

木瓜榕隐头果传粉前后挥发性化合物构成及其变化规律^{*}

李宗波^{1,2}, 杨培², 彭艳琼², 杨大荣²

(1. 西南林业大学 林学院 云南省森林灾害预警与控制重点实验室 云南 昆明 650224;

2. 中国科学院 西双版纳热带植物园 云南 昆明 650223)

摘要: 榕树与其传粉榕小蜂通常以隐头果挥发物作为交流媒介. 采用顶空动态法提取木瓜榕隐头果传粉前后的挥发物, 用 GC-MS 联用仪鉴定各化合物, 峰面积归一法和内标法测定各成分含量. 结果表明: 木瓜榕传粉前(雌花期)和传粉后的顶空样品中分离出 53 种化合物, 多数为单萜类和倍半萜类化合物, $(E)-\beta$ -ocimene、linalool、limonene、5-epiprenylacetone、khusimene、 $cis-\beta$ -cedrene、 $cis-\alpha$ -bergamotene、 α -farnesene 和 bicyclogermacrene 是其重要的挥发物成分. 雌花期隐头果挥发物释放量明显高于传粉后挥发物释放量, 且雌雄隐头果挥发物种类、构成及释放量上高度类似, 存在着明显的模拟现象. 同时, 雌雄个体挥发物释放量存在明显的空间变异.

关键词: 榕蜂互利共生系统; 木瓜榕; 隐头果; 挥发性化合物; 顶空动态法; 模拟; 空间变异

中图分类号: O 629.9; Q 946.8 文献标识码: A 文章编号: 0258-7971(2012)01-0090-09

植物花香化合物常被作为植物与传粉昆虫间相互作用的一种古老媒介, 其有助于传粉昆虫识别寄主或获得食物报酬. 相反, 传粉昆虫也能够识别并利用这些花香化合物的变化, 达到寄主识别和避免欺骗的目的^[1-3]. 因此, 长期的协同进化促使传粉昆虫能够对特定的花香化合物产生偏爱性(Preference)和恒定性(Constancy)^[3], 而这种偏爱性和恒定性在专一性传粉-育幼系统中表现的更加明显, 气味已经被证明能够促进双方的相遇^[4].

榕树与其传粉榕小蜂构成了一个极端专一化的传粉-育幼共生系统^[4-5], 在所有 750 种榕树中^[6], 几乎每一种榕树都必须依赖其特定的一种传粉榕小蜂为其传粉, 传粉榕小蜂后代也仅依赖协同榕树的隐头果(或称隐头花序, Syconia/fig)才能完成其发育^[7]. 榕树生活在生态环境复杂和生物多样性丰富的热带雨林地区, 其隐头果具有的 5 个发育阶段^[8]: 雌花前期(Pre-female phase)、雌花期(Female phase)、间花期(Inter-floral phase)、雄花期(Male phase)和后雄花期(Post-floral

phase), 只有雌花期(又称接受期 receptive phase)隐头果的苞片口会主动打开并释放出特异性的化合物吸引传粉榕小蜂到达为其传粉^[9-15]. 因此, 在如此专一的系统以及复杂的生态环境中, 信号的忠诚性和准确性至关重要, 以帮助个体微小(1~2 mm)、寿命短(1~2 d)^[16]以及需长距离迁移(>10 km)^[17]的传粉榕小蜂准确快速找到寄主.

榕树具有雌雄同株和雌雄异株 2 种不同的繁殖形式. 雌雄同株榕树的隐头果既具有行使雄性的功能, 又能行使雌性的功能, 雌雄同株的榕树只有一种繁殖体; 雌雄异株榕树是功能性雌雄异株, 为雌花两性花异株(Gynodioecious), 具有 2 种繁殖体, 即雄果和雌果. 雄果产生花粉和繁殖小蜂(传粉榕小蜂), 而雌树隐头果仅具有长花柱的雌性小花, 小花全部发育成种子. 传粉榕小蜂进入雌果相当于被欺骗进入的, 没有获得任何繁殖利益^[18]. 而在另外一方面, 如果传粉榕小蜂能够识别雌雄繁殖个体挥发性化合物的差异, 那么传粉榕小蜂将会避免非报酬的雌果. 因此, 推测其性别间应存在化学

^{*} 收稿日期: 2011-07-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(31100279; 30970403; 30970439)资助; 云南省重点学科森林保护学支持项目(XKZ200905)资助.

