

Ο πολυμορφισμός των γυρεοκόκκων του φυτού *Satureja thymbra*

Της

Χριστίνας Ξ. Φλώρου



Ερευνητική εργασία στα πλαίσια του
Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης
« Βιοτεχνολογία και Εφαρμογές στη
Γεωπονία »

Επιβλέπων: Φασσέας Κωνσταντίνος
Καθηγητής Εργαστηρίου Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΚΗΣ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑΣ

Ο πολυμορφισμός των γυρεοκόκκων του φυτού *Satureja thymbra*

Της

Χριστίνας Ξ. Φλώρου

Ερευνητική εργασία στα πλαίσια του
Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης
« Βιοτεχνολογία και Εφαρμογές στη Γεωπονία »

Επιβλέπων: Φασσέας Κωνσταντίνος
Καθηγητής Εργαστηρίου Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας

ΑΘΗΝΑ 2011

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΚΗΣ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΘΕΜΑ

Ο πολυμορφισμός των γυρεοκόκκων του φυτού *Satureja thymbra*

Χριστίνα Ξ. Φλώρου

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Φασσέας Κωνσταντίνος (Επιβλέπων)

Καθηγητής

Διευθυντής εργαστηρίου Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας

Αϊβαλάκις Γεώργιος

Αναπληρωτής καθηγητής

Εργαστήριο Φυσιολογίας και Μορφολογίας Φυτών

Καραμπουρνιώτης Γεώργιος

Καθηγητής

Διευθυντής εργαστηρίου Φυσιολογίας και Μορφολογίας Φυτών

ΑΘΗΝΑ 2011

Στους γονείς μου, Ξενοφών και Λουκία,
για όλες τις ευκαιρίες που μου παρείχαν στη μόρφωση.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η εκπόνηση της παρούσας εργασίας πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, υπό την άμεση επίβλεψη του καθηγητή κ. Κωνσταντίνου Φασσέα, στα πλαίσια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών του τμήματος Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας.

Τον καθηγητή κ. Κωνσταντίνο Φασσέα, διευθυντή του εργαστηρίου Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας, δεν αρκεί να τον ευχαριστήσω απλά για την ανάθεση, επίβλεψη και διόρθωση αυτής της μελέτης. Πρωτίστως, τον ευχαριστώ γιατί με εμπιστεύτηκε και μου έδωσε ευκαιρίες που κάθε νέος επιστήμονας χρειάζεται για να προχωρήσει ένα βήμα πιο μπροστά. Τον ευχαριστώ επίσης, γιατί μου αφιέρωσε τον πολύτιμο χρόνο του αλλά και γιατί χωρίς τις καίριες υποδείξεις και την αφειδή προσφορά της εμπειρίας του, η εργασία αυτή αναμφίβολα δεν θα είχε ολοκληρωθεί.

Έπονται των ευχαριστιών μου, αλλά όχι της εκτίμησης και του σεβασμού που τρέφω, ο κ. Γεώργιος Αϊβαλάκις, αναπληρωτής καθηγητής του εργαστηρίου Φυσιολογίας και Μορφολογίας Φυτών και ο κ. Γεώργιος Καραμπουρνιώτης, καθηγητής και διευθυντής του ίδιου εργαστηρίου. Τους ευχαριστώ θερμά γιατί η συμμετοχή τους στην εξεταστική επιτροπή αποτελεί το επιστέγασμα αυτής της ενασχόλησης.

Τη γεωπόνο κ. Σοφία Καραμπουρνιώτη θα' θελα να ευχαριστήσω, για την υπομονή, τη μεταφορά της πολύτιμης εμπειρίας της και μέρους των πραγματικά ανεξάντλητων γνώσεων που διαθέτει καθώς και για την εξαιρετική συνεργασία κατά τη διάρκεια του πειράματος.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να αποδώσω στον κ. Γεράσιμο Συμιλλίδη, λέκτορα του εργαστηρίου Βελτίωσης Φυτών και Γεωργικού Πειραματισμού, καθώς και στον κ. Αναστάσιο Κατσιλέρο, μέλος του ίδιου εργαστηρίου (Ε.Τ.Ε.Π.), για τη φιλική

τους προσέγγιση και για την ανεκτίμητη βοήθεια τους στα θέματα που αφορούν τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

Ευχαριστώ βαθύτατα την κ. Σμαράγδα Κόλλια, γεωπόνο, που με προέτρεψε να ξεκινήσω τις μεταπτυχιακές μου σπουδές στη Βιοτεχνολογία και που διέκρινε σε μένα την όρεξη να τις πραγματοποιήσω. Με την ευγένεια του χαρακτήρα της, την άπλετη υπομονή της και το επίπεδο της ακαδημαϊκής της κατάρτισης, με δίδαξε, με δυσκόλεψε, με έμαθε να σκέφτομαι σφαιρικά, να διεκδικώ σωστά, να δουλεύω μεθοδικά. Θεωρώ τον εαυτό μου τυχερό που την γνώρισα, όπως θεωρώ και ότι, το καλύτερο ευχαριστώ θα ήταν να μην ξεχάσω ποτέ.

Τον φίλο και συνάδελφο, κ. Γεώργιο Τσικρισάκη, ευχαριστώ θερμά καθώς υπήρξε συνταξιδιώτης μου σε αυτή την Ιθάκη. Που ήταν κοντά μου και αγωνιζόταν μαζί μου ενάντια «στους Λαιστρυγόνες, τους Κύκλωπας και τον άγριο Ποσειδώνα». Τον ευχαριστώ για την υπομονή, την αμέριστη συμπαράσταση και στήριξη, αλλά και γιατί η παρουσία και η βοήθεια του ήταν για μένα ανεκτίμητες. Για όλα αυτά και τόσα ακόμα που δεν περιγράφονται με λέξεις...Ευχαριστώ.

Τέλος, ένα τεράστιο ευχαριστώ οφείλω στην οικογένεια μου, που με στηρίζει ηθικά, συναισθηματικά και υλικά τόσα χρόνια, με τις τόσες προσωπικές τους στερήσεις και θυσίες.

Χριστίνα Ξ. Φλώρου
Αθήνα, Ιανουάριος 2011.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΜΗΣΕΩΝ.....	8
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	9
SUMMARY.....	10
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	11
<i>I. Η ανάπτυξη του γυρεόκοκκου.....</i>	<i>11</i>
<i>II. Η μορφολογία του γυρεόκοκκου.....</i>	<i>12</i>
<i>III. Εφαρμογή της μορφολογίας των γυρεοκόκκων στην ταυτοποίηση τους.....</i>	<i>17</i>
<i>Χαρακτηριστικά των γυρεοκόκκων ως εφαρμογή για την ταυτοποίηση τους:</i> <i>κατά Sawyer, 1988.....</i>	<i>18</i>
<i>Χαρακτηριστικά των γυρεοκόκκων ως εφαρμογή για την ταυτοποίηση τους:</i> <i>κατά Moore et al., 1991.....</i>	<i>22</i>
<i>IV. Φρύγανα : Satureja thymbra.....</i>	<i>30</i>
<i>V. Σκοπός της εργασίας.....</i>	<i>33</i>
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	34
<i>I. Προετοιμασία δειγμάτων για παρατήρηση κάτω από το φακό του οπτικού μικροσκοπίου.....</i>	<i>36</i>
<i>II. Προετοιμασία δειγμάτων για παρατήρηση χρησιμοποιώντας το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης.....</i>	<i>39</i>
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	40
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	45
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	48
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	49

ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΜΗΣΕΩΝ

E	Ισημερινή διάμετρος γυρεοκόκκων (Equatorial diameter of pollen grains)
EX	Πάχος εξωδέρματος (Exine thickness)
LM	Οπτικό μικροσκόπιο (Light microscope)
P	Μήκος μεταξύ των πόλων (Polar axis length of pollen grains)
SEM	Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (Scanning electron microscope)
STD ERROR	Τυπικό σφάλμα του μέσου (Standard Error)
EMY	Εθνική Μετεωρολογική Υπηρεσία (National Meteorological Services)
ΚΤΠ	Κώδικας Τροφίμων και Ποτών

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα μελέτη, μετρήθηκαν τα παλυνολογικά χαρακτηριστικά του φυτού *Satureja thymbra* το οποίο συλλέχθηκε από δύο διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας. Χρησιμοποιώντας οπτικό μικροσκόπιο και ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης, μετρήθηκε το μέγεθος και καταγράφηκαν τα χαρακτηριστικά του ανάγλυφου της εξίνης, κατά συνέπεια ποσοτικοποιήθηκε ο πολυμορφισμός των γυρεοκόκκων. Εφαρμόστηκε στατιστική ανάλυση ANOVA και τα αποτελέσματα αποκάλυψαν διαφορές στα lumina (ανοίγματα του ανάγλυφου της εξίνης) ως προς τη διάμετρό τους και το πλάτος των muri (χωρίσματα μεταξύ των lumina) ανάμεσα στις δυο γεωγραφικές περιοχές. Επίσης, τρία άλλα παλυνολογικά χαρακτηριστικά όπως επιφάνεια, περίμετρος και ισημερινή διάμετρος, δεν διέφεραν στατιστικά. Τα αποτελέσματα δείχνουν την ύπαρξη γεωγραφικού πολυμορφισμού των γυρεοκόκκων του *S. thymbra*. Ο πολυμορφισμός σχετίστηκε με περιβαλλοντικές παραμέτρους και κυρίως με τη διαθεσιμότητα νερού. Η μέση βροχόπτωση φαίνεται να αποτελεί τον κύριο παράγοντα που συμβάλλει στη μορφολογική παραλλαγή των γυρεοκόκκων, επηρεάζοντας το ανάγλυφο του εξωστρώματος.

Λέξεις κλειδιά: *Satureja thymbra*, πολυμορφισμός γυρεοκόκκων, ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (ΗΜΣ), οπτικό μικροσκόπιο (ΟΜ).

SUMMARY

Pollen polymorphism in *Satureja thymbra* (Lamiaceae)

In this study, the palynological characteristics of the plant *Satureja thymbra*, collected from two different areas of Greece, were measured. Using light and scanning electron microscopy, the size and the characteristics of exine sculpture were measured, in order to quantify the pollen polymorphism of *S. thymbra*. The statistical analysis with one-way ANOVA was applied and the results revealed differences in the lumina (openings on the exine sculpture), the diameter and the width of muri (partitions between the lumina) between the two geographical areas. Also, three other palynological characteristics, such as surface, perimeter and equatorial diameter, did not differ statistically. The results show the existence of geographical polymorphism in pollen grains of *S. thymbra*. The polymorphism has been related to environmental parameters and mainly with water availability. Average rainfall seems to be the main factor contributing to the morphological variation of pollen grains by affecting their exine sculpture.

Key words: *Satureja thymbra*, pollen polymorphism, scanning electron microscopy (SEM), light microscopy (LM).

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. Η ανάπτυξη του γυρεόκοκκου

Η διαδικασία ανάπτυξης του γυρεόκοκκου ξεκινά όταν τα αρχικά σπορογεννητικά κύτταρα (sporogenous cells) αρχίζουν να διαιρούνται μιτωτικά, σε διαφορετικά επίπεδα, παράλληλα με την ανάπτυξη του τοιχώματος του γυρεόσακου. Τα προϊόντα αυτών των διαιρέσεων είναι τα μητρικά κύτταρα της γύρης (pollen mother cells). Κάθε μητρικό κύτταρο διαιρείται μειωτικά, σχηματίζοντας μια τετράδα γυρεοκόκκων. Λίγο πριν τη μείωση αυτή, τα αρχικά τοιχώματα των μητρικών κυττάρων αντικαθίστανται από πυκνές ζώνες καλλόζης, όμως πολλές ζώνες πρωτοπλάσματος αναπτύσσονται μεταξύ των κυττάρων, ώστε τα μητρικά κύτταρα και ο γυρεόσακος να σχηματίζουν ένα συγκύτιο (syncytium). Στο τέλος των μειωτικών διαιρέσεων, τα απλοειδή μικροσπόρια μαζεύονται στην τετράδα, πλήρως καλυμμένη από καλλόζη και χωρίς επαφή με αμφιθαλείς απογόνους ή τον γονέα.

Η διευθέτηση των γυρεοκόκκων στην τετράδα, διαφέρει ανάμεσα στα είδη, ακόμη και μέσα στο ίδιο είδος. Οι δύο πιο κοινοί τρόποι διευθέτησης είναι ο τετραεδρικός (tetrahedral) και ο ισοδιπλευρικός (isobilateral).

Ο σχηματισμός του τοιχώματος, που ακολουθεί τη μειωτική διαίρεση των μητρικών κυττάρων, εμφανίζεται με δύο τύπους: α) το διαδοχικό τύπο (successive type), στον οποίο κάθε διαίρεση συνοδεύεται από το σχηματισμό τοιχώματος και β) τον ταυτόχρονο τύπο (simultaneous type), στον οποίο περιφερειακές συσφίξεις αρχίζουν να αναπτύσσονται μετά το πέρας του σχηματισμού των τεσσάρων πυρήνων και ο σχηματισμός του τοιχώματος ξεκινά από αυτές τις συσφίξεις προς τα μέσα. Ο πρώτος τύπος είναι πιο συνηθισμένος στα μονοκότυλα φυτά, ενώ ο δεύτερος στα δικότυλα.

Ως προς τη χημική σύσταση των γυρεόκοκκων, σύμφωνα με τους Roulston και Cane (2000), υπάρχουν αρκετές διαφορές από είδος σε είδος ενώ το εύρος των τιμών

που έχουν βρεθεί είναι αυτό που αναφέρεται σε παλαιότερη εργασία των McLean και Ivimey-Cook (1956) και είναι :

- Λίπη 0.9-14.5 %
- Νερό 7-16 %
- Πρωτεΐνες 7-26%
- Τέφρα 0.9-5.4%
- Υδατάνθρακες 24-48 %

II. Η μορφολογία του γυρεόκοκκου

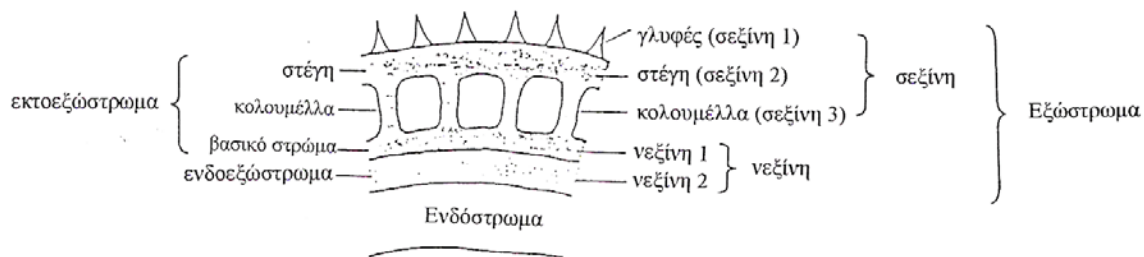
Το εξωτερικό τοίχωμα του γυρεόκοκκου, εξασφαλίζει τη διατήρηση του περιεχόμενου αρσενικού γαμετόφυτου κατά τη διάρκεια της μεταφοράς του από τον ανθήρα στο στίγμα του υπέρου καθώς επίσης διασφαλίζει και την εύκολη βλάστηση του γυρεόκοκκου πάνω στο στίγμα του υπέρου. Η διπλή αυτή λειτουργία του τοιχώματος του γυρεόκοκκου ανακλάται στο πολυποίκιλο της εξωτερικής του υφής, η οποία χαρακτηρίζεται από την παρουσία αγκαθιών, γλυφών, επαρμάτων, πόρων, φυματίων κ.ά., κατασκευές που εκτός των άλλων, εξασφαλίζουν και τη μεταφορά τους από τους φορείς τους και ιδιαίτερα τα έντομα.

