

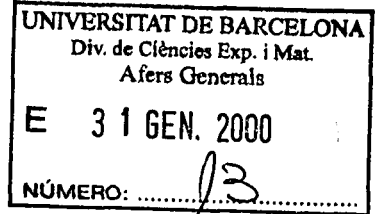
Estudi biosistemàtic del gènere *Dianthus* L. al NE de la Península Ibèrica

Mercè Bernal Cid

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tesisenxarxa.net) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tesisenred.net) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tesisenxarxa.net) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



Universitat de Barcelona
Facultat de Biologia
Departament de Biologia Vegetal
Unitat de Botànica

Estudi biosistemàtic del gènere *Dianthus* L. al NE de la península Ibèrica

Mercè Bernal i Cid

(Tesi Doctoral)

Memòria presentada per Mercè Bernal i Cid
per a optar al grau de Doctor en Biologia.
Dirigida pel Dr. Josep Vigo i Bonada (com a
continuador de la Dra. M. Àngels Cardona
i Florit †), del Departament de Biologia
Vegetal, Facultat de Biologia, Universitat de
Barcelona

Barcelona, desembre de 1999

7. MORFOLOGIA DE LA LLAVOR

7. MORFOLOGIA DE LA LLAVOR

7.1. INTRODUCCIÓ

Les característiques morfològiques de les granes tenen, potencialment, un gran valor taxonòmic a causa, principalment, de la seva constància (DAVIS & HEYWOOD, 1963; BARTHLOTT, 1981; BARTHLOTT 1984). Els caràcters carpològics i seminològics s'han utilitzat amb finalitats sistemàtiques de manera tradicional en el cas d'algunes famílies, com per exemple les compostes o les umbel·líferes, mentre que en d'altres no han estat presos en consideració.

Igual que altres fonts clàssiques de la Sistemàtica, l'estudi de les granes ha tornat a un primer pla des que els investigadors han tingut al seu abast noves tècniques de recerca i instrumental d'alta resolució. A més, l'ús de les noves metodologies ha permès conèixer nous aspectes que han incrementat i reforçat la importància de la informació proporcionada per les granes.

Els caràcters relatius a la llavor susceptibles de tenir interès a nivell taxonòmic són diversos, començant pels més evidents com poden ser la forma o les dimensions i continuant pels més subtils, relatius a les característiques de la superfície de l'episperma o de l'estructura interna. La importància relativa d'uns i altres varia segons els diferents grups taxonòmics i la categoria sistemàtica implicada.

En l'aspecte de la morfologia general, les granes del gènere *Dianthus* presenten una notable uniformitat en contraposició amb altres gèneres, com *Delphinium* per exemple (BLANCHÉ, 1991), en que la diversitat morfològica de les llavors posa de manifest l'existència de diferents línies evolutives. A causa de l'esmentada uniformitat, el nucli central del present capítol el constitueix l'estudi de les característiques microestructurals de l'episperma de la llavor, ja que és en l'ornamentació i l'estructura general de l'episperma on hem pogut detectar diferències més marcades entre els diferents tàxons.

Avui els taxònoms estan d'acord en la importància dels caràcters relatius a la superfície de la llavor en la classificació de les angiospermes (BEHNKE & BARTHLOTT, 1983). Malgrat aquesta constatació, però, els estudis sobre les característiques microestructurals de l'episperma no han estat gaire freqüents fins fa relativament pocs anys i, conseqüentment, no han tingut gaire influència sobre les classificacions resultants.

Durant les 2 darreres dècades la utilització del microscopi electrònic de rastreig (M.E.R.) ha contribuït en gran manera a l'augment dels coneixements sobre la microestructura de la superfície de les granes. La simplicitat de la tècnica utilitzada en la preparació del material per la seva observació al M.E.R. combinada amb la sorprenent diversitat de les estructures visualitzades han facilitat que tingui lloc un important increment de la informació disponible per a la classificació de les angiospermes. El M.E.R. ha posat de manifest nous caràcters estructurals i ha proporcionat informació de caire sistemàtic i diagnòstic molt valuosa. En contrast amb les dades proporcionades pel microscopi electrònic de transmissió, les dades del M.E.R. tenen gran interès, normalment, per a les categories taxonòmiques baixes, entre els nivells de gènere i de varietat.

Hi ha tres aspectes que fan particularment adequat l'estudi de la superfície de l'episperma amb finalitats taxonòmiques:

- La gran diversitat estructural ja mencionada. Tal i com han posat de manifest MIÈGE & MASCHERPA (1979), l'examen de les superfícies tegumentaries de les granes al M.E.R. permet descobrir nombrosos detalls estructurals, d'elevat valor diagnòstic.
- Els caràcters relatius a la superfície de l'episperma solen estar poc afectats per les condicions ambientals (BOCQUET, 1968; BARI, 1969). Es tracta de caràcters relativament independents de les fluctuacions degudes al medi extern o "reaccions fenotípiques". La seva constància fa que a priori puguin considerar-se com a bons caràcters sistemàtics.
- Normalment l'episperma té unes característiques que fan que sigui estable en el buit permetent així una ràpida preparació de la mostra per a la seva observació al M.E.R. i prescindint de complicades tècniques de deshidratació (BARTHLOTT, 1981).

En les cariofilàcies l'estudi de les granes al M.E.R. s'ha aplicat a diversos grups taxonòmics entre els quals cal destacar els gèneres *Arenaria* (WOFFORD, 1981; WAYTT, 1984; GODEAU, 1973; FAVARGER & NIETO FELNER 1988), *Minuartia* (CELEBIOGLU & AL., 1983), *Sagina* (CROW, 1979), *Petrocoptis* (MONTSERRAT RECODER, 1979), *Silene* (AESCHIMANN, 1984; CANDAU & TALAVERA, 1979) i *Moehringia* (MONTSERRAT MARTI, 1988). En el cas del gènere *Dianthus*, la revisió bibliogràfica duta a terme posa de manifest l'absoluta manca de dades sobre les granes, inclús en el cas de les monografies.

Per a la nomenclatura dels caràcters de l'episperma estudiats hem seguit la classificació proposada per BARTHLOTT (1981), que agrupa els caràcters relatius a la superfície de la llavor en les quatre categories següents:

- **Ordenació de les cèl·lules de l'episperma** - L'ordenació de les cèl·lules de la coberta seminal està determinada per la orientació i la posició que prenen aquestes.
- **Morfologia de les cèl·lules de l'episperma** - La morfologia de les cèl·lules de l'episperma en visió superficial, anomenada també per BARTHLOTT (1981) "escultura primària", és la característica més sobresortint de la testa de les llavors. L'escultura primària de la testa depèn de quatre tipus de microcaràcters, determinants de la forma de les esmentades cèl·lules. Són els següents:

El contorn cel·lular - Les cèl·lules de l'episperma en visió superficial poden ser des de 3-gones fins a 30-gones i el seu contorn pot ser des d'isodiamètric a més o menys rectangular.

Les parets anticlinals - El límit cel·lular visible superficialment pot ser recte, corbat irregularment o més o menys regularment ondulat o sinuat. En termes descriptius, les ondulacions poden classificar-se en quatre tipus: S, U, Ω i V.

El relleu dels límits cel·lulars - Els límits entre les parets anticlinals poden presentar estructures i formes particulars: acanalats si estan enfonsats respecte al nivell de les cèl·lules veïnes o convexos si sobresurten respecte al mateix nivell.

La corbatura de la paret periclinal externa - Aquesta corbatura és la responsable de les rugositats sovint visibles macroscòpicament a la superfície de les granes. Les cèl·lules poden ser planes, còncaves o convexes. Existeix una llarga nomenclatura per designar els diversos tipus de convexitats.

- **Microrrelleu de la paret cel·lular externa** - El microrrelleu de la paret cel·lular externa també és anomenat per BARTHLOTT (1981) "escultura secundària". La superfície d'aquesta paret pot ser llisa o bé presentar diversos tipus de micro-ornamentacions (estries, reticulacions, micropapil·les, etc.). Estructuralment aquestes micro-ornamentacions poden tenir orígens diversos que sovint només poden posar-se de manifest mitjançant un detingut examen al M.E.T.
- **Secrecions epicuticulars** - Les secrecions epicuticulars constitueixen el que BARTHLOTT (1981) anomena "l'escultura terciària". Des del punt de vista químic, les substàncies que constitueixen les secrecions epicuticulars poden ser de natura molt diversa. Nosaltres únicament ens ocuparem de les ceres epicuticulars i substàncies relacionades, secretades per cèl·lules epidèrmiques no especialitzades en tots els grups d'angiospermes i de gimnospermes.

7.2. MATERIAL I MÈTODES

7.2.1. Material

7.2.1.1. El material vegetal

Les granes estudiades provenen, en part, del material obtingut en el transcurs de les nostres campanyes de recol·lecció i, en part, de plecs procedents d'herbaris diversos. El llistat del material estudiat s'inclou a l'apartat "Material estudiat" del capítol 11, i és indicat amb la lletra LL (llavors).

Cal assenyalar que la majoria dels plecs d'herbari revisats no contenen llavors, ja que, normalment, els exemplars recol·lectats es troben en estat de floració; i això ha constituït un factor limitant pel que fa al nombre de poblacions estudiades. Un altre limitant en el mateix sentit ha estat la utilització del M.E.R. per a l'observació de determinats microcaràcters per mor de les dificultats de tenir-lo a disposició regularment. Finalment, cal dir que en el cas de *D. costae*, tàxon amb una àrea de distribució molt restringida en la qual està representat per molt poques poblacions, no ens ha estat possible de trobar-ne granes en cap de les campanyes dutes a terme.

7.2.1.2. L'utilitatge

- Estereoscopi binocular NIKON 102
- Microscopi electrònic de rastreig Stereoscan S-4, Cambridge Instruments. Servei de Microscòpia Electrònica, Universitat de Barcelona.
- Microscopi electrònic de rastreig JEOL
- Metal·litzador Diode-Sputtering Polaron E-5000. Servei de Microscòpia Electrònica, Universitat de Barcelona.

7.2.2. Metodologia

7.2.2.1. Mostra estudiada

La magnitud de la mostra estudiada ha variat en funció del tipus de caràcters. Els caràcters macroscòpics, com la morfologia de la grana i les seves dimensions, s'han establert a partir d'una mostra del voltant de 30 granes, escollides a l'atzar i originàries de poblacions diferents per a cadascun dels tàxons. En el cas dels caràcters microscòpics observats amb el M.E.R., únicament hem pres fotografies d'un nombre petit d'exemplars, a causa de les limitacions abans esmentades.

7.2.2.2. Observació macroscòpica

Els caràcters macroscòpics estudiats han estat la forma i les dimensions de les granes. Per a aquest estudi hem utilitzat llavors madures prèviament netejades amb alcohol etílic absolut. Amb les

llavors així preparades, varem prendre nota de la forma i varem mesurar les dimensions dels dos eixos principals (E, eix major; e, eix menor) sota la lupa binocular tal com s'indica a la figura 7.1.

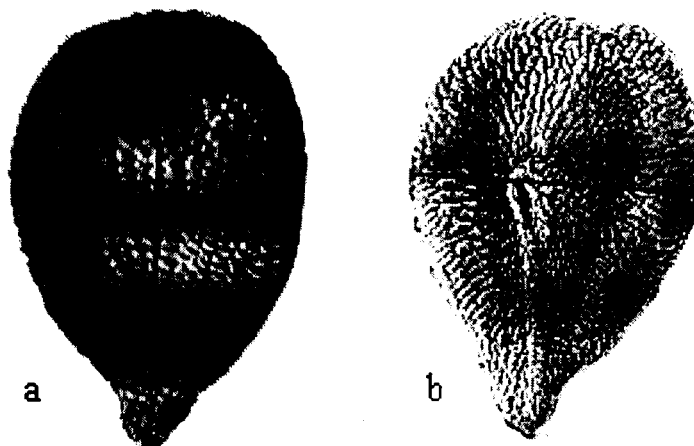


Figura 7.1. Eixos mesurats en les llavors de *Dianthus*; **a.** Cara dorsal, E - eix major; **b.** Cara ventral, e - eix menor.

7.2.2.3. Observació amb el M.E.R.

Per a la seva observació al M.E.R. no hem netejat prèviament les granes, amb la finalitat de no alterar la pel·lícula externa de secrecions epicuticulars, sinó que hem procedit directament al seu muntatge sobre el portaobjectes metàl·lic. Per a la fixació de les granes sobre el portaobjectes hem seguit dues tècniques:

a. Cintes biadhesives: La cinta biadhesiva s'enganxa directament sobre el portaobjectes per una de les seves cares. Un cop fet això, s'allibera l'altra cara i, sota la lupa binocular, es procedeix a muntar les mostres en les posicions convenients. Aquest mètode té l'avantatge de proporcionar unes imatges totalment netes, però presenta l'inconvenient que, en alguns casos, després de la metal·lització, poden donar-se problemes de transmissió elèctrica que es tradueixen a les fotografies en zones d'ombra, il·luminació deficient, refringències, etc.

b. Plata col·loïdal: Es diposita una gota de plata col·loïdal sobre el portaobjectes metàl·lic i, abans que no s'assequi, s'hi adhireixen les llavors en la posició desitjada. A continuació s'hi fan els retocs necessaris mitjançant una nansa. Aquesta tècnica assegura una perfecta transmissió elèctrica, amb l'eliminació d'ombres i zones de càrrega, però posa de manifest les irregularitats de la gota de plata a les fotografies.

Un cop enllestida la fixació de les granes sobre el portaobjectes metàl·lic es procedeix a la seva metal·lització amb or en un Diode-Sputtering (Polaron E-5000) a 16 mA i 1,3 kV durant 4 minuts.

L'observació es duu a terme mitjançant la pantalla de rastreig i se'n fan fotografies (durant 100 s, descàrrega de 30 kV).

Els caràcters estudiats a partir de les fotografies realitzades han estat els següents: l'ordenació cel·lular, la morfologia de les cèl·lules de la testa, el microrelleu de la paret cel·lular externa i les secrecions epicuticulars.

