

阳春砂仁 (*Amomum villosum*) 花气味传粉前后的变化及其生态意义

张 亭^{1,2} 杨 培¹ 郭岩伟³ 赵荣华³ 彭艳琼^{1*}

(¹中国科学院西双版纳热带植物园热带森林生态学重点实验室, 昆明 650223; ²中国科学院大学, 北京 100049; ³云南中医药大学, 昆明 650500)

摘 要 在植物有性繁殖中, 花气味是吸引传粉昆虫到访, 获得传粉、受精的重要化学信号。阳春砂仁 (*Amomum villosum*) 是我国四大南药之一, 自然结实率低是限制其增产的瓶颈。探索阳春砂仁开花吸引传粉昆虫的化合物是解决结实率低的前提基础。因此, 本研究采用动态顶空吸附法分别收集阳春砂仁传粉前后花释放的挥发物, 利用气相色谱-质谱 (GC-MS) 联用技术分析鉴定其成分, 对比研究两者间的异同, 并分析其生态意义。结果表明: 从阳春砂仁花释放的挥发物中共鉴定出 22 种化合物, 主要由萜类、芳香族化合物和脂肪酸衍生物构成。传粉前后阳春砂仁花挥发物显著分化, 肉豆蔻酸异丙酯、酞酸二乙酯、壬醛、双环吉马烯、2,3-二氢-4-甲基-咪喃、 α -法尼烯和十三烷在昆虫传粉后消失, 且 γ -榄香烯、D-柠檬烯、 β -水芹烯、 α -蒎烯和 2-十一酮在传粉后含量减少; 传粉后新增 2-甲基-5-(1-甲基乙基)-2-环己烷-1-酮、3,7-二甲基-1,6-辛二烯-3-醇和 4-亚甲基-1-(1-甲基乙基)-双环 [3.1.0] 己烷, 并且苯甲酸己酯、 β -月桂烯、叔丁基对甲酚和 4,7-二甲基-十一烷含量增加。这些传粉前后变化的物质可能是引起传粉昆虫行为反应的主要活性化合物, 阳春砂仁花通过释放多种化合物, 并依靠不同配比实现对传粉昆虫的吸引, 其执行的是“泛化”的化学通讯策略。进一步筛选活性化合物, 可为改善阳春砂仁传粉效率、增加其产量提供依据。

关键词 阳春砂仁; 传粉昆虫; 花气味; 传粉前后

Variation of floral scent composition of *Amomum villosum* before and after pollination and its ecological significance. ZHANG Ting^{1,2}, YANG Pei¹, GUO Yan-wei³, ZHAO Rong-hua³, PENG Yan-qiong^{1*} (¹Key Laboratory of Tropical Forest Ecology, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China; ²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; ³Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China).

Abstract: During the process of sexual reproduction of plants, volatile compounds emitted by flowers play an important role in attracting pollinators who prompt pollination and fertilization of flowers. *Amomum villosum* is one of the four most famous traditional medicines in south China. The low set rate is the bottleneck of production of *A. villosum*. Here, the head space dynamic method was used to collect the floral scents from *A. villosum* before and after pollination. The chemical compositions were analyzed and identified by gas chromatography and mass spectrometry (GC-MS). The results showed that total 22 volatile compounds were found from the floral scents before and after pollination, which were mainly classified into aliphatic, terpenoids and aromatic compounds. The components of volatiles obviously differed before and after pollination. Compared with floral scents before pollination, seven chemical compounds (isopropylmyristate, diethyl phthalate, nonanal, bicyclogermacrene, 2,3-dihydro-4-methyl-, α -farnesene and tridecane) disappeared, while γ -elemene, β -phellandrene, D-limonene, α -pinene and 2-undecanone com-

云南省南药研究协同创新项目和国家重点研发计划项目(2017YFC1700704)资助。

收稿日期: 2018-03-23 接受日期: 2018-09-12

* 通讯作者 E-mail: pengyq@xtbg.ac.cn

pound decreased after pollination. Three chemical compounds [2-cyclohexen-1-one, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-, 1,6-octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-, and bicyclo [3.1.0] hexane 4-methylene-1-(1-methylethyl)] newly appeared, and benzoic acid, hexyl ester, β -myrcene, butylated hydroxytoluene and undecane, 4,7-dimethyl- increased after pollination. These compounds with dramatical changes before and after pollination should be the main active compounds causing the pollinator's behavioral response. The flowers of *A. villosum* released multiple chemical compounds with different component ratios to attract potential pollinators, which performed the chemical communication of "generalization" strategy. Furthermore, screening active compounds that can effectively attract pollinators may improve the pollination and seed production of *A. villosum*.

Key words: *Amomum villosum*; pollination insect; floral scent; before and after pollination.

