

مطالعه تکوین پرچم و مقایسه میزان پروتئین دانه گرده گیاه آویشن تفلیسی (*Thymus transcaucasicus*) در دو منطقه آبعلی و رودبار

گلناز تجدد Ph.D.*، احمد مجد Ph.D.، راحله رنجبر M.Sc. Student

– دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، دانشکده علوم زیستی، گروه زیست شناسی، واحد تهران شمال، تهران، ایران

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: tajadodg@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۳/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۷/۱۴

چکیده

هدف: گیاه آویشن تفلیسی با نام علمی *Thymus transcaucasicus* به تیره نعناعیان (Lamiaceae) تعلق دارد. با توجه به اهمیت شناخت مراحل تکوینی گیاهان در گسترش دانش زیست شناسی، برای این تحقیق آویشن تفلیسی که دارای ارزش غذایی، دارویی و اقتصادی زیادی است، انتخاب شد.

مواد و روش‌ها: گل‌ها و غنچه‌ها در مراحل مختلف نمو از گیاهان رویش یافته در دو زیستگاه طبیعی در مناطق آبعلی و رودبار جمع آوری شده در فیکساتور F.A.A تثبیت و در الکل ۷۰ درصد نگهداری شدند. نمونه‌ها پس از قالب گیری در پارافین با میکروتوم برش گیری گردید. رنگ آمیزی با هماتوکسیلین و ائوزین انجام گرفت. برای مشاهده میکروسکوپی دانه گرده از روش استولیز، به منظور مشاهده تزئینات سطح دانه گرده از میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) و جهت مقایسه میزان پروتئین‌های دانه گرده‌ی منطقه آبعلی و رودبار از دو روش الکتروفورز و برادفورد استفاده شد.

نتایج: بساک از نوع چهار کیسه‌ای و دیواره بساک چهار لایه‌ای شامل: اپیدرم، لایه مکانیکی، لایه میانی و لایه تغذیه کننده (تاپی) است. تاپی به صورت ترشحاتی است. دانه گرده در زمان انتشار دارای سه هسته و شش شکاف رویشی و تزئینات سطح دانه گرده از نوع مشبک منفذدار است. میزان کل پروتئین‌های دانه گرده آویشن تفلیسی جمع آوری شده از منطقه آبعلی به میزان قابل توجهی بیشتر از پروتئین‌های دانه گرده گیاه جمع آوری شده از منطقه رودبار بود.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج این پژوهش، بساک با دیواره چهار لایه و تاپی ترشحاتی در آویشن تفلیسی مشاهده شد. پژوهش حاضر اولین مطالعه تکوینی و بررسی میزان پروتئین‌های دانه گرده، *Thymus transcaucasicus* می‌باشد.

واژگان کلیدی: *Thymus transcaucasicus*، دانه گرده، پروتئین، میکروسپورزایی

مقدمه

تیره نعنائیان (Lamiaceae) دارای ۲۳۶ جنس و ۷۱۷۳ گونه در سراسر جهان است که به خصوص در مناطق مدیترانه‌ای پراکنده می‌باشند (۲و۱). گونه‌های مفید فراوانی در این تیره وجود دارد که تعداد زیادی از آن‌ها در پزشکی کاربرد دارند (۴و۳). توسعه علم زیست‌شناسی تکوینی و مطالعه چگونگی و مراحل تکوین اندام‌های تولیدمثلی جهت تلاش برای بقای گیاهان به‌ویژه گیاهان نادر و در حال انقراض و همچنین گیاهان ارزشمند در بخش کشاورزی ضروری است (۵) مطالعات متعددی بر روی خواص ضد میکروبی و اسانس گیاهان تیره نعنائیان انجام شده است. با این حال مطالعات تکوینی و رویان‌شناختی محدودی در این تیره انجام شده است. بنابراین انجام مطالعات تکوینی جدید جهت شناخت هرچه بیشتر گیاهان این تیره ضروری است. قبل از سال ۱۹۴۰ ترکیبات شیمیایی تعداد کمی از دانه‌های گرده گیاهان مشخص شده بود ولی بعد از این سال بسیاری از دانه‌های گرده گیاهان مختلف مورد بررسی و آزمایش قرار گرفتند و ترکیبات شیمیایی آن‌ها مشخص گردیدند (۶). نمونه مورد بررسی در این پژوهش آویشن تفلیسی (Thymus transcaucasicus) گیاهی است بوته‌ای و بسیار منشعب و زمان گل‌دهی اواخر بهار تا اواسط تابستان است. پراکندگی جغرافیایی آن: ترکیه، ایران، قفقاز و رویشگاه‌های گیاه در ایران: گلستان، گیلان، آذربایجان، کردستان و تهران است (۲). دامنه تغییرات ترکیبات شیمیایی دانه‌های گرده در گونه‌های گیاهی مختلف بسیار متفاوت است. دامنه تغییرات میزان پروتئین گرده بین ۷ تا ۳۵ درصد است که با بیش از ۱۰۰۰ نوع آنزیم و فرمنت‌های مختلف فرآیندهای بیوشیمیایی بدن را تقویت کرده و یا سرعت می‌بخشند. در حال حاضر بسیاری از مردم کشورهای اروپایی، روسیه و آمریکای شمالی گرده را به‌عنوان یک غذای تندرستی مصرف می‌کنند (۶). به‌نظر می‌رسد گرده مانند عسل دارای ماده جلوگیری از رشد باکتری‌ها باشد. مصرف تدریجی و مداوم گرده مقاومت را در برابر تهاجمات خارجی مانند سرماخوردگی و گریپ که در فصول خاص شایع می‌شود افزایش داده و از اختلالات داخلی سوخت و ساز مواد نیز جلوگیری می‌کند. به‌همین منظور مطالعه میزان پروتئین‌های دانه گرده گیاهان مختلف ضروری می‌باشد (۶).