7.3. RESULTATS

7.3.1. Morfologia i dimensions de les granes

Les granes del gènere *Dianthus* són bastant uniformes pel que fa a la seva forma. El seu contorn es d'obovata a amplament obovata i amb l'apex més o menys fortament apiculat. En secció són fortament comprimides dorsiventralment. És possible distingir-hi una cara dorsal i una cara ventral. L'hilum ocupa una posició aproximadament central a la cara ventral (vegeu les figures 7.1 i 7.5). El color de les granes madures pot variar des del bru fosc fins al negre més o menys brillant. Les dimensions són més variables que la forma; la longitud de l'eix major oscil·la entre 1,2 i 4,2 mm en el conjunt de tàxons estudiats, i la del menor entre 0,6 i 2,7 mm (vegeu les taules 7.1 i 7.2 i les figures 7.2, 7.3 i 7.4). *D. armeria* i *D. deltoides* són els tàxons que presenten les granes més petites, i *D. multiceps* subsp. *praepyrenaicus* i *D. pungens* subsp. *ruscionensis*, els que les presenten més grosses. Pel que fa a la utilització de les dimensions de les granes com a caràcter que permeti discriminar tàxons relacionats, són significatives les diferències entre la longitud de l'eix major (**E**) de les granes de *D. pyrenaicus* subsp. *pyrenaicus* i de *D. pyrenaicus* subsp. *attenuatus*, i entre les de *D. pyrenaicus* subsp. *pyrenaicus* i *D. benearnensis*. Respecte a la longitud de l'eix menor (**e**), hem trobat diferències significatives entre *D. pyrenaicus* subsp. *pyrenaicus* i *D. benearnensis*, entre *D. multiceps* subsp. *multiceps* i *D. multiceps* subsp. *praepyrenaicus*, entre *D. pungens* subsp. *pungens* i *D. pungens* subsp. *ruscionensis* i entre *D. pungens* subsp. *brachyanthus* i *D. pungens* subsp. *hispanicus* (vegeu les figures 7.2 i 7.3).

L'observació de les granes a l'estereoscopi binocular permet apreciar-ne la superfície, constituïda per un reticle de cèl·lules, disposades imbricadament com si es tractés d'un trencaclosques i amb les parets més o menys fortament ondulades o sinuades lateralment. La forma i les dimensions de les cèl·lules són molt variables i depenen també de la posició que ocupen, hi ha un gradient desde la zona central de la grana fins a la marginal. La superfície de les cèl·lules pot ser des de quasi plana fins a més o menys convexa. En els següents apartats ens estendrem més sobre les característiques de les cèl·lules de la coberta externa de l'episperma.

Tàxon	\bar{x}	s	Interval de variació	I. C.
<i>D. armeria</i>	1,327	0,158	1,210 - 1,789	± 0,098
<i>D. barbatus</i>	2,285	0,216	1,831 - 2,578	± 0,134
<i>D. deltoides</i>	1,410	0,173	1,285 - 1,780	± 0,107
<i>D. carthusianorum</i>	2,315	0,187	1,938 - 2,653	± 0,094
<i>D. seguieri</i>	2,494	0,127	2,315 - 2,736	± 0,079
<i>D. vigoii</i>	2,582	0,168	2,338 - 2,826	± 0,104
<i>D. hyssopifolius</i>	2,519	0,135	2,347 - 2,692	± 0,083
<i>D. broteri</i>	2,984	0,175	2,653 - 3,265	± 0,109
<i>D. attenuatus</i>	2,938	0,340	2,346 - 3,367	± 0,172
<i>D. pyrenaicus</i>	2,611	0,172	2,346 - 2,857	± 0,106
<i>D. benearnensis</i>	2,996	0,312	2,397 - 3,387	± 0,193
<i>D. multiceps</i>	2,959	0,213	2,551 - 3,163	± 0,187
<i>D. praepyrenaicus</i>	3,311	0,358	2,806 - 4,183	± 0,222
<i>D. pungens</i>	2,998	0,492	2,148 - 3,775	± 0,305
<i>D. ruscinonensis</i>	3,293	0,245	2,755 - 3,673	± 0,170
<i>D. brachyanthus</i>	2,737	0,184	2,450 - 2,984	± 0,114
<i>D. hispanicus</i>	2,507	0,196	2,052 - 2,789	± 0,121

Taula 7.1. Dimensions de l'eix major de la grana, E, en mm.

Tàxon	\bar{x}	s	Interval de variació	I. C.
<i>D. armeria</i>	0,804	0,057	0,684 - 0,863	± 0,035
<i>D. barbatus</i>	1,778	0,147	1,536 - 2,0	± 0,091
<i>D. deltoides</i>	0,961	0,084	0,737 - 1,063	± 0,052
<i>D. carthusianorum</i>	1,757	0,193	1,428 - 2,244	± 0,097
<i>D. seguieri</i>	1,668	0,141	1,315 - 1,894	± 0,087
<i>D. vigoii</i>	1,721	0,163	1,475 - 1,918	± 0,101
<i>D. hyssopifolius</i>	1,692	0,158	1,405 - 1,887	± 0,083
<i>D. broteri</i>	2,346	0,241	1,836 - 2,653	± 0,149
<i>D. attenuatus</i>	1,485	0,202	1,122 - 1,938	± 0,102
<i>D. pyrenaicus</i>	1,254	0,220	0,816 - 1,632	± 0,136
<i>D. benearnensis</i>	1,751	0,173	1,479 - 1,938	± 0,107
<i>D. multiceps</i>	1,346	0,123	1,122 - 1,479	± 0,108
<i>D. praepyrenaicus</i>	1,718	0,151	1,428 - 1,938	± 0,094
<i>D. pungens</i>	1,703	0,192	1,428 - 2,142	± 0,119
<i>D. ruscinonensis</i>	2,053	0,312	1,632 - 2,551	± 0,216
<i>D. brachyanthus</i>	1,672	0,165	1,406 - 1,885	± 0,102
<i>D. hispanicus</i>	2,084	0,191	1,789 - 2,315	± 0,119

Taula 7.2. Dimensions de l'eix menor de la grana, e, en mm.

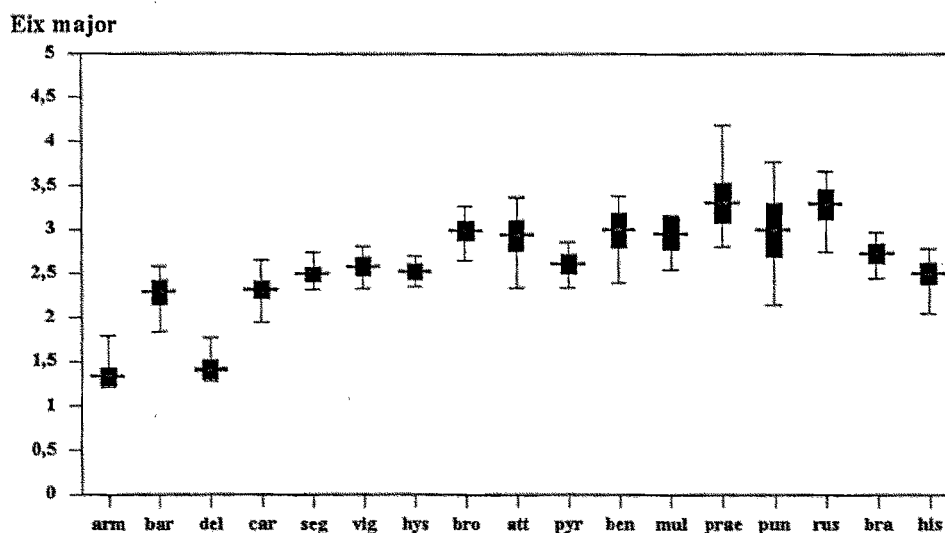


Figura 7.2. Test de Simpson & Roe per a les dimensions de l'eix major, E, de les granes dels diferents tàxons estudiats del gènere *Dianthus*, en mm. **arm** - *D. armeria*, **bar** - *D. barbatus*, **del** - *D. deltoides*, **car** - *D. carthusianorum*, **seg** - *D. seguieri*, **vig** - *D. vigoii*, **hys** - *D. hyssopifolius*, **bro** - *D. broteri*, **pyr** - *D. pyrenaicus* subsp. *pyrenaicus*, **att** - *D. pyrenaicus* subsp. *attenuatus*, **ben** - *D. benearnensis*, **mul** - *D. multiceps* subsp. *multiceps*, **prae** - *D. multiceps* subsp. *praepyrenaicus*, **pun** - *D. pungens* subsp. *pungens*, **rus** - *D. pungens* subsp. *rusciniensis*, **bra** - *D. pungens* subsp. *brachyanthus*, **his** - *D. pungens* subsp. *hispanicus*.

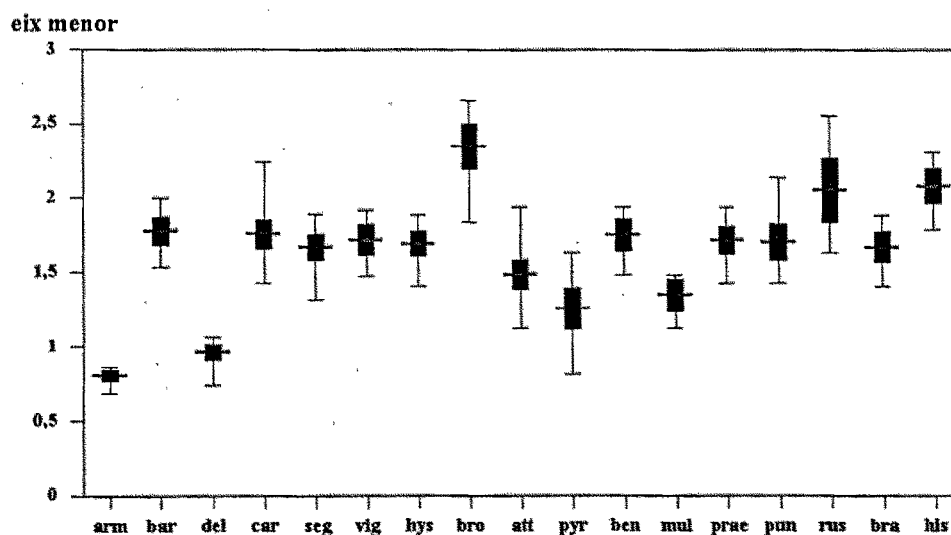


Figura 7.3. Test de Simpson & Roe per a les dimensions de l'eix menor, e, de les granes dels diferents tàxons estudiats del gènere *Dianthus*, en mm. **arm** - *D. armeria*, **bar** - *D. barbatus*, **del** - *D. deltoides*, **car** - *D. carthusianorum*, **seg** - *D. seguieri*, **vig** - *D. vigoii*, **hys** - *D. hyssopifolius*, **bro** - *D. broteri*, **pyr** - *D. pyrenaicus* subsp. *pyrenaicus*, **att** - *D. pyrenaicus* subsp. *attenuatus*, **ben** - *D. benearnensis*, **mul** - *D. multiceps* subsp. *multiceps*, **prae** - *D. multiceps* subsp. *praepyrenaicus*, **pun** - *D. pungens* subsp. *pungens*, **rus** - *D. pungens* subsp. *rusciniensis*, **bra** - *D. pungens* subsp. *brachyanthus*, **his** - *D. pungens* subsp. *hispanicus*.

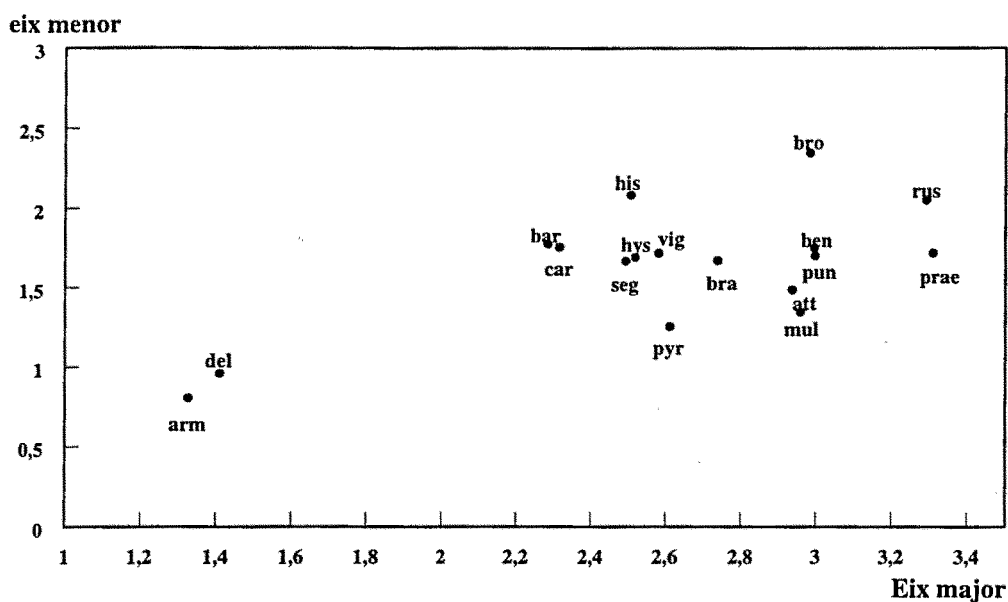


Figura 7.4. Representació gràfica de les dimensions (E i e mitjanes) de les granes dels diferents tàxons estudiats del gènere *Dianthus* en mm. **arm** - *D. armeria*, **bar** - *D. barbatus*, **del** - *D. deltoides*, **car** - *D. carthusianorum*, **seg** - *D. seguieri*, **vig** - *D. vigoii*, **hys** - *D. hyssopifolius*, **bro** - *D. broteri*, **pyr** - *D. pyrenaicus* subsp. *pyrenaicus*, **att** - *D. pyrenaicus* subsp. *attenuatus*, **ben** - *D. benearnensis*, **mul** - *D. multiceps* subsp. *multiceps*, **prae** - *D. multiceps* subsp. *praepyrenaicus*, **pun** - *D. pungens* subsp. *pungens*, **rus** - *D. pungens* subsp. *ruscinoensis*, **bra** - *D. pungens* subsp. *brachyanthus*, **his** - *D. pungens* subsp. *hispanicus*.

7.3.2. Ordenació de les cèl·lules de l'episperma

L'ordenació que prenen les cèl·lules de l'episperma no té gaire interès taxonòmic en el cas del gènere *Dianthus*, ja que no presenta variacions notables en el conjunt dels tàxons estudiats. Pel que fa a la disposició de les cèl·lules externes de l'episperma, a la cara dorsal és possible de distingir-hi dues zones més o menys diferenciades; la central i la marginal (vegeu la figura 7.5 a). A la zona central de la cara dorsal les cèl·lules solen disposar-se paral·lelament i perpendicularment a l'eix major, mentre que a la zona marginal es disposen radialment. A la cara ventral les cèl·lules es disposen sempre radialment a partir de l'hflum en tots els tàxons revisats (vegeu la figura 7.5 b).

