

# 荔枝花蜜腺的结构发育特点及其生物学意义

宁熙平 吴 鸿\*

(华南农业大学药用植物研究中心 广州 510642)

## The structural and developmental characteristics of floral nectaries of *Litchi chinensis* and their biological significance

NING Xi-Ping WU Hong\*

(Center for Medicinal Plant Research, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract** Floral nectaries attract insect pollinators through secreted nectar. The structure and the size of floral nectaries are determining factors of the quantity and concentration of the nectar produced, which may consequently influence the patterns of insect visitation. In this study, we examined the structural and developmental characteristics of the floral nectaries of *Litchi chinensis* of “Nuomici” and “Feizixiao”. In two variety of *L. chinensis*, the floral nectaries of both functional male and female flowers are located between the cup-shaped calyx and the ovary. These floral nectaries are typical structural nectaries, formed as protrusions on the surface of flower receptacles, and at the mature stage, they are composed of epidermis, nectariferous tissue, and vascular tissue containing only phloem elements. The epidermis of the floral nectaries is covered with numerous epidermal hairs, with sporadic stomata distributed on the top surface of the nectaries. Before the nectaries start to secrete nectar, the nectariferous tissues are filled with numerous starch grains, which display regular changes before, during, and after nectar secretion. The nectariferous tissue contains two cell types of different morphological characteristics. These cell types presumably have different functions, either for nectar synthesis, or for protecting nectaries from damage by phenolic compounds. The primordia of these nectaries initiate during floral organ differentiation, and its development coincides with the formation of microspores and macrospores in the male and female flowers, respectively. Based on these structural and developmental characteristics, we discussed the ontogeny and phylogeny of the floral nectaries in *L. chinensis* and possible evolutionary adaptation of nectaries for effective attraction of insect pollinators.

**Key words** *Litchi chinensis*, floral nectary, morphology development, pollination.

**摘要** 荔枝 *Litchi chinensis* 花蜜腺通过分泌蜜汁吸引传粉昆虫。蜜腺的结构和大小决定了蜜汁的数量和浓度, 后两者又必然影响昆虫的访花模式。本文研究了“糯米糍”和“妃子笑”荔枝花蜜腺的结构和发育特点。两个品种的雌、雄性功能花蜜腺都位于杯状的花萼和具柄的子房之间及花丝周围的花托表面, 向上隆起, 形成发达突起的花盘蜜腺。成熟蜜腺结构上包含表皮、泌蜜组织和仅由韧皮部构成的维管组织, 属于典型的结构蜜腺。蜜腺表皮具多数发达角质化细胞壁的单细胞表皮毛, 表皮细胞外切向壁具厚的角质层。蜜腺顶端区具少数小的气孔器。泌蜜前, 泌蜜组织细胞具大量的淀粉, 且在泌蜜前后表现出动态的消长变化。泌蜜组织中具有两种不同形态特征的细胞分化, 推测其分别与蜜汁的合成和

2005-07-01 收稿, 2006-02-28 收修改稿。

基金项目: 华南农业大学校长基金资助(4600-K04050) (Supported by the President's Scientific Research Foundation of South China Agricultural University)。

\* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: wh@scau.edu.cn; Tel.: 020-85288393)。

蜜腺组织损伤褐变的保护功能有关。雌、雄性功能花花蜜腺都是在花的其他结构基本分化完成后才开始分化发育的,蜜腺的发育与大、小孢子的发育具有一定的协同性和相关性。依据蜜腺分化和发育过程的特征,对荔枝花蜜腺在起源和系统发育上的特点进行了探讨。

关键词 荔枝;花蜜腺;形态发育;传粉

蜜腺是普遍存在于植物体上的一种分泌结构,其分泌的蜜汁具有吸引传粉生物采食引发传粉效应,或吸引蚂蚁采食保护植物不受食草动物的侵害及防止微生物侵入等功能(Pacini et al., 2003; Thornburg et al., 2003)。花蜜腺存在于植物的花中,主要功能是以蜜汁为诱物和报酬,吸引传粉昆虫采食,从而达到传粉的目的。

荔枝 *Litchi chinensis* Sonn. 为无患子科 Sapindaceae 荔枝属 *Litchi* Sonn. 植物,是我国亚热带地区的优质果品,种植面积已达  $58 \text{万} \text{hm}^2$ , 因其具有极佳的风味和口感而被誉为岭南佳果,并已成为我国第四大水果。此外,荔枝也是一种优良的蜜源植物,荔枝蜜清甜爽口,味道清香,属上等蜂蜜。但长期以来,荔枝果树在生产上存在着“花而不实”、落花落果严重、产量不稳、坐果易受自然条件影响和有明显的大小年之分等现象,而其中很大程度上是由于授粉不佳所致(黄昌贤等, 1984)。据报道,蜜汁作为昆虫访花的主要诱物和报酬,在虫媒植物的传粉系统和交配系统中具有重要作用(Pyke, 1991; Huang & Guo, 2000)。荔枝具有雄花( $M_1$ )、雌性功能花(F)和作为雄花的不完全两性花( $M_2$ ) 3种属性的花(Butcher, 1957; Scholefield, 1982; Stern & Gazit, 1996),不同属性的花在其传粉系统和繁育系统中的作用非常值得探讨。虽然前人对荔枝的不同属性花的开花生物学、授粉率和蜜蜂的传粉效率及泌蜜规律进行了研究(黄昌贤等, 1984; Stern & Gazit, 1996; 李江红等, 2000),同时也对其花蜜腺的发育和结构进行了初步观察(肖木珠, 2004),但由于采用石蜡切片的实验技术不能较好地显示荔枝花蜜腺的组织学和细胞学特征,也未对蜜汁的来源和不同性功能花的花蜜腺结构与蜜汁分泌的关系进行探讨。因此,本文采用了薄切片技术和组织化学的方法对荔枝不同性功能花花蜜腺的结构、发育过程及其蜜汁分泌特点进行了研究,基本掌握了荔枝花蜜腺的结构、发育和形态建成规律,特别是通过了解泌蜜前后多糖的动态变化,探讨了荔枝花蜜腺蜜汁产生和分泌的方式,了解了蜜腺的结构与蜜汁合成分泌的关系及雌、雄性功能花花蜜腺的形态结构特征对昆虫访花模式的影响。该研究可为进一步开展传粉生物学以及提高果树的授粉率和坐果率研究提供基础资料。

## 1 材料和方法

研究用材料分别于2003年3月–2005年5月采自华南农业大学园艺系果园和广东省东莞市农业科学研究中心的“糯米糍”和“妃子笑”2个荔枝主要栽培品种。

### 1.1 薄切片材料固定和制片

本研究采用两种固定方法:(1)在花期,每隔5–6天以花序或花为单位用FAA(50%酒精配制)固定,酒精系列脱水,环氧树脂包埋;(2)同期采集花后,将蜜腺组织立即在4%的戊二醛中分割成0.5–1 mm的小块,然后在4%的戊二醛中(4 )固定过夜,随后在1%的锇

酸中固定3 h, 脱水后环氧树脂包埋。两种固定方法制成的材料均用奥地利卫永(Reichert-Jung)超薄切片机切片, 切片厚度1.5  $\mu\text{m}$ 。

薄切片的一般组织学观察采用甲苯胺蓝、PAS-甲苯胺蓝对染及铁钒苏木精等方法(徐丽云, 胡适宜, 1986)染色。

## 1.2 组织化学染色

PAS反应显示多糖、考马斯亮蓝染色显示蛋白质、苏丹黑和苏丹IV染色显示脂类(胡适宜, 徐丽云, 1990)。为观察花蜜腺中的酚类物质的存在和分布, 还对新鲜花蜜腺材料进行冰冻切片, 并用Hoepfner-Vorsatz法显示组织内的酚类物质(Reeve, 1951)。

