

花瓣锥形表皮细胞形成及对授粉昆虫吸引作用机制研究进展

王 卅, 张 旻, 李玉花*

(东北林业大学生命科学学院, 哈尔滨 150040)

摘 要: 被子植物花瓣锥形表皮细胞赋予花瓣特有的生物学功能, 它直接影响到花瓣表面的颜色、气味、温度、湿度、光学作用等, 从而优化花瓣与授粉者的特异性互作。*Mixta* 基因直接决定了花瓣锥形表皮细胞的形成。*Mixta* 编码一个 MYB 类转录因子, 来源于金鱼草花瓣锥形表皮细胞; *AmMYBML1* 与 *Mixta* 出自于相同的祖先基因复制物, 均能指导锥形细胞和毛状体在植物不同组织部位的形成, 其时空表达的差异性决定了两个基因功能上的差别。本文中对花瓣锥形表皮细胞的形成及对授粉昆虫吸引作用机制的研究进展进行了综述。

关键词: 花瓣; 锥形表皮细胞; 生物学特性; 毛状体; *Mixta* 基因; 表达调控

中图分类号: S 68

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2012) 09-1781-12

Research Progress on the Mechanism of Petal Conical Epidermal Cells Formation and Attraction to Pollinating Insects

WANG Sa, ZHANG Yang, and LI Yu-hua*

(College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract: The petal conical epidermal cells of angiosperm which directly have effect on colour, smell, temperature, wettability and optical function of petal surface, optimize the specific interactions between petals and pollinators. The petal conical epidermal cells are determined by the *Mixta* gene. The *Mixta* which originated from the petal of *Antirrhinum* encodes a MYB transcription factor. *AmMYBML1* and *Mixta* stem from the same ancestor gene replication. They can both guide the differentiation of conical epidermal cells and trichomes on different tissue of plants. The differences of both gene expressions decide on their different functions. This review elaborates the research progress on the mechanism of petal conical epidermal cells formation and attraction to pollinating insects.

Key words: petal; conical epidermal cell; biological property; trichome; *Mixta* gene; expression regulation

自然界中花的种类繁多, 颜色形态各异, 千姿百态的花的组织构造及其授粉机制不尽相同。植物的花瓣与各种授粉昆虫同时发生互作, 其中包括互利共生的授粉者以及花蜜的掠夺者。无论哪种

收稿日期: 2012-03-19; **修回日期:** 2012-05-30

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目 (31000318); 中国博士后科学基金面上项目 (20090450945); 东北林业大学研究生论文资助项目 (ST1P10); 中国博士后特别资助项目 (201104405); 中央高校基本科研业务费专项资金 (DL09AB13); 东北林业大学青年科研基金 (07033)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: lyhshen@126.com; Tel: 0451-82191783)

花的访问者均需要与花瓣的表皮细胞产生联系,表皮细胞为造访者提供了一个必要的登陆平台。在开花植物与授粉昆虫的共进化过程中,部分花瓣的表皮细胞形状发生了改变,从而逐渐形成了授粉昆虫对花瓣的不同表皮构造的选择机制以及花瓣表皮的结构变化对授粉者的不同吸引作用。在共进化过程中, *Mixta* 基因及其同源基因指导部分花瓣表皮细胞形状锥形化。锥形表皮细胞即位于花瓣表皮的细胞表面产生比扁平细胞更高的如锥形般的突起状的细胞。表皮细胞的锥形化使得花瓣表面的质地发生了改变,访问者通过对花瓣表面不同质地的识别来区分偏爱的植物花瓣的种类,从而选择性地进行觅食和传粉。*Mixta* 基因来源于金鱼草花瓣表皮细胞,编码一个具有 R2R3 结构域的 MYB 类转录因子,在调控表皮锥形细胞形成过程中起到关键作用。

尽管许多类型的植物表皮细胞的功能已经得到验证,但大多数虫媒授粉花瓣的锥形表皮细胞的详尽功能以及与 *Mixta* 等相关调控基因的联系还有待进一步探究。另外关于被子植物中的锥形表皮细胞的研究多仅局限于金鱼草(*Antirrhinum majus*)中,部分报道涉猎于拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、烟草(*Nicotiana tabacum* Linn)、矮牵牛(*Petunia hybrida* Vilm)及玫瑰(*Rosa rugosa* Thunb)等。

本文中综合现阶段的相关研究进展,对有关锥形表皮细胞与授粉昆虫的作用方式和具有锥形表皮细胞花瓣表面的颜色、气味、温度、湿度、光学作用等特性的生物学功能以及细胞特化决定和相关调节基因的定位和发育模式进行初步阐述。

1 花瓣锥形表皮细胞的形成

研究表明,在 60 个种的 201 种花瓣表面结构中,79%具圆锥形或乳突状细胞,且存在于朝向可能的访问者的表皮一侧(Kay et al., 1981)。1994 年 Noda 等(1994)首次报道了来源于 *Antirrhinum* (金鱼草)花瓣的一个单一基因 *Mixta*,这个基因对于花瓣表皮锥形细胞的形成以及使扁平细胞向锥形细胞的转变具有重要作用。扫描电子显微镜(SEM)的结果显示 *mixta* 突变体与野生型的花瓣近轴表皮细胞形态具有显著差异(Glover & Martin, 1998)。野生型金鱼草的锥形乳突状表皮细胞在 *mixta* 突变体中呈扁平状。这种表皮细胞形态上的变化对于授粉昆虫对不同花瓣的选择具引导作用。

锥形细胞的存在为授粉者在花瓣表面停留提供便利条件。对于授粉者能否利用这些便利条件进行授粉采蜜工作,Whitney 等(2009a)的试验证实了当金鱼草花瓣完全开放成水平状态时,大黄蜂的采蜜授粉难度最低,并没有对含有锥形细胞的野生型花瓣表现出着陆授粉的偏爱,对于野生型与 *mixta* 突变型(具有扁平的表皮细胞)花瓣的选择几率基本相同;当花瓣未伸展开而成垂直状态时,大黄蜂要完成作业需要打开花瓣并进入花冠内稳定着陆,难度最大,却明显表现出对具有锥形表皮细胞的野生型花瓣的偏爱;进一步试验证实,随着花瓣与水平面所呈角度的增大,大黄蜂作业难度增加,而其对野生型花瓣的锥形细胞表皮的偏爱性亦增强。由此说明在不利条件下锥形表皮细胞可帮助授粉者在花瓣表面稳定着陆并提高觅食授粉的效率。据此,在昆虫采蜜与植物授粉的共同需求作用下,锥形细胞与访问者在长期的共同进化过程中逐渐形成。

2 具有锥形表皮细胞的花瓣表面的生物学特性

野生型金鱼草的花瓣表皮富含锥形细胞,其在植物的进化过程中具有重要的生物学意义。蜜蜂可以通过识别具有锥形细胞的花瓣表皮来区分不同的花瓣,在采蜜授粉时,锥形细胞从结构上为其提供了更多的“扶手”,使其平稳附着在花瓣表面。在 80%的开花植物花瓣表面发现,锥形表皮细胞均为授粉昆虫提供一个坚实的落脚点,进而大幅度提高授粉几率;锥形表皮细胞能够调节花瓣表面水分附着度,改善花瓣表皮自净能力,从而为授粉者提供良好的采蜜授粉环境;锥形细胞还影响