Το τοίχωμα των ζωντανών γυρεόκοκκων των ανωτέρων σπερματόφυτων, συνιστούν δύο στρώματα: ένα εξωτερικό και ένα εσωτερικό. Το εξωτερικό στρώμα, καλείται **εξώστρωμα ή εξίνη** (exine) και αποτελείται από ένα υλικό γνωστό ως **σποροπολλενίνη** (sporopollenium) μαζί με μικρές ποσότητες πολυσακχαριτών. Το στρώμα αυτό, μερικές φορές αναφέρεται και ως **γλυκοκάλυξ**. Αντίθετα, το εσωτερικό στρώμα, ονομάζεται **ενδόστρωμα** (intine), και απαρτίζεται από κυτταρίνη και μικρή ποσότητα πηκτίνης ενώ είναι διαποτισμένο με πρωτεϊνικής φύσεως υλικά. Από κατασκευαστική άποψη, θα μπορούσε να ειπωθεί πως, είναι παρόμοιο με το κυτταρικό τοίχωμα ενός κοινού κυττάρου.

Η σποροπολλενίνη, αποτελεί ένα πολύ ανθεκτικό στρώμα, ιδιαίτερα σε οξέα, όπως το θερμό οξικό οξύ και το πυκνό θειικό οξύ. Τη συναντάμε στους απολιθωμένους

γυρεόκοκκους και θεωρείται ως ένα σύμπλοκο πολυμερές των καροτινοειδών και των εστέρων τους με οξυγόνο (Shaw, 1971), σύμφωνα με ανάλυση φάσματος στο υπέρυθρο. Επίσης, απαντά μόνο στα ανώτερα φυτά (αγγειόσπερμα και γυμνόσπερμα).

Το εξωτερικό στρώμα αποτελείται από δύο στρώσεις, μία εξωτερική ανάγλυφη που καλείται σεξίνη (sexine) και μία εσωτερική ομαλή και χωρίς γλυφές, τη νεξίνη (nexine). Η σεξίνη, φέρει ακτινωτές ραβδώσεις γνωστές ως κολουμέλλα (columella), οι οποίες προς τα έξω συγκρατούν μια οροφή που καλείται στέγη (tectum). Αυτή, μπορεί να είναι διαλυμένη κατά θέσεις ή και να απουσιάζει τελείως (Σχ.1). Επιπλέον, στη σεξίνη, υπάρχουν κάποιες ραβδώσεις που δεν συγκρατούν τίποτα και λέγονται βάκτρα ή σκήπτρα (baculum).



Σχήμα 1. Οι επιμέρους ζώνες του εξωστρώματος και του ενδοστρώματος του γυρεόκοκκου (από Moore *et al.*, 1991).

Η διαφορετική συμπεριφορά των στρώσεων του γυρεόκοκκου στις χρωστικές, καθώς και η διαφορετική διαλυτότητα τους, φανερώνουν πως η σποροπολλενίνη των δύο στρωμάτων διαφέρει χημικώς. Παράλληλα, η μελέτη φωτογραφιών ηλεκτρονικού μικροσκοπίου, πιστοποίησε διαφορές στον τρόπο εναπόθεσης της σποροπολλενίνης στο εξώστρωμα.

Ο σχηματισμός των τοιχωμάτων των γυρεοκόκκων αρχίζει νωρίς, όταν ακόμη βρίσκονται στο στάδιο των τετρασπορίων και μόλις το κάθε κύτταρο αποχωριστεί τελείως από τα γειτονικά του με ένα στρώμα καλλόζης στο τοίχωμα του. Ακολούθως, σχηματίζεται ένα στρώμα κυτταρίνης μεταξύ του πλασμαλήματος του μικροσπορίου και του στρώματος της καλλόζης. Το στρώμα της κυτταρίνης, δημιουργεί ένα συνεχές

κάλυμμα στον ώριμο γυρεόκοκκο, εκτός μερικών περιοχών όπου υπάρχουν πόροι ή αυλακώσεις. Η μελέτη των γυρεοκόκκων, φανέρωσε ότι στις περιοχές των πόρων αποτίθεται μια πλάκα ενδοπλασμικού δικτύου πολύ κοντά και απέναντι από το πλασμάλλημα, έτσι ώστε να λειτουργεί ως ένα διάτρητο διαχωριστικό τοίχωμα που παρεμποδίζει την εναπόθεση κυτταρίνης στην περιοχή αυτή του τοιχώματος της καλλόζης. Κατά συνέπεια, η κυτταρίνη τοποθετείται σε όλο το τοίχωμα πλην της περιοχής απέναντι από το ενδοπλασμικό δίκτυο και οι θέσεις των μικροπόρων του γυρεόκοκκου αντιστοιχούν στις αρχικές θέσεις τοποθέτησης του ενδοπλασμικού δικτύου απέναντι στο πλασμάλλημα. Εάν η γεωμετρία των θέσεων των πλακών του ενδοπλασμικού δικτύου καταστραφεί, τότε διακόπτεται και ο σχηματισμός τους πάνω στο τοίχωμα του γυρεόκοκκου.

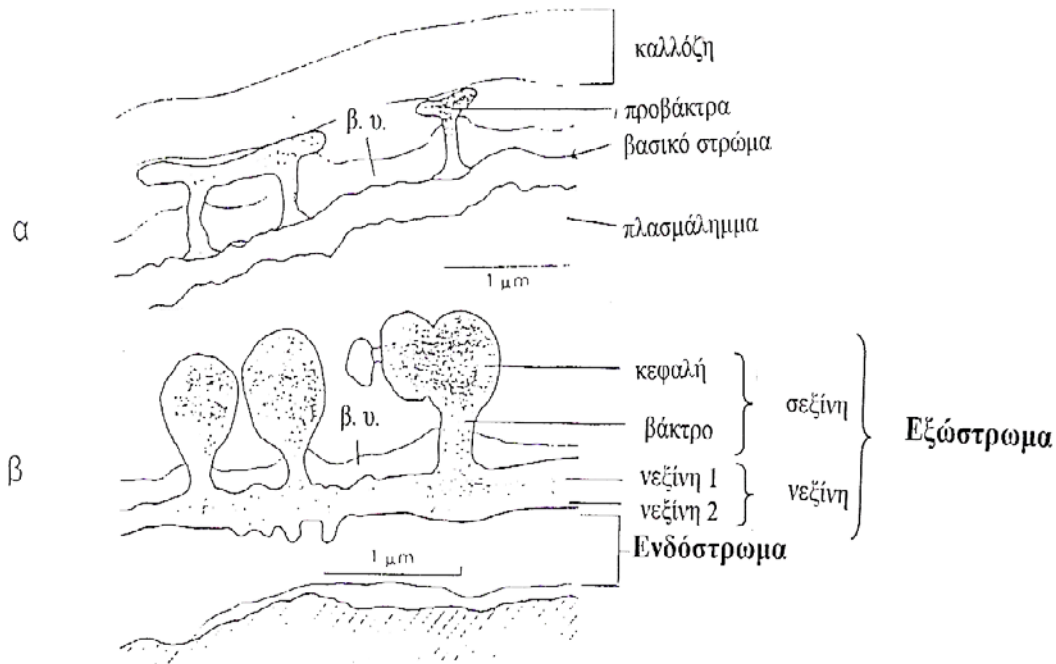
Στις περιοχές του γυρεόκοκκου που δεν υπάρχουν ανοίγματα, το στρώμα της κυτταρίνης φαίνεται να διατρέχεται ακτινοειδώς από ράβδους, που καλούνται πρόβακτρα (probacula) και αποτελούνται από λιποπρωτεΐνες. Συνεπώς, πριν την εμφάνιση της σποροπολλενίνης τα τρία χαρακτηριστικά του εξωστρώματος (η διανομή των βάκτρων, ο αριθμός και η θέση των ανοιγμάτων), έχουν ήδη πάρει τη θέση τους στο τοίχωμα. Μετά την εμφάνιση των προβάκτρων, αναπτύσσονται σύνδεσμοι μεταξύ των ποδών τους σχηματίζοντας έτσι την κατώτερη στρώση στο εξώστρωμα, που ονομάζεται νεξίνη (nexine). Παρόμοια, μεταξύ των κεφαλών των προβάκτρων αναπτύσσονται σύνδεσμοι και σχηματίζουν το ανώτερο στρώμα του εξωστρώματος κάτω από την καλλόζη, γνωστό ως στέγη (tectum) (Σχ.2α). Στο στάδιο αυτό, το πρόβακτρο γίνεται πιο παχύ και πυκνό χάνοντας έτσι τη μεμβρανώδη υφή του. Παράλληλα, το υλικό αυτό γίνεται ανθεκτικό στην ακετόλυση, πράγμα που σημαίνει ότι έχει ολοκληρωθεί η εναπόθεση της σποροπολλενίνης. Το στάδιο αυτό, είναι ευρέως γνωστό ως το στάδιο της πριμεξίνης (primexine).

Λίγο μετά, το παχύ στρώμα της καλλόζης σπάει και οι γυρεόκοκκοι ελευθερώνονται από τις τετράδες. Ακολουθεί μια γρήγορη φάση αύξησης του μεγέθους των γυρεοκόκκων που προκαλεί τέντωμα του εξωστρώματος, καθιστώντας το τελευταίο πιο λεπτό. Ταυτόχρονα, το στρώμα της κυτταρίνης, μέσα στο οποίο εισχωρούν τα πρόβακτρα, τεμαχίζεται και διασκορπίζεται, αφήνοντας μόνο μερικά υπολείμματα μεταξύ των προβάκτρων (Σχ.2β). Ο σχηματισμός του κατώτερου στρώματος του

εξωστρώματος, δηλαδή της νεξίνης και συγκεκριμένα της νεξίνης 2, καθώς επίσης και του ενδοστρώματος που αποτελείται από κυτταρίνη, αρχίζει λίγο πριν τη διάλυση της καλλόξης και το σχηματισμό των τετράδων. Η νεξίνη 2 κατασκευάζεται με την απόθεση μιας λεπτής μεμβράνης, που τοποθετείται κατά την έννοια της εφαπτομένης και παράγεται στην κυτοπλασματική μεμβράνη, πάνω στην οποία αποτίθεται η σποροπολλενίνη. Το ελασματοειδές αυτό υλικό, σχηματίζει κατά το μεγαλύτερο μέρος του, τις παχύνσεις γύρω από τον πόρο των γυρεοκόκκων στα μονοκότυλα φυτά. Η νεξίνη 2, συμμετέχει στην αρχιτεκτονική του γυρεοκόκκου, δημιουργώντας την ποικιλομορφία των παχύνσεων του.

Μετά τη διάλυση της καλλόξης που περιβάλλει τους γυρεόκοκκους, οι τελευταίοι ελευθερώνονται μέσα στο χώρο του ανθήρα και πολλοί από αυτούς έρχονται σε επαφή με τα κύτταρα του τάπητα. Το εσωτερικό των κυττάρων του τάπητα, φέρει μικρά σταγονίδια ή κοκκία λιπιδιακής φύσεως, γνωστά ως σφαιρίδια (orbicules). Τα σώματα αυτά, πιστεύεται να είναι **καροτινοειδή** και εστέρες αυτών, που αποτελούν τις πρόδρομες ουσίες της σποροπολλενίνης. Τα σφαιρίδια αυτά, ελευθερώνονται μέσα στο υγρό του ανθήρα καθώς τα ταπητικά κύτταρα σπάζουν. Ο ρόλος των σωματιδίων αυτών δεν είναι γνωστός και πιθανολογείται πως μεταφέρουν σποροπολλενίνη στις κατασκευές του εξωστρώματος.

Στο εξωτερικό περίβλημα των γυρεοκόκκων, απαντούν και διάφορες άλλες ουσίες που προέρχονται από τα ταπητικά κύτταρα, γνωστές ως **τρυφίνη** (tryphine) και **πολλενκίτη** (pollenkit). Η πολλενκίτη, προκύπτει από καροτινοειδή που συσσωρεύονται στα γύρω κύτταρα του τάπητα ενώ η τρυφίνη είναι το αποτέλεσμα αποικοδόμησης του ίδιου του ιστού του τάπητα. Σε αυτές, περιλαμβάνονται χαρακτηριστικές χρωστικές καθώς και κολλώδη ή εύοσμα υλικά με ιδιαίτερη σημασία για τις διεργασίες της επικονίασης. Τα ταπητικά κύτταρα μερικών γυρεοκόκκων παρέχουν επίσης και μία άλλη κατηγορία ουσιών στο εξώτερο μέρος του εξωστρώματος και στο χώρο μεταξύ των βάκτρων, οι οποίες καλούνται **πρωτεΐνες αναγνώρισης**. Τα υλικά αυτά, εξασφαλίζουν τη βλάστηση των γυρεοκόκκων μόνο επάνω σε ένα συμβιβαστό στίγμα υπέρου. Αντίθετα, σε περιπτώσεις ασυμβιβαστότητας, οι πρωτεΐνες αναγνώρισης προκαλούν αντίδραση η οποία σταματά την αύξηση της προβολής του γυρεοκόκκου.



Σχήμα 2. Επιμήκειες τομές τοιχώματος γυρεόκοκκου του φυτού *Lolium longiflorum*.

α: πρώτη φάση σχηματισμού του εξωστρώματος. Διακρίνονται τα πρόβακτρα ως κάθετοι ράβδοι που συνδέονται μεταξύ τους στο επάνω και κάτω μέρος τους. Ανάμεσα τους υπάρχει το βασικό υλικό (β.υ.) του γυρεόκοκκου. Στη βάση των ράβδων, σχηματίζεται ένα βασικό στρώμα, το οποίο θα αποτελέσει τη νεξίνη. Το κενό, που παρεμβάλλεται μεταξύ του βασικού στρώματος και του πλασματόλημματος, οφείλεται στη διαδικασία στερέωσης του υλικού. Στο επάνω μέρος η καλλόζη σχηματίζει ένα περίβλημα του γυρεόκοκκου.

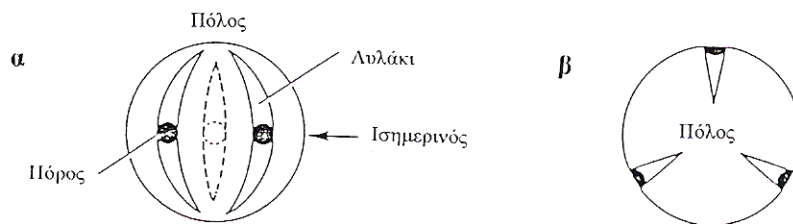
β: ώριμο εξώστρωμα. Εδώ, κάθε κάθετη ράβδος αναπτύσσεται πλήρως σε βάκτρο με μια εξογκωμένη κεφαλή και το βασικό στρώμα πλήρως ανεπτυγμένο. Το στρώμα αυτό θα δώσει το στρώμα της νεξίνης, διακρίνεται δε σε δύο ζώνες, τη νεξίνη 1 και τη νεξίνη 2. Κάτω από αυτές διακρίνεται το ενδόστρωμα, το οποίο αποτελείται αποκλειστικά από κυτταρίνη (από Moore *et al.*, 1991).