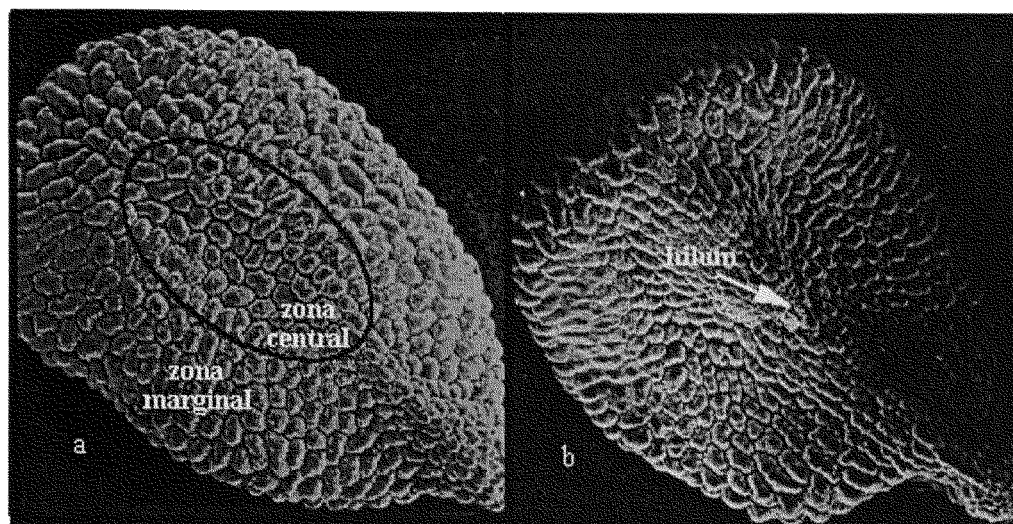


Figura 7.5. Ordenació de les cèl·lules externes de l'episperma a les granes de *Dianthus*. a - cara dorsal, b - cara ventral.

7.3.3. Morfologia de les cèl·lules de l'episperma. L'escultura primària.

7.3.3.1. El contorn cel·lular

El contorn de les cèl·lules externes de l'episperma de les granes de *Dianthus* presenta una variabilitat notable. Deixant de banda les diferències existents entre els diversos tàxons estudiats (vegeu les figures 7.6 a la 7.22), la variabilitat dins d'una mateixa grana és força important. A la cara dorsal, i generalitzant, podem dir que les cèl·lules de la que hem denominat zona central (vegeu la figura 7.5) tendeixen a ser més o menys isodiamètriques i quadrangulars, mentre que les de la zona marginal (vegeu la figura 7.5) manifesten una marcada tendència a ser més o menys llargament rectangulars. Entre aquests dos extrems és possible de trobar tots els estadis intermedis, i tampoc no són rares les cèl·lules més o menys fortament irregulars, especialment en alguns tàxons com *D. barbatus* (figura 7.7 c), *D. deltoides* (figura 7.8 b) i *D. pungens* subsp. *pungens* (figura 7.19 d), entre d'altres, i en determinades zones de la grana com a la zona propera a l'hílum, per exemple.

Pel que fa a la variabilitat entre els tàxons estudiats (i tenint en compte la variabilitat dins d'una mateixa grana) l'única cosa que podem dir és que determinats tàxons manifesten una clara tendència a presentar les cèl·lules de l'episperma més o menys quadrangulars o bé rectangulars però amb els costats poc desiguals entre ells, com, per exemple, *D. armeria* (figura 7.6 a) i *D. deltoides* (figura 7.8), mentre que d'altres tendeixen a presentar les cèl·lules de l'episperma llargament rectangulars, com, per exemple, *D. carthusianorum* (figura 7.9 c), *D. pyrenaicus* subsp. *pyrenaicus* (figura 7.17 c) i *D. pungens* subsp. *brachyanthus* (figura 7.21). El contorn de les cèl·lules de l'episperma de la resta de tàxons presenta característiques intermèdies entre els dos extrems citats, com és el cas de *D. barbatus* (figura 7.7), *D. seguieri* (figura 7.10), *D. vigoi* (figura 7.11), *D. hyssopifolius* (figura 7.12), *D. broteri* (figura 7.13), *D. multiceps* (figures 7.14 i 7.15), *D. pyrenaicus* subsp. *attenuatus* (figura 7.16) i *D. benearnensis* (figura 7.18), entre d'altres.

Atesa la gran variabilitat del contorn de les cèl·lules de l'episperma, tant entre els diferents tàxons com dins d'una mateixa grana, aquest no pot ser considerat com un bon caràcter taxonòmic.

7.3.3.2. Les parets anticlinals i el relleu dels límits cel·lulars

Igual que en el cas del contorn cel·lular, la morfologia de les parets anticlinals també presenta una gran variabilitat, tant entre els diferents tàxons com entre les diferents zones d'una mateixa grana. Les parets anticlinals de les cèl·lules de l'episperma en visió superficial poden ser gairebé rectilínies, com en el cas de *D. broteri* (figura 7.13 b), suaument sinuades, com a *D. pyrenaicus* subsp. *attenuatus* (figura 7.16 c), o més o menys forta i regularment ondulades, com en el cas de *D. armeria* (figura 7.6 b), *D. deltoides* (figura 7.8 c), *D. seguieri* (figura 7.10 c) i *D. benearnensis* (figura 7.18 b), entre d'altres. Entre aquests dos extrems de variabilitat hi ha un gradient pràcticament continu, i no són rars els tàxons que presenten el relleu de la paret anticlinal més o menys irregular, com és el cas de *D. barbatus* (figura 7.7 c), *D. hyssopifolius* (figura 7.12 a i b) o *D. pungens* subsp. *ruscinonensis* (figura 7.20 b i c).

Les ondulacions que, com ja hem dit, poden ser més o menys marcades, poden tenir formes diverses en U, V o Ω , característica variable en funció del tàxon i de la posició que ocupa la cèl·lula a la grana. La majoria dels tàxons les presenten en forma de U i/o V (vegeu la taula 7.3).

La morfologia de les parets anticlinals, a causa de la variabilitat intra i interespecífica que presenta el caràcter, únicament resulta útil, en taxonomia, per la caracterització de tàxons com *D. broteri* (vegeu la taula 7.3 i la figura 7.13 b), *D. pungens* subsp. *ruscinonensis* (vegeu la taula 7.3 i la figura 7.20 b i c) i *D. multiceps* subsp. *multiceps* (vegeu la taula 7.3 i la figura 7.14 b).

Pel que fa al relleu dels límits cel·lulars entre les parets anticlinals, sol estar bastant enfonsat respecte del nivell de les cèl·lules veïnes, cosa que li dona un aspecte acanalat en la gairebé totalitat dels tàxons estudiats. L'única excepció la trobem a *D. barbatus*, en què el relleu dels límits cel·lulars de les parets anticlinals és acanalat a la cara ventral de la grana i en canvi, a la cara dorsal se situa pràcticament al mateix nivell que les cèl·lules veïnes (vegeu la figura 7.7. d)

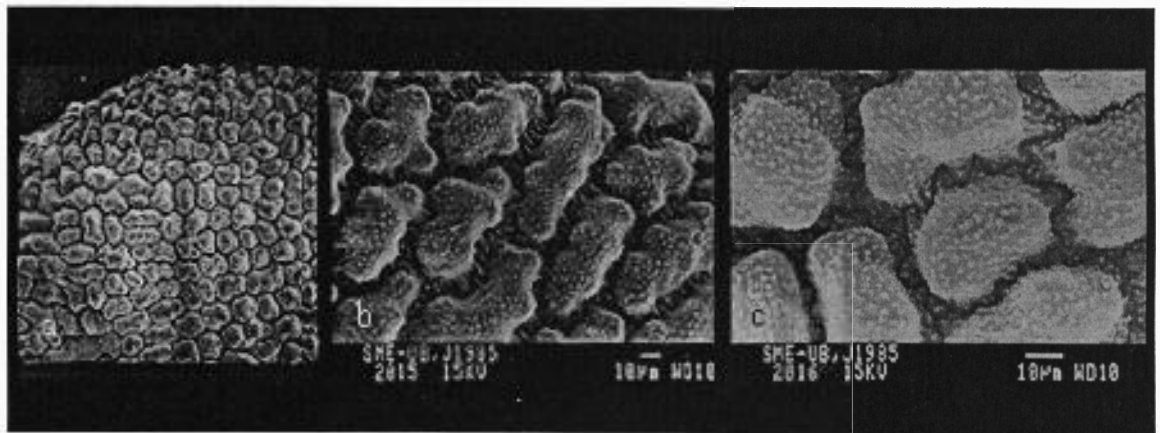


Figura 7.6. *Dianthus armeria*. Morfologia de les cèl·lules de l'episperma. **a)** Cara dorsal, zona marginal. $\times 190$. **b)** Cara dorsal, zona marginal. $\times 550$. **c)** Cara dorsal, zona central. $\times 1000$.

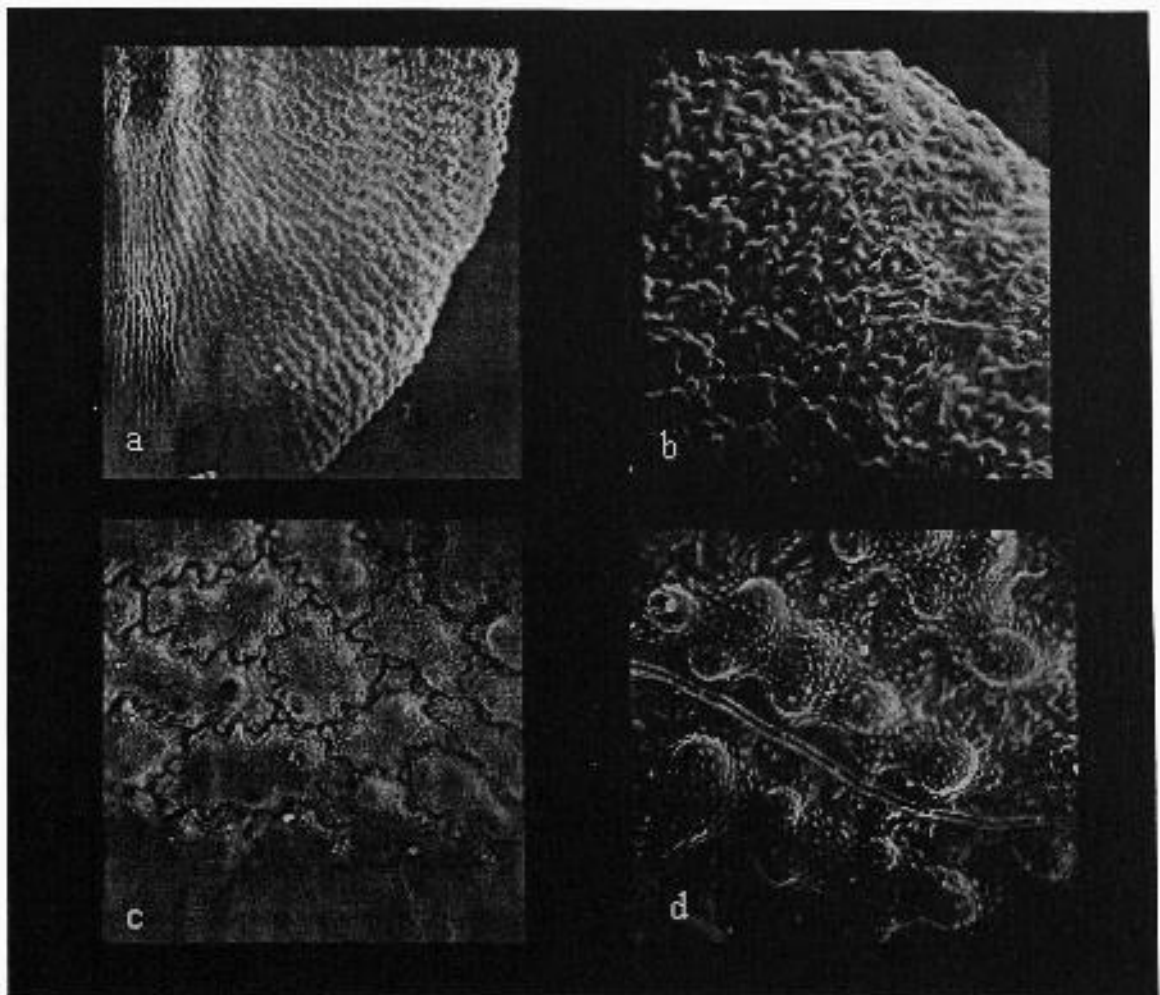


Figura 7.7. *Dianthus barbatus*. Morfologia de les cèl·lules de l'episperma. **a)** Cara ventral. $\times 90$. **b)** Cara dorsal, zona marginal. $\times 188$. **c)** Cara ventral, zona central. $\times 90$. **d)** Cara dorsal, zona marginal. $\times 950$.

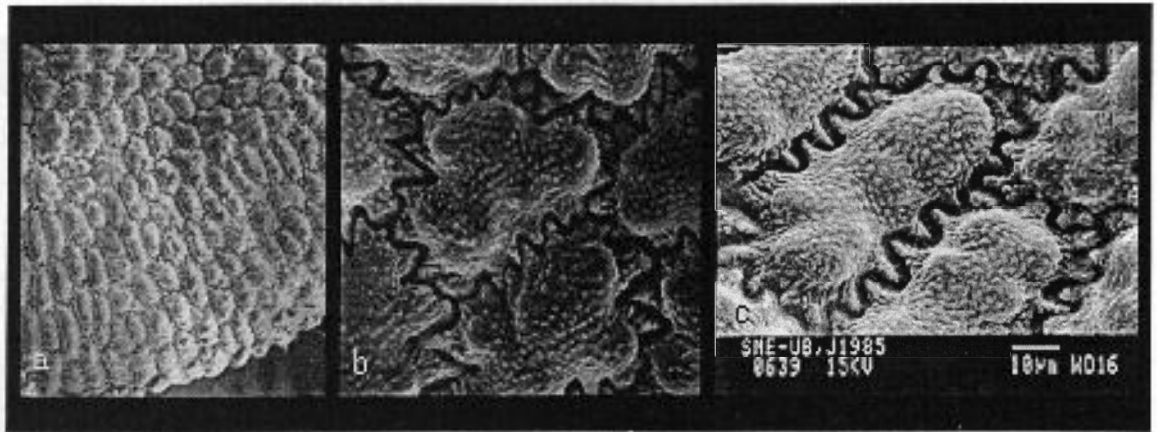


Figura 7.8. *Dianthus deltoides*. Morfologia de les cèl·lules de l'episperma. a) Cara dorsal, zona marginal. $\times 185$. b) Cara dorsal, zona central. $\times 900$. c) Cara ventral, zona marginal. $\times 1200$.

