمود. به‌طوری‌که صفت تعداد گرده در هر میلی‌لیتر به‌عنوان متغیر بعدی وارد مدل گردید و به همراه درصد گرده زنده، ۷۹ درصد از تغییرات عملکرد بذر آزادگرده‌افشان در هر سنبله اصلی را توجیه نمودند (جدول ٦).

جدول ٦- رگرسیون مرحله‌ای برای عملکرد بذر آزادگرده افشان در هر سنبله اصلی به‌عنوان متغیر تابع و سایر صفات به‌عنوان متغیر مستقل

متغیر اضافه شده به مدل	مقدار ثابت	ضرایب رگرسیون		ضریب تشخیص تجمعی
		b_1	b_2	
درصد گرده زنده	۲۰۱/۰۷**	۰/۰۱*		۰/٥۳**
تعداد گرده در هر بساک	۲٤۹/٤۳**	-۰/۲۷**	۲/٤۳**	۰/۷۹**

** و * به‌ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۱و٥ درصد

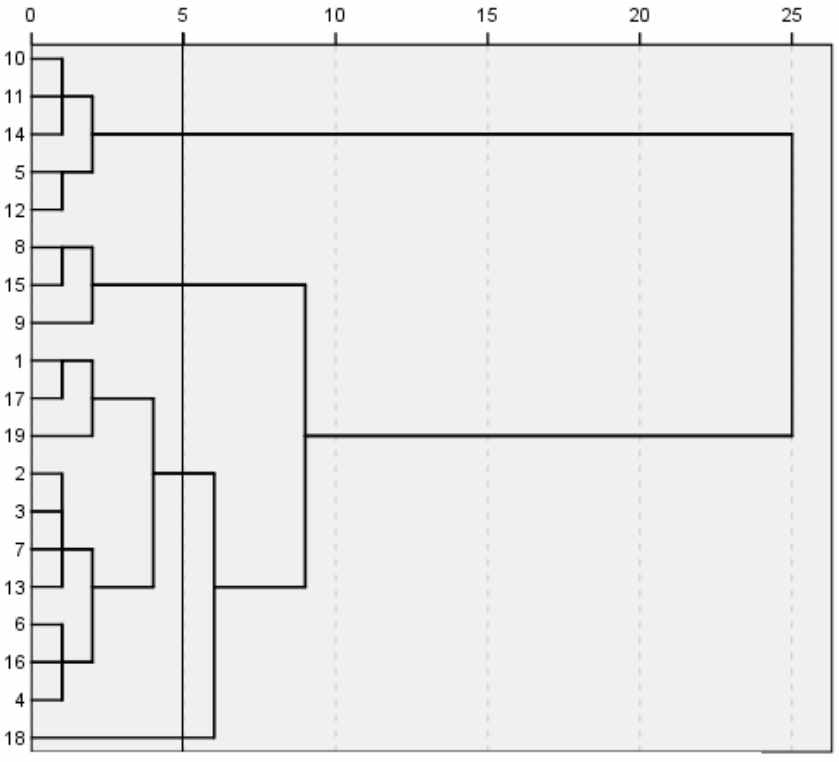
نتایج رگرسیون مرحله‌ای برای عملکرد بذر دگرگرده‌افشان در هر سنبله اصلی نشان داد که طول گرده و تعداد گرده در هر میلی‌لیتر به‌ترتیب وارد مدل شده و در مجموع ۸۸ درصد از تغییرات عملکرد بذر دگرگرده‌افشان را در هر سنبله اصلی توجیه نمودند (جدول ۷).

جدول ۷- رگرسیون مرحله‌ای برای عملکرد بذر دگرگرده در هر سنبله اصلی به‌عنوان متغیر تابع و سایر صفات به‌عنوان متغیر مستقل

متغیر اضافه شده به مدل	مقدار ثابت	ضرایب رگرسیون		ضریب تشخیص تجمعی
		b_1	b_2	
طول گرده	۱٤٤/٤۷*	۰/۰۱**		۰/۵۵**
تعداد گرده در هر بساک	۱۹۰/۸٤**	۰/۰۱**	۳/۲۷**	۰/۸۸**

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱درصد

برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها از روش تجزیه خوشه‌ای به روش Ward و با استفاده از صفات مورد مطالعه استفاده شد. با برش دندروگرام در فاصله ژنتیکی ٤، ژنوتیپ‌ها در ٤ خوشه مجزا دسته‌بندی شدند (شکل ٦).



