

**Analiza porównawcza kwiatowych struktur wydzielniczych u wybranych gatunków
Orchidaceae Juss. i Apocynaceae Juss. wabiących muchówki (Diptera)
mgr Natalia Wiśniewska**

Różnorodne cechy i struktury kwiatowe wykształciły się na skutek presji zwierząt zapylających. Kwiaty zapylane przez muchówki (Diptera) upodobniają się do ich źródeł pokarmu lub do miejsc składania przez nie jaj poprzez ciemną barwę, kształt i teksturę kwiatów. Kwiaty sapromiofilne na ogół nie oferują nektaru dla owadów zapylających. Głównym atraktantem jest zapach gnijących owoców, padliny czy ekskrementów wydzielany przez osmofory, które często są zlokalizowane na ruchomych elementach okwiatu.

W niniejszej pracy doktorskiej opisano gatunki sapromiofilne z dwóch niespokrewnionych rodzin: Apocynaceae i Orchidaceae. Łączy je szereg adaptacji kwiatów, powstałych na skutek konwergencji. Za najważniejsze adaptacje uważa się wytwarzanie pyłkownic (zlepionych ziaren pyłku) oraz powstanie nowych organów w procesie synorganizacji: gynostemium u Orchidaceae i gynostegium u Apocynaceae [1, 2]. Gatunki Orchidaceae, podobnie jak Apocynaceae (według systemu APG IV), są zapylane głównie przez muchówki (Diptera), które pełniły rolę we wczesnym rozdziale roślin okrytozalążkowych [3, 4]. Do badań przedstawionych w niniejszej rozprawie doktorskiej zostały wybrane gatunki z obu rodzin: *Bulbophyllum echinolabium* J.J. Sm., *B. levanae* Ames i *B. nymphopolitanum* Kraenzl. z sekcji *Lepidorhiza* Schltr. (Orchidaceae) oraz *Echidnopsis cereiformis* Hook. f. i *Stapelia scitula* L.C. Leach (Apocynaceae). Do tej pory nieliczne gatunki z badanych rodzin poddano analizie histochemicznej, mikromorfologicznej i ultrastrukturalnej. Tylko u jednego sapromiofilnego gatunku stwierdzono wydzielanie nektaru [5], ale nie zostało to dotąd zweryfikowane. Brak opublikowanych wyników kompleksowych badań nad gatunkami zapylanymi przez muchówki, obejmujących analizę budowy struktur wydzielniczych, sposobu wydzielania oraz typu wydzielanych substancji. Szeroka analiza porównawcza różnych sapromiofilnych gatunków pozwoli lepiej zrozumieć przystosowania roślin do zapylania przez Diptera.

Celem niniejszej rozprawy doktorskiej była analiza cech kwiatowej tkanki wydzielniczej u wybranych gatunków Orchidaceae i Apocynaceae zapylanych przez muchówki.

Cele szczegółowe rozprawy obejmowały:

1. Charakterystykę kwiatowych struktur wydzielniczych oraz substancji wabiących potencjalne owady zapylające (analiza makro- i mikromorfologiczna, ultrastrukturalna).
2. Analizę histochemiczną: określenie jaki typ substancji (cukry, białka, lipidy, kwasy pektynowe / śluzy, dichlorofenole) jest wydzielany w kwiatach.
3. Analizę składu chemicznego wydzielanego zapachu i określenie profilu zapachowego wybranych gatunków.
4. Opisanie podobieństw i różnic w tkance wydzielniczej kwiatów pomiędzy wybranymi gatunkami z dwóch rodzin zapylanych przez muchówki.

Badania gatunków *Bulbophyllum* z sekcji *Lepidorhiza* wykazały, że struktury wydzielnicze są zlokalizowane w obrębie warżki oraz bocznych sepali (płatków zewnętrznego okółka okwiatu) [6, 7]. Struktury wydzielnicze różniły się typem (miodniki lub osmofory) oraz rodzajem wydzielanych substancji, nawet pomiędzy gatunkami w obrębie jednej sekcji. U *B. levanae* i *B. nymphopolitanum* szczyty bocznych sepali pełniły funkcje osmoforów. Z kolei u *B. echinolabium* część wierzchołkowa warżki (epichil) wydzielala intensywny zapach rozkładającego się mięsa pełniąc funkcję osmoforu, natomiast w części nasadowej warżki (hypochilu) był obecny miodnik. U Asclepiadoideae osmofory zostały opisane w płatkach korony [8]. Znaczne ilości białek, które zaobserwowano w kwiatach gatunków z badanych rodzin, są prawdopodobnie związane z wydzielanym przez kwiaty zapachem imitującym rozkład padliny. Woski [7] gromadzące się na powierzchni epidermy płatków, w połączeniu z prążkowanym urzeźbieniem kutykuli powodują odbicie promieni słonecznych, imitując w ten sposób błyszczącą powierzchnię padliny lub otwarte rany wabiące muchówki. Analiza histochemiczna tkanki wydzielniczej kwiatów *B. echinolabium* w połączeniu z badaniami chemicznymi wydzieliny warżki [7] potwierdziła obecność nektaru. Jest to kolejny dowód, że gatunki sapromiofilne mogą produkować nektar.