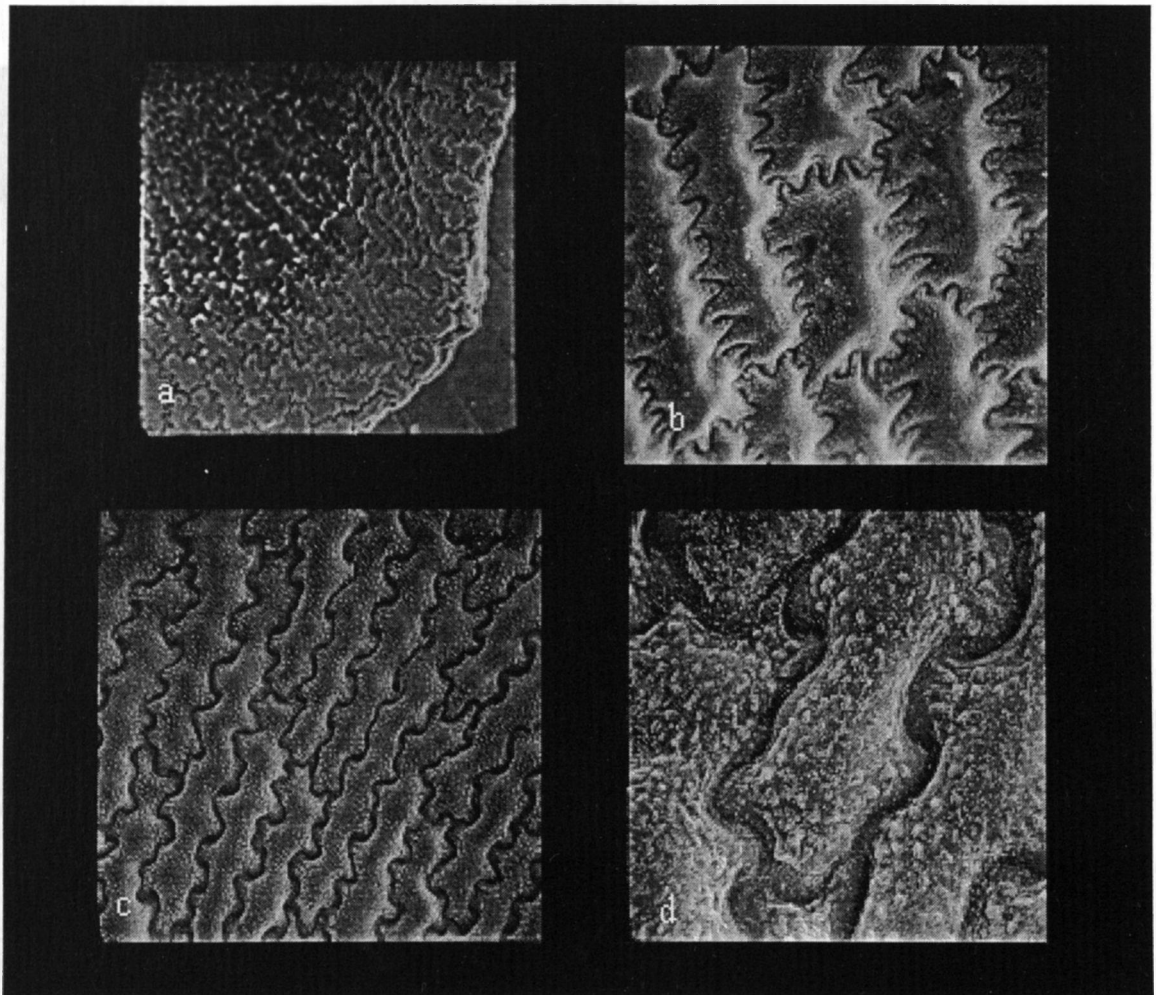


Figura 7.9. *Dianthus carthusianorum*. Morfologia de les cèl·lules de l'episperma. a) Cara ventral, zona marginal. $\times 200$. b) Cara dorsal, zona marginal. $\times 490$. c) Cara ventral, zona marginal. $\times 470$. d) Cara ventral, zona marginal. $\times 1700$.

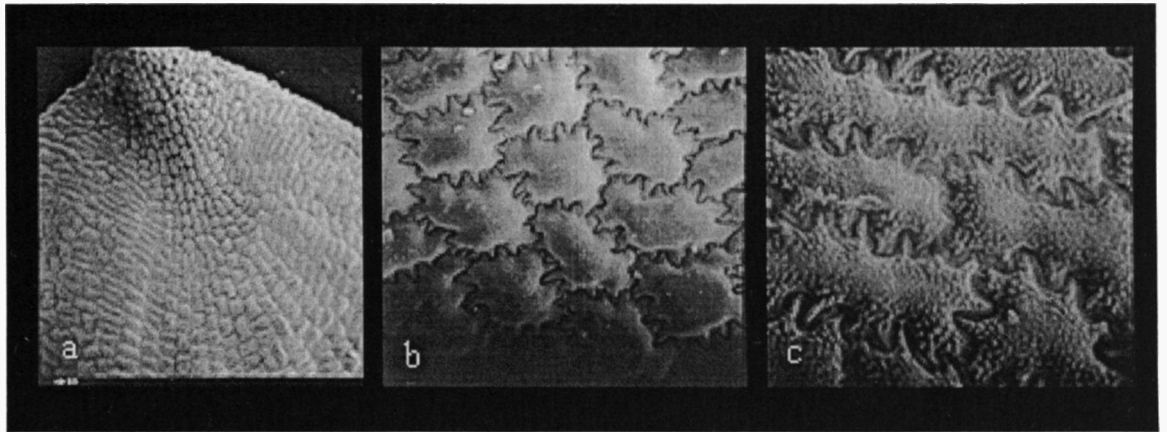


Figura 7.10. *Dianthus seguieri*. Morfologia de les cèl·lules de l'episperma. **a)** Cara dorsal. $\times 95$. **b)** Cara dorsal, zona central. $\times 475$. **c)** Cara ventral, zona marginal. $\times 950$.

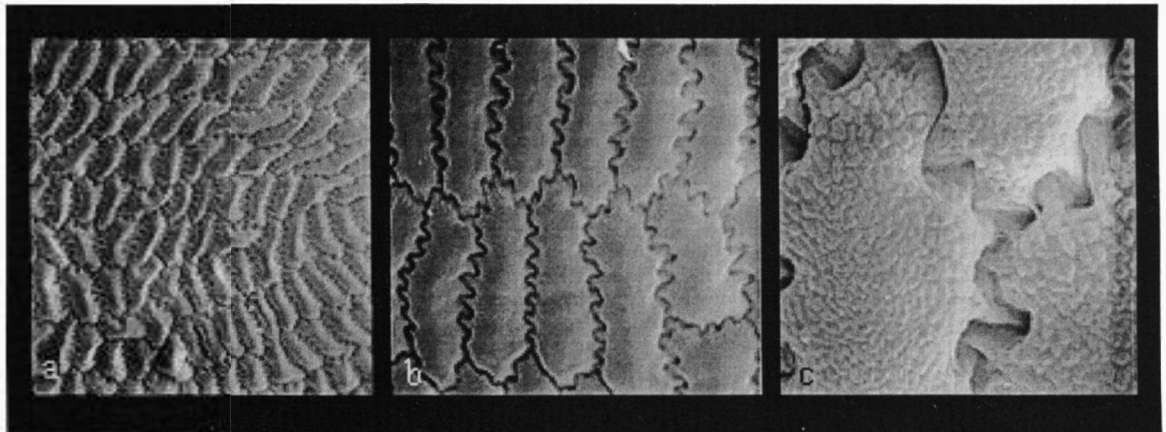


Figura 7.11. *Dianthus vigoi*. Morfologia de les cèl·lules de l'episperma. **a)** Cara dorsal, zona central. $\times 190$. **b)** Cara dorsal, zona marginal. $\times 475$. **c)** Cara dorsal, zona marginal. $\times 1900$.

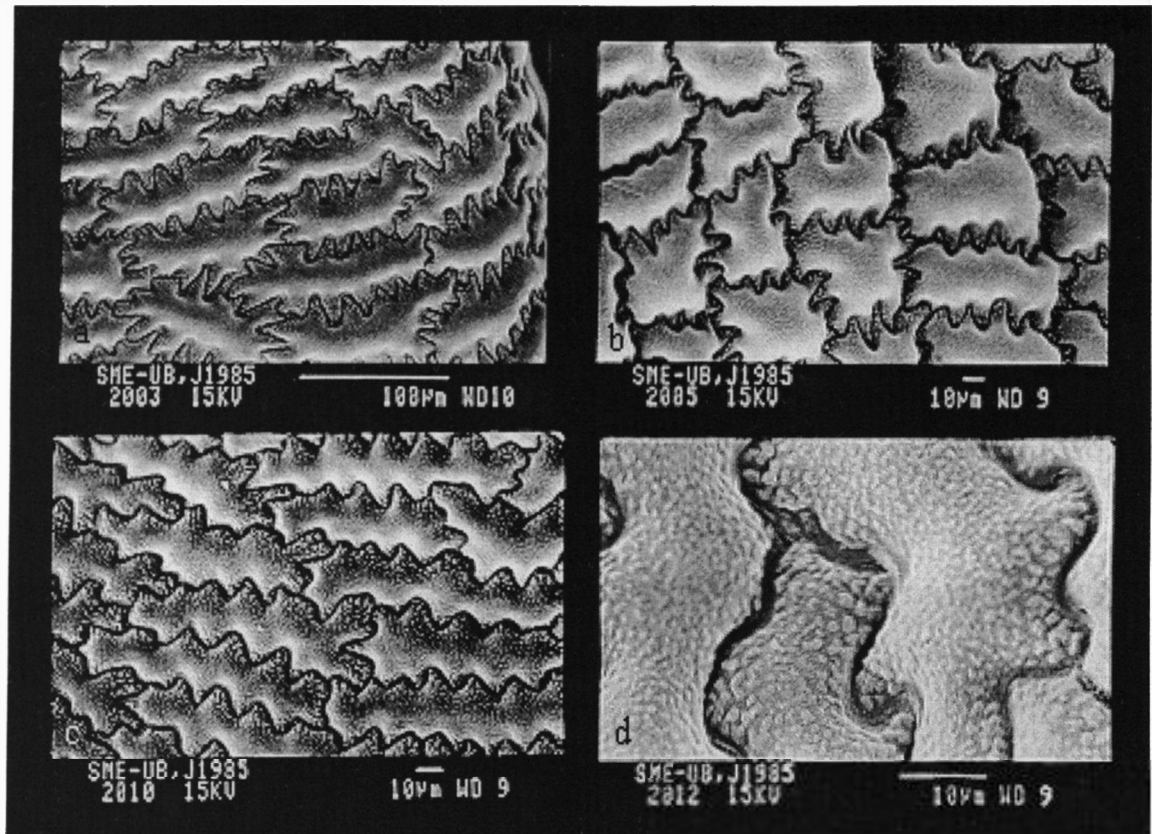


Figura 7.12. *Dianthus hyssopifolius*. Morfologia de les cèl·lules de l'episperma. **a)** Cara dorsal, zona marginal. $\times 350$. **b)** Cara dorsal, zona central. $\times 500$. **c)** Cara ventral, zona marginal. $\times 600$. **d)** Cara ventral, zona marginal. $\times 2000$.

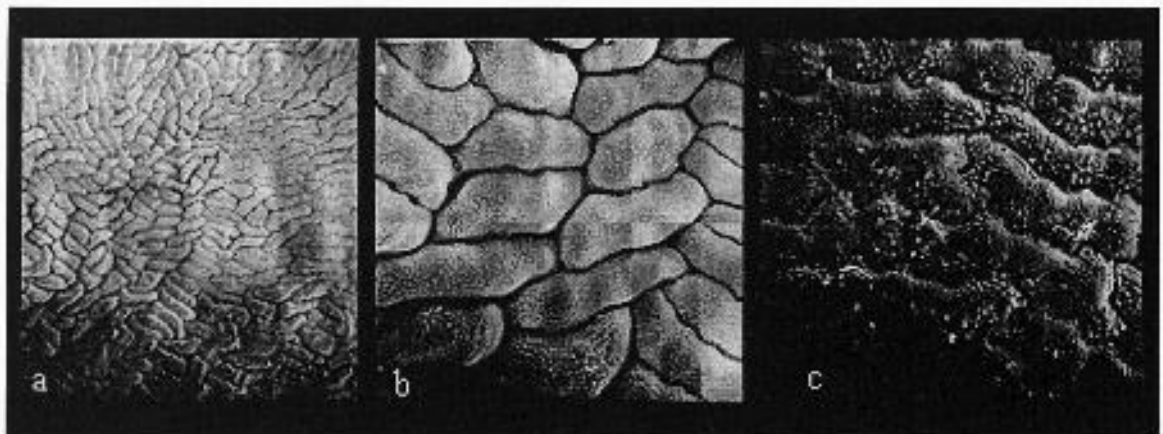


Figura 7.13. *Dianthus broteri*. Morfologia de les cèl·lules de l'episperma. **a)** Cara dorsal, zona central. $\times 97$. **b)** Cara dorsal, zona central. $\times 480$. **c)** Cara ventral, zona marginal. $\times 480$.

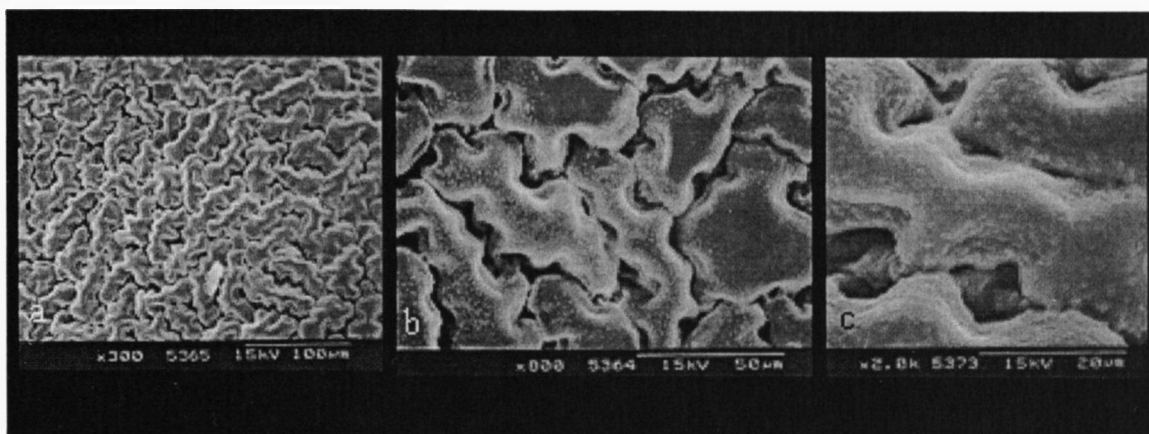


Figura 7.14. *Dianthus multiceps* subsp. *multiceps*. Morfologia de les cèl·lules de l'episperma. a) Cara dorsal, zona marginal. $\times 400$. b) Cara dorsal, zona central. $\times 800$. c) Cara dorsal, zona central. $\times 2000$.