شکل ٦- نمودار درختی گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای به روش Ward و معیار مربع فاصله اقلیدسی

نتایج حاصل از مقایسه میانگین خوشه‌ها (جدول ۸) نشان داد که ژنوتیپ‌های موجود در گروه اول همگی عقیم بوده و این ویژگی ۵ ژنوتیپ مورد بررسی را در گرول اول قرار داده است. ژنوتیپ‌های موجود در گروه دوم بیشترین مقدار درصد گرده مرده و بیشترین تعداد گل ماده را به خود اختصاص داده بودند و بر این اساس در گروه دوم قرار گرفتند. ژنوتیپ‌های موجود در گروه سوم از نظر صفات درصد گرده زنده، تعداد گل کامل در هر سنبله اصلی، تعداد بذر آزادگرده و تعداد بذر دگرگرده در سنبله اصلی برتر بودند. ژنوتیپ‌های گروه چهارم بیشترین طول گرده را در بین ژنوتیپ‌ها داشتند و بر اساس صفات درصد زندمانی گرده، تعداد گل کامل، تعداد بذر خودگرده‌افشان و آزادگرده‌افشان از گروه سوم تفکیک شدند.

جدول ۸- مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه در بین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای

صفات	گروه اول	گروه دوم	گروه سوم	گروه چهارم
طول گرده	۰ b	۳۱/۵۵ a	۳۱/۸۸ a	۳۲/۰۸ a
درصد گرده مرده	۰ d	٦۹/۸۵ a	۲٦/۸٦ c	٤۸/۰۱ b
درصد گرده زنده	۰ d	۳۰/۱٤ c	۷۳/۱۳ a	۵۱/۹۹ b
تعداد گرده در هر بساک	۰ c	٦۲۵۰ bc	۲۲۹۱a	۱۵٦۲۵ ab
تعداد گل ماده	۳۱۵ a	۳٦۹ a	۰ b	٤/۰۲ b
تعداد گل کامل	۰ c	۲۳۳ c	٦۰۳ a	٤۱۳ b
تعداد بذر خودگرده افشان	۰ c	۹٤/٦٦ bc	۳۲۸/٤۰ a	۱۷۰/۵۰ b
تعداد بذر آزادگرده‌افشان	۱۹۱/ ۰٤c	۳۱۷/۱۳ b	٦۳۰/۲۰ a	٤۰۷/۹۰ b
تعداد بذر دگرگرده‌افشان	۱٤۵/ ۳۲c	۲٦٦/۲۷ b	٤۰۱/ ۰۷a	۳۰٦/۹۲ ab

میانگین‌های موجود در هر ستون که دارای حروف مشترک هستند در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار نمی‌باشند.

بحث

بر اساس گزارش‌های موجود شکل دانه گرده در جنس نعناع اغلب به صورت هگزا کولپیت (شش شیاری) با غشایی دانه دانه و اگزین مشبک می‌باشد (Bozek, 2008; Celenk *et al*., 2008; Moon & Hong, 2002; Tyagi, 2003). در این تحقیق نیز بیشتر ژنوتیپ‌ها شش شیاری بوده و تنها ٤ ژنوتیپ به صورت هشت شیاری مشاهده شد. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، طول دانه گرده در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی از ۲٤/۸۸ میکرون تا ۳٦/۱۵ میکرون متغیر بود. توسط Bozek (2008) طول محور قطبی در گونه *M. rotundifolia* ۲٦/۵۵ میکرون و طول محور استوایی آن را ۲۰/۵۰ میکرون برآورد کردید. همچنین در همین گزارش بر روی گونه *M. longifolia*، طول محور قطبی ۲٦/۳۳ میکرون و طول محور استوایی ۲٦/٤۸ میکرون اندازه‌گیری شده است که در محدوده نتایج حاصل از این تحقیق قرار دارد.

