

## مطالعه ساختاری گل شیرین بیان<sup>۱</sup> در طی مراحل نموی: نمو بساک، دانه گرده و ساختارهای ترشحي

زهر ا هاشمی، فرخنده رضانژاد:  
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 بصورت 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<sup>۱</sup>، جنس گلیسریریزا<sup>۲</sup> است که حدود ۳۰ گونه دارد. گیاهان این جنس علفی یا بوته‌ای هستند. اسم جنس از کلمه‌های یونانی گلیسی<sup>۳</sup> به معنی شیرین و ریزا<sup>۴</sup> به معنی ریشه گرفته شده است. از گیاهان مهم این جنس شیرین‌بیان است که به اسامی مولتا<sup>۵</sup> در هندی، کائزوه<sup>۶</sup> در ژاپنی، کانتکائو<sup>۷</sup> در چینی و شیرین بیان<sup>۸</sup> در فارسی شناخته شده است. ریشه گیاه ارزش دارویی دارد و بقیه قسمت‌ها به عنوان 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 به وسیله 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<sup>۱</sup> بررسی شده است. پژوهش‌ها نشان داده‌اند بیش‌تر گل‌های زیرتیره پروانه‌آسا ۵ کاسیرگ، 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 به هم پیوسته و ساختمان ناوی شکلی به‌وجود می‌آورند. در برخی موارد اندام‌های گل ویژگی‌های دیگری مانند اپیدرم تمایز یافته در گیاه پترودن امرجیناتوس<sup>۲</sup> [۱۳] و کرک‌های ترش‌چی و پوششی در طایفه سوارتزی<sup>۳</sup> [۲۸] و ساختارهای تولید کننده شهد خارج از گل در گیاه اریترینا سپسیوسا<sup>۴</sup> [۱۲] دارند.

در زیرتیره پروانه‌آسا تخمک دو پوسته‌ای، واژگون و پرخورش [۴]، [۱۰]، [۱۴]، [۲۰] و میکروپیل 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 تاپی تشکیل می‌شود [۸]، [۱۷]، اما در برخی موارد مانند گیاه سپاتیوم جانسیوم<sup>۵</sup>، لایه میانی از دو لایه سلول تشکیل شده است [۱۴]. در این زیرتیره در بیش‌تر گیاهان مانند لوبیا<sup>۶</sup> لایه تاپی ترش‌چی و تقسیم سیتوپلاسم از نوع هم‌زمان است [۱۴]، [۱۷].

شیرین‌بیان 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 شیرین‌بیان 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<sup>۷</sup> در درجات رو به افزایش الکل، به‌منظور تهیه بلوک‌های پارافینی در مخلوط‌های رو به افزایش الکل- تولوئن، تولوئن- پارافین و پارافین خالص، قرار گرفتند. برش‌گیری نمونه‌ها توسط میکروتوم چرخان با ضخامت ۸ تا ۱۱ میکرومتر انجام شد. برش‌های حاصل پس از پارافین‌زدایی، 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 نموی 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).

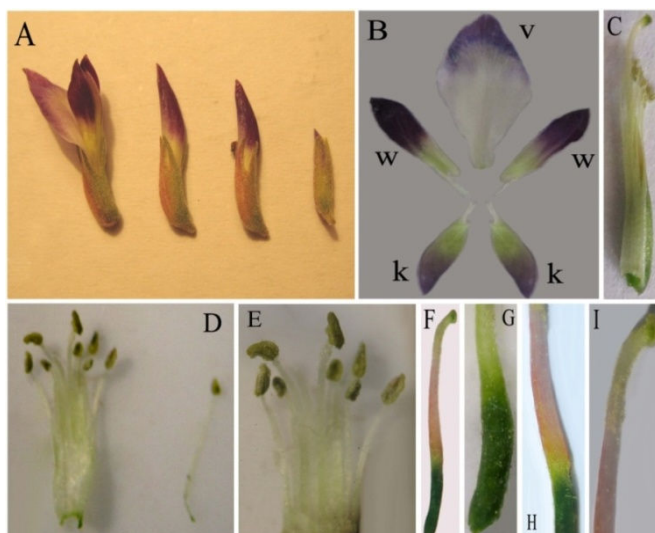
پرچم‌ها در حلقه سوم گل در دو پیرامون ۵ پرچمی به حالت دیادلف یا دودسته‌ای<sup>۱</sup> و ناجورریخت قرار دارند (شکل ۲ E). در مرحله بلوغ، میله پرچم‌ها نسبت به مادگی کوتاه‌تر است (شکل ۲ C).



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

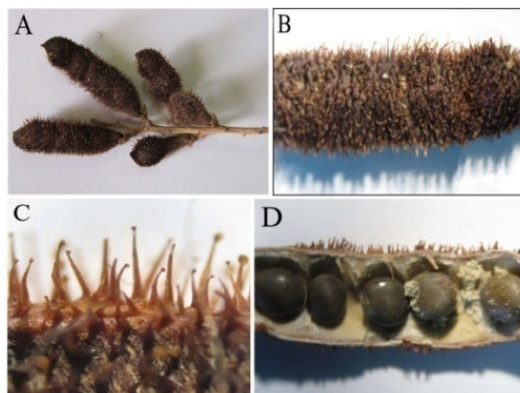
مادگی که داخلی‌ترین حلقه گل است، فوقانی (زبرین)، تک برچه‌ای، تک‌خانه است و تخمک‌ها (دانه‌ها) در یک ردیف با تمکن کناری قرار دارند (شکل ۳ D). اپیدرم مادگی دارای کرک‌های ترش‌حی است که حتی بعد از تشکیل میوه می‌توان آن‌ها را بر روی دیواره میوه نیام دید (شکل‌های ۲ F-I و ۳ A-D).

<sup>۱</sup>. Diadelphous



شکل ۲. ساختار گل و اجزای آن در شیرین بیان

A. گل در مراحل نموی مختلف، B. آرایش جام گل به ترتیب درفش (V)، بال (W)، ناو (K)، C-E. نطفه، دودسته‌ای و ناجور ریخت بودن آشکار است، همچنین مادگی نیز در میان نطفه قابل رؤیت است، F-I. مادگی و اجزای آن، روی تخمدان و محل اتصال آن با خامه کرک‌های ترش‌حی 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 نیام روی گل‌آذین خوشه، B. بخشی از میوه دارای کرک‌های فراوان، C. کرک‌های طولی میوه با انتهای کروی، D. دانه‌ها به تعداد ۲-۵ عدد، C با بزرگنمایی ۴X و B، D با بزرگنمایی ۱X.