花气味是由植物花及腺体释放的一类具有香气的挥发性物质,作为一种媒介,是植物与传粉昆虫之间交流的“语言”(Pellmyr *et al.*, 1986)。专性的传粉昆虫可通过识别花气味来寻找“特异”植株,泛化的传粉昆虫可通过花气味寻找“最有价值”的植株,这种“价值”即花气味传达的花蜜或花粉的质量。植物体则通过花气味吸引传粉昆虫,控制传粉的时间和空间,保证传粉过程及种群的繁殖(Wright *et al.*, 2009)。花气味的组成和含量在花发育的过程中不断变化,并受到花发育、传粉状态、内源生物钟和环境因素等的影响(Kolosova *et al.*, 2001)。为了使传粉机会最大化,做好接受花粉的准备,花在传粉昆虫最活跃的时候完全开放,释放出大量“吸引力”气味;完成传粉后,气味逐渐减弱直至消失,在传粉后花气味还会因防虫的因素发生改变。花气味的释放有一定的节律并维持一个相对恒定的水平。如:白天释放的气味比夜间浓郁的花,主要在白天吸引昆虫完成传粉;在夜间传粉的花,情况则相反(Yakir *et al.*, 2007)。花气味在维持植物有性繁殖中的重要作用,包括吸引有效传粉者,趋避无效传粉者及其他植食性昆虫(Zhang *et al.*, 2016; Milet-Pinheiro *et al.*, 2018)。此外,花气味中有效吸引传粉者的物质筛选与作用评估(Zhang, 2018),花气味在不同植物分类单元上的差异性(Knudsen *et al.*, 2006),花气味形成和组成的生物化学功能和分子生物学机制(Dudareva *et al.*, 2000; Amrad *et al.*, 2016)均取得一定研究进展,已成为植物学和传粉生物学的研究热点。自然界中植物花与访花昆虫间的化学通讯有两种模式,一种是“泛化”(generalization)策略,即通过释放一些常见的挥发性物质以区别于其他物种的组成比例形成特异性;这些化合物一般是通过生物途径合成,普遍存在于植物体中,包括各种脂肪酸衍生物和萜类物质(Degenhardt *et al.*, 2003)。第二种是

“专化”(specialization)策略,即主要通过释放不常见的挥发性物质来实现其特异性,这些化合物往往是植物次生代谢分解产生的,如一些芳香族化合物(Dötterl *et al.*, 2005)。大多数植物种类是采取“泛化”策略吸引传粉者,而采取“专化”策略的植物种类极为少见(Knudsen *et al.*, 1993, 2006; Chen *et al.*, 2009; Schlitter *et al.*, 2011)。

阳春砂仁(*Amomum villosum*)隶属姜科(Zingiberaceae)豆蔻属(*Amomum*),多年生草本植物,是我国四大南药之一,其干燥成熟果实有化湿开胃,温脾止泻,理气安胎的功效(高伟, 2011)。豆蔻属其他植物雌雄性繁殖器官异熟,花柱可以卷曲运动,属于典型虫媒异交系统(陈绪超, 2007),而阳春砂仁雌雄性繁殖器官同时成熟,花柱不卷曲,其花药包在花柱唇瓣内,且花柱高于花药,花粉很难散落在柱头上,几乎无法自交,只能依靠昆虫传粉;辅助人工授粉,可提高产量,但劳动强度大、成本高、会踏伤花序和匍匐茎,不利于规模化种植,同时人工自花授粉也会降低阳春砂仁抗逆性,不利于保存优质品种(李合英等, 2012; 彭建明等, 2012)。因此,利用昆虫传粉是提高阳春砂仁传粉效率及产量的最经济、最有效手段。不同阳春砂仁产地的访花昆虫群落不同,主要传粉昆虫种类及传粉效率存在差异(朱涛等, 1989; 何振兴等, 1992; 张文庆等, 2006)。已报道,为阳春砂仁传粉的昆虫主要是蜜蜂总科中的多种蜜蜂,以彩带蜂传粉效果最佳,还有蚂蚁、叩头虫和象鼻虫等昆虫(樊瑛等, 1986);我们在云南金平阳春砂仁种植区观察到的优势传粉昆虫是大蜜蜂(*Apis dorsata*)。总体上,阳春砂仁自然结实率、产量低(林文荣等, 1989; 郑征等, 2004),通过改善阳春砂仁的传粉、增加结实率是提高其产量的重要途径之一。

