

Jaki potencjał naukowy drzemie w badaniach składu i struktury wosków powierzchniowych roślin z rodzaju *Nepenthes*?

Aleksandra Maria Kowalska
Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii
E-mail: aleksandra.kowalska@phdstud.ug.edu.pl

tutor: dr hab. Łukasz Haliński
Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii, Katedra Analizy Środowiska

Słowa kluczowe: rośliny owadożerne, wosk epikutularny, chromatografia gazowa, spektrometria mas, mikrostruktura

Po co dzbanecznikom owady?

Naturalnym miejscem występowania roślin z rodzaju *Nepenthes*, są subtropikalne rejony Azji Południowo - Wschodniej. Zasiadają one Wietnam, Kambodżę, Chiny, Singapur, Indie, Tajlandię, Filipiny i Półwysep Malajski. Oprócz tego, ich występowanie notuje się na terenach Australii, Szeszeli oraz Madagaskaru. Ze względu na wysokość nad poziomem morza, na jakiej spotykane są poszczególne taksony, są one klasyfikowane jako gatunki wyżynne, bądź nizinne (Król i in., 2011). Dzbaneczniki żyją na podłożu bardzo ubogim w składniki odżywcze (Krasuska i in., 2015). Fakt ten uniemożliwia większości roślin przetrwanie i wzrost w warunkach naturalnych bez dodatkowego źródła makroskładników: azotu, fosforu czy

siarki. To właśnie z tego względu, dzbaneczniki w toku ewolucji wykształciły szereg przystosowań chemicznych i morfologicznych, pozwalających im na uzupełnienie niedoborów składników odżywczych w podłożu. Stały się drapieżnikami, które w celu uzupełniania deficytów, żywią się ciałami owadów. Żywiąc się owadami, zyskują również źródło magnezu, potasu czy manganu. Ich pozyskiwanie nie jest niezbędne, ponieważ środowisko nie ogranicza ich dostępności, jednak duży procent zapotrzebowania jest pokrywany właśnie w ten sposób (Król i in., 2011).

Gatunki dzbaneczników obdarzone największymi pułapkami, bo sięgającymi nawet 40 cm długości, nie są "zainteresowane" żywieniem się kręgowcami. Rozmiar pułapki sugeruje, że chociażby *Nepenthes rajah* mógłby pokusić się o upolowanie większych stworzeń niż owady, np. żab, jaszczurek czy szczurów (Ryc. 1). Przeprowadzono badania, które potwierdzają nie-

liczne przypadki żywienia się tego gatunku kręgowcami. Świadczą o tym niestrawione kości wewnątrz dzbanca. Jednak nadal znacznie częściej wybierają one drobne owady (Chin i in., 2010).



Ryc. 1. *Rattus baluensis* na organie łownym *Nepenthes rajah* ([1], autor zdjęcia: Ch'ien Lee, plik niezmienny)

Inne badania wskazują na uzupełnianie deficytów azotu np. z odchodów małych ssaków, tj. *Tupaia montana*, *Rattus baluensis*. Prawdopodobnie bardziej korzystne dla *Nepenthes* jest wejście w mutualizm z tymi ssakami, niż pozyskiwanie związków mineralnych z ich ciał (Greenwood i in., 2011). Ssaki w tym przypadku otrzymują od dzbanecznika nektar. Inny przypadek, to pozyskiwanie makroelementów z odchodów nietoperza (*Kerivoula hardwickii*). W zamian za to nietoperz otrzymuje od rośliny schronienie (Chou i in., 2015). Oprócz tego, odpowiednio usytuowane dzbanki mają zdolność

pobierania azotu z azotu atmosferycznego, od mikroorganizmów zasiedlających pułapki (mających umiejętność jego asymilowania) oraz z gleby (Schulze i in., 1997). Należy pamiętać, że dzbaneczniki są zdolne do samożywności, a okazałe pułapki to tylko dodatek do prowadzonego przez nie trybu życia. W niektórych przypadkach, możliwe jest jednak także wykorzystanie ciał ofiar jako źródła organicznych związków węgla, co pozwala na pokrycie znacznej części zapotrzebowania na ten pierwiastek (Krasuska i in., 2012).

Przystosowania roślin do drapieżnictwa

Różnorodność roślin owadożernych jest bardzo duża. Podstawowym przystosowaniem do owadożerności są pułapki. Możemy wyróżnić sześć typów prezentowanych przez rośliny owadożerne liści pułapkowych, a co za tym idzie strategii chwytania pożywienia.