### بررسی مراحل نموی گل شیرین بیان

#### نمو گلپوش

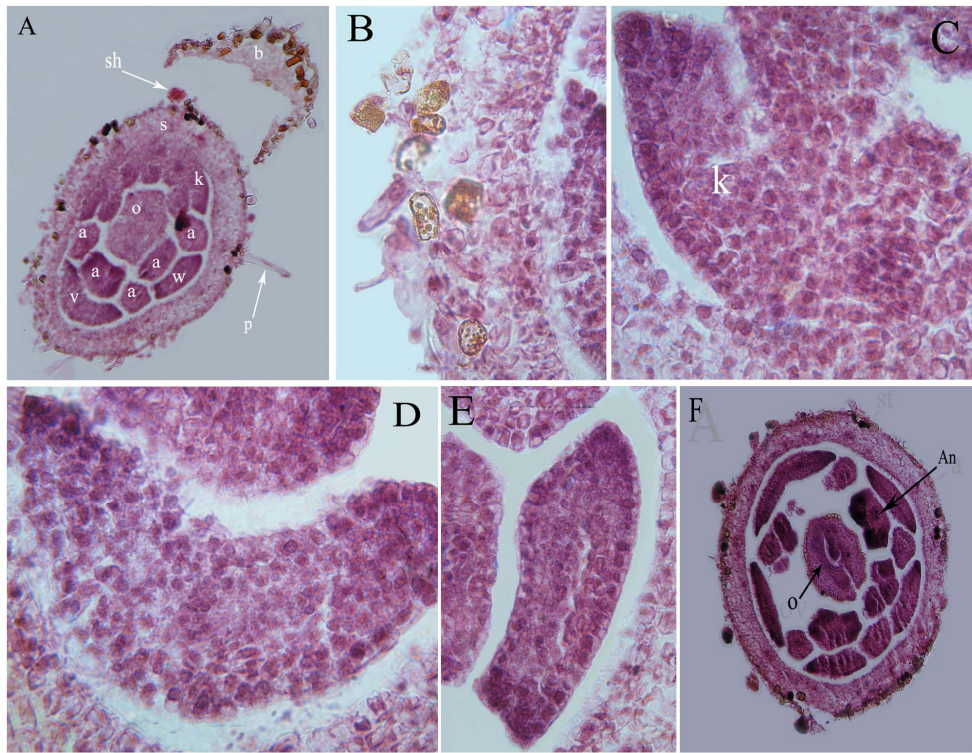
نمو کاسبرگ‌ها نسبت به اندام‌های دیگر زودتر شروع می‌شود و زمانی که هنوز در سایر اندام‌ها تمایز بافتی رخ نداده است، کاسبرگ‌ها تمایز خود را شروع می‌کنند و حتی در اپیدرم آن‌ها می‌توان سلول‌های تمایز یافته با محتویات مواد فنلی (تاننی) و مواد با زیربنای چربی را دید. ویژگی دیگر کاسبرگ‌ها داشتن کرک‌های ترش‌حی 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 بافت‌های تشکیل دهنده) در مقایسه با عرض آن به نسبت بیشتر است و در رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین سلول‌های آن با هسته‌های حجیم و فضای بین سلولی کم، رنگ‌پذیری بالایی نشان می‌دهند. شدت رنگ‌پذیری در دو گوشه (لبه) گل‌برگ بیشتر مشاهده می‌شود (شکل ۴ D و A). شرایط نموی دو گلبرگ ناو و بال تفاوت شاخصی با درفش نشان نداد و به طور چشمگیر در دو لبه هر سه نوع گل‌برگ رنگ‌پذیری بالاتر دیده می‌شد که نشان‌دهنده تقسیمات سلولی فراوان در این بخش‌هاست. ویژگی عمده ناوها این است که از همان مراحل اولیه نمو، جدا از یکدیگر هستند. سلول‌های اپیدرمی در هر سه نوع گل‌برگ به صورت استوانه‌ای، با رنگ‌پذیری بالا و هسته متمایل به سمت قاعده هستند (شکل ۴ C-E).

به تدریج همزمان با تشکیل بافت اسپوروژن در کیسه‌های گرده بساک، گسترش گل‌برگ‌ها و رنگ‌پذیر بودن آن‌ها در دو لبه ادامه دارد که نشانه تقسیم سلولی در این محل‌ها است، اما کشیدگی آن‌ها به حدی نیست که همپوشانی انجام شود، بنا بر این در یک حلقه دیده می‌شوند (شکل ۴ F).