所有切片均在Leica生物显微镜和Motic数码照相系统下观察照相。

## 1.3 扫描电镜观察

对FAA固定的材料, 经酒精系列脱水, 临界点干燥, 喷金后在FEI-XL30环境扫描电镜下进行观察拍照。

## 1.4 雌、雄性功能花蜜腺蜜汁分泌量和蜜汁糖分浓度的测定

为了进一步了解雌、雄性功能花蜜腺的结构、大小与蜜汁分泌量和浓度的关系, 对“糯米糍”和“妃子笑”的不同植株的雌、雄性功能花蜜腺在不同时间蜜汁的分泌量和糖分浓度进行了测量。由于荔枝的雄花( $M_1$ )在其传粉系统中不具有重要的作用(Stern & Gazit, 1996), 因而本研究中主要测量雌性功能花(F)和作为雄花的不完全两性花( $M_2$ )的蜜汁分泌量和蜜汁浓度。蜜汁分泌量测定采用毛细管法(Dafni, 1992), 在2005年3月到2005年5月间, 对盛花期套网袋隔离昆虫的上述两个品种的10年树龄的两种类型花的花蜜汁分3次进行收集测量, 每株取5朵花, 共取4~5株, 分别测量每朵花的蜜汁量; 同时对每朵花蜜汁的糖分浓度用国产青羊牌手持糖度计分别进行测量, 糖分浓度折合成总的固体可溶性糖浓度(Dafni, 1992)。所得数据依照植株和时间分别进行记录分析。

## 1.5 “糯米糍”雌性功能花和雄性功能花的蜜蜂访花规律观察

为观察“糯米糍”雌性功能花和雄性功能花的花部特征对蜜蜂访花规律的影响, 在2005年4月15~27日之间, 分别于晴天上午10:00~11:00和中午13:00~14:00, 分3次分别观察记录5株雌盛花期(F)和5株雄盛花期( $M_2$ )果树在1 min内视野范围内的蜜蜂数量, 并进行统计。

## 2 观察结果

荔枝为聚伞圆锥花序, 顶生, 花小, 数量多, 虽然各种类型的花都存在两性器官的结构, 但由于荔枝具有二重雌雄异熟的性别表达特点, 因而可分别形成雄花( $M_1$ )、雌性功能花(F)和在功能上表现为雄花的不完全两性花( $M_2$ )。在整个花期中, 荔枝花的开放方式(“糯米糍”、“妃子笑”)一般为先开雄性花(3~4天), 再开雌性功能花(3~4天), 最后再开雄性功能花(3~4天)。荔枝的雄花( $M_1$ )具7~10个发育良好的雄蕊, 开花时花丝伸长展开呈放射状, 雌蕊则基本不发育, 但仍留有痕迹。荔枝作为雄花的不完全两性花( $M_2$ )具7~10个发育良好的雄蕊, 其雌蕊则呈现出不同程度的发育不完全, 在荔枝的繁育系统中, 雄花( $M_1$ )和雄性功能花( $M_2$ )主要作为花粉供体。而荔枝的雌性功能花(F)有发育完全的雌蕊,

在子房柄上着生着上位的2-3室子房,花柱顶端具2-3个分开的柱头,有发育不完全的7-10个雄蕊,开花时,其花丝不伸长或稍有伸长,花丝较短。荔枝花冠退化,花萼呈杯状,包于蜜腺的外方,由于雄花(M<sub>1</sub>)、雄性功能花(M<sub>2</sub>)和雌性功能花(F)都具发达程度不同的花蜜腺,同时在M<sub>1</sub>和M<sub>2</sub>中,以M<sub>2</sub>为主要的花粉供体(Stern & Gazit, 1996),加之M<sub>1</sub>和M<sub>2</sub>的花蜜腺形态结构基本相同,因而本文主要以研究M<sub>2</sub>和F花蜜腺的结构和发育为主。

## 2.1 荔枝雌性功能花花蜜腺的形态和发育

### 2.1.1 雌性功能花花蜜腺的形态结构

荔枝雌性功能花花蜜腺位于杯状的花萼和具子房柄的雌蕊之间的花托上,在发育不完全的雄蕊的花丝之间向上隆起,呈发达的盘状,属花盘蜜腺。扫描电镜和薄切片显示蜜腺表面具有厚的角质层并密被单细胞的表皮毛(图1, 5),表皮毛细胞壁较厚,亦具角质层,其外壁上具许多细小的颗粒状突起(照片未提供)。

蜜腺纵切面观察显示,蜜腺是由一层表皮和其下发达的泌蜜组织及分布于泌蜜组织内的只含韧皮部的维管组织构成(图3, 4)。蜜腺表皮细胞长方形或方形,排列紧密。在锆酸固定的蜜腺材料中,经PAS-甲苯胺蓝对染后,蜜腺顶端的表皮细胞和其下的一到多层细胞具较大的液泡,细胞质PAS反应阴性,内含为甲苯胺蓝染成深蓝色的团块状物或大的颗粒状物(图2),根据Hoepfner-Vorsatz反应,这些颗粒物应为酚类物质(照片未提供)。蜜腺顶端,具数个由两个保卫细胞构成的气孔器,保卫细胞内具大的为PAS反应染成紫红色的淀粉粒(图5)。泌蜜组织较为发达,细胞排列紧密,并呈现出明显的细胞学形态分化和分布区域的特化。除存在着大量与表皮细胞形态特征相同的集中连片或带状向顶分布的特化细胞(含酚类物质细胞)外,主要由大量的相对较小、排列紧密、细胞形态为多边形、具相对较浓厚细胞质的细胞构成。该种细胞细胞质PAS反应阳性、具有大小不同的液泡(图2-4),根据PAS反应的特征,其细胞质中应含有多糖类或糖脂类物质(芮菊生等, 1980)。来自子房柄和花托中的维管组织只具韧皮部的筛管分子成束进入蜜腺组织中,并在泌蜜组织中反复分支,成束状向顶分布。在泌蜜组织中,维管组织主要分布于含多糖类或糖脂类物质的小细胞之间,筛分子的细胞质也为PAS反应染成紫红色(图4),说明其内亦具有多糖类或糖脂类物质。在花蜜腺横切面上,亦可见大量集中成束分布的只含筛

→

图 1-8 荔枝雌性功能花花蜜腺的结构和发育 1-6. 盛花期花蜜腺的形态结构。2-5. 蜜腺纵切。6. 蜜腺横切。1. 示蜜腺形态和表面特征(去除了部分花萼和不发育雄蕊)的扫描电镜照片。2. 部分蜜腺放大, 示泌蜜组织的分化和特征。3. 示蜜腺结构。4. 示蜜腺内的维管组织。5. 示蜜腺顶端气孔器。6. 示蜜腺中维管组织的分布。7, 8. 花蕾早期, 纵切, 示蜜腺原基的形成。