Trzy pierwsze, ze względu na rodzaj wykorzystanej do połowu strategii, możemy zaliczyć do aktywnych. Są to: pułapki zatraskowe – np. u roślin z rodzaju *Dionaea*, pułapki o charakterze pęcherzyków z zamykaną klapką – np. u roślin rodzaju *Utricularia*, oraz pułapka typu koszy łownych – np. u roślin z rodzaju *Genlisea*, która zawiłymi, pozbawionymi chlorofilu korzeniami blokuje ucieczkę zdobyczy. Pojawienie się owada pomiędzy dwoma blaskami liściowymi *Dionaea* powoduje podrażnienie obecnych tam włosków czuciowych i zatrzaśnięcie się pułapki. U *Utricularia*, specjalne pęcherze unoszące roślinę na wodzie mają zdolność zasysania ofiary. W momencie, gdy owad znajdzie się w wnętrzu pułapki, zamykająca się klapka skutecznie uniemożliwia mu wydostanie się na zewnątrz.

Tutoring Gedanensis

Kolejne trzy rodzaje pułapek pozwalają na pozyskiwanie pożywienia w sposób bierny. Pierwszy mechanizm tego typu to pułapka w kształcie kielicha, inaczej zwanego rozetą liściową. Taki rodzaj pułapki prezentują np. rośliny z rodzaju *Sarracenia*. Jest to pułapka analogiczna do tej o charakterze dzbana, wytwarzanej przez rośliny z rodzaju *Nepenthes* (Ryc. 2)

Ostatni rodzaj to pułapka adhezyjna, mająca charakter lepów, występująca np.

u roślin z rodzaju *Drosera*. Owad, siadając na liściu pokrytym włoskami wydzielającymi lepłą ciecz, zostaje unieruchomiony. Dodatkowo, obecność owada na pułapce powoduje zwijanie się blaszki liściowej, co jeszcze bardziej krępuje jego ruchy (Zboińska, 2017; Drobnik, 2008).

Oprócz wykształcenia pułapek, rośliny owadożerne nęcą swoją zdobycz barwą i zapachem. Odbywa się to na podobnej zasadzie, jak wabienie przez rośliny zapylaczy (Krasuska i in. 2015).

A)



B)

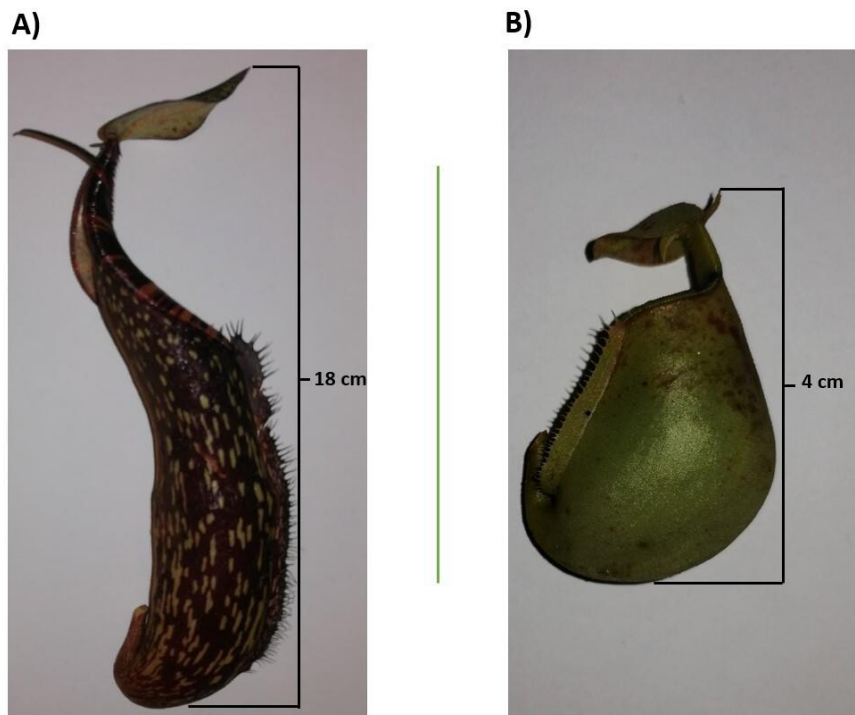


Ryc. 2. Przykłady pułapek wytwarzanych przez rośliny z rodzaju A) *Sarracenia* oraz B) *Nepenthes*; rośliny z kolekcji dr hab. Krzysztofa Banasia, prof. UG, z Wydziału Biologii Uniwersytetu Gdańskiego (zdjęcie własne)

