

DOI: 10.5846/stxb201502130355

郑翠芳, 严菊媛, 陈友铃, 吴文珊, 涂淑雯, 许毅真, 陈晓娟, 黄诗雯. 两种 *Eupristina* 属小蜂对宿主榕果挥发物和合成信息素的行为反应. 生态学报, 2016, 36(17): - .

Zheng C F, Yan J Y, Chen Y L, Wu W S, Tu S W, Xu Y Z, Chen X J, Huang S W. Responses of two *Eupristina* wasp species to fig volatiles of *Ficus altissima* and infochemicals. Acta Ecologica Sinica, 2016, 36(17): - .

两种 *Eupristina* 属小蜂对宿主榕果挥发物和合成信息素的行为反应

郑翠芳, 严菊媛, 陈友铃, 吴文珊*, 涂淑雯, 许毅真, 陈晓娟, 黄诗雯

福建师范大学生命科学院, 福州 350117

摘要: 高榕, 雌雄同株, 与其共生的形态高度相似的传粉小蜂 *Eupristina altissima* 与非传粉小蜂 *Eupristina* sp. 均为果内产卵。本实验利用 Y 型嗅觉仪生物测定法研究 *E. altissima* 和 *Eupristina* sp. 对不同发育期高榕榕果挥发物以及合成信息素混合物的行为反应差异。结果表明: *E. altissima* 和 *Eupristina* sp. 对高榕雌花期榕果挥发物具极显著趋向行为, 对高榕雄花期榕果挥发物具极显著驱避行为, 表明 *E. altissima* 与 *Eupristina* sp. 雌蜂能够敏锐辨别高榕雌花期和雄花期榕果的挥发物, 快速远离雄花期榕果, 并实现对宿主雌花期榕果的定位。但是, *E. altissima* 与 *Eupristina* sp. 对其它发育时期榕果挥发物的行为反应具有差异性, 前者对雌前期榕果和传粉或产卵后榕果释放的挥发物存在显著的趋避反应, 而后者无明显的行为偏向性, 表明 *E. altissima* 能够识别雌前期榕果和传粉或产卵后榕果, 可避免误入其中而无法繁殖后代, *Eupristina* sp. 则不具备这种识别能力。*E. altissima* 和 *Eupristina* sp. 小蜂对合成信息素的行为反应也高度相似, 表现为芳樟醇、苯乙烯, 以及苯乙烯和金合欢醇的交互作用对两种小蜂选择行为影响显著, 组合 A₁B₂C₂ (0.5% Linalool + 1% Benzyl ethylene + 1% Farnesol) 的混合信息素对两种小蜂具有极显著的驱避作用, 而组合 A₂B₁C₁ (1% Linalool + 0.5% Benzyl ethylene + 0.5% Farnesol), A₂B₁C₂ (1% Linalool + 0.5% Benzyl ethylene + 1% Farnesol), A₂B₂C₁ (1% Linalool + 1% Benzyl ethylene + 0.5% Farnesol) 的混合信息素对其具有极显著的吸引作用, 但两种小蜂对组合 A₁B₁C₁ (0.5% Linalool + 0.5% Benzyl ethylene + 0.5% Farnesol) 的行为反应存在差异。两种小蜂对榕果挥发物和合成信息素的反应异同, 可能与其触角结构的差异密切相关。本研究结果为探究榕-蜂共生体系的化学信号传导机制提供科学依据。

关键词: 高榕; 挥发物; 合成信息素; 行为反应

Responses of two *Eupristina* wasp species to fig volatiles of *Ficus altissima* and infochemicals

ZHENG Cuifang, YAN Juyuan, CHEN Youling, WU Wenshan*, TU Shuwen, XU Yizhen, CHEN Xiaojuan, HUANG Shiwen

College of Life Science, Fujian Normal University, Fuzhou 350117, China

Abstract: Fig trees are pollinated by fig wasps, which also oviposit in female flowers. They had formed obligate mutualism in their long co-evolution process. *Ficus altissima* (*Ficus*, Moraceae) is a monoecious fig plant, both the pollinating *Eupristina altissima* and non-pollinating *Eupristina* sp. symbiosis with *Ficus altissima* were oviposited within the syconia. Pollinating *Eupristina altissima* and non-pollinating *Eupristina* sp were highly similar in morphology, only with a slight difference on body color, antenna, fore leg coxal comb and pollen pocket for their female wasps, no morphological

