

DOI:10.11913/PSJ.2095-0837.2020.40458

唐荣, 黄保国, 孙卫邦, 陈高. 金沙江干热河谷特有植物白魔芋的传粉生物学研究[J]. 植物科学学报, 2020, 38(4): 458-466

Tang R, Huang BG, Sun WB, Chen G. Pollination biology of *Amorphophallus albus* (Araceae), an endemic plant in the dry-hot valley of Jinsha River[J]. *Plant Science Journal*, 2020, 38(4): 458-466

金沙江干热河谷特有植物白魔芋的传粉生物学研究

唐荣^{1,2}, 黄保国³, 孙卫邦^{1*}, 陈高^{1*}

(1. 中国科学院昆明植物研究所, 云南省极小种群野生植物综合保护重点实验室, 昆明 650201;

2. 中国科学院大学, 北京 100049; 3. 西南林业大学生态与环境学院, 昆明 650224)

摘要:以金沙江干热河谷特有植物白魔芋(*Amorphophallus albus* P. Y. Liu et J. F. Chen)为对象, 分别在两个就地栽培实验地(四川金阳、云南永善)和一个异地栽培实验地(富源)进行传粉生物学研究(包括交配系统及气味和传粉昆虫对其繁殖策略的影响)。结果显示, 白魔芋是雌雄异熟且雌蕊先熟, 雌花期时, 附属器散发浓烈的恶臭气味。经气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)分析, 花气味成分主要为二甲基二硫和二甲基三硫。野外观察到的传粉昆虫属于隐翅虫科(Staphylinidae), 包括前角隐翅虫亚科(Aleocharinae)的 *Atheta* sp. 和颈隐翅虫亚科(Oxytelinae)的 *Anotylus* sp.。经气相色谱-触角电位联用技术(GC-EAD)分析表明, 隐翅虫触角对白魔芋花气味中的二甲基二硫和二甲基三硫有明显的反应。授粉结果显示, 金阳、永善和富源3个实验地人工自花授粉和套袋的结实率都为0, 无传粉昆虫的富源实验地自然结实率也为0。综合研究结果表明白魔芋属于自交不亲和的交配系统, 通过花序结构和气味吸引隐翅虫为其传粉, 并提供食物和交配场所作为回报。该研究为白魔芋的繁殖育种提供了基础资料, 为植物与昆虫之间的协同进化提供了进一步的理论支持, 同时为白魔芋的有效保护和利用提供了理论依据和技术指导。

关键词: 白魔芋; 交配系统; 甲虫传粉; 隐翅虫

中图分类号: Q944.43

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2020)04-0458-09

Pollination biology of *Amorphophallus albus* (Araceae), an endemic plant in the dry-hot valley of Jinsha River

Tang Rong^{1,2}, Huang Bao-Guo³, Sun Wei-Bang^{1*}, Chen Gao^{1*}

(1. Yunnan Key Laboratory for Integrative Conservation of Plant Species with Extremely Small Populations, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. School of Ecology and Environment, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China)

Abstract: We performed a reproductive biology study on *Amorphophallus albus* P. Y. Liu et J. F. Chen (Araceae), an endemic species in the dry-hot valleys along the Jinsha River, within its natural habitat in Jinyang, Sichuan province and Yongshan, Yunnan province, China. Additionally, we compared hand pollination treatments of an introduced population of this species in Fuyuan, Yunnan province. The breeding system, floral odor, pollinators, and reproductive strategies of *Amorphophallus albus* were studied in detail. Results indicated that *Amorphophallus albus* was a protogynous plant species, and partly consumed by rove beetles belonging to the genera *Atheta* and *Anotylus* (Staphylinidae). Dimethyl disulphide and dimethyl trisulfide were identified as the main floral odor components by GC-MS (gas

收稿日期: 2019-10-17, 退修日期: 2019-11-26。

基金项目: 国家自然科学基金-云南省联合基金(U1602264); 云南省万人计划(YNWR-QNBJ-2018-017)。

This work was supported by grants from the NSFC-Yunnan Joint Fund to Support Key Projects (U1602264) and Yunnan Ten Thousand Talents Plan Young and Elite Talents Project (YNWR-QNBJ-2018-017)。

作者简介: 唐荣(1993-), 女, 硕士研究生, 主要从事保护生物学研究(E-mail: tangrong1@mail.kib.ac.cn)。

* 通讯作者(Authors for correspondence. E-mail: chen_gao@mail.kib.ac.cn; wbsun@mail.kib.ac.cn)。

chromatography-mass spectrometry). Analyses by gas chromatography-electroantennogram detection (GC-EAD) led to a positive response by rove beetle antennae to dimethyl disulphide and dimethyl trisulfide. The artificial pollination treatments showed that artificial self-pollination and bagging did not set seed in the studied areas. These experiments indicate that *Amorphophallus albus* is a self-incompatible plant species, which attracts rove beetles as effective pollinators. Inflorescence odor may be an important olfactory signal for these pollinators. Based on our results, we provide basic information for the breeding of *Amorphophallus albus* and theoretical support for the co-evolution of plants and insects. This study aims to provide a scientific basis and theoretical guide for the effective conservation and utilization of this species.