III. Εφαρμογή της μορφολογίας των γυρεοκόκκων στην ταυτοποίηση τους

Μορφολογικές περιοχές

Οι θέσεις πάνω στην επιφάνεια ενός γυρεόκοκκου, περιγράφονται χρησιμοποιώντας γνωστούς όρους από τις περιοχές της γης (Σχ.3).

Οι πολικές περιοχές (polar areas), ορίζονται ως οι δύο αντίθετες περιοχές που δεν φέρουν οπές (apertures). Ο ισημερινός (equator), είναι η περιοχή στο μέσο της απόστασης των δύο πόλων. Η πολική όψη (polar view) ενός κόκκου είναι προς την κατεύθυνση της πολικής περιοχής, αντίθετα, η ισημερινή (equatorial) ή πλευρική όψη προς την κατεύθυνση του ισημερινού. Τα αυλάκια (furores), έχουν τις άκρες τους προς τους πόλους και διατρέχουν κατά μήκος τον γυρεόκοκκο. Οι πόροι, συνήθως βρίσκονται στον ισημερινό, όμως συχνά υπάρχουν διασκορπισμένοι σε όλη την επιφάνεια του γυρεόκοκκου.



Σχήμα 3. Εικονογράφηση των μορφολογικών περιοχών ενός γυρεόκοκκου. α) Ισημερινή όψη, β) Πολική όψη (από Sawyer, 1988).

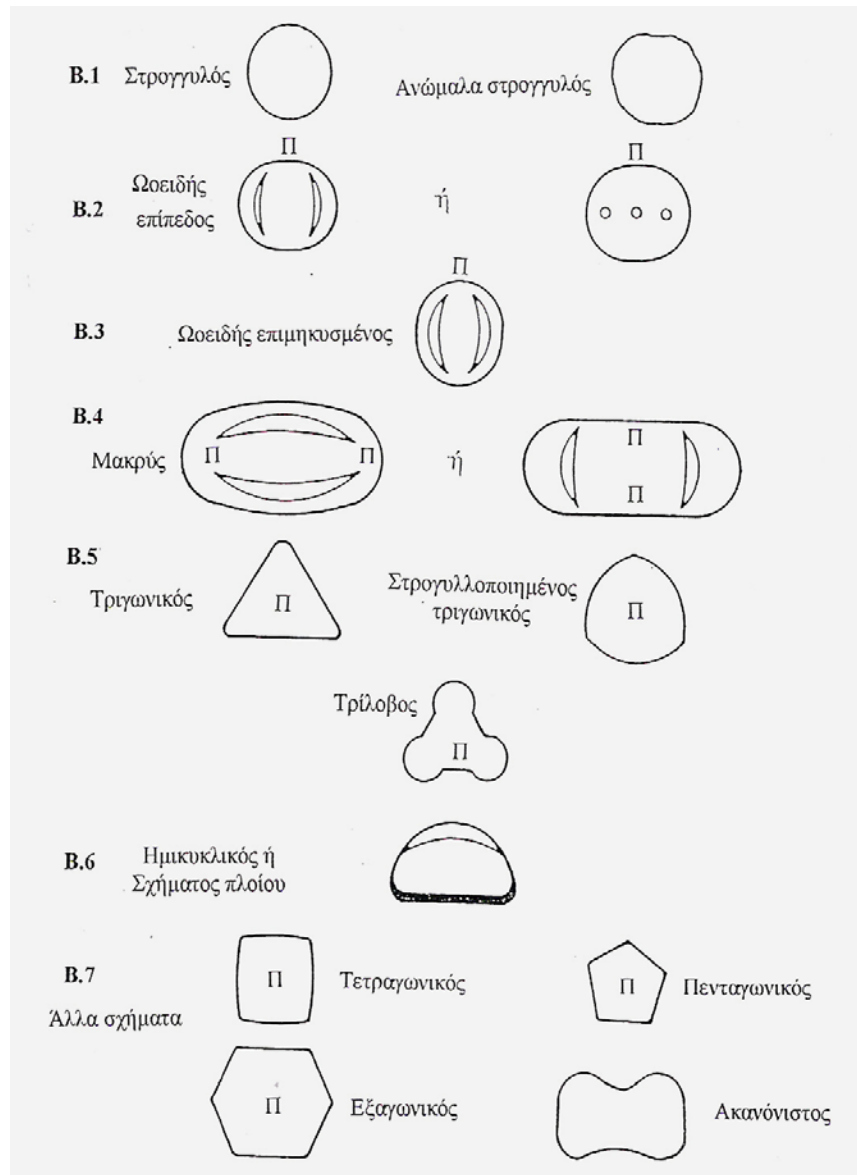
**Χαρακτηριστικά των γυρεοκόκκων ως εφαρμογή για την ταυτοποίηση τους:
κατά Sawyer, 1988.**

1) Μέγεθος: η μέγιστη διάμετρος ενός γυρεόκοκκου καθορίζεται συμπεριλαμβανομένων επαρμάτων και άλλων σχηματισμών. Κατηγορίες μεγέθους:

1. πολύ μικρό <20 μm
2. μικρό 20-30 μm
3. μεσαίο 30-50 μm
4. μεγάλο 50-100μm
5. πολύ μεγάλο >100μm

2) Σχήμα (Σχ.4) : ως σχήμα ορίζεται η περιφέρεια, αυτό δηλαδή που είναι ορατό κάτω από το μικροσκόπιο. Το σχήμα ενός γυρεόκοκκου ποικίλει και εξαρτάται από τον τρόπο με τον οποίο αυτός κείται στο παρασκεύασμα καθώς επίσης και από την οπτική γωνία που εμείς τον παρατηρούμε. Κατηγορίες σχήματος:

1. Ημικυκλικοί ή σχήματος πλοίου: χαρακτηριστικό ορισμένων μονοκότυλων.
2. Μακριοί: το μήκος τους ισούται περίπου με μιάμιση φορά το πλάτος τους. Μπορούν να ταξινομηθούν και ως επίπεδοι ή επιμηκυσμένοι.
3. Στρογγυλοί ή ανώμαλα στρογγυλοί.
4. Τριγωνικοί ή τρίλοβοι: επιπρόσθετα στην αναμφίβολη τριγωνική εμφάνιση πολλών κόκκων, κόκκοι με τρία αυλάκια μπορεί να δείχνουν σχήμα ενδιάμεσο στρογγυλού ή τριγωνικού. Αμφότερες οι ταξινομήσεις πρέπει τότε να χρησιμοποιούνται.
5. Ωοειδείς επιμηκυσμένοι: ωοειδείς γυρεόκοκκοι, πεπλατυσμένοι στους πόλους όπου τα αυλάκια εκτείνονται κατά μήκος.
6. Ωοειδείς επίπεδοι: ωοειδείς γυρεόκοκκοι, επίπεδοι στους πόλους ενώ τα αυλάκια εκτείνονται εγκάρσιως του κόκκου.
7. Ακανόνιστα ή πολύπλευρα σχήματα.



Σχήμα 4. Σχήματα γυρεοκόκκων. Οπου Π, η πολική περιοχή.

3) Τύποι διαφραγμάτων:

1. Αυλάκια ή κόλποι: εάν είναι επιμήκυσμένα και συνήθως λεπτυνόμενα προς τα άκρα
2. Πόροι: εάν είναι στρογγυλά ή ωοειδή
3. Αυλάκια με πόρους
4. Ενωμένα ή ακανόνιστα αυλάκια

Ο Erdtman (1952), διαχωρίζει τους τύπους των διαφραγμάτων ως εξής:

1. Αύλαξ (Sulcus): επιμηκυσμένο αυλάκι κάθετο στον επιμήκη άξονα, στον πόλο του κόκκου
2. Κόλπος (Colpa): επιμηκυσμένο αυλάκι, με οξείες γωνίες στην ισημερινή του όψη. Τα άκρα του αυλακιού έχουν διεύθυνση προς τους πόλους του κόκκου.
3. Πτυχή (Fuga): επιμηκυσμένο αυλάκι, με διεύθυνση διαφορετική από τις δύο προηγούμενες
4. Πόρος (Porus): μία κυκλική οπή. Όταν ο αριθμός των πόρων είναι μικρός, τότε αυτοί εμφανίζονται μόνο στην ισημερινή περιοχή. Εάν όμως είναι μεγάλος, μπορεί να υπάρχουν σ' όλη την επιφάνεια του γυρεόκοκκου. Επίσης, ένας κυκλικός πόρος μπορεί μερικές φορές να υπάρχει στο μέσο ενός επιμήκους αυλακιού.

4) Αριθμός διαφραγμάτων: τα αυλάκια που περιέχουν πόρους, υπολογίζονται ως ένας πόρος. Επίσης, στους σύνθετους γυρεόκοκκους, ο αριθμός αναφέρεται σε κάθε μονάδα κόκκου.

Κατηγορίες:

1. 0 ή απροσδιόριστος
2. 1-2
3. 3
4. 4-6
5. 7-12
6. >12

5) Επιφάνεια: τα υποδείγματα αναφέρονται σε μεγέθυνση περίπου 400 φορές. Σε διαφορετική μεγέθυνση, μπορεί καμιά φορά να αλλάξει το υπόδειγμα. Κατηγορίες:

1. Λεία ή απροσδιόριστη: δε δείχνουν καθορισμένη υφή.
2. Κοκκώδης: υπόδειγμα με διασκορπισμένους κόκκους ή σχηματισμούς σαν «κρεατοελιές».

3. Ραβδωτή: πολλές μακριές ραβδώσεις (striae) ή υψώματα (ridges), μερικές φορές διακλαδιζόμενες.
4. Διχτυωτή ή βοθριωτή: το δίχτυ είναι ένα υπόδειγμα δαντέλας. Στην πραγματικότητα είναι μία αυταπάτη, που προκαλείται από το οπτικό επίπεδο που κόβει κατά μήκος τις γραμμές των ράβδων, οι οποίες σχηματίζουν τοιχώματα (muri) στην επιφάνεια. Η βοθριωτή επιφάνεια, εμφανίζεται να είναι καλυμμένη με κοιλότητες (depressions) παρά με διατρήσεις (perforations).
5. Απομονωμένα στίγματα οφειλόμενα σε αγκάθια ή άλλες προεξοχές: αυτές, μπορεί να απαντούν μόνες τους ή σε συνδυασμό με κάποιον άλλο τύπο απ' τους προαναφερθέντες.

6) Εξώστρωμα σε τομή: σε ένα κόκκο σε τομή, το εξώστρωμα φαίνεται να απαρτίζεται από ζώνες που ποικίλουν σε πυκνότητα και πολυπλοκότητα. Περιγράφονται ως εξής:

1. Λεπτή: λεπτή απλή ή διπλή ζώνη, η εξωτερική είναι βαμμένη ώστε να σχηματίζεται μια σκοτεινή γραμμή.
2. Μέση χωρίς ράβδους: λίγο παχύτερη, συνήθως με δύο καλά βαμμένες ζώνες που ξεχωρίζουν εύκολα.
3. Μέση με ράβδους σε αραιά διαστήματα ή σαν κομπολόι: δύο βαμμένες ζώνες, με μία σειρά από κανονικές καλώς κατανεμημένες ράβδους, που σχηματίζουν στήλες (pillars) μεταξύ τους. Η εξωτερική ζώνη, δηλαδή η στέγη (tectum), μπορεί να είναι ατελής δίνοντας έτσι στην επιφάνεια μια κομβολογιοειδή όψη.
4. Μέση ή πυκνή, με τραχείς εξωτερικές ράβδους: μεγάλες, τετράγωνες ή ορθογώνιες ράβδοι σχηματίζουν την εξωτερική ζώνη.
5. Ζώνη με πυκνές, λεπτές ράβδους: αυτές οι ράβδοι είναι συχνά διακλαδισμένες και μπορεί να εμφανίζονται ινώδεις (fibrous).
6. Μακριά, λεπτά αγκάθια.
7. Μεγάλα, με φαρδιά βάση, αγκάθια.
8. Μικρά ή πολύ μικρά αγκάθια ή κρεατοελιές.

7) Άλλα μορφολογικά χαρακτηριστικά:

1. Σύνθετοι γυρεόκοκκοι
2. Πεπαχυμένες ή προεξέχουσες άκρες των οπών: φαίνονται καλύτερα σε πολική όψη
3. Κάλυμμα (cap) ή λωρίδα (streak) στις οπές: επιφανειακά φαίνονται σα λωρίδες, σε τομή παρουσιάζονται σαν καλύμματα.
4. Κόκκοι ή προεξοχές, διασκορπισμένες στις οπές: φαίνονται τόσο σε τομή όσο και από επιφανειακή όψη.
5. Το ενδόστρωμα είναι διογκωμένο κάτω από τις οπές: ως αποτέλεσμα, έχει μεγάλες και καθαρές μάζες (opci) κάτω από τις οπές.
6. Το περιεχόμενο του κυττάρου κοκκώδες: η πυκνότητα του περιεχόμενου του κυττάρου ποικίλει ανάλογα με την ηλικία και τον τύπο. Μερικοί τύποι είναι σταθερά πυκνοί, άλλοι κόκκοι είναι ομαδοποιημένοι με κολλημένους κόκκους.

***Χαρακτηριστικά των γυρεοκόκκων ως εφαρμογή για την ταυτοποίηση τους:
κατά Moore et al.,1991.***

Διαφράγματα (apertures)

Για την ταυτοποίηση ενός γυρεόκοκκου, το πρώτο χαρακτηριστικό που παρατηρεί κανείς είναι τα διαφράγματα. Ως διάφραγμα, καλείται οποιοδήποτε λεπτό ή ελλείπον μέρος του εξωστρώματος, το οποίο διαφοροποιείται από το υπόδειγμα αυτού.

Υπάρχουν δύο είδη διαφραγμάτων, οι **πόροι** (pori) και οι εγκολπώσεις ή **κόλποι** (colpi). Οι κόλποι, πιστεύεται να είναι αρχέγονες κατασκευές από ότι οι πόροι και διακρίνονται από αυτούς λόγω του ότι είναι μακρείς και σχήματος καραβιού, με οξέα άκρα. Οι πόροι είναι συνήθως ισοδιαμετρικές οπές. Μπορεί όμως να είναι ελαφρώς επιμηκυσμένοι, με κυκλικά άκρα.

Κόκκοι που φέρουν πόρους, λέγονται **πορώδεις** (porate), οι φέροντες κόλπους λέγονται **κολπώδεις** (colpate), ενώ αν φέρουν τόσο πόρους όσο και κόλπους, λέγονται

κολπορώδεις (colporate). Τα διαφράγματα των ζωντανών γυρεοκόκκων δεν είναι ανοιχτά αλλά καλύπτονται από ένα λεπτό και ευαίσθητο στρώμα εξωστρώματος. Αντίθετα, το ενδόστρωμα, που βρίσκεται κάτω από τις οπές, είναι συνήθως παχύτερο από οποιοδήποτε άλλο σημείο του γυρεοκόκκου.

Μία οπή οριοθετείται από μία γραμμή, συνήθως λόγω αλλαγών στο πάχος της σεξίνης ή της νεξίνης ή σε αμφοτέρως ταυτοχρόνως. Σε λεπτότερη ανάλυση της δομής των γυρεοκόκκων, μία οπή που αποτελεί χαρακτηριστικό της σεξίνης, λέγεται **εκτοδιάφραγμα** (ectoaperture), ενώ αν είναι χαρακτηριστικό της νεξίνης λέγεται **ενδοδιάφραγμα** (endoaperture). Σε μερικές περιπτώσεις, τα εκτοδιαφράγματα και ενδοδιαφράγματα είναι του ίδιου τύπου (δηλαδή πόροι ή κόλποι) και βρίσκονται στο ίδιο μέρος, σε άλλες όμως, μπορεί να είναι διαφορετικοί τύποι και να βρίσκονται σε ελαφρώς διαφορετική θέση.