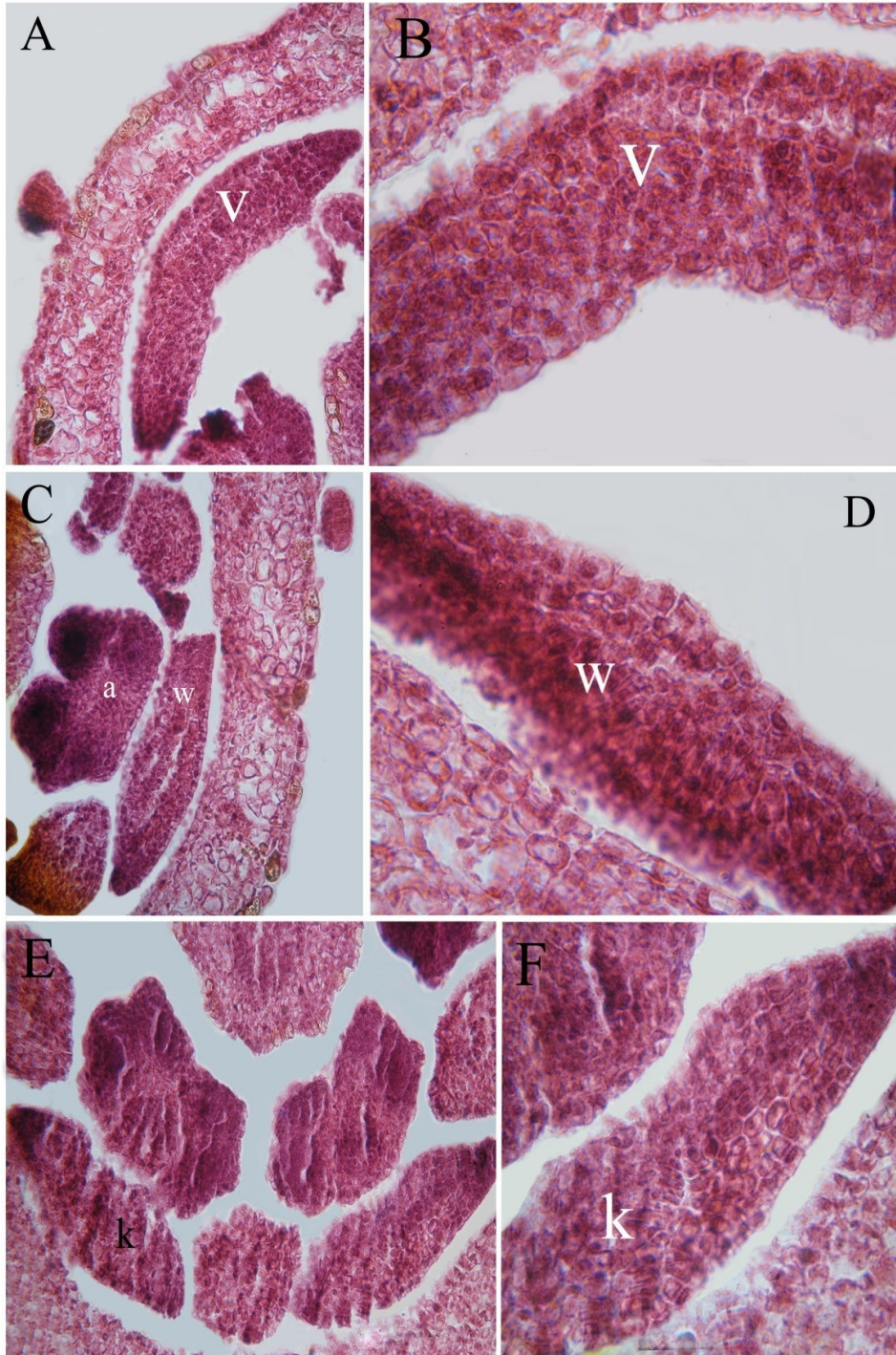
در این مرحله در بافت اپیدرم بیرونی گل‌برگ درفش، دیواره بیرونی حالت برآمده و برجسته دارد و هسته‌ها بزرگ و پررنگ هستند و در بافت اپیدرم درونی سلول‌ها با نظم بیشتری قرار دارند و حجیم‌تر و مشخص‌تر هستند. در این سلول‌ها هسته‌ها حجیم و قاعده‌ای هستند. بافت پاراتشیمی درفش نیز جز افزایش فضای بین سلولی در برخی بخش‌ها تمایز خاصی نشان نمی‌دهد (شکل ۵ A, B). در بافت اپیدرم بیرونی بال همانند درفش، سلول‌ها منظم و پررنگ هستند. سلول‌های اپیدرم درونی کم‌رنگ‌تر، منظم‌تر و دارای سیتوپلاسم شفاف و هسته مشخص هستند (شکل ۵ C, D). در کل، پاراتشیم درونی بال نسبت به دیگر بافت‌ها پررنگ‌تر است. اپیدرم درونی ناو نیز مشابه بال است، با این تفاوت که این سلول‌ها کوچک‌تر هستند. در گل‌برگ ناو سلول‌های اپیدرم بیرونی کشیده‌تر هستند و دیواره طولی آن‌ها مماس با فضای بین‌سلولی است (شکل ۵ E, F).

با افزایش نمو، همزمان با مرحله میکروسپورزایی در بساک، گل‌برگ‌ها به مقدار زیادی توسعه و همپوشانی یافته (شکل ۸ F) و فضای بین‌سلولی توسعه یافته‌ای نیز در بافت زمینه‌ای آن‌ها دیده می‌شود. در بافت گل‌برگ ناو تعداد و میزان توسعه این فضاها بیشتر از بقیه گلبرگ‌ها است (شکل ۶ A-F). در بافت اپیدرم درونی هر سه گل‌برگ سلول‌ها مشخص‌تر شده‌اند، اما دیواره آن‌ها همچنان حالت برآمده دارد و اپیدرم بیرونی به حالت یک ردیف سلول خطی دیده می‌شود (شکل ۶ B, D, F). به تدریج همپوشانی گل‌برگ‌ها بیشتر می‌شود به طوری که درفش گسترده می‌شود و به طور تقریبی تمام اندام‌های درونی را در برمی‌گیرد، گسترش درفش از سطح پشتی امتداد می‌یابد، بال‌ها در دو سطح جانبی و ناو در سطح شکمی قرار می‌گیرند و با درفش احاطه می‌شوند (شکل ۸ J). فضای بین سلولی هر سه گل‌برگ به خصوص بال‌ها به بیش‌ترین مقدار می‌رسد و علاوه بر فضاهای خالی در بافت زمینه، تعدادی از فضاها با موادی به رنگ قرمز روشن نیز دیده می‌شوند. همانند فضاهای بین سلولی، تعداد این لکه‌های قرمز رنگ در گل‌برگ بال بیشتر از بقیه گل‌برگ‌ها است (شکل ۷ A-E).



