Budowa nektarników pozakwiatowych wyki *Vicia* (L.) *Fabaceae*

MAŁGORZATA STPICZYŃSKA

Katedra Botaniki, Akademia Rolnicza w Lublinie, ul Akademicka 15, 20-950 Lublin
Stpiczyńska M. (Department of Botany, Agricultural University, Akademicka 15,
20-950 Lublin). Structure of the extrafloral nectaries of *Vicia* (L.) *Fabaceae*.

(Otrzymano: 30.X.2000)

Summary

Extrafloral nectaries on the abaxial surface of stipules were investigated in the *Vicia angustifolia*, *Vicia sativa*, *Vicia sepium* and *Vicia grandiflora*. In *V. angustifolia* nectaries were also located on the calyx surface. Nectaries were consisted of secretory hairs and 2-3 layers of subepidermal cells. Secretory hair was built of four cells of head, one stalk cell and basal cell. Head cells showed character of transfer cells because of walls ingrowths and dense cytoplasm with numerous mitochondria.

Key words: extrafloral nectaries, *Vicia*, *Fabaceae*

WSTĘP

Nektarniki pozakwiatowe są szeroko rozpowszechnione w świecie roślin. Można je spotkać zarówno u paproci (*Pteridium aquilinum*) jak i wielu przedstawicieli roślin nasiennych. Są one zwykle położone na organach wegetatywnych, a zapylacze nie korzystają z wydzielanego przez nie nektaru, tak więc nektarniki te nie mają bezpośredniego związku z procesem zapylenia. Niektóre gatunki z rodzaju *Vicia* mają zarówno nektarniki kwiatowe jak i pozakwiatowe, różniące się budową i składem cukrów w wydzielanym nektarze (Davis in., 1988).

Nektarniki pozakwiatowe najczęściej są związane ze strukturami liścia jak u *Pithecellobium macradenium*, *Ricinus communis*, *Acacia longifolia*, *Gossypium hirsutum*, w rodzaju *Cassia* czy *Passiflora* (E l i a s, 1983), lecz mogą również znajdować się w bezpośrednim sąsiedztwie kwiatów i kwiatostanów, jak to ma miejsce w przypadku *Euphorbia thymifolia* czy *Helichrysum*. Nektarniki pozakwiatowe występują również u roślin z rodziny motylkowatych. Na liściach i szypułkach kwiatowych znajdują się u *Vigna* (K o u, P a t e, 1985), zaś u niektórych przedstawicieli z rodzaju *Vicia* występują na odosiowej powierzchni przylistków. Ponadto u *Vicia angustifolia* znaleziono je także na powierzchni działek kielicha (K o p t u r, 1979).

Nektarniki pozakwiatowe prawdopodobnie wykształciły się w związku ze szczególnymi warunkami ekologicznymi, a pełnione przez nie funkcje są nadal przedmiotem wielu polemik. Dotychczas nie opisano przypadku ich konkurencyjności w stosunku do nektarników kwiatowych. Niektórzy badacze sądzą, że nektarniki pozakwiatowe mają na celu eliminację nadmiaru cukrów (C l a i r-M a c z u l a j t y s, B o r r y, 1983). Inni zaobserwowali wyraźny mutualistyczny związek między roślinami mającymi nektarniki pozakwiatowe oraz mrówkami. Owady te korzystając ze słodkiej wydzieliny jednocześnie odstraszały swą obecnością fitofagi, a nawet czynnie je atakują, przyczyniając się tym samym do zmniejszenia uszkodzeń organów roślin, lepszego ich wzrostu i zawiązywania nasion (B e n t l e y, 1976; B e c e r a i n., 1991; Y o u n g i n., 1997; G a u m e, M c K e y, 1998; F u e n t e, M a r g i n s, 1999). Podobne funkcje mogą pełnić również pajęczaki korzystające z wydzieliny nektarników pozakwiatowych (R u h r e n, H a n d e l, 1999).

Celem niniejszej pracy było zbadanie morfologii i anatomii nektarników pozakwiatowych wyki.

MATERIAŁ I METODY

Nektarniki pozakwiatowe badano u czterech gatunków wyki pospolicie występujących w Polsce południowo-wschodniej: wyki płotowej (*Vicia sepium* L.), wyki siewnej (*Vicia sativa* L.), wyki wąskolistnej (*Vicia angustifolia* L.), wyki brudnożółtej (*Vicia grandiflora* Scop.).