بالا بودن ضریب تنوع فنوتیپی برای صفات تعداد گرده در هر بساک (۹۹/۵۷) و تعداد گل ماده (۱۲۲/۱۱) و گل کامل در هر سنبله اصلی (۱۰۰/۵۰) نشان‌دهنده قابلیت کافی برای بهبود این صفات از طریق انتخاب در

ژرم‌پلاسم نعناع مورد مطالعه می‌باشد. همچنین بیانگر تنوع زیاد بین ژنوتیپ‌های مورد نظر از لحاظ صفات مورد مطالعه است. در این تحقیق بعلت اینکه بعضی از ژنوتیپ‌ها عقیم بودند بنابراین میزان انحراف معیار یا پراکندگی داده‌ها زیاد شده، ازاین‌رو ضرایب تنوع مقادیر بالایی را به خود اختصاص داده و بیانگر این است که اصلاح‌کننده نباتات از قابلیت کافی برخوردار است تا بتواند کار خود را در جهت اصلاح ارقام انجام دهد.

اطلاع از چگونگی ارتباط بین صفات مختلف در پیشرفت برنامه‌های به‌نژادی اهمیت زیادی دارد، زیرا انتخاب یک طرفه صفات بدون در نظر گرفتن صفات دیگر نتایج نامطلوبی را به همراه خواهد داشت. بنابراین در برنامه‌های به‌نژادی باید به همبستگی بین صفات توجه کرد (Zeinali, 2003). در مورد همبستگی بین صفات این مطالعه می‌توان استنباط نمود که با افزایش تعداد گل کامل، طول و عرض گرده و درصد گرده زنده و تعداد دانه گرده در هر بساک، مقدار بذر حاصل از خودگرده‌افشانی، دگرگرده‌افشانی و آزادگرده‌افشانی افزایش یابد.

بر اساس نتایج حاصل از رگرسیون مرحله‌ای روی عملکرد بذر خودگرده‌افشان و آزادگرده‌افشان می‌توان اینطور نتیجه گرفت که باید به صفات درصد گرده زنده و تعداد گرده در هر بساک توجه خاصی مبذول داشت. همچنین برای عملکرد بذر دگرگرده‌افشان، طول گرده و تعداد گرده در هر بساک به‌عنوان شاخص‌های توجیه‌کننده عملکرد بذر دگرگرده‌افشان در هر سنبله اصلی مطرح شدند. به‌طوری‌که در گیاهان دگرگشن یکی از عوامل ذاتی گیاهان تولید زیاد پرچم و تعداد زیاد بساک می‌باشد. زیرا در اثر انتقال گرده‌ها بوسیله حشرات و باد بسیاری از گرده‌ها از بین می‌روند، بنابراین تولید زیاد دانه گرده یکی از عوامل ضروری برای افزایش تعداد بذر می‌باشد. تعداد گرده و زنده بودشان نقش اساسی در افزایش عملکرد بذر دارد (در این تحقیق مشخص شده است). ژنوتیپ‌های با تعداد کمتر گرده زنده یا گیاهان عقیم بذر کمتری تولید نموده، بنابراین در صورت تولید بذر کاهش تولید در واحد سطح را خواهند داشت. گیاه نعناع یک گیاه پروتاندری می‌باشد و این یکی از دلایل افزایش تولید بذر حاصل از دگرگرده‌افشانی می‌باشد. در نعناع تا وقتی کلاله بصورت دوشاخه در نیاید کلاله آمادگی پذیرش دانه گرده را ندارد، لذا این امر باعث می‌شود که خانواده نعناع جزو گیاهان دگرگرده‌افشان محسوب گردند.

نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای در این مطالعه بیانگر وجود تنوع قابل ملاحظه و قابلیت کافی در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه است. براساس نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های عقیم از ژنوتیپ‌های بارور تفکیک شدند. در این تحقیق مشخص شد اگ چه بعضی از ژنوتیپ‌های نعناع عقیم هستند ولی به راحتی در صورتیکه در کنار ژنوتیپ‌های دیگر از همان گونه یا در کنار گونه‌های دیگر کشت گردد توانمندی تولید بذر را دارند. بر اساس تحقیقات متعدد مشخص شده که گونه‌های مختلف نعناع به راحتی در بین آنها تلاقی بین گونه‌ای پیدا می‌کنند. یکی از دلایل تنوع زیاد بین ژنوتیپ‌های نعناع می‌تواند تلاقی‌پذیری و هیبریداسیون مناسب در این جنس باشد. البته در این تحقیق مشخص شد که بعضی از ژنوتیپ‌های عقیم بذر تولید کردند که مؤید این مطلب است که در این ژنوتیپ‌ها تلاقی انجام شده است. در مورد گونه نعناع فلفلی نیز مشخص شد، با توجه به عقیمی کامل این گیاه تعدادی بذر حاصل از دگرگرده‌افشانی تولید شده است. به‌طورکلی با بررسی‌های

انجام شده به نظر می‌رسد ایران از لحاظ تنوع ژنتیکی نعناع از توانمندی مناسبی برخوردار باشد.

