The background of the entire page is a photograph of several dried, pressed green leaves of the plant Ballota acetabulosa. The leaves are arranged in a vertical, slightly curved line, showing their characteristic lobed shape and venation. The color is a vibrant, slightly yellowish-green, indicating they have been dried.

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**  
**ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΚΗΣ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ**  
**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑΣ**

**Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών**  
**«Βιοδραστικά προϊόντα και πρωτεϊνική τεχνολογία»**

**ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΙΣΤΟΧΗΜΙΚΕΣ**  
**ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΒΑΛΛΩΤΗ**  
*(Ballota acetabulosa)*  
**ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΕΤΟΥΣ**

**Σοφία Δ. Ζαχάκη**

Επιβλέπων  
Κωνσταντίνος Φασσέας, Καθηγητής

Αθήνα 2012

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**  
**ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΚΗΣ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ**  
**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑΣ**

**Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών**  
**«Βιοδραστικά προϊόντα και πρωτεϊνική τεχνολογία»**

**ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΙΣΤΟΧΗΜΙΚΕΣ**  
**ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΒΑΛΛΩΤΗ**  
**(*Ballota acetabulosa*)**  
**ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΕΤΟΥΣ**

**ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ**

Κωνσταντίνος Φασσέας, Καθηγητής

**ΜΕΛΗ**

Καραμπουρνιώτης Γεώργιος, Καθηγητής ΓΠΑ

Μπουράνης Δημήτριος, Καθηγητής ΓΠΑ

Κίντζιος Σπυρίδωνας, Καθηγητής ΓΠΑ

Αϊβαλάκις Γεώργιος, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Θα ήθελα να εκφράσω τη βαθιά ευγνωμοσύνη μου στον κ. Κωνσταντίνο Φασσέα, Καθηγητή και Διευθυντή του Εργαστηρίου Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας, εισηγητή της μελέτης αυτής, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και μου ανέθεσε το θέμα της μεταπτυχιακής εργασίας, καθώς και για την καθοδήγηση και την υποστήριξη που μου παρείχε τόσο κατά την εκπόνηση της παρούσας εργασίας όσο και καθ'όλη τη διάρκεια των σπουδών μου. Χωρίς την υποστήριξή του δε θα ήταν δυνατή η πραγματοποίηση της εργασίας αυτής.

Επίσης, ευχαριστώ για την συνεργασία τους ως μέλη της επιτροπής αξιολόγησης της μεταπτυχιακής αυτής εργασίας τον κ. Γ. Καραμπουρνιώτη, Καθηγητή, τον κ. Δ. Μπουράνη, Καθηγητή, τον κ. Σ. Κίντζιο, Καθηγητή και τον κ. Γ. Αϊβαλάκι, Αναπληρωτή Καθηγητή.

Θα ήθελα ακόμα να απευθύνω ιδιαίτερες ευχαριστίες στον κ. Ι. Ψαροκωστόπουλο, Ε.Τ.Ε.Π. του Εργαστηρίου Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας για την τεχνική υποστήριξη που παρείχε, αλλά και τις πολύτιμες συμβουλές και υποδείξεις του, που βοήθησαν στην επίλυση κάθε είδους τεχνικού προβλήματος που προέκυπτε καθ'όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της μελέτης μου στο Εργαστήριο Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας.

Θα ήταν μεγάλη παράλειψη να μην ευχαριστήσω θερμά την κ. Σμαράγδα Κόλλια, PhD γεωπόνο και την κ. Δανάη-Ευγενία Μαυροειδή, Msc γεωπόνο, για την άψογη συνεργασία που είχαμε δημιουργώντας έτσι ένα ευχάριστο κλίμα στο οποίο εκπονήθηκε αυτή η εργασία, καθώς και όλα τα υπόλοιπα μέλη του Εργαστηρίου.

*ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΙΣΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΒΑΛΛΩΤΗ (Ballota acetabulosa) ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΕΤΟΥΣ*

*Στον υιό μου,  
Παναγιώτη*

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....</b>	<b>7</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>9</b>
<b>1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....</b>	<b>11</b>
1.1. Γενικά .....	11
1.2. Εταιροφυλλία στα φυτά .....	12
1.3. Τα κύρια χαρακτηριστικά των ξηρομορφικών φύλλων .....	17
1.4. Δευτερογενείς μεταβολίτες .....	18
1.4.1. Οι κύριες ομάδες των Δευτερογενών μεταβολιτών .....	19
1.4.1.1. Φαινολικές ενώσεις .....	19
1.4.1.2. Τερπένια .....	22
1.4.1.3. Αζωτούχες ενώσεις .....	24
1.5. Ποικιλομορφία τριχωμάτων και ταξινόμησή τους .....	25
1.5.1. Μη αδενώδη τριχώματα .....	26
1.5.2. Αδενώδη τριχώματα .....	26
1.5.3. Κατανομή τριχωμάτων .....	31
1.5.4. Ανάπτυξη τριχωμάτων .....	33
1.6. Βοτανική ταξινόμηση, οργανογραφία .....	35
1.7. Ανατομία του φύλλου του φυτού <i>B. acetabulosa</i> .....	39
1.8. Σκοπός της εργασίας .....	47
<b>2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....</b>	<b>48</b>
2.1. Συλλογή του φυτικού υλικού .....	48
2.2. Προετοιμασία παρασκευασμάτων για παρατήρηση ημίλεπτων τομών με το Οπτικό Μικροσκόπιο (Ο.Μ.) (Φασσέας, 1999) .....	48
2.3. Τμήση τομών και χρώση μονιμοποιημένων παρασκευασμάτων για παρατήρηση με το Οπτικό Μικροσκόπιο (Ο.Μ.) (Φασσέας, 1999) .....	49
2.4. Προετοιμασία δειγμάτων για παρατήρηση με το Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης (Η.Μ.Σ.) (Φασσέας, 1999) .....	50
2.5. Παρατήρηση νωπών παρασκευασμάτων στο Η.Μ.Σ. (Φασσέας, 1999) .....	51
2.6. Τμήση τομών από νωπά δείγματα για ιστοχημεία και μικροσκοπία φθορισμού. ....	52
2.7. Υπολογισμός των στομάτων .....	56
2.8. Μικροσκοπία τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για τις μορφολογικές, ανατομικές και ιστοχημικές παρατηρήσεις .....	56
2.9. Ψηφιοποίηση και Επεξεργασία Φωτογραφιών .....	57

<b>3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ .....</b>	<b>58</b>
3.1. Ανατομικά - Μορφολογικά χαρακτηριστικά .....	58
3.1.1. Μακροσκοπικές παρατηρήσεις-Ετήσιος κύκλος.....	58
3.1.2. Μορφολογική περιγραφή φύλλων όπως εμφανίζονται κατά τις διάφορες εποχές. ....	61
3.1.3. Ανατομική περιγραφή των φύλλων .....	74
3.1.4. Τριχώματα στο <i>B. acetabulosa</i> L. Cav. -μορφολογία και λεπτή δομή .....	77
3.1.5. Στόματα .....	85
3.1.6. Ιστοχημεία .....	87
<b>4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....</b>	<b>99</b>
4.1. Ο διμορφισμός ή εταιροφυλλία των φύλλων.....	99
4.2. Κατηγορίες φύλλων - μακροσκοπικές παρατηρήσεις. ....	100
4.3. Ανατομικά - φυσιολογικά χαρακτηριστικά των φύλλων.....	102
<b>5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....</b>	<b>114</b>
<b>6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....</b>	<b>119</b>

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το φυτό *Ballota acetabulosa* L., γνωστό ως βαλλωτή, είναι πολυετής πόα με ξυλώδη βάση, ύψους έως 60 cm. και χαρακτηρίζεται ως αρωματικό φυτό. Τα φύλλα του είναι καρδιάσχημα, χνουδωτά, αντίθετα, απαλά, με χρώμα ανοιχτό πράσινο, όμοια με εκείνα των άλλων ειδών που ανήκουν στην ίδια οικογένεια. Τα άνθη του είναι κοκκινωπά με διάρκεια άνθισης από τον Ιούνιο έως τον Ιούλιο. Οι καρποί του είναι μαύροι, μικροσκοπικοί, κρυμμένοι στη βάση ενός κάλυκα που μοιάζει με χωνί. Ανήκει στην οικογένεια των Lamiales (ή κατ' άλλους Labiales) και άλλες ονομασίες του είναι: Φουφουλιά (Τήνος), Φάσσα (Αίγινα), Νεροβαμβακιά (Πελοπόννησος), Μαυρομάργο (Αττική), Μαυρομάρκος (Κύθνος), Αποπουλιά, Λυχνάρακι, Οικονομία, Καντηλιανούτρα. Το φυτό παρουσιάζει αντισπασμωδικές ιδιότητες και χορηγείται, κυρίως, στις περιπτώσεις κοκκύτε των παιδιών και κατά των ψυχονευρώσεων. Είναι ενδημικό της Ελλάδας και της Τουρκίας. Φυτρώνει, κυρίως, σε σκιερά μέρη και μέσα σε βραχώδη εδάφη.

Στην παρούσα εργασία μελετώνται ο εποχικός διμορφισμός των φύλλων του φυτού *B. acetabulosa* ως μέσο προστασίας από βιολογικές και αβιοτικές καταπονήσεις, με τα διάφορα είδη μικροσκοπίας (Οπτικό Μικροσκόπιο, Μικροσκόπιο Φθορισμού, Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης).

Τα φύλλα του φυτού καλύπτονται από ένα πλούσιο τρίχωμα που καλύπτει και τις δύο πλευρές των φύλλων και αποτελείται από πολυάριθμες αδενώδεις και μη αδενώδεις τρίχες. Ένας μεγάλος αριθμός μακριών πολυκύτταρων δενδρωδών μη αδενωδών τριχών συνιστούν ένα παχύ χνούδι που καλύπτει τα φύλλα, δημιουργεί ενιαίο φράγμα προστασίας και αποτελεί την εξωτερική στρώση, ενώ εκείνο που βρίσκεται κοντά στην επιφάνεια της επιδερμίδας και αποτελεί την εσωτερική στρώση σχηματίζεται από αδενώδη τριχίδια. Τα μη αδενώδη τριχώματα του φυτού ποικίλουν ως προς τη μορφολογία και την ανατομία τους και κατηγοριοποιούνται με βάση τα μορφολογικά χαρακτηριστικά τους σε πέντε τύπους. Τα αδενώδη τα οποία απαντώνται στα φύλλα του φυτού ανήκουν σε δύο κατηγορίες: τα ασπιδοειδή και τα κεφαλοειδή αδενώδη τριχώματα, που είναι κατανεμημένα στα φύλλα και τους βλαστούς. Οι ασπιδοειδείς αδένες συναντώνται στα φύλλα όλων των εποχών, όπου ανάλογα την εποχή και την επιφάνεια του φύλλου που βρίσκονται αλλάζει και η συχνότητα που συναντώνται. Οι κεφαλοειδείς

αδένες οι οποίοι εντοπίστηκαν στα φύλλα του φυτού κατατάσσονται σε τρεις κατηγορίες κατά Werker (1985 a,b). Μοιάζουν όμως πολύ με τους τύπους των κεφαλοειδών τριχωμάτων, όπως περιγράφονται από τον Μποζαμπαλίδη (2008). Παρατηρούνται ακόμα και κάποιοι αδένες που δεν έχουν αναφερθεί σε αυτό ή σε άλλα συγγενικά φυτά.

Η ανατομία των φύλλων του φυτού *B. acetabulosa* παρουσιάζει αρκετές εποχικές διαφορές. Αυτές οι διαφορές πιθανά αποτελούν ένα μέρος της αμυντικής αντίδρασης του φύλλου έναντι στο ξηρό, ζεστό και με υψηλή ακτινοβολία περιβάλλον της Μεσογείου. Έτσι, τους ανοιξιάτικους και καλοκαιρινούς μήνες ενισχύονται χαρακτηριστικά που μπορούν να βοηθούν στον περιορισμό των απωλειών νερού. Τέτοια είναι η αύξηση του πάχους του ελάσματος των φύλλων, η αύξηση του πάχους των κυτταρικών τοιχωμάτων της εφυμενίδας, η μείωση της στρώσης του σπογγώδους παρεγχύματος. Οι εποχικές αυτές διαφορές συνοδεύονται και από αλλαγές της ανατομίας των κρυπτών ως προς το βάθος τους και τον αριθμό των τριχών στο εσωτερικό και το εξωτερικό τους. Επίσης, κατά τους ζεστούς μήνες παρατηρήθηκαν διαφορές όσον αφορά στο μέγεθος και το βάθος των κρυπτών καθώς και στο μέγεθος και το μήκος των μη αδενωδών και αδενωδών τριχωμάτων, εμποδίζοντας με αυτόν τον τρόπο την απώλεια νερού. Η αρχιτεκτονική του φύλλου με την ύπαρξη των κρυπτών συμβάλλει στη στήριξη του φύλλου υποκαθιστώντας την ανάγκη για την ανάπτυξη σκληροεγχυματικού ιστού. Τα κύτταρα του μεσόφυλλου φαίνεται να συσσωρεύουν ελαιοσταγονίδια των οποίων ο αριθμός αυξάνεται κατά τους θερινούς μήνες.

Τα αποτελέσματα των ιστοχημικών μεθόδων έδειξαν ότι τα τερπένια και οι τανίνες παράγονται κυρίως στις αδενώδεις τρίχες, ενώ οι φλαβόνες και φλαβανόλες στα αδενώδη και μη αδενώδη τριχώματα. Η παραγωγή των ενώσεων αυτών φαίνεται ότι συμβάλλει στην άμυνα του φύλλου έναντι των καταπονήσεων που προκύπτουν λόγω του μεσογειακού οικοσυστήματος και εξηγεί και την ευρεία χρήση του φυτού για φαρμακευτικούς σκοπούς.

**Λέξεις-κλειδιά:** *Ballotta acetabulosa*, ανατομία φύλλου, ιστοχημεία, εποχικός διμορφισμός, πολυμορφισμός φύλλων, μη αδενώδη τριχώματα, ασπιδοειδείς αδένες, κεφαλοειδείς αδένες, ελαιοσταγονίδια, κρύπτες.



## SUMMARY

*Ballota acetabulosa* L., known as “valloti”, is a perennial herb with a woody base of up to 60 cm. and is characterized as a herb. The leaves are heart-shaped, furry, opposite, with pale green, similar to those of other species belonging to the same family. The flowers are reddish with flowering period from June to July. The fruits are black and small hidden at the base of a calyx-like funnel. It belongs to the family of Lamiaceae ( or Labiatae) and other names are: Foufoulia (Tinos), Fassa (Aegina), Nerovamvakia (Peloponnese), Mauromargo (Attica), Mauromarkos (Kythnos), Apopoulia, Lychnaraki, Economia, Kantilanafta. The plant has antispasmodic properties and is mainly used in cases of pertussis in children and against psychoneurosis. It is endemic to Greece and Turkey. It grows mostly in shady places and in rocky grounds.

This study refers to the seasonal dimorphism of the *B. acetabulosa* leaves as a mean of protection from biotic and abiotic stresses, using different types of microscopy (optical microscopy, fluorescence microscopy, scanning electron microscopy).

Both sides of the plant’s leaves are covered by a rich coat consisting of numerous glandular and non glandular hairs. The large number of long multicellular arboreal non glandular hairs, which form a thick coat covering the leaves and creating a protective barrier, while the layer close to the surface of the epidermis is formed of glandular hairs. The non glandular trichomes of the plant vary in morphology and anatomy therefore they are being categorized into five types, based on their morphological characteristics. The glandulars which are found in the leaves of the plant belong to two categories: peltate and capitate distributed in leaves and stems. The peltate glands are found on the leaves of all seasons, but their numbers vary according to the season and the surface of the leaves. The capitate glands which observed on the leaves of the plant are being classified into three categories according to Werker (1985 a, b), though many of them resemble the types of capitate glands, as described by Bozambalidis. Furthermore, there are some glands that were observed, which have not been observed before in this or other related species so far.

The anatomy of the leaves of *B. acetabulosa* presents several differences depending on the season. These differences reflect defenses mechanisms against the dry and hot environment and the high UV radiation, characteristic of the Mediterranean ecosystem. In this case, during the spring and the summer months the features that can

reduce any water losses are being strengthened. Such mechanisms are the increase in thickness of the leaf lamina, the increase of the thickness of the cuticle and the reduction of the layer of the spongy parenchyma. These seasonal differences are accompanied by changes of the anatomy of the crypts in relation to their depth and the number of hairs both on the inside and outside surfaces. Also, during the warmer months several differences are observed concerning the size and the deepness of the crypts and the size and length of the non glandular and glandular trichomes and preventing in this way any water loss. The crypts also seem to affect the leaf architecture making them more rigid and in this way the plant avoids the development of sclerenchyma. Mesophyll cells appear to store oil droplets whose number increases during the summer months.

The results of the histochemical methods showed that the terpenes and the tannins are mainly produced in glandular hairs, while flavones and flavanols in glandular and non glandular trichome. The production of these compounds appears to be a defensive mechanism of the leaf against the stress arising from the Mediterranean ecosystem and explains the widespread use of the plant for medicinal purposes.

**Keywords:** *Ballotta acetabulosa*, sheet anatomy, histochemistry, seasonal dimorphism, leaf polymorphism, non glandular trichomes, peltate glands, capitate glands, oil droplets, crypts.

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1.1. Γενικά

Τα φυτά που κυριαρχούν στο μεσογειακό τύπο κλίματος έχουν προσαρμοστεί στην έλλειψη νερού κατά τη διάρκεια της ξηρής και θερμής περιόδου αναπτύσσοντας ορισμένους ξηροφυτικούς χαρακτήρες. Τα φυτά αυτά χαρακτηρίζονται ως ξηρομορφικά σε αντιδιαστολή με τα ξηροφυτικά που μεγαλώνουν κάτω από συνθήκες της ερήμου (απόδοση στα ελληνικά των όρων *xeromorphics* και *xerophytes*) σύμφωνα με τον Fahh (1991). Γενικά, η βλάστηση στη μεσογειακή ζώνη διακρίνεται στη μακκία και στη φρυγανώδη (Margaris, 1981). Η διάκριση αυτή βασίζεται στο ύψος της ετήσιας βροχόπτωσης και τα φρύγανα καταλαμβάνουν τις πιο ξηροφυτικές περιοχές (Ζερλέντης 1981, Margaris 1981). Σύμφωνα με τον Ζερλέντη (1981), τα φρύγανα αποτελούν δευτερογενή βλάστηση που αναπτύσσεται κατά κανόνα μετά την καταστροφή των δασών εξαιτίας πυρκαγιών, εκχερσώσεων κ.λ.π.. Στην Ελλάδα τα φρύγανα καλύπτουν μεγάλες εκτάσεις βλάστησης και παρουσιάζουν διάφορους τρόπους προσαρμογής για την αντιμετώπιση των δυσμενών οικολογικών συνθηκών. Από κλιματικής άποψης, η Ελλάδα ανήκει στο μεσογειακό τύπο κλίματος που εμφανίζει τα χαρακτηριστικά του κλίματος των υποτροπικών ζωνών κατά το χειμώνα και τα χαρακτηριστικά των υποτροπικών ζωνών των υψηλών πιέσεων κατά το θέρος, δηλαδή βροχερή χειμερινή και ξηρή θερμική περίοδο, περιορισμένο ετήσιο ύψος βροχής, ήπιο χειμώνα, θερμό καλοκαίρι και μεγάλη διάρκεια ηλιοφάνειας όλο το έτος και ιδιαίτερα τη θερμή περίοδο.

Ομβρομετρικά, ο ελληνικός χώρος διακρίνεται στην ξηρή και την υγρή περίοδο η διάρκεια των οποίων ποικίλει ανάλογα με το γεωγραφικό πλάτος και το ύψος. Η ξηρή εποχή αρχίζει από το τέλος της άνοιξης και φτάνει μέχρι το φθινόπωρο. Σε ορισμένες περιπτώσεις, στη διάρκεια της περιόδου αυτής εμφανίζονται σποραδικές καταιγίδες. Η υγρή εποχή αρχίζει από το φθινόπωρο και φτάνει μέχρι το τέλος της άνοιξης. Εμφανίζονται μεγάλες διαφορές στη διανομή της βροχής που οφείλονται αφενός μεν στη γεωγραφική θέση της χώρας και αφετέρου στις υψηλές οροσειρές. Στον ομβρομετρικό χάρτη της Unesco εμφανίζεται ένα κύριο μέγιστο στη Β.Δ. Ελλάδα που ανέρχεται στα 1400 mm. Το ελάχιστο ύψος βροχής (400 mm) παρατηρείται στο νότιο Αιγαίο με κεντρική περιοχή το Σαρωνικό κόλπο.

Από απόψεως θερμοκρασίας, στην Ελλάδα παρατηρούνται μεγάλες θερμομετρικές διαφορές από τόπο σε τόπο και περιλαμβάνεται μεταξύ των ετήσιων ισόθερμων 12.5 °C και 20.0 °C. Οι θερμοκρασίες ελαττώνονται κατά την ψυχρή εποχή με το γεωγραφικό πλάτος, ενώ κατά την θερμή εποχή από το εσωτερικό της χώρας προς τα παράλια. Οι νεφοσκεπείς και οι ανήλιες μέρες είναι ελάχιστες. Η ηλιοφάνεια στον ελληνικό χώρο είναι γενικά μεγάλη. Η μέση ετήσια τιμή αυτής κυμαίνεται μεταξύ 2.300 και 3.100 ωρών (Χρονοπούλου-Σερέλη, 2010).

## 1.2. Εταιροφυλλία στα φυτά

Εταιροφυλλία χαρακτηρίζεται το φαινόμενο κατά το οποίο ορισμένα φυτά εμφανίζονται με φύλλα διαφορετικής μορφολογίας. Ανάλογα με το λόγο που προκαλεί την εταιροφυλλία αυτή διαχωρίζεται σε α) εποχικό διμορφισμό, β) διμορφισμό νεανικότητας και γ) εταιροφυλλία που μπορεί να οφείλεται σε άλλους λόγους, όπως συνθήκες φωτισμού, υγρασίας, θέσης του φύλλου στο φυτό κ.λ.π.

Οι Clearwater and Gould (1994) αναφέρουν ότι στα εταιροβλαστικά φυτά οι αλλαγές στη μορφολογία της βλάστησης είναι σταδιακές κατά την οντογένεση του φυτού. Η εταιροβλαστική εξέλιξη συνοδεύεται τόσο από αλλαγές στο μέγεθος, σχήμα, χρώμα, προσανατολισμό, φυλλόταξη, ανατομία και χαρακτηριστικά της επιφάνειας του φύλλου όσο και από αλλαγές στον τρόπο διακλάδωσης (Allsopp and Doorenbos, 1965). Οι φυσιολογικοί μηχανισμοί και τα εξελικτικά αίτια της εταιροβλαστικότητας των φύλλων δεν είναι ακόμα πλήρως κατανοητοί. Η σύγκριση της ανάπτυξης των φύλλων των πρωτογενών και των δευτερογενών φυτών μπορεί να δώσει πληροφορίες για το πώς και το πότε παρουσιάζονται οι διαφορές στο σχήμα κατά τη διάρκεια της οντογένεσης (Mc Lellan 1990 and Jones 1993). Η σύγκριση της οντογένεσης των διαφορετικών τύπων φύλλων μπορεί, επίσης, να δώσει πληροφορίες και για τη φυλογενετική βάση της εταιροβλαστικότητας (Kaplan 1971, Lord and Hill 1987).

Οι υποθέσεις που έχουν γίνει για τα εξελικτικά αίτια της υψηλής συχνότητας της εταιροβλαστικότητας είναι οι εξής: α) οι νεανικοί τύποι σχηματίζονται σε αντίδραση στη βόσκηση από τα ζώα (Atkinson and Greenwood, 1989), β) ο πιο ξηροφυτικός τύπος (πρωτογενής ή δευτερογενής) αναπτύχθηκε σε αντίδραση στην υποχρεωτική έλλειψη νερού κατά την περίοδο των παγετώνων της πλειστόκενου (Cockayne 1911, McGlone and Webb 1981), γ) ορισμένα εταιροβλαστικά είδη είναι αποτέλεσμα διειδικού

υβριδισμού (Godley, 1985), δ) οι ιοί και τα βακτήρια λειτουργούν ως φορείς μεταφοράς των γόνων για συγκεκριμένους τύπους νεανικών μορφών (Went, 1971).

Στις παραπάνω υποθέσεις είναι σπάνια η πειραματική προσέγγιση για την επαλήθευσή τους (Kelly and Ogle, 1990). Επίσης, η σύγκριση της ανάπτυξης δεν έχει χρησιμοποιηθεί μέχρι τώρα ως μέθοδος μελέτης των μηχανισμών που οδηγούν στην εταιροβλαστικότητα. Η γνώση της εταιροβλαστικότητας από την άποψη της ανάπτυξης, δίνει το θεωρητικό υπόβαθρο για την κατανόηση πώς η διαδικασία αυτή μπορεί να αλλάξει κατά την εξέλιξη και να παράγει καινούργια σχήματα φύλλων.

Ύστερα από έρευνα των Aronne *et al.* (2001) που έγινε πάνω στην ανατομία των δύο τύπων φύλλων σε ένα εποχιακώς διμορφικό φυτό, το *Cistus incanus* L., προέκυψαν ενδιαφέρουσες διαφορές μεταξύ των δύο τύπων φύλλων. Στο φυτό αυτό, το καλοκαίρι, παράγονται βλαστοί με μικρά μεσογονάτια διαστήματα και μικρά φύλλα, απόρροια των περιοριστικών παραγόντων που επιδρούν στην ανάπτυξη των φυτών, όπως η ξηρασία. Το χειμώνα, αντιθέτως, παρατηρούνται βλαστοί με μεγάλα μεσογονάτια και μεγάλα φύλλα. Βιομετρικά δεδομένα δείχνουν ότι ο βλαστός των φυτών το χειμώνα ήταν δεκατέσσερις (14) φορές μεγαλύτερος από εκείνον του καλοκαιριού και είχε πολύ περισσότερα φύλλα. Το εμβαδόν της επιφάνειας των χειμωνιάτικων φύλλων είναι πέντε (5) φορές μεγαλύτερο από ότι των καλοκαιρινών. Επίσης, διαφορές παρατηρούνται και στον τρόπο κλίσης των φύλλων ανάλογα με την εποχή του έτους. Έτσι, τα καλοκαιρινά φύλλα είναι όρθια ώστε να απορροφούν στο ελάχιστο την ηλιακή ακτινοβολία και να επιτρέπουν στα φυτά να ανέχονται ξηρά περιβάλλοντα. Αντιθέτως, τα χειμερινά φυτά έχουν οριζόντια φύλλα ώστε να βελτιστοποιούν την απορρόφηση της άμεσης ηλιακής ακτινοβολίας. Άλλο χαρακτηριστικό του φυτού αυτού είναι ότι τα καλοκαιρινά φύλλα συχνά έχουν ένα δρυφρακτοειδές στρώμα, το οποίο βρίσκεται συχνά και στις δύο πλευρές του ελάσματος, και το μεσόφυλλο αποτελείται από μικρότερα κύτταρα, ενώ οι μεσοκυττάριοι χώροι είναι μειωμένοι. Τα χειμερινά, όμως, φύλλα έχουν το δρυφρακτοειδές στρώμα μόνο κάτω από την άνω επιδερμίδα και παρατηρούνται μεγάλα μεσογονάτια διαστήματα. Στα περισσότερα ξηρόφυτα, όπως και στο φυτό *C. incanus* L., τα καλοκαιρινά φύλλα είναι περισσότερο τριχωτά από ότι τα χειμερινά για να μειώνεται η ένταση του φωτός και της διαπνοής και να αντέχουν τα φυτά στις μεγάλες θερμοκρασίες του καλοκαιριού. Η επίπεδη δομή του ελάσματος είναι χαρακτηριστικό των μεσομορφικών φύλλων αλλά ένα εφαρμοσμένο έλασμα διπλωμένο σε μορφή

κρυπτών στα οποία συγκεντρώνονται τα στόματα φέρεται να είναι μια προσαρμοστική στρατηγική στην ξηρασία. Φαίνεται ότι το φυτό αυτό αναπτύσσει επίπεδα φύλλα το χειμώνα και διπλωμένα φύλλα με ευρεία διακύμανση στο πάχος του ελάσματος το καλοκαίρι. Η διανομή των στομάτων διαφέρει ανάμεσα στα φύλλα των διαφόρων εποχών. Έτσι, στα φθινοπωρινά φύλλα τα στόματα είναι ομοιόμορφα κατανεμημένα στην κάτω επιφάνεια των φύλλων, ενώ είναι συμμετρικά στις κρύπτες των καλοκαιρινών φύλλων, ώστε να μειώνουν την εφίδρωση, γεγονός που παρατηρείται στα Μεσογειακά είδη όπως στο φυτό *Nerium oleander* L. Μεγάλα επιδερμικά κύτταρα καθώς και στρωματοποιημένη επιδερμίδα περιγράφεται ως πηγή αποθήκευσης νερού και αποτελεί χαρακτηριστικό των ξεροφύτων, όπως του φυτού *N. oleander* και του φυτού *Rosmarinus officinalis* L. Στο φυτό *C. incanus* L., τα μεγάλα επιδερμικά κύτταρα του χειμώνα βοηθούν στην ανοχή των περιστασιακών περιόδων ξηρασίας του φυτού.

Μία άλλη μελέτη που διεξήχθη από τους Kofidis *et al.* (2003) στο φυτό Ρίγανη (*Origanum vulgare* L.) έδειξε τις μορφολογικές και ανατομικές διαφορές στη δομή του φύλλου που προκύπτουν από την επίδραση διαφορετικών υψομέτρων (200 m., 950 m. και 1760 m.) σε συνδιασμό με τις εποχικές διαφορές. Κατά τη διάρκεια της περιόδου ανάπτυξης, τα καλοκαιρινά φύλλα είναι πιο επιμήκη από ότι τα ανοιξιάτικα και φθινοπωρινά σε όλα τα υψόμετρα που μελετήθηκαν. Σε μεγάλα υψόμετρα, το μέγεθος του ελάσματος μειώνεται στα φύλλα του Ιουνίου σε σχέση με αυτά του Οκτωβρίου, ενώ δεν εμφανίζει σημαντική αλλαγή σε χαμηλότερα υψόμετρα. Το πάχος των φύλλων παραμένει σταθερό σε όλη την περίοδο ανάπτυξης του φυτού. Βρέθηκε, επίσης, ότι τα αναπτυγμένα φύλλα του Ιουνίου και του Οκτωβρίου που βρίσκονται σε φυτά που αναπτύσσονται στα 200 m. περιέχουν σκοτεινές φαινολικές ουσίες μόνο στην επιδερμίδα τους, σε αντίθεση με τα αυγουσιτιάτικα φύλλα που είναι γεμάτα από φαινολικές ενώσεις σε όλους τους ιστούς. Στα 1760 m. υψόμετρο τον Ιούνιο, τα φύλλα στερούνται φαινολικών και εμφανίζονται στην επιδερμίδα των φύλλων τον Αύγουστο και τον Οκτώβριο. Σε μεγαλύτερα υψόμετρα παρουσιάζονται μεγαλύτεροι χλωροπλάστες με περισσότερους αμυλόκκοκους στα φύλλα του Ιουνίου σε σχέση με τα φύλλα του Αυγούστου και του Οκτωβρίου. Τα στόματα των φύλλων και τα αδενώδη τριχώματα αυξάνονται σε αριθμό με την αύξηση του υψομέτρου, ενώ τα μη αδενώδη τριχώματα μειώνονται σε αριθμό. Κατά τη διάρκεια της περιόδου ανάπτυξης, η πυκνότητα τόσο των στομάτων όσο και των αδενωδών και μη αδενώδη τριχωμάτων σταδιακά αυξάνεται. Σε

χαμηλά και μέτρια υψόμετρα το περιεχόμενο σε χλωροφύλλη α και η δραστηριότητα του PSII βρέθηκαν να αυξάνουν σημαντικά τον Οκτώβρη, ενώ σε υψηλά υψόμετρα βρέθηκαν να μειώνονται. Η υψηλότερη φωτοχημική αποδοτικότητα του PSII εμφανίζεται σε πληθυσμούς ρίγανης που βρίσκονται σε μέτρια υψόμετρα και οι περιβαλλοντολογικές συνθήκες είναι ευνοϊκές. Αυτό το συμπέρασμα πηγάζει από την παρατήρηση ότι σε υψόμετρο 950 m. ο πληθυσμός της ρίγανης έχει μεγαλύτερα και παχύτερα φύλλα με πλήρως αναπτυγμένο πασσαλώδες και σπογγώδες παρέγχυμα (Kofidis *et al.*, 2003).

Τα καλοκαιρινά φύλλα του φυτού *Phlomis fruticosa* L., εκπτύσσονται κατά τη διάρκεια της άνοιξης, ενώ κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού ο ρυθμός του μεταβολισμού τους παραμένει σε χαμηλά επίπεδα. Με την έλευση της φθινοπωρινής περιόδου, τα φύλλα απορροφούν νερό κατά την διάρκεια των βροχών, αυξάνονται σε μέγεθος και ανακτούν τις φυσιολογικές τους λειτουργίες. Έτσι, τα καλοκαιρινά φύλλα προσφέρουν ενέργεια για την ανάπτυξη των χειμερινών φύλλων στις αρχές του χειμώνα. Τόσο η ανάκαμψη των καλοκαιρινών όσο και η έκπτυξη των χειμερινών φύλλων εξαρτώνται χρονικά από την έναρξη της περιόδου των βροχών, έτσι ώστε τα δύο είδη φύλλων να συνυπάρχουν στα φυτά έως το τέλος της άνοιξης. Τότε εκπτύσσονται τα καλοκαιρινά φύλλα που έχουν χαμηλότερο λόγο επιφάνειας προς όγκο και υψηλότερη ειδική μάζα φύλλου έναντι των χειμερινών (Κυπαρίσσης, 1995). Στο φυτό *P. fruticosa* L., τα χειμερινά φύλλα είναι αμφιστοματικά με εκτεταμένους μεσοκυττάριους χώρους, λιγιστές τρίχες στην επιδερμίδα, ελάχιστα προϊόντα δευτερογενούς μεταβολισμού και καλά ανεπτυγμένους χλωροπλάστες στα κύτταρά τους. Τα θερινά φύλλα έχουν ξηροφυτικό χαρακτήρα, είναι συμπαγή, υποστοματικά, με πυκνές τρίχες και μεγάλες ποσότητες προϊόντων δευτερογενούς μεταβολισμού στα κύτταρα του μεσόφυλλου τους. Με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης φαίνονται εντυπωσιακές διαφορές, καθώς οι χλωροπλάστες των δύο τύπων φύλλων είναι τελείως διαφορετικοί. Στα χειμερινά φύλλα έχουν ανεπτυγμένο σύστημα θυλακοειδών και πολυάριθμα γκράνα, ενώ στα θερινά η δομή τους παραπέμπει σε χλωροπλάστες του κολεού των δεσμιδών των C4 φυτών. Στα θερινά φύλλα παρατηρούνται κρύσταλλοι στο χυμοτόπιο των κυττάρων του μεσόφυλλου. Η δυνατότητα δημιουργίας υποστοματικών αλλά και αμφιστοματικών φύλλων ανάλογα με την εποχή, καθώς και οι δομικές διαφορές των χλωροπλαστών συγκλίνουν στο συμπέρασμα ότι τα δύο είδη φύλλων αντιπροσωπεύουν δύο διαφορετικούς τρόπους ζωής

πάνω στο ίδιο φυτό (Christodoulakis, 1989).

Σύμφωνα με μελέτη για τον εποχικό διμορφισμό στα φύλλα του φυτού *Anthyllis hermaniae* L. από ανατομικής άποψης, παρατηρήθηκαν σημαντικές ιδιαιτερότητες στη δομή του φύλλου. Ένα στρώμα τανίνης που περιέχει κύτταρα τοποθετημένα στη μέση του φωτοσυνθετικού ιστού παρατηρήθηκε για πρώτη φορά στα φύλλα των μεσογειακών ειδών που έχουν μέχρι τώρα μελετηθεί. Τα φύλλα, ιδιαίτερα τα καλοκαιρινά, αναγκάζονται να συσσωρεύουν φαινολικά. Ο λόγος της συσσώρευσης αυτής πιθανολογείται από τον Christodoulakis (1989). Μερικά επιδερμικά κύτταρα δεν περιέχουν καθόλου φαινολικά και άλλους δευτερογενείς μεταβολίτες. Στα χειμωνιάτικα φύλλα, τα κύτταρα που περιέχουν τανίνη είναι περισσότερα σε αριθμό και μεγαλύτερα σε μέγεθος σε σχέση με τα καλοκαιρινά φύλλα. Οι αγωγοί ιστοί και οι συνοδευτικές ίνες είναι περισσότερο αναπτυγμένες στα χειμωνιάτικα φύλλα. Φαίνεται σαν τα χειμωνιάτικα μεγάλα και παχιά φύλλα να έχουν υποβληθεί σε αγχωτικές συνθήκες, οι οποίες είναι διαφορετικές από τις επικρατούσες καλοκαιρινές. Και οι δύο τύποι φύλλων είναι αμφιστοματικοί. Στην προσαξονική επιδερμίδα των χειμωνιάτικων φύλλων, τα στόματα παρατηρούνται περισσότερο συχνά από ότι στα καλοκαιρινά.

Οι μορφολογικές και φυσιολογικές ιδιότητες των χειμερινών και των καλοκαιρινών φύλλων του φυτού *Thymus capitatus* L., μελετήθηκαν από τον Christodoulakis (1989). Σύμφωνα με αυτή τη μελέτη παρατηρήθηκε ότι τα μεσοκυττάρια διαστήματα των χειμωνιάτικων φύλλων συνθέτουν έναν περισσότερο κοίλο παρεγχυματικό ιστό. Τα καλοκαιρινά φύλλα συσσωρεύουν μεγάλες ποσότητες φαινολικών. Τα επιδερμικά κύτταρα εμφανίζουν έντονη αντίδραση με DMB που δείχνει την ύπαρξη φλοβονοειδών και τα οποία χαρακτηρίζονται από παχιά επιδερμίδα. Οι αγωγοί ιστοί έχουν δυνατή μηχανική υποστήριξη λόγω της ύπαρξης σκληροεγχυματικών ινών. Τα κύτταρα του δρυφρακτοειδούς παρεγχύματος δε φαίνεται να διαθέτουν καλά αναπτυγμένους χλωροπλάστες στα φύλλα, ενώ ο αριθμός των δρυφρακτοειδών κυττάρων φαίνεται να εξαρτάται από την εποχή. Στο φυτό *T. capitatus* L., τα χειμωνιάτικα φύλλα είναι αμφιστοματικά, σε αντίθεση με τα καλοκαιρινά στα οποία δεν παρατηρούνται καθόλου στόματα. Οι εκκριτικές τρίχες εμφανίζονται, κυρίως, στην αποαξονική επιφάνεια του φύλλου, ενώ τα φαινολικά είναι άφθονα στους καλοκαιρινούς ιστούς φύλλων όλων των ειδών.



### 1.3. Τα κύρια χαρακτηριστικά των ξηρομορφικών φύλλων

Ανάλογα με τις ανάγκες που έχουν τα φυτά σε νερό κατατάσσονται σε ξηρόφυτα, μεσόφυτα και υδρόφυτα. Τα ξηρόφυτα προσαρμόζονται σε ξηρά περιβάλλοντα, τα μεσόφυτα απαιτούν άφθονο διαθέσιμο εδαφικό νερό και σχετικά αυξημένη ατμοσφαιρική υγρασία, ενώ τα υδρόφυτα απαιτούν μεγάλη υγρασία ή αναπτύσσονται μερικώς ή πλήρως μέσα στο νερό. Τα ξηρομορφικά χαρακτηριστικά είναι τα περισσότερο μελετημένα, όπως προκύπτει από την υπάρχουσα βιβλιογραφία.

Ως ξηρόφυτα, σύμφωνα με τον ορισμό του Maximov (1931), χαρακτηρίζονται τα φυτά που αναπτύσσονται σε ξηρό περιβάλλον και η διαπνοή τους ελαχιστοποιείται κάτω από συνθήκες έλλειψης νερού. Ορισμένα από αυτά μπορούν να εμφανίσουν ανατομικά χαρακτηριστικά που αποτελούν φυσιολογική και ανατομική προσαρμογή σε ξηρά περιβάλλοντα. Ωστόσο, ο ξηρομορφισμός δεν περιορίζεται μόνο στα ξηρόφυτα και ούτε όλα τα ξηρόφυτα αναπτύσσουν ξηρομορφικά χαρακτηριστικά. Σύμφωνα με τον Fahn (1982), τα ξηρόφυτα μπορούν να διαχωριστούν σε εκείνα που αποφεύγουν και σε εκείνα που αντέχουν την υδατική καταπόνηση (drought escaping και drought resisting plants, αντίστοιχα). Ο τρόπος αντιμετώπισης αυτού του προβλήματος γίνεται με διαφοροποίηση ορισμένων ανατομικών χαρακτηριστικών και φυσιολογικών διεργασιών.

Οι παράγοντες που προκαλούν αλλαγές στη διάταξη των φύλλων είναι διάφοροι και σύνθετοι, αλλά γενικά η εταιροβλαστική ανάπτυξη ερμηνεύεται σαν αντίδραση του κορυφαίου μεριστώματος στη μεταβολή της φυσιολογικής κατάστασης του φυτού. Εξωτερικοί παράγοντες όπως η φωτοπερίοδος, η θερμοκρασία, η διαθεσιμότητα του νερού και των θρεπτικών στοιχείων, επηρεάζουν τη φυσιολογική κατάσταση του φυτού. Αναλυτικά, η έλλειψη ατμοσφαιρικής υγρασίας είναι ένας από τους πιο σημαντικούς παράγοντες. Οι τροφοπενίες και οι χαμηλές θερμοκρασίες μπορούν να προκαλέσουν εντονότερη εκδήλωση ξηρομορφικών χαρακτηριστικών. Για παράδειγμα, η περιεκτικότητα του φυτού σε χυμούς, με τη δημιουργία υδαρών, σαρκωδών ιστών, αυξάνεται όταν υπάρχει ανεπάρκεια σε άζωτο. Επίσης, η έλλειψη αζωτούχων ενώσεων και νερού στο έδαφος έχουν συχνά σαν αποτέλεσμα το σχηματισμό ξηρομορφικών χαρακτηριστικών, όπως ο σχηματισμός παχίων κυτταρικών τοιχωμάτων και εφουμένιδας και η επιπλέον ανάπτυξη του σκληρεγχύματος. Υπάρχει σχέση μεταξύ της αλατότητας του εδάφους και της εμφάνισης ξηρομορφικών χαρακτηριστικών στα φυτά που

αναπτύσσονται σε αυτό. Το ίδιο συμβαίνει σε φυτά που βρίσκονται σε παραθαλάσσια μέρη και εκτίθενται σε σταγονίδια θαλασσινού νερού, προφανώς λόγω της επίδρασης του χλωριούχου νατρίου (Esau, 1977).

Άλλος ένας σημαντικός παράγοντας διαμόρφωσης ξηροφυτικών χαρακτηριστικών είναι η ηλιακή ακτινοβολία. Τα φύλλα που αναπτύσσονται σε περιβάλλον με υψηλές εντάσεις ηλιακής ακτινοβολίας παρουσιάζουν εντονότερα ξηρομορφικά χαρακτηριστικά έναντι αυτών τα οποία αναπτύσσονται σε συνθήκες σκιάς. Έχει παρατηρηθεί πολλές φορές ότι τα φύλλα που αναπτύσσονται σε απευθείας ηλιακό φως είναι μικρότερα αλλά παχύτερα και έχουν εντονότερο διαφοροποιημένο δρυφρακτοειδές παρέγχυμα από τα φύλλα που αναπτύσσονται στη σκιά (Esau, 1977).

Η εταιροβλαστική ανάπτυξη του φύλλου επηρεάζεται από ενδογενείς παράγοντες, όπως το επίπεδο των ορμονών, ουσιών παρόμοιων με τη γιββερελλίνη, και από κάποια απροσδιόριστη επίδραση των παλαιότερων φύλλων στα νεότερα. Οι διαφορές της εσωτερικής δομής των φύλλων είναι ότι τα νεότερα φύλλα έχουν απλούστερη και λιγότερο διαφοροποιημένη δομή από αυτή των μεταγενέστερα σχηματιζόμενων φύλλων. Η διαφορά είναι, κυρίως, στην ανάπτυξη του δρυφρακτοειδούς παρεγχύματος. Στα μεταγενέστερα φύλλα, ο δρυφρακτοειδής ιστός έχει περισσότερους αντικλινείς σχηματισμούς, περισσότερες κυτταρικές στρώσεις και έχει μακρύτερα κύτταρα από τα νεότερα φύλλα. Στην ελάτη του είδους *Douglas*, κατά τη διάρκεια της πρωτογενούς μεριστωματικής ανάπτυξης, υπάρχουν καταβολές φύλλων οι οποίες διαφέρουν από το μεταγενέστερο φύλλωμα στο ότι αναπτύσσουν ένα απλό μεσόφυλλο χωρίς διάκριση μεταξύ δρυφρακτοειδούς και σπογγώδους παρεγχύματος.

Οι πετυχημένες τροποποιήσεις στη δομή των φύλλων σε ανώτερα επίπεδα μερικές φορές περιγράφονται σαν αύξηση του ξηρομορφισμού των φυτών. Η εμφάνιση όλων ή μερικών από τα παραπάνω ξηροφυτικών χαρακτηριστικών είναι στενή συνάρτηση με τις συνθήκες ξηρασίας του φυσικού περιβάλλοντος. Είναι απαραίτητο και εξαιρετικά ενδιαφέρον να συνεχιστεί η έρευνα και άλλων επιπρόσθετων ανατομικών και φυσιολογικών χαρακτηριστικών, προκειμένου να καταλάβουμε πώς τα φυτά των ερήμων αντέχουν σε συνθήκες εξαιρετικά ξηρές.

#### **1.4. Δευτερογενείς μεταβολίτες**

Οι δευτερογενείς μεταβολίτες έχουν μία περιορισμένη κατανομή στο φυτικό

βασίλειο. Πολυάριθμα παρακλάδια του δευτερογενούς μεταβολισμού λειτουργούν αποκλειστικά ή ενισχύονται μόνο σε ορισμένες οικογένειες φυτών. Αυτό σημαίνει ότι ορισμένοι δευτερογενείς μεταβολίτες συντίθενται από ένα και μόνο φυτικό είδος ή από μία ομάδα φυτικών ειδών τα οποία συνδέονται ταξινομικά μεταξύ τους. Επομένως, η ποιοτική σύσταση από πλευράς δευτερογενών μεταβολιτών σε συνδιασμό με τις ιδιαιτερότητες, προσδιορίζουν τη φυσιογνωμία του κάθε φυτικού είδους ή ποικιλίας.

#### 1.4.1. Οι κύριες ομάδες των Δευτερογενών μεταβολιτών

Με βάση τη βιοσυνθετική οδό μέσω της οποίας παράγονται και τα χαρακτηριστικά του μορίου, οι δευτερογενείς μεταβολίτες κατατάσσονται σε τρεις μεγάλες ομάδες:

i. Η ομάδα των φαινολικών ουσιών περιλαμβάνει μεταβολίτες οι οποίοι χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη ενός τουλάχιστον αρωματικού δακτυλίου στο μόριό τους και συντίθενται μέσω των βιοσυνθετικών οδών του σικιμικού ή και του μηλονικού οξέος.

ii. Τα τερπένια είναι λιπίδια που συντίθενται από το ακέτυλο-συνένζυμο Α μέσω της βιοσυνθετικής οδού του μεβαλονικού, που πραγματοποιείται στο κυτόπλασμα και από βασικές ενδιάμεσες ενώσεις της γλυκόλυσης μέσω της βιοσυνθετικής οδού του πυροσταφυλικού-φωσφογλυκεριναλδεϋδης που πραγματοποιείται κυρίως στα πλαστίδια.

iii. Η ομάδα των αζωτούχων δευτερογενών μεταβολιτών περιλαμβάνει ενώσεις οι οποίες προέρχονται κυρίως από αμινοξέα.

##### 1.4.1.1. Φαινολικές ενώσεις

Η ομάδα των φαινολικών ουσιών περιλαμβάνει μεταβολίτες οι οποίοι χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη ενός τουλάχιστον αρωματικού δακτυλίου στο μόριό τους (C<sub>6</sub>), ο οποίος φέρει ένα ή περισσότερα υδροξύλια. Όλες οι φαινολικές ουσίες προέρχονται από το αρωματικό αμινοξύ φαινυλαλανίνη (πρωτογενή μεταβολίτη) και συντίθενται, κυρίως, μέσω των βιοσυνθετικών οδών του σικιμικού ή / και του μαλονικού οξέος. Η ομάδα αυτή διαθέτει πολυάριθμα μέλη, διότι μέσω αντιδράσεων προσθήκης, συμπύκνωσης και πολυμερισμού προκύπτουν πολυάριθμα παράγωγα της αρχικής μονάδας. Οι περισσότερες ενώσεις συνθέτονται μέσω της βιοσυνθετικής οδού του σικιμικού οξέος. Η διαδρομή του σικιμικού μετατρέπεται υδατάνθρακες που προέρχονται

από τη γλυκόλυση (φωσφοενολπυροσταφυλικό οξύ) και τον κύκλο της φωσφορικής πεντόζης (4-φωσφοροερυθρόζη) σε αρωματικά αμινοξέα. Το μονοπάτι του σικιμικού οξέως παίρνει το όνομά του από ένα ενδιάμεσο μόριο το σικιμικό οξύ και υπάρχει σε φυτά και μικροοργανισμούς αλλά όχι στα ζώα (Weaver and Herrmann, 1997). Η βιοσύνθεση των αρχικών απλών φαινολικών ενώσεων πραγματοποιείται μέσω της απαμίνωσης ενός αρωματικού αμινοξέος, της φαινυλαλανίνης, προϊόντος της οδού του σικιμικού οξέος, προς τη δημιουργία του κινναμικού οξέος. Η αντίδραση καταλύεται από την αμμωνιο-λυάση της φαινυλαλανίνης (PAL) ένζυμο κλειδί του μεταβολισμού των φαινολικών και τα πιο καλά μελετημένο ένζυμο του μονοπατιού, ίσως και όλου του δευτερογενούς μεταβολισμού (Καραμπουρνιώτης 2003, Buchanan *et al.* 2003).

Οι φαινολικές ενώσεις έχουν υψηλό ποσοστό συμμετοχής στην κατασκευή φυτικής βιομάζας. Απαρτίζουν το 40% του οργανικού άνθρακα ο οποίος ανακυκλώνεται στη βίοςφαιρα, ενώ η αποδόμησή τους αποτελεί το περιοριστικό βήμα στην ολοκλήρωση του κύκλου του άνθρακα.

Μία μεγάλη και σημαντική κατηγορία φαινολικών ουσιών είναι τα φλαβονοειδή. Διάφοροι τύποι φλαβονοειδών πραγματοποιούν πολύ διαφορετικές λειτουργίες, όπως της εμφάνισης χρωστικών, της άμυνας και της προστασίας από την υπερϊώδη ακτινοβολία. Ο βασικός ανθρακικός σκελετός ενός φλαβονοειδούς αποτελείται από δύο αρωματικούς δακτυλίους που συνδέονται από μία γέφυρα τριών ατόμων άνθρακα. Η πρόδρομη ένωση των φλαβονοειδών προέρχεται από τη σύντηξη μίας φαινυλοπροπανοειδούς μονάδας (ο αρωματικός δακτύλιος με τη γέφυρα προέρχονται από τη φαινυλαλανίνη, προϊόν της διαδρομής του σικιμικού οξέος), και του δεύτερου αρωματικού δακτυλίου (τα έξι (6) άτομα του οποίου προέρχονται από τη συμπύκνωση τριών (3) μονάδων οξικού οξέος στη διαδρομή του μαλονικού οξέος). Η αντίδραση αυτή καταλύεται από τη συνθάση της χαλκόνης. Η συνθάση της χαλκόνης, όπως και το ένζυμο αμμωνιο-λυάση της φαινυλαλανίνης (PAL), είναι σημαντικά ένζυμα στο δευτερογενή φυτικό μεταβολισμό. Θεωρούνται ως σημαντικό εξελικτικό βήμα εποικισμού της ξηράς σε συνδυασμό με τη μηχανική υποστήριξη του κυτταρικού τοιχώματος (άλλα φαινολικά) καθώς και την προσαρμογή του κυτταρικού τοιχώματος σε αέριο περιβάλλον.