Do badań pobierano przylistki z aktywnymi wydzielniczo nektarnikami wyrastające z 4-5 węzła oraz działki kielicha *V. angustifolia*. Zebrany materiał został utrwalony w zbuforowanym 3% aldehydzie glutarowym przez 4 godz. w temperaturze pokojowej. Następnie po kilkakrotnym wypłukaniu w buforze fosforanowym (pH 6.8) przylistki poddano postfiksacji w 2% czterotlenku osmu przez 2 godz. w temperaturze ok. 0°C. Do obserwacji w scanningowym mikroskopie elektronowym (SEM) przylistki zostały odwodnione w szeregu etanolowym oraz acetonie i wysuszone w punkcie krytycznym CO₂. Po napyleniu złotem powierzchnia przylistków była obserwowana w mikroskopie TESLA BS-500, pod napięciem 25 kV.

Część utrwalonego i odwodnionego materiału zatopiono w żywicy epoksydowej Spurr i pokrojono na półcienkie i ultracienkie skrawki. Półcienkie skrawki do obserwacji w mikroskopie świetlnym (LM) zabarwiono 0.01% błękitem

toluidynowym, natomiast ultracienkie skrawki wykontrastowane octanem uranylu i cytrynianem ołowiu oglądano w transmisyjnym mikroskopie elektronowym (TEM) TESLA BS-340 pod napięciem 60 kV.

WYNIKI

Nektarniki pozakwiatowe badanych gatunków wyki znajdowały się na odosiowej powierzchni przylistków (Fot. 1 - 4). Przed rozpoczęciem sekrecji i w początkowej fazie wydzielniczej nektarniki były żółtozielone, lecz z czasem przybierały zabarwienie ciemnoczerwone do prawie czarnego. Wyjątkiem była *V. angustifolia*, gdzie najczęściej nektarniki zachowywały jasną barwę przez cały czas sekrecji. Nektarniki pozakwiatowe wyki utrzymywały znacznie dłużej swą aktywność wydzielniczą niż nektarniki kwiatowe. Nektar widoczny był już na przylistkach wyrastających w bezpośrednim sąsiedztwie pąków kwiatowych. Czynne nektarniki w szczytowych partiach pedu obserwowano także obok dojrzewających straków. Mrówki jako jedyne owady korzystały z ich wydzieliny.

Nektarnik o nerkowatym kształcie zajmował środkową, wklęsłą powierzchnię przylistka u wszystkich badanych gatunków wyki (Fot. 5 - 6). Pomimo nieznacznej asymetrii nektarniki zawsze rozwijały się na obu przylistkach. Ponadto skupienie czynnych włosków wydzielniczych zaobserwowano na trzech spośród pięciu działek kielicha *V. angustifolia* (Fot. 7).

Nektarniki pozakwiatowe badanych gatunków wyki, zarówno te na przylistkach jak i działkach kielicha zasadniczo nie różniły się swą budową. Powierzchnie ich pokrywały krótkie włoski gruczołowe o wysokości ok. 50 μm oraz dłuższe i weńsze od nich kilkukomórkowe włoski mechaniczne (Fot. 6, 7, 9), które najobficiej występowały u *V. sepium*. Włosek wydzielniczy zbudowany był z czterekomórkowej główki (komórki rozmieszczone w dwóch piętrach, po dwie w każdym), jednokomórkowej nóżki i komórki bazalnej, leżącej na poziomie epidermy (Fot. 9, 10). Charakter wydzielniczy wykazywały również 2-3 warstwy komórek położonych subepidermalnie (Fot. 8, 9). Cztery komórki tworzące główkę włoska wydzielniczego miały grube, celulozowe ściany zewnętrzne pokryte kutykulą. W kutykuli nie obserwowano porów lub pęknięć, chociaż w SEM na jej powierzchni można było zaobserwować uwypuklenia. Ściany zewnętrzne komórek główki tworzyły rozgałęzione wrostki do wnętrza komórek na głębokość 2-5 μm (Fot. 11), natomiast w ścianach pomiędzy sąsiadującymi komórkami główki występowały liczne plazmodesmy. Cytoplazma tych komórek oraz stosunkowo duże jądro intensywnie barwiły się błękitem toluidynowym, a zawartość niewielkich wakuol wybarwiała się na czarno pod wpływem OsO_4 , co może wskazywać na obecność garbników (Fot. 10, 11). Cytoplazma komórki nóżki słabo barwiła się błękitem toluidynowym, zaś w wakuoli nie stwierdzono zabarwienia wskazującego na występowanie garbników. Ściany zewnętrzne tej komórki były skutynizowane i pokryte grubą warstwą kutykuli, natomiast w cienkich ścianach poprzecznych graniczących z komórkami główki i komórką bazalną występowały plazmodesmy