Οι γυρεόκοκκοι, δύναται να ταξινομηθούν σε ομάδες με βάση τον αριθμό, τη θέση και το είδος των διαφραγμάτων τους. Ο αριθμός των διαφραγμάτων δίνεται με το πρόθεμα **μονο-, δι-, τρι-, τετρα-, πεντα-** ή **εξα-** πριν από τον όρο κολπόδης, πορώδης ή κολπορώδης. Για πάνω από έξι διαφράγματα, χρησιμοποιείται το πρόθεμα **πολύ-**. Στις περισσότερες περιπτώσεις, οι πόροι και/ή οι κόλποι βρίσκονται σε ίσες αποστάσεις από τον ισημερινό του κόκκου. Αυτή η διάταξη ορίζεται από το πρόθεμα **ζωνο-**. Αν τα διαφράγματα είναι διασκορπισμένα σε όλη την επιφάνεια του κόκκου, χρησιμοποιείται το πρόθεμα **παντο-**.

Για παράδειγμα:

- Πολυζωνοπορώδης (polyzonoporate): έχει άνω των έξι πόρων, οι οποίοι βρίσκονται στην ισημερινή ζώνη.
- Πενταπαντοκολπόδης (pentapantocolpate): έχει πέντε κόλπους, διασκορπισμένους σε όλη την επιφάνεια του κόκκου.

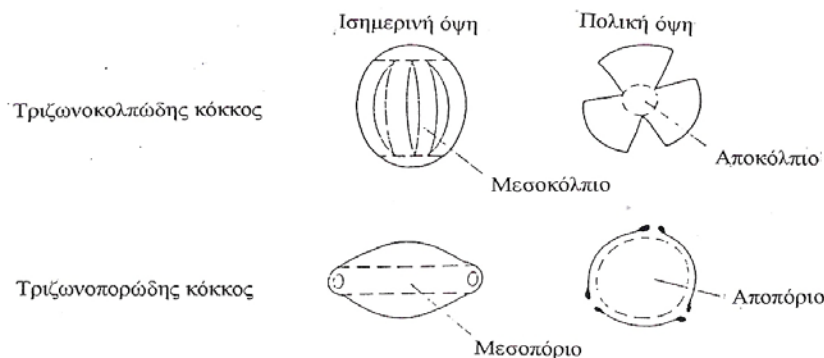
Στο σχήμα 5 φαίνονται όλες οι πιθανές περιπτώσεις, πλην όμως υπάρχουν και εξαιρέσεις. Για παράδειγμα, μπορεί να έχουμε την ένωση δύο ή περισσότερων κόλπων, οπότε ο γυρεόκοκκος χαρακτηρίζεται ως **συγκολπόδης** (syncolpate).

	Δι- πολική ισημερινή	Τρι- πολική ισημερινή	Τετρα- πολική ισημερινή	Πεντα- πολική ισημερινή	Εξα- πολική ισημερινή	Πολυ- πολική ισημερινή
Ζωνοπορώδης	 π.χ. <i>Colchicum</i>	 π.χ. <i>Betula</i>	 π.χ. <i>Alnus, Ulmus</i>			
Ζωνοκολπώδης	 π.χ. <i>Tolfieldia</i>	 π.χ. <i>Acer</i>	 π.χ. <i>Hippuris</i>	 π.χ. <i>Labiatae, Rubiaceae</i>		
Ζωνοκολπορώδης		 π.χ. <i>Parnassia</i>	 π.χ. <i>Rumex</i>	 π.χ. <i>Viola</i>	 π.χ. <i>Sanguisorba officinalis</i>	 π.χ. <i>Utricularia</i>
Παντοπορώδης		 π.χ. <i>Urtica</i>		 π.χ. <i>Plantago</i>		 Chenopodiaceae
Παντοκολπώδης			 π.χ. <i>Ranunculaceae</i>		 π.χ. <i>Spergula</i>	 π.χ. <i>Polygonum amphibium</i>
Παντοκολπορώδης			 π.χ. <i>Rumex</i>		 π.χ. <i>Polygonum oxyspermum</i>	

	πολική ισημ.		
Μονοκολπώδης	 π.χ. <i>Vitium</i>	Διάδες	 π.χ. <i>Scheuchzeria</i>
Μονοπορώδης	 π.χ. <i>Gramineae</i>	Τετράδες	 (i) <i>Ericaceae</i>
Χωρίς οπή	 π.χ. <i>Potamogeton</i>		 (ii) <i>Typha</i>
Συγκολπώδης	 (i) <i>Pedicularis</i>	Πολιάδες	 (i) <i>Mimosa</i>
	 (ii) <i>Nymphaoides</i>		 (iii) <i>Orchidaceae</i>
	 (iii) <i>Eriocaulon</i>		
Θυλακοειδής	 π.χ. <i>Pinus</i>		

Σχήμα 5. Διάγραμμα που δείχνει τον αριθμό, τη θέση και το είδος των διαφραγμάτων. Ταξινόμηση του τύπου των κόκκων βάσει του αριθμού και της διάταξης των διαφραγμάτων. Τα παραδείγματα δίνονται σε πολική και ισημερινή όψη. Οι διακεκομμένες γραμμές δηλώνουν διαφορετικό επίπεδο εστίασης. Οι κενές θέσεις υποδεικνύουν έλλειψη παραδείγματος στη Β.Δ. Ευρώπη.

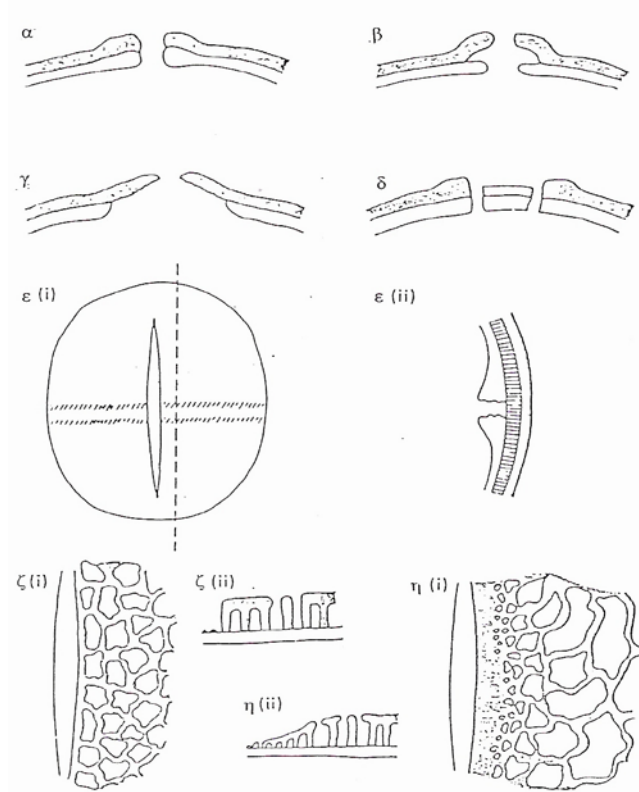
Οι περιοχές όπου δεν υπάρχουν διαφράγματα, ονομάζονται βάσει του είδους των διαφραγμάτων που παράκινται. Η περιοχή που ορίζεται από δύο κόλπους λέγεται **μεσοκόλπιο** (mesocolpium), ενώ από δύο πόρους **μεσοπόριο** (mesoporium). Εάν οι πόροι ή οι κόλποι βρίσκονται στη «ζωνο-διάταξη», υπάρχει σε κάθε πόλο μια περιοχή χωρίς διαφράγματα. Αυτή, καλείται αποκόλπιο (apocolpium) εάν τα διαφράγματα στη «ζωνο-διάταξη» είναι κόλποι ενώ αποπόριο (apoporium) εάν είναι πόροι (Σχ. 6).



Σχήμα 6. Παραδείγματα που δείχνουν πώς φαίνονται σε πολική και ισημερινή όψη κόκκοι με διαφορετικό τύπο διαφραγμάτων.

Το επόμενο στοιχείο, μετά τον αριθμό και τη θέση των διαφραγμάτων, είναι τα χαρακτηριστικά αυτών. Συχνά, παρατηρείται το εξώστρωμα να έχει διαφορετική δομή στην περιοχή των διαφραγμάτων. Όταν συμβαίνει αυτό, το διάφραγμα καλείται **πλαισιωμένο** (bordered). Τα πλαίσια (borders), μπορεί να είναι χαρακτηριστικά είτε του εξωστρώματος είτε της νεξίνης (Σχ.7). Απότομη πάχυνση ή λέπτυνση της σεξίνης γύρω από ένα εκτοπόριο λέγεται **δακτύλιος** (annulus) (Σχ. 7γ και 7δ), ενώ γύρω από ένα εκτοκόλπο λέγεται **κράσπεδο** (margo) (Σχ. 7η). Πάχυνση της νεξίνης γύρω από ένα ενδοδιάφραγμα (Σχ.7ε(i) και 7ε(ii)) ή κάτω από το άκρο ενός εκτοδιαφράγματος (Σχ.7α) λέγεται **πλευρά** (costa). Εκτός από πάχυνση, υπάρχουν και περιπτώσεις λέπτυνσης της νεξίνης (Σχ. 7γ). Σε μερικούς κόκκους, οι δύο ζώνες του εξωστρώματος αποκολλώνται στην περιοχή του διαφράγματος. Το κοίλωμα που σχηματίζεται, βρίσκεται συνήθως γύρω από πόρους (Σχ.7β) και λέγεται **προθάλαμος** (vestibulum). Εάν τέτοιο κοίλωμα σχηματίζεται γύρω από κάθε πόρο ενός ζωνοκολπορώδους κόκκου, καλείται **αέτωμα** (fastigium). Άλλοι κόκκοι έχουν το κεντρικό μέρος της μεμβράνης του διαφράγματος,

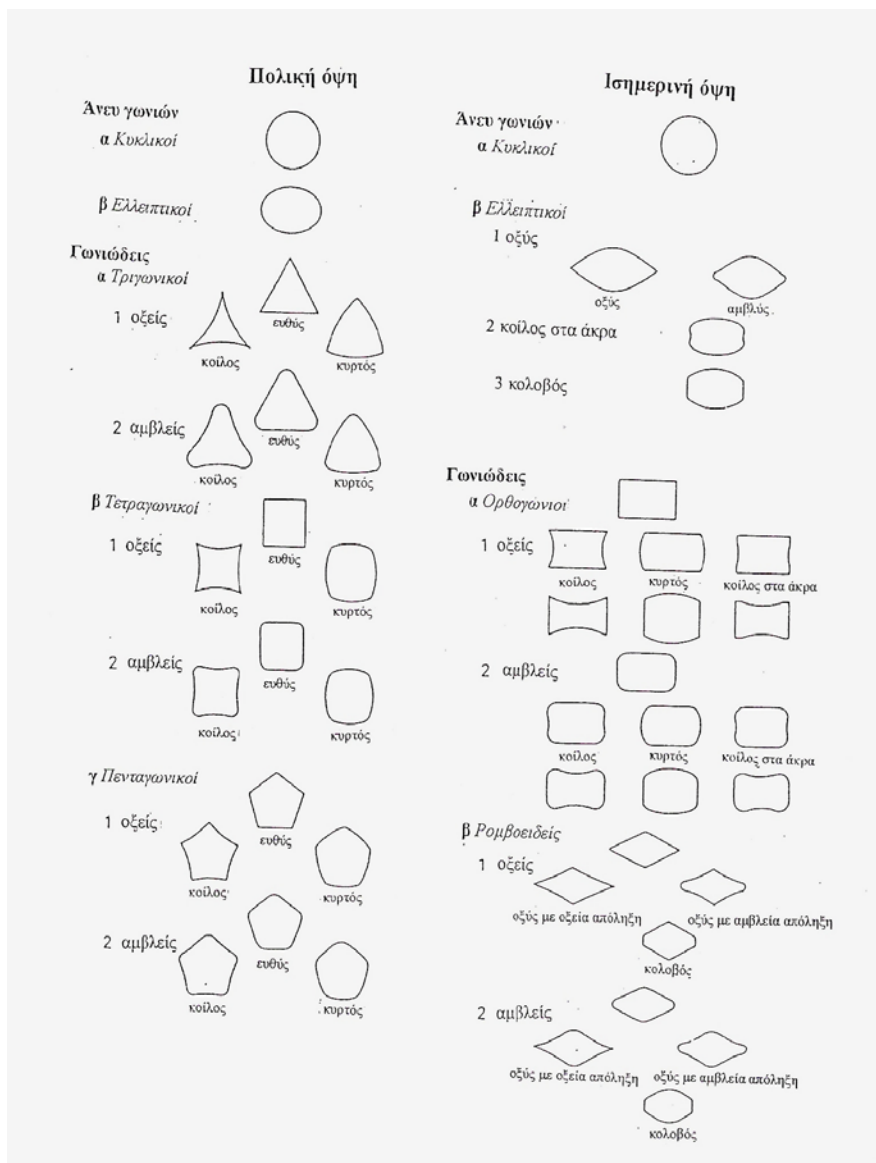
που αποτελείται από σεξίνη, τόσο παχύ, όσο είναι το κυρίως σώμα του κόκκου. Αυτό το πεπαχυμένο κέντρο καλείται **επιπωμάτιο** (operculum) και παρουσιάζεται στους πόρους του *Plantago lanceolata* (Σχ.7δ) και στους κόλπους των *Potentilla* sp.



Σχήμα 7. Παραδείγματα χαρακτηριστικών του εξωστρώματος που σχετίζονται με πόρους και κόλπους (σεξίνη γκρι, νεξίνη λευκή): α) πόρος με πλευρά (πάχυνση της νεξίνης), β) πόρος όπου η σεξίνη διαχωρίζεται από τη νεξίνη και σχηματίζεται ένας προθάλαμος, γ) πόρος με ένα δακτύλιο που σχηματίζεται από μία μικρή πάχυνση της σεξίνης. Η νεξίνη εδώ απουσιάζει από την περιοχή του πόρου, δ) πόρος με επιπωμάτιο (πάχυνση του κέντρου της μεμβράνης του διαφράγματος) και με δακτύλιο, ε(i)) ισημερινή επιφανειακή όψη του *Centaurea cyanus* που δείχνει έναν ισημερινό ενδοκόλπο, ε(ii)) τομή της εξίνης κατά μήκος της διακεκομμένης γραμμής στο ε(i). Εδώ, φαίνεται ότι ο ενδοκόλπος πλαισιώνεται από ισχυρές παχύνσεις της νεξίνης, ζ(i)) κόλπος χωρίς πλαίσιο ή κράσπεδο, δηλαδή οι ενδοχώροι του δικτύου παραμένουν ως έχουν έως την άκρη του κόλπου, ζ(ii)) η σεξίνη παραμένει το ίδιο παχιά έως την άκρη του κόλπου, η(i)) κόλπος με κράσπεδο, δηλαδή οι ενδοχώροι του μικραίνουν προς την άκρη του κόλπου και εξαφανίζονται σε αυτήν, δίνοντας μία στεγοειδή άκρη, η(ii)) η σεξίνη λεπταίνει καθώς προχωράμε προς την άκρη του κόλπου, όπως φαίνεται σε τομή.