Τα φλαβονοειδή ταξινομούνται σε διάφορες ομάδες που βασίζονται, κυρίως, στο βαθμό οξειδωσης της γέφυρας με τα τρία άτομα άνθρακα. Τέσσερις πολύ βασικές ομάδες είναι οι φλαβονόλες, οι ισοφλαβόνες, οι φλαβόνες και οι φλαβανόλες. Η πλειονότητα

των φλαβονοειδών στη φύση απαντάται με τη μορφή γλυκοζιτών (Rice-Evans *et al.*, 1997). Οι ανθοκυάνες είναι γλυκοζίτες (χωρίς σάκχαρο στη θέση 3 είναι γνωστές σαν ανθοκυανιδίνες) και είναι η πιο εξαπλωμένη ομάδα χρωστικών φλαβονοειδών. Ευθύνονται για τα περισσότερα χρώματα του ερυθρού και του κυανού στα φυτικά μέρη. Δύο άλλες κύριες ομάδες είναι οι φλαβόνες και οι φλαβανόλες. Αυτά τα φλαβονοειδή απορροφούν στην περιοχή της υπεριώδους ακτινοβολίας και όχι στην περιοχή της ορατής και παρόντα σε άνθη, δημιουργούν σχηματισμούς που απευθύνονται σε έντομα που «βλέπουν» στην υπεριώδη ακτινοβολία για να τα προσελκύσουν. Αυτές οι δύο χρωστικές απαντώνται και στα φύλλα όλων των πράσινων φυτών. Συσσωρεύονται στα επιδερμικά κύτταρα και απορροφούν ισχυρά φως στην UV-B (280-320 nm) υπεριώδη ακτινοβολία επιτρέποντας στην ορατή να διέλθει. Έτσι, ο επιδερμικός ιστός συμπεριφέρεται σαν εξειδικευμένο διαφανές φίλτρο που συγκρατεί επιλεκτικά τη UV ακτινοβολία και προστατεύει τα κύτταρα. Ακόμα, διαπιστώθηκε ότι έχουν κάποιο ρόλο στη συμβίωση και την άμυνα. Τα ισοφλαβονοειδή απαντώνται, κυρίως, στα χέδρωπα και έχουν διάφορες δράσεις είτε ως φυτοαλεξίνες στην αλληλεπίδρασή τους με τα αζωτοδεσμευτικά βακτήρια, είτε ως ισχυρά εντομοκτόνα, όπως είναι τα ροτενοειδή, είτε ως φυτοοιστρογόνα προκαλώντας στειρότητα στα θηλαστικά.

Οι τανίνες αποτελούν μία κατηγορία φαινολικών ουσιών με αμυντικό χαρακτήρα. Είναι πολυμερή δομικών μονάδων φαινολικών ουσιών και έχουν την ιδιότητα να αντιδρούν και να κατακρημνίζουν πρωτεΐνες. Οι συμπυκνούμενες τανίνες προκύπτουν από πολυμερισμό των μονάδων των φλαβονοειδών. Οι τανίνες είναι γενικά τοξίνες και ελαττώνουν την αύξηση και επιβίωση των φυτοφάγων που τις καταναλώνουν. Επιπλέον, δρουν απωθητικά της βόσκησης, αφού προκαλούν μια έντονη στυπτική αίσθηση στο στόμα επειδή δεσμεύονται από τις σιελοπρωτεΐνες. Η δράση τους αυτή σχετίζεται με την ιδιότητά τους να αντιδρούν και να κατακρημνίζουν δεσμούς υδρογόνου μεταξύ των υδροξυλικών τους ομάδων και ηλεκτροαρνητικών περιοχών του πρωτεϊνικού μορίου, είτε σχηματίζουν ομοιοπολικούς δεσμούς με τις πολυπεπτιδικές αλυσίδες, αφού οξειδωθούν προς κινόνες παρουσία φαινολοξειδασών. Αν τραυματιστεί ο φυτικός ιστός, οι τανίνες των χυμοτοπιών έρχονται σε επαφή με τις υπόλοιπες πρωτεΐνες του ιστού και τις καθιστούν δύσπεπτες. Τα άγουρα φρούτα έχουν υψηλά επίπεδα ταννίνης που συγκεντρώνονται στα εξωτερικά κυτταρικά στρώματα (Καραμπουρνιώτης 2003, Τσέκος 2003).

Η λιγνίνη είναι ένα υψηλώς διακλαδισμένο πολυμερές των ομάδων του φαινυλοπροπανοειδούς που παίζει πρωτογενή και δευτερογενή ρόλο. Η εναπόθεση της λιγνίνης στα κυτταρικά τοιχώματα, κυρίως κατά τη δευτερογενή πάχυνση, τα καθιστά ανθεκτικά στις μηχανικές καταπονήσεις και στη διείσδυση παθογόνων, ενώ τα αδιαβροχοποιεί μειώνοντας τις απώλειες νερού. Παράλληλα με την εξασφάλιση μηχανικής στήριξης, η λιγνίνη έχει σημαντικές προστατευτικές λειτουργίες στα φυτά. Η φυσική της σκληρότητα εμποδίζει τη βορά από τα ζώα και η χημική της σταθερότητα την καθιστά σχετικώς άπεπτη από τα φυτοφάγα ζώα. Είναι η πιο άφθονη οργανική ουσία στα φυτά μετά την κυτταρίνη.

Η ακριβής χημική δομή της λιγνίνης δεν είναι γνωστή, γιατί είναι πολύ δύσκολο να εκχυλισθεί από τα φυτά, όπου αυτή είναι ομοιοπολικά συνδεδεμένη στην κυτταρίνη και σε άλλους πολυσακχαρίτες του κυτταρικού τοιχώματος. Η λιγνίνη γενικά σχηματίζεται από τρεις διαφορετικές φαινυλοπροπανοειδείς αλκοόλες: την κωνιφερόλη, την κουμαρόλη και την σιναυλική αλκοόλη, οι οποίες συντίθενται από τη φαινυλαλανίνη διαμέσου διαφόρων παραγώγων του κινναμωμικού οξέος. Η λιγνίνη απαντάται στα κυτταρικά τοιχώματα διαφόρων τύπων στηρικτικού και αγωγού ιστού, και συγκεκριμένα, στις τραχείδες και τα αγγειώδη στοιχεία του ξυλώματος. Αυτή αποτίθεται, κυρίως, στα παχιά δευτερογενή τοιχώματα, αλλά δύναται να εμφανισθεί επίσης στο πρωτογενές τοίχωμα και τη μέση πλάκα σε στενή επαφή με τις κυτταρίνες και ημικυτταρίνες που ήδη είναι παρούσες. Η μηχανική δυσκαμψία των ενισχυόμενων με λιγνίνη κορμών και αγωγού ιστού επιτρέπει από τη μία μεριά την προς τα άνω αύξηση και από την άλλη μεριά τη μεταφορά του νερού και των ανόργανων αλάτων διαμέσου του ξυλώματος κάτω από αρνητική πίεση χωρίς την κατάρρευση των ιστών. Επειδή η λιγνίνη είναι ένα τέτοιο συστατικό-κλειδί του ιστού που μεταφέρει το νερό, η ικανότητα να κατασκευάζεται λιγνίνη θα πρέπει να είναι μία από τις πιο σημαντικές προσαρμογές που επέτρεψαν στα αρχέγονα φυτά να εποικίσουν την ξερή στεριά (Καραμπουρνιώτης 2003, Τσέκος 2003).

#### 1.4.1.2. Τερπένια

Τα τερπένια αποτελούν μία κατηγορία λιπιδίων των οποίων ο βασικός σκελετός είναι ένα μόριο υδρογονάνθρακα με πέντε (5) άτομα άνθρακα (ισοπεντάνιο). Η θερμική διάσπαση πολλών τερπενοειδών παράγει ένα αλκένιο, το ισοπρένιο, το οποίο κάτω από κατάλληλες συνθήκες μπορεί να πολυμεριστεί και να προκύψουν τερπενοειδείς ενώσεις.

Όπως και στην περίπτωση των φαινολικών ουσιών, οι δυνατότητες συνδυασμού ή τροποποίησης της βασικής μονάδας είναι απεριόριστες, συνεπώς η ομάδα περιλαμβάνει πολυάριθμα μέλη με εξαιρετική ποικιλότητα μορφής (Καραμπουρνιώτης 2003, Buchanan *et al.* 2000).

Η βιοσύνθεση των τερπενίων πραγματοποιείται μέσω δύο διαφορετικών μεταβολικών οδών. Η βιοσυνθετική οδός του μεβαλονικού (το οποίο αποτελεί ένα σημαντικό ενδιάμεσο μεταβολίτη) οδηγεί στη σύνθεση της βασικής μονάδας με τα (5) πέντε άτομα άνθρακα μέσω της σταδιακής συμπύκνωσης τριών μορίων ακετυλο-συνενζύμου Α. Τα ένζυμα της βιοσυνθετικής οδού του μεβαλονικού εντοπίζονται στο κυτόπλασμα και στο ενδοπλασμικό δίκτυο. Μέσω της οδού αυτής παράγονται κυρίως σεσκιτερπένια, τριτερπένια και πολυτερπένια (Dubey *et al.* 2003, Lichtenthaler 1999).

Η δεύτερη βιοσυνθετική οδός, είναι η οδός του μη μεβαλονικού ή το μονοπάτι της 1-δεοξυ-D-φωσφοροξυλουλόζης, με πρόδρομα μόρια το πυροσταφυλικό οξύ και τη φωσφογλυκεριναλδεύδη. Το μονοπάτι αυτό πραγματοποιείται, κυρίως, αν όχι αποκλειστικά, στα πλαστίδια και μέσω αυτού παράγονται τα ημιτερπένια, τα μονοτερπένια, τα διτερπένια και τα τετρατερπένια (Dubey *et al.* 2003, Lichtenthaler 1999). Τα τελικά προϊόντα των οδών αυτών είναι το πυροφωσφορικό ισοπεντενύλιο (IPP) και το ισομερές του, το πυροφωσφορικό διμέθυλ-αλλυλίο (DMAPP), όπου συνδιασμένα παράγουν τα διάφορα μόρια των τερπενίων (Καραμπουρνιώτης 2003, Buchanan *et al.* 2000, Taiz and Zeiger 2002).

Ο διαχωρισμός των δύο αυτών μονοπατιών μέσω διαμερισματοποίησης δεν είναι απόλυτος, γιατί τουλάχιστον ένας μεταβολίτης μπορεί να ανταλλαχτεί μεταξύ των διαμερισμάτων, χωρίς να έχει βρεθεί ακόμα η φύση του μεταβολίτη και η ρύθμιση της διαδικασίας (Dubey *et al.* 2003, Eisenreich *et al.* 2001, Lichtenthaler 1999). Το μη μεταβολικό μονοπάτι υπάρχει στα φυτά, στα πράσινα φύκη, στα ευβακτήρια και στα κυανοβακτήρια (Eisenreich *et al.* 2001, Lichtenthaler 1999).

Ένας μεγάλος αριθμός μονοτερπενίων και παραγώγων τους αποτελούν τοξικούς παράγοντες για τα έντομα. Τα πυρεθροειδή, εστέρες των μονοτερπενίων, αποτελούν αποτελεσματικά εντομοκτόνα. Ανάμεσα σε πολλά σεσκιτερπένια, γνωστοί αντιφάγοι παράγοντες είναι οι σεσκιτερπενικές λακτόνες που είναι κυκλικοί εστέρες που χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη ενός δακτυλίου λακτόνης στο μόριό τους και αποτελούν ισχυρά απωθητικά μόρια για τα φυτοφάγα έντομα. Πολλά διτερπένια είναι

τοξίνες και ανασχετικά της βοράς στα φυτοφάγα ζώα. Διτερπενικά παράγωγα μπορεί να δρουν ερεθιστικά για το δέρμα ή να είναι εσωτερικές τοξίνες στα θηλαστικά.

Στην οικογένεια Lamiaceae έχουν προσδιοριστεί διάφορα τερπενοειδή ιδίως μονο-σεσκι, δι- και τρι-τερπένια. Επίσης, αφθονούν διάφορα φαινολικά συστατικά, ιδίως φαινολικά οξέα, όπως ροσμαρινικό οξύ και φλαβονοειδή. Ιδίως τα μέλη της υποοικογένειας Nepetoideae, στην οποία ανήκει το είδος *Thymbra capitata*, χαρακτηρίζονται από την παραγωγή και συσσώρευση μεγάλων ποσοτήτων πτητικών μονο-τερπενίων (Wink, 2003). Όπως ήδη έχει αναφερθεί, η κύρια λειτουργία των αδενωδών τριχωμάτων είναι η παραγωγή και η απέκκριση δευτερογενών μεταβολιτών, κυρίως πτητικών μιγμάτων μονοτερπενίων και διτερπενίων (αιθέρια έλαια). Διάφοροι ερευνητές απέδειξαν ότι στην οικογένεια Lamiaceae, η βιοσύνθεση και η συσσώρευση των μονοτερπενίων λαμβάνει χώρα στα ασπιδοειδή αδενώδη τριχώματα (Stahl-Biskup, 2002).

Οι Turner *et al.* (1999) εντόπισαν το υπεύθυνο ένζυμο για τη βιοσύνθεση των μονοτερπενίων στο είδος *Mentha × piperita* (Μέντα η πιπερώδης), στους λευκοπλάστες των αδενωδών τριχωμάτων, ενώ οι Turner *et al.* (2000) αναφέρουν ότι στην εκκριτική φάση, στα εκκριτικά κύτταρα των ασπιδοειδών αδένων του ίδιου είδους παρατηρείται ωρίμανση των λευκοπλαστών και σχηματισμός εκτεταμένου λείου ενδοπλασματικού δικτύου, στο οποίο λαμβάνουν χώρα τα στάδια της υδροξυλίωσης της βιοσυνθετικής οδού των μονοτερπενίων.

#### 1.4.1.3. Αζωτούχες ενώσεις

Οι αζωτούχες ενώσεις περιλαμβάνουν στο μόριό τους εκτός από άνθρακα και άζωτο. Τα μέλη της ομάδας αυτής παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους τόσο στη δομή όσο και στη βιολογική δράση. Στην κατηγορία των αζωτούχων ενώσεων συμπεριλαμβάνονται:

i. Αλκαλοειδή. Οι ενώσεις αυτές συνήθως περιλαμβάνουν άζωτο σε έναν ετεροκυκλικό δακτύλιο ποικίλων μορφών. Έχουν αλκαλικές ιδιότητες. Είναι ευδιάλυτα στο νερό και αποτελούν ίσως την περισσότερο διαδεδομένη ομάδα αμυντικών μορίων, καθώς έχουν αναφερθεί περισσότερα από 50.000 μέλη. Παρουσιάζουν τοξική δράση έναντι κυρίως ζωικών οργανισμών, συμπεριλαμβανομένου και του ανθρώπου. Η τοξική δράση τους εξαρτάται από το είδος του αλκαλοειδούς και τον οργανισμό.

ii. Μπεταλαΐνες. Πρόκειται για χρωστικές που δίδουν χαρακτηριστικούς χρωματισμούς σε όργανα και ιστούς, οι οποίες έχουν περιορισμένη εξάπλωση, κυρίως σε



οικογένειες της τάξης των Caryophyllales. Ο χαρακτηριστικότερος εκπρόσωπος είναι η μπετανιδίνη των κονδύλων των τεύτλων.

iii. Τα κυανογόνα γλυκοσίδια. Τα κυανογόνα γλυκοσίδια είναι αζωτούχες ενώσεις ενωμένες με ένα σάκχαρο. Υπό την επίδραση κατάλληλων ενζύμων απελευθερώνουν την τοξική ρίζα κυανίου.

iv. Οι θειογλυκοζίτες είναι αζωτούχες ενώσεις που περιέχουν θείο στο μόριό τους, το οποίο κάτω από κατάλληλες συνθήκες μπορεί να απελευθερωθεί ως ισοθειοκυανικό ή θειοκυανικό ιόν. Σε υψηλές δόσεις προκαλούν ερεθισμό του στόματος και γαστρεντερικές διαταραχές (γλυκομπρασισίνη). Η χαρακτηριστική οσμή και γεύση των σταυρανθών (μπρόκολο-ραπανάκι-λάχανο) οφείλεται σε αυτές τις ενώσεις.

v. Αμίνες. Ουσίες οι οποίες περιλαμβάνουν μία τουλάχιστον αμινομάδα στο μόριό τους. Χαρακτηριστικοί εκπρόσωποι η σπερμίνη και η πουτρεσκίνη.

vi. Μη πρωτεϊνικά αμινοξέα. Παρουσιάζουν δομή παραπλήσια εκείνης ενός εκ των απαραίτητων αμινοξέων. Αμυντικές πρωτεΐνες. Πολυπεπτίδια-εξειδικευμένοι παρεμποδιστές με αμυντικούς ρόλους.

Τα πρόδρομα μόρια, μέσω των οποίων γίνεται η σύνθεση των ενώσεων αυτών, είναι συνήθως αμινοξέα. Οι Bosabalidis and Tsekos (1982) αναφέρονται σε έρευνες των Thaler and Amelunxen (1975), οι οποίοι υποστηρίζουν πως κρύσταλλοι που εντοπίστηκαν στο κυτόπλασμα των παρεγχυματικών κυττάρων μπορεί να είναι πρωτεϊνικής φύσεως.

Στην οικογένεια Lamiaceae οι δευτερογενείς μεταβολίτες που περιέχουν άζωτο είναι δευτερευούσης σημασίας όπως διάφορα απλά αλκαλοειδή (Wink, 2003). Εξάλλου, λόγω της έλλειψης αζώτου, όπως ήδη έχει αναφερθεί, τα μεσογειακά φυτά συνήθως συνθέτουν αμυντικούς δευτερογενείς μεταβολίτες που η κατασκευή τους στηρίζεται σε σκελετούς άνθρακα (τερπένια, φαινολικά), ενώ οι αζωτούχοι μεταβολίτες σπανίζουν (Καραμπουρνιώτης 2003, Τσέκος 2003).

## 1.5. Ποικιλομορφία τριχωμάτων και ταξινόμησή τους

Τα τριχώματα βρίσκονται σε όλα τα τμήματα του φυτού τόσο στα αναπαραγωγικά όσο και στα βλαστητικά (Werker, 2000). Παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλομορφία στη μορφολογία τους, στην προέλευση, στο μέγεθος, στη θέση τους, στη λεπτή δομή τους, στην ικανότητα και τον τύπο της έκκρισης, στη χρονική περίοδο της

εκκριτικής τους δραστηριότητας, στη λειτουργία τους. Γι' αυτό το λόγο, δεν είναι εύκολη η ταξινόμησή τους και βασίζεται για κάθε οικογένεια σε ένα συνδυασμό χαρακτηριστικών.

Τα τριχώματα ταξινομούνται, κυρίως, σε αδενώδη και μη αδενώδη. Στα μη αδενώδη τριχώματα η ταξινόμησή τους βασίζεται στη μορφολογία, την ανατομία και τη λεπτή δομή τους, ενώ για τη διάκριση των αδενωδών τριχωμάτων χρησιμοποιούνται, κυρίως, ως κριτήριο οι ουσίες που εκκρίνουν, συσσωρεύουν ή απορροφούν.

### 1.5.1. Μη αδενώδη τριχώματα

Τα μη αδενώδη τριχώματα μπορεί να είναι μονοκύτταρα ή πολυκύτταρα, διακλαδιζόμενα ή μη διακλαδιζόμενα. Τα πολυκύτταρα μη αδενώδη τριχώματα μπορεί να αποτελούνται από μία, δύο ή πολλές σειρές κυττάρων. Μπορεί να διαφέρουν σε μήκος, μέγεθος και σχήμα, να είναι συμμετρικά ή ασύμμετρα, ομοιόμορφα στο πλάτος ή το πλάτος τους να αλλάζει κατά μήκος του τριχώματος, να συγκλίνουν ή να αποκλίνουν οι κορυφές τους. Μπορεί να διαφέρει το πάχος αλλά και η σύσταση του κυτταρικού τοιχώματος με αποτέλεσμα να τα καθιστούν μαλακά, ελικοειδή ή δύσκαμπτα. Προσφέρουν προστασία όχι μόνο στα φύλλα (ιδίως όταν η πυκνότητά τους είναι μεγάλη), αλλά και στα μικρότερα σε μέγεθος αδενώδη τριχώματα (Werker, 2000).

Στα μη αδενώδη τριχώματα κατά τα αρχικά στάδια της ανάπτυξής τους, συσσωρεύονται δευτερογενείς μεταβολίτες, συνήθως φαινολικές ουσίες, οι οποίοι προσφέρουν προστασία όχι μόνο έναντι των παθογόνων αλλά και της υπερϊώδους ακτινοβολίας. Επομένως, αφενός αποτελούν φράγματα μηχανικής και χημικής προστασίας έναντι εντόμων και παθογόνων και αφετέρου συνιστούν αποτελεσματικά φίλτρα έναντι της υπερϊώδους ακτινοβολίας (Καραμπουρνιώτης, 2003). Στα φύλλα απαντώνται συχνά περισσότερες από μία κατηγορίες μη αδενωδών τριχωμάτων, διάσπαρτα μερικές φορές σε διαφορετικά μέρη των φύλλων. Στο υβρίδιο *Thymus mastichina* x *Thymus villosus* ssp. *villosus* καθώς και στα είδη *T. mastichina* L., *Thymus caespititius* L. και *Thymus lotocephalus* L., τα μη αδενώδη τριχώματα μπορεί να είναι κωνικά μονοκύτταρα ή και πολυκύτταρα, με κλίση στο τελείωμά τους.

### 1.5.2. Αδενώδη τριχώματα

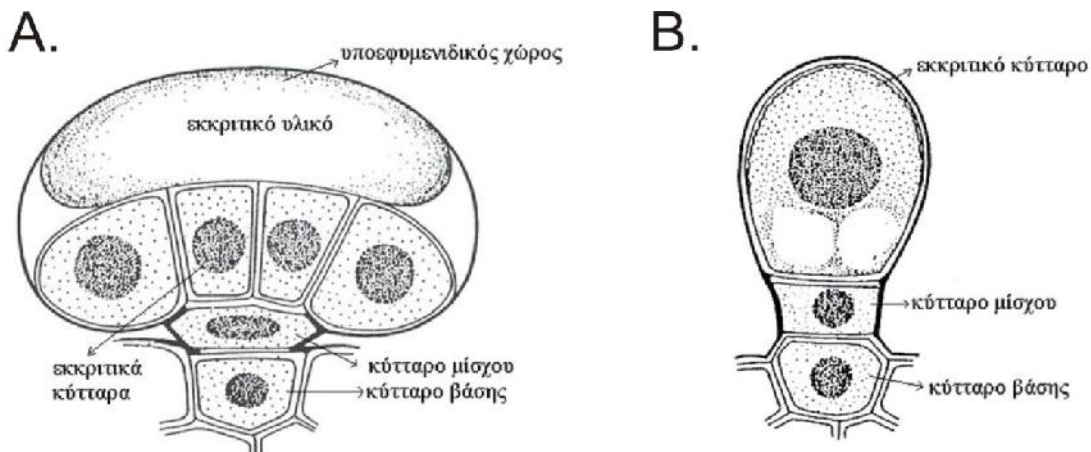
Ο όρος αδενώδη τριχώματα αναφέρεται σε μία μεγάλη ποικιλία αδένων. Οι αδένες διαφέρουν στη χημική σύσταση των ουσιών που εκκρίνουν, συσσωρεύουν ή

απορροφούν, καθώς και στον τρόπο παραγωγής τους, στη δομή τους, στη θέση που εντοπίζονται στο φυτό (ίδιοι αδένες αλλά σε βλαστητικά ή αναπαραγωγικά όργανα) και βέβαια στη λειτουργία τους. Όλα τα παραπάνω εξυπηρετούν στην ταξινόμησή τους. Όπως ισχύει και για τα μη αδενώδη τριχώματα, υπάρχουν μονοκύτταρα ή πολυκύτταρα με μία ή πολλές σειρές κυττάρων.

Μία τυπική αδενώδης πολυκύτταρη τρίχα αποτελείται από: 1. Μία εκκριτική κεφαλή η οποία περιλαμβάνει ένα ή περισσότερα εκκριτικά κύτταρα 2. Ένα μίσχο μονοκύτταρο ή πολυκύτταρο 3. Ένα ή περισσότερα κύτταρα βάσης και 4. Ένα ή περισσότερα κύτταρα λαιμού ανάμεσα στα κύτταρα του μίσχου και της κεφαλής.

Σε πολλά *Lamiaceae* με βάση το σχήμα της εκκριτικής κεφαλής, εντοπίζονται δύο κύριοι τύποι αδενωδών τριχωμάτων:

- i. Τα ασπιδοειδή αδενώδη τριχώματα (peltate) (Εικόνα 1 Α) και
- ii. Τα κεφαλοειδή αδενώδη τριχώματα (capitate) (Εικόνα 1 Β) (Fahn 1979, Fahn 2000).



Εικόνα 1: Αδενώδη τριχώματα οικογένειας *Lamiaceae* Α. Ασπιδοειδές αδενώδες τρίχωμα Β. Κεφαλοειδές αδενώδες τρίχωμα (Fahn, 2000).

Όπως αναφέρεται στους Ascensão and Pais (1998), οι Abu- Asab and Cantino (1987) καθόρισαν ότι ένας αδένας χαρακτηρίζεται ως κεφαλοειδής, αν και εφόσον το μήκος του μίσχου του είναι πάνω από το μισό του ύψους της κεφαλής του.

Τα ασπιδοειδή αδενώδη τριχώματα αποτελούνται από ένα επιδερμικό κύτταρο βάσης, κοντό μονοκύτταρο μίσχο με εφυμενιωμένα αντικλινή πλευρικά τοιχώματα και μεγάλες κεφαλές, περίπου 60-90 μm σε διάμετρο. Ο μίσχος είναι πολύ κοντός και βυθίζεται ουσιαστικά μέσα στην επιδερμίδα. Η κεφαλή σε πολλά είδη της οικογένειας *Lamiaceae* αποτελείται από δύο ευδιάκριτους ομόκεντρους κύκλους κυττάρων, τέσσερα στη μέση σε έναν ενιαίο δίσκο και έναν μεταβλητό αριθμό 12-18 περιφερειακών

κυττάρων που τα περιβάλλουν (Werker *et al.*, 1985 a,b). Τα κεφαλοειδή αδενώδη τριχώματα της οικογένειας Lamiaceae έχουν κατηγοριοποιηθεί σε τρία είδη ανάλογα με τη δομή τους. Ο τύπος I τρίχας αποτελείται από ένα κύτταρο βάσης, ένα σχετικά κοντό μονοκύτταρο μίσχο και μία ευμεγέθη εκκριτική κεφαλή που αποτελείται από ένα ή δύο (1-2) κύτταρα, καλυμμένα με μία λεπτή εφυμενίδα. Ο τύπος II τρίχας αποτελείται από ένα κύτταρο βάσης σχετικά κοντό, έναν μονο- ή δι- κύτταρο μίσχο, ένα βραχύ κύτταρο λαιμού και μια εκκριτική κεφαλή, η οποία αποτελείται από ένα επίμηκες κύτταρο ίδιας διαμέτρου, καλυμμένο με παχιά εφυμενίδα. Ο τύπος III τρίχας είναι ευμεγέθης, με ένα μακρύ μίσχο που αποτελείται από ένα έως τρία (1-3) κύτταρα με κωνική μορφή, ένα κύτταρο λαιμού και μία μονοκύτταρη κεφαλή.

Ο Μποζαμπαλίδης (2008), διαφοροποιώντας την ονοματολογία, διακρίνει τα αδενώδη τριχώματα στις μακροκέφαλες ελαιοφόρες τρίχες (peltate) και στις μικροκέφαλες ελαιοφόρες τρίχες (capitate). Αυτές με τη σειρά τους διακρίνονται σε τρεις τύπους I, II και III. Η μελέτη της ανατομίας των ελαιοφόρων τριχών έδειξε ότι οι μακροκέφαλες ελαιοφόρες τρίχες αποτελούνται από ένα κύτταρο βάσης και μία δωδεκακύτταρη κεφαλή. Οι μικροκέφαλες ελαιοφόρες τρίχες τύπου I είναι οι πιο κοντές και αποτελούνται από ένα κύτταρο βάσης, ένα κύτταρο μίσχου και ένα κύτταρο κεφαλής που έχει ωοειδές ή σφαιρικό σχήμα. Οι μικροκέφαλες ελαιοφόρες τρίχες τύπου II είναι λίγο πιο ψηλές από τις προηγούμενες και αποτελούνται από ένα κύτταρο βάσης, ένα έως δύο (1-2) κύτταρα μίσχου και ένα κύτταρο κεφαλής που μοιάζει με ανάποδο γουδοχέρι. Τέλος, οι μικροκέφαλες ελαιοφόρες τρίχες τύπου III είναι λεπτές και μακριές και αποτελούνται από ένα έως τέσσερα (1-4) κύτταρα βάσης, από δύο ως πέντε (2-5) επιμήκη κύτταρα μίσχου και από ένα ως τέσσερα (1-4) κύτταρα κεφαλής. Τα περισσότερα αρωματικά Χειλανθή (δίκταμο, μαντζουράνα, θύμπρα, καλαμίνθα, μελισσόχορτο, νεπέτα, θυμάρι κλπ) έχουν μακροκέφαλες τρίχες και μικροκέφαλες ελαιοφόρες τρίχες τύπων I και II. Μερικά φυτά όμως, όπως το φασκόμηλο, το τσάι του βουνού, το τεύκριο κ.ά., έχουν και μικροκέφαλες τρίχες τύπου III.

Στα ασπιδοειδή αδενώδη τριχώματα το κύτταρο του μίσχου φαίνεται να επιτελεί ένα πολύ σημαντικό ρόλο, ιδίως στα ξηροφυτικά φυτά: εμποδίζει την αντίστροφη ροή των εκκρινόμενων υλικών μέσω του αποπλάστη. Τα κύτταρα της βάσης ή του μίσχου στα αδενώδη τριχώματα είναι παρόμοια με τα κύτταρα της ενδοδερμίδας (Fahn 1979, Fahn 1986, Fahn 1988 and Baran *et al.* 2010). Το μεγάλο μέγεθος του κυττάρου της

βάσης και η παρουσία πολυάριθμων πλασμοδεσμών στα ανώτερα και κατώτερα περικλινή κυτταρικά τοιχώματα στο είδος *Origanum dictamnus* L., αποδεικνύουν ότι το κύτταρο αυτό επιτελεί μία ειδική λειτουργία, η οποία σχετίζεται πιθανόν με την αποθήκευση. Η κύρια λειτουργία των αδενωδών τριχωμάτων είναι η παραγωγή και η απέκκριση δευτερογενών μεταβολιτών, οι οποίοι είτε είναι τοξικοί για τα παθογόνα και τα φυτοφάγα, είτε μεσολαβούν στην επικονίαση. Τα προϊόντα αυτά είναι συνήθως πτητικά μίγματα (αιθέρια έλαια) μονοτερπενίων και διτερπενίων (Καραμπουρνιώτης, 2003).

Οι δύο τύποι αδένων διαφέρουν πέρα από τη μορφολογία τους:

i. **Στη διάρκεια της εκκριτικής δραστηριότητας.** Στα κεφαλοειδή αδενώδη τριχώματα η έκκριση ξεκινά και σταματά όταν τα φύλλα είναι πολύ νεαρά, ενώ τα ασπιδοειδή συνεχίζουν την εκκριτική τους δραστηριότητα και σε ώριμα φύλλα (Werker *et al.*, 1985 a,b). Σύμφωνα δε με τη λειτουργία και το χρόνο της εκκριτικής δραστηριότητας, τα αδενώδη τριχώματα μπορούν να διακριθούν σε δύο τύπους: 1. Μικρής διάρκειας αδενώδη τριχώματα, τα οποία αντιστοιχούν στα τριχώματα κεφαλοειδούς τύπου και 2. Μακράς διάρκειας αδενώδη τριχώματα, τα οποία αντιστοιχούν στα τριχώματα ασπιδοειδούς τύπου (Werker, 1993).

ii. **Στον τύπο της έκκρισης.** Στα κεφαλοειδή αδενώδη τριχώματα τα εκκρινόμενα υλικά εκκρίνονται στον εξωτερικό χώρο, ενώ στα ασπιδοειδή συσσωρεύονται σε έναν υποεφυμενιδικό χώρο και δεν εκκρίνονται, εκτός και αν κάποιος εξωτερικός παράγοντας καταστρέψει τον αδένα.

iii. **Στο είδος του εκκρινόμενου υλικού.** Τα ασπιδοειδή αδενώδη τριχώματα περιέχουν τις μεγαλύτερες ποσότητες των αιθέριων ελαίων (Kokkini *et al.*, 1994), αν και οι Ascensão *et al.* (1999) αναφέρουν ότι και κάποιες κατηγορίες εκκριτικών κεφαλοειδών τριχωμάτων φαίνεται να εκκρίνουν επίσης μεγάλες ποσότητες αιθέριων ελαίων. Όμως, μόνο τα ασπιδοειδή αδενώδη τριχώματα, σύμφωνα με τους McCaskill *et al.* (1992) και Hallahan (2000) φαίνεται να συσσωρεύουν μονοτερπένια στον υποεφυμενιδικό χώρο. Τα κεφαλοειδή αδενώδη τριχώματα εκκρίνουν μεγάλες ποσότητες πολυσακχαριτών, ενώ ίχνη τους μόνο βρίσκονται στα ασπιδοειδή.

Σε εφαπτομενική τομή του φύλλου στο επίπεδο της επιδερμίδας φαίνεται ότι το κύτταρο βάσης κάθε μακροκέφαλης τρίχας (ασπιδοειδής αδένας) περιβάλλεται ακτινωτά από επιδερμικά κύτταρα, τα οποία ανήκουν λειτουργικά στην ελαιοφόρα τρίχα. Η

ακτινωτή διάταξη των επιδερμικών κυττάρων γύρω από το κύτταρο βάσης, το μεγάλο μέγεθος του κυττάρου βάσης, το ογκώδες κεντρικό χυμοτόπιό του και ο μεγάλος αριθμός πλασμοδεσμών στα τοιχώματα ανάμεσα από το κύτταρο βάσης και τα ακτινωτά επιδερμικά κύτταρα, επιτρέπουν να υποθέσει κανείς ότι τα προϊόντα της φωτοσύνθεσης του χλωροφυλλούχου μεσόφυλλου (τα οποία αποτελούν τις προβαθμίδες βιοσύνθεσης του αιθέριου ελαίου), συλλέγονται από τα ακτινωτά επιδερμικά κύτταρα και διοχετεύονται κεντρομόλα στο κύτταρο βάσης, όπου συγκεντρώνονται στο μεγάλο κεντρικό χυμοτόπιό του. Στη συνέχεια, μεταφέρονται στο κύτταρο μίσχου και τελικά στα κύτταρα κεφαλής της ελαιοφόρου τρίχας, όπου με τα κατάλληλα ένζυμα μεταβολίζονται σε αιθέριο έλαιο. Το ανατομικό πρότυπο των διαφόρων ειδών ελαιοφόρων τριχών, η πορεία βιοσύνθεσης του αιθέριου ελαίου και ο μηχανισμός έκκρισής του είναι παράμετροι που ελέγχονται από συγκεκριμένα γονίδια. Παρόλα αυτά, είναι δυνατόν παράγοντες του περιβάλλοντος όπως το νερό, η θερμοκρασία, η σύσταση του εδάφους κ.ά. να επηρεάζουν τις παραπάνω παραμέτρους (Μποζαμπαλίδης, 2008).

Σχετικά με τα εκκριτικά τριχώματα των ανθέων πολύ λίγα είναι γνωστά όσον αφορά στη θέση και στη δομή τους στα διάφορα τμήματα του άνθους, καθώς και τη χημική σύσταση των εκκρινόμενων ουσιών από τους διάφορους αδένες. Δεν είναι, επίσης, γνωστό αν οι ίδιοι μορφολογικά αδένες όταν παρουσιάζονται σε διαφορετικά όργανα παράγουν τις ίδιες χημικές ουσίες και στην ίδια αναλογία. Στα άνθη, οι ουσίες που εκκρίνονται από τα αδενώδη τριχώματά τους φαίνεται να εξυπηρετούν τόσο την προσέλκυση των επικονιαστών όσο και την προστασία τους από τους θηρευτές τους. Στα νεαρά άνθη, ο κάλυκας είναι πυκνά καλυμμένος στην αποαξονική επιφάνειά του από όλους τους τύπους των αδένων που απαντώνται και στα βλαστητικά μέρη του φυτού. Κατά τη διάρκεια της άνθισης σε είδη όπως το *Majorana syriaca*, το *O. vulgare* καθώς και σε κάποια είδη *Salvia*, στη στεφάνη παρατηρούνται κεφαλοειδείς αδένες στην αποαξονική επιφάνεια. Υπάρχει, όμως, μεγάλη διαφοροποίηση όσον αφορά στη θέση και στον τύπο των αδενωδών τριχωμάτων στην προσαξονική επιφάνεια της στεφάνης (Werker, 1993). Στο είδος *O. vulgare*, το ποσοστό των αιθέριων ελαίων αλλά και ο αριθμός των ασπιδοειδών αδένων είναι μεγαλύτερος στα άνθη από ότι στα φύλλα και μάλιστα αυτό είναι πιο έντονο στο χημειότυπο με μεγάλη συγκέντρωση θυμόλης. Επίσης, τα κεφαλοειδή αδενώδη τριχώματα είναι σπάνια στη στεφάνη (Werker *et al.*, 1985a).

### 1.5.3. Κατανομή τριχωμάτων

Τόσο τα αδενώδη όσο και τα μη αδενώδη τριχώματα παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλομορφία στην κάλυψη των διαφόρων τμημάτων του φυτού, όχι μόνο όσον αφορά τη μεταξύ τους αναλογία αλλά και την ποικιλομορφία μεταξύ των ειδών και ακόμα ανάμεσα στις δύο πλευρές των οργάνων όπως στα φύλλα, στα βράκτια, στα σέπαλα και τα πέταλα. Μπορούν να εμφανίζονται σε μία των φύλλων μόνο ή και στις δύο, ομοιόμορφα ή και ανομοιόμορφα.

Στο φυτό *Leonotis leonorus* L. για παράδειγμα, και στις δύο πλευρές του φύλλου εντοπίζονται τόσο ασπιδοειδή όσο και κεφαλοειδή αδενώδη τριχώματα. Στην αποαξονική επιφάνεια του φύλλου η πυκνότητά τους είναι υψηλότερη μεταξύ των αγγειωδών δεσμίδων. Πάνω στις αγγειώδεις δεσμίδες και στην περιφέρεια του φύλλου σπάνια εντοπίζονται τριχώματα, ενώ τα μη αδενώδη είναι άφθονα. Στην προσαξονική επιφάνεια τα αδενώδη τριχώματα είναι πυκνά, ενώ ανάμεσά τους βρίσκονται διάσπαρτα τα μη αδενώδη. Τα κεφαλοειδή αδενώδη τριχώματα τύπου I είναι άφθονα, ενώ του τύπου II είναι σπάνια (Ascensão *et al.*, 1995, Ascensão and Pais, 1998).

Στο είδος *Mentha X piperita* (κοινώς μέντα), υπάρχουν μεγάλες διαφορές όχι μόνο όσον αφορά την κατανομή των αδένων αλλά και περιοχών όπου οι αδένες είναι ενεργοί. Οι διαφορές αυτές δεν εστιάζονται μόνο μεταξύ της αποαξονικής και προσαξονικής επιφάνειας των φύλλων αλλά και μεταξύ της κορυφής και της βάσης του φύλλου. Υπάρχουν διπλάσιοι σε αριθμό αδένες στην αποαξονική επιφάνεια και περισσότεροι αδένες στη βάση και στο μέσο του φύλλου σε σχέση με την κορυφή (Turner *et al.*, 2000).

Στο είδος *Salvia officinalis* L. (φασκομηλιά), παρουσιάζεται μία αρκετά ομοιόμορφη κατανομή των αδενικών τριχωμάτων και στις δύο επιφάνειες, με υψηλότερη πυκνότητα στην αποαξονική επιφάνεια (Venkatachalam *et al.*, 1984). Στο είδος *Plectanthus ornatus*, τα ασπιδοειδή αδενώδη τριχώματα περιορίζονται μόνο στην αποαξονική επιφάνεια, ενώ τα κεφαλοειδή αδενώδη τριχώματα κατανέμονται ομοιόμορφα και στις δύο επιφάνειες (Ascensão, 1999).

Στο είδος *O. vulgare* (κοινώς ρίγανη), η πυκνότητα των αδενωδών τριχωμάτων είναι υψηλότερη στην προσαξονική επιφάνεια σε σχέση με την αποαξονική, ενώ τα μη αδενώδη τριχώματα είναι πυκνότερα στην αποαξονική σε σχέση με την προσαξονική επιφάνεια σε υψόμετρο 200 m. και παρουσιάζουν αυξανόμενη πυκνότητα από τα φύλλα

της άνοιξης προς τα φύλλα του φθινοπώρου (Kofidis *et al.*, 2003).

Στο θυμάρι οι ελαιοφόρες τρίχες είναι περισσότερο πυκνές (και συνεπώς πιο πολλές) στην αποαξονική επιφάνεια του φύλλου και λιγότερο πυκνές στην προσαξονική (Μποζαμπαλίδης, 2008). Όπως αναφέρεται από τους Figueiredo *et al.* (2008), η διαφορετική κατανομή και συχνότητα των τριχωμάτων στα είδη του γένους *Thymus* μπορεί εν μέρει να εξηγήσει τη διαφορετική σύσταση των ελαίων και τη διαφορετική απόδοση που παρουσιάζουν, όταν αναλύονται ξεχωριστά τα διάφορα υπέργεια τμήματα του φυτού. Η πυκνότητα των αδενικών τριχών στα φύλλα είναι λειτουργικά συνδεδεμένη με τη διαπνοή, την υπερθέρμανση του φύλλου, τις προσβολές από επιβλαβή έντομα, την υπεριώδη ακτινοβολία. Επίσης, σχετίζεται γραμμικά με την απόδοση των φύλλων σε αιθέριο έλαιο. Όσο πιο πολλές οι ελαιοφόρες τρίχες στα φύλλα, τόσο μεγαλύτερη είναι και η ποσότητα του αιθέριου ελαίου που παράγεται από τα φύλλα (Μποζαμπαλίδης, 2008).

Η μικροσκοπική έρευνα της ανατομίας των φύλλων των αρωματικών φυτών έδειξε ότι στα νεαρά νεοσχηματιζόμενα φύλλα συναντώνται ελαιοφόρες τρίχες σε όλα τα στάδια ανάπτυξής τους, δηλαδή τρίχες στην αρχή της δημιουργίας τους (πρώτες κυτταροδιαιρέσεις των αδενικών κυττάρων), τρίχες αναπτυγμένες που εκκρίνουν αιθέριο έλαιο (ολοκλήρωση των κυτταροδιαιρέσεων των αδενικών κυττάρων) και τρίχες γηρασμένες οι οποίες έχουν σταματήσει να εκκρίνουν. Το γεγονός ότι στο ίδιο νεαρό φύλλο βρίσκονται ταυτόχρονα αναπτυσσόμενες, αναπτυγμένες και γηρασμένες ελαιοφόρες τρίχες υποδηλώνει ότι η διαδικασία της έκκρισης του αιθέριου ελαίου είναι ασύγχρονη (Venkatachalam *et al.* 1984, Μποζαμπαλίδης 2008).

Μία άλλη σημαντική παρατήρηση είναι ότι τα πολύ νεαρά φύλλα (κορυφαίο τμήμα του βλαστού) έχουν μια ιδιαίτερα πυκνή επικάλυψη από αδενικές τρίχες σε σχέση με τα ώριμα φύλλα στα κατώτερα μέρη του βλαστού. Το γεγονός αυτό συνδέεται με το ότι τα πολύ νεαρά φύλλα δεν έχουν μηχανική ενδυνάμωση και συνεπώς είναι περισσότερο ευάλωτα στους εχθρούς (κυρίως στα έντομα). Συνεπώς, χρειάζονται μεγαλύτερη προστασία, η οποία εξασφαλίζεται από τα πυκνότερα αδενώδη αλλά και μη αδενώδη τριχώματα. Όταν ξεκινά η επιμήκυνση του φύλλου, βαθμιαία αυξάνει και η απόσταση μεταξύ των αδένων (Werker, 1993).

Ο σχηματισμός πλήρως ανεπτυγμένων ελαιοφόρων τριχών στα πολύ νεαρά φύλλα (μήκους χιλιοστών), στα οποία δεν έχουν σχηματιστεί ακόμη τα στόματα και δεν



έχει διαφοροποιηθεί το μεσόφυλλο σε δρυφακτοειδές και σπογγώδες παρέγχυμα, υπογραμμίζει την αναγκαιότητα της προστατευτικής παρουσίας των ελαιοφόρων τριχών από πολύ νωρίς ακόμη (Μποζαμπαλίδης, 2008). Σε αντιδιαστολή με τα παραπάνω αναφερόμενα, τα ώριμα φύλλα καλύπτονται αποκλειστικά από ανεπτυγμένους αδένες στο είδος *O. dictamnus* (Bosabalidis and Tsekos 1982, Μποζαμπαλίδης 2008).

#### 1.5.4. Ανάπτυξη τριχωμάτων

Η ανάπτυξη των τριχωμάτων ξεκινά σε ένα πρώιμο στάδιο της ανάπτυξης των φύλλων, συχνά πριν την ανάπτυξη των στομάτων και κάποιες φορές πριν ακόμα να μπορούν να διακριθούν τα εμβρυακά φύλλα (Werker, 2000).

Στο πρώτο στάδιο ένα επιδερμικό κύτταρο διαφοροποιείται, δημιουργώντας έναν μονοκύτταρο, ή πολυκύτταρο αδένα. Το επιδερμικό αυτό κύτταρο διακρίνεται από τα γειτονικά του, από το γεγονός ότι παρουσιάζει πολύ πυκνό κυτόπλασμα και μεγάλο πυρήνα. Σε όργανα στα οποία συνυπάρχουν αδενώδη και μη αδενώδη τριχώματα, η διάκριση μεταξύ των δύο τύπων, στη συγκεκριμένη αυτή φάση, ενδεχομένως, να είναι αδύνατη. Στην οικογένεια Lamiaceae για παράδειγμα, τόσο οι ασπιδοειδείς όσο και οι κεφαλοειδείς αδένες, προκύπτουν από την αύξηση του μεγέθους ενός πρωτοδερμικού κυττάρου (Bruni and Modenesi 1983, Kolalite 1998, Werker 2000). Κατά το στάδιο αυτό, οι αδενώδεις δομές προετοιμάζονται, τόσο μορφολογικά όσο και γονιδιακά και βιοχημικά, για την παραγωγή εκκριτικών ουσιών.

Τα εκκριτικά κύτταρα, στις αρχικές αυτές φάσεις, φαίνεται να μην συσσωρεύουν έλαιο, ενώ η εφυμενίδα παραμένει προσκολλημένη στο κυτταρικό τοίχωμα της κεφαλής.

Στα αδενώδη τριχώματα, διακρίνονται τρεις αναπτυξιακές φάσεις:

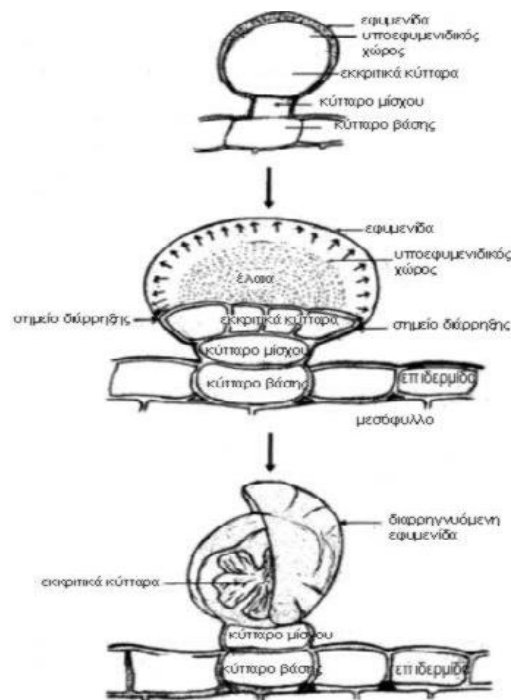
- i. Προ-εκκριτική φάση
- ii. Εκκριτική φάση
- iii. Μετεκκριτική φάση (Ascensão and Pais 1998, Turner *et al.* 2000).

Η προ-εκκριτική φάση σταματά όταν ο αδένας έχει διαφοροποιηθεί πλήρως, με τις επιμέρους δομές του να είναι ευδιάκριτες και να παρουσιάζουν τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά τους. Για παράδειγμα, στα κύτταρα της βάσης των κεφαλοειδών έχουν σχηματιστεί μεγάλα χυμοτόπια και κυστίδια, στο μίσχο παρουσιάζονται ελαιοσταγονίδια και στην κεφαλή μικρά χυμοτόπια, κυστίδια, μιτοχόνδρια και άλλα οργανίδια. Παρόμοια χαρακτηριστικά εμφανίζονται και στους ασπιδοειδείς αδένες.

Η δεύτερη φάση είναι η εκκριτική. Κατά τη φάση αυτή, η κεφαλή του αδένα

γεμίζει σταδιακά με το απέκκριμα, ενώ η εφυμενίδα παραμένει προσκολλημένη στο κυτταρικό της τοίχωμα. Γίνονται ιδιαίτερα εμφανή τα οργανίδια Golgi και το ενδοπλασμικό δίκτυο, το οποίο πολλές φορές εντοπίζεται γύρω από πλαστίδια και μιτοχόνδρια ή κοντά στην κυτοπλασματική μεμβράνη (Ascensão and Pais 1998, Sharma *et al.* 2003). Από τα συστατικά του αιθέριου ελαίου, τα σεσκιτερπένια παράγονται στο θεμελιώδες πλάσμα, τα δε μονοτερπένια στα πλαστίδια (Bick and Lange, 2003). Ο χρόνος που απαιτείται από τη δημιουργία του αδένα μέχρι το εκκριτικό στάδιο, σύμφωνα με τους Turner *et al.* (2000), φτάνει τις 30 ώρες.

Η μετεκκριτική φάση διακρίνεται σε τρία στάδια: ωρίμαση, διάρρηξη της εφυμενίδας και αποδιάταξη των εκκριτικών κυττάρων, σύμφωνα με τους Smarma *et al.* (2003). Η ωρίμαση αφορά στο διαχωρισμό της εφυμενίδας από το κυτταρικό τοίχωμα, συμπαρασύροντας μαζί της μέρος του κυτταρικού τοιχώματος στο οποίο έχει εναποτεθεί κουτίνη. Δημιουργείται, έτσι, ένας υποεφυμενιδικός χώρος στον οποίο συγκεντρώνεται το εκκριτικό υλικό. Ο υποεφυμενιδικός χώρος προκειμένου να γεμίσει χρειάζεται 30 ώρες. Ακολουθεί η διάρρηξη της εφυμενίδας, η έκκριση του περιεχομένου του αδένα και η διακοπή της παραγωγής εκκριτικών υλικών (Sharma *et al.* 2003, Turner *et al.* 2000, Werker 2000). Τη διάρρηξη ακολουθεί η αποδιοργάνωση των εκκριτικών κυττάρων και η συρρίκνωσή τους. Στην Εικόνα 2 απεικονίζεται η αλληλουχία των τριών αναπτυξιακών σταδίων του ασπιδοειδούς αδένα, σύμφωνα με τους Smarma *et al.* (2003).



Εικόνα 2: Προτεινόμενη αλληλουχία των τριών αναπτυξιακών σταδίων του ασπιδοειδούς αδένα (Smarma *et al.*, 2003).

## 1.6. Βοτανική ταξινόμηση, οργανογραφία

I. Συστηματική κατάταξη του φυτού *Ballota acetabulosa* L.

Βασίλειο: Plantae- Haeckel, 1866-Plants

Υποβασίλειο: Viridaeplantae- Cavalier- Smith, 1981

Φύλο: Tracheophyta-Sinnott, 1935 Ex Cavalier- Smith, 1998- Vascular Plants

Υποφύλο: Euphyllophytina-(Auct.) Cavalier- Smith, 1998

Κλάση: Spermatopsida- Brongniart, 1843

Υποκλάση: Asteridae- Takhtajan, 1967

Υπερτάξη: Lamianae- Takhtajan, 1967

Τάξη: Lamiales- Bromhead, 1838

Υποτάξη: Lamianae- Takhtajan, 1967

Οικογένεια: Labiatae(Lamiaceae)-A.L.de Jussieu, 1789,  
nom. cons., nom. alt.