مواد و روش‌ها

نمونه‌های مورد بررسی از زیستگاه‌های طبیعی در دو منطقه ۱- آبدلی واقع در استان تهران، شهرستان دماوند، بخش رودهن، ارتفاع از سطح دریا ۲۰۴۳ متر دارای آب و هوای معتدل و نیمه بیابانی. ۲- گیلان، رودبار، کبانه، ارتفاع ۲۴۰۰ متر دارای آب و هوای معتدل و مرطوب جمع‌آوری و با استفاده از فلورهای معتبر شناسایی شدند. غنچه‌ها در مراحل مختلف نموی در محلول تثبیت کننده F.AA (فرمالدئید ۳۷ درصد، ۲ میلی لیتر، اسید استیک خالص ۰/۷ میلی لیتر، اتانول ۹۶ درصد، ۱۷ میلی لیتر) تثبیت شدند. پس از شستشوی نمونه‌ها در آب جاری آبگیری با درصدهای رو به افزایش اتانول شفاف سازی در تولون انجام شد سپس نمونه‌ها در پارافین قالب گیری شدند و از آن‌ها برش‌های عرضی و طولی به ضخامت ۸ تا ۱۲ میکرومتر تهیه شد. پس از پارافین‌زدایی نمونه‌ها با همتوکسیلین-آئوزین رنگ آمیزی شدند (۷). بررسی‌های میکروسکوپی و عکس‌برداری از نمونه‌ها با فتومیکروسکوپ Nikon انجام شد به‌منظور مشاهده مستقیم میکروسکوپی دانه گرده از روش استولیز (ارتمن ۱۹۶۰) استفاده شد (۸). برای مطالعه گرده با میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) استپ‌های حاوی دانه گرده را به دستگاه Putterr Coater انتقال داده و با لایه نازکی از طلا پوشانده تا هادی جریان الکتریسیته شود. بعد از دادن پوشش طلا گرده را درون محفظه میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) دانشگاه تربیت مدرس که ساخت شرکت فیلیپس از کشور هلند و مدل XL30 می‌باشد قرار دادیم و در پایان از نمونه‌ها عکس‌برداری گردید. به‌منظور سنجش و مقایسه پروتئین‌های دانه گرده از دو روش الکتروفورز عمودی (SDS-PAGE) (۹) و برادفورد استفاده شد (۱۰).

نتایج

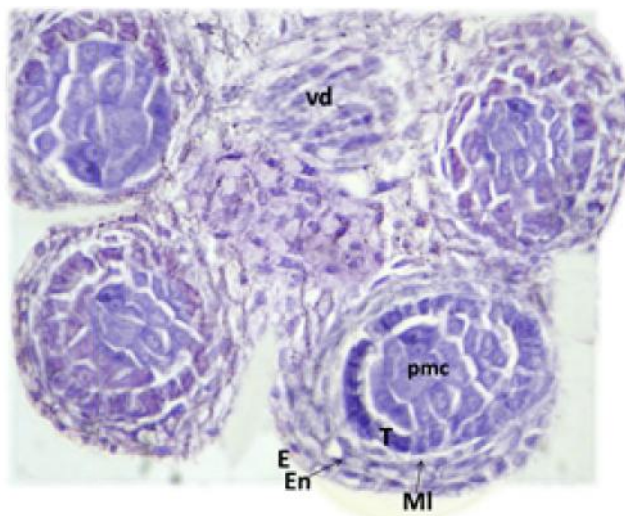
ساختار گل دارای چهار حلقه است (شکل ۱). حلقه کاسبرگی که دارای چهار کاسبرگ، چهار گلبرگ، چهار پرچم دی دینام، طول خامه بلندتر بوده و کلاله بالاتر از پرچم‌های بلندتر قرار می‌گیرد. بساک از نوع چهار کیسه گرده‌ای (تتراسپورانژی) است (شکل ۲). در مراحل اولیه نمو بساک در هر کیسه گرده (میکروسپورانژی) یک گروه از سلول‌های زیر اپیدرمی (آرکتوسپور) تمایز یافته و با تقسیمات مماسی خود به‌سمت درون بافت هاگزا (داخلی) و

