

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201905014

朱晓珍, 卢清彪, 胡兴华, 等. 罗汉果叶片挥发性成分与访花昆虫: 雌雄株差异及其生态影响 [J]. 广西植物, 2020, 40(9): 1259–1268.  
ZHU XZ, LU QB, HU XH, et al. Leaf volatile components and foraging insects of dioecious *Siraitia grosvenorii*: Sexual differences and its ecological effects [J]. *Guihaia*, 2020, 40(9): 1259–1268.

## 罗汉果叶片挥发性成分与访花昆虫： 雌雄株差异及其生态影响

朱晓珍<sup>1,2</sup>, 卢清彪<sup>1,2</sup>, 胡兴华<sup>2\*</sup>, 邓涛<sup>2</sup>, 段云博<sup>2</sup>, 方振名<sup>1,2</sup>, 黄仕训<sup>2</sup>

(1. 广西师范大学 珍稀濒危动植物生态与环境保护教育部重点实验室, 广西师范大学 生命科学学院, 广西 桂林 541006; 2. 广西壮族自治区 广西植物研究所, 广西 桂林 541006) 中国科学院

**摘要:** 为探究罗汉果(*Siraitia grosvenorii*) 自然授粉不良的形成原因, 该文以罗汉果品种“大地二号”的种苗为材料, 采用定点定时方法调查罗汉果雌雄株访花昆虫, 同时利用 GC-MS 对雌雄株叶片的挥发性成分进行比较分析。结果表明: 在雄株上观察到访花昆虫 102 种, 分属于 8 目 29 科, 其中包括蜜蜂科、眼蝶科、夜蛾科和天蛾科等传粉昆虫类群; 在雌株上观察到访花昆虫 69 种, 分属于 7 目 16 科, 但未观察到上述传粉昆虫类群。雄株访花昆虫的物种丰富度、多度和 Shannon-Wiener 多样性均显著高于雌株 ( $P < 0.05$ ), Jaccard 相似性分析显示, 雌株和雄株访花昆虫达到中等不相似水平。在雄株叶片中鉴定出挥发性成分 17 种, 优势成分为萜烯类化合物, 占总含量的 67.31%; 在雌株叶片中鉴定出挥发性成分 12 种, 优势成分为烷烃类化合物, 占总含量的 44.27%。雄株具有较多特有成分, 包括 7 种萜烯类和 3 种酯类成分, 占总体成分的 45.45%; 雌株的特有成分较少, 包括 4 种烷烃类和 1 种酯类成分, 占总体成分种类的 22.72%。Jaccard 相似性分析显示, 雌株和雄株的挥发性成分总体上达到中等不相似水平, 其中萜烯类和酯类的相似度更低, 达到极不相似水平。进一步分析表明, 在罗汉果雌雄株之间, 由于挥发性化合物在优势成分上的重要差异, 以及特有成分的大量存在, 可能导致了它们访花昆虫类群的显著差异, 进而影响了罗汉果的自然传粉过程。

**关键词:** 罗汉果, 挥发性成分, 访花昆虫, 雌雄异株, 植物昆虫互作

中图分类号: Q948.12 文献标识码: A

文章编号: 1000-3142(2020)09-1259-10

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



## Leaf volatile components and foraging insects of dioecious *Siraitia grosvenorii*: Sexual differences and its ecological effects

ZHU Xiaozhen<sup>1,2</sup>, LU Qingbiao<sup>1,2</sup>, HU Xinghua<sup>2\*</sup>, DENG Tao<sup>2</sup>,  
DUAN Yunbo<sup>2</sup>, FANG Zhenming<sup>1,2</sup>, HUANG Shixun<sup>2</sup>

收稿日期: 2019-05-21

基金项目: 国家自然科学基金(31560068); 中国科学院“西部之光”人才培养计划项目; 广西科学院基本科研业务费项目(2017YJJ23008) [Supported by the National Natural Science Foundation of China (31560068); West Light Program for Talent Cultivation of Chinese Academy of Sciences; Fundamental Research Foundation of Guangxi Academy of Sciences (2017YJJ23008)].

作者简介: 朱晓珍(1992-), 女, 广西北海人, 硕士研究生, 研究方向为植物传粉生物学, (E-mail) zhuxiaozhen16@163.com.

\*通信作者: 胡兴华, 博士, 副研究员, 硕士研究生导师, 研究方向为植物繁殖生态学与保护生物学, (E-mail) huxh773@163.com.

( 1. Key Laboratory of Ecology of Rare and Endangered Species and Environmental Protection, Ministry of Education Guangxi Normal University, College of Life Sciences, Guangxi Normal University, Guilin 541006, Guangxi, China; 2. Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, Guangxi, China )

**Abstract:** *Siraitia grosvenorii* is an economically important plant due to the edible and medicinal value in Guangxi of China. However, severe pollination limitation has been found in the cultivated variety individuals of this plant, and consequently leads to a sharp rise of cultivation cost because of the highly depending on hand pollination. In order to explore the mechanisms of pollination limitation existed in *S. grosvenorii*, we compared the community of foraging insects and also the leaf volatiles of the male and female individuals of *S. grosvenorii*. Field investigations were conducted to observe the foraging insects of male and female *S. grosvenorii*. The volatile components of the leaves of male and female *S. grosvenorii* were analyzed by headspace solid-phase-microextraction-GC/MS. The results were as follows: A total of 102 species of foraging insects were observed in male *S. grosvenorii*, belonging to 8 orders and to 29 families, including pollinators such as Apidae, Satyridae, Noctuidae and Sphingidae. There were 69 species of foraging insects observed in the female *S. grosvenorii*, which belonging to 7 orders and to 16 families, but the pollinators mentioned above were not found. The species richness, abundance and Shannon-Wiener diversity index of the foraging insects on the male *S. grosvenorii* were significantly higher than the female ( $P < 0.05$ ). The Jaccard's similarity index showed that the foraging insects on the female and male *S. grosvenorii* were at a medium dissimilarity level. Seventeen volatile components were identified from leaf of male *S. grosvenorii*, the main component are terpenes, accounting for 67.31% of the total content. And 12 volatile components were identified from the leaf of female *S. grosvenorii*, and the main components of which were alkane compounds, accounting for 44.27% of the total content. Male plants had many unique volatile components, including seven terpenes and three esters, accounting for 45.45% of the volatile components of *S. grosvenorii*. The female plants had fewer unique volatile components, including only four kinds of alkanes and one ester, accounting for 22.72% of the volatile components of the female of *S. grosvenorii*. Jaccard's index of similarity showed that the volatile components of female and male were generally moderately dissimilar, and the similarity of terpenes and esters was lower, which was extremely dissimilar. Further analysis indicates that the differences in the main components and the existence of unique components in leaf volatile components of male and female individuals may lead to significant differences in their foraging insects, and then affect the natural pollination of *S. grosvenorii*.

