

信息化合物对薜荔榕小蜂选择行为的影响

陈友铃*, 方丽娜, 吴文珊

(福建师范大学生命科学学院, 福州 350108)

摘要: 爱玉子和薜荔均为桑科榕属植物, 与薜荔榕小蜂保持稳定的共生关系, 信息化合物在维系榕树与其传粉小蜂的共生关系中起决定性作用。应用 Y 型嗅觉仪检测两种来源的薜荔榕小蜂对 8 种单一信息化合物和芳樟醇、苯甲醇和松油醇组成的混合信息化合物的趋向性反应。实验结果表明: 3% 和 5% 芳樟醇、5% 的苯乙烯、7% 苯甲醇、5% 和 7% 松油醇以及 7% 金合欢醇对两种来源的薜荔榕小蜂均具有显著的吸引作用, 7% 苯甲酸甲酯对两种来源的薜荔榕小蜂有显著的趋避作用, 香兰醛对两种来源的薜荔榕小蜂的行为没有显著的影响, 从而表明信息化合物的种类和浓度均显著影响薜荔榕小蜂的选择行为。5% 芳樟醇、3% 松油醇和 3% 苯甲醇的混合信息化合物组合对两种来源的薜荔榕小蜂具极显著的吸引作用, 信息化合物之间的交互作用极为显著。两种不同来源的薜荔榕小蜂对信息化合物反应的异同, 表明两种不同来源的薜荔榕小蜂与各自宿主之间的化学通讯信号传导上存在差异, 同时也表明两种不同来源的薜荔榕小蜂之间存在密切的亲缘关系。在榕树接受期花序的挥发物成分中广泛存在并占较大比例的信息化合物(例如芳樟醇), 可能与榕小蜂对寄主的远程定位有关, 而近距离的专性定位却是依赖于各种信息化合物严格按一定浓度、比例组成的化学图谱。实验结果为榕-蜂共生体系的化学生态学理论研究和爱玉子高产栽培提供科学依据。

关键词: 爱玉子; 薜荔; 信息化合物; 传粉榕小蜂; Y 型嗅觉仪

The effect of infochemicals on selection behavior of *Wiebesia pumilae* (Hymenoptera: Chalcidoidea: Agaonidae)

CHEN Youling*, FANG Lina, WU Wenshan

College of Life Science, Fujian Normal University, Fuzhou 350108, China

Abstract: *Ficus awkeotsang* Makino and *Ficus pumila* L. are both *Ficus* (Moraceae) species. As an endemic plant and a special fruit tree species of China, *F. awkeotsang* is cultivated in the south region of Yangtze River in China, whereas *F. pumila* is widely used in vertical greening in the garden. *F. awkeotsang* and *F. pumila* are dioecious, both of which have a stable mutualistic relationship with *Wiebesia pumilae* (Hymenoptera: Chalcidoidea: Agaonidae). The maintenance of the fig-fig wasp mutualism system is strongly dependent on the chemical orientation of pollinating fig wasps using fig volatiles. The pollinating fig wasps trace the fig volatiles of their particular host and enter the figs at receptive phase (female flower phase) only, where they oviposit for themselves and meanwhile causing the plants pollinated. Infochemicals play a decisive role in maintaining the fig/pollinator mutualisms. Eight infochemicals including linalool, benzyl ethylene, benzyl alcohol, geraniol, terpineol, farnesol, vanillin and methyl benzoate were chosen for tests based on the volatile components in the receptive phase syconia of *F. awkeotsang*, *F. pumila* and other figs. Two groups of *Wiebesia pumilae* from *F. awkeotsang* and *F. pumila* were tested.

In this paper, the tropistic responses of two groups of *Wiebesia pumilae* from different sources to eight individual infochemicals and a mixture of linalool, benzyl alcohol and terpineol were measured using a Y-tube olfactometer in the laboratory. The responses of the two groups to the same infochemicals were compared. The differences in effects on the selection behavior of *Wiebesia pumilae* to individual and mixed infochemicals were studied. The results showed that 3% and

基金项目: 福建省科技厅重点资助项目(No. 2008I0014)

收稿日期: 2009-11-05; 修订日期: 2010-03-05

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: chenyouling2000@126.com

5% linalool, 5% benzyl ethylene, 7% benzyl alcohol, 5% and 7% terpineol, and 7% farnesol exhibited significant attractive effect, whereas 7% methyl benzoate exhibited significant repellent effect, and vanillin exhibited little effect on both of the groups of *Wiebesia pumilae*, indicating that the types and concentrations of infochemicals had significant effects on the selection behavior of fig wasps, suggesting that the chemical compositions and concentrations of fig volatiles had effects on the selection behavior of their pollinator fig wasps. The results of orthogonal experiment showed that the synergistic and antagonistic effects on fig wasps were exhibited when the individual infochemicals were mixed. The mixture of 5% linalool, 3% benzyl alcohol and 3% terpineol (i. e. optimum combination) exhibited extremely significant attraction to both of the groups of *Wiebesia pumilae*, and the interaction between different infochemicals was very significant. This further indicated that only certain compounds in a particular concentration could produce strong attractive effect on fig wasps.

The similarities and differences between the responses of the two groups of *Wiebesia pumilae* to infochemicals suggest that the two groups of *Wiebesia pumilae* have a close genetic relationship between them, but may be different in the signal transduction of chemical communication between them and their hosts. The infochemicals (e. g. linalool) widely exist and account for a large proportion of the volatile components in receptive phase syconia, which might be related to the long-range host-location of wasps. However, the short-range special host-location of wasps might be dependent on the chemical spectrum consisting of various infochemicals according to certain concentrations and proportions strictly. The results of this experiment will facilitate the theoretical study on the chemical ecology of the fig-wasp symbiosis and the high-yield cultivation of *F. awkeotsang*.