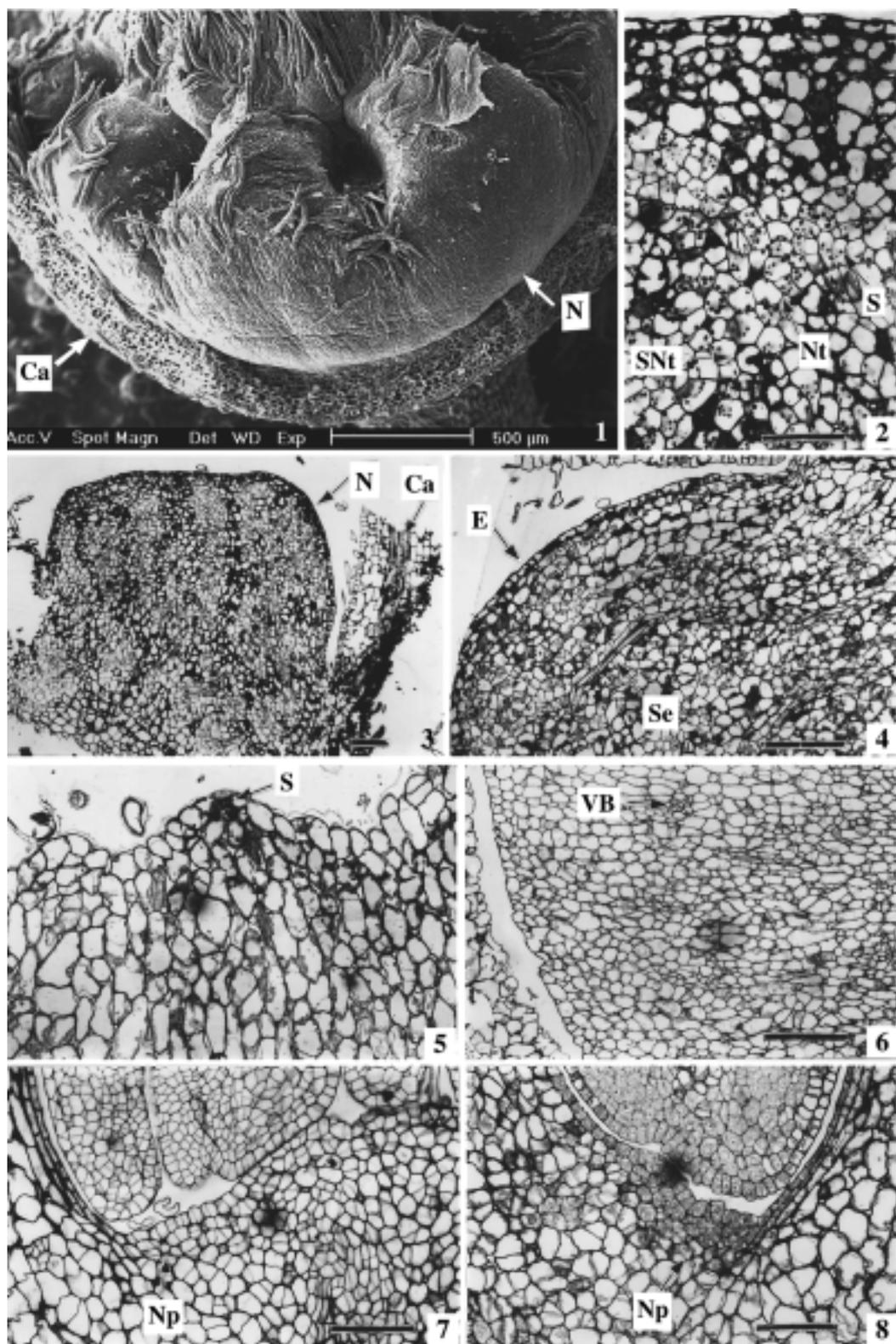
A, 雄蕊; Ca, 花萼; E, 表皮; Fi, 花丝; N, 蜜腺; Np, 蜜腺原基; Nt, 泌蜜组织; Re, 花托; S, 淀粉粒; Se, 筛分子; SNT, 特化的泌蜜组织细胞; St, 气孔; VB, 维管束。

标尺: 图 2, 5, 7, 8 为 50 μm; 3, 4, 6 为 100 μm。

**Figs. 1-8.** The structure and development of floral nectary in functional female flower of *Litchi chinensis*. 1-6. Morphology and structure of nectary at stage of flowering peak. 2-5. Longitudinal section of nectary. 6. Cross-sections of nectary. 1. Morphology and surface character of nectary under SEM (removing part of calyx and some sterile stamen). 2. Showing differentiation and character of nectariferous tissue. 3. Showing structure of nectary. 4. Showing vascular tissue in nectary. 5. Showing stomata at the top of nectary. 6. Showing the distribution of vascular tissue in nectary. 7, 8. Longitudinal section of early alabastrum, showing formation of nectarine's primordium.

A, anther; Ca, calyx; E, epidermis; Fi, filament; N, nectary; Np, nectarine's primordium; Nt, nectariferous tissue; Re, receptacle; S, starch grain; Se, sieve element; SNT, specialized nectariferous tissue cell; St, stomata; VB, vascular bundle.

Scale bar: 50 μm in Figs. 2, 5, 7, 8; 100 μm in Figs. 3, 4, 6.



管的维管组织(图6)。PAS反应显示,泌蜜组织细胞中有时可见少量小的染成红色的颗粒状物,为淀粉粒,可同时存在于上述两种不同形态的细胞中,但以细胞质中含多糖类或糖脂类物质的细胞中为多(图2,4)。

**2.1.2 雌性功能花花蜜腺的发育** 雌性功能花花蜜腺是在花的花萼、雄蕊和雌蕊已基本分化出来后才开始分化的。根据花发育过程的特点不同,将其分成如下几个时期。

(1)花蕾早期 此期花蕾较小,花蕾长1.2–1.5 mm,柱头尚未露出,与雄性功能花花蕾在外观上较难区别。此时花药正在进行花粉囊的分化,子房已基本形成,整个花蕾完全为花萼包被。在花萼和子房之间及锥形雄蕊周围的花托表皮和其下1–2层细胞染色较深,进行着旺盛的细胞分裂,即为蜜腺原基。蜜腺原基的表皮细胞只进行垂周分裂,而其下几层细胞可进行各向分裂,因而蜜腺原基逐渐突起(图7–9)。

(2)柱头露出期 此期花蕾长1.6–2.5 mm,柱头已露出花萼杯。此时蜜腺原基在外观上已突起膨大,原基细胞数量增加,且原基内已分化两种不同形态细胞;一种细胞明显的液泡化,其内具有为甲苯胺蓝染成深蓝色的团块状物,另一种细胞仅具有较小的液泡,整个细胞被PAS反应染成紫红色。表皮细胞具有大小不等的液泡,但其内尚未出现团块状或颗粒状物(图10)。

(3)花柱伸长期 此期花柱快速伸长,同时花蕾也迅速膨大至长2.6–3.5 mm。雄蕊也有一定程度的发育。蜜腺体积进一步增大,蜜腺突起进一步增加,蜜腺的泌蜜组织细胞层数进一步增多。具有大液泡的细胞液泡化程度进一步增加,而在小的含多糖类物质的细胞中,也出现了一定程度的液泡化,但其细胞质仍较浓厚,细胞质内已开始出现少量淀粉。蜜腺基部维管组织开始进入泌蜜组织中,泌蜜组织中开始出现维管组织的分化(图11)。

(4)柱头张开期(开花前期) 花蕾已非常膨大,两片或三片联合的柱头开始分开,同时雄蕊亦露出花萼杯。此时蜜腺中泌蜜组织PAS反应阳性细胞染色非常深,液泡与前一时期相比有所减小(图12)。同时在泌蜜组织细胞中出现大量淀粉粒,小的泌蜜组织细胞和大的特化细胞中都存在(图13)。维管组织已分化完成,且在蜜腺中由基部向顶部大量分支,非常发达(图12)。蜜腺顶端的气孔已完全分化,基部可见由花托和子房基部成束进入蜜腺的维管组织(图13,14)。

→

图9–15 荔枝雌性功能花花蜜腺的发育,花蕾或蜜腺纵切 9. 花蕾早期,示蜜腺原基的发育。10. 柱头露出期。11. 花柱伸长期。12–14. 柱头张开期。12. 示泌蜜组织特征。13. 示泌蜜组织中的淀粉粒。14. 示来自花托进入蜜腺的维管组织。15. 柱头萎缩期。16, 17. 盛花期荔枝雄性功能花花蜜腺的形态结构。16. 蜜腺扫描电镜照片(去除了部分花萼)。17. 蜜腺纵切,示蜜腺结构。

