

مطالعه ساختاری گل شیرین بیان^۱ در طی مراحل نموی: نمو بساک، دانه گرده و ساختارهای ترشحي

زهره هاشمی، فرخنده رضائزاد:
دانشگاه شهید باهنر کرمان، گروه زیست‌شناسی

چکیده

در پژوهش حاضر گل‌های شیرین‌بیان از لحاظ ساختاری طی مراحل نموی، با روش‌های سلول بافت‌شناختی بررسی شدند. گل‌ها پروانه‌آسا، بال‌ها دارای رنگ تیره‌تر نسبت گلبرگ‌های دیگر، ناوها از قاعده جدا از هم، نافه دودسته‌ای و ناجور ریخت، بساک‌ها برون‌گشا و شکوفایی طولی، تخمک‌ها واژگون و پرخورش، خامه توخالی و کیسه جنینی پلی‌گونوم است. سلول‌های لایه مغزی بساک مستطیلی شکل با دو یا یک هسته و از نوع ترشحي است که پس از تشکیل تتراد شروع به تجزیه می‌کند، آرایش میکروسپورها درون دیواره کالوزی چهاروجهی و پس از تقسیم میوز جداربندی یا تقسیم سیتوپلاسم از نوع هم‌زمان است. ساختارهای ترشحي به‌صورت حفره‌های ترشحي در بال، کرک‌های ترشحي در جدار کاسه‌گل، تخمدان و میوه بالغ، بشره ترشحي در کاسه‌گل و تخمدان دیده می‌شوند. اپیدرم تخمدان و تخمک با مواد فنی و مواد با زیربنای چربی پر شده است.

مقدمه

یکی از جنس‌های زیرتیره پروانه آسا^۲، جنس گلیسریرزا^۳ است که حدود ۳۰ گونه دارد. گیاهان این جنس علفی یا بوته‌ای هستند. اسم جنس از کلمه‌های یونانی گلیسی^۴ به‌معنی شیرین و ریزا^۵ به‌معنی ریشه گرفته شده است. از گیاهان مهم این جنس شیرین‌بیان است که به اسامی مولاتاهی^۶ در هندی، کائزوه^۷ در ژاپنی، کانکائو^۸ در چینی و شیرین بیان^۹ در فارسی شناخته شده است. ریشه گیاه ارزش دارویی دارد و بقیه قسمت‌ها به‌عنوان علوفه به‌کار می‌روند [۱۶]. شیرین‌بیان گونه‌ای مدیترانه‌ای است که مرزهای شرقی رویش آن به ایران و افغانستان می‌رسد [۲۴]. این گیاه از پرارزش‌ترین گیاهان دائمی علفی یا نیمه بوته‌ای با ارتفاع حدود ۱ تا ۱/۵ متر است که ساقه‌های هوایی نازک آن از ریزوم ضخیم رشد می‌کنند. ساختار گل آن پروانه‌آساست و برای گرده‌افشانی به‌وسیله حشرات و نیز خودگرده‌افشانی سازمان یافته است [۱۶].

واژه‌های کلیدی: گل پروانه‌آسا، میکروسپورزایی، شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra*)، کرک‌های ترشحي

پذیرش ۹۰/۸/۱۱

دریافت ۸۹/۶/۲۷

hashemiz15@yahoo.com

*نویسنده مسئول

۱. *Glycyrrhiza glabra* L.

۲. Papilionoideae

۳. *Glycyrrhiza*

۴. *glycy*

۵. *rhiza*

۶. *Mulathai*

۷. *Kanzoh*

۸. *Gancao*

۹. *Shirin bayan*

تاکنون ساختمان گل بسیاری از گیاهان تیره بقولات^۱ بررسی شده است. پژوهش‌ها نشان داده‌اند بیش‌تر گل‌های زیرتیره پروانه‌آسا ۵ کاسبرگ، سه نوع گلبرگ به تعداد ۵ عدد (درفش، دو بال و دو ناو)، ۱۰ پرچم به حالت دودسته‌ای و یک برچه تک‌خانه دارند [۲۵]. گلبرگ درفش گلبرگ‌های دیگر را در برمی‌گیرد و گلبرگ‌های ناو در اغلب موارد به‌هم پیوسته و ساختمان ناوی شکلی به‌وجود می‌آورند. در برخی موارد اندام‌های گل ویژگی‌های دیگری مانند اپیدرم تمایز یافته در گیاه پترودن امرجیناتوس^۲ [۱۳] و کرک‌های ترش‌خی و پوششی در طایفه سوارتزی^۳ [۲۸] و ساختارهای تولید کننده شهد خارج از گل در گیاه اریترینا سپسیوسا^۴ [۱۲] دارند.

در زیرتیره پروانه‌آسا تخمک دو پوسته‌ای، واژگون و پرخورش [۴]، [۱۰]، [۱۴]، [۲۰] و میکریپیل زیگزاگ و کیسه جنینی از نوع پلی‌گونوم [۴]، [۷] و [۲۷] است که در برخی موارد در تیره نخود تخمک خمیده نیز دیده می‌شود [۲۷]. هر دو نوع تتراد خطی و T- شکل در طی مراحل مگاسپورزایی دیده شده است [۴]، [۷] و [۲۰]. به‌طور معمول بساک به‌ترتیب از بیرون به درون از چهار لایه اپیدرم، لایه مکانیکی، یک لایه میانی و لایه تابی تشکیل می‌شود [۸]، [۱۷]، اما در برخی موارد مانند گیاه سپاتیوم جانسیوم^۵، لایه میانی از دو لایه سلول تشکیل شده است [۱۴]. در این زیرتیره در بیش‌تر گیاهان مانند لوبیا^۶ لایه تابی ترش‌خی و تقسیم سیتوپلاسم از نوع هم‌زمان است [۱۴]، [۱۷].

شیرین بیان همواره به‌عنوان گیاهی دارویی و صنعتی بسیار مورد توجه است و از ریشه آن استفاده زیادی می‌شود، در صورتی که گل آن نیز به‌دلیل ساختار پروانه‌آسا و توانایی در جلب گرده افشان‌های خاص به‌ویژه زنبورهای عسل و نیز نقش آن در باروری و تولید دانه، اهمیت بسیار دارد. هر چند تکثیر رویشی این گیاه سریع است و از این طریق تکثیر می‌شود، اهمیت دانه در تنوع زیستی و تولید ارقام جدید قابل توجه است. در این پژوهش، ساختار گل و نحو، نمو اندام‌های آن با تأکید بر مقایسه اهمیت گلبرگ‌ها در گرده‌افشانی بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش گل‌های شیرین بیان در مراحل مختلف نمو در اردیبهشت سال ۱۳۸۸ از کرمان جمع‌آوری و در محلول FAA (الکل اتانول ۷۰٪، اسید استیک، فرمالدئید به‌ترتیب به نسبت‌های ۹۰:۵:۵) تثبیت شدند و پس از آبگیری^۷ در درجات رو به افزایش الکل، به‌منظور تهیه بلوک‌های پarafینی در مخلوط‌های رو به افزایش الکل- تولوئن، تولوئن- پarafین و پarafین خالص، قرار گرفتند. برش‌گیری نمونه‌ها توسط میکروتوم چرخان با ضخامت ۸ تا ۱۱ میکرومتر انجام شد. برش‌های حاصل پس از پarafین‌زدایی، با هماتوکسیلین و ائوزین الکی رنگ‌آمیزی شدند. نمونه‌های مناسب با دوربین دیجیتال و میکروسکوپ نوری اولیمپوس عکس‌برداری و بررسی شدند [۱۴].

۱. Fabaceae

۲. *Pterodon emarginatus*

۳. Swartzieae

۴. *Erythrina speciosa*۵. *Spartium junceum*۶. *Phaseolus vulgaris*

۷. Dehydration

نتایج

ریخت‌شناسی گل و گل‌آذین در شیرین بیان

ارتفاع این گیاه از حدود ۰/۵ تا ۱/۵ متر متفاوت است (شکل ۱ A). در زاویه بین برگ‌ها (مرکب شانه‌ای) با ساقه اصلی، محور گل‌آذین خوشه‌ای رشد می‌کند، در نتیجه در روی یک گل‌آذین گل‌های مختلف از نظر مراحل نمو را می‌توان دید (شکل ۱ B).

گل شیرین بیان دوجنسی، با تقارن دوجانبی، پروانه‌آسا با سه نوع گلبرگ درفش، بال و ناو و به رنگ آبی روشن تا بنفش تیره است (شکل ۲ A-I). درفش، حاشیه‌های توسعه یافته‌ای دارد و همه اندام‌های گل را دربر می‌گیرد و در پایه گل سفیدرنگ و در رأس به رنگ بنفش است. در یک گل جوان در حین بزرگ شدن جوانه گل، به تدریج درفش نمایان می‌شود، اما اجزای دیگر تا هنگام شکوفایی کامل گل، توسط درفش پوشیده می‌شوند (شکل ۲ A). در گل‌های بالغ، ناوها کوتاه و پهن‌تر از بال‌ها و کم‌رنگ‌ترین گلبرگ‌ها هستند و از قاعده تا رأس از یکدیگر جدا هستند. بال‌ها پررنگ‌ترین گلبرگ‌ها و به رنگ بنفش تیره و در مقایسه با ناوها کشیده‌تر و باریک‌تر هستند (شکل ۲ B).