گرده بالغ هستند ضمائی از این سلول‌ها به سمت حفره بساک تشکیل می‌شود لایه تاپی در این گونه از نوع ترشحی است (شکل ۵). لایه میانی هم در مراحل اولیه تکوین گرده‌ها به مصرف می‌رسد. در مرحله دانه گرده تک سلولی سلول‌های لایه تاپی تقریباً تحلیل می‌روند اما هنوز بقایایی از آن‌ها قابل مشاهده است. با تکمیل تکوین دانه گرده در دیواره بساک، فقط لایه‌های اپیدرم و مکانیکی باقی می‌ماند (شکل ۴). هم‌زمان با تکوین دانه گرده دیواره بساک به‌ویژه لایه مکانیکی متحمل تغییراتی می‌گردد بدین ترتیب که لایه مکانیکی تکامل می‌یابد و ضخیم شدگی‌های فیبری در دیواره سلول‌های آن به‌خوبی مشهود است (شکل ۴).

به‌سمت بیرون لایه‌های جداری (بیرونی) را تولید می‌کنند. دیواره بساک از تقسیم سلول جداری تمایز می‌یابد که چهار لایه و از بیرون به‌داخل شامل اپیدرم، لایه مکانیکی، لایه میانی (موقت) و لایه مغزی (تاپی) است (شکل ۲ و ۳). هر کدام از لایه‌های ذکر شده از یک ردیف تشکیل شده‌اند. لایه میانی در این گونه گیاهی خیلی نازک و دارای سلول‌های باریک و کشیده می‌باشد. سلول‌های تاپی اغلب تک هسته‌ای و یا متحمل تقسیم میتوزی شده و دو هسته‌ای می‌باشند. این سلول‌ها بافت هاگ‌زای بساک را در بر می‌گیرند (شکل ۵). سلول‌های لایه تاپی در این گونه کروی-بیضی و تا حدی دوکی می‌باشند. در نمونه‌های مورد بررسی در بساک سلول‌های لایه تاپی در جای خود ثابت مانده و تحلیل نمی‌روند و در زمانی که میکروسپورها در حال نمو به دانه



شکل ۱: برش عرضی گل (بزرگنمایی ۱۰×): Se: کاسبرگ، Pe: گلبرگ، An: پرچم، Ca: برچه



شکل ۲: برش عرضی بساک جوان (بزرگنمایی ۱۰×) Pmc: مادر گرده، vd: دسته آوندی، E: اپیدرم، En: لایه مکانیکی، MI: لایه میانی، T: سلول‌های لایه تاپی.



شکل ۳: برش عرضی بساک جوان (بزرگنمایی ۴۰×) Pmc: مادر گرده. vd: دسته آوندی. E: اپیدرم. En: لایه مکانیکی. MI: لایه میانی. T: سلول‌های لایه تاپی.



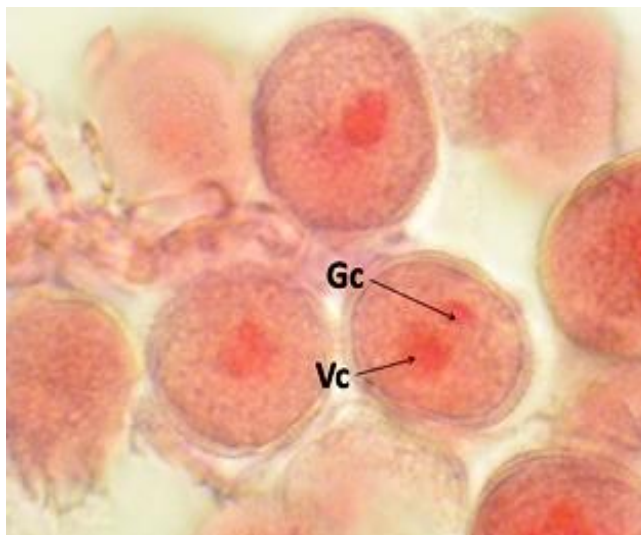
شکل ۴: برش میکروتومی بساک (بزرگنمایی ۱۰۰×) E: اپیدرم. En: لایه مکانیکی. Mic: میکروسپوروسیت تک هسته‌ای. F: میله. pe: گلبرگ. Co: بافت رابط.