**Key words:** *Siraitia grosvenorii*, leaf volatile components, foraging insects, dioecious, plant-insect interactions

罗汉果 (*Siraitia grosvenorii*) 为葫芦科 (Cucurbitaceae) 雌雄异株的多年生藤本植物, 是传统药食两用植物 (李典鹏和张厚瑞, 2000)。作为药材, 罗汉果的球果用于高血压、肺结核、哮喘以及急慢性气管炎等治疗; 在食品行业, 罗汉果球果的甜甙 (mogrosides) 提取物广泛用于食品、乳制品、饮料及保健品等, 在欧美国家广受欢迎, 出口量不断扩大 (孙西楠和杨顺, 2018)。为满足医药和食品行业持续增长的原料需求, 罗汉果种植面积近年来快速增长, 种植区域从桂林市永福县传统种植区扩大到桂林市多个县 (区), 并在南宁、柳州、贺州和河池等地推广种植, 为广西农业发展做出了重

要贡献 (孙西楠和杨顺, 2018)。然而, 罗汉果自然授粉不良的问题十分突出, 较严重地限制了种植业的效益。在罗汉果花期, 雄株的花粉很少被自然界的虫媒传送到雌花柱头, 导致种植园自然坐果率低下 (周良才, 1983); 因此种植园普遍实行人工授粉以提高坐果率 (贾红林等, 2011)。在人工成本不断上涨, 劳动力人口日益减少的社会背景下, 人工授粉环节已成为制约罗汉果种植业生存和发展的主要瓶颈。因此, 研究罗汉果自然授粉不良现象, 探索该自然授粉障碍的突破途径, 对罗汉果产业长期稳定发展意义重大, 而观测罗汉果雌雄植株的访花昆虫, 比较分析其类群的差异, 则

是开展罗汉果自然授粉不良研究的重要一环。

访花昆虫是指在显花植物上频繁活动的昆虫,常见种类包括传粉昆虫、植食性昆虫和天敌昆虫等(官昭瑛等,2005)。访花昆虫对植物的选择受多种因素的影响,如植物化学成分、植物形态特征以及环境因子等,但化学识别在访花昆虫对植物的选择中占据主导地位(钦俊德和王琛柱,2001;Rid et al., 2019)。访花昆虫借助触角上的化学感受器来识别植物的化学信号,这些化学信号主要由植物挥发性成分构成(Fraser et al., 2003;Wei et al., 2018)。植物挥发性成分是植物在代谢过程中产生的多种短链碳氢化合物及其衍生物,已知种类包括烯、炔、醇、醛、酮、酯以及有机酸等(丁红建和郭予元,1995)。对于访花昆虫,植物不同的挥发性成分可能产生不同的影响,一些挥发性成分对访花昆虫可能具有引诱功能(Karpati et al., 2013),而另一些可能产生防御和趋避作用(Hu et al., 2019)。因此,在传粉生物学研究中,把昆虫访花选择与植物挥发性成分进行交叉比较,可以更准确地揭示自然授粉不良的形成原因(王思源,2017;Friberg et al., 2019)。

本研究观察统计罗汉果雌雄株的访花昆虫,同时收集鉴定其叶片挥发性成分,通过交叉比较查明罗汉果雌雄株上访花昆虫的种类差异,并分析这种差异与罗汉果叶片挥发性成分的关系,以为查明罗汉果自然授粉不良的原因奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料和试剂

罗汉果品种“大地二号”的种苗购于桂林吉福思罗汉果有限公司。乙酸乙酯购于广东光华科技股份有限公司;脱脂棉、昆虫针和标本盒等其他试验材料购于桂林贝尔化学试剂有限公司。

### 1.2 仪器和设备

50/30  $\mu\text{m}$  DVB/CAR/PDMS SPME 萃取头购于美国 Supelco 公司;40 mL 顶空进样瓶购于美国 Agilent 公司;顶空固相微萃取装置购于美国 Supelco 公司;HP-5MS 石英毛细管柱购于美国 Agilent 公司;Agilent 7890A 气相色谱仪购于美国

Agilent 公司;Agilent 5975C 质谱仪购于美国 Agilent 公司;DHP-9602 数显恒温烘箱购于上海一恒科学仪器有限公司。

### 1.3 方法

1.3.1 试验地选择和管理 2018年4月,在广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所(位于桂林市雁山区)的试验地整地种植罗汉果种苗,共设试验样地3块,分别记为 $L_1$ 、 $L_2$ 、 $L_3$ ,每块试验样地面积约 $30\text{ m}^2$ ,样地间距10 m左右。每样地种植罗汉果种苗20株,雌雄株比例1:1,正常水肥管理。

1.3.2 访花昆虫观测 8月,罗汉果进入盛花期,在每块试验样地随机选中3个雌株和3个雄株,编号并挂牌标志,对这些植株定点定时进行访花昆虫观测。每天6:00—18:00,每隔1 h观察记录各植株上活动的昆虫种类及其头数,拍照采集访花昆虫种类信息,连续观测3 d。第4天捕捉罗汉果访花昆虫个体,以乙酸乙酯毒杀后制作标本,依据访花昆虫照片结合昆虫标本进行分类鉴定,部分难以确定的样品由广西植物研究所昆虫专家鉴定。

1.3.3 雌雄株叶片挥发性成分采集 在观测访花昆虫的同期,在每个挂牌标志的植株上分别取3张生长状况一致、表面积基本相等、无虫孔和病斑的叶片,用医用剪刀剪断叶柄基部后,将叶片迅速装入顶空进样瓶中,注意避免叶片出现机械损伤,样品及时送至检测实验室。

将已活化好的50/30  $\mu\text{m}$  DVB/CAR/PDMS SPME 萃取头插入进样瓶中,置入37  $^{\circ}\text{C}$ 的恒温烘箱中保持30 min进行萃取,取出萃取头插入GC-MS进样口,解析5 min后,进样分析。以相同方法采集空白进样瓶中的空气进行GC-MS分析,作为空白对照组。

1.3.4 挥发性成分的GC-MS分析 参考黄代红等(2015)的方法,作适当优化。

气相色谱条件:HP-5MS 石英毛细管色谱柱(30 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25  $\mu\text{m}$ );程序升温,起始50  $^{\circ}\text{C}$ ,随后以5  $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升温至200  $^{\circ}\text{C}$ ;进样量2  $\mu\text{L}$ ,不分流;进样口温度230  $^{\circ}\text{C}$ ;载气为高纯度氦气(99.999%),流速1.0 mL  $\cdot$  min $^{-1}$ 。

质谱条件:MS电离方式为EI,电子能量70 eV,离子源温度230  $^{\circ}\text{C}$ ,接口温度280  $^{\circ}\text{C}$ ,四极杆温度

150 ℃,质量扫描范围  $m/z$  35~450。

定性分析:在相同 GC-MS 检测条件下,利用 C8~C40 正构烷烃的保留时间计算各个色谱峰的保留指数。分析结果运用计算机谱库 (NIST05a) 进行初步检索及资料分析,结合文献进行人工图谱解析确认检测物成分,根据离子流峰面积归一化法计算各组分在总挥发性成分中的相对含量。