Morfologiczne przystosowania dzbaneczników do owadożerności

U większości roślin, za pobieranie składników mineralnych odpowiada dobrze wykształcony system korzeniowy. Rośliny z rodzaju *Nepenthes* mają krótkie, słabo rozwinięte i płytko umocowane w glebie

korzenie (Krasuska i in., 2012). Jak już wcześniej wspomniano, pułapki u dzbaneczników przyjmują postać dzbanów, które wypełnione są płynem trawiącym białko. Warto wspomnieć, że dzbany przyjmują różne rozmiary, od kilku do kilkudziesięciu centymetrów - w zależności od gatunku rośliny (Ryc. 3).



Ryc. 3. Porównanie wielkości organów łownych A) *Nepenthes spectabilis* oraz B) *Nepenthes bicalcarata* z kolekcji dr hab. Krzysztofa Banasia, prof. UG, z Wydziału Biologii Uniwersytetu Gdańskiego (zdjęcie własne)

Płyn obcny na dnie pułapki, oprócz możliwości trawienia owadów, pozwala roślinie na efektywne wabienie ofiary. Jest on słodki i pachnący, co daje owadom mylną obietnicę otrzymania pokarmu. Ciecz trawienna jest dużo gęstsza od wody. Jest bardziej lepka, ma mniejsze napięcie powierzchniowe i kwaśny odczyn. Substancje, które uzyskuje roślina po strawieniu białka, są powoli wchłaniane. Ten dodatek do autotroficznego sposobu odżywiania zapewnia dzbanecznikom możliwość przetrwania nawet w bardzo trudnych warunkach i stanowi bardzo pomocne uzupełnienie niezbyt wydajnego pozyskiwania prostych związków nieorganicznych przez słabo rozwinięty system korzeniowy z ubogiego w te substancje środowiska.

System pozyskiwania przez dzbaneczniki pożywienia z owadów ułatwia obecność śliskiego perystomu wokół wejścia

do wnętrza pułapki. Ciekawym elementem dzbana jest wieko, często od wewnętrznej strony obdarzone dodatkowym kolcem. Stanowi ono naturalną ochronę cieczy trawiennej przed deszczem i pozwala utrzymać jej odpowiedni odczyn. Oprócz tego, od spodu posiada miodniki wytwarzające słodki nektar (Merbach, 2001). Zarówno perystom, jak i wnętrze organu łownego pokryte jest woskiem epikutylarnym, który w dużej mierze zmniejsza przyczepność owada. Wnętrze organu chwytającego możemy podzielić na dwie strefy - górną i dolną. Warstwa dolna zalana jest cieczą trawienną. Wosk w formie kryształów pokrywa górną strefę i przyjmuje strukturę dwuwarstwową. Wosk warstwy zewnętrznej jest miękki, łamliwy i zanieczyszcza odnóża owada, przez co wpada on do cieczy trawiennej. Wosk warstwy wewnętrznej jest zdecydowanie twardszy (Lack i in., 2005).

Dzbany często przyjmują krwistoczerwony kolor oraz charakteryzują się wzorzystym nakropieniem. Istnieją badania wskazujące na zdolność wabienia ofiar za pomocą wzorów widocznych tylko w świetle UV (Kurup i in. 2013).

Chemiczne przystosowania dzbaneczników do owadożerności

Dzbaneczniki wydzielają organiczne związki lotne, posiadające w swojej strukturze osmoforowe grupy funkcyjne, nadające tym substancjom zapach roznoszący się na duże odległości. Jest on wyczuwalny szczególnie dla owadów. Do grup funkcyjnych odpowiedzialnych za zapach należą: aldehydowa, tiolowa, estrowa, hydroksylowa, sulfidowa i ketonowa (Bojarowicz i in., 2016). Oprócz tego, dolna część wieczka zawiera gruczoły, wytwarzające substancje chemiczne wabiące owady w postaci nektaru.