Key words: *Amorphophallus albus*; Breeding system; Cantharophily; Rove beetles

天南星科(Araceae)是世界范围内广泛分布的大科,共有 125 属,约 3750 种,主要分布在热带及亚热带地区^[1,2]。中国天南星科植物共 26 属 181 种,其中 72 种为中国特有^[3]。目前关于天南星科植物的传粉研究相对较少,Gibernau^[4,5]对天南星科植物的传粉及访花昆虫进行了研究,发现其访花昆虫主要是甲虫和蚊蝇类,其他还包括一些蜜蜂和脊椎动物等,其研究物种主要分布在热带南美洲、热带亚洲、北美洲和地中海等区域。我国的天南星科植物主要分布在西南和华南地区,关于我国天南星科植物的传粉研究相对匮乏,仅花魔芋(*Amorphophallus konjac* K. Koch)、台湾魔芋(*A. henryi* N. E. Brown)和疣柄魔芋(*A. paeoniifolius* (Dennst.) Nicolson)^[6-8]有相关研究和报道。

佛焰苞花序是天南星科植物特有的花序结构,该花序结构与其传粉甲虫之间存在高度的适应进化关系:首先,开花时通常会形成一个密闭的腔室,为甲虫提供一个在其中进行取食、求偶和交配等行为的隐蔽场所^[9,10];其次,开花时通过视觉和嗅觉信号共同模拟甲虫生活的场所以吸引它们,视觉信号通常为模拟尸斑、粪便等的深紫红色、棕黄色^[11,12],嗅觉信号主要是通过释放主要化学成分为硫化物、吡啶、苯酚和萜烯类等化合物的恶臭气味^[13,14],模拟腐尸^[15]、排泄物^[16]、真菌^[17]等。此外,天南星科植物花序内的雌雄蕊具有异熟的特性,在雌蕊成熟时吸引甲虫前来访问,然后通过花序的结构设计成各种陷阱或通过食物诱困甲虫 24 h 左右,直到雄蕊成熟,甲虫携带花粉才能离开^[18]。植物与传粉者之间通常是互惠互利的关系,传粉者帮助植物传粉而植物提供相应的报酬。天南

星科植物提供的报酬通常是温暖而隐蔽的场所和可食用的附属器、退化雄蕊或不育部分等^[10]。

白魔芋(*Amorphophallus albus* P. Y. Liu et J. F. Chen)是天南星科魔芋属多年生草本植物,仅分布于我国金沙江干热河谷下游地区,是当地主要的经济作物^[19,20]。白魔芋的花序属于佛焰苞花序,但其苞片颜色为黄绿色或黄色,与魔芋属其他植物花序的苞片颜色有较大差异。我们前期观察发现白魔芋开花时花序中聚集了大量的隐翅虫(隐翅虫科昆虫),因此推测隐翅虫对白魔芋的传粉过程可能起关键作用。此外,由于白魔芋具有良好的经济价值,近年来人为采挖野生白魔芋的现象非常严重,导致野生白魔芋居群大量减少。2017 年,国家重点项目“中国西南地区极小种群野生植物调查与种质保存(2017FY100100)”中将其列为潜在的极小种群野生植物^[21]。在此,我们通过对白魔芋的开花物候、交配系统及其传粉策略进行研究,弄清其交配系统,探究白魔芋与传粉昆虫的互作关系,以为白魔芋繁殖育种提供基础资料,为植物与昆虫之间的协同进化提供进一步的理论依据,并为野生白魔芋的有效保护提供切实可行的策略。

1 材料和方法

1.1 研究地点及实验材料

本研究选择在 3 个实验地中进行,其中两个实验地(金阳、永善)属于白魔芋自然分布区域,位于金沙江干热河谷下游;另一个实验地(富源)为异地种植的白魔芋生产基地(不在白魔芋的自然分布范围内)。金阳实验地位于四川省凉山彝族自治州金阳县洛解村(27°38′20.73″N、

103°13'52.75"E, 海拔 1404 m), 年均气温 17.9°C, 年均降水量 802 mm; 永善实验地位于云南省昭通市永善县田坝村(28°10'35.45"N、103°41'33.04"E, 海拔 1247 m), 年均气温 16.8°C, 年均降水量 825 mm; 富源实验地位于云南省曲靖市富源县竹园镇(25°22'56.10"N、104°17'35.38"E, 海拔 1795 m)。本实验所用的白魔芋材料是从当地农户种植白魔芋中挑选出的当年能开花的植株, 分别在 3 个实验地各栽培 200 株于花盆中。

1.2 研究方法

1.2.1 开花物候

分别在金阳和永善实验地于白魔芋盛花期, 选择 10 株第 2 天即将开花(苞片略张开口)的植株并作标记, 然后连续观察直到花期结束。观察内容包括: 苞片展开时间、柱头活力开始及持续时间、花气味散发时间、雄蕊散粉时间及花序萎蔫时间。以柱头分泌粘液记为雌花期开始, 以雄蕊散粉期记为雄花期。此外, 群体花期以实验地 5% 植株开花定义为初花期, 50% 植株开花定义为盛花期, 5% 以下植株仍在开花定义为末花期。整体花期为实验地中第 1 株始花到最后 1 株末花所持续的时间。

1.2.2 花粉数量与胚珠比值(P/O)测定

在金阳实验地随机选取 20 株雌花期已过且未到雄花期的白魔芋植株, 用小刀将所有花药切下置于 10 mL 洁净的离心管中, 然后加入 1 mol/L HCl 溶液 5 mL, 水解去掉花粉壁, 制成花药悬浮液。将悬浮液摇匀后取 1 μ L 置于载玻片上, 重复 10 次, 于 Olympus-BX51 光学显微镜下统计每个液滴的花粉数目 n 。花粉总数 $N = (n_1 + n_2 + \dots + n_{10}) / 10 \times 5000$ 。同时记录每个花序雌蕊中胚珠的数目 m , 则花粉胚珠比值 $P/O = N/m$ 。

1.2.3 花气味收集

白魔芋花序的挥发性气味收集装置参照 Tholl 等的方法^[22]进行改进。在金阳和永善实验地于白魔芋盛花期采集未开花花序各 3 枝, 用无气味的封口膜(Pechiney, parafilm, WI 54952)将剪切处包裹好。实验环境空气经活性炭(天津市风船化学试剂科技有限公司)吸附净化后, 通过聚四氟乙烯导管导入内放白魔芋花枝的密封玻璃罩, 以正壬烷(3000 ng)作为内标, 用流量计(常州市成丰流量仪表有限公司)和阀门控制进气速度。混合气味的