Υπο-οικογένεια: Lamioideae

Τριτύς: Lamieae

Γένος: *Ballota*- Linnaeus, 1753

Είδος: *acetabulosa*- Benth

**Botanical name:** - *Ballota acetabulosa* (L.) Benth.

## II. Μορφολογία

Το αλουμινάκι γνωστό και ως Βαλλωτή η οξυβαφώδης *Ballota acetabulosa* ανήκει στην οικογένεια των Χειλιανθών (Labiatae) και άλλες ονομασίες του είναι: Φουφουλιά (Τήνος), Μπαμπακούλια (Κύθηρα), Φάσσα (Αίγινα), Νεροβαμβακιά (Πελοπόννησος), Μαυρομάργο (Αττική), Μαυρομάρκος (Κύθνος), Αποπουλιά, Λυχνάρακι, Οικονομία, Καντηλαναύτρα, Φυτιλάκι, Αλουμινάκι, Καπτουριά.



Εικόνα 3: Μορφολογική παρατήρηση των φύλλων του φυτού *B. acetabulosa*.

Αειθαλής, πολυετής πόα με ξυλώδη βάση, που μπορεί να πάρει τις διαστάσεις μικρού θάμνου, ύψους έως 60 cm. Τα φύλλα του σε σχήμα καρδιάς είναι χνουδωτά, αντίθετα, απαλά, με χρώμα ασπροπράσινο. Τα άνθη του είναι μικρά, ερμαφρόδιτα (έχει τόσο αρσενικά όσο και θηλυκά όργανα), όμοια με εκείνα των άλλων ειδών που ανήκουν στην

ίδια οικογένεια, κοκκινωπά και βγαίνουν από τον Ιούνιο έως τον Ιούλιο. Οι ξεροί κάλυκες μοιάζουν με χωνιά και ανά δύο, αφού αφαιρούν το σπόρο από τον ένα, τοποθετούνται ανεστραμμένοι πάνω στο λάδι του καντηλιού και τους ανάβουν, χρησιμοποιώντας τους, έτσι, για άναμμα του καντηλιού στα σπίτια και στις εκκλησίες. Οι καρποί του είναι μαύροι και μικροσκοπικοί και κρύβονται στη βάση ενός κάλυκα που μοιάζει με χωνί. Είναι φυτό αρωματικό.

Το φυτό προτιμά φως, απαιτεί καλά στραγγιζόμενα εδάφη και μπορεί να αναπτυχθεί σε διατροφικά φτωχό χώμα. Αυτοφύεται καλύτερα σε αλκαλικά εδάφη, αναπτύσσεται εξίσου καλά σε (αμμώδη), μεσαία (αργιλώδη) και βαρέα (άργιλος) εδάφη. Είναι ανθεκτικό στην ξηρασία, ενώ δεν είναι ανθεκτικό στο ψύχος, αφού ανέχεται θερμοκρασίες το πολύ μέχρι και  $-10^{\circ}\text{C}$ . Το είδος αυτό είναι ανενόχλητο από παράσιτα και ασθένειες, ενώ συνδέεται μόνο με το είδος *Ballota pseudodictamnus* L. Πρόκειται για ενδημικό φυτό της Ελλάδας και της Τουρκίας.

### III. Ιστορικά στοιχεία

Ο Διοσκουρίδης (77μ.Χ.), ο οποίος θεωρείται ο πιο λαμπρός φαρμακολόγος του αρχαίου κόσμου, στο τρίτο βιβλίο του συγγράμματός «Περί Ύλης Ιατρικής», όπου πραγματεύεται “περί ριζών και χυλισμάτων και βοτάνων και σπερμάτων συμφύλων τε και φαρμακωδών επελευσόμεθα” περιγράφει τη βαλλωτή ως ψευδοδίκταμο. Πιο συγκεκριμένα αναφέρει: «Άλλοι την ονομάζουν "μελαπράσιο", άλλοι "πράσιο", άλλοι "νόφνα", άλλοι "νοτιασκελλίνα", άλλοι "νόσπρασο", άλλοι "νοθεράδα", άλλοι "νωχελίδα", άλλοι "νοστελίδα", άλλοι "νωφρύδα", άλλοι "γνωθουρίδα", άλλοι "γνοτέρα". Οι Ρωμαίοι την ονομάζουν "arnium", άλλοι "meditam", άλλοι "ulceraria", άλλοι "marrubium cantherenum". Οι Αιγύπτιοι "ασφό". Άλλοι "αισκή". Οι προφήτες "αίμα του Ισίωνα". Αναφέρει στελέχη τετράγωνα, σκούρα, λίγο πυκνά, από μία ρίζα πιο πολλά. Τα φύλλα, όμοια με το πράσιο (υδρόβιο φυτό), μεγαλύτερα και σκούρα, υποστρόγγυλα, πυκνά μακριά από το στέλεχος, παρόμοια με αυτά του μελισσόφυλλου, δύσοσμα. Γι' αυτό μερικοί το ονόμασαν μελισσόφυλλο. Και τα άνθη υπάρχουν κυκλικά γύρω από τα λευκά στελέχη. Αυτής τα φύλλα εφαρμοζόμενα ως κατάπλασμα (αλειφόμενα) με αλάτι βοηθούν στις πληγές από τα δαγκώματα των σκύλων. Μαραμένα στη φωτιά περιορίζουν τα σταχτιά οιδήματα (πρηξίματα). Μαζί με μέλι καθαρίζουν βρώμικες πληγές».

#### IV. Χρήσεις

Το φυτό παρουσιάζει αντισπασμωδικές ιδιότητες και χορηγείται κυρίως στις περιπτώσεις κοκκύτη των παιδιών και κατά των ψυχονευρώσεων.

Στη Μάνη τη χρησιμοποιούσαν για το άναμμα του καντηλιού στα σπίτια και στις εκκλησίες. Μάζευαν τους ξερούς κάλυκες, που μοιάζουν με χωνιά και ανά δύο, αφού αφαιρούσαν το σπόρο από τον ένα, τους τοποθετούσαν ανεστραμμένους πάνω στο λάδι του καντηλιού και τους άναβαν. Η φλόγα κρατούσε αναμμένη όλη τη νύχτα και δε δημιουργούσε κάπνα. Γι' αυτό ονομάζεται και Καντηλανάυτρα. Σήμερα, οι αποξηραμένοι μίσχοι συλλέγονται και χρησιμοποιούνται σαν ένα πλωτό φυτίλι για τη λάμπα πετρελαίου. Οι κάλυκες τοποθετούνται στην επιφάνεια του λαδιού και σύντομα γίνονται κορεσμένοι με λάδι (Yilmaz *et al.*, 2005).

Το φυτό αυτό μπορεί να καλλιεργηθεί για εδαφοκάλυψη, αφού μπορεί να εξαπλωθεί ως συστάδα. Στην Ελλάδα βρίσκουμε είδη που είναι αυτοφυή.

Στην Τουρκία χρησιμοποιείται για τη θεραπεία των αιμορροΐδων, όπως έγχυση στη λαϊκή ιατρική.

### Οικογένεια

Το φυτό ανήκει στην οικογένεια Lamiaceae ή Labiatae, επίσης γνωστή και ως οικογένεια “μέντα”, είναι μία από τις πιο γνωστές οικογένειες φυτών (Βαρδαβάκης 1993, Μπαμπαλώνας και Κοκκίνη 2004). Θεωρήθηκε στενά συνδεδεμένη με την οικογένεια Verbenaceae, αλλά πολλές πρόσφατες φυλογενετικές μελέτες έχουν δείξει ότι πολλά γένη που κατατάσσονται στην Verbenaceae ανήκουν μάλλον στην Lamiaceae, ενώ γένη της Verbenaceae δε συνδέονται στενά με την Lamiaceae και είναι πιο στενά συνδεδεμένα με άλλα μέλη της τάξης Lamiales. Η διευρυμένη οικογένεια Lamiaceae περιέχει από 233 μέχρι 263 γένη και 6900 με 7200 είδη (Σαρχής, 1999). Τα φυτά αυτής της οικογένειας είναι κατά κύριο λόγο αρωματικά σε όλα τα μέρη τους, περιλαμβάνοντας και ορισμένα ευρέως διαδεδομένα αρτυματικά φυτά. Μερικά φυτά αυτής της οικογένειας είναι ο βασιλικός, η μέντα, το δεντρολίβανο, το φασκόμηλο, το θρούμπι, η μαντζουράνα, η ρίγανη, το θυμάρι και η λεβάντα. Μερικά είναι θάμνοι, δέντρα ή σπάνια αμπέλια. Πολλά μέλη της οικογένειας καλλιεργούνται ευρέως, όχι μόνο για τις αρωματικές ιδιότητές τους αλλά και την ευκολία της καλλιέργειάς τους. Αυτά τα φυτά είναι από τα ευκολότερα φυτά για να αναπτυχθούν με μοσχεύματα βλαστού. Εκτός απ’ αυτά που καλλιεργούνται για τα βρώσιμα φύλλα τους, μερικά καλλιεργούνται ως διακοσμητικά όπως ο κολεός (*Coleus* sp). Άλλα είναι που καλλιεργούνται για τους εδώδιμους καρπούς τους όπως συμβαίνει στο φυτό chia (*Salvia hispanica*).

Το αρχικό όνομα της οικογένειας ήταν Labiatae (Χειλανθή), επειδή στα άνθη τους έχουν συνήθως πέταλα που το άνω χείλος με το κάτω χείλος έχουν συγχωνευθεί. Αν και αυτό εξακολουθεί να θεωρείται μια αποδεκτή εναλλακτική ονομασία, οι περισσότεροι βοτανολόγοι χρησιμοποιούν σήμερα την ονομασία “Lamiaceae”.

Τα φυτά της οικογένειας Lamiaceae έχουν κάποια χαρακτηριστικά γνωρίσματα που τα διακρίνουν. Τα ριζίδια, αντίθετα κατά ζεύγος σε ορθή γωνία με τον προηγούμενο (που ονομάζεται decussate) ή σπειροειδή.

Οι μίσχοι είναι συχνά πλατείς σε διατομή, αλλά αυτό δε βρίσκεται σε όλα τα μέλη της οικογένειας, ενώ μερικές φορές αυτός ο τύπος βλαστών έχει βρεθεί και σε άλλες οικογένειες φυτών. Τα φύλλα και οι βλαστοί καλύπτονται συνήθως από αδενώδεις τρίχες από τις οποίες εκκρίνονται αιθέρια έλαια. Ο βλαστός σε εγκάρσια τομή είναι τετράγωνος. Τα φύλλα είναι αντίθετα και ανά ζεύγος σταυροειδώς τοποθετημένα (Μπαμπαλώνας και Κοκκίνη, 2004). Τα άνθη είναι ζυγόμορφα με πέντε ενωμένα πέταλα

και πέντε σέπαλα ενωμένα. Είναι συνήθως ερμαφρόδιτα και χαρακτηριστικό τους γνώρισμα είναι η ύπαρξη ενός συμπλέγματος λουλουδιού που μοιάζει με μία σπείρα λουλουδιών, αλλά στην πραγματικότητα αποτελείται από δύο γεμάτα συμπλέγματα. Διατάσσονται στις μασχάλες των φύλλων ή επάκρια και σχηματίζουν συνήθως μονοχάσια ή διχάσια και σπάνια βότρυ ή στάχυ. Οι στήμονες είναι δύο ή τέσσερις, συχνά διδύναμοι, δηλαδή σχηματίζουν δύο ανισοϋπή ζεύγη. Η ωθήκη αποτελείται από δύο καρπόφυλλα και χωρίζεται με ψευδοδιαφράγματα σε τέσσερις χώρους στους οποίους περιέχεται μια ανάτροπη σπερματική βλάστη. Ο στύλος είναι απλός και καταλήγει σε δισχιδές στίγμα. Ο ξηρός καρπός διασπάται σε τέσσερα μονόσπερμα κάρυα (Βαρδαβάκης 1993, Σαρλής 1999).

## V. Γένος

Το *Ballota* (μαρρούβιο) είναι γένος με περίπου 35 είδη ανθοφόρων φυτών της οικογένειας *Lamiaceae*, ιθαγενές στις εύκρατες περιοχές της Ευρώπης, τη Βόρειο Αφρική και τη Δυτική Ασία, με τη μεγαλύτερη ποικιλομορφία στην περιοχή της Μεσογείου.

Σύμφωνα με τους Scheen *et al.* (2010), ορισμένα είδη του γένους *Ballota* (όπως το *Marrubium* – μαρρούβιο) χρησιμοποιήθηκαν και ως φυτά για τη θρέψη των προνύμφων ορισμένων λεπιδόπτερων, συμπεριλαμβανομένου του γένους *Coleophora* (είδη *Coleophora ballotella*, *Coleophora lineolea* και *Coleophora Ochripennella*). Μερικά από τα πιο γνωστά είδη είναι το *B. acetabulosa*, το *Ballota frutescens*, το *Ballota hirsute*, το *Ballota nigra-black* μαρρούβιο, το *B. pseudodictamnus*.

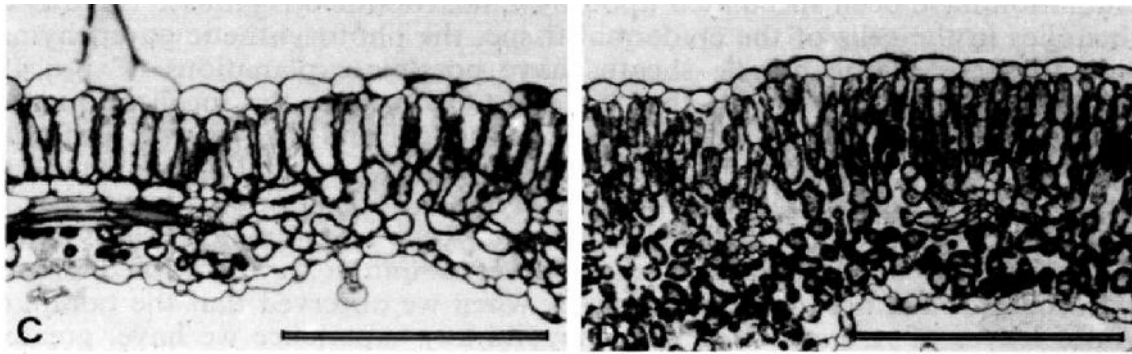
### 1.7. **Ανατομία του φύλλου του φυτού *B. acetabulosa***

Έρευνες σχετικά με την ανατομία του φύλλου σε εποχικά διμορφικά φυτά επιβεβαίωσαν το γεγονός ότι οι δομικές ιδιαιτερότητες είναι κοινές και οι διαφορές ανάμεσα σε καλοκαιρινά και χειμερινά φύλλα είναι γενικά όμοιες. Τα πολύ ξηρομορφικά καλοκαιρινά φύλλα με τις μεγάλες ποσότητες των δευτερογενών μεταβολιτών αντικαθίστανται από περισσότερα μεσομορφικά φύλλα που έχουν έλλειψη αυτών των ενώσεων. Ο εποχιακός διμορφισμός που συναντάται, κυρίως, σε μεσογειακές περιοχές έχει εδώ και καιρό το αντικείμενο μελέτης του (Margaris and Papadopoulou 1975, Arianoutsou-Faraggitaki and Margarris 1981, Westman 1981,1985, Psaras 1986, Christodoulakis *et al.* 1986, Psaras and Christodoulakis 1987), αλλά μόνο προσφάτως η δομή των φύλλων και οι διαφορές ανάμεσα σε καλοκαιρινά και χειμερινά φύλλα

μελετήθηκαν λεπτομερώς σε εποχιακά διμορφικά είδη (Christodoulakis, 1989). Φαίνεται ότι οι περιβαλλοντικές συνθήκες επιδρούν τόσο στην πτώση των φύλλων όσο και στην ανάπτυξη των οφθαλμών, με συνέπεια να παράγουν φύλλα πολύ διαφορετικά ακόμα και στο ίδιο φυτό. Οι διαφορές που παρατηρήθηκαν ακόμα και σε επίπεδο υποδομής θα μπορούσαν να θεωρηθούν ως ένδειξη της λειτουργικής ποικιλομορφίας ανάμεσα σε δύο τύπους φύλλων. Οι εποχικές διαφορές ανάμεσα στη δομή των φύλλων θεωρούνται φυσιολογικές, εφόσον το φυτό πρέπει να ξεπεράσει τις δυσκολίες που προκύπτουν από ένα ζεστό και ξηρό καλοκαίρι και να υποδεχτεί ένα μέτριο κρύο χειμώνα (Christodoulakis, 1989).

Οι Christodoulakis and Bazos (1990), εντόπισαν και μελέτησαν τις μορφολογικές και φυσιολογικές διαφορές των φύλλων του φυτού *B. acetabulosa* και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα χειμερινά φύλλα είναι λιγότερο ξηρομορφικά από ότι τα καλοκαιρινά και ότι τα λεπτότερα χειμερινά φύλλα χαρακτηρίζονται από ένα αυστηρά μονόστοιβο πασσαλώδες παρέγχυμα (εικόνα 5a). Τα κύτταρα του δρυφρακτοειδούς περιέχουν πολυάριθμους αναπτυγμένους χλωροπλάστες με αμυλόκκοκους, ενώ τα χυμοτόπια συσσωρεύουν μεταβολίτες λιπιδίων σε μικρές ποσότητες, όπως υποδεικνύεται από ιστοχημικές αντιδράσεις με Sudan Black, ενώ δεν παρατηρήθηκαν καθόλου φαινολικά. Πολυάριθμοι κρύσταλλοι με μορφή ραφίδων εμφανίζονται μέσα στα χυμοτόπια. Ο αριθμός των στρωμάτων των δρυφρακτοειδών κυττάρων φαίνεται να εξαρτάται από την εποχή. Σε αντίθεση με τα χειμερινά, τα συμπαγή καλοκαιρινά φύλλα είναι περισσότερο τριχωτά και το δρυφρακτοειδές παρέγχυμα δε μπορεί να θεωρηθεί ως μονόστοιβο, εφόσον συχνά παρατηρείται να είναι δίστοιβο, αν και η δεύτερη στοιβάδα δεν είναι πάντα απόλυτα ευδιάκριτη (εικόνα 5b). Αυτό προκαλεί ιδιαίτερο ενδιαφέρον επειδή δείχνει ότι η ανάπτυξη του δρυφρακτοειδούς παρεγγύματος επηρεάζεται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Ο αριθμός των στοιβάδων παραμένει σταθερός για να υποβληθούν σε γενετικό έλεγχο (Pyykkö, 1966). Στην περίπτωση αυτή υποθέσαμε ότι οι περιβαλλοντικές συνθήκες επιλέγουν ορισμένα χαρακτηριστικά από μία ποικιλία γενετικών φυτών. Μεγάλοι αριθμοί από ραφίδες παρουσιάζονται στο μεσόφυλλο. Στα καλοκαιρινά φύλλα αδενώδεις τρίχες εμφανίζονται στην κάτω επιφάνεια, ενώ οι επιδερμικοί ιστοί είναι λεπτότεροι και τα μηχανικά στοιχεία είναι περισσότερο αναπτυγμένα από ότι στα χειμερινά φύλλα. Και οι δύο τύποι φύλλων είναι αμφιστοματικοί.





Εικόνα 5 a,b: Διατομές των χειμερινών και καλοκαιρινών φύλλων σε φύλλα του φυτού *B. acetabulosa*. Η διάταξη του δρυφρακτοειδούς παρεγχύματος αποδεικνύεται.

Οι παρατηρήσεις σχετικά με τη δομή του φύλλου των εποχικών διμορφισμών δείχνουν ότι οι κλιματολογικές συνθήκες συσχετίζονται με τις δομικές διαφορές ανάμεσα στους δύο τύπους φύλλων και πιθανώς να επηρεάσουν και αυτούς. Η στροφή των υποστοματικών φύλλων, η συσσώρευση των δευτερογενών μεταβολιτών, η ενίσχυση του μηχανικού ιστού και το μικρό μέγεθος των φύλλων είναι διάφοροι τρόποι που χρησιμοποιούν τα φυτά προκειμένου να υπομείνουν το περιβαλλοντικό στρες. Οι αλλαγές αυτές έχουν πιθανώς ανιχνεύσιμη επίδραση στη φυσιολογία των φυτών και ιδίως σχετικά με το ενεργειακό ισοζύγιο του φύλλου και την ανταλλαγή αερίου. Συμπερασματικά, θα μπορούσαμε να πούμε ότι προβλήματα που αφορούν περιβαλλοντικές επιπτώσεις στη δομή των φύλλων θα μπορούσαν να διασαφηνιστούν με τη διεξαγωγή έρευνας σε φύλλα φυτών καλλιέργειας σε ελεγχόμενα περιβάλλοντα.

Μια άλλη μελέτη, που πραγματοποιήθηκε από τους Psaras and Rhizopoulou (1995), εντόπισε τα λειτουργικά και δομικά χαρακτηριστικά στο φυτό *B. acetabulosa* που θα μπορούσαν να επηρεάσουν την ανάπτυξη των φύλλων και εστίασε ειδικότερα στη δομή του μεσόφυλλου σε σχέση με την ποσότητα σε νερό του φύλλου. Μέχρι τότε, η ρύθμιση της μεταφοράς του CO<sub>2</sub> από τον περιβάλλοντα αέρα μέσα στο φύλλο και ταυτόχρονα η απώλεια του νερού από το φύλλο αποτελούσε σημαντική ανησυχία όσων μελετητών ασχολούνταν με φυτά που αναπτύσσονταν σε ξηρές περιοχές (Meidner and Mansfield 1968, Meidner and Sheriff 1976, Davies 1986, Schulze 1986, Parkhurst 1994). Η άποψη που επικρατούσε ήταν ότι ο κύριος όγκος του νερού που υπάρχει στο φύλλο εξατμίζεται από τα κύτταρα του μεσόφυλλου (Turrell 1936, Jarvis and Slatyer 1970, Boyer 1985, Nonami and Schulze 1989). Η δομή του μεσόφυλλου και η κατάσταση των υδάτων συσχετίστηκαν με την επέκταση του φύλλου από τους Dale (1988) και Parkhurst (1994). Το εμβαδόν της περιοχής του μεσόφυλλου είναι δέκα (10) φορές από ότι της

εγκάρσιας περιοχής του φύλλου που διατίθεται για μεσοκυττάρια αέρια διάχυση και σχεδόν επτά έως τριάντα (7-30) φορές της εξωτερικής επιφάνειας. (Meidner and Sheriff 1976, Raven 1984, Bolhar-Nordenkampf and Draxler 1993). Ο Raven (1993) παρατήρησε ότι η ποσοτικοποίηση της εσωτερικής επιφάνειας ανά τομέα του φύλλου είναι μικρή.

### Διαφοροποίηση ιστού

Οι Psaras and Rhizoroulou (1995) μελέτησαν βλαστούς που έχουν επτά έως οκτώ (7-8) ζευγάρια φύλλων όλων των σταδίων ανάπτυξης (L1- νεότερα - έως το L9 που είναι η θέση του φύλλου στον άξονα) από θάμνους ύψους 40-50 cm. του φυτού *B. acetabulosa*, σε περιοχή που βρίσκεται βορειοανατολικά της Αθήνας. Η μελέτη έδειξε ότι τα φύλλα αποτελούνται από πέντε (5) στοιβάδες κυττάρων (άνω και κάτω επιδερμίδα) και τρεις κυτταρικές στοιβάδες του μεσόφυλλου.

➤ Στο στάδιο L1, όλα τα κύτταρα κατείχαν ένα πυκνό κυτταρόπλασμα και οι διατομικές διαστάσεις του ήταν όμοιες σε όλα τα στρώματα κυττάρων. Στα ανώτερα επιδερμικά κύτταρα, τα χυμοτόπια ήταν ελαφρώς μεγαλύτερα δείχνοντας ότι η διαφοροποίηση στην ανώτερη επιδερμίδα άρχισε νωρίτερα από ότι στους άλλους ιστούς. Διάφορες πολυκυτταρικές διακλαδισμένες τρίχες, άφθονοι κατεψυγμένοι αδένες και ανώτερα στόματα παρατηρήθηκαν και τα αποτελέσματα φαίνονται στις εικόνες 6a, 6b. Τα νέα κύτταρα που προορίστηκαν να διαφοροποιήσουν τον πασσαλώδη ιστό ήταν μακρύτερα από τα κύτταρα του μεσόφυλλου που προορίστηκαν να διαφοροποιήσουν το σπογγώδη ιστό (εικ 6a). Αν και ο αριθμός των μιτωτικών διαιρέσεων ήταν μικρός, η μεριστωματική δομή του νέου πασσαλώδους ιστού ήταν από τα πρόσφατα σχηματισμένα κύτταρα, όπως συμπεραίνεται από τα εξαιρετικά μικρά χυμοτόπια και την απουσία μεσοκυττάρων χώρων (εικ 6c,d,g). Τα κύτταρα των ιστών που προορίστηκαν να αναπτυχθούν σε σπογγώδη, ήταν περισσότερο ή λιγότερο ισοδιαμετρικά, διαμορφώνοντας μικρά μεσοκυττάρια διαστήματα (εικ 6d).

➤ Στο στάδιο L2, τα επιδερμικά κύτταρα που είναι ορθογώνια στη διατομή είχαν διάφορα μικρά χυμοτόπια.(εικ 6f). Τα ώριμα στόματα παρατηρήθηκαν στην κάτω επιδερμίδα (εικ 6f). Τα κύτταρα του δρυφρακτοειδούς εντοπίστηκαν να έχουν λίγα ή καθόλου μικρά χυμοτόπια, να περιέχουν πυκνό κυτόπλασμα και μικρά μεσοκυττάρια διαστήματα και να είναι τριγωνικά στη διατομή (εικ 6g). Τα σπογγώδη κύτταρα περιείχαν μικρά χυμοτόπια, κυρτές επιφάνειες, πλαστίδια και πολυάριθμα μεσοκυττάρια

διαστήματα, που δείχνουν ότι είχαν διαφοροποιηθεί νωρίτερα (εικ 6h).

➤ Στο στάδιο L3, τα επιδερμικά κύτταρα ήταν ιδιαίτερα χυμοτοπιασμένα. Τα στρογγυλεμένα σπογγώδη κύτταρα περιείχαν μεγάλα χυμοτόπια, μεγάλα μεσοκυττάρια διαστήματα και αναπτυγμένους χλωροπλάστες η πλειοψηφία των οποίων βρέθηκε κατά μήκος των μεσοκυττάρων καναλιών. Κυλινδρικά πασσαλώδη κύτταρα με μικρά χυμοτόπια και μικρά ανώριμα αδιαφοροποίητα πλαστίδια βρίσκονταν πυκνά και με μικρούς μεσοκυττάρους χώρους (εικ 7a,b).

➤ Στο στάδιο L4, τα επιδερμικά κύτταρα και των δύο (2) επιφανειών βρέθηκαν να έχουν χυμοτόπια και ώριμα στόματα (εικ 7d). Υποστοματικές κοιλότητες ήταν παρούσες αλλά ήταν περισσότερο αναπτυγμένες όταν συνδέθηκαν με τα στόματα των κάτω επιδερμίδων. Κυλινδρικά πασσαλώδη κύτταρα με κεντρικά χυμοτόπια και διάφορα πλαστίδια στο κυτόπλασμα διαμόρφωσαν είτε τα τριγωνικά είτε τα πολυγωνικά μεσοκυττάρια κανάλια (εικ 7e). Τα σπογγώδη κύτταρα με το κεντρικό χυμοτόπιο και τους ώριμους χλωροπλάστες τακτοποιήθηκαν κατά μήκος των μεσοκυττάρων καναλιών και εκτέθηκαν σε μία συνέχεια των διάκενων (εικ 7f).

➤ Τα φύλλα στο στάδιο L5 περιείχαν επιδερμικά κύτταρα με παχιά κυρτά εξωτερικά κυτταρικά τοιχώματα και στόματα που αναπτύχθηκαν πάνω από το επίπεδο των επιδερμικών κυττάρων (εικ 7g). Τα κυλινδρικά πασσαλώδη κύτταρα με τους χλωροπλάστες, που διανέμονται κατά μήκος των μεσοκυττάρων καναλιών, βρίσκονταν το ένα δίπλα στο άλλο σε μία στενή γραμμή κατά μήκος των πλευρικών τοιχωμάτων. Τα σπογγώδη κύτταρα διαφορετικά σε μορφή διαμόρφωσαν μεγάλα μεσοκυττάρια διαστήματα (εικ 7h-j). Εντυπωσιακό είναι το γεγονός ότι οι χλωροπλάστες δε βρέθηκαν στην περιοχή των κυτταρικών τοιχωμάτων σε επαφή με τα γειτονικά κύτταρα.

### Ποσοτική ανατομία

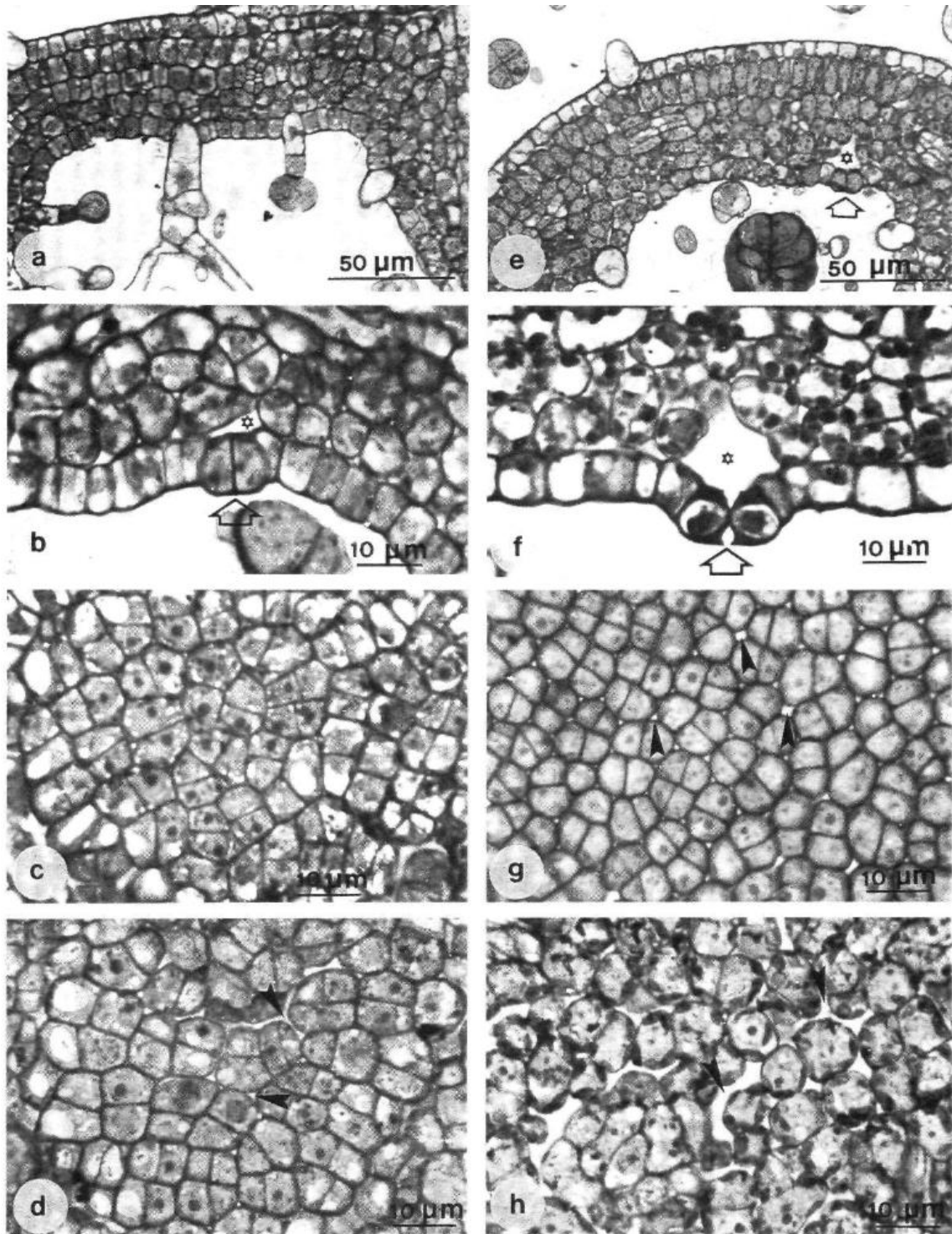
Στα αρχικά στάδια ανάπτυξης (L1-L2) η αύξηση της επιφάνειας του φύλλου της *B. acetabulosa* συσχετίστηκε με μια ελαφριά αύξηση του αριθμού των κυττάρων του πασσαλώδους παρεγχύματος από ότι εκείνων του σπογγώδους. Οι διαστάσεις του μεσόφυλλου αντιστράφηκαν αργότερα οπότε έγιναν μεγαλύτερες στα σπογγώδη κύτταρα. Στο στάδιο L4 ο αριθμός των κυττάρων του πασσαλώδους παρεγχύματος ήταν μεγαλύτερος από ότι εκείνων του σπογγώδους παρεγχύματος. Αυτό μπορεί να σημαίνει μία πρωτύτερη διαφοροποίηση των κυττάρων του σπογγώδους, όπως υποστήριξε ο Maksymowych (1990). Οι Dale and Millthorpe (1983) παρατήρησαν ότι η περιοχή του

μεσοκυττάριου διαστήματος σχηματίστηκε πρώτα στο σπογγώδες παρέγχυμα μετά από δύο πλαστοχρόνους στα σπογγώδη.

### Σχέσεις νερού

Στα αρχικά στάδια της ανάπτυξης των φύλλων του φυτού *B. acetabulosa* (L1 και L2), το υδατικό δυναμικό του φύλλου και το διαλυτό δυναμικό σταδιακά μειώνονταν μέχρι το στάδιο L4. Στο φυτό *B. acetabulosa*, οι ενισχυμένες τιμές σπαργής ήταν αποτέλεσμα της μείωσης του υδατικού δυναμικού, όμως, δεν έγιναν σε μεμονωμένα κύτταρα. Αυτό σημαίνει ότι υπάρχει οσμωτική ρύθμιση που δίνει τη δυνατότητα στον ιστό του φύλλου να εξάγει περισσότερο νερό και να ικανοποιεί τη ζήτηση σε διευρυμένες περιοχές. Επομένως, η ανάπτυξη του φύλλου στο μεσογειακό περιβάλλον πρέπει να σχετίζεται με ένα συμβιβασμό μεταξύ διορθωτικών και λειτουργικών χαρακτηριστικών.

ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΙΣΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΒΑΛΛΩΤΗ (*Ballota acetabulosa*) ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΕΤΟΥΣ

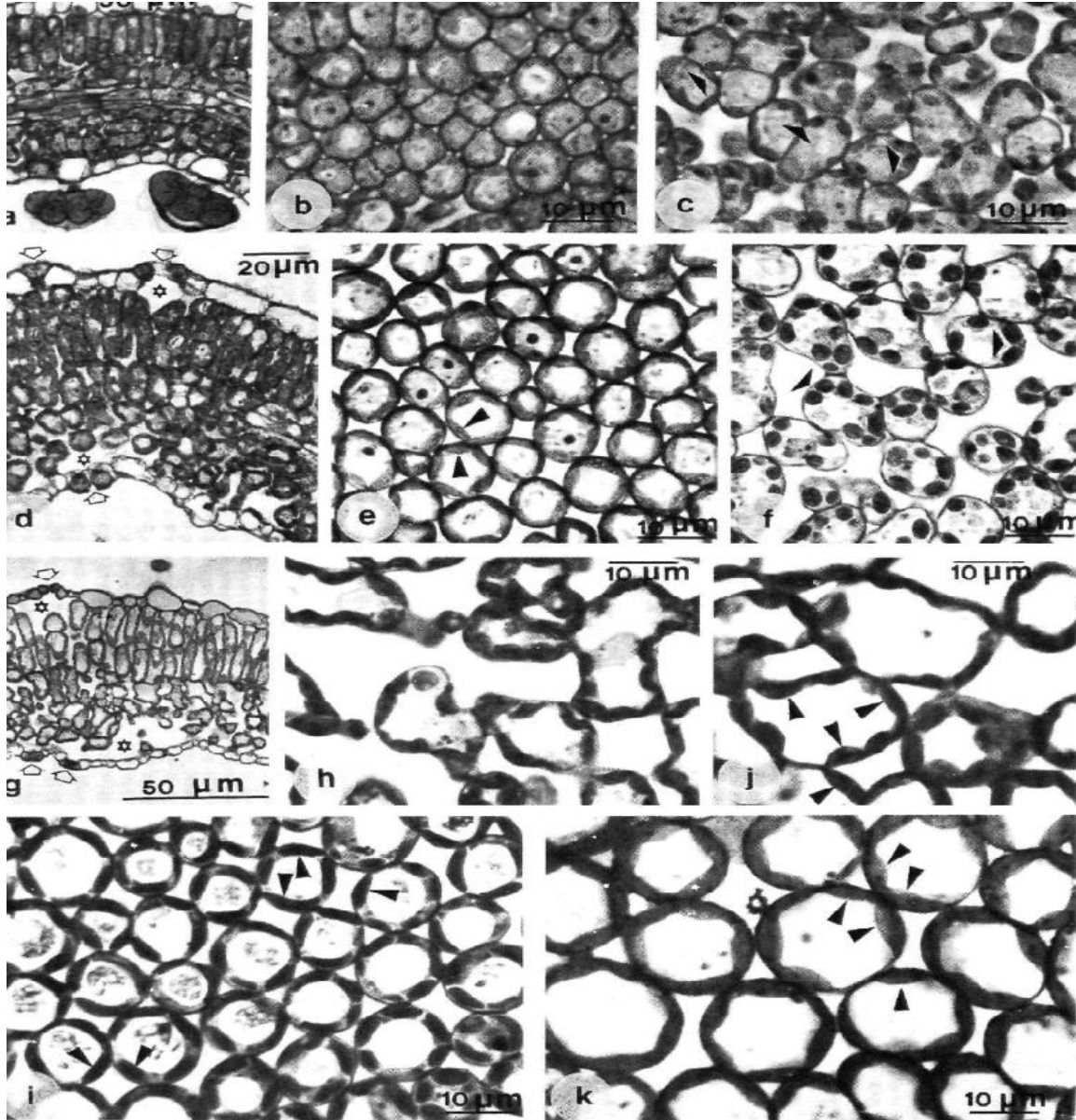


Εικόνα 6: Λομή φύλλου σε πλήρως ανεπτυγμένα φύλλα. Στις εξωτερικές επιδερμίδες τα νέα (b) και ώριμα (f) στόματα σηματοδοτούνται από ανοικτά βέλη και οι μεσοκωτάριοι χώροι με αστερίσκους. Επιδερμικά κύτταρα του πασαλλώδους (c,g) και σπογγώδους (d,k) παρεγγύματος διακρίνονται. Στην εικόνα 6(c,d) και οι δύο πλευρές του μεσόφυλλου είναι μεριστωματικές, ενώ στην εικόνα 6(h) απεικονίζεται η διαφοροποίηση του σπογγώδους ιστού.

Τα δομικά χαρακτηριστικά των κυττάρων του μεσόφυλλου επηρεάζουν τη φωτοσυνθετική ικανότητα των ειδών (Pyke *et al.*, 1990). Όπως ανέφερε ο Jarvis and Slatyer (1970) για τα κύτταρα που φωτοσυνθέτουν, οι χλωροπλάστες είναι

ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΙΣΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΒΑΛΛΩΤΗ (*Ballota acetabulosa*) ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΕΤΟΥΣ

τοποθετημένοι ακριβώς κάτω από τα κυτταρικά τοιχώματα που εκτίθενται στην εσωτερική επιφάνεια του φύλλου και το μήκος της εσωτερικής εκτεθειμένης επιφάνειας των κυττάρων του μεσόφυλλου θα μπορούσε να αποτελεί αληθινή φωτοσυνθετική επιφάνεια.



Εικόνα 7: Ανατομία των φύλλων του φυτού στα στάδια L3,L4,L5 και L7 (a,d,g). Και στις δύο επιφάνειες ώριμων φύλλων βρέθηκαν στόματα (d,g). Οι αστερίσκοι απεικονίζουν τους μεσοκυττάρους χώρους. Το πασσαλώδες παρέγχυμα είναι αδιαφοροποίητο (b), ενώ το σπογγώδες παρέγχυμα (f) του μεσόφυλλου αποτελείται από αναπτυγμένους χλωροπλάστες. Στο στάδιο L4 το πασσαλώδες παρέγχυμα είναι ώριμο (e). Σε διογκωμένα φύλλα, οι χλωροπλάστες των κυττάρων του πασσαλώδους παρεγχύματος διατάσσονται δίπλα στους μεσοκυττάρους χώρους (i,k), όπως και στο σπογγώδες (h,j).

Ο Raven (1993) επισημαίνει τα προβλήματα που προκύπτουν από την αύξηση του ποσοστού της φωτοσύνθεσης ανά μονάδα επιφάνειας του κυττάρου που εκτίθεται σε αέρια φάση εξαιτίας των όγκων των χλωροπλάστων και το χαμηλό συντελεστή

εκπομπών διοξειδίου του άνθρακα σε υδατικά διαλύματα. Ο Parkhurst (1986, 1994) υποστηρίζει ότι η περιορισμένη διάχυση αερίων στους μεσοκυττάριους χώρους μπορεί να εξηγήσει την ύπαρξη του πασσαλώδους και του σπογγώδους ιστού.

## **1.8. Σκοπός της εργασίας**

Υπάρχουν πολλά δεδομένα για τις φαρμακευτικές ιδιότητες και τις βιολογικές δράσεις του φυτού *B. acetabulosa*. Ο σκοπός της εργασίας είναι να παρατηρηθεί ο βιολογικός κύκλος του φυτού, να μελετηθεί η μορφολογία και η ανατομία του φύλλου του φυτού *B. acetabulosa* διεξοδικά και να σημειωθεί το αν εμφανίζονται μορφολογικές, ανατομικές και ιστοχημικές διαφορές στα φύλλα κατά τη διάρκεια του έτους.

## 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 2.1. Συλλογή του φυτικού υλικού

Η συλλογή των πρωτογενών φύλλων που χρησιμοποιήσαμε στις παρατηρήσεις με τα διάφορα είδη μικροσκοπίας έγινε από αυτοφυή φυτά *B. acetabulosa*, από το Βοτανικό Κήπο του Διομήδους στις Βόρειες κλιτύες του Όρους Αιγάλεω. Η συλλογή έγινε σε διαφορετικές εποχές κατά τη διάρκεια του έτους, σε χαρακτηριστικά βλαστικά στάδια του φυτού. Το φυτικό υλικό μεταφέρονταν στο Εργαστήριο Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας και δέχονταν άμεσα τους κατάλληλους χειρισμούς για την παρατήρηση με τα διάφορα είδη μικροσκοπίας. Δείγματα βλαστών από κάθε δειγματοληψία διατηρούνταν σε στερεωτικό διάλυμα FAA<sup>1</sup>.

### 2.2. Προετοιμασία παρασκευασμάτων για παρατήρηση ημίλεπτων τομών με το Οπτικό Μικροσκόπιο (Ο.Μ.) (Φασσέας, 1999).

Τα στάδια της διαδικασίας που ακολουθήθηκαν είναι:

I. **Δείγματα** μεγέθους 1x5 mm κόβονται, από διάφορες περιοχές του ελάσματος των φύλλων, με ξυραφάκι. Στην περίπτωση των πολύ νεαρών φύλλων (<5mm) αυτά χρησιμοποιήθηκαν ολόκληρα. Η διαδικασία αυτή γίνεται μέσα σε τρυβλίο με μονιμοποιητικό στους 4 °C.

II. **Τα δείγματα μονιμοποιούνται** (στερέωση, καθήλωση, προσήλωση, fixation) με εμβάπτισή τους, σε μονιμοποιητικό διάλυμα Karnovsky<sup>2</sup>, χρησιμοποιώντας ως ρυθμιστικό διάλυμα κακοδυλικό νάτριο<sup>3</sup> (Serva 15540, C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>AsO<sub>2</sub>Na.3H<sub>2</sub>O) 0.1 M, pH=7.2, σε φιαλίδιο των 5ml για 24 h στους 4° C.

III. **Παραμένουν** 1 h στο μονιμοποιητικό διάλυμα, και μετά δημιουργείται κενό αέρος στο φιαλίδιο, ώστε να αφαιρεθεί ο αέρας από τους μεσοκυττάριους χώρους και να διευκολυνθεί η διάχυση-διείσδυση του μονιμοποιητικού, στο εσωτερικό των ιστών.

IV. **Έκπλυση** με ρυθμιστικό διάλυμα 3 φορές από 15 min κάθε φορά.

V. **Μεταστερέωση** με OsO<sub>4</sub> 0.1% σε νερό για 18 h.

VI. **Έκπλυση** με ρυθμιστικό διάλυμα 3 φορές από 15 min κάθε φορά.

VII. **Αφυδάτωση** με αιθυλική αλκοόλη 30% και 50% από 15 min. Κατά το στάδιο αυτό, γίνεται αντικατάσταση του νερού του μονιμοποιημένου δείγματος με αιθυλική αλκοόλη.



VIII. **Αφυδάτωση** με 1% οξικό ουρανύλιο σε αιθυλική αλκοόλη 70%, όπου τα δείγματα παραμένουν όλη τη νύχτα για χρώση en block.

IX. **Ακολουθεί αφυδάτωση** με αιθυλική αλκοόλη 90% για 15 min και 100% 3 φορές για 15 min τη φορά.

X. **Προπυλενοξειδίο** για 1 h. Πρόκειται για τον ενδιάμεσο διαλύτη μεταξύ της αιθυλικής αλκοόλης και των εποξικών ρητινών που θα χρησιμοποιηθούν στο επόμενο στάδιο.

XI. **Προπυλενοξειδίο: Ρητίνη 1:1**. Στο ίδιο φιαλίδιο προστίθεται ίση ποσότητα ρητίνης Spurr<sup>4</sup> με το προπυλενοξειδίο και το φιαλίδιο αφήνεται στον απαγωγό ανοιχτό, υπό συνεχή αργή ανάδευση (2 r.p.m.) για 18 h, ώστε να εξατμιστεί το προπυλενοξειδίο και να παραμείνουν τα δείγματα σε ρητίνη 100%.

XII. **Έγκλειση** των δειγμάτων σε εποξική ρητίνη, σε καλούπια σιλικόνης και πολυμερισμός στον κλίβανο, στους 68°C για 48-72 h.

Τμήση τομών για παρατήρηση με το οπτικό μικροσκόπιο έγινε επίσης και με το κρυστάτη (ψυκτικός μικροτόμος) Leica CM 1850.

### **2.3. Τμήση τομών και χρώση μονιμοποιημένων παρασκευασμάτων για παρατήρηση με το Οπτικό Μικροσκόπιο (Ο.Μ.) (Φασσέας, 1999).**

Η τμήση τομών έγινε με τον υπερμικροτόμο, τύπου REICHERT OMU-III.

Για το Ο.Μ. κόβονται ημίλεπτες τομές πάχους 1.5-2 μm, με γυάλινα μαχαίρια, τα οποία κατασκευάστηκαν στο Εργαστήριο Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας με την ειδική συσκευή (knife-maker της εταιρείας Reichert-Taab). Στη συνέχεια, οι τομές τοποθετούνται σε σταγόνα αποσταγμένου νερού πάνω σε αντικειμενοφόρους πλάκες, καλυμμένες με ζελατίνα<sup>5</sup> (Grimstone & Skaer, 1972), ώστε οι τομές να απλώνονται και να επικολλώνται καλύτερα πάνω στην αντικειμενοφόρο.

Η αντικειμενοφόρος με τις τομές τοποθετείται στη συνέχεια σε θερμαινόμενη πλάκα στους 70-80 °C και μόλις στεγνώσει η σταγόνα νερού, γίνεται χρώση των τομών με κυανούν της τολουιδίνης 0.5% σε βόρακα 1%. Ακολουθεί έκπλυση με αποσταγμένο νερό και στέγνωμα της αντικειμενοφόρου σε θερμαινόμενη πλάκα. Όταν στεγνώσει, γίνεται η επικόλληση της καλυπτρίδας χρησιμοποιώντας είτε μία σταγόνα από την ίδια την εποξική ρητίνη, είτε με Eukitt (Agar Scientific Ltd.), προκειμένου να μονιμοποιηθούν οι τομές.

## 2.4. Προετοιμασία δειγμάτων για παρατήρηση με το Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης (Η.Μ.Σ.) (Φασσέας, 1999).

I. **Κόψιμο των δειγμάτων** μεγέθους 5x5 mm, από διάφορες περιοχές του ελάσματος των φύλλων, με ξυραφάκι. Η διαδικασία αυτή έγινε μέσα σε τρυβλίο με μονιμοποιητικό στους 4°C. Για την καλύτερη διείσδυση του μονιμοποιητικού στο εσωτερικό των δειγμάτων, δημιουργήθηκε ήπιο κενό στο φιαλίδιο με αντλία βρύσης, για να αφαιρεθεί ο αέρας από τους μεσοκυττάριους χώρους. Στην περίπτωση των νεαρών φύλλων, αυτά χρησιμοποιήθηκαν ολόκληρα. Το τελικό μέγεθος ορισμένων δειγμάτων καθορίστηκε μετά από την ξήρανση.

II. **Μονιμοποίηση-Στερέωση** με γλουταρική αλδεΐδη 3% σε φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα 0.1 M (Sörensen)<sup>6</sup> με pH=7.2, σε φιαλίδιο των 5 ml για 24h. στους 4°C.

III. **Παραμένουν** 1 h στο μονιμοποιητικό διάλυμα, και μετά δημιουργείται κενό αέρος στο φιαλίδιο, ώστε να αφαιρεθεί ο αέρας από τους μεσοκυττάριους χώρους και να διευκολυνθεί η διάχυση-διείσδυση του μονιμοποιητικού, στο εσωτερικό των ιστών.

IV. **Έκπλυση** των δειγμάτων με αποσταγμένο νερό για 30 min, 3 φορές.

V. **Σταδιακή αφυδάτωση** με σειρά ανιούσης συγκέντρωσης ακετόνης 30%, 50%, 70%, 90% για 30 min και 100%, 3 φορές από 1 h. Στο τελευταίο διάλυμα ακετόνης, τα δείγματα παραμένουν για 24 h. Όλα τα διαλύματα παρασκευάστηκαν από καθαρή ακετόνη.

VI. **Ξήρανση** στη συσκευή κρίσιμου σημείου (Critical Point Dryer, POLARON 3000). Στη συσκευή αυτή, γίνεται αντικατάσταση της ακετόνης με υγρό CO<sub>2</sub>, το οποίο στη συνέχεια απομακρύνεται, αφού μετατραπεί σε αέριο αδιαβατικά (κρίσιμο σημείο).

VII. **Επικόλληση των δειγμάτων** σε υποδοχείς (stubs) είτε με αυτοκόλλητους αγωγίμους δίσκους άνθρακα (Agar Scientific Ltd.) διπλής όψευς, είτε με κόλλα τύπου UHU.

VIII. **Επικάλυψη των δειγμάτων** με καθαρό χρυσό, με εκκένωση αίγλης σε ατμόσφαιρα αργού (Ar). Η διαδικασία έγινε σε εξαχρωτή Denton-Vacuum DV-502, εφοδιασμένο με τα κατάλληλα εξαρτήματα.

Μετά από τις παραπάνω διαδικασίες, τα παρασκευάσματα, είναι πλέον έτοιμα για παρατήρηση στο Η.Μ.Σ. Η φύλαξή τους πρέπει να γίνεται προσεκτικά σε κλειστά κουτιά, προστατευμένα από σκόνη και υγρασία.

Ο αριθμός των στομάτων μετρήθηκε από φωτογραφίες με το ΗΜΣ.