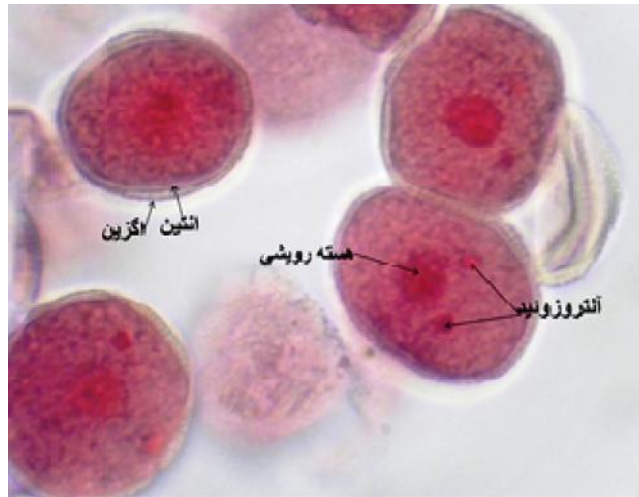
شکل ۵: برش میکروتومی بساک (بزرگنمایی ۴۰×) E: اپیدرم. En: لایه مکانیکی. ST: لایه تاپی ترشچی. mic: میکروسپوروسیت. فلش نشانگر اتصال گرده به تاپی ترشچی جهت تغذیه.

تزیینات آگزین و تشکیل خارها به اتمام می‌رسد، در این حالت لایه تاپی کاملاً تحلیل رفته است. دانه‌های گرده بالغ دارای شش شیار هستند (شکل ۸). در بررسی گرده‌ها به‌روش استولیز که نوعی فسیل‌سازی مصنوعی است و هدف این روش حذف محتویات داخلی گرده‌ها و بررسی دیواره، منافذ و شیارهای آن است، پوشش سطح گرده و شش شیار مشاهده شد. تصویر گرفته شده از دید قطبی می‌باشد که در آن گرده بالغ دیده می‌شود و در گرده بالغ شش شیار و نیز هسته رویشی و زایشی به‌خوبی مشخص می‌باشد (شکل ۸). در ریز نگاره‌های الکترونی دانه‌های گرده این‌گونه طول دانه ۲۳/۸۷ عرض آن ۳۰/۳۲ میکرومتر مشخص شد (شکل ۹ و ۱۰). تزیینات سطح آگزین از نوع مشبک منفذدار (شکل ۱۱) و گرده ۶ شیار با ظاهری نامتقارن و در تعدادی از وجه‌های خود دارای خمیدگی است (شکل ۹ و ۱۰). شکل و نوع تزیینات در دو منطقه مورد مطالعه تفاوتی را نشان نداده‌اند (شکل ۹ و ۱۰). بررسی کمی پروتئین‌ها (روش برادفورد): جذب عصاره گرده گیاه جمع‌آوری شده از منطقه آبعلی ۰/۶۳ نانومتر و جذب عصاره گرده گیاه جمع‌آوری شده از منطقه رودبار ۰/۳۵ نانومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر است (جدول ۱). با استفاده از معادله استاندارد غلظت پروتئین گرده آویشن آبعلی ۰/۵۸۶ میکروگرم در میلی‌لیتر و غلظت پروتئین گرده آویشن رودبار ۰/۲۲۸ میکروگرم در میلی‌لیتر می‌باشد (نمودار ۱).

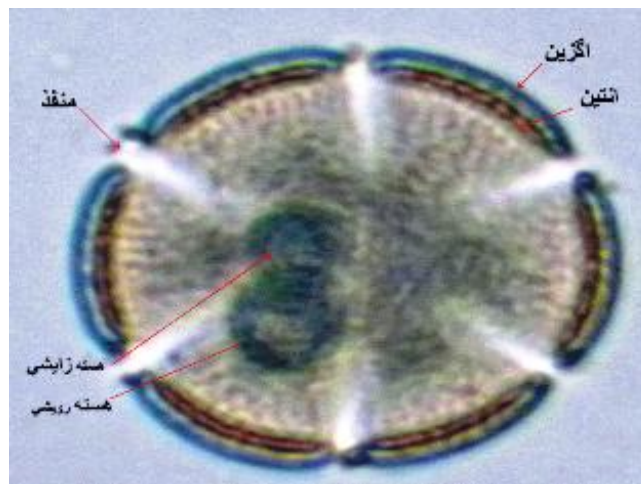
میکروسپورزایی و تشکیل گامتوفیت نر: به‌دنبال تقسیمات میتوزی در توده سلول‌های هاگ‌زای به‌وجود آمده از سلول‌های آرکتوسپور این سلول‌ها مستقیماً به میکروسپوروسیت یا سلول‌های مادر دانه گرده تمایز می‌یابند. میکروسپوروسیت‌ها با سیتوپلاسم متراکم، اندازه بزرگ و هسته‌های درشت با رنگ پذیری بالا از سلول‌های مجاور متفاوت می‌شوند. در طی فرآیند میکروسپورزایی میوز در هر سلول مادر میکروسپور آغاز می‌شود به طوری که پروفاز I، متافاز I، آنافاز I، تلوفاز I، متافاز II و آنافاز II و تلوفاز II منجر به تشکیل تترادهای میکروسپوری و در مرحله بعد تشکیل میکروسپورهای آزاد می‌شود (شکل ۴) تا این مرحله بقایای سلول‌های تاپی در کناره بساک و در زیر لایه مکانیکی به‌خوبی قابل مشاهده است (شکل ۵). نمو میکروسپور با انجام یک تقسیم میتوز کامل می‌شود به این‌صورت که تقسیم نامساوی موجب تشکیل دو سلول متفاوت از نظر عمل‌کردی و ریختی می‌شود: یک هسته بزرگ رویشی و یک هسته کوچک زایشی که منجر به تشکیل دانه گرده می‌شود (شکل ۶). در برخی از گرده‌ها سلول زایشی تقسیم شده دو آنترزوئید می‌سازد (شکل ۷). اطراف میکروسپورهای رها شده از پوشش کالوزی توسط دیواره آگزین در بر گرفته می‌شود. دیواره پکتوسلولوزی دیگری به‌نام انتین در مجاورت سیتوپلاسم شکل می‌گیرد که در محل شیارها ضخیم تر است (شکل ۷). در این گونه میکروسپورهای آزاد شده کروی شکل و منظم هستند و بلوغ دانه‌های گرده با شکل گیری