作者简介: 李宗波(1979-), 男, 河南人, 讲师, 博士, 主要从事化学生态和昆虫生态及害虫治理.

通讯作者: 杨大荣(1954-), 男, 云南人, 研究员, 主要从事进化生态学研究, Email: yangdr@xtbg.ac.cn.

相似或模拟,以使搭档双方均获得繁殖成功。

对于榕蜂传粉-育幼系统来说,通过分析隐头果传粉前后挥发性化合物的变化规律,有利于探讨隐头果专一性化学信号的构成以及验证雌雄繁殖个体间是否存在化学模拟现象,以揭示榕-蜂体系间的化学维持机制。因此,我们提取、分析了雌雄异株榕树——木瓜榕隐头果传粉前后的挥发性化合物,我们的目标是:①了解木瓜榕隐头果挥发性化合物的成分、构成以及配比等;②隐头果挥发性化合物传粉前后的变化状况;③雌雄个体间挥发性化合物构成的特征,是否存在化学相似或模拟;④雌雄个体隐头果传粉前后空间分布特征;⑤筛选活性化学成分,为进行生物测定和开展电生理研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 研究材料 木瓜榕(*F. auriculata* Lour) 属于聚果榕亚属(*Sycomorus*) 大果榕组(*Neomorphe* King) 雌雄异株榕树,依赖其专一性传粉榕小蜂(*Ceratosolen emarginatus* Mayr) 为其传粉,是热带雨林地区常见的榕树之一。隐头果簇生于树干基部或老茎短枝上,大而梨形或扁球形至陀螺形,具8~12条明显的纵棱,幼时青色,被白色短绒毛;成熟时脱落,呈红褐色。花期8月至翌年3月,果期5~8月^[19]。雌花期隐头果具有明显“花香”,可持续1~2周,最后3~4d,其传粉榕小蜂仍可被引诱进入果腔,但雌性小花不能被授粉或产卵,隐头果脱落。

1.2 榕树隐头果挥发性化合物的收集 用纱网袋(0.14 mm) 将刚开始发育的隐头果套起来,以减少各种昆虫对隐头果的影响,特别是隐头果到达雌花期时防止传粉榕小蜂的进入,以准确地获得雌花期隐头果挥发性化合物。当可以闻到“花香”味道时,揭开纱网袋,采用动态顶空采样法收集挥发性化合物。将采集的隐头果用无味透明的塑料袋(PTEK, Kalle Nalo GmbH, Wursthüllen Ltd., German) 包裹起来,袋的两端分别留有进气口和出气口,连接器件均为无味的特氟隆管(PTEE, VICI Jour Ltd., Sweden) 连接。进气速度控制在400 mL/min,出气速度300 mL/min,收集时间3 h,温度保持在25℃左右,采样时间12:30~15:30,记录采样所用的隐头果的数目。采集完毕的吸附管,暂时用锡箔纸包

裹并装入密封袋内,然后置于冰箱内(-18℃) 保存。1~2 d后,将吸附管从冰箱内取出,用100 μL 正己烷(色谱纯, Tedia, USA) 分别洗涤3次,然后将洗涤液收集在2 mL容量的棕色试剂瓶内。为进行样品的定量测定,加入正辛烷(Octane, 0.702 g/cm³) 和乙酸癸酯(Decyl acetate, 0.865 g/cm³) 2种内标化合物,每种化合物为300 ng,再次置于冰箱内保存,直至进行仪器分析时取出,保存时间不超过1个月。

1.3 榕树挥发性化合物的分析方法 隐头果挥发性化合物采用安捷伦公司生产的气相色谱(GC) 和气-质联用仪(GC/MS) 进行分析。GC分析的条件是:取5.0 μL样品由注射器加入气相色谱进样口,气化室温度250℃,氢火焰检测器温度250℃,采用非极性石英柱HP-5(30 m × Φ0.32 mm × 0.25 μm);炉温升温程序为50℃保持1 min,然后3℃/min升温至250℃,以后以20℃/min升至280℃。载气为高纯的N₂,柱流量为1.5 mL/min,进样口采用分流模式,分流比50:1。