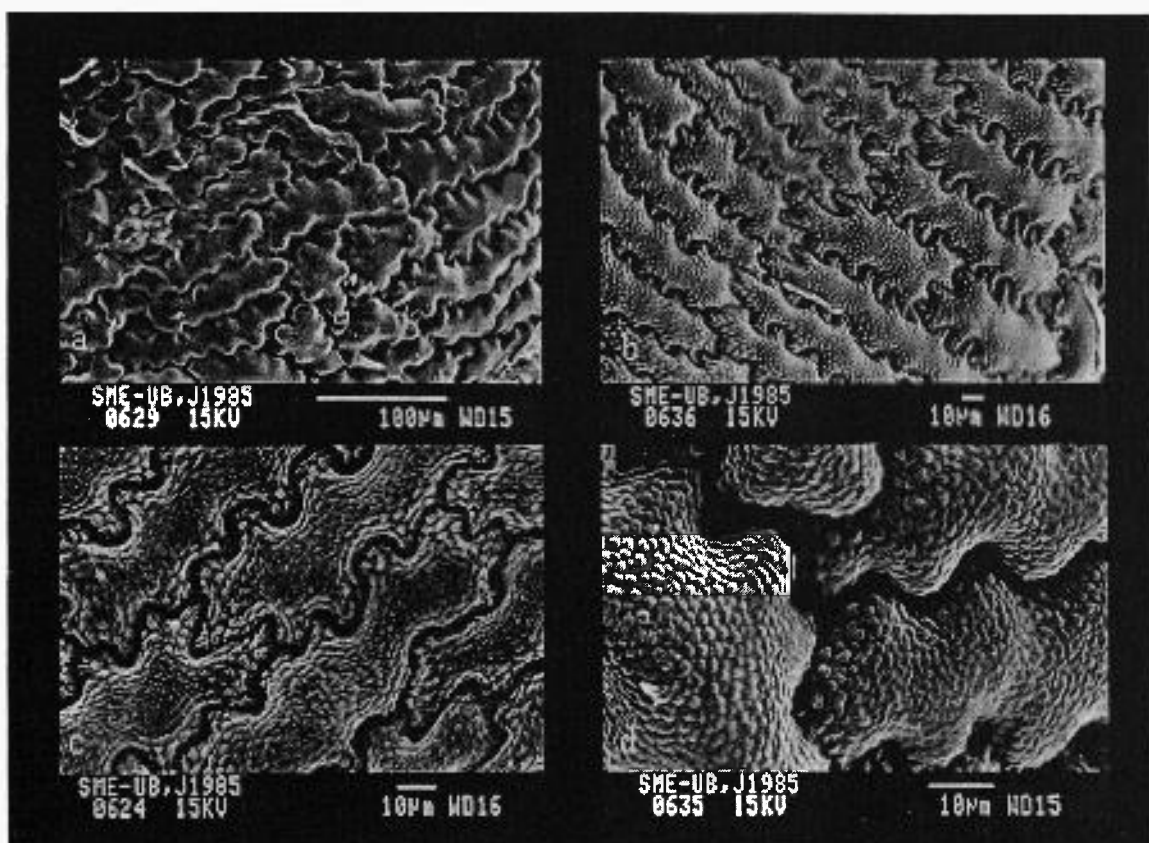


Figura 7.15. *Dianthus multiceps* subsp. *praepyrenaicus*. Morfologia de les cèl·lules de l'episperma. a) Cara dorsal, zona marginal. $\times 300$. b) Cara dorsal, zona marginal. $\times 500$. c) Cara ventral, zona marginal. $\times 900$. d) Cara dorsal, zona central. $\times 1500$.

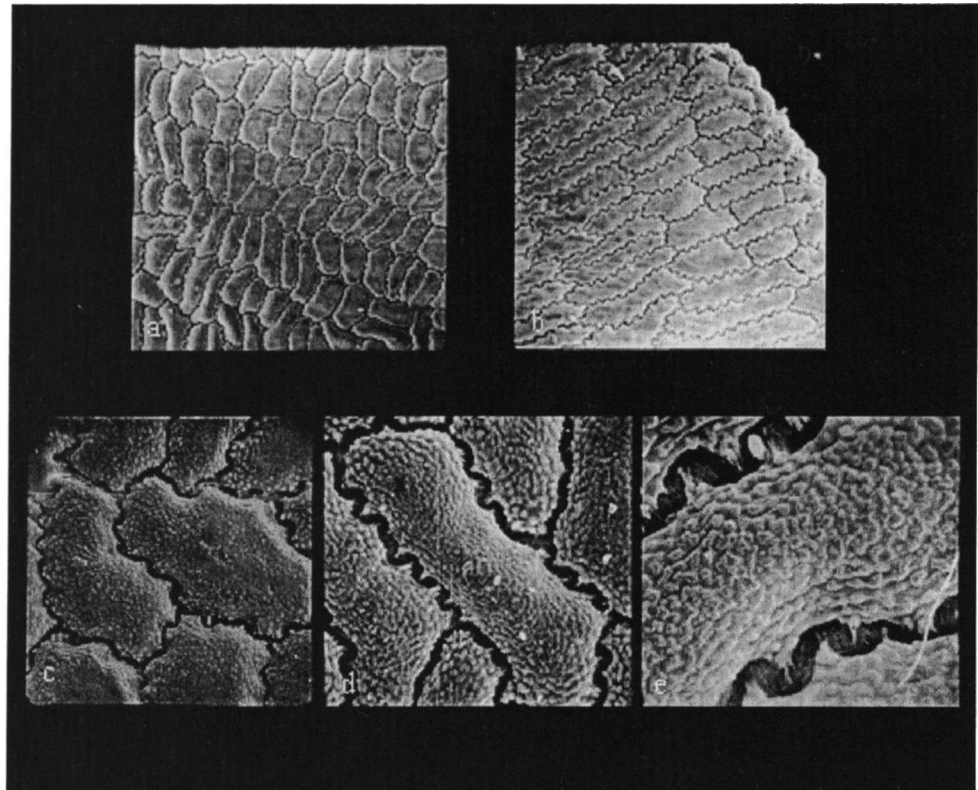


Figura 7.16. *Dianthus pyrenaicus* subsp. *attenuatus*. Morfologia de les cèl·lules de l'episperma. **a)** Cara dorsal, zona central. $\times 180$. **b)** Cara dorsal, zona marginal. $\times 180$. **c)** Cara dorsal, zona central. $\times 1000$. **d)** Cara ventral, zona marginal. $\times 950$. **e)** Cara dorsal, zona marginal. $\times 1900$.

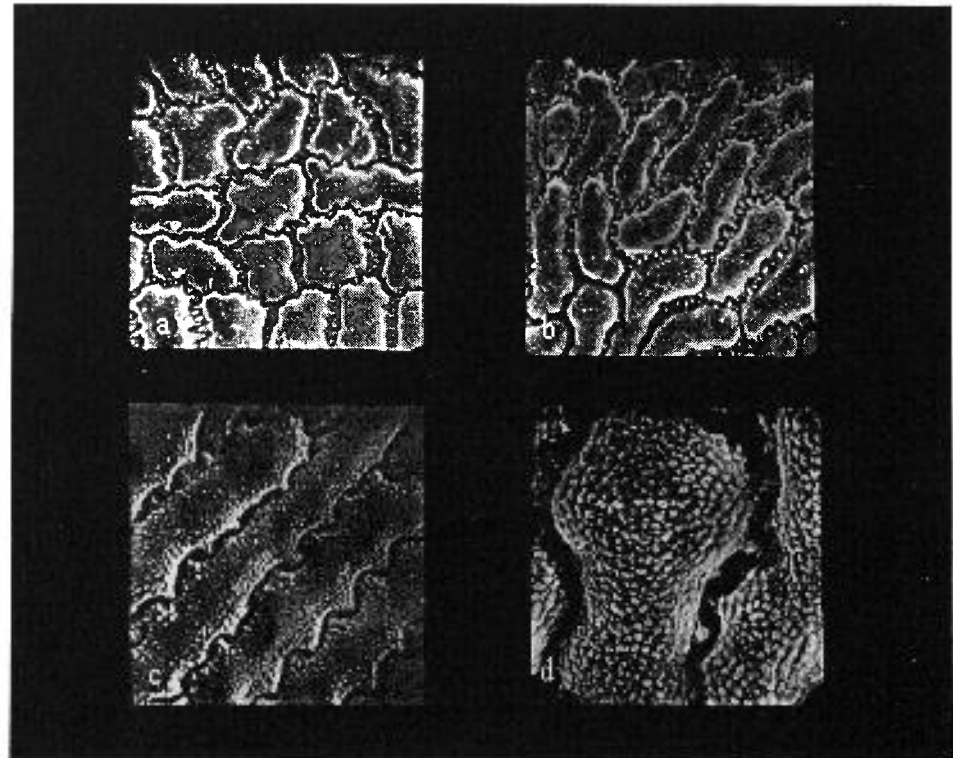


Figura 7.17. *Dianthus pyrenaicus* subsp. *pyrenaicus*. Morfologia de les cèl·lules de l'episperma. **a)** Cara dorsal, zona central. $\times 500$. **b)** Cara dorsal, zona marginal. $\times 500$. **c)** Cara ventral, zona marginal. $\times 950$. **d)** Cara dorsal, zona marginal. $\times 2000$.

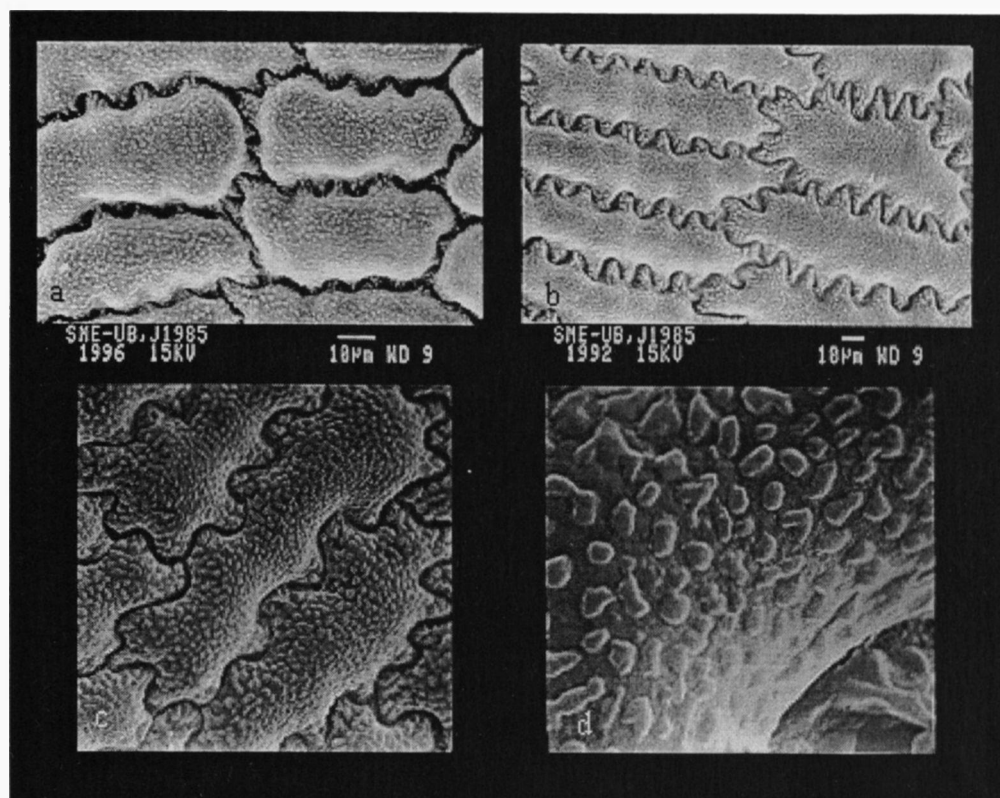


Figura 7.18. *Dianthus benearnensis*. Morfologia de les cèl·lules de l'episperma. **a)** Cara dorsal, zona central. $\times 1000$. **b)** Cara dorsal, zona marginal. $\times 600$. **c)** Cara dorsal, zona marginal. $\times 1000$. **d)** Cara dorsal, zona marginal. $\times 5000$.

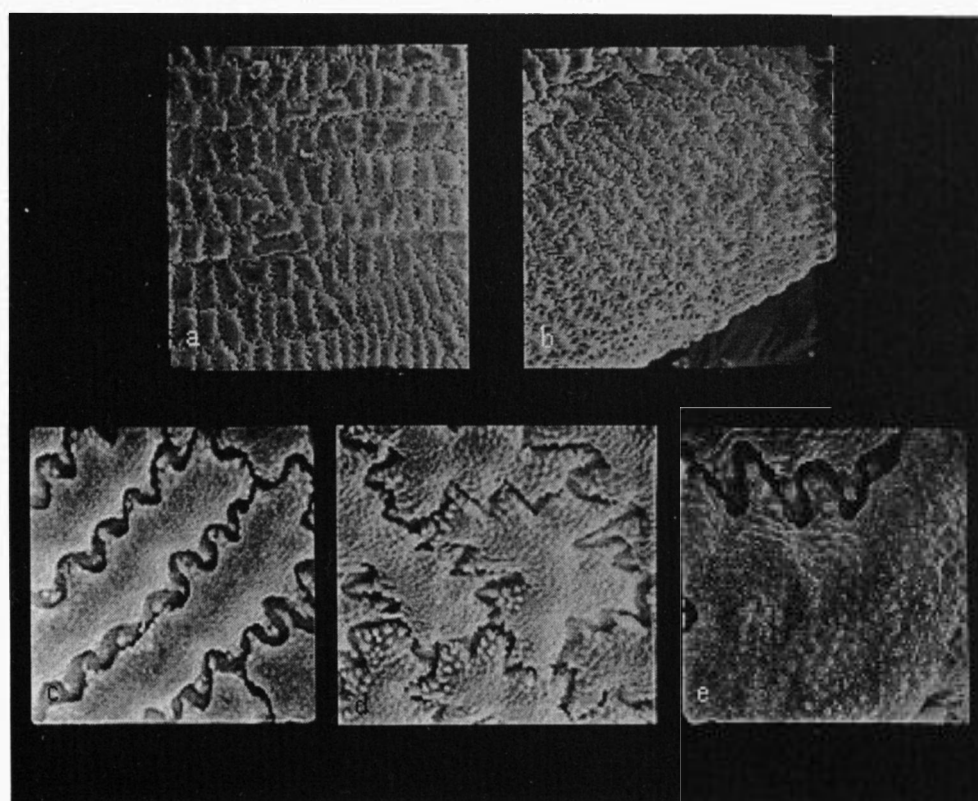


Figura 7.19. *Dianthus pungens* subsp. *pungens*. Morfologia de les cèl·lules de l'episperma. **a)** Cara dorsal, zona central. $\times 190$. **b)** Cara dorsal, zona marginal. $\times 190$. **c)** Cara dorsal, zona marginal. $\times 1000$. **d)** Cara dorsal, zona marginal. $\times 940$. **e)** Cara dorsal, zona central. $\times 1950$.