شکل ۶: دانه گرده دو هسته‌ای در گیاه آویشن تفلیبسی (بزرگنمایی $1000\times$): Vc : هسته رویشی، Gc : هسته زایشی.



شکل ۷: دانه گرده سه هسته‌ای در گیاه آویشن تفلیسی (بزرگنمایی ۱۰۰۰×).



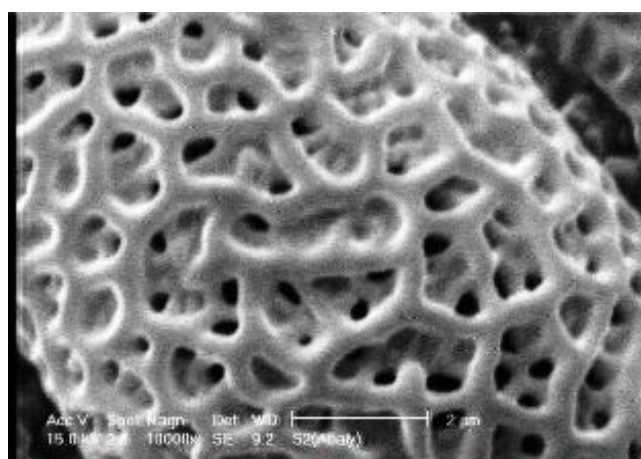
شکل ۸: استولیز نسبی دانه گرده آویشن تفلیسی (بزرگنمایی ۱۰۰۰×).



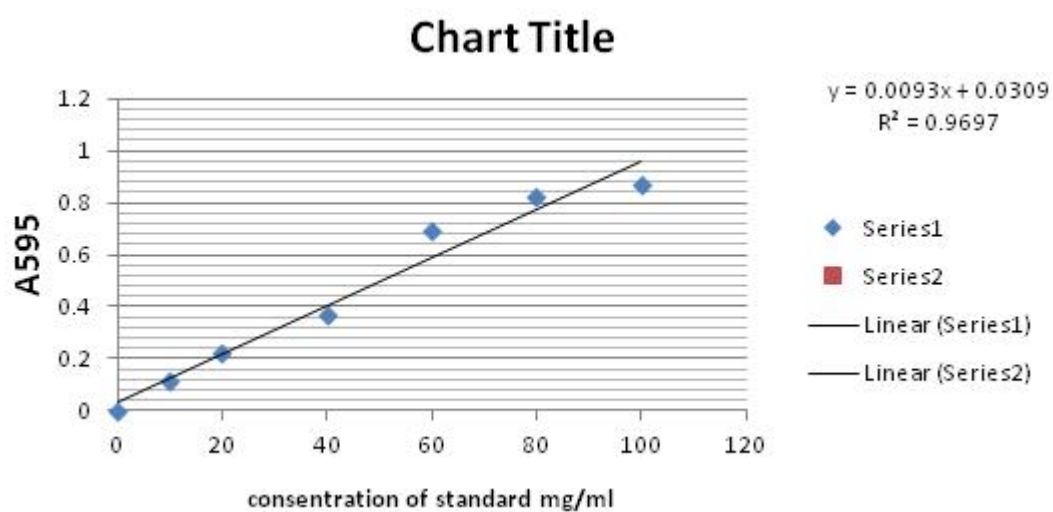
شکل ۹: ریزنگاره الکترونی از نیمرخ قطبی و استوایی دانه گرده آویشن تفلیسی آبعلی (بزرگنمایی ۲۰۰۰×).



