

مطالعه آغازش و نمو اندام‌های گل در شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.)

شیوا براتی^۱، محمدرضا دادپور^{۲*}، سمیه نقی‌لو^۱ و علی موافقی^۱
^۱ گروه زیست‌شناسی گیاهی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
^۲ گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

چکیده

شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra*) گیاهی علفی چندساله از تیره باقلاییان است. مطالعات مقایسه‌ای تکوین گل برای درک بهتر تکامل گل در زیرتیره‌های این تیره حایز اهمیت است. هدف از مطالعه حاضر، ارایه مسیر تکوینی گل در گونه شیرین بیان به عنوان عضوی از طایفه Galegeae و مقایسه آن با تکوین گل در سایر گونه‌های Papilionoideae است. بدین منظور، جوانه‌های گل در سنین متفاوت جمع‌آوری و در تثبیت‌کننده FAA تثبیت شدند. نمونه‌ها پس از ۲۴ ساعت شستشو داده شدند و پس از فلوس‌زدایی در غلظت‌های متوالی اتانول ۷۰ درصد و اتانول ۹۵ درصد آب‌گیری شدند. رنگ‌آمیزی نمونه‌ها در محلول ۰/۵ درصد نیگروزین در اتانول خالص انجام شد. بارزترین ویژگی‌های تکوین گل در شیرین بیان آغازش پستی-شکمی تک‌جهتی اندام‌ها در حلقه‌های مختلف، هم‌پوشانی در زمان آغازش حلقه‌ها و آغازش زود هنگام برچه است. هم‌پوشانی در جریان آغازش حلقه‌ها و آغازش زود هنگام برچه به عنوان صفتی پیشرفته در اکثر اعضای شاخه فاقد توالی تکرار معکوس (IRLC) از زیرتیره Papilionoideae گزارش شده است. با این حال، عدم وجود آغاز مشترک، شیرین بیان را از سایر گونه‌های مطالعه شده شاخه IRLC متمایز می‌سازد.

واژه‌های کلیدی: آغازش تک‌جهتی، تکوین گل، شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.)، هم‌پوشانی

مقدمه

همچنین، آذربایجان به فراوانی می‌روید. شیرین بیان از جمله گیاهان دارویی خودرواست که در طب سنتی از ریشه و ساقه زیرزمینی آن برای درمان اسپاسم عضلات و تورم، برونشیت، روماتیسم و ورم مفاصل استفاده می‌شود (Jatav et al., 2009؛ Visavadiya et al., 2011). مشخص شده است که ترکیبات موجود در ریشه شیرین بیان می‌تواند در درمان زخم معده و سرطان

شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) گیاهی علفی چندساله از تیره باقلاییان (Fabaceae)، زیرتیره Papilionoideae (پروانه آسا) و طایفه Galegeae است. این گیاه که بومی نواحی جنوب اروپا، شمال آفریقا و نواحی معتدل آسیا است (Mabberley, 2008)، در اکثر نقاط ایران به ویژه نواحی شرقی و شمال شرقی و

در دو دهه اخیر بررسی‌های نسبتاً شایان توجهی روی الگوهای تکوینی گل در تیره باقلاییان انجام شده است. این تیره یکی از تیره‌های بزرگ و مهم گیاهی است که شامل سه زیرتیره: *Caesalpinioideae* (ارغوان) *Mimosoideae* (شب‌خُسب) و *Papilionoideae* است. تنوع بسیاری از لحاظ ساختار رویشی، شکل میوه و گل در بین زیرتیره‌ها وجود دارد. با وجود این، در هر زیرتیره شکل گل‌ها نسبتاً ثابت است (Tucker, 2003). زیرتیره *Papilionoideae* از دو زیرتیره دیگر بزرگتر بوده، شامل ۳۰ طایفه، ۴۵۵ جنس و حدود ۱۲ هزار گونه است. این زیرتیره یک گروه تک‌نیایی (مونوفیلیک) است که بر اساس شواهد مولکولی و ریخت‌شناختی از زیرتیره *Caesalpinioideae* مشتق شده است (Tucker, 2003). نتایج مطالعات تکوینی گل نشان داده است که مواردی از جمله نوع گل آذین، تقارن گل، موقعیت و تعداد اندام‌ها در هر حلقه، الگوی آغازش اندام‌ها، تمایز و تخصص‌یابی و نیز الحاق اندام‌ها برای تفکیک زیرتیره‌های مختلف باقلاییان حایز اهمیت است (Tucker, 2000a, 2000b, 2003). در حالی که در زیرتیره *Papilionoideae* گل‌ها اغلب دارای تقارن پشتی-شکمی هستند، گل‌های زیرتیره *Caesalpinioideae* و *Mimosoideae* دارای تقارن شعاعی هستند (Tucker, 2002b, 2003). با وجود این، برخی گل‌های زیرتیره *Caesalpinioideae* مانند گل‌های *Papilionoideae*، در زمان گل‌دهی تا حدودی تقارن پشتی-شکمی نشان می‌دهند (Tucker, 2002c). موقعیت اندام‌ها نیز از ویژگی‌های متمایزکننده زیرتیره‌های باقلاییان است. در حالی که در زیرتیره *Caesalpinioideae* و *Papilionoideae* کاسبرگ با

معدده نیز مفید واقع شود (Farina *et al.*, 1999). گل‌های این گیاه به رنگ‌های ارغوانی، زرد، بنفش یا آبی مایل به سفید است و به صورت مجتمع در گل آذین خوشه‌ای انتهایی آرایش می‌یابد (McKenna *et al.*, 2002). این گل‌ها مانند سایر گونه‌های *Papilionoideae* نامنظم هستند. جام گل دارای جفت گلبرگ‌های کناری و پشتی موسوم به بال و ناو و یک گلبرگ شکمی موسوم به درفش است. پرچم‌ها ۱۰ عدد و از نوع دیادلف هستند. تخمدان دارای تخمک‌های واژگون و دانه‌ها فاقد آلبومن هستند (Ghahreman, 1998).