花瓣表皮细胞的光学特性, 改变光的入射、反射和聚焦强度, 从而改变花瓣的颜色, 为蜜蜂区分不同花瓣提供光学依据; 此外锥形细胞还可以改善花瓣表面温度, 有研究表明, 其温度升高 $1 \sim 2^{\circ}\text{C}$ 将有利于花蜜的形成, 从而使花对蜜蜂产生更大的吸引力。

2.1 锥形表皮细胞对授粉者的影响

授粉者对不同花瓣的识别具有独特的专一性, 富含锥形表皮细胞的花瓣表面特征显著。Whitney 等 (2009b) 通过验证大黄蜂依赖接触性识别不同花瓣表面, 观察到大黄蜂对花瓣的表面产生了不同的行为反应。金鱼草 *mixta* 突变体具有与野生型不同的花瓣表皮, 因为其表面含有扁平细胞而没有锥形细胞, 最初是依据其比野生型花瓣具有更苍白的粉红色表面而分离得到 (Noda et al., 1994)。Mixa 基因只在花瓣表皮细胞中特异性表达, 因此不具有多效性而仅与锥形细胞的形成相关。为了证明锥形表皮细胞对授粉者的影响, 试验中引入了 NIVEA 基因 (Wienand et al., 1982) 及 *nivea* 突变体来消除光与色素对授粉者做出判断的干扰, NIVEA 野生型金鱼草花瓣为粉红色而 *nivea* 突变体花瓣为白色 (Glover et al., 1998)。使用同源 *nivea* 突变株 (白色花瓣且含有锥形细胞) 及 *mixta/nivea* 双突变株 (白色花瓣且只含扁平细胞) 为试验材料, 并在含有锥形表皮细胞的花瓣内添加苦的奎宁溶液, 而在双突变体花瓣内添加 30% 的蔗糖溶液, 均作为诱饵, 随后让大黄蜂自行选择着陆采蜜的花瓣, 以在含锥形细胞花瓣表面着陆但不采蜜或在双突变体花瓣表面着陆并采蜜为正确选择, 以在含锥形细胞花瓣表面采蜜或在双突变体花瓣表面不采蜜为错误选择 (Glover et al., 1998)。扫描电镜 (SEM) 观察表明, 大黄蜂前 10 次正确选择比例为 $52\% \pm 5.7\%$, 而 20 次以后的正确选择比例达到 $82\% \pm 4.9\%$, 说明大黄蜂在经过前 10 次对花瓣表面质感及相应“蜜汁”质量的“学习”后, 产生了选择记忆性 (Glover et al., 1998)。通过收集两种试验材料的气体挥发物并进行气相色谱—质谱的数据分析, 表明两种材料的气体挥发物种类基本相同, 从而消除了大黄蜂受到嗅觉的干扰。由此, 在消除颜色、气味以及基因多效性等干扰因素后得出结论: 大黄蜂仅仅通过接触细胞表面即可区分不同质感种类的花瓣, 从而可以推测出锥形表皮细胞起到辅助授粉者区分不同种类花瓣的作用。

然而, 授粉者在采蜜过程中, 利用视觉与嗅觉判断不同的花瓣种类是必不可少的环节, 授粉者不必一定着陆于花瓣表面后再利用触觉的差别来辨认, 在此之前就可以通过视觉与嗅觉来完成, 这会大大提高作业效率。所以, 锥形细胞所带来的花瓣表面质感的差别可能另有他用。对此, Whitney 等 (2009b) 提出假设, 在授粉者觅食授粉过程中, 花瓣表面锥形细胞并不能用于授粉者对花瓣的选择识别, 而是指导授粉者在花瓣表面着陆后的采蜜授粉工作。Whitney 等 (2009b) 使用金鱼草花瓣的环氧树脂模型进行大黄蜂的“访问”试验, 为避免花瓣颜色对大黄蜂选择的干扰, 分别使用含锥形细胞的粉红色模型和扁平细胞的紫色模型以及含锥形细胞的紫色模型和扁平细胞的粉红色模型两组材料进行试验, 结果显示: 当环氧树脂模型水平放置时, 大黄蜂对含锥形细胞的紫色和粉红色模型的选择概率分别为 $49.7\% \pm 0.93\%$ 和 $52.3\% \pm 2.55\%$; 当模型的倾斜角度不断增加时, 选择含锥形细胞模型的概率逐渐上升; 当模型垂直放置时, 含锥形细胞的紫色和粉红色模型的选择概率分别达到 $61.3\% \pm 1.09\%$ 和 $62.5\% \pm 2.10\%$ 。这些结果说明, (1) 在去除颜色对识别的干扰后, 随着大黄蜂着陆难度的增加, 对含锥形细胞模型的选择概率也逐渐增加。这是由于模型变得陡峭不利于大黄蜂的稳定附着, 而使其容易滑落, 所以推测锥形细胞的存在为大黄蜂提供了稠密而稳定的“扶手”, 使大黄蜂可以平稳地作业; (2) 在含扁平细胞的模型表面, 大黄蜂需要不断煽动翅膀来保持平衡, 这将消耗大量能量, 从而降低觅食的净能量获得效率; 相反, 含锥形细胞的模型使大黄蜂节省能量。从而在稳定作业和能量消耗的角度均阐明了大黄蜂对于含有锥形细胞的表面具有偏爱性。

授粉者对含锥形表皮细胞花瓣表面所具有的偏爱性需要存在事先的学习过程, 即在授粉者从未接触该种花瓣之前, 这种偏爱性并不存在, 只有当完成至少一次以上的实践过程后, 才会在某些已

熟知的线索引导下偏向于选择含锥形表皮细胞的花瓣。不论锥形细胞与花瓣识别相关还是与花瓣受粉偏爱性相关,其在授粉者与花瓣间的接触性互作中都具有重要的作用。此外,Rands 等(2011)在对花瓣锥形细胞生长趋势与花瓣所处空间位置的相关性试验中认为花瓣的存在方向与锥形细胞的生长并不相关,由此可知,锥形细胞的存在意义并非仅仅局限于为授粉者提供“落脚点”,乳突状细胞与授粉者间可能存在与其它互作因素相关的更紧密的联系。

2.2 锥形表皮细胞对花瓣表面颜色和光学特性的影响

不同授粉者拥有特异的授粉对象,其特异性主要受花瓣色泽的影响,如红色的花瓣受到蜂鸟的青睐,但却不被蜜蜂所察觉。花瓣的颜色受到花青素合成积累、液泡 pH 值、共着色效应及花瓣表皮细胞形状等多种因素的调节(Miller et al., 2011)。其中,花瓣的表皮细胞形状影响含有一定花青素细胞的光学特性,从而影响花瓣的视觉效果。多数被子植物花瓣所含有的锥形细胞可增强花瓣颜色强度和花瓣表面的亮度(Baumann et al., 2007)。在野生型金鱼草花瓣的内表皮拥有大量锥形细胞,它赋予花瓣表面更强的光吸收特性以及天鹅绒状的质感(Mol et al., 1998)。Gorton 和 Vogelmann (1996)使用金鱼草 *Mixta*⁺和 *mixta*⁻株系作为一个模式系统,探究花瓣表皮细胞形状在可见光及一定波长紫外光(UV-A、UV-B)的照射下对花瓣组织光学特性的影响。