空气通过 Tenax-TA 吸附管(Enka Research Institute Arnhem, 60/80 目)后由抽气泵(武汉市天联科教仪器发展有限公司)释放到环境中。流量计的流量设计为 400 mL/min, 抽气 4 h。吸附结束后, 用 300 μ L 重蒸正己烷反复洗脱吸附管 3~4 次。

1.2.4 花气味成分分析

采用气相色谱-质谱法(GC-MS)分析白魔芋花序气味的成分。GC 条件: 仪器为 HP5890; HP-5MS 石英毛细管柱(30 m \times 0.32 mm \times 0.25 μ m)(Agilent Technologies, USA)起始柱温为 50°C, 保持 5 min; 升温程序设置为 5°C/min, 温度升高至 280°C; 柱流量为 1.5 mL/min, 进样温度为 250°C; 氢火焰检测温度为 250°C, 进样量 0.3 μ L; 分流比为 50:1; 载气为高纯氮气。MS 条件: 电离方式 EI; 电子能量 70 eV; 传输线温度 250°C; 离子源温度 230°C; 四级杆温度 150°C; 质量范围 35~500; 按照峰面积归一化法计算出各化学成分峰面积的相对百分含量。

1.2.5 挥发物鉴定

除了采用 wiley7n.1 谱库检索来定性确认白魔芋花序挥发性化学成分外, 我们还对化合物的保留指数进行比较。操作时, 将色谱正构烷烃样品($C_5 \sim C_{35}$)各取等量混合后, 按上述 GC 条件进行色谱分析, 测定各正构烷烃的保留时间。然后在完全相同的条件下分析挥发物的样品, 测定各组分的保留时间, 再根据下述线性升温保留指数计算各组分的 Kovats 保留指数^[23], 即: $KI = 100n + 100 [tR(x) - tR(n)] / [tR(n+1) - tR(n)]$ 。其中 KI 为 Kovats 保留指数; tR 为被测组分的保留时间; x 为被测组分符号; n 和 $n+1$ 分别为具有 n 和 $n+1$ 个碳原子的正构烷烃符号。

1.2.6 交配系统

分别于 2018 年在金阳和永善实验地的盛花期、2019 年在永善和富源实验地的盛花期进行交配系统实验, 分别设 4 个处理, 每个处理使用的植株 ≥ 25 株, 包括: (1) 以无任何处理植株作为自然对照; (2) 开花前套上网袋, 确定是否可以自动自交; (3) 人工自花授粉, 在雌花期前套上网袋隔离传粉者, 然后在雄蕊大量散粉时取下网袋, 用干燥毛笔将同株花粉涂至湿润柱头上, 保证每个可授柱头上粘有花粉, 最后再套上网袋; (4) 人工异花授粉, 选择 10 株距离 > 30 m 且正处于雄花期的

白魔芋花序，将其花粉收集在一起并混合均匀，采用干燥毛笔将花粉涂至正处于雌花期的花序柱头上，同时用单面胶完全包裹雄蕊避免同株花粉的影响，然后套上网袋。(说明：(1)授粉时均用小刀去掉苞片后操作；(2)授粉时若遇下雨，则用自封袋将花序套上，两天后再取下；(3)所有套网袋的植株于实验地末花期结束后才将网袋取下。)

1.2.7 传粉者观察

分别于金阳和永善实验地的盛花期观察白魔芋花序中的传粉及访花昆虫。随机选取20株开花前一天的白魔芋植株摆放成两排，重复摆放3个地点，不同地点之间距离50 m以上，连续观察3 d。观察内容包括访花昆虫的种类、访花行为、是否携带花粉、访问频率及停留时间等。将观察到的有效传粉者放入75%酒精中保存，用于后续昆虫种类鉴定。

1.2.8 隐翅虫触角 GC-EAD 实验

采用气相色谱-触角电位联用技术(GC-EAD)测定白魔芋花序气味对其传粉昆虫隐翅虫的触角是否具有刺激作用。

采用花气味分析中收集气味的方法提取白魔芋花序气味。吸取1 μL 白魔芋花序气味提取液注入 HP-7890B GC(Agilent, USA)进样口，进样口温度为250 $^{\circ}\text{C}$ ，采用 HP-FFAP 色谱柱和氮气(2 mL/min)作为运载气流。烘箱的初始温度为50 $^{\circ}\text{C}$ 持续2 min，然后以10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率加热到180 $^{\circ}\text{C}$ ，再以20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率加热到230 $^{\circ}\text{C}$ 并持续3 min；采用火焰离子检测器(flame ionization detector, FID)检测气味混合物中的成分。每个气味重复3次，从结果的峰图中确定气味混合物中的各成分及其出峰时间。

将金阳和永善两个实验地含有大量隐翅虫的白魔芋花序放入昆虫饲养笼(30 cm \times 30 cm \times 30 cm, 120目)，带回昆明植物园饲养，用于实验。由于隐翅虫的触角较短，因此将其整个头部剪下，将其中一个触角连接信号放大器，另一个触角连接电极。EAD与GC采用一根40 cm加热至250 $^{\circ}\text{C}$ 的传输线连接起来，为了使到达触角的信息素最大化，不采用毛细管柱分离，而是分别记录EAD和FID的信号。观察隐翅虫的触角在花序气味中的各化合物出峰时间是否有反应，重复8次。