#### 1.4 数据统计分析

以 Jaccard 相似性系数 (赵志模和郭依泉, 1990) 对罗汉果雌雄植株间访花昆虫种类相似性、叶片挥发性成分相似性进行计算比较。

Jaccard 相似性系数 ( $q$ ):  $q=c/(a+b-c)$ 。

式中:  $q$  为相似性系数,当  $0 \leq q \leq 0.25$  时,雌雄株间的挥发性化合物或访花昆虫极不相似;当  $0.25 < q \leq 0.50$  时,中等不相似;当  $0.50 < q \leq 0.75$  时,中等相似;当  $0.75 < q \leq 1.00$  时,极相似。 $c$  为雌雄株共有挥发性成分或访花昆虫; $a$  和  $b$  分别为雌株和雄株的挥发性成分或访花昆虫。

访花昆虫物种多样性采用丰富度指数 ( $R$ )、多度指数 ( $A$ ) 和 Shannon-Wiener 多样性指数 ( $H'$ ) 等指标来分析 (徐汝梅, 1987; 丁岩钦, 1994)。

Patrick 丰富度指数 ( $R$ ):  $R=S$  ( $S$  为物种数);

多度指数 ( $A$ ):  $A=N$  ( $N$  为物种个体数);

Shannon-Wiener 多样性指数 ( $H'$ ):

$$H' = -\sum_{i=1}^n P_i \ln P_i, P_i = \frac{N_i}{N}$$

式中:  $P_i$  为第  $i$  物种的个体比例;  $N_i$  为第  $i$  物种个体数;  $N$  为统计样地所有物种个体数。

用双因素方差分析 (two way ANOVA) 统计罗汉果雌株和雄株的挥发性成分含量在三个样地个体间的差异,以  $t$  检验分析罗汉果雌雄株间访花昆虫的丰富度、多度及 Shannon-Wiener 多样性差异。

采用 SPSS 17.0 软件及 MS Office 2010 软件进行数据处理和分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 罗汉果雌雄株的访花昆虫种类

共调查到昆虫 115 种,分属于 8 目 31 科。在罗汉果访花昆虫群落中,双翅目昆虫出现 9 科和

26 个物种,出现的科和物种数量最多,分别占到昆虫群落全部科数与物种数的 29.03%、22.61%;半翅目次之,分别占全部科数与物种数的 16.12%、22.61%;第三是鳞翅目,分别占全部科数与物种数的 16.12%、9.56%;第四是膜翅目,分别占全部科数和种数的 12.09% 和 13.04%,排第五的是鞘翅目,分别占全部科数和种数的 9.67% 和 12.12%。这 5 目昆虫的种数占全部种数的 82.61%。

罗汉果雌株上观测到访花昆虫 69 种,分属于 7 目 16 科。雌株上访花昆虫的优势类群包括膜翅目的蚁科、半翅目的蝽科、鞘翅目的叶甲科以及双翅目的实蝇科;需要强调指出的是,蜜蜂科、斑蝶科、夜蛾科和天蛾科等重要传粉昆虫类群,均未出现于罗汉果雌株上 (图 1)。在罗汉果雄株上,观测到访花昆虫 102 种,分属于 8 目 29 科。雄株上访花昆虫的优势类群包括:双翅目的实蝇科、膜翅目的蚁科、半翅目的蝽科以及鞘翅目的叶甲科。与雌株明显不同的是,在雄株上观察到了蜜蜂科、眼蝶科、夜蛾科以及天蛾科等昆虫,其中蜜蜂科种类具有较高的出现频率,观察到的头数占全部昆虫的 3.78%,其余眼蝶科、夜蛾科和天蛾科的在 0.75%~1.13% 之间 (图 1)。

### 2.2 罗汉果雌雄株访花昆虫的相似性

在三个试验样地中,雌雄植株访花昆虫的相似度具有相同的变化规律 (表 1)。在“目”的分类阶元, Jaccard 相似性系数最小值达到 0.75,最大值为 0.82,处于中等相似和非常相似水平,表明在较高的分类阶元上,罗汉果雌雄株的访花昆虫类群比较相似甚至非常相似。不过,在“科”的分类阶元, Jaccard 相似性系数的最小值已经下降为 0.34,最大值亦减少到 0.45,处于中等不相似水平,相似度明显下降,表明随着访花昆虫类群的分化,访问罗汉果雌雄株的昆虫种类可能发生了重要分歧。在“种”的分类阶元, Jaccard 相似性系数最小值为 0.35,最大值为 0.41,处于中等不相似水平 (表 1)。从总体来看,雌雄株访花昆虫类群在“科”的阶元已明显不同,而在物种水平上进一步发生了分歧。

### 2.3 罗汉果雌雄株访花昆虫的物种多样性

访花昆虫的  $R$  指数、 $A$  指数和  $H'$  指数在试验样地间存在一定波动,但在同一性别植株上,访花



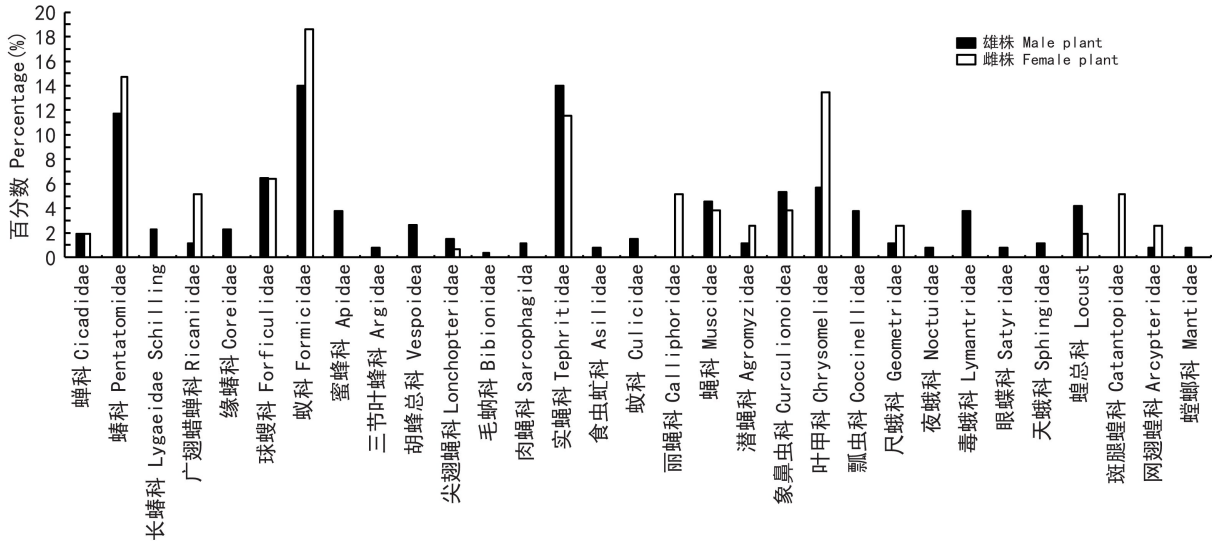


图 1 罗汉果访花昆虫的群落组成

Fig. 1 Community components of foraging insects on *Siraitia grosvenorii*

表 1 罗汉果雌雄植株上访花昆虫群落的相似性

Table 1 Community similarities of foraging insects on the male and female individuals of *Siraitia grosvenorii*

| 样地<br>Sampling plot | 目<br>Order | 科<br>Family | 物种<br>Species |
|---------------------|------------|-------------|---------------|
| L <sub>1</sub>      | 0.82       | 0.34        | 0.41          |
| L <sub>2</sub>      | 0.81       | 0.42        | 0.36          |
| L <sub>3</sub>      | 0.75       | 0.45        | 0.35          |