UV 照射虽不被人眼所见,但可被蜜蜂所察觉(Kevan, 1983),故可作为其择花授粉的线索。由可见光照射观察可知 *Mixta*⁺株系花瓣表皮锥形细胞呈圆顶状,而 *mixta*⁻株系花瓣表皮扁平细胞只有轻微突起;经长波和短波 UV 照射后,*Mixta*⁺株系锥形细胞相比于 *mixta*⁻株系扁平细胞含有更多的花青素和其它类黄酮物质(Fritze et al., 1991)。两种株系的花瓣表皮细胞形状和色素含量的差异决定了它们光学特性的差异,从而影响授粉者的选择。

Mixta⁺和 *mixta*⁻株系花瓣表皮细胞的光学特性差异主要集中在一定波长的可见光与 UV 在花瓣表皮的聚焦强度和位置、花瓣的色素含量、光的吸收率、透过率及反射率等参数上。锥形细胞与扁平细胞对于可见光的聚焦能力均较强,对于花青素没有吸收的红光有最强的聚焦;对于花青素强烈吸收的绿光几乎没有聚焦;而二者之间聚焦作用的差别主要体现在对诸如蓝光等吸收强度适中的可见光的聚焦强度和聚焦点所在的位置上(Gorton & Vogelmann, 1996)。*Mixta*⁺株系锥形细胞较 *mixta*⁻株系扁平细胞相比产生一个更小、强度更大的聚焦点,聚焦位置更深。在长波 UV 处理后,*Mixta*⁺株系花的色素含量明显高于 *mixta*⁻株系;而短波 UV 处理使两株系花的色素含量均增加,但 *Mixta*⁺株系含量仍显著高于 *mixta*⁻株系(Gorton & Vogelmann, 1996; Noda et al., 1994);值得注意的是,长波 UV 处理的 *Mixta*⁺株系花的色素含量与短波 UV 处理的 *mixta*⁻株系花的色素含量几乎相同,这为研究其它影响两个株系光学特性的因素提供了相似色素含量的背景。

使用 UV-A 和 UV-B 处理两个金鱼草株系时,花瓣表皮细胞中心液泡区的色素对两种 UV 强烈吸收,使细胞中心区不存在如可见光照射时产生的光聚焦点(Levy, 1987)。同时,在对于表皮细胞形状和色素含量对 UV 穿过表皮细胞的渗透作用进行研究时,发现两株系的单一表皮细胞中心区对 UV 的吸收存在差异性(Gorton & Vogelmann, 1996)。*Mixta*⁺株系花瓣表皮单一锥形细胞中心区 UV 吸收值明显高于 *mixta*⁻株系的单一扁平细胞中心区,进一步分析证明至少有一半的原因应归结于细胞形状的区别;但对整个单一表皮细胞及部分花瓣表面整体的 UV 最大吸光值进行测定表明,不论单一细胞还是表面整体,两株系的 UV 吸光值差别很小,原因在于所测定的范围包括细胞壁、细胞质和细胞中心液泡区的总体吸收值(Gorton & Vogelmann, 1996)。而 UV 渗透穿过表皮细胞的作用也正是通过细胞壁和非液泡区的细胞质区来实现的。

提取两株系试验材料类黄酮物质并测定其浓度后,于该色素浓度下在 312 nm 和 362 nm UV 照射获得的最大吸光值对应绘制曲线(Gorton & Vogelmann, 1996),结果表明,在两株系色素含量相

似的条件下, *mixta*⁺株系花瓣表皮单一锥形细胞 UV 吸收值高于 *mixta*⁻株系, 分析认为这是由于细胞形状差异导致 UV 在细胞内通过的路径长度和聚焦位置不同所致。

在使用不同波长可见光和 UV (280 ~ 570 nm) 分别处理金鱼草 *Mixta*⁺和 *mixta*⁻株系后测定花瓣整体的吸光率 (A)、反射率 (R) 和透过率 (T), 并运用公式验证 ($\%A = 100 - \%T - \%R$), 结果显示两株系在 UV 区的测量参数差异很小, 而在大部分可见光区 (400 ~ 600 nm) *Mixta*⁺株系的吸光率明显高出 *mixta*⁻株系, 反射率和透过率明显低于后者 (Gorton & Vogelmann, 1996)。进一步试验区分细胞形状和色素含量对两株系在 3 种测定参数上的影响 (Gorton & Vogelmann, 1996), 结果表明在低色素含量条件下, 类黄酮物质含量的轻微改变即会引起两株系花瓣反射率的明显变化, 而野生型与突变体间的反射率差异也较明显; 相反, 当色素含量很高时, 其轻微变化不会显著影响到花瓣反射率的改变, 两株系间的差异也降低; 进一步分析得知, 当使用 530 nm 和 580 nm 可见光处理时, 大约 50% ~ 70% 的反射率区别是由于锥形细胞与扁平细胞的形状差异引起的 (Gorton & Vogelmann, 1996)。

至此可见, 野生型的花瓣表皮与突变体的花瓣表皮的不同光学特性明显受到细胞形状的影响, 但存在的差异性需要在一定光照条件下才会得到体现。同样, 在矮牵牛中, *Mixta* 的同源基因 *shp* 的突变也会改变花瓣细胞形状, 产生的扁平细胞也显著地改变了花瓣的光学特性 (Mol et al., 1998)。但目前为止无论 *Mixta* 还是 *shp*, 它们的下游基因还没有得到鉴定, 因此, 有关细胞形状改变的分子机制还有待进一步研究。

Dyer 等 (2007) 对金鱼草 *mixta* 突变体和 *nivea* 突变体的表皮细胞光学特性变化与蜜蜂对花瓣选择的关系进行了探讨。*mixta* 突变体缺少锥形细胞, 而 *nivea* 突变体对可见光及 UV-A 全反射 (Wienand et al., 1982), 表现出人眼和蜜蜂均可见的白色花瓣。使用两种材料进行的蜜蜂识别花瓣试验表明, 改变光学特性的单一基因突变会对蜜蜂的辨认行为产生与人的直观感觉相悖的深远影响 (Vorobyev et al., 1997; Kevan et al., 2001)。尽管紫色的 *Mixta* 野生型花瓣和粉红色的 *mixta* 突变型花瓣易被人眼所区分, 但对于蜜蜂而言二者颜色却十分相似; *nivea* 突变型花瓣表面对可见光和 UV-A 的反射强度是野生型花瓣的几倍之多, 但 *nivea* 突变型花瓣被蜜蜂所识别的机率却明显低于野生型花瓣 (Dyer et al., 2007)。此外, 无论登陆与否, 蜜蜂拒绝访问突变型花瓣的概率均大于野生型, 这也使得 *mixta* 突变型和 *nivea* 突变型的花瓣授粉率明显低于野生型。综合 Dyer 等 (2007) 试验结果进行分析, 蜜蜂对于金鱼草野生型和突变型花瓣的辨别不仅仅只依赖于颜色的差异, 对于选择经验较少的蜜蜂而言, 花瓣颜色并不是其对花瓣种类产生偏爱性的根本原因, 而是作为一种被记忆的辨别线索而存在。再有, 不同花瓣的光学特性会改变花瓣表面温度等其他物理特性, 也影响蜜蜂等授粉者对花瓣的选择。