1.2.9 人工合成气味诱导传粉昆虫

购买GC-MS结果中各气味成分的标准品(含量>98%)，按其结果中的成分比例配制成人工合成的白魔芋气味混合物50 mg，然后到野外进行诱导。取人工合成的气味混合物滴于直径1 cm的棉球上，取量与白魔芋单花释总量一致(7000 ng, 约7 μL)，然后将棉球置于昆虫诱捕瓶中，重复30个。同时滴加等量的正己烷(色谱纯)于15个同规格的棉球上，然后置于昆虫诱捕瓶作为对照组。随后将诱捕瓶随机摆放至白魔芋实验地里，诱捕瓶之间相隔至少10 m以上，放置时间在早上6:00左右，然后于晚上18:00左右查看并记录各诱捕瓶中昆虫的种类及数量，重复4 d。

1.3 数据分析

所有实验数据均采用SAS 9.4进行统计分析。采用Origin 8.0对所有数据进行作图。

2 结果与分析

2.1 开花物候

金阳和永善两个实验地的白魔芋开花动态基本一致。白魔芋佛焰苞花序结构及其开花过程见图1。

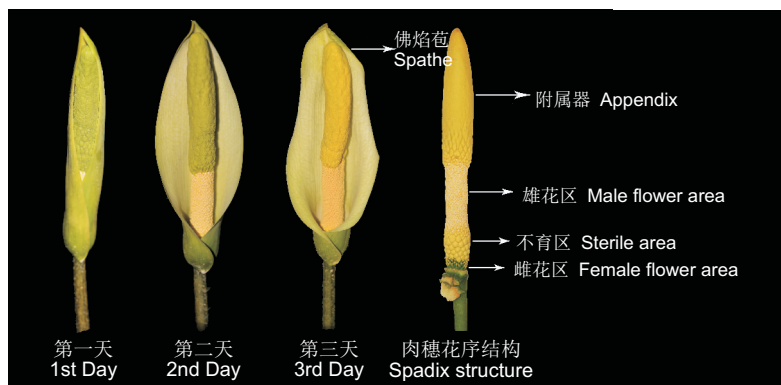


图1 白魔芋佛焰苞花序结构及其开花过程

Fig. 1 Spathe structure of *Amorphophallus albus* and different flowering phases

第 1 d, 即开花前一天, 苞片打开至不同程度的缝隙, 此时苞片和附属器均为青绿色; 第 2 d, 早上 5:30 左右柱头开始分泌粘液, 同时散发出恶臭气味, 此时苞片完全打开, 苞片和附属器呈黄绿色, 到早上 8:00–9:00 恶臭气味渐渐消失; 第 3 d, 早上 5:30 左右雄蕊开始散粉, 6:00–7:00 为大量散粉期, 到 9:00 左右散粉逐渐停止; 第 4 d, 白魔芋花序逐渐萎蔫。由此可见, 白魔芋单花花期为 2 d。群体水平上, 白魔芋初花期为 5 月底, 盛花期为 6 月中旬, 末花期为 6 月底。整体花期持续 1 个月左右。

2.2 花粉数量与胚珠比值 (P/O)

统计结果表明, 金阳实验地白魔芋植株的胚珠数大部分为 60~100, 永善实验地的胚珠数为 80~120。金阳实验地白魔芋植株的花粉数目平均为 482145 ± 214633 个, 根据各株的胚珠数得到 P/O 值为 5980 ± 1309 ; 永善实验地中花粉数目平均为 565208 ± 226008 个, 根据各株的胚珠数得到 P/O 值为 5768 ± 875 。采用 t 检验比较 2 个实验地的花粉胚珠比值, 发现两者之间无显著差异 ($t = 0.33, P > 0.05$)。依据 Cruden 的标准, P/O 为 2108~195525 时, 交配系统为专性异交^[24], 由此推测白魔芋应属于专性异交的交配系统。

2.3 花气味成分分析

采用 GC-MS 对白魔芋花气味成分进行分析, 结果显示 (表 1), 其主要化学成分是二甲基二硫和二甲基三硫, 其中, 二甲基二硫占 $66.1\% \pm 4.2\%$,

二甲基三硫占 $26.6\% \pm 4.8\%$, 还有少量的二甲基四硫和硫代乙酸甲酯, 分别占 $3.2\% \pm 2.9\%$ 和 $1.4\% \pm 0.6\%$ 。此外, 根据内标计算得到白魔芋单花序挥发气味释放量约为 2000 ng/h, 释放时间从 5:30 到 9:00 共 3 h, 释放总量约为 7000 ng。综合结果表明白魔芋花序中的化合物单一, 只有两种主要成分, 都是二甲基硫化物且含量较高, 表现出强烈的恶臭气味。

2.4 交配系统

授粉实验结果显示 (表 2), 3 个实验地点在 2018 年和 2019 年的人工自花授粉以及套袋的结实率都为 0 ($n \geq 25$), 且 2019 年富源实验地的自然结实率也为 0 ($n = 26$)。2018 年金阳和永善实验地的自然结实率分别为 72.0% ($n = 25$) 和 32.0% ($n = 25$), 人工异花授粉结实率分别为 60.0% ($n = 25$) 和 100.0% ($n = 25$); 2019 年永善实验地的自然结实率和人工异花授粉结实率分别为 53.1% ($n = 32$) 和 63.3% ($n = 30$), 富源实验地的人工异花授粉结实率为 76.0% ($n = 25$)。采用卡方检验比较不同地区的自然结实率和人工异花授粉结实率的差异 (表 3), 结果显示 3 个地区之间的自然结实率均存在显著差异, 永善两年之间的自然结实率无显著差异 ($\chi^2 = 2.5, P > 0.05$); 2018 年永善的人工异花授粉结实率与金阳 ($\chi^2 = 12.5, P < 0.001$) 以及与 2019 年永善的人工异花授粉结实率 ($\chi^2 = 11.5, P < 0.001$) 都存在极显著差异, 而富源的人工异花授粉结实率与金阳 ($\chi^2 =$

表 1 白魔芋花序气味的化合物成分及相对含量

Table 1 Chemical components and relative content of inflorescence odor in *Amorphophallus albus*