امروزه مطالعات تکوینی گل آذین و گل جایگاه ویژه‌ای یافته است و پژوهشگران بر لزوم گسترش این مطالعات به موازات مطالعات ریخت‌شناختی، تشریحی و مولکولی نمو گل تأکید دارند (Smyth, 2005). مطالعه تکوینی گل با تأکید بر توالی و ترتیب شکل‌گیری پیرامون‌های آن می‌تواند ناشناخته‌های زیادی در ارتباط با نحوه نمو گل‌ها آشکار کند و کلیدی برای شرح تکامل گل، به ویژه در گروه‌های نزدیک به یکدیگر باشد. پژوهشگران از چنین مطالعاتی برای تعیین هم‌ساختاری (homology)، تقارب (convergence)، هومئوزیس (homeosis) و پی بردن به چگونگی حذف اندام‌ها بهره‌جسته‌اند (Tucker, 1992). بررسی‌های تکوینی گل همچنین می‌تواند ابزاری مفید برای تعیین درجه وابستگی گیاهان مربوط به یک تیره از نظر تبارزایی باشد. بدین معنی که با مقایسه تکوینی گل در گونه‌های مربوط به یک جنس و یا جنس‌های گوناگون می‌توان به بررسی درجه قرابت آنها بر اساس شاخص‌های تکوینی پرداخت.

ویژگی‌هایی جدیدی در جریان تکوین گل منجر شده است. از آن جمله می‌توان به آغازش و سپس حذف براکتول‌ها (Prenner, 2004)، حالت‌های متنوع وجود براکتول در گل‌های یک گل‌آذین (Naghiloo *et al.*, 2012)، تنوع در الگوهای آغازش اندام‌ها در گل‌های یک گل‌آذین (Naghiloo *et al.*, 2012)، وجود تقارن شعاعی و آرایش‌های گلبرگی متنوع در گل‌های Papilionoideae (Tucker, 2002a) و وجود آغازه‌های مشترک گلبرگ-پرچم (Tucker, 1989؛ Movafeghi *et al.*, 2010؛ Naghiloo and Dadpour, 2010؛ Naghiloo *et al.*, 2011, 2012) اشاره کرد. هیچ کدام از ویژگی‌های یاد شده بدون بررسی تکوینی دقیق قابل شناسایی نیست.

با توجه به اهمیت مطالعه تکوینی گل در تیره باقلاییان و به ویژه زیرتیره Papilionoideae، بررسی‌های تکوینی گل در برخی اعضای تبار IRLC (Inverted Repeat Lacking Clade=شاخه فاقد توالی تکرار معکوس) از زیرتیره Papilionoideae در قالب یک طرح پژوهشی مد نظر قرار گرفت. این تبار که در جریان بررسی‌های مولکولی اخیر بر روی توالی معکوس ۲۵ کیلو بازی در ژنوم کلروپلاست لگوم‌ها شناسایی شده است، در برگرنده طایفه‌های Viciae، Trifolieae، Hedysareae، Galegeae، Cicereae و برخی اعضا طایفه Genisteae از جمله *Wisteria* است. مطالعات تکوینی گل روی برخی از اعضا این تبار نشان‌دهنده وجود اشتراکات قابل توجه از جمله هم‌پوشانی در زمان آغازش اندام‌ها در حلقه‌های مختلف، آغازش زودرس برچه و وجود آغازه‌های مشترک بوده است. در پژوهش حاضر و در ادامه مطالعات انجام شده روی برخی از اعضای تبار

موقعیت مرکزی در حاشیه خلفی دیده می‌شود و در حاشیه شکمی گلبرگ دارای موقعیت میانی است، در زیرتیره Mimosoideae در حاشیه پشتی گل، یک گلبرگ با موقعیت میانی قرار گرفته، در حاشیه شکمی، کاسبرگ واجد موقعیت مرکزی است (Tucker, 2003). الگوی آغازش اندام‌ها نیز از موارد تعیین کننده است. آغازش اندام‌ها در هر حلقه در زیرتیره Papilionoideae از نوع تک جهتی (Tucker, 1984)، در زیرتیره Mimosoideae از نوع همزمان (Ramires-Domenech and Tucker, 1990) و در زیرتیره Caesalpinioideae ترکیبی از الگوی ماریچی و تک جهتی (Tucker, 1991) است. الگوی آرایش گلبرگی نیز در میان زیرتیره‌ها متفاوت است. در زیرتیره Papilionoideae با رشد آغازه گلبرگ‌ها، حاشیه‌های درفش، حاشیه‌های بال‌ها را می‌پوشاند و بال‌ها نیز لبه‌های ناو را احاطه می‌کنند. این الگوی آرایش گلبرگی، الگوی حلزونی نزولی است (Tucker, 2003). عکس این حالت موسوم به حلزونی صعودی در زیرتیره Caesalpinioideae مشاهده شده است (Tucker, 2003). در زیرتیره Mimosoideae هیچ گونه هم‌پوشانی در محل حاشیه‌ها دیده نشده است و حاشیه‌های گلبرگی به شکل مماسی قرار می‌گیرند (Ramires-Domenech and Tucker, 1990).