基金项目: 国家自然科学基金重点资助项目(31270440); 福建师范大学生物学拔尖人才班科研项目; 国家级大学生创新训练计划项目

收稿日期: 2015-02-13; 网络出版日期: 2015-00-00

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

differences found so far between their male wasps. Fig wasps mainly located their hosts by recognizing the chemical signal released from the syconia. Also the encounter of the mating partners is fundamental for the stability of their interaction, In this study, we applied a Y-tube (binary choice) olfactometer to test the responses of *E. altissima* and *Eupristina* sp. to fig volatiles of different developmental phase of *Ficus altissima* and infochemical mixture. Results showed that: (1) both *E. altissima* and *Eupristina* sp. represented significant preference to the fig volatiles of female syconia, and repelled to the fig volatiles of male flower phase syconia, indicating that *E. altissima* and *Eupristina* sp. can distinguish female flower phase syconia of *Ficus altissima* from the male one, and keep away from the male phase syconia in order to quickly localized its female host. Observation showed there are differences responses to fig volatiles of the other developmental phase between two wasp species. *E. altissima* significantly repelled to the fig volatiles of pre-female phase and post-pollinated or oviposited phase, while *Eupristina* sp. showed no significant preference between them, which indicated that *E. altissima* was able to recognize the syconia of pre-female phase and post-pollinated or oviposited phase and avoid entering into them, while *Eupristina* sp. can not. (2) *E. altissima* and *Eupristina* sp. also showed similar responses to infochemicals linalool, benzyl ethylene. The interaction of benzyl ethylene and farnesol significantly affected the choice behavior of both the two wasp species. Both wasp species repelled mix infochemicals of group $A_1B_2C_2$ (0.5% Linalool + 1% Benzyl ethylene + 1% Farnesol) significantly and significantly attracted by mix infochemicals of group $A_2B_1C_1$ (1% Linalool + 0.5% Benzyl ethylene + 0.5% Farnesol), $A_2B_1C_2$ (1% Linalool + 0.5% Benzyl ethylene + 1% Farnesol), $A_2B_2C_1$ (1% Linalool + 1% Benzyl ethylene + 0.5% Farnesol), while two wasp species showed difference responses to mix infochemical of group $A_1B_1C_1$ (0.5% Linalool + 0.5% Benzyl ethylene + 0.5% Farnesol). Above all, the two different wasp species can discriminate different volatile signals, and *E. altissima* was more favor to the fig volatiles of their host than *Eupristina* sp., therefore, *E. altissima* was able to locate their host more accurately than *Eupristina* sp. The different responses of *E. altissima* and *Eupristina* sp. to the fig volatiles and infochemicals may related to the different structure of their antenna. Our result will provide a scientific basis to the studies of chemical signaling mechanism of fig-wasp mutualism.

Key Words: *Ficus altissima*; volatiles; infochemicals; behavior test

在榕树与榕小蜂的共生关系中,绝大多数榕树与其传粉榕小蜂之间的关系为一对一专性共生关系,即一种传粉蜂只能专一性为一种榕树传粉,而一种榕树的榕果中也只能寄生一种传粉榕小蜂^[1-3]。榕树与榕小蜂之间彼此高度依赖,榕树需要榕小蜂进入接受期榕果为其传粉,从而获得种子保证榕树的繁衍,而榕小蜂也需要进入接受期榕果内利用其花序资源产卵完成后代繁衍^[4-5]。榕小蜂在榕果发育阶段的雄花期从果内成熟出飞,寻找适于其产卵的接受期榕果,而榕果的发育大多株内同步,株间异步,因此传粉小蜂在其出生榕果的榕树上找不到适于产卵的榕果,需要飞行一定距离才能够找到合适榕果完成其后代繁衍的职责。榕小蜂视觉功能有限,难以完成对小蜂专性寄主的定位^[6]。研究表明,榕小蜂对宿主接受期榕果的专性定位,主要通过榕果挥发物信号的特异性识别来实现,不同种类榕树花序释放出的挥发物成分具有显著差异,即榕果挥发物具有物种特异性^[7-8],并且榕果在其发育的不同阶段释放的挥发性组成也有所不同,即榕果挥发物具有时期特异性^[9-10],而榕小蜂要快速准确的找到宿主接受期榕果,必需具备从复杂的环境气味中分辨出宿主接受期榕果特异性挥发物化学信号的能力。有研究发现,榕小蜂不但能够被接受期榕果挥发物信号吸引,其它发育时期榕果挥发物对榕小蜂也可能表现出吸引效应^[10],这说明榕小蜂对寄主的专性定位可能基于更加复杂的信号机制。

目前研究人员主要通过 Y 型嗅觉仪测定榕小蜂对挥发性化学信号的行为反应,Chen 等测定了雌雄异株对叶榕的传粉雌蜂对寄主接受期和间花期的雌、雄榕果挥发物的反应,结果显示,无论间花期榕果数量如何增加,对叶榕传粉蜂都极显著偏向于接受期的雌、雄榕果^[11]。陈友铃等对爱玉子(*Ficus pumila* var. *aukeotsang*)传粉蜂的行为反应测定也得到相似的结果^[9],由此说明接受期榕果挥发物对传粉蜂具有强烈吸引作用。在

对鸡嗉果榕 (*Ficus semicordata*) 和钝叶榕 (*Ficus curtipes*) 传粉小蜂的行为反应测定结果表明,除接受期外,其它发育时期如雌前期,传粉后时期的榕果挥发物对传粉小蜂可能也具有一定程度的吸引作用^[10,12]。但非宿主榕果挥发物对传粉小蜂则具有驱避作用或者既不驱避也不吸引^[13-14],即使在亲缘关系极为相近的两种榕树也得到类似结果^[15],不少研究结果还表明非传粉小蜂也能够通过识别寄主榕果释放的挥发物实现寄主定位^[14, 16-17],说明榕树与榕小蜂之间依赖特异性化学信号实现其专性共生。另外,Krishnan 等利用六孔细胞培养板对聚果榕传粉小蜂雄蜂的选择反应测试发现,雄蜂也能通过识别虫瘿挥发物找到同种雌蜂 (conspicific females),这使得榕小蜂在交配聚合 (mating aggregations) 条件下能够迅速定位同种雌蜂并完成交配^[18],为榕-蜂专性共生关系的稳定性提供保障。由此可见,化学信号在维持榕-蜂共生关系稳定性方面发挥着关键性作用。