化合物 Compound	保留指数 Kovats index	化合物编号 Compound number	相对含量 (mean \pm SD) Relative content
二甲基二硫	748	614-92-0	$66.1\% \pm 4.2\%$
二甲基三硫	972	3658-80-8	$26.6\% \pm 4.8\%$
二甲基四硫	1215	5756-24-1	$3.2\% \pm 2.9\%$
硫代乙酸甲酯	699	1534-08-3	$1.4\% \pm 0.6\%$

表 2 白魔芋不同实验地人工授粉处理的结实率

Table 2 Fruit setting rate of *Amorphophallus albus* under different hand-pollination treatments in studied areas

处理 Treatment	2018		2019	
	金阳 Jingyang	永善 Yongshan	永善 Yongshan	富源 Fuyuan
自然对照 Control	72.0%	32.0%	53.1%	0
套袋 Bagged	0	0	0	0
人工自花授粉 Autogamy hand-pollination	0	0	0	0
人工异花授粉 Xenogamy hand-pollination	60.0%	100.0%	63.0%	76.0%

表 3 不同处理方式下各实验地的结实率卡方检验结果比较

Table 3 Comparison of Chi-square test results of fruit setting rate under different treatments and areas

比较 Comparison	自然对照 Control	人工异花授粉 Xenogamy hand-pollination
金阳 Jingyang(2018) vs 永善 Yongshan(2018)	8.0 **	12.5 ***
永善 Yongshan(2019) vs 富源 Fuyuan(2019)	18.9 ***	1.0 (NS)
金阳 Jingyang(2018) vs 富源 Fuyuan(2019)	28.1 ***	1.5 (NS)
永善 Yongshan(2018) vs 永善 Yongshan(2019)	2.5 (NS)	11.5 ***

Notes: **, $0.01 > P > 0.001$; ***, $P < 0.001$; NS, non-significant.

1.5, $P > 0.05$) 以及 与 2019 年永善的人工异花授粉结实率($\chi^2 = 1.0$, $P > 0.05$) 均无显著差异。

2.5 传粉昆虫

对金阳和永善实验地分别连续 3 天的观察发现, 两个地区的主要访花者及传粉者是隐翅虫, 白魔芋花序被隐翅虫访问的概率达 100%(图 2)。其中金阳实验地白魔芋花序中的隐翅虫平均数量为 564 ± 294 只($n = 30$), 而永善实验地隐翅虫的平均数量为 20 ± 12 只($n = 30$)。隐翅虫可携带花粉, 自然状态下永善实验地平均每只隐翅虫携带的花粉量为 934 ± 330 粒($n = 20$), 金阳实验地平均携带花粉量为 121 ± 57 粒($n = 20$)。隐翅虫在雄花期结束后携带花粉离开, 然后飞向下一个正处于雌花期的白魔芋花序并完成传粉。由此证明隐翅虫为白魔芋的有效传粉者。此外还观察到其他访花昆虫, 包括: 露尾甲科(Nitidulidae)、丽蝇科(Calliphoridae)、麻蝇科(Sarcophagidae)、天牛科(Cerambycidae)、食蚜蝇科(Syrphidae)等, 但仅有偶然的访花行为, 并未携带花粉, 因此不是有效的传粉者。



图 2 白魔芋花序中的隐翅虫

Fig. 2 Rove beetles in *Amorphophallus albus* inflorescence

白魔芋花序于开花第 1 d 早上 5:30 左右开始散发恶臭气味, 而隐翅虫在早上 6 点左右陆续前来, 来访数量随时间不同而变化(图 3), 隐翅虫来访的时间主要集中在 6:00–6:30 时段。刚开始是盘旋在花序周围, 然后逐渐进入佛焰苞花序中并进行交配和取食行为, 取食部位主要是不育区。若

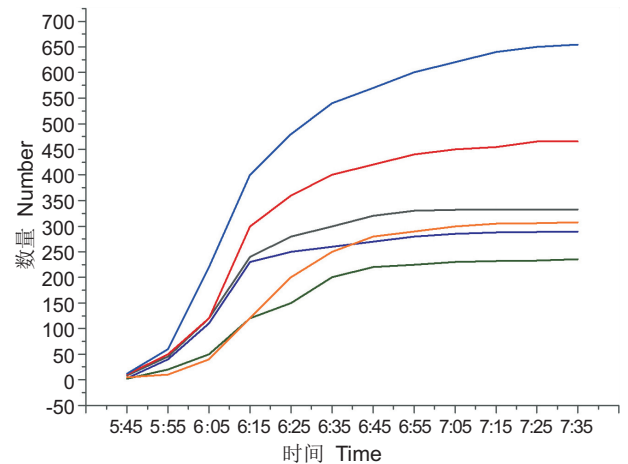
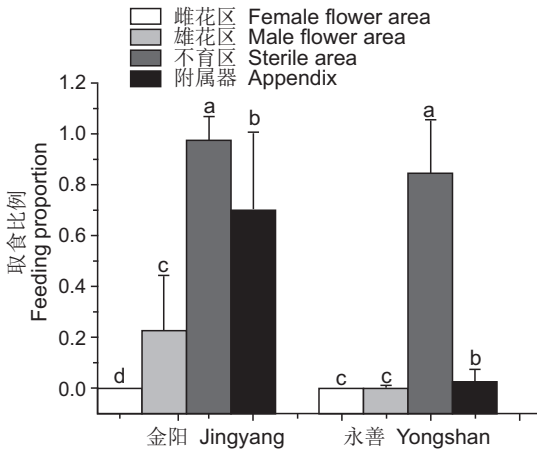


图 3 白魔芋花序中的隐翅虫数量随时间的变化关系 (雌花期, 线条代表不同的花序)

Fig. 3 Number of rove beetles in *Amorphophallus albus* inflorescences during female phase (lines represent different inflorescences)