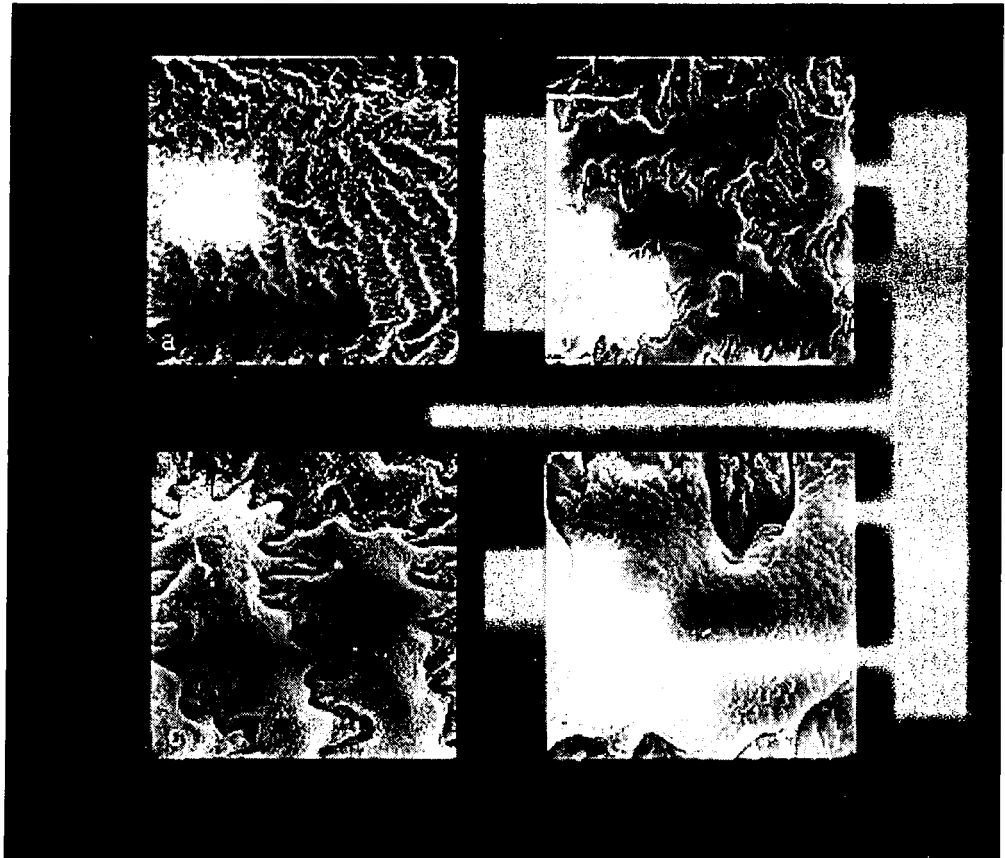


Figura 7.20. *Dianthus pungens* subsp. *ruscinonensis*. Morfologia de les cèl·lules de l'episperma. a) Cara dorsal, zona central. $\times 200$. b) Cara dorsal, zona marginal. $\times 500$. c) Cara dorsal, zona central. $\times 1000$. d) Cara dorsal, zona marginal. $\times 2000$.

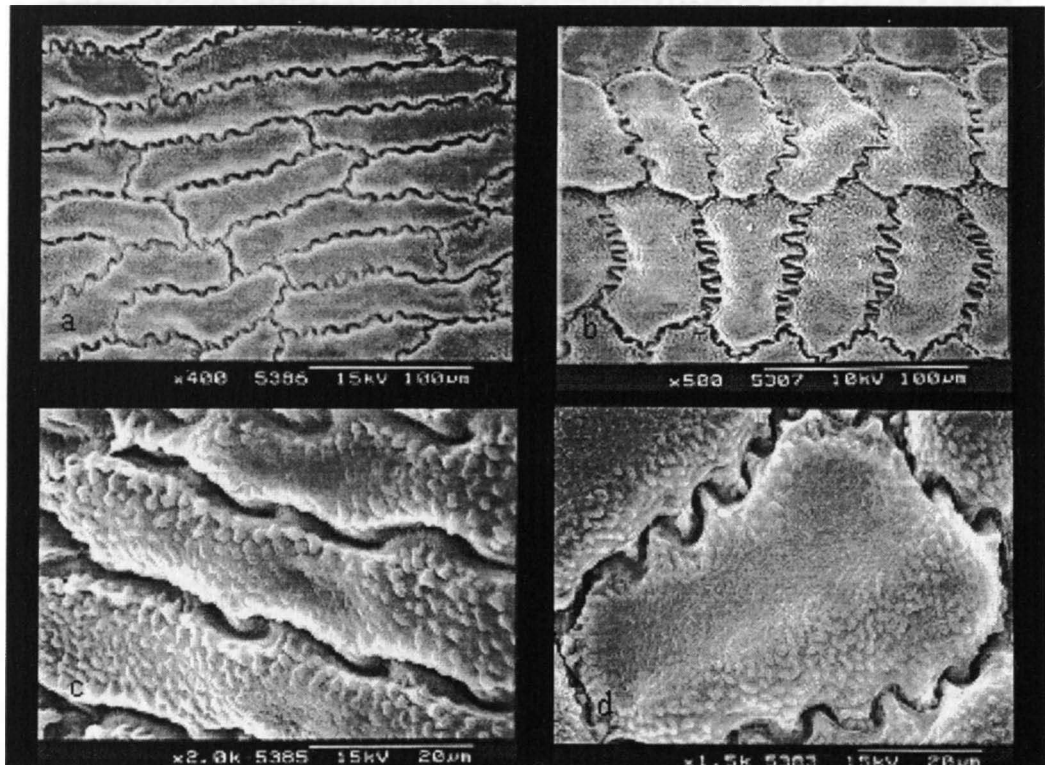


Figura 7.21. *Dianthus pungens* subsp. *brachyanthus*. Morfologia de les cèl·lules de l'episperma. a) Cara ventral, zona marginal. $\times 400$. b) Cara dorsal, zona central. $\times 500$. c) Cara dorsal, zona marginal. $\times 2000$. d) Cara dorsal, zona central. $\times 1500$.

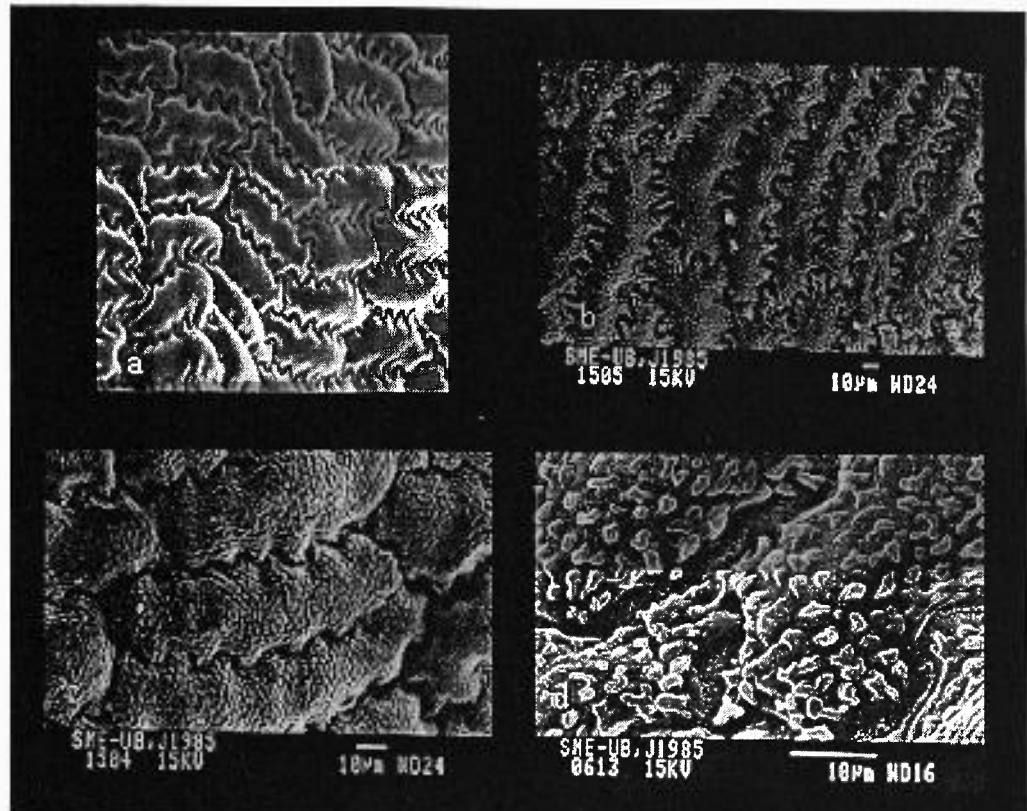


Figura 7.22. *Dianthus pungens* subsp. *hispanicus*. Morfologia de les cèl·lules de l'episperma. a) Cara dorsal, zona central. $\times 475$. b) Cara dorsal, zona marginal. $\times 400$. c) Cara dorsal, zona central. $\times 800$. d) Cara ventral, zona marginal. $\times 2200$.

Tàxon	U	V	Ω	Irregular	Altres
<i>D. armeria</i>	X	X			
<i>D. barbatus</i>	X	X			
<i>D. deltoides</i>	X	X		X	
<i>D. carthusianorum</i>	X	X		X	
<i>D. seguieri</i>	X +	X +			
<i>D. vigoii</i>	X				
<i>D. hyssopifolius</i>	X	X	X	X	
<i>D. broteri</i>					sinuat
<i>D. attenuatus</i>	X -				sinuat
<i>D. pyrenaicus</i>	X				sinuat
<i>D. benearnensis</i>	X				sinuat
<i>D. multiceps</i>	X				irreg. sinuat
<i>D. praepyrenaicus</i>	X				
<i>D. pungens</i>	X	X		X	
<i>D. ruscinoensis</i>	X	X	X	X	
<i>D. brachyanthus</i>	X	X			sinuat
<i>D. hispanicus</i>	X				sinuat

Taula 7.3. Morfologia de les parets anticlinals (vegeu el text).

7.3.3.3. Corbatura de la paret periclinal externa

La paret periclinal externa de les cèl·lules de l'episperma de les granes de *Dianthus* pot ser des de gairebé plana, en tàxons com *D. pyrenaicus* subsp. *attenuatus* (vegeu la figura 7.23. a), lleugerament convexa, com a *D. hyssopifolius* (figura 7.23. b), més o menys fortament convexa, com en el cas de *D. benearnensis* (figura 7.23. c) o de *D. broteri* (figura 7.23. d) i, fins i tot, fortament convexa i amb protuberàncies més o menys marcades, com en el cas de *D. armeria* (figura 7.23. e), *D. barbatus* (figura 7.23. f) i *D. multiceps* subsp. *praepyrenaicus* (figura 7.23. g).

Com a caràcter taxonòmic, la corbatura de la paret periclinal externa resulta útil en la caracterització dels casos més extrems, com *D. barbatus* o *D. multiceps* subsp. *praepyrenaicus*, mentre que per la resta de tàxons no és un bon caràcter taxonòmic.

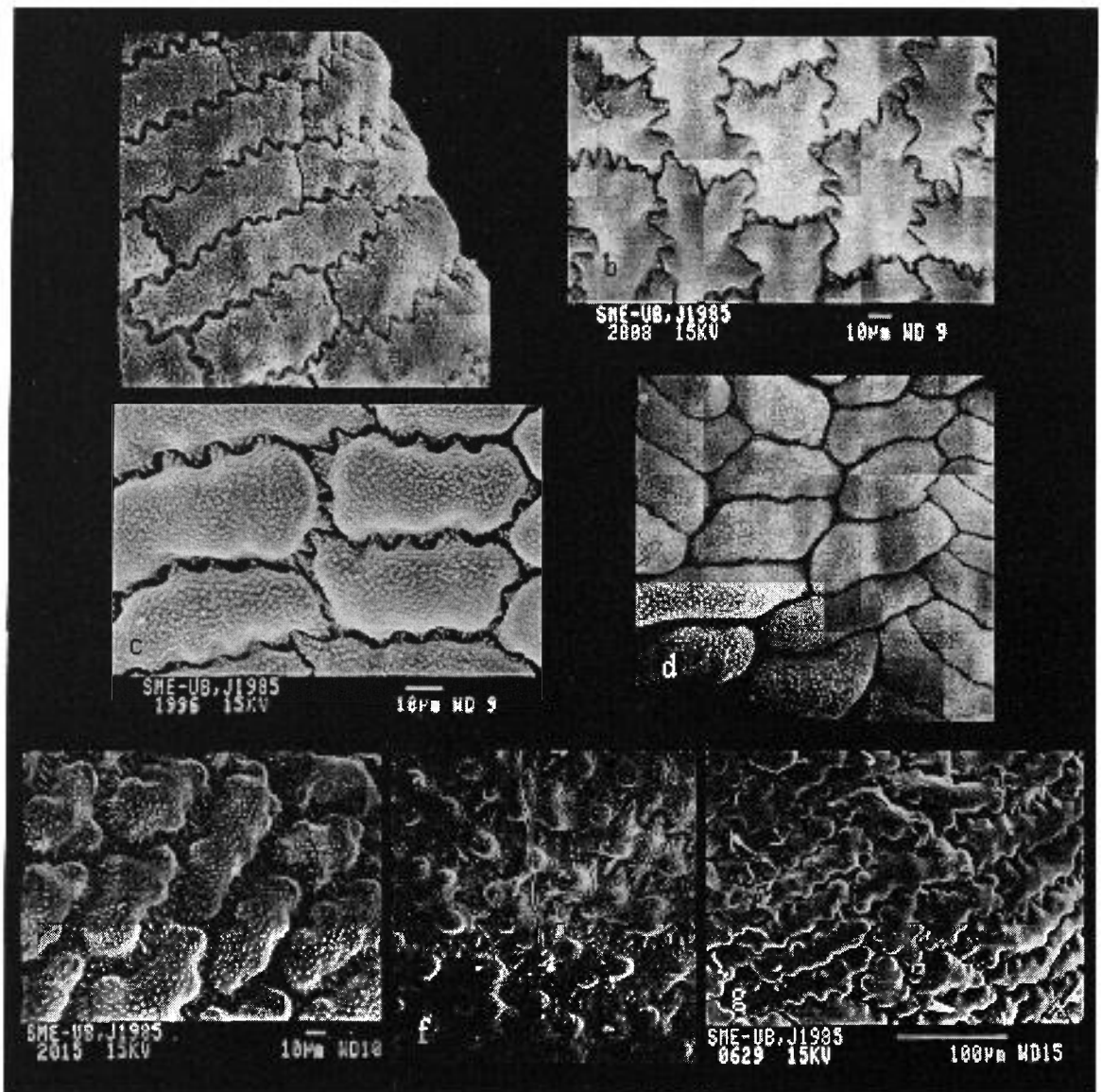


Figura 7.23. Corbatura de la paret periclinal externa. a) *Dianthus pyrenaicus* subsp. *attenuatus*. Cara dorsal, zona marginal. $\times 475$. b) *D. hyssopifolius*. Cara dorsal, zona central. $\times 600$. c) *D. benearnensis*. Cara dorsal, zona central. $\times 1000$. d) *D. broteri*. Cara dorsal, zona central. $\times 480$. e) *D. armeria*. Cara dorsal, zona marginal. $\times 550$. f) *D. barbatus*. Cara dorsal, zona central. $\times 475$. g) *D. multiceps* subsp. *praepyrenaicus*. Cara dorsal, zona marginal. $\times 300$.