شکل ۱۰: ریزنگاره الکترونی از دانه گرده آویشن تفلیسی رودبار (بزرگنمایی ×۲۰۰۰)



شکل ۱۱: ریزنگاره الکترونی از تزئینات سطح دانه گرده آویشن تفلیسی (بزرگنمایی ×۱۰۰۰۰)



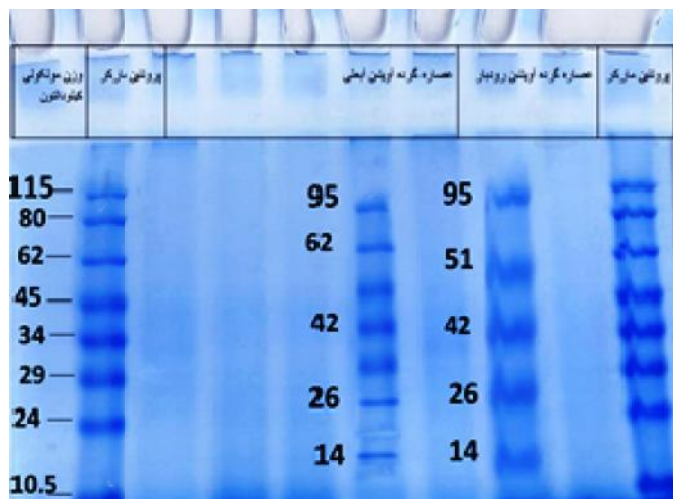
نمودار ۱: منحنی استاندارد برادفورد

جدول ۱: نتایج حاصل از اندازه‌گیری جذب و محاسبه غلظت پروتئین عصاره گرده

ردیف	عصاره	595nm (y) جذب	غلظت پروتئین Mg/x ml
۱	آبعلی	0.63	0.586
۲	رودبار	0.35	0.228
			معادله استاندارد Y=0/009X+0/030

دید می‌شود که ۴ باند با وزن ۱۴، ۲۶، ۴۲ و ۵۱ کیلودالتون مشابه و ۲ باند انحصارا در پروتئین‌های عصاره گرده آبعلی وجود دارد. در پروتئین‌های عصاره گرده منطقه آبعلی باندی در ۲۴ و ۶۲ کیلودالتون وجود دارد که در عصاره پروتئین‌های دانه گرده منطقه رودبار وجود نداشته باندی در پروتئین‌های عصاره گرده رودبار در ۵۱ کیلودالتون وجود دارد که در عصاره منطقه آبعلی وجود نداشت (شکل ۱۲).

بررسی کیفی پروتئین‌ها (الکتروفورز): در مطالعه نیم‌رخ الکتروفورزی دانه‌های گرده باندهای پروتئینی زیر مشاهده شد. در نیم‌رخ الکتروفورزی پروتئین‌های عصاره گرده‌های آویشن تفلیسی منطقه آبعلی ۷ باند پروتئینی در ۶۲ تا ۹۵ کیلودالتون بین ۵۱ و ۴۲ و ۴۵ تا ۴۲ کیلودالتون بین ۴۲ و ۲۹ کیلودالتون، ۱۴، ۲۴ و ۲۶ کیلودالتون و در پروتئین‌های عصاره گرده‌های آویشن تفلیسی رودبار ۵ باند پروتئینی در ۱۴، ۲۶، ۴۲ و ۵۱ کیلودالتون



شکل ۱۲: نیم‌رخ الکتروفورز پروتئین‌های گرده‌های دو منطقه آبعلی و رودبار

(جداری) و آمیبی (پلاسمودیومی) است که در گیاه مورد بررسی لایه تاپی از نوع از نوع ترش‌چی است (۱۱ و ۱۲).

تکوین میکروسپورها دو کیسه گرده هم‌جوار به دو شکل هم‌زمان و غیر هم‌زمان امکان‌پذیر است. میکروسپورها در زمان آزاد شدن واکوئل‌دار و دارای شکل منظم می‌باشند. ضمن تغییرات میکروسپورها افزایش اندازه و سازمان‌یابی پوشش گرده‌ای، لایه میانی از بین می‌رود (۱۱) و سلول‌های لایه مکانیکی به شدت چوبی می‌شوند (۱۰). دانه گرده تک هسته‌ای دو هسته‌ای می‌شود (۱۲ و ۱۳). در برخی دانه‌های گرده اغلب در تک لپه ای‌ها یا در زمان تنش دانه‌ی گرده سه هسته‌ای ایجاد می‌شود، یک سلول، سلول روشی و دو آن‌تروژنید که از تقسیم سلول زایشی ایجاد می‌شوند (۸). در دانه گرده گیاهان مورد