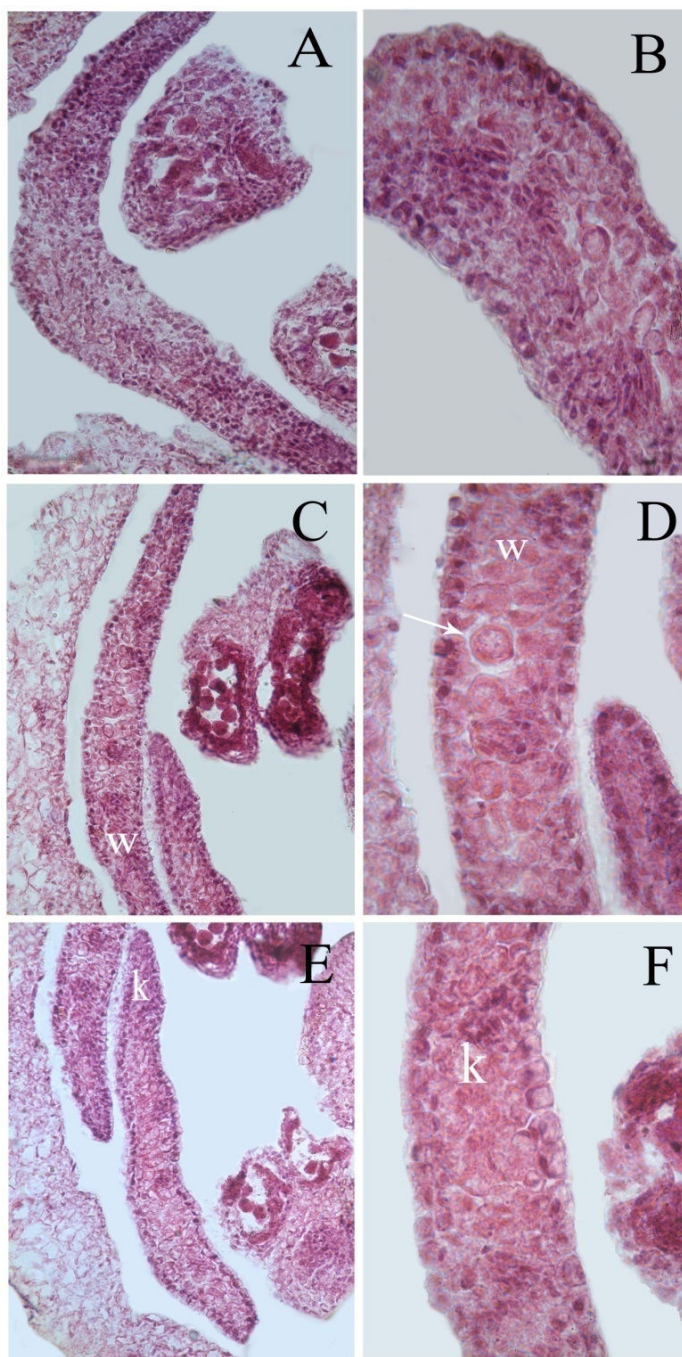
شکل ۴. ساختار تشریحی غنچه جوان گل شیرین‌بیان

A. برش عرضی گل در مرحله‌ای 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 = پراکته، v = درفش، w = بال، k = ناو، o = تخمدان، s = کاسبرگ، p = کرک پوششی، sh = کرک ترش‌سوی.



شکل ۵. ساختار تشریحی گل‌پوش در گل شیرین‌بیان در مرحله بافت اسپروژن

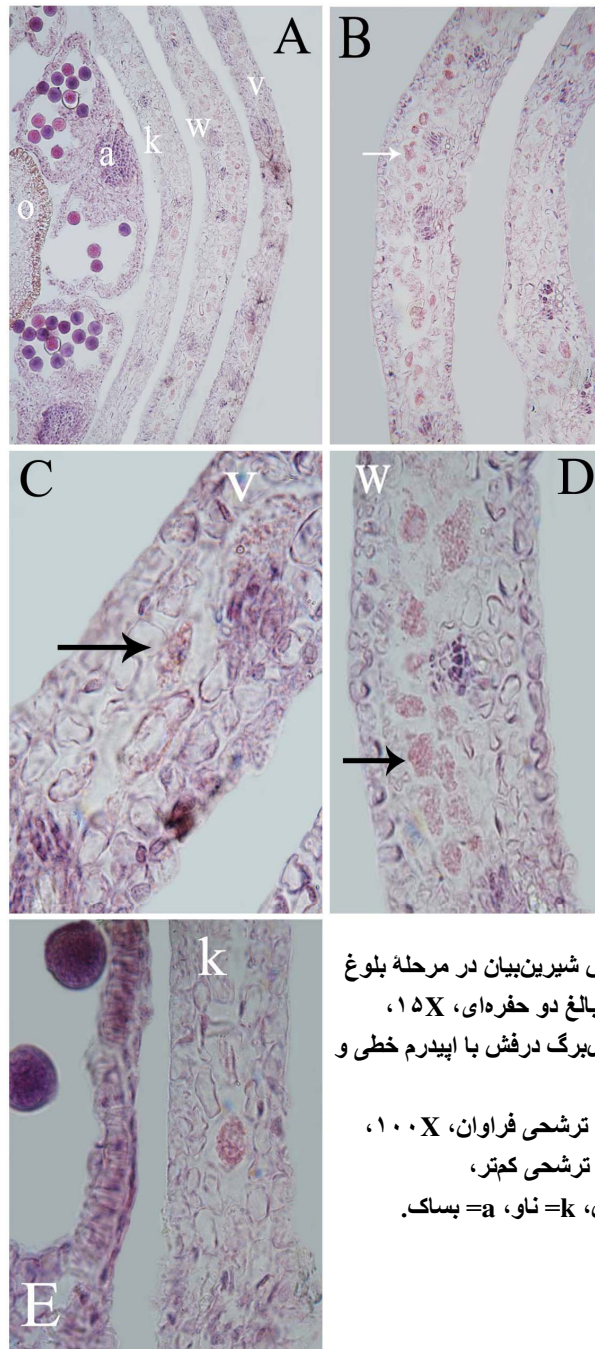
A- F به ترتیب ساختار درفش، درفش، بال، ناو و ناو، همچنین در شکل A کاسبرگ‌های به هم پیوسته با کرک ترش‌دی دیده می‌شوند، بزرگ‌نمایی A, C, E برابر ۴۰X و B, D, F و ۱۰۰X. v= درفش، w= بال، k= ناو، a= بساک.



شکل ۶. ساختار گلپوش شیرین بیان در مرحله میکروسپورزایی

A, B. درفش، تعداد کمی ساختارهای ترشعی در آن دیده می شود، به ترتیب ۴۰X و ۱۰۰X، C, D - گل برگ بال، ساختارهای ترشعی 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 گل پوش شیرین بیان در مرحله بلوغ  
 A. ساختار گل پوش و بساک بالغ دو حفره‌ای، ۱۵X،  
 B. ساختار بال، ۴۰X، C. گل برگ درفش با اپیدرم خطی و  
 فضای بین سلولی، ۱۰۰X،  
 D. ساختار بال با ساختارهای ترشعی فراوان، ۱۰۰X،  
 E. ساختار ناو با ساختارهای ترشعی 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 اسپروژن، 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).