隐翅虫的数量过多而不育区作为食物不足, 隐翅虫则会继续取食与不育区连接的部分雄花区和附属器。从金阳及永善实验地植株花序各部位被取食比例可见(图 4): 金阳实验地的隐翅虫数量较多, 因此几乎在取食完全部不育区($97.2\% \pm 9.6\%$, $n = 40$)后会继续取食部分雄花区($22.8\% \pm 21.8\%$, $n = 40$)和附属器($70.4\% \pm 30.3\%$, $n = 40$), 经 Kruskal-Wallis 检验结果表明, 雄花区、雌花区、不育区和附属器 4 个部位被取食的比例均存在显著差异($P < 0.05$); 永善实验地的隐翅虫数量较少, 只取食了大部分不育区($84.5\% \pm 21.0\%$, $n = 40$), 而雄花区($0.2\% \pm 0.8\%$, $n = 40$)和附属器($2.6\% \pm 4.8\%$, $n = 40$)被取食的部



不同字母表示同一地点花序不同部位之间差异显著, $P < 0.05$ 。Different letters in same location indicate significant difference ($P < 0.05$) among different parts of inflorescence.

图 4 白魔芋花序不同部位被隐翅虫取食的比例

Fig. 4 Proportion of different *Amorphophallus albus* inflorescence parts eaten by rove beetles

分非常少, 经 Kruskal-Wallis 检验结果表明, 雌花区和雄花区被取食的比例无显著差异 ($P > 0.05$), 而不育区、附属器和雌雄花被取食的比例间存在显著差异 ($P < 0.05$)。

2.6 隐翅虫触角对花序气味的反应

从白魔芋花气味 GC 分析结果来看(图 5), 共检测到 3 个明显峰, 出峰时间分别在 6.5、10.0、13.5 min, 结合 GC-MS 分析结果可知, 3 个峰分别是二甲基二硫、二甲基三硫和二甲基四硫。隐翅虫的 GC-EAD 实验结果显示, 其触角对白魔芋花气味中的二甲基二硫、二甲基三硫和二甲基四硫均表现出明显的反应(图 5)。说明白魔芋花气味对隐

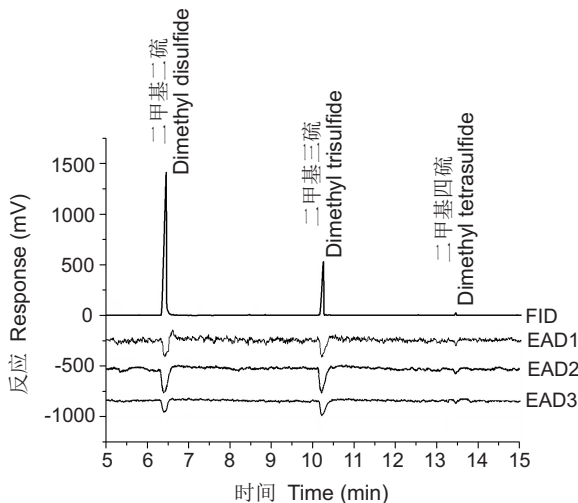


图 5 隐翅虫触角对花序气味的触角电位反应

Fig. 5 GC-EAD responses of rove beetles to floral odor of *Amorphophallus albus*

翅虫的触角具有明显的刺激作用, 推测该气味是吸引隐翅虫来访的重要嗅觉信号。

2.7 人工合成气味诱导传粉昆虫

根据 GC-MS 的分析结果, 以二甲基二硫和二甲基三硫 63 : 27 的比例配成人工合成的白魔芋花气味, 在金阳实验地进行诱导实验。经过连续 3 d 诱导, 诱导到隐翅虫数量 2 只、3 只、2 只, 诱导到露尾甲科昆虫 3 只、4 只、2 只, 还包括其他一些蚂蚁、蜘蛛、蟋蟀等昆虫, 而对照组的诱捕瓶未发现有隐翅虫或露尾甲。结果表明人工模拟的气味对野外隐翅虫的诱捕作用不明显。

3 讨论

3.1 自交不亲和

植物在长期的进化过程中逐渐形成了防止自交而专性异交的繁殖策略, 这是由于自交会引起遗传多样性降低而产生衰退, 并且不利于适应复杂多变的环境^[25]。植株防止自交亲合主要有合子前隔离和合子后隔离两种方式, 合子前隔离包括雌雄异熟和雌雄异位^[26]。研究表明天南星科植物主要通过雌雄异熟的方式阻止自交^[4, 27]。本研究的花粉胚珠比值及人工授粉实验均表明, 白魔芋自交不亲和, 需要异交才能结实, 这与前人的研究结果一致。此外, 永善实验地的自然结实率低于金阳, 推测可能是永善的隐翅虫数量较少, 导致接受异株花粉的柱头较少而结籽率低。我们前期研究也发现花魔芋结籽率低于 21.9% 会影响植株的存活^[8]。因此白魔芋可能是由于结籽率低导致植株死亡, 最终影响其结实率。

3.2 白魔芋与隐翅虫间的互惠互利关系

甲虫被认为是被子植物中最早的虫媒传粉昆虫^[28, 29]。甲虫与传粉植株之间属于互惠互利且逐渐协同进化的关系^[10]。甲虫传粉植物通常通过花或花序在视觉和嗅觉上共同模拟甲虫生活所需的环境来吸引甲虫为其传粉^[10]。视觉上表现为颜色暗红色到深褐色, 此外有的植物花序带毛, 模拟发霉的尸体或食物^[12, 11]; 嗅觉上表现为开花时释放各种臭味气体化合物如脂肪酸类模拟腐烂的食物, 对甲基苯酚、吡啶等模拟粪便的气味^[13, 14, 30]。本研究中白魔芋的佛焰苞花序是黄绿色, 这在甲虫传粉植物中非常独特, 推测可能是花青素在合成的过程中发生了突变, 致使花序呈黄绿色; 白魔芋花气味

