

墨兰花部超微结构与昆虫传粉行为的对应性

侯 佳¹, 范燕萍²

(1. 内蒙古农业大学 职业技术学院, 内蒙古 包头 014109; 2. 华南农业大学 园艺学院, 广东 广州 510642)

摘 要:兰科植物多具有独特、精巧、多样化的花部结构以及高度多样的吸引传粉者的方式。采用透射电镜技术对墨兰的萼片、侧瓣、唇瓣的超微结构进行对比研究, 寻找其与昆虫传粉行为的对应关系。结果表明: 墨兰萼片质体、线粒体结构发达, 数量多; 墨兰的花瓣质体、线粒体结构欠发达, 数量少于前者, 还有一部分质体是以造粉体和造蛋白质体的形式出现的; 唇瓣质体数量极少, 线粒体内膜欠发达。在传粉过程中, 萼片和花瓣通过释放强烈的香气吸引传粉者, 而唇瓣则为传粉者提供落脚处。

关键词:传粉行为; 花部; 香气

中图分类号:S 682.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)24-0083-05

兰科(Orchidaceae)植物类群庞大, 多具有独特、精巧、多样化的花部结构以及高度多样的吸引传粉者的方式^[1]。兰科植物常常利用现有植物与传粉者之间的关系甚至昆虫的性吸引来达到传粉的目的, 因此一些兰科植物模仿其它食源植物的花部特征欺骗昆虫进行传粉, 或通过唇瓣上的V形斑反光吸引传粉者^[2-3]。兔耳兰通过其唇瓣上无规则的紫栗色小斑点(假蜜导)来吸引中

华蜜蜂为其传粉, 杏黄兜兰模仿食源性植物黄花香 *Hypericum beanii* 吸引传粉者^[1,4]。大多数兰科植物依靠花蜜或特殊的气味来吸引传粉者^[5-6], 这类兰花多蜜腺发达或香气浓郁, 如春兰通过其强烈的香味来吸引传粉者^[7]。对于兰花传粉系统的研究, 多集中在兰花花部结构与传粉者传粉行为的适应性上, 而对于兰花花部解剖结构与传粉行为的适应性研究较少。

国兰是我国古老的名花之一, 花开时幽香清远、馥郁袭人^[8]。墨兰香气浓郁且释香持久, 为国兰中的精品。墨兰的花期一般在14 d左右, 如不授粉整个花期都香气馥郁。即使在室内瓶插, 仍可保持7 d的释香周期。墨兰花部结构精巧, 6枚花被片, 外轮3枚萼片, 内轮2枚侧瓣, 中间1枚特化为唇瓣, 唇瓣细胞外切向壁有乳

第一作者简介:侯佳(1981-), 女, 硕士, 讲师, 现主要从事园林花卉栽培及抗性生理等研究工作。E-mail: hjl16116@sina.com.

责任作者:范燕萍(1964-), 女, 博士, 教授, 现主要从事花卉分子生物学及生理等研究工作。E-mail: fanyanping@scau.edu.cn.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30972026)。

收稿日期:2016-09-27

Effects of Sulfuric Acid Type Acid Rain on Physiological and Ecological Character of *Taxus chinensis*

CHEN Liwen

(Department of Forestry, Xinyang Agriculture and Forestry University, Xinyang, Henan 464000)

Abstract: Central leaves of growing good yew branches were used as test materials, leaves were continually spray four days by artificial preparation acid rain under pH 6.7, 5.6, 4.0, 2.5, the control group with spraying water. And then chlorophyll fluorescence parameters of leaves, chlorophyll content, relative electric conductivity and the change values of antioxidant enzyme were determined. The results showed that over time, F_v/F_m value and chlorophyll content continually decreased. F_v/F_m value and chlorophyll content were the biggest to decline when pH was 2.5; the relative conductivity, SOD, CAT and POD activities were on the rise, the largest value obtained when pH was 2.5. The acid rain had remarkable effect on the growth physiological indexes of *taxus*.