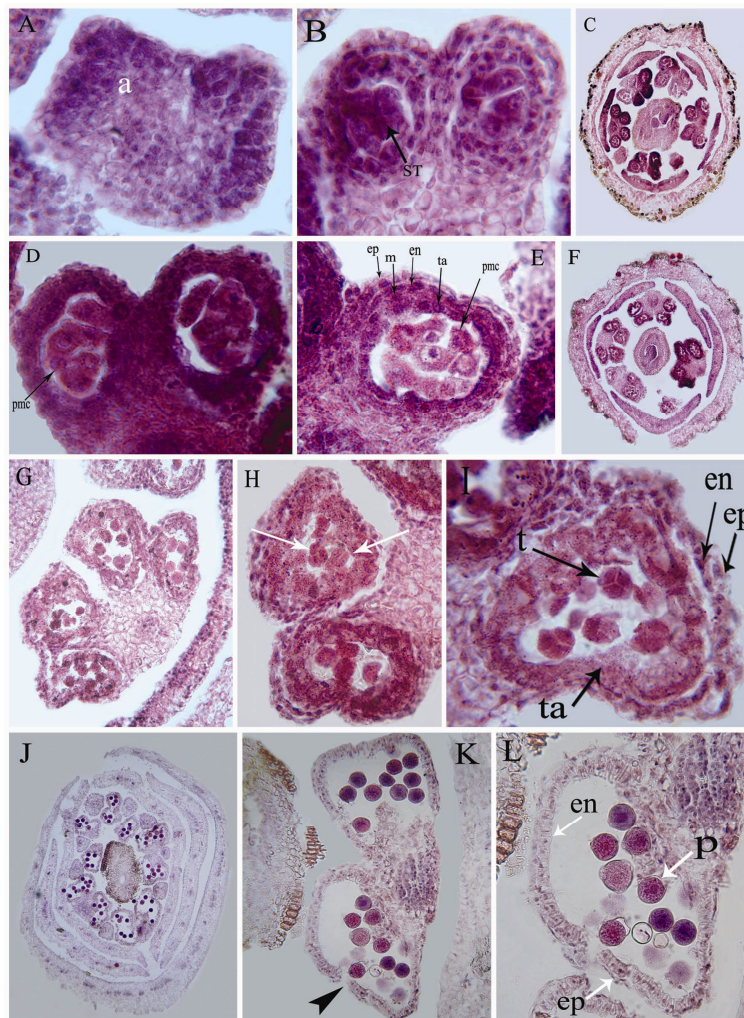
پس از مرحلهٔ تتراد، میکروسپورهای آزاد وارد حفرهٔ کیسهٔ گرده می‌شوند (شکل ۸ J-L). ضمن بلوغ بساک و تمایز دانه‌های گرده، لایه‌های دیواره‌ای بساک به جز لایهٔ مکانیکی که زیر بشره قرار دارد، از بین می‌رود که این لایه دارای تزئینات فیبری است. در این مرحله بافت جداکنندهٔ بین دو کیسهٔ گرده هر خانهٔ بساک نیز تجزیه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

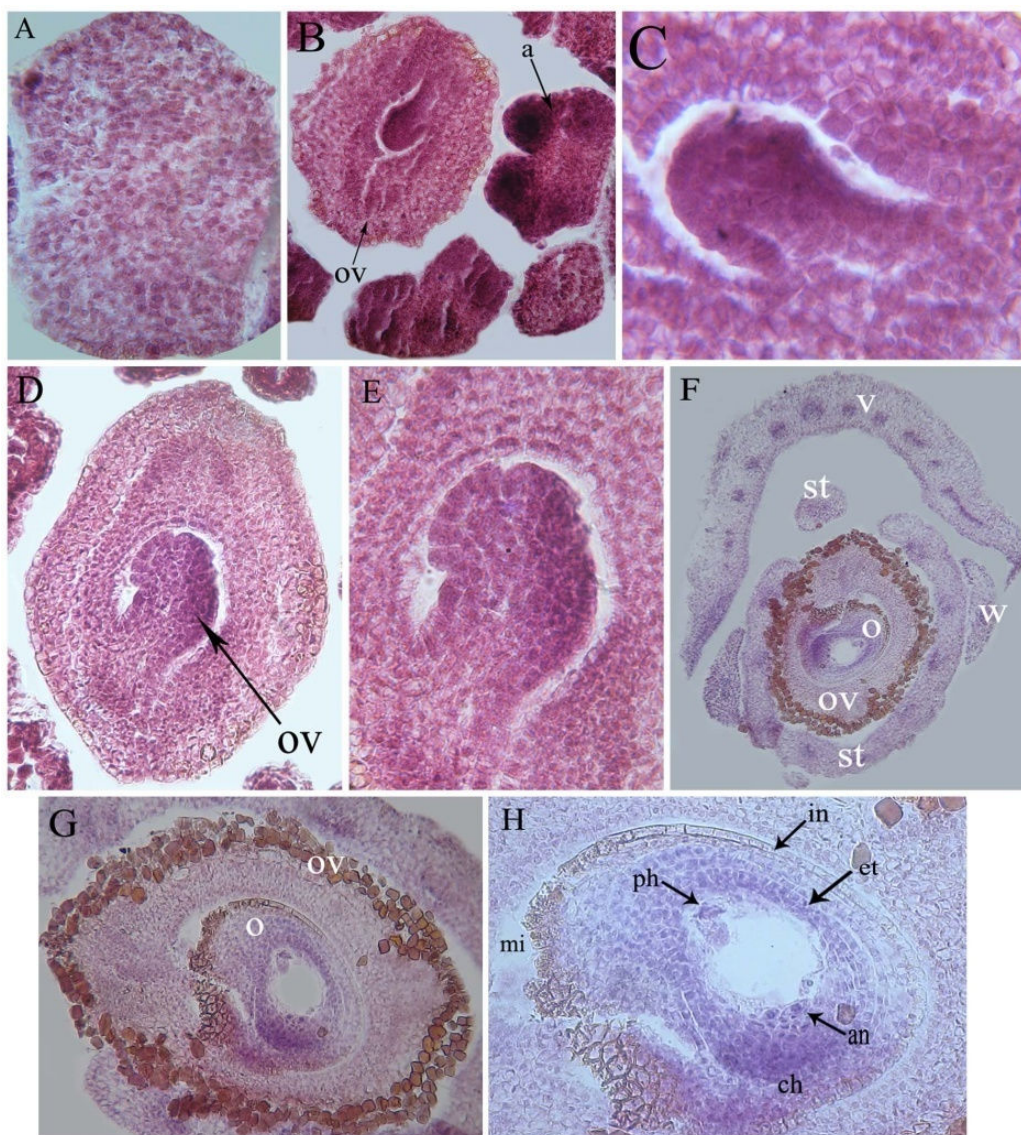
پس از مرحلهٔ تتراد هم‌زمان با بلوغ بساک و دانهٔ گرده، در تخمدان نیز واژگونی تخمک به خوبی قابل تشخیص است و اپیدرم آن از سفت به سمت بند متمایز می‌شود (شکل ۱۰ D-F). میزان تمایز اپیدرم تخمدان نیز افزایش می‌یابد به طوری که یک تا چند ردیف سلول متمایز را می‌توان مشاهده کرد (شکل ۹ F-H). در مرحلهٔ بلوغ کیسهٔ 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 میکرواسپور،  $200\times$ . 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 رأسی،  $10\times$ . 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 میکرواسپور، m = لایه میانی، t = تتراد میکرواسپورها.