Key Words: *Ficus awkeotsang* Makino; *Ficus pumila* L.; infochemicals; pollinating fig wasp; Y-tube olfactometer

爱玉子(*Ficus awkeotsang* Makino)和薜荔(*Ficus pumila* L.)均为桑科榕属攀援灌木,爱玉子作为我国特有植物、特种果树仅在我国长江以南地区有栽培^[1-2],而薜荔则被广泛应用于园林垂直绿化中^[3]。爱玉子和薜荔雌雄异株,二者与特定的传粉小蜂-薜荔榕小蜂(*Wiebesia pumilae* (Hill) Wieb.)建立了专性的传粉共生关系^[4-7]。绝大多数的榕树与榕小蜂建立一对一专性共生关系^[8-9],而薜荔榕小蜂与2种榕树保持稳定的共生关系是极为罕见的特例^[4]。爱玉子和薜荔的雌花序内的长花柱雌花必须由小蜂为其传粉方可产生种子;小蜂也必须在爱玉子和薜荔雄花序内的短花柱雌花子房内产卵才能完成其生活史,接受期花序的进蜂数量决定了雌花序的结实率以及雄花序中榕小蜂的后代数量。没有小蜂访问的花序就会凋落,严重影响栽培爱玉子的产量^[5-7]。因此,传粉榕小蜂对寄主(爱玉子、薜荔)快速、准确定位无论对于传粉者自身,还是与其共存的寄主,都是关系到后代繁衍的关键问题。

花或花序的挥发物在吸引昆虫传粉者方面起着重要的作用^[10],昆虫通过挥发物寻找食物、配偶或产卵场所^[11]。全世界的榕树约750种^[12],每种榕树通常由特定的雌性榕小蜂(膜翅目,榕小蜂科)进行传粉,而这些榕小蜂在榕果隐头花序内产卵^[13-14]。在专一性榕-榕小蜂共生体系中,传粉榕小蜂对寄主-榕树花序的准确定位,一方面可能是依赖于视觉^[15-16],另一方面,更多的研究结果表明,传粉小蜂受榕树花序释放的挥发性化合物的吸引^[17-25]。但是,植物的挥发性成分十分复杂^[19-21,25-28],对传粉昆虫具有引诱活性的挥发物究竟是其中的一种^[26],还是多种的混合物^[29-32],至今尚无准确的定论,且信息化合物对榕小蜂行为影响的相关研究鲜见报道^[31-32]。为了探讨维持爱玉子和薜荔与传粉榕小蜂共生关系的化学信息通讯机制,提高小蜂授粉效率从而提高产量,本研究根据爱玉子^[33-34]、薜荔^[33]以及其他接受期榕果^[22-25,27-32]中分离分析得到的化合物,筛选出8种对薜荔榕小蜂可能起到吸引或驱避作用的有机化合物,作为待测信息化合物,应用Y型嗅觉仪实验检测薜荔榕小蜂对8种信息化化合物的趋向性反应,比较不同来源的薜荔榕小蜂对相同的信息化化合物的反应差异,研究单一信息化合物与混合信息化合物对薜荔榕小蜂吸引作用的差异,以及不同信息化合物之间是否存在交互作用,以期为此类共生体系的化学生态学理论研究和爱玉子高产栽培提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

薜荔传粉小蜂(雌蜂),采集于薜荔雄花期隐头果,薜荔植株位于福州仓山(119°31'E,26°04'N)和森林公园(119°29'E,26°15'N)。爱玉子传粉小蜂(雌蜂),采集于爱玉子雄花期隐头果,爱玉子植株位于福州南屿台湾爱玉子生态农场(119°23'E,25°97'N)和福建莆田的大洋可山村爱玉子栽培基地(118°55'E,25°31'N)。采集接近出蜂的雄花期隐头果,用100目纱网袋套袋,带回实验室水培观察,待其自然出蜂。选取当日出飞的活力强健并且触角完好的雌性榕小蜂用于实验。

1.2 信息化合物

根据爱玉子^[33-34]、薜荔^[33]以及其他接受期榕果中分离分析得到的化合物^[22-25,27-32],筛选出8种对薜荔榕小蜂可能起到吸引或驱避作用的有机化合物,作为待测信息化合物。信息化合物试剂(标准品)均购于Sigma公司,纯度皆达到98%以上。以二氯甲烷(色谱纯,购于美国Tedia公司)为溶剂配制信息化合物试液。实验前在两个大小相同的脱脂棉球上分别加入0.1mL的样品稀释液和二氯甲烷试剂,做成信息化合物(测试物)诱芯和空白诱芯,待溶剂二氯甲烷在空气中自然挥发完后使用。

1.3 薜荔榕小蜂标准反应时间的确定

采用自行设计的玻璃Y型嗅觉仪,臂长20cm,内径1cm,两臂夹角90°,柄长15cm,管柄上离夹角10cm处连接有5cm长的释放管。每个管臂用Teflon管各接一味源瓶,分别放置测试物诱芯和空白诱芯。进入味源瓶的空气先经活性炭过滤后再进入蒸馏水加湿瓶以净化和润湿空气,管柄接真空泵,调节抽气速率为150mL/min。实验在完全遮光的室内进行。顶灯为3支40W平行灯管,室温25—28℃,相对湿度70%—75%。实验时间选择在昆虫活力较强的12:00之前。