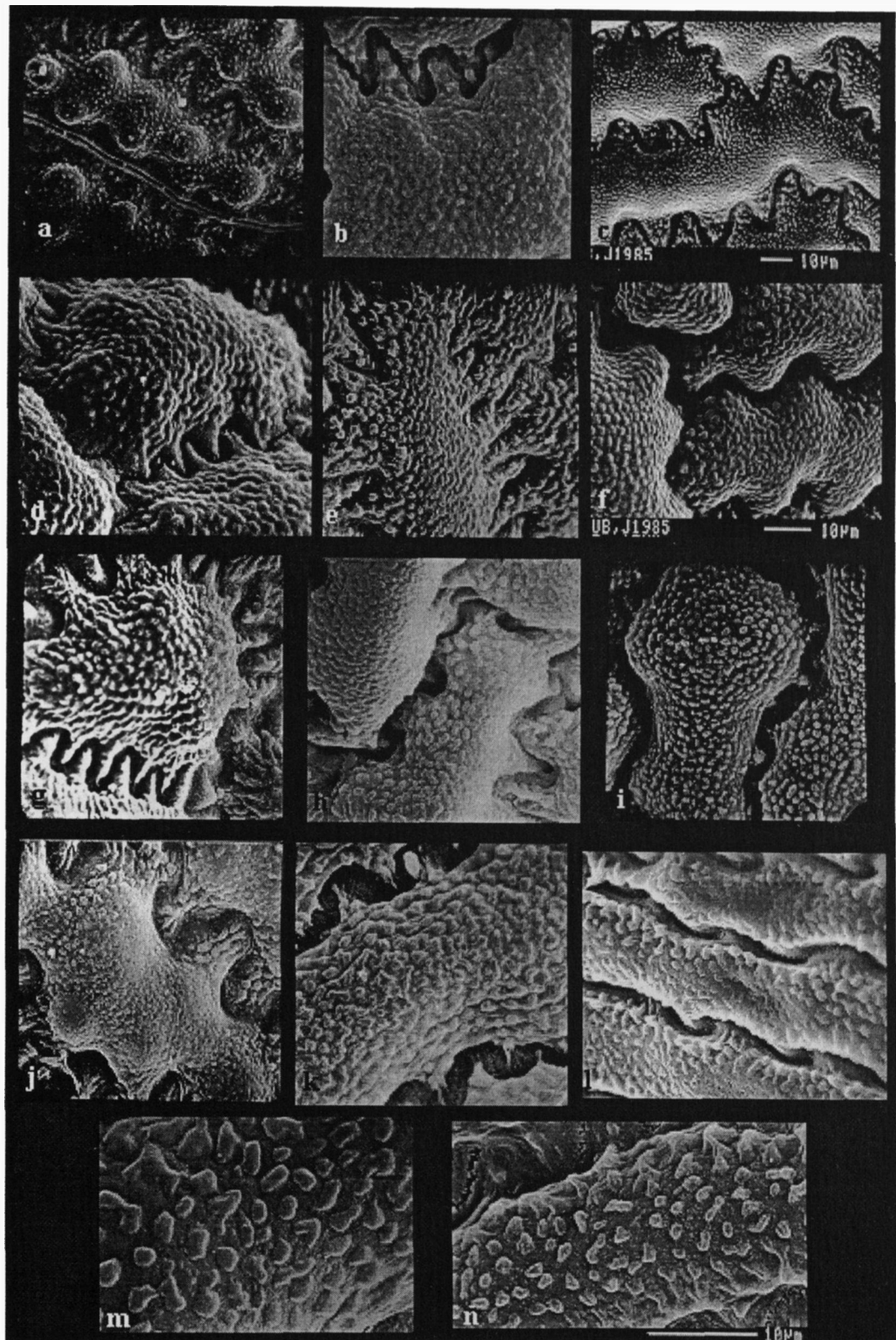


Figura 7.24. Microrelleu de la paret periclinal externa. **a)** *Dianthus barbatus*. Cara dorsal, zona central. $\times 950$. **b)** *D. pungens* subsp. *pungens*. Cara dorsal, zona central. $\times 1950$. **c)** *D. hyssopifolius*. Cara dorsal, zona marginal. $\times 1000$. **d)** *D. armeria*. Cara dorsal, zona central. $\times 920$. **e)** *D. carthusianorum*. Cara dorsal, zona marginal. $\times 1975$. **f)** *D. multiceps* subsp. *praepyrenaicus*. Cara dorsal, zona central. $\times 1500$. **g)** *D. deltoides*. Cara dorsal, zona marginal. $\times 1950$. **h)** *D. vigoii*. Cara dorsal, zona central. $\times 1900$. **i)** *D. pyrenaicus* subsp. *pyrenaicus*. Cara dorsal, zona marginal. $\times 2000$. **j)** *D. pungens* subsp. *ruscinonensis*. Cara ventral, zona marginal. $\times 1950$. **k)** *D. pyrenaicus* subsp. *attenuatus*. Cara dorsal, zona marginal. $\times 1900$. **l)** *D. pungens* subsp. *brachyanthus*. Cara dorsal, zona marginal. $\times 2000$. **m)** *D. benearnensis*. Cara dorsal, zona marginal. $\times 5000$. **n)** *D. pungens* subsp. *hispanicus*. Cara ventral, zona marginal. $\times 3500$.

7.3.4. Microrelleu de la paret periclinal externa. L'escultura secundària.

La paret periclinal externa de les granes de *Dianthus* no és llisa, sinó que presenta un microrelleu granulat-verrucós més o menys desenvolupat en funció dels diferents tàxons (vegeu la figura 7.24). Les micropapil·les semblen originar-se a partir d'engruiximents de la paret secundària de les cèl·lules i esdevenen visibles superficialment en relació amb les deformacions per encongiment que tenen lloc a les cèl·lules mortes.

Les micropapil·les, densament disposades en tots els tàxons estudiats, poden tenir forma de grànuls arrodonits, com en el cas de *D. barbatus*, *D. pungens* subsp. *pungens*, *D. hyssopifolius*, *D. armeria*, *D. carthusianorum*, i *D. multiceps* subsp. *praepyrenaicus* (vegeu la figura 7.24 a-f), de granulacions més o menys irregulars, com en el cas de *D. deltoides*, *D. vigoi*, *D. pyrenaicus* subsp. *pyrenaicus*, *D. pungens* subsp. *ruscinonensis* i *D. pyrenaicus* subsp. *attenuatus* (vegeu la figura 7.24 g-k), o de micropapil·les més o menys cantelludes, com en el cas de *D. pungens* subsp. *brachyanthus*, *D. benearnensis* i *D. pungens* subsp. *hispanicus* (vegeu la figura 7.24 l-n).

La morfologia del microrelleu de la paret periclinal externa no pot ser considerada com un bon caràcter per diferenciar els tàxons estudiats, perquè és molt homogènia. Únicament serveix com a caràcter diagnòstic en el cas dels tàxons que presenten micropapil·les cantelludes (*D. pungens* subsp. *brachyanthus*, *D. benearnensis* i *D. pungens* subsp. *hispanicus*).

7.3.5. Secrecions epicuticulars. L'escultura terciària.

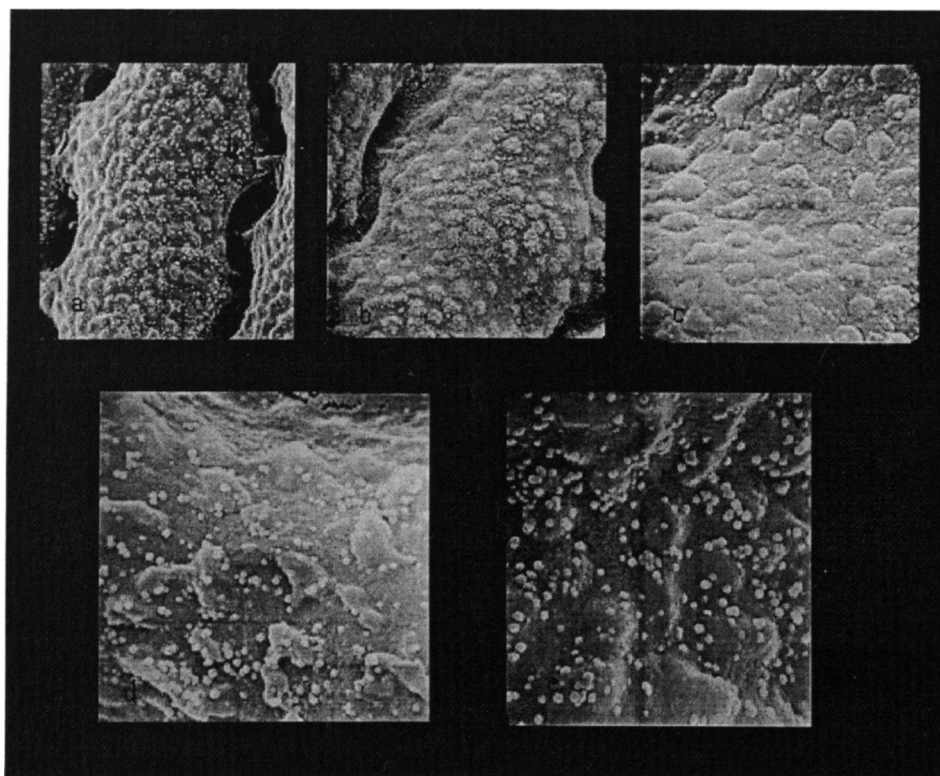


Figura 7.25. Secrecions epicuticulars. **a)** *Dianthus pungens* subsp. *hispanicus*. Cara dorsal, zona marginal. $\times 3000$. **b)** *D. pyrenaicus* subsp. *attenuatus*. Cara ventral, zona marginal. $\times 4800$. **c)** *D. pungens* subsp. *ruscinonensis*. Cara ventral, zona marginal. $\times 9500$. **d)** *D. carthusianorum*. Cara ventral, zona marginal. $\times 9300$. **e)** *D. deltoides*. Cara dorsal, zona marginal. $\times 9200$.

L'observació de les granes, al M.E.R. a gran augment (entre 3.000 i 9.500 x), dels tàxons estudiats, posa de manifest la presència, en tots ells, de secrecions epicuticulars en forma de diminuts microgrànuls de cera que es disposen laxament sobre l'episperma de la grana. Aquests microgrànuls son secretats per cèl·lules epidèrmiques no especialitzades.

Tot i que les secrecions epicuticulars tenen interès taxonòmic en determinats grups, en el cas del gènere *Dianthus* no hem trobat diferències pel que fa a la morfologia i les dimensions dels microgrànuls entre els tàxons estudiats. A la figura 7.25 es poden observar alguns dels exemples de les esmentades secrecions.

7.4. DISCUSSIÓ

En conjunt, els caràcters relatius a les granes no poden ésser considerats com a útils en el gènere *Dianthus*, ja que la majoria no permeten la diferenciació dels tàxons. La morfologia de les granes no revela variacions notables en els tàxons estudiats. La mida de les granes, en canvi, permet caracteritzar *D. armeria* i *D. deltoides*, per les petites dimensions dels seus dos eixos, i *D. broteri*, per les grans dimensions de l'eix menor.

Pel que fa als caràcters relatius a la disposició i a la morfologia de les cèl·lules de l'episperma, l'ordenació de les cèl·lules, el contorn cel·lular i les secrecions epicuticulars no permeten la caracterització de cap dels tàxons estudiats.

La morfologia de les parets anticlinals és un caràcter que presenta una gran variabilitat, tant entre diferents tàxons com dins una mateixa grana; per aquest motiu únicament resulta útil en la caracterització dels casos més extrems, com *D. broteri*, de parets anticlinals sinuades, *D. multiceps* subsp. *multiceps*, de parets anticlinals irregularment sinuades, i *D. pungens* subsp. *ruscinonensis*, que presenta les parets anticlinals amb ondulacions molt pronunciades, en forma de U, V, Ω o irregulars.

El relleu dels límits cel·lulars de les cèl·lules de l'episperma és acanalat en tots els tàxons excepte a la cara dorsal de *D. barbatus*, en què el límit no es troba enfonsat respecte al nivell de les cèl·lules de l'episperma.

Amb la corbatura de la paret periclinal i el microrelleu de la paret externa passa el mateix. Únicament resulten eficaços per a la caracterització dels tàxons més extrems, com *D. barbatus* i *D. multiceps* subsp. *praepyrenaicus* (paret periclinal fortament convexa i amb protuberàncies arrodonides més o menys marcades) o *D. pungens* subsp. *brachyanthus*, *D. benearnensis* i *D. pungens* subsp. *hispanicus* (microrelleu amb micropapil·les més o menys cantelludes).

8. PALINOLOGIA

8. PALINOLOGIA

8.1. INTRODUCCIÓ

La Palinologia, o estudi dels grans de pol·len i les espores, és un camp relativament jove si tenim en compte que el terme palinologia no va ser establert fins al 1945 (HYDE & WILLIAMS, 1945). La palinologia, obviament, manté una estreta relació amb altres camps d'estudi com ara la biologia de la reproducció, particularment en els aspectes de les interaccions pol·len-estigma, i dels sistemes de compatibilitat. Amb finalitats taxonòmiques, s'analitzen sobretot les característiques morfològiques dels mateixos grans de pol·len. Fins als nostres dies han estat publicats mil·lers de treballs de palinologia, fet que prova la utilitat de l'estudi dels grans de pol·len a qualsevol nivell taxonòmic. Estem plenament d'acord amb KEATING (1979) quan afirma que "La utilitat de la palinologia ha esdevingut tan evident que s'incorpora de manera rutinària a la majoria d'estudis sistemàtics i evolutius". Val a dir, però, que l'interès taxonòmic i el valor discriminant dels caràcters palinològics resulten ben diversos en els diferents grups.

La comprensió de l'estructura i de la funció del gra de pol·len ha anat a remolc, fins a cert punt, dels avenços en el camp de la microscòpia, especialment durant els primers anys del desenvolupament de la palinologia. Des del punt de vista sistemàtic, els primers caràcters utilitzats foren els derivats de l'observació dels grans de pol·len al microscopi òptic (MO). Posteriorment, la invenció i la comercialització dels microscopis electrònics de rastreig (MER) i de transmissió (MET), cap als anys 60 (HAYAT, 1974), i la seva aplicació a l'estudi dels grans de pol·len forniren noves informacions, que incrementaren en gran manera els coneixements palinològics. Tant l'estudi amb el MER com amb el MET són considerats avui dia com a tècniques rutinàries en l'anàlisi pol·línica, i totes dues solen ser utilitzades conjuntament amb la finalitat d'aconseguir una més bona comprensió de les característiques externes (esculturals) i internes (estructurals) dels grans de pol·len i de les interrelacions entre aquestes.