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 زمینه‌ای تخمدان در مراحل اولیه تشکیل تخمک، ۲۰۰X، D. تخمدان با تخمک که برجستگی بافت تخمک در حال رشد است، ۴۰X، E. تخمک با خمیدگی بیشتر، بزرگ‌نمایی، 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 سلول‌های متقاطع در قطب شالازی و سلول‌های سینرژید در قطب میکروپیلی، ۱۰۰X. ov = تخمدان، o = تخمک، in = پوسته تخمک، et = اپیتلیال، ph = دستگاه سلول تخمزا، mi = قطب میکروپیلی، an = سلول‌های متقاطع، ch = قطب شالازی، st = میله پرچم، v = درفش، w = بال.

### نمویافته‌های ترش‌حی

گل شیرین‌بیان کرک‌های ترش‌حی فراوان دارد که باعث چسبناکی بیش از حد کاسه، جام گل و اندام‌های دیگر می‌شود. در پژوهش انجام شده روی گل این گیاه در کاسه گل، جام گل و اپیدرم بیرونی تخمدان کرک‌های ترش‌حی فراوان مشاهده شد و نیز در قسمت قاعده گل شیرین‌بیان یکسری غدد ترش‌حی دیده شدند.

### کرک‌های ترش‌حی کاسه گل

برخی از سلول‌های اپیدرم کاسبرگ تقسیم سلولی انجام داده و چندین سلول به‌صورت توده‌ای به‌وجود می‌آید (شکل ۱۰ A)، که سپس سلول‌های رأسی تقسیمات شعاعی (آنتی‌کلینال) انجام داده و در سطح توده به‌صورت خطی قرار می‌گیرند (شکل ۱۰ B). این سلول‌ها مستطیلی شکل و از دیواره شعاعی به‌هم مرتبط هستند و یک حالت مسطح به سطح کرک می‌دهند (شکل ۱۰ C). این کرک‌های ترش‌حی در رنگ‌آمیزی با همتوکسیلین و اوزین به رنگ بنفش تیره دیده می‌شوند (شکل ۱۰ A-D)، اما در رنگ‌آمیزی با فلوروگلوکوسینول هیچ رنگ‌پذیری در این بخش‌ها دیده نشد. این کرک‌ها بدون رنگ‌آمیزی به رنگ قهوه‌ای دیده می‌شوند (شکل ۱۰ E). برخی از کرک‌های ترش‌حی در رأس کروی نیستند بلکه چوگانی شکل هستند.

### کرک‌های پوششی کاسه گل

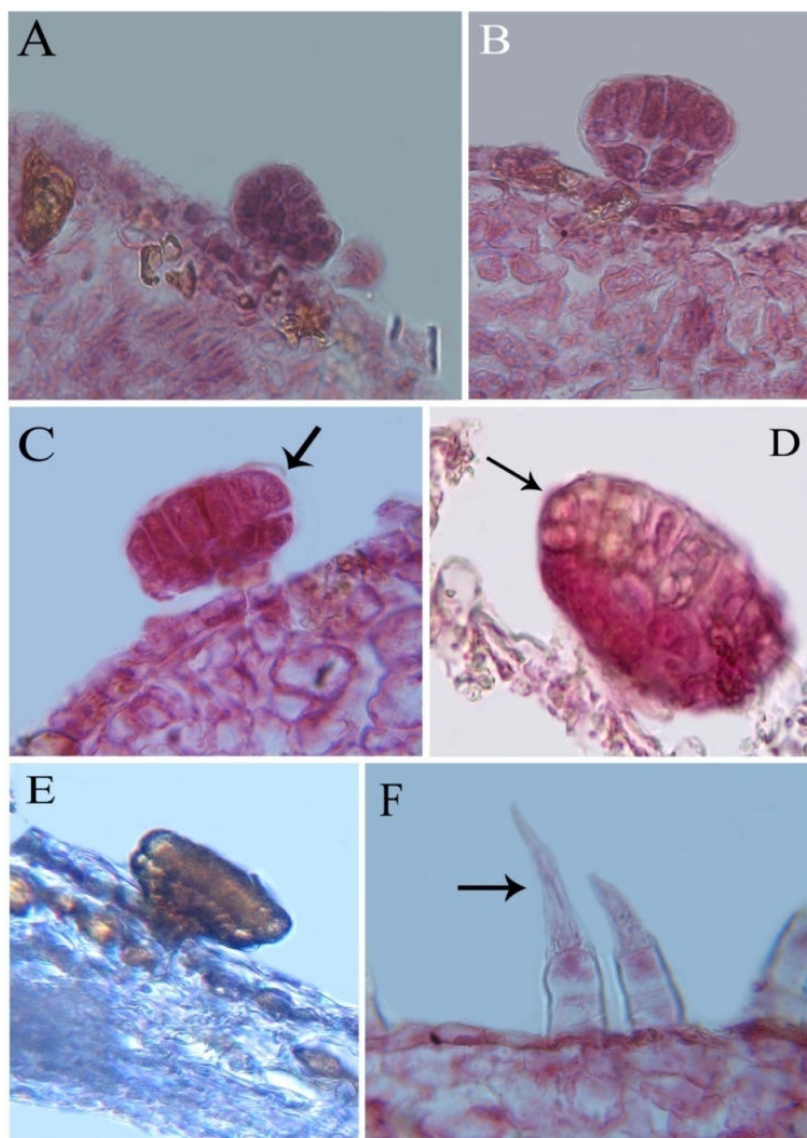
در سطح خارجی اپیدرم کاسه گل علاوه بر کرک‌های ترش‌حی کرک‌های پوششی نیز دیده می‌شوند. این کرک‌ها به‌طور معمول دوسلولی هستند که سلول پایینی به‌عنوان پایه عمل می‌کند و سلول بالایی نوکتیز است (شکل ۱۰ F).