表 2 罗汉果雌雄植株上访花昆虫的物种多样性

Table 2 Species diversities of foraging insects on the male and female individuals of *Siraitia grosvenorii*

| 样地<br>Sampling plot | 雌株<br>Female individual |     |      | 雄株<br>Male individual |     |      |
|---------------------|-------------------------|-----|------|-----------------------|-----|------|
|                     | R                       | A   | H'   | R                     | A   | H'   |
| L <sub>1</sub>      | 47                      | 50  | 3.58 | 87                    | 120 | 4.09 |
| L <sub>2</sub>      | 17                      | 70  | 2.81 | 28                    | 310 | 2.99 |
| L <sub>3</sub>      | 32                      | 170 | 3.04 | 56                    | 303 | 3.58 |

注：R. 物种丰富度；A. 物种多度；H'. 物种 Shannon-Wiener 多样性。

Note: R. Species richness; A. Species abundance; H'. Species Shannon-Wiener diversity index.

昆虫多样性在不同样地间的差异不显著 ( $P > 0.05$ )。比较雌株和雄株访花昆虫多样性的结果显示,在三个样地上,雄株上昆虫的物种丰富度(R)比雌株的平均高出 71% ( $P < 0.05$ ),多度指数(A)比雌株的平均值高出 186%,Shannon-Wiener 指数(H')比雌株的平均高出 12.8% ( $P < 0.05$ ) (表 2)。表 2 结果表明,在三个试验样地中,罗汉果雄株上的访花昆虫不仅种类更丰富,而且个体数量远高于雌株。

#### 2.4 罗汉果雌雄株挥发性化合物的优势成分和特有成分

通过测定分析,在核对总离子流图(图 2,图 3)后,经质谱检索,共鉴定出罗汉果叶片挥发性化合物 22 种,分别属于萜烯、烷烃、醛、酯和胺类(表 3)。其中,雄株叶片释放的挥发性成分较多,

共鉴定出 17 种。雄株的优势成分是萜烯类化合物,9 种萜烯类物质的含量占其所有挥发性物质总含量的 67.31%;其余成分按含量由多至少分别是:酯类化合物 4 种,占总量 29.4%;醛类化合物 2 种,占总量的 2.97%;胺类化合物 2 种,含量较少,仅占总量 0.3%。雌株叶片释放的挥发性成分较少,共鉴定出 12 种。雌株的优势成分是烷烃类化合物,其 4 种烷烃类物质的含量占其所有挥发性物质总含量的 44.27%;其余成分按含量由多至少分别是:醛类化合物 2 种,占总含量的 27.05%;酯类 2 种,占 13.07%;萜烯类 2 种,占 11.19%;胺

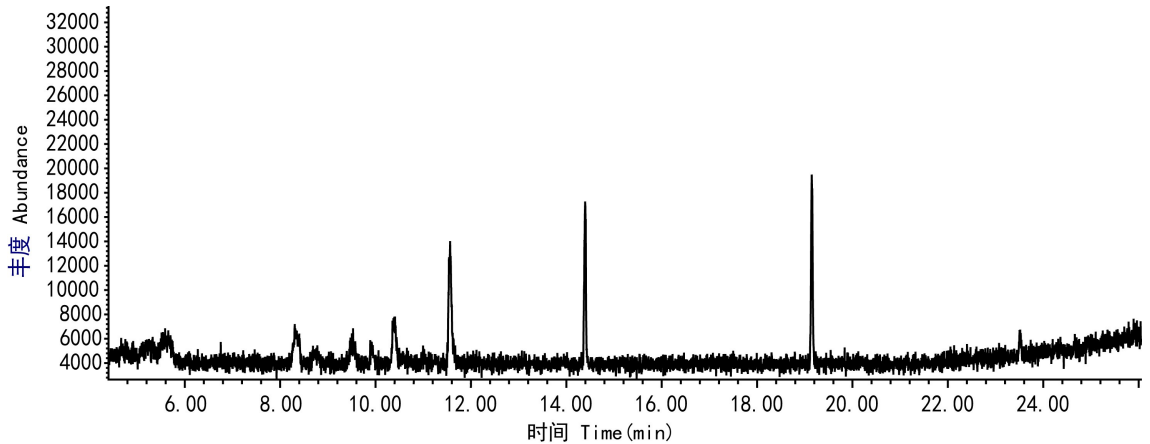


图 2 罗汉果雌株叶片挥发性成分的总离子流图

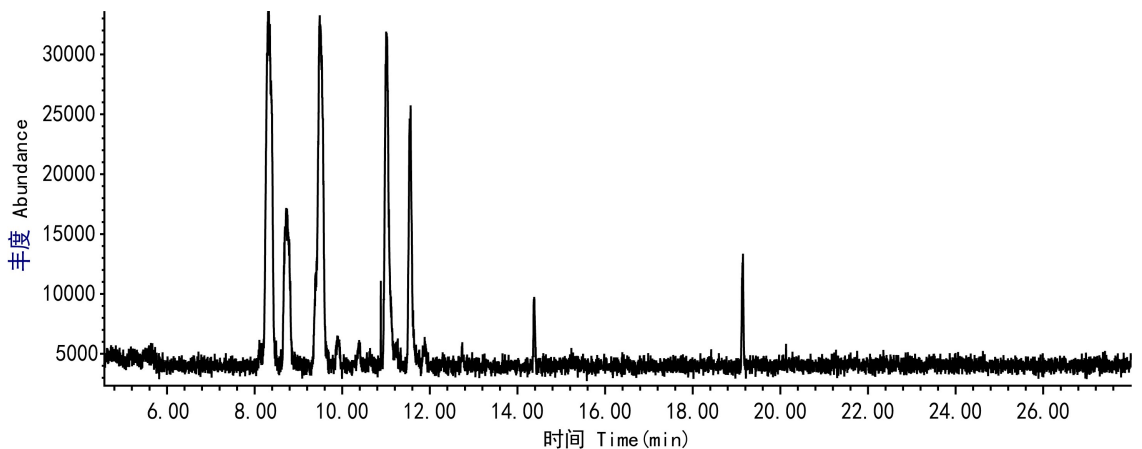
Fig. 2 GC-MS total ionic chromatogram of leaf volatile components in female individuals of *Siritia grosvenorii*