علیرغم الگوهای ثابت یاد شده برای زیرتیره‌های مختلف، مطالعات نشان داده است که روند تکوین گل از پیچیدگی‌های شایان توجهی برخوردار است. برای نمونه، بررسی‌های انجام گرفته در زیرتیره Papilionoideae وجود انحراف از حالت تک جهتی را در جریان آغازش اندام‌ها آشکار کرده است (Prenner, 2004). این بررسی‌ها همچنین به شناسایی

تصویر نهایی با کیفیت مطلوب ادغام و فرآوری شد (Dadpour *et al.*, 2008).

نتایج

آغازش اندام‌ها (organ initiation)

نخستین اندام‌های شکل گرفته روی آغازه گل کاسبرگ‌ها هستند. آغازش کاسه گل با کاسبرگ پشتی شروع می‌شود (شکل ۱-۱A)، پس از آن دو کاسبرگ جانبی به طور همزمان تشکیل می‌شوند (شکل ۱-۱B) و در نهایت، دو کاسبرگ باقیمانده در بخش شکمی آغازش می‌یابند (شکل ۱-۱C). بنابراین، کاسه گل با الگوی تک جهتی تشکیل می‌شود، بدین معنی که آغازش اندام‌ها از بخش پشتی گل به سوی بخش شکمی و در یک جهت پیش می‌رود. همزمان با آغازش کاسبرگ‌های شکمی، دو آغازه گلبرگ در بخش پشتی ظاهر می‌شوند (شکل ۱-۱B). با فاصله اندکی آغازه پرچم بیرونی پشتی نیز پدیدار می‌شود. همزمان، نخستین نشانه آغازش برچه به شکل برآمدگی کوچکی در مرکز گل نمایان می‌شود (شکل ۱-۱C). آغازش گلبرگ‌ها با تشکیل گلبرگ‌های جانبی ادامه می‌یابد (شکل‌های ۱-۱C، ۱-۱D) و اندکی پس از آن نیز آغازه پرچم‌های بیرونی جانبی ظاهر می‌شود (شکل ۱-۱E). با ادامه تکوین گل در نهایت، آغازه گلبرگ شکمی و آغازه پرچم‌های بیرونی شکمی نیز نمایان می‌شوند (شکل ۱-۱F). بنابراین، الگوی تک جهتی در جریان آغازش گلبرگ‌ها و پرچم‌های خارجی نیز قابل ردیابی است. آغازش پرچم‌های داخلی نسبت به سایر اندام‌ها دیرتر شکل می‌گیرد. بدین معنی که پس از اینکه همه آغازه‌ها کاملاً تفکیک شده و قابل رؤیت شدند،

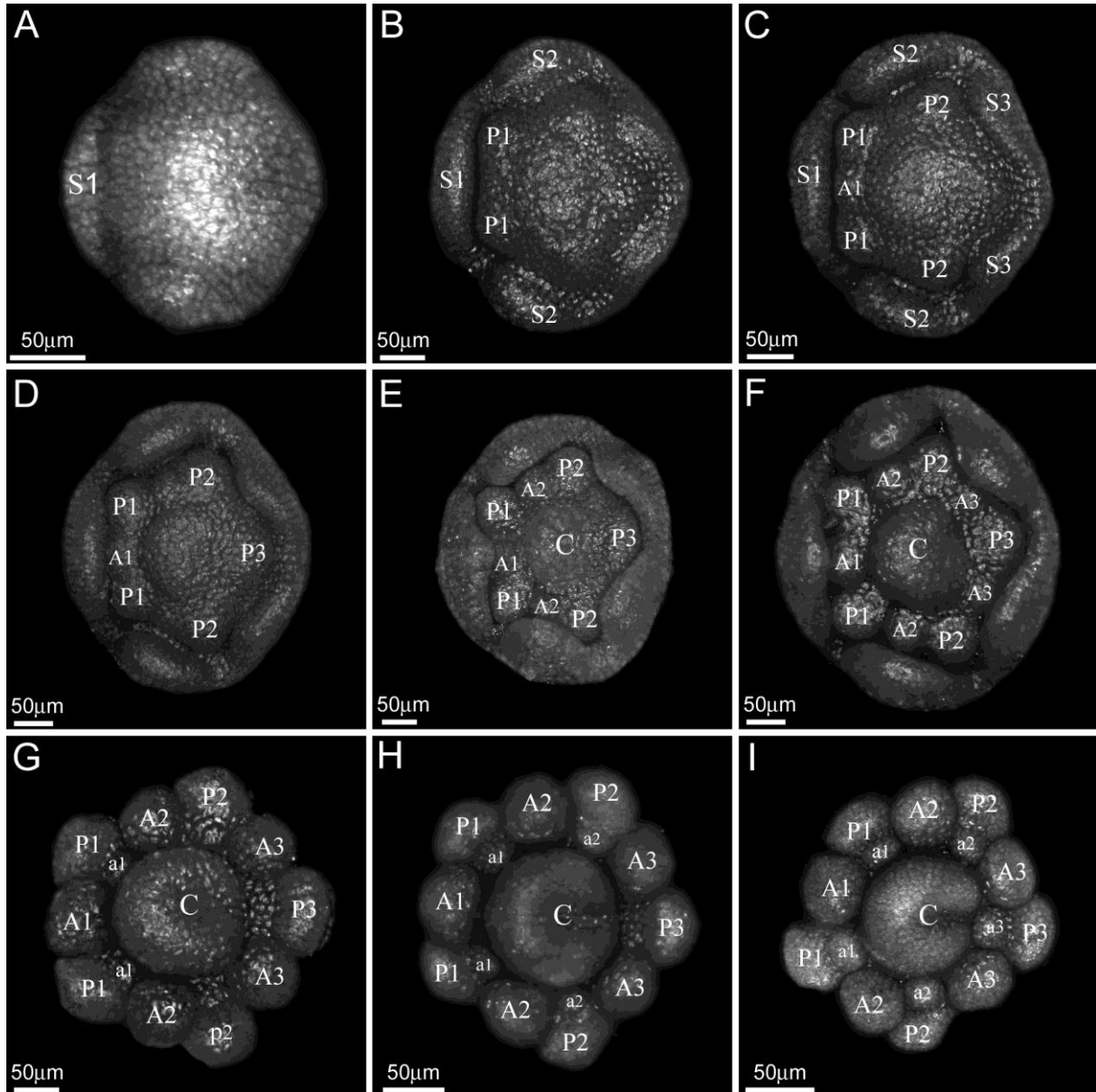
IRLC تکوین گل در گیاه شیرین بیان از طایفه Galegeae بررسی شده است. در این بررسی، برای نخستین بار صفات تکوینی گل در گیاه شیرین بیان مطالعه و الگوهای به دست آمده با سایر گونه‌های Papilionoideae مقایسه شد.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری از اوایل اردیبهشت‌ماه تا اواسط خردادماه سال ۱۳۹۰ در حاشیه شهر وایقان واقع در استان آذربایجان شرقی با موقعیت جغرافیایی ۴۵ درجه ۷۱۰۶ دقیقه طول شمالی و ۳۸ درجه و ۱۳ دقیقه عرض شرقی انجام شد. جوانه‌ها در اندازه‌ها و سنین مختلف جمع آوری و در تثبیت کننده FAA تثبیت شدند. پس از دوره ۲۴ ساعته تثبیت، آب گیری نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در غلظت‌های متوالی اتانول ۷۰ درصد و سپس اتانول ۹۶ درصد انجام شد. با پایان یافتن آب گیری از نمونه‌ها، رنگ آمیزی آنها با نیگروزین ۵/۰ درصد محلول در الکل ۱۰۰ درصد انجام شد (Dadpour *et al.*, 2008). در مرحله بعد، فلس زدایی نمونه‌ها در زیر استرئومیکروسکوپ Nikon SMZ1500 انجام شد. نمونه‌های آماده شده با میکروسکوپ نوری بازتابشی Nikon E600D که دارای فیلتر بازتابشی زمینه تاریک و عدسی‌های شیئی کاتادیوپتريک بود، بررسی شد. بدین منظور، هر نمونه در ظرف مخصوص محتوی اتانول ۹۶ درصد که در بخش مرکزی آن سوزن ظرفی تعبیه شده بود، قرار گرفت. تصاویر خام دیجیتال توسط دوربین Nikon DXM1200 با وضوح ۱۳ مگاپیکسل، از سطوح مختلف نمونه با وضوح متفاوت برداشت شد. لایه‌های تصویری برای بهبود عمق میدان و به دست آوردن