W skład wyżej wspomnianych wosków epikutularnych wchodzi różnego rodzaju substancje organiczne, które umożliwiają wytworzenie struktur krystalicznych wosków. Woski oraz ich wyspecjalizowane struktury krystaliczne stanowią, obok zdolności do produkcji enzymów trawienych i wykształcenia struktur odpowiedzialnych za wchłanianie składników pokarmowych ze strawionych ofiar, jeden z elementów przystosowujących dzbaneczniki do drapieżnictwa. To właśnie formy krystaliczne wosków epikutularnych odpowiadają za przetrzymywanie owadów wewnątrz dzbanów i zapobieganie ich ucieczce. Obecnie w literaturze mało jest publikacji prezentujących skład chemiczny wosków epikutularnych u poszczególnych gatunków *Nepenthes*. Te nieliczne sugerują jednak, że najczęściej pojawiającymi grupami związków są długołańcuchowe

alkohole i aldehydy - zazwyczaj o parzystej liczbie atomów węgla w cząsteczce, a także długołańcuchowe węglowodory parzysto- i nieparzysto węglowe, rzadziej długołańcuchowe kwasy tłuszczowe, sterole, triterpeny (zarówno w formie alkoholi, jak i ketonów), taniny czy flawonoidy (Riedel i in., 2007). Przypuszcza się, że struktura krystaliczna wosków może być powiązana z ich składem chemicznym. Obecność niektórych substancji organicznych w składzie wosku może warunkować powstanie tych tworów.

Analizy chemiczne wosków powierzchniowych *Nepenthes*

W literaturze często prezentowane są badania obejmujące analizę składu chemicznego wosków różnych gatunków roślin. Są one częstym obiektem badań ze względu na ich liczne funkcje biologiczne. Jednak w chwili obecnej, niewiele jest doniesień skupiających się właśnie na dzbanecznikach. Obejmują one jedynie wyniki badań składu chemicznego wosków powierzchniowych górnej strefy wnętrza organu łownego dzbaneczników, a przebadanych gatunków jest zaledwie kilka. Z uwagi na fakt częstej dominacji długołańcuchowych aldehydów w składzie wosku, niektórzy badacze twierdzą, że przewaga tych związków w składzie wpływa na powstawanie struktur krystalicznych, istotnych dla pozyskiwania pożywienia przez dzbaneczniki. Nie zostało to jednak do tej pory udowodnione doświadczalnie.

Strategia analizy wosku roślinnego najczęściej polega na wykonywaniu badań techniką chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (GC-MS), co pozwala na jednoczesną analizę jakościową (identyfikację składników) oraz ilościową. Ze względu na skomplikowany skład wosków, analiza końcowa bywa poprzedzona

wykonaniem analizy grupowej, czyli rozdzieleniem całej mieszaniny na klasy związków (np. węglowodory, alkohole, itd.). W celu stwierdzenia obecności struktur krystalicznych wosków, stosuje się techniki mikroskopowe, np. skaningową mikroskopię elektronową (SEM).

Które kierunki badań należałoby rozwijać?

Tylko nieliczne analizy chemiczne wosków pokrywających wnętrze organu chwytanego dzbaneczników są uzupełnione o wyniki obserwacji mikroskopowych. Z tego względu, w kolejnych etapach badań należałoby wykonać takie obserwacje dla szerokiej grupy gatunków, w celu weryfikacji związku pomiędzy składem chemicznym wosków i ich mikrostrukturą, co jest niezbędne do pełnego zrozumienia znaczenia tego przystosowania w funkcjonowaniu omawianych roślin.

Kolejne kierunki badań, które warto podjąć, to np. zdobycie kompleksowych informacji na temat substancji czynnych, wydzielanych przez dzbaneczniki. Należałoby przyjrzeć się bliżej substancjom chemicznym odpowiedzialnym za wabienie owadów oraz – w miarę możliwości – połączyć te informacje z dostępnymi obserwacjami na temat ofiar pozyskiwanych przez poszczególne gatunków dzbaneczników. Możliwe jest, że substancje wabiące są w niektórych przypadkach niejako „wycelowane” w konkretne grupy owadów, np. poprzez wydzielanie feromonów płciowych lub związków o analogicznej strukturze.

Oprócz tego, skład wosków powierzchniowych mógłby posłużyć jako marker chemotaksonomiczny, czyli cecha, pozwalająca na szacowanie stopnia

pokrewieństwa gatunków na podstawie ich cech chemicznych. Dzięki temu mogłaby powstać dodatkowa, uzupełniająca metoda klasyfikacji tej grupy roślin. Podział opierałby się na różnicach w charakterystyce tej istotnie biologicznie warstwy. Bardzo prawdopodobne jest jednak, że ze względu na wyspecjalizowaną funkcję, niezależnie od stopnia pokrewieństwa roślin ewolucja tej cechy przebiegała w sposób zbliżony u wszystkich gatunków rodzaju *Nepenthes*, przez co skład wosków nie będzie przydatnym markerem chemotaksonomicznym.