为了吸引传粉者,提取、鉴定花气味已获得广泛

研究,特别在一些专性的传粉系统中(Hossaert-Mckey *et al.*, 2016;张亭等, 2017),并且同种植物不同分布区花气味的变异可能导致吸引不同的传粉者(Suinyuy *et al.*, 2013;Rodríguez-García *et al.*, 2017),以及种间花气味的模拟可能导致不同植物间共享同样的传粉者(Cornille *et al.*, 2011; Nunes *et al.*, 2017)。此外,关于姜科植物的传粉生物学研究已有很多报道(Li *et al.*, 2001;司民真等, 2015;Paudel *et al.*, 2017; Poulsen *et al.*, 2017),针对阳春砂仁传粉生物学也有相关研究(熊丽等, 1988;何振兴等, 1992;彭建明等, 2012)。然而,尚未见对阳春砂仁花气味的研究。传粉昆虫适时、有效的传粉是决定阳春砂仁结实率的基础(何振兴等, 1992)。因此,本研究以云南省金平县人工种植的阳春砂仁为材料,该地区为阳春砂仁传粉的优势昆虫是大蜜蜂,收集、鉴定了未被传粉和大蜜蜂传粉后阳春砂仁花释放的挥发物,对比研究传粉前后化合物种类及相对含量的变化,比较、筛选该地区吸引传粉昆虫的主要化合物,为改善阳春砂仁传粉效率、增加产量提供科学依据。

1 研究地区与研究方法

1.1 研究地点

研究地点位于云南省金平县黄牛克村云南中医学院阳春砂仁生态集约化种植示范基地内(22°59'26.06"N, 103°17'29.28"E, 海拔 862 m)。属于热带季风气候带,山多林茂,年平均降雨量 2330 mm,年均气温 18 ℃。雨季主要集中在 5—8 月。

1.2 阳春砂仁花挥发物的收集方法

在阳春砂仁出现花蕾时,在株龄相同的阳春砂仁种植地,随机选取未开放的花蕾,用 120 目纱网袋隔离防止传粉昆虫到访。待到盛花期时,在花朵开放当天,上午 10:00 时,移走隔离袋,迅速取 30 朵未被传粉的花,用于收集传粉前阳春砂仁花释放的挥发性化合物。然后,移走隔离袋保护的花蕾,观察开放的花是否有传粉昆虫到访,已被优势传粉昆虫大蜜蜂拜访和传粉的花挂上标签,于下午 15:00 时,采集 30 朵已挂标签、确认被传粉的花,及时收集传粉后阳春砂仁花释放的挥发性化合物。

采用动态顶空吸附法收集花释放的挥发物。主要工作流程:将采集好的花装入无味透明的聚氟乙烯采集袋(2 L, Teflon FEP, 大连德霖气体包装有限公司)中,袋两端分别留有进气口和出气口。首先,

用气体采样仪的出气口,将空气通入活性碳管(外径 6 mm, 长 75 mm, SigmaAldrich, 美国)内进行净化,之后经由采集袋进气口进入袋中,促使袋内花朵气味挥发,最后进气口将挥发的气味经由采集袋出气口抽出,导入 Porapak Q(100 mg/50 mg, 60 目/80 目, Sigma-Aldrich, 美国)吸附管(外径 6 mm, 长 75 mm)中进行吸附。通气端和出气端空气流量控制流速均为 400 mL · min⁻¹。连接装置器件之间均用无味的特氟隆管(PTEE, VICI Jour, 瑞士)连接。传粉前的花气味在上午 10:00—12:00 进行收集,采集前根据花药的完整性和花瓣的新鲜程度仔细观察是否为当天开放的花。传粉后的花气味在下午 16:00—17:00 进行收集。在采样过程中,用空采样袋中通空气作为空白对照,与花气味收集同步进行。采集完毕后,用锡箔纸包裹吸附管并装入密封袋内,置于超低温冰盒带回实验室。用色谱纯正己烷洗脱 3 次,用氮吹仪吹气浓缩至 100 μL,置于 -20 ℃ 冰箱中保存待分析。最终,传粉前花气味收集到 8 个样品,传粉后的花气味收集到 5 个样品。

1.3 挥发性化合物分析

准备好的样品采用气相色谱-质谱联用仪(GC-MS; GC, HP-7890A; MS, HP-5975C; Agilent Technologies, USA)进行分析。GC 的分析条件为:HP-5MS 石英毛细管柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm);进样采用不分流模式。进样量为 1 μL,柱温 40 ℃ 保持 1 min,程序升温以每分钟 3 ℃ 升温至 80 ℃;再以每分钟 5 ℃ 升至 260 ℃,保持 10 min。柱流量为每分钟 1.0 mL。离子轰击源设为扫描功能,质量扫描范围 35~500 amu,电离方式 EI;电子能量 70 eV。柱前压 100 kPa。MS 条件:离子源温度 230 ℃;极杆温度 150 ℃。阳春砂仁花挥发性化合物的分析鉴定利用仪器自带的标准谱库(NIST08)检索目标化合物。