پشتی، سپس پرچم‌های جانبی و در نهایت، پرچم شکمی تشکیل می‌شوند (شکل‌های ۱- I, G).

روند تکوین با آغازش تک جهتی پرچم‌های داخلی پیگیری می‌شود. بدین ترتیب که ابتدا پرچم‌های



شکل ۱- روند آغازش اندام‌های گل. A: ظهور نخستین آغازه کاسبرگ در بخش پشتی، B: تشکیل آغازه کاسبرگ‌های جانبی و پدیدار شدن گلبرگ‌ها در بخش پشتی، C: کامل شدن حلقه کاسبرگی با آغازش کاسبرگ‌های شکمی، D: پدیدار شدن آغازه پرچم‌های بیرونی در بخش پشتی و گلبرگ در بخش شکمی همزمان با ظهور برچه، E: پدیدار شدن آغازه پرچم‌های بیرونی و گلبرگ‌ها در بخش جانبی، F: پدیدار شدن آغازه‌های پرچم‌های درونی در بخش جانبی و پرچم بیرونی در سطح شکمی، G: آغازش پرچم‌های درونی در بخش پشتی، H: آغازش پرچم‌های درونی در سطح شکمی، I: کامل شدن مراحل اندام‌زایی با تشکیل پرچم درونی در سطح شکمی و ظهور شیار برچه. نمادها: A: آغازه پرچم بیرونی، a: آغازه درونی، C: آغازه برچه، P: آغازه گلبرگ، S: آغازه کاسبرگ.