## 2.5. Παρατήρηση νωπών παρασκευασμάτων στο Η.Μ.Σ. (Φασσέας, 1999).

Η παρατήρηση νωπών παρασκευασμάτων έγινε ως εξής με απ' ευθείας τοποθέτηση των δειγμάτων σε δειγματοφορείς (stubs) του μικροσκοπίου, επικαλυμμένα με ειδικά αγώγιμα αυτοκόλλητα δισκία άνθρακα (Carbon tabs, Agar Scientific), γρήγορη δημιουργία κενού και άμεση παρατήρηση και φωτογράφιση των δειγμάτων, σε τάση επιτάχυνσης 2-2.5 KV, πριν αρχίσει η συρρίκνωση των ιστών, λόγω αφυδάτωσης.

### ➤ Σύσταση Διαλυμάτων (Φασσέας, 1999).

#### ➤ 1.Στερεωτικό FAA

φορμόλη (37-40%) 10 ml, οξικό οξύ (glacial) 5 ml, αιθανόλη (95%) 50 ml, νερό 35 ml.

#### ➤ 2.Μονιμοποιητικό Διάλυμα Karnovsky

2 g παραφορμαλδεΐδης διαλύονται σε 25 ml αποσταγμένο νερό, στους 60-70 °C με ανάδευση. Προστίθεται 1 N NaOH σταγόνα-σταγόνα με συνεχή ανάδευση μέχρι το διάλυμα να γίνει διαυγές. Όταν κρυώσει το διάλυμα, προστίθενται 10 ml γλουταρικής αλδεΐδης 25% και συμπληρώνεται το διάλυμα μέχρι τα 50 ml με κακοδυλικό ρυθμιστικό διάλυμα. Το τελικό pH είναι 7.2.

#### ➤ 3.Ρυθμιστικό διάλυμα κακοδυλικού νατρίου (sodium cacodylate) (0,1 M)

3.15 g sodium cacodylate διαλύονται σε 100 ml αποσταγμένου νερού. Το pH ρυθμίζεται στο 7.2-7.4 με HCl. Διατηρείται στους 4 °C για μερικές ημέρες.

#### ➤ 4.Συστατικά Ρητίνης Spurr

10 g ERL, 7 g DER, 26 g NSA και 0.4 g S-1 (πολυμεριστής). Ανάδευση για αρκετή ώρα των παραπάνω συστατικών σε μαγνητικό αναδευτήρα.

#### ➤ 5.Επικάλυψη αντικειμενοφόρων με ζελατίνα (Grimstone and Skaer 1972)

1 g ζελατίνης/1 lt χλιαρού αποσταγμένου νερού στο οποίο προστίθεται 0.1 g CrKSO<sub>4</sub>. Σχολαστικά πλυμένες και στεγνωμένες αντικειμενοφόροι, εμβαπτίζονται στο διάλυμα, όταν αυτό κρυώσει και αφήνονται να στεγνώσουν σε κατακόρυφη θέση σε χώρο χωρίς σκόνη.

#### ➤ 6.Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών 0.1 M (Sörensen)

Διάλυμα stock A: Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> \* 2H<sub>2</sub>O 17.80 g/l

Διάλυμα stock B:  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  13.80 g/l

Τα διαλύματα Α και Β μπορούν να διατηρηθούν στους 4 °C για μερικές εβδομάδες. Για ρυθμιστικό διάλυμα με  $\text{pH}=7.2$ , 36.0 ml από το Α ανακατεύονται με 14.0 ml από το Β και συμπληρώνεται μέχρι τα 100ml με αποσταγμένο νερό.

## **2.6. Τμήση τομών από νωπά δείγματα για ιστοχημεία και μικροσκοπία φθορισμού.**

Οι τομές στα νωπά παρασκευάσματα έγιναν είτε με το χέρι (με ξυραφάκι) είτε με τον ψυκτικό μικροτόμο (κρυοτόμο, κρυοστάτη) τύπου Leica CM1850 σε θερμοκρασία -10° C με χρήση υγρού ψύξης-έγκλεισης Jung Tissue Freezing Medium (Leica Microsystems Nussloch GmbH Germany). Το υγρό αυτό ψύξης είναι κατάλληλο ώστε να συγκρατεί τους ιστούς κατά την κοπή. Εφόσον το μονιμοποιητικό υλικό και οι ιστοί παγώσουν στους -15 °C κόβονται τομές από τα φύλλα, πάχους 15-20  $\mu\text{m}$ , και συλλέγονται σε απεσταγμένο νερό όπου και ξεπλένονται για να απομακρυνθεί το ειδικό υγρό ψύξης. Οι τομές είναι πλέον έτοιμες για την εφαρμογή ιστοχημικών μεθόδων ή την απευθείας παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο και στο μικροσκόπιο φθορισμού.

### **Μικροσκοπία φθορισμού**

Το οπτικό μικροσκόπιο που χρησιμοποιήθηκε για όλες τις παρατηρήσεις και τη φωτογράφιση (OLYMPUS Bx40) του εργαστηρίου Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας είναι εφοδιασμένο με τα κατάλληλα εξαρτήματα. Τα φίλτρα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν:

I. Φίλτρο διέγερσης BP 330-385, που επιτρέπει τη διέλευση ακτινοβολιών μεταξύ 330 και 385 nm και

II. Φίλτρο φραγμού BA 420, που απορροφά όλα τα μήκη κύματος κάτω από 420 nm.

Οι τομές τοποθετούνται σε σταγόνα νερού (αυτοφθορισμός) ή σε επαγωγή φθορισμού ( $\text{AlCl}_3$ ) όταν πρόκειται για την παρατήρηση φλαβονοειδών και παρατηρούνται άμεσα. Με το μικροσκόπιο φθορισμού παρατηρήθηκαν μόνο νωπά παρασκευάσματα.

### **Αυτοφθορισμός**

Ο αυτοφθορισμός των διαφόρων συστατικών αναγνωρίστηκε βάση των χρωμάτων που αναφέρονται από τον Rost (1992) για φυτικούς ιστούς. Τα χρώματα αυτά, όταν ο ιστός φωτιστεί με υπεριώδη ακτινοβολία (330-385 nm), είναι τα εξής:

- *Κυτταρίνη* → *δε φθορίζει*
- *Λιγνίνη* → *φωτεινό γαλάζιο*
- *Χλωροφύλλη* → *κόκκινο*
- *Σουμπερίνη* → *γαλάζιο*
- *Κουτίνη* → *γκρι*
- *Φαινολικά οξέα* → *κίτρινο*

### **Τριχλωριούχο Αργίλιο/Aluminium Trichloride ( $AlCl_3$ )**

Το διάλυμα αυτό χρησιμοποιείται για τον εντοπισμό φλαβονών (flavones), φλαβονολών (flavonols) και φλαβανονών (flavanones) στο μικροσκόπιο φθορισμού. Τα χρώματα που προκύπτουν, όταν ο ιστός φωτιστεί με υπεριώδη ακτινοβολία (330-385 nm), είναι τα εξής:

- Πρασινοκίτρινος για τις φλαβόνες,
- Κίτρινος για τις φλαβονόλες και
- Μπλε για τις φλαβανόνες.

Το διάλυμα είτε παρασκευάζεται με νερό είτε με αιθυλική αλκοόλη, το αποτέλεσμα είναι το ίδιο (Guerin *et al.*, 1971). Το διάλυμα προκύπτει με διάλυση 5% χλωριούχου αργιλίου σε νερό ή σε αιθυλική αλκοόλη. Οι τομές τοποθετούνται σε λίγες σταγόνες διαλύματος. Ακολουθεί άμεση παρατήρηση στο μικροσκόπιο φθορισμού.

### **Ιστοχημεία**

Για παρατήρηση με το Ο.Μ. (φθορισμού και φωτεινού πεδίου μετά από εφαρμογή ιστοχημικών μεθόδων), κόπηκαν εγκάρσιες τομές από νωπά φύλλα, είτε με το χέρι είτε με κρυοτόμο (κρυοστάτη) τύπου Leica CM1850 σε θερμοκρασία  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  και με χρήση υγρού ψύξης-έγκλεισης Jung Tissue Freezing Medium (Leica Microsystems Nussloch GmbH, Germany) ρυθμισμένο να κόβει τομές πάχους 25  $\mu\text{m}$ . Στη μελέτη αυτή εφαρμόστηκαν οι παρακάτω ιστοχημικές μέθοδοι:

### **Τριχλωριούχο Αργίλιο/*Aluminium Trichloride (AlCl<sub>3</sub>)***

Το διάλυμα αυτό χρησιμοποιείται για τον εντοπισμό φλαβονών (flavones), φλαβονολών (flavonols) και φλαβανονών (flavanones) στο μικροσκόπιο φθορισμού. Τα χρώματα που προκύπτουν, όταν ο ιστός φωτιστεί με υπεριώδη ακτινοβολία (330-385 nm), είναι τα εξής:

- Πρασινοκίτρινος για τις φλαβόνες,
- Κίτρινος για τις φλαβονόλες και
- Μπλε για τις φλαβανόνες.

Το διάλυμα είτε παρασκευάζεται με νερό είτε με αιθυλική αλκοόλη, το αποτέλεσμα είναι το ίδιο (Guegin *et al.*, 1971). Το διάλυμα προκύπτει με διάλυση 5% χλωριούχου αργιλίου σε νερό ή σε αιθυλική αλκοόλη. Οι τομές τοποθετούνται σε λίγες σταγόνες διαλύματος. Ακολουθεί άμεση παρατήρηση στο μικροσκόπιο φθορισμού.

### **Αντιδραστήριο *Nadi***

Το αντιδραστήριο *Nadi* χρησιμοποιείται για τον εντοπισμό τερπενοειδών, τα οποία και χρωματίζονται ιώδη/βιολετί. Το διάλυμα παρασκευάζεται ακριβώς πριν χρησιμοποιηθεί. Επειδή το αντιδραστήριο αυτό είναι ιδιαίτερα φωτοευαίσθητο, διατηρείται σε σκουρόχρωμο φιαλίδιο, ενώ οι τομές που τοποθετούνται στη χρώση αυτή, καλύπτονται προκειμένου να μην εκτίθενται στο φως (Pasqua *et al.*, 2003).

➤ Για την παρασκευή του διαλύματος αναμιγνύονται 0.5 ml από 1% *a-naphthol* σε 40% αλκοόλη, με 0.5 ml από 1% *N,N*-dimethyl-*p*-phenylenediamine monohydrochloride σε αποσταγμένο νερό, και με 49 ml φωσφορικού ρυθμιστικού διαλύματος 0.05 M (pH 7.2).

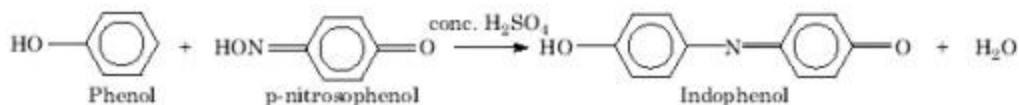
- Οι τομές παραμένουν στο αντιδραστήριο για 1 h.

Η παρατήρηση γίνεται με το O.M. σε σταγόνα γλυκερόλης.

### **4-νιτροσιφαινόλη σε πυκνό $H_2SO_4$**

Το αντιδραστήριο χρησιμοποιείται για τον *in vivo* εντοπισμό φαινολών σε φυτικό υλικό και πιο συγκεκριμένα μονοτερπενικών φαινολών. Βασίζεται στην αντίδραση συμπύκνωσης των φαινολών με την 4-νιτροσιφαινόλη παρουσία πυκνού οξέως κατά την οποία παράγονται χρωματισμένες ινδοφαινόλες και νερό. Σε περίπτωση θετικής αντίδρασης, το χρώμα της παραγόμενης ινδοφαινόλης είναι ενδεικτικό, όχι όμως και οριστικό, της αρχικής μονοτερπενικής φαινόλης, αφού περισσότερες από μία φαινόλες

μπορούν να δώσουν το ίδιο χρώμα. π.χ. η θυμόλη δίνει κόκκινο και η καρβακρόλη πράσινο χρώμα ινδοφαινόλης (βλέπε σχήμα) (Gersbach *et al.*, 2001).



Σχήμα 1: Συμπύκνωση φαινολών με την 4-νιτροσοφαινόλη παρουσία πυκνού οξέως κατά την οποία παράγονται ινδοφαινόλες και νερό.

Για την Παρασκευή του διαλύματος χρειάζονται 0.05% 4-νιτροσιφαινόλη σε π. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

➤ Μερικές σταγόνες αντιδραστηρίου προστίθενται στην επιφάνεια, προσαξονική και αποαξονική του φύλλου (στην οποία εντοπίζονται οι αδένες).

➤ Η περίσσεια του αντιδραστηρίου αναρροφάται με διηθητικό χαρτί από την επιφάνεια του φύλλου για να καταστεί δυνατή η φωτογράφιση χωρίς έντονες ανακλάσεις του φωτός.

Η παρατήρηση των όποιων αλλαγών στο χρώμα γίνεται αμέσως με στερεοσκόπιο.

#### ***Sudan IV***

Το αντιδραστήριο χρησιμοποιείται για τον εντοπισμό λιπιδίων, κουτίνης και σουβερίνης, τα οποία και χρωματίζονται κόκκινα. Επειδή χρησιμοποιείται διάλυμα σε αλκοόλη απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή στην διατήρηση των χρόνων, διότι η αλκοόλη είναι διαλύτης των λιπών και μπορεί να δημιουργηθούν προβλήματα από τη μεγάλη παραμονή τους στο διάλυμα (Johansen, 1940).

Μπορεί να χρησιμοποιηθεί κορεσμένο διάλυμα σε αλκοόλη:

- Οι τομές εμβαπτίζονται στο διάλυμα για 5 min.
- Ακολουθεί γρήγορη έκπλυση σε απόλυτη αλκοόλη.
- Η παρατήρηση γίνεται με το Ο.Μ. σε σταγόνα γλυκερόλης.

Είτε μπορεί να χρησιμοποιηθεί 0.5% Sudan IV σε 85% αλκοόλη:

- Οι τομές εμβαπτίζονται στο διάλυμα για 2-5 min.
- Ακολουθεί γρήγορη έκπλυση σε 50% αλκοόλη.
- Η παρατήρηση γίνεται με το Ο.Μ. σε σταγόνα γλυκερόλης.

#### ***Θειικός Σίδηρος (FeSO<sub>4</sub>)***

Για τον εντοπισμό τανινών μπορεί να χρησιμοποιηθεί διάλυμα FeSO<sub>4</sub>, με το οποίο οι τανίνες παίρνουν χρώμα πορτοκαλί έως μαύρο (Clark 1981, Johansen 1940).

- Το αντιδραστήριο προκύπτει από την προσθήκη 0.25 ml παγόμορφου οξικού οξέως, 10 ml 37% φορμαλδεΰδης και 2 g FeSO<sub>4</sub> σε 89 ml αποσταγμένου νερού.
- Οι τομές κόβονται σε νερό.
- Στη συνέχεια τοποθετούνται στο αντιδραστήριο όπου και παραμένουν 2-4 h ή και 18 h.
- Η παρατήρηση γίνεται με το Ο.Μ. σε σταγόνα γλυκερόλης.

### ***Dragendorff***

Χρησιμοποιείται για την ανίχνευση των αλκαλοειδών, τα οποία χρωματίζει έντονο πορτοκαλί.

- Παρασκευάζονται δύο βασικά διαλύματα: Διάλυμα Α: 1.7g βασικού νιτρικού βισμούθιου σε 100 ml διαλύματος οξικού οξέος 20% και Διάλυμα Β: 40.0g ιωδιούχου καλίου σε 100 ml νερού τα οποία αναμειγνύονται ως εξής: 5 ml Α + 5 ml Β + 20 ml οξικού οξέος + 70 ml νερού.
- Οι τομές τοποθετούνται στο αντιδραστήριο όπου και παραμένουν 10 λεπτά.
- Ακολουθεί παρατήρηση σε γλυκερόλη στο οπτικό μικροσκόπιο.

### ***Χρώση με κυανό της τολουιδίνης***

Χρησιμοποιείται ως γενική χρωστική (O'Brien *et al.*, 1965).

- Γενικά χρωματίζει μπλε τους λιγνινοποιημένους ιστούς.
- Παρασκευάζεται διάλυμα κυανού της τολουιδίνης 0.1%, σε νερό, στο οποίο τοποθετούνται οι τομές και παραμένουν για 1-5 min.

## **2.7. Υπολογισμός των στομάτων**

Ο υπολογισμός των στομάτων έγινε από φωτογραφίες με το ΗΜΣ, δέκα (10) φωτογραφίες από διαφορετικά φύλλα. Για τον υπολογισμό, η προσαξονική επιφάνεια θεωρήθηκε επίπεδη, ενώ η αποαξονική ως ημικυλινδρική.

## **2.8. Μικροσκόπια τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για τις μορφολογικές, ανατομικές και ιστοχημικές παρατηρήσεις.**

- **Οπτικό Μικροσκόπιο (Ο.Μ.):** τύπου OLYMPUS BX40 του Εργαστηρίου Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας, εφοδιασμένο με τα κατάλληλα εξαρτήματα για παρατηρήσεις σε φωτεινό ή σκοτεινό πεδίο, αντίθετης φάσης και φθορισμό. Για το φθορισμό, το φίλτρο διέγερσης που χρησιμοποιήθηκε είναι το BP 330-385 και το φίλτρο



εκπομπής είναι το ΒΑ 420.

➤ **Στερεοσκόπιο:** τύπου OLYMPUS SZX12 του Εργαστηρίου Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας.

➤ **Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης (Η.Μ.Σ.):** του Εργαστηρίου Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας, τύπου Jeol 6360 (Jeol, Japan).

## 2.9. Ψηφιοποίηση και Επεξεργασία Φωτογραφιών

➤ Για το Ο.Μ. και το Στερεοσκόπιο η λήψη φωτογραφιών έγινε με ψηφιακή camera τύπου Olympus DP71 12.5 Mp (Olympus, Tokyo, Japan) και τη χρήση του λογισμικού Cell<sup>^</sup>A (Olympus Soft imaging System GmbH, Germany).

➤ Το Η.Μ.Σ. Jeol 6360 είναι εφοδιασμένο με σύστημα ψηφιακής απεικόνισης.

➤ Στα αρνητικά films έγινε ψηφιοποίηση μέσω σαρωτή τύπου Epson Perfection 3710 Photo, ενώ η επεξεργασία των ψηφιακών εικόνων έγινε με τα προγράμματα Adobe Photoshop 7.0 και Corel Photo Paint 12.

### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

#### 3.1. Ανατομικά - Μορφολογικά χαρακτηριστικά

##### 3.1.1. Μακροσκοπικές παρατηρήσεις-Ετήσιος κύκλος

Το φυτό *B. acetabulosa* είναι αειθαλής, πολυετής πόα με ξυλώδη βάση που μπορεί να πάρει τις διαστάσεις μικρού θάμνου, ύψους έως 60 cm. Τα φύλλα του παρατηρήθηκαν ότι έχουν σχήμα καρδιάς, είναι χνουδωτά, αντίθετα, απαλά. Το χρώμα των φύλλων είναι ασπροπράσινο στα μικρότερης ηλικίας φύλλα λόγω του πυκνού τους τριχώματος που περιγράφεται λεπτομερώς πιο κάτω, σε αντίθεση με τα μεγαλύτερης ηλικίας που είναι πιο έντονα πράσινα. Τα άνθη του φυτού εμφανίστηκαν να είναι μικρά, ερμαφρόδιτα (έχει τόσο αρσενικά όσο και θηλυκά όργανα), όμοια με εκείνα των άλλων ειδών που ανήκουν στην ίδια οικογένεια, έχουν κόκκινο χρώμα και βγαίνουν τον Ιούνιο έως τον Ιούλιο. Οι καρποί του είναι μαύροι και μικροσκοπικοί και κρύβονται στη βάση ενός κάλυκα που μοιάζει με χωνί. Είναι φυτό αρωματικό.

Κατά τη διάρκεια αυτής της μελέτης, παρατηρήθηκε ότι το φυτό αναπτύσσεται συνεχώς καθ'όλη τη διάρκεια του έτους και κυρίως όταν οι κλιματολογικές συνθήκες είναι ευνοϊκές, όπως για παράδειγμα κατά τη διάρκεια μιας καλοκαιρίας το χειμώνα ή μιας βροχόπτωσης στις περιόδους ξηρασίας. Φαίνεται ότι εκμεταλλεύεται ακόμα και σύντομες περιόδους καλοκαιρίας, ακόμα και κατά τη χειμερινή περίοδο, εκπύσσοντας συνεχώς νέα φύλλα και βλαστούς. Αυτό σημαίνει ότι έχει μεγάλη προσαρμοστικότητα στην ανάπτυξή του.

Το φυτό αναπτύσσεται καθ'όλη τη διάρκεια του έτους, βγάζοντας καινούρια φύλλα και εκπύσσοντας νέους βλαστούς. Νωρίς την άνοιξη εκπύσσονται οι νεαροί βλαστοί, γνωστοί ως δολιχοβάστες, που είναι επιμηκυμένοι και η βλαστική τους ανάπτυξη διαρκεί έως τα μέσα του καλοκαιριού. Στους βλαστούς αυτούς, τα φύλλα διακρίνονται με αντίθετη διάταξη και σταυρωτά σε σχέση με τους γειτονικούς κόμβους. Τα μεγάλα ανοιξιάτικα φύλλα αρχικά συνυπάρχουν με τα χειμωνιάτικα φύλλα τα οποία όμως αρχίζουν να πέφτουν σταδιακά από το βλαστό. Τα χειμερινά φύλλα παρουσιάζουν μία μείωση στο μέγεθός τους κατά μήκος του βλαστού από τη βάση προς την κορυφή και, ενώ τα ανώτερα είναι σχεδόν οριζόντια και κάθετα στο βλαστό, τα φύλλα, ιδίως, που είναι τοποθετημένα από το μέσο του βλαστού και προς την βάση του, αλλάζουν προσανατολισμό, παρουσιάζοντας μία μικρή κλίση σε σχέση με το βλαστό. Τα

ανοιξιάτικα φύλλα παρατηρούνται να εμφανίζονται με μεγάλη πυκνότητα πάνω στους βλαστούς σε σχέση με τα φύλλα άλλων εποχών (Εικόνα 9Α). Την άνοιξη και συγκεκριμένα τον Μάιο, το φυτό έχει πάρει το μεγαλύτερο ύψος του και σχηματίζει τις ταξιανθίες του. Η ανθοφορία του διαρκεί περίπου ένα μήνα. Στις μασχάλες των μεγάλων ανοιξιάτικων φύλλων διακρίνουμε τους καλοκαιρινούς βραχυβλάστες (νεκρωμένοι βλαστοί), που είναι πολλοί συμπαγείς.

Τον Ιούνιο οι δολιχοβλάστες έχουν αποκτήσει το οριστικό τους μέγεθος και αρχίζουν να ξυλοποιούνται. Ωστόσο, παρατηρούνται μεγάλες μακροσκοπικές διαφορές ακόμα και ανάμεσα σε φυτά που βρίσκονται σε πολύ μικρή απόσταση μεταξύ τους. Πολύ συχνά γειτονικά φυτά βρίσκονται σε διαφορετικό στάδιο ανάπτυξης όπως π.χ. ανθίζουν με διαφορά πάνω από ένα μήνα. Στη διάρκεια της ανθοφορίας έχουμε τα ανοιξιάτικα φύλλα και από κάτω έτοιμα να εκπτυχθούν τα καλοκαιρινά (Εικόνα 9Β). Στο τέλος της ανθοφορίας, τέλη Ιουνίου, τα ανοιξιάτικα φύλλα αρχίζουν να ξεραίνονται, ενώ παραμένουν οι κάλυκες ακόμα στο φυτό όπου και χρησιμοποιούνται στα καντήλια ως φυτίλια.

Από τα γόνατα του φυτού, τέλη Ιουλίου, εκφύονται τα καλοκαιρινά φύλλα που αρχίζουν να κάνουν την εμφάνισή τους σταδιακά, τα οποία φαίνονται πολύ παχιά λόγω του ότι διαθέτουν ένα πολύ πυκνό στρώμα πολυάριθμων τριχών, οι οποίες λειτουργούν ως προστατευτικές (Εικόνα 8).

**Εικόνα 8:** Σταδιακή εμφάνιση καλοκαιρινών φύλλων του φυτού *B. acetabulosa*.

Την περίοδο αυτή το φυτό συνολικά παρουσιάζει μία ξερή-χλωρωτική όψη χάνοντας το πράσινο χρώμα της άνοιξης (Εικόνα 9Β). Τα σπέρματα ωριμάζουν τον Ιούλιο και Αύγουστο και η διασπορά των σπερμάτων πραγματοποιείται κατά τους μήνες Αύγουστο και Σεπτέμβριο.

Στην αρχή τα καλοκαιρινά φύλλα είναι μικρά, τον Αύγουστο έχουν τη μέγιστη ανάπτυξή τους και διατηρούνται μέχρι τις αρχές φθινοπώρου, όπου και αρχίζει η φυλλόπτωσή τους, ενώ ταυτόχρονα παρατηρείται η ανάπτυξη φθινοπωρινών φύλλων. Έτσι, το φθινόπωρο παρατηρούνται στο πάνω μέρος των βλαστών τα φθινοπωρινά φύλλα που είναι μεγάλα σε συνδιασμό με την ύπαρξη μικρών φύλλων που είναι

ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΙΣΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΒΑΛΛΩΤΗ (*Ballota acetabulosa*) ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΕΤΟΥΣ

σταδιακή μετατροπή των καλοκαιρινών σε φθινοπωρινά φύλλα (Εικόνα 9Γ).



Εικόνα 9: Μακροσκοπικές φωτογραφίες του *B. acetabulosa* σε διάφορες εποχές του έτους. Β: με  $\Rightarrow$  βέλος απεικονίζονται τα ανοιξιάτικα φύλλα, ενώ με βέλος  $\blackrightarrow$  τα καλοκαιρινά που μόλις εκτύσσονται. Γ: με βέλος  $\Rightarrow$  απεικονίζονται τα φθινοπωρινά φύλλα, ενώ με  $\blackrightarrow$  τα καλοκαιρινά.

Ο χειμωνιάτικος βραχυβλάστης χαρακτηρίζεται από επιμηκυσμένα χειμωνιάτικα φύλλα τα οποία εκπτύσσονται εσωτερικά από το βραχυβλάστη, ο οποίος σταδιακά τους ανοιξιάτικους μήνες που ακολουθούν, θα εξελιχθεί σε δολιχοβλάστη και στις αρχές Απριλίου ξεκινάει η πτώση των χειμωνιάτικων φύλλων (Εικόνα 9Δ).

Οι βραχυβλάστες που βρίσκονται στη βάση των βλαστών μπορεί να μην αναπτυχθούν κατά τη διάρκεια της βλαστητικής περιόδου και να παραμείνουν ανενεργοί. Ένας μικρός αριθμός από αυτούς μπορεί να εξελιχθεί την επόμενη βλαστητική περίοδο ή τελικά να αποκοπούν από το βλαστό. Δεν είναι σπάνιο το φαινόμενο στον ίδιο δολιχοβλάστη ακόμα και στον ίδιο κόμβο ή σε γειτονικούς κόμβους, η εξέλιξη των βραχυβλαστών κατά τους ανοιξιάτικους μήνες να είναι ασύγχρονη.

### **3.1.2. Μορφολογική περιγραφή φύλλων όπως εμφανίζονται κατά τις διάφορες εποχές.**

Η ορολογία που χρησιμοποιείται για την περιγραφή των αδενωδών τριχών είναι αυτή κατά Werker (1985 a,b).

**Ανοιξιάτικα φύλλα:** Τα ανοιξιάτικα φύλλα θεωρούνται τα κατεξοχήν φύλλα των δολιχοβλαστών. Τα φύλλα τους σε σχήμα καρδιάς είναι χνουδωτά, αντίθετα, έχουν λεία επιφάνεια και χρώμα γκριζοπράσινο και στις δύο επιφάνειες λόγω του πυκνού τους τριχώματος. Είναι σχεδόν κάθετα προς το βλαστό και έχουν μικρό μίσχο. Τα ανοιξιάτικα φύλλα είναι τα μεγαλύτερα σε μέγεθος, σε σύγκριση με εκείνα όλων των άλλων εποχών με μήκος περίπου 6 cm και πλάτος 5 cm, αλλά και στη συνολική τους επιφάνεια. Αυτήν την περίοδο το έλασμα είναι περισσότερο πεπλατυσμένο από κάθε άλλη εποχή (Εικόνα 10, Εικόνα 11). Η πυκνότητα των τριχωμάτων των ανοιξιάτικων φύλλων είναι μικρότερη από την πυκνότητα που απαντώνται στα καλοκαιρινά φύλλα. Τα στόματα που παρατηρούνται στην κάτω επιφάνεια του φύλλου είναι υπερυψωμένα και βρίσκονται στις κρύπτες, σε αντίθεση με αυτά στην άνω επιφάνεια του φύλλου που είναι ελάχιστα και συναντώνται στο ίδιο επίπεδο με τα γειτονικά επιδερμικά κύτταρα. Οι ασπιδοειδείς αδένες παρατηρούνται περισσότερο στα ανοιξιάτικα φύλλα, με σταδιακή μείωση του αριθμού τους στα φθινοπωρινά φύλλα.

Εικόνα 10: Άνω επιφάνεια ανοιξιότικου φύλλου.

Εικόνα 11: Κάτω επιφάνεια ανοιξιότικου φύλλου.

Στην αποαξονική επιφάνεια του φύλλου (Εικόνα 12) διακρίνονται, σύμφωνα με παρατηρήσεις στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης, τα εξής:

1. Ένας μεγάλος αριθμός αρκετά μακριών πολυκύταρων και δενδρωδών μη αδενωδών τριχών που σχηματίζουν το τρίχωμα, δηλαδή ένα πυκνό στρώμα στην επιφάνεια του φύλλου το οποίο προσδίδει λευκή και υπόλευκη χροιά και βελούδινη υφή στο έλασμα και αποτελεί την εξωτερική στρώση. Υπάρχουν διάσπαρτες οι τρίχες αυτές σε όλη την επιφάνεια του μεγάλου ανοιξιότικου φύλλου, χωρίς όμως να παρουσιάζεται μία κανονική κατανομή τους. Αποτελούνται από ένα μακρύ μίσχο και διακρίνονται από πέντε (5) έως επτά (7) διακλαδώσεις στην κορυφή τους. Ο αριθμός τους είναι πολύ μεγαλύτερος σε αυτήν την επιφάνεια του φύλλου σε σχέση με την προσαξονική.

2. Κεφαλοειδείς αδενώδεις τρίχες τύπου I που είναι ιδιαίτερα κοντές και αποτελούνται από ένα (1) κύτταρο βάσης, ένα έως δύο (1-2) κύτταρα μίσχου και ένα (1) κύτταρο κεφαλής που έχει σφαιρικό σχήμα. Λιγότερο συχνά παρατηρούνται κεφαλοειδείς τρίχες τύπου II, που είναι πιο ψηλές από τις προηγούμενες επειδή τα κύτταρα του μίσχου είναι πολύ επιμηκυμένα και αποτελούνται από ένα (1) κύτταρο βάσης, δύο (2) κύτταρα μίσχου και ένα (1) κύτταρο κεφαλής που αρχικά είναι όσο στενά είναι και τα κύτταρα του μίσχου και ανοίγει προς τα πάνω. Πιο σπάνια παρατηρούνται κεφαλοειδείς αδενώδεις τρίχες τύπου III ή αλλιώς μικροκέφαλες ελαιοφόρες τρίχες που είναι λεπτές, μακριές και αποτελούνται από δύο (2) ή περισσότερα κύτταρα βάσης, δύο έως πέντε (2-5) κύτταρα μίσχου και ένα (1) στρογγυλό μονοκύτταρο κεφαλής.

3. Πολυάριθμοι ασπιδοειδείς αδενώδεις τρίχες που αποτελούνται από ένα (1) κύτταρο βάσης, ένα (1) υπερκείμενο κύτταρο μίσχου και μία (1) ογκώδη κεφαλή που

αποτελείται από πολλά κύτταρα τοποθετημένα σε μια στρώση. Ο αριθμός των εκκριτικών κυττάρων της κεφαλής ποικίλει καθώς και η φύση των υλικών τα οποία αποθηκεύουν και εκκρίνουν. Συναντώνται πιο συχνά από ότι στην προασαξονική επιφάνεια αυτού του τύπου οι αδένες.

4. Σπάνια εμφανίζονται αδένες που δεν είναι δυνατόν να καταταγούν εύκολα στις κατηγορίες των ασπιδοειδών ή των κεφαλοειδών αδένων. Είναι ένας συνδιασμός μη αδενώδους με αδενώδη, όμως, διακλάδωση κεφαλοειδούς τύπου I. Αποτελούνται από ένα (1) κύτταρο βάσης που ενώνεται με τρία (3) κύτταρα μίσχου μακριά και ο μεσαίος μίσχος ενώνεται με την ογκώδη κεφαλή (Εικόνα 35Γ).

5. Σχηματίζονται εσοχές με μορφή κρυπτών, οι οποίες είναι αρκετά βαθιές και το εσωτερικό των οποίων είναι καλυμμένο από πυκνές δενδρώδεις τρίχες. Το περίγραμμα κάθε κρύπτης είναι τα αρεόλια (areole) που περιγράφονται από τα νεύρα του φύλλου. Μέσα στις κρύπτες βρίσκονται τα στόματα (Εικόνα 12).

6. Στόματα που εντοπίζονται στο εσωτερικό της κρύπτης και είναι ιδιαίτερα ορατά λόγω της μη μεγάλης πυκνότητας που απαντώνται οι τρίχες στο εσωτερικό της κρύπτης. Παρατηρείται ότι οι αδενώδεις τρίχες βρίσκονται περισσότερο πλησίον ή επάνω στις ηθμαγγειώδεις δεσμίδες.

Στην προσαξονική επιφάνεια (Εικόνα 13, Εικόνα 14) διακρίνονται:

1. Τα αρεόλια (areole) που σχηματίζουν ημισφαιρικές δομές με το θόλο τους να προεξέχει προς αυτή την πλευρά του φύλλου. Αυτές οι ημισφαιρικές δομές είναι αρκετά βαθιές σε σχέση με αυτές που συναντώνται τις άλλες εποχές του έτους, με το μέγιστο βάθος να παρατηρείται το καλοκαίρι.

2. Πολλές μη αδενώδεις τρίχες ιδιαίτερα μακριές και λεπτές πολυκύτταρες, διάσπαρτες σε όλο το φύλλο με μεγαλύτερη συγκέντρωση στη μέση του φύλλου. Διακρίνονται για το μακρύ τους μίσχο, περίπου 300 μικρά, στην κεφαλή του οποίου εκφύονται πέντε (5) έως επτά (7) αιχμηρές απολήξεις. Σε αντίθεση με την αποαξονική επιφάνεια του φύλλου, εδώ οι αδενώδεις τρίχες είναι πιο αραιές και έχουν πιο μακρύ μίσχο.

3. Πολυάριθμοι κεφαλοειδείς αδένες τύπου II υπάρχουν διάσπαρτοι σε όλη την επιφάνεια του μεγάλου ανοιξιάτικου φύλλου, με κύτταρα βάσης των οποίων το μήκος τους κυμαίνεται. Παρατηρούνται να αποτελούνται από ένα (1) κύτταρο βάσης, άλλοτε από ένα (1) και άλλοτε από δύο (2) κύτταρα μίσχου που έχουν μεγάλο μήκος, καθώς και από ένα (1) κύτταρο κεφαλής που αρχικά είναι όσο στενά είναι και τα κύτταρα του μίσχου και διευρύνεται προς τα πάνω. Πιο σπάνια παρατηρούνται κεφαλοειδείς αδενώδεις τρίχες τύπου I που είναι πιο κοντές και αποτελούνται από ένα (1) κύτταρο βάσης, ένα έως δύο (1-2) κύτταρα μίσχου και ένα (1) κύτταρο κεφαλής, ενώ πολύ συχνά παρατηρούνται κεφαλοειδείς αδένες τύπου I, που έχουν μακρύ μίσχο.

4. Αρκετοί βυθισμένοι ασπιδοειδείς αδένες σε όλο το μήκος του φύλλου εκατέρωθεν της κεντρικής νεύρωσης. Αποτελούνται από ένα (1) κύτταρο βάσης, ένα (1) υπερκείμενο κύτταρο μίσχου και μια (1) ογκώδη κεφαλή που αποτελείται από πολλά κύτταρα τοποθετημένα σε μία στρώση.

5. Τα στόματα είναι ελάχιστα και κατανεμημένα σε όλη την επιφάνεια (Εικόνα 13, Εικόνα 14).



Εικόνα 13: Προσαξονική επιφάνεια ανοιξιάτικου φύλλου όπως φαίνεται με το Η.Μ.Σ.

Εικόνα 14: Προσαξονική επιφάνεια ανοιξιάτικου φύλλου όπως φαίνεται με το Η.Μ.Σ.

**Καλοκαιρινά φύλλα:** Είναι τα κατεξοχήν φύλλα του «καλοκαιρινού» βραχυβλάστη. Τα φύλλα αυτά έχουν σχήμα καρδιάς, δεν είναι εντελώς κάθετα προς το βλαστό και έχουν μικρό μίσχο. Αυτή την περίοδο έχουν το πιο πυκνό τρίχωμα από όλα τα φύλλα των άλλων εποχών του έτους, γεγονός που φαίνεται ότι βοηθάει στην

προστασία των φωτοσυνθετικών κυττάρων από τις υψηλές εντάσεις φωτεινής και υπεριώδους ακτινοβολίας και αυξάνει την ανακλαστικότητα της επιφάνειας. Έτσι, η κάτω επιφάνεια του φύλλου έχει χρώμα γκριζοπράσινο λόγω του πυκνού τους τριχώματος. Το πάχος του φύλλου, ενώ φαίνεται να μην ξεπερνά τα 100 μm, μαζί με τις τρίχες φτάνει στα 1500 μm. Ιδιαίτερα έντονα εμφανίζονται τα αρεόλια που σχηματίζουν κοίλες δομές με το θόλο να προεξέχει προς την προσαξονική επιφάνεια του φύλλου, ενώ στην αποαξονική να σχηματίζονται κοιλότητες υπό μορφή κρυπτών που είναι πολύ βαθιές, το εσωτερικό των οποίων είναι καλυμμένο από πυκνές δενδρώδεις τρίχες και μέσα σε αυτές εντοπίζονται όλα τα στόματα.



Εικόνα 15: Άνω επιφάνεια καλοκαιρινού φύλλου.



Εικόνα 16: Κάτω επιφάνεια καλοκαιρινού φύλλου.

Στην αποαξονική επιφάνεια (Εικόνα 17) διακρίνονται :

1. Αμέτρητες μη αδενώδεις τρίχες μακριές και λεπτές πολυκύτταρες στο μέσο του φύλλου. Χαρακτηριστικό τους είναι ο μικρός τους μίσχος, που σε ορισμένες περιπτώσεις θεωρούνται και άμισχες στην κεφαλή των οποίων καταλήγουν δέκα (10) έως δεκαπέντε (15) αιχμηρές απολήξεις. Σε αντίθεση με την προσαξονική επιφάνεια του φύλλου, εδώ οι μη αδενώδεις είναι πιο πυκνές και έχουν πιο κοντό μίσχο. Παρουσιάζονται πιο πολλές σε αριθμό από όλες τις άλλες εποχές του έτους. Ενώ το πάχος του μεσόφυλλου δεν ξεπερνά τα 100 μm, το πάχος των τριχών μαζί με το έλασμα του φύλλου φτάνει τα 2000 μm.

2. Μεγάλου μεγέθους μονοκύτταρα ή δικύτταρα τριχώματα που είναι μη διακλαδιζόμενα και μονόσειρα και έχουν συνήθως οξυκατάληκτη άκρη και είναι αγκυλωτά στην άκρη τους.

3. Πολυάριθμοι κεφαλοειδείς αδένες τύπου I στο κράσπεδο του φύλλου, συγκεντρωμένοι προς τη βάση του φύλλου. Αποτελούνται από ένα (1) κύτταρο βάσης, ένα ή δύο (1-2) κύτταρα μίσχου με μικρό μήκος και ένα (1) κύτταρο κεφαλής που έχει

ωοειδές σχήμα. Οι κεφαλοειδείς αδένες παρατηρούνται πιο αραιά και εντοπίζονται κυρίως στην αποαξονική επιφάνεια του φύλλου.

4. Σπανίως εντοπίζονται κεφαλοειδείς αδένες τύπου II με ένα (1) κύτταρο βάσης, δύο (2) κύτταρα μίσχου και ένα (1) κύτταρο κεφαλής.

5. Ελάχιστοι κεφαλοειδείς τύποι III που είναι λεπτές με πολύ μακρύ μίσχο και έχουν σφαιρική μονοκύτταρη κεφαλή.

6. Βυθισμένοι ασπιδοειδείς αδένες σχεδόν από τη βάση του φύλλου αραιά κατανεμημένοι σε όλο το μήκος τους. Αποτελούνται από ένα (1) κύτταρο βάσης, ένα (1) κύτταρο μίσχου και μία (1) πολυκύτταρη κεφαλή.

7. Στόματα πολυάριθμα υπερυψωμένα σε όλο το μήκος του φύλλου. Καθίσταται δύσκολη η καταμέτρηση των στομάτων λόγω της έντονης πυκνότητας των τριχών ιδίως αυτών που βρίσκονται μέσα στις κρύπτες και του γεγονότος ότι δεν είναι εύκολη η απομάκρυνση των τριχών επειδή είναι μαλακές.

Εικόνα 17: Αποαξονική επιφάνεια καλοκαιρινού φύλλου όπως φαίνεται με το Η.Μ.Σ..

Στην προσαξονική επιφάνεια (Εικόνα 18) διακρίνονται:

1. Πολυάριθμες μη αδενώδεις τρίχες που συναντώνται, όμως, πιο αραιά σε σχέση με την αποαξονική επιφάνεια του φύλλου και είναι μακριές και λεπτές πολυκύτταρες. Συνήθως απαντώνται στο μέσο του φύλλου, έχουν πιο μακρύ μίσχο από ότι στην αποαξονική επιφάνεια του φύλλου και η κορυφή τους καταλήγει σε πέντε (5) έως επτά (7) αιχμηρές απολήξεις.

2. Μεγάλου μεγέθους μονοκύτταρα ή δικύτταρα τριχώματα που είναι μη διακλαδιζόμενα και μονόσειρα και έχουν συνήθως οξυκατάληκτη άκρη και είναι αγκυλωτά στην άκρη τους.
3. Πολυκύτταρες τρίχες που έχουν μεσαίου μεγέθους μίσχο και καταλήγουν σε τέσσερις (4) οξυκατάληκτες άκρες.
4. Αρκετοί βυθισμένοι ασπιδοειδείς αδένες με μεγαλύτερη πυκνότητα προς την κορυφή του φύλλου. Εντοπίζονται λιγότεροι από ότι στην αποαξονική επιφάνεια του φύλλου.
5. Πολυάριθμοι κεφαλοειδείς αδένες τύπου I στο κράσπεδο του φύλλου με μεγαλύτερη πυκνότητα προς τη βάση του φύλλου. Αποτελούνται από ένα (1) κύτταρο βάσης, ένα ή δύο (1-2) κύτταρα μίσχου και ένα (1) κύτταρο κεφαλής που έχει ωοειδές σχήμα. Συναντώνται αδένες αυτού του τύπου με μακρύ μίσχο και πιο σπάνια παρατηρούνται με κοντό μίσχο.
6. Σπανίως εντοπίζονται κεφαλοειδείς αδένες τύπου II με ένα (1) κύτταρο βάσης, δύο (2) κύτταρα μίσχου και ένα (1) κύτταρο κεφαλής.
7. Ελάχιστοι κεφαλοειδείς τύποι III που είναι λεπτοί, με πολύ μακρύ μίσχο και έχουν σφαιρική μονοκύτταρη κεφαλή.
8. Στόματα σπανίως αναπτύσσονται σε όλη την επιφάνεια του φύλλου.

**Εικόνα 19:** Προσαξονική και αποαξονική επιφάνεια καλοκαιρινού φύλλου, αντίστοιχα, όπως φαίνεται με το Η.Μ.Σ.

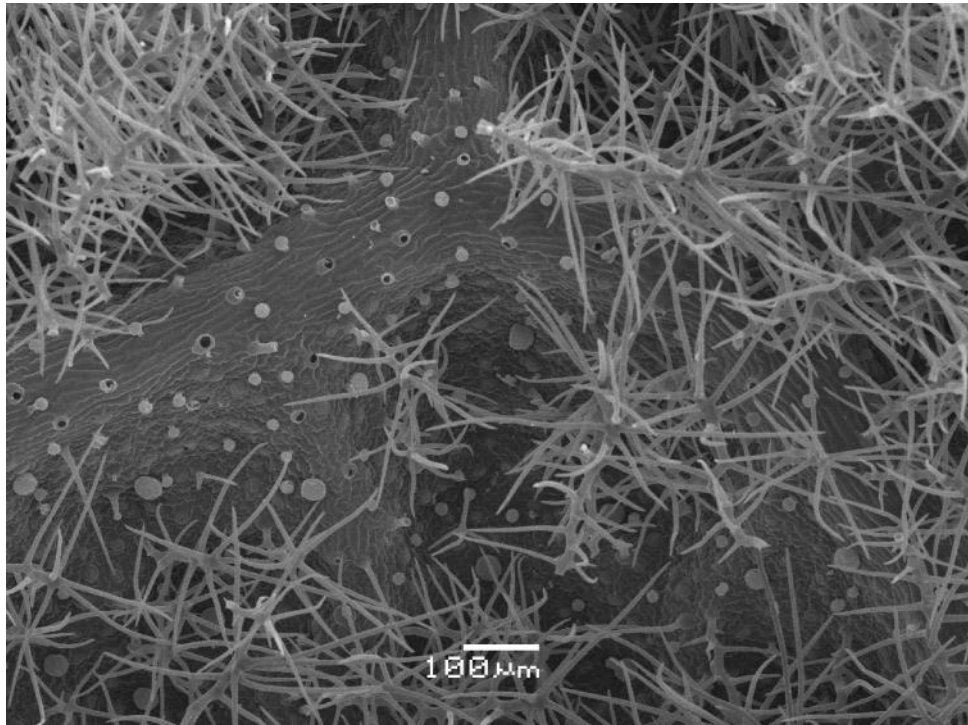
**Φθινοπωρινά φύλλα:** Το σχήμα τους είναι καρδιόσχημα, όχι τόσο εμφανή όσο τα ανοιξιάτικα και δε διαφέρουν πολύ από τα καλοκαιρινά φύλλα. Το χρώμα των φύλλων και στις δύο επιφάνειές του είναι έντονο πράσινο. Επίσης, το μήκος τους δε διαφέρει στατιστικά σημαντικά από τα καλοκαιρινά φύλλα με μέγεθος 4 cm μήκος και 3 cm πλάτος. Τα τριχώματα που συναντώνται είναι πιο αραιά σε σχέση με αυτά που απαντώνται στα καλοκαιρινά φύλλα.

**Εικόνα 20:** Άνω επιφάνεια φθινοπωρινού φύλλου.

**Εικόνα 21:** Κάτω επιφάνεια φθινοπωρινού φύλλου.

Στην αποαξονική επιφάνεια (Εικόνα 22) διακρίνονται :

1. Πολυάριθμες μη αδενώδεις τρίχες, μακριές και λεπτές πολυκύτταρες. Συνήθως απαντώνται στο μέσο του φύλλου, έχουν κοντό μίσχο, αποτελούνται από δύο (2) κύτταρα βάσης και η κορυφή τους καταλήγει σε δέκα (10) έως δεκαπέντε (15) αιχμηρές απολήξεις.
2. Συχνά συναντώνται τρίχες μη διακλαδιζόμενες μονοκύτταρες ή δικύτταρες με οξυκατάληκτα άκρα.
3. Πολυκύτταρες τρίχες που έχουν μεσαίου μεγέθους μίσχο και καταλήγουν σε τέσσερις (4) οξυκατάληκτες άκρες.
4. Ελάχιστοι βυθισμένοι ασπιδοειδείς αδένες προς την κορυφή του φύλλου.
5. Πολυάριθμοι κεφαλοειδείς αδένες τύπου I στο κράσπεδο του φύλλου, συγκεντρωμένοι προς τη βάση του φύλλου. Αποτελούνται από ένα (1) κύτταρο βάσης, ένα ή δύο (1-2) κύτταρα μίσχου με μικρό μήκος και ένα (1) κύτταρο κεφαλής που έχει ωοειδές σχήμα.
6. Στόματα σπανίως αναπτύσσονται σε όλη την επιφάνεια του φύλλου.



Εικόνα 22: Αποαξονική επιφάνεια φθινοπωρινού φύλλου όπως φαίνεται με το Η.Μ.Σ..

Στην προσαξονική επιφάνεια (Εικόνα 23) διακρίνονται:

1. Πολυάριθμες μη αδενώδεις τρίχες που συναντώνται, όμως, πιο αραιά σε σχέση με την αποαξονική επιφάνεια του φύλλου, μακριές και λεπτές πολυκύτταρες. Συνήθως απαντώνται στο μέσο του φύλλου και η κορυφή τους καταλήγει σε δέκα (10)

έως δεκαπέντε (15) αιχμηρές απολήξεις.

2. Πολλαπλές μη αδενώδεις τρίχες, μη διακλαδιζόμενες, μονοκύτταρες ή δικύτταρες με οξυκατάληκτη άκρη, μεγάλου μήκους.

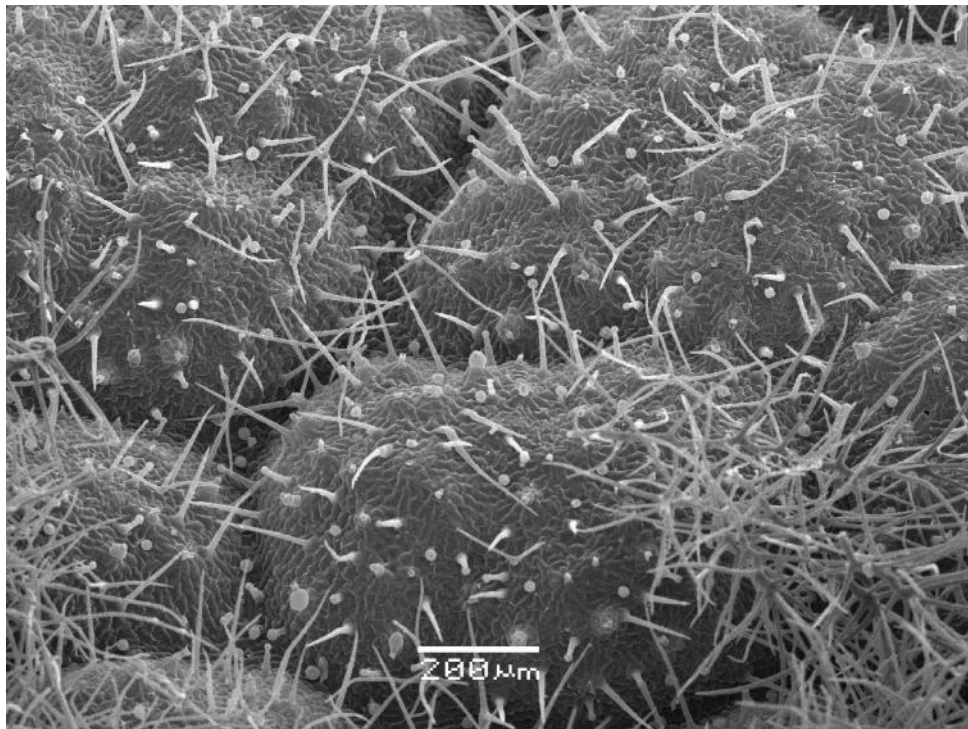
3. Πολυκύτταρες τρίχες που έχουν μεσαίου μεγέθους μίσχο και καταλήγουν σε τέσσερις (4) οξυκατάληκτες άκρες.

4. Σπάνια εμφανίζονται βυθισμένοι ασπιδοειδείς αδένες προς την κορυφή του φύλλου.

5. Πολυάριθμοι κεφαλοειδείς αδένες τύπου I στο κράσπεδο του φύλλου, συγκεντρωμένοι προς τη βάση του φύλλου. Αποτελούνται από ένα (1) κύτταρο βάσης, ένα ή δύο (1-2) κύτταρα μίσχου πολύ επιμήκη και ένα (1) κύτταρο κεφαλής που έχει ωοειδές σχήμα.

6. Ελάχιστοι κεφαλοειδείς τύποι III που είναι λεπτοί, με πολύ μακρύ μίσχο και έχουν σφαιρική μονοκύτταρη κεφαλή.