高榕 (*Ficus altissima*), 雌雄同株,其传粉小蜂为 *Eupristina altissima*,但高榕榕果内通常同时存在 *Eupristina* sp.小蜂,二者均为果内产卵。两种小蜂形态高度相似,它们的雌蜂只在体色,触角,前足基节梳,花粉筐等方面具有细微的差别,而它们的雄蜂至今未发现形态上的差异^[19-20]。两种小蜂的传粉效率分析表明,*Eupristina altissima* 的传粉效率极显著高于 *Eupristina* sp.,是高榕的主动传粉蜂,而 *Eupristina* sp.无传粉功或具被动传粉功能^[19, 21]。利用分子标记技术研究表明,二者是不同的两个种^[22]。两种亲缘关系极为密切的榕小蜂,在对寄主挥发物的行为反应上是否存在差异,是本论文关注的焦点。本实验预期通过(1)研究两种 *Eupristina* 属小蜂对不同发育期、不同浓度的高榕榕果挥发物的行为反应,探究两种小蜂能否区别不同发育期榕果所释放的挥发物榕果特征,比较二者对寄主挥发物敏感度差异,并由此导致对寄主选择的精确度差异;(2)研究两种 *Eupristina* 属小蜂对不同浓度组合的三种信息化化合物的混合物的行为反应差异,探究不同信息化化合物之间是否存在交互作用。探讨榕-蜂之间化学通讯信号专业化机制,有助于评估传粉蜂的安全性,通过判断非传粉蜂和寄主之间能否通过化学信号建立寄生关系,可用于预测非传粉蜂对榕-蜂共生体系的侵入性及其侵入途径。

1 材料和方法

1.1 实验材料

不同发育期的高榕榕果均采自福建省福州市闽侯县上街镇(119° 20' E, 26° 03' W)。实验中所用的榕果都是在采集后 2 h 内进行实验。两种传粉小蜂 *E. altissima* 和 *Eupristina* sp.采自高榕雄花期榕果。采集雄花期即将出蜂的高榕榕果果枝,用 100 目纱网袋套袋,带回实验室水培观察,待其自然出蜂。挑选当日出飞的活力强健并且触角结构完好的 *E. altissima* 和 *Eupristina* sp.雌蜂用于实验。

综合对比各种榕树及其它植物挥发物化学成分表^[8, 23],从中选择芳樟醇 (Linalool), 苯乙烯 (Benzyl ethylene), 金合欢醇 (Farnesol) 这三种榕树挥发物中普遍存在的化合物作为待测试剂。本实验中所采用的信息化化合物试剂 (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) 为溶剂配制信息化化合物混合试液。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。

1.2 实验方法

1.2.1 两种 *Eupristina* 属小蜂对宿主高榕不同发育期榕果挥发物的行为反应

采用自行设计的玻璃 Y 型嗅觉仪测定两种 *Eupristina* 属小蜂对宿主高榕不同发育期榕果挥发物的行为反应。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,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 100—150mL /min。实验在完全遮光的室内进行 (排除自然光源)。顶灯为 3 支 40W 平行灯管,室温 (25 ± 2) °C,湿度 70%—75%。实验时间选择在昆虫活力较强的 12:00 之前。将待测雌蜂单个从释放管放入 Y 型嗅觉仪的管柄,观察其在 5min 内对两臂中连接的味源瓶的选择反

应。判断标准如下:当小蜂爬至超过某臂的 10cm 处,并持续 1min 以上,则认为小蜂对该臂的挥发物作出了选择;榕小蜂在给定时间内没有做出选择的则记为无反应,并且从分析数据中剔除^[24]。

本实验的处理组设置见表 1,以高榕 5 个发育时期(雌前期、接受期、传粉或产卵后时期、间花期及雄花期)的榕果和洁净空气 6 种味源两两对照,共测试了榕小蜂对 19 对处理组挥发物的行为反应。由于榕果通常在接受期时释放出的挥发物含量较多,所以本实验中将接受期榕果数量与其它发育时期间榕果数量比例设为 1:1 和 1:4,其它发育时期之间榕果数量的比例均为 1:1^[10]。

表 1 两种 *Eupristina* 属小蜂对不同发育期高榕榕果挥发物的行为反应处理组设置

Table 1 Sets of behavioural tests of *Eupristina* wasps to different developmental figs of *Ficus altissima*

处理组 Treatment	Y 型嗅觉仪中榕果类型和数量/个 Type and (number of figs) in the arms of Y-tube	
	味源 I Odour 1	味源 II Odour 2
1	雌前期榕果 Pre-female figs(10)	洁净空气 Clean air
2	接受期榕果 Female figs(10)	洁净空气 Clean air
3	传粉/产卵后榕果 Post-pollinated/oviposited figs(10)	洁净空气 Clean air
4	间花期榕果 Interfloral figs(10)	洁净空气 Clean air
5	雄花期榕果 Male phase figs(10)	洁净空气 Clean air
6	接受期榕果 Female figs(10)	雌前期榕果 Pre-female figs(10)
7	接受期榕果 Female figs(10)	雌前期榕果 Pre-female figs(40)
8	接受期榕果 Female figs(10)	间花期榕果 Interfloral figs(10)
9	接受期榕果 Female figs(10)	间花期榕果 Interfloral figs(40)
10	接受期榕果 Female figs(10)	雄花期榕果 Male phase figs(10)
11	接受期榕果 Female figs(10)	雄花期榕果 Male phase figs(40)
12	接受期榕果 Female figs(10)	传粉/产卵后榕果 Post-pollinated/oviposited figs(10)
13	接受期榕果 Female figs(10)	传粉/产卵后榕果 Post-pollinated/oviposited figs(10)
14	雌前期榕果 Pre-female figs(10)	间花期榕果 Interfloral figs(10)
15	雌前期榕果 Pre-female figs(10)	雄花期榕果 Male phase figs(10)
16	雌前期榕果 Pre-female figs(10)	传粉/产卵后榕果 Post-pollinated/oviposited figs(10)
17	间花期榕果 Interfloral figs(10)	雄花期榕果 Male phase figs(10)
18	间花期榕果 Interfloral figs(10)	传粉/产卵后榕果 Post-pollinated/oviposited figs(10)
19	雄花期榕果 Male phase figs(10)	传粉/产卵后榕果 Post-pollinated/oviposited figs(10)