i niewielkie proste wrostki. Komórki bazalne włosków wydzielniczych posiadały cytoplazmę barwiącą się podobnie do komórek główki, natomiast w cienkich, celulozowych ścianach komórkowych znajdowały się plazmodesmy utrzymujące ścisły kontakt z subepidermalnymi warstwami komórek. Antocyjany obserwowano we wszystkich komórkach nektarnika za wyjątkiem nóżki, natomiast nieliczne ziarna skrobi były widoczne w komórkach tuż pod tkankami nektarnika bezpośrednio sąsiadujących z wiązkami przewodzącymi, utworzonymi zarówno z elementów ksylemu jak i floemu (Fot. 8).

DYSKUSJA

Nektarniki pozakwiatowe na przylistkach wyki są położone, podobnie jak u bobu, na ich odosiowej powierzchni. Aktywne wydzielniczo nektarniki znajdowały się w sąsiedztwie pąków kwiatowych i kwiatów, natomiast w niższych partiach pędu były zwykle nieaktywne. Na bliskie sąsiedztwo kwiatów i nektarników pozakwiatowych zwrócili uwagę również E l i a s (1983); K u o, P a t e (1985); F a h n (1987). Większość komórek nektarnika wyki zawierała antocyjany, co wyraźnie kontrastowało powierzchnię wydzielniczą na tle całego przylistka. Barwniki te znajdowały się również w nektarnikach pozakwiatowych bobu (D a v i s i n., 1981), akacji (M a r g i n s o n i n., 1985), rącznika (B a k e r i n., 1978) i *Vigna* (K u o, P a t e, 1985). Barwne wskaźniki zapewne ułatwiają owadom lokalizację nektarników.

Nektarniki pozakwiatowe są bardzo zróżnicowane pod względem budowy, co stwarza duże trudności w ich klasyfikacji. U wyki, podobnie jak u bobu występują nektarniki trichomowe, których powierzchnia pokryta jest włoskami gruczołowymi. Jednakże nektarniki mogą się zupełnie nie odróżniać swą strukturą od sąsiednich tkanek np. nektarniki amorficzne znajdujące się na pąkach kwiatowych piwonii lub stanowić płaski, zagłębiony lub wypiętrzony fragment epidermy i subepidermalnej tkanki wydzielniczej (E l i a s, 1983).

Włoski wydzielnicze badanych gatunków wyki nie różniły się zasadniczo swoją budową. Sporadycznie tylko obserwowano różnicę w budowie główki pojedynczych włosków, np. tworzenie się dodatkowego piętra komórek czy redukcję liczby komórek w piętrze do jednej. Opisywane w literaturze włoski wydzielnicze bobu miały główkę zbudowaną z ośmiu komórek, po cztery w każdym piętrze (T a r k o w s k a i n., 1981).

Główkę włoska wydzielniczego wyki tworzyły typowe komórki transferowe, wyspecjalizowane w szybkim transporcie. Charakteryzowały się one znacznie powiększoną powierzchnią plazmolemy poprzez wytworzenie wrostków ścian do wnętrza komórek oraz gęstą cytoplazmą z licznymi mitochondriami. Najbardziej rozwinięte wrostki, w postaci długich labiryntów były w zewnętrznych ścianach komórek główki, a znacznie krótsze, proste znajdowały się w ścianach poprzecznych nóżki włoska wydzielniczego. Podobnie zlokalizowane były wrostki na ścianach komórek główki włosków wydzielniczych *Vigna* (K u o, P a t e, 1985), natomiast u *Vicia faba* (T a r k o w s k a i n., 1981) wrostki występowały na wszystkich ścianach komórek włoska wydzielniczego.

Rozmieszczenie plazmodesmów występujących bardzo licznie w ścianach komórek subepidermalnych, komórki bazalnej, komórki nóżki i w ścianach wewnętrznych komórek główki włoska wydzielniczego wskazywało na kierunek transportu prenektaru z wiązek przewodzących ku powierzchni komórek włosków wydzielniczych wyki. Barierą zapobiegającą wydostawaniu się prenektaru na powierzchnię komórek epidermy była obecność skutynizowanych warstw w ścianie i gruba warstwa kutykuli na jej powierzchni. Wydzielanie ostatecznie już zmodyfikowanego nektaru przez komórki główki włoska wydzielniczego odbywało się przypuszczalnie na drodze aktywnego transportu przez plazmoleme. Po przeforsowaniu ściany komórkowej nektar gromadził się pod kutykulą, która często odstawała od ściany komórkowej. U wyki nie dostrzeżono w niej porów ułatwiających ujście nektaru, występujących na przykład u *Abutilon* (Findlay, Mercer, 1971). Fahn (1979) uważa, że kutykula rozciągnięta pod wpływem nektaru jest cienka i przepuszczalna dla nektaru.