7. Στόματα σπανίως αναπτύσσονται σε όλη την επιφάνεια του φύλλου.



Εικόνα 23: Προσαξονική επιφάνεια φθινοπωρινού φύλλου όπως φαίνεται με το Η.Μ.Σ..

**Χειμωνιάτικα φύλλα:** Εμφανίζονται από το εσωτερικό του φθινοπωρινού βραχυβλάστη τους χειμωνιάτικους μήνες. Το μήκος των χειμωνιάτικων φύλλων είναι μεγαλύτερο από αυτό των φθινοπωρινών φύλλων. Συγκεκριμένα, το μήκος τους είναι 5 cm., ενώ το πλάτος τους είναι 4 cm. Το χρώμα τους είναι έντονο πράσινο και κύριο

χαρακτηριστικό τους είναι η παρουσία αραιών τριχών και στις δύο επιφάνειες του φύλλου σε σχέση με τις άλλες εποχές του έτους.

Εικόνα 24: Άνω επιφάνεια χειμωνιάτικου φύλλου.

Εικόνα 25: Κάτω επιφάνεια χειμωνιάτικου φύλλου.

Στην αποαξονική επιφάνεια (Εικόνα 26) διακρίνονται:

1. Σχηματίζονται εσοχές πολύ ρηχές με μορφή κρυπτών το εσωτερικό των οποίων είναι καλυμμένο από πυκνές δενδρώδεις τρίχες. Το περίγραμμα κάθε κρύπτης είναι τα αρεόλια (areole) που περιγράφονται από τα νεύρα του φύλλου. Μέσα στις κρύπτες βρίσκονται τα στόματα.

2. Μη αδενώδεις τρίχες, που συναντώνται όμως πιο αραιά σε σχέση με τα φύλλα των άλλων εποχών, μακριές και λεπτές πολυκύτταρες. Συνήθως, απαντώνται στο μέσο του φύλλου και η κορυφή τους καταλήγει σε πέντε (5) έως επτά (7) αιχμηρές απολήξεις.

3. Ελάχιστες μη αδενώδεις τρίχες, μη διακλαδιζόμενες, μονόσειρες, μονοκύτταρες με οξυκατάληκτη άκρη, μεγάλου μήκους.

4. Πολυκύτταρες τρίχες που έχουν μεσαίου μεγέθους μίσχο και καταλήγουν σε δύο (2) ή τρεις (3) οξυκατάληκτες άκρες και απαντώνται στα χειμωνιάτικα φύλλα.

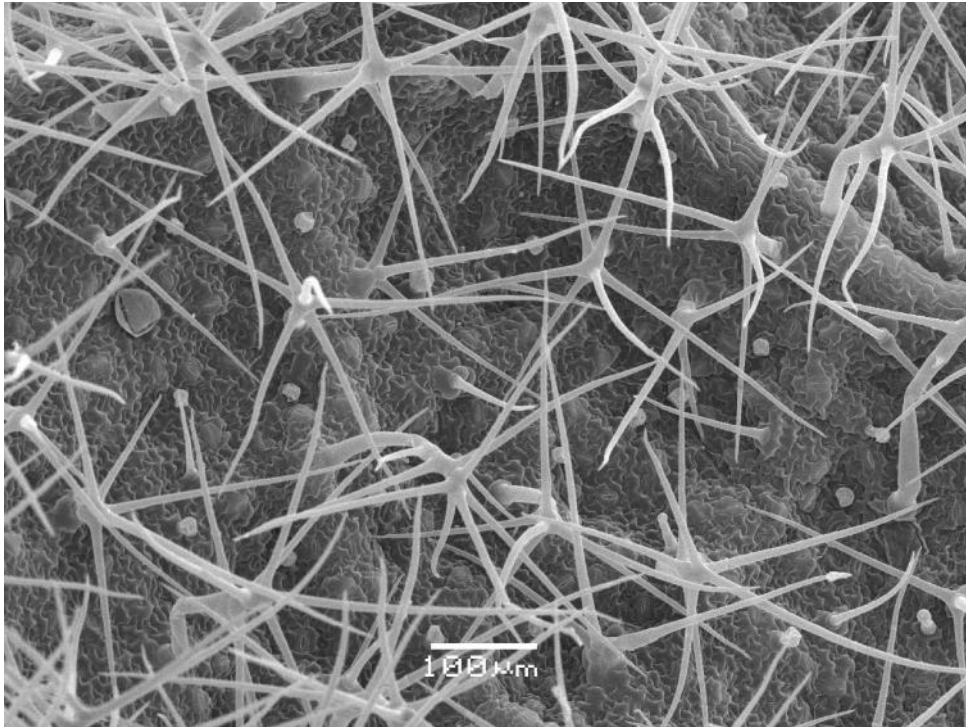
5. Αρκετοί βυθισμένοι ασπιδοειδείς αδένες προς την κορυφή του φύλλου.

6. Πολυάριθμοι κεφαλοειδείς αδένες τύπου I στο κράσπεδο του φύλλου, συγκεντρωμένοι προς τη βάση του φύλλου. Αποτελούνται από ένα (1) κύτταρο βάσης, ένα ή δύο (1-2) κύτταρα μίσχου και ένα (1) κύτταρο κεφαλής που έχει ωοειδές σχήμα. Συναντώνται αδένες αυτού του τύπου με μακρύ μίσχο και, πιο σπάνια, παρατηρούνται με κοντό μίσχο.

7. Ελάχιστοι κεφαλοειδείς τύποι III που είναι λεπτές, με πολύ μακρύ μίσχο και έχουν στρογγυλό μονοκύτταρο κεφαλής.



8. Στόματα αναπτύσσονται σε όλη την επιφάνεια του φύλλου.



Εικόνα 26: Αποαξονική επιφάνεια χειμωνιάτικου φύλλου όπως φαίνεται με το Η.Μ.Σ..

Στην προσαξονική επιφάνεια (Εικόνα 27) διακρίνονται:

1. Τα αρεόλια (areole) που σχηματίζουν ημισφαιρικές δομές με το θόλο τους να προεξέχει προς αυτή την πλευρά του φύλλου. Αυτές οι ημισφαιρικές δομές είναι ιδιαίτερα αβαθείς σε σχέση με αυτές που συναντώνται τις άλλες εποχές του έτους.

2. Μη αδενώδεις τρίχες, που συναντώνται, όμως, πιο αραιά σε σχέση με τα φύλλα των άλλων εποχών, μακριές και λεπτές πολυκύτταρες. Συνήθως, απαντώνται στο μέσο του φύλλου και η κορυφή τους καταλήγει σε πέντε (5) έως επτά (7) αιχμηρές απολήξεις.

3. Ελάχιστες μη αδενώδεις τρίχες, μη διακλαδιζόμενες, μονοκύτταρες ή δικύτταρες με οξυκατάληκτη άκρη, μεγάλου μήκους.

4. Πολυκύτταρες τρίχες που έχουν μεσαίου μεγέθους μίσχο και καταλήγουν σε τέσσερις (4) οξυκατάληκτες άκρες.

5. Αρκετοί βυθισμένοι ασπιδοειδείς αδένες προς την κορυφή του φύλλου.

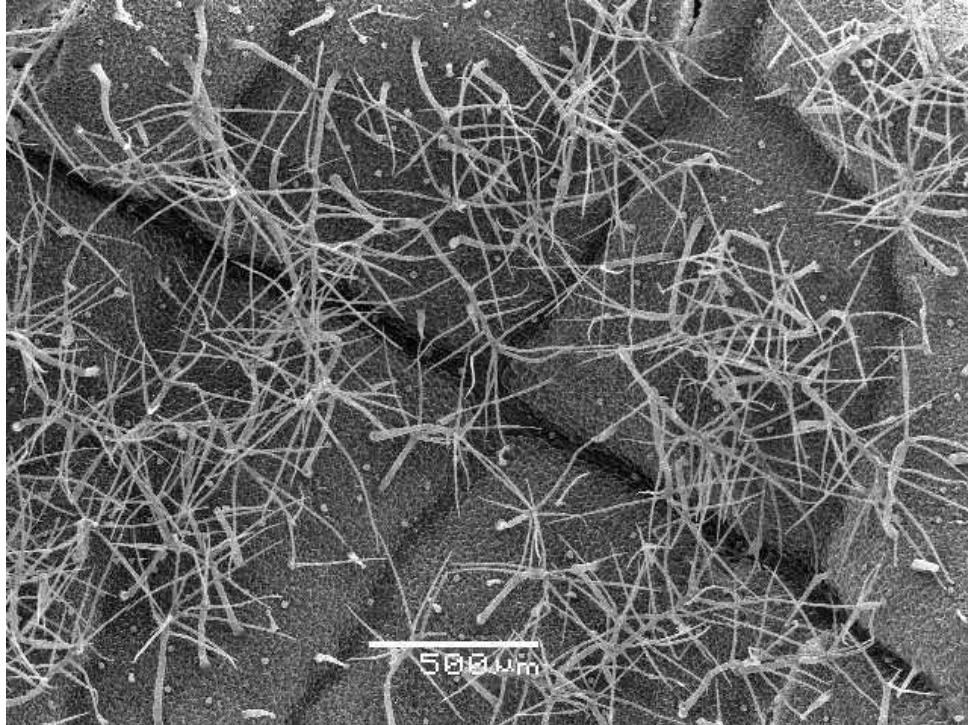
6. Πολυάριθμοι κεφαλοειδείς αδένες τύπου I στο κράσπεδο του φύλλου, συγκεντρωμένοι προς τη βάση του φύλλου. Αποτελούνται από ένα (1) κύτταρο βάσης, ένα ή δύο (1-2) κύτταρα μίσχου μεγάλου μήκους και ένα (1) κύτταρο κεφαλής που έχει ωοειδές σχήμα.

7. Ελάχιστοι κεφαλοειδείς αδένες τύπου III που είναι λεπτές, με πολύ μακρύ

μίσχο και έχουν ένα (1) στρογγυλό κύτταρο κεφαλής.

8. Ελάχιστα στόματα αναπτύσσονται σε όλη την επιφάνεια του φύλλου.

Στην αποαξονική επιφάνεια του φύλλου εμφανίζονται οι αδενώδεις και μη αδενώδεις τρίχες πιο αραιά κατανεμημένες.



Εικόνα 27: Προσαξονική επιφάνεια χειμωνιάτικου φύλλου όπως φαίνεται με το Η.Μ.Σ..

### 3.1.3. Ανατομική περιγραφή των φύλλων

Όλα τα φύλλα που εκπτύσσονται στο φυτό είναι αμφίπλευρα. Η ανατομία του ελάσματος του φύλλου διαφοροποιείται έντονα μεταξύ των καλοκαιρινών και χειμωνιάτικων φύλλων. Τόσο η άνω όσο και η κάτω **επιδερμίδα** είναι μονόστρωμες. Το πάχος των κυτταρικών τοιχωμάτων των επιδερμικών κυττάρων ποικίλει ανάλογα με την εποχή. Το μεγαλύτερο πάχος των κυτταρικών τοιχωμάτων παρατηρείται κατά τα τέλη χειμώνα-αρχές άνοιξης, ενώ το καλοκαίρι δεν εμφανίζονται τόσο παχιά.

Η **εφυμενίδα** φαίνεται να διαφοροποιείται ανάλογα με την εποχή. Συγκεκριμένα, την άνοιξη μέχρι και το καλοκαίρι εμφανίζεται να είναι πιο παχιά από κάθε άλλη εποχή μέχρι τα μέσα του καλοκαιριού όπου σταματάει η εναπόθεσή της. Το Σεπτέμβριο παρατηρείται σταδιακή μείωση της εφυμενίδας, με αποκορύφωμα τον Ιανουάριο που έχει την πιο λεπτή εφυμενίδα από όλο τον χρόνο. Το μεγαλύτερο πάχος της εφυμενίδας παρατηρείται στα τέλη της άνοιξης.

Ακολούθως, διακρίνεται το πασσαλώδες **παρέγχυμα** και εν συνεχεία το

σπογγώδες παρέγχυμα στα οποία, ανάλογα με την εποχή του έτους, ποικίλει και το πάχος τους. Συγκεκριμένα, την άνοιξη διακρίνεται μία στρώση πασσαλώδους παρεγχύματος με δύο στρώσεις σπογγώδους με αναλογία 1:1. Το φθινόπωρο, όμως, παρατηρείται μία στρώση πασσαλώδους παρεγχύματος και τρεις στρώσεις σπογγώδους σε αναλογία 1:2. Το χειμώνα, παρατηρείται μία στρώση πασσαλώδους και δύο στρώσεις σπογγώδους σε αναλογία 1:1. Το πασσαλώδες παρέγχυμα εμφανίζεται χαλαρό κατά τη διάρκεια του χειμώνα μέχρι τις αρχές της άνοιξης, γεγονός που καθιστά το φωτοσυνθετικό παρέγχυμα του φύλλου να έχει πολύ μεγάλους μεσοκυττάριους χώρους. Το σπογγώδες παρέγχυμα καταλαμβάνει μεγάλο μέρος του μεσόφυλλου με αποκορύφωμα τα τέλη φθινοπώρου, όπου και συναντάται μία στρώση πασσαλώδους με τρεις στρώσεις σπογγώδους με αναλογία πασσαλώδους-σπογγώδους 1:2.

Δε φαίνεται να υπάρχουν καθόλου μηχανικοί-στηρικτικοί ιστοί καθ'όλη τη διάρκεια του έτους, με αποτέλεσμα τα φύλλα να χαρακτηρίζονται ως ομοβαρή.

Ένα άλλο χαρακτηριστικό που αξίζει να σημειωθεί είναι η μη ανάπτυξη **σκληροεγγυματικού** ιστού στην επιφάνεια του φύλλου. Ο ρόλος του είναι να προστατεύει τους ιστούς από τη μηχανική κατάρρευση του ελάσματος σε συνθήκες αφυδάτωσης. Φαίνεται πιθανώς ότι «στοιχίζει» υλικά στο φυτό όπως άζωτο και λιγνίνη η δημιουργία του σκληροεγγύματος και η ενίσχυση της δομής του φύλλου γίνεται με τα αρεόλια.

Αξιοσημείωτο χαρακτηριστικό του φύλλου είναι η ύπαρξη **κοιλοτήτων** υπό μορφή κρυπών που παρατηρούνται στο μεσόφυλλο μεταξύ των δευτερευουσών ηθμαγγειωδών δεσμίδων (αρεόλια). Τα αρεόλια σχηματίζουν κοίλες δομές με το θόλο να προεξέχει προς την προσαξονική επιφάνεια του φύλλου, ενώ στην αποαξονική σχηματίζεται κοιλότητα υπό μορφής κρύπτης. Το καλοκαίρι με αρχές φθινοπώρου παρατηρούνται οι κοιλότητες αυτές να είναι περισσότερο βαθιές, ενώ το χειμώνα είναι αβαθείς με αποτέλεσμα το φύλλο να εμφανίζεται σαφώς πιο επίπεδο.

Χαρακτηριστικό των κυττάρων του μεσόφυλλου είναι η συσσώρευση **ελαιοσταγονιδίων** των οποίων ο αριθμός ποικίλει ανάλογα με τις εποχές. Η συσσώρευσή τους γίνεται, κυρίως, αισθητή την άνοιξη με αρχές καλοκαιριού και διαρκεί έως το φθινόπωρο, όπου σταδιακά μειώνεται. Εντοπίζονται, κυρίως, στα κύτταρα του πασσαλώδους παρεγχύματος με ένα πιποσταγονίδιο στο μέσον κάθε κυττάρου. Ο εντοπισμός τους γίνεται με χρώση με τα αντιδραστήρια Nadi και Sudan IV που υποδεικνύουν τη λιπαρή τους σύσταση.

*ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΙΣΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΒΑΛΛΩΤΗ (Ballota acetabulosa) ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΕΤΟΥΣ*

Δεν παρατηρήθηκαν **κρύσταλλοι** οξαλικού ασβεστίου με μορφή ραφίδων καθ'όλο τον ετήσιο κύκλο του φυτού.

**Εικόνα 28:** Εγκάρσια ημίεπτη τομή φύλλου και παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο των ανοιξιότικων φύλλων.

**Εικόνα 29:** Εγκάρσια ημίεπτη τομή φύλλου και παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο των φθινοπωρινών φύλλων.

**Εικόνα 30:** Εγκάρσια ημίεπτη τομή φύλλου και παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο των χειμωνιάτικων φύλλων.

### 3.1.4. Τριχώματα στο *B. acetabulosa* L. Cav. -μορφολογία και λεπτή δομή

Το στρώμα των τριχών (indumentum) του φυτού *B. acetabulosa* περιλαμβάνει μη αδενώδη και αδενώδη τριχώματα κατανεμημένα στα βλαστητικά (φύλλα και βλαστούς) όργανα. Αντικείμενο μελέτης της εργασίας αυτής αποτελεί και το τρίχωμα στα φύλλα του φυτού.

#### Μη αδενώδη τριχώματα-Λεπτή δομή

Οι μη αδενώδεις τρίχες σχηματίζουν το τρίχωμα, δηλαδή ένα πυκνό στρώμα από αλληπάλληλα στρώματα (indumentum) στην επιφάνεια του φύλλου, στα οποία οφείλεται η λευκή και υπόλευκη χροιά και βελούδινη υφή του ελάσματος. Τα μη αδενώδη τριχώματα του φυτού ποικίλουν ως προς τη μορφολογία και την ανατομία τους και κατηγοριοποιούνται με βάση τα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά. Διακρίνονται σε:

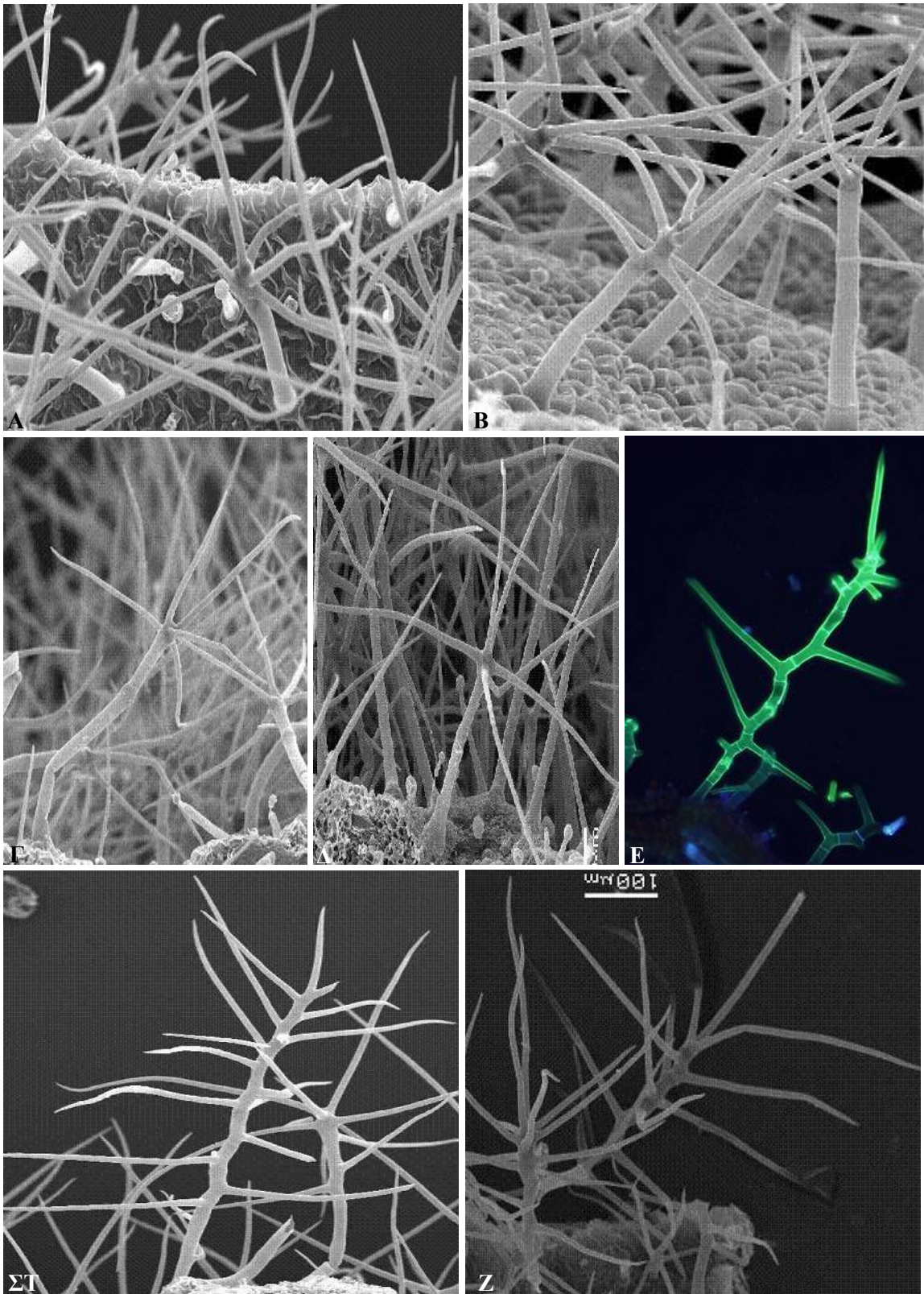
➤ Πολυκύτταρες τρίχες που έχουν μακρύ μίσχο και η κορυφή της τρίχας φέρει από πέντε έως επτά (5-7) διακλαδώσεις. Είναι μεγάλου μεγέθους οι τρίχες αυτές. Έτσι, ενώ το πάχος του φύλλου φαίνεται να μην ξεπερνά τα 100 μm, μαζί με τις τρίχες φτάνει στα 1500 μm. Συνήθως συναντώνται στα ανοιξιόφυλλα και χειμωνιάτικα φύλλα, και μόνο στην προσαξονική επιφάνεια των καλοκαιρινών φύλλων (Εικόνες 31 Α-Ε).

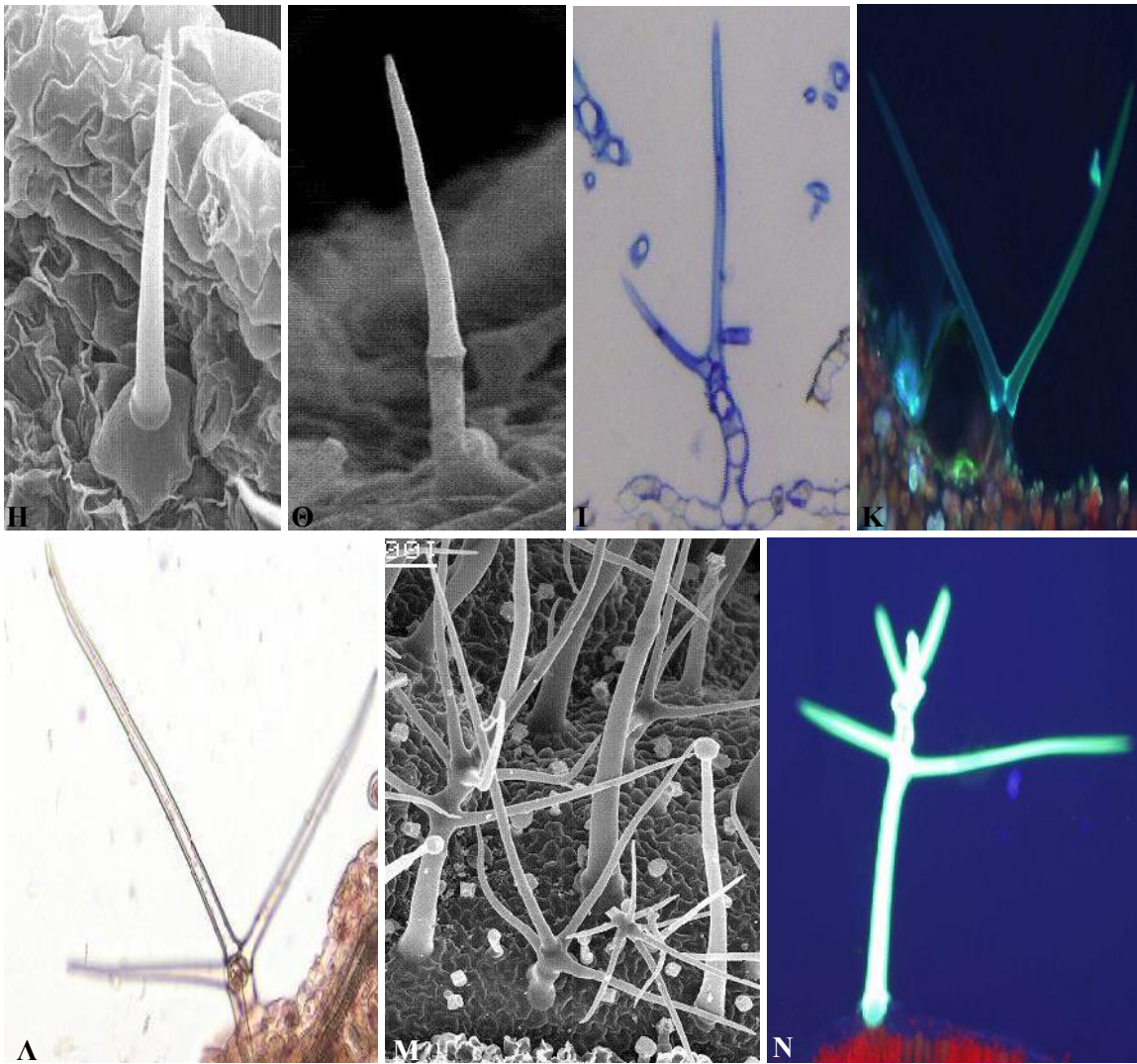
➤ Πολυκύτταρες τρίχες που έχουν πολύ μικρό μίσχο ή είναι ακόμα και άμισχες και η κεφαλή της τρίχας καταλήγει σε δέκα έως δεκαπέντε (10-15) αιχμηρές απολήξεις. Αυτή η κατηγορία απαντάται στην αποαξονική μόνο επιφάνεια των καλοκαιρινών φύλλων καθώς και στα φθινοπωρινά (Εικόνες 31 ΣΤ&Ζ).

➤ Μεγάλου μεγέθους μονοκύτταρα ή δικύτταρα τριχώματα που είναι μη διακλαδιζόμενα και μονόσειρα και έχουν συνήθως οξυκατάληκτη άκρη και είναι αγκυλωτά στην άκρη τους (Εικόνες 31 Η&Θ). Αυτού του είδους τα τριχώματα συναντώνται στα καλοκαιρινά και φθινοπωρινά φύλλα και πιο σπάνια στα χειμωνιάτικα φύλλα.

➤ Πολυκύτταρες τρίχες που έχουν μεσαίου μεγέθους μίσχο και καταλήγουν σε δύο (2) ή τρεις (3) ή και τέσσερις (4) οξυκατάληκτες άκρες (Εικόνες 31 Ι-Ν). Οι τρίχες με τις τέσσερις (4) άκρες απαντώνται στα φθινοπωρινά φύλλα και στην προσαξονική μόνο επιφάνεια των καλοκαιρινών και χειμωνιάτικων φύλλων. Οι τρίχες που καταλήγουν σε δύο (2) ή τρεις (3) άκρες συναντώνται ως επί το πλείστον στην αποαξονική επιφάνεια των χειμωνιάτικων φύλλων.

ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΙΣΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΒΑΛΛΩΤΗ (*Ballota acetabulosa*) ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΕΤΟΥΣ



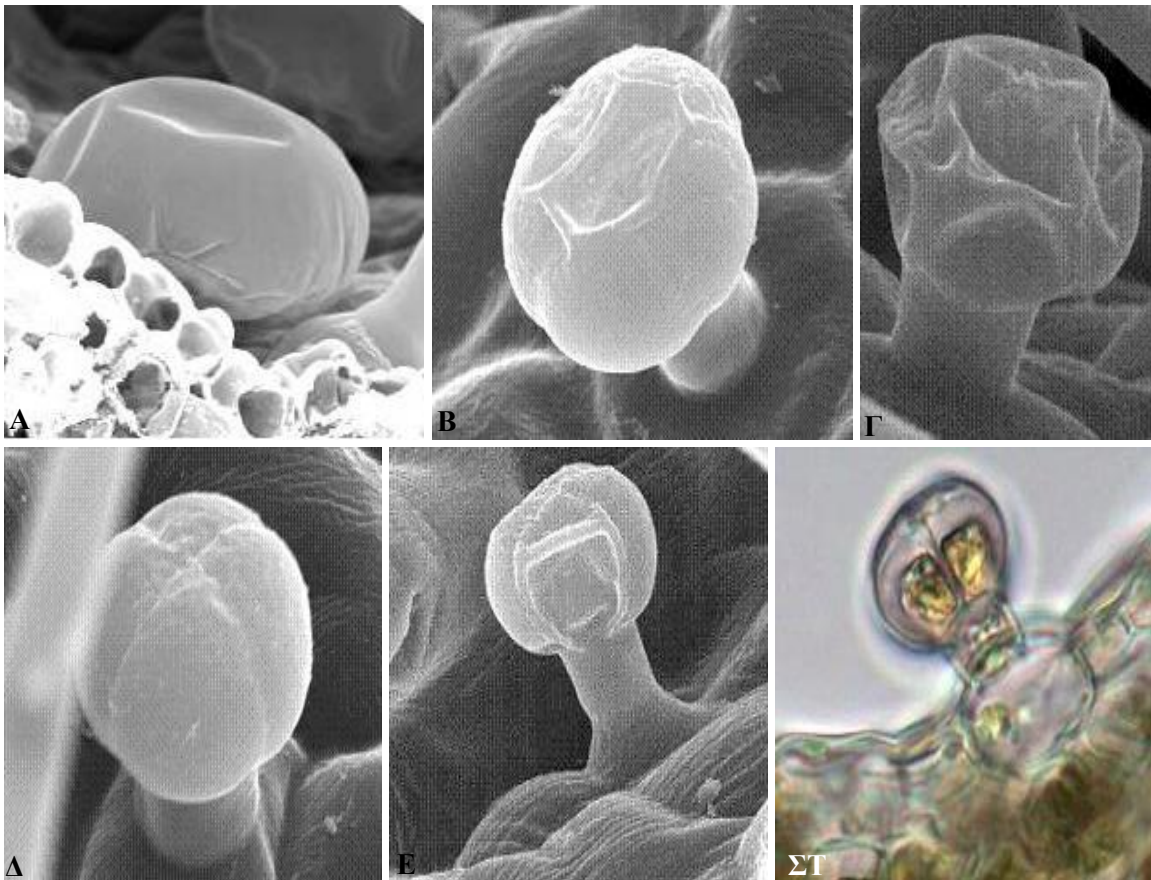


Εικόνα 31: Παρατήρηση διαφόρων τύπων μη αδενωδών τριχωμάτων σε εγκάρσιες τομές νοπών και μονιμοποιημένων παρασκευασμάτων. Α-Ε: Πολυκύτταρες που ο μίσχος τους καταλήγει σε 5-7 απολήξεις. Η παρατήρηση έγινε με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (Α-Δ) και με το μικροσκόπιο φθορισμού με χρώση με τριχλωριούχο αργίλιο (Ε). ΣΤ-Ζ: Πολυκύτταρες που ο μίσχος τους καταλήγει σε 10-15 απολήξεις. Η παρατήρηση έγινε με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης. Η: Μονοκύτταρα τριχώματα και Θ: Δικύτταρα τριχώματα, όπως φαίνονται με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης. Ι-Ν: Πολυκύτταρες τρίχες που ο μίσχος τους καταλήγει σε 2,3,4 αντίστοιχα απολήξεις. Η παρατήρηση έγινε με το οπτικό μικροσκόπιο σε απευθείας τομή (Ι), με το μικροσκόπιο φθορισμού με χρώση με τριχλωριούχο αργίλιο (Κ), με το οπτικό με χρώση με sudan (Λ) και με το μικροσκόπιο φθορισμού με χρώση με τριχλωριούχο αργίλιο (Ν).

### Αδενώδη τριχώματα-Λεπτή δομή

Οι αδένες οι οποίοι απαντώνται στα φύλλα του φυτού ανήκουν σε δύο κατηγορίες: τους ασπιδοειδείς και τους κεφαλοειδείς κατανεμημένους στα βλαστητικά κύτταρα (φύλλα και βλαστούς). Όπως αναφέρεται στους Ascensão and Pais (1998), οι Abu-Asab and Cantino (1987) καθόρισαν ότι ένας αδένας χαρακτηρίζεται ως κεφαλοειδής, αν και εφόσον το μήκος του μίσχου του είναι πάνω από το μισό του ύψους της κεφαλής του.

Οι **ασπιδοειδείς** αδένες αποτελούνται από τρία τμήματα: ένα (1) κύτταρο βάσης, ένα (1) κύτταρο μίσχου και μία (1) εκκριτική κεφαλή, η οποία περιλαμβάνει τέσσερα (4) κύτταρα κεντρικά και οχτώ (8) κύτταρα διατεταγμένα ακτινωτά (Εικόνα 32 Α-Γ). Κατά την ωρίμανση του αδένος δημιουργείται ένας υποεφυμενιδικός χώρος, στον οποίο συσσωρεύονται τα εκκριτικά προϊόντα (Εικόνα 32Ε). Ο υποεφυμενιδικός χώρος προκύπτει από την ανύψωση της εφυμενίδας, η οποία συμπαρασύρει μέρος του κυτταρικού τοιχώματος. Σε κάποιο σημείο πλευρικά των εκκριτικών κυττάρων, η εφυμενίδα/κυτταρικό τοίχωμα που καλύπτει τα εκκριτικά κύτταρα λεπταίνει πάρα πολύ και δημιουργείται η ζώνη ευαισθησίας. Όταν ο αδένος διαρρηχθεί, η εφυμενίδα που καλύπτει τον αδένος, περιέλισσει στα άκρα της (Εικόνα 32Ε) και παρατηρείται το έκκριμα του αδένος στα παρακείμενα επιδερμικά κύτταρα. Ο ασπιδοειδής αδένος συναντάται στα φύλλα όλων των εποχών, όπου ανάλογα την εποχή και την επιφάνεια του φύλλου όπου βρίσκεται, να αλλάζει και η συχνότητά του.



Εικόνα 32: Παρατήρηση διαφόρων τύπων ασπιδοειδών αδένων. Α-Ε: Παρατήρηση ασπιδοειδών αδένων σε εγκάρσιες τομές νωπών παρασκευασμάτων όπως φαίνεται με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης. Εμφανίζονται πολλές διαφορές ως προς το σχήμα και το μέγεθος των εκκριτικών κεφαλών (Α-Γ). Ασπιδοειδής αδένος που αποτελείται από ένα κύτταρο βάσης, ένα κύτταρο μίσχου και μία εκκριτική κεφαλή με τέσσερα κύτταρα κεντρικά (Δ). Διαρρηγμένος ασπιδοειδής αδένος (Ε) με τον υποεφυμενιδικό του χώρο και το έκκριμα

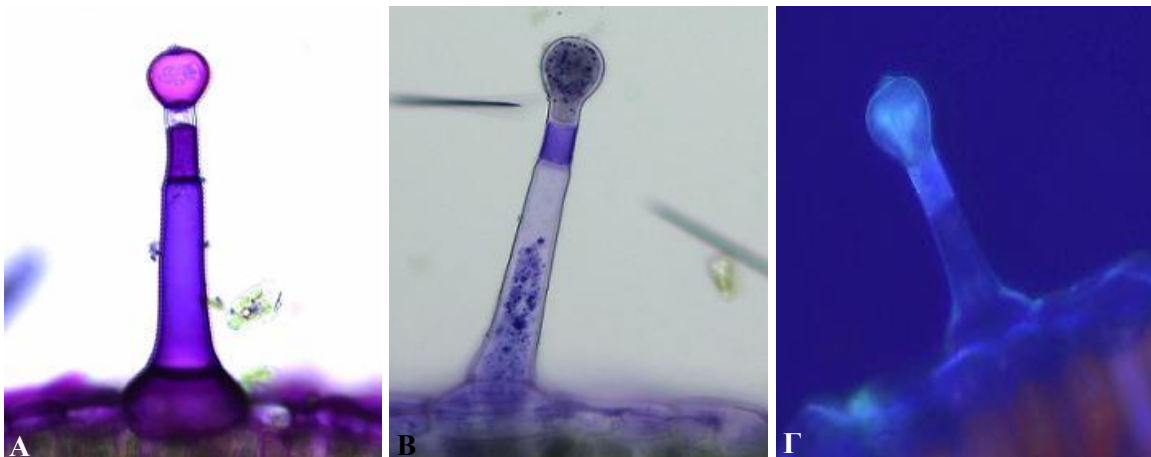


του αδένου στα παρακείμενα επιδερμικά κύτταρα. ΣΤ: Παρατήρηση ασπιδοειδή αδένου σε εγκάρσια τομή νοσίων παρασκευασμάτων όπως φαίνεται με το οπτικό μικροσκόπιο μετά από χρώση με FesO<sub>4</sub>. Διακρίνονται τα εκκριτικά κύτταρα, ο υποεφυμενιδικός χώρος, ο μίσχος και το κύτταρο της βάσης. Το κύτταρο της βάσης διαφέρει από τα παρακείμενα επιδερμικά ως προς το μέγεθος και τη δομή.

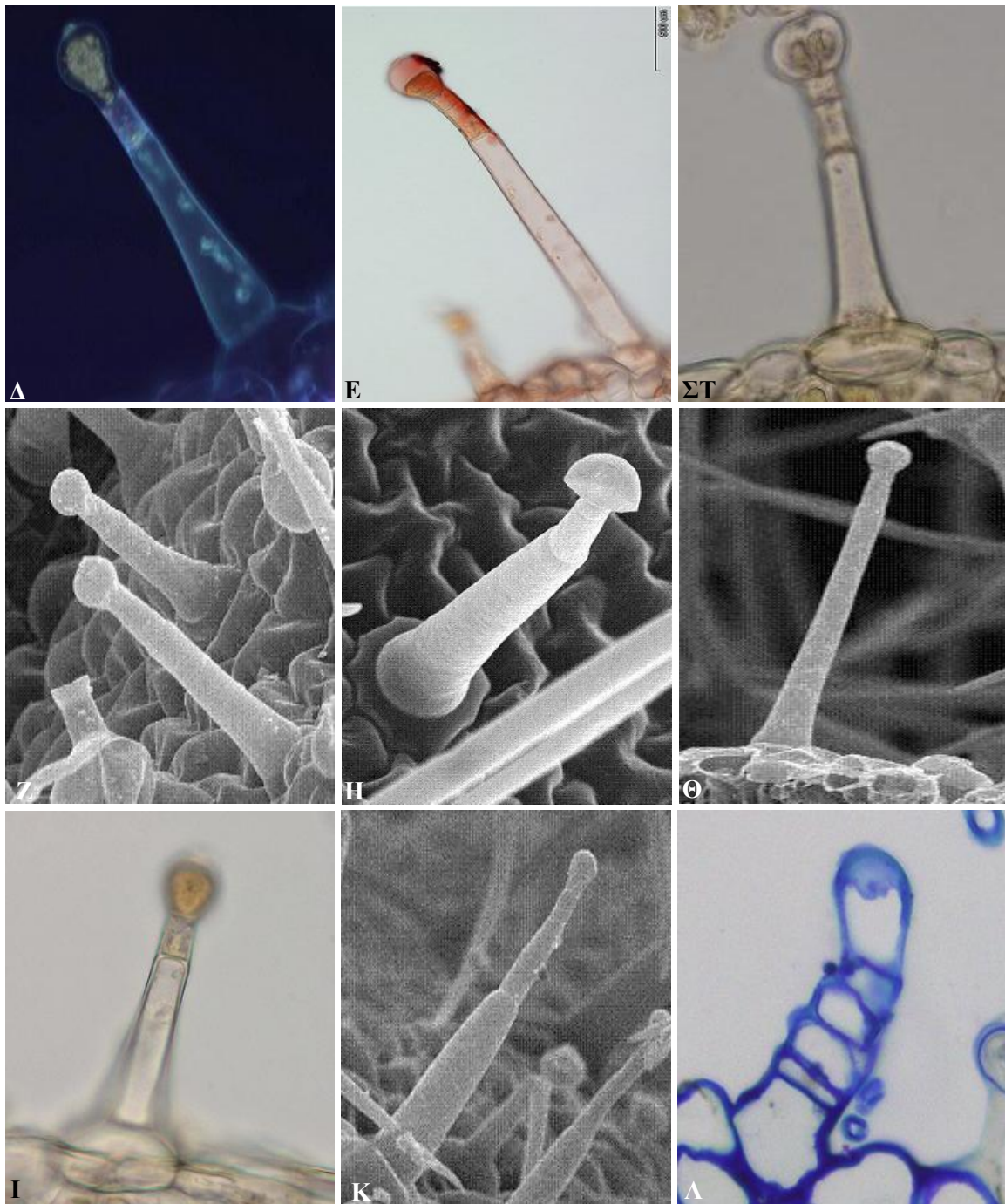
Οι κεφαλοειδείς αδένες οι οποίοι εντοπίστηκαν στα φύλλα του φυτού κατατάσσονται σε τρεις (3) κατηγορίες, αφού υπακούουν γενικότερα στον κανόνα του Werker (1985 a,b). Μοιάζουν, όμως, πολύ με τους τύπους των κεφαλοειδών τριχωμάτων, όπως περιγράφονται από τον Μποζαμπαλίδη (2008).

1. κεφαλοειδής αδένου τύπου I.
2. κεφαλοειδής αδένου τύπου II.
3. κεφαλοειδής αδένου τύπου III.

Και στις τρεις κατηγορίες διακρίνουμε ένα (1) κύτταρο βάσης, ένα ή δύο (1-2) κύτταρα μίσχου και μία (1) εκκριτική κεφαλή, η οποία αποτελείται από ένα (1) εκκριτικό κύτταρο. Στον κεφαλοειδή αδένου τύπου I το κύτταρο της κεφαλής είναι στρογγυλό, ενώ στον κεφαλοειδή αδένου τύπου II διακρίνουμε ένα (1) επίμηκες κύτταρο ίδιας διαμέτρου με το κύτταρο του μίσχου. Στην τρίτη κατηγορία διακρίνουμε δύο (2) ή περισσότερα κύτταρα βάσης, δύο έως πέντε (2-5) κύτταρα μίσχου και ένα στρογγυλό μονοκύτταρο εκκριτικό κύτταρο κεφαλής. Κεφαλοειδείς αδένες τύπου I συναντώνται στα φύλλα όλων των εποχών με μοναδική διαφοροποίηση το μήκος του μίσχου. Οι κεφαλοειδείς τύπου II, απαντώνται στα ανοιξιάτικα και καλοκαιρινά φύλλα και στις δύο (2) επιφάνειες του φύλλου. Τέλος, οι κεφαλοειδείς τύπου III συναντώνται στην αποαξονική επιφάνεια των ανοιξιάτικων φύλλων, στην προσαξονική επιφάνεια των φθινοπωρινών και στα καλοκαιρινά και χειμωνιάτικα φύλλα και στις δύο (2) επιφάνειες.

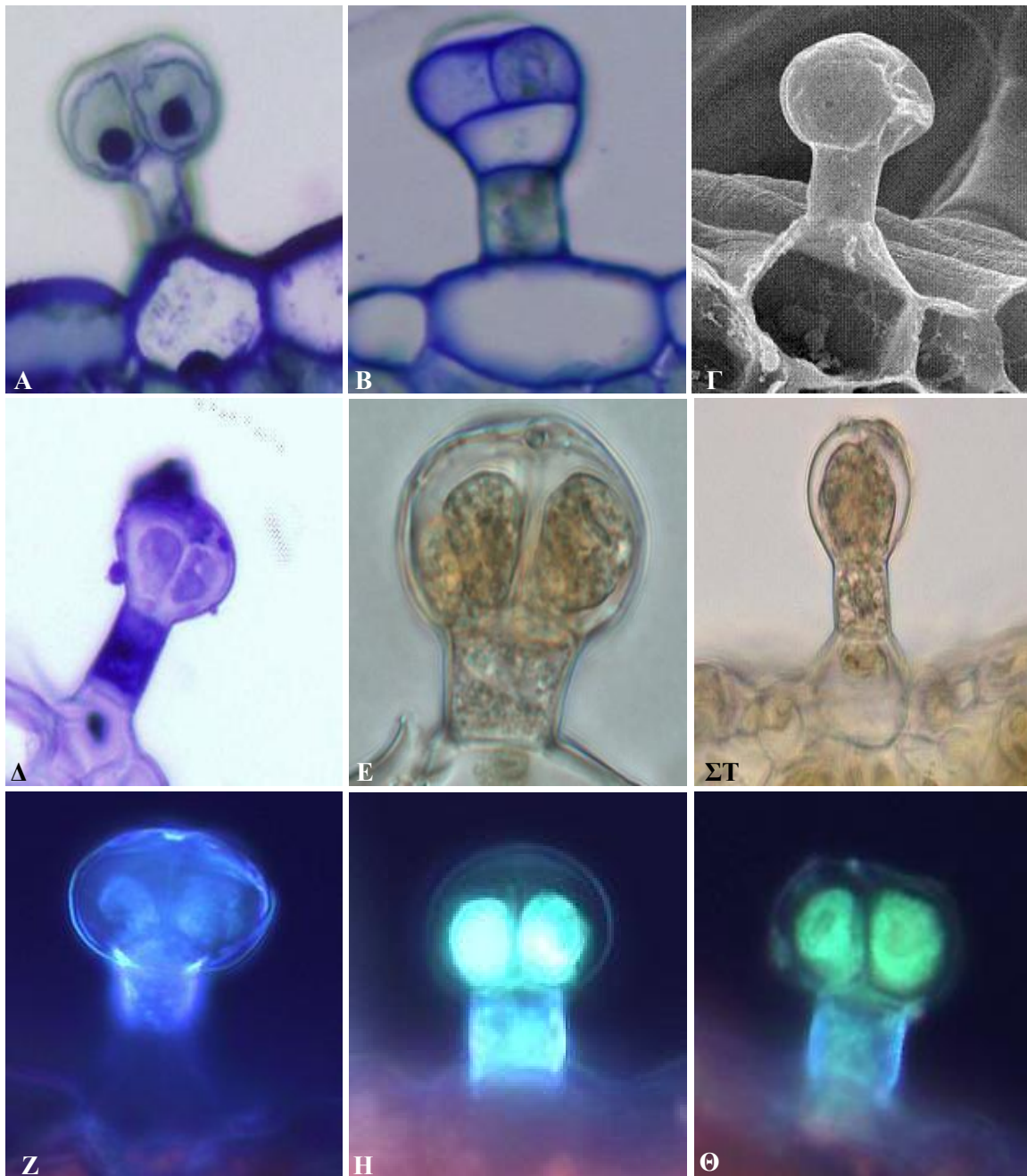


ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΙΣΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΒΑΛΛΩΤΗ (*Ballota acetabulosa*) ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΕΤΟΥΣ



Εικόνα 33: Παρατήρηση διαφόρων τύπων κεφαλοειδών αδένων. Α-Η: Παρατήρηση κεφαλοειδών αδένων τύπου Ι σε εγκάρσιες τομές νοπών παρασκευασμάτων με χρώση τολουιδίνης (Α), με χρώση Nadi (Β), με αυτοφθορισμό (Α), με χρώση Sudan (Ε), με χρώση με  $FeSO_4$  (ΣΤ) και παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο και στο μικροσκόπιο φθορισμού. Διακρίνονται το κύτταρο βάσης, ο δικύτταρος μίσχος και η εκκριτική κεφαλή που είναι στρογγυλή. Θ-Ι: Παρατήρηση κεφαλοειδών αδένων τύπου ΙΙ σε εγκάρσιες τομές νοπών παρασκευασμάτων με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (Θ) και με χρώση με  $FeSO_4$  και παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο (Ι). Διακρίνονται το κύτταρο βάσης, ο δικύτταρος μίσχος και η επιμήκης εκκριτική κεφαλή. Κ-Λ: Παρατήρηση κεφαλοειδών αδένων τύπου ΙΙΙ σε εγκάρσιες τομές νοπών παρασκευασμάτων με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (Κ) και το οπτικό μικροσκόπιο (Λ). Διακρίνονται δύο κύτταρα βάσης, πέντε κύτταρα μίσχου και ένα κύτταρο κεφαλής.

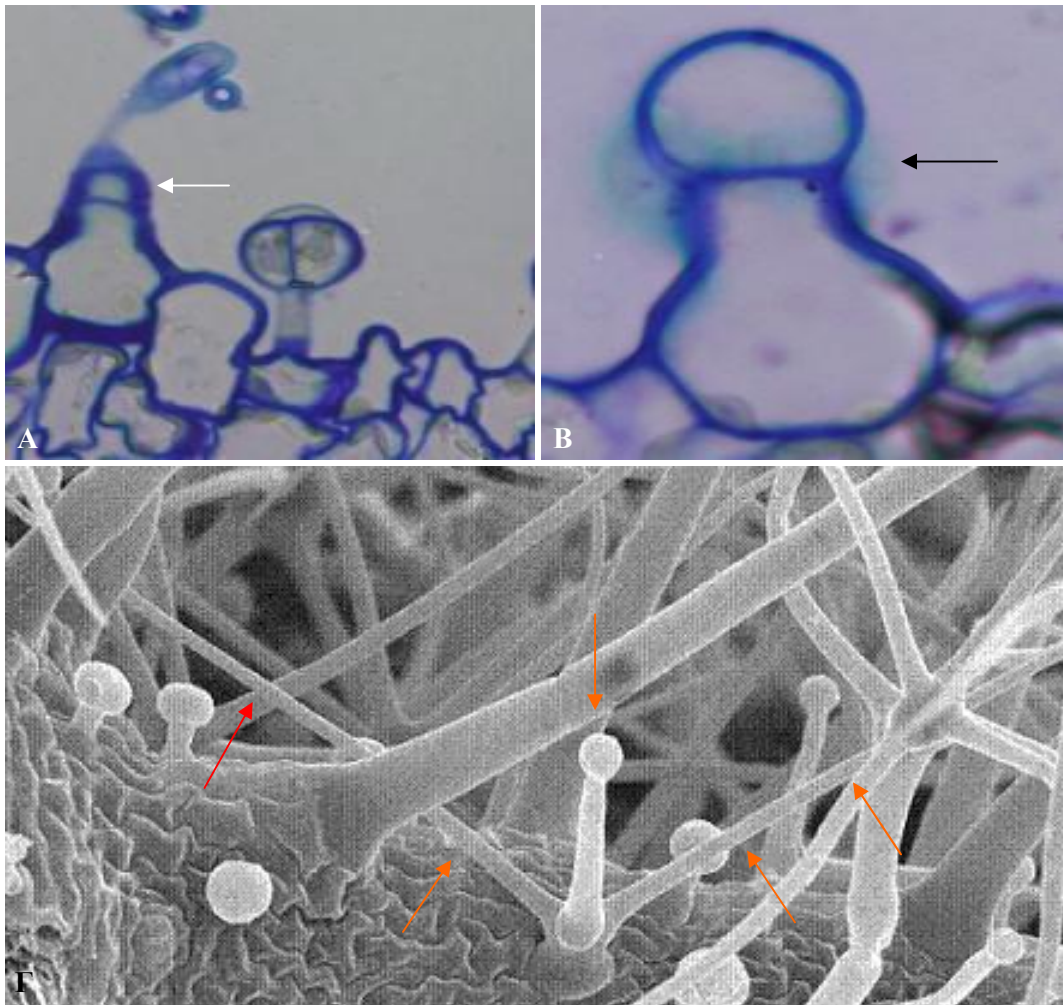
ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΙΣΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΒΑΛΛΩΤΗ (*Ballotta acetabulosa*) ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΕΤΟΥΣ



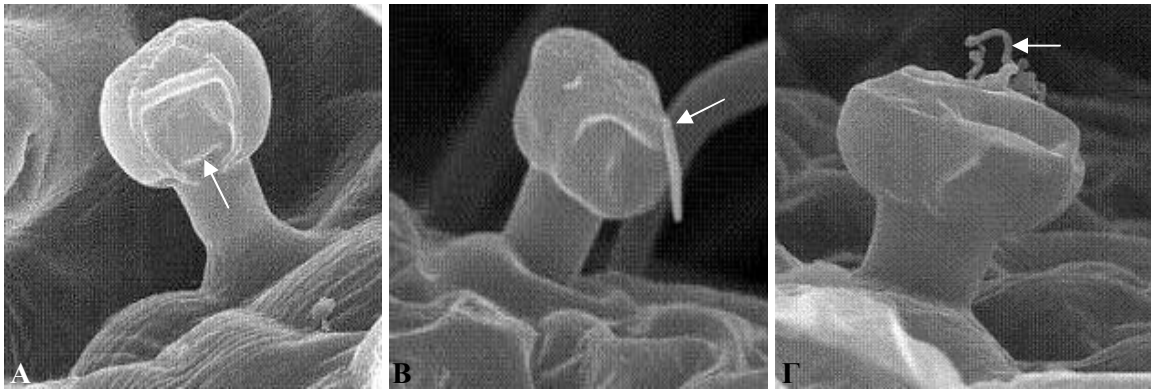
Εικόνα 34: Παρατήρηση διάφορων τύπων κεφαλοειδών αδένων τύπου I. Α-Β: Παρατήρηση αδένων τύπου I σε εγκάρσιες τομές μονιμοποιημένων παρασκευασμάτων με το οπτικό μικροσκόπιο. Γ: Παρατήρηση κεφαλοειδών αδένων σε εγκάρσιες τομές νοπών παρασκευασμάτων με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης. Δ-Θ: Παρατήρηση κεφαλοειδών αδένων σε εγκάρσιες τομές νοπών παρασκευασμάτων με χρώση με *nadi* (Δ), με  $FesO_4$  (Ε-ΣΤ), με αυτοφθορισμό (Ζ) και με φθορισμό με τριγλωριούχο αργίλιο (Η-Θ).

