

ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΩΝ ΑΔΕΝΙΚΩΝ ΤΡΙΧΩΝ ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΟΥΝ ΑΙΘΕΡΙΟ ΕΛΑΙΟ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΤΟΥ ΔΙΚΤΑΜΟΥ

Αρτέμιος Μ. Μποζαμπαλίδης

Εργαστήριο Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο
Θεσσαλονίκη 54 124

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα φύλλα του δικτάμου φέρουν στην επιφάνειά τους ένα πλήθος από αδενικές τρίχες, στις οποίες παράγεται το αιθέριο έλαιο. Κάθε αδενική τρίχα αποτελείται από ένα κύτταρο βάσης, ένα κύτταρο μίσχου και μια δωδεκακύτταρη κεφαλή. Η οντογένεση της τρίχας ξεκινάει από ένα αρχικό επιδερμικό κύτταρο, το οποίο με μια σειρά διαιρέσεων δίνει το τελικό αδενικό σώμα. Παρατηρήσεις με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο έδειξαν ότι η παραγωγή του αιθερίου ελαίου λαμβάνει χώρα στα κύτταρα της κεφαλής. Κατά την έκκριση, στο θεμελιώδες πλάσμα των κυττάρων εμφανίζονται πολυάριθμα ελαιοσταγονίδια, τα οποία μετακινούνται προς την κορυφή της κεφαλής, και στη συνέχεια αποχύνονται σε ένα χώρο που δημιουργείται ανάμεσα από τα τοιχώματα και την ανασηκωμένη εφυμενίδα. Όταν ολοκληρωθεί η έκκριση, τα αδενικά κύτταρα αποδιοργανώνονται.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το δίκταμο είναι ένα ενδημικό φυτό της Κρήτης που αναπτύσσεται σε βραχώδεις περιοχές με υψόμετρο 300-1500m. Έχει ένα μέσο ύψος περίπου 35 εκ. και σε κάθε γόνατο του βλαστού του φέρει ένα ζευγάρι φύλλα, σταυρωτά τοποθετημένα ως προς τα υπερκείμενα και υποκείμενα ζευγάρια. Τα φύλλα έχουν περίπου το ίδιο μήκος και πλάτος (γύρω στα 2 εκ.) και η επιφάνειά τους είναι πυκνά επικαλυμμένη από μη-αδενικές τρίχες που της προσδίνουν μια βελούδινη όψη. Εκτός από τις μη-αδενικές τρίχες, υπάρχουν και αδενικές τρίχες, οι οποίες παράγουν ένα αιθέριο έλαιο με το χαρακτηριστικό άρωμα του δικτάμου. Το αιθέριο έλαιο έχει οικονομική σημασία και χρησιμοποιείται στην οινοποιία (μαρτίνι) και στην κοσμετολογία. Χημικές αναλύσεις που έγιναν στο αιθέριο έλαιο έδειξαν ότι το κύριο συστατικό του είναι η καρβακρόλη (60-80% περίπου) (Skrubis 1979, Katsiotis & Oikonomou 1986).