Σχήμα

Μερικές φορές το σχήμα ενός γυρεόκοκκου είναι χρήσιμο για την ταυτοποίηση του, χωρίς, όμως να δοθεί μεγάλη σπουδαιότητα, λόγω της ποικιλομορφίας που οι γυρεόκοκκοι ενός γένους, ή ακόμη και ενός είδους, παρουσιάζουν. Επιπλέον, όταν χρησιμοποιείται απλό μικροσκόπιο, το σχήμα φαίνεται διαφορετικό ανάλογα με το πώς «έχει πέσει» ο γυρεόκοκκος στο παρασκεύασμα. Οπότε, το σχήμα των γυρεοκόκκων θα πρέπει να ορίζεται από το περίγραμμα, τόσο της πολικής, όσο και της ισημερινής όψης τους (Σχ.6). Στο Σχήμα 8, παρατίθενται οι ομάδες σχημάτων.



Σχήμα 8. Σχήματα συμμετρικών κόκκων σε πολική και ισημερινή όψη.

Πιο συγκεκριμένα, για να βρούμε το πόσο ελλειπτικός ή επιμήκης είναι ένας γυρεόκοκκος χρησιμοποιούμε το λόγο της πολικής προς την ισημερινή απόσταση P/E. Δηλαδή:

- Oblate spherical (πεπλατυσμένος σφαιροειδής): $P/E = 0.88 - 0.99$
- Suboblate (πεπιεσμένος): $P/E = 0.76 - 0.87$
- Oblate (πεπλατυσμένος): $P/E = 0.51 - 0.75$
- Peroblate: $P/E \leq 0.50$
- Spherical (σφαιρικός): $P/E = 1$
- Perprolate (έντονα επιμήκης): $P/E > 2$
- Prolate (επιμήκης): $P/E = 1.34 - 1.99$
- Subprolate: $P/E = 1.15 - 1.33$
- Prolate spherical (επιμήκης προς σφαιρικός): $P/E = 1.01 - 1.14$

Ανάγλυφο (sculpture)

Το διαχωρισμό των γυρεοκόκκων σε ομάδες με βάση τα χαρακτηριστικά των διαφραγμάτων τους, ακολουθεί ο διαχωρισμός τους βάσει της επιφανειακής μορφολογίας του εξωστρώματος. Οι κυριότεροι τύποι ανάγλυφων είναι οι εξής:

- **Ακροχορδοειδής (Verrucate):** επιφάνεια με στοιχεία που μοιάζουν με κρεατοελιές. Η βάση τους είναι περισσότερο ή λιγότερο ίση με το ύψος τους.
- **Αυλακοειδής (Fossulate):** φέρει επιφάνεια με λοξά επιμήκη διαφράγματα. Τα αυλάκια μπορεί να είναι ευθεία ή ελικοειδή.
- **Βακτροειδής (Baculate):** έχει ίδια όψη με το ροπαλοειδή τύπο. Στην επιφάνεια φέρει στοιχεία κυλινδρικά σα ράβδους των οποίων το ύψος είναι περίπου διπλάσιο της βάσης τους.
- **Δικτυωτός (Reticulate):** επιφάνεια με επάρματα διατεταγμένα σε δίκτυο που παρουσιάζει ενδοχώρους μεγαλύτερους 1μm. Το πλάτος των επαυμάτων είναι ίσο ή στενότερο από αυτό των ενδοχώρων.

- **Εγκεφαλοειδής (Cerebroid):** τύπος ανάγλυφου ο οποίος είναι ένα κράμα από πτυχωτά και ακροχορδοειδή χαρακτηριστικά, τα οποία δίνουν στην επιφάνεια του ανάγλυφου εμφάνιση όμοια με αυτή του ανθρώπινου εγκεφάλου.
- **Εχινοειδής (Echinate):** η επιφάνεια παρουσιάζει μία σειρά από περισσότερο ή λιγότερο ομοιόμορφα διασκορπισμένα στοιχεία που έχουν οξεία άκρα. Τα σχήματος αγκαθιού στοιχεία, μοιάζουν με κώνο μολονότι τα άκρα τους μπορεί να είναι κυρτά. Η βάση τους μπορεί να είναι ίση, μικρότερη ή μεγαλύτερη από το ύψος τους.
- **Λιθοειδής (Gemmate):** όταν τα μη στεγοειδή επιφανειακά στολίδια είναι βραχύχονδρα, το πλάτος τους ξεπερνά το ύψος και η βάση τους εμφανίζεται σε συστολή.
- **Μικτά ανάγλυφα:** σε μερικά είδη γυρεοκόκκων, δύο ή περισσότεροι τύποι ανάγλυφων εμφανίζονται στην επιφάνεια τους.
- **Παραθυροειδής (Fenestrate):** το στεγοειδές τμήμα είναι περισσότερο εκτεταμένο από το κενό. Τα κενά τμήματα συχνά σχηματίζουν ένα παχύ και ομογενές δίκτυο. Κάθε κενό είναι απέναντι ακριβώς από μία οπή.
- **Πτυχωτός (Rugulate):** επιφάνεια με αυλακοειδή στοιχεία, επιμηκυσμένα στα πλάγια τα οποία εναλλάσσονται με φωτεινές περιοχές. Αυτά τα ανάγλυφα στοιχεία, είναι συνήθως πολύ στενά, με το μήκος τους να ποικίλει. Επίσης, βρίσκονται διασκορπισμένα στην επιφάνεια.
- **Ραβδωτή (Striate):** επιφάνεια με παράλληλα πτυχωτού τύπου στοιχεία, επιμηκυσμένα στα πλάγια και με διευθύνσεις που εναλλάσσονται. Οι ραβδώσεις εναλλάσσονται με προεξέχοντα στοιχεία.
- **Ρηγματοειδής ή Βοθρειοειδής (Foveolate):** επιφάνεια στην οποία τα κοιλώματα είναι περισσότερο ή λιγότερο κυκλικά.
- **Ροδοειδής (Rosate):** ανάγλυφο με ημιτριγωνικά ακροχορδοειδή στοιχεία διατεταγμένα σε κύκλο όπως τα πέταλα του άνθους.
- **Ροπαλοειδής (Clavate):** στην επιφάνεια του υπάρχουν στοιχεία των οποίων οι κεφαλές έχουν σχήμα ροπάλου και διαστάσεις που ξεπερνούν το 1 μm. Η κορυφή είναι μεγαλύτερη από τη βάση, αλλά μικρότερη από το ύψος του στοιχείου.

- **Τραχύς (Scabrate):** η επιφάνεια αυτή, χαρακτηρίζεται από την παρουσία ακανόνιστων στοιχείων.
- **Ψιλοδαποειδής (Psilate):** επιφάνεια εντελώς ομαλή. Γυρέοκοκκοι των οποίων η επιφάνεια παρουσιάζει ανωμαλίες μικρότερες από 1μm, συνήθως ταξινομούνται ως ψιλοδαποειδής.

IV. Φρύγανα : *Satureja thymbra*

Τα φρύγανα (phrygana, brushwood), αποτελούν τον ξηρανθεκτικό χαρακτήρα των φρυγάνων, ο οποίος τα καθιστά κατάλληλη άμυνα της φύσης για την αντιμετώπιση της ερημοποίησης. Πρόκειται για μικρά φυτά, συνήθως θάμνους, με μικρά και αγκαθωτά φύλλα. Φέρουν τα εξής χαρακτηριστικά:

1. Αναπτύσσονται σε φτωχά, άγονα και υποβαθμισμένα από πυρκαγιά ή υπερβόσκηση εδάφη.
2. Παρουσιάζουν εποχικό διμορφισμό, δηλαδή τα μεγάλα φύλλα του χειμώνα μετατρέπονται σε μικρά και χνουδωτά φύλλα το καλοκαίρι. (Η ιδιότητα τους αυτή τα βοηθάει να εξοικονομήσουν νερό).
3. Προσαρμόζονται εύκολα σε ξηρό και θερμό περιβάλλον.

Τα φρυγανικά οικοσυστήματα αποτελούν μία από τις κύριες φυτικές διαπλάσεις που σχηματίζονται ιδιαίτερα στη νότια Ελλάδα και στα νησιά, μέχρι το υψόμετρο των 300 μέτρων. Τα φρύγανα καλύπτουν μεγάλο μέρος της Ελλάδας και γενικότερα η Μεσόγειος έχει τις κατάλληλες κλιματολογικές συνθήκες για την ανάπτυξή τους. Στην Ελλάδα οι εκτάσεις που καλύπτονται από φρύγανα λέγονται «φρυγανότοποι», και εκτιμάται ότι καλύπτουν επιφάνεια ίση με 10 – 15 εκατομμύρια στρέμματα. Στα φρύγανα συμπεριλαμβάνονται και τα ακόλουθα φυτά: *Sarcopoterium spinosum* (Αστοιβίδα), *Salvia fruticosa* (Φασκομηλιά), *Capparis spinosa* (Κάππαρη), το Θρούμπι (*Satureja thymbra*) κλπ.

Satureja thymbra

Το φυτό *Satureja thymbra*, ανήκει στην οικογένεια των Χειλανθών (Lamiaceae) και στην Ελλάδα απαντά με τις ονομασίες: θρούμπα, γεροντόχορτο, θρούμπι, θρουμπί, θρύμπα, τραγορίγανος, ζαρμπούνι ή ζαμπούρι.

Η ονομασία «τραγορίγανος» προέρχεται μάλλον από το γεγονός ότι τα αυτοφυή είδη *Satureja* της Μικράς Ασίας, τα θεωρούσαν ότι είναι η πραγματική ρίγανη (και όχι το *Origanum* που ονομάζουμε εμείς ρίγανη) ενώ παράλληλα το φυτό το τρώνε με βουλιμιά οι τράγοι.

Από την αρχαιότητα το φυτό είναι γνωστό με το όνομα «θύμβρη». Το αναφέρουν τόσο ο Διοσκουρίδης όσο και ο Θεόφραστος ενώ οι αρχαίοι το είχαν αφιερώσει στον θεό Διόνυσο. Αφθονούσε στην Μικρά Ασία και γι' αυτό είχαν βαφτίσει ποτάμια και πόλεις με το όνομα «Θύμβρια».

Πρόκειται για ένα πολυετές φρύγανο, με έντονες αρωματικές ιδιότητες, που φτάνει σε ύψος τα 40 εκατοστά, χνουδωτό και αδενώδες. Έχει μυτερά φύλλα που φτάνουν σε μήκος από 9 έως 14 χιλιοστά. Οι σπόνδυλοι είναι αραιοί με πολλά άνθη μοβ, ροζ ή λευκά. Ο κάλυκας είναι τριχωτός, σχεδόν κρυμμένος από εξ' ίσου μεγάλα βράκτια.

Το θρούμπι, το συναντάμε κυρίως σε ασβεστώδη εδάφη. Είναι φυτό που αγαπούν οι μέλισσες και ανθίζει από τον Ιούνιο μέχρι τον Αύγουστο. Η συλλογή του πρέπει να γίνεται από τα μέσα Ιουνίου μέχρι το πρώτο δεκάημερο του Αυγούστου. Για θεραπευτικούς σκοπούς χρησιμοποιούνται τα επίγεια τμήματα.

Αποτελεί ένα έντονα αρωματικό φυτό και το οφείλει στο αιθέριο έλαιο του, το οποίο περιέχει καρβακρόλη, θυμόλη και κυμένιο, που λαμβάνεται με απόσταξη από τα

άνθη, φύλλα και κλαδιά ενώ την καλύτερη ποιότητα την δίνουν τα αποξηραμένα φυτά. (Karousou *et al.*, 2005).

Το θρούμπι, οι αρχαίοι το εκτιμούσαν ιδιαίτερα για τις φαρμακευτικές και αρωματικές του ιδιότητες και το έβαζαν στο κρασί φτιάχνοντας τον «θρομβίτη οίνο» ενώ το χρησιμοποιούσαν μαζί με θυμάρι για να αρωματίζουν τα φαγητά και ιδιαίτερα το κυνήγι.

Τον Μεσαίωνα πίστευαν το φυτό αυτό ως πανάκεια. Το θεωρούσαν και αφροδισιακό βότανο και για το λόγο αυτό απαγορεύτηκε στους καλόγερους να το φυτεύουν στον κήπο τους. Οι ορθόδοξοι καλόγεροι όμως, όπως και οι χωρικοί της Ελλάδας, αρωμάτιζαν τις θρούμπες ελιές και τις σταφίδες με θρούμπι.

Στην Κρήτη, οι αγρότες, το έβαζαν στα ρακοκάζανα και στα σταφύλια που έχουν πατηθεί για να παίρνει ωραίο άρωμα η ρακί. Με θρούμπι έπλεναν και τα βαρέλια πριν βάλουν μέσα το μούστο για να εξουδετερώσουν τους μύκητες. Επίσης, συνήθιζαν να πίνουν το αφέψημα του φυτού για των αντιμετώπιση των εμετών, των ζαλάδων, των εντερικών παρασίτων και των στομαχόπονων. Παράλληλα, καταπολεμούσαν τις φθειριάσεις των ζώων τους με αφέψημα από θρούμπι και σκέπαζαν με φύλλα από θρούμπι το τυρί που έβαζαν στην άλμη για να πάρει το τυρί το άρωμά του



Εικόνα 1. Το φυτό *Satureja thymbra* (Θρούμπι)

V. Σκοπός της εργασίας

Σκοπό της διατριβής αυτής μελέτης, αποτελεί η σύγκριση των γυρεοκόκκων ως προς το μέγεθος (επιφάνεια, περίμετρος και ισημερινή διάμετρος) και τα εξωτερικά χαρακτηριστικά (μοτίβο εξίνης), του φυτού *Satureja thymbra* που αναπτύσσεται σε δύο διαφορετικές περιοχές.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Αρχικά, πραγματοποιήθηκε η συλλογή του φυτού *Satureja thymbra* από δύο διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας: τη Γραμβούσα Κισσάμου Χανίων και το Φανό Αλμυρού Βόλου οι οποίες βρίσκονται στο ίδιο υψόμετρο από την επιφάνεια της θάλασσας και παρουσιάζουν πολλές εδαφικές ομοιότητες. Για την ταξινομική αναγνώριση των φυτών και την ονοματολογία χρησιμοποιήθηκε η Flora Europaea (Tutin *et al.*, 1968-1993). Για κάθε φυτό, ακολούθησε απομόνωση της γύρης και δημιουργία πρότυπων παρασκευασμάτων με αυτή.



Εικόνα 2. Οι περιοχές δειγματοληψίας των γυρεοκόκκων του φυτού *Satureja thymbra*. Περιοχή 1: Γραμβούσα Κισσάμου Χανίων. Περιοχή 2: Φανός Αλμυρού Βόλου.

Γραμβούσα Κισσάμου Χανίων:

Πρόκειται για μία παραθαλάσσια, ακατοίκητη περιοχή όπου κυριαρχούν φυτά χαρακτηριστικά φρυγανικών οικοσυστημάτων. Το έδαφος είναι ασβεστολιθικό, με λευκότεφρους έως υποκίανους μικροκρυσταλλικούς ασβεστόλιθους μεσοζωικής ηλικίας και σποραδικά μαργαϊκούς συμπαγείς ασβεστόλιθους [στοιχεία Ινστιτούτου Γεωλογικών και Μεταλλευτικών Ερευνών (ΙΓΜΕ), 1970]. Οι κλιματολογικές συνθήκες που επικρατούν στη συγκεκριμένη περιοχή απεικονίζονται στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 1). Οι τιμές που παραθέτονται αποτελούν μέσες μηνιαίες τιμές των μηνών που έγινε η συλλογή των ανθισμένων φυτών (στοιχεία ΕΜΥ, 2009-2010).