Les dades preses en consideració en palinologia són les derivades de les característiques del pol·len que fan referència a l'agregació i a la morfologia dels grans, al nombre, la forma i la posició de les obertures i a les característiques de la paret externa. El primer autor que va utilitzar les característiques dels grans de pol·len amb finalitats taxonòmiques fou John Lindley qui, entre els anys 1830-1840, publicà diversos treballs en què posava de manifest la correlació existent entre determinades característiques del pol·len i altres caràcters utilitzats en l'establiment de les tribus de la família orquidàcies.

El pol·len de les *Caryophyllaceae*. Estudis precedents.

FRITZSCHE (1832) va ésser el primer autor que es va ocupar de l'estudi palinològic de les *Caryophyllaceae*. Posteriorment, ZINDEREN-BAKKER (1956), IKUSE (1956) i CRANWELL (1961) varen estudiar a nivell palinològic diverses espècies de *Caryophyllaceae* de l'Àfrica, el Japó i Nova Zelanda respectivament, basant-se principalment en observacions efectuades amb el MO. SUNIRMAL-CHANDA (1963) i VISHNU-MITRE & GUPTA (1964) utilitzaren el MER en els seus respectius treballs sobre espècies d'Escandinàvia i de la Índia. FAEGRI & IVERSEN (1964) defineixen el pol·len de la subfamília

Silenoideae com a pantoporat. ERDTMAN (1966), basant-se en els resultats obtinguts pels autors anteriors i en els seus propis, va catalogar la família com a estenopalina. MCNEILL (1962, 1963) va fer un estudi taxonòmic de la subfamília *Alsinoideae*, i l'any 1973, en un estudi taxonòmic sobre la delimitació dels gèneres *Gypsophila* i *Stellaria*, utilitzà el pol·len per reforçar els seus criteris. MCNEILL & BASSET (1974) i MELZHEIMER (1975), estudiaren el gènere *Minuartia* i cinc seccions del gènere *Silene*, respectivament; els seus treballs han estat aportacions notables per al coneixement palinològic de la família que ens ocupa. NOWICKE (1975) i NOWICKE & SKVARLA (1977) efectuen estudis de tipus general sobre el pol·len de les diferents famílies que integren l'ordre *Centrospermae*. Pel que fa a treballs fets a partir de material originari de la península Ibèrica, cal citar en primer lloc la publicació de PLA DALMAU (1961), obra de caràcter generalista en què descriu el pol·len de 14 espècies de *Caryophyllaceae*. Més recentment, CANDAU (1978a, 1978b, 1980) publica diversos treballs sobre palinologia de cariofilàcies del Sud de la península Ibèrica que fan referència, respectivament, a les tres subfamílies que la integren. Els esmentats treballs constitueixen una aportació notable al coneixement palinològic de les cariofilàcies de la península Ibèrica, ja que aquest autor estudia un total de 89 espècies pertanyents a 26 gèneres (10 G de la SF *Paronychioideae*; 9 G de la SF *Alsinoideae* i 7 G de la SF *Silenoideae*). La mateixa autora (CANDAU, 1978c) publica l'any 1978 un estudi específic del gènere *Cerastium*, i CANDAU & TALAVERA (1979) publiquen un estudi específic del gènere *Silene*. Finalment FERNÁNDEZ GONZÁLEZ & al. (1988) publiquen l'estudi polínic del gènere *Petrocoptis*.

Segons els autors abans esmentats, a la família *Caryophyllaceae* existeix una certa variabilitat del model de pol·len en funció dels tipus d'obertura, que poden ser colps o porus. Segons ERDTMAN (1966) i a partir de l'estudi d'aproximadament 100 espècies atribuïbles a 50 gèneres, els grans de pol·len de les *Caryophyllaceae* poden ser colpats (tri-colpats), rugats o porats, i les seves dimensions oscil·len entre 10 µm, en el cas de *Corrigiola litoralis*, i més de 60 µm, en el cas d'*Agrostemma githago*. El pol·len de la subfamília *Paronychioideae* sol ser, amb alguna excepció (CANDAU, 1978a), colpats, mentre que el de les subfamílies *Alsinoideae* i *Silenoideae* sol ser, també amb alguna excepció (CANDAU, 1978b), porat.

El pol·len del gènere *Dianthus*

Pel que fa al gènere *Dianthus* en particular, no coneixem cap treball monogràfic sobre el tema i, menys encara, dades que facin referència a material ibèric, amb l'única excepció de l'obra de caire general, ja esmentada, de PLA DALMAU (1961), que dóna la descripció de *D. armeria*, i el treball de CANDAU (1980) que descriu 8 espècies pertanyents al gènere.

La resta d'informacions que tenim provenen de les obres generals que tracten d'alguna espècie de *Dianthus*, generalment d'origen llunyà. Més que no pas descripcions detallades, el que es troba en aquests treballs és l'assignació de les espècies tractades a un "tipus pol·línic" concret.

Pel que es desprèn dels treballs esmentats, no sembla que les variacions de la morfologia pol·línica siguin gaire ostensibles entre les diferents espècies de *Dianthus*. En tot cas, les dimensions i la forma dels grans de pol·len i l'ornamentació de l'exina semblen els caràcters que ofereixen més possibilitats de ser presos com a suport d'una posterior síntesi taxonòmica. La utilitat dels diferents caràcters pol·línics a l'hora de discriminar els diferents tàxons del gènere *Dianthus* ha estat posada de manifest per Candau (1980). L'esmentat autor, basant-se en l'estudi de 8 tàxons pertanyents al gènere, estableix quatre grups pol·línics en funció de les dimensions del gra, el nombre d'obertures i les dimensions d'aquestes i, dins de cada grup, distingeix els diferents tàxons basant-se en caràcters relatius a l'ultraestructura i l'ornamentació dels grans. L'objecte del nostre estudi és, doncs, determinar si la morfologia pol·línica pot posar en evidència afinitats o diferències fins ara no

observades. Per fer això, cal conèixer la uniformitat o diversitat dels grans de pol·len d'una mateixa espècie i comparar els d'espècies diferents.

8.2. MATERIAL I MÈTODES

8.2.1. Material

El material estudiat prové, en general, de recol·leccions pròpies i, subsidiàriament, de material d'herbari. El material obtingut a partir de les recol·leccions pròpies ha estat fixat directament al camp amb àcid acètic glacial. Els testimonis corresponents són dipositats a l'herbari BCC. El material estudiat s'indica a l'apartat del mateix nom del capítol 11, amb el signe **P**.

HIDEUX & AL (1978) donen la següent definició de població pol·línica: "ensemble des pollens appartenant à l'unité florale la plus faible ne présentant pas de variation significative". En el nostre cas hem considerat com a població pol·línica una flor d'un únic individu de cada població geogràfica i, consegüentment, cada mostra per a l'observació al MO o al MER correspon a les 10 antereres d'una flor.

Per tal d'aconseguir una uniformitat més gran de les dades i que aquestes fossin comparables, les mostres de pol·len han estat preses de flors en el mateix estat de desenvolupament, evitant prendre en consideració pol·len de poncelles, possiblement immatur, i de flors ja passades i, per tant, ja buides de pol·len.

Per a obtenir les dades morfobiomètriques al MO, hem pres, per a cadascuna de les poblacions estudiades (vegeu l'apartat "Material estudiat" del capítol 11), 30 mesures de l'eix polar (P) i 30 del diàmetre equatorial (E), amb les quals posteriorment hem establert la relació P/E (vegeu la figura 8.1).

Pel que fa als caràcters relatius a l'ornamentació de l'exina estudiats al MER, el nombre de poblacions estudiades ha estat menor, oscil·lant entre 1 i 3 per tàxon.

Utilitatge

- Estereoscopi binocular Nikon 102
- Microscopi òptic Wild M20
- Cambra clara OPL
- Microscopi electrònic de rastreig STEREOSCAN S-4
- Microscopi electrònic de rastreig JEOL 84011
- Microscopi electrònic de rastreig Hitachi S-2300
- Metal·litzador Diode-Sputtering POLARON E-5000
- Metal·litzador Jeol JFC 1100
- Bany Termostatat SELECTA
- Centrífuga MSE

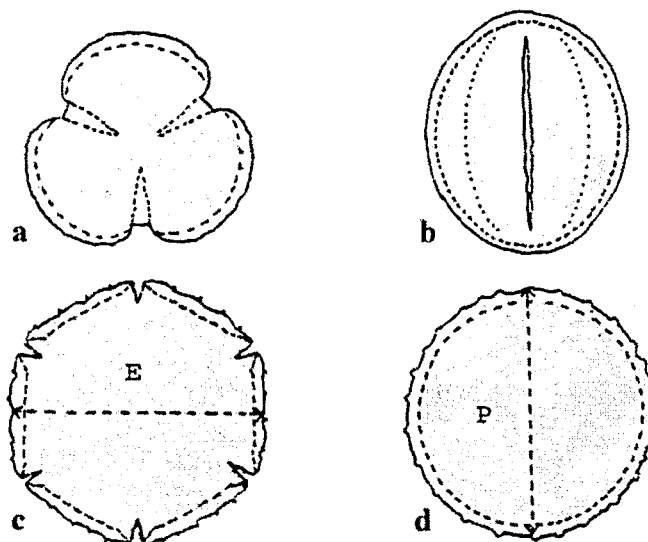


Figura 8.1. Polaritat i forma dels grans de pol·len. **a)** Gra de pol·len en visió polar. **b)** Gra de pol·len en visió equatorial. **c)** Diàmetre equatorial, (E). **d)** Eix polar, (P).

8.2.2. Metodologia

8.2.2.1. Observació al microscopi òptic

Per tal d'estandarditzar les dades pol·líniques ha esdevingut una pràctica normal sotmetre les mostres al procés de l'acetòlisi. Aquesta manipulació, amb múltiples variants, permet de destruir el contingut cel·lular, de manera que sols resti l'exina, la qual augmenta la seva transparència i esdevé, en conseqüència, més perceptible, alhora que s'uniformitza l'estat d'inflament de totes les mostres. La tècnica de l'acetòlisi proposada per ERDTMAN (1969) és la següent:

El material pol·línic se suspèn, en un tub de centrifugació, en àcid acètic glacial. La mostra se sotmet a moviments mecànics amb una vareta de vidre neta a fi d'alliberar el màxim nombre de grans de pol·len.

La suspensió així obtinguda se centrifuga a 3.000 r.p.m. durant 5 minuts i es decanta.

A cada tub de centrifugació que contingui sediment s'afegeixen 5 ml de mescla acetolítica preparada extemporàniament (àcid sulfúric concentrat-anhídrid acètic 1:9). Es remou amb una vareta de vidre i s'escalfa en un bany d'aigua a 70-80°C durant uns 7-10 minuts.

Es deixa refredar fins arribar a la temperatura ambiental, se centrifuga (3000 r.p.m., 5 min) i es decanta.

El sediment de cada tub es renta amb 5 ml d'àcid acètic glacial i novament se centrifuga i es decanta.

Finalment, es procedeix al rentat de les mostres amb successius banys d'alcohol de 70°, 96° i absolut (3 vegades), respectivament. Després de cada rentat se centrifuga i es decanta.

Amb una pipeta Pasteur es recullen els grans del darrer sediment i es disposen sobre un portaobjectes amb dues gotes de glicero-gelatina. S'escalfa suaument el porta sense que arribi a bullir la gelatina, es col·loca un cubri al damunt i se sella la preparació amb DPX.

Quan no disposàvem de material pol·línic en abundància hem seguit la tècnica del micromètode d'AVETISSIAN (SAENZ, 1978), que permet treballar amb petites quantitats de mostra, i hem fet el seguiment del procés sota la lupa binocular. Seguint aquesta tècnica, a les antereres, dipositades sobre un portaobjectes, s'afegeixen dues gotes d'àcid acètic glacial. Un cop seques, s'hi posen dues gotes de mescla acetolítica preparada extemporàniament. Amb una vareta de vidre neta, es trenquen les antereres i el pol·len entra en contacte amb el reactiu, que es deixa actuar durant un minut aproximadament sobre la placa calefactora a una temperatura d'uns 70°C.

A continuació es retiren les restes macroscòpiques (filaments, fragments d'antera, etc.) i s'afegeixen a la preparació dues gotes d'àcid acètic glacial (que solubilitza els triacetats de cel·lulosa que s'hagin pogut formar i que dificultarien l'observació microscòpica).

Es renta la preparació tres vegades amb etanol de 96° i se'n recull l'excés acuradament amb tires de paper de filtre. Finalment, es deixa assecar fins a l'evaporació de l'etanol.

Es munta el material en dues gotes de glicero-gelatina sobre la placa calefactora i se segellen les preparacions amb DPX.

Les observacions i les mesures es practiquen al cap de quinze a trenta dies del muntatge de la preparació, per tal d'assegurar idèntics graus d'imbibició i d'evitar errors en les mesures. Aquestes es realitzen en un nombre mínim de 30 per preparació, tant per a l'eix polar (P), com pel diàmetre equatorial (E) i la relació P/E (vegeu la figura 8.1).

8.2.2.2 Observació al microscopi electrònic de rastreig

La tècnica aplicada a les mostres que s'havien d'observar amb el MER ha estat, en tots els casos, la d'ERDTMAN (1969), ja que el micromètode descrit anteriorment, s'ha revelat deficient per a la precisió requerida quan es treballa amb el MER (sovint els grans han aparegut coberts d'una fina pel·lícula, índici d'una acetòlisi o un rentat insuficients).

Quan es munten les preparacions per al MER, es recullen els grans de pol·len del darrer sediment amb una pipeta Pasteur i es disposen sobre un portaobjectes rodó de vidre. El portaobjectes de vidre es munta sobre el portaobjectes metàl·lic del MER amb plata col·loïdal, per tal d'assegurar la transmissió elèctrica. Es metal·litza amb or en un Diode-Sputtering (Polaron E-5000) a 16 mA i 1,3 kV durant 4 min.

L'observació es duu a terme per la pantalla de rastreig i se'n fan fotografies (durant 100 s, descàrrega de 30 kV). Els caràcters estudiats al MER són els referents a l'ornamentació de l'exina.

8.2.2.3 Tractament de les dades

Els resultats biomètrics obtinguts a partir de les mesures fetes al MO han estat processats mitjançant un programa estadístic per tal d'obtenir, per als caràcters considerats (P, E i P/E), la mitjana, la desviació estàndard, els valors màxim i mínim i l'interval de confiança (I.C.) per a cadascuna de les poblacions estudiades (vegeu la taula 8.1).