نمو اندام‌ها

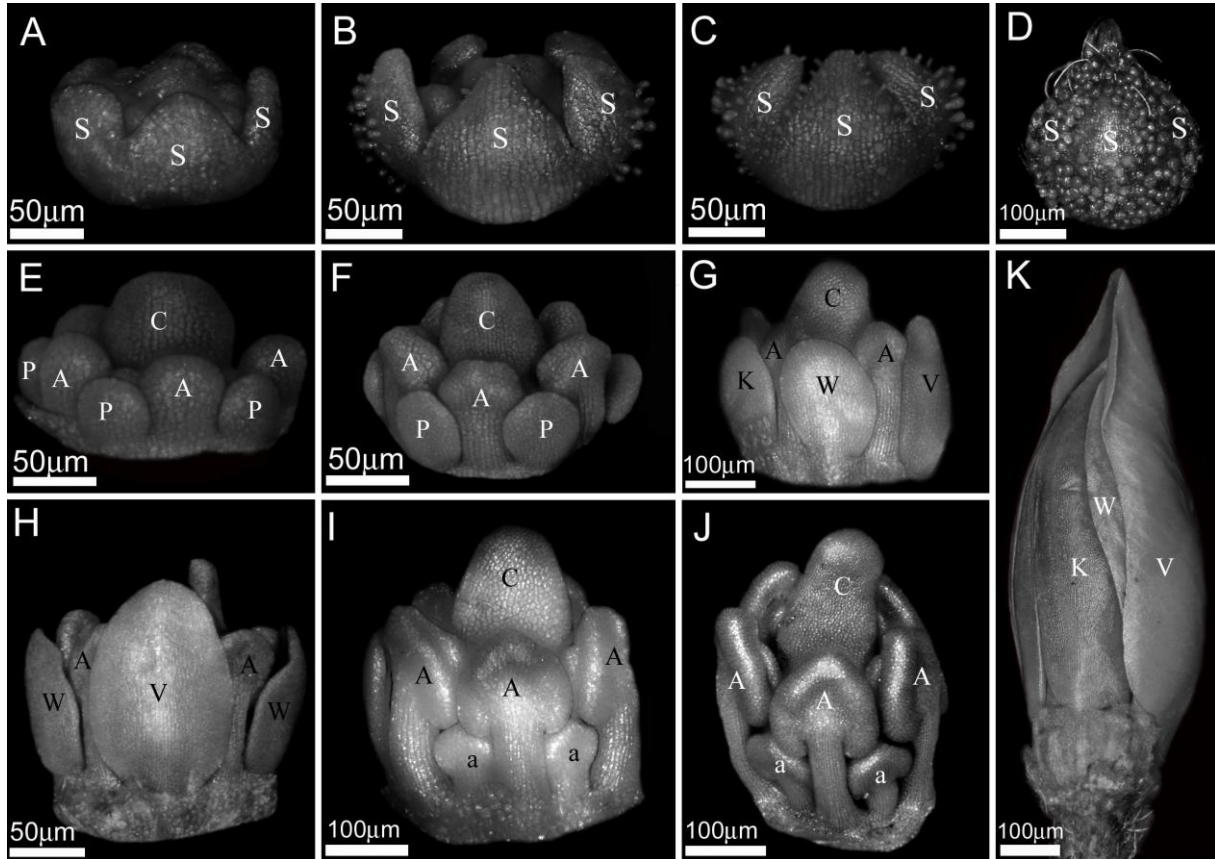
کاسبرگ‌ها به صورت افراشته رشد می‌کنند و به داخل خمیده نمی‌شوند (شکل ۲-۲، A, B). لوله کاسه گل در جریان تمایز رشد یافته، توسط کُرک‌های غده‌ای (glandular trichomes) پوشیده شده و سایر اندام‌ها را احاطه می‌کند (شکل‌های ۲-۲، C, D). آغاز گلبرگ‌ها در مراحل نخستین رشد اندکی دارند، به طوری که پرچم‌ها و برچه با رشد سریع خود بالاتر از گلبرگ‌ها قرار می‌گیرند (شکل ۲-۲، E). در این مرحله، آغاز گلبرگ‌ها شکل و اندازه یکسانی دارند (شکل ۲-۲، F). پس از آن، گلبرگ‌ها شروع به رشد جانبی می‌کنند که در این مرحله گلبرگ درفش بزرگتر از گلبرگ‌های ناو و بال است (شکل‌های ۲-۲، G, H). پس از تمایز کامل پرچم‌ها، هم‌پوشانی گلبرگ‌ها آغاز می‌شود. در این مرحله گلبرگ، درفش دو گلبرگ بال را می‌پوشاند و آنها نیز به نوبه خود دو گلبرگ ناو را در بر می‌گیرند (شکل ۲-۲، K). این نوع الگوی آرایش گلبرگی حلزونی نزولی (descending cochleate) موسوم است. در میان دو حلقه پرچمی، پرچم‌های بیرونی در ابتدا رشد می‌کنند و طویل می‌شوند (شکل ۲-۲، E). پس از آن، نخستین شواهد تشکیل بساک به واسطه گسترش و پهن شدن بخش انتهایی هر پرچم ظاهر می‌شود (شکل ۲-۲، F). بساک‌ها نخست بُن‌چسب (basifixed) هستند (شکل ۲-۲، F)، بدین معنی که میله پرچمی به قسمت قاعده‌ای بساک متصل است. اما در نتیجه رشد تمایزی، محل اتصال میله پرچمی به ناحیه پشتی بساک تغییر می‌یابد و در نتیجه بساک‌ها به حالت پشت‌چسب (dorsifixed) در می‌آیند (شکل

۲-۲، I). در ادامه، بساک‌ها پهن‌تر و شکاف میانی و دو شکاف جانبی در آنها ایجاد می‌شود و بدین ترتیب، تمایز بساک‌ها کامل می‌شود (شکل ۲-۲، J). زمانی که تمایز بساک در پرچم‌های بیرونی کامل می‌شود، آغاز پرچم‌های درونی نیز شروع به رشد می‌کند (شکل ۲-۲، I). تمایز بساک در حلقه پرچم‌های درونی با روندی مشابه پرچم‌های بیرونی انجام می‌شود. با این تفاوت که میله پرچم‌های درونی همواره کوچک‌تر از میله پرچم‌های بیرونی است (شکل‌های ۲-۲، I, J). پس از تمایز کامل دو حلقه پرچمی، به واسطه رشد نهنج، پرچم‌های این دو حلقه در یک ردیف قرار می‌گیرند (شکل‌های ۲-۲، I, J). در مراحل پایانی تمایز، الحاق میله‌های نُه پرچم پشتی اتفاق می‌افتد و پرچم دهم آزاد باقی می‌ماند (شکل ۳-۲، F). بدین ترتیب، غلافی نعل اسبی شکل به نام غلاف آندروسیال تشکیل می‌شود که مادگی را در بر می‌گیرد، ولی در سطح شکمی این غلاف باز است.