Πίνακας 1. Μετεωρολογικά στοιχεία Γραμβούσας Κισσάμου Χανίων

	2009			2010		
	Μάιος	Ιούνιος	Ιούλιος	Μάιος	Ιούνιος	Ιούλιος
Θερμοκρασία °C	21.0	25.5	27.3	21.2	25.6	28.1
Υγρασία (%)	55	55	57	55	54	52
Ύψος Βροχόπτωσης (mm)	6.1	0	0	12.2	0	0

Φανός Αλμυρού Βόλου:

Πρόκειται για μια ακατοίκητη πλαγιά που καταλήγει στη θάλασσα, και φέρει φυτά χαρακτηριστικά φρυγανικών οικοσυστημάτων. Η περιοχή αυτή, αποτελείται από μεγάλες ασβεστολιθικές μάζες μέσα σε σχιστολιθική διάπλαση με οφειόλιθους TRJ-sh. Προς το λόφο Πεταλάδο (ύψος 180m) απαντούν συμπαγείς άστρωτοι ασβεστόλιθοι και μεταμορφωμένοι σε μάρμαρο κατά τόπους απολιθωματοφόροι. Η παράκτια ζώνη αποτελείται από μάργες, αργίλους, χάλικες, ψαμμίτες, κροκαλοπαγή και μαργαϊκούς ασβεστόλιθους [στοιχεία ΙΓΜΕ, 1962]. Οι κλιματολογικές συνθήκες που επικρατούν στη συγκεκριμένη περιοχή απεικονίζονται στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 2). Οι

τιμές που παραθέτονται αποτελούν μέσες μηνιαίες τιμές των μηνών που έγινε η συλλογή των ανθισμένων φυτών (στοιχεία EMY, 2009-2010).

Πίνακας 2. Μετεωρολογικά στοιχεία Φανού Αλμυρού Βόλου

	2009			2010		
	Μάιος	Ιούνιος	Ιούλιος	Μάιος	Ιούνιος	Ιούλιος
Θερμοκρασία °C	19.8	25.1	25.8	19.8	25.1	26.4
Υγρασία (%)	69	70	65	70	68	65
Ύψος Βροχόπτωσης (mm)	63.3	72.4	39.5	68.2	72.5	40.2

Για τη δημιουργία πρότυπων παρασκευασμάτων γύρης, συλλέχθηκαν άνθη τα οποία ήταν ακόμη κλειστά. Αφού μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο, παρέμειναν σε δοχεία με νερό απομονωμένα μεταξύ τους, μέχρι την πλήρη άνθισή τους οπότε έγινε και η συλλογή γυρεοκόκκων (Louveaux *et al.*, 1978).

I. Προετοιμασία δειγμάτων για παρατήρηση κάτω από το φακό του οπτικού μικροσκοπίου:

Σε αντικειμενοφόρο που βρίσκεται σε θερμαινόμενη πλάκα, θερμοκρασίας έως 40 °C, τοποθετείται μια σταγόνα από διάλυμα 20 % γλυκόζης. Με λαβίδα λαμβάνονται ανθήρες των ανθέων και τινάζονται μέσα στο διάλυμα. Το παρασκεύασμα αφήνεται να στεγνώσει και καλύπτεται με καλυπτρίδα χρησιμοποιώντας Entellan. Η χρήση του Entellan ως μονιμοποιητικό των δειγμάτων, δεν επηρεάζει το μέγεθος των γυρεοκόκκων σε σχέση με τη γλυκερίνη (Reitsma, 1969, Von der Ohe *et al.*, 2004) καθώς η χρήση υλικών με χαμηλό ιξώδες (όπως το Entellan) βοηθούν τους γυρεόκοκκους να κρατήσουν το σχήμα τους (Moore *et al.*, 1991).

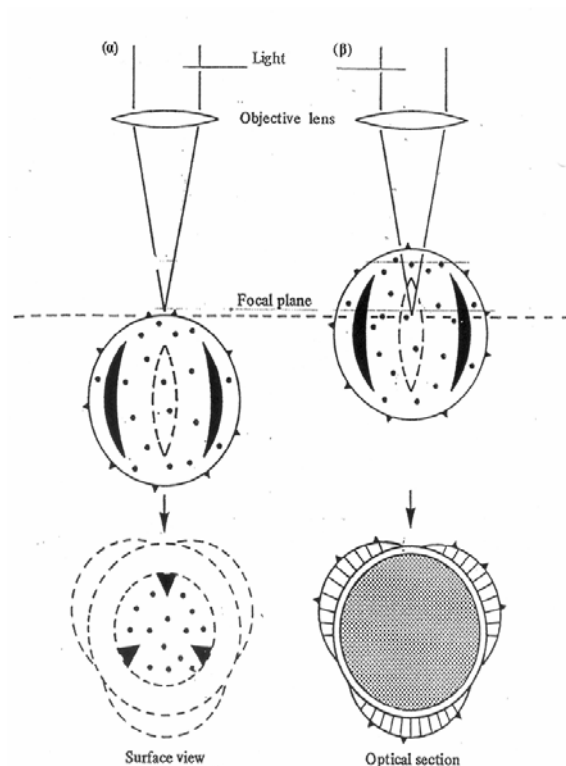
Επίσης έγινε χρώση με φουξίνη (0.1% σε αιθανόλη) για να χρωματιστούν οι γυρεόκοκκοι και να είναι έτσι πιο ευδιάκριτα ορισμένα χαρακτηριστικά τους όπως πόροι ή κόλλοι, η μορφή του δικτυώματος κλπ. Αυτή η διαδικασία επαναλήφθηκε ξεχωριστά

για κάθε φυτό που συλλέχθηκε από τη Γραμβούσα Κισσάμου Χανίων ή το Φανό Αλμυρού Βόλου.

Τελικά, παρατηρήσαμε τους γυρεόκοκκους χρησιμοποιώντας το μικροσκόπιο Olympus BX40 του εργαστηρίου ηλεκτρονικής μικροσκοπίας. Επιλέχθηκε για την ποιότητα των φακών του καθώς και τη δυνατότητα ψηφιακής φωτογράφισης του οπτικού πεδίου με τη χρήση κάμερας Olympus DP71.

Οφείλουμε να θυμόμαστε πως, επειδή οι γυρεόκοκκοι είναι τρισδιάστατοι, κατά την παρατήρησή τους με το οπτικό μικροσκόπιο εστιάζουμε μόνο σε ένα επίπεδο κάθε φορά. Έτσι, αρχικά εστιάζουμε στην επιφάνεια του γυρεόκοκκου για να παρατηρήσουμε το ανάγλυφο και μετά στη μέση του για να παρατηρήσουμε τις στιβάδες του τοιχώματος (Σχ.9). Αξίζει να σημειώσουμε ότι, υπάρχει ένα σύστημα ταξινόμησης, σύμφωνα με το οποίο οι γυρεόκοκκοι περιγράφονται και κατατάσσονται σε ομάδες, με βάση το σχήμα του περιγράμματος τους σε μεσημβρινή και σε ισημερινή όψη (Σχ. 8).

Ακολούθησε η φωτογράφιση των γυρεοκόκκων μέσω του ηλεκτρονικού υπολογιστή, προσεκτικά, κάτω από τις ίδιες συνθήκες (ίδιος φακός: αντικειμενικός x 40) για να είναι συγκρίσιμες οι φωτογραφίες. Για να μετρήσουμε τις διαστάσεις των γυρεοκόκκων, χρησιμοποιήσαμε το λογισμικό Image-Pro Plus (version 2.0 Media Cybernetics, Bethesda, Md.).



Σχήμα 9. Διάγραμμα σύγκρισης της επιφανειακής εξέτασης και της εξέτασης τομής ενός γυρεόκοκκου σε πολική όψη με τη χρήση οπτικού μικροσκοπίου.

(α) Η επιφανειακή όψη αποτελείται από ένα καθαρά εστιασμένο κέντρο το οποίο περιβάλλεται από μια θολή εικόνα ολόκληρου του γυρεόκοκκου.

(β) Μια μέση οπτική τομή αποτελείται από μια καθαρή εικόνα κατά μήκος όλης της διαμέτρου του γυρεόκοκκου, ενώ οι άνω και κάτω επιφάνειες του βρίσκονται εκτός επιπέδου εστίασης και δεν είναι ορατές.

Μετρήσεις διαστάσεων γυρεοκόκκων

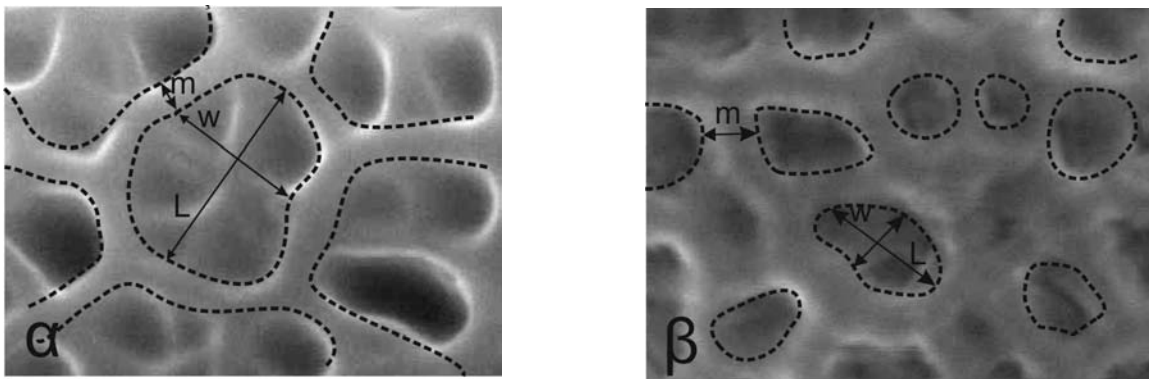
Πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις των διαστάσεων των γυρεοκόκκων των ανθισμένων φυτών που συλλέχθηκαν. Μετρήθηκε το μήκος της νοητής γραμμής που ενώνει τους δύο πόλους (P), η ισημερινή διάμετρος (E), το πάχος του εξωστρώματος (EX) και το άνοιγμα των πόρων ή κόλπων (Kremp, 1965). Επίσης, μετρήθηκαν το εμβαδόν της επιφάνειας των γυρεοκόκκων και η περίμετρος τους, σύμφωνα με τους Lanza *et al.*, (1996). Ακολούθησε στατιστική επεξεργασία με χρήση του λογισμικού πακέτου SPSS, εφαρμόζοντας την ανάλυση ANOVA για την εξαγωγή συμπερασμάτων (Sancho *et al.*, 1991).

II. Προετοιμασία δειγμάτων για παρατήρηση χρησιμοποιώντας το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης:

Για να πραγματοποιηθούν μετρήσεις στο ανάγλυφο του εξωδέρματος των γυρεοκόκκων χρησιμοποιώντας το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM), οι γυρεοκόκκοι τοποθετήθηκαν απευθείας πάνω σε αυτοκόλλητους δίσκους άνθρακα (Agar Scientific Ltd) τοποθετημένους σε stubs αλουμινίου. Ακολούθησε επικάλυψη με χρυσό, παρατήρηση και φωτογράφιση με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο JEOL 6360 SEM.

Μετρήσεις διαστάσεων γυρεοκόκκων

Μετρήθηκαν η περίμετρος και το εμβαδόν των lumina (ανοίγματα του ανάγλυφου της εξίνης), το μέγιστο (L) και το ελάχιστο (W) μήκος των lumina, καθώς και το πλάτος των muri (m) (χωρίσματα μεταξύ των lumina) (Lanza *et al.*, 1996). Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε ψηφιακές φωτογραφίες του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου με τη χρήση του λογισμικού Image-Pro Plus (V 2.0 Media Cybernetics). Στη συνέχεια, υπολογίστηκαν ο μέσος όρος και το τυπικό σφάλμα του μέσου (Standard Error). Πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις σε 30 γυρεοκόκκους ανά περιοχή και τα αποτελέσματα εκφράζονται σε μm .



Εικόνα 3. Σχηματική απεικόνιση των παραμέτρων που μετρήθηκαν στο ΗΜΣ στο εξώστρωμα του γυρεοκόκκου: περίμετρος και εμβαδόν των lumina, πλάτος muri (m), μέγιστη διάμετρος (L) και ελάχιστη διάμετρος (W) των lumina. (3α :δείγμα από Χανιά, 3β :δείγμα από Βόλο).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Οι μετρήσεις των διαστάσεων των γυρεοκόκκων που πραγματοποιήθηκαν με βάση το οπτικό μικροσκόπιο έδειξαν ότι το μέγεθος των γυρεοκόκκων του φυτού *Satureja thymbra* από τις δύο περιοχές συλλογής ήταν πανομοιότυπο και επομένως δεν κρίθηκε σκόπιμο να γίνει περαιτέρω στατιστική επεξεργασία.



Εικόνα 4. Γυρεόκοκκος *Satureja thymbra*
(κλίμακα: 10 μm)



Εικόνα 5. Γυρεόκοκκοι *Satureja thymbra*
(κλίμακα: 10 μm)

Γυρεόκοκκοι εξαγωνικοί, ωοειδείς, 27.0 μm , με 6 κόλπους ανοίγματος 5.0 μm (staphanocolpate).

Η ανάλυση διακύμανσης (One-Way ANOVA) χρησιμοποιείται για να ελέγξει την υπόθεση ότι, οι υπό έλεγχο μέσοι όροι για κάποια μεταβλητή δεν διαφέρουν μεταξύ τους. Στη συγκεκριμένη ανάλυση δημιουργείται μια μονόδρομη ανάλυση διακύμανσης για κάποιες ποσοτικά εξαρτημένες μεταβλητές μέσω μιας μόνο ανεξάρτητης μεταβλητής.

Στην παρούσα διατριβή, η ανάλυση διακύμανσης χρησιμοποιήθηκε στην αξιολόγηση των αποτελεσμάτων των μετρήσεων των διαστάσεων (με βάση τις φωτογραφίες από το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης) των γυρεοκόκκων του φυτού *Satureja thymbra* για να εντοπιστούν πιθανές διαφορές στο μέγεθος των γυρεοκόκκων σε διαφορετικές περιοχές.

Συγκεκριμένα, ως εξαρτημένες μεταβλητές θεωρήθηκαν τα χαρακτηριστικά των γυρεοκόκκων που μετρήθηκαν (L, W, m), ενώ ως ανεξάρτητη μεταβλητή η περιοχή.

Πίνακας 3. Σύγκριση της μέγιστης διαμέτρου L (μm) των lumina των γυρεοκόκκων *Satureja thymbra* στις διαφορετικές περιοχές συλλογής.

Μέγιστη διάμετρος L (μm)	Μέσος Όρος	Std Error	Μέγιστο	Ελάχιστο
Γραμβούσα Κισσάμου Χανίων	0.92 a	0.02671	0.98	0.87
Φανός Αλμυρού Βόλου	0.71 b	0.02653	0.76	0.65

Χαρακτηριστικά με διαφορετικό γράμμα, συμβολίζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο εμπιστοσύνης $\alpha : 0.05$.