传粉或产卵后榕果是指小蜂进入传粉 2 天后的榕果

1.2.2 两种 *Eupristina* 属小蜂对合成信息素的行为反应测定方法

以 3 种信息素试剂芳樟醇,苯乙烯,金合欢醇为因素,每个因素均设有 0.5%和 1% 两个剂量水平,采用 $L_9 2^7$ 的正交试验设计,并考虑各因子间的交互作用。因素水平见表 2,表 4,共有 8 个处理组。每处理组测 30 只小蜂,重复 6 次。

1.2.3 数据处理分析

本实验所有数据运用 Excel 和 SPSS 17.0 软件进行统计分析和作图。用卡方检验判断诱蜂数量差异显著性,采用方差分析对正交试验结果作显著性检验。

2 结果与分析

2.1 两种 *Eupristina* 属小蜂对不同发育期高榕榕果挥发物的行为反应

E. altissima 和 *Eupristina* sp. 雌蜂对不同发育期高榕榕果释放的挥发物的行为反应测定结果分别见图 1 和图 2。从图 1 中可以看出,与空白对照比较,接受期榕果挥发物对 *E. altissima* 雌蜂具有极显著的吸引作用,间花期榕果挥发物没有吸引或驱避作用,而雌前期、雄花期和被授粉或产卵后的榕果挥发物对 *E. altissima* 雌蜂

具有显著或极显著的驱避作用。比较接受期榕果与其它发育期榕果挥发物对 *E. altissima* 雌蜂的吸引作用,不论二者的榕果数量比为 1:1 还是 1:4,接受期榕果挥发物对 *E. altissima* 雌蜂的吸引作用都极显著高于其它发育期榕果。比较雄花期榕果与雌前期、间花期和被授粉或产卵后的榕果挥发物对 *E. altissima* 选择行为的影响,结果表明雄花期、雌前期和被授粉或产卵后的榕果挥发物对 *E. altissima* 雌蜂均具有极显著的驱避作用,但雄花期榕果挥发物的驱避作用极显著大于雌前期和被授粉或产卵后的榕果,间花期榕果挥发物对 *E. altissima* 雌蜂选择行为没有影响。

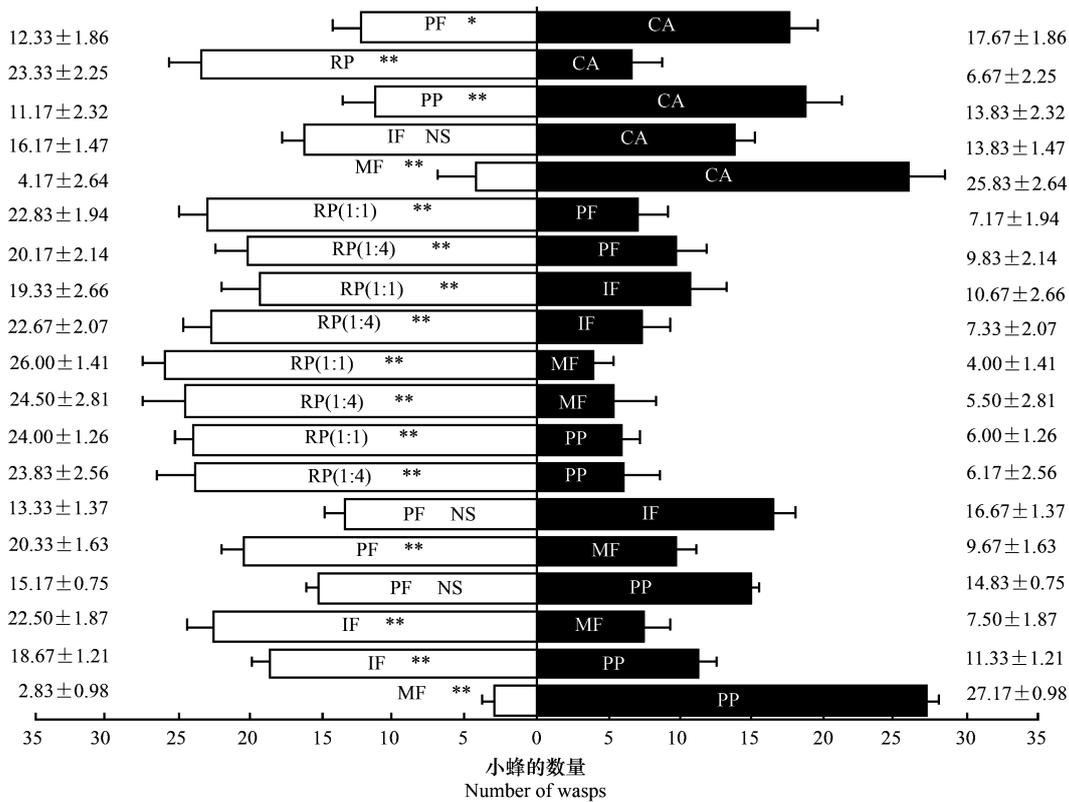


图 1 *E. altissima* 对不同发育期高榕果挥发物的行为反应

Fig.1 Responses of *E. altissima* to fig volatiles of different developmental phases of *Ficus altissima*

图中数据为平均值±标准误差。图中*表示有显著性差异(χ^2 检验, $P < 0.05$), **表示有极显著差异(χ^2 检验, $P < 0.01$), NS表示无显著性差异(χ^2 检验, $P > 0.05$); PF = 雌前期榕果, RP = 接受期榕果, PP = 被授粉或产卵后的榕果, IF = 间花期榕果, MF = 雄花期榕果, CA = 洁净空气对照