以爱玉子传粉小蜂为实验材料,以5%芳樟醇作测试物诱芯,以空白诱芯为对照。将待测小蜂单个从释放管放入Y型嗅觉仪的管柄,当小蜂爬至超过某臂的10cm处,并持续1min以上者,则认为小蜂对该臂的挥发物做出了选择。选择100只爱玉子传粉小蜂进行预实验的结果表明:92只小蜂在10min内对5%芳樟醇做出选择,8只小蜂未做选择。因此,在进行“薜荔榕小蜂标准反应时间的确定”实验时,记录每只小蜂从释放至到达管臂目的位置所需时间以及进入两臂的小蜂数量,10min以上未做出选择的小蜂则放弃观察。每组测试30只(不包括未作选择的小蜂,下同),重复6次。每测定3只小蜂,调换味源瓶位置,更换同样的Y型管以及Y型管与味源瓶之间的连接管,每组测定分5d进行(即每组每天测6只小蜂)。每组测定完毕,Y型管、味源瓶和连接管用乙醇和双蒸水清洗并放在100℃鼓风干燥箱中15—30min烘干水分。绘制爱玉子传粉小蜂对5%芳樟醇的反应时间曲线(图1)。

1.4 薜荔榕小蜂选择行为的生物测定^[32,35]

1.4.1 单一信息化合物对薜荔传粉小蜂选择行为影响

将待测雌蜂单个从释放管放入Y型嗅觉仪的管柄,当小蜂爬至超过某臂的10cm处,并持续1min以上者,记录小蜂对该臂的挥发物做出了选择。小蜂在1.3实验中确定的标准反应时间内没有做出选择的,则记为无反应。每处理组测30只小蜂,重复6次。每测定3只小蜂,调换味源瓶位置,更换同样的Y型管以及Y型管与味源瓶之间的连接管,每组测定分5d进行。实验条件同1.3。

1.4.2 混合信息化合物对薜荔传粉小蜂选择行为影响

从1.4.1实验结果中选出对榕小蜂选择行为影响显著的3种信息化合物为因素,每个因素设3个水平,采用 $L_9(3^4)$ 正交实验设计,并考虑因子之间的交互作用,因素水平见表3、表5,共9个处理组,每处理组测30只小蜂,重复6次。Y型嗅觉仪小蜂选择行为生物测定实验方法同1.4.1。

1.5 统计方法

运用SPSS软件(11.0版)作数据统计分析。在生物测定试验中,对信息化合物与空白对照的诱蜂数量用卡方检验(χ^2 test)判断差异显著性。对同一信息化合物在不同浓度下对薜荔传粉小蜂的吸引作用采用LSD

法进行显著性多重比较。在混合化合物的正交试验中采用方差分析作显著性检验。

2 结果与分析

2.1 薜荔榕小蜂标准反应时间的确定

从大量昆虫对植物挥发物的行为反应的相关报道^[20,31-37]中可以看出,不同昆虫对挥发物的敏感程度不同,因此,供试昆虫不同,其标准反应时间也不一致。如曹凤勤等在研究 B 型烟粉虱对 3 种寄主植物挥发物的行为反应时,标准反应时间确定为 3min,在 3min 之内没有选择的视为不反应^[36];而张凤娟进行的五角枫挥发物对光肩星天牛的嗅觉行为反应的实验时,标准反应时间确定为 20min^[37];陈春和宋启示进行的榕果挥发物对榕小蜂的吸引作用研究时,标准反应时间确定为 5min^[31]。为了高效、准确、科学地反映出薜荔榕小蜂对信息化化合物的趋向性反应状况,首先要确定小蜂标准反应时间。实验结果如图 1 所示,在 5min 之内,随着选择时间的延长,进行选择的小蜂只数快速增加,有 90.77% 的小蜂在 5min 内做出选择,因此将标准反应时间确定为 5min。

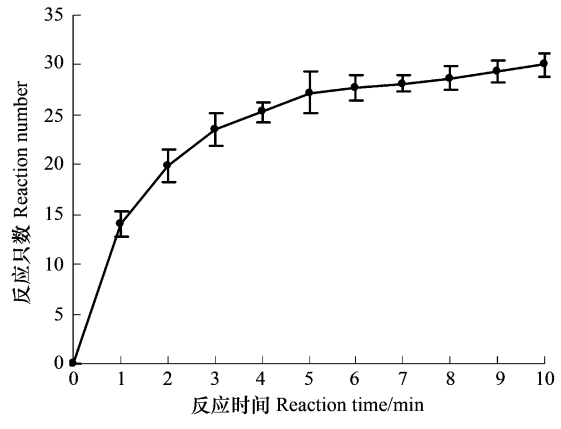


图 1 爱玉子传粉小蜂对 5% 芳樟醇的反应时间曲线
Fig. 1 Reaction time curve of pollinating wasps of *F. awkeotsang* response to the 5% linalool

2.2 单一信息化合物对薜荔传粉小蜂选择行为影响

分别统计每种信息化合物在 1%、3%、5% 和 7% 浓度下引诱到的小蜂数,并与空白对照比较,对两者之间的差异作卡方检验(表 1),结果表明:薜荔传粉小蜂对 3% 芳樟醇,5% 的芳樟醇、苯乙烯和松油醇,7% 的松油醇和金合欢醇具有极显著的趋向性反应;对 5% 金合欢醇、7% 苯甲醇具有显著趋向性反应;对香兰醛没有显著趋向性反应;对 7% 的苯甲酸甲酯具显著的趋避反应。对同一信息化合物在不同浓度下对薜荔传粉小蜂的吸引作用进行显著性多重比较的结果见表 1。

表 1 薜荔传粉小蜂对不同浓度单一信息化化合物的趋向性反应($\bar{x} \pm SD$)

Table 1 Trend response of pollinating wasps of *F. pumila* to single infochemical in different concentrations