2.3 锥形表皮细胞对花瓣表面湿度的影响

植物的叶片和花瓣的表皮细胞可作为防水层起到防止内部组织脱水的作用, 而不同的表皮细胞形状对于组织表面的含水量 (湿度) 也产生显著影响。Whitney 等 (2011) 研究表明, 野生型金鱼草锥形表皮细胞和毛状体 (Trichome) 对花瓣表面的超疏水性起到较好的保护作用, 从而保持组织表面的低湿度环境。花瓣表面湿度不仅仅影响到锥形细胞形状的稳定, 而且还影响到花瓣各种挥发性物质的产生, 影响通过气孔进行的气体交换, 影响花瓣颜色的饱和度以及花瓣表面部分细菌、真菌等微生物的繁殖, 影响部分昆虫信号分子在花瓣表面的短暂停留从而提高昆虫授粉率。综合以上因素, 花瓣表面湿度会影响授粉者对花瓣的选择。

Whitney 等 (2011) 列举了 3 种花瓣表面的水滴接触模型: “Wenzel wetting” 表示水滴与接触面的紧密结合; “Cassie-Baxter wetting” 表示水滴与接触面间有部分空气存在, 二者接触角有限, 是一

种花瓣表面的超疏水状态,也是理想状态;“Partial Cassie-Baxter wetting”表示水滴与花瓣表面接触程度适中,在使用注射器针头移除水滴时会有部分液体残留于花瓣表面,是一种较弱的超疏水状态。这种较弱的超疏水状态代表了含有锥形表皮细胞的野生型金鱼草花瓣表面的湿度特征,而在金鱼草 *mixta* 突变体花瓣表面则表现出“Wenzel wetting”的模型状态。由此可见,锥形细胞和毛状体的存在在一定程度上降低了花瓣表面的湿度 (Barthlott et al., 1997)。此外,由病原体或细小昆虫以及花粉坠落所引起的花瓣表面微小区域的破坏也会导致湿度增加,产生“Wenzel wetting”模型状态。

在许多植物体叶片表面存在的超疏水特性具有降低水层阻碍的光能合成气体交换,降低病原体感染几率,增强清除污染物质沉积等作用。而在花瓣组织表面,“Partial Cassie-Baxter wetting”模型的存在使花瓣表面具有一定的自净能力。这种自净能力在水生植物莲花 (*Nelumbo nucifera*) 中被观察到是由于乳突型细胞所引起的 (Barthlott & Neinhuis, 1997)。暴露在空气中的花瓣受到灰尘、杂质和花粉等物质的污染,干扰了其与授粉者间的选择作用,并易受病原菌等微生物的侵害 (Neinhuis & Barthlott, 1997)。“Partial Cassie-Baxter wetting”模型状态的水滴可将花瓣表面的污物包裹并移走,从而有效降低花瓣表面的污染,为授粉者选择授粉对象的观察提供清晰的视野,并为授粉者在花瓣表面的着陆提供稳定的平台。这一作用也成为解释锥形细胞普遍存在于花瓣表面的原因之一。

金鱼草花瓣表面湿度的改变除影响其光学特性和授粉者的触感外,还会引起花瓣表面温度和挥发性物质的变化,这些因素的综合效应会导致授粉者选择授粉对象的改变,从而影响其授粉的偏爱性。所以推测,在湿度变化引起的授粉者选择变化稳定存在后,其也可以作为一种选择线索而指导授粉者做出准确的判断。

2.4 锥形表皮细胞对花瓣表面温度的影响

植物体通过与周围环境进行热交换、趋光性生长以及利用自身相关代谢功能来调节花瓣表面的温度。Comba 等 (2000) 发现含锥形表皮细胞的金鱼草野生型花瓣比只含扁平表皮细胞的 *mixta* 突变体花瓣表面温度高。数据还显示,上述两种类型的金鱼草花瓣的色素含量完全一致,唯一的区别就是表皮细胞形状不同,由此推测其花瓣温度的变化是由于细胞形状的差异引起的。Dyer 等 (2007) 将花瓣的温度与其光学特性紧密联系起来,认为锥形表皮细胞扮演了一个透镜的角色,将来自于自然界的入射光聚焦在细胞内色素含量丰富的液泡区,继而被花青素等类黄酮物质大量吸收,被吸收的光转换为热能从而提高花瓣温度。诸多植物,如向日葵等具有趋光性的特征也较好地诠释了这一观点。因此,花瓣表皮细胞的形状、花瓣的大小以及花瓣位置与阳光所成的角度都是影响花瓣温度变化的重要因素。

Whitney 和 Chittka (2007) 对金鱼草锥形表皮细胞与授粉者互作的功能进行研究,发现在相同条件下, *mixta* 突变体花器官产生的种子数量明显少于野生型,说明锥形表皮细胞的缺失影响了授粉者的授粉。随后比较两种类型花瓣的物理特性,发现除了光学特征不同外还存在着花瓣表面温度的差异。而之前的研究证实花瓣色素的合成也受到温度调节的影响,所以推测,花瓣温度的变化影响着授粉者对授粉对象的选择,即更温暖的花瓣会更加受到授粉者的青睐。蜜蜂需要提高自身体温并转换成能量来满足连续飞行的需要,而获得能量的一个高效的方法就是通过温度更高的花瓣进行热传递来实现。花瓣提供的热量也促进了授粉者自身的新陈代谢,提高其作业能力。同时,花瓣的蜜汁分泌量在环境温度降低时显著减少,这对于授粉者而言会严重影响其对授粉对象的好感。Sapir 等 (2006) 的试验表明,内微环境温度高的花瓣会提早受到授粉者的光顾。利用不同颜色 (紫色和粉红色) 和温度 (紫色和粉色花瓣温差为 8 °C) 以及含有相同蜜汁的两种人造花瓣模拟金鱼草野生型和 *mixta* 突变体的花瓣进行蜜蜂选择试验 (Dyer et al., 2006), 结果显示,蜜蜂选择高温花瓣的数量远远高于低温花瓣。由此说明,授粉者能够以颜色的区别来记忆温度的差异,利用花瓣表面温度

来作为选择授粉对象的判断依据。

2.5 锥形表皮细胞对花瓣挥发物的影响

许多植物体的不同组织器官都会产生各种挥发性物质, 如叶片表面的挥发气体参与植物体对入侵者的防御作用, 而花瓣表面的挥发性物质与吸引授粉者进行采蜜授粉工作相关 (Bateman et al., 2011)。对于花瓣产生挥发物的特定区域和细胞类型说法不一。一些花瓣的挥发物质由被称为生臭基团所在的特定区域产生 (Effmert et al., 2005), 而有些花瓣散发的气体物质来源于花瓣的所有类型的细胞。金鱼草花瓣表面的锥形表皮细胞可以增强光的散射和对授粉者的吸引作用; 而含有扁平表皮细胞的 *mixta* 突变体的作用明显减弱。Kolossova 等 (2001) 研究表明, 在金鱼草花瓣近轴面的锥形细胞内含有一种气味合成酶 - S - 腺苷 - L - 甲硫氨酸: 苯甲酸羟基甲基转移酶 (BAMT), 而在只含扁平细胞的金鱼草花瓣裂片远轴面却几乎不含此种酶。因此一些推测认为, 乳突状锥形细胞可以增强气味分子的合成和定向扩散。但是使用 NaDi 试剂染色试验结果表明, 与金鱼草花瓣表皮结构相似的玫瑰花瓣在含有锥形细胞的近轴面及不含锥形细胞的远轴面均存在气体挥发物产生的散发位点 (Bergougnoux et al., 2007)。对另一种与 3,5 - 二甲氧基甲苯合成相关的气味分子合成酶 OOMT 在金鱼草 (Baudino et al., 2007) 及玫瑰 (Bergougnoux et al., 2007) 花瓣近、远轴面进行检测, 均发现有萜类气体复合物的产生。对烟草 (*Nicotiana suaveolens*) 近、远轴花瓣表面的检测发现有甲基苯甲酸酯的存在, 然而花束月季 (*Stephanotis floribunda*) 花瓣产生的一种气味合成酶 SAMT 仅存在于含锥形细胞的花瓣近轴面和花瓣裂片的亚表皮区 (Baudino et al., 2007)。在对手参属植物蜜刺 (nectar spur) 的分析中发现, 锥形乳突状细胞作为蜜汁的分泌位点之一而存在 (Martin & Glorer, 2007)。由此可见, 尽管被子植物锥形细胞的存在并不完全决定气体等分泌物质的产生, 但其对部分生物合成酶类分布的影响及作为某些物种分泌物质的合成位点都将对花瓣挥发物的产生起到重要作用。目前, 已查明的部分气味分子及其相关合成酶类在不同种属的不同类型花瓣表皮细胞中的定位存在差异性, 但究其发生的机制还不甚清楚。