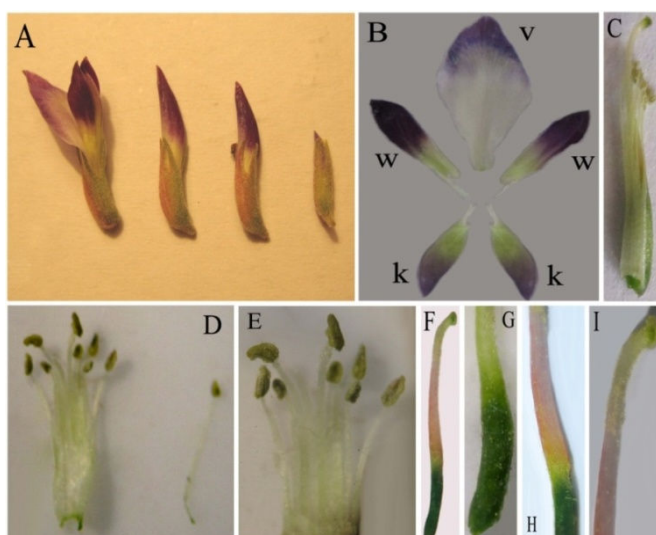
پرچم‌ها در حلقه سوم گل در دو پیرامون ۵ پرچمی به حالت دیادلف یا دودسته‌ای^۱ و ناجورریخت قرار دارند (شکل ۲ E). در مرحله بلوغ، میله پرچم‌ها نسبت به مادگی کوتاه‌تر است (شکل ۲ C).



شکل ۱. ساختار رویشی و زایشی شیرین بیان
A. ساختار رویشی، B. گل‌آذین خوشه با گل‌های بنفش‌رنگ

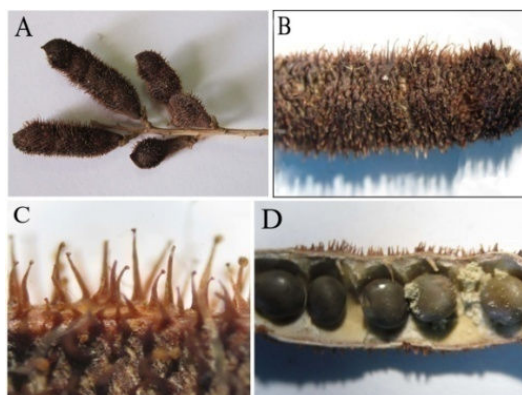
مادگی که داخلی‌ترین حلقه گل است، فوقانی (زبرین)، تک برچه‌ای، تک‌خانه است و تخمک‌ها (دانه‌ها) در یک ردیف با تمکن کناری قرار دارند (شکل ۳ D). اپیدرم مادگی دارای کرک‌های ترش‌حی است که حتی بعد از تشکیل میوه می‌توان آن‌ها را بر روی دیواره میوه نیام دید (شکل‌های ۲ F-I و ۳ A-D).

^۱. Diadelphous



شکل ۲. ساختار گل و اجزای آن در شیرین بیان

A. گل در مراحل نمو مختلف، B. آرایش جام گل به ترتیب درفش (V)، بال (W)، ناو (K)، C-E. نافه، دودسته‌ای و ناجور ریخت بودن آشکار است، همچنین مادگی نیز در میان نافه قابل رؤیت است، F-I. مادگی و اجزای آن، روی تخمدان و محل اتصال آن با خامه کرک‌های ترش‌خی فراوانی دیده می‌شود، E, G- I. با بزرگنمایی ۴X و B- D, F با بزرگنمایی ۱X. v = درفش، w = بال، k = ناو.



شکل ۳. ساختار میوه (تخمدان) و دانه (تخمک) در شیرین بیان

A. میوه نیم روی گل آذین خوشه، B. بخشی از میوه دارای کرک‌های فراوان، C. کرک‌های طولی میوه با انتهای کروی، D. دانه‌ها به تعداد ۵-۲ عدد، C با بزرگنمایی ۴X و B, D با بزرگنمایی ۱X.

بررسی مراحل نمو گل شیرین بیان

نمو گلپوش

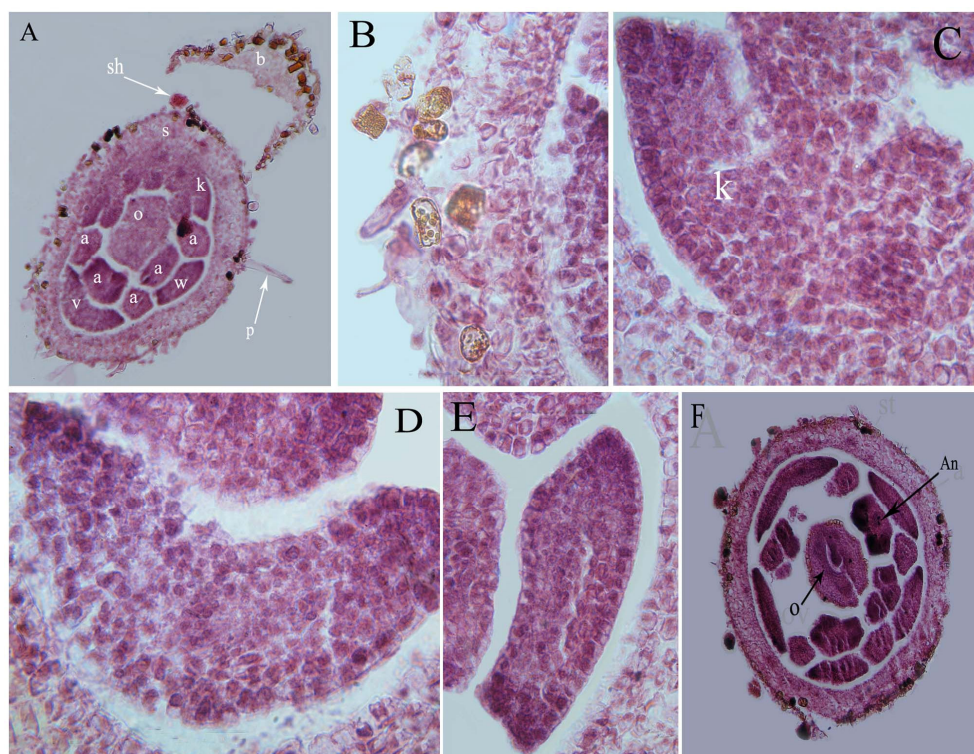
نمو کاسبرگ‌ها نسبت به اندام‌های دیگر زودتر شروع می‌شود و زمانی که هنوز در سایر اندام‌ها تمایز بافتی رخ نداده است، کاسبرگ‌ها تمایز خود را شروع می‌کنند و حتی در اپیدرم آن‌ها می‌توان سلول‌های تمایز یافته با محتویات مواد فنلی (تاننی) و مواد با زیربنای چربی را دید. ویژگی دیگر کاسبرگ‌ها داشتن کرک‌های ترش‌خی روی سطح خارجی است، که این کرک‌ها در سطح براکته پای گل نیز دیده می‌شوند (شکل ۴ A و B). در این

مرحله درفش کوچک است، به طوری که ضخامت آن (وسعت بافت های تشکیل دهنده) در مقایسه با عرض آن به نسبت بیشتر است و در رنگ آمیزی با هماتوکسیلین سلول های آن با هسته های حجیم و فضای بین سلولی کم، رنگ پذیری بالایی نشان می دهند. شدت رنگ پذیری در دو گوشه (لبه) گل برگ بیشتر مشاهده می شود (شکل ۴ D و A). شرایط نمو دو گل برگ ناو و بال تفاوت شاخصی با درفش نشان نداد و به طور چشمگیر در دو لبه هر سه نوع گل برگ رنگ پذیری بالاتر دیده می شد که نشان دهنده تقسیمات سلولی فراوان در این بخش هاست. ویژگی عمده ناوها این است که از همان مراحل اولیه نمو، جدا از یکدیگر هستند. سلول های اپیدرمی در هر سه نوع گل برگ به صورت استوانه ای، با رنگ پذیری بالا و هسته متمایل به سمت قاعده هستند (شکل ۴ C-E).

به تدریج همزمان با تشکیل بافت اسپوروژن در کیسه های گرده بساک، گسترش گل برگ ها و رنگ پذیر بودن آن ها در دو لبه ادامه دارد که نشانه تقسیم سلولی در این محل ها است، اما کشیدگی آن ها به حدی نیست که هم پوشانی انجام شود، بنا بر این در یک حلقه دیده می شوند (شکل ۴ F).