GC-MS分析的条件是:取1 μL加入气相-质谱联用仪的气相色谱的进样口中,检测器为氢火焰离子检测器,气相色谱柱型号为极性的HP-5MS型石英柱(30 m × Φ0.25 mm × 0.25 μm)。炉温的升温程序是:30℃保持4 min,然后3℃/min升温至180℃,以后以20℃/min升至240℃。载气为高纯的N₂,柱流量1.0 mL/min,进样口温度250℃,柱前压100 kPa;进样采用分流模式,分流比10:1。MS离子轰击源设为扫描功能,扫描范围35~450,电离方式EI;电子能量70 eV;传输线温度250℃;离子源温度230℃;四级杆温度150℃。

1.4 隐头果挥发性化合物鉴定方法 挥发物的鉴定采用谱库检索法、保留指数法和参考相关文献法。图谱检索法是首先利用仪器自带的标准谱库(wiley 7n.1) 检索目标化合物,确认其可能性,初步认定其归属。进一步利用保留指数,并参考相关文献加以确定。

1.5 数据分析与处理 为了比较不同样本间挥发物的空间差异,我们采用R统计分析软件中Vegan数据包进行分析处理^[20]。数据首先进行平方根转换($x^{-1/2}$) ,接着采用Wisconsin双标准法转化成正态,用布赖柯蒂斯距离(Bray-Curtis distance) 估计配对样本间矩阵距离,距离范围0~1,然后用无度

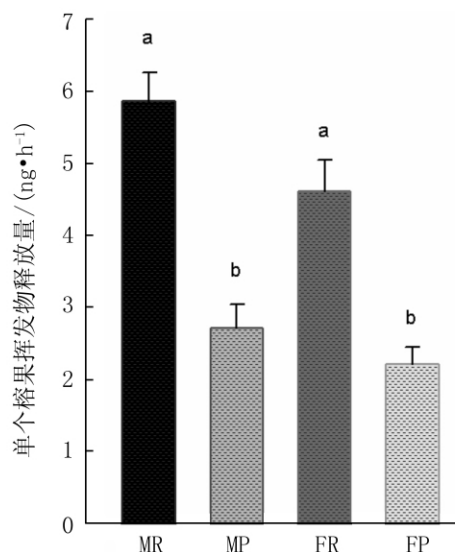
量多维标定(Non-metric multidimensional scaling, NMDS)度量矩阵间最佳距离.同时,设定一个应力值(The stress value)这个应力值越小,说明这个距离矩阵越适合.最后,利用多反应序列程序(Multiple response permutation procedure, MRPP, Permutation 设定为 10 000)分析样本间化学成分的差异^[10] $A_{\max} = 1$ 表示组内是一致的,没有差异; $A = 0$ 组内物种均等出现; $A < 0$ 组内物种具有更大的异质性.

对于其它数据,我们采用 SPSS(Version 11.5) 进行统计分析处理.所有的百分率数据在分析前进行 $\arcsin(x^{-1/2})$ 转换,化合物的绝对含量进行 $\lg(x+1)$ 转换.利用配对样本 t 检验对雌花期和传粉后挥发物的相对含量进行检验.利用单因素方差分析中的 Tukey's 方法对雌花期和传粉前后的挥发物的绝对量进行检验.利用 MVPS 软件(Version 3.3)对隐头果挥发物中的主要成分进行主成分分析,并利用非参数检验 Kruskal-Wallis test 对主成分 1 与 2 进行了显著性比较.

2 结果与分析

2.1 木瓜榕隐头果挥发性化合物成分组成 GC-MS 共鉴定出木瓜榕雌花期和传粉后(4 d 后测定)的顶空挥发物 53 种,包括脂肪酸衍生物、单萜类、倍半萜类以及由莽草酸途径产生的挥发物(表 1).从中可以看出,单萜和倍半萜是其最主要的挥发物,发现单萜类 13 种,以(*E*)- β -ocimene、linalool、limonene 等为主;倍半萜有 27 种 δ -epiprezizaene、khusimene、*cis*- β -cedrene、 α -farnesene、bicyclogermacrene 等化合物相对含量较高. δ -epiprezizaene 和 khusimene 首次在榕树隐头果内检测到,且质量分数均大于 5%.