Wiele cech anatomicznych i ultrastrukturalnych tkanki wydzielniczej kwiatów jest wspólnych u obu badanych rodzin. Zarówno komórki doosiowej epidermy warżki u Orchidaceae, jak i komórki płatków korony u Apocynaceae wykazywały cechy typowe dla komórek aktywnych sekrecyjnie. U wszystkich zbadanych gatunków *Bulbophyllum*, w komórkach doosiowej epidermy warżki, między ścianą komórkową a protoplastem, występowały przestrzenie peryplazmatyczne, które różniły się wielkością pomiędzy gatunkami

[6, 7]. U *B. nymphopolitanum* przestrzenie te były niewielkie, natomiast wydzielina gromadziła się pod warstwą kutykuli na powierzchni ścian epidermy doosiowej. Z kolei u *B. levanae* wydzielanie następowało poprzez mikrokanały w kutykuli. Współwystępowanie przestrzeni oraz mikrokanałów nie zostało wcześniej odnotowane w rodzaju *Bulbophyllum*. Obecność przestrzeni peryplazmatycznych w komórkach doosiowej epidermy płatków korony opisano także u gatunków Apocynaceae [8]. Świadczy to o występowaniu podobieństw u gatunków sapromiofilnych z obu rodzin. Formowanie się przestrzeni peryplazmatycznych jest najprawdopodobniej związane z granulokrynowym typem wydzielania. Materiał wydzielniczy transportowany jest w pęcherzykach na zewnątrz protoplastu, gdzie gromadzi się w przestrzeniach peryplazmatycznych pod ścianą komórkową, a następnie, na skutek zwiększającego się ciśnienia w protoplaście, zostaje wydzielony na zewnątrz [9].

Zjawisko naśladowania (mimikry) może dotyczyć barwy kwiatów lub składu chemicznego ich zapachu. Może także występować korelacja między barwą a zapachem [10, 11]. Przedstawiciele sukulentów z rodziny Apocynaceae, podrodziny Asclepiadoideae, emitują zapach rozkładającego się mięsa, ryb, owoców i innych substancji organicznych, jak również ekskrementów czy uryny. Jürgens i współautorzy [11] wyróżnili cztery typy zapachowej mimikry, w zależności od dominującego związku zapachowego. Badania przeprowadzone na potrzeby niniejszej pracy miały na celu sprawdzenie, czy podobne profile zapachowe i korelacje można znaleźć u Orchidaceae. W tym celu wykonano analizę chemiczną zapachu kwiatów *B. echinolabium* [7]. Wykazano obecność związków chemicznych będących atraktantami muchówek. Niektóre z tych związków notowane były także w zapachu zwłok wołu, uryny i odchodów [12, 13]. Jest to dowód na mimetyzm zapachowy, który w połączeniu z szeregiem wizualnych przystosowań, takich jak barwa i wielkość kwiatów, błyszcząca warstwa wosku na powierzchni płatków imitująca rany, zapewnia sukces zapyłania *B. echinolabium*.

Porównanie wyników badań różnych gatunków z jednego rodzaju może być również wykorzystane w badaniach taksonomicznych. Badania morfologiczne i anatomiczne *B. levanae* i *B. nymphopolitanum* wykazały, że mimo wielu podobieństw, występują znaczne różnice w morfometrii płatków, budowie mikromorfologicznej oraz ultrastrukturalnej kwiatów tych gatunków [6].