释放的化合物主要是二甲基硫化物,模拟腐肉的气味^[15, 30]。

研究发现,植物提供食物作为传粉报酬在甲虫传粉植物中非常普遍,在天南星科植物中通常以花或花序中富含蛋白质或糖类的中性区、退化的雄蕊以及附属器等作为传粉报酬^[5, 31-33]。本研究中的白魔芋也是将不育区作为传粉报酬供隐翅虫取食。但如果隐翅虫数量较多时,会进一步取食部分雄花区和附属器。比如金阳实验地的隐翅虫几乎取食了花序全部不育区和大部分附属器以及少部分雄花区;而永善实验地的隐翅虫数量较少,基本只取食不育区部分。两个地点的雌花区均未被破坏,推测是其中含有某种化合物起到了防御作用^[33]。Maldonado在研究喜林芋属(*Philodendron*)时发现,不育花中的草酸钙晶体明显少于可育花,而传粉者主要取食不育花^[32],本研究白魔芋花序被取食的模式与喜林芋相似。表明白魔芋通过颜色及气味吸引隐翅虫访问达到异花传粉的目的,而隐翅虫获得食物以及交配的场所,证明白魔芋和隐翅虫之间存在互惠互利的关系。

3.3 诱导不明显的可能原因

本实验中人工模拟的气味对隐翅虫的诱捕作用不明显,推测有以下几种原因:(1)诱导实验开展的时间较晚,已经处于白魔芋的末花期,开花的植株非常少,而隐翅虫的数量也急剧减少,导致能诱导到的隐翅虫数量少;(2)我们前期观察中发现,白魔芋花序散发气味的同时也伴随着温度升高,而本次诱导实验中没有模拟温度升高,因此可能对吸引隐翅虫的效果也有影响;(3)由于未购买到二甲基四硫和硫代乙酸甲酯标准品,因此花气味混合物中并没有加入二甲基四硫和硫代乙酸甲酯,导致人工模拟气味与花序释放的气味存在差异,这也可能是诱导效果差的原因之一。

3.4 白魔芋濒危原因分析及其保护建议

白魔芋的自然分布区域非常狭窄,仅分布于金沙江下游地区从巧家至绥江、屏山一带^[3]。白魔芋是自交不亲和物种,在无人为干扰的情况下只能通过隐翅虫为其传粉从而完成有性生殖过程。但我们观察到,在白魔芋自然生境以外的地方,如云南省富源县和云南省昆明植物园等异地栽培的白魔芋均没有发现隐翅虫或其他有效的白魔芋传粉昆虫。由此推测传粉昆虫可能是导致白魔芋生境狭窄的潜在原因。

在原因。

由于金沙江大型梯级水电站的修建,导致白魔芋本来就狭窄的生境遭到进一步的破坏^[34],同时人为采挖野生白魔芋的现象也非常严重。多重因素导致白魔芋的野生资源大量减少,其生存受到严重威胁,因此保护白魔芋野生资源刻不容缓,在此我们提出以下几点保护建议:第一,在其原生境进行就地保护。一方面加强当地居民对白魔芋野生资源重要性的认识,杜绝采挖野生白魔芋的现象;另一方面要重点保护其原生境及其特有的传粉昆虫,保护现有的野生种群。第二,选择有代表性的植株进行迁地保护,为了解决迁地保护时缺少有效的传粉昆虫,需要借助人工授粉来完成有性繁殖以扩大种群,为下一步种群回归自然提供材料。第三,进一步开展对白魔芋的科学研究,如遗传资源、种子传播等,为保护白魔芋提供更多的理论依据。

致谢:中国科学院昆明植物研究所余珍在花气味成分分析、中国科学院动物研究所周红章在传粉昆虫鉴定方面给予的帮助,湖北省恩施州农业科学研究院刘二喜对文章提出宝贵建议,云南省富源县农业科学院卢俊、云南省永善县魔芋产业发展领导小组办公室谭安培等、四川省金阳县魔芋开发领导小组办公室黄富川等为本研究提供了实验基地及材料,中国科学院西双版纳热带植物园汪正威在触角电位与气相色谱联用方面提供了技术支持,在此一并表示感谢。

参考文献:

- [1] Hung CY, Qiu J, Sun YH, Chen JJ, Kitturl FS, Henny RJ, et al. Gibberellin deficiency is responsible for shy-flowering nature of *Epipremnum aureum*[J]. *Sci Rep-UK*, 2016, 6: 28598.
- [2] Christenhusz MJM, Byng JW. The number of known plants species in the world and its annual increase[J]. *Phytotaxa*, 2016, 261(3): 201-217.
- [3] Li H, Hettterscheid WLA. Flora of China: Araceae[M]. Beijing: Science Press, St. Louis: Missouri Botanical Garden Press, 2010.
- [4] Gibernau M. Pollinators and vistsors of aroid inflorescences [J]. *Aroideana*, 2003, 26: 66-83.
- [5] Gibernau M. Pollinators and vistsors of aroid inflorescences; an addendum[J]. *Aroideana*, 2011, 34: 70-83.
- [6] 钟明哲. 台湾魔芋的传粉生物学[D]. 台南: 台湾成功大学生命科学研究所, 2005.
- [7] 潘登浪, 曾宪海, 李文, 林位夫. 海南野生疣柄魔芋传粉生物学特性的初步研究[J]. *中国热带农业*, 2013(6): 49-53.