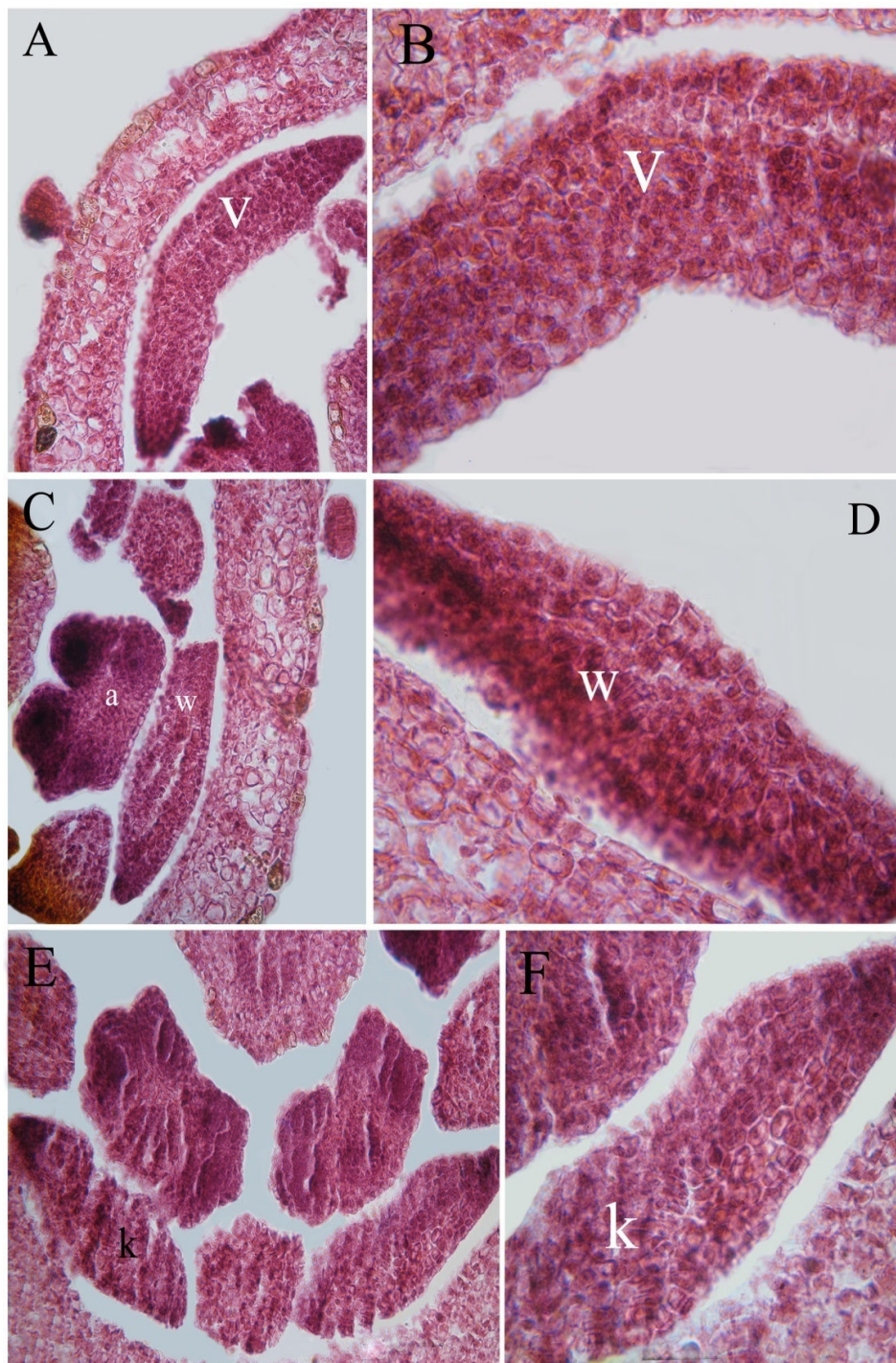
در این مرحله در بافت اپیدرم بیرونی گل برگ درفش، دیواره بیرونی حالت برآمده و برجسته دارد و هسته ها بزرگ و پررنگ هستند و در بافت اپیدرم درونی سلول ها با نظم بیشتری قرار دارند و حجیم تر و مشخص تر هستند. در این سلول ها هسته ها حجیم و قاعده ای هستند. بافت پارانشیمی درفش نیز جز افزایش فضای بین سلولی در برخی بخش ها تمایز خاصی نشان نمی دهد (شکل ۵ A, B). در بافت اپیدرم بیرونی بال همانند درفش، سلول ها منظم و پررنگ هستند. سلول های اپیدرم درونی کم رنگ تر، منظم تر و دارای سیتوپلاسم شفاف و هسته مشخص هستند (شکل ۵ C, D). در کل، پارانشیم درونی بال نسبت به دیگر بافت ها پررنگ تر است. اپیدرم درونی ناو نیز مشابه بال است، با این تفاوت که این سلول ها کوچک تر هستند. در گل برگ ناو سلول های اپیدرم بیرونی کشیده تر هستند و دیواره طولی آن ها مماس با فضای بین سلولی است (شکل ۵ E, F).

با افزایش نمو، همزمان با مرحله میکروسپورزایی در بساک، گل برگ ها به مقدار زیادی توسعه و هم پوشانی یافته (شکل ۸ F) و فضای بین سلولی توسعه یافته ای نیز در بافت زمینه ای آن ها دیده می شود. در بافت گل برگ ناو تعداد و میزان توسعه این فضاها بیشتر از بقیه گل برگ ها است (شکل ۶ A-F). در بافت اپیدرم درونی هر سه گل برگ سلول ها مشخص تر شده اند، اما دیواره آن ها همچنان حالت برآمده دارد و اپیدرم بیرونی به حالت یک ردیف سلول خطی دیده می شود (شکل ۶ B, D, F). به تدریج هم پوشانی گل برگ ها بیشتر می شود به طوری که درفش گسترده می شود و به طور تقریبی تمام اندام های درونی را در بر می گیرد، گسترش درفش از سطح پشتی امتداد می یابد، بال ها در دو سطح جانبی و ناو در سطح شکمی قرار می گیرند و با درفش احاطه می شوند (شکل ۸ J). فضای بین سلولی هر سه گل برگ به خصوص بال ها به بیشترین مقدار می رسد و علاوه بر فضاهای خالی در بافت زمینه، تعدادی از فضاها با موادی به رنگ قرمز روشن نیز دیده می شوند. همانند فضاهای بین سلولی، تعداد این لکه های قرمز رنگ در گل برگ بال بیشتر از بقیه گل برگ ها است (شکل ۷ A-E).

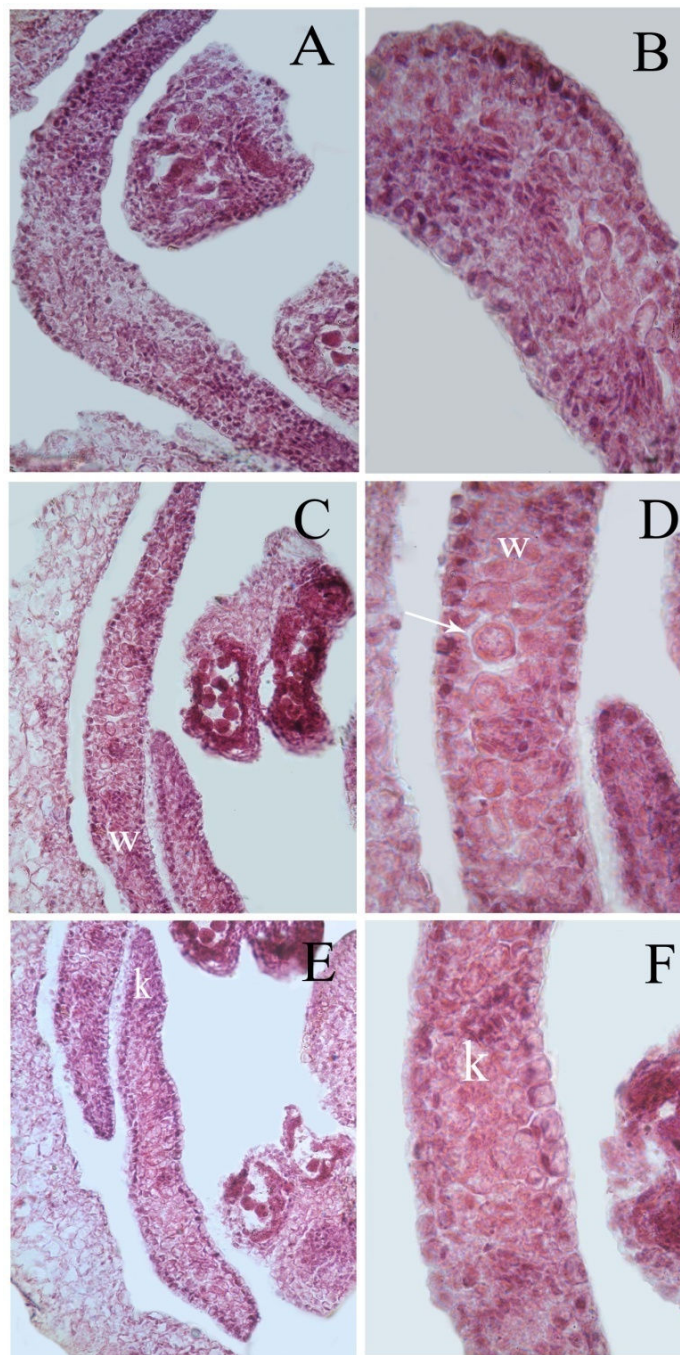


شکل ۴. ساختار تشریحی غنچه جوان گل شیرین بیان

A. برش عرضی گل در مرحله ای که تمایز خاصی در اندام‌ها دیده نمی‌شود، ۱۰X، B. کاسبرگ‌ها، ۱۰۰X، C تا E به ترتیب ناو، درفش و بال، ۱۰۰X، (فقط کاسبرگ‌ها تا حدودی تمایز نشان می‌دهند و در سایر اجزای گل تمایز آشکاری دیده نمی‌شود)، F. مقطع کامل گل در مرحله تمایز بافت اسپوروژن، شروع تمایز اجزای گل، ۱۵X، a=بساک، b=براکته، v=درفش، w=بال، k=ناو، o=تخمدان، s=کاسبرگ، p=کرک پوششی، sh=کرک ترشعی.