Podsumowując, przedstawiony cykl publikacji poszerza wiedzę o gatunkach wabiących muchówki i pozwala na lepsze zrozumienie relacji kwiat-owad zapyłający. Przeprowadzone

badania pozwoliły scharakteryzować tkankę wydzielniczą kwiatów sapromiofilnych oraz określić rodzaj wydzielanych substancji. Przedstawione wyniki badań wraz z danymi literaturowymi wskazują na szereg podobieństw w obrębie gatunków z jednej rodziny. Stanowią również wstęp do poszerzenia analiz porównawczych pomiędzy dwiema oddalonymi filogenetycznie rodzinami roślin okrytonasiennych.

Literatura:

1. Endress PK (2006) Angiosperm Floral Evolution: Morphological Developmental Framework. In: Callow JA (Eds.) *Advances in Botanical Research* 44:1-61.
2. Endress PK (2016) Development and evolution of extreme synorganization in angiosperm flowers and diversity: a comparison of Apocynaceae and Orchidaceae. *Annals of Botany* 117:749-767. DOI:10.1093/aob/mcv119.
3. Endress PK (2001) The Flowers in Extant Basal Angiosperms and Inferences on Ancestral Flowers. *International Journal of Plant Sciences* 162:1111-1140. DOI:10.1086/321919.
4. Ollerton J (2017) Pollinator Diversity: Distribution, Ecological Function, and Conservation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 48:353-376. DOI:10.1146/annurev-ecolsys-110316-022919.
5. Bensusan K (2009) Taxonomy and conservation status of Moroccan stapeliads (Apocynaceae-Asclepiadoideae-Ceropegieae-Stapeliinae). *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, section Sciences de la Vie* 31:67-77.
6. **Wiśniewska N, Kowalkowska AK, Koziarzka-Kiskurno M, Krawczyńska AT, Bohdanowicz J (2018) Floral features of two species of *Bulbophyllum* section *Lepidorhiza* Schltr.: *B. levanae* Ames and *B. nymphopolitanum* Kraenzl. (Bulbophyllinae Schltr., Orchidaceae). *Protoplasma* 255:485-499. DOI:10.1007/s00709-017-1156-2.**
7. **Wiśniewska N, Lipińska MM, Gołębiowski M, Kowalkowska AK (2019) Labellum structure of *Bulbophyllum echinolabium* J.J. Sm. (section *Lepidorhiza* Schltr., *Bulbophyllinae* Schltr., Orchidaceae Juss.). *Protoplasma* 256:1185-1203. DOI:10.1007/s00709-019-01372-4.**

8. **Wiśniewska N, Gdaniec A, Kowalkowska AK (2021) Micromorphological, histochemical and ultrastructural analysis of flower secretory structures in two species pollinated by flies (Diptera) of Asclepiadoideae Burnett. *South African Journal of Botany* 137:60-67. DOI:10.1016/j.sajb.2020.10.007.**
9. Paiva EAS (2016) How do secretory products cross the plant cell wall to be released? A new hypothesis involving cyclic mechanical actions of the protoplast. *Annals of Botany* 117:533-540. DOI:10.1093/aob/mcw012.
10. Kite G, Hetterscheid W (1998) Inflorescence odours and pollinators of *Arum* and *Amorphophallus* (Araceae). In: Owens SJ, Rudall PJ (Eds.) *Reproductive Biology in Systematics, Conservation and Economic Botany. Royal Botanic Gardens, Kew*, pp. 295-315.
11. Jürgens A, Dötterl S, Meve U (2006) The chemical nature of fetid floral odours in stapeliads (Apocynaceae-Asclepiadoideae-Ceropegieae). *New Phytologist* 172:452-468. DOI:10.1111/j.1469-8137.2006.01845.x.
12. Gikonyo NK, Hassanali A, Njagi PGN, Gitu PM, Midiwo JO (2002) Odor composition of preferred (buffalo and ox) and nonpreferred (waterbuck) hosts of some savanna tsetse flies. *Journal of Chemical Ecology* 28:969-981. DOI:10.1023/A:1015205716921.
13. Wishart DS, Feunang YD, Marcu A, Guo AC, Liang K, Vázquez-Fresno R, Sajed T, Johnson D, Li C, Karu N, Sayeeda Z, Lo E, Assempour N, Berjanskii M, Singhal S, Arndt D, Liang Y, Badran H, Grant J, Serra-Cayuela A, Liu Y, Mandal R, Neveu V, Pon A, Knox C, Wilson M, Manach C, Scalbert A (2018) HMDB 4.0: the human metabolome database for 2018. *Nucleic Acids Research* 46:D608-D617. DOI:10.1093/nar/gkx1089.