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε το δίκταμο όχι από φαρμακευτική ή χημική άποψη, αλλά από βιολογική. Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκαν οι αδενικές τρίχες που παράγουν το αιθέριο έλαιο. Με το οπτικό μικροσκόπιο ερευνήθηκε η ανατομία των τριχών και τα διαδοχικά στάδια της ανάπτυξής τους. Με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης ερευνήθηκε η εξωτερική μορφολογία τους και με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης ερευνήθηκαν οι μεταβολές που λαμβάνουν χώρα στο εσωτερικό των αδενικών κυττάρων κατά τα στάδια πριν από την έκκριση του αιθερίου ελαίου, κατά την έκκριση και μετά την έκκριση. Εντοπίστηκαν τα ενδοκυτταρικά στοιχεία που είναι υπεύθυνα για τη βιοσύνθεση του εκκρίματος και προσδιορίστηκε η πορεία / οδός της απέκκρισης του προϊόντος.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Πλήρως αναπτυγμένα φύλλα δικτάμου (*Origanum dictamnus* L.) κόπηκαν σε μικρά κομματάκια και υπέστησαν χημική προστερέωση με μίγμα 2,5% γλουταρικής αλδεύδης και 2% παραφορμαλδεύδης. Ακολούθησε μεταστερέωση με 1% τετροξείδιο του οσμίου και διαδοχική αφυδάτωση με αυξανόμενη συγκέντρωση αιθανόλης. Στη συνέχεια τα δείγματα εμποτίστηκαν και εγκλείστηκαν σε εποξειδική ρητίνη Spurr. Από τα δείγματα λήφθηκαν σε υπερμικροτόμο Reichert OmU₂ ημίλεπτες τομές (πάχους 1 μm) για το οπτικό μικροσκόπιο (Zeiss photomicroscope III) και υπέρλεπτες τομές (πάχους 80 nm) για το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (JEOL 100B).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα φύλλα του δικτάμου, όπως είπαμε προηγούμενα, είναι περίπου στρογγυλά και φέρονται σταυρωτά κατά ζευγάρια στα γόνατα των βλαστών (Εικ. 1). Είναι ιδιαίτερα τριχωτά, εξαιτίας των πολυάριθμων μη-αδενικών τριχών που υπάρχουν στην επιφάνεια τους (Εικ. 2). Οι μη-αδενικές τρίχες είναι επιμήκεις, πολυκύτταρες, διακλαδιζόμενες, με οξύληκτα άκρα. Ανάμεσα στις μη-αδενικές τρίχες φέρονται διάσπαρτες αδενικές τρίχες, οι οποίες παράγουν το αιθέριο έλαιο. Οι αδενικές τρίχες είναι δύο τύπων, ογκώδεις μακροκέφαλες (AT1) και κοντές μικροκέφαλες (AT2) (Εικ. 2). Το αιθέριο έλαιο παράγεται κυρίως από τις μακροκέφαλες τρίχες. Παρατηρήσεις σε εφαπτομενικές τομές φύλλων έδειξαν ότι στην πάνω επιφάνεια ενός φύλλου υπάρχουν περίπου 1210 μακροκέφαλες τρίχες και στην κάτω 1470 (Bosabalidis 1990).

Κάθε μακροκέφαλη τρίχα αποτελείται από ένα κύτταρο βάσης, ένα υπερκείμενο κύτταρο μίσχου και μια ογκώδη κεφαλή (Εικ. 3). Η κεφαλή φέρει 12 κύτταρα, από τα οποία τα 8 μεγαλύτερα είναι περιφερειακά διαταγμένα και τα 4 μικρότερα βρίσκονται στο κέντρο (Bosabalidis & Tsekos 1982). Το αιθέριο έλαιο παράγεται στα κύτταρα της κεφαλής και απεκκρίνεται σε ένα χώρο που δημιουργείται στην κορυφή της κεφαλής ανάμεσα από τα κυτταρικά τοιχώματα και την ανασηκωμένη εφυμενίδα (Εικ. 3). Η ιστοχημική μέθοδος ανίχνευσης του λιπόφιλου προϊόντος με τη βιοχρωστική Sudan Black B, έδειξε την παρουσία αιθερίου ελαίου στα κύτταρα της κεφαλής και στον υπεφυμενιδικό χώρο (σκούρο χρώμα) (Εικ. 4).

Η ανάλυση του αναπτυξιακού προτύπου των μακροκέφαλων αδενικών τριχών έδειξε ότι κάθε τέτοια τρίχα προκύπτει από ένα αρχικό επιδερμικό κύτταρο, το οποίο είναι ογκωδέστερο από τα γύρω του επιδερμικά κύτταρα (Εικ. 5). Στο κύτταρο αυτό ο πυρήνας προοδευτικά μεταναστεύει προς τα πάνω (Εικ. 6, 7) κάτι που οδηγεί σε μια ασύμμετρη διαίρεση με δύο θυγατρικά κύτταρα (Εικ. 8). Το κάτω κύτταρο είναι το μελλοντικό κύτταρο της βάσης της τρίχας, ενώ το πάνω κύτταρο ξαναδιαίρεείται δίνοντας άλλα δύο θυγατρικά κύτταρα (Εικ. 9). Το κάτω κύτταρο είναι το κύτταρο του μίσχου της τρίχας, ενώ το πάνω θολωτό κύτταρο είναι το μητρικό κύτταρο της κεφαλής. Το τελευταίο υφίσταται μια σειρά από διαδοχικές διαιρέσεις (Εικ. 10, 11) διαμορφώνοντας τη δωδεκακύτταρη κεφαλή.