1.4 数据分析

各化合物相对含量用峰面积表示,利用 Excel 2010 计算峰面积比例,相对含量采用平均值加减标准误差表示。利用 R 3.0.3 软件(R Development Core Team, 2015)中 Vegan、MASS 和 lattice 数据包,使用非加权配对算术平均法(UPGMA)进行聚类分析,用聚类树直观地表现传粉前后阳春砂仁花气味的相似性(Wang *et al.*, 2014),利用 PERMANOVA 方法分析传粉前后的挥发性化合物构成是否有差异。对阳春砂仁传粉前后的气味组成进行主成分提取分析,对主成分进行非参数 Krushal-Wallis 检验。

2 结果与分析

2.1 传粉前后砂仁花释放的挥发物类别及含量变化

砂仁花释放的挥发物共分析、鉴定出 22 种,由 13 种萜烯类化合物、2 种脂肪酸衍生物及 7 种芳香族化合物三大类构成,其传粉前的主要成分是石竹烯、 β -水芹烯和 D-柠檬烯,传粉后的主要成分是石竹烯、4,7-二甲基-十一烷和苯甲酸己酯。砂仁传粉前释放的挥发物有 19 种,传粉后释放的挥发物有 15 种(表 1)。三类化合物在传粉前分别有 11 种、2 种和 6 种,传粉后分别为 10 种、0 种和 5 种;相应地,传粉前三类化合物的相对含量分别为 72.10%、8.30%和 19.40%,而传粉后三类化合物分别变化为 57.90%、0%和 42.10%(图 1)。

2.2 传粉前后砂仁花挥发物的构成

砂仁传粉前释放的挥发物有 19 种,主要成分(相对含量>5%)为:石竹烯、 β -水芹烯、D-柠檬烯、

表 1 传粉前后阳春砂仁花挥发物的构成

Table 1 The relative contents of volatile compounds of flowers of *Amomum villosum*

化合物	保留时间 (min)	相对含量(%)	
		传粉前	传粉后
萜烯类化合物			
石竹烯	25.33	15.28±0.68	16.99±1.23
β -水芹烯	9.8	14.42±1.01	3.97±0.66
D-柠檬烯	10.45	10.4±0.81	4.56±0.99
γ -榄香烯	27.11	5.51±0.75	2.43±0.44
β -月桂烯	11.59	5.42±0.59	8.26±0.62
α -蒎烯	8.48	5.35±0.98	4.41±0.71
双环吉马烯	25.34	4.26±0.36	-
4-亚甲基-1-(1-甲基乙基)-环己烯	11.57	3.85±0.58	4.10±0.83
α -法呢烯	18.65	3.07±0.34	-
2,3-二氢-4-甲基-咪喃	7.68	2.37±0.24	-
β -蒎品醇	13.36	2.23±0.28	2.23±0.29
4-亚甲基-1-(1-甲基乙基)-双环[3.1.0]己烷	10.88	-	5.61±0.44
3,7-二甲基-1,6-辛二烯-3-醇	12.38	-	5.39±1.39
脂肪酸衍生物			
肉豆蔻酸异丙酯	30.08	6.16±0.61	-
壬醛	16.25	2.14±0.32	-
芳香族化合物			
苯甲酸己酯	35.82	4.38±0.48	11.01±0.73
叔丁基对甲酚	28.61	4.33±0.37	10.51±1.25
酞酸二乙酯	30.57	3.79±0.46	-
4,7-二甲基-十一烷	22.29	3.01±0.13	11.27±0.94
2-十一酮	23.54	2.03±0.35	1.42±0.69
十三烷	25.73	1.96±0.51	-
2-甲基-5-(1-甲基乙基)-2-环己烷-1-酮	21.18	-	10.05±0.63

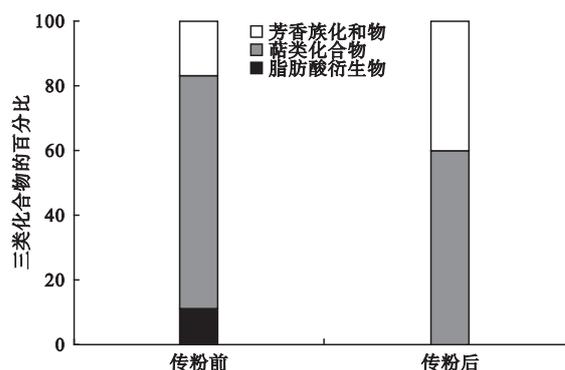


图 1 传粉前后阳春砂仁花挥发物类别的相对含量

Fig.1 Relative content of terpenoids, aliphatic and aromatic compounds from flowers of *Amomum villosum* before and after pollination