Literatura:

- Bojarowicz, H., Ziółkowska, A., Krysiński, J., 2016. Wyjątkowość zapachu. *Hygeia Public Health*, 51, 154-160.
- Chin, L., Moran, J. A., Clarke, C., 2010. Trap geometry in three giant montane pitcher plant species from Borneo is a function of tree shrew body size. *New Phytologist*, 186, 461-470.
- Chou, L., Wilson, R., Clarke, C., 2015. Why are *Aedes* mosquitoes rare colonisers of *Nepenthes* pitcher plants? *Ecological Entomology*, 40, 603–611.
- Drobniak, S., 2008. Różnorodność roślin mięsożernych. *Botanika*, 31, 30-33.
- Greenwood, M., Clarke, C., Lee, C. C., Gunsalam, A., & Clarke, R. H. 2011. A Unique Resource Mutualism between the Giant Bornean Pitcher Plant, *Nepenthes rajah*, and Members of a Small Mammal Community. *PLOS ONE*, 6, 1-5.
- Krasuska, U., Glinka, A., Gniazdowska A., 2012. Menu roślin mięsożernych wstęp- Jakie rośliny nazywamy mięsożernymi? *Kosmos*, 61, 635-646.
- Krasuska, U., Dzierżyńska, A., Ciąćka, K., Andrzejczak, O., Staszek, P., Gniazdowska A., 2015. Rośliny mięsożerne jako przykład adaptacji do niesprzyjających warunków środowiska naturalnego. W: *Różnorod-*

ność biologiczna – od komórki do ekosystemu *Funkcjonowanie roślin i grzybów. Środowisko – eksperyment – edukacja* (pod redakcją: Bajguz, A., Cierieszko, I.), Polskie Towarzystwo Botaniczne, Warszawa, 77-88.

Król, E., Płachno, B. J., Adamec, L., Stolarz, M., Dziubińska, H., & Trębacz, K. 2011. Quite a few reasons for calling carnivores “the most wonderful plants in the world.” *Annals of Botany*, 109, 47–64.

Kurup, R., Johnson, A. J., Sankar, S., Hussain, A. A., Sathish Kumar, C., Sabulal, B., 2013. Fluorescent prey traps in carnivorous plants. *Plant Biology*, 3, 611-615.

Lack, A. J., Evans, D. E., 2005. Instant Notes: Plant Biology, Bios, New York, 223-225.

Riedel, M., Eichner, A., Meimberg, H., Jetter, R., 2007. Chemical composition of epicuticular wax crystals on the slippery zone in pitchers of five *Nepenthes* species and hybrids. *Planta*, 225, 1517–1534.

Merbach, M., Zizka, G., Fiala, B., Maschwitz, U., Booth, W. E., 2001. Patterns of nectar secretion in five *Nepenthes* species from Brunei Darussalam, Northwest Borneo, and implications for ant-plant relationships. *Flora*, 196, 153-160.

Schulze, W., Schulze, E. D., Pate, J. S., & Gillison, A. N. 1997. The nitrogen supply from soils and insects during growth of the pitcher plants *Nepenthes mirabilis*, *Cephalotus follicularis* and *Darlingtonia californica*. *Oecologia*, 112, 464–471.

Zboińska, M., 2017. Niezwykły sposób pozyskiwania azotu przez rośliny mięsożerne. *Edukacja biologiczna i środowiskowa*, 2, 10-19.

Źródła internetowe:

[1] https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Rattus_baluensis_visiting_Nepenthes_rajah.png (dostęp: 02.09.2021)

Notka o Autorce: Absolwentka studiów I stopnia na kierunku Ochrona Środowiska i II stopnia na kierunku Chemia o specjalności diagnostyka i analityka chemiczna Wydziału Chemii, Uniwersytetu Gdańskiego. Jej zainteresowania naukowe skupiają się na badaniu znaczenia cech chemicznych w łowieniu ofiar przez rośliny owadożerne, co ściśle łączy się z zainteresowaniem tymi i wieloma innymi roślinami w życiu prywatnym..