برچه که در ابتدا نیم‌کروی شکل است، به تدریج در بخش شکمی فرو رفته و شکافی در آن ایجاد می‌شود (شکل ۳-۲، A). ایجاد شکاف برچه پس از آغازش تمام اندام‌ها اتفاق می‌افتد. طول برچه به تدریج افزایش می‌یابد و شکاف آن نیز عمیق‌تر می‌شود (شکل ۳-۲، B). بسته شدن شکاف برچه از بخش قاعده‌ای آن شروع می‌شود و بخش انتهایی برچه تا مدتی باز باقی می‌ماند (شکل ۳-۲، B). ولی سرانجام شیار برچه به طور کامل بسته می‌شود (شکل‌های ۳-۲، C, D). پس از آن، نوک برچه به سمت حاشیه شکمی خمیده می‌شود (شکل ۳-۲، E). در مراحل پایانی، تخمدان،

گلبرگ‌ها و پرچم‌ها به وجود می‌آید (شکل ۳-۳-G). بدین ترتیب، قاعده برچه توسط فنجان هیپانتیوم احاطه می‌شود.

خامه بلند و کلاله رأسی دارای پُرز (papillae) قابل مشاهده است (شکل ۳-۳-H). پس تمایز برچه یک هیپانتیوم باریک در نتیجه رشد متمرکز در قاعده



شکل ۲- روند نمو اندام‌های گل. A و B: دید کناری از تشکیل کاسه گل C و D: احاطه شدن کامل گل توسط کاسه گل پوشیده از گُرک، E: نمای جانبی در فقدان کاسبرگ‌ها از رشد آغازه پرچم‌ها و گلبرگ‌ها، F: شروع تمایز بساک و تشکیل شکاف میانی در بساک پرچم‌های بیرونی، G و H: رشد گلبرگ‌ها و ظهور تفاوت در اندازه، I: آغاز تمایز بساک در پرچم‌های درونی، J: تکمیل تمایز دو حلقه پرچمی و قرار گرفتن آنها در یک حلقه، K: همپوشانی میان گلبرگ‌ها. نمادها: A: پرچم بیرونی، a: پرچم درونی، C: برچه، P: گلبرگ، S: کاسبرگ، V: گلبرگ درفش، W: گلبرگ بال، K، گلبرگ ناو.

به واسطه رشد متفاوت گلبرگ‌ها و پرچم‌ها و اتصال نه پرچم پشتی به شکل یک غلاف پرچمی، تقارن پشتی-شکمی تقویت می‌شود. الگوی آرایش گلبرگی در شیرین بیان مانند سایر گونه‌های Papilionoideae از الگوی حلزونی نزولی تبعیت می‌کند. این حالت بر خلاف حالت حلزونی صعودی است که در زیرتیره

بحث

اصول کلی تکوین گل در شیرین بیان مشابه سایر گونه‌های Papilionoideae است و گل‌ها در جریان تکوین به وضوح از تقارن پشتی-شکمی برخوردارند (Tucker, 1999). در واقع، آغازش تک جهتی کاسبرگ‌ها نخستین نمود این نوع تقارن است که بعدها

اندام‌ها در گونه‌های Papilionoideae معرفی کرده است. پیشنهاد شده است که الگوی تک جهتی آغازش اندام‌ها در Papilionoideae حالتی پیشرفته است که از الگوی ماریچی در زیرتیره Caesalpinioideae تکامل یافته است. با وجود این، تاکنون انحراف از آغازش تک جهتی در گونه‌های مختلف Papilionoideae گزارش شده است (Prenner, 2004).

Caesalpinioideae مشاهده می‌شود و در جریان آن نخست حاشیه‌های گلبرگ ناو، حاشیه‌های دو گلبرگ بال را می‌پوشاند و بال‌ها نیز حاشیه‌های درفش را در بر می‌گیرند (Tucker, 2003). آغازش اندام‌ها در همه حلقه‌های گل شیرین بیان روندی تک جهتی را نشان داد. این نتایج در توافق با نظریه Tucker (۱۹۸۴) است که الگوی تک جهتی را به عنوان الگوی غالب آغازش



شکل ۳- روند آغازش اندام‌های گل. A: تشکیل شیار برچه، B: عمیق شدن شیار برچه و شروع بسته شدن آن از قسمت قاعده‌ای، C و D: دید پشتی و شکمی از طویل شدن برچه. انسداد کامل شیار برچه در شکل D مشخص است، E: تورم انتهای برچه و آغاز تمایز کلاله، F: تشکیل لوله پرچمی با اتصال بخش قاعده‌ای نه پرچم پشتی، G: تشکیل هیپانتیوم، H: مادگی تمایز یافته. نمادها: A: پرچم بیرونی، a: پرچم درونی، C: برچه، Ft: لوله پرچمی، Ov: تخمدان، St: کلاله، SI: خامه.

اندام‌ها در گیاه شیرین بیان نیز مشاهده شد. به استثنای پرچم‌های درونی که با اندکی تأخیر ظاهر می‌شوند، آغازش سایر حلقه‌ها به شکل هم‌پوشان با حلقه پیشین اتفاق می‌افتد.