肉豆蔻酸异丙酯、 γ -榄香烯、 β -月桂烯和 1R- α -蒎烯,它们的含量均高,分别占 15.28%、14.42%、10.4%、6.16%、5.51%、5.42%和 5.35%。相比之下,传粉后挥发物有 15 种,主要成分则为:石竹烯、4,7-二甲基-十一烷、苯甲酸己酯、叔丁基对甲酚、2-甲基-5-(1-甲基乙基)-2-环己烷-1-酮、 β -月桂烯、4-亚甲基-1-(1-甲基乙基)-双环[3.1.0]己烷和顺式- β -蒎品醇,它们的相对含量分别为:16.99%、11.27%、11.01%、10.51%、10.05%、8.26%、5.61%和 5.39%(表 1)。传粉前后共享化合物达 12 种,占有化合物的 59.09%。其中,肉豆蔻酸异丙酯、酞酸二乙酯、壬醛、双环吉马烯、2,3-二氢-4-甲基-咪喃、 α -法呢烯和十三烷为传粉前特有的物质,而传粉后仅有(S)-2-甲基-5-(1-甲基乙基)-2-环己烷-1-酮、3,7-二甲基-1,6-辛二烯-3-醇和 α -法呢烯三种特有物质。

2.3 传粉前后砂仁花挥发性化合物含量的变化

石竹烯在砂仁传粉前后都是其花挥发物中含量最高的物质,并且传粉前后变异小,是砂仁花气味的基本组成成分。伴随昆虫传粉进程,肉豆蔻酸异丙酯、酞酸二乙酯、壬醛、双环吉马烯、2,3-二氢-4-甲基-咪喃、 α -法呢烯和十三烷在砂仁传粉后消失,并且 γ -榄香烯、D-柠檬烯、 β -水芹烯、 α -蒎烯和 2-十一酮物质在传粉后含量减少(图 2)。砂仁经传粉后,新出现了 2-甲基-5-(1-甲基乙基)-2-环己烷-1-酮、3,7-二甲基-1,6-辛二烯-3-醇和 4-亚甲基-1-(1-甲基乙基)-双环[3.1.0]己烷三种化合物,同时,苯甲酸己酯、 β -月桂烯、叔丁基对甲酚和 4,7-二甲基-十一烷在传粉后含量增加。这些传粉后消失及含量有急剧变化的化合物很可能就是砂仁吸引传粉昆虫的重要化学线索。

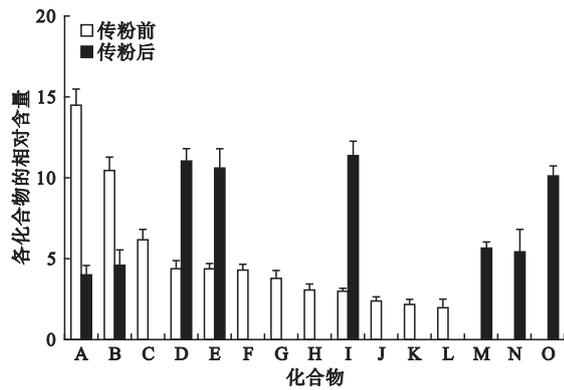


图2 阳春砂仁花挥发物中的15种主要化合物在传粉前后的变化

Fig.2 Changes in the 15 main compounds from flowers of *Amomum villosum* before and after pollination (sort by retention time)

A. β -水芹烯; B. D-柠檬烯; C. 肉豆蔻酸异丙酯; D. 苯甲酸己酯; E. 叔丁基对甲酚; F. 双环吉马烯; G. 酞酸二乙酯; H. α -法呢; I. 4,7-二甲基-十一烷; J. 2,3-二氢-4-甲基-呋喃; K. 壬醛; L. 十三烷; M. 4-亚甲基-1-(1-甲基乙基)-双环[3.1.0]己烷; N. 3,7-二甲基-1,6-辛二烯-3-醇; O. 2-甲基-5-(1-甲基乙基)-2-环己烷-1-酮。

2.4 砂仁传粉前后释放挥发物的差异

虽然阳春砂仁传粉前花释放的挥发性化合物不同样品间存在差异,但变异较小,通过聚类分析,8个未传粉花气味样品(BP1-BP8)独立聚为一支。此外,传粉后的5个花气味样品 AP1-AP5 也单独聚为另一支。传粉前后花气味的组成明显分为两枝,发生了显著的分化(PERMANOVA, $P < 0.01$) (图3)。对阳春砂仁花气味已鉴定的22种化合物进行主成分分析,结果如图4所示,主成分1和2的累计方差的累计贡献率达92.09%,可以认为这两种主成分包含了阳春砂仁花气味的主要信息,且传粉前后的花气味主成分完全分离,也说明传粉前后花气味的

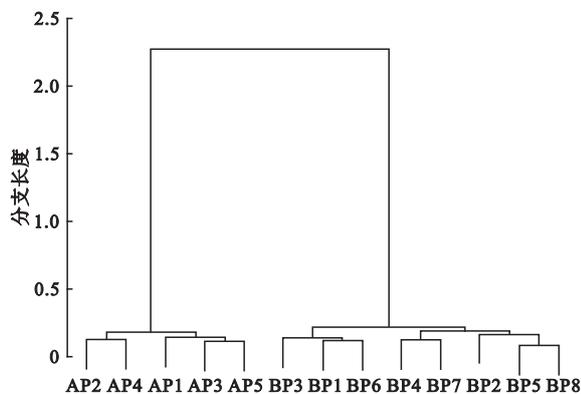


图3 阳春砂仁花气味传粉前后的聚类比较

Fig.3 Clustering (ordination) of chemical composition of volatiles from *Amomum villosum*