2.2 单个木瓜榕隐头果挥发物释放量的比较 无论是雌花期或是传粉后,雄果单位时间释放的挥发物质量(ng/h , $\text{mean} \pm \text{s.e.}$,下同)均略高于雌果释放的挥发物质量(雄果雌花期: 5.87 ± 0.39 ,传粉后: 2.72 ± 0.32 ,雌果雌花期 4.62 ± 0.43 ,雌果传粉后: 2.22 ± 0.24),两者间没有明显的差异(图 1,雌花期: $F_{1,7} = 6.29$, $P = 0.056$;传粉后: $F_{1,7} = 0.35$, $P = 0.577$),但传粉后,雌雄隐头果产生的挥发物量存在着明显的差异(雄果间: $F_{1,7} = 43.25$, $P = 0.001$;雌果间: $F_{1,7} = 21.69$, $P = 0.003$).



MR: 雄果雌花期; MP: 雄果传粉后;
FR: 雌果雌花期; FP: 雌果传粉后; 下同

图1 木瓜榕传粉前后单个隐头果所释放的挥发物量(柱上不同小写字母示传粉前后化合物释放量的差异显著)

Fig. 1 Quantity of volatile emitted from male and female figs of *F. auriculata* at receptive stage and post-pollination (Different letters in the column show significant difference at 0.05 level among amounts)

2.3 木瓜榕隐头果传粉前后挥发性化合物类别的变化 无论是雌果还是雄果,其产生的挥发性化合物的种类均以萜类化合物为主,尤以倍半萜类最为突出(图 2).雌花期时,单萜类化合物质量较低(雄果: 18.04 ± 13.38 ;雌果: 14.29 ± 12.12),倍半萜类化合物质量极高(雄果: 92.74 ± 6.11 ;雌果: 82.10 ± 7.64),但传粉后,单萜类化合物质量急剧上升(雄果: 46.81 ± 34.28 ;雌果: 39.78 ± 20.07 ;雄果间: $t = 6.37$, $P = 0.028$;雌果间: $t = 3.74$, $P = 0.033$),倍半萜类有一定程度的降低(雄果: 56.69 ± 32.34 ;雌果: 53.12 ± 35.54 ;雄果间 $t = -3.09$, $P = 0.054$;雌果间 $t = -2.61$, $P = 0.079$).脂肪酸衍生物和莽草酸途径合成的化合物含量较为稳定,传粉前后变化很小.

2.4 传粉前后挥发性化学成分的变化规律 木瓜榕隐头果挥发性化学物构成相当复杂,有 17 种化学物质量分数 $> 5\%$.雌花期时, (*E*)- β -ocimene、 δ -epiprezizaene、*trans*- β -cedrene、*trans*- β -farnesene、khusimene、*cis*- β -cedrene、 α -farnesene 和 bicyclogermacrene 是其主要的挥发物,占

表 1 木瓜榕隐头果雌花期和传粉后挥发性化合物的质量 ($N=4$; FR: 雌果雌花期、MR: 雄果雌花期、FP: 雌果传粉后、MP: 雄果传粉后, 以下缩写相同)

Tab. 1 Relative amounts of volatile compounds emitted by male and female figs of *F. auriculata* at receptive and post-pollination stages. (MR: male receptive; MP: male post-pollination; FR female receptive; FP: female post-pollination. The following abbreviations are the same)