图 3 罗汉果雄株叶片挥发性成分的总离子流图

Fig. 3 GC-MS total ionic chromatogram of leaf volatile components in male individuals of *Siritia grosvenorii*

类化合物 2 种, 占 4.41%。雌株叶片的挥发性成分在三个样地间差异不显著 ( $P>0.05$ ), 雄株与雌株相似, 样地间个体也未存在显著差异 ( $P>0.05$ )。

雌株和雄株罗汉果都产生特有成分。雄株的特有挥发性成分较多, 在 22 种成分中特有 10 种, 占 45.45%。雄株特有成分集中于萜烯类和酯类, 在 9 种萜烯类成分中特有 7 种, 占 77.77%, 而在 5 种酯类成分中特有 3 种, 占 60.00%。雌株的特有成分较少, 在 22 种成分中仅特有 5 种, 占全部成分的 22.72%。雌株特有成分主要是烷烃类, 4 种烷烃类成分全属雌株特有, 占烷烃类化合物的 100%。酯类化合物中的乙酸顺式-3-己烯酯属于雌株特有, 在酯类化合物中占比为 20%。

## 2.5 罗汉果雌雄株叶片挥发性组分的相似性

对雌雄株叶片的挥发性成分进行总体相似度以及萜烯类等各类成分的相似度分析, 由于不同样地中相同性别的植株释放的挥发性成分完全相同, 所以计算的 6 个相似度系数在三个样地得到完全相同的数值(表 4)。表 4 结果显示, 总体相似度  $q$  值仅达到 0.31, 处于中等不相似水平, 表明雌雄株叶片的挥发性成分相似性较低。在各类成分中, 烷烃类相似度  $q$  值为 0, 说明雌雄株的烷烃类成分完全没有相似性; 萜烯类和酯类相似度  $q$  值分别为 0.22 和 0.20, 均处于极不相似水平, 表明雌雄株虽然都释放萜烯类和酯类物质, 但其中的共有成分很少; 相似度最高的是醛类和胺类, 两者的

表 3 罗汉果雌雄株叶片挥发性成分

Table 3 Leaf volatile components of male and female individuals of *Siraitia grosvenorii* ( $n = 18$ )

| 类别<br>Category | 化合物<br>Compound                                 | 化学式<br>Formula    | 相对分子质量<br>Relative<br>molecular<br>mass | 相对含量<br>Relative content (%) |                       |
|----------------|---|-------------------|---|------------------------------|-----------------------|
|                |   |                   |   | 雌株<br>Female individual      | 雄株<br>Male individual |
| 萜烯类 Terpenes   |   |                   |   |                              |                       |
| 1              | R 型 $\alpha$ -蒎烯 1R-.alpha.-Pinene              | $C_{15}H_{24}$    | 204.35                                  | 6.42 $\pm$ 2.78              | 13.54 $\pm$ 2.81      |
| 2              | 蒎烯 pinene                                       | $C_{10}H_{16}$    | 136.23                                  | —                            | 7.04 $\pm$ 1.79       |
| 3              | 茨烯 Camphene                                     | $C_{10}H_{16}$    | 136.23                                  | —                            | 5.27 $\pm$ 1.34       |
| 4              | $\beta$ -蒎烯 beta.-Pinene                        | $C_{10}H_{16}$    | 136.23                                  | —                            | 12.29 $\pm$ 3.09      |
| 5              | 3-蒎烯 3-Carene                                   | $C_{10}H_{16}$    | 136.23                                  | —                            | 13.21 $\pm$ 3.31      |
| 6              | 柠檬烯 Limonene                                    | $C_{10}H_{16}$    | 136.23                                  | —                            | 8.89 $\pm$ 2.22       |
| 7              | 罗勒烯 3,7-dimethyl-1,3,6-Octatriene               | $C_{10}H_{16}$    | 136.23                                  | 4.77 $\pm$ 2.06              | 4.02 $\pm$ 1.74       |
| 8              | 环萜烯 Cyclofenchene                               | $C_{10}H_{16}$    | 136.23                                  | —                            | 2.09 $\pm$ 0.91       |
| 9              | 左旋茨烯 L-Camphene                                 | $C_{10}H_{16}$    | 136.23                                  | —                            | 0.96 $\pm$ 0.41       |
| 烷烃类 Alkanes    |   |                   |   |                              |                       |
| 10             | 十五烷 Pentadecane                                 | $C_{15}H_{32}$    | 212.41                                  | 5.29 $\pm$ 2.29              | —                     |
| 11             | (正)十七(碳)烷 Heptadecane                           | $C_{17}H_{36}$    | 240.47                                  | 16.90 $\pm$ 7.32             | —                     |
| 12             | 四十三烷 Tritetracontane                            | $C_{43}H_{88}$    | 605.16                                  | 4.79 $\pm$ 2.08              | —                     |
| 13             | 四十四烷 Tetratetracontane                          | $C_{44}H_{90}$    | 619.19                                  | 17.29 $\pm$ 7.49             | —                     |
| 醛类 Aldehydes   |   |                   |   |                              |                       |
| 14             | 乙醛 Acetaldehyde                                 | $C_2H_4O$         | 44.05                                   | 26.33 $\pm$ 6.21             | 2.36 $\pm$ 0.29       |
| 15             | 2-甲基-4-戊烯醛 2-Methyl-4-pentenal                  | $C_6H_{10}O$      | 98.14                                   | 0.72 $\pm$ 0.31              | 0.61 $\pm$ 0.26       |
| 酯类 Esters      |   |                   |   |                              |                       |
| 16             | 乙酸二氢香芹酯 Dihydrocarvyl acetate                   | $C_{12}H_{20}O_2$ | 196.29                                  | —                            | 0.1 $\pm$ 0.04        |
| 17             | (Z)-丁酸-3-己烯酯 3-hexenyl ester, (Z)-Butanoic acid | $C_{10}H_{18}O_2$ | 170.25                                  | —                            | 7.70 $\pm$ 3.34       |
| 18             | 乙酸-4-己烯-1-醇酯 4-Hexen-1-ol, acetate              | $C_8H_{14}O_2$    | 142.20                                  | —                            | 1.84 $\pm$ 0.79       |
| 19             | 乙酸顺式-3-己烯酯 3-Hexen-1-ol, acetate                | $C_8H_{14}O_2$    | 142.20                                  | 12.12 $\pm$ 5.25             | 19.76 $\pm$ 4.16      |
| 20             | Bacchotricuneatin C                             | $C_{20}H_{22}O_5$ | 278.36                                  | 0.95 $\pm$ 0.41              | —                     |
| 胺类 Amines      |   |                   |   |                              |                       |
| 21             | 甲基苯异丙胺 2,4-Dimethylamphetamine                  | $C_{11}H_{17}N$   | 163.26                                  | 0.20 $\pm$ 0.09              | 0.18 $\pm$ 0.08       |
| 22             | 3,3'-二氨基二丙胺 3,3'-Iminobispropylamine            | $C_6H_{17}N_3$    | 131.22                                  | 4.21 $\pm$ 1.38              | 0.12 $\pm$ 0.05       |