Πίνακας 4. Σύγκριση της ελάχιστης διαμέτρου W (μm) των lumina των γυρεοκόκκων *Satureja thymbra* στις διαφορετικές περιοχές συλλογής.

Ελάχιστη διάμετρος W (μm)	Μέσος Όρος	Std Error	Μέγιστο	Ελάχιστο
Γραμβούσα Κισσάμου Χανίων	0.58 a	0.01984	0.62	0.54
Φανός Αλμυρού Βόλου	0.40 b	0.01488	0.43	0.37

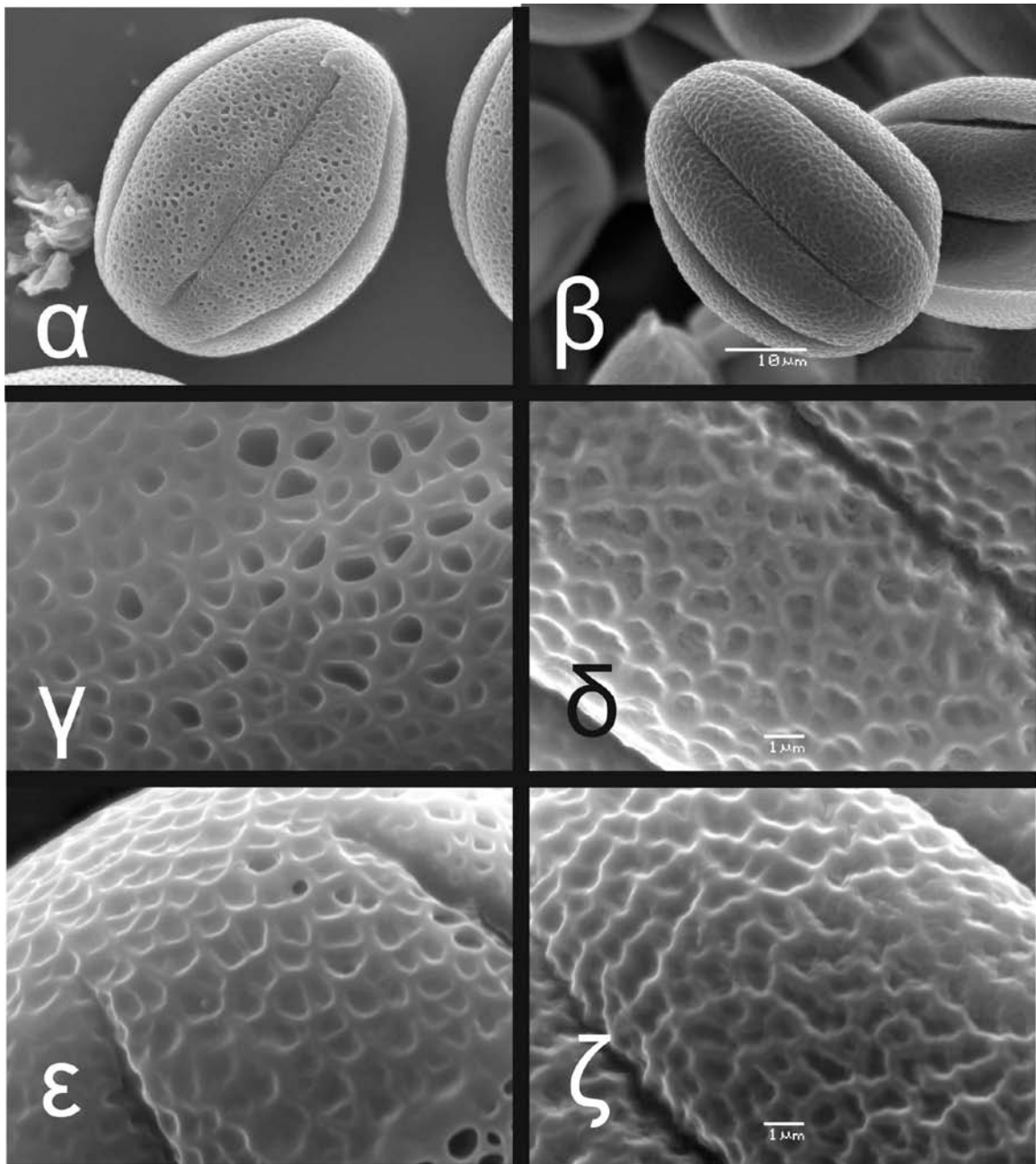
Χαρακτηριστικά με διαφορετικό γράμμα, συμβολίζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο εμπιστοσύνης $\alpha : 0.05$.

Πίνακας 5. Σύγκριση του πλάτους muri m (μm) των γυρεοκόκκων *Satureja thymbra* στις διαφορετικές περιοχές συλλογής.

Πλάτος muri m (μm)	Μέσος Όρος	Std Error	Μέγιστο	Ελάχιστο
Γραμβούσα Κισσάμου Χανίων	0.25 b	0.01508	0.28	0.22
Φανός Αλμυρού Βόλου	0.42 a	0.01552	0.45	0.38

Χαρακτηριστικά με διαφορετικό γράμμα, συμβολίζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο εμπιστοσύνης $\alpha : 0.05$.

Επειδή οι περιοχές σύγκρισης είναι μόνο δύο, εφαρμόστηκε η ανάλυση διακύμανσης (One-Way ANOVA) και είναι φανερό ότι υπάρχουν στατιστικά πολύ σημαντικές διαφορές ($P < 0.0001$) ανάμεσα στις μετρήσεις των δύο περιοχών με αποτέλεσμα επιπλέον στατιστική επεξεργασία των μετρήσεων να μην κρίνεται απαραίτητη.

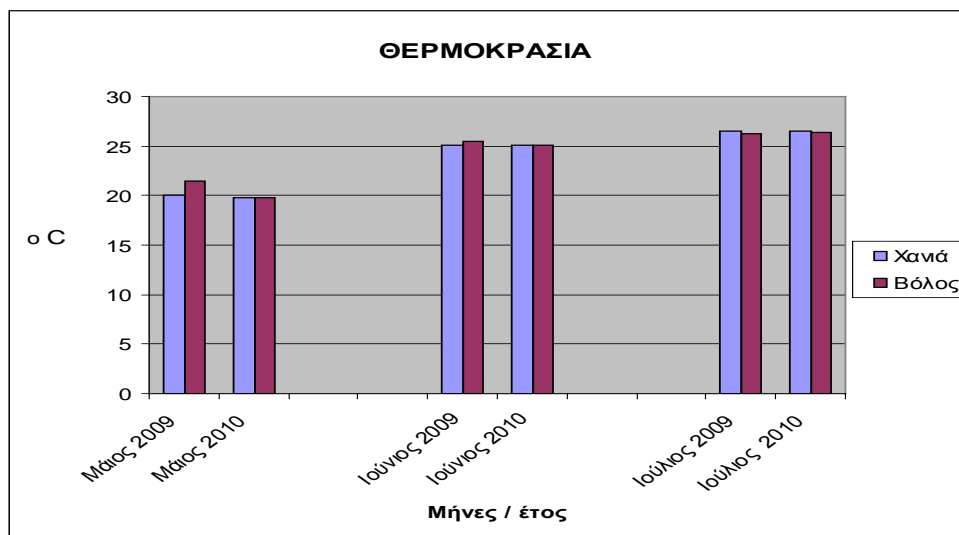


Εικόνα 6. Μικρογραφίες ΗΜΣ των γυρεοκόκκων του φυτού *Satureja thymbra* από τις δύο περιοχές. Οι Εικόνες 6α, γ και ε δείχνουν γυρεοκόκκους από την περιοχή των Χανίων ενώ οι Εικόνες 6β, δ και ζ είναι από την περιοχή του Βόλου. (Εικόνες 6α και 6β δείχνουν ολόκληρους γυρεοκόκκους και οι 6γ, δ, ε και ζ, λεπτομέρειες της εξίνης). Στις Εικόνες α & β η κλίμακα είναι 10 μm, ενώ στις Εικόνες γ, δ, ε & ζ η κλίμακα είναι 1 μm.

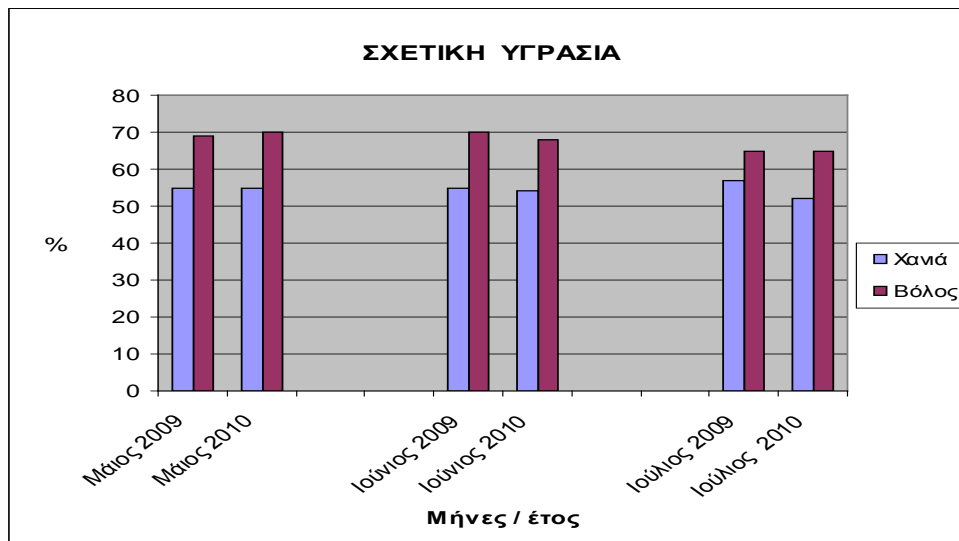
Παρατηρείται ότι, το εξώστρωμα των γυρεοκόκκων από τα Χανιά έχει πιο βαθιά ανοίγματα (lumina) τα οποία δεν φαίνεται να χωρίζονται, σε αντίθεση με το εξώστρωμα των γυρεοκόκκων από το Βόλο, όπου τα ανοίγματα (lumina) παρουσιάζονται πιο επιφανειακά και εμφανώς χωρίζονται σε περαιτέρω μικρότερες περιοχές. Επίσης, το πλάτος των τοιχωμάτων (muiri) στο εξώστρωμα των γυρεοκόκκων από το Βόλο, είναι εμφανώς πιο μεγάλο σε σχέση με εκείνο των γυρεοκόκκων από τα Χανιά, πράγμα το οποίο εξάλλου αποκαλύπτουν και οι μετρήσεις.

Μετεωρολογικά στοιχεία

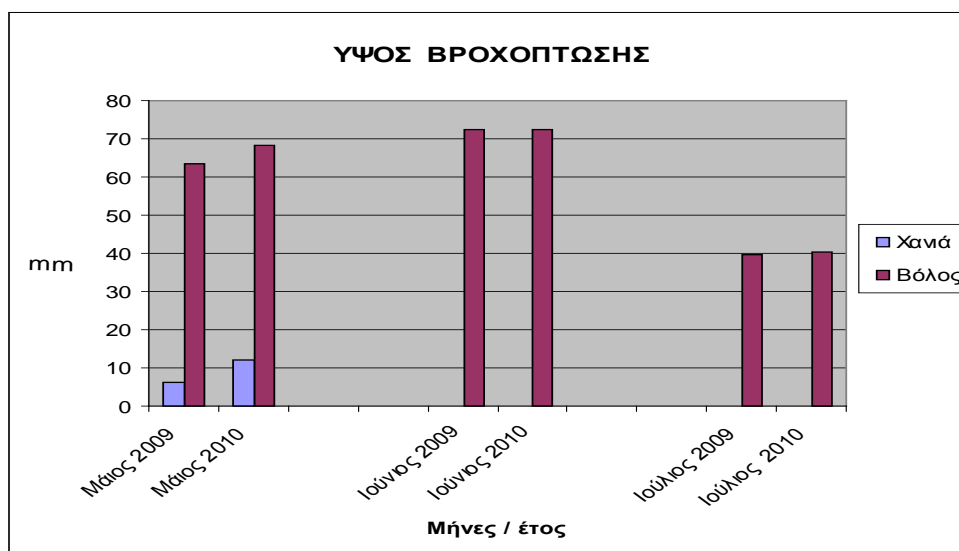
Οι κλιματολογικές συνθήκες που επικρατούν στις συγκεκριμένες περιοχές δειγματοληψίας, απεικονίζονται στις γραφικές παραστάσεις που ακολουθούν (Γραφική παράσταση 1, 2 και 3) οι οποίες σχηματίστηκαν με βάση τις μέσες μηνιαίες τιμές των μηνών που έγινε η συλλογή των ανθισμένων φυτών (στοιχεία EMY, 2009-2010). Να αναφέρουμε επίσης ότι, το υψόμετρο των περιοχών δειγματοληψίας ήταν το ίδιο.



Γραφική παράσταση 1. Απεικόνιση της θερμοκρασίας ανά περιοχή για τα έτη 2009-10.



Γραφική παράσταση 2. Απεικόνιση της σχετικής υγρασίας ανά περιοχή για τα έτη 2009-10.



Γραφική παράσταση 3. Απεικόνιση του ύψους βροχόπτωσης ανά περιοχή για τα έτη 2009-10.

Αν συγκρίνουμε τις διαστάσεις των γυρεοκόκκων (L, W, m) του *Satureja thymbra* σε διαφορετικές περιοχές, οι διαφορές είναι μεγάλες και πιθανό σχετίζονται με τις κλιματολογικές συνθήκες των περιοχών συλλογής. Έτσι, τα χαρακτηριστικά μέγιστη διάμετρος (L), ελάχιστη διάμετρος (W) των lumina και πλάτος muri (m) παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές, κατατάσσοντας τους γυρεόκοκκους σε διαφορετικές κατηγορίες ανάλογα με την περιοχή προέλευσης.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Γενικά, αναφέρεται ότι διαφορές στο υψόμετρο όπου φύεται ένα είδος μπορεί να επηρεάσουν το μέγεθος και την παραγωγή των γυρεοκόκκων. Φυτά που ανήκουν στο ίδιο είδος και φύονται σε χαμηλά υψόμετρα παράγουν γυρεοκόκκους μεγαλύτερου μεγέθους, ενώ παράλληλα αυξάνεται η συνολική παραγωγή γύρης (Mckone, 1990, Totland, 2001).

Η μεταβλητότητα των μορφολογικών χαρακτηριστικών των γυρεοκόκκων αποτελεί ένα σύνηθες φαινόμενο στα αγγειόσπερμα που σχετίζεται με γενετικούς ή περιβαλλοντικούς παράγοντες (Dajoz *et al.*, 1993). Διμορφισμός (Ojeda και Diez, 1992, Kaltchuk-Santos *et al.*, 1993, Ickert-Bond *et al.*, 2003) ή πολυμορφισμός (Chen *et al.*, 1989, Dajoz *et al.*, 1993, Mal και Hermann, 2000) των γυρεοκόκκων εμφανίζεται στο ίδιο είδος όταν παρουσιάζονται όχι μόνο μια αλλά δύο, τρεις και ακόμα περισσότερες μορφές γυρεοκόκκων που διαφέρουν στην πολικότητα, τη συμμετρία, τον αριθμό των ανοιγμάτων και τη μορφή του εξωστρώματος.