挥发物	RI	传粉前后挥发物的质量 (mean ± s. e)			
		FR	MR	FP	MP
Fatty acid derivatives					
2 – heptanone	834	0.85 ±0.5	1.05 ±0.37	1.11 ±0.627	1.99 ±1.45
(Z) – 3 – hexen – 1 – ol	858	0.90 ±0.83	0.38 ±0.21	1.74 ±2.13	1.21 ±1.11
Methyl hexanoate	908	0.20 ±0.10	0.27 ±0.20	0.07 ±0.02	0.06 ±0.06
(Z) – 3 – hexenyl acetate	983	1.49 ±0.89	1.48 ±1.41	0.99 ±0.91	1.15 ±0.12
(E) – 2 – hexenyl acetate	993	—	0.73 ±0.73	—	—
hexyl acetate	985	0.76 ±0.76	0.13 ±0.13	0.12 ±0.12	0.08 ±0.08
decane	1 000	0.32 ±0.32	0.16 ±0.04	0.63 ±0.78	0.80 ±0.89
nonanal	1 089	0.40 ±0.26	0.51 ±0.34	0.53 ±0.02	0.88 ±0.63
dodecane	1 200	0.53 ±0.28	0.39 ±0.15	0.87 ±0.39	1.00 ±0.67
decanal	1 295	0.53 ±0.16	0.28 ±0.22	0.37 ±0.22	0.52 ±0.05
1 – hexanol	1 360	0.78 ±0.57	0.19 ±0.17	1.00 ±0.75	1.82 ±0.44
tetradecane	1 400	—	—	0.62 ±0.62	0.99 ±0.16
monoterpenes					
α – pinene	939	0.92 ±0.99	0.97 ±0.90	2.05 ±1.54	2.27 ±1.75
camphene	952	0.05 ±0.06	0.07 ±0.05	0.20 ±0.20	0.32 ±0.32
sabinene	972	1.14 ±0.43	2.10 ±1.87	3.55 ±1.03	4.43 ±1.20
β – pinene	978	0.90 ±0.52	1.41 ±0.85	1.02 ±0.47	2.75 ±2.78
myrcene	988	0.40 ±0.38	0.32 ±0.12	0.45 ±0.08	0.34 ±0.08
tricyclene	1 009	1.51 ±1.51	1.22 ±1.22	1.18 ±1.18	1.42 ±1.41
p – cymene	1 016	0.71 ±0.74	0.47 ±0.08	0.97 ±0.95	0.63 ±0.63
limonene	1 023	1.02 ±1.07	0.41 ±0.15	5.32 ±3.79	6.42 ±1.84
1 β – cineole	1 025	0.39 ±0.22	1.82 ±1.33	0.89 ±0.51	1.28 ±1.28
(E) – β – ocimene	1 042	3.41 ±2.48	5.30 ±2.92	19.33 ±9.38	18.27 ±12.21
γ – terpinene	1 056	0.37 ±0.25	0.49 ±0.43	0.93 ±0.52	0.86 ±0.69
linalool	1 097	3.07 ±3.07	2.97 ±2.97	3.29 ±0.26	7.34 ±9.61
α – terpinolene	1 178	0.40 ±0.40	0.49 ±0.49	0.60 ±0.16	0.48 ±0.48
sesquiterpenes					
bicycloelemene	1 333	0.41 ±0.22	0.36 ±0.08	0.78 ±0.45	0.77 ±0.64
α – cubebene	1 362	0.26 ±0.06	0.52 ±0.14	0.32 ±0.29	0.42 ±0.42

(续下表)

(续表1)