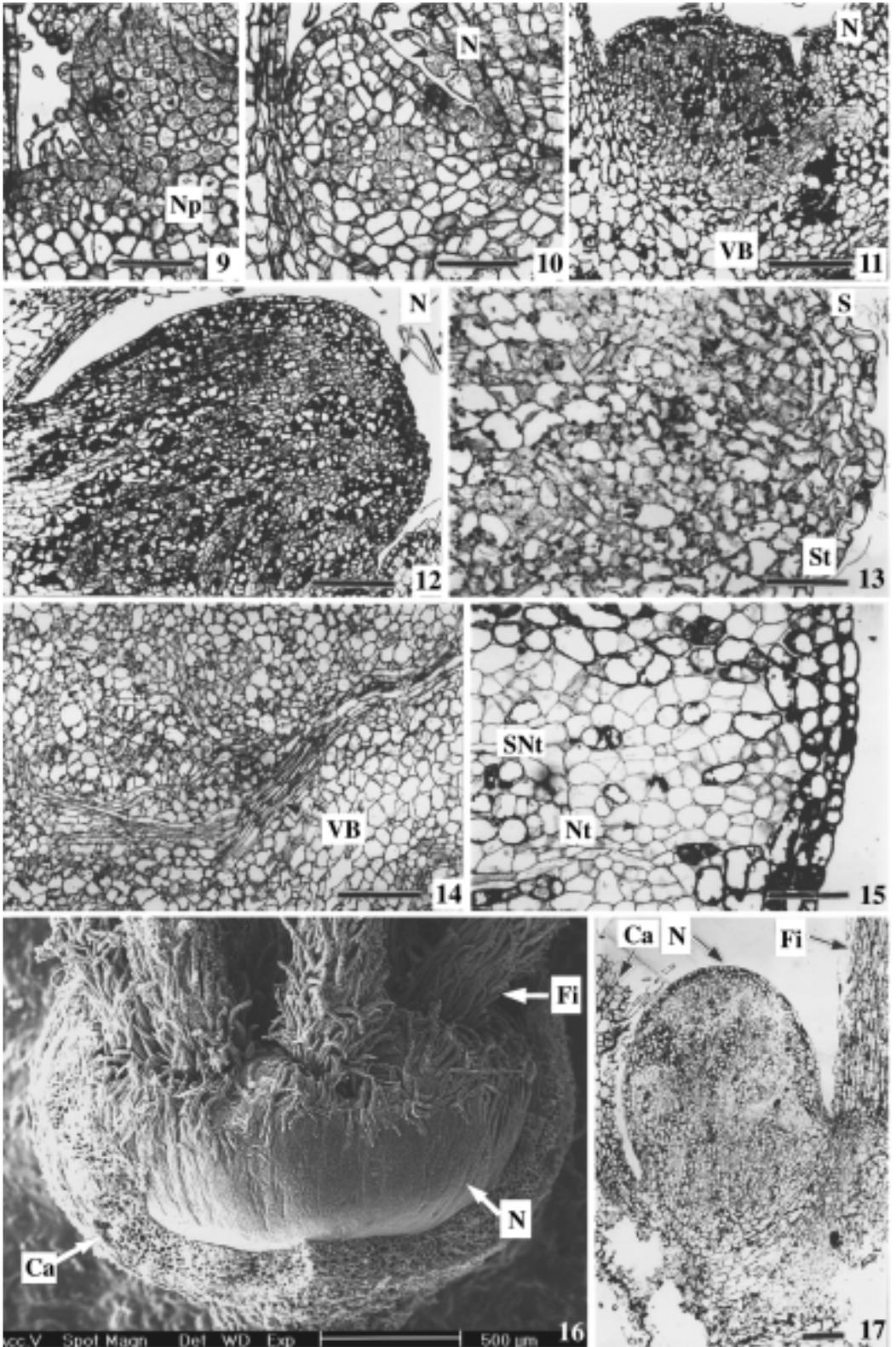
图中缩写见图1–8的说明。

标尺: 图9, 10, 13, 15 为 50 μm; 11, 12, 14, 17 为 100 μm。

**Figs. 9–15.** The development of floral nectary in functional female flower of *Litchi chinensis*, longitudinal section of alabastrum or nectary. 9. Early alabastrum, showing development of nectarine's primordium. 10. At the early stage of stigma outside calyx wrap. 11. At the stage of style elongation. 12–14. Nectary at the stage of style separation. 12. Showing character of nectariferous tissue. 13. Showing starch grains in nectariferous tissue. 14. Showing vascular tissue coming from receptacle and entering nectary. 15. At the stage of style atrophy. 16, 17. At the stage of flowering peak, showing morphology and structure of floral nectary in functional male flower of *L. chinensis*. 16. Nectary under SEM (removing part of calyx). 17. Longitudinal section, showing nectary structure.

Abbreviations are the same as in Figs. 1–8.

Scale bar: 50 μm in Figs. 9, 10, 13, 15; 100 μm in Figs. 11, 12, 14, 17.



(5)柱头展平期(盛花期) 此期柱头已完全展开,两柱头间形成 $180^\circ$ 夹角,柱头前端向下卷曲。雄蕊的花丝稍有伸长,呈辐射状张开。蜜腺表皮液泡化明显,液泡内出现团块状物或颗粒状物质,泌蜜组织中含两种形态的细胞,PAS反应阳性的小细胞液泡较前期明显增大,其内的淀粉粒数量有所减少;PAS反应阴性的特化细胞内,出现被甲苯胺蓝染成深蓝色的团块状物或颗粒状酚类物质(图2, 4),此时蜜汁以滴状聚集于蜜腺表面,且蜜汁分泌量达到最大。

(6)柱头萎缩期(花败期) 此期柱头变成褐色,随后枯萎。蜜汁停止分泌。蜜腺表皮细胞和泌蜜组织细胞中的特化细胞内具大液泡,两类细胞中内含物完全呈大的颗粒状;小的蜜腺泌蜜组织细胞已完全液泡化,其内的淀粉粒基本消失,但细胞质仍被PAS反应染成紫红色(图15)。

## 2.2 荔枝雄性功能花花蜜腺的形态结构和发育

荔枝雄性功能花花蜜腺的位置、形态和结构和雌性功能花花蜜腺基本相同,只是体积比后者要小,结构上亦不如后者发达(图16, 17)。

### 2.2.1 雄性功能花花蜜腺的形态结构

雄性功能花花蜜腺中同样含有具气孔的分泌表皮,且在钨酸固定的材料中,蜜腺顶部的表皮细胞及其下的1-3层细胞和泌蜜组织中的一些集中呈带状或片状分布的细胞中亦具有被甲苯胺蓝染成深蓝色的大颗粒状或团块状酚类物质。泌蜜组织中同样分布着被PAS反应着色的小细胞,其从蜜腺基部至顶部呈连片分布,泌蜜组织内亦含有淀粉粒。维管组织同样只具韧皮部,但由于雌蕊分化不完全,只有花托中的维管组织集中成束进入蜜腺,并在泌蜜组织中分散成束向顶分布,因而雄性功能花花蜜腺的维管组织不如雌性功能花花蜜腺发达(图18, 19)。

### 2.2.2 雄性功能花花蜜腺的发育

雄性功能花花蜜腺的发育与雌性功能花花蜜腺的发育过程基本相同,大致可分为如下几个时期。

(1)花蕾早期 此时花蕾长1-1.2 mm,花药已分化出花粉囊,子房尚未完全形成。此特征可与雌性功能花相区别。整个花蕾完全为花萼包被。蜜腺原基为位于花萼和雌蕊之间及雄蕊周围的花托表皮和其下的2-3层细胞构成,原基细胞染色深,液泡小,分裂旺盛。此时花粉囊的发育处于花粉母细胞时期(图20)。