Keywords: acid rain; *Taxus chinensis*; physiological and ecological character

头状突起^[9]。兰花唇瓣多有乳头状突起,一些学者认为这或许与香气释放有关,但未做进一步研究。现通过石蜡切片、半薄切片、投射切片等手段,利用光学显微镜、电子透射显微镜等,深入系统地观察墨兰花部不同部位的细胞结构,以期寻找其与兰花传粉行为的对应关系。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试墨兰(*Cymbidium sinense*)采自华南农业大学园林绿化公司。

1.2 试验方法

冰盒取样,分别取花器官的3种花瓣:萼片、侧瓣、唇瓣。所采材料均切成1 mm³的小块,再用磷酸缓冲液(pH 7.2)配制的4%戊二醛中(4℃)固定约24 h以上,缓冲液清洗,1%锇酸(4℃)后固定约1 h,经清洗后系列酒精脱水,环氧丙烷过渡,Epon812包埋,超薄切片机切片。采用醋酸双氧铀和柠檬酸铅染色,Philip FEI-TECNAI 12透射电镜观察并照相。

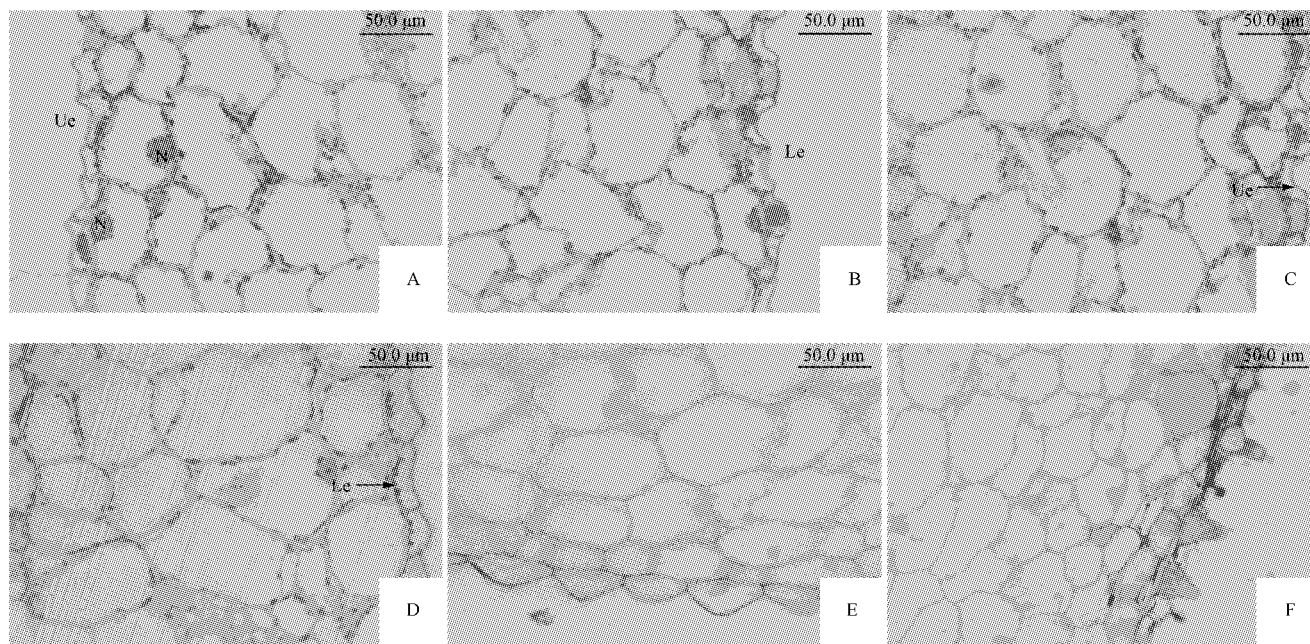
2 结果与分析

2.1 墨兰花部的显微结构

墨兰的萼片表皮无特化细胞和分泌组织(图1-A、B)。萼片表皮细胞扁平且向内凹陷,细胞排列紧密,基本组织细胞近圆形,4~5层。细胞核明显,维管束较小。上表皮细胞器多于下表皮。侧瓣近轴面表皮细胞呈半球状突起。部分球状突起向下凹陷,形成星状图案。剩余部分收缩、塌陷(图1-C、D)。基本组织细胞近圆形,偏大。花瓣细胞内细胞器含量也是上表皮多于下表皮。墨兰的唇瓣表面有3种表皮细胞(图1-E、F),唇瓣远轴面表皮细胞呈乳头状突起,侧裂片近轴面为扁平细胞,褶片近轴面大量细胞呈棒状突起,且细胞质浓厚。