Παρατηρούνται, ακόμα, κάποιοι **αδένες** που δεν κατατάσσονται εύκολα στους ασπιδοειδείς ή κεφαλοειδείς αδένες σύμφωνα με τον Werker (1985 a,b). Αυτό γίνεται γιατί δε φαίνεται ξεκάθαρα ο μίσχος και η κεφαλή. Συγκεκριμένα, παρατηρείται να εμφανίζεται αδένας που το κύτταρο βάσης είναι πεπλατυσμένο και καλύπτει τα γειτονικά επιδερμικά κύτταρα (Εικόνα 35Α). Άλλος τύπος αδένας που μοιάζει με κεφαλοειδή αλλά

δεν ανήκει σε αυτήν την κατηγορία φαίνεται παρακάτω. Είναι αδένας που το κύτταρο βάσης είναι πεπλατυσμένο και καλύπτει τα γειτονικά επιδερμικά κύτταρα (Εικόνα 35B). Σπάνια εμφανίζονται αδένες που δεν είναι δυνατόν να καταταγούν εύκολα στις κατηγορίες των ασπιδοειδών ή των κεφαλοειδών αδένων. Είναι ένας συνδιασμός μη αδενώδους με αδενώδη, όμως, διακλάδωση κεφαλοειδούς τύπου I. Αποτελούνται από ένα (1) κύτταρο βάσης που ενώνεται με τρία (3) κύτταρα μίσχου μακριά και ο μεσαίος μίσχος ενώνεται με την ογκώδη κεφαλή (Εικόνα 35Γ).



Εικόνα 35: Διάφοροι τύποι αδένων όπως φαίνονται σε εγκάρσιες τομές μονιμοποιημένων παρασκευασμάτων με το οπτικό μικροσκόπιο. Α:Αδένας που το κύτταρο βάσης είναι πεπλατυσμένο και καλύπτει τα γειτονικά επιδερμικά κύτταρα (λευκά βέλη). Β:Αδένας που το κύτταρο βάσης είναι πεπλατυσμένο και καλύπτει τα γειτονικά επιδερμικά κύτταρα (μαύρα βέλη). Γ:Συνδιασμός μη αδενώδους με αδενώδη όμως διακλάδωση κεφαλοειδούς τύπου I. Αποτελούνται από ένα κύτταρο βάσης που ενώνεται με τρία κύτταρα μίσχου μακριά και ο μεσαίος μίσχος ενώνεται με την ογκώδη κεφαλή (κόκκινα βέλη).



Εικόνα 36: Διαρρηγμένοι κεφαλοειδείς αδένες τύπου I με τα εκκρίματά τους. Α: Διακρίνονται το εκκριτικό κύτταρο, ο υποεφυμενιδικός χώρος και το έκκριμα. Β: Λεπτομέρεια από την εκκριτική κεφαλή που φαίνεται η ρήξη της εφυμενίδας/κυτταρικού τοιχώματος. Γ: Συσσώρευση εκκρίματος στην εφυμενίδα της εκκριτικής κεφαλής. Με λευκά βέλη απεικονίζονται τα σημεία παρατήρησης.

### Οντογένεση τριχωμάτων

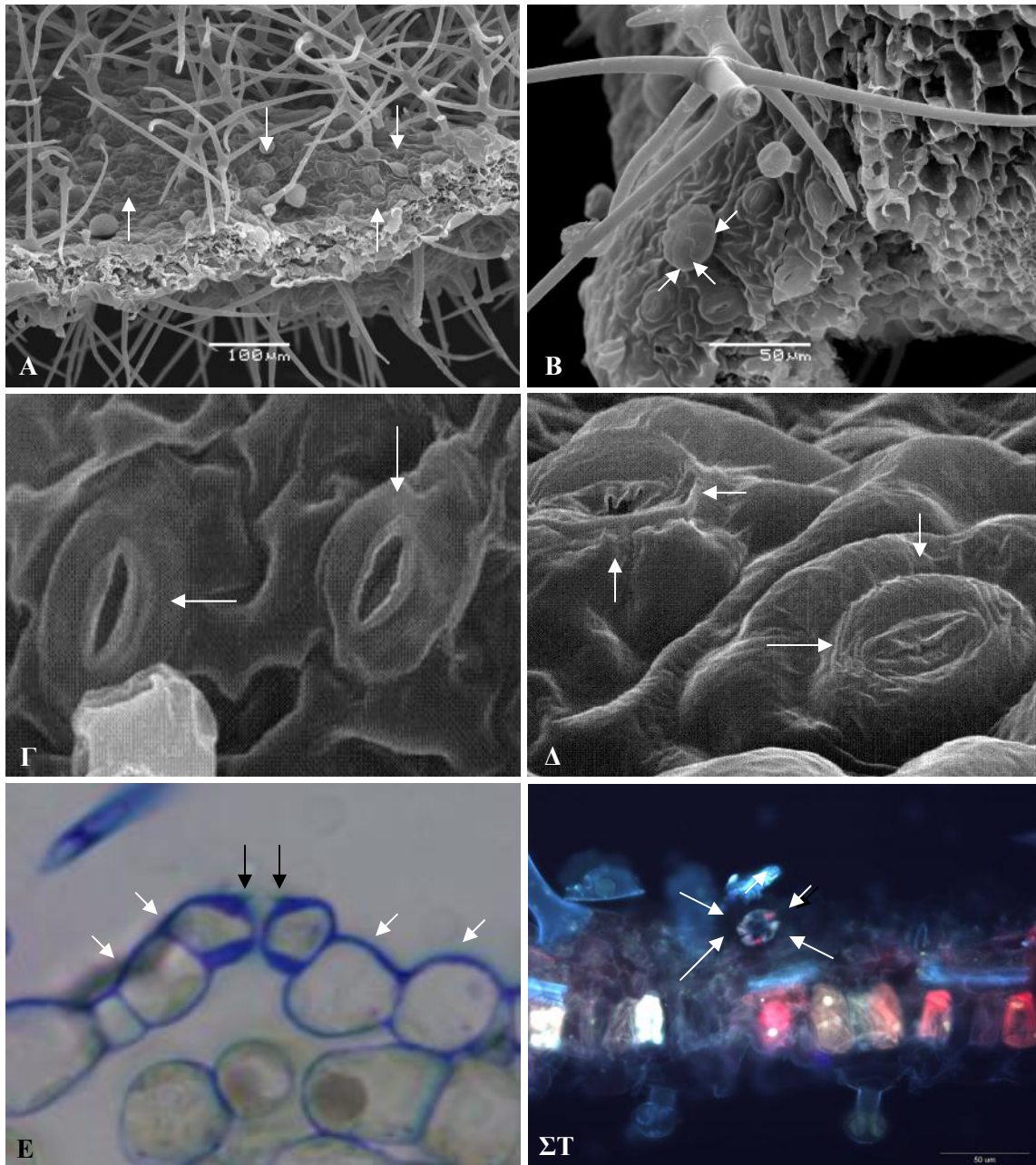
Η ανάπτυξη των τριχωμάτων ξεκινάει σε ένα πολύ αρχικό στάδιο της ανάπτυξης του φύλλου, πριν από την ανάπτυξη των στομάτων. Στα εμβρυακά φύλλα διακρίνονται ασπιδοειδείς αδένες όλων των ηλικιών, από πολύ νεαρούς μέχρι πλήρως ανεπτυγμένους, καθώς και κεφαλοειδείς αδένες τύπου I, II και III. Στα φύλλα αυτά η πυκνότητα των αδένων είναι πολύ μεγάλη.

#### **3.1.5. Στόματα**

Στόματα εντοπίζονται, κυρίως, στην αποαξονική επιφάνεια των φύλλων (Εικόνα 37Α). Σπανίως εντοπίζονται στην προσαξονική επιφάνεια, επομένως το φυτό χαρακτηρίζεται ως αμφιστοματικό. Παρατηρήθηκε ότι τα στόματα στην προσαξονική επιφάνεια όλων των κατηγοριών των φύλλων είναι στο ίδιο επίπεδο με τα επιδερμικά (Εικόνα 37Γ), ενώ τα στόματα στην αποαξονική επιφάνεια είναι υπερυψωμένα (Εικόνα 37 Δ&Ε). Αυτό συμβαίνει στα φύλλα όλων των εποχών. Στόματα παρατηρήθηκαν και κατά μήκος της κεντρικής νεύρωσης (Εικόνα 37Β). Έχει παρατηρηθεί το φαινόμενο τα στόματα να περιβάλλουν περιμετρικά τα ασπιδοειδή αδενώδη τριχώματα (Εικόνα 37 ΣΤ). Σχετικά με την κατανομή των στομάτων στις διάφορες κατηγορίες φύλλων, δεν ήταν δυνατή η με ακρίβεια αποτύπωσή τους, καθώς πολλά στόματα είναι κρυμμένα κάτω από αδενώδη και μη αδενώδη τριχώματα και δεν είναι εύκολη η απομάκρυνση των τριχωμάτων. Άλλα στόματα βρίσκονται μέσα στις ημισφαιρικές κρύπτες, εκεί που σχηματίζονται κοιλότητες, γεγονός που καθιστά δύσκολη την καταμέτρηση των στομάτων. Το δεδομένο είναι ότι δεν ανιχνεύονται στόματα σε όλη την προσαξονική επιφάνεια των φύλλων, ενώ κατά μήκος της κεντρικής νεύρωσης είναι ελάχιστα.

ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΙΣΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΒΑΛΛΩΤΗ (*Ballota acetabulosa*) ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΕΤΟΥΣ

Η οντογένεση των στομάτων χρονικά ακολουθεί την οντογένεση των τριχωμάτων. Στα εμβρυακά φύλλα, ενώ διακρίνονται τριχώματα με ποικίλο βαθμό ωρίμανσης, δε διακρίνονται στόματα.



Εικόνα 37: Παρατήρηση στομάτων της αποαξονικής και προσαξονικής επιφάνειας των φύλλων. Α:Στόματα εντοπίζονται κυρίως στην αποαξονική επιφάνεια των φύλλων (λευκά βέλη). Η παρατήρηση έγινε με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης. Β: Τα στόματα συνήθως περιβάλλουν τα ασπιδοειδή αδενώδη τριχώματα (λευκά βέλη). Η παρατήρηση έγινε με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης. Γ:Τα στόματα της προσαξονικής επιφάνειας βρίσκονται στο ίδιο επίπεδο με τα επιδερμικά κύτταρα (λευκά βέλη). Η παρατήρηση έγινε με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης. Δ: Παρατηρούνται τα υπερυψωμένα στόματα στην αποαξονική επιφάνεια των φύλλων (λευκά βέλη). Η παρατήρηση έγινε με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης. Ε: Τα μαύρα βέλη δείχνουν τις εξωτερικές οφρύες. Παρατηρούνται τα παχιά κυτταρικά τοιχώματα των επιδερμικών κυττάρων και τα ανισόπαχα κυτταρικά τοιχώματα των καταφρακτικών κυττάρων (λευκά βέλη). Η παρατήρηση έγινε με το οπτικό μικροσκόπιο σε εγκάρσια ημίεπτη τομή φύλλου. ΣΤ: Τα καταφρακτικά κύτταρα έχουν σχήμα νεφροειδές και οι παχύνσεις τους σχηματίζουν οφρύες. Τα λευκά βέλη δείχνουν τα καταφρακτικά κύτταρα. Η παρατήρηση έγινε με μικροσκόπιο φθορισμού (αυτοφθορισμός).

Η συμμετρική διαίρεση του μητρικού κυττάρου του στόματος παράγει τα δύο (2) καταφρακτικά κύτταρα. Τα καταφρακτικά κύτταρα χαρακτηρίζονται από ανισοπαχή κυτταρικά τοιχώματα εξαιτίας της εναπόθεσης κυτταρίνης και πηκτίνης. Τα καταφρακτικά κύτταρα έχουν σχήμα νεφροειδές (Εικόνα 37 Z&H) και οι παχύνσεις τους σχηματίζουν οφρύες (μικρές προεξοχές), τόσο εξωτερικά του στοματικού πόρου όσο και εσωτερικά προς το μεγάλο υποστοματικό θάλαμο (Εικόνα 37E). Παρατηρούνται τα παχιά κυτταρικά τοιχώματα των επιδερμικών κυττάρων και τα ανισόπαχα κυτταρικά τοιχώματα των καταφρακτικών κυττάρων. Λεπτή εφυμενίδα καλύπτει τα καταφρακτικά κύτταρα αλλά και τον υποστοματικό χώρο.

### 3.1.6. Ιστοχημεία

Τα φύλλα του φυτού *B. acetabulosa* εξετάστηκαν με τη βοήθεια διαφόρων ιστοχημικών μεθόδων για την παρουσία διαφόρων συστατικών. Στον πίνακα 1 παρουσιάζονται συνοπτικά τα αποτελέσματα της ιστοχημείας και του φθορισμού.

#### Αντιδραστήριο Nadi

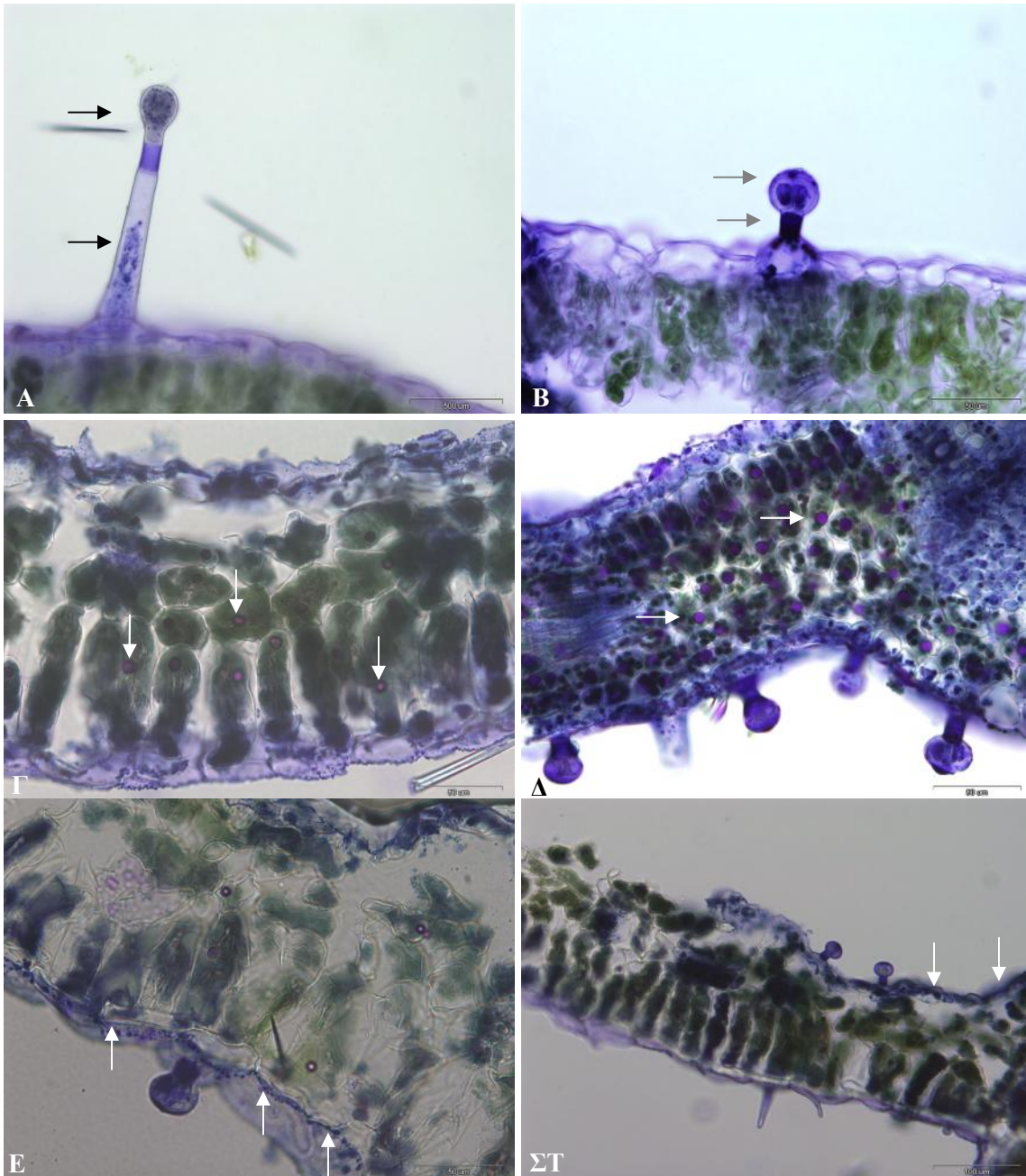
Με το αντιδραστήριο Nadi, εντοπίζονται τερπένια τα οποία χρωματίζονται μπλε-ιώδη. Σε εγκάρσιες τομές νωπών και ώριμων φύλλων προκύπτουν τα παρακάτω αποτελέσματα:

➤ Ελαιοσταγονίδια εντοπίστηκαν στον υποεφυμενιδικό χώρο, στο εσωτερικό της κεφαλής των κεφαλοειδών αδένων (Εικόνα 38A) καθώς και στα κύτταρα των μίσχων των κεφαλοειδών αδένων (Εικόνα 38B). Η εφυμενίδα, όμως, που την περιβάλλει δεν παρουσιάζει θετική αντίδραση.

➤ Τα κύτταρα του παρεγχύματος χρωματίζονται έντονα μπλε-ιώδη (Εικόνα 38 Γ&Δ). Αυτές οι σφαιρικές δομές είναι ορατές με ή χωρίς τη βοήθεια των ιστοχημικών μεθόδων. Το γεγονός ότι χρωματίζονται εκλεκτικά με τα αντιδραστήρια Nadi και Sudan IV οδηγεί στο συμπέρασμα ότι είναι τερπένια λιπιδικής φύσεως (ελαιοσταγονίδια). Παρουσιάζουν εποχική διακύμανση, καθώς τα ανοιξιάτικα φύλλα στην αρχή της εμφάνισής τους, νωρίς την άνοιξη, δεν εμφανίζουν τέτοιες δομές σε αντίθεση με τα μέσα της άνοιξης, τα καλοκαιρινά αλλά και τα φθινοπωρινά φύλλα που είναι γεμάτα ελαιοσταγονίδια.

➤ Η εφυμενίδα και τα επιδερμικά κύτταρα (Εικόνα 38 E&Z), τόσο της αποαξονικής όσο και της προσαξονικής επιφάνειας των φύλλων όλων των εποχών, χρωματίζονται μπλε-ιώδη.

ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΙΣΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΒΑΛΛΩΤΗ (*Ballota acetabulosa*) ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΕΤΟΥΣ

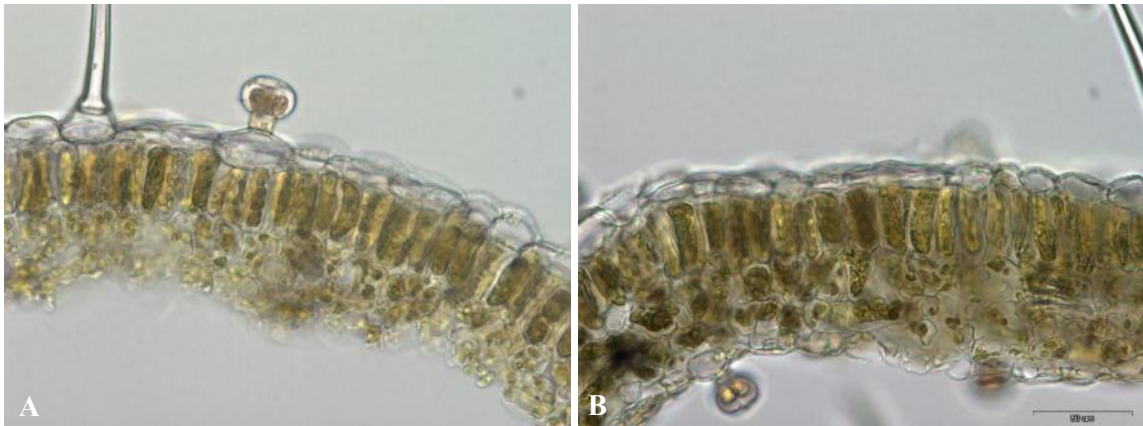


Εικόνα 38: Εγκάρσια τομή νοπών φύλλων και χρώση με αντιδραστήριο Nadi, όπως φαίνεται με το οπτικό μικροσκόπιο. Α: Διακρίνεται ελαιοσταγονίδιο στον υποεφυμενιδικό χώρο και στο κύτταρο του μίσχου (μαύρα βέλη). Β: Θετική αντίδραση παρουσιάζουν τα εκκριτικά κύτταρα της κεφαλής και το κύτταρο του μίσχου (γκρι βέλη). Γ-Δ: Τα κύτταρα του μεσόφυλλου δε χρωματίζονται εκτός από τα ελαιοσταγονίδια (λευκά βέλη). Ε-ΣΤ: Τα κύτταρα της επιδερμίδας (μαύρα βέλη) και η εφυμενίδα (άσπρα βέλη) χρωματίζονται μπλε-ιώδη. Η επιδερμίδα αποτελείται από μονή στρώση κυττάρων. Διακρίνεται το παχύ κυτταρικό τοίχωμα σε σχέση με την εφυμενίδα.

### Dragendorff

Χρησιμοποιείται για την ανίχνευση των αλκαλοειδών, τα οποία χρωματίζει έντονο πορτοκαλί. Το αντιδραστήριο δεν έδωσε θετική αντίδραση στους ιστούς του φύλλου σε καμία εποχή (Εικόνες 39 Α&Β).





Εικόνα 39: Εγκάρσια τομή νοπών φύλλων και χρώση με αντιδραστήριο Drangendorff όπως φαίνεται με το Ο.Μ. Α-Β:Αρνητική αντίδραση των κυττάρων του mesόφυλλου αλλά και των αδένων στα φύλλα όλων των εποχών του έτους.

#### Sudan IV

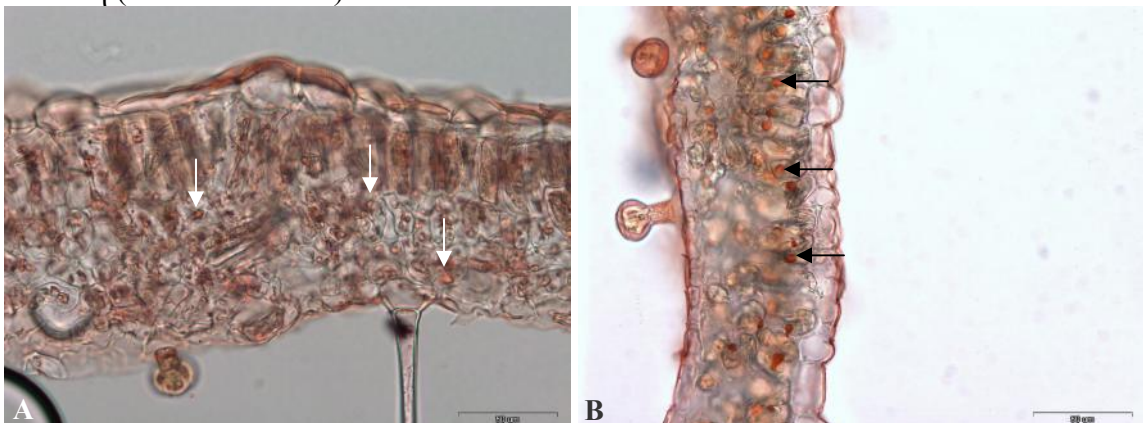
Χρησιμοποιείται για τον εντοπισμό λιπιδίων, κουτίνης και σουβερίνης, τα οποία χρωματίζονται έντονα κόκκινα.

➤ Θετική χρώση έδωσαν τα ελαιοσταγονίδια των κυττάρων του mesόφυλλου (Εικόνες 40 Α&Β). Όπως και με τη χρώση με το Nadi, έτσι και με το Sudan IV, τα ελαιοσταγονίδια φαίνεται να παρουσιάζουν εποχική διακύμανση. Νωρίς την άνοιξη δεν ανιχνεύονται στο mesόφυλλο, εμφανίζονται, όμως, αργότερα και χάνονται μόνο στα χειμωνιάτικα φύλλα.

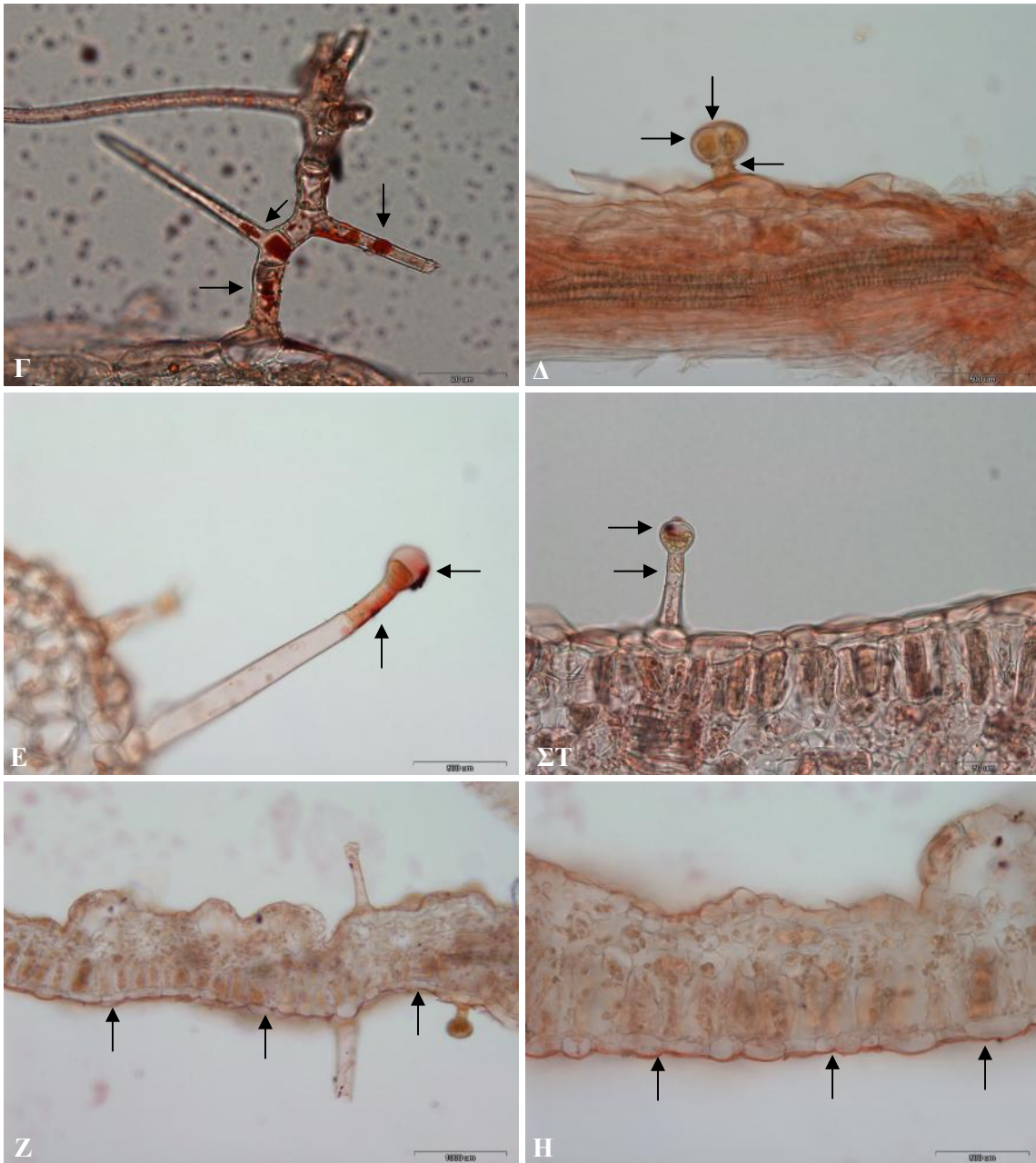
➤ Θετική έδωσαν και τα κύτταρα των μη αδενωδών τριχωμάτων (Εικόνα 40Γ).

➤ Επίσης, θετική αντίδραση έδωσαν τα ελαιοσταγονίδια των αδενωδών τριχωμάτων (τόσο των ασπιδοειδών όσο και των κεφαλοειδών) καθώς και η εφυμενίδα τους (Εικόνες 40 Δ-ΣΤ). Χαρακτηριστική είναι και η αντίδραση των τοιχωμάτων του κυττάρου του μίσχου του ασπιδοειδούς αλλά και του κεφαλοειδούς αδένα, τα οποία χρωματίζονται κόκκινα όπως και η εφυμενίδα.

➤ Η εφυμενίδα της επιφάνειας των φύλλων όλων των εποχών χρωματίζεται κόκκινη (Εικόνα 40 Ζ&Η).



ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΙΣΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΒΑΛΛΩΤΗ (*Ballota acetabulosa*) ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΕΤΟΥΣ



Εικόνα 40: Εγκάρσια τομή νωπών φύλλων και χρώση με Sudan IV και παρατήρηση στο Ο.Μ. Α-Β:Κατανομή των ελαιοσταγονιδίων με χαρακτηριστική διάταξη στην επιφάνεια του φύλλου. Γ:Εντοπισμός ελαιοσταγονιδίων σε όλο το μήκος της μη αδενώδους τρίχας. Δ:Ασπιδοειδής αδένας που έχει αντιδράσει θετικά στην χρώση και διακρίνονται το κύτταρο του μίσχου, τα κυτταρικά τοιχώματα και η εφουμενίδα που έχουν αντιδράσει θετικά στη χρώση. Ε-ΣΤ:Κεφαλοειδής αδένας τύπου I που έχουν αντιδράσει θετικά τα κύτταρα του μίσχου και της εκκριτικής κεφαλής. Ζ-Η:Θετική η αντίδραση της εφουμενίδας του φύλλου σε όλη την επιφάνειά του. Με βέλος απεικονίζεται το σημείο που παρατηρούμε.

### Θειικός Σίδηρος (FeSO<sub>4</sub>)

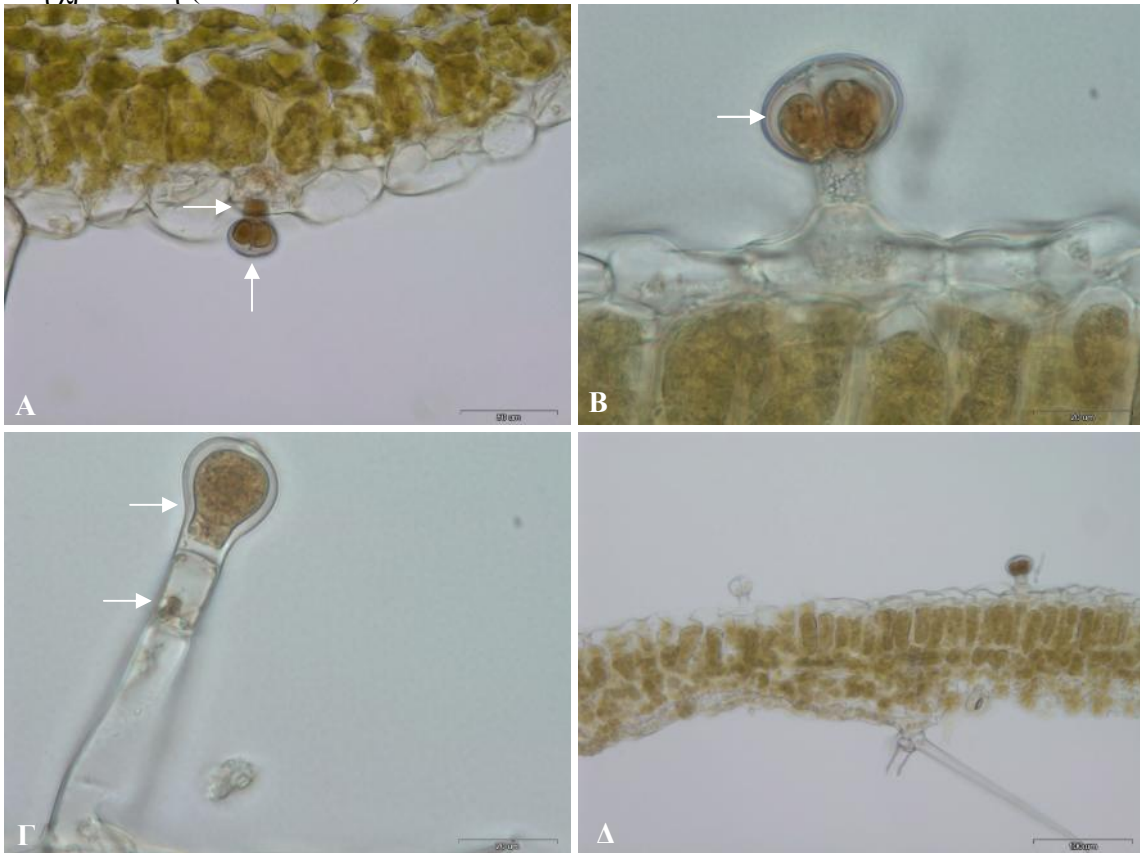
Διάλυμα FeSO<sub>4</sub> χρησιμοποιείται για τον εντοπισμό τανινών, οι οποίες παίρνουν χρώμα πορτοκαλί έως μαύρο.

➤ Με το FeSO<sub>4</sub> χρωματίζονται μαύρα τα κύτταρα της κεφαλής ορισμένων ασπιδοειδών αδένων, τα κύτταρα του μίσχου και ορισμένων σφαιρικών δομών στα

επιδερμικά κύτταρα (Εικόνα 41 Α&Β).

➤ Θετική αντίδραση εμφανίζουν τα κύτταρα της κεφαλής των κεφαλοειδών αδένων και τα κύτταρα του μίσχου που χρωματίζονται κάποια ελαιοσταγονίδια (Εικόνα 41Γ).

➤ Αρνητική αντίδραση εμφανίζουν η εφυμενίδα, το μεσόφυλλο και τα κύτταρα των επεκτάσεων του δεσμικού κολεού ακόμα και έπειτα από παρατεταμένη παραμονή στη χρωστική (Εικόνα 41Δ).



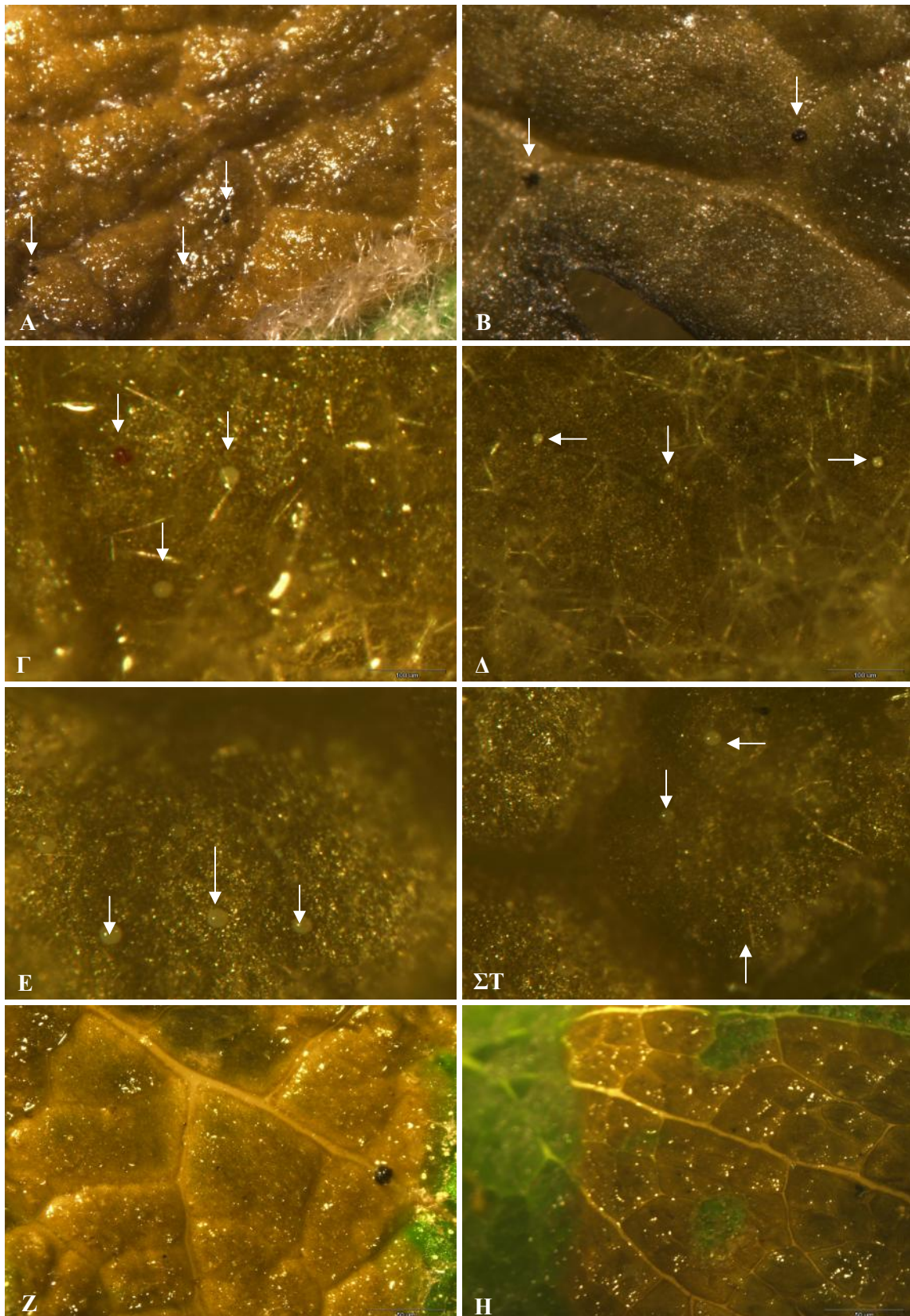
Εικόνα 41: Εγκάρσια τομή νοπών φύλλων και χρώση με  $\text{FeSO}_4$  και παρατήρηση στο Ο.Μ. Α-Γ: Παρατηρούνται τα κύτταρα της κεφαλής και του μίσχου τόσο των ασπιδοειδών όσο και των κεφαλοειδών αδένων να χρωματίζονται μαύρα. Δ: Αρνητική αντίδραση έδωσαν η εφυμενίδα και το μεσόφυλλο ακόμα και έπειτα από μεγάλη παραμονή στη χρωστική. Με λευκά βέλη απεικονίζεται το σημείο που παρατηρούμε.

### Χρώση με 4-νιτροσοφαινόλη σε πυκνό $\text{H}_2\text{SO}_4$

Το αντιδραστήριο χρησιμοποιείται για τον *in vivo* εντοπισμό φαινολών σε φυτικό υλικό και πιο συγκεκριμένα μονοτερπενικών φαινολών.

➤ Οι ασπιδοειδείς αδένες μετά τη χρώση απέκτησαν μία καφέ απόχρωση, ένδειξη παρουσίας καρβακρόλης και όχι θυμόλης (Εικόνα 42 Α&Β). Το καφέ χρώμα γρήγορα εξασθενεί σε κίτρινο (Εικόνα 42 Γ-ΣΤ) και το φύλλο καταστρέφεται πολύ γρήγορα εξαιτίας της χρήσης του πυκνού  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (Εικόνα 42 Ζ&Η). Για το λόγο αυτό η παρατήρηση γίνεται άμεσα με το στερεοσκόπιο.

ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΙΣΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΒΑΛΛΩΤΗ (*Ballota acetabulosa*) ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΕΤΟΥΣ



Εικόνα 42: Χρώση με 4-νιτροσοφαινόλη σε πυκνό  $H_2SO_4$ , τόσο στην αποξονική όσο και στην προσάξονική επιφάνεια του φύλλου. Α-Β: Παρατηρήθηκε άμεση αλλαγή στο χρώμα των περισσότερων ασπιδοειδών αδένων, οι οποίοι βρίσκονται κυρίως στην αποξονική επιφάνεια. Γ-ΣΤ: Το χρώμα των ασπιδοειδών αδένων εξασθενεί πολύ γρήγορα σε κίτρινο. Ζ-Η: Το φύλλο καταστρέφεται από το  $H_2SO_4$ . Η παρατήρηση έγινε με το στερεοσκόπιο. Με λευκό βέλος απεικονίζονται οι ασπιδοειδείς αδένες που παρατηρούμε.

### Χρώση με κυανό της τολουιδίνης

Πρόκειται για γενική μεταχρωματική χρωστική με την οποία χρωματίζονται διαφορετικά η κυτταρίνη (χρωματίζεται ιώδης) και η λιγνίνη (χρωματίζεται μπλε-πράσινη).

➤ Τα κύτταρα των προεκτάσεων του δεσμικού κολεού και τα επιδερμικά κύτταρα αποκτούν κυανο-ιώδεις αποχρώσεις (Εικόνα 43Α).

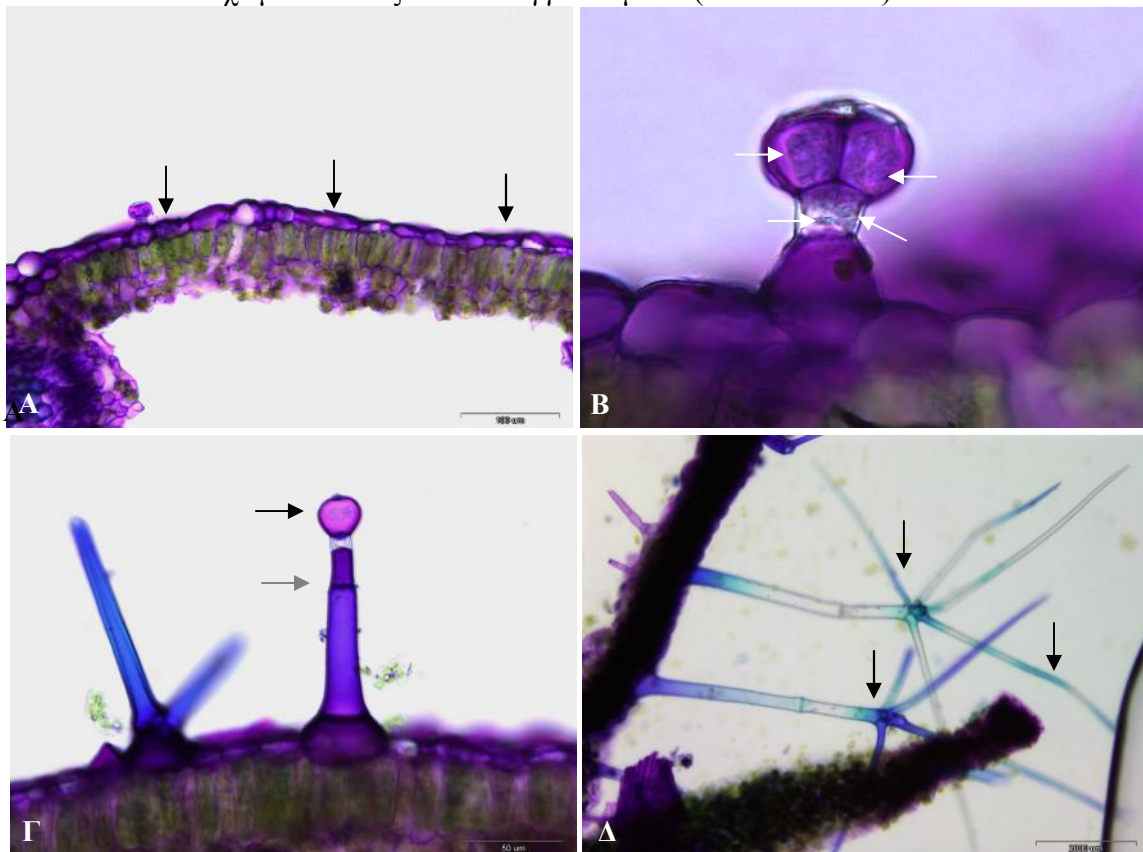
➤ Τα κύτταρα της κεφαλής του ασπιδοειδούς αδένος και του μίσχου χρωματίζονται μπλε-ιώδη (Εικόνα 43Β).

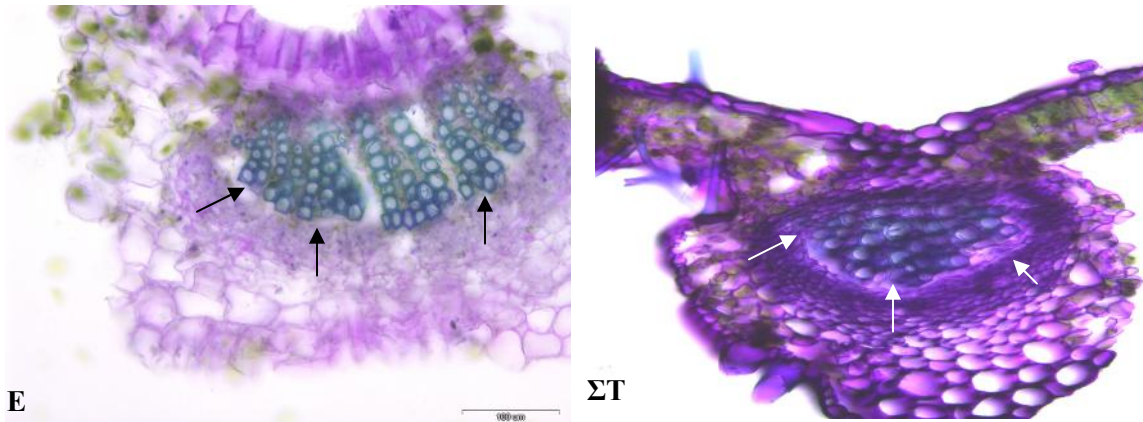
➤ Τα κύτταρα της εκκριτικής κεφαλής των κεφαλοειδών αδένων τύπου Ι χρωματίζονται ιώδη, ενώ του μίσχου μπλε (Εικόνα 43Γ).

➤ Αντιδρούν θετικά οι μη αδενώδεις τρίχες και χρωματίζονται πράσινες-μπλε (Εικόνα 43Δ).

➤ Τα σκληρογχοματικά κύτταρα χρωματίζονται πράσινα (Εικόνα 43Ε).

➤ Τα τοιχώματα των ξυλωδών αγγείων μπλε (Εικόνα 43 ΣΤ).





Εικόνα 43:Εγκάρσιες τομές νωπών παρασκευασμάτων και χρώση με τολουιδίνη και παρατήρηση στο Ο.Μ. Α:Τα επιδερμικά κύτταρα χρωματίζονται με κυανό-ιώδεις αποχρώσεις (μαύρο βέλος). Β:Τα κύτταρα της κεφαλής του ασπιδοειδούς αδένα και του μίσχου χρωματίζονται μπλε-ιώδη (άσπρο βέλος). Γ:Τα κύτταρα της εκκριντικής κεφαλής χρωματίζονται ιώδη (μαύρο βέλος), ενώ του μίσχου μπλε (γκρι βέλος). Δ:Αντιδρούν θετικά οι μη αδενώδεις τρίχες και χρωματίζονται πράσινες-μπλε (μαύρο βέλος). Ε:Τα σκληροεργασιμικά κύτταρα πράσινα (μαύρο βέλος). ΣΤ:Τα τοιχώματα των ξυλωδών αγγείων μπλε (λευκό βέλος).

## Μικροσκοπία φθορισμού

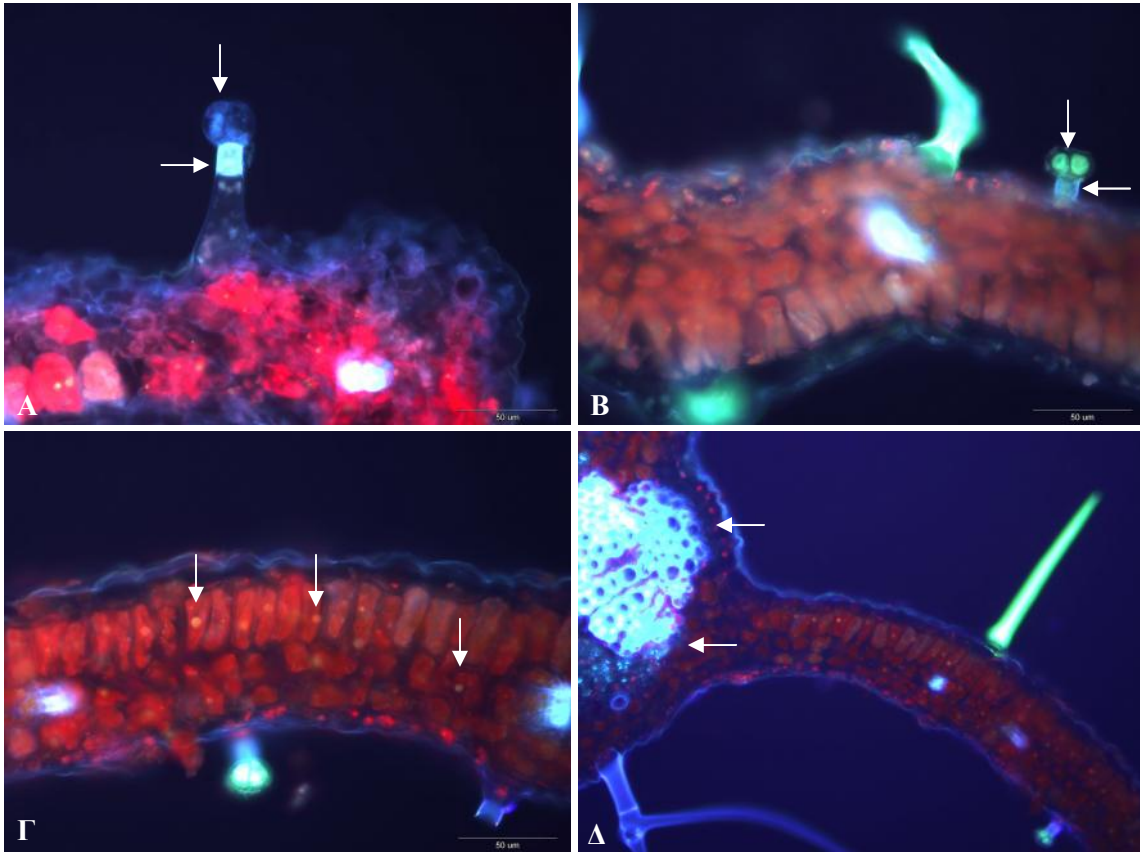
### Χωρίς χρώση

Με τον αυτοφθορισμό εντοπίζονται τα φαινολικά στο μικροσκόπιο φθορισμού. Ο αυτοφθορισμός των διαφόρων συστατικών αναγνωρίστηκε βάση των χρωμάτων που αναφέρονται από τον Rost (1992) για φυτικούς ιστούς. Τα χρώματα αυτά, όταν ο ιστός φωτιστεί με υπεριώδη ακτινοβολία (330-385 nm) είναι τα εξής:

- Κυτταρίνη → δε φθορίζει
- Λιγνίνη → φωτεινό γαλάζιο
- Χλωροφύλλη → κόκκινο
- Σουμπερίνη → γαλάζιο
- Κουτίνη → γκρι
- Φαινολικά οξέα → κίτρινο

Το κύτταρο του μίσχου των κεφαλοειδών αδένων λόγω της κουτίνης ή σουμπερίνης φθορίζει πάρα πολύ έντονα (Εικόνα 44Α). Ο υποεφυμενιδικός χώρος των κεφαλοειδών αδένων φθορίζει μπλε (Εικόνα 44Α). Επίσης, παρατηρήθηκε το κύτταρο του μίσχου ασπιδοειδούς αδένα να φθορίζει πράσινο (Εικόνα 44Β), καθώς και ο υποεφυμενιδικός χώρος να φθορίζει μπλε (Εικόνα 44Β). Διακρίνεται το μεσόφυλλο με κόκκινο χρώμα εξαιτίας της χλωροφύλλης (Εικόνα 44Γ). Ο κόκκινος φθορισμός της χλωροφύλλης εξασθενίζει με τη συνεχόμενη έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία (Εικόνα 44Γ). Τα ελαιοσταγονίδια φθορίζουν έντονα κόκκινα πιθανόν λόγω της προσρόφησης

των χλωροφυλλών. Το σκληρέγχυμα των ηθμαγγειωδών δεσμίδων χρωματίζονται με γαλάζιο (Εικόνα 44Δ).