味源 Odor sources	吸引小蜂数的平均值及差异显著性 Average and difference significance			
	1%	3%	5%	7%
芳樟醇 Linalool	16.67 ± 0.58 c	20.00 ± 1.00 ** b	22.00 ± 1.00 ** a	15.00 ± 1.00 c
苯乙烯 Benzyl ethylene	15.67 ± 0.58 c	17.67 ± 0.58 b	20.00 ± 1.00 ** a	15.00 ± 1.00 c
苯甲醇 Benzyl alcohol	14.67 ± 0.58 c	15.67 ± 0.58 bc	16.67 ± 0.58 b	18.33 ± 0.58 * a
香叶醇 Geraniol	14.67 ± 0.58 b	16.33 ± 0.58 a	16.67 ± 0.58 a	17.67 ± 0.58 a
松油醇 Terpineol	15.67 ± 0.58 d	17.67 ± 0.58 c	20.00 ± 1.00 ** b	21.67 ± 0.58 ** a
金合欢醇 Farnesol	15.33 ± 0.58 c	16.33 ± 0.58 c	18.33 ± 0.58 * b	19.67 ± 0.58 ** a
香兰醛 Vanillin	15.33 ± 0.58 b	15.67 ± 0.58 b	16.67 ± 0.58 b	18.00 ± 1.00 a
苯甲酸甲酯 Methyl benzoate	17.67 ± 0.58 a	14.33 ± 0.58 b	14.25 ± 0.58 b	11.67 ± 0.58 * c

注: * 和 ** 分别表示 χ^2 检验差异达 0.05 和 0.01 显著水平。同行不同的小写字母表明同行各处理间的差异达 0.05 显著水平

2.3 单一信息化合物对爱玉子传粉小蜂选择行为影响

分别统计每种信息化合物在 1%、3%、5% 和 7% 浓度下引诱到的爱玉子传粉小蜂数,并与空白对照比较,对两者之间的差异作卡方检验,结果见表 2。从表 2 可以看出:爱玉子传粉小蜂对 1% 和 7% 金合欢醇,5% 芳樟醇和 5% 松油醇,7% 苯甲醇和 7% 香叶醇具有极显著的趋向性反应;对 3% 芳樟醇、5% 苯乙烯、5% 苯甲醇、7% 松油醇具有显著趋向性反应;对香兰醛没有显著趋向性反应;对 7% 苯甲酸甲酯具有显著趋避反应。同一信息化合物在不同浓度下对爱玉子传粉小蜂的吸引作用进行显著性多重比较的结果见表 2。

表 2 爱玉子传粉小蜂对不同浓度单一信息化化合物的趋向性反应($\bar{X} \pm SD$)Table 2 Trend response of pollinating wasps of *F. awekeotsang* to single infochemical in different concentrations

味源 Odor sources	吸引小蜂数的平均值及差异显著性 Average and difference significance			
	1%	3%	5%	7%
芳樟醇 Linalool	16.67 $\pm$ 1.16 b	18.33 $\pm$ 0.58 * ab	20.00 $\pm$ 1.00 ** a	12.33 $\pm$ 1.16 c
苯乙烯 Benzyl ethylene	16.67 $\pm$ 0.58 b	17.00 $\pm$ 1.00 b	18.67 $\pm$ 0.58 * a	14.00 $\pm$ 1.00 c
苯甲醇 Benzyl alcohol	15.67 $\pm$ 0.58 c	17.33 $\pm$ 0.58 b	18.67 $\pm$ 0.58 * a	19.67 $\pm$ 0.58 ** a
香叶醇 Geraniol	15.67 $\pm$ 0.58 b	16.67 $\pm$ 1.16 b	17.33 $\pm$ 0.58 b	20.67 $\pm$ 2.08 ** a
松油醇 Terpineol	16.00 $\pm$ 0.00 b	17.00 $\pm$ 1.00 ab	19.33 $\pm$ 0.58 ** a	18.67 $\pm$ 2.31 * a
金合欢醇 Farnesol	19.33 $\pm$ 0.58 ** a	16.00 $\pm$ 0.58 b	17.33 $\pm$ 0.58 b	19.67 $\pm$ 0.58 ** a
香兰醛 Vanillin	18.00 $\pm$ 1.00 a	16.00 $\pm$ 1.00 b	18.00 $\pm$ 1.00 a	16.33 $\pm$ 0.58 ab
苯甲酸甲酯 Methyl benzoate	16.00 $\pm$ 1.00 a	14.67 $\pm$ 0.58 ab	14.00 $\pm$ 1.00 b	11.33 $\pm$ 0.58 * c

2.4 混合信息化合物对薜荔传粉小蜂选择行为的影响

从单一信息化合物对薜荔传粉小蜂选择行为影响的实验结果中选出对榕小蜂选择行为影响显著的 3 种信息化合物(松油醇、芳樟醇和苯甲醇)为因素,每个因素设 3 个水平(信息化化合物的浓度分别为 1%、3% 和 5%),按照 $L_9(3^4)$ 正交设计进行混合信息化合物影响小蜂选择行为的生物测定实验,结果见表 3。从表 3 的相差计算和因子与极差的关系中可知,3 个因素对薜荔传粉小蜂选择行为的影响顺序依次是:AB > C > A > B,即松油醇和芳樟醇的交互作用 > 苯甲醇 > 松油醇 > 芳樟醇,各因子的最优水平组合是 $A_2B_3C_2$,即对薜荔传粉小蜂最吸引的组合是 3% 松油醇、5% 芳樟醇和 3% 苯甲醇的混合信息化合物。对各因子及 A、B 交互作用进行显著性检验,结果见表 4,表明各因子对薜荔传粉小蜂选择行为的影响极显著,A、B 交互作用极显著,且 A、B 交互作用的显著性大于 A 和 B。

表 3 混合信息化合物引诱薜荔传粉小蜂数量的差异[正交设计 $L_9(3^4)$]Table 3 Difference in numbers of pollinating wasps of *F. pumila* attracted by mixed infochemical [orthogonal test $L_9(3^4)$]