$q$  值都达到 1, 处于极相似水平, 表明雌雄株在这两类化合物中具有完全相同的成分。不过, 值得注意的是, 虽然雌雄株释放的醛类和胺类化合物成分完全相同, 但其浓度差异却很大, 如醛类在雌株释放的挥发性化合物中相对含量高达 27.05%, 而在雄株中仅占 2.97%。类似地, 胺类占雌株的 4.41%, 但仅占雄株的 0.30% (表 3)。在醛类中, 乙醛相对含量占雌株的 26.33%, 显著高于雄株的

2.36% ( $P < 0.01$ ), 而在胺类中, 3,3'-二氨基二丙胺相对含量占雌株的 4.21%, 显著高于在雄株中 0.12% 的比例 ( $P < 0.01$ )。

### 3 讨论

昆虫的传粉服务对促进作物结实具有十分重要的意义 (Campbell et al., 2018; Fijen et al., 2018),

表 4 罗汉果雌雄株叶片挥发性成分的相似度

Table 4 Similarities of leaf volatile components between male and female individuals of *Siraitia grosvenorii*

| 样地<br>Sampling<br>plot | 总体挥发<br>性成分<br>Total<br>volatile<br>component | 萜烯类<br>Terpenes | 烷烃类<br>Alkanes | 醛类<br>Aldehydes | 酯类<br>Esters | 胺类<br>Amines |
|------------------------|---|-----------------|----------------|-----------------|--------------|--------------|
| L <sub>1</sub>         | 0.31  | 0.22            | 0.00           | 1.00            | 0.20         | 1.00         |
| L <sub>2</sub>         | 0.31  | 0.22            | 0.00           | 1.00            | 0.20         | 1.00         |
| L <sub>3</sub>         | 0.31  | 0.22            | 0.00           | 1.00            | 0.20         | 1.00         |

而传粉昆虫的多样性对稳定和提高授粉作物的产量具有决定性影响 (Garibaldi et al., 2011; 孙广芳等, 2018; Woodcock et al., 2019)。作为虫媒传粉植物, 罗汉果自然授粉不良可能是传粉昆虫多样性欠缺的结果。本研究共调查到罗汉果访花昆虫 115 种, 分属 8 目 31 科, 优势类群包括双翅目、半翅目、鳞翅目和膜翅目。其中, 双翅目的丽蝇科、鳞翅目的眼蝶科和夜蛾科、膜翅目的蜜蜂科等类群是非常重要的传粉昆虫资源。与已报道的一些经济植物比较, 发现罗汉果的访花昆虫群落具有较高的多样性。以龙眼为例, 钟义海等 (2014) 在海南省屯昌县调查龙眼树访花昆虫, 统计到昆虫 60 种, 分属 7 目 28 个科, 优势类群来自双翅目和膜翅目。与之比较, 两者访花昆虫的优势类群相似, 而罗汉果上的物种丰富度更高, 是龙眼上的 1.9 倍。山西的一个调查表明, 枣树的访花昆虫包括 23 种, 隶属 4 目 12 科, 优势种类属于膜翅目和双翅目 (武文卿等, 2016), 而在山东泰山地区的调查显示, 杏花的访花昆虫包括 11 种, 分属 6 目 8 科, 优势种类来自膜翅目 (宫庆涛等, 2017)。比较罗汉果与这两种植物的访花昆虫, 可见它们的优势类群都来自膜翅目和双翅目, 但罗汉果上的物种丰富度更高, 分别是枣树、杏树的 5 倍和 11 倍。有趣的是, 在实际生产中, 上述龙眼等植物的自然授粉很正常, 文献检索未发现这些植物有自然授粉不良或需人工授粉的报道。从本研究的结果来看, 虽然罗汉果的访花昆虫多样性很高, 但它们在雌株和雄株上却存在显著差异, 其中可能隐含着罗汉果自然授粉不良的原因。

本研究中, 罗汉果雌株和雄株访花昆虫的相似度很低, 雌株上的 69 种访花昆虫来自 7 目 16 科, 而雄株的访花昆虫多样性较高, 包括 8 目 29 科的 102 个种, 两者访花昆虫的多样性差异显著 ( $P < 0.05$ )。另外, 几乎所有的传粉昆虫类群, 包括蜜蜂科、眼蝶科、丽蝇科、夜蛾科以及天蛾科等的种类, 只活动在罗汉果雄株上, 在雌株上均未观察到这些传粉昆虫类群。很显然, 只活动于雄株上的传粉昆虫, 将无法把雄株生产的花粉传送给雌花以完成授粉, 罗汉果的自然传粉过程可能因此遭遇了限制。

对于雌雄异株植物, 访花昆虫常常对雄性个体表现出明显的偏好 (Miljkovic et al., 2018)。美国南佛罗里达大学的 Cornelissen & Stiling (2005) 以 33 种雌雄异株植物为对象, 考察它们的访花昆虫后发现, 雄株上访花昆虫的多样性总是显著高于雌株, 但未对其中的传粉昆虫进行专门的统计。Rivkin et al. (2018) 通过大尺度的地理空间观察, 进一步证明访花昆虫这种偏好性的存在, 但是随着生境的海拔升高, 这种偏好随之逐步减弱。对于访花昆虫偏向访问雄性植株的原因, 目前主流的观点是化学成分说。有学者认为, 在雌雄异株植物中, 雌株为保护种子免遭侵害, 进化出比雄株更强的化学防御能力, 导致昆虫更趋向于取食雄株植物 (Tsuji & Sota, 2010), 如叶片中的醛类物质对访花昆虫可以产生强烈的驱避作用 (郭钰等, 2012)。本研究中罗汉果雌株叶片释放的醛类物质, 其相对含量约是雄株释放量的 10 倍, 这与雌株上访花昆虫较低的多样性可能存在密切关联。

与化学防御对应的是化学引诱, 即植物随着自身的生长需求而释放不同的挥发性化合物, 以达到吸引昆虫的目的 (严善春等, 2003)。植物叶片释放的挥发性成分中, 萜烯类物质是比较常见的化合物 (杜秀娟等, 2018; 周琦等, 2019)。Dobson (2006) 的研究证明, 萜烯类物质能在植物受植食性昆虫侵害后诱导产生, 并起到吸引相应的害虫天敌前来从而达到控制害虫的作用, 其中的一些单萜成分, 如  $\alpha$ -蒎烯、 $\beta$ -蒎烯、月桂烯和蒎烯能够强烈引诱天牛科、象甲科、小蠹虫科及郭公甲科的昆虫 (Chénier & Philogène, 1989)。此外, 萜烯类挥发性化合物还具