(2)花药露出期 此时花蕾长1.3-2 mm,由于花丝的伸长,花药顶端已从花萼包被中露出,花蕾直径有所增大。此时花粉母细胞减数分裂已基本完成。蜜腺原基进一步突起

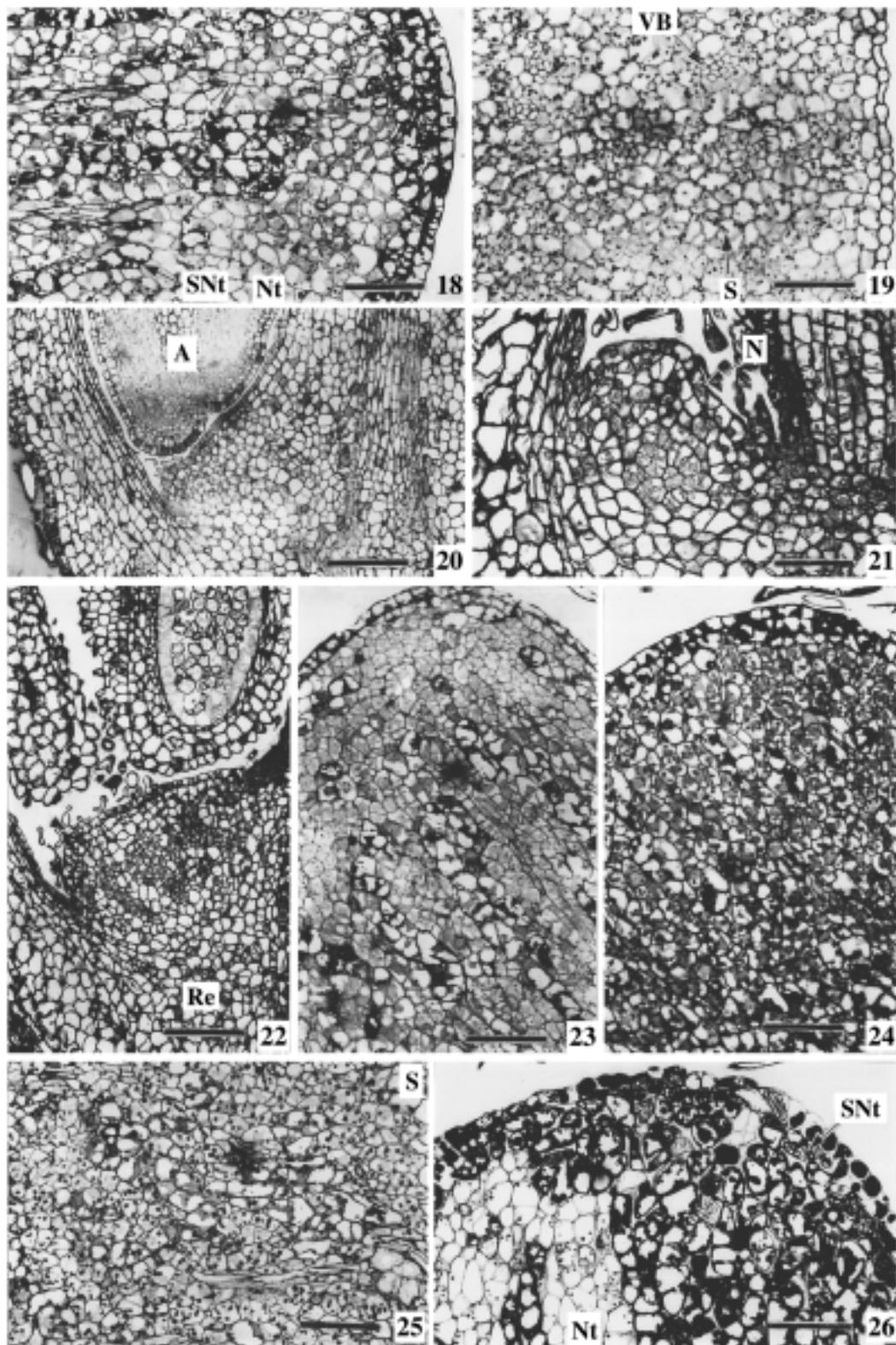
图 18-26 荔枝雄性功能花花蜜腺的结构和发育 18, 19. 盛花期蜜腺结构。18. 蜜腺纵切。19. 蜜腺横切。20-26. 蜜腺的发育, 均为花蕾或蜜腺纵切。20. 花蕾早期, 示蜜腺原基。21, 22. 花药露出期。23. 花药全露期。24, 25. 花丝伸长期。24. 示泌蜜组织特征。25. 示维管组织和泌蜜组织中的淀粉粒。26. 花败期。  
图中缩写见图 1-8 的说明。

标尺: 图 18, 19, 21, 23-26 为 50  $\mu\text{m}$ ; 20, 22 为 100  $\mu\text{m}$ 。

**Figs. 18-26.** The structure and development of floral nectary in functional male flower of *Litchi chinensis*. **18, 19.** Structure of nectary at the stage of flowering peak. **18.** Portions of longitudinal section of nectary. **19.** Portions of cross-sections of nectary. **20-26.** Development of nectary. Longitudinal section of alabastrum or nectary. **20.** Early alabastrum, showing nectarine's primordium. **21, 22.** At the early stage of anther outside calyx wrap. **23.** At the later stage of anther outside calyx wrap. **24, 25.** At the stage of filament elongation. **24.** Showing character of nectariferous tissue. **25.** Showing vascular tissue and starch grains in nectariferous tissue. **26.** At the stage of flower in abscission.

Abbreviations are the same as in Figs. 1-8.

Scale bar: 50  $\mu\text{m}$  in Figs. 18, 19, 21, 23-26; 100  $\mu\text{m}$  in Figs. 20, 22.



增大,泌蜜组织内已出现了较为明显的两种细胞分化:一种为较大的呈明显液泡化的细胞,另一种为具有浓厚细胞质的小细胞。此时的蜜腺组织中,尚未见维管组织的分化(图21, 22)。

(3)花药全露期 此期花蕾长2.1–3.2 mm, 由于花丝伸长,花药已全部从花萼包被中露出,花蕾直径进一步增大,花药内的小孢子已基本发育成熟,其内出现许多淀粉粒。此时蜜腺体积继续扩大,在纵切面上的突起进一步增加。蜜腺泌蜜组织中,两种细胞的分化已更加明显,成群连片分布的大细胞主要为甲苯胺蓝着色。而在小的PAS染色深的泌蜜组织细胞内已出现少量淀粉粒,蜜腺泌蜜组织内已开始出现维管组织的分化(图23)。

(4)花丝伸长期(开花前期) 此期花萼已完全张开,花丝迅速伸长,在杯状的花萼外露出较长。此时蜜腺已基本形成,具有发达的泌蜜组织。其细胞小,成片集中分布,PAS染色很深,内含大量的淀粉粒。分布在泌蜜组织中的具有大液泡的特化细胞,在甲苯胺蓝染色下,细胞质呈块状,着色很深。从蜜腺基部的花托组织中发出大量的只含韧皮部的维管组织,进入蜜腺后成束从基部向顶端延伸,最后到达表皮下的泌蜜组织中,这些维管组织主要分布于PAS染色深的小细胞之间(图24, 25)。