Μόλις ολοκληρωθούν οι κυτταροδιαιρέσεις, αρχίζει η έκκριση του αιθερίου ελαίου. Αυτό συγκεντρώνεται αρχικά σε ένα μικρό υπεφυμενιδικό χώρο (Εικ. 12), ο οποίος αργότερα γίνεται ογκώδης και μοιάζει με μια μεγάλη κύστη στην κορυφή της

τρίχας (Εικ. 13). Μετά την ολοκλήρωση της εκκριτικής διαδικασίας, η αδενική τρίχα αποδιοργανώνεται και νεκρώνεται (Εικ. 14).

Η μελέτη με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο έδειξε ότι λίγο πριν από την έναρξη της έκκρισης, στα αδενικά κύτταρα της κεφαλής της τρίχας αυξάνεται έντονα ο αριθμός των μιτοχονδρίων (Εικ. 15). Τα μιτοχόνδρια θα παράγουν την ενέργεια που απαιτείται για να πραγματοποιηθεί η έκκριση, η οποία είναι μια ενεργός διαδικασία. Τα πλαστίδια δεν περιέχουν ένα οργανωμένο σύστημα μεμβρανών, αλλά μόνο μερικά διάσπαρτα κυκλικά θυλακοειδή και σκούρες ελασματοειδείς δομές.

Όταν αρχίσει η έκκριση, στο θεμελιώδες πλάσμα των αδενικών κυττάρων εμφανίζονται πολυάριθμα σταγονίδια αιθερίου ελαίου, διαφόρων μεγεθών (Εικ. 16). Με βάση πρόσφατες μελέτες (Bick & Lange 2003), από τα συστατικά του αιθερίου ελαίου, τα σεσκιτερπένια παράγονται στο θεμελιώδες πλάσμα, τα δε μονοτερπένια στα πλαστίδια. Επειδή μέσα στα πλαστίδια δεν παρατηρούνται σταγονίδια αιθερίου ελαίου, είναι πιθανόν τα μονοτερπένια να εξέρχονται από τα πλαστίδια στο θεμελιώδες πλάσμα, όπου μαζί με τα σεσκιτερπένια συγκροτούν το τελικό εκκρινόμενο προϊόν. Κατά τη πορεία της έκκρισης, το αιθέριο έλαιο διοχετεύεται προς τα κορυφαία τοιχώματα της κεφαλής της τρίχας, τα οποία αφού διαπεράσει συγκεντρώνεται σε ένα χώρο κάτω από την ανασηκωμένη εφυμενίδα (Εικ. 17).

Όταν ολοκληρωθεί η έκκριση, τα αδενικά κύτταρα προοδευτικά αποδιοργανώνονται. Συμπτώματα της αποδιοργάνωσης αυτής είναι η καταστροφή του πυρήνα και των άλλων οργανιδίων, η πλασμόλυση του κυτοπλάσματος, η αναδίπλωση των κυτταρικών τοιχωμάτων, κλπ. (Εικ. 18). Η αδενική τρίχα, παρά την αποδιοργάνωση του περιεχομένου των κυττάρων της, διατηρεί την οντότητα της και παραμένει στην επιφάνεια του φύλλου, έχοντας στην κορυφή της την «κύστη» με το αιθέριο έλαιο. Τα ώριμα φύλλα (2 εκ.) φέρουν μόνο τέτοιες αποδιοργανωμένες τρίχες, ενώ τα νεαρά (1-2 χιλ.) φέρουν τρίχες σε διάφορα στάδια ανάπτυξης (Εικ. 5-14).