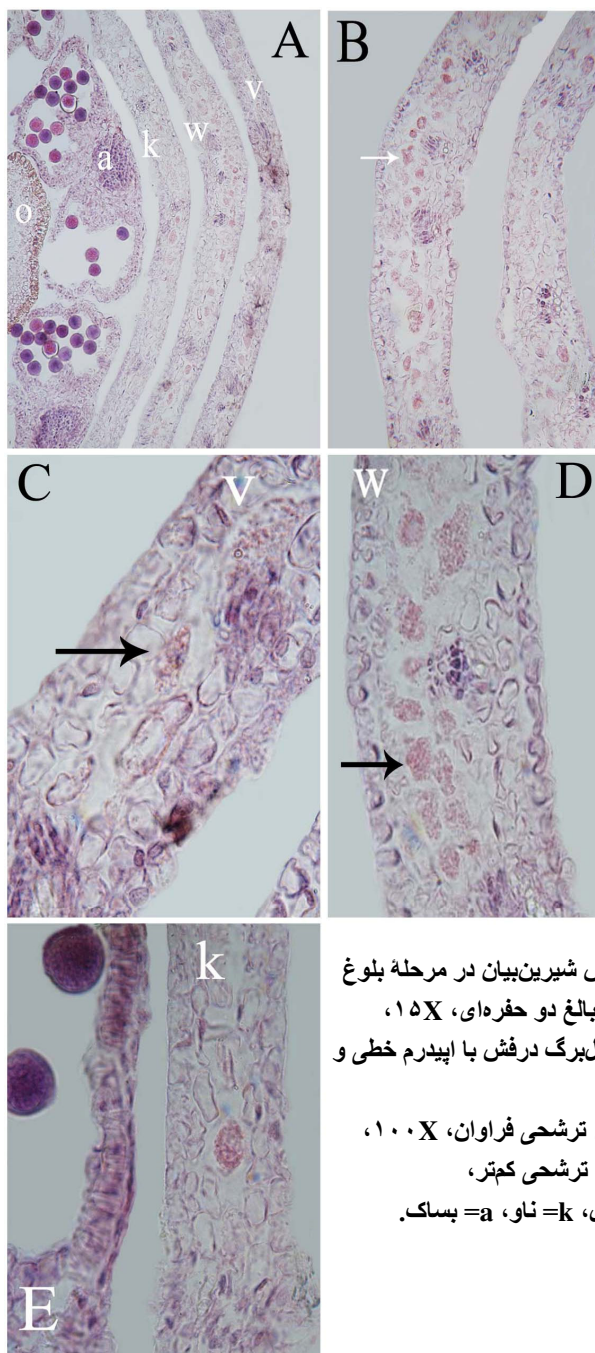


شکل ۵. ساختار تشریحی گل پوش در گل شیرین بیان در مرحله بافت اسپروژن
A- F به ترتیب ساختار درفش، درفش، بال، بال، ناو و ناو، همچنین در شکل A کاسبرگ های به هم پیوسته با کرک
ترشی دیده می شوند، بزرگنمایی A, C, E برابر ۱۰۰X و B, D, F و ۴۰X. v= درفش، w= بال، k= ناو، a=
پساک.



شکل ۶. ساختار گلپوش شیرین بیان در مرحله میکروسپورزایی

A, B. درفش، تعداد کمی ساختارهای ترشحاتی در آن دیده می شود، به ترتیب ۴۰X و ۱۰۰X، C, D - گل برگ بال، ساختارهای ترشحاتی فراوانی در آن دیده می شود به ترتیب ۴۰X و ۱۰۰X، E, F - گل برگ ناو، به ترتیب ۴۰X و ۱۰۰X. v = درفش، w = بال، k = ناو، a = بساک.



شکل ۷. برش عرضی گلپوش شیرین بیان در مرحله بلوغ
 A. ساختار گلپوش و بساک بالغ دو حفره‌ای، ۱۵X،
 B. ساختار بال، ۴۰X، C. گلبرگ درفش با اپیدرم خطی و
 فضای بین سلولی، ۱۰۰X،
 D. ساختار بال با ساختارهای ترشحات فراوان، ۱۰۰X،
 E. ساختار ناو با ساختارهای ترشحات کمتر،
 ۱۰۰X. v = درفش، w = بال، k = ناو، a = بساک.

نمو پرچم و دانه گرده

در مراحل اولیه نمو، هیچ تمایز خاصی در بافت بساک و تخمدان دیده نمی‌شود و همه سلول‌ها پارانشیمی هستند (شکل ۸ A). با افزایش نمو، سلول‌های آرکتوسپور چهارگوشه بساک با تقسیم میتوزی بافت هاگ‌زای و لایه‌های دیواره‌ای بساک را ایجاد می‌کنند. لایه‌های دیواره‌ای از هم قابل تشخیص هستند، اما هیچ تمایزی در آن‌ها دیده نمی‌شود (شکل ۴ F و ۸ B). در مرحله بافت اسپوروژن، بافت هاگ‌زای رنگ‌پذیری بیشتری را نشان

می‌دهد و ابتدای تمایز یابی سلول‌های مادر گرده دیده می‌شود. در این مرحله همهٔ بساک‌ها در مقطع دیده نمی‌شوند و یا میلهٔ برخی دیده می‌شود که اشاره به ناجور ریختی آن‌ها میکند (شکل ۴ F).

در مرحلهٔ بعد، بافت هاگ‌زای در طی رشد به سلول‌های مادر گرده (میکروسپور) تمایز می‌یابد که این سلول‌ها نیز به دلیل فعالیت زیاد دارای هسته با رنگ‌پذیری بالا هستند. در این زمان دیواره‌های بساک در حال تشکیل است و لایه‌ها به سختی از هم قابل تشخیص هستند (شکل ۸ C, D, E). رشد بیش‌تر گل‌برگ‌ها در این مرحله دیده می‌شود اما هنوز هم‌پوشانی ندارند (شکل ۸ C).

سلول‌های مادر میکروسپور با انجام میوز I و II سلول‌های تترادی را تولید می‌کنند که به وسیلهٔ دیواره کالوزی احاطه می‌شوند. لایهٔ تغذیه‌ای نیز به صورت رشد یافته و با رنگ‌پذیری بالا اطراف این سلول‌ها در لایهٔ داخلی بساک دیده می‌شود. این سلول‌ها مستطیلی شکل هستند (شکل ۸ F-I). اما لایهٔ میانی در حال از بین رفتن است و باعث فاصلهٔ بین لایهٔ تغذیه‌ای با لایه‌های دیگر شده است (شکل ۸ I).

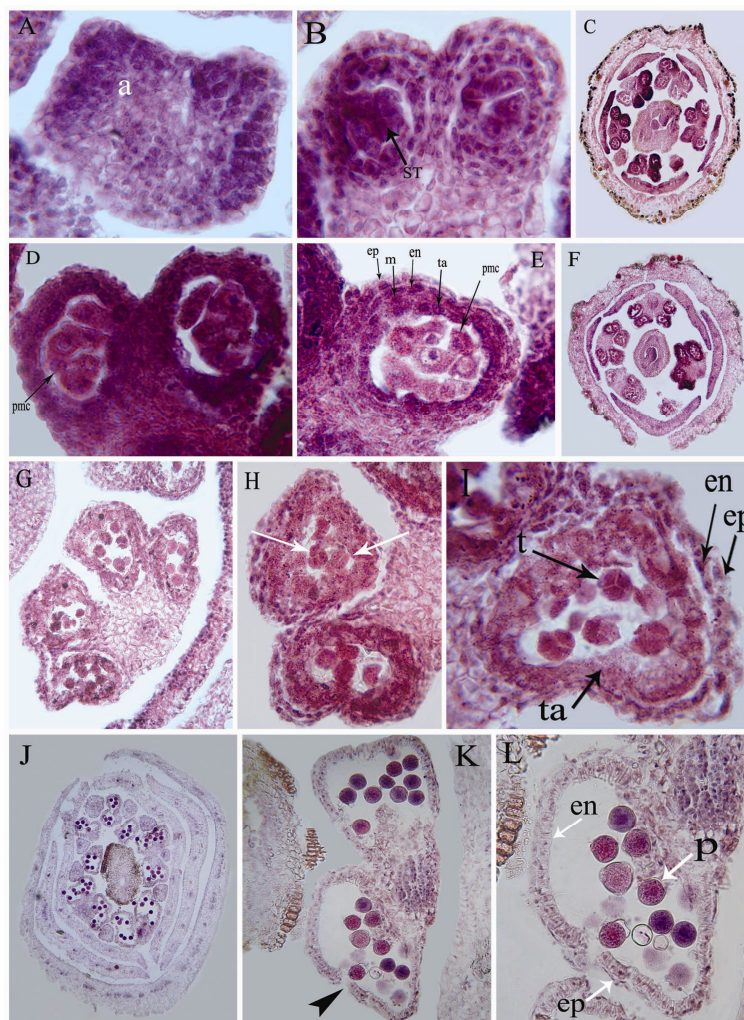
پس از مرحلهٔ تتراد، میکروسپورهای آزاد وارد حفرهٔ کیسهٔ گرده می‌شوند (شکل ۸ J-L). ضمن بلوغ بساک و تمایز دانه‌های گرده، لایه‌های دیواره‌ای بساک به جز لایهٔ مکانیکی که زیر بصره قرار دارد، از بین می‌رود که این لایه دارای تزئینات فیبری است. در این مرحله بافت جداکنندهٔ بین دو کیسهٔ گرده هر خانهٔ بساک نیز تجزیه شده و دو حفرهٔ بساک ایجاد می‌شود که واجد دانه‌های گرده بالغ آمادهٔ رها شدن هستند. با شکافتگی طولی و برون‌گشای لایهٔ مکانیکی دانه‌های گرده بالغ رها می‌شوند (شکل ۸ K).