BP, 传粉前; AP, 传粉后。

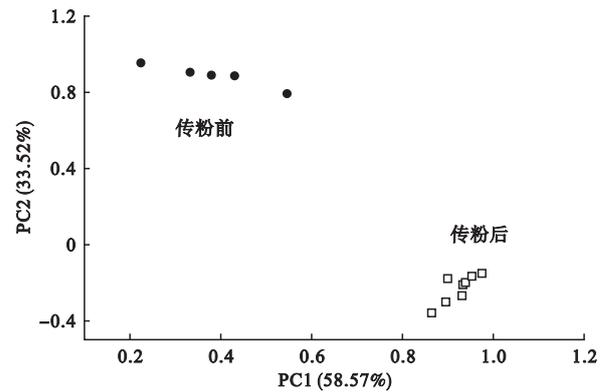


图4 阳春砂仁传粉前后花气味化合物的主成分分析

Fig.4 Principal component analysis (PCA) of the compounds from floral scents of *Amomum villosum* before and after pollination

化学主成分存在极明显的差异 ($\chi^2 = 449.15$, $P < 0.001$)。

3 讨论

花气味是由植物花瓣及腺体释放的一类具有香气的挥发性物质。本研究提取阳春砂仁授粉前后释放的挥发物,经GC-MS分析,鉴定出化合物22种,由萜烯类化合物、脂肪酸衍生物及芳香族化合物三类构成,主要成分是石竹烯、 β -水芹烯和D-柠檬烯。石竹烯在姜科多个属的植物中普遍存在, β -水芹烯也是姜属(*Zingiber*)和山姜属(*Alpinia*)植物中的常见物质;D-柠檬烯在豆蔻属(*Amomum*)其他植物中也有发现(司民真等,2015)。授粉前的花气味有19种化合物,经大蜜蜂授粉后,肉豆蔻酸异丙酯、酞酸二乙酯、壬醛、双环吉马烯、2,3-二氢-4-甲基-呋喃、 α -法呢烯和十三烷共7种化合物消失,以及 γ -榄香烯、D-柠檬烯、 β -水芹烯、 α -蒎烯和2-十一酮物质含量减少。已报道, α -法呢烯是开花植物中能吸引多种传粉昆虫的化合物(Knudsen *et al.*, 2006); β -榄香烯和 β -石竹烯是唇形科植物野坝子(*Elsholtzia rugulosa*)花中吸引其传粉者东方蜜蜂的主要物质,两种物质单独作用能有效吸引传粉者,且两种物质互作具有增益效应,增加吸引力(Zhang *et al.*, 2016; Zhang, 2018);此外, α -蒎烯不仅存在花挥发物中,也是姜科植物挥发油中的主要成分(司民真等,2015)。授粉后,苯甲酸己酯、 β -月桂烯、叔丁基对甲酚和4,7-二甲基-十一烷含量增加,并新增3种化合物;其中, β -月桂烯被报道也是吸引传粉昆虫的化合物(胡春芳等,2018)。总之,这些授粉前后急剧变化的化合

物可能是吸引该地区大蜜蜂前来传粉的活性化合物,但 22 种物质中没有一种物质是阳春砂仁花特有的气味,在其他被子植物中均常见。

植物花气味通常以“泛化”和“专化”的策略来实现其吸引传粉昆虫的特异性,“泛化”的策略较常见,而“专化”的方式很罕见(Knudsen *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2009)。综上所述,阳春砂仁花气味主要是利用常见化合物,通过一定的比例混合形成其“化学指纹图谱”来实现对传粉昆虫的吸引,执行的是“泛化”的化学通讯策略。这种不同比例的组合可能受到温度、湿度等气候环境影响而发生小范围的波动,这种波动在传粉昆虫的感知的范围内。砂仁花传粉前后,化合物明显聚为两枝,并且花气味主成分完全分离,说明传粉、受精已促进花气味显著分化,那些传粉后消失或含量减少的化合物最有可能是吸引传粉昆虫到访的活性化合物。而那些传粉后出现或含量增加的化合物可能有趋避传粉昆虫进一步到访的作用。进一步借助 GC-EAD 技术可以筛选出具引诱活性的化合物,结合野外化合物行为控制及诱捕实验,进一步弄清这些化合物的功能,究竟这些物质是起吸引还是趋避作用,有利于指导改善砂仁的传粉、结实率。