Według wielu autorów rozwój i budowa nektarników pozakwiatowych stanowią istotne cechy taksonomiczne na poziomie rodzaju lub gatunku, tak jak w przypadku *Cassia*, *Albizzia*, *Acacia* (Battacharyya, Maheshwari, 1971) lub niektórych przedstawicieli *Bignoniaceae* (Elias, 1983). Cecha ta jest również przydatna w rozpoznawaniu gatunków wyki, co uwzględniono w kluczu do oznaczania roślin (García, 1898).

LITERATURA

- Arumusagamy K., Inamadar I. A. 1988. A developmental study on the cyathial nectaries in *Euphorbia thymifolia*. Acta Soc. Bot. Pol. 57(2): 223-227.
- Baker D.A., Hall J.L., Thorpe J.R. 1978. A study of the extrafloral nectaries of *Ricinus communis*. New. Phytol. 81: 129-137.
- Becerra J.X., Venable D.L., Fiala B. 1991. The role of Ant-Homoptera mutualism in the evolution of extrafloral nectaries. Oikos 60 (1): 105-106.
- Bentley B. 1976. Plants bearing extrafloral nectaries and the associated ant community: inter habitat differences in the reduction of herbivore damage. Ecology 57: 815-820.
- Bhattacharyya B., Maheshwari J. 1971. Studies on extrafloral nectaries of the Leguminales I. Papilionaceae, with a discussion on the systematics of Leguminales. Proc. Indian Natl. Sci. Acad. Part B 37: 11-30.
- Clair-Maczulajtyś D., Borry G. 1983. Stalked extrafloral nectaries of *Ailanthus glandulosa*. Can. J. Bot. 61: 683-691.
- Davis A., Peterson R.L., Shuel R. 1988. Vasculature and ultrastructure of the floral and stipular nectaries of *Vicia faba* (Leguminosae). Can. J. Bot. 64: 2508-2516.
- Elias T.S. 1983. Extrafloral nectaries: Their structure and distribution. The Biology of nectaries, ed. Barbara Bentley and Thomas Elias, Columbia University Press, New York.
- Fahn A. 1979. Ultrastructure of nectaries in relation to nectar secretion. Amer. J. Bot. 66: 85-93.
- Fahn A. 1987. The extrafloral nectaries of *Sambucus nigra*. Ann. Bot. 60: 299-308.
- Findlay N., Mercer F. 1971. Nectar production in *Abutilon* I. Movement of nectar through cuticle. Austr. J. Biol. Sci. 24: 647-664.

- Fuente de la M., Marquis R. 1999. The role of ant-tended extrafloral nectaries in the protection and benefit of a Neotropical rainforest tree. *Oecologia* 118: 192-202.
- Garcke 1898. *Illustrierte Flora von Deutschland*. Verlagsbuchhandlung Paul Parey, Berlin.
- Gaume L., McKey D. 1998. Protection against herbivores of the myrmecophyte *Leonardoxa africana* (Baill.) Aubr. V.T3 by its principal ant inhabitant *Aphomyraxes*. *Comptes Rendus de l'Academie de Sciences/Sciences de La Vie* 321: 593-601.
- Koptur S. 1979. Facultative mutualism between weedy vetches bearing extrafloral nectaries and weedy ants in California. *Amer. J. Bot.* 66: 1016-1020.
- Kuo J., Pate J.S. 1985. The extrafloral nectaries of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.): I. Morphology, anatomy and fine structure. *Planta* 166: 15-27.
- Marginson R., Sedgley M., Knox R.B. 1985. Structure and histochemistry of extrafloral nectary of *Accacia terminalis* (Salisb.) Mac Bride (*Leguminosae, Mimosoideae*). *Protoplasma* 127: 21-30.
- Ruhren S., Handel S. 1999. Jumping spiders (*Salticidae*) enhance the seed production of a plant with extrafloral nectaries. *Oecologia* 119: 227-230.
- Tarkowska J., Zobel A., Maciak M. 1981. Development and transfer character of secretory glands in the broad bean (*Vicia faba*). *Acta Soc. Bot. Pol.* 50: 381-390.
- Young T., Stubblefield C., Isbell L. 1997. Ants on swollen-thorn acacias: species coexistence in a simple system. *Oecologia* 109: 98-107.