处理组 Treatment	A 松油醇 Terpineol		B 芳樟醇 Linalool		A × B 交互列 Interactive column	C 苯甲醇 Benzyl alcohol		吸引小蜂数量 Attracted wasps number ($\bar{X} \pm SD$)
	水平	浓度	水平	浓度	水平	水平	浓度	
1	1	1%	1	1%	1	1	1%	13.00 ± 0.58
2	1	1%	2	3%	2	2	3%	12.00 ± 1.16
3	1	1%	3	5%	3	3	5%	13.33 ± 1.00
4	2	3%	1	1%	2	3	5%	12.00 ± 0.00
5	2	3%	2	3%	3	1	1%	13.00 ± 1.00
6	2	3%	3	5%	1	2	3%	27.00 ± 0.58 **
7	3	5%	1	1%	3	2	3%	16.67 ± 2.08
8	3	5%	2	3%	1	3	5%	18.00 ± 1.00
9	3	5%	3	5%	2	1	1%	13.00 ± 0.58

处理组 Treatment	A 松油醇 Terpineol	B 芳樟醇 Linalool	A × B 交互列 Interactive column	C 苯甲醇 Benzyl alcohol
I j	12.78	13.89	19.33	13.00
II j	17.33	14.33	12.33	18.55
III j	15.89	17.78	14.33	14.44
R	4.55	3.89	7.00	5.55

注: * * 表示 χ^2 检验差异达 0.01 显著水平

2.5 混合信息化合物对爱玉子传粉小蜂选择行为影响

按照 $L_9(3^4)$ 正交设计进行混合信息化合物影响爱玉子传粉小蜂选择行为生物测定实验,结果见表 5。从表 5 的相差计算和因子与极差的关系中可知,3 个因素对爱玉子传粉小蜂选择行为的影响顺序依次是:AB > C > B > A,即松油醇和芳樟醇的交互作用 > 苯甲醇 > 芳樟醇 > 松油醇,各因子的最优水平组合也是 $A_2B_3C_2$,

即对爱玉子传粉小蜂最吸引的组合是 3% 松油醇、5% 芳樟醇和 3% 苯甲醇的混合信息化合物。对各因子及 A、B 交互作用进行显著性检验,结果见表 6,表明各因子对薜荔传粉小蜂选择行为的影响极显著;A、B 交互作用极显著,A、B 交互作用的显著性大于 A 和 B。

表 4 正交实验(表 3)的方差分析表

Table 4 Variance analysis of table 3 of orthogonal test

方差来源 Source	偏差平方和 SS	自由度 Df	均方 Mf	F	显著性 Significance	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
A	97.56	2	48.78	40.38	* *	3.63	6.23
B	81.56	2	40.78	33.75	* *	3.63	6.23
A × B	234	4	58.50	48.42	* *	3.01	4.77
C	149.56	2	74.78	61.90	* *	3.63	6.23
e	19.33	16	1.21				

注: * * 表示差异达 0.01 显著水平

表 5 混合信息化合物引诱爱玉子传粉小蜂数量的差异

Table 5 Difference in numbers of pollinating wasps of *F. awekeotsang* attracted by mixed infochemical

处理组 Treatment	A 松油醇 Terpineol		B 芳樟醇 Linalool		A × B 交互列 Interactive column	C 苯甲醇 Benzyl alcohol		吸引小蜂数量 Attracted wasps number ($\bar{X} \pm SD$)
	水平	浓度	水平	浓度		水平	浓度	
1	1	1%	1	1%	1	1	1%	15.00 ± 1.00
2	1	1%	2	3%	2	2	3%	12.00 ± 2.00
3	1	1%	3	5%	3	3	5%	13.67 ± 1.16
4	2	3%	1	1%	2	3	5%	10.00 ± 1.16 **
5	2	3%	2	3%	3	1	1%	15.00 ± 1.00
6	2	3%	3	5%	1	2	3%	24.00 ± 1.00 **
7	3	5%	1	1%	3	2	3%	17.00 ± 0.00
8	3	5%	2	3%	1	3	5%	18.00 ± 1.00
9	3	5%	3	5%	2	1	1%	13.00 ± 1.00

处理组 Treatment	A 松油醇 Terpineol	B 芳樟醇 Linalool	A × B 交互列 Interactive column	C 苯甲醇 Benzyl alcohol
I j	13.56	14.00	19.00	14.33
II j	16.33	15.00	11.67	17.67
III j	16.00	16.89	15.22	13.89
R	2.77	2.89	7.33	3.78

注: * * 表示 χ^2 检验差异达 0.01 显著水平

表 6 正交实验(表 5)的方差分析表

Table 6 Variance analysis of table 5 of orthogonal test

方差来源 Source	偏差平方和 SS	自由度 Df	均方 Mf	F	显著性 Significance	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
A	41.41	2	20.71	12.42	* *	3.63	6.23
B	38.74	2	19.37	11.62	* *	3.63	6.23
A × B	242.08	4	60.52	36.31	* *	3.01	4.77
C	76.74	2	38.37	23.02	* *	3.63	6.23
e	26.67	16	1.67				

注: * * 表示差异达 0.01 显著水平

3 讨论

单一信息化合物对两种来源薜荔榕小蜂选择行为影响的实验结果表明:不同的信息化合物对薜荔榕小蜂选择行为的影响存在显著的差异。8 种信息化合物中,显然一定浓度的芳樟醇、苯乙烯、苯甲醇、松油醇和金合