2.2 墨兰花部的超微结构

萼片细胞的细胞质浓厚、核仁明显,中央大液泡,液泡化显著,细胞核被大量内膜发达的质体所包围(图2-A),质体呈橄榄形体积较大,且多含有嗜锇物质(图2-B);线粒体内嵴发达(图2-C)。在质体集中的区域,内质网丰富。内质网围绕在质体周围,且相互连接



注:A. 萼片上表皮(Ue)及相邻内部组织;B. 萼片下表面(Le)及相邻内部组织;C. 花瓣上表皮及相邻内部组织;D. 花瓣下表面及相邻内部组织;E. 唇瓣上表皮及相邻内部组织;F. 唇瓣下表面及相邻内部组织。

Note: A. Sepals epidermis(Ue) and adjacent internal organization; B. Internal organization under the surface and the epidermis of sepals(Le); C. Petals on the skin and inside the adjacent tissue; D. Internal organization under the surface and the adjacent petals; E. On the lip and adjacent skin tissue inside; F. Surface and adjacent internal organization under the lip.

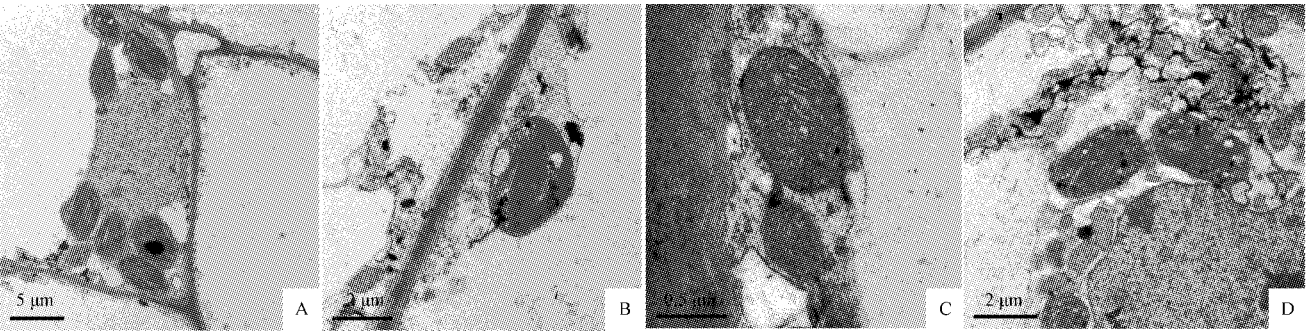
图1 墨兰花部解剖结构

Fig. 1 Anatomical structures of the orchid flowers

形成了1个连通的区域向细胞壁延伸。不仅质体中有大小各异的嗜锇滴,在细胞质和内质网中也分布了大量形状各异的嗜锇物质(图2-D)。

侧瓣细胞中细胞器数量略少于萼片,液泡相对体积

更大。质体内含有丰富的黑色嗜锇滴(图3-A),也有部分质体中含有淀粉粒或蛋白质结晶(图3-B、C)。线粒体的脊没有萼片中的发达,内质网中黑色嗜锇滴的数量也减少(图3-D)。质体电子密度略低于萼片中的质体。