(5)盛花期(花丝伸长到最长,并呈放射状张开) 此时花的形态呈典型的辐射状,在较为干燥的大气环境中,花药纵裂,释放出花粉。蜜汁呈蜜滴状聚集于花丝间的蜜腺表面,在阳光下具有较强的反射,由于没有花冠遮挡,非常易于昆虫识别和采食。此期分泌表皮已完全液泡化,和下方的1–3层细胞内都具有甲苯胺蓝染成深蓝色的颗粒状酚类物质。泌蜜组织细胞也一定程度地液泡化,但仍被PAS反应染成红色,与表皮细胞及含被甲苯胺蓝染成深蓝色颗粒状或团块状酚类物质的细胞明显不同。此时泌蜜组织细胞中的淀粉粒已大大减少,有的已消失(图18, 19)。

(6)花败期(花药干缩期) 此期花粉已散布完毕,花药干缩变形,呈黄褐色,后期花药从花丝上脱落,整个花枯萎,蜜汁停止分泌,最后脱落。此期蜜腺泌蜜组织已完全液泡化,且许多细胞(尤其是蜜腺顶端的细胞)转变成内含大的颗粒状酚类物质的特化细胞。但PAS反应阳性的细胞中,还含有少量淀粉粒。维管组织在PAS反应染色下十分明显(图26)。

### 2.3 荔枝雌、雄性功能花花蜜腺在不同时间蜜汁的分泌量和糖分浓度

“糯米糍”和“妃子笑”两个荔枝品种的雌、雄性功能花花蜜腺都具有相对较大的蜜汁分泌量,但明显具有品种之间的差异,“糯米糍”的雌、雄性功能花花蜜腺的蜜汁分泌量要远大于“妃子笑”(表1)。在品种内荔枝雌、雄性功能花花蜜腺的分泌量具有较大的个体差异,统计发现“糯米糍”和“妃子笑”雌性功能花(F)花蜜腺的蜜汁分泌量要较雄性功能花(M<sub>2</sub>)花蜜腺的分泌量大,前者大4.2%–4.3%;而后者多达103%–216%(表1)。“糯米糍”雌、雄性功能花花蜜腺的蜜汁浓度在清晨时较低,差异不大,但以后由于蒸发其浓度逐渐增大(表2)。

### 2.4 “糯米糍”雌性功能花和雄性功能花的蜜蜂访花规律观察

晴天早晨11:00以前单株雄性功能花(M<sub>2</sub>)具有较高的蜜蜂访花率,而下午13:00后单株雌性功能花(F)具有较高的蜜蜂访花率(图27)。

表1 “糯米糍”和“妃子笑”雌性功能花(F)和雄性功能花(M<sub>2</sub>)花蜜腺的蜜汁分泌量和糖分浓度对比

**Table 1** The comparison of nectar volume and nectar sugar concentration level secreted by floral nectaries of functional female flower (F) and functional male flower (M<sub>2</sub>) in “Nuomici” and “Feizixiao” (mean ± sd)

品种 Breed	日期 Date	雌性功能花(F)蜜汁糖分浓度 Nectar sugar level in floral nectary of functional female flower (F) (% TSS <sup>1)</sup> )		雄性功能花(M <sub>2</sub> )蜜汁糖分浓度 Nectar sugar level in floral nectary of functional male flower (M <sub>2</sub> ) (% TSS)			
		蜜汁分泌量(μL/花) Nectar volume (μL/flower)		蜜汁糖分浓度 Nectar sugar level (% TSS)	蜜汁分泌量(μL/花) Nectar volume (μL/flower)		蜜汁糖分浓度 Nectar sugar level (% TSS)
		7:30– 12:00	13:00– 18:00	7:30– 12:00	7:30– 12:00	13:00– 18:00	7:30– 12:00
糯米糍 Nuomici	April 16	3.9±1.5 (n=19)	–	53.3±10.1 (n=21)	3.8±1.2 (n=26)	–	34.7±12.3 (n=26)
	April 24	9.3±7.4 (n=19)	–	–	9.0±4.6 (n=20)	–	–
妃子笑 Feizixiao	March 20	0.8±0.5 (n=23)	0.6±0.4 (n=21)	–	0.3±0.3 (n=17)	0.4±0.4 (n=19)	–
	March 21	2.5±1.8 (n=22)	–	–	1.2±0.5 (n=20)	–	–
	March 27	4.8±2.7 (n=24)	–	–	1.5±1.1 (n=23)	–	–

1) TSS, 总可溶性固形物含量 total soluble solids.

表2 “糯米糍”雌性功能花(F)和雄性功能花(M<sub>2</sub>)花蜜腺在不同时间的蜜汁糖分浓度对比

**Table 2** Temporal variation of nectar sugar level (determined as TSS with a refractometer) secreted by the floral nectaries of functional female flower (F) and functional male flower (M<sub>2</sub>) of “Nuomici” (mean ± sd)

	雌性功能花(F)花蜜腺 Floral nectary of functional female flower (F)		雄性功能花(M <sub>2</sub> )花蜜腺 Floral nectary of functional male flower (M <sub>2</sub> )
	April 15		April 23
	April 15	April 24	April 23
7:30 – 9:00	–	7.2±1.8 (n=22)	7.2±2.2 (n=21)
9:00 – 10:30	26.0±17.5 (n=20)	–	–
11:00 – 12:30	–	–	41.5±15.5 (n=20)
13:20 – 15:00	–	36.1±12.1 (n=6)	–
17:50 – 18:30	68.9±2.2 (n=10)	–	–

### 3 讨论

#### 3.1 荔枝雌、雄性功能花花蜜腺的形态结构和大小决定了蜜汁产生和分泌的数量

荔枝的雌、雄性功能花花蜜腺位于花萼和子房之间, 都是由花托突起形成的, 整个蜜腺呈花盘状, 属典型的花托形成的花盘蜜腺(Fahn, 1979)。蜜腺具有表皮、发达的泌蜜组织和只含韧皮部的维管束, 是典型的结构蜜腺(Fahn, 1979)。前人研究发现, 蜜汁的来源可以有两种途径。一种是由韧皮部运输至蜜腺的前蜜汁, 经泌蜜组织细胞加工后分泌出表皮之外, 但韧皮部运输来的碳水化合物亦可先以淀粉粒的方式储藏起来, 在开花前再水解放出, 此种蜜腺一般分泌量较大, 但分泌时间较短(Durkee et al., 1981; Nepi et al., 1996; Sawidis, 1998; Razem & Davis, 1999)。另一种是蜜腺本身含有叶绿体, 可自身合成碳水化合物, 并以淀粉粒的方式储存起来, 该种蜜腺内一般没有维管组织, 其蜜汁分泌量相对较少, 但分泌持续时间较长(Pacini et al., 2003)。荔枝雌、雄性功能花花蜜腺中都具有发达的只含韧皮部的维管组织, 且它们的蜜汁分泌量较大(表1), 因而其前蜜汁应主

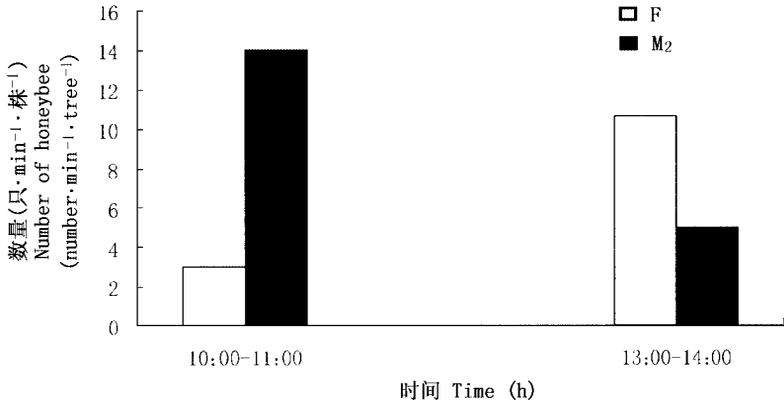


图 27 不同时间蜜蜂对“糯米糍”雌性功能花(F)植株和雄性功能花(M<sub>2</sub>)植株的单株平均访花量(n=5)

Fig. 27. At different time mean number of honeybee visiting on functional female flower (F) and functional male flower (M<sub>2</sub>) in per tree of “Nuomici” (n=5).