花瓣对授粉者的吸引作用方式多样, 其中就包括花瓣表面散发的气味分子对授粉者的影响。温度相对较高的含有锥形细胞的花瓣可以产生更浓烈的挥发物质, 从而提高对授粉者的吸引力 (Whitney & Chittka, 2007)。对于某些种类的花瓣, *Mixta* 等相关基因不仅调控锥形细胞生长, 还与多细胞的腺体毛状体的发育相关。这些毛状体的头部具有可散发气体物质的腺体结构, 所产生的挥发物对于授粉者选择授粉对象具有重要的引导作用。尽管授粉者利用嗅觉与花瓣产生的气味诱导因子之间的详细互作机制尚不清楚, 但它对自然界植物的授粉和繁殖过程始终起着重要的指导作用。

综上所述, 锥形细胞在被子植物花瓣的长期进化过程中产生并保留下来, 必定在自然界复杂的生境中发挥积极作用。生存在低光环境下的植物依靠锥形细胞提高光捕获能力; 生长在热带雨林地区的植被通过锥形细胞减少水涝危害; 寒冷地区的植物通过锥形细胞辅助授粉者提高飞行所需能量, 而破晓时花瓣的快速升温提高了觅食昆虫的作业效率; 锥形细胞的形状还决定其辅助花瓣产生结构色, 在色素含量相似的环境下提高花瓣的着色程度, 增强光合作用效率。由此, 锥形表皮细胞的存在使得花瓣表面质地、颜色、光泽、湿度、温度和挥发性等物理学特征和生物学特性发生了改变, 促进植物对复杂生存环境的适应, 平衡外界的选择压力, 在影响花瓣授粉工作的基础上促进被子植物花瓣的生存发展和进化。

3 花瓣锥形表皮细胞形成的分子机制

Mixta 基因来源于金鱼草花瓣表皮细胞, 编码一个 MYB 类中 R2R3 型的转录因子, 控制金鱼草

等多种植物体锥形细胞的形成 (Martin et al., 2001)。异位表达的 *Mixta* 同时调控锥形细胞和多细胞腺体毛状体在不同组织部位的生长, *Mixta* 时空表达的差异性决定了其在不同植物组织中的功能特异性。目前已发现多种与 *Mixta* 具有相同或相似保守序列的同源基因, 在发挥与 *Mixta* 相似的功能的同时还具有其它特殊作用。*AmMYBML1* (*Antirrhinum majus MYB MIXTA LIKE1*) 编码一个与 MIXTA 结构相似的蛋白, 调控金鱼草花瓣锥形细胞和多细胞腺体毛状体的形成, 并与叶肉细胞的膨大扩张相关。一些植物体的锥形细胞或毛状体等相似结构也可由不同基因来调控表达, 如拟南芥叶片表面多细胞毛状体的形成等。此外, 锥形细胞的形成和植物组织表皮其它类型的细胞, 如气孔保卫细胞的发育受到不同基因的拮抗调控作用。这些结构相同或不同的基因和蛋白共同承担了植物体叶片和花瓣锥形表皮细胞及毛状体等相似结构的生长发育作用。

3.1 *Mixta* 在金鱼草中的定位及表达

金鱼草具有两侧对称的花瓣, 完整的花瓣由 5 部分融合而成 (两个背面花瓣, 两个侧面花瓣, 1 个腹面花瓣), 其中花瓣裂片为授粉者提供了 1 个明亮而绚丽的视觉信号, 吸引授粉者的光顾。Noda 等 (1994) 的 Northern 杂交试验表明, 在不同生长时期的金鱼草花瓣裂片、花芽、种子及花萼等组织中, *Mixta* 只在生长发育晚期的花冠裂片处表达。扫描电子显微镜 (SEM) 观察显示金鱼草花瓣裂片的近轴面表皮含有大量的锥形乳突状细胞, 而 *mixta* 突变体株系只存在扁平细胞。然而, 在 *mixta* 突变体的花瓣表面依然观察到了多细胞毛状体的存在 (Glover et al., 1998), 从而说明金鱼草花瓣毛状体的生长发育不受 *Mixta* 基因表达的影响, 而受到其它相关基因的调控。Glover 等 (1998) 的研究表明 *Mixta* 只在金鱼草花瓣表皮细胞分裂停止后表达, 从而证明了其只与锥形细胞的生长发育相关。*Mixta* 的时空表达差异决定了其功能的特异性。

3.2 *Mixta* 在烟草中的异位表达

Mixta 指导金鱼草花瓣裂片锥形表皮细胞的形成, 为了验证其表达功能的稳定性, Glover 等 (1998) 将 *Mixta* 在烟草中异位表达, 观察烟草不同组织部位的形态变化: 转 *Mixta* 的烟草叶片整体表型发生改变, 植株顶端优势减少, 叶片整体变小趋近于圆形, 边缘圆化, 颜色渐于苍白。扫描电子显微镜 (SEM) 成像显示, 转基因烟草叶片的表皮细胞形状发生改变, 在细胞中央产生突起, 最终形成锥形细胞或毛状体结构。与 *Mixta* 在金鱼草叶片中不表达类似, 烟草中的 *Mixta* 同源基因也不在叶片中表达, 从而更加肯定了 *Mixta* 的异位表达对于锥形细胞及毛状体形成的必要性及其功能的强大。Scoville 等 (2011) 在验证了猴面画属植物中 *MYB MIXTA-like8* 作为一个负调控基因调节毛状体的发育, 也说明了 *Mixta* 相关基因的表达对于指导毛状体形成所发挥的关键作用。

毛状体通常依据形态学的差别区分为简单毛状体及多细胞腺体毛状体, 其中后者又分为短柄和长柄的腺体毛状体。转基因烟草叶片上生长的毛状体还具有分枝生长的特点, 即后生毛状体的生长起源于先生毛状体母细胞基部的分枝, 且均为简单毛状体及长茎腺体毛状体。*mixta* 突变体影响上述两种毛状体的生长, 但短柄多细胞腺体毛状体却正常生长, 从而预示了不同类型毛状体的发育机制各异。Martin 等 (2002) 对于 *Mixta* 指导锥形细胞和多细胞毛状体的发育模式差异给出解释, 即与细胞圆周分裂相关的 *Mixta* 的早期表达会指导形成多细胞毛状体, 而在表皮细胞分裂停止后的晚期表达将产生锥形细胞, 且两种分化决定与 *Mixta* 的表达水平无关。鉴于两种细胞发育形态均受同一基因调控, 所以二者在烟草中的发育模式可能会有部分重叠的机制。这一观点也可以很好地解释金鱼草中 *Mixta* 在晚期的表达仅仅指导花瓣表皮形成锥形细胞的现象。