从图 2 的结果可以看出,与空白对照相比,接受期榕果挥发物对 *Eupristina* sp.雌蜂具有极显著的吸引作用,雄花期榕果挥发物对其具有极显著的驱避作用,而雌前期,传粉后时期和间花期榕果对 *Eupristina* sp.雌蜂既不吸引也不驱避。比较接受期榕果与其它发育期榕果挥发物对 *Eupristina* sp.雌蜂的吸引作用,不论榕果数量比为 1:1 还是 1:4,接受期榕果挥发物对 *Eupristina* sp.雌蜂的吸引作用都极显著高于其它发育期榕果。比较雄花期榕果与雌前期、间花期和被授粉或产卵后的榕果挥发物对 *E. altissima* 选择行为的影响,结果表明雄花期、雌前期和被授粉或产卵后的榕果对 *Eupristina* sp.雌蜂均具有极显著的驱避作用,而且雄花期榕果挥发物的驱避作用极显著大于雌前期和被授粉或产卵后的榕果,但间花期榕果与雌前期和被授粉或产卵后的榕果相比,对 *Eupristina* sp.雌蜂具有显著或极显著的吸引作用。

2.2 *E. altissima* 对合成信息素的行为反应

三种信息素苯甲醇、苯乙烯和金合欢醇的合成混合试剂对高榕 *E. altissima* 小蜂选择行为的影响及其交互作用的正交试验测试结果见表 2。从表 2 的相差计算和极差关系可知,3 种试剂因素对 *E. altissima* 雌蜂选

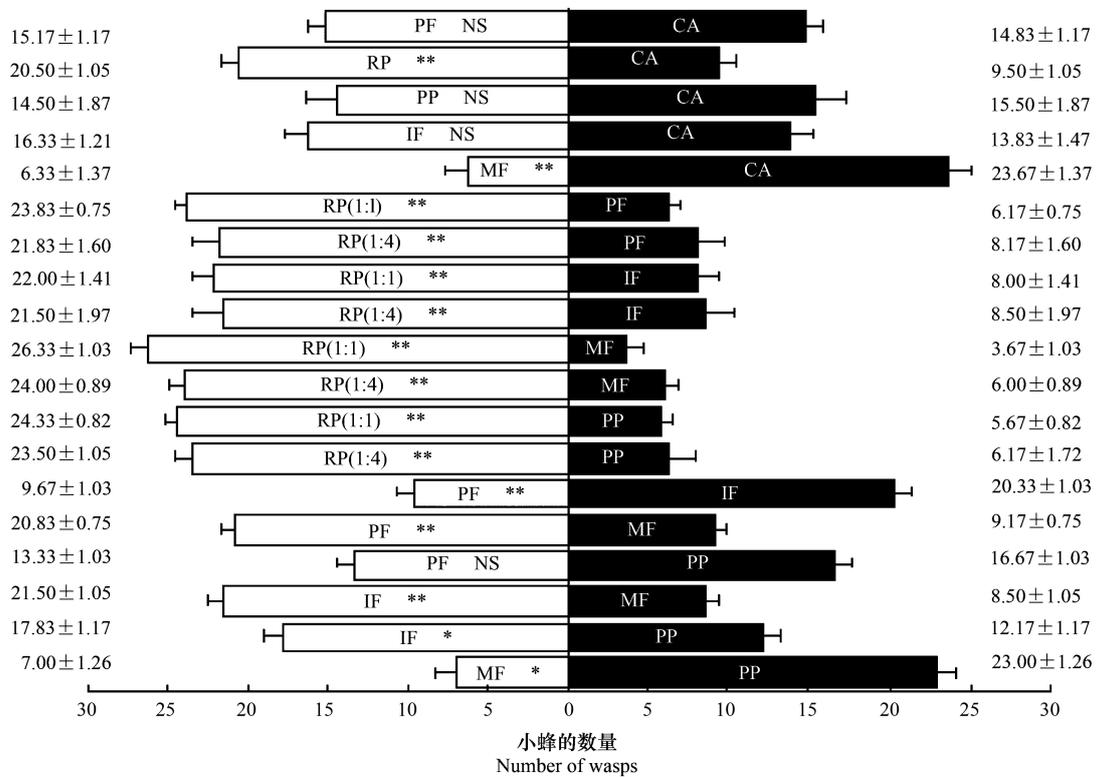


图2 *Eupristina* sp.对不同发育期高榕榕果挥发物的行为反应

Fig.2 Responses of *Eupristina* sp. to fig volatiles of different developmental phases of *Ficus altissima*

图中数据为平均值±标准误差。图中*表示有显著性差异(χ^2 检验, $P < 0.05$), **表示有极显著差异(χ^2 检验, $P < 0.01$), NS表示无显著性差异(χ^2 检验, $P > 0.05$); PF = 雌前期榕果, RP = 接受期榕果, PP = 被授粉或产卵后的榕果, IF = 间花期榕果, MF = 雄花期榕果, CA = 洁净空气对照

择行为影响的顺序依次为: $A > B > BC > AB > AC > C$, 即芳樟醇 > 苯乙烯 > 苯乙烯和金合欢醇的交互作用 > 芳樟醇和苯乙烯的交互作用 > 芳樟醇和金合欢醇的交互作用 > 金合欢醇, 各因子的最优水平组合是 $A_2B_1C_1$, 即对 *E. altissima* 雌蜂吸引作用最显著的组合是 1% 芳樟醇, 0.5% 苯乙烯和 0.5% 金合欢醇的混合信息化合物, 并且组合 $A_1B_2C_2$ 的混合信息素对 *E. altissima* 具有极显著的驱避作用, 而组合 $A_2B_1C_1$, $A_2B_1C_2$, $A_2B_2C_1$ 的混合信息素具有极显著的吸引作用。对各因子及其交互作用进行显著性检验, 结果见表 3, 表明各因子对 *E. altissima* 雌蜂的选择行为影响都极为显著, 而且各因子之间交互作用都很明显, 其中 B、C 的交互作用最为显著, 但因子 A 和 B 对小蜂选择行为的影响明显大于各因子间的交互作用。