### کرک‌های ترش‌حی مادگی

کرک‌های مربوط به مادگی در منطقه انتهایی تخمدان و ابتدای خامه و نیز در قسمت مربوط به انتهای خامه که نزدیک کلاله است فراوان دیده می‌شوند (شکل ۲ G-I و ۱۱ A, F). برخی از این کرک‌ها پس از تبدیل تخمدان به میوه نیام نیز روی سطح میوه دیده می‌شوند. نمو و بلوغ کرک‌ها مستقل از مراحل نموی اندام‌های دیگر گل است یعنی از همان مراحل اولیه بلوغ کرک‌هایی با مراحل نموی پیشرفته‌تر دیده می‌شود.

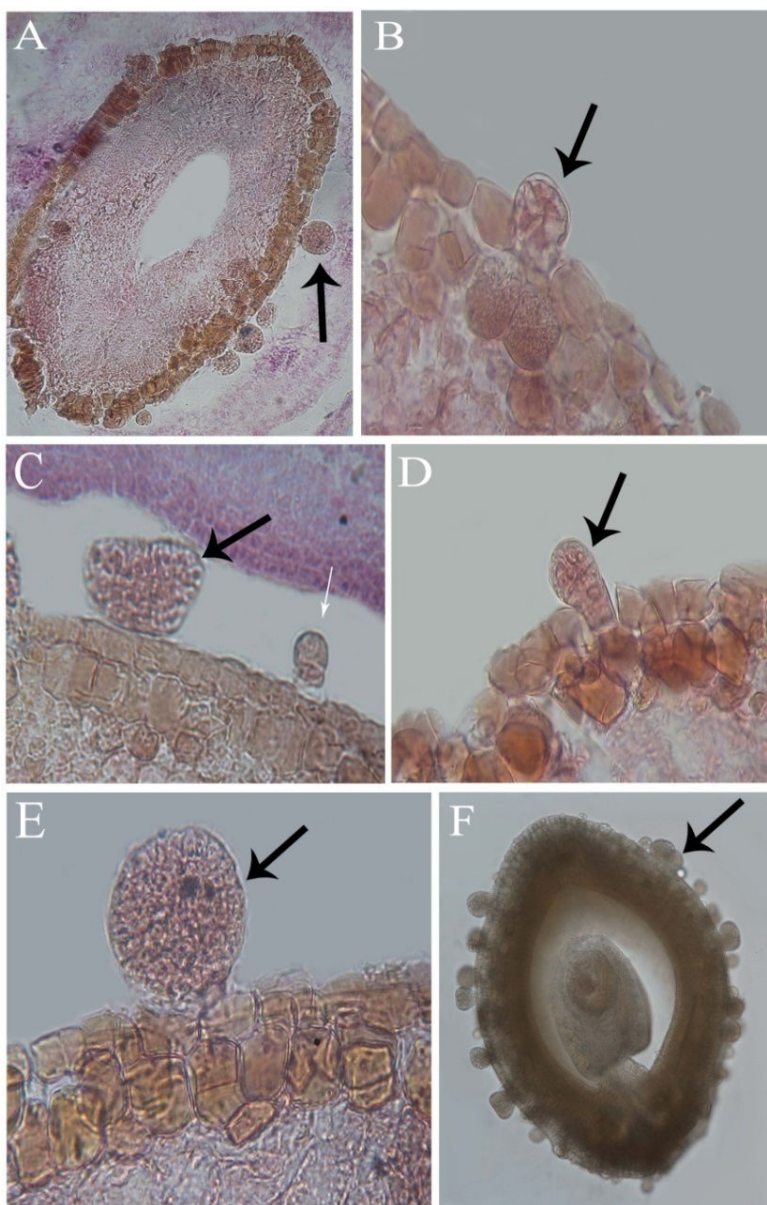
نمو کرک‌ها بدین شکل است که ابتدا یک سلول از سلول‌های بشره‌ای تقسیم مماسی انجام می‌دهد و دوسلولی می‌شود (شکل ۱۱ B، پیکان) و با انجام تقسیمات بعدی ابتدا یک بخش ۱ یا ۲ سلولی به وجود می‌آید (شکل ۱۱ C، پیکان سفید) سپس سلول‌های رأسی تقسیمات شعاعی (آنتی‌کلینال) را انجام داده و یک پایه یک یا دوسلولی با سر کروی بسیار کوچک متشکل از چند سلول را به وجود می‌آورند (شکل ۱۱ D، پیکان سیاه)، این قسمت به تدریج با انجام تقسیمات بعدی کروی می‌شود (شکل ۱۱ E). در برخی موارد قسمت رأسی سرکرک حالت مسطح به خود می‌گیرد (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 ترش‌چی داشته باشند (شکل ۱۱ A-F).



شکل ۱۰. کرک‌های ترش‌چی 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،  $200\times$ . C. سلول‌ها توسعه پیدا می‌کنند و سطح صافی را به کرک می‌دهند،  $160\times$ . D. کرک ترش‌چی بالغ رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین،  $200\times$ . E. کرک ترش‌چی بالغ بدون رنگ‌آمیزی،  $40\times$ . F. کرک پوششی،  $200\times$ . پیکان‌ها در شکل C, D نشان‌دهنده کرک‌های ترش‌چی و در شکل F نشان‌دهنده کرک‌های پوششی هستند.



شکل ۱۱. برش عرضی تخمدان و ساختار کرک‌های ترش‌هی آن در گل شیرین بیان  
 A. نمای کلی تخمدان دارای تعدادی کرک ترش‌هی در اندازه‌های مختلف،  $40\times$ ، B. توده سلولی در مراحل اولیه نمو کرک ترش‌هی،  $160\times$ ، C. کرک با پایه کوتاه و سر مسطح (پیکان سیاه) و کرک در حال نمو ۱-۲ سلولی (پیکان سفید)،  $120\times$ ، D. کرک با پایه کوتاه و سر کروی شکل،  $160\times$ ، E. انواع کرک‌های ترش‌هی با سر مسطح و کروی،  $200\times$ ، F. تخمدان بدون رنگ‌آمیزی،  $40\times$ . پیکان‌ها نشان‌دهنده کرک‌های ترش‌هی تخمدان هستند.