研究表明,阳春砂仁自然传粉条件下阳春砂仁结实率低,自然套袋不结实,人工辅助传粉可提高结实率(彭建明等, 2012)。阳春砂仁是典型的虫媒传粉,文献报道阳春砂仁的访花昆虫有 21 种,不同分布区优势传粉昆虫种类不同,如在广西为 3 种彩带蜂:蓝彩带蜂(*Nomia chalybneata*)、粗腿彩带蜂(*Nomia* sp.)和近似齿彩带蜂(*Nomia punctulata*) (何振兴等, 1992);在云南德宏地区,为黄绿彩带蜂(*Nomia chalybeata*)、蓝彩带蜂和三带熊蜂(*Bombus trifasciatus*) (熊丽等, 1988);在西双版纳地区,主要是大蜜蜂和东方蜜蜂为阳春砂仁传粉(彭建明等, 2012)。本研究发现,云南金平县阳春砂仁的优势传粉昆虫是大蜜蜂。不同分布区的砂仁优势传粉昆虫种类上的差异推测与生境有关,而有差异的生境也可能促使砂仁花气味上的分化,建立起适合不同环境,有区域特点的阳春砂仁及其优势传粉昆虫互作系统。目前,广东阳春砂仁地道产区已缺乏为砂仁传粉的昆虫,不得不用人工传粉方式,耗时费力,难于解决产量问题。因此,研究云南省金平县阳春砂仁种植基地的传粉昆虫种类,筛选优势传粉昆虫,掌握阳春砂仁与传粉昆虫之间化学通讯的机制,进

一步辅助人工驯化、饲养传粉昆虫,增加引诱剂吸引传粉昆虫拜访等措施,可为改善阳春砂仁传粉现状、提高产量探索出有效的途径。

参考文献

- 陈绪超. 2007. 豆蔻属花柱卷曲性运动机制的适应性研究(硕士学位论文). 昆明:中国科学院西双版纳热带植物园.
- 樊 瑛, 刘英慧, 王成福, 等. 1986. 砂仁传粉蜜蜂的研究. 热带作物学报, **7**(1): 131-138.
- 高 伟. 2011. 药用植物阳春砂仁生殖生物学特性初步研究(博士学位论文). 广州: 广州中医药大学.
- 何振兴, 胡延松, 卫锡锦. 1992. 广西砂仁昆虫传粉的研究. 中国中药杂志, **17**(5): 273.
- 胡春芳, 袁相洋, 田 媛, 等. 2018. 常见花卉植物释放挥发性有机化合物的研究进展. 生态学杂志, **37**(2): 588-595.
- 李合英, 吴 鸿. 2012. 阳春砂仁传粉及其生殖生物学研究进展. 亚热带植物科学, **41**(4): 75-78.
- 林文荣, 洪俊溪, 梁金联. 1989. 砂仁开花结实率的研究初报. 福建林学院学报, **9**(S1): 85-87.
- 彭建明, 李荣英, 李 戈, 等. 2012. 阳春砂仁传粉特性与传粉昆虫的研究. 云南中医学院学报, **35**(4): 51-55.
- 司民真, 刘 艳, 张川云, 等. 2015. 姜科植物主要挥发性物质研究进展. 楚雄师范学院学报, **30**(9): 13-23.
- 熊 丽, 邢正秀. 1988. 云南德宏地区阳春砂仁传粉蜜蜂的研究. 热带作物学报, **9**(2): 75-81.
- 张 亭, 王 波, 苗白鸽, 等. 2017. 榕树隐头花序挥发物组成及其传粉榕小蜂寄主识别行为. 植物生态学报, **41**(5): 549-558.
- 张文庆, 杨 沛, 陈 东, 等. 2006. 阳春砂仁的访花昆虫种类及其访花和筑巢行为. 应用昆虫学报, **43**(5): 678-680.
- 郑 征, 甘建民, 冯志立, 等. 2004. 热带林下人工种植阳春砂仁的生长与果实产量动态. 应用生态学报, **15**(1): 5-8.
- 朱 涛, 朱 纯, 江开交. 1989. 砂仁的一种传粉昆虫——中蜂的研究. 中药材, (12): 13-15.
- Amrad A, Moser M, Mandel T, *et al.* 2016. Gain and loss of floral scent production through changes in structural genes during pollinator-mediated speciation. *Current Biology*, **26**: 3303-3312.
- Chen C, Song QS, Proffit M, *et al.* 2009. Private channel: A single unusual compound assures specific pollinator attraction in *Ficus semicordata*. *Functional Ecology*, **23**: 941-950.
- Cornille A, Underhill JG, Cruaud A, *et al.* 2011. Floral volatiles, pollinator sharing and diversification in the fig-wasp mutualism: Insights from *Ficus natalensis*, and its two wasp pollinators (South Africa). *Proceedings of the Royal Society B*, **279**: 1731-1739.
- Degenhardt J, Gershenzon J, Baldwin IT, *et al.* 2003. Attracting