2.3 *Eupristina* sp.对合成信息素的行为反应

苯甲醇、苯乙烯和金合欢醇的合成混合试剂对高榕 *Eupristina* sp.小蜂选择行为的影响及其交互作用的正交试验测试结果见表 4, 从表 4 的相差计算和极差关系可知, 3 种试剂因素对其选择行为影响的顺序依次为: $A > B > BC > C > AB > AC$, 即芳樟醇 > 苯乙烯 > 苯乙烯和金合欢醇的交互作用 > 金合欢醇 > 芳樟醇和苯乙烯的交互作用 > 芳樟醇和金合欢醇的交互作用, 各因子的最优水平组合是 $A_2B_1C_1$, 即对 *Eupristina* sp.雌蜂吸引作用最显著的组合是 1% 芳樟醇, 0.5% 苯乙烯和 0.5% 金合欢醇的混合信息化合物。组合 $A_1B_1C_1$ 和 $A_1B_2C_2$ 的混合信息素对 *Eupristina* sp.具有显著或极显著的驱避作用, 而组合 $A_2B_1C_1$, $A_2B_1C_2$, $A_2B_2C_1$ 的混合信息素对 *Eupristina* sp.均具有极显著的吸引作用。对各因子及其相互作用进行显著性检验, 结果见表 5, 表明因子 A 和 B 对 *Eupristina* sp.的选择行为具有显著影响, 而因子 C 对其影响不显著, 而且 A 因子与 B、C 因子交互作用都不显著, 只有 B、C 因子间具有交互作用显著, 但 A 因子对 *Eupristina* sp.选择行为的影响大于 B、C 间的交互作用。

表 2 *E. altissima* 对合成信息素的行为反应正交试验 (L_82^7)

Table 2 Orthogonal test of choice behavior of *E. altissima* to mixed infochemicals

处理组 Treatment	A 芳樟醇 Linalool		B 苯乙烯 Benzyl ethylene		A×B 交互列 Interaction	C 金合欢醇 Farnesol		A×C 交互列 Interaction	B×C 交互列 Interaction	误差列 Error	吸引小蜂数量 The number of fig wasps absorbed by mixed infochemicals(Mean±SD)
	水平 Level	浓度 Concentration	水平 Level	浓度 Concentration	水平 Level	水平 Level	浓度 Concentration	水平 Level	水平 Level	水平 Level	
	1	1	0.5%	1	0.5%	1	1	0.5%	1	1	1
2	1	0.5%	1	0.5%	1	2	1%	2	2	2	14.50±1.52
3	1	0.5%	2	1%	2	1	0.5%	1	2	2	14.00±0.89
4	1	0.5%	2	1%	2	2	1%	2	1	1	8.83±1.47 **
5	2	1%	1	0.5%	2	1	0.5%	2	1	2	21.17±1.47 **
6	2	1%	1	0.5%	2	2	1%	1	2	1	24.50±1.05 **
7	2	1%	2	1%	1	1	0.5%	2	2	1	18.00±1.41 **
8	2	1%	2	1%	1	2	1%	1	1	2	15.00±1.41

处理组 Treatment	A 芳樟醇 Linalool	B 苯乙烯 Benzyl ethylene	A×B 交互列 Interaction	C 金合欢醇 Farnesol	A×C 交互列 Interaction	B×C 交互列 Interaction	误差列 Error
Ij	12.66	18.37	15.21	16.63	16.71	14.58	16.17
IIj	19.67	13.96	17.13	15.71	15.63	17.75	16.17
R	7.01	4.41	1.92	0.92	1.08	3.17	0.00

注:表中“ ** ”表示 χ^2 检验差异达到 0.01 水平

表 3 正交实验(表 2)方差分析表

Table 3 Variance analysis of table 2

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	588.000	1	588.000	325.784	0.000 **	4.08	7.31
B	234.083	1	234.083	129.695	0.000 **	4.08	7.31
C	10.083	1	10.083	5.587	0.023 *	4.08	7.31
A×B	44.083	1	44.083	24.425	0.000 **	4.08	7.31
A×C	14.083	1	14.083	7.803	0.008 **	4.08	7.31
B×C	120.333	1	120.333	66.671	0.000 **	4.08	7.31
误差 Error	74.000	41	1.805				

* * : χ^2 检验差异达到 0.01 水平

表 4 *Eupristina* sp.对合成信息素的行为反应正交试验 (L_82^7)

Table 4 Orthogonal test of choice behavior of *Eupristina* sp. to mixed infochemicals

处理组 Treatment	A 芳樟醇 Linalool		B 苯乙烯 Benzyl ethylene		A×B 交互列 Interaction	C 金合欢醇 Farnesol		A×C 交互列 Interaction	B×C 交互列 Interaction	误差列 Error	吸引小蜂数量 The number of fig wasps absorbed by mixed infochemicals(Mean±SD)
	水平 Level	浓度 Concentration	水平 Level	浓度 Concentration	水平 Level	水平 Level	浓度 Concentration	水平 Level	水平 Level	水平 Level	
	1	1	0.5%	1	0.5%	1	1	0.5%	1	1	1
2	1	0.5%	1	0.5%	1	2	1%	2	2	2	15.33±1.97
3	1	0.5%	2	1%	2	1	0.5%	1	2	2	13.50±1.87
4	1	0.5%	2	1%	2	2	1%	2	1	1	9.33±1.37 **
5	2	1%	1	0.5%	2	1	0.5%	2	1	2	19.00±1.10 **
6	2	1%	1	0.5%	2	2	1%	1	2	1	21.83±1.17 **
7	2	1%	2	1%	1	1	0.5%	2	2	1	20.33±1.51 **
8	2	1%	2	1%	1	2	1%	1	1	2	16.50±1.05