SPIS ILUSTRACJI

Tablica I (Fig. 1-7). Morfologia nektarników pozakwiatowych

Table I. (Fig.1-7). Morphology of the extrafloral nectaries

Fig. 1. Nektarnik na przylistku *Vicia angustifolia*

Fig. 1. Nectary on stipule of *Vicia angustifolia*

Fig. 2. Nektarnik na przylistku *Vicia sativa*

Fig. 2. Nectary on stipule of *Vicia sativa*

Fig. 3. Nektarnik na przylistku *Vicia sepium*

Fig. 3. Nectary on stipule of *Vicia sepium*

Fig. 4. Nektarnik na przylistku *Vicia grandiflora*

Fig. 4. Nectary on stipule of *Vicia grandiflora*

Fig. 5. Przylistek z nektarnikiem pozakwiatowym *V. sepium*, powierzchnia nektarnika pokryta włoskami wydzielniczymi i licznymi włoskami mechanicznymi.

Fig. 5. Stipule with extrafloral nectary of *V. sepium*, secretory surface covered with secretory hairs and numerous mechanical hairs) SEM, x 65.

Fig. 6. Powierzchnia wydzielnicza na przylistku *V. sativa*

Fig. 6. Secretory surface on the stipule of *V. sativa* SEM, x 290.

Fig. 7. Skupienie włosków wydzielniczych i włosków mechanicznych na działce kielicha *V. angustifolia*

Fig. 7. Conglomeration of the secretory hairs and mechanical hairs on the surface of *V. angustifolia* calyx SEM, x 370.

Tablica II. (Fig. 8-11). Anatomia i ultrastruktura nektarników pozakwiatowych

Table II. (Fig. 8-11). Anatomy and ultrastructure of the extrafloral nectaries

Fig. 8. Przekrój poprzeczny przylistka *V. grandiflora* z warstwą włosków wydzielniczych i mechanicznych, subepidermalną warstwą wydzielniczą i wiązką przewodzącą

Fig. 8. Cross-section of *V. grandiflora* stipule with layer of secretory hairs and mechanical hairs, subepidermal secretory layer and vascular bundle LM, x 40

Fig. 9. Włosek wydzielniczy *V. sativa* z czterekomórkową główką, komórką nóżki i komórką bazalną

Fig. 9. Secretory hair of *V. sativa* with four cells of head, stalk cell and basal cell LM, x 60

Fig. 10. Przekrój poprzeczny przez główki włosków wydzielniczych *V. sativa*

Fig. 10. Cross-section of the heads of secretory hairs of *V. sativa* LM, x 60

Fig. 11. Przekrój podłużny przez główkę włoska wydzielniczego. Widoczne wrostki ścian zewnętrznych do wnętrza komórek (strzałka) i ciemna zawartość wakuoli

Fig. 11. Longitudinal section of the head of secretory hair. Visible wall ingrowths in the external walls (arrow) and dark content of the vacuoles TEM, x 4000

Oznaczenia:

N – nektarnik,

H – główka włoska wydzielniczego,

St – komórka nóżki, B – komórka bazalna,

Sl – subepidermalna warstwa wydzielnicza,

VB – wiązka przewodząca,

V – wakuola.

Notations:

N – nectary,

H – head of secretory hair,

St – stalk cell,

B – basal cell,

Sl – subepidermal secretory layer,

VB – vascular bundle,

V – vacuole

Budowa nektarników pozakwiatowych wyki *Vicia* (L.) *Fabaceae*

Streszczenie

Nektarniki pozakwiatowe badano u czterech gatunków wyki: *Vicia angustifolia*, *Vicia sativa*, *Vicia sepium* i *Vicia grandiflora*. Pierwszy z wymienionych gatunków miał również nektarniki na działkach kielicha. Nektarnik tworzyła warstwa włosków wydzielniczych i 2-3 warstwy komórek położonych subepidermalnie. Włosek wydzielniczy zbudowany był z czterekomórkowej główki, jednokomórkowej nóżki i komórki bazalnej. Komórki główki włoska wydzielniczego miały typowy charakter transferowy z powodu licznych wrostków ścian oraz gęstych protoplastów z licznymi mitochondriami.

Tablica I (Ryc. 1-7)

Table I. (Fig.1-7)

Tablica II. (Ryc. 8-11)

Table II. (Fig. 8-11)