有吸引授粉昆虫等功能(李威等,2018)。本研究发  
现,罗汉果雄株的叶片能释放  $\alpha$ -蒎烯、 $\beta$ -蒎烯、月桂  
烯、蒾烯和柠檬烯等 9 种萜烯类成分,而雌株叶片仅  
能释放 2 种萜烯类物质。与雌株相比,雄株在 9 种  
萜烯类物质中独占 7 个特有成分,这与雌雄株访花  
昆虫的多样性差异可能具有重要因果关系,尤其是对  
雄株吸引多种传粉昆虫具有积极影响。植物挥发  
性成分对昆虫产生的作用可能是复杂的,这从南瓜  
(*Cucurbita moschata*) 的气味物质对昆虫的作用可  
窥一斑。Andrews et al.(2007) 研究发现,南瓜释放  
的挥发性物质中,有些可以同时吸引传粉昆虫和植  
食昆虫,如 1,2,4-三甲氧基苯可同时吸引传粉昆虫  
和植食性昆虫;但是,有一些化合物,如吲哚仅吸引  
植食昆虫,而另一些化合物,如 E-肉桂醛只吸引传  
粉者。

综上所述,本研究主要发现罗汉果雌株和雄  
株在访花昆虫多样性上存在显著差异,雄株的访  
花昆虫种类比雌株的丰富,而最重要的差异是在  
罗汉果雄株上可以观察到多种传粉昆虫,但在雌  
株上没有观察到传粉昆虫。罗汉果存在的自然授  
粉不良问题,可能与雌株没有传粉昆虫活动密切  
相关。本研究还发现,罗汉果雌株和雄株在叶片  
挥发性成分上存在重要差异,表现在优势成分不  
尽相似,且各自还具有多种特有成分。结合相关  
研究的结果,笔者推测,挥发性成分显著差异导致  
的生态后果是促使访花昆虫更偏向于访问罗汉果  
雄株,从而导致了雌株和雄株的访花昆虫多样性  
分异。在后续研究中,有必要借助风洞试验、“Y”  
形管试验以及触角电位化学测试等,系统检验访  
花昆虫对罗汉果不同挥发性成分的反应特征,以  
进一步探究栽培罗汉果自然授粉不良的形成原  
因。同时,对自然界中野生罗汉果的雌雄株开展  
访花昆虫观测,分析它们与栽培罗汉果的异同,将  
有助于全面认识后者自然授粉不良的形成原因。

## 参考文献:

ANDREWS ES, THEIS N, ADLER LS, 2007. Pollinator and  
herbivore attraction to *Cucurbita* floral volatiles [J]. *J Chem  
Ecol*, 33(9): 1682-1691.  
CAMPBELL JW, KIMMEL CB, BAMMER M, et al.,

2018. Managed and wild bee flower visitors and their  
potential contribution to pollination services of low-chill  
highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.; Ericales;  
Ericaceae) [J]. *J Econ Entomol*, 111(5): 1-6.  
CHÉNIER JVR, PHILOGÈNE BJR, 1989. Field responses of  
certain forest Coleoptera to conifer monoterpenes and ethanol  
[J]. *J Chem Ecol*, 15(6): 1729-1745.  
CORNELISSEN T, STILING P, 2005. Sex-biased herbivory: A  
meta-analysis of the effects of gender on plant-herbivore in-  
teractions [J]. *Oikos*, 111(3): 488-500.  
DING HJ, GUO YY, 1995. The relationship between the sus-  
ceptibility of compounds and the behavior of pests in host  
plants and their utilization [J]. *Plant Protect*, 21(5): 33-  
35. [丁红建, 郭予元, 1995. 寄主植物它感化合物与害虫  
行为的关系及其利用 [J]. *植物保护*, 21(5): 33-35.]  
DING YQ, 1994. *Insect mathematical ecology* [M]. Beijing:  
Science Press. [丁岩钦, 1994. *昆虫数学生态学* [M]. 北  
京: 科学出版社.]  
DOBSON H, 2006. Relationship between floral fragrance com-  
position and type of pollinator [J]. *Biol Floral Scent*:  
147-198.  
DU XJ, FU LJ, ZHENG H, et al., 2018. Volatiles from *Prunus  
persica* flowers and its chemical response to flower-visiting  
insects [J]. *J NE For Univ*, 46(11): 77-81. [杜秀娟, 付  
丽娇, 郑华, 等, 2018. 桃花挥发性物质及对访花昆虫的  
化学响应 [J]. *东北林业大学学报*, 46(11): 77-81.]  
FIJEN TPM, SCHEPER JA, BOOM TM, et al., 2018. Insect  
pollination is at least as important for marketable crop yield  
as plant quality in a seed crop [J]. *Ecol Lett*, 21(11):  
1704-1713.  
FRASER AM, MECHABER WL, HILDEBRAND JG,  
2003. Electroantennographic and behavioral responses of the  
sphinx moth *Manduca sexta* to host plant headspace volatiles  
[J]. *J Chem Ecol*, 29(8): 1813-1833.  
FRIBERG M, SCHWIND C, GUIMARAES PR, et al.,  
2019. Extreme diversification of floral volatiles within and  
among species of *Lithophragma* (Saxifragaceae) [J]. *Proc  
Natl Acad Sci USA*, 116(10): 4406-4415.  
GARIBALDI LA, AIZEN MA, KLEIN AM, et al., 2011.  
Global growth and stability of agricultural yield decrease with  
pollinator dependence [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,  
108(14): 5909-5914.  
GONG QT, WU HB, ZHANG KP, et al., 2017. Dynamics of  
flowering and petal fall in apricots and an investigation of  
apricot pollinators [J]. *Chin J Appl Entomol*, 54(2): 332-  
339. [宫庆涛, 武海斌, 张坤鹏, 等, 2017. 杏开花与落花  
动态及访花昆虫调查 [J]. *应用昆虫学报*, 54(2):  
332-339.]  
GUAN ZY, WU YG, YUAN HB, et al., 2005. Research review  
of insect pollination mechanism [J]. *J Jilin Agric Univ*,  
27(6): 608-613. [官昭瑛, 吴艳光, 袁海滨, 等,  
2005. 昆虫访花机制研究概述 [J]. *吉林农业大学学报*,  
27(6): 608-613.]  
GUO Y, ZENG L, LIANG GW, 2012. Behavioral responses of  
*Latheticus oryzae* (Waterhouse) to six host grains and their  
volatiles [J]. *J Environ Entomol*, 34(4): 432-440. [郭钰,