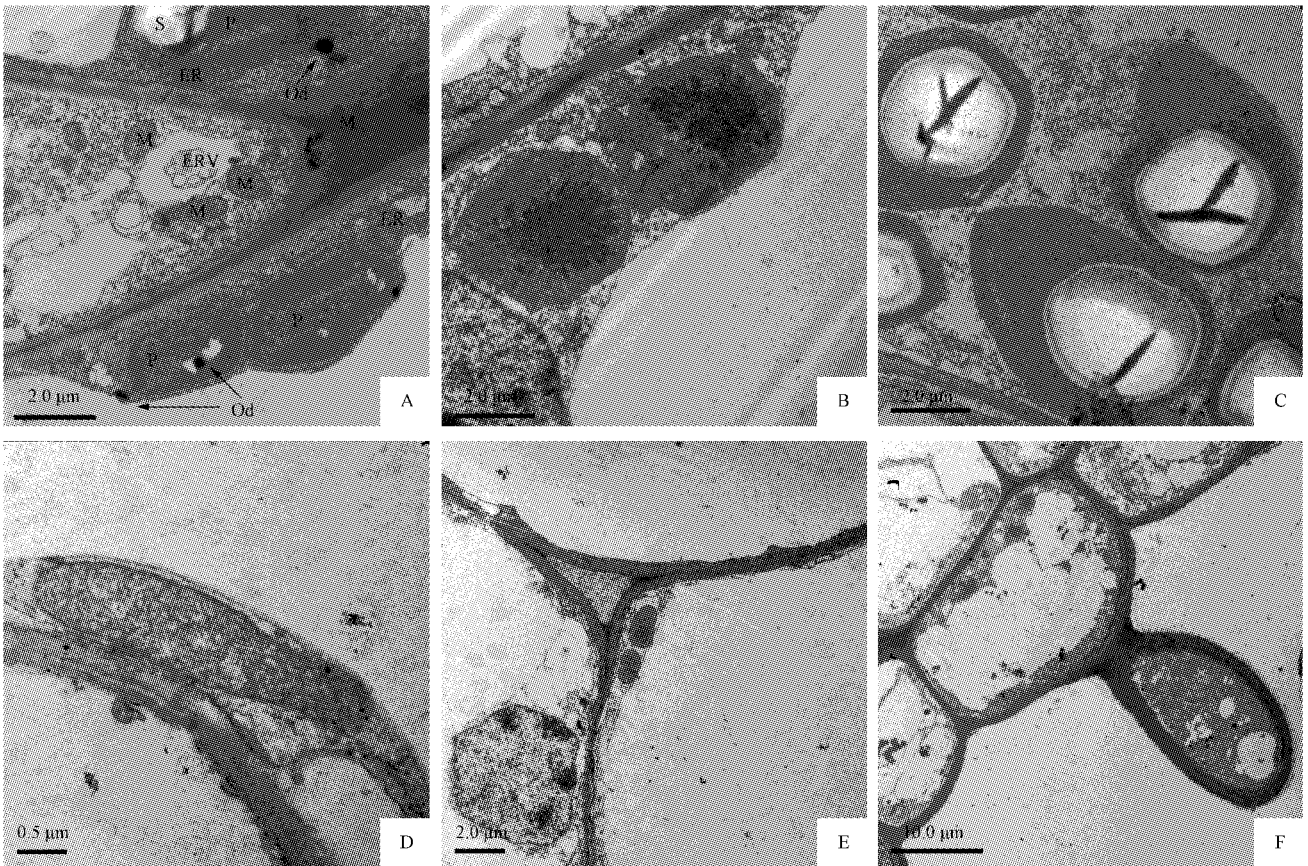


注:A. 细胞核被质体(P)包围,间有少量线粒体(M);B. 质体片层结构明显,有少量嗜银物质(Od)积累;C. 线粒体内膜发达;D. 内质网的形态。

Note;A. Nucleus surrounded plastid(P),between a small amount of mitochondrial(M);B. Plastid lamellar structure was significantly,a small amount of osmiophilic material(Od) accumulation;C. Mitochondrial membrane developed;D. Form endoplasmic reticulum.

图2 墨兰萼片超微结构

Fig. 2 Ultrastructure of the orchid sepals



注:A. 侧瓣质体片层丰富,内有嗜银物质积累;B. 侧瓣造粉体结构,内含淀粉粒(S);C. 侧瓣造蛋白质体结构;D. 侧瓣内膜发达的线粒体;E. 唇瓣细胞内细胞器稀少,质体退化;F. 唇瓣表皮突起的细胞内部形态。

Note;A. Side lobe plastid lamellae rich,osmiophilic substance accumulation;B. The side lobe structure made of powder,containing starch grains (S);C. Side lobe structure made of protein;D. Side lobe developed endometrial mitochondria;E. Labellum intracellular organelles rare,plastid degradation;F. The lip skin protrusions inside the cell morphology.