Η διαφορά στον αριθμό των ανοιγμάτων (*lumina*) φαίνεται να είναι η κυρίαρχη μορφή του πολυμορφισμού και με βάση την άποψη αυτή υπάρχει διαφοροποίηση από γυρεοκόκκους των οποίων οι διαφορές δεν καθορίζονται γενετικά (Erdtman, 1969). Οι γυρεοκόκκοι της οικογένειας *Lamiaceae* εμφανίζονται με τρεις ή έξι κόλπους ανάλογα με τον αριθμό των πυρήνων. Είδη με τρεις πυρήνες εμφανίζουν έξι κόλπους, όπως συμβαίνει στα γένη *Salvia*, *Rosmarinus* και *Thymus*. Αντίθετα, γυρεοκόκκοι με δύο πυρήνες εμφανίζουν τρεις κόλπους όπως το γένος *Scutellaria*. Η μορφολογία των γυρεοκόκκων της οικογένειας *Lamiaceae* έχει χρησιμοποιηθεί για την ταξινόμηση μέσα στην ίδια την οικογένεια (Harley *et al.*, 1992).

Διαφορές στη μορφολογία των γυρεοκόκκων σχετίζονται με χαρακτηριστικά του άνθους (Barrett *et al.*, 2000a, Hong και Han, 2002), όπως το μήκος του υπέρου (Barrett *et*

al., 2000a, Hong και Han, 2002), την ετεροστυλία (Barrett *et al.*, 2000b, Dajoz *et al.*, 1993, Dulberger, 1981, Naiki και Nagamasu, 2003) και τη μορφολογική διαφοροποίηση του στίγματος (Baker, 1953, Dulberger, 1981). Η ποικιλομορφία των γυρεοκόκκων, συμπεριλαμβανομένου και του μεγέθους, συχνά σχετίζεται με υβριδισμό (Chaturvedi *et al.*, 2000).

Το μέγεθος των γυρεοκόκκων όπως και το ανάγλυφο του εξωστρώματος σχετίζονται με τις κλιματικές συνθήκες, κυρίως με την υγρασία και τη θερμοκρασία (Karabournioti *et al.*, 2007). Οι μεγαλύτερες κλιματικές διαφορές μεταξύ των περιοχών δειγματοληψίας εμφανίζονται στη διαθεσιμότητα του νερού. Συγκρίνοντας τους δύο παράγοντες οι οποίοι σχετίζονται με το νερό (σχετική υγρασία και βροχόπτωση), η βροχόπτωση φαίνεται να είναι ο σημαντικότερος που επηρεάζει τη μορφολογία των γυρεοκόκκων. Η περιοχή των Χανίων είναι πιο ξηρή με μηδενικό ύψος βροχόπτωσης κατά τη διάρκεια της ανθοφορίας του *Satureja thymbra* σε σχέση με την περιοχή του Βόλου όπου κυμαίνεται μεταξύ 39.5-72.4 mm.

Σύμφωνα με τους Moore *et al* (1991), οι συνθήκες υγρασίας είναι σημαντικές κατά τα πρώτα στάδια της ανάπτυξης του γυρεοκόκκου και ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια της μείωσης. Η αφυδάτωση επηρεάζει το σχήμα των γυρεοκόκκων καθώς επίσης και τη δομή του εξωστρώματος (Blackmore και Barnes, 1986). Παραδείγματα αποτελούν το *Phaseolus vulgaris*, στο οποίο η έλλειψη νερού μειώνει τη βλαστικότητα της γύρης και οι γυρεοκόκκοι παρουσιάζουν εξώστρωμα με μεγάλα και βαθιά κενά (Shen και Webster, 1986), ενώ στο σιτάρι αναστέλλεται η ανάπτυξη των μικροσπορίων και περιορίζει το στρώμα του ενδοστρώματος (Lalonde *et al.*, 1997).

Το μέγεθος των γυρεοκόκκων και η βιωσιμότητα της γύρης μειώνονται από την απότομη αλλαγή της θερμοκρασίας τόσο κατά τη διάρκεια της άνθισης όσο και πριν από αυτή (Gross και Kigel, 1994). Η διάμετρος των γυρεοκόκκων μειώνεται όταν η θερμοκρασία της νύχτας είναι πάνω από 20 °C ή κάτω από 10 °C σε συνδυασμό με υψηλές θερμοκρασίες ημέρας που υπερβαίνουν τους 30 °C (Stanley και Linskens, 1974, Issrakraisila και Considine, 1994, Sukhvibul *et al.*, 1999). Γενότυποι ευαίσθητοι στη

θερμοκρασία παρουσιάζουν μεγαλύτερες αλλαγές στη μορφολογία των γυρεοκόκκων σε σχέση με τους θερμοανθεκτικούς (Porch και Jahn, 2001).

Σύμφωνα με πειράματα που πραγματοποιήθηκαν εκθέτοντας φυτά *Phaseolus vulgaris* (Porch και Jahn, 2001) και *Glycine max* (Koti *et al.*, 2005) σε διαφορές θερμοκρασίες ημέρας / νύχτας πάνω από 5-9 °C κατά τη διάρκεια τη σποριογένεσης, αποδείχτηκε ότι προκαλούνται διαφορές στη μορφή του εξωστρώματος και στο σχήμα των γυρεοκόκκων τόσο στο *Phaseolus vulgaris* όσο και στο *Glycine max*.

Με βάση τα μετεωρολογικά δεδομένα, η διαφορά θερμοκρασιών ημέρας / νύχτας στις περιοχές δειγματοληψίας της παρούσας μελέτης δεν παρουσιάζει ακραίες τιμές και εκτιμάται ότι η επίδραση της διαφοράς θερμοκρασίας μεταξύ ημέρας και νύχτας δεν είναι σημαντική.

Η επίδραση της θερμοκρασίας φαίνεται να επηρεάζει τη μορφολογία των γυρεοκόκκων σε μικρότερο βαθμό απ' ό τι η βροχόπτωση, παρατήρηση που πιστεύεται να ισχύει και για το *Thymus capitatus* (Karabournioti *et al.*, 2007). Επειδή όμως οι παρατηρήσεις έχουν γίνει στη φύση, πιθανότατα ο συνδυασμός θερμοκρασίας και υγρασίας να επηρεάζουν τη μορφολογία των γυρεοκόκκων.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι μετρήσεις των γυρεοκόκκων του φυτού *Satureja thymbra* που πραγματοποιηθήκαν σε φωτογραφίες του οπτικού μικροσκοπίου, μετά τη στατιστική επεξεργασία, αποκάλυψαν πως οι γυρεόκοκκοι ως προς το μέγεθος δεν παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις δύο περιοχές συλλογής.

Αντίθετα, οι μετρήσεις των γυρεοκόκκων του φυτού *Satureja thymbra* που πραγματοποιηθήκαν σε ψηφιακές φωτογραφίες του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου [μέγιστη διάμετρος (L), ελάχιστη διάμετρος (W) των lumina και πλάτος muri (m)] , με βάση τη στατιστική επεξεργασία, παρουσιάζουν διακύμανση στις διαφορετικές περιοχές συλλογής.

Σύμφωνα με την παρούσα πειραματική μελέτη, οι γυρεόκοκκοι του φυτού *Satureja thymbra* φαίνεται να παρουσιάζουν πολυμορφισμό, φαινόμενο το οποίο αποδίδεται στις κλιματολογικές συνθήκες και συγκεκριμένα στη διαφορά του ύψους της βροχόπτωσης των περιοχών συλλογής του φυτικού υλικού.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Baker, G. 1953. Dimorphism and monomorphism in the Plumbaginaceae. II Pollen and stigmata in the genus *Limonium*. Ann. Bot. (Lond.),17: 433-446.
- Barrett, S., Jesson, L., and Baker, A. 2000a. The evolution and function of stylar polymorphism in flowering plants. Ann. Bot. (Lond.), 85: 253-265.
- Barrett, S., Wilken, P., and Cole, W. 2000b. Heterostyly in the Lamiaceae: the case of *Salvia brandegeei*. Plant Syst. Evol. 223: 211-219.
- Blackmore, S. and Barnes, S. 1986. Harmomegathic mechanisms in pollen grains. In Pollen and spores: Form and function. Edited by S. Blackmore and I.K. Ferguson. Academic Press, London, UK.
- Chaturvedi, M., Datta, K., and Pal, M. 2000. Pollen anomaly-a clue to natural hybridity in *Argemone* (Papaveraceae). Grana, 38: 339-342.
- Chen, F., Ciampolini, F., Tiezzi, A., and Cresti, M. 1989. The ultra-structure of polymorphic pollen grains of *Canna indica* L. Sex. Plant Reprod. 2: 193-198.
- Dajoz, I., Till-Bottraud, I., and Gouyon, H. 1993. Pollen aperture polymorphism and gametophyte performance in *Viola diversifolia*. Evolution, 47: 1080-1093.
- Dulberger, R. 1981. Dimorphic exine sculpturing in three distylous species of *Linum* (Linaceae). Plant Syst. Evol. 139: 113-119.
- Erdtman, G. 1952. Pollen Morphology and Plant Taxonomy. An Introduction to Palynology, I. Angiosperms. Almqvist and Wiksell, Stockholm / Chronica Botanica Co., Waltham, Mass., 539 pp.
- Erdtman, G. 1969. Handbook of palynology. An introduction to the study of pollen grains and spores. Munksgaard Scandinavian University Books, Copenhagen, Denmark.
- Gross, Y., and Kigel, J. 1994. Differential sensitivity to high temperature of stages in the reproductive development of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Field Crops Res. 36: 201-212.

- Harley, M., Paton, A., Harley, R., and Cade, P. 1992. Pollen morphological studies in tribe Ocimeae (Nepetoideae: Labiatae).1. *Ociman* L. Grana, 31: 161-176.
- Hong, S., and Han, M. 2002. The floral dimorphism in the rare endemic plant *Abeliophyllum distichum* NAKAI (Oleaceae). Flora, 197: 317-325.
- Ickert-Bond, M., Skvarla, J., and Chissoe, F. 2003. Pollen dimorphism in *Ephedra* L. (Ephedraceae). Rev. Palaeobot. Plynol. 124: 325-334.
- Issrakraisila, M., and Considine, A. 1994. Effects of temperature on pollen viability in mango cv. Kensington. Ann. Bot. 73: 231-240.
- Kaltchuk-Santos, E., Zanettin, H., and Mundstock, E. 1993. Pollen dimorphism in soybean. Protoplasma, 174: 74-78.
- Karabournioti, S., Eleftheriou, E.P., Thrasyvoulou, A., and Fasseas, C. 2007. Pollen polymorphism in *Thymus capitatus* (Lamiaceae). Can. J. Bot. 85: 493-500.
- Karousou, R., Koureas, D. N. and Kokkini, S. 2005. Essential oil composition is related to the natural habitats: *Coridothymus capitatus* and *Satureja thymbra* in NATURA 2000 sites of Crete. Phytochemistry, 66:2668–2673.
- Koti, S., Raja Reddy, K., Reddy, R., Kakani, G., and Zhae, D. 2005. Interactive effects of carbon dioxide, temperature and ultraviolet-B radiation on soybean (*Glycine max* L.) flower and pollen morphology, pollen production germination and tube lengths. J. Exp. Bot. 56: 725-736.
- Kremp, O.W. 1965. Morphologic Encyclopedia of Palynology. Ed: University of Arizona Press, Tuscon.
- Lalonde, S., Beebe, D.U., and Saini, S. 1997. Early signs of disruption of wheat anther development associated with the induction of male sterility by meiotic-stage water deficit. Sex. Plant Reprod. 10: 40-48.
- Lanza, B, Marsilio, V., and Martinell, N. 1996. Olive pollen ultrastructure: characterization of exine pattern through image analysis-scanning electron microscopy (IA-SEM). Scientia Horticulturae, 65: 283-294.
- Louveaux, J., Maurizio, A., and Vorwhl, G. 1978. Methods of melissopalynology. Bee World, 59: 139-151.

- Mal, T., and Hermann, B. 2000. Quantitative evaluation of pollen polymorphism in a tristylous weed, *Lythrum salicaria* (Lythraceae). *Can. J. Bot.* 78: 1086-1094.
- Mckone, M. 1990. Characteristics of pollen production in a population of New Zealand snow-tussock grass (*Chionochloa pallens* Zotov). *New Phytol.* 116:555-562.
- McLean, R.C., and Ivimey-Cook, W.R. 1956. Textbook of Theoretical Botany, Vol. II. Longmans, London.
- Moore, P., Webb, J., and Collinson, M. 1991. Pollen analysis. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.
- Naiki, A., and Nagamasu, H. 2003. Distyly and pollen dimorphism in *Damnacanthus* (Rubiaceae). *J. Plant Res.* 116: 105-113.
- Ojeda, F., and Diez, J. 1992. Pollen dimorphism in three *Teucrium* species (Lamiaceae). *Plant Syst. Evol.* 183: 43-49.
- Porch, G. and Jahn, M. 2001. Effects of high-temperature stress on microsporogenesis in heat-sensitive and heat-tolerant genotypes of *Phaseolus vulgaris*. *Plant Cell Environ.* 24: 723-731.
- Reitsma, T. 1969. Size modification of recent pollen grains under different treatments. *Rev. Palaeobot. Palynol.* 9: 175-202.
- Roulston, T. H. and Cane, J. H. 2000. Pollen nutritional content and digestibility for animals. *Plant Syst. Evol.* 222:187-209.
- Sancho, M.T., Muniategni, S., Huidobro, J.F., and Simal-Lazara, J. 1991. Discriminant analysis of pollen spectra of Basque Country. *Journal of Apicultural Research*, 30: 162-167.
- Shen, Y. and Webster, D. 1986. Effects of water stress on pollen of *Phaseolus vulgaris* L. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 111: 807-810.
- Stanley, R. and Linskens, H. 1974. Pollen biology biochemistry management. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Sukhvibul, N., Whiley, A., Smith, K., Hetherington, S., and Vithanage, V. 1999. Affect of temperature on inflorescence and floral development in four mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*, 82: 67-84.

- Totland, O. 2001. Environment-dependent pollen limitation and selection on floral traits in an alpine species. *Ecology*, 82: 2233-2244.
- Tuttin, G., Heywood, H., Burges, A., Moore, M., Valentine, H., Walters, M., and Webb, M. 1968-1993. *Flora Europaea*, vol. 1-4. Cambridge University Press, Cambridge, Mass.
- Von der Ohe, W., Persano-Oddo, L., Piana, M.L., Morlot, M., and Marti, P. 2004. Harmonized methods of melissopalynology. *Apidologie*, 35: 18-25.
- Δριμτζιάς, Ν.Ε. 2003. Γύρη, μελέτη και γνώση. Εφαρμογή στη μελισσογυρεολογία. Αθήνα, 1-20,34-35,41-45.
- Δροσόπουλος, Ι.Β. 1999. Η μορφολογία και η ανατομία των φυτών. Αθήνα, 2:88-96.
- Παπαχριστοφόρου, Α., Τανανάκη, Χ., Δήμου, Μ., Θρασυβούλου, Α. (2002). Μπορούμε να διαπιστώσουμε τη γεωγραφική προέλευση του θυμαρίσιου μελιού από τους γυρεόκοκκους; *Μελισσοκομική Επιθεώρηση* 16:(3)131-134.
- Σαρλής, Γ.Π. 1999. *Συστηματική Βοτανική*. Εκδόσεις Αθ. Σταμούλης, Αθήνα, 267-273.