要来自维管组织的韧皮部汁液,但由于蜜腺泌蜜组织中在开花前也储存了相当数量的淀粉,并且在开花后,淀粉数量逐渐减少,因而这些淀粉也可能在一定程度上参与了蜜汁的合成。但观察发现,有时盛花期和花败期的雌、雄性功能花花蜜腺的泌蜜组织中仍含有少量淀粉,说明淀粉粒水解是缓慢和渐进的,因而淀粉参与形成蜜汁的量十分有限,但其形成的蜜汁分泌时间却可能相对较长。

蜜汁的分泌量取决于蜜腺组织的结构及其发达程度(Pacini et al., 2003; Galetto et al., 2004)。“糯米糍”的雌、雄性功能花花蜜腺具有较“妃子笑”高的蜜汁分泌量是与其蜜腺体积的大小和发达程度密切相关的。“糯米糍”的雌、雄性功能花的体积都较“妃子笑”大,且具有比“妃子笑”花蜜腺体积大得多、结构更发达的蜜腺组织(图1, 16),因而前者蜜汁的分泌量是后者的2-5倍(表1)。由于前者可为传粉者提供更多的诱物和报酬,因而可吸引更多的传粉昆虫。

### 3.2 荔枝雌、雄性功能花花蜜腺泌蜜组织内部结构的特化与其功能的分化相一致

在用戊二醛和锇酸固定,甲苯胺蓝-PAS对染的花蜜腺切片中,蜜腺表皮和泌蜜组织中可清楚地显示存在两种不同形态细胞的分化(图3, 18),而用FAA固定的石蜡切片和薄切片不能显示出这两种细胞在形态结构和分布位置上的不同,因而单凭FAA固定的制片,难以准确地了解泌蜜组织的细胞学特征和判断蜜汁的合成和分泌过程。根据实验结果推断,泌蜜组织中的两种细胞可能分别具有不同的功能。PAS反应阳性的小细胞在泌蜜前细胞质非常浓厚,液泡小, PAS反应染色非常深,具有较多的淀粉粒。而泌蜜后,其细胞质PAS反应染色变淡,液泡体积明显增大,淀粉粒的数量明显减少,以致最后消失。根据细胞形态和PAS反应的结果,说明在泌蜜前后这些细胞中存在着液泡体积和淀粉粒数量的动态变化,而这种变化在许多植物的花蜜腺中已作为液泡和淀粉参与蜜汁合成和分泌的证据之一(Rachmilevitz, 1973; Durkee, 1983)。同时,这些PAS反应阳性的小细胞细胞质中含有的多糖或糖脂类物质在泌蜜前后也出现动态变化,而泌蜜组织中向蜜腺顶部延伸

的韧皮部主要分布在这些小细胞之间, 并也含有多糖或糖脂类物质, 进一步证明这些细胞主要参与了蜜汁的合成、转运和分泌过程。

具有甲苯胺蓝染成深蓝色的团块状和颗粒状物的细胞, 主要为构成蜜腺顶部的表皮细胞和其下的一些细胞, 并在蜜腺泌蜜组织中集中成片状或带状分布。在蜜腺发育的后期, 在蜜腺顶端的表皮细胞下这类细胞非常发达, 可达3-5层之多, 该种细胞在蜜腺发育过程中形态也出现一定的变化。在蜜腺发育早期, 该种细胞一定程度液泡化, 细胞内具有为甲苯胺蓝染成深蓝色的团块状物, 到蜜腺发育成熟后, 这些细胞具中央大液泡, 在液泡膜周围分布着一些甲苯胺蓝染成深蓝色的大颗粒状或粉末状物, 这种细胞在蜜腺周围的花托和花萼中都有大量的分布, 通过Hoepfner-Vorsatz法染色, 发现在蜜腺的基部和顶部以及中部的泌蜜组织中都有染成红褐色的含酚类物质的细胞存在(照片未提供), 其与薄切片中显示的为甲苯胺蓝染成深蓝色的特异细胞的分布位置完全吻合。推测这种特异细胞在液泡内含有大量的酚类物质, 该物质在蜜腺组织幼期可对蜜腺起到保护作用, 当蜜腺细胞衰老和受损后释放到蜜腺的表面, 形成褐变, 对蜜腺和花器官中的组织行使保护功能。据文献报道, 在荔枝果实中富含酚类及高活性的多酚氧化酶(Jiang et al., 1997; Zhang et al., 2000), 因而在荔枝花和蜜腺中具大量的含酚类物质的细胞, 说明其早在花期已建立起了一定的保护和防御机制。

### 3.3 荔枝雌、雄性功能花花蜜腺形态结构的差异影响了传粉昆虫的访花模式

荔枝的二重雌雄异熟的繁育系统中, 雄花( $M_1$ )和雄性功能花( $M_2$ )可为传粉者提供两种报酬, 即花粉和蜜汁, 而雌性功能花(F)仅提供一种报酬——蜜汁。但荔枝雌性功能花花蜜腺在形态和结构上较雄性功能花花蜜腺更为发达, 体积更大, 具有更多的韧皮部筛管分子。文献报道(Stern & Gazit, 1996; 李江红等, 2000)和我们的果园实际测量都发现, 雌性功能花花蜜腺较雄花和雄性功能花花蜜腺分泌更多的蜜汁, 且其糖分浓度稍大(表1, 2)。据报道, 蜜蜂等小型传粉者偏爱采食蜜汁浓度较高的花蜜(Crudon et al., 1983; Perret et al., 2001), 与雄性功能花花蜜腺相比, 荔枝的雌性功能花花蜜腺能为蜜蜂等传粉者提供浓度较高、数量较多的报酬——蜜汁, 因而能吸引更多的传粉者。Stern和Gazit(1996)的实验亦显示了同样的结果。但是与Stern和Gazit(1996)报道的“毛里求斯”荔枝雌花序在全天都具最高的蜜蜂访花数量不同, 我们发现蜜蜂在早晨主要是访问雄花和雄性功能花, 直到中午才开始主要访问雌性功能花(图27); 而我们的实验同时显示, 只有当蜜汁糖分浓度达到30%左右蜜蜂才开始大量采集花蜜; 因而在早晨由于蜜汁浓度低, 蜜蜂主要是采集花粉, 直到中午才开始大量地采集花蜜(另文发表)。雌性功能花分泌蜜汁的上述特点, 在蜜蜂由采粉模式向采蜜模式的转变过程中, 或在采蜜模式中从雄性功能花迁飞到雌性功能花的过程中可能起到了决定性的作用。

### 3.4 荔枝雌、雄性功能花花蜜腺是适应传粉功能的分泌结构

荔枝雌、雄性功能花花蜜腺都是在花的各部分已基本分化完成后才开始分化的。在雄性功能花中, 蜜腺原基形成的时间大约在孢原母细胞和花粉母细胞期。花粉母细胞减数分裂后, 蜜腺已充分发育。小孢子基本发育成熟后, 蜜腺泌蜜组织细胞中开始积累淀粉, 维管组织也开始分化。花药开裂前蜜腺已完全发育成熟。雌性功能花花蜜腺也是在子房和花药基本分化完全后才开始分化的, 并在柱头露出期和伸长期开始迅速发育隆

起,到柱头张开期已基本发育成熟。由此可见,荔枝雌、雄性功能花花蜜腺的分化和发育都是与雌、雄蕊和雌、雄配子体的发育紧密相关,在两者之间存在着密切的协同关系,因而可见蜜腺的起源和发生应是适应传粉需要而在植物体上后生起源的一种分泌结构。