ΥΠΟΤΙΤΛΟΙ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικ. 1. Μακροσκοπική εικόνα φυλλοφόρων βλαστών δικτάμου.

Εικ. 2. Η επιφάνεια του φύλλου του δικτάμου, όπως φαίνεται με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης. Υπάρχουν μη-αδενικές τρίχες (MT), καθώς και αδενικές τρίχες δύο ειδών, μακροκέφαλες (AT1) και μικροκέφαλες (AT2).

Εικ. 3. Κατά μήκος τομή (ανατομία) μακροκέφαλης αδενικής τρίχας. Αποτελείται από ένα κύτταρο βάσης (KB), ένα κύτταρο μίσχου (KM) και μια πολυκύτταρη κεφαλή (KK). Στην κορυφή της κεφαλής, η εφουμενίδα ανασηκώνεται και σχηματίζει μια κύστη (YX) στην οποία συγκεντρώνεται το αιθέριο έλαιο.

Εικ. 4. Ιστοχημική χρώση αδενικής τρίχας με τη βιοχρωστική Sudan black B. Το αιθέριο έλαιο ανιχνεύεται στην κεφαλή και στον υπεφυμενιδικό χώρο (σκούρο χρώμα).

Εικ. 5-14. Διαδοχικά στάδια ανάπτυξης μακροκέφαλης αδενικής τρίχας (AKA= αρχικό κύτταρο αδενικής τρίχας, KB= κύτταρο βάσης, KK= αρχικό κύτταρο κεφαλής, KM= κύτταρο μίσχου, YX= υπεφυμενιδικός χώρος).

Εικ. 15. Λίγο πριν από την έκκριση, συγκέντρωση στα κύτταρα της κεφαλής πολυάριθμων μιτοχονδρίων (MT) που χρησιμεύουν ως πηγές ενέργειας. Τα πλαστίδια (ΠΛ) είναι τυπικοί λευκοπλάστες.

Εικ. 16. Σταγονίδια αιθερίου ελαίου (AE) διαφόρων μεγεθών, τα οποία παράγονται στα κύτταρα της κεφαλής κατά την έναρξη της έκκρισης.

Εικ. 17. Σε φάση προχωρημένης έκκρισης, ανάμεσα από την ανασηκωμένη εφουμενίδα (ΕΦ) και το κυτταρικό τοίχωμα (KT) δημιουργείται ένας χώρος, στον οποίο συγκεντρώνεται το αιθέριο έλαιο (σκουρόχρωμο).

Εικ. 18. Αποδιοργανωμένα αδενικά κύτταρα κεφαλής, μετά την ολοκλήρωση της έκκρισης. Ο πυρήνας (ΠΡ- διακεκομμένη γραμμή) και τα άλλα οργανίδια έχουν αποδιοργανωθεί και τα κυτταρικά τοιχώματα (KT) είναι αναδιπλωμένα.

(Οι αριθμοί στις μπάρες όλων των εικόνων αντιστοιχούν σε μm)

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Bick J.A. & Lange B.M. 2003. Metabolic cross talk between cytosolic and plastidial pathways of isoprenoid biosynthesis: unidirectional transport of intermediates across the chloroplast envelope membrane. Arch. Biochem. Biophys. 415, 146-154.
- Bosabalidis A.M. 1990. Quantitative aspects of *Origanum dictamnus* L. glandular scales Bot. Helv. 100, 199-206.
- Bosabalidis A.M. & Tsekos I. 1982. Glandular scale development and essential oil secretion in *Origanum dictamnus* L. Planta 156, 496-504.
- Katsiotis S. & Oikonomou G.N. 1986. Vergleichende Untersuchung verschiedener wildwachsender und in Kreta angebauter Muster von *Origanum dictamnus* L. Sci. Pharm. 54, 49-52.
- Skrubis B. 1979. *Origanum dictamnus* L., a Greek native plant. J. Ethnopharm. 1, 411-415.