Mixta 的异位表达还影响烟草叶片表面气孔的形成 (Glover et al., 1998)。据统计, 转基因烟草叶片的近、远轴面长柄多细胞腺体毛状体的比率从野生型的 1.5% 和 1.1% 上升到 8.8% 和 11.7%; 而

叶片表面气孔的比率从 7% 和 14.8% 下降到 0.1% 和 8.9%。可见, *Mixta* 的表达改变表皮细胞初始的特化决定, 使得形成锥形细胞及长茎多细胞毛状体的信号较之形成气孔复合体的信号更强, 这一点在叶片近轴面表现得尤为突出。

野生型烟草花瓣内表面不含毛状体结构, 而转 *Mixta* 株系的花瓣内表面含有大量简单毛状体及长茎的多细胞腺体毛状体 (Glover et al., 1998)。这些形态变化同样在心皮组织中出现。*Mixta* 的转入不仅改变花瓣表皮细胞的形状, 同时还会影响花瓣整体的表型特征。Glover 等 (1998) 观察转 *Mixta* 烟草花瓣, 发现花瓣颜色变浅, 灰白色加重, 花青素合成量减少; 此外, 花瓣由野生株系中的喇叭形转变为锥形卷曲的形状, 推测其源于 *Mixta* 抑制表皮细胞的延伸所致 (Glover et al., 1998)。*MIXTA* 是一类 MYB 型转录因子, 它在金鱼草中并不控制花青素的合成, 只通过改变表皮细胞形状而影响花瓣着色; 然而, MYB 型转录因子可通过与 bHLH 转录因子发生互作而调控花青素的合成 (Mooney et al., 1995; Feller et al., 2011), 且 bHLH 转录因子的活性直接影响花青素的产量 (Albert et al., 2011)。Glover 等 (1998) 将转 *Mixta* 和过表达 *DELILA* 的两个烟草株系进行杂交, 发现子代花瓣色素含量显著上升。*DELILA* 编码一个 bHLH 转录因子, 是金鱼草花瓣中花青素合成所必需的元件之一 (Goodrich et al., 1992)。子代烟草花瓣除颜色改变外, 仍然保留含有锥形细胞、毛状体及花瓣卷曲形状等 *Mixta* 指导形成的形态特征。据此可知, *MIXTA* 影响花瓣色素含量的作用是通过与其它转录因子的相互作用而引起的; 此外, 可推测 *MIXTA* 改变花瓣表皮细胞形状的作用机制也可能与其它转录因子的互作相关。

3.3 *AmMYBML1* 在金鱼草中的功能定位及其在烟草中的异位表达

MIXTA 转录因子专一性调节金鱼草花瓣裂片近轴面的锥形细胞生长, 而观察 *mixta* 突变体花瓣依然存在多细胞毛状体, 推测这些毛状体由其他基因调控生长 (Glover et al., 1998)。通过使用全长 *Mixta* cDNA 作为探针 (Glover et al., 1998), 对 *mixta* 突变体的 cDNA 文库进行筛选, 获得了 3 个与 *MIXTA* 氨基酸序列相似的 R2R3 型 MYB 类转录因子, 分别为 *AmMYBML1*, *AmMYBML2* 和 *AmMYBML3*。系统进化分析表明, 这 3 个转录因子均位于已鉴定的 125 个拟南芥 R2R3 型 MYB 类转录因子中的第 9 亚组中 (Perez-Rodriguez et al., 2004)。进一步比对分析表明 *AmMYBML1* 和 *Mixta* 来源于第 9 亚组中同一个祖先基因的复制衍生产物。由此推测, *AmMYBML1* 和 *MIXTA* 的功能具有较高的相似度, 可能调节金鱼草花瓣多细胞毛状体的生长。

Perez-Rodriguez 等 (2004) 的原位杂交试验表明, *AmMYBML1* 只在金鱼草腹侧花瓣表达, 结合周期蛋白 Cyclin D3B 的表达情况说明, *AmMYBML1* 在花瓣表皮细胞尚处于初期分裂状态时即开始表达。通过对只含腹侧花瓣的金鱼草 *cyc* 和 *dich* 双突变体的检测发现 *AmMYBML1* 在所有花瓣中表达, 从而肯定了其在金鱼草腹侧花瓣表达的唯一性。进一步进行花瓣不同组织部位的原位杂交试验, 结果显示 *AmMYBML1* 的表达定位分布在花冠筒上方喉道近轴面的毛状体内, 以及花冠筒与花瓣裂片交接处 hinge 区 (铰链区) 的表皮锥形细胞内和 hinge 区下方的叶肉细胞内。

扫描电子显微镜 (SEM) 观察金鱼草 *mixta* 突变体 (Noda et al., 1994) 花瓣的裂片处近轴面表皮细胞以及腹侧花瓣 hinge 区近轴面及其下方叶肉细胞, 发现花瓣裂片处近轴面均为扁平的表皮细胞, 而 hinge 区近轴面却含有较多锥形细胞, 且花冠筒近轴面还有毛状体生长以及 hinge 区下方存在膨大并紧密折叠的叶肉细胞。通过 EMS 获得的 *mixta* 突变体也观察到上述特征, 从而阐述了 *AmMYBML1* 的功能, 即促进特定区域锥形细胞和多细胞毛状体生长及促进花瓣叶肉细胞延伸膨大的作用。花冠筒近轴面的毛状体可指引授粉者作业并收集花粉, 而膨大的叶肉细胞为授粉者提供了坚实牢固的着陆平台。*AmMYBML1* 与 *Mixta* 功能相似, 却在花瓣不同组织部位发挥作用, 预示了二者起源的相同与进化的差异。

AmMYBML1 在烟草中异位表达 (Perez-Rodriguez et al., 2004) 后的扫描电子显微镜 (SEM) 观察及 Northern 杂交结果显示, 表达 *AmMYBML1* 的烟草叶片和茎等营养器官表型与野生型基本相同, 而心皮、萼片和雄蕊等花器官组织表型较野生型变化大, 均有不同程度锥形细胞和多细胞毛状体生长。数据表明, *AmMYBML1* 的功能与 *Mixta* 相似, 均可诱导锥形细胞和毛状体生长, 但 *AmMYBML1* 的活性仅限于植物发育的早期阶段, 并需要限制在花器官内存在的辅助因子的条件下才能发挥作用。

AmMYBML1 的表达受到 DIVARICATA (DIV) 蛋白的调控。DIV 蛋白是一个 MYB 类转录因子, 含有两个 MYB 保守结构域。*AmMYBML1* 的启动子区含有 TATA-box 等调控相关保守序列, 其中, I-box 基序是 DIV 转录因子的识别序列, 特异性调节金鱼草腹面花瓣和侧面花瓣的形成。*div* 突变体导致金鱼草所有花瓣背侧化, 花冠筒内毛状体丢失, hinge 区的叶肉细胞折叠减少且锥形细胞消失。这些特征都证明了 DIV 对 *AmMYBML1* 的表达所起到的调节作用。