منابع مورد استفاده

- Bożek, M., 2008. Pollen yield and pollen grain dimensions of some late-summer plant species of the lamiaceae family, Journal of Agricultural Science, 52: 21-24.
- Celenk, S., Tarimcilar, G., Bicakci, A., Kaynak, G. and Malyer, H., 2008. A Palynological study of the genus *Mentha L*. (Lamiaceae), *J.Bot*., 157: 141-154.
- Ikeda, N. and Udo, S. 1966. Studies on *Mentha arvensis* L. Japanese Journal of Breeding, 16: 251-259.
- Lawrence, B.M., 1998. Progress in essential oils (Pennyroyal oil). Perfum. Flavor, 22: 62-68.
- Moon, H.K. and Hong, S.P., 2002. Pollen morphology of the genus *Lycopus* (Lamiaceae). Annales Botanici Fennici, 40: 191-198.
- Neyakan, M., Ghavarinejad, R., Rezaei, M.B., Fahimi, GH. and Jaymand, K., 1999. Study of nitrogen, phosphorus and potassium fertilizers on quantitative and qualitative of essential oil in mint, Islamic Azad University, Science and Research Campus, Tehran.
- Nuckles, E.M. and Kuc, J., 2008. Use of a Hemocytometer. University of Kentucky.
- Raina, R., Behera, M.C., Chand, R. and Sharma, Y., 2002. Reproductive biology of *Gentiana kurroo* Royle, Current Science, 85: 667-670.
- Tandon, R., Shivanna, K.R. and Mohan Ram, H.Y., 2002. Reproductive biology of *Butea monosperma* (Fabaceae). Annals of Botany, Oxford Journals, 92: 715-722.
- Tyagi, B.R., 2002. Cytomixis in pollen mother cell of Spearmint (*Mentha Spicata L.*). Cytologia, 68: 67-82.
- Zeinali, H, 2003. Study of morphological, phytochemical and cytogenetic variation in Iranian mint. Ph.D. thesis of plant breeding, Agriculture College, Isfahan University of Technology, Iran.

Study of reproductive traits variation in *Mentha* genotypes (*M. spicata)*

H. Zeinali*[1], E. Vali[2], L. Safaei[3] and Sh. Enteshari[4]

1*- Corresponding author Assis. Prof., Isfahan Agricultural and Natural Resource Research Center, Isfahan, I.R.Iran. Email: hoszeinali@yahoo.com
2- M.Sc., Biology, Payame Noor University of Najaf Abad, I.R.Iran.
3- M.Sc., Isfahan Agricultural and Natural Resource Research Center, Isfahan, I.R.Iran.
4- Assis. Prof., Payame Noor University of Najaf Abad, I.R.Iran.

Received: 12.08.2011 Accepted: 11.11.2012

Abstract

In order to study reproductive traits variation of *Mentha* genotypes, an experiment was conducted on 19 *Mentha* genotypes belonging to fives species in a randomized complete block design with 3 replications at Fozve Research Station of Isfahan Agricultural Resource Research Center. Pollen length and width, viable and dead pollen percentages, number of pollen per anther, number of female flowers, number of complete flower per main spike, number of self pollinated seeds, number of open pollinated seeds and number of cross pollinated seeds were recorded. Results showed significant differences between all of the studied traits. Based on correlation coefficient between the traits, the number of open pollinated seeds, self pollinated seeds and cross pollinated seeds increased by increasing the number of complete flower, length and width of pollen seed, the number of live pollen seed and the number of pollens in anther. Stepwise regression showed correlation between increasing of self pollination and open pollination seed yield with number of viable pollen percentage and number of pollens in anther. Cluster analysis on 19 genotypes classified the genotypes into 4 groups. Mean comparisons among the groups showed suitable variation. The results also showed crossing possibility between the studied species. In essence, there was enough variation between the genotypes to be used in breeding projects.

Key words: *Mentha*, Reproductive biology, Pollination.