欢醇对两种来源的薜荔榕小蜂均具有显著的吸引作用,香兰醛对两种来源的薜荔榕小蜂没有显著的吸引作用;而 7% 的苯甲酸甲酯对两种来源的薜荔榕小蜂有显著的趋避作用。同时,同一信息化合物在不同浓度条件下,对薜荔榕小蜂选择行为的影响显著不同。薜荔榕小蜂对不同化合物趋向性反应的差异,一定程度上反映出榕小蜂对不同榕树释放的化合物感受的特异性,表明榕树花序挥发物的化学组成和释放浓度均能对其传粉小蜂的行为产生影响。正交实验的结果表明,对榕小蜂具有显著的吸引作用的单一化合物混合后,既可能表现为增效作用,也可能表现为拮抗作用,进一步表明只有特定化合物在特定浓度下才能对小蜂产生强烈的吸引作用。在庞大的维持榕-蜂专性共生的化学信息通讯网络中,榕果可能是在特殊的时期释放多种特殊的挥发物,并按一定的浓度组合出特殊的气味吸引传粉小蜂,而榕小蜂正是接受了榕果挥发物中的多种成分按特定比例所形成的化学信号,从而实现对寄主快速而准确的定位。鸡嗉子榕(*F. semicordata*)通过释放单一的不常见挥发性化合物(4-甲基苯甲醚,4-methylanisole),达到对其传粉榕小蜂的专性吸引^[26],可能只是罕见的特例。

芳樟醇是爱玉子和薜荔的接受期雌、雄花序挥发物成分中主要成分(芳樟醇相对含量占总量的 30%—60%),且在小蜂进入花序传粉(或产卵)后芳樟醇的相对含量(4%—20%)大幅度减少;相反,爱玉子接受期雌、雄花序挥发物成分中苯甲酸甲酯的相对含量(4%—4.5%)在小蜂进入爱玉子花序传粉(或产卵)后上升至 10%—11%(薜荔接受期、间花期花序挥发物成分中未检测到苯甲酸甲酯)^[33-34],而芳樟醇对两种来源的薜荔榕小蜂均具有显著的吸引作用,苯甲酸甲酯对两种来源的薜荔榕小蜂具有显著的趋避作用,表明这两种信息化合物在爱玉子、薜荔与其传粉小蜂的化学信息通讯过程中扮演重要角色。

在爱玉子和薜荔的花序挥发物成分中均未检测到苯乙烯、苯甲醇、松油醇和金合欢醇^[33-34],但这些信息化合物对两种来源的薜荔榕小蜂均具有显著的吸引作用,表明非寄主接受期花序挥发物成分也可能对其传粉小蜂产生显著的吸引作用,陈春对鸡嗉子榕的研究也得到相同的结果,即鸡嗉子榕接受期花序挥发物成分中不含有芳樟醇^[26],但鸡嗉果榕小蜂(*Ceratosolen graveleyi* Grandi)对芳樟醇具有显著的趋向性反应^[32]。Grisson-Pige 等人的研究表明,在本实验中对两种来源的薜荔榕小蜂具显著吸引作用的化合物(芳樟醇、苯甲醇、松油醇、金合欢醇)在榕果挥发物中出现的几率是很高的,特别是芳樟醇和苯甲醇,芳樟醇在所分析的 27 种榕属植物雌花期花序挥发物成分中出现 18 次,苯甲醇出现 11 次,而且相对含量都比较高^[22,25],推测这些在榕果的挥发物成分中广泛存在并占较大比例的信息化合物,可能与榕小蜂对寄主的远程定位有关,而近距离的专性定位却是依赖于各种信息化合物严格按一定浓度、比例组成的化学图谱。

据陈艳对我国东南沿海岛屿及邻近大陆 31 个薜荔榕小蜂种群,331 个个体进行的遗传组分、遗传多样性和种群扩张动态分析的结果表明薜荔榕小蜂存在 3 个隐存种,分别为 *Sp. A*、*Sp. B*、*Sp. C*,它们互为姊妹种。薜荔榕小蜂 *Sp. A* 完全分布于北部(薜荔在中国分布的北缘-浙江舟山)种群,*Sp. B* 主要分布于南部种群,而 *Sp. C* 主要分布于北部的岛屿种群,同时在南部种群也有发现^[38]。本课题组应用线粒体 COI 和 Cytb、核糖体 28S 基因对两种不同来源的薜荔榕小蜂的遗传多样性进行分析的结果表明,无论是线粒体基因还是核基因都超出了种内差异的范畴,达到物种分异水平,同时,爱玉子传粉小蜂的出飞期较薜荔传粉小蜂晚 30—50d 左右,因此,薜荔传粉小蜂和爱玉子传粉小蜂可能是薜荔榕小蜂的隐存种 *Sp. B* 和 *Sp. C*。因此,两种不同来源的薜荔榕小蜂对信息化化合物的反应差别,可能是两种隐存种对不同宿主挥发物反应差异的表现;而两种不同来源的薜荔榕小蜂对信息化合物反应的高度相似,又恰好表明两种隐存种之间存在密切的亲缘关系。

从两种不同来源的薜荔榕小蜂对信息化化合物的反应相似性可以推断:在爱玉子和薜荔花序的接受期同期条件下,爱玉子传粉小蜂有可能接受薜荔接受期花序挥发物的吸引进入到薜荔花序中,薜荔传粉小蜂也有可能接受爱玉子接受期花序挥发物的吸引进入到爱玉子花序中。陈勇通过人工套袋放蜂实验表明薜荔传粉小蜂是可以进入到爱玉子的接受期花序中,但爱玉子花序不能结实和产生虫瘿^[4,6,39],由此也进一步证明了上述观点的可靠性。爱玉子传粉小蜂和薜荔传粉小蜂在生理、生态上已不能互适宿主,生殖上已经完全隔离^[4,6,39],但形态的一致以及对信息化合物反应的高度相似又反映出二者之间高度的同源性。