3.4 被子植物中与 *Mixta* 功能相似的基因

除了金鱼草中的 *Mixta* 和 *AmMYBML1* 以外, 在其它被子植物中也存在与 *AmMYBML1* 和 *Mixta* 的功能和结构相似的 MYB 类转录因子。*GLABROUS1* 是拟南芥中参与毛状体生长的 MYB 类基因, 但在烟草中表达并不影响原始细胞形态 (Payne et al., 1999; Martin et al., 2010), *GLABRA3* (*GL3*) 和 *GLABRA1* (*GL1*) 在拟南芥中短暂表达分别指导 1 个 bHLH 类和 1 个 MYB 类转录因子的合成, 在毛状体生长抑制过程中发挥作用 (Morohashi & Grotewold, 2009); 马铃薯 (*Solanum tuberosum*) 中 *Woolly* 的克隆及功能验证证实其通过调节周期蛋白基因的表达来调控毛状体的形成 (Yang et al., 2011); 陆地棉 (*Gossypium hirsutum*) 中的 *CotMYBA* 在胚珠中表达并与 *Mixta* 同源且控制细胞形状的改变 (Payne et al., 1999); 唐松草属 (*Thalictrum*) 中的 1 个与 *AmMixta-like* 同源的基因 *TtMYBML2* 编码一个含有 R2R3 结构域的 MYB 类转录因子, 参与唐松草花瓣锥形细胞的形成, 其在烟草中的异位表达诱导心皮表面细胞突起物的产生, 并增加花瓣锥形细胞的高度 (Di Stilio et al., 2009)。金鱼草中 *AmMYBML2* 也被验证在花瓣发育中发挥相似的功能作用 (Baumann et al., 2007), *AmMYBML2* 在金鱼草花瓣发育晚期表达, 但表达量不高, 其表达高峰期比 *Mixta* 更滞后, 且在成熟叶片及根系中也有表达; *PhMYB1* 是矮牵牛中唯一的 *Mixta-like* 基因, 在矮牵牛花瓣和花萼中高丰度表达, 在叶片中表达量下降, 而在根系中不表达, 其在花发育达到 2~3 cm 的花蕾期时表达量最高, 且在花瓣檐部 (corolla limb) 的内、外侧表皮细胞均有表达; 拟南芥中的 *AtMYB16* 同样发挥与 *Mixta* 相似的功能, 其在花瓣中的表达量最高。*AmMYBML2*、*PhMYB1* 和 *AtMYB16* 相近的生物学功能和表达部位说明了它们在被子植物发育中的相似作用, 而其时空表达性差异又体现了近缘物种间的进化差异。Perez-Rodriguez 等 (2004) 的进化分析表明了 *AmMYBML2* 和 *PhMYB1* 的高度同源性, 由此反映了它们来自于同一祖先基因的推论。而不同基因异位表达后的植株花瓣表型差异则反映了它们的功能特异性。各个基因的不同进化过程改变了它们功能发挥的途径, 但进化的保守性又促使它们形成了功能的重叠区。而所有基因在烟草中的异位表达结果也验证了它们既相似又相异的生物学功能。

综上所述, *Mixta* 对锥形细胞的形成具有调控作用, 这种调控功能的发挥依赖于其不同组织中的时空表达特异性。*Mixta* 及其同源基因共同特异性调节不同花组织器官的生长。其它与 *Mixta* 功能相似的基因在不同被子植物中均参与花瓣表型的调控, 其作用靶位, 时空差异和功能特异性有机结合, 与上下游作用元件共同构成 MYB 类转录因子的局部调控网络。

4 展望

随着生物领域研究的发展和深入, 人们通过对花组织形态的观察并依赖分子生物学的方法

及基因工程手段的辅助改良花的性状,以获得花的理想形态。锥形细胞的研究正是源于人们对花质感的不断认知而兴起。在被子植物花的不断进化过程中,虫媒传粉的重要性及花对自然界选择压力的适应决定了花瓣表面部分细胞向锥形细胞的进化。目前已发现多种被子植物花瓣表面存在锥形细胞。通过研究已经了解到:锥形细胞可以辅助受粉者在花上定位,通过改变光路而影响花瓣的颜色,利用锥形细胞的形状及其汇聚光线的作用来保持花瓣表面湿度和适当温度,并检测到含锥形细胞花瓣表面可产生特有的挥发性物质,这些特性均为被子植物的授粉作用提供了保障;同时,独特的花瓣质感也提高了花卉植物的观赏价值。对于利用锥形细胞功能改良花卉性状的研究工作还将继续深入开展下去。目前,利用转基因技术将与锥形细胞形成相关的调控基因导入目标植物内从而进行目标性状花卉的资源育种工作已成为研究的主要方向,而其也必将进一步揭示锥形细胞在被子植物花生长发育过程中和花卉育种中所展现的更深远的意义。

References

- Albert N W, Lewis D H, Zhang H, Schwinn K E, Jameson P E, Davies K M. 2011. Members of an R2R3-MYB transcription factor family in *Petunia* are developmentally and environmentally regulated to control complex floral and vegetative pigmentation patterning. *The Plant Journal*, 65 (5): 771 - 784.
- Barthlott W, Neinhuis C. 1997. Purity of the sacred lotus, or escape from contamination in biological surfaces. *Planta*, 202: 1 - 8.
- Bateman R M, Bradshaw E, Devey D S, Glover B J, Malmgren S, Sramkó G, Thomas M M, Rudall P J. 2011. Species arguments: Clarifying competing concepts of species delimitation in the pseudo-copulatory orchid genus *Ophrys*. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 165: 336 - 347.
- Baudino S, Caissard J C, Bergougnoux V, Jullien F, Magnard J L, Scalliet G, Cock J M, Hugueney P. 2007. Production and emission of volatile compounds by petal cells. *Plant Signaling & Behavior*, 2 (6): 525 - 526.
- Baumann K, Perez-Rodriguez M, Bradley D, Venail J, Bailey P, Jin H, Koes R, Roberts K, Martin C. 2007. Control of cell and petal morphogenesis by R2R3 MYB transcription factors. *Development*, 134 (9): 1691 - 1701.
- Bergougnoux V, Caissard J C, Jullien F, Magnard J L, Scalliet G, Cock J M, Hugueney P, Baudino S. 2007. Both the adaxial and abaxial epidermal layers of the rose petal emit volatile scent compounds. *Planta*, 226 (4): 853 - 866.
- Comba L, Corbet S A, Hunt H, Outram S, Parker J S, Glover B J. 2000. The role of genes influencing the corolla in pollination of *Antirrhinum majus*. *Plant, Cell and Environment*, 23: 639 - 647.
- Di Stilio V S, Martin C, Schulfer A F, Connelly C F. 2009. An ortholog of *MIXTA-like2* controls epidermal cell shape in flowers of *Thalictrum*. *New Phytologist*, 183 (3): 718 - 728.
- Dyer A G, Whitney H M, Arnold S E, Glover B J, Chittka L. 2006. Bees associate warmth with floral colour. *Nature*, 442 (7102): 525.
- Dyer A G, Whitney H M, Arnold S E J, Glover B J, Chittka L. 2007. Mutations perturbing petal cell shape and anthocyanin synthesis influence bumblebee perception of *Antirrhinum majus* flower colour. *Arthropod-Plant Interactions*, 1: 45 - 55.
- Effmert U, Große J, Röse U S, Ehrig F, Kägi R, Piechulla B. 2005. Volatile composition, emission pattern, and localization of floral scent emission in *Mirabilis jalapa* (Nyctaginaceae). *American Journal of Botany*, 92 (1): 2 - 12.
- Feller A, Machemer K, Braun E L, Grotewold E. 2011. Evolutionary and comparative analysis of MYB and bHLH plant transcription factors. *The Plant Journal*, 66 (1): 94 - 116.
- Fritze K, Staiger D, Czaja I, Walden R, Schell J, Wing D. 1991. Developmental and UV light regulation of the snapdragon chalcone synthase promoter. *Plant Cell*, 3: 893 - 905.
- Glover B J, Martin C. 1998. The role of petal cell shape and pigmentation in pollination success in *Antirrhinum majus*. *Heredity*, 80: 778 - 784.
- Glover B J, Perez-Rodriguez M, Martin C. 1998. Development of several epidermal cell types can be specified by the same MYB-related plant transcription factor. *Development*, 125 (17): 3497 - 3508.
- Goodrich J, Carpenter R, Coen E S. 1992. A common gene regulates pigmentation pattern in diverse plant species. *Cell*, 68: 955 - 964.
- Gorton H L, Vogelmann T C. 1996. Effects of epidermal cell shape and pigmentation on optical properties of *Antirrhinum* petals at visible and ultraviolet wavelengths. *Plant Physiol*, 112 (3): 879 - 888.