Εικόνα 44: Αυτοφθορισμός εγκάρσιων τομών νεωπών παρασκευασμάτων όπως φαίνεται με το μικροσκόπιο φθορισμού. Α: Παρατηρούνται το κύτταρο του μίσχου των κεφαλοειδών αδένων λόγω της κουτίνης ή σουμπερίνης να φθορίζει πάρα πολύ έντονα και ο υποεφυμενιδικός χώρος των κεφαλοειδών αδένων να φθορίζει μπλε. Β: Παρατηρήθηκε το κύτταρο του μίσχου ασπιδοειδούς αδένου να φθορίζει πράσινο, καθώς και ο υποεφυμενιδικός χώρος να φθορίζει μπλε. Γ: Διακρίνεται το μεσόφυλλο με κόκκινο χρώμα εξαιτίας της χλωροφύλλης. Τα ελαιοσταγονίδια φθορίζουν έντονα κόκκινα πιθανόν λόγω της προσρόφησης των χλωροφυλλών. Δ: Το σκληρέγχυμα των ηθμαγγειωδών δεσμίδων χρωματίζονται με γαλάζιο. Με λευκά βέλη απεικονίζονται τα σημεία που παρατηρούμε.

### Τριγλωριούχο Αργίλιο

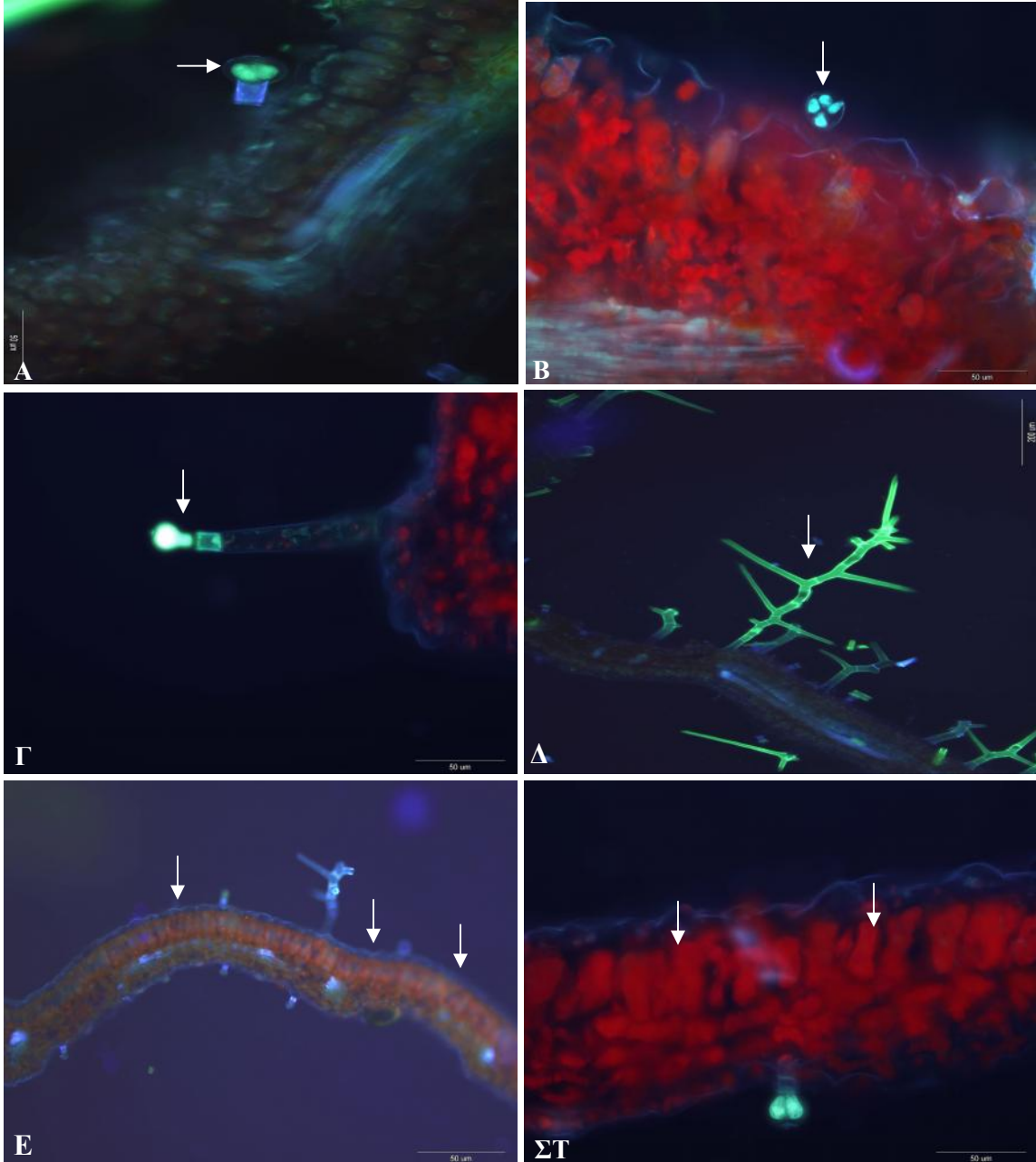
Χρησιμοποιείται ως ενισχυτικό φλαβονών, φλαβονολών και φλαβονονών, δίνοντας πρασινοκίτρινο, κίτρινο ή μπλε φθορισμό αντίστοιχα..

- Η κεφαλή των ασπιδοειδών αδένων φθορίζει πράσινη (Εικόνα 45Α) και τα εκκριτικά της κύτταρα (Εικόνα 45Β).
- Τα εκκριτικά κύτταρα των κεφαλοειδών αδένων φθορίζουν πράσινο και ο μίσχος τους φθορίζει πολύ έντονα, πιθανόν λόγω της σουμπερίνης (Εικόνα 45Γ).
- Οι μη αδενώδεις τρίχες χρωματίζονται πράσινες (Εικόνα 45Δ).
- Η εφυμενίδα φθορίζει μπλε και σε κάποια σημεία πράσινη, λόγω των εκκριμάτων που απαντώνται στους αδένες (Εικόνα 45Ε).
- Τα ελαιοσταγονίδια παρουσιάζονται κόκκινα-πορτοκαλί λόγω της πιθανής

ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΙΣΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΒΑΛΛΩΤΗ (*Ballota acetabulosa*) ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΕΤΟΥΣ

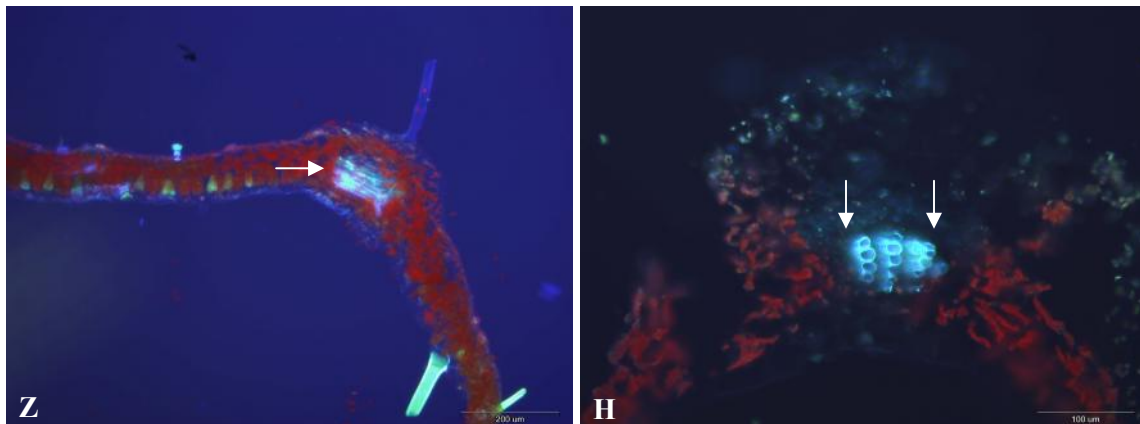
απορρόφησης χλωροφύλλης κατά την τμήση των τομών και το μεσόφυλλο φθορίζει κόκκινο εξαιτίας της χλωροφύλλης (Εικόνα 45 ΣΤ).

➤ Τα σκληρογυματικά κύτταρα εξαιτίας της λιγνίνης, φθορίζουν γαλάζια (Εικόνα 45 Ζ,Η).





ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΙΣΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΒΑΛΛΩΤΗ (*Ballota acetabulosa*) ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΕΤΟΥΣ



Εικόνα 45: Χρώση με τριχλωριούχο αργίλιο όπως φαίνεται με το μικροσκόπιο φθορισμού. Α: Η κεφαλή των ασπιδοειδών αδένων χρωματίζεται πράσινη. Β: Τα εκκριτικά κύτταρα των κεφαλοειδών αδένων φθορίζουν πράσινα. Γ: Τα εκκριτικά κύτταρα των κεφαλοειδών αδένων φθορίζουν πράσινο και ο μίσχος τους παίρνει έντονο χρώμα. Δ: Οι μη αδενώδεις τρίχες χρωματίζονται πράσινες. Ε: Η εφυμενίδα φθορίζει μπλε και σε κάποια σημεία πράσινη. ΣΤ: Τα ελαιοσταγονίδια παρουσιάζονται κόκκινα-πορτοκαλί λόγω της πιθανής απορρόφησης χλωροφύλλης κατά την τμήση των τομών και το μεσόφυλλο φθορίζει κόκκινο εξαιτίας της χλωροφύλλης. Ζ-Η: Τα σκληρογυματικά κύτταρα εξαιτίας της λιγνίνης, φθορίζουν γαλάζια. Με λευκά βέλη απεικονίζονται τα σημεία που παρατηρούμε.

ΧΡΩΣΤΙΚΗ	ΕΝΩΣΕΙΣ ΠΟΥ ΧΡΩΜΑΤΙΖΕΙ	ΙΣΤΟΙ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΔΟΜΕΣ ΠΟΥ ΑΝΤΙΑΠΟΥΝ
Nadi	Τερπενοειδή	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Τα ελαιοσταγονίδια των κυττάρων του μεσόφυλλου.</li> <li>• Ελαιοσταγονίδια στον υποεφυμενιδικό χώρο, στο εσωτερικό της κεφαλής καθώς και στο μίσχο των κεφαλοειδών αδένων.</li> <li>• Η εφυμενίδα και τα επιδερμικά κύτταρα της αποαξονικής και προσαξονικής επιφάνειας των φύλλων.</li> </ul>
Dragendorff	Αλκαλοειδή	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Κανένας.</li> </ul>
Sudan IV	Λιπίδια	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Τα ελαιοσταγονίδια των κυττάρων του μεσόφυλλου.</li> <li>• Τα κύτταρα των μη αδενωδών τριχωμάτων.</li> <li>• Τα ελαιοσταγονίδια των αδενωδών τριχωμάτων (ασπιδοειδών και κεφαλοειδών), καθώς και οι αδένες τους.</li> <li>• Η εφυμενίδα της επιφάνειας των φύλλων.</li> </ul>
FeSO <sub>4</sub>	Τανίνες	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Τα κύτταρα της κεφαλής και τα κύτταρα του μίσχου ορισμένων ασπιδοειδών αδένων.</li> <li>• Τα κύτταρα της κεφαλής και του μίσχου των κεφαλοειδών αδένων.</li> </ul>
4-νιτροσοφαινόλη σε πυκνό H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Μονοτερπενικές φαινόλες	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ασπιδοειδείς αδένες.</li> </ul>
Τριχλωριούχο αργίλιο	Φλαβόνες, φλαβονόλες και φλαβονόνες	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Η κεφαλή των ασπιδοειδών και τα εκκριτικά της κύτταρα.</li> <li>• Τα εκκριτικά κύτταρα των κεφαλοειδών και ο μίσχος τους.</li> <li>• Οι μη αδενώδεις τρίχες.</li> </ul>

ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΙΣΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΒΑΛΛΩΤΗ (*Ballota acetabulosa*) ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΕΤΟΥΣ

		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Η εφυμενίδα, τα ελαιοσταγονίδια του μεσόφυλλου και τα σκληρεγγυματικά κύτταρα.</li> </ul>
Αυτοφθορισμός χωρίς χρώση	Φαινολικά κυτταρίνη λιγνίνη χλωροφύλλη σουμπερίνη κουτίνη	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Το κύτταρο του μίσχου και ο υποεφυμενιδικός χώρος των κεφαλοειδών αδένων.</li> <li>• Το κύτταρο του μίσχου και ο υποεφυμενιδικός χώρος των ασπιδοειδών αδένων.</li> <li>• Τα ελαιοσταγονίδια των κυττάρων του μεσόφυλλου.</li> <li>• Το σκληρέγγυμα των ηθμαγγειδών δεσμίδων.</li> </ul>
Κυανό τολουιδίνης	Κυτταρίνη και λιγνίνη	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Κυτταρικά τοιχώματα των επιδερμικών κυττάρων.</li> <li>• Τα κύτταρα των προεκτάσεων του δεσμικού κολεού.</li> <li>• Τα κύτταρα της κεφαλής του ασπιδοειδούς αδένα και του μίσχου.</li> <li>• Τα κύτταρα της εκκριτικής κεφαλής και του μίσχου των κεφαλοειδών τύπου I.</li> <li>• Οι μη αδενώδεις τρίχες.</li> <li>• Τα σκληρεγγυματικά κύτταρα.</li> <li>• Τα τοιχώματα των ξυλωδών αγγείων.</li> </ul>

**Πίνακας 1: Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων ιστοχημικών μεθόδων.**

## 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### 4.1. Ο διμορφισμός ή εταιροφυλλία των φύλλων

Εταιροφυλλία χαρακτηρίζεται το φαινόμενο όπου ορισμένα φυτά εμφανίζονται με φύλλα διαφορετικής μορφολογίας. Έχουν αναφερθεί τρεις (3) τύποι διμορφισμού που αφορούν στα φύλλα των φυτών. Ο εποχικός διμορφισμός κυρίως για τα Μεσογειακά ξηρομορφικά φυτά, ο διμορφισμός νεανικότητας που παρατηρείται κυρίως σε αείφυλλα, όπως τα κωνοφόρα και ο ευκάλυπτος και ο διμορφισμός που μπορεί να οφείλεται σε άλλους λόγους όπως συνθήκες φωτισμού, υγρασίας, θέσης του φύλλου στο φυτό κ.λ.π. Ο διμορφισμός συνοδεύεται τόσο από αλλαγές στο μέγεθος, σχήμα, χρώμα, προσανατολισμό, φυλλόταξη, ανατομία και χαρακτηριστικά της επιφάνειας του φύλλου όσο και από αλλαγές στον τρόπο διακλάδωσης (Allsopp and Doorenbos, 1965). Οι υποθέσεις που έχουν γίνει για τα εξελικτικά αίτια της υψηλής συχνότητας της εταιροβλαστικότητας, είναι οι εξής: α) οι νεανικοί τύποι σχηματίζονται σε αντίδραση στη βόσκηση από τα ζώα (Atkinson and Greenwood, 1989), β) ο πιο ξηροφυτικός τύπος (πρωτογενής ή δευτερογενής) αναπτύχθηκε σε αντίδραση στην υποχρεωτική έλλειψη νερού κατά την περίοδο των παγετώνων της πλειστόκενου (Cockayne 1911, McGlone and Webb 1981), γ) ορισμένα εταιροβλαστικά είδη είναι αποτέλεσμα διειδικού υβριδισμού (Godley, 1985), δ) οι ιοί και τα βακτήρια λειτουργούν ως φορείς μεταφοράς των γόνων για συγκεκριμένους τύπους νεανικών μορφών (Went, 1971).

Αν και είναι αρκετά τα φυτά που εμφανίζουν εποχική εταιροφυλλία, οι μελέτες έχουν περιοριστεί στα φύλλα μόνο δύο εποχών, πιθανόν παρασυρόμενοι οι ερευνητές από τις αρχικές εργασίες του Μάργαρη, όπου είχαν μελετηθεί φυτά που είχαν αναπτυχθεί σε θαλάμους καλλιέργειας σε συνθήκες καλοκαιριού και χειμώνα. Πολλοί άλλοι ερευνητές ακολούθησαν το έργο του που χάραξε για τη μελέτη του εποχικού διμορφισμού σε διάφορα είδη φυτών. Έτσι, οι Aronne *et al.* (2001) διεξήγαγαν έρευνα στο φυτό *C. incanus* L., οι Kofidis *et al.* (2003) στο φυτό *O. vulgare* L., ο Κυπαρρίσης (1995) στο φυτό *P. fruticosa* L., ο Cristodoulakis (1989) στο *A. Hermaniae* L. Οι μόνες ερευνητικές εργασίες που αναφέρονται στον πολυμορφισμό φύλλων είναι της Κόλλια (2011) και της Μαυροειδή (2011), οι οποίες αναφέρονται στο θυμάρι (*T. capitata*) και τεύκριο (*T. Pollium*) αντίστοιχα και στις οποίες μελετήθηκαν λεπτομερώς τα φύλλα τους με μεθόδους οπτικής, ηλεκτρονικής μικροσκοπίας (διέλευσης και σάρωσης) καθώς

επίσης και με ιστοχημικές μεθόδους.

Στην εργασία αυτή η συστηματική παρακολούθηση του φυτού *B. acetabulosa* έδειξε αρχικά τη διαφορετική μορφολογία των φύλλων και πώς αυτή αλλάζει κατά τις διάφορες εποχές του χρόνου, η οποία ακολουθήθηκε από μικροσκοπικές και ιστοχημικές μεθόδους. Όπως έδειξαν τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής, τα φύλλα του φυτού *B. acetabulosa* εμφανίζουν περισσότερους από δύο τύπους -μορφολογικά, ανατομικά αλλά και από ιστοχημικής άποψης- διαφορετικών φύλλων, σε αντίθεση με τα αποτελέσματα της μελέτης των Christodoulakis and Bazos (1990) που εμφάνισαν δύο τύπους διαφορετικών φύλλων.

## 4.2. Κατηγορίες φύλλων - μακροσκοπικές παρατηρήσεις

Ο εποχικός διμορφισμός που συναντάται, κυρίως, σε μεσογειακές περιοχές έχει αποτελέσει εδώ και πολλά χρόνια το αντικείμενο μελέτης πολλών ερευνητών (Margaris and Papadopoulou 1975, Arianoutsou-Faraggitaki and Margaris 1981, Westman 1981,1985, Psaras 1986, Christodoulakis *et al.* 1986, Psaras and Christodoulakis 1987), αλλά μόνο προσφάτως η δομή των φύλλων και οι διαφορές ανάμεσα σε καλοκαιρινά και χειμερινά φύλλα μελετήθηκαν λεπτομερώς σε εποχικά διμορφικά είδη (Christodoulakis, 1989). Ο εποχικός διμορφισμός επιτυγχάνεται με την πτώση και την αύξηση διαφορετικών τύπων βλαστών και φύλλων στις διάφορες εποχές. Μεγαλύτερα χειμωνιάτικα και ανοιξιάτικα φύλλα εκπτύσσονται στους δολιχοβλάστες, ενώ τα μικρά καλοκαιρινά φύλλα απαντώνται στους βραχυβλάστες (Margaris, 1981). Όσοι ασχολήθηκαν με τη φαινομορφολογία του φυτού, αναφέρθηκαν ακριβώς στη διαδοχή χειμωνιάτικων και καλοκαιρινών φύλλων (Orshan 1964, 1989, Διαμαντόπουλος 1983, Vokou and Margaris 1986, Christodoulakis and Bazos 1990).

Έρευνες σχετικά με την ανατομία του φύλλου σε εποχικά διμορφικά φυτά επιβεβαίωσαν το γεγονός ότι οι δομικές ιδιαιτερότητες είναι κοινές και οι διαφορές ανάμεσα σε καλοκαιρινά και χειμερινά φύλλα είναι γενικά όμοιες στα διάφορα φυτά που έχουν μελετηθεί. Φαίνεται ότι οι περιβαλλοντικές συνθήκες επιδρούν τόσο στην πτώση των φύλλων όσο και στην ανάπτυξη των οφθαλμών, με συνέπεια να παράγουν φύλλα πολύ διαφορετικά ακόμα και στο ίδιο φυτό. Οι διαφορές που παρατηρήθηκαν ακόμα και σε επίπεδο υποδομής θα μπορούσαν να θεωρηθούν ως ένδειξη της λειτουργικής ποικιλομορφίας ανάμεσα σε δύο τύπους φύλλων. Οι εποχικές διαφορές ανάμεσα στη

δομή των φύλλων θεωρούνται φυσιολογικές, εφόσον το φυτό πρέπει να ξεπεράσει τις δυσκολίες που προκύπτουν από ένα ζεστό και ξηρό καλοκαίρι και να υποδεχτεί ένα μέτριο κρύο χειμώνα (Christodoulakis, 1989).

Όπως έχει αναφερθεί, πολλοί ερευνητές χαρακτηρίζουν το φυτό *B. acetabulosa* ως εποχικά διμορφικό φυτό. Οι Christodoulakis and Bazos (1990), εντόπισαν και μελέτησαν τις μορφολογικές και φυσιολογικές διαφορές των φύλλων του φυτού *B. acetabulosa* και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα χειμερινά φύλλα είναι λιγότερο **ξηρομορφικά** από τα καλοκαιρινά.

Σύμφωνα με τη μελέτη μας, το φυτό παρατηρήθηκε να αναπτύσσεται καθ' όλη τη διάρκεια του έτους και κυρίως όταν οι κλιματολογικές συνθήκες είναι ευνοϊκές, αναπτύσσοντας καινούρια φύλλα και εκπτύσσοντας νέους βλαστούς. Νωρίς την άνοιξη εκπτύσσονται οι νεαροί βλαστοί, γνωστοί ως δολιχοβάστες, που είναι επιμηκυσμένοι και η βλαστική τους ανάπτυξη διαρκεί έως τα μέσα του καλοκαιριού. Τα μεγάλα ανοιξιάτικα φύλλα αρχικά συνυπάρχουν με τα χειμωνιάτικα, τα οποία, όμως, αρχίζουν να πέφτουν σταδιακά από το βλαστό. Στις μασχάλες των μεγάλων ανοιξιάτικων φύλλων διακρίνουμε τους καλοκαιρινούς βραχυβλάστες (νεκρωμένοι βλαστοί) που είναι πολλοί συμπαγείς.

Τον Ιούνιο οι δολιχοβλάστες έχουν αποκτήσει το οριστικό τους μέγεθος και αρχίζουν να ξυλοποιούνται. Από τα γόνατα του φυτού, κατά τα τέλη Ιουλίου, εκφύονται τα καλοκαιρινά φύλλα που αρχίζουν να κάνουν την εμφάνισή τους σταδιακά, τα οποία φαίνονται πολύ παχιά λόγω του ότι διαθέτουν ένα πολύ πυκνό στρώμα πολυάριθμων τριχών οι οποίες λειτουργούν ως προστατευτικές. Την περίοδο αυτή, το φυτό συνολικά παρουσιάζει μία ξερή-χλωρωτική όψη χάνοντας το πράσινο χρώμα της άνοιξης. Το φθινόπωρο παρατηρούνται στο πάνω μέρος των βλαστών τα φθινοπωρινά φύλλα, που είναι μεγάλα, σε συνδιασμό με την ύπαρξη μικρών φύλλων που είναι σταδιακή μετατροπή των καλοκαιρινών σε φθινοπωρινά φύλλα. Η ανάπτυξη του βραχυβλάστη σε δολιχοβλάστη πραγματοποιείται στο τέλος του χειμώνα, αρχές άνοιξης (Εικόνα 9Δ). Επομένως, η εξέλιξη του βραχυβλάστη είναι συνεχής μέσα στο χρόνο αλλά με διαφορετικό ρυθμό ανάλογα με την εποχή.

Σύμφωνα με τον Orshan (1989), η ανάπτυξη των βραχυβλαστών για το είδος *Ballota undulata* στο Ισραήλ περιορίζεται για το χρονικό διάστημα από Ιούνιο μέχρι Δεκέμβριο, γεγονός που έρχεται σε πλήρη αντίθεση με τις δικές μας παρατηρήσεις για το είδος *B. acetabulosa* όπως αναφέρθηκε αναλυτικά προηγουμένως. Ο Orshan θεωρεί ότι

οι βραχυβλάστες είναι σε λήθαργο τους χειμερινούς και ανοιξιάτικους μήνες. Στα τελικά συμπεράσματά του σχετικά με τη βλαστική ανάπτυξη έχοντας συμπεριλάβει όλα τα είδη που μελέτησε στη συγκριμένη περιοχή (32 φυτικά είδη) αναφέρει ότι η ανάπτυξη των δολιχοβλαστών πραγματοποιείται από Ιανουάριο μέχρι Μάιο, εποχή που σύμφωνα με τον συγγραφέα στο Ισραήλ η διαθεσιμότητα του νερού και η θερμοκρασία δεν αποτελούν περιοριστικούς παράγοντες. Η βλαστική ανάπτυξη των βραχυβλαστών, η οποία παρατηρείται τους συγκεκριμένους μήνες κατά τη διάρκεια του έτους, προφανώς επηρεάζεται από τη διαθεσιμότητα του νερού και τη θερμοκρασία. Αυτό το γεγονός θεωρεί ότι μπορεί να αποτελεί ένα από τα γνωρίσματα της προσαρμογής των φυτών που μελέτησε στην υδατική καταπόνηση και πιθανόν και στην καταπόνηση από υψηλές θερμοκρασίες.

### 4.3. Ανατομικά - φυσιολογικά χαρακτηριστικά των φύλλων

Από τις δικές μας παρατηρήσεις, τα φύλλα του φυτού *B. acetabulosa* παρουσιάζουν μορφολογικές αλλά και ανατομικές διαφορές κατά τη διάρκεια του έτους, κάτι που υποστηρίζει την υπόθεση ότι είναι **πολυμορφικό**. Όλα τα φύλλα που εκπύσσονται στο φυτό είναι **αμφίπλευρα**. Αυτό συμφωνεί και με τους Christodoulakis and Bazos (1990) που χαρακτηρίζουν τα φύλλα του φυτού αυτού ως αμφιστοματικά. Η ανατομία του ελάσματος του φύλλου είναι απλή και διαφοροποιείται έντονα μεταξύ των καλοκαιρινών και χειμωνιάτικων φύλλων. Ο Kummerow (1973) διέκρινε δύο κατηγορίες σκληρόφυλλων στη μεσογειακή ζώνη: είδη με λεπτή εφυμενίδα και παχιά κυτταρικά τοιχώματα, όπως παρουσιάζει και το συγκεκριμένο φυτικό είδος (αν και φρύγανο), και είδη με παχιά εφυμενίδα και λεπτά κυτταρικά τοιχώματα. Τα παχιά κυτταρικά τοιχώματα είναι χαρακτηριστικό ξηροφυτικής προσαρμογής (Καραμπουρνιώτης, 2003).

Το **πάχος των κυτταρικών τοιχωμάτων** των επιδερμικών κυττάρων ποικίλει ανάλογα με την εποχή. Το μεγαλύτερο πάχος των κυτταρικών τοιχωμάτων παρατηρείται κατά τα τέλη χειμώνα-αρχές άνοιξης, ενώ το καλοκαίρι δεν εμφανίζονται τόσο παχιά.

Η **εφυμενίδα** φαίνεται να διαφοροποιείται ανάλογα με την εποχή. Συγκεκριμένα, την άνοιξη μέχρι και το καλοκαίρι εμφανίζεται να είναι πιο παχιά από κάθε άλλη εποχή μέχρι τα μέσα του καλοκαιριού, όπου σταματάει η εναπόθεσή της. Το Σεπτέμβριο παρατηρείται σταδιακή μείωση της εφυμενίδας, με αποκορύφωμα τον Ιανουάριο που έχει την πιο λεπτή εφυμενίδα από όλο τον χρόνο. Το μεγαλύτερο πάχος της εφυμενίδας παρατηρείται στις αρχές καλοκαιριού εξαιτίας της ύπαρξης κουτίνης.

Ακολούθως διακρίνεται το **πασσαλώδες** παρέγχυμα και εν συνεχεία το σπογγώδες παρέγχυμα, τα οποία ανάλογα με την εποχή του έτους ποικίλει και το πάχος τους. Συγκεκριμένα, την άνοιξη διακρίνεται μία στρώση πασσαλώδους παρεγχύματος με δύο στρώσεις σπογγώδους με αναλογία 1:1. Το φθινόπωρο, όμως παρατηρείται μία στρώση πασσαλώδους παρεγχύματος και τρεις στρώσεις σπογγώδους σε αναλογία 1:2. Το χειμώνα, παρατηρούνται μία στρώση πασσαλώδους και δύο στρώσεις σπογγώδους σε αναλογία 1:1. Το πασσαλώδες παρέγχυμα εμφανίζεται χαλαρό κατά τη διάρκεια του χειμώνα μέχρι τις αρχές της άνοιξης, γεγονός που καθιστά το φωτοσυνθετικό παρέγχυμα του φύλλου να έχει πολύ μεγάλους μεσοκυττάριους χώρους. Το **σπογγώδες** παρέγχυμα καταλαμβάνει μεγάλο μέρος του μεσόφυλλου με αποκορύφωμα τα τέλη φθινοπώρου, όπου και συναντάται η αναλογία πασσαλώδους-σπογγώδους 1:2 με τρεις στρώσεις σπογγώδους. .

Οι Christodoulakis and Bazos (1990) διαπίστωσαν ότι ο αριθμός των στρωμάτων των δρυφρακτοειδών κυττάρων εξαρτάται από την εποχή. Συγκεκριμένα, παρατήρησαν ότι τα λεπτότερα χειμερινά φύλλα χαρακτηρίζονται από ένα αυστηρά μονόστοιβο πασσαλώδες παρέγχυμα. Επίσης, διαπίστωσαν ότι στα συμπαγή καλοκαιρινά φύλλα το δρυφρακτοειδές παρέγχυμα δε μπορεί να θεωρηθεί ως μονόστοιβο, εφόσον συχνά παρατηρείται να είναι δίστοιβο, αν και η δεύτερη στοιβάδα δεν είναι πάντα απόλυτα ευδιάκριτη. Αυτό προκαλεί ιδιαίτερο ενδιαφέρον, επειδή δείχνει ότι η ανάπτυξη του πασσαλώδους παρεγχύματος επηρεάζεται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Η παρατήρηση αυτή έρχεται σε αντίθεση με τη μελέτη μας, όπου καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι το δρυφρακτοειδές παρέγχυμα είναι μονόστοιβο όλες τις εποχές του έτους, σε αντίθεση με το σπογγώδες που ο αριθμός των στοιβάδων δεν παρατηρείται σταθερός, αλλά αλλάζει με τις εποχές του έτους.

Δε φαίνεται να υπάρχουν **επεκτάσεις δεσμικού κολεού** με αποτέλεσμα τα φύλλα να χαρακτηρίζονται ως ομοβαρή. Ανάλογα με την αρχιτεκτονική τους κατασκευή τα φύλλα μπορούν να διαχωριστούν σε δύο λειτουργικές ομάδες: Τα ετεροβαρή και τα ομοβαρή φύλλα. Στα ετεροβαρή φύλλα οι κολεοί των ηθμαγγειωδών δεσμίδων δημιουργούν προεκτάσεις (BSEs – Bundle Sheath Extensions), συνήθως με κύτταρα σκληρεγχύματος ή κολεγχύματος, οι οποίες εφάπτονται των δύο επιδερμίδων του ελάσματος. Με τον τρόπο αυτό, αφενός μεν δημιουργούνται επί μέρους “στεγανά” διαμερίσματα στο φύλλο, αφετέρου διαφανείς περιοχές με τη μορφή πλέγματος από τις

οποίες απουσιάζουν οι φωτοσυνθετικές χρωστικές. Η επιφάνεια την οποία καταλαμβάνουν οι διαφανείς ιστοί στα ετεροβαρή φύλλα ανέρχεται σε σημαντικό ποσοστό της ολικής επιφάνειας του φύλλου, που σε ορισμένες περιπτώσεις φτάνει ή ξεπερνά το 50% (Karabourniotis *et. al* 2000, 2001). Επομένως, τα ετεροβαρή φύλλα, αντίθετα με τα ομοβαρή εμφανίζουν ένα δίκτυο διαφανών νευρώσεων ορατών ακόμη και με γυμνό μάτι. Οι ανατομικοί αυτοί σχηματισμοί φαίνεται ότι συμβάλλουν στην αποτελεσματικότερη διακίνηση του νερού προς το μεσόφυλλο και στη μηχανική προστασία του οργάνου έναντι βιοτικών ή αβιοτικών καταπονήσεων. Χαρακτηριστικοί εκπρόσωποι ετεροβαρών φύλλων είναι ορισμένα αείφυλλα σκληρόφυλλα π.χ. *Quercus coccifera* L. (πουρνάρι), *Laurus nobilis* L. (δάφνη), *Arbutus* sp. (κουμαριά), όπως επίσης και το *Vitis vinifera* L. (αμπέλι), είδη του γένους *Prunus*, σιτηρά κ.ά. από τα καλλιεργούμενα φυτά (During and Stoll, 1996). Εκπρόσωπος των ομοβαρών φύλλων αποτελεί το φυτό που παρακολούθησαμε (*B. acetabulosa*), που πιθανόν να είχε διαφορετική εξελικτική πορεία από τα άλλα φυτά και δεν ανέπτυξε αυτόν το μηχανισμό επιβίωσης έναντι στο ξηρό, ζεστό και με υψηλή ακτινοβολία περιβάλλον της Μεσογείου που αναπτύχθηκε.

Ένα άλλο χαρακτηριστικό που αξίζει να σημειωθεί είναι η μη ανάπτυξη **σκληρεγχυματικού** ιστού. Ο ρόλος του είναι να προστατεύει τους ιστούς από τη μηχανική κατάρρευση του ελάσματος σε συνθήκες αφυδάτωσης. Φαίνεται πιθανώς ότι «στοιχίζει» υλικά στο φυτό όπως άζωτο και λιγνίνη η δημιουργία του σκληρεγχύματος και η ενίσχυση της δομής του φύλλου γίνεται με τα αρεόλια, τις κρύπτες. Η αρχιτεκτονική των φύλλων με την ύπαρξη των κρυπτών συμβάλλει στη στήριξη του φυτού, υποκαθιστώντας την ανάγκη για ανάπτυξη σκληρεγχυματικού ιστού και διατηρεί το σχήμα του φυτού χωρίς να παρουσιάζει συμπτώματα μαλασμού. Αυτό έρχεται σε πλήρη αντίθεση με το φυτό *T. capitata* (Κόλλια, 2011) όπου παρατηρήθηκε η εκτεταμένη ανάπτυξη σκληρεγχυματικού ιστού που περιβάλλει τις ηθμαγγειώδεις δεσμίδες.

Αξιοσημείωτο χαρακτηριστικό του φύλλου είναι η ύπαρξη **κοιλοτήτων** που παρατηρούνται στο μεσόφυλλο, μεταξύ των δευτερευουσών ηθμαγγειωδών δεσμίδων (αρεόλια). Οι κοιλότητες αυτές οι οποίες μπορούν να προσομοιαστούν με κρύπτες, εμφανίζονται ως ημισφαιρικοί χώροι που περιβάλλονται από ηθμαγγειώδεις δεσμίδες υπό μορφή αρεολίων. Τα αρεόλια σχηματίζουν ημισφαιρικές κοίλες δομές με το θόλο να



προεξέχει προς την προσαξονική επιφάνεια του φύλλου, ενώ στην αποαξονική να σχηματίζεται κοιλότητα υπό τη μορφή κρύπτης. Παρόμοια δομή εμφανίζουν τα φύλλα όλων των εποχών που παρατηρήθηκαν με σημαντικές, όμως, διαφορές από εποχή σε εποχή. Οι διαφορές αυτές είναι ως προς:

1. Το βάθος των κοιλοτήτων.
2. Το μέγεθος, το είδος και την πυκνότητα των τριχών της προσαξονικής και αποαξονικής επιφάνειας.
3. Τον αριθμό των στομάτων.

Σχετικά με τις κρύπτες και το βάθος τους σε σχέση με τις διάφορες εποχές, φαίνεται ότι ισχύει ο κανόνας ότι όσο πιο μικρά είναι τα φύλλα τόσο πιο βαθιές είναι οι κρύπτες αυξάνοντας, έτσι, την επιφάνεια του φύλλου. Παρατηρούνται περισσότερο βαθιές οι κρύπτες το καλοκαίρι με αρχές φθινοπώρου όταν οι διαστάσεις των φύλλων είναι μικρές, ενώ το χειμώνα, οπότε τα φύλλα εμφανίζουν μεγαλύτερες διαστάσεις οι κρύπτες είναι περισσότερο αβαθείς. Επίσης, η αύξηση του βάρους και η μείωση του μεγέθους των φύλλων συνοδεύονται και από την αύξηση του αριθμού και του μεγέθους των τριχών και στις δύο επιφάνειες των φύλλων. Η παρουσία του πυκνού τριχώματος στο σημείο αυτό πιθανόν να εμποδίζει την εγκατάσταση εντόμων και την ωοτοκία τους στην κοιλότητα αυτή και να αυξάνει τις αντανακλαστικές επιφάνειες για τη φωτεινή ακτινοβολία, εμποδίζοντας ταυτόχρονα την απώλεια νερού. Ως προς τα στόματα δεν είναι εύκολο να γίνει ούτε καν εκτίμηση του αριθμού τους λόγω της επικάλυψής τους από τις τρίχες και ακόμα περισσότερο στα καλοκαιρινά φύλλα όπου η πυκνότητα των τριχών είναι πολύ μεγάλη. Επιτυχείς προσπάθειες απομάκρυνσης των τριχών δεν είναι δυνατό να γίνουν, εφόσον τα φύλλα είναι πολύ μαλακά και καταστρέφονται πολύ εύκολα.

Χωρίς να εμπίπτουν ακριβώς στην κατηγορία των κρυπτών αλλά να παίζουν τον ίδιο ρόλο έχουν παρατηρηθεί παρόμοιες κατασκευές στα φύλλα του δενδρολίβανου (*Rosmarinus officinalis*) (Γκιάφη, 2005) και στο ρείκι (*Erica manipuliflora*) (Μαϊστρου, 2010).

Η μορφολογία, επομένως, και η ανατομία των φύλλων, όπως αυτές αλλάζουν κατά τη διάρκεια των διαφόρων εποχών, δείχνουν μια έντονη προσαρμοστικότητα του φυτού στις διάφορες περιβαλλοντικές συνθήκες. Έτσι, τους καλοκαιρινούς μήνες τα φύλλα εμφανίζονται περισσότερο κίτρινα λόγω της ύπαρξης πυκνών και μακρυνών τριχών που καλύπτουν εντελώς το έλασμα του φύλλου και μικρά σε μέγεθος, χωρίς όμως να

επηρεάζεται σημαντικά το εμβαδόν της επιφάνειάς τους, αφού αυτά έχουν τις κρύπτες που με τις έντονες εσοχές και προεξοχές τους αυξάνουν την επιφάνεια. Η αύξηση, όμως, της επιφάνειας με αυτό τον τρόπο δε φαίνεται να επηρεάζει τις απώλειες νερού, αφού τα στόματα είναι περιορισμένα βαθιά μέσα στις κρύπτες. Τα στόματα που βρίσκονται μέσα στις κρύπτες είναι υπερυψωμένα, κάτι που έχει παρατηρηθεί και σε άλλα είδη φυτών που διαθέτουν κρύπτες όπως είναι το ρείκι, το δενδρολίβανο και η πικραγγουριά (Μαϊστρου 2010, Γκιάφη 2005, Ιγνατίου 2008). Το χειμώνα, αντίθετα, τα φύλλα είναι μεγαλύτερα, πιο έντονα πράσινα με λιγότερο έντονες κρύπτες και πολύ λιγότερες τρίχες. Τις άλλες εποχές τα φύλλα εμφανίζουν ενδιάμεσες δομές.

Χαρακτηριστικό των κυττάρων του μεσόφυλλου είναι η συσσώρευση **ελαιοσταγονιδίων**. Σύμφωνα με τους Lersten *et al.* (2006), πρόκειται για ουδέτερα αποθηκευτικά «ελαιοσωμάτια» που απαντώνται σε κύτταρα του μεσόφυλλου πολλών αγγειοσπέρμων αλλά είναι κάπως ξεχασμένα από τη βιβλιογραφία. Τα ουδέτερα έλαια δε συμπυκνώνονται ούτε εξατμίζονται στον αέρα, δεν είναι αρωματικά και έχουν ήπια γεύση. Συνθέτονται από τριγλυκερίδια που είναι τριεστέρες λιπαρών οξέων γλυκερόλης. Τα τελευταία αποτελούν τη συνηθέστερη μορφή αποθήκευσης λιπιδίων στα φυτά (Facciotti and Knauf, 1998) όπως αναφέρεται και από τους Lersten *et al.* (2006). Τα τριγλυκερίδια συναντώνται και ως ανεξάρτητα ελαιοσωμάτια (oil bodies ή oleosomes) στο κυτόπλασμα ή ως αποθήκες μέσα στα πλαστίδια. Ένα ελαιοσωμάτιο είναι μία σφαίρα από τριγλυκερίδια που περιβάλλονται και καλύπτονται από συγκεκριμένες πρωτεΐνες, οι οποίες ονομάζονται ελαιοσίνες. Ο Lidforss (1893), όπως αναφέρεται από τους Lersten *et al.* (2006) περισσότερο από έναν αιώνα πριν, ανέφερε ήδη ότι, ενώ είναι γνωστός ο αποθηκευτικός ρόλος των ελαίων για τα σπέρματα, εντούτοις έχει δοθεί πολύ μικρή σημασία στις αποθήκες ελαίων στα κύτταρα του μεσόφυλλου, με εξαίρεση τις σταγόνες ελαίου που βρίσκονται στους χλωροπλάστες. Η ανάλυσή τους έδειξε ότι η σύσταση αυτών των ελαιοσωμάτων είναι 50–60% τριγλυκερίδια και 15–40% εστέρες κηρών (Lersten *et al.*, 2006). Οι Lin and Oliver (2008) προτείνουν ότι τα τριγλυκερίδια λειτουργούν μαζί με τους υδατάνθρακες ως ημερήσια φωτοσυνθετική αποθήκη στα φυτά.

Η συσσώρευση ελαιοσταγονιδίων ποικίλει ανάλογα με τις εποχές. Έτσι, παρατηρείται εποχική διακύμανση στα ελαιοσταγονίδια των κυττάρων του μεσόφυλλου, τα οποία την άνοιξη και το καλοκαίρι είναι ευδιάκριτα ακόμα και χωρίς χρώση. Η συσσώρευσή τους γίνεται, κυρίως, αισθητή την άνοιξη με αρχές καλοκαιριού και διαρκεί

έως το φθινόπωρο, όπου σταδιακά μειώνεται. Η αυξημένη συγκέντρωση των ελαιοσταγονιδίων την άνοιξη, που το φυτό χαρακτηρίζεται από μεγάλη μεταβολική δραστηριότητα, συσχετίζεται με την αποθήκευση ενέργειας σε συνδυασμό με το άμυλο, οι ποσότητες του οποίου επίσης, παρουσιάζουν αύξηση σε σχέση με το χειμώνα. Τους καλοκαιρινούς μήνες της ξηρασίας, ίσως πέρα από την αποθήκευση ενέργειας, να βοηθά το φυτό και στον υδατικό έλεγχο μέσω της παραγωγής μεταβολικού νερού (μία στρατηγική που ακολουθούν και τα ζώα της ερήμου). Το χειμώνα και αρχές της άνοιξης δεν ανιχνεύονται παρά σε ελάχιστες ποσότητες, ενώ ο αριθμός τους αρχίζει να αυξάνει πάλι στα όψιμα ανοιξιάτικα φύλλα. Εντοπίζονται, κυρίως, στα κύτταρα του πασσαλώδους παρεγχύματος με ένα πιποσταγονίδιο στο μέσον κάθε κυττάρου. Εκτός του ότι ανιχνεύονται διάσπαρτα στα παρεγχυματικά κύτταρα στο μεσόφυλλο, είναι χαρακτηριστική και η διάταξή τους στα κύτταρα που βρίσκονται κάτω ακριβώς από τα επιδερμικά, σχηματίζοντας σχεδόν ένα συνεχόμενο στρώμα πάντα κάτω από την επιδερμίδα που δέχεται τις μεγαλύτερες ποσότητες ηλιακής ακτινοβολίας. Γι' αυτό το λόγο, στα ανοιξιάτικα φύλλα, τα οποία είναι σχεδόν οριζόντια, είναι χαρακτηριστική η μεγάλη πυκνότητά τους στην προσαξονική επιφάνεια, ενώ στις άλλες κατηγορίες φύλλων τα οποία έχουν τέτοιο προσανατολισμό ώστε να μπορούν να δέχονται την ηλιακή ακτινοβολία περιμετρικά, η κατανομή των ελαιοσταγονιδίων είναι επίσης περιμετρική. Επίσης, ο τρόπος που παρατάσσονται κάτω από τα επιδερμικά κύτταρα και κυρίως στις περιοχές των φύλλων που εκτίθενται στην ηλιακή ακτινοβολία, μας επιτρέπει να υποθέσουμε ότι μπορεί να προσφέρουν και κάποιο άλλο είδος προστασίας, όπως προστασία από την υπερϊώδη ακτινοβολία.

Με τις μεθόδους της ιστοχημείας στα φύλλα του φυτού *B. acetabulosa* παρατηρήθηκαν ότι τα λιποσταγονίδια διαφέρουν από εκείνα που περιγράφονται στη βιβλιογραφία, όπως αναφέρεται πιο πάνω, από το γεγονός ότι αυτά δίνουν και αντίδραση με το Nad<sup>i</sup> υπαγορεύοντας έτσι την τερπενική τους σύσταση παράλληλα με τη λιπιδική τους κυρίως στα κύτταρα του μεσόφυλλου. Επίσης, παρατηρώντας με το μικροσκόπιο φθορισμού (αυτοφθορισμός/τριγλωριούχο αργίλιο) τα ελαιοσταγονίδια αυτά φθορίζουν κόκκινα, πιθανόν εξαιτίας της προσρόφησης της χλωροφύλλης, η οποία είναι λιποδιαλυτή κατά την τμήση των τομών.

Δεν παρατηρήθηκαν **κρύσταλλοι** οξαλικού ασβεστίου οποιασδήποτε μορφής κατά τον ετήσιο κύκλο του φυτού. Αυτό έρχεται σε πλήρη αντίθεση με τη μελέτη των

Christodoulakis and Bazos (1990), όπου εντόπισαν μεγάλο αριθμό κρυστάλλων υπό μορφή ραφίδων στο μεσόφυλλο του φυτού αυτού.

Το στρώμα των **τριχών** (*indumentum*) του φυτού *B. acetabulosa* περιλαμβάνει μη αδενώδη και αδενώδη τριχώματα κατανεμημένα στα βλαστητικά όργανα.

Οι **μη αδενώδεις** τρίχες σχηματίζουν το τριχώμα, δηλαδή ένα πυκνό στρώμα (δίκτυο διακλαδιζομένων τριχών), από αλλεπάλληλα στρώματα (*indumentum*) στην επιφάνεια του φύλλου, στα οποία οφείλεται η λευκή και υπόλευκη χροιά και βελούδινη υφή του ελάσματος. Οι μη αδενώδεις τρίχες, όπως σημειώνεται στη βιβλιογραφία, αποτελούν φράγματα μηχανικής και χημικής προστασίας έναντι εντόμων και παθογόνων. Η παρουσία τους στα κράσπεδα των φύλλων, και μάλιστα όπως έχει παρατηρηθεί, με μειούμενο μέγεθος από τη βάση του φύλλου προς την κορυφή λόγω των οξυκατάληκτων άκρων που διαθέτουν, παρεμποδίζει την εγκατάσταση των εντόμων, προστατεύοντας ιδιαίτερα το νεαρό βραχυβλάστη και τη βλαστική εξέλιξη του φυτού. Επίσης, συντελούν στην αποφυγή της ωοτοκίας από τα έντομα (Naidoo *et al.*, 2009) με την ύπαρξη τριχωμάτων στην κοιλότητα των ανοιξιότικων φύλλων. Σημαντική είναι και η παρουσία των μη αδενωδών τριχών στην προστασία του φυτού από τα διάφορα φυτοφάγα, αφενός λόγω του ότι τα επιδερμικά αυτά εξαρτήματα έχουν πολύ παχιά κυτταρικά τοιχώματα και αφετέρου σχετίζεται με την ύπαρξη τανινών οι οποίες προκαλούν ανάσχεση της ανάπτυξης ή ακόμα και το θάνατο, με την ιδιότητά τους να αντιδρούν και να κατακρημνίζουν αδιακρίτως πρωτεΐνες (Καραμπουρνιώτης, 2003). Επίσης, συνιστούν αποτελεσματικά φίλτρα έναντι της υπερϊώδους ακτινοβολίας εξαιτίας των φαινολών που εντοπίζονται σε αυτά (Karabourniotis and Fasseas 1996, Καραμπουρνιώτης 2003). Η ύπαρξη τριχώματος στα φύλλα και τους βλαστούς θεωρείται ξηροθερμική προσαρμογή, η οποία συμβάλλει στην εξοικονόμηση νερού. Ένα πυκνό στρώμα τριχών τροποποιεί το ανάγλυφο και αυξάνει το πάχος του οριακού στρώματος με αποτέλεσμα τη μείωση της διαπνοής. Αυτό συμβαίνει γιατί το είδος των τριχωμάτων και η πυκνότητά τους στο έλασμα του φυτού *B. acetabulosa* συντελεί στη ρύθμιση των απωλειών του νερού κατά τη διάρκεια των ανοιξιότικων και καλοκαιρινών μηνών, σε συνδυασμό με τη ρύθμιση της θερμοκρασίας της φυλλικής επιφάνειας, κυρίως λόγω της ανάκλασης και της σκέδασης της προσπίπτουσας ακτινοβολίας εξαιτίας της ύπαρξης πολλών ανακλαστικών επιφανειών, οι οποίες μεγαλώνουν και λόγω των επαρμάτων των τριχών.

Τα αδενώδη και μη αδενώδη τριχώματα είναι από τις πρώτες δομές που

εμφανίζονται στα εμβρυακά φύλλα του φυτού, υποδηλώνοντας, έτσι, ότι η παρουσία τους είναι απαραίτητη πριν ακόμα τη διαφοροποίηση του μεσόφυλλου.

Τα μη αδενώδη τριχώματα του φυτού ποικίλουν ως προς τη μορφολογία και την ανατομία τους και κατηγοριοποιούνται με βάση τα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά σε πέντε τύπους:

➤ Πολυκύτταρες τρίχες που έχουν μακρύ μίσχο και η κορυφή της τρίχας φέρει από 5 έως 7 διακλαδώσεις. Είναι μεγάλου μεγέθους και συνήθως συναντώνται στα ανοιξιάτικα και χειμωνιάτικα φύλλα καθώς και στην προσαξονική επιφάνεια των καλοκαιρινών φύλλων.

➤ Πολυκύτταρες τρίχες που έχουν πολύ μικρό μίσχο ή είναι ακόμα και άμισχες και η κεφαλή της τρίχας καταλήγει σε 10 έως 15 αιχμηρές απολήξεις. Αυτή η κατηγορία απαντάται στην αποαξονική επιφάνεια των καλοκαιρινών φύλλων, καθώς και στα φθινοπωρινά.