### بحث

در شیرین بیان ساختار گل از الگوی کلی موجود در پروانه آسا پیروی می‌کند و تقارن دوجانبی پشتی-شکمی دارد [۲۵] که یک نوع سازگاری تکاملی است که دگرلقاحی را از طریق جذب گرده‌افشان‌ها آسان می‌کند [۲۹].

از طرفی این پدیده عامل انتخاب گروه کمتری از گرده‌افشان‌هاست. به‌منظر می‌رسد زنبورهای بزرگ، گرده‌افشان‌های اصلی گل‌های نامتقارن باشند [۶]. زنبورها شکل‌های پیچیده را به راحتی تشخیص می‌دهند و بنا بر این تقارن دو جانبی<sup>۱</sup> بسیاری از گل‌های لگومها را خوب می‌شناسند [۲۳].

در بررسی مورفولوژیکی مشخص شد که گلبرگ‌های بال پررنگ‌تر از گلبرگ‌های دیگر هستند و در ساختار تشریحی آن‌ها نیز ساختارهای ترش‌تری فراوان وجود دارند که به‌منظر می‌رسد در جذب گرده افشان‌ها موثر باشند. در این جنس، این ساختارها در مرحله تتراد میکروسپورزایی تشکیل میشوند. تجزیه سلولی و تشکیل ساختارهای ترش‌تری در خانواده بقولات بسیار معمول است و در تاکسون‌های مختلفی گزارش شده است [۱۳]. ادغام دو گلبرگ ناو که ویژگی معمول پروانه‌آساها در نظر گرفته شده است، در شیرین‌بیان دیده نشد و به‌عنوان کلید شناسایی جنس شیرین‌بیان استفاده می‌شود [۱].

در حلقه سوم گل، نافه گل قرار دارد که در برش عرضی در بخش قاعده‌ای به‌صورت پیوسته دیده می‌شوند، اما در رأس گل جدا از هم هستند. در شیرین‌بیان، نافه از ۱۰ پرچم تشکیل می‌شود که در مراحل اولیه نمو در دو ردیف ۵ تایی قرار می‌گیرند و بعد با بزرگ شدن نهج این ۱۰ پرچم در یک ردیف به حالت دودسته‌ای به یکدیگر متصل می‌شوند [۲۵]. الحاق پرچم‌ها باعث لوله‌ای شدن آن‌ها می‌شود که ویژگی برجسته در گل‌های پروانه‌آسا است و باعث محدود شدن رفتار گرده‌افشان می‌شود [۶]. پرچم‌ها ناجور شکل<sup>۲</sup> هستند، یعنی میله‌های آن‌ها کوتاه و بلند است و بساک‌ها نیز بزرگ و کوچک هستند. همچنین، مراحل نموی کیسه‌های گرده یک بساک مانند تاکسون دیگر این خانواده نیز ممکن است متفاوت باشد [۲۸]. دیواره‌های بساک از بیرون به‌درون شامل اپیدرم، لایه مکانیکی، لایه میانی با یک ردیف سلول و لایه مغزی هستند [۲]، [۳]، [۹]، [۱۰]، [۱۱]، [۲۵]، [۲۶]، در حالی که در گیاهان دوماسیا میاولی‌نسیس<sup>۳</sup> [۲]، اوریا سینیتا<sup>۴</sup> [۱۱] و سپار تیوم جانسیوم [۱۴] برعکس شیرین‌بیان دو لایه میانی تشکیل می‌شود. بر اساس پژوهش هاردی<sup>۵</sup> و همکاران به‌منظر می‌رسد دیواره کیسه گرده از نوع تک‌لپه‌ای<sup>۶</sup> باشد [۳]. دیواره کیسه گرده در شیرین‌بیان در مرحله سلول مادر مگاسپور تشکیل می‌شود، اما هنوز تمایز کافی ندارند و رنگ‌پذیری مشابهی دارند. لایه مغزی در مرحله تتراد به سلول‌های مستطیلی مشخص تک هسته‌ای تمایز می‌یابد. که از این نظر با اونوبروکیس چاهون‌سیس<sup>۷</sup> متفاوت و با کلادهای<sup>۸</sup> این تیره، بررسی شده مانسانو<sup>۹</sup> و تیسیرا<sup>۱۰</sup> (۲۰۰۸) مشابه است. همچنین، تاپی تک‌هسته‌ای را در اوراریا کرینیتا<sup>۱۱</sup> [۲]، دومازیامیا اولینسیس<sup>۱۲</sup> [۱۱] و دالستدیتا مالمه<sup>۱۳</sup> [۲۶] نیز می‌توان یافت.

عدم تغییرپذیری سلول‌های لایه مغزی تا آخر مرحله تتراد میکروسپورها یک ویژگی غیرمعمول است که در لگوم‌ها دیده می‌شود [۲۸]. در نهان‌دانگان دیگر، لایه مغزی طی مرحله تتراد تجزیه می‌شوند و سلول‌های خود را از دست می‌دهند و تیره کابومباسه<sup>۱۴</sup> حتی لایه مغزی 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 ترشچی، تقسیم سیتوپلاسم همزمان و آرایش میکروسپورها درون دیواره کالوزی چهاروجهی<sup>۱</sup> 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<sup>۲</sup> 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 شیرین‌بیان 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 شیرین‌بیان 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 گریزی شکل<sup>۳</sup> نیز روی سطح خارجی براکته‌ها، کاسبرگ‌ها و تخمدان دیده شد که مانسانو<sup>۴</sup> بر اساس تعریف توماس<sup>۵</sup> (۱۹۹۱)، آن‌ها را کلاتر نامید [۲۸]. کلاترها ساختمان‌های ترشچی 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. Anotropous

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- Caesalpinioideae)", Botany Journal of Linnean Society, 153 (2007) 169-179.
23. Q. C. B. Cronk, "Legume flowers bear fruit", Proceedings of the National Academy of Sciences, 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, "Megasporogenesis, 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.