نمو مادگی

در آغاز مراحل رشد هیچ تمایز خاصی در بافت تخمدان دیده نمی‌شود و همه سلول‌ها پاراننشیمی هستند (شکل ۹ A). در مرحله بعد تخمک به صورت یک تودهٔ سلولی بدون تمایز (خورش) با یک بند به نسبت رشد یافته ظاهر می‌شود (شکل ۹ B, C). از این مرحله سلول‌های بصره‌ای تخمدان آثار تمایز را نشان می‌دهند (شکل ۹ B). در مرحلهٔ تتراد میکروسپور افزایش بافت خورش و نیز خمیدگی تخمک تا حدودی آشکار است و تغییر محتویات سلول‌های اپیدرمی تخمک هر چند به صورت کند، ادامه دارد و باعث تمایز این بافت از بافت‌های مجاورش می‌شود (شکل ۹ D, E).

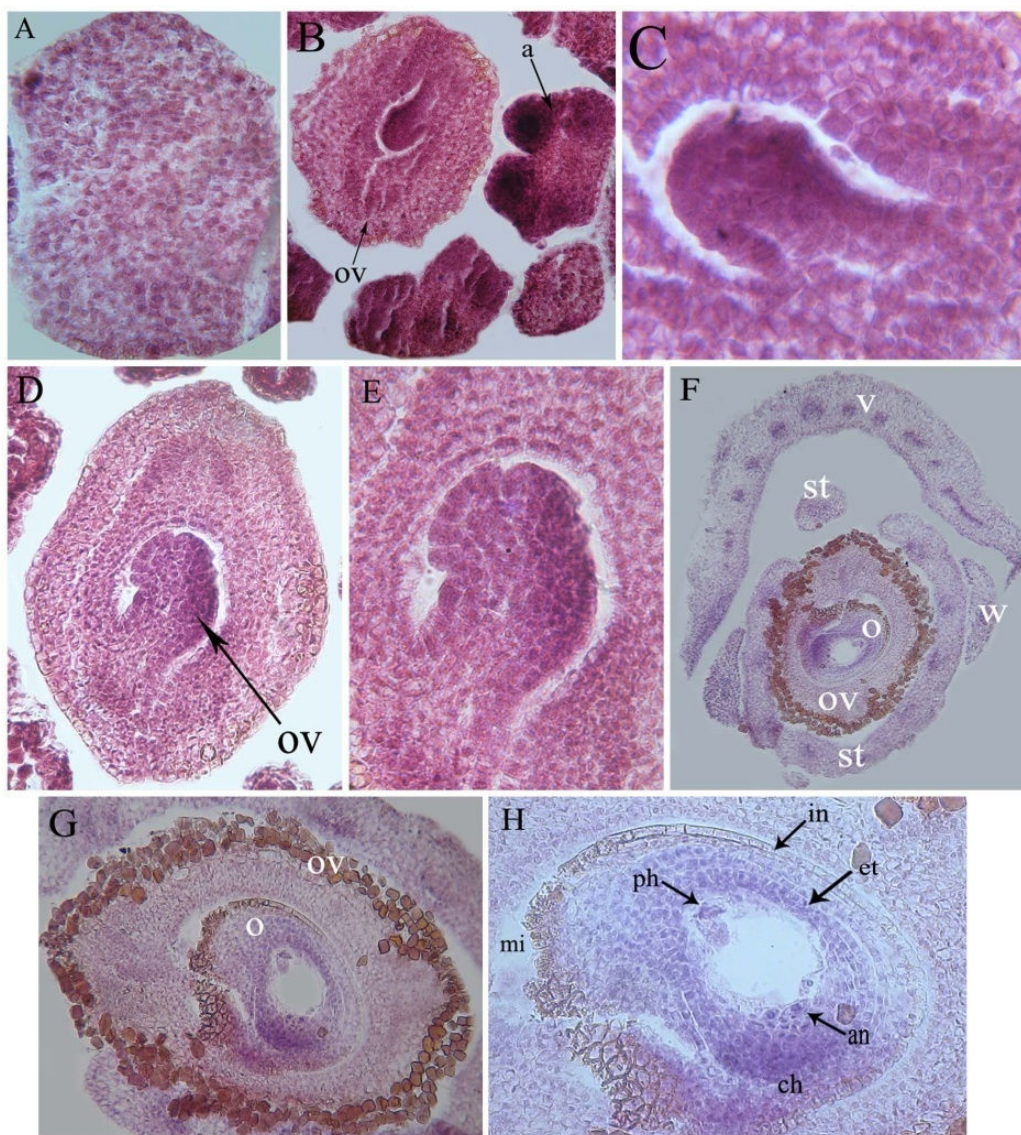
پس از مرحلهٔ تتراد هم‌زمان با بلوغ بساک و دانهٔ گرده، در تخمدان نیز واژگونی تخمک به خوبی قابل تشخیص است و اپیدرم آن از سفت به سمت بند متمایز می‌شود (شکل ۱۰ D-F). میزان تمایز اپیدرم تخمدان نیز افزایش می‌یابد به طوری که يك تا چند ردیف سلول متمایز را می‌توان مشاهده کرد (شکل ۹ F-H). در مرحلهٔ بلوغ کیسهٔ رویانی از نوع پلی‌گونوم است و در آن در قطب بنی (شالازی) سه هستهٔ آنتی‌پدال (مقاطر یا پادبن) و در قطب سفتی (میکروپیلی) دستگاه تخم‌زا دیده می‌شود (شکل ۹ F-H). همراه با تشکیل کیسهٔ جنینی

سلول‌های اپی‌تللیال اطراف آن، آرایش منظم پیدا می‌کنند و در یک یا دو ردیف خطی کیسه جنینی را احاطه می‌کنند (شکل ۹ H). در پژوهش حاضر مراحل نمو کیسه جنینی مشاهده نشد.



شکل ۸. ساختار تشریحی بساک گل شیرین بیان در مراحل مختلف تمایز

A. بافت بساک بدون هر گونه تمایز بافتی، $100\times$. B. بخشی از بساک با بافت اسپروژن در حال تقسیم و رنگ‌پذیر و لایه‌های دیواره‌ای که انواع آن از هم قابل تشخیص نیستند، $200\times$. C. مقطع کامل گل، شروع تمایز سلول‌های مادر گرده، $10\times$. D. بساک دارای دیواره سه لایه $100\times$. E. سلول‌های مادر میکروسپور، $200\times$. F. مقطع کامل گل، همپوشانی گل‌پوش و تمایز بساک در مرحله میکروسپورزایی، $10\times$. G. ساختمان کامل بساک در مرحله تترادی، $40\times$. H, I. تترادها، لایه مغذی با رنگ‌پذیری بالا، به ترتیب $100\times$ و $200\times$. J, K, L. برش عرضی گل شیرین بیان در مرحله بلوغ بساک‌ها، J- برش عرضی گل از بخش راسی، $10\times$. K. ساختار کامل بساک که نوک پیکان محل شکستگی کیسه گرده را نشان می‌دهد، $40\times$. L. ساختمان حفره کیسه گرده که تیغه جدا کننده تحلیل رفته و دیواره‌های آن شامل اپیدرم و لایه مکانیکی است، $100\times$. a = بساک، ST = توده هاگ‌زای در حال تمایز به سلول‌های مادر گرده، ep = دیواره اپیدرمی، en = لایه مکانیکی، p = دانه گرده تازه تشکیل شده، ta = لایه مغذی، pmc = سلول‌های مادر میکروسپور، m = لایه میانی، t = تتراد میکروسپورها.