- Kay Q O N, Daoud H S, Stirton C H. 1981. Pigment distribution, light reflection and cell structure in petals. *Botanical Journal of the Linnaean Society*, 83: 57 – 84.
- Kevan P G. 1983. Floral colors through the insect eye: What they are and what they mean//Jones C E, Little R J. *Handbook of Experimental Pollination Biology*, New York: van Nostrand Reinhold Company: 3 – 30.
- Kevan P G, Chittka L, Dyer A G. 2001. Limits to the salience of ultraviolet: Lessons from colour vision in bees and birds. *J Exp Biol*, 204: 2571 – 2580.
- Kolosova N, Sherman D, Karlson D, Dudareva N. 2001. Cellular and subcellular localization of S-adenosyl-L-methionine: Benzoic acid carboxyl methyltransferase, the enzyme responsible for biosynthesis of the volatile ester methylbenzoate in snapdragon flowers. *Plant Physiol*, 126 (3): 956 – 964.
- Levy M. 1987. Flavonoids and pollination ecology: Pigments of systematists' imagination? *Phytochem Bull*, 2: 35 – 42.
- Martin C, Bhatt K, Baumann K. 2001. Shaping in plant cells. *Current Opinion in Plant Biology*, 4 (6): 540 – 549.
- Martin C, Bhatt K, Baumann K, Jin H, Zachgo S, Roberts K, Schwarz-Sommer Z, Glover B, Perez-Rodriguez M. 2002. The mechanics of cell fate determination in petals. *The Royal Society*, 357 (1422): 809 – 813.
- Martin C, Glover B J. 2007. Functional aspects of cell patterning in aerial epidermis. *Current Opinion in Plant Biology*, 10 (1): 70 – 82.
- Martin C, Ellis N, Rook F. 2010. Do transcription factors play special roles in adaptive variation? *Plant Physiology*, 154 (2): 506 – 511.
- Miller R, Owens S J, Rørslett B. 2011. Plants and colour: Flowers and pollination. *Optics & Laser Technology*, 43: 282 – 294.
- Mol J, Grotewold E, Koes R. 1998. How genes paint flowers and seeds. *Trends in Plant Science*, 3 (6): 212 – 217.
- Mooney M, Desnos T, Harrison K, Jones J, Carpenter R, Coen E. 1995. Altered regulation of tomato and tobacco pigmentation genes caused by *delila* gene of *Antirrhinum*. *The Plant Journal*, 7 (2): 333 – 339.
- Morohashi K, Grotewold E. 2009. A systems approach reveals regulatory circuitry for *Arabidopsis* trichome initiation by the GL3 and GL1 selectors. *PLoS Genetics*, 5 (2): e1000396.
- Neinhuis C, Barthlott W. 1997. Characterization and distribution of water-repellent, self-cleaning plant surfaces. *Ann Bot*, 79: 667 – 677.
- Noda K, Glover B J, Linstead P, Martin C. 1994. Flower colour intensity depends on specialized cell shape controlled by a Myb-related transcription factor. *Nature*, 369 (6482): 661 – 664.
- Payne T, Clement J, Arnold D, Lloyd A. 1999. Heterologous myb genes distinct from GL1 enhance trichome production when overexpressed in *Nicotiana tabacum*. *Development*, 126 (4): 671 – 682.
- Perez-Rodriguez M, Jaffe F W, Butelli E, Glover B J, Martin C. 2004. Development of three different cell types is associated with the activity of a specific MYB transcription factor in the ventral petal of *Antirrhinum majus* flowers. *Development*, 132 (2): 359 – 370.
- Rands S A, Glover B J, Whitney H M. 2011. Floral epidermal structure and flower orientation: Getting to grips with awkward flowers. *Arthropod-Plant Interactions*.
- Sapir Y, Shmida A, Ne'eman G. 2006. Morning floral heat as a reward to the pollinators of the *Oncocyclus irises*. *Oecologia*, 147 (1): 53 – 59.
- Scoville A G, Barnett L L, Bodbyl-Roels S, Kelly J K, Hileman L C. 2011. Differential regulation of a MYB transcription factor is correlated with transgenerational epigenetic inheritance of trichome density in *Mimulus guttatus*. *New Phytologist*, 191 (1): 251 – 263.
- Vorobyev M, Gumbert A, Kunze J, Giurfa M, Menzel R. 1997. Flowers through insect eyes. *Isr J Plant Sci*, 45: 93 – 101.
- Whitney H, Chittka L. 2007. Warm flowers, happy pollinators. *Biologist*, 54 (2): 154 – 159.
- Whitney H M, Federle W, Glover B J. 2009a. Grip and slip-Mechanical interactions between insects and the epidermis of flowers and flower stalks. *Communicative & Integrative Biology*, 2 (6): 505 – 508.
- Whitney H M, Chittka L, Bruce T J, Glover B J. 2009b. Conical epidermal cells allow bees to grip flowers and increase foraging efficiency. *Current Biology*, 19 (11): 948 – 953.
- Whitney H M, Poetes R, Steiner U, Chittka L, Glover B J. 2011. Determining the contribution of epidermal cell shape to petal wettability using isogenic antirrhinum lines. *PLoS One*, 6 (3): e17576.
- Wienand U, Sommer H, Schwarz-Sommer Z, Shepherd N, Saedler H, Kreuzaler F, Ragg H, Fautz E, Hahlbrock K, Harrison B. 1982. A general method to identify plant structural genes among genomic DNA clones using transposable element induced mutations. *Mol Gen Genet*, 187 (2): 195 – 201.
- Yang C, Li H, Zhang J, Luo Z, Gong P, Zhang C, Li J, Wang T, Zhang Y, Lu Y, Ye Z. 2011. A regulatory gene induces trichome formation and embryo lethality in tomato. *PNAS*, 108 (29): 11836 – 11841.