- [8] 刘二喜. 魔芋种质资源分类鉴定技术、引种适应性评价及繁殖特性研究[D]. 恩施: 湖北民族学院, 2016.
- [9] Costa MS, Silva RJ, Paulino-Neto HF, Pereira MJB. Beetle pollination and flowering rhythm of *Annona coriacea* Mart. (Annonaceae) in Brazilian cerrado: behavioral features of its principal pollinators [J]. *PLoS One*, 2017, 12 (2): e0171092.
- [10] Bernhardt P. Convergent evolution and adaptive radiation of beetle-pollinated angiosperms [J]. *Plant Syst Evol*, 2000, 222(1): 293–320.
- [11] Vereecken NJ, Mcneil JN. Cheaters and liars: chemical mimicry at its finest[J]. *Can J Zool*, 2010, 88(7): 725–752.
- [12] Chen G, Ma XK, Jürgens A, Lu J, Liu EX, Sun WB. Mimicking *livor mortis*: a well-known but unsubstantiated color profile in sapromyophily[J]. *J Chem Ecol*, 2015, 41 (9): 808–815.
- [13] Jürgens A, Dötterl S, Meve U. The chemical nature of fetid floral odors in stapeliads (Apocynaceae – Asclepiadoideae – Ceropogonieae) [J]. *New Phytol*, 2006, 172(3): 452–468.
- [14] Niet TVD, Hansen DM, Johnson SD. Carrion mimicry in a South African orchid: flowers attract a narrow subset of the fly assemblage on animal carcasses[J]. *Ann Bot-London*, 2011, 107(6): 981–992.
- [15] Stensmyr MC, Urru I, Collu I, Celander M, Hansson B, Angioy AM. Pollination: rotting smell of dead-horse arum florets[J]. *Nature*, 2002, 420(6916): 625–626.
- [16] Diaz A, Kite GC. A comparison of the pollination ecology of *Arum maculatum* and *A. italicum* in England[J]. *Watsonia*, 2002, 24(2): 171–181.
- [17] Suetsugu K, Okamoto T, Kato M. Mushroom attracts hornets for spore dispersal by a distinctive yeasty scent[J]. *Ecology*, 2019, 100(8): e02718.
- [18] Bröderbauer D. Evolution of trap pollination in the Araceae [D]. Austria: University of Vienna, 2012.
- [19] 刘佩瑛, 陈劲枫. 魔芋属一新种[J]. 西南农学院学报, 1984 (1): 67–69.
Liu PY, Chen JF. A new species of *Amorphophallus* [J]. *Journal of Southwest Agricultural College*, 1984 (1): 67–69.
- [20] 刘佩瑛. 魔芋学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004.
- [21] Yang J, Sun WB. A new programme for conservation of plant species with extremely small populations in south-west China[J]. *Oryx*, 2017, 51(3): 396–397.
- [22] Tholl D, Boland W, Hansel A, et al. Practical approaches to plant volatile analysis[J]. *Plant J*, 2006, 45(4): 540–560.
- [23] Van Den Dool H, Kratz PD. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography[J]. *J Chromatogr*, 1963, 11: 463–471.
- [24] Barrett SCH. Evolution of sex: the evolution of plant sexual diversity[J]. *Nat Rev Genet*, 2002, 3(4): 274–284.
- [25] Dai C, Galloway LF. Do dichogamy and herkogamy reduce sexual interference in a self-incompatible species? [J]. *Funct Ecol*, 2011, 25(1): 271–278.
- [26] Milet-Pinheiro P, Gonçalves EG, Navarro DMAF, Nuñez-Avellaneda LA, Maia ACD. Floral scent chemistry and pollination in the Neotropical aroid genus *Xanthosoma* (Araceae) [J]. *Flora*, 2017, 231: 1–10.
- [27] Thien LB, Bernhardt P, Devall MS, Chen ZD, Luo YB, Fan JH, et al. Pollination biology of basal angiosperms (ANITA grade) [J]. *Am J Bot*, 2009, 96(1): 166–182.
- [28] Wang B, Zhang H, Jarzembowski E. Early Cretaceous angiosperms and beetle evolution[J]. *Front Plant Sci*, 2013, 4(360): 1–6.
- [29] Johnson SD, Jürgens A. Convergent evolution of carrion and faecal scent mimicry in fly-pollinated angiosperm flowers and a stinkhorn fungus[J]. *S Afr J Bot*, 2010, 76 (4): 668–675.
- [30] Garca-Robledo C, Kattan G, Murcia C, Murcia C, Quintero-Marin P. Beetle pollination and fruit predation of *Xanthosoma daguense* (Araceae) in an Andean cloud forest in Colombia[J]. *J Trop Ecol*, 2004, 20(4): 459–469.
- [31] Coté GG, Gibernau M. Distribution of calcium oxalate crystals in floral organs of Araceae in relation to pollination strategy[J]. *Am J Bot*, 2012, 99(7): 1231–1242.
- [32] Maldonado M, Sakuragui CM, Trigo JR, Rodrigues D. The selective florivory of *Erioscelis emarginata* matches its role as a pollinator of *Philodendron* [J]. *Entomol Exp Appl*, 2015, 156(3): 290–300.
- [33] 黄保国, 唐荣, 陈高, 李新辉. 白魔芋花器官草酸钙晶体对隐翅虫的潜在防御能力研究[J]. 西南林业大学学报(自然科学), 2019, 39(6): 92–97.
Huang BG, Tang R, Chen G, Li XH. The potential defense of calcium oxalate crystals against rove beetle in inflorescence of *Amorphophallus albus* [J]. *Journal of Southwest Forestry University*, 2019, 39(6): 92–97.
- [34] 许向宁, 葛文彬, 黄润秋, 唐川, 李胜伟. 梯级水电开发对生态地质环境影响评价的思路与方法初探[J]. 中国地质, 2008, 35(2): 351–356.
Xu XN, Ge WB, Huang RQ, Tang C, Li SW. Concept and method of assessment of the effect of cascade hydropower development on the ecological geo-environment [J]. *Geology in China*, 2008, 35(2): 351–356.