شکل ۹. برش عرضی تخمدان گل شیرین بیان در مراحل مختلف تمایز

A. بافت تخمدان بدون هر گونه تمایز بافتی، ۱۰۰X، B. تخمدان با بشره در حال تشکیل محتویات، ۴۰X، C. برجستگی بافت زمینه ای تخمدان در مراحل اولیه تشکیل تخمک، ۲۰۰X، D. تخمدان با تخمک که برجستگی بافت تخمک در حال رشد است، ۴۰X، E. تخمک با خمیدگی بیش تر، بزرگ نمایی ۲۰۰X، F. برش عرضی گل از بخش تحتانی، ۲۰X، G. بافت تخمک بالغ با اپیدرم دو یا سه لایه و تخمک دارای کیسه جنینی، ۴۰X، H. تخمک بالغ با دیواره در حال تمایز و کیسه جنینی و سلول های متقاطع در قطب شالازی و سلول های سینرژید در قطب میکروپیلی، ۱۰۰X. ov = تخمدان، o = تخمک، in = پوسته تخمک، et = اپیتلیال، ph = دستگاه سلول تخمزا، mi = قطب میکروپیلی، an = سلول های متقاطع، ch = قطب شالازی، st = میله پرچم، v = درفش، w = بال.

نمو بافت های ترشحي

گل شیرین بیان کرک های ترشحي فراوان دارد که باعث چسبناکی بیش از حد کاسه، جام گل و اندام های دیگر می شود. در پژوهش انجام شده روی گل این گیاه در کاسه گل، جام گل و اپیدرم بیرونی تخمدان کرک های ترشحي فراوان مشاهده شد و نیز در قسمت قاعده گل شیرین بیان یکسری غدد ترشحي دیده شدند.

کرک های ترشحي کاسه گل

برخی از سلول های اپیدرم کاسبرگ تقسیم سلولی انجام داده و چندین سلول به صورت توده ای به وجود می آید (شکل ۱۰ A)، که سپس سلول های رأسی تقسیمات شعاعی (آنتی کلینال) انجام داده و در سطح توده به صورت خطی قرار می گیرند (شکل ۱۰ B). این سلول ها مستطیلی شکل و از دیواره شعاعی به هم مرتبط هستند و يك حالت مسطح به سطح کرک می دهند (شکل ۱۰ C). این کرک های ترشحي در رنگ آمیزی با همتوکسیلین و ائوزین به رنگ بنفش تیره دیده می شوند (شکل ۱۰ A-D)، اما در رنگ آمیزی با فلوروگلو سینول هیچ رنگ پذیری در این بخش ها دیده نشد. این کرک ها بدون رنگ آمیزی به رنگ قهوه ای دیده می شوند (شکل ۱۰ E). برخی از کرک های ترشحي در رأس کروی نیستند بلکه چوگانی شکل هستند.

کرک های پوششی کاسه گل

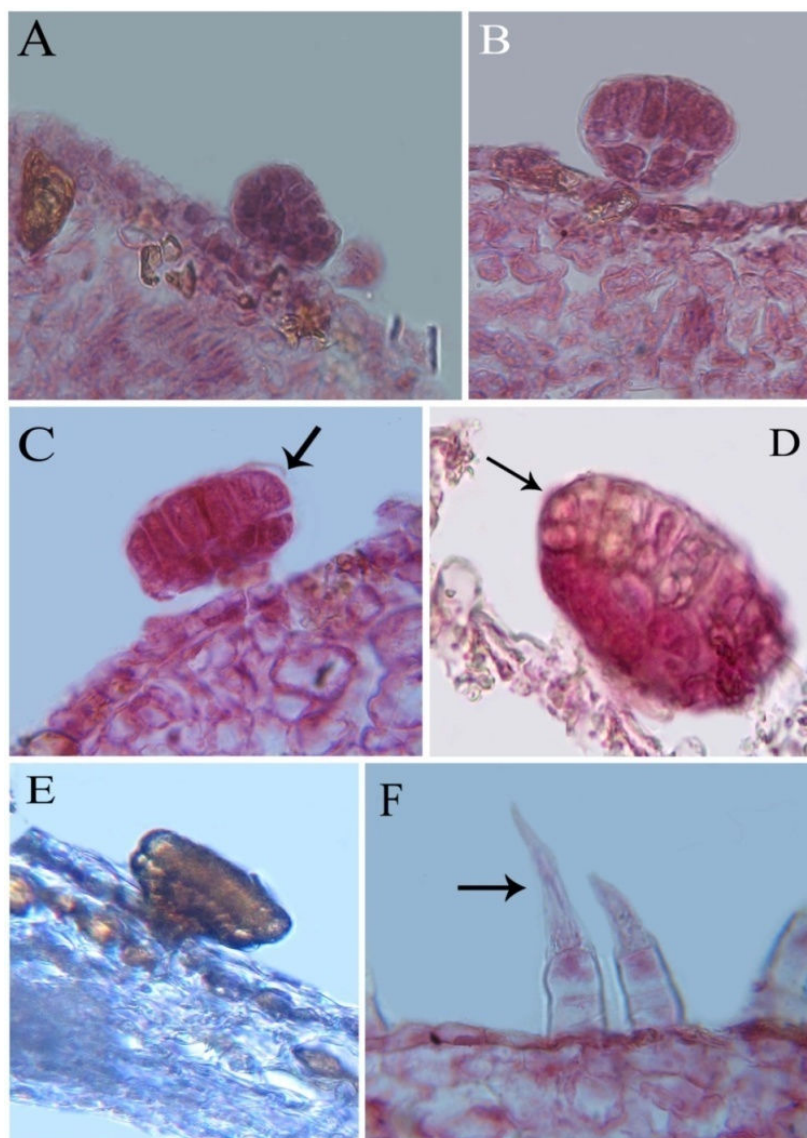
در سطح خارجی اپیدرم کاسه گل علاوه بر کرک های ترشحي کرک های پوششی نیز دیده می شوند. این کرک ها به طور معمول دوسلولی هستند که سلول پایینی به عنوان پایه عمل می کند و سلول بالایی نوک تیز است (شکل ۱۰ F).

کرک های ترشحي مادگی

کرک های مربوط به مادگی در منطقه انتهایی تخمدان و ابتدای خامه و نیز در قسمت مربوط به انتهای خامه که نزدیک کلاله است فراوان دیده می شوند (شکل ۲ G-I و ۱۱ A, F). برخی از این کرک ها پس از تبدیل تخمدان به میوه نیام نیز روی سطح میوه دیده می شوند. نمو و بلوغ کرک ها مستقل از مراحل نمو اندام های دیگر گل است یعنی از همان مراحل اولیه بلوغ کرک هایی با مراحل نمو پیشرفته تر دیده می شود.

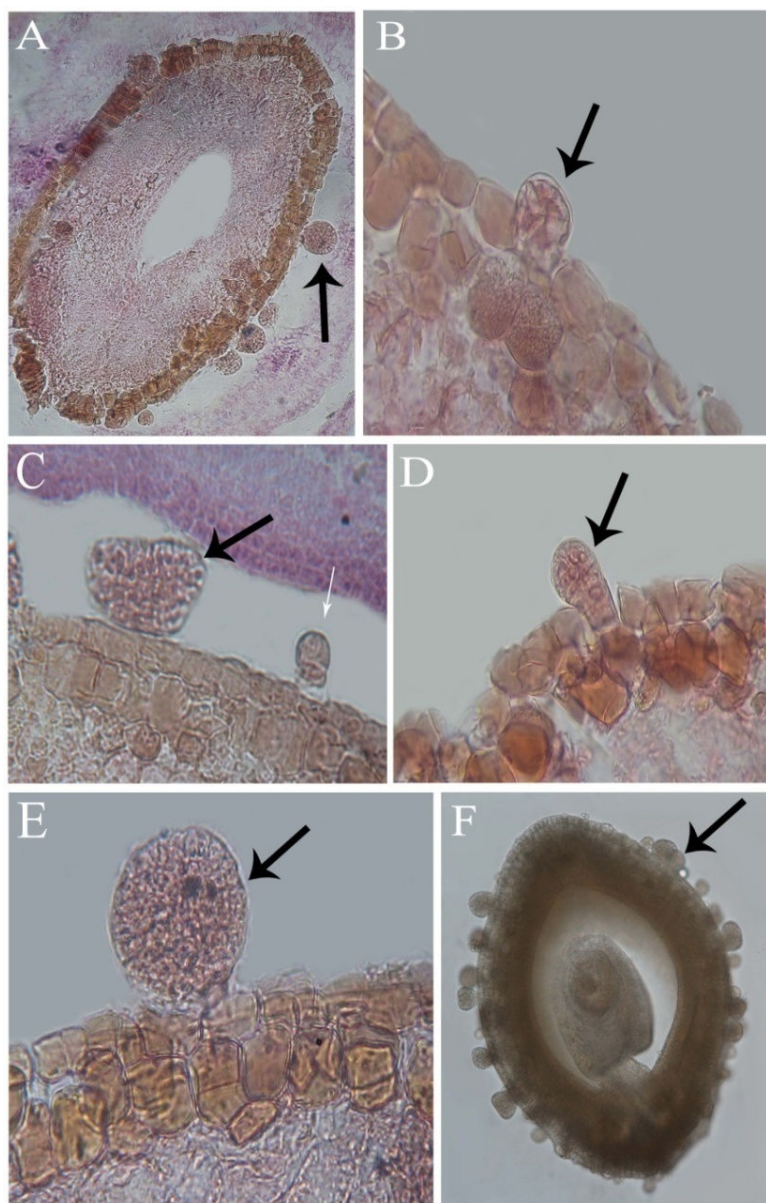
نمو کرک ها بدین شکل است که ابتدا يك سلول از سلول های بصره ای تقسیم مماسی انجام می دهد و دوسلولی می شود (شکل ۱۱ B، پیکان) و با انجام تقسیمات بعدی ابتدا يك بخش ۱ یا ۲ سلولی به وجود می آید (شکل ۱۱ C، پیکان سفید) سپس سلول های رأسی تقسیمات شعاعی (آنتی کلینال) را انجام داده و یک پایه یک یا دوسلولی با سر کروی بسیار کوچک متشکل از چند سلول را به وجود می آورند (شکل ۱۱ D، پیکان سیاه)، این قسمت به تدریج با انجام تقسیمات بعدی کروی می شود (شکل ۱۱ E). در برخی موارد قسمت رأسی سر کرک حالت مسطح به خود می گیرد (شکل ۱۱ C، پیکان سیاه).