- 曾玲, 梁广文, 2012. 长头谷盗对6种寄主谷粉及其挥发物的行为反应 [J]. 环境昆虫学报, 34(4):432-440.]
- HU LF, YE M, ERB M, 2019. Integration of two herbivore-induced plant volatiles results in synergistic effects on plant defence and resistance [J]. *Plant Cell Environ*, 42(3): 959-971
- HUANG DH, ZHANG ZG, CHEN GP, et al., 2015. Analysis of components of floral scent in *Glochidion puberum* using gas chromatography-mass spectrometry with dynamic headspace adsorption [J]. *Chin J Chromatogr*, 33(3): 318-322. [黄代红, 张振国, 陈国平, 等, 2015. 应用动态顶空吸附-气相色谱-质谱法分析算盘子花气味的化学成分 [J]. 色谱, 33(3):318-322.]
- JIA HL, ZHOU FJ, XU HY, et al., 2011. Optimization of culture conditions for fresh pollens of *Siraitia grosvenorii* [J]. *J S Agric*, 42(2): 134-136. [贾红林, 周凤珏, 许鸿源, 等, 2011. 罗汉果鲜花粉培养条件研究 [J]. 南方农业学报, 42(2):134-136.]
- KARPATI Z, KNADEN M, REINECKE A, et al., 2013. Intraspecific combinations of flower and leaf volatiles act together in attracting hawkmoth pollinators [J]. *PLoS ONE*, 8(9): e72805
- LI DP, ZHANG HR, 2000. Studies and uses of Chinese medicine Luohanguo—A special local product of Guangxi [J]. *Guihaia*, 20(3): 270-276. [李典鹏, 张厚瑞, 2000. 广西特产植物罗汉果的研究与应用 [J]. 广西植物, 20(3):270-276.]
- LI W, LIN YJ, ZHOU F, 2018. The recent research progress on DMNT and TMTT in plants [J]. *J Plant Prot*, 45(5): 946-953. [李威, 林拥军, 周菲, 2018. 萜烯同系物 DMNT 和 TMTT 的研究进展 [J]. 植物保护学报, 45(5):946-953.]
- MILJKOVIC D, SELAKOVIC S, VUJIC V, et al., 2018. Patterns of herbivore damage, developmental stability, morphological and biochemical traits in female and male *Mercurialis perennis*, in contrasting light habitats [J]. *Alp Bot*, 128(2): 193-206.
- QIN JD, WANG CZ, 2001. The relation of interaction between insects and plants to evolution [J]. *Acta Entomol Sin*, 44(3): 360-365. [钦俊德, 王琛柱, 2001. 论昆虫与植物的相互作用和进化的关系 [J]. 昆虫学报, 44(3): 360-365.]
- RID M, MARKHEISER A, STEIN S, et al., 2019. Volatiles of several grapevine cultivars emitted at different phenological stages linked to discriminatory ability of grapevine moths [J]. *J Plant Dis Prot*, 126(2): 115-127.
- RIVKIN LR, BARRETT SCH, JOHNSON MTJ, 2018. The effects of plant sexual system and latitude on resistance to herbivores [J]. *Am J Bot*, 105(6): 977-985.
- SUN GF, ZHOU DW, MIN MY, et al., 2018. Biodiversity of pollinators in farmland and its relationship with different land use patterns [J]. *Jiangsu Agric Sci*, 46(21): 297-302. [孙广芳, 邹大为, 闵梦月, 等, 2018. 农田传粉者生物多样性及其与不同土地利用方式的关系 [J]. 江苏农业科学, 46(21):297-302.]
- SUN XN, YANG S, 2018. Study on cross-border export trade of Guangxi mangosteen [J]. *Mod Econ Inf*, (18): 115-117. [孙西楠, 杨顺, 2018. 广西农产品罗汉果跨境出口贸易问题研究 [J]. 现代经济信息, (18):115-117.]
- TSUJI K, SOTA T, 2010. Sexual differences in flower defense and correlated male-biased florivory in a plant-florivore system [J]. *Oikos*, 119(11): 1848-1853.
- WANG SY, 2017. Pollination biology characters of *Clematis tangutica* [D]. Lanzhou: Northwest Normal University. [王思源, 2017. 甘青铁线莲传粉生物学特性研究 [D]. 兰州: 西北师范大学.]
- WEI J, ZHOU Q, HALL L, et al., 2018. Olfactory sensory neurons of the asian longhorned beetle, *Anoplophora glabripennis*, specifically responsive to its two aggregation-sex pheromone components [J]. *J Chem Ecol*, 44(7-8): 637-649.
- WOODCOCK BA, GARRATT MPD, POWNEY GD, et al., 2019. Meta-analysis reveals that pollinator functional diversity and abundance enhance crop pollination and yield [J]. *Nat Comm*, 10(1): 1-10.
- WU WQ, SHEN JS, MA WH, et al., 2016. Jujube flower-visiting insects diversity and pesticides influence [J]. *J Environ Entomol*, 38(2): 354-360. [武文卿, 申晋山, 马卫华, 等, 2016. 枣树访花昆虫多样性及药剂的影响 [J]. 环境昆虫学报, 38(2):354-360.]
- XU RM, 1987. Insect population ecology [M]. Beijing: Beijing Normal University Press. [徐汝梅, 1987. 昆虫种群生态学 [M]. 北京: 北京师范大学出版社.]
- YAN SC, ZHANG DD, CHI DF, 2003. Advances of studies on the effects of plant volatiles on insect behavior [J]. *Chin J Appl Ecol*, 14(2): 310-313. [严善春, 张丹丹, 迟德富, 2003. 植物挥发性物质对昆虫作用的研究进展 [J]. 应用生态学报, 14(2):310-313.]
- ZHAO ZM, GUO YQ, 1990. Community ecology principle and method [M]. Chongqing: Chongqing Branch of Science and Technology Literature Press. [赵志模, 郭依泉, 1990. 群落生态学原理与方法 [M]. 重庆: 科学技术文献出版社重庆分社.]
- ZHONG YH, ZHAO DX, GAO JL, et al., 2014. Study of pollinating insect of *Dimocarpus longana* [J]. *Apicult Chin*, 65(Z4): 61-63. [钟义海, 赵冬香, 高景林, 等, 2014. 龙眼授粉昆虫调查研究 [J]. 中国蜂业, 65(Z4):61-63.]
- ZHOU LC, ZHANG BY, LI F, et al., 1985. Study on flowering asynchronism of Luo Han Guo [J]. *Guihaia*, 5(1): 53-59. [周良才, 张碧玉, 李锋, 等, 1985. 罗汉果雄株不足、花期不遇研究 [J]. 广西植物, 5(1):53-59.]
- ZHOU Q, WANG JF, XU YQ, et al., 2019. Seasonal change and diurnal change of volatile organic compounds from leaves of *Cinnamomum camphora* [J/OL]. *Guihaia*: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1134.Q.20190409.1035.002.html>. [周琦, 王金凤, 徐永勤, 等, 2019. 樟树叶片挥发性有机物释放季节动态和日动态变化规律 [J/OL]. 广西植物: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1134.Q.20190409.1035.002.html>.]