➤ Μεγάλου μεγέθους μονοκύτταρα ή δικύτταρα τριχώματα που είναι μη διακλαδιζόμενα και μονόσειρα και έχουν συνήθως οξυκατάληκτη άκρη και είναι αγκυλωτά στην άκρη τους. Αυτού του είδους τα τριχώματα συναντώνται στα καλοκαιρινά και φθινοπωρινά φύλλα και πιο σπάνια στα χειμωνιάτικα φύλλα.

➤ Πολυκύτταρες τρίχες που έχουν μεσαίου μεγέθους μίσχο και καταλήγουν σε δύο (2) ή τρεις (3) ή και τέσσερις (4) οξυκατάληκτες άκρες και συναντώνται πιο σπανίως στα φθινοπωρινά φύλλα. Οι τρίχες με τις τέσσερις άκρες απαντώνται στα φθινοπωρινά φύλλα και στην προσαξονική μόνο επιφάνεια των καλοκαιρινών και χειμωνιάτικων φύλλων. Οι τρίχες που καταλήγουν σε δύο ή τρεις άκρες συναντώνται ως επί τον πλείστον στην αποαξονική επιφάνεια των χειμωνιάτικων φύλλων.

Από τα αποτελέσματα της **ιστοχημείας** με το αντιδραστήριο Sudan IV εντοπίστηκαν λιπίδια σε μορφή σταγονιδίων στα κύτταρα μη αδενωδών τριχωμάτων. Φλαβόνες εντοπίστηκαν με χρώση με  $AlCl_3$  και παρατήρηση στο μικροσκόπιο φθορισμού στα μη αδενώδη τριχώματα. Τέλος, με το αντιδραστήριο κυανό της τολουιδίνης βρέθηκε κυτταρίνη και λιγνίνη στα κύτταρα των μη αδενωδών τριχωμάτων.

Οι αδένες, οι οποίοι απαντώνται στα φύλλα του φυτού ανήκουν σε δύο κατηγορίες: τους ασπιδοειδείς και τους κεφαλοειδείς κατανεμημένους στα βλαστητικά κύτταρα (φύλλα και βλαστούς).

Όπως αναφέρεται από τους Ascensão and Pais (1998), οι Abu-Asab and Cantino

(1987) καθόρισαν ότι ένας αδένας χαρακτηρίζεται ως κεφαλοειδής, αν και εφόσον το μήκος του μίσχου του είναι πάνω από το μισό του ύψους της κεφαλής του.

Οι **ασπιδοειδείς** αδένες αποτελούνται από τρία τμήματα: ένα κύτταρο βάσης, ένα κύτταρο μίσχου και μία εκκριτική κεφαλή, η οποία περιλαμβάνει τέσσερα κύτταρα κεντρικά και οχτώ κύτταρα διατεταγμένα ακτινωτά. Κατά την ωρίμανση του αδένα δημιουργείται ένας υποεφυμενιδικός χώρος που προκύπτει από την ανύψωση της εφυμενίδας, η οποία συμπαρασύρει μέρος του κυτταρικού τοιχώματος. Σε κάποιο σημείο πλευρικά των εκκριτικών κυττάρων, η εφυμενίδα/κυτταρικό τοίχωμα που καλύπτει τα εκκριτικά κύτταρα λεπταίνει πάρα πολύ και δημιουργείται η ζώνη ευαισθησίας. Όταν ο αδένας διαρρηχθεί, η εφυμενίδα που καλύπτει τον αδένα, περιελίσσεται στα άκρα της και παρατηρείται το έκκριμα του αδένα στα παρακείμενα επιδερμικά κύτταρα. Ο ασπιδοειδής αδένας συναντάται στα φύλλα όλων των εποχών, όπου ανάλογα την εποχή και την επιφάνεια του φύλλου που βρίσκεται αλλάζει και η συχνότητα που απαντάται. Συγκεκριμένα, ο Μποζαμπαλίδης (2008) αναφέρει τη μεγαλύτερη πυκνότητά τους στην αποαξονική επιφάνεια των φύλλων σε σχέση με την προσαξονική επιφάνεια. Χαρακτηριστική είναι η παρουσία αδένων στην προσαξονική επιφάνεια μόνο στα σημεία που εκτίθενται στην ηλιακή ακτινοβολία, όπως η κορυφή των φύλλων. Επίσης, παρατηρείται μία μείωση του αριθμού των αδένων από τα ανοιξιάτικα προς τα φθινοπωρινά φύλλα. Έτσι, ενώ στα φθινοπωρινά φύλλα στην προσαξονική επιφάνεια εντοπίζονται ελάχιστοι ασπιδοειδείς αδένες, στα χειμωνιάτικα φύλλα ο αριθμός των αδένων αυξάνεται. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι οι ασπιδοειδείς αδένες εντοπίζονται στις περιοχές των φύλλων που είναι εκτεθειμένες στην ηλιακή ακτινοβολία, γι' αυτό το λόγο η προσαξονική επιφάνεια ακόμα και των καλοκαιρινών φύλλων, τα οποία όμως σκιάζονται το ένα από το άλλο στο βραχυβλάστη, στερούνται αδένων. Αυτό πρέπει να εξηγεί και το γεγονός της έλλειψης των αδένων στη βάση της προσαξονικής επιφάνειας όλων των άλλων κατηγοριών φύλλων. Η αποαξονική επιφάνεια σε όλα τα φύλλα είναι περισσότερο εκτεθειμένη σε σχέση με την προσαξονική, ακόμα και στα φθινοπωρινά και χειμωνιάτικα φύλλα, όπου ο βραχυβλάστης δεν είναι πλέον τόσο συμπαγής.

Από τα αποτελέσματα της **ιστοχημείας** με το αντιδραστήριο Sudan IV εντοπίστηκαν λιπίδια σε μορφή σταγονιδίων στα κύτταρα ορισμένων ασπιδοειδών αδένων. Επίσης, βρέθηκαν και τανίνες σε ορισμένους ασπιδοειδείς αδένες στα κύτταρα της κεφαλής και στα κύτταρα του μίσχου ορισμένων ασπιδοειδών αδένων. Η παρουσία

ταννινών έγινε αισθητή, κυρίως, σε ανοιξιάτικα φύλλα, γεγονός το οποίο μπορεί να βοηθά στην προστασία των φύλλων από διάφορους βιοτικούς παράγοντες. Η αντίδραση στη χρώση με 4-νιτροσοφαινόλη σε πυκνό  $H_2SO_4$  έδειξε την παρουσία μονοτερπενικών φαινολών. Φλαβόνες εντοπίστηκαν με χρώση με  $AlCl_3$  και παρατήρηση στο μικροσκόπιο φθορισμού στα σημεία της κεφαλής και των εκκριτικών τους κυττάρων. Με το μικροσκόπιο φθορισμού (αυτοφθορισμός) εντοπίστηκαν φαινολικά στο περιεχόμενο του κυττάρου του μίσχου και στον υποεφυμενιδικό χώρο των ασπιδοειδών αδένων. Τέλος, με το αντιδραστήριο κυανό της τολουιδίνης βρέθηκε κυτταρίνη και λιγνίνη στα κύτταρα της κεφαλής και του μίσχου των αδένων αυτών.

**Οι κεφαλοειδείς αδένες** οι οποίοι εντοπίστηκαν στα φύλλα του φυτού κατατάσσονται σε τρεις κατηγορίες αφού υπακούουν στον κανόνα του Werker (1985 a,b). Μοιάζουν όμως πολύ με τους τύπους των κεφαλοειδών τριχωμάτων, όπως περιγράφονται από τον Μποζαμπαλίδη (2008).

1. κεφαλοειδής αδένας τύπου I.
2. κεφαλοειδής αδένας τύπου II.
3. κεφαλοειδής αδένας τύπου III.

Και στις τρεις κατηγορίες διακρίνουμε ένα κύτταρο βάσης, ένα ή δύο κύτταρα μίσχου και μία εκκριτική κεφαλή η οποία αποτελείται από ένα εκκριτικό κύτταρο. Στον κεφαλοειδή αδένα τύπου I το κύτταρο της κεφαλής είναι στρογγυλό, ενώ στον κεφαλοειδή αδένα τύπου II διακρίνουμε ένα επίμηκες κύτταρο ίδιας διαμέτρου με το κύτταρο του μίσχου. Στην τρίτη κατηγορία διακρίνουμε δύο ή περισσότερα κύτταρα βάσης, δύο έως πέντε κύτταρα μίσχου και ένα στρογγυλό μονοκύτταρο εκκριτικό κύτταρο κεφαλής. Κεφαλοειδείς αδένες τύπου I συναντώνται στα φύλλα όλων των εποχών με μοναδική διαφοροποίηση το μήκος του μίσχου. Οι κεφαλοειδείς τύπου II, απαντώνται στα ανοιξιάτικα και καλοκαιρινά φύλλα και στις δύο επιφάνειες του φύλλου. Τέλος, οι κεφαλοειδείς τύπου III, συναντώνται στην αποαξονική επιφάνεια των ανοιξιάτικων φύλλων, στην προσαξονική επιφάνεια των φθινοπωρινών και στα χειμωνιάτικα και καλοκαιρινά φύλλα και στις δύο επιφάνειες.

Από τα αποτελέσματα της **ιστοχημείας** εντοπίστηκαν τερπένια λιπιδικής φύσεως στον υποεφυμενιδικό χώρο, στο εσωτερικό της κεφαλής καθώς και στο κύτταρο του μίσχου των κεφαλοειδών αδένων. Επίσης, παρατηρήθηκαν και λιπίδια σε όλη την επιφάνειά του με μορφή σταγονιδίων. Τανίνες ανιχνεύτηκαν στα κύτταρα της κεφαλής

και του μίσχου των κεφαλοειδών αδένων. Με το μικροσκόπιο φθορισμού και μετά από χρώση με τριχλωριούχο αργίλιο, επιβεβαιώθηκε η παρουσία φλαβονών στα εκκριτικά κύτταρα και στο μίσχο των κεφαλοειδών. Με τον αυτοφθορισμό χωρίς χρώση και με παρατήρηση στο μικροσκόπιο φθορισμού, εντοπίστηκαν φαινολικά στα κύτταρα του μίσχου και στον υποεφυμενιδικό χώρο των κεφαλοειδών.

Παρατηρούνται, ακόμα, κάποιοι **αδένες** που δεν κατατάσσονται εύκολα στους ασπιδοειδείς ή κεφαλοειδείς αδένες σύμφωνα με τον Werker (1985 a,b). Αυτό γίνεται γιατί δε φαίνεται ξεκάθαρα ο μίσχος και η κεφαλή. Συγκεκριμένα, παρατηρείται να εμφανίζεται αδένας που το κύτταρο βάσης είναι πεπλατυσμένο και καλύπτει τα γειτονικά επιδερμικά κύτταρα. Άλλος τύπος αδένας που μοιάζει με κεφαλοειδή αλλά δεν ανήκει σε αυτήν την κατηγορία φαίνεται παρακάτω. Είναι αδένας που το κύτταρο βάσης είναι πεπλατυσμένο και καλύπτει τα γειτονικά επιδερμικά κύτταρα. Σπάνια εμφανίζονται αδένες που δεν είναι δυνατόν να καταταγούν εύκολα στις κατηγορίες των ασπιδοειδών ή των κεφαλοειδών αδένων. Είναι ένας συνδιασμός μη αδενώδους με αδενώδη, όμως, διακλάδωση κεφαλοειδούς τύπου I. Αποτελούνται από ένα κύτταρο βάσης που ενώνεται με τρία κύτταρα μίσχου μακριά και ο μεσαίος μίσχος ενώνεται με την ογκώδη κεφαλή.

**Στόματα** εντοπίζονται, κυρίως, στην αποαξονική επιφάνεια των φύλλων. Σπανίως εντοπίζονται στην προσαξονική επιφάνεια, επομένως το φυτό χαρακτηρίζεται ως αμφιστοματικό. Παρατηρήθηκε ότι τα στόματα στην προσαξονική επιφάνεια όλων των κατηγοριών των φύλλων είναι στο ίδιο επίπεδο με τα επιδερμικά, ενώ τα στόματα στην αποαξονική επιφάνεια είναι υπερυψωμένα. Αυτό συμβαίνει στα φύλλα όλων των εποχών. Έχει παρατηρηθεί το φαινόμενο τα στόματα να περιβάλλουν περιμετρικά τα ασπιδοειδή αδενώδη τριχώματα. Σχετικά με την κατανομή των στομάτων στις διάφορες κατηγορίες φύλλων, δεν ήταν δυνατή η με ακρίβεια αποτύπωσή τους, καθώς πολλά στόματα είναι κρυμμένα κάτω από αδενώδη και μη αδενώδη τριχώματα και δεν είναι εύκολη η απομάκρυνση των τριχωμάτων. Άλλα στόματα βρίσκονται μέσα στις ημισφαιρικές κρύπτες, εκεί που σχηματίζονται κοιλότητες, γεγονός που καθιστά δύσκολη την καταμέτρηση των στομάτων. Το δεδομένο είναι ότι δεν ανιχνεύονται στόματα σε όλη την προσαξονική επιφάνεια των φύλλων, ενώ κατά μήκος της κεντρικής νεύρωσης είναι ελάχιστα.

Η **οντογένεση** των στομάτων χρονικά ακολουθεί την οντογένεση των τριχωμάτων. Στα εμβρυακά φύλλα, ενώ διακρίνονται τριχώματα με ποικίλο βαθμό



ωρίμανσης, δε διακρίνονται στόματα. Η συμμετρική διαίρεση του μητρικού κυττάρου του στόματος παράγει τα δύο καταφρακτικά κύτταρα. Τα καταφρακτικά κύτταρα χαρακτηρίζονται από ανισοπαχή κυτταρικά τοιχώματα εξαιτίας της εναπόθεσης κυτταρίνης και πηκτίνης. Τα καταφρακτικά κύτταρα έχουν σχήμα νεφροειδές και οι παχύνσεις τους σχηματίζουν οφρύες (μικρές προεξοχές), τόσο εξωτερικά του στοματικού πόρου όσο και εσωτερικά προς το μεγάλο υποστοματικό θάλαμο. Παρατηρούνται τα παχιά κυτταρικά τοιχώματα των επιδερμικών κυττάρων και τα ανισόπαχα κυτταρικά τοιχώματα των καταφρακτικών κυττάρων. Λεπτή εφυμενίδα καλύπτει τα καταφρακτικά κύτταρα αλλά και τον υποστομάτιο χώρο.

## 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

➤ Κατά τη διάρκεια του έτους οι **βλαστοί** του εξελίσσονται συνεχώς. Η εξέλιξη των βραχυβλαστών είναι συνεχής μέσα στο έτος, ενώ η εξέλιξη του δολιχοβλάστη επηρεάζεται από τις συνθήκες υγρασίας και θερμοκρασίας που επικρατούν την άνοιξη.

➤ Στους διαφορετικούς βλαστούς εκπύσσονται διαφορετικές κατηγορίες **φύλλων** ανάλογα με την εποχή του έτους παρουσιάζοντας έτσι διαφορές ως προς τα μορφολογικά και ανατομικά χαρακτηριστικά τους.

➤ Το πάχος των κυτταρικών τοιχωμάτων των **επιδερμικών κυττάρων** ποικίλει ανάλογα με την εποχή, με το μεγαλύτερο πάχος να παρατηρείται κατά τα τέλη χειμώνα-αρχές άνοιξης.

➤ Η **εφουμενίδα** διαφοροποιείται ανάλογα με την εποχή και εμφανίζεται την άνοιξη προς αρχές καλοκαιριού να είναι πιο παχιά από κάθε άλλη εποχή.

➤ Παρατηρείται διαφοροποίηση της αναλογίας **πασσαλώδους** προς **σπογγώδους** παρεγχύματος ανάλογα με την εποχή του έτους.

➤ Δε φαίνεται να υπάρχουν **επεκτάσεις δεσμικού κολεού**, με αποτέλεσμα τα φύλλα να χαρακτηρίζονται ως ομοβαρή.

➤ Παντελής έλλειψη **σκληροεργχοματικού** ιστού, το ρόλο του οποίου πιθανόν να διαδραματίζουν οι κρύπτες.

➤ Οι **κρύπτες** που εμφανίζονται στα φύλλα, ανάλογα με τις εποχές του έτους, διαφέρουν ως προς το βάθος, ως προς το μέγεθος, είδος και πυκνότητα των τριχών της προσαξονικής και αποαξονικής επιφάνειας που βρίσκονται μέσα σ'αυτές και ως προς τον αριθμό των στομάτων.

➤ Η συσσώρευση **ελαιοσταγονιδίων** ποικίλει ανάλογα με τις εποχές, με τη μέγιστη συσσώρευσή τους να παρουσιάζεται την άνοιξη με αρχές καλοκαιριού.

➤ Αυξημένη συγκέντρωση τερπενίων λιπιδικής φύσεως και λιπιδίων (ελαιοσταγονίδια) στα κύτταρα του **μεσόφυλλου**.

➤ Τα **μη αδενώδη τριχώματα** που εντοπίστηκαν στο φυτό κατηγοριοποιούνται σε πέντε τύπους, που συναντώνται ανάλογα με τις εποχές του έτους.

➤ Η πυκνότητα και το μέγεθος των **μη αδενωδών τριχωμάτων** ποικίλει ανάλογα με την εποχή.

ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΙΣΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΒΑΛΛΩΤΗ (*Ballota acetabulosa*) ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΕΤΟΥΣ

- Οι **ασπιδοειδείς** αδένες συναντώνται στα φύλλα όλων των εποχών, όπου ανάλογα την εποχή και την επιφάνεια του φύλλου που βρίσκονται αλλάζει και η συχνότητα που συναντώνται.
- Παρατηρείται μεγαλύτερη συγκέντρωση σε λιπίδια και τανίνες στα κύτταρα της κεφαλής και του μίσχου των **ασπιδοειδών** αδένων την άνοιξη με αρχές καλοκαιριού.
- Οι **κεφαλοειδείς αδένες** οι οποίοι εντοπίστηκαν στα φύλλα του φυτού κατατάσσονται σε τρεις κατηγορίες, τύπου I, τύπου II και τύπου III, αφού υπακούουν στον κανόνα του Werker (1985 a,b) και μοιάζουν με τους τύπους των κεφαλοειδών τριχωμάτων, όπως περιγράφονται από τον Μποζαμπαλίδη (2008).
- Παρατηρούνται ακόμα κάποιοι **αδένες** που δεν κατατάσσονται εύκολα στους ασπιδοειδείς ή κεφαλοειδείς αδένες σύμφωνα με τον Werker (1985 a,b).
- Το φυτό χαρακτηρίζεται ως **αμφιστοματικό**, με τα στόματα να εντοπίζονται κυρίως στην αποαξονική επιφάνεια των φύλλων.
- Τα **στόματα** στην προσαξονική επιφάνεια όλων των κατηγοριών των φύλλων είναι ελάχιστα και βρίσκονται στο ίδιο επίπεδο με τα επιδερμικά, ενώ τα στόματα στην αποαξονική επιφάνεια είναι πολυάριθμα, βρίσκονται μέσα στις κρύπτες και είναι υπερυψωμένα.

<u>Κατηγορίες φύλλων</u>	<i>Ανοιξιάτικα φύλλα</i>	<i>Καλοκαιρινά φύλλα</i>	<i>Φθινοπωρινά φύλλα</i>	<i>Χειμωνιάτικα φύλλα</i>
<b>Περιγραφή φύλλων</b>	<i>Γκριζοπράσινα φύλλα μεγάλου μεγέθους. Πεπλατυσμένο έλασμα. Σχεδόν κάθετα προς το βλάστο.</i>	<i>Κίτρινα φύλλα μικρού μεγέθους, με την κάτω επιφάνεια γκριζοπράσινη λόγω πυκνού τριχώματος. Πολύ πυκνές και μακριές τρίχες. Δεν είναι εντελώς κάθετα προς το βλαστό.</i>	<i>Πράσινα φύλλα μικρού μεγέθους, παρόμοια με τα καλοκαιρινά φύλλα. Αραιά τριχώματα.</i>	<i>Έντονα πράσινα φύλλα, λίγες έως ελάχιστες τρίχες, μεγάλα σε μέγεθος.</i>
<b>Πάχος εφυμενίδας</b>	<i>Παχιά εφυμενίδα.</i>	<i>Μικρή μείωση του πάχους της εφυμενίδας.</i>	<i>Σταδιακή μείωση του πάχους της εφυμενίδας.</i>	<i>Λεπτή εφυμενίδα.</i>

ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΙΣΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΒΑΛΛΩΤΗ (*Ballota acetabulosa*) ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΕΤΟΥΣ

<b>Μεσόφυλλο</b>	1 στρώση πασσαλώδους, 2 στρώσεις σπογγώδους σε αναλογία 1:1.	1 στρώση πασσαλώδους, 2 στρώσεις σπογγώδους σε αναλογία 1:1.	1 στρώση πασσαλώδους, 3 στρώσεις σπογγώδους σε αναλογία 1:2.	1 στρώση πασσαλώδους, 2 στρώσεις σπογγώδους σε αναλογία 1:1.
<b>Κρύπτες</b>	Αρκετά βαθιές κρύπτες.	Πολύ βαθιές κρύπτες.	Βαθιές κρύπτες.	Αβαθείς κρύπτες.
<b>Ιστοχημεία στο μεσόφυλλο</b>	Αυξημένη συγκέντρωση τερπενίων λιπιδικής φύσεως και λιπιδίων (ελαιοσταγονίδια) στα κύτταρα του μεσόφυλλου.	Μεγάλη συγκέντρωση τερπενίων λιπιδικής φύσεως και λιπιδίων (ελαιοσταγονίδια) στα κύτταρα του μεσόφυλλου.	Σταδιακή μείωση τερπενίων λιπιδικής φύσεως και λιπιδίων (ελαιοσταγονίδια) στα κύτταρα του μεσόφυλλου.	Ελάχιστη έως μηδαμινή συγκέντρωση τερπενίων λιπιδικής φύσεως και λιπιδίων (ελαιοσταγονίδια) στα κύτταρα του μεσόφυλλου.
<b>Κατηγορίες μη αδενωδών τριχωμάτων</b>	Πολυάριθμες πολυκύτταρες τρίχες με πολύ μακρύ μίσχο και η κορυφή της τρίχας φέρει 5-7 διακλαδώσεις. Πιο συχνά απαντώνται στην αποαξονική επιφάνεια του φύλλου.	Πολυάριθμες πολυκύτταρες τρίχες με κοντό μίσχο και η κορυφή της φέρει 5-7 διακλαδώσεις, στην προσαξονική επιφάνεια του φύλλου. Αμέτρητες τρίχες που καταλήγουν σε 10-15 αιχμηρές απολήξεις, στην αποαξονική επιφάνεια.	Πολυκύτταρες τρίχες που έχουν κοντό μίσχο και η κορυφή της τρίχας καταλήγει σε 10-15 διακλαδώσεις.	Πολυκύτταρες τρίχες που έχουν μακρύ μίσχο και η κορυφή της τρίχας καταλήγει σε 5-7 διακλαδώσεις.
<b>Κατηγορίες μη αδενωδών τριχωμάτων</b>	Απουσία μονοκύτταρων ή δικύτταρων τριχωμάτων.	Μεγάλου μεγέθους μονοκύτταρα ή δικύτταρα τριχώματα μη διακλαδιζόμενα, μονόσειρα με οξυκατάληκτη άκρη.	Μεγάλου μεγέθους μονοκύτταρα ή δικύτταρα τριχώματα, μη διακλαδιζόμενα, μονόσειρα, με οξυκατάληκτη άκρη.	Σπανίως μεγάλου μεγέθους μονοκύτταρα ή δικύτταρα τριχώματα, μη διακλαδιζόμενα, μονόσειρα, με οξυκατάληκτη άκρη.

ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΙΣΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΒΑΛΛΩΤΗ (*Ballota acetabulosa*) ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΕΤΟΥΣ

<b>Κατηγορίες μη αδενωδών τριχωμάτων</b>	Απουσία πολυκύτταρων τριχών που καταλήγουν σε τέσσερις (4) οξυκατάληκτες άκρες.	Πολυκύτταρες τρίχες, με μεσαίου μεγέθους μίσχο και καταλήγουν σε 4 οξυκατάληκτες άκρες. Συναντώνται στην προσαξονική επιφάνεια των φύλλων.	Πολυκύτταρες τρίχες με μεσαίου μεγέθους μίσχο και καταλήγουν σε 4 οξυκατάληκτες άκρες.	Πολυκύτταρες τρίχες, με μεσαίου μεγέθους μίσχο και καταλήγουν σε 4 άκρες, στην αποαξονική επιφάνεια. Τρίχες που καταλήγουν σε 2 ή 3 άκρες, στην προσαξονική.
<b>Ασπιδοειδής αδένας</b>	Μεγάλη πυκνότητα ασπιδοειδών αδένων κυρίως στην αποαξονική επιφάνεια του φύλλου.	Αρκετοί ασπιδοειδείς αδένες.	Μείωση του αριθμού των ασπιδοειδών αδένων.	Αύξηση του αριθμού των ασπιδοειδών αδένων μέχρι την άνοιξη όπου και παρουσιάζουν το μέγιστο αριθμό.
<b>Ιστοχημεία ασπιδοειδών αδένων</b>	Μεγαλύτερη συγκέντρωση σε λιπίδια και τανίνες στα κύτταρα της κεφαλής και του μίσχου των ασπιδοειδών αδένων.	Μεγάλη συγκέντρωση σε λιπίδια και τανίνες στα κύτταρα της κεφαλής και του μίσχου των ασπιδοειδών αδένων.	Μικρή συγκέντρωση σε λιπίδια και τανίνες στα κύτταρα της κεφαλής και του μίσχου των ασπιδοειδών αδένων.	Ελάχιστη συγκέντρωση σε λιπίδια και τανίνες στα κύτταρα της κεφαλής και του μίσχου των ασπιδοειδών αδένων.
<b>Κεφαλοειδής αδένας</b>	Κεφαλοειδείς αδένες τύπου I,II,III. Οι τύπου III στην αποαξονική επιφάνεια μόνο.	Κεφαλοειδείς αδένες τύπου I. Σπανίως τύπου II και ελάχιστα τύπου III.	Κεφαλοειδείς αδένες τύπου I. Οι τύπου III στην προσαξονική επιφάνεια.	Κεφαλοειδείς αδένες τύπου I,III.
<b>Αδένες άλλων κατηγοριών</b>	Παρατηρούνται αδένες που δεν κατατάσσονται εύκολα στους ασπιδοειδείς ή κεφαλοειδείς αδένες.	Δεν παρατηρούνται τέτοιου είδους αδένες.	Δεν παρατηρούνται τέτοιου είδους αδένες.	Δεν παρατηρούνται τέτοιου είδους αδένες.

ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΙΣΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΒΑΛΛΩΤΗ (*Ballota acetabulosa*) ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΕΤΟΥΣ

<p><b>Στόματα</b></p>	<p>Στόματα αρκετά στο εσωτερικό της κρύπτης στην αποαξονική επιφάνεια του φύλλου και ελάχιστα στην προσαξονική.</p>	<p>Στόματα πολυάριθμα υπερυψωμένα σε όλο το μήκος κυρίως στην αποαξονική επιφάνεια.</p>	<p>Στόματα σπανίως εντοπίζονται.</p>	<p>Στόματα αρκετά κυρίως στην αποαξονική επιφάνεια του φύλλου.</p>
-----------------------	---	---	--------------------------------------	--

**Πίνακας 2:** Συγκεντρωτικός πίνακας κυριότερων διαφορών των φύλλων του φυτού *B. acetabulosa* ανάλογα με τις εποχές.

## 6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### Διεθνής βιβλιογραφία

- Abu-Asab, M.S. and Cantino, P.D. (1987). Phylogenetic implications of leaf anatomy in subtribe melittidinae (Labiatae) and related taxa. *Journal of the Arnold Arboretum* **68**: 1.
- Allsopp, A. (1965). Heteroblastic development in cormophytes. In: W. Ruhland, ed. *Encyclopedia of Plant physiology*. Vol. 15, part 1, pp.1172-1221. Springer Verlag, Berlin.
- Arianoutsou-Faraggitaki, M. and Margaris, N. S. (1981). Producers and the fire cycle in a phryganic ecosystem. In: N.S. Margaris and H.A. Mooney, eds. *Components of productivity of Mediterranean climate regions: Basic and Applied Aspects*. pp. 181-190. Dr. W. Junk Publishers, the Netherlands.
- Aronne, G. and De Micco, V. (2001). Seasonal dimorphism in the Mediterranean *Cistus incanus* L. subsp. *incanus*. *Annals of Botany* **87**(6): 789-794.
- Ascensão, L., Marques, N. and Pais, M.S. (1995). Glandular trichomes on vegetative and reproductive organs of *Leonotis leonorus* (Lamiaceae). *Annals of Botany* **75**: 619-626.
- Ascensão, L. and Pais, M.S. (1998). The leaf capitate trichomes of *Leonotis leonorus* : Histochemistry, ultrastructure and secretion. *Annals of Botany* **81**: 263- 271.
- Ascensão, L., Mota, L. and Castro, M. de M. (1999). Glandular trichomes on the leaves and flowers of *Plectranthus ornatus*: Morphology, distribution and cytochemistry. *Annals of Botany* **84**: 437-447.
- Atkinson, I.A. and Greenwood, R.M. (1989). Relationship between moas and plants. New Zealand. *Journal of Ecology* **12** (Supplement): 67-96.
- Baran, P., Aktaş, K. and Özdemir, C. (2010). Structural investigation of the glandular trichomes of endemic *Salvia smyrnea* L. *South African Journal of Botany* **76** (3): 572-578.
- Bick, J.A. and Lange, B.M. (2003). Metabolic cross talk between cytosolic and plastidial pathways of isoprenoid biosynthesis: unidirectional transport of intermediates across the chloroplast envelope membrane. *Archives of Biochemistry And Biophysics* **415** (2): 146.

- Bolhar-Nordenkamp, H.R. and Draxler, G. (1993). Functional leaf anatomy. In: Hall, D.O., Scurlock, J.M.O., Bolhar-Nordenkamp H.R., Leegood R.C., Lang S.P., eds. *Photosynthesis and Production in a Changing Environment. A Field and Laboratory Manual*. pp.91-112. Chapman and Hall, London.
- Bosabalidis, A., and Tsekos, I. (1982). Glandular scale development and essential oil secretion in *Origanum dictamnus* L. *Planta* **156**: 496-504.
- Boyer, J.S. (1985). Water transport. *Annual Review of Plant Physiology* **36**: 473-516.
- Bruni, A. and Modenesi, P. (1983). Development, oil storage and dehiscence of peltate trichomes in *Thymus vulgaris* (Lamiaceae). *Nordic Journal of Botany* **3**(2): 245-251.
- Buchanan, B., Gruissem, W. and Jones, R.L. (2000). Biochemistry and Molecular Biology of Plants. *American Society of Plant Physiologists*. Rockville, MD.
- Christodoulakis, N.S., Arianoutsou-Faraggitaki, M. and Psaras, G.K. (1986). Post-fire leaf structure of two Seasonally Dimorphic Resprouters. *Acta Oecologica*. (Oecologia Plantarum) **7**(1): 97-102.
- Christodoulakis, N.S. (1989). An Anatomical study of Seasonal Dimorphism in the leaves of *Phlomis fruticosa*. *Annals of Botany* **63**: 389-394.
- Christodoulakis, N. and Bazos, J. (1990). Leaf anatomy of three seasonally dimorphic subshrubs. *Acta Oecologica* **11** (2): 291-296.
- Clark, G. (1981). Staining procedures. 4<sup>th</sup> Edition. Williams and Wilkins.
- Clearwater, M.J. and Gould, K.S. (1994). Comparative leaf development of juvenile and adult *Pseudopanax crassifolius*. *Canadian Journal of Botany* **72**:658-670.
- Cockayne, L. (1911). Observations concerning evolution, derived from ecological studies in New Zealand. *Transactions of the New Zealand Institute* **44**: 1-50.
- Dale, J.E., Millthorpe, F.L. (1983). General features of the production and growth of leaves. In: Dale J.E., Millthorpe F.L., eds. *The Growth and Functioning of Leaves*, pp.151-178. Cambridge University Press, Cambridge.
- Dale, J.E. (1988). The control of leaf expansion. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **39**: 267-295.
- Davies, W.J. (1986). Transpiration and the water balance of plants. In: Steward F.C., Sutcliffe J.F., Dale J.E., eds. *Plant Physiology*, Vol. IX., pp.49-154. *Water and Solutes in Plants*. Academic Press, New York.



- Doorenbos, J. (1965). Juvenile and adult phases in woody plants, in *Handbuch der Pflanzenphysiologie*. In: W. Runland, ed. *Encyclopedia of plant physiology. Differentiation and Development*. **15**(1):1222-1235. Springer-Verlag, Berlin.
- Dubey, V.S., Bhalla, R. and Luthra, R. (2003). An overview of the non-mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plants. *Journal of Biosciences* **28**(5):637-646.
- Eisenreich, W., Rohdich, F. and Bacher, A. (2001). Deoxyxylulose phosphate pathway to terpenoids. *Review Trends in Plant Science* **6**(2):78-84.
- Esau, K. (1977). *Anatomy of seed plants*. 2<sup>nd</sup> Edition. John Wiley and Sons, New York.
- Facciotti, D. and Knauf, V. (1998). Triglycerides as products of photosynthesis. Genetic engineering, fatty acid composition and structure of triglycerides. In: Siegenthaler P.A. and Murata N. (Editors). *Lipids in Photosynthesis: Structure, Function and Genetics*. *Advances in Photosynthesis and Respiration*, Vol. 6, pp.155-175. Springer, Dordrecht.
- Fahn, A. (1979). *Secretory Tissues in Plants*. Academic Press London, New York, San Francisco.
- Fahn, A. (1982). *Plant Anatomy*. 3<sup>rd</sup> Edition. Pergamon Press, Oxford.
- Fahn, A. (1986). Structural and Functional Properties of trichomes of xeromorphic leaves. *Annals of Botany* **57**: 631-637.
- Fahn, A. (1988). Transley Review No.14. Secretory tissues in vascular plants. *New Phytologist* **108**: 229-257.
- Fahn, A. (1990). *Plant Anatomy*. 4<sup>th</sup> Edition. Pergamon Press, New York, ISBN: 0-08-037491-3.
- Fahn, A. and Cutler, D.F. (1992). Xerophytes. In: Braun H.J., Carlquist S., Ozenda D., Roth I., eds. *Encyclopedia of plant anatomy*, Vol. XIII, pp.58-84. Gebruder Borntraeger, Berlin-Stuttgart.
- Fahn, A. (2000). Structure and Function of Secretory Cells. *Advances in Botanical Research* **31**: 37-75.
- Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., Pedro, L.G., Salgueiro, L., Miguel, M.G., and Faleiro, M.L. (2008). Portuguese *Thymbra* and *Thymus* Species Volatiles: Chemical Composition and Biological Activities. *Current Pharmaceutical Design* **14**: 3120-3140.

- Gersbach, P.V., Wyllie, S.G., and Sarafis, V. (2001). A new histochemical method for localization of the site of monoterpene phenol accumulation in plant secretory structures. *Annals of Botany* **88**: 521-525.
- Godley, E.J. (1985). Paths to maturity. New Zealand. *Journal of Botany* **23**: 687-706.
- Grimstone, A., and Skaer, R. (1972). A guide book to microscopical methods. Cambridge University Press, London.
- Guerin, H., Delaveau, P., and Paris, R. (1971). Localisations histochimiques.II : Procedes simples de localization de pigments flavoniques. Application a quelques Phanerogames. *Societe Botanique de France* **118**: 29-36.
- Hallahan, D.L. (2000). Monoterpenoid Biosynthesis in Grandular trichomes of Labiatae plants. *Advances in Botanical Research* **31**: 77-120.
- Jarvis, P.G. and Slatyer, R.O. (1970). The role of the mesophyll cell wall in leaf transpiration. *Planta* **90**: 303-322.
- Johansen, D. (1940). Plant Microtechnique. 1<sup>st</sup> Edition. Mc Graw-Hill.
- Jones, C.S. (1993). Heterochrony and heteroblastic leaf development in two subspecies of *Cucurbita argyrosperma* (Cucurbitaceae). *American Journal of Botany* **80**: 778-795.
- Kaplan, D. R. (1971). On the value of comparative development in phylogenetic studies-a rejoinder. *Phytomorphology* **21**: 34-140.
- Karabourniotis, G. and Fasseas, C. (1996). The dense indumentum with its polyphenol content may replace the protective role of the epidermis in some young xeromorphic leaves. *Canadian Journal of Botany* **74**: 347-351.
- Karabourniotis, G., Bornman, J.F. and Nikolopoulos, D. (2000). A possible optical role of the bundle sheath extensions of the heterobaric leaves of *Vitis vinifera* and *Quercus coccifera*. *Plant cell and environment* **23**: 423-430.
- Karabourniotis, G., Tzobanoglou, D., Nikolopoulos, D. and Liakopoulos, G. (2001). Epicuticular phenolics over quard cells: Exploitation for in situ stomatal counting by fluorescense microscopy and combined image analysis. *Annals of Botany* **87**:631-639.
- Kelly, D. and Ogle, M.R. (1990). A test of the climate hypothesis for divaricate plants. *New Zealand Journal of Ecology* **13**: 51-61.
- Kofidis, G., Bosabalidis, A.M. and Moustakas, M. (2003). Contemporary Seasonal and

- altitudinal Variations of leaf Structural Features in Oregano (*Origanum vulgare* L.). *Annals of Botany* **92**: 635-645.
- Kokkini, S., Karousou, R. and Vokou, D. (1994). Pattern of Geographic Variation of *Origanum vulgare* Trichomes and Essential Oil Content in Greece. *Biochemical Systematics and Ecology* **22** (5): 517-528.
- Kolalite, M. R. (1998). Comparative analysis of ultrastructure of glandular trichomes in two *Nepeta cataria* chemotypes (*N. cataria* and *N. cataria* var. *citriodora*). *Nord. J. Bot.* **18**: 589-598.
- Kummerow, J. (1973). Comparative Anatomy of Sclerophylls of Mediterranean Climatic Areas. In : Di Castri F. and Mooney H.A., eds. *Mediterranean type ecosystems. Origin and structure*. Springer-Verlang, Berlin.
- Lersten, N.R., Czapinski, A.R., Curtis, J.D., Freckmann, R., and Horner, H.T. (2006). Oil bodies in leaf mesophyll cells of angiosperms: overview and a selected survey. *American Journal of Botany* **93**(12): 1731-1739.
- Lichtenthaler, H.K. (1999). The 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **50**: 47-65.
- Lidforss, B. (1893). Studier ofver elaiosferer o ortbladens mesofyll och epidermis.
- Lin, W., Oliver, D.J. (2008). Role of triacylglycerols in leaves. *Plant Science* **175**: 233-237.
- Lord, E.M. and Hill, J.P. (1987). Evidence for heterochrony in the evolution of plant form. *Development as an evolutionary process*. Ed. R.A. Raff, E.C. Raff. Alan R. Liss. New York.
- Maksymowych, R. (1990). Analysis of growth and development of *Xanthium*, pp.220. Cambridge University Press, Cambridge.
- Margaris, N.S. and Papadopoulou, E. (1975). Day Length Effect on Leaf Anatomy of *Phlomis fruticosa*. *Biologia Gallo - Hellenica* **6**: 153-159.
- Margaris, N.S. (1979). Non-structural Carbohydrate status in a Phrygantic (East Mediterranean) Ecosystem. *Int. J. Biometeor* **4**: 337-342.
- Margaris, N.S. (1981). Adaptive strategies in plants dominating, Mediterranean- type ecosystems. In: F. Di Castri *et al.*, eds. *Mediterranean Type Shrublands*. Elsevier Scientific Publishing Company. Amsterdam.

- Maximov, N.A. (1931). The physiological significance of the xeromorphic structure of plants. *Journal of Ecology* **19**: 272-282.
- McCaskill, D., Gershenzon, J. and Croteau, R. (1992). Morphology and monoterpene biosynthetic capabilities of secretory cell clusters isolated from glandular trichomes of peppermint (*Mentha piperita* L.). *Planta* **187**: 445-454.
- McGlone, M.S. and Webb, C.J. (1981). Selective forces influencing the evolution of divaricating plants. *N.Z. Journal of Ecology*. **4**: 20-28.
- McLellan, T. (1990). Development of differences in leaf shape in *Begonia dregei* (Begoniaceae). *American Journal of Botany* **77**: 323-337.
- Meidner, H. and Mansfield, T.S. (1968). Physiology of stomata. London, McGraw-Hill.
- Meidner, H. and Sheriff, D.W. (1976). Water and plants. Glasgow: Blackie.
- Naidoo, Y., Samuels, J.N., Nicholas, A. and Rampersad, E. (2009). Leaf Micromorphology of the African Medicinal Plant *Xysmalobium undulatum*. *Microsc Microanal* **15** (Suppl 2): 884-885.
- Nonami, H. and Schulze, E.D. (1989). Cell wall potential, osmotic potential, and turgor in the epidermis and mesophyll of transpiring leaves. *Planta* **177**: 35-46.
- O'Brien, T.P., Feder, N. and McCully, M.E. (1965). Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* **59**: 368-373.
- Orshan, G. (1964). Seasonal dimorphism of desert and mediterranean chamaephytes and its significance as a factor in their water economy. In: Rutter, A.J. and Whitehead, F.H., eds. *The water relations of plants, A Symposium of British Ecological Society*, pp. 206-222. Blackwells, Oxford.
- Orshan, G. (editor) (1989). Plant Pheno-morphological studies in mediterranean Type Ecosystems. *Geobotany* 12. Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
- Parkhurst, D.F. (1986). Internal leaf structure: a three-dimensional perspective. In : Girnish T.J., ed. *On the Economy of Plant Form and Function*, pp.215-249. Cambridge: Cambridge University Press.
- Parkhurst, D.F. (1994). Tansley Review No. 65. Diffusion of CO<sub>2</sub> and other gases inside leaves. *New Phytologist* **126**: 449-479.
- Pasqua, G., Monacelli, B. and Silvestrini, A. (2003). Accumulation of essential oils in reaction to root differentiation in *Angelica archangelica* L. *European Journal of Histochemistry* **47**(1): 87-90.

- Psaras, G.K. (1986). Chloroplast arrangement along intercellular spaces in the leaves of a Mediterranean subshrub. *Journal of Plant Physiology* **126**: 189-193.
- Psaras, G.K. and Christodoulakis N.S. (1987). Air Pollution Effects on the Ultrastructure of *Phlomis fruticosa* Mesophyll Cells. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **38**(4): 610-617.
- Psaras, G.K and Rhizopoulou, S. (1995). Mesophyll structure during leaf development in *Ballota acetabulosa*. *New Phytologist* **131** (3): 303-309.
- Pyke, K.A, Jellings, A.J and Leech, R.M. (1990). Variation in mesophyll cell number and size in wheat leaves. *Annals of Botany* **65**:679-693.
- Pyykko, M.(1966). The Leaf Anatomy of East Patagonian Xeromorphic Plants. *Annales Botanici Fennici* **3**(3): 453-622.
- Raven, J.A. (1984). Physiological correlates of the morphology of early vascular plants. *Botanical Journal of the Linnean Society* **88**: 105-126.
- Raven, J.A. (1993). The evolution of vascular plants in relation to quantitative functioning of dead water-conducting cells and stomata. *Biological Reviews* **68**: 337-363.
- Rhizopoulou, S. and Mitrakos, K. (1990). Water relations of evergreen sclerophylls. I. Seasonal changes in the water relations of eleven species from the same environment. *Annals of Botany* **65**: 171-178.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. and Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in plant science*. Vol. 2. No 4.
- Rost, F.W.D. (1992). Fluorescence microscopy. Cambridge University Press, Cambridge.
- Scheen, A., Bendiksby, M., Ryding, O., Mathiesen, C., Albert, V. and Lindqvist., C. (2010). Molecular Phylogenetics, Character Evolution and Suprageneric Classification of Lamioideae (Lamiaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* **97**(2):191-217.
- Schulze, E.D. (1986). Carbon dioxide and water vapor exchange in response to drought in the atmosphere and in the soil. *Annual Review of Plant Physiology* **37**: 247-274.
- Sever Yilmaz, B., Altanlar, N. and Çitoğlu, G.S. (2005). Antilisterial activity of *Ballota* species growing in Turkey. *Journal of faculty of pharmacy of Ankara University* **34** (3): 155-164.
- Sharma, S., Sangwan, N.S. and Sangwan, R.S. (2003). Developmental process of

- essential oil glandular trichome collapsing in menthol mint research communications. *Current Science* **84** (4): 544-550.
- Stahl-Biskup, E. (2002). Essential oil chemistry of the genus *Thymus*-a global view. In: Stahl-Biskup, E., Sa'ez, F., eds. *Thyme. The Genus Thymus*. CRC Press, London.
- Taiz, L. and Zeiger, E. (2002). *Plant Physiology*. 3<sup>rd</sup> Edition. Sinauer Associates, Inc., Publishers. Sunderland, Massachusetts.
- Thaler, I. and Amelunxen, F. (1975). Eiweisskristalle und Vacuoleneinschlusse von *Lilium tigrinum*. *Protoplasma* **85**: 71-84.
- Turner, G.W., Gershenzon, J., Nielson, E.E., Froehlich, J.E. and Croteau, R.B. (1999). Limonene Synthase, the Enzyme Responsible for Monoterpene Biosynthesis in Peppermint is localized to leucoplasts of oil gland secretory cells. *Plant Physiology* **120**: 879-886.
- Turner, G.W., Gershenzon, J. and Croteau, R.B. (2000). Development of peltate glandular trichomes on developing leaves of peppermint. *Plant Physiol.* **124**: 655–679.
- Turrell, F.M. (1936). The area of the internal exposed surface of dicotyledon leaves. *American Journal of Botany* **23**: 255-264.
- Venkatachalam, K.V., Kjonaas, R. and Croteau, R. (1984). Development and essential oil content of secretory glands of sage (*Salvia officinalis*). *Plant Physiology* **76**: 148–150.
- Vokou, D. and Margaris, N.S. (1986). Variation of Volatile Oil Concentration of Mediterranean Aromatic Shrubs *Thymus capitatus* Hoffmag et Link, *Satureja thymbra* L., *Teucrium polium* L. and *Rosmarinus officinalis*. *Int. J. Biometeor.* **30** (2): 147-155.
- Weaver, L.M. and Herrmann, K.M. (1997). Dynamics of the shikimate pathway in plants. *Trends in Plant Science* **2**(9):346-351.
- Went, F.W. (1971). Parallel evolution. *Taxon* **20**: 197-226.
- Werker, E., Putievsky, E. and Ravid, U. (1985a). The Essential Oils and Glandular Hairs in Different Chemotypes of *Origanum vulgare* L. *Annals of Botany* **55**: 793-801.
- Werker, E., Ravid, U. and Putievsky, E. (1985b). Structure of glandular hairs and identification of the main components of their secreted material in some species of the Labiatae. *Israel Journal of Botany* **34**: 31-45.

- Werker, E. (1993). Function of Essential Oil-Secreting Glandular Hairs in Aromatic Plants of the Lamiaceae-A Review. *Flavour and Fragrance Journal* **8**: 249-255.
- Werker, E. (2000). Trichome Diversity and Development. *Advances in Botanical Research* **31**: 1-35.
- Westman, W.E. (1981). Seasonal Dimorphism of Foliage in Californian Coastal Sage Scrub. *Oecologia* (Berl.) **51** (3): 385-388.
- Westman, W.E. (1985). Air Pollution Injury to Coastal Sage Scrub in the Santa Monica Mountains, Southern California. *Water, Air, Soil Pollut.* **26** (1): 19-41.
- Wink, M. (2003). Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry* **64**: 3-19.

### **Ελληνική βιβλιογραφία**

- Βαρδαβάκης, Μ. (1993). *Συστηματική Βοτανική* (Κρυπτόγαμα-Σπερματόφυτα). Τόμος Ι, Έκδοση 4<sup>η</sup>. Εκδόσεις Σαλονικίδης, Θεσσαλονίκη.
- Γκιάφη, Ζ. (2005). Η ανάπτυξη των αδενωδών τριχών στα φύλλα του φυτού *Rosmarinus officinalis*. Μεταπτυχιακή διατριβή. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.
- Διαμαντόπουλος, Ι. (1983). Δομή και Διανομή των Ελληνικών φρυγανικών οικοσυστημάτων. Διδακτορική διατριβή. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη.
- Διοσκουρίδης, Π. (77μ.Χ.). Περί ύλης ιατρικής. Εκδόσεις Μίλητος (1999), Αθήνα.
- Ζερλέντης, Κ. (1981). *Συστηματική Βοτανική*, μέρος 2<sup>ο</sup> και 3<sup>ο</sup>. Ανωτάτη Γεωπονική Σχολή Αθηνών, Εργαστήριο Συστηματικής Βοτανικής.
- Ιγνατίου, Μ. (2008). Ανατομική και ιστοχημική μελέτη των φύλλων της πικραγουριάς (*Ecballium elaterium*). Πτυχιακή εργασία. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.
- Καραμπουρνιώτης, Γ. Α. (2003). Φυσιολογία Καταπονήσεων των Φυτών. Οι λειτουργίες των φυτών κάτω από αντίξοες συνθήκες. Εκδόσεις Έμβρυο.
- Κόλλια, Σ. (2011). Πολυμορφικότητα των φύλλων του φυτού *Thymbra capitata* L. Cav. Διδακτορική διατριβή. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.
- Κυπαρίσσης, Α. (1995). *Phlomis fruticosa* L.: Το πρότυπο του εποχιακού διμορφισμού των φύλλων και το προσαρμοστικό δυναμικό τους στις ιδιαίτερες συνθήκες του μεσογειακού κλίματος. Διδακτορική Διατριβή. Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα.
- Μαΐστρου, Ε. (2010). Ανατομική και ιστοχημική μελέτη των φύλλων του ρεικιού (*Erica*

- manipuliflora*). Πτυχιακή εργασία. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.
- Μαυροειδή, Δ.Ε. (2011). Ανατομικές και ιστοχημικές διαφορές στα φύλλα του *Teucrium polium* L. κατά τη διάρκεια του έτους και χημική ανάλυση των αιθέριων ελαίων του. Μεταπτυχιακή διατριβή. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.
- Μπαμπαλώνας, Δ. και Κοκκίνη, Σ. (2004) *Συστηματική Βοτανική: Φυλογενετική-Φαινετική Προσέγγιση της Ταξινόμησης των Φυτικών Οργανισμών*. Εκδόσεις Αϊβάζη, Θεσσαλονίκη.
- Μποζαμπαλίδης, Α. (2008). Οι αδένες των φυτών. Θεσσαλονίκη.
- Ρέππα, Χ. (2009). Κατανομή των ετεροβαρών φύλλων στη χλωρίδα μιας τυπικής μεσογειακής περιοχής.
- Σαρλής, Γ. (1999). *Συστηματική Βοτανική. Εφαρμογές Κορμοφύτων*. Εκδόσεις Σταμούλης, Αθήνα.
- Τσέκος, Ι. (2003). *Φυσιολογία Φυτών*, τόμοι 1,2. Εκδοτικός Οίκος Αδελφών Κυριακίδη Α.Ε.
- Φασσέας, Κ. (1999). *Λεπτή Δομή Κυττάρου*. Μικροσκοπία Εφαρμοσμένη στη Γεωπονία. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Εργαστήριο Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας, Αθήνα.
- Χρονοπούλου-Σερέλη, Α. (2010). *Μαθήματα Γεωργικής Μετεωρολογίας και Κλιματολογίας*. Εκδόσεις Ζήτη, Θεσσαλονίκη.

### **Πληροφορίες από τον ιστό**

#### **Σχετικά με την ταξινόμηση:**

URL: [http:// zipcodezoo.com/Plants/B/Ballota\\_acetabulosa/](http://zipcodezoo.com/Plants/B/Ballota_acetabulosa/) (16/09/12).

#### **Σχετικά με τη μορφολογία του φυτού:**

URL: [http:// kytheraismos.blogspot.gr/2012/07/ballota\\_acetabulosa-l.html](http://kytheraismos.blogspot.gr/2012/07/ballota_acetabulosa-l.html) (09/07/2012).





***Ballotta acetabulosa***