در همه شکل‌های نشان داده شده سلول‌های اپیدرمی و زیراپیدرمی تخمدان از محتویات خاصی انباشته شده‌اند که به‌منظر می‌رسد نقش ترش‌خی داشته باشند (شکل ۱۱ A-F).



شکل ۱۰. کرک‌های ترش‌خی و پوششی کاسبرگ‌ها در گل شیرین بیان

A. تعدادی سلول که به حالت کروی روی اپیدرم کاسبرگ قرار دارند، $10\times$. B. سلول‌ها به دو دسته تقسیم می‌شوند که سلول‌های سطحی با تقسیمات آنتی‌کلینال یک ردیف سلول را تشکیل می‌دهند و سلول‌های سطح زیرین به حالت توده‌ای و نامنظم‌تر قرار دارند، $20\times$. C. سلول‌ها توسعه پیدا می‌کنند و سطح صافی را به کرک می‌دهند، $160\times$. D. کرک ترش‌خی بالغ رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین، $20\times$. E. کرک ترش‌خی بالغ بدون رنگ‌آمیزی، $40\times$. F. کرک پوششی، $20\times$. پیکان‌ها در شکل C, D نشان‌دهنده کرک‌های ترش‌خی و در شکل F نشان‌دهنده کرک‌های پوششی هستند.



شکل ۱۱. برش عرضی تخمدان و ساختار کرک های ترشعی آن در گل شیرین بیان
 A. نمای کلی تخمدان دارای تعدادی کرک ترشعی در اندازه های مختلف، ۴۰X، B. توده سلولی در مراحل اولیه نمو کرک ترشعی، ۱۶۰X، C. کرک با پایه کوتاه و سر مسطح (پیکان سیاه) و کرک در حال نمو ۲-۱ سلولی (پیکان سفید)، ۱۲۰X، D. کرک با پایه کوتاه و سر کروی شکل، ۱۶۰X، E. انواع کرک های ترشعی با سر مسطح و کروی، ۲۰۰X، F. تخمدان بدون رنگ آمیزی، ۴۰X. پیکان ها نشان دهنده کرک های ترشعی تخمدان هستند.

بحث

در شیرین بیان ساختار گل از الگوی کلی موجود در پروانه آسا پیروی می کند و تقارن دوجانبی پشتی- شکمی دارد [۲۵] که یک نوع سازگاری تکاملی است که دگرلغاحی را از طریق جذب گرده افشان ها آسان می کند [۲۹].

از طرفی این پدیده عامل انتخاب گروه کمتری از گرده افشان هاست. به نظر می رسد زنبورهای بزرگ، گرده افشان های اصلی گل های نامتقارن باشند [۶]. زنبورها شکل های پیچیده را به راحتی تشخیص می دهند و بنا بر این تقارن دو جانبی^۱ بسیاری از گل های لگومها را خوب می شناسند [۲۳].

در بررسی مورفولوژیکی مشخص شد که گلبرگ های بال پررنگتر از گلبرگ های دیگر هستند و در ساختار تشریحی آنها نیز ساختارهای ترشعی فراوان وجود دارند که به نظر می رسد در جذب گرده افشان ها موثر باشند. در این جنس، این ساختارها در مرحله تتراد میکروسپورزایی تشکیل میشوند. تجزیه سلولی و تشکیل ساختارهای ترشعی در خانواده بقولات بسیار معمول است و در تاکسون های مختلفی گزارش شده است [۱۳]. ادغام دو گلبرگ ناو که ویژگی معمول پروانه آساها در نظر گرفته شده است، در شیرین بیان دیده نشد و به عنوان کلید شناسایی جنس شیرین بیان استفاده می شود [۱].

در حلقه سوم گل، نافه گل قرار دارد که در برش عرضی در بخش قاعده ای به صورت پیوسته دیده می شوند، اما در رأس گل جدا از هم هستند. در شیرین بیان، نافه از ۱۰ پرچم تشکیل می شود که در مراحل اولیه نمو در دو ردیف ۵ تایی قرار می گیرند و بعد با بزرگ شدن نهج این ۱۰ پرچم در یک ردیف به حالت دودسته ای به یکدیگر متصل می شوند [۲۵]. الحاق پرچم ها باعث لوله ای شدن آنها می شود که ویژگی برجسته در گل های پروانه آساست و باعث محدود شدن رفتار گرده افشان می شود [۶]. پرچم ها ناجور شکل^۲ هستند، یعنی میله های آنها کوتاه و بلند است و بساک ها نیز بزرگ و کوچک هستند. همچنین، مراحل نمو کیسه های گرده یک بساک مانند تاکسون دیگر این خانواده نیز ممکن است متفاوت باشد [۲۸]. دیواره های بساک از بیرون به درون شامل اپیدرم، لایه مکانیکی، لایه میانی با یک ردیف سلول و لایه مغذی هستند [۲]، [۳]، [۹]، [۱۰]، [۱۱]، [۲۵]، [۲۶]، در حالی که در گیاهان دوماسیا میاولیسیس^۳ [۲]، اوریا سینیتا^۴ [۱۱] و سپار تیوم جانسیوم [۱۴] برعکس شیرین بیان دو لایه میانی تشکیل می شود. بر اساس پژوهش هاردی^۵ و همکاران به نظر می رسد دیواره کیسه گرده از نوع تک لپه ای^۶ باشد [۳]. دیواره کیسه گرده در شیرین بیان در مرحله سلول مادر مگاسپور تشکیل می شود، اما هنوز تمایز کافی ندارند و رنگ پذیری مشابهی دارند. لایه مغذی در مرحله تتراد به سلول های مستطیلی مشخص تک هسته ای تمایز می یابد. که از این نظر با اونوبروکیس چاهون سیس^۷ متفاوت و با کلادهای^۸ این تیره، بررسی شده مانسانو^۹ و تیسیرا^{۱۰} (۲۰۰۸) مشابه است. همچنین، تابی تک هسته ای را در اوراریاکرینیتا^{۱۱} [۲]، دومازیامیا اولینسیس^{۱۲} [۱۱] و دالستدیتا مالمه^{۱۳} [۲۶] نیز می توان یافت.

عدم تغییر پذیری سلول های لایه مغذی تا آخر مرحله تتراد میکروسپورها یک ویژگی غیر معمول است که در لگومها دیده می شود [۲۸]. در نهان دانگان دیگر، لایه مغذی طی مرحله تتراد تجزیه می شوند و سلول های خود را از دست می دهند و تیره کابومباسه^{۱۴} حتی لایه مغذی خود را زودتر و طی مرحله سلول مادر میکروسپور از

۱. Zygomorphy ۲. Heteromorphy ۳. *Dumasia miaoliensis* ۴. *Uraria crinita*
 ۵. Hardy ۶. Monocotyledonous ۷. *Onobrochys schahuensis* ۸. Clades ۹. Mansano
 ۱۰. Teixeira ۱۱. *Uraria crinita* ۱۲. *Dumasia miaoliensis* ۱۳. *Dahlstedtia Malme*
 ۱۴. Cabombaceae

دست می‌دهد [۲۸]. تاپی ترش‌خی، تقسیم سیتوپلاسم همزمان و آرایش میکروسپورها درون دیواره کالوزی چهاروجهی^۱ است که با نتایج بررسی‌های قبلی از این تیره مشابه است [۸]، [۱۰]، [۱۱]، [۱۴]، [۱۷]، [۲۶]. ساختار مادگی یک برچه‌ای با تمکن کناری است. خمیدگی برجستگی بافت خورش که در مرحله تتراد میکروسپور مشاهده شد منجر به تولید تخمک واژگون^۲ می‌شود [۷]، [۱۰]، [۱۵]، [۲۲]. تخمک بالغ پرخورش است که مطابق با پژوهش‌های قبلی ویژگی معمول این تیره است [۴]، [۷]، [۹]، [۲۰]، [۲۱]، [۲۲]. مراحل مربوط به نمو کیسه رویانی در گیاه بررسی شده به‌طور کامل مشاهده نشد، اما نتایج پژوهش‌های قبلی وجود هر دو نوع تتراد خطی [۷]، [۲۷]، و T- شکل را [۱۰]، [۱۳]، [۲۰]، [۲۲] را در گیاهان این تیره گزارش کرده‌اند. کیسه رویانی بالغ شیرین بیان از نوع پلی‌گونوم است که یک ویژگی معمول در زیرتیره پروانه آسا است [۴]، [۷]، [۹]، [۱۰]، [۱۵]، [۱۸]، [۱۹]، [۲۰]، [۲۲]، [۲۷].