از دیگر صفات بارز تکوینی گل در اعضای شاخه IRLC وجود آغازه‌های مشترک است. گرچه وجود آغازه مشترک در لگوم‌ها نادر است، اما این ویژگی تاکنون در تیره‌های مختلف گیاهی از جمله در Apiaceae، Araceae، Guttiferae، Lecythydaceae، Losaceae، Myrtaceae، Primulaceae و Saururaceae گزارش شده است (Tucker, 1984, 1989). در میان گونه‌های Papilionoideae، تاکنون وجود دو نوع آغازه مشترک گزارش شده است که هر دو مورد به اعضای شاخه IRLC مربوط است. مشاهده شده است که در *Pisum sativum* و *Medicago truncatula* گلبرگ‌ها و پرچم‌های بیرونی در نتیجه تمایز چهار آغازه مشترک تشکیل می‌شوند (Tucker, 1989)؛ (Benlloch et al., 2003). علاوه بر آن، وجود آغازه مشترک گلبرگ-پرچم درونی نیز اخیراً در گونه‌هایی از *Astragalus* مشاهده شده است (Movafeghi et al., 2010, 2011). در برخی از گونه‌های مطالعه شده نیز هر دو نوع آغازه مشترک یافت شده است (Naghiloo et al., 2012). جالب توجه است که در مواردی مانند *Wisteria sinensis* و *Lotus japonicus* وجود آغازه مشترک منحصر به بخش پشتی گل است و در بخش شکمی و جانبی اندام‌های مربوطه از آغازه‌های مجزا منشأ می‌گیرند (Dong et al., 2005)؛ Naghiloo and Dadpour, 2010). در گیاه شیرین بیان همه اندام‌ها به

گونه شیرین بیان به طایفه Galegeae تعلق دارد. بررسی‌های مولکولی اخیر بر روی توالی معکوس ۲۵ کیلو بازی در ژنوم کلروپلاست لگوم‌ها به شناسایی شاخه‌ای مجزا موسوم به شاخه IRLC (فاقد توالی تکرار معکوس) منجر شده است که در برگیرنده طایفه‌های Galegeae، Hedysareae، Trifolieae، Viciae، Cicereae و برخی اعضای طایفه Genisteae از جمله *Wisteria* است. مطالعات تکوینی گل روی برخی از اعضا این تبار از جمله *Wisteria*، *Astragalus*، *Melilotus*، *Medicago* و *Pisum* نشان‌دهنده وجود برخی مشترکات در خور توجه بوده است. اغلب گونه‌های مطالعه شده وجود صفات پیشرفته‌ای مانند هم‌پوشانی در زمان آغازش اندام‌ها در حلقه‌های مختلف، آغازش زودرس برچه و وجود آغازه‌های مشترک را نشان داده‌اند. هم‌پوشانی در جریان آغازش حلقه‌ها که به نوعی ظهور زودرس تقارن پشتی-شکمی است، تاکنون در گونه‌های مختلف Papilionoideae گزارش شده است (Tucker, 1989). در اکثر اعضای شاخه IRLC میزان هم‌پوشانی در جریان آغازش حلقه‌ها شایان توجه بوده است. در *Astragalus*، *Pisum sativum* و *Medicago sativa* وجود هم‌پوشانی بالا در جریان آغازش حلقه کاسبرگ، گلبرگ و دو حلقه پرچمی دیده شده است (Tucker, 1989)؛ (Movafeghi et al., 2010, 2011)؛ Naghiloo et al., 2012). در *Wisteria* هم‌پوشانی تا حدی بارز است که علیرغم آغازش همه اندام‌ها در سطح پشتی، در سطح شکمی تنها کاسبرگ‌ها آغازش یافته‌اند (Naghiloo and Dadpour, 2010). همگام با اکثر اعضای شاخه IRLC وجود هم‌پوشانی بین آغازش

که گونه‌های ابتدایی فاقد آغازه مشترک هستند و گونه‌های پیشرفته واجد دو نوع مختلف آغازه مشترک هستند. حالت‌های حد واسط نیز در گونه‌های حد واسط قابل ردیابی است. بر این اساس فقدان آغازه مشترک در گیاه شیرین بیان می‌تواند نشان‌دهنده جایگاه ابتدایی آن در میان اعضای شاخه IRLC باشد.

شکل مستقل و بدون دخالت آغازه مشترک تشکیل می‌شوند. نظر به اینکه وجود آغازه مشترک یک صفت پیشرفته در جریان نمو گل تلقی می‌شود، حالت‌های مختلف آغازه مشترک در اعضای شاخه IRLC نشان‌دهنده مراحل تکامل این صفت است و می‌توان آن را به میزان تکامل یافتگی گونه‌ها نسبت داد. به این معنی