- friends to feast on foes: Engineering terpene emission to make crop plants more attractive to herbivore enemies. *Current Opinion in Biotechnology*, **14**: 169–176.
- Dötterl S, Füssel U, Jürgens A, *et al.* 2005. 1, 4-Dimethoxybenzene, a floral scent compound in willows that attracts an oligolectic bee. *Journal of Chemical Ecology*, **31**: 2993–2998.
- Dudareva N, Pichersky E. 2000. Biochemical and molecular genetic aspects of floral scents. *Plant Physiology*, **122**: 627–634.
- Hossaert-McKey M, Proffitt M, Soler C, *et al.* 2016. How to be a dioecious fig: Chemical mimicry between sexes matters only when both sexes flower synchronously. *Scientific Reports*, **6**: 21236.
- Knudsen JT, Eriksson R, Gershenzon J, *et al.* 2006. Diversity and distribution of floral scent. *The Botanical Review*, **72**: 1–120.
- Knudsen JT, Tollsten L, Bergström LG. 1993. Floral scents: A checklist of volatile compounds isolated by head-space techniques. *Phytochemistry*, **33**: 253–280.
- Kolosova N, Gorenstein N, Kish CM, *et al.* 2001. Regulation of circadian methyl benzoate emission in diurnally and nocturnally emitting plants. *The Plant Cell*, **13**: 2333–2347.
- Li QJ, Xu ZF, Kress WJ, *et al.* 2001. Pollination: Flexible style that encourages outcrossing. *Nature*, **410**: 432.
- Milet-Pinheiro P, Silva JBF, Navarro DM, *et al.* 2018. Notes on pollination ecology and floral scent chemistry of the rare neotropical orchid *Catasetum galeritum* R chb. f. *Plant Species Biology*, **33**: 158–163.
- Nunes CE, Gerlach G, Bandeira KD, *et al.* 2017. Two orchids, one scent? Floral volatiles of *Catasetum cernuum* and *Gongora bufonia* suggest convergent evolution to a unique pollination niche. *Flora*, **232**: 207–216.
- Paudel BR, Shrestha M, Dyer AG, *et al.* 2017. Ginger and the beetle: Evidence of primitive pollination system in a Himalayan endemic alpine ginger (*Roscoea alpina*, Zingiberaceae). *PLoS One*, **12**: e0180460.
- Pellmyr O, Thien LB. 1986. Insect reproduction and floral fragrances: Keys to the evolution of the angiosperms? *Taxon*, **35**: 76–85.
- Poulsen AD, Phonsena P. 2017. Morphological variation and distribution of the useful ginger *Etilingera pavieana* (Zingiberaceae). *Nordic Journal of Botany*, **35**: 467–475.
- R Development Core Team. 2015. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.r-project.org>. Cited: 2016-06-15.
- Rodríguez-García E, Mezquida ET, Olano JM. 2017. You'd better walk alone: Changes in forest composition affect pollination efficiency and pre-dispersal cone damage in Iberian *Juniperus thurifera* forests. *Plant Biology*, **19**: 934–941.
- Schlitter PM, Xu S, Gagliardini V, *et al.* 2011. Stearoyl-acyl carrier protein desaturases are associated with floral isolation in sexually deceptive orchids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **108**: 5696–5701.
- Suinyuy TN, Donaldson JS, Johnson SD. 2013. Variation in the chemical composition of cone volatiles within the African cycadgenus *Encephalartos*. *Phytochemistry*, **85**: 82–91.
- Wang B, Geng XZ, Ma LB, *et al.* 2014. A trophic cascade induced by predatory ants in a fig-fig wasp mutualism. *Journal of Animal Ecology*, **83**: 1149–1157.
- Wright GA, Schiestl FP. 2009. The evolution of floral scent: The influence of olfactory learning by insect pollinators on the honest signalling of floral rewards. *Functional Ecology*, **23**: 841–851.
- Yakir E, Hilman D, Harir Y, *et al.* 2007. Regulation of output from the plant circadian clock. *The FEBS Journal*, **274**: 335–345.
- Zhang FP, Yang QY, Wang G, *et al.* 2016. Multiple functions of volatiles in flowers and leaves of *Elsholtzia rugulosa* (Lamiaceae) from southwestern China. *Scientific Reports*, **6**: 27616.
- Zhang XM. 2018. Floral volatile sesquiterpenes of *Elsholtzia rugulosa* (Lamiaceae) selectively attract Asian honey bees. *Journal of Applied Entomology*, **142**: 359–362.

作者简介 张 亭,女,1992年生,博士研究生,从事进化生态学方向研究工作,已发表文章1篇。E-mail: zhangting@xtbg.ac.cn
责任编辑 魏中青