图3 墨兰侧瓣与唇瓣超微结构

Fig. 3 Ultrastructure of the orchid side lobe and lip

唇瓣细胞中质体含量极少,且质体内部无片层结构分布(图 3-E)。线粒体数量与其它细胞相近,但线粒体内脊欠发达。表皮的突起细胞中无明显中央大液泡,细

胞质浓厚,但质体、线粒体、内质网等细胞器较少(图 3-F)。

这 3 种器官的超微结构特点对比详见表 1。萼片细

胞质体及细胞质中嗜银滴较丰富,质体、线粒体、内质网等细胞器较发达。花瓣细胞的质体及细胞质中嗜银滴明显减少,质体、线粒体、内质网等细胞器比较发达。唇瓣细胞的质体及细胞质中无嗜银滴,质体、线粒体、内质网等细胞器欠发达或未发现。另外,墨兰花部不同部位的细胞中细胞器的数量对比见图4。萼片中线粒体、质体与核周质体的数量明显多于花瓣和唇瓣,说明该类细胞内生命活动旺盛。

表1 墨兰各部位超微结构特点对比

Table 1 Ultrastructure of *Cymbidium sinense* in different flower parts

形态特点 Morphological characteristics	萼片 Sepal	花瓣 Petal	唇瓣 Lip
细胞壁厚度和膨胀状态	厚,膨胀	厚,膨胀	薄,未膨胀
质体染色度	深	略深	浅
质体中嗜银滴	丰富	较多	无
质体中结晶体	无	少量	微量
细胞质中嗜银滴	有	个别	无
质体形状	大	大	小
线粒体内嵴发达程度	发达	发达	欠发达
质体附近的内质网	有	有	几乎看不到
槽库末端小泡	有	有	无

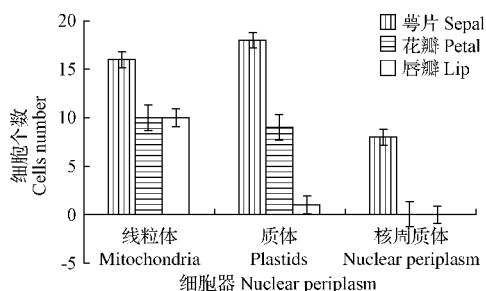


图4 3种花瓣每个细胞内细胞器数量(30个细胞)

Fig. 4 Organelle number of three kinds of petal per cell (30 cells)

3 讨论

3.1 侧瓣和萼片是墨兰花部的主要释香器官

墨兰通过释放强烈的花香吸引传粉者,根据观察结果显示其香气成分的主要释放器官是侧瓣和萼片。由花器官释放的酯类化合物、萜类化合物和芳香族化合物以及一些含氮、含硫化合物都属于亲脂类物质^[10]。根据对与墨兰亲缘关系较近的建兰的GC/MS检测结果表明,兰花的香气成分包括萜烯类、酯类、烃类等,脂类和萜烯类成分所占比例较大^[11]。这些物质在固定过程中与银反应,形成嗜银物质。学者们认为,含有包含嗜银物质的质体是分泌脂类物质细胞最常见的超微结构特征^[12-14]。

质体为萜烯类尤其是单萜和多萜类物质的合成场所,KLEINIG^[15]通过对部分单萜和二萜的合成酶定位,证明质体是其单一性的合成部位。因此,细胞内质体的

发达程度和质体的多少可以说明细胞合成芳香物质的高低。该观察结果表明,墨兰的侧瓣和萼片质体数量丰富、体积较大,脂类被银固定形成的嗜银滴在质体中大量存在,说明侧瓣和萼片细胞中的大量质体参与了芳香物质的合成。