续表

处理组 Treatment	A 芳樟醇 Linalool	B 苯乙烯 Benzyl ethylene	A×B 交互列 Interaction	C 金合欢醇 Farnesol	A×C 交互列 Interaction	B×C 交互列 Interaction	误差列 Error
Ij	12.67	18.38	16.08	16.63	16.00	14.25	14.25
IIj	19.67	13.96	15.92	15.71	16.00	17.75	15.67
R	7.00	4.42	0.16	0.92	0.00	3.50	1.42

* * χ^2 检验差异达到 0.01 水平; * :差异达到 0.05 水平

表 5 正交试验(表 4)方差分析表

Table 5 Variance analysis of table 4

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	560.333	1	560.333	264.065	0.000 **	4.08	7.31
B	56.333	1	56.333	26.548	0.000 **	4.08	7.31
C	3.000	1	3.000	1.414	0.241 NS	4.08	7.31
A×B	0.333	1	0.333	0.157	0.694 NS	4.08	7.31
A×C	0.000	1	0.000	0.000	1.000 NS	4.08	7.31
B×C	147.000	1	147.000	69.276	0.000 **	4.08	7.31
误差 Error	87.000	41	2.122				

* χ^2 检验差异达到 0.05 水平; NS: χ^2 检验差异不显著

3 讨论

从两种小蜂对宿主不同发育期榕果的行为反应测试结果可以看出, *E. altissima* 和 *Eupristina* sp. 对高榕接受期和雄花期榕果挥发物的行为反应较为一致, 它们对高榕接受期榕果挥发物的偏向性都明显高于其它时期, 并且对高榕雄花期榕果挥发物的行为反应均表现为驱避效应, 由此说明 *E. altissima* 与 *Eupristina* sp. 雌蜂都能明显地辨别高榕接受期和雄花期榕果的挥发物, 从而实现对宿主接受期榕果的定位, 在短暂的生命里争取更多的时间完成后代繁衍的职责。但两种小蜂对其它发育时期榕果挥发物的行为反应具有差异性, *E. altissima* 对雌前期榕果和传粉或产卵后榕果释放的挥发物存在显著的驱避反应, 而 *Eupristina* sp. 对雌前期榕果、传粉或产卵后榕果的偏向性都不明显, 表明 *E. altissima* 能够识别雌前期榕果和传粉或产卵后榕果, 可避免误入而无法繁殖后代, *Eupristina* sp. 则不具备这种识别能力。

造成这两种小蜂对宿主不同发育期榕果挥发物的选择差异的原因, 可能在于二者触角结构的差异。榕小蜂触角上存在多种类型的感受器, 能够灵敏地感觉外界环境的变化, 传粉蜂通过识别榕果释放的挥发物从而实现宿主定位^[25-26], *E. altissima* 的触角索节为 4 节, 而 *Eupristina* sp. 的触角索节为 3 节^[19, 27], 推测 *E. altissima* 与 *Eupristina* sp. 雌蜂对宿主榕果挥发物选择行为的差异, 可能源于其触角感器的种类和数量的差异, 有待对这两种小蜂的触角进行扫描电镜形态观察后加以验证。

正交试验结果反映出 *E. altissima* 和 *Eupristina* sp. 小蜂对不同浓度比例的信息混合物的反应具有相对一致性, 组合 $A_1B_2C_2$ (0.5% Linalool + 1% Benzyl ethylene + 1% Farnesol) 的混合信息素对两种小蜂均表现出驱避作用, 而组合 $A_2B_1C_1$ (1% Linalool + 0.5% Benzyl ethylene + 0.5% Farnesol), $A_2B_1C_2$ (1% Linalool + 0.5% Benzyl ethylene + 1% Farnesol), $A_2B_2C_1$ (1% Linalool + 1% Benzyl ethylene + 0.5% Farnesol) 的混合信息素对两种小蜂均表现为吸引作用, 其它组合除 $A_1B_1C_1$ (0.5% Linalool + 0.5% Benzyl ethylene + 0.5% Farnesol) 外对两种小蜂均既不吸引也不驱避, 由此说明单一信息化合物经不同浓度比例混合后, 可能表现为协同作用, 也可能表现为拮抗作用, 即信息素对小蜂具有吸引作用的实质并非由单一化合物的浓度高低决定的, 而是由多种化合物以特定比例组成的混合物决定的, 这也与陈友铃等的结果是一致的^[24]。

此外, 芳樟醇和苯乙烯对两种小蜂选择行为的影响作用都极显著, 而且苯乙烯与金合欢醇的交互作用对

两种小蜂选择行为影响也很显著。芳樟醇是植物挥发物中普遍存在的成分,在许多种榕树挥发物分析中也检测到该化合物,陈友铃等在分析爱玉子榕果传粉前后挥发物成分中发现,芳樟醇在小蜂进入榕果传粉或产卵后大幅度减少^[9],本实验中芳樟醇对两种小蜂选择行为的影响作用均最大,由此可见,芳樟醇可能是榕树乃至其它植物挥发物对传粉昆虫具有吸引作用的关键成分。金合欢醇对两种小蜂选择行为的影响都很小,但与苯乙烯的交互作用却极显著,这也进一步说明榕果挥发物中对小蜂具有吸引作用的是多种成分以特定浓度比例组成的混合物。而芳樟醇与苯乙烯和金合欢醇的交互作用只对 *E. altissima* 的选择行为影响极显著,而对 *Eupristina* sp. 则影响不显著。综合上述可见, *E. altissima* 和 *Eupristina* sp. 被榕果挥发物吸引所利用的化学信号可能是一样的,但可能也存在组分的细微差别。