در ساختمان تشریحی کاسه، براکته و تخمدان گل شیرین بیان کرک‌های ساده پوششی، از مراحل آغازین نمو دیده شدند. این نتایج با پژوهش‌های مانسانو که کرک‌ها را در مرحله بلوغ گل‌ها مشاهده کرد متفاوت است [۲۸]. علاوه بر کرک‌های ساده، یکسری ساختمان گریز شکل^۳ نیز روی سطح خارجی براکته‌ها، کاسبرگ‌ها و تخمدان دیده شد که مانسانو^۴ بر اساس تعریف توماس^۵ (۱۹۹۱)، آن‌ها را کلاتر نامید [۲۸]. کلاترها ساختمان‌های ترش‌خی چندسلولی هستند که ممکن است در رأس ساقه‌های رویشی و زایشی نیز وجود داشته باشند [۲۸]. به‌نظر می‌رسد نقش آن‌ها حفاظت از غنچه از طریق تولید ماده غلیظ از همان مراحل اولیه نمو باشد [۲۸]. در پژوهش حاضر به‌نظر می‌رسد شاهد واقع روی تخمدان نیز برای جلب حشره به داخلی‌ترین اندام گل و در واقع بهانه‌ای برای تماس با گرده‌ها و کمک به چسبیدن گرده‌ها به پایهای حشره باشد [۵]. طی تمایز، سلول‌های اپیدرمی کاسه گل، تخمدان و تخمک حاوی محتویات فنلی و مواد با زیربنای چربی می‌شوند. به عقیده مانسانو این سلول‌ها ایدیوبلاست‌های حاوی ترکیبات فنولی هستند که در برون‌بر میوه باقی می‌مانند و خواص ضد انگل و ضد لارو دارند [۲۸]. استفاده از رنگ‌آمیزی‌های مختلف وجود مواد با زیربنای فنلی (تاننی) را در پوشش تخمدان نشان داد اما با رنگ‌کننده‌های اختصاصی چوب هیچ واکنشی دیده نشد، هر چند که در پوش دانه اغلب گیاهان این خانواده، چوبی شدن سلول‌های اپیدرم و نیز در اغلب موارد لایه زیراپیدرمی گزارش شده است که طی تمایز ماکرواسکلرید و میکرواسکلریدها را تشکیل می‌دهند.

منابع

۱. قهرمان، احمد، کوروموفیت‌های ایران (سیستماتیک گیاهی)، جلد ۲، مرکز نشر دانشگاهی، تهران (۱۳۷۲).
2. A. Chehregani, N. Tanaomi, "Ovule ontogenesis and megagametophyte development in *Onobrychis schahuensis* Bornm", (Fabaceae), Turk Journal of Botany, 34 (2010) 241-248.

۱. Tetrahedral

۲. Anatropous

۳. Claviform

۴. Mansano

۵. Tomas

3. A. Chehregani, N. Tanaomi, M. Ranjbar, "Pollen and anther development in *Onobrychis schahuensis* Bornm, (Fabaceae), International Journal of Botany, 4(2008) 241-244.
4. A. F. Soverna, B. Galati, P. Hoc, "Study of ovule and megagametophyte development in four species of subtribe phaseolinae (Leguminosae), Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica, 45(2003) 63-73.
5. A. Jakubska, D. Przado, M. Steininger, J. Aniol- Kwiatkowska, M. Kadej, "Why do pollinators become "sluggish"? nectar chemical constituents from *Epipactis helleborine* (L.) Crantz (orchidaceae)", Applied Ecology and Environmental Research, 3(2005) 29-38.
6. A. V. Etcheverry, M. M. Aleman, T. F. "Fleming Flower morphology, pollination biology and mating system of the complex flower of *Vigna caracalla* (Fabaceae: Papilionoideae)", Annals of Botany, 102(2008) 305-316.
7. B. G. Galati, S. Rosenfeldt, G. M. Tourn, "Embryological studies in *Lotus glaber* (Fabaceae). Annales Botanici Fennici, 43 (2006) 97-106.
8. C. A. Wilson, "Floral stages, ovule development, and ovule and fruit success in *Iris Tenax*, focusing on Var. Gormanii, A Taxon with low seed set", American Journal of Botany, 88 (2001) 2221-2231.
9. C. C. Liu, T. C. Huang, "Anther and pollen wall development in *Dumasia miaoliensis* Liu and Lu (Fabaceae)", Taiwaniana, 48 (2003) 273-281.
10. C. C. Liu, T. C. Huang, "Microsporogenesis and exine substructure in *Uraria crinita* (Fabaceae)", Grana, 38 (1999) 277-283.
11. C. R. Hardy, D. W. Stevenson, "Development of the gametophytes, flower, and floral vasculature in *Cochliostema odoratissimum* (Commelinaceae)", Botanical Journal of the Linnean Society, 134 (2000) 131-157.
12. E. A. S. Paiva, "Ultrastructure and post-floral secretion of the pericarpial nectaries of *Erythrina speciosa* (Fabaceae)", Annals of Botany, 104 (2009) 937-944.
13. E. A. S. Paiva, D. M. T. Oliveria, S. R. Machado, "Anatomy and ontogeny of the pericarp of *Pterodon emarginatus* Vogel (Fabaceae, Faboideae), with emphasis on secretory ducts", Annals of the Brazilian Academy of Sciences, 80 (2008) 455-465.

14. F. Rezanejad, "The Effect of Air Pollution on Microsporogenesis, Pollen Development and Soluble Pollen Proteins in *Spartium junceum* L. (Fabaceae)", Turk Journal of Botany, 31 (2007) 183-191.
15. F. Rezanejad, "Zygotic embryogenesis in *Spartium junceum* L. (Fabaceae): development of embryo and Suspensor", International Journal of Botany, 2 (2006) 113-116.
16. J. B. Vibha, k. Choudhary, M. Singh, M. S. Rathore, N. S. Shekhawat, "A Study on pharmacokinetics and therapeutic efficacy of *Glycyrrhiza glabra*: A miracle medicinal herb", Botany Research International, 2 (2009) 157-163.
17. K. Suzuki, H. Takeda, T. Tsukaguchi, Y. Egawa, "Ultrastructural study on degeneration of tapetum in anther of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under heat stress", Sex Plant Reproduction, 13 (2001) 293-299.
18. M. Akhalkatsi, M. Pfauth, C. L. Calvin, "Structural aspects of ovule and seed development and nonrandom abortion in *Melilotus officinalis* (Fabaceae)", Protoplasma, 208 (1999) 211-223.
19. M. C. C. Moco, J. E. A. Mariath, "Female gametophyte development in *Adesmia latifolia* (Spreng.) Vog. (Leguminosae – Papilionoideae)", Revista Brasil Botany, 27 (2004) 241-248.
20. M. C. C. Moco, J. E. A. Mariath, "Ovule ontogenesis and megasporogenesis in *Adesmia latifolia* (Spreng.) Vog. (Leguminosae-Papilionoideae)", Revista Brasil Botany, 26 (2003) 495-502.
21. M. Riahi, S. Zarre, "Seed development in *Astragalus cemerinus* and *A. Ruscifolius* (fabaceae), and its systematic implications", Acta Biologica Cracoviensi Series Botanica, 51 (2009) 111-117.
22. M. Rodriguez-Pontes, "Development of megagametophyte, embryo and seed in *Senna corymbosa* (Lam.) H. S. Irwin & Barneby (Leguminosae- Caesalpinoideae)", Botany Journal of Linnean Society, 153 (2007) 169-179.
23. Q. C. B. Cronk, "Legume flowers bear fruit", Proceedings of the National Academy of Siences, 103(2006) 4801-4802.
24. S. A. Zimnitskaya, "State of the reproductive system of populations of Species of the genus *Glycyrrhiza glabra* L. (Fabaceae)", contemporary Problems of Ecology, 2(2009) 392-395.
25. S. C. Tucker, "Floral Development in Legumes", Plant Physiology, 131 (2003) 911-926.

26. S. P. Teixeira, E. R. Forni-Martins, N. T. Ranga, "Development and cytology of pollen in *Dahlstedtia Malme* (Leguminosae: Papilionoideae)", Botanical Journal of Linnean Society, 138 (2002) 461-471.
27. T. Rodriguez-Riano, F. J. Valtuena, A. Ortega-Olivencia, "Megaspороgenesis, Megagametogenesis and Ontogeny of the Aril in *Cytisus striatus* and *C. multiflorus* (Leguminosae: Papilionoideae)", Annals of Botany, 98 (2006) 777-791.
28. V. F. Mansano, S. P. Teixeira, "Floral anatomy of the *Lecointea* clade (Leguminosae, Papilionoideae, Swartzieae sensu lato)", Plant Systematic Evolution, 273 (2008) 201-209.
29. Z. Feng, Z. Zhao, Z. Tian, S. Xu, Y. Luo, Z. Cai, Y. Wang, J. Yang, Z. Wang, L. Weng, J. Chen, L. Zheng, L. Zheng, X. Guo, J. Luo, S. Sato, S. Tabata, W. Ma, X. Cao, X. Hu, C. Sun and D. Luo, "Control of petal shape and floral zygomorphy in *Lotus japonicus*", Proceedings of the National Academy of Sciences, 103 (2006) 4970-4975.