质体种类包括:含有黑色嗜银滴的质体称为造油体,内含精油和脂肪;含有淀粉的造粉体;含有蛋白质的造蛋白质体,其中的蛋白质常以结晶形式存在。这3种质体之间可以相互转变。BOSABALIDIS等^[16]曾发现*C. delicis*分泌囊成熟后,合成精油的质体由造油体转变为造粉体。这说明造粉体的出现标志着细胞精油合成能力的下降。墨兰侧瓣中造粉体和造蛋白质体的出现,表明造油体的减少,说明侧瓣的香气物质分泌能力低于萼片。

BELINGHERI等^[17]通过合成酶定位法证明倍半萜合成于细胞溶质中及内质网与细胞溶质的界面处。内质网不仅参与亲脂类物质的合成,还将细胞内分泌的香气物质运往质膜并释放到细胞外。在一些植物的质体外围常有网状组织,可将脂类物质运送到质膜周围^[18-20];MIKULSKA等^[21]观察到质体膜与内质网相互连接的现象。学者在*Citrus deliciosa*和兰属植物*Restrepia*^[16,22]中发现精油在质体中合成后,通过质体膜运转到光滑内质网,经内质网转运到质膜,通过与质膜结合的方式将其释放到原生质体外。通过观察发现墨兰的侧瓣和萼片细胞中质体大量存在的区域内质网分布密集,且有大量嗜银滴伴随存在(图2-D),细胞内线粒体数量丰富、内嵴发达。说明墨兰侧瓣和萼片细胞中,正在进行旺盛的芳香物质合成活动,线粒体为该过程提供能量。

高尔基体和核膜周围的嗜银滴含量明显少于质体和内质网,质体和内质网是嗜银滴的主要合成场所。质膜外也含有各种类型的嗜银滴。

3.2 唇瓣在吸引传粉者中的作用

程瑾等^[1]研究发现,蜜蜂访花时,直接落在唇瓣上,后腿蹬在唇瓣中裂片上。由此可见在传粉过程中,唇瓣的主要作用是为传粉者提供落脚处。侯佳等^[11]对与墨兰亲缘关系较近的建兰的研究结果表明唇瓣不是主要的香气释放器官。墨兰的唇瓣表皮细胞细胞质浓厚,这种细胞质浓厚的表皮细胞可能是其保持坚挺的原因,能够接受传粉者的踩踏。与萼片和侧瓣相比,唇瓣细胞内质体、线粒体、内质网等与芳香物质分泌有关的细胞器数量少或内部结构欠发达,且只有极少量嗜银滴分布于细胞内。这说明唇瓣在传粉过程中主要作为传粉者的落脚处,而不是主要的香气释放器官。

参考文献

[1] 程瑾,刘世勇,何荣. 兔耳兰食源性欺骗传粉的研究[J]. 生物多样性,

2007,15(6):608-617.

[2] KJELLSON G, RASMUSSEN F N, DU P D. Pollination of *Dendrobium infundibulum* *Cymbidium insigne* (Orchidaceae) and *Rhododendron lyi* (Ericaceae) by *Bombus eximius* (Apidae) in Thailand: a possible case of floral mimicry[J]. Journal of Tropical Ecology, 1985, 1: 289-302.

[3] DAVIES K L, STPICZYNSKA M, TURNER M P. A rudimentary labella speculum in *Cymbidium lowianum* (Rchb. f.) Rchb. f. and *Cymbidium devonianum* Paxton (Orchidaceae)[J]. Annals of Botany, 2006, 97: 975-984.

[4] 刘可为, 刘仲建, 张玉婷, 等. 杏黄兜兰传粉生物学研究[J]. 深圳特区科技, 2005(z1): 171-183.

[5] SASAKI M, ONO M. Pollination ecology of the Japanese honeybee and the oriental orchid. Proceedings of the 1st international conference on the Asian Honey Bees and Bee Mites, Bangkok, Thailand[M]. Cheshire: Wicwas Press, 1992: 391-397.

[6] MATILA E, KUITUNEN M T. Nutrient versus pollination limitation in *Platanthera bifolia* and *Dactylorhiza incarnate* (Orchidaceae)[J]. Oikos, 2000, 89: 360-366.