爱玉子作为我国南方特有果树在长江以南地区广泛栽培,目前有 24 个的雌性品系,各品系接受期花序挥发物浓郁程度差异明显,有些品系(例如大洋 Y126)树形佳,抗病力强,果型大,果胶含量与果胶酯酶活性较高,但接受期花序挥发物微弱,对传粉小蜂的吸引力弱,因此雌花授粉率低,落果严重,产量低下^[1]。将根据上述实验结果进一步探讨信息素之间的互作效应,调配出对爱玉子传粉小蜂极具吸引作用的信息素配方,以期通过信息素在田间的应用,提高传粉小蜂对其寄主化学识别和定位的准确性和有效性,提高爱玉子传粉小蜂的传粉效率,从而提高爱玉子产量。

致谢:感谢福州南屿台湾爱玉子生态农场和闽台科技农业仙嶺生态研究基地为本研究提供实验材料。

References:

- [1] Wu W S, Chen Y L. Evaluation on agronomic traits of different strains of *Ficus awkeotsang* and selection of fine strains. *Journal of Plant Resources and Environment*, 2009, 18(2): 43-48.
- [2] Wu W S, Lin W, Lin Y, Zheng C F, Chen Y L, Liu L. A study on nutritive composition of the achenia of *Ficus awkeotsang* Makino. *Journal of Fujian Normal University*, 2008, 24 (6): 84-88.
- [3] Wu W S, Zhu X D, Chen Y L. Identification of a sex-associated SRAP marker in *Ficus pumila* L. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2008, 14(5): 688-691.
- [4] Chen Y, Li H Q, Ma W L. The reproductive character of *Ficus pumila* var. *pumila*, *F. pumila* var. *awkeotsang* and their pollinators. *Acta Phytoecol Sinica*, 2002, 26(1): 58-63.
- [5] Wu W S, Chen Y L. Comparison of reproduction ecology of different *Ficus awkeotsang* strains. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(10): 4692-4702.
- [6] Chen Y, Li H Q, Ma W L. Pollination ecology of cultivated *Ficus pumila* var. *awkeotsang*. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17(12): 2403-2407.
- [7] Chen Y, Li H Q, Ma W L. Biological features of syconia of *Ficus pumila* var. *awkeotsang*. *Journal Jishou University*, 2002, 23(4): 19-21.
- [8] Yao J Y, Zhao N X, Chen Y Z. Brief review of fig-pollinator coevolution and *Ficus* classification. *Acta Phytoecologica Sinica*, 2004, 28(2): 271-277.
- [9] Xu L, Yang D R. A brief review of phylogenetic reconstruction and co-evolution of fig-wasp mutualism. *Biodiversity Science*, 2008, 16(5): 446-453.
- [10] Van Der Pijl L. Ecological aspects of flower evolution II. Zoophilous flower classes. *Evolution*, 1961, 15: 44-59.
- [11] Pellmyr O, Thien L B. Insect reproduction and floral fragrances: keys to the evolution of the angiosperms?. *Taxon*, 1986, 35: 76-85.
- [12] Berg C C. Classification and distribution of *Ficus*. *Experientia*, 1989, 45: 605-611.
- [13] Wiebes J T. Co-evolution of figs and their insect pollinators. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1979, 10: 1-12.
- [14] Ware A B, Compton S G. Breakdown of pollinator specificity in an African fig tree. *Biotropica*, 1992, 24: 544-549.
- [15] Janzen D H. How to be a fig. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1979, 10: 13-51.
- [16] Verkerke W. Structure and function of the fig. *Experientia*, 1989, 45: 612-622.
- [17] Borges R M, Bessi re J M, Hossaert-McKey M. The chemical ecology of seed dispersal in monoecious and dioecious figs. *Functional Ecology*, 2008, 22(3): 484-493.
- [18] Compton S G, Ellwood M D, Davis A J, Welch K. The flight heights of chalcid wasps (Hymenoptera, Chalcidoidea) in a lowland bornean rain forest: fig wasps are the high fliers. *Biotropica*, 2000, 32(3): 515-522.
- [19] Wieblen C D. How to be a fig wasp. *Annual Review of Ecology*, 2002, 47: 299-330.
- [20] Hossaert-McKey M, Gibernau M, Frey J E. Chemosensory attraction of fig wasps to substances produced by receptive figs. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 1994, 70(2): 185-191.
- [21] Gibernau M, Hossaert-McKey M. Are olfactory signals sufficient to attract fig pollinators. *Ecoscience*, 1998, 5(3): 306-311.
- [22] Grison-Pigé L, Hossaert-McKey M, Greeff J M, Bessiére J M. Fig volatile compounds — a first comparative study. *Phytochemistry*, 2002, 61: 61-71.
- [23] Grison-Pigé L, Bessiére J M, Hossaert-McKey M. Specific attraction of fig-pollinating wasps, role of volatile compounds released by tropical figs. *Journal of Chemical Ecology*, 2002, 28 (2): 283-295.
- [24] Song Q S, Yang D R, Zhang G M, Yang C R. Volatiles from *Ficus hispida* and their attractiveness to fig wasps. *Journal of Chemical Ecology*, 2001, 27(10): 1929-1942.
- [25] Grison L, Edwards A A, Hossaert-McKey M. Interspecies variation in floral fragrances emitted by tropical *Ficus* species. *Phytochemistry*, 1999,