بحث

تکوین دیواره بساک به چهار نوع تقسیم می‌شود: نوع پایه‌ای، تک‌لپه‌ای، کاهش یافته و نوع دولپه‌ای (۴) در گونه مورد مطالعه نمو بساک چهار لایه‌ای بر اساس تیپ دولپه‌ای انجام می‌گیرد که با نظریه Pullaiah در مورد گیاهان تیره *Asteraceae* هم‌سویی دارد (۵). سلول‌های آرکتوسپوری با سیتوپلاسم متراکم و هسته حجیم به صورت مماسی تقسیم شده و تشکیل سلول جداری بیرونی و هاگ‌زای درونی را می‌دهد (۱۱). وجود لایه میانی در گیاهان این تیره توسط گیاه‌شناسان گزارش شده است که مشابه مشاهدات ما در گیاه *Thymus transcaucasicus* است (۱۰). تیپ‌های اصلی نمو لایه تاپی بساک در نهادانگان ترش‌چی

خود ثابت باقی مانده و تحلیل نمی‌روند و وقتی میکروسپورها در حال نمو به دانه گرده بالغ هستند، ضمیمی از یاخته‌های تاپی به سمت حفره بساک تشکیل می‌شود، بنابراین می‌توان گفت لایه تاپی از نوع ترشحی بوده و لایه تاپی از نوع آمیبی مشاهده نشد. میزان پروتئین‌های دانه گرده آویشن تفلیسی جمع‌آوری شده از منطقه آبعلی از پروتئین‌های دانه گرده گیاه جمع آور شده از منطقه رودبار بیشتر بود. تزئینات سطح دانه گرده دو منطقه تفاوتی نداشت. پژوهش حاضر اولین مطالعه تکوین دانه گرده، بررسی میزان پروتئین‌ها و تزئینات سطح دانه گرده گونه *(Thymus transcaucasicus)* می‌باشد که می‌تواند در تفکیک آن از گونه‌های مجاور راه گشا باشد.

منابع

1. Chehregani Rad A, Mohsenzadeh F, Salehi H. (2011) Study on development of reproductive organs (Stamen and Ovule) in *Achilleaieberestini* Afan. Quarterly Journal of Developmental Biology. 2011; 3(10): 101-109
2. Shariatzadeh SM, Maja A. Electron microscope and histotecnque in electron and light microscopy. Tehran. Ayig. 2000; 7: 12-19
3. Kianmehr H. Recognition of Medical herbs. Tehran. Ayig. 2009; 3: 97-102
4. Ghorbanli M, Neyakan M. Effects of water stress on soluble sugar content, protein content, nitrate reductase activity and phenolic compounds of soybean varieties Gorgan3. Journal Science Teacher Education. 2005; 2(1): 74-80
5. Saadatmand SJ. Curative properties of bee pollen. Kermanshah. Nopardazan. 2008; 3: 45-48
6. Jamzad Z. Thymus and Saturaja species of Iran. Tehran: Research Institute of Forests and Rangelands. 2009; 62:316-325.
7. Ghanati F. Pollen Biology. Qom .armus. 2005; 1:35-40
8. Mostafayi A. Protein Electrophoresis Gel. Yadavaran. 2003; 1(3): 28-35
9. Davis GL. Embryological studies in the compositae. IV. Sporogenesis, gametogenesis, and embryogeny in *Brachycomeciliaris* (Labill.). Less. Aust. J. Bot. 1964; 12: 142-151.
10. Bradford MM. A rapid and sensitive method for quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 1979; 72: 248-254.
11. Madhaj A, Naderi A, Emam Y, Ayeneband A, et al. Effect of different nitrogen levels on grain