[7] 庾晓红, 罗毅波, 董鸣. 春兰(兰科)传粉生物学研究[J]. 植物分类学, 2008, 46(2): 163-174.

[8] 吴应祥. 中国兰花[M]. 北京: 中国林业出版社, 2000: 1-6.

[9] 李爱民, 叶秀麟, 陈功锡, 等. 墨兰的解剖学研究[J]. 热带亚热带植物学报, 2002, 10(4): 295-300.

[10] FAHN A. Secretory tissues in vascular plants[J]. New Phytology, 1988, 108: 229-257.

[11] 侯佳, 范艳萍. 建兰花器官不同部位挥发性香气成分差异性分析[C]. 杭州: 中国观赏园艺研究进展, 2009: 307-311.

[12] SCHNEPE E. Über den Feinbau von Oldersen, IV. Die Olfenge von mbelliferer: *Heracleum sphondylium* and *Dorema ammoniacum* [J]. Protoplasma, 1969, 67: 375-390.

[13] FAHN A, EVERT R F. Ultrastructure of the secretory ducts of *Rhus glabra*[J]. American Journal of Botany, 1974, 61: 1-14.

[14] BOSABALIDS A, TSEKOS L. Glandular scale development and essential oil secretion in *Origami dittanies* L. [J]. Planta, 1982a, 156: 496-504.

[15] KLEINIG H. The role of plastids in isoprenoid biosynthesis[J]. Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1989, 40: 39-59.

[16] BOSABALIDS A, TSEKOS L. Ultra structural studies on the secretory cavities of *Citrus deliciosa* Ten. II. Development of the oil-accumulating central space of the gland and process of active secretion[J]. Protoplasma, 1982b, 112: 63-70.

[17] BELINGHERI L, PAULY G, GLEIZES M, et al. Isolation by an aqueous two-polymer phase system and identification of endomembranes from *Citrofortunella mitis* fruit for sesquiterpene hydrocarbon synthesis [J]. J Plant Physiol, 1988, 132: 80-85.

[18] VERMEER J, PETERSON R L. Calendula trichomes on the inflorescence of *Clirysanthuim morifolium* cv. Dramatic (Compositae). Ultrastructure and histochemistry[J]. Canadian Journal of Botany, 1979, 57: 714-729.

[19] WERKER E, FAHN A. Secretory hairs of *Inula viscosa* L. Ait: development, ultrastructure, and secretion[J]. Botanical Gazette, 1981, 142: 461-476.

[20] ASCENSAO L, PAIS M S S. Diffiirenciation et processus secreteur des tricomes d'*A. campestris* ssp. *marilima* (Compositae)[J]. Annales des Sciences Natiirelles, Botanique, 1985, 7: 149-171.

[21] MIKULSKA E, ZOLNIEROWICZ H. Ultrastructure of plastids in differentiating epithelial cells of *Plunieria riibral*[J]. Annals of Botany, 1976, 57: 389-401.

[22] PRIDGEON A M, STERN W L. Ultra structure of osmophores in *Restrepia* (Orchidaceae) [J]. American Journal of Botany, 1983, 70: 1233-1243.

Cymbidium sinense Between the Ultrastructure and Correspondence Insect Pollination

HOU Jia¹, FAN Yanping²

(1. Vocational and Technical College, Inner Mongolia Agricultural University, Baotou, Inner Mongolia 014109; 2. College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642)

Abstract: Orchid plant mostly has a unique-sophisticated-diverse flower structure and has a variety of ways to attract pollinators. The ultrastructure of the sepals, side flaps and labial lobes of *Cymbidium sinense* was contrastively studied by transmission electron microscopy (TEM) to investigate the relationship between pollination and insect pollination. The results showed that the plastids and the mitochondria of *Cymbidium sinense* were more developed in the sepal than in the petal. The number of plastid plastids in the sepal was greater than it in petal. And a part of the plastid were developed in the form of amyloplast and proteinoplast. The number of plastid in lip was few. The inner membrane of mitochondrial was underdeveloped. In the process of pollination, aroma was released strongly in sepals and petals to attract pollinators, whereas lip provided a place for pollinators.

Keywords: pollination behavior; floral; aroma