参考文献 (References):

- [1] Bronstein J L, McKey D. The fig/pollinator mutualism: a model system for comparative biology. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 1989, 45 (7): 601-604.
- [2] Anstett M C, McKey M H, Kjellberg F. Figs and fig pollinators: evolutionary conflicts in a coevolved mutualism. *Trends in Ecology & Evolution*, 1997, 12(3): 94-99.
- [3] Cook J M, Rasplus J Y. Mutualists with attitude: coevolving fig wasps and figs. *Trends in Ecology & Evolution*, 2003, 18(5): 241-248.
- [4] Weiblen G D. How to be a fig wasp. *Annual Review of Entomology*, 2002, 47: 299-330.
- [5] 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.
- [6] Getty T. Discriminability and the sigmoid functional response: how optimal foragers could stabilize model-mimic complexes. *The American Naturalist*, 1985, 125(2): 239-256.
- [7] Gols R, Veenemans C, Potting R P J, Smid H M, Dicke M, Harvey J A, Bukovinsky T. Variation in the specificity of plant volatiles and their use by a specialist and a generalist parasitoid. *Animal Behaviour*, 2012, 83(5): 1231-1242.
- [8] Grison-Pigé L, Hossaert-McKey M, Greeff J M, Bessière J -M. Fig volatile compounds—a first comparative study. *Phytochemistry*, 2002, 61(1): 61-71.
- [9] 陈友铃, 吴文珊. 爱玉子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): 2212-2219.
- [10] Gu D, Compton S G, Peng Y Q, Yang D R. 'Push' and 'pull' responses by fig wasps to volatiles released by their host figs. *Chemoecology*, 2012, 22(4): 217-227.
- [11] 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(12): 1536-1544.
- [12] Chen C, Song Q S, Proffitt 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.
- [13] Proffitt M, Chen C, Soler C, Bessière J -M, Schatz B, Hossaert-McKey M. Can chemical signals, responsible for mutualistic partner encounter, promote the specific exploitation of nursery pollination mutualisms? — the case of figs and fig wasps. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 2009, 131(1): 46-57.
- [14] Proffitt M, Schatz B, Borges R M, Hossaert-McKey M. Chemical mediation and niche partitioning in non-pollinating fig-wasp communities. *Journal of Animal Ecology*, 2007, 76(2): 296-303.
- [15] Wang G, Compton S G, Chen J. The mechanism of pollinator specificity between two sympatric fig varieties: a combination of olfactory signals and contact cues. *Annals of Botany*, 2013, 111(2): 173-181.
- [16] Li Z B, Yang P, Peng Y Q, Yang D R. Ultrastructure and distribution of sensilla on the antennae of female fig wasp *Eupristina* sp. (Hymenoptera: Agaonidae). *Acta Zoologica*, 2014, 95(1): 73-83.
- [17] Takemoto H, Powell W, Pickett J, Kainoh Y, Takabayashi J. Two-step learning involved in acquiring olfactory preferences for plant volatiles by parasitic wasps. *Animal Behaviour*, 2012, 83(6): 1491-1496.
- [18] Krishnan A, Joshi K A, Abraham A, Ayyub S, Lahiry M, Mukherjee R, Javadekar S M, Narayan V, Borges R M. Finding hidden females in a crowd: mate recognition in fig wasps. *Acta Oecologica*, 2013, 57: 80-87.
- [19] Peng Y Q, Duan Z B, Yang D R, Rasplus J Y. Co-occurrence of two *Eupristina* species on *Ficus altissima* in Xishuangbanna, SW China. *Symbiosis*, 2008, 45: 9-14.
- [20] Zhang Y, Peng Y Q, Compton S G, Yang D R. Premature attraction of pollinators to inaccessible figs of *Ficus altissima*: a search for ecological and evolutionary consequences. *PLoS One*, 2014, 9(1): e86735.
- [21] Peng Y Q, Compton S G, Yang D R. The reproductive success of *ficus altissima* and its pollinator in a strongly seasonal environment: Xishuangbanna, southwestern China. *Plant Ecology*, 2010, 209(2): 227-236.
- [22] 陈友铃, 孙伶俐, 武蕾蕾, 吴文珊, 严菊媛, 刘燕. 高榕榕果内 *Eupristina* 属两种榕小蜂的遗传进化关系. *生态学报*, 2013, 33(19): 6058-6064.
- [23] Knudsen J T, Tollsten L, Bergström L G. Floral scents—a checklist of volatile compounds isolated by head-space techniques. *Phytochemistry*, 1993, 33(2): 253-280.
- [24] 陈友铃, 方丽娜, 吴文珊. 信息化合物对薜荔榕小蜂选择行为的影响. *生态学报*, 2010, 30(11): 2949-2957.
- [25] 李宗波, 杨培, 彭艳琼, 杨大荣. 木瓜榕传粉榕小蜂雌蜂触角传感器的分布和超微形态. *昆虫学报*, 2012, 55(11): 1272-1281.
- [26] 孟晶. 中国榕小蜂触角感受器的适应进化和性状系统发育[D]. 泰安: 山东农业大学, 2010.
- [27] 谷海燕, 杨大荣, 张光明, 彭艳琼, 宋启示. 高榕隐头果内寄生蜂种类及生态学特征初步观察. *生态学杂志*, 2003, 22(2): 70-73.