花蜜腺作为植物体上用于产生吸引传粉者传粉的蜜汁的外分泌结构在被子植物中普遍存在,但在其起源和产生上根据所属的纲、目和科的不同一般有两种观点:一种观点认为,花蜜腺是花器官的某一部分的退化或在起源上与花器官的某一部分有关(Smets, 1986);另一种观点认为:“蜜腺是一种外分泌结构,它是植物器官表面的一些细胞转化而成的一种特殊腺体”(Annigeri & Rudramuniyappa, 1983)。而现代分子生物学研究的进展在一定程度上已经为蜜腺的起源和发育提供了证据。在拟南芥花中,花蜜腺是不依赖于ABC功能基因调控的独立的花的结构,其花蜜腺基因独立于任何花器官形成基因之外并且是位置决定的,它只限于花的“第三轮”功能区发生(Baum et al., 2001)。从而表明,花蜜腺在起源和发育上虽然与花器官的其他部分有一定的关联,但其产生和分化却有自身的规律。荔枝花冠退化,具有数目不定的雄蕊,但在果园实地观察中有时可在荔枝花盘蜜腺的外方发现遗留的花瓣,同时在蜜腺的分化和发育中,也未见雄蕊与蜜腺在结构上有任何关联,因而可以推断,荔枝的花蜜腺也同拟南芥的花蜜腺一样,是在“第三轮”功能区产生的,不可能是由花冠或雄蕊退化形成。另外,从荔枝花蜜腺的分化时间上远较花的其他部分晚来判断,蜜腺也不可能是由上述结构产生的。我们对荔枝花蜜腺研究的结果支持Magin(1983)的观点,即蜜腺是植物体上特殊的组织结构区,它可以发生在花的各个部位,并不一定是花的某一部分退化的结果,或与花的某一特定部分有着共同的来源。

致谢 衷心感谢王海洋博士在英文摘要修改上提出的宝贵意见和帮助以及广东省东莞市农业科学研究中心在材料采集和田间观察试验上提供的帮助!

### 参 考 文 献

- Annigeri B G, Rudramuniyappa C K. 1983. Distribution and cellular localization of some histochemical substances in the cyathial nectary of *Euphorbia pulcherrima*. *Beitrage zur Biologie der Pflanzen* 58: 393-401.
- Baum S F, Eshed Y, Bowmun J L. 2001. The *Arabidopsis* nectary is an ABC-independent floral structure. *Development* 128: 4657-4667.
- Butcher F G. 1957. Pollinating insects on lychee blossoms. *Florida State Horticultural Society* 70: 326-328.
- Cruden R W, Hermann S M, Peterson S. 1983. Patterns of nectar production and plant-pollinator coevolution. In: Bentley B, Elias T eds. *The Biology of Nectaries*. New York: Columbia University Press. 80-125.
- Dafni A. 1992. *Pollination Ecology, a Practical Approach*. New York: Oxford University Press. 1-99.
- Durkee L T, Gaal D J, Reisner W H. 1981. The floral and extrafloral nectaries of *Passiflora* I. The floral nectary. *American Journal of Botany* 68: 453-462.
- Durkee L T. 1983. The ultrastructure of floral and extrafloral nectaries. In: Bentley B, Elias T eds. *The Biology of Nectaries*. New York: Columbia University Press. 1-24.
- Fahn A. 1979. *Secretory Tissues in Plants*. New York: Academic Press. 51-108.
- Galetto L, Bernardello G. 2004. Floral nectaries, nectar production dynamics and composition in six *Ipomoea* species (Convolvulaceae) in relation to pollinators. *Annals of Botany* 94: 269-280.
- Hu S-Y (胡适宜), Xu L-Y (徐丽云). 1990. A cytochemical technique for demonstration of lipids, polysaccharides and protein bodies in thick resin sections. *Acta Botanica Sinica (植物学报)* 32: 841-846.
- Huang C-X (黄昌贤), Wu D-Y (吴定尧), Jiang D-G (江杜规), Cheng L-W (陈礼文), He R-Q (何荣钦). 1984. Report on the result of the experiment with pollination by honey-bees to increase Lychee fruit yields.

- Journal of South China Normal University (Natural Science Edition) (华南师范大学学报(自然科学版)) (1): 49–56.
- Huang S-Q, Guo Y-H. 2000. New advances in pollination biology and the studies in China. Chinese Science Bulletin 45: 1441–1447.
- Jiang Y-M, Zauberman G, Fuchs Y. 1997. Partial purification and some properties of polyphenol oxidase extracted from Litchi fruit pericarp. Postharvest Biology and Technology 10: 221–228.
- Li J-H (李江红), Miao X-Q (缪晓青), You M-S (尤民生). 2000. The secretion of honeydew of litchi. Journal of Bee (蜜蜂杂志) 5: 3–5.
- Magin N. 1983. Die Nektarien der Apiaceae. Flora 173: 233–251.
- Nepi M, Ciampolini F, Pacini E. 1996. Development and ultrastructure of *Cucurbita pepo* nectaries of male flowers. Annals of Botany 78: 95–104.
- Pacini E, Nepi M, Vesprini J L. 2003. Nectar biodiversity: a short review. Plant Systematics and Evolution 238: 7–21.
- Perret M, Chautems A, Spichiger R, Peixoto M, Savolainen V. 2001. Nectar sugar composition in relation to pollination syndromes in Sinningieae (Gesneriaceae). Annals of Botany 87: 267–273.
- Pyke G H. 1991. What does it cost a plant to produce floral nectar? Nature 350: 58–59.
- Rachmilevitz T, Fahn A. 1973. Ultrastructure of nectarines of *Vinca rosea* L., *Vinca major* L. and *Citrus sinensis* Osbeck cv. Valencia and its relation to the mechanism of nectar secretion. Annals of Botany 37: 1–9.
- Razem F A, Davis A R. 1999. Anatomical and ultrastructural changes of floral nectary of *Pisum sativum* L. during flower development. Protoplasma 206: 57–72.
- Reeve R M. 1951. Histochemical tests for polyphenols in plant tissues. Stain Technology 26: 91–96.
- Rui J-S (芮菊生), Du M-Q (杜懋琴), Chen H-M (陈海明), Li C-L (李次兰). 1980. Tissue Microtomy Techniques (组织切片技术). Beijing: Higher Education Press. 227–231.
- Sawidis T. 1998. The subglandular tissue of *Hibiscus rosa-sinensis* nectaries. Flora 193: 327–335.
- Scholefield P B. 1982. A scanning electron microscope study of flowers of avocado, litchi, macadamia, and mango. Scientia Horticulturae 16: 263–272.
- Smets E. 1986. Localization and systematic importance of the floral nectaries in the Magnoliatae (Dicotyledons). Bulletin du Jardin Botanique National de Belgique 56: 51–76.
- Stern R A, Gazit S. 1996. Lychee pollination by the honeybee. Journal of the American Society for Horticultural Science 120: 152–157.
- Thornburg R W, Carter C, Powell A, Mittler R, Rizhsky L, Horner H T. 2003. A major function of the tobacco floral nectary is defense against microbial attack. Plant Systematics and Evolution 238: 211–218.
- Xiao M-Z (肖木珠). 2004. Anatomical study on the development of floral nectary in *Litchi chinensis*. Subtropical Plant Science (亚热带植物科学) 33 (3): 7–11.
- Xu L-Y (徐丽云), Hu S-Y (胡适宜). 1986. Staining of epoxy resin thick sections. Chinese Bulletin of Botany (植物学通报) 4: 108–110.
- Zhang D-L, Quantick P C, Grigor J M. 2000. Changes in phenolic compounds in litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit during postharvest storage. Postharvest Biology and Technology 19: 165–172.