- 52: 1293-1299.
- [26] Chen C, Song Q S, Proffit M, Bessière J M, Li Z B, Hossaert-McKey M. Private channel: a single unusual compound assures specific pollinator attraction in *Ficus semicordata*. *Functional Ecology*, 2009, 23(5): 941-950.
- [27] Grison-Pig L, Bessière J M, Turlings T C, Kjellberg F, Roy J, Hossaert-McKey M. Limited interspecific mimicry of floral odour in *Ficus carica*. *Functional Ecology*, 2001, 15: 551-558.
- [28] Gibernau M, Buser H R, Frey J E, Hossaert-McKey M. Volatile compounds from extracts of figs of *Ficus carica*. *Phytochemistry*, 1997, 46(2): 241-244.
- [29] Visser J H. Host odor perception in phytophagous insects. *Annual Review of Entomology*, 1986, 31: 121-144.
- [30] Bergstrom G. On the role of volatile chemical signals in the evolution and speciation of plants and insects: Why do flowers smell and why do they smell differently? // Labeyrie V, Fabres G, Lachaise D, eds. *Insects-Plants*. Dordrecht: Dr. W. Junk Publishers, 1987: 321-327.
- [31] Chen C, Song Q S. Responses of the pollinating wasp *Ceratosolen solmsi marchali* to odor variation between two floral stages of *Ficus hispida*. *Journal of Chemical Ecology*, 2008, 34: 1536-1544.
- [32] Chen C, Song Q S, Zhang G M, Peng Y Q, Wang Q Y, Yang D R. Chemical attraction of fig volatiles to their pollinating fig wasps. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(12): 2794-2798.
- [33] Huang M L. Study on Syconium Volatile Components of *Ficus awkeotsang* Makino and *Ficus pumila* L. Fuzhou: Fujian Normal University, 2009.
- [34] Chen Y L, Wu W S. Volatile compounds from the syconia of *Ficus awkeotsang* Makino and their attractiveness to pollinator wasps. *Acta Phytoecol Sinica*, 2010, 30(8).
- [35] Wang J W, Zhou Q, Xu T, Luo S M. Roles of volatile infochemicals and learning behavior in the host selection process of *Anastatus japonicus*. *Acta Ecologica Sinica*, 2003, 23(9): 1791-1797.
- [36] Cao F Q, Liu W X, Fan Z N, Wan F H, Cheng L S. Behavioural responses of *Bemisia tabaci* B-biotype to three host plants and their volatiles. *Acta Entomologica Sinica*, 2008, 50(8): 830-838.
- [37] Zhang F J, Wu X Y, Yang L, Jin Y J. Volatiles on behavior responses of *Anoplophora glabripennis* by the supercritical carbon dioxide extraction of *Acer mono*. *Scientia Silvae Sinicae*, 2007, 43(6): 146-150.
- [38] Chen Y. The Fig Wasp Pollinators of *Ficus pumila*: Cryptic Species Within *Wiebesia* 'pumilae' in Southeastern China. Shanghai: East China Normal University, 2009.
- [39] Chen Y, Li H Q, Ruan S J, Ma W L. Pollination of a cultivated fig, *Ficus pumila* var. *awkeotsang*, in South China. *Symbiosis*, 2008, 45: 33-36.

参考文献:

- [1] 吴文珊, 陈友铃. 爱玉子不同品系农艺性状的评价与优良品系的筛选. *植物资源与环境学报*, 2009, 18(2): 43-48.
- [2] 吴文珊, 林玮, 林原, 郑翠芳, 陈友铃, 刘亮. 爱玉子瘦果营养成分的研究. *福建师范大学学报*, 2008, 24(6): 84-88.
- [3] 吴文珊, 朱晓东, 陈友铃. 与薜荔性别相关的 SRAP 分子标记. *应用与环境生物学报*, 2008, 14(5): 688-691.
- [4] 陈勇, 李宏庆, 马炜梁. 薜荔和爱玉及其传粉昆虫繁殖特性. *植物生态学报*, 2002, 26(1): 58-63.
- [5] 吴文珊, 陈友铃. 爱玉子不同品系繁殖生态学的比较. *生态学报*, 2008, 28(10): 4692-4702.
- [6] 陈勇, 李宏庆, 马炜梁. 栽培爱玉的传粉生态. *应用生态学报*, 2006, 17(12): 2403-2407.
- [7] 陈勇, 李宏庆, 马炜梁. 爱玉隐头花序的生物学特性. *吉首大学学报*, 2002, 23(4): 19-21.
- [8] 尧金燕, 赵南先, 陈贻竹. 榕树-传粉者共生体系的协同进化与系统学研究进展及展望. *植物生态学报*, 2004, 28(2): 271-277.
- [9] 徐磊, 杨大荣. 榕树及其传粉榕小蜂的系统发育和协同进化研究现状及展望. *生物多样性*, 2008, 16(5): 446-453.
- [32] 陈春, 宋启示, 张光明, 彭艳琼, 王秋艳, 杨大荣. 榕果挥发物对传粉榕小蜂的吸引作用. *生态学报*, 2004, 24(12): 2794-2798.
- [33] 黄美丽. 爱玉子、薜荔隐头花序挥发物成分研究. 福州: 福建师范大学, 2009.
- [34] 陈友铃, 吴文珊. 爱玉子(*Ficus awkeotsang*)花序挥发物成分以及对其传粉小蜂的吸引作用. *生态学报*, 2010, 30(8):
- [35] 王建武, 周强, 徐涛, 骆世明. 挥发性信息化合物与学习行为在平腹小蜂寄主选择过程中的作用. *生态学报*, 2003, 23(9): 1791-1797.
- [36] 曹凤勤, 刘万学, 范中南, 万方浩, 程立生. B 型烟粉虱对三种寄主植物及其挥发物的行为反应. *昆虫学报*, 2008, 50(8): 830-838.
- [37] 张凤娟, 武晓颖, 杨莉, 金幼菊. 超临界 CO₂ 萃取五角枫挥发物及其对光肩星天牛的嗅觉行为反应. *林业科学*, 2007, 43(6): 146-150.
- [38] 陈艳. 薜荔之传粉小蜂: 我国东南沿海薜荔小蜂隐存种及分布格局. 上海: 华东师范大学, 2009.