منابع

- Benlloch, R., Navarro, C., Beltran, J. P. and Canas, L. A. (2003) Floral development of the model legume *Medicago truncatula* ontogeny studies as a tool to better characterize homeotic mutations. *Sexual Plant Reproduction* 15: 231-241.
- Dadpour, M. R., Grigorian, W., Nazemieh, A. and Valizadeh, M. (2008) Application of epi-illumination light microscopy for study of floral ontogeny in fruit trees. *International Journal of Botany* 4: 49-55.
- Dong, Z. C., Zhao, Z., Liu, C. W., Luo, J. H., Yang, J., Huang, W. H., Hu, X. H., Wang, T. L. and Luo, D. (2005) Floral patterning in *Lotus japonicas*. *Plant Physiology* 137: 1272-1282.
- Farina, C., Pinza, M. and Pifferi, G. (1999) Synthesis and anti-ulcer activity of new derivatives of glycyrrhetic, oleanolic and ursolic acids. *II Farmaco* 53: 22-32.
- Ghahreman, A. (1998) Chromophytes of Iran. Tehran University Press, Tehran (in Persian).
- Jatav, V. S., Singh, S. K., Khatri, P. and Sharma, A. K. (2011) Recent pharmacological trends of *glycyrrhiza glabra* linn. *International Journal of Pharmaceutical Frontier Research* 1: 170-185.
- Mabberley, D. J. (2008) *Mabberley's plant-book: a portable dictionary of plants, their classification and uses*. 3rd edition, Cambridge University Press, Cambridge.
- McKenna, D. J., Jones, K. and Hughes, K. (2002) *Botanical medicines: the desk reference for major herbal supplements*. 2nd edition. The Haworth Herbal Press, New York.
- Movafeghi, A., Dadpour, M. R. and Naghiloo, S. (2010) Floral development in *Astragalus caspicus* Bieb. (Leguminosae: Papilionoideae: Galegeae). *Flora* 205: 251-258.
- Movafeghi, A., Naghiloo, S. and Dadpour, M. R. (2011) Inflorescence and floral development in *Astragalus lagopoides* Lam. (Leguminosae: Papilionoideae: Galegeae). *Flora* 206: 219-226.
- Naghiloo, S. and Dadpour, M. R. (2010) Floral ontogeny in *Wisteria sinensis* (Fabaceae: Faboideae: Millettieae) and its systematic implications. *Australian Systematic Botany* 23: 393-400.
- Naghiloo, S., Dadpour, M. R. and Movafeghi, A. (2012) Floral ontogeny in *Astragalus compactus*. (Leguminosae: Papilionoideae: Galegeae). variable occurrence of bracteoles and variable orders of sepal initiation. *Planta* 235: 793-805.
- Prenner, G. (2004) New aspects in floral development of Papilionoideae: initiated but suppressed bracteoles and variable initiation of sepals. *Annals of Botany* 93: 537-545.
- Ramires-Domenech, J. I. and Tucker, S. C. (1990) Comparative ontogeny of the perianth in mimosoid legumes. *American Journal of Botany* 77: 624-635.

- Smyth, D. R. (2005) Morphogenesis of flowers our evolving view. *The Plant Cell* 17: 330-341.
- Tucker, S. C. (1984) Unidirectional organ initiation in leguminous flowers. *American Journal of Botany* 71: 1139-1148.
- Tucker, S. C. (1989) Overlapping organ initiation and common primordia in flowers of *Pisum sativum* (Leguminosae: Papilionoideae). *American Journal of Botany* 76: 714-729.
- Tucker, S. C. (1991) Helical floral organogenesis in *Gleditsia*, a primitive caesalpinoid legume. *American Journal of Botany* 78: 1130-1149.
- Tucker, S. C. (1992) The role of floral development in studies of legume evolution. *Canadian Journal of Botany* 70: 692-706.
- Tucker, S. C. (1999) Evolutionary lability of symmetry in early floral development. *International Journal of Plant Science* 160: S25-S39.
- Tucker, S. C. (2000a) Evolutionary loss of sepals and/or petals in detarioid taxa *Aphanocalyx*, *Brachystegia*, and *Monopetalanthus* (Leguminosae: caesalpinioideae). *American Journal of Botany* 87: 608-624.
- Tucker, S. C. (2000b) Floral development and homeosis in *Saraca* (Leguminosae: Caesalpinioideae: Detarieae). *International Journal of Plant Sciences* 161: 537-549.
- Tucker, S. C. (2002a) Floral ontogeny in *Sophoreae* (Leguminosae: Papilionoideae): III *Cadia purpurea* with radial symmetry and random petal aestivation. *American Journal of Botany* 89: 748-757.
- Tucker, S. C. (2002b) Comparative floral ontogeny in *Detarieae* (Leguminosae: Caesalpinioideae): I. Radially symmetrical taxa lacking organ suppression. *American Journal of Botany* 89: 875-887.
- Tucker, S. C. (2002c) Comparative floral ontogeny in *Detarieae* (Leguminosae: Caesalpinioideae): II. zygomorphic taxa showing organ suppression. *American Journal of Botany* 89: 888-907.
- Tucker, S. C. (2003) Floral development in legumes. *Plant Physiology* 131: 911-926.
- Visavadiya, N. P., Soni, B. and Dalwadi, N. (2009) Evaluation of antioxidant and anti-atherogenic properties of *Glycyrrhiza glabra* linn root using in vitro models. *International Journal of Food Science and Nutrition* 60(S2): 135-149.

The study of floral ontogeny in *Glycyrrhiza glabra* L.

Shiva Barati ¹, Mohammad Reza Dadpour ^{2*}, Somayeh Naghiloo ¹ and Ali Movafeghi ¹

¹ Department of Plant Science, College of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran

² Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Abstract

Glycyrrhiza glabra L. is a perennial herbaceous plant, belonging to the family Fabaceae and subfamily Papilionoideae. Comparative floral ontogeny is important for better understanding of floral evolution within the subfamilies of Fabaceae. The aim of this study was to present a complete ontogenetic pathway of *G. glabra*, as a member of tribe Galegeae and to compare it with other studied species of the Papilionoideae. For this purpose, flower buds of different ages were collected and then fixed in FAA. After a fixation period of 24 hs, the samples were rinsed and after dissection the samples were dehydrated in sequential ethanol concentrations of 70% and then 95%. The samples were stained with 0.5% nigrosin black in ethanol. The more remarkable features of flower ontogeny were the abaxial-adaxial unidirectional initiation of organs primordia within each floral whorl, high overlap in the time of initiation of whorls and early carpel primordium initiation. The overlapping in time of organ initiation and precocious inception of carpel were advanced characters that were previously reported in the members of inverted repeat lacking clade (IRLC) of Papilionoideae. However, lacking common primordium was the character that distinguished *G. glabra* from other studied species of IRLC.

Key words: Unidirectional initiation, Floral ontogeny, *Glycyrrhiza glabra*, Overlap

* Corresponding Author: dadpour@tabrizu.ac.ir