مطالعه مانیز چنین گرده‌هایی قابل مشاهده بودند. دانه‌های گرده در زمان آزاد شدن دارای سه هسته‌اند که دو هسته کوچک زایشی و هسته بزرگتر رویشی است. دانه‌های گرده مانند دیگر گیاهان خانواده *Thymus* شش شیاری می‌باشند (۱۱، ۱۲ و ۱۳). مقایسه میزان پروتئین‌های دانه گرده به دو روش الکتروفورز و بردافورد در دو منطقه آبعلی (اقلیم نیمه خشک) و رودبار (اقلیم مرطوب)، نشان می‌دهد، میزان پروتئین‌ها در منطقه آبعلی به میزان قابل توجهی بالاتر می‌باشد. در روش الکتروفورز عصاره گرده‌های منطقه آبعلی ۷ باند پروتئینی و عصاره منطقه رودبار ۵ باند پروتئینی را نشان می‌دهد که ۴ باند مشترک وجود دارد. این مطب بیانگر این خواهد بود که این دو منطقه همان‌طور که ذکر شد به دلیل داشتن اقلیم‌های متفاوت دارای گرده‌هایی با پروتئین‌های متفاوت می‌باشند و گیاه منطقه خشک دارای میزان پروتئین یا پرولین بیشتر به دلیل مقابله با تنش خشکی است. شاید بتوان وجود دو باند پروتئینی بیشتر را به پروتئین‌های افزایش یافته در گیاهان تحت تنش مرتبط دانست (۱۴). گرچه تنش خشکی خسارات جبران ناپذیری به گیاهان وارد می‌آورد ولی گیاه با راه‌کارهای پیش رو می‌تواند با آن مقابله یا سازش نماید و در این امر آن را با انباشت پروتئین در دانه گرده به فرصت مبدل سازد (۱۲). در روش بردافورد نیز غلظت پروتئین عصاره گرده گیاه منطقه آبعلی ۰/۵۸۶۴ و غلظت پروتئین عصاره گرده گیاه منطقه رودبار ۰/۲۲۸ تعیین شد که این نیز تاکیدی بر عوامل ذکر شده بیانگر افزایش میزان پروتئین‌ها در منطقه دارای اقلیم خشک یعنی آبعلی است. محققان اثر تنش گرمای انتهایی فصل بر عمل کرد کمی و کیفی دانه ۵۰ ژنوتیپ گندم را مورد مطالعه قرار دادند و گزارش کردند که افزایش دمای محیط در مراحل پس از گرده افشانی باعث افزایش پروتئین دانه می‌گردد (۱۵). این پژوهشگران بیان می‌دارند افزایش تنش گرمایی و خشکی بیش از آستانه تحمل گیاه بدون تردید باعث خسارت می‌شود اما افزایش اندک حرارت و مقدار کمی تنش خشکی باعث افزایش پروتئین‌های محلول و غیر محلول می‌شود.

نتیجه گیری

بر اساس نتایج این پژوهش و بعد از بررسی کلیه‌ی برش‌های گرفته شده تتراد و دیا د مشاهده نشد. از آنجایی‌که یاخته‌های لایه تاپی در مراحل ابتدایی نمو بساک و دانه‌های گرده در جای

proteincontent, grain yield and agronomic nitrogen use efficiency in wheat genotypes under optimum and heat stress after anthesis. *Seed and Plant Journal of Agricultural*. 2009; 4: 25-31.

12. Majd, A. Rezanegad, F. Mostafayi, M. Aminzade, M. Shariatzadeh, S.M. Effects of air pollution on pollen development in anther development and microsporogenesis soluble proteins in plant pollen Peacock. *Journal of Research and Development*. 2003; 6: 12-19.

13. Erika D. Anderson and John. Owens. Microsporogenesis, Pollination, Pollen Germination and male Gametophyte Development in *taxus brevifolia*. *Annals Of Botany*. 2000; 86: 1033-1042.

14. Majd A, Nejadstari T. Mohamadpur GH. Comparative Anatomy – Developmental characteristics, antimicrobial activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* pickup oxidant (*Thymus*) and *Saturaja*. Disertation. Islamic Azad University Science and Research Branch. 2009; 4(1): 23-27.

15. Daskalova T. On some specificities of seed formation in *Salvia nemorosa* (Lamiaceae) *Phytologia Balcanica*. 2004; 10(1): 79-84.

Study on Development of Stamen and Comparison of Pollen Proteins *Thymus transcaucasicus* in Two Regions of Abali and Roodbar

Tajadod G, Ph.D.*, Majd A, Ph.D., Ranjbar R, M.Sc. Student

- Department of biology, Faculty of Science, North Tehran Branch of Islamic Azad University, Tehran, Iran

* Email corresponding author: tajadodg@yahoo.com

Received: 6 Oct. 2013

Accepted: 10 Jan. 2014

Abstract

Aim: *Thymus transcaucasicus* belongs to the family Lamiaceae. With respect to the importance of plant developmental stages in the expanding knowledge of biology, for this research *Thymus transcaucasicus* which has nutritional, medicinal and economical value was chosen.

Material and method: The flowers and buds in different developmental stages were collected from their natural habitats in Abali and Roodbar, fixed in FAA, stored in ethanol 70, embedded in paraffin wax and sliced with a microtome. Staining was carried out with Hematoxylin and Eosine. Microscopic study of pollens was carried out using acetolysis, in order to investigate the pollen surface ornamentation we used scanning electronic microscope (SEM), and to compare the pollen proteins from Abali and Roodbar, electrophoresis and Bradford techniques were applied.

Results: Anther was having four sacs and its wall was made of four layers including: epidermis, endothecium, middle layer and tapetum layer. Tapetum was in secretive form. The pollen at the time of pollination had three nucleus and six colpi with reticulate Exin ornaments. The total amount of protein in *Thymus transcaucasicus* pollen collected from the Abali area was much more than protein extracted from pollen collected from Roodbar area.

Conclusion: Due to the results of this study, in the *Thymus transcaucasicus* anther wall with four layers and secretive tapetum was observed. The present research is the first study on development and protein content of *Thymus transcaucasicus* pollen.

Key words: *Thymus transcaucasicus*, Pollen, proteins, Microsporogenesis