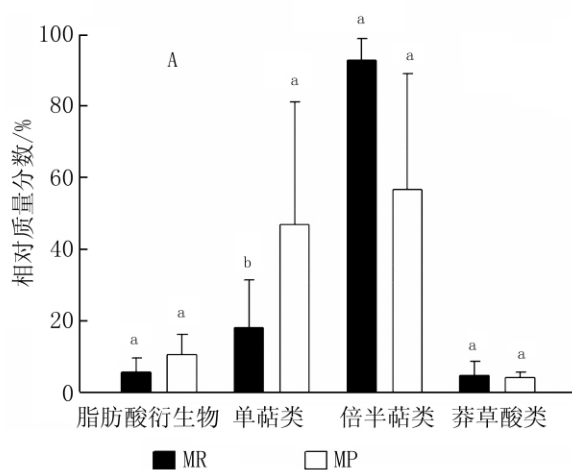
挥发物	RI	传粉前后挥发物的相对质量分数 (mean $\pm$ s. e)			
		FR	MR	FP	MP
α - copaene	1 378	0.80 $\pm$ 0.79	0.48 $\pm$ 0.31	2.27 $\pm$ 0.99	1.82 $\pm$ 0.22
α - ylangene	1 396	0.78 $\pm$ 0.12	0.48 $\pm$ 0.19	0.90 $\pm$ 0.30	0.84 $\pm$ 0.31
β - cubebene	1 400	0.65 $\pm$ 0.08	0.93 $\pm$ 0.93	0.63 $\pm$ 0.47	0.54 $\pm$ 0.20
β - elemene	1 400	0.98 $\pm$ 0.56	0.96 $\pm$ 0.29	0.83 $\pm$ 0.47	1.47 $\pm$ 1.02
5 - epiprezizaene	1 405	7.07 $\pm$ 3.29	8.19 $\pm$ 2.30	6.40 $\pm$ 1.69	8.17 $\pm$ 3.53
cis - α - bergamotene	1 406	0.88 $\pm$ 0.88	—	1.54 $\pm$ 1.54	—
γ - elemene	1 408	0.30 $\pm$ 0.30	—	—	—
α - cedrene	1 414	1.90 $\pm$ 1.31	1.90 $\pm$ 0.50	1.76 $\pm$ 1.11	0.84 $\pm$ 0.34
trans - β - cedrene	1 421	5.65 $\pm$ 2.24	8.12 $\pm$ 1.64	3.36 $\pm$ 2.89	6.48 $\pm$ 6.20
α - caryophyllene	1 425	1.00 $\pm$ 1.00	0.98 $\pm$ 0.98	6.17 $\pm$ 6.67	4.84 $\pm$ 1.85
trans - β - farnesene	1 426	4.10 $\pm$ 4.28	5.45 $\pm$ 3.21	1.37 $\pm$ 0.13	1.01 $\pm$ 1.01
β - caryophyllene	1 432	2.90 $\pm$ 2.34	1.76 $\pm$ 0.94	11.56 $\pm$ 12.00	10.86 $\pm$ 4.14
9,10 - dehydro - isolongifolene	1 437	0.97 $\pm$ 0.97	1.35 $\pm$ 1.35	—	—
cis - β - farnesene	1 443	—	—	1.81 $\pm$ 0.37	2.67 $\pm$ 1.66
trans - α - bergamotene	1 445	0.67 $\pm$ 0.35	1.63 $\pm$ 1.14	1.47 $\pm$ 1.47	1.90 $\pm$ 0.99
khusimene	1 457	14.72 $\pm$ 6.50	17.52 $\pm$ 4.17	1.14 $\pm$ 0.33	1.77 $\pm$ 1.76
cis - β - cedrene	1 458	8.67 $\pm$ 6.52	8.13 $\pm$ 0.22	0.62 $\pm$ 0.41	0.53 $\pm$ 0.53
germacrene D	1 482	1.32 $\pm$ 0.84	1.43 $\pm$ 0.82	0.24 $\pm$ 0.04	0.72 $\pm$ 0.72
β - gurjunene	1 488	0.98 $\pm$ 0.65	0.71 $\pm$ 0.19	3.33 $\pm$ 0.40	2.17 $\pm$ 1.46
α - gurjunene	1 489	2.38 $\pm$ 1.46	4.74 $\pm$ 1.41	1.82 $\pm$ 0.56	1.63 $\pm$ 0.75
α - elemene	1 495	2.89 $\pm$ 2.30	3.85 $\pm$ 2.60	0.33 $\pm$ 0.33	1.42 $\pm$ 1.09
α - farnesene	1 501	6.01 $\pm$ 4.45	6.25 $\pm$ 4.06	0.72 $\pm$ 0.23	0.71 $\pm$ 0.42
δ - cadinene	1 504	1.86 $\pm$ 0.72	1.98 $\pm$ 0.66	1.06 $\pm$ 0.97	1.39 $\pm$ 0.98
bicyclogermacrene	1 568	12.89 $\pm$ 5.75	14.02 $\pm$ 6.55	2.17 $\pm$ 1.33	3.12 $\pm$ 1.84
veridifloral	1 590	1.06 $\pm$ 0.66	1.00 $\pm$ 1.43	0.52 $\pm$ 0.10	0.60 $\pm$ 0.26
shikimic compounds					
unknown		3.85 $\pm$ 3.00	4.61 $\pm$ 4.10	2.35 $\pm$ 2.41	4.17 $\pm$ 1.41

总挥发物量的 60% 以上(表 1). 但传粉后, 这些化合物的含量明显降低(图 3, (*E*) - β - ocimene 例外), 而原来含量较低的一些化合物明显升高, 如 limonene、(*E*) - β - ocimene、linalool、 α - caryophyllene 和 β - caryophyllene. 在植物的挥发物组成中, 所有成分都对其构成的特异性“化学指纹图谱”有所贡献, 一些微量的化学成分, 特别是那些传粉后急剧减少或消失的化合物, 如 *cis* - α - bergamotene, 可能具有极高的增益效应.

我们对木瓜榕传粉前后质量分数 > 5% 的化学成分进行了主成分分析, 第 1 主成分与第 2 主成分的累计贡献率达到 92%, 可以认为这 2 个主成分包含了原来结果中的主要信息(图 4). 雌、雄植株产生的挥发物发生了分离, 但雌花期分离不明显. 对于雌雄植株来说, 传粉后含量降低的化学成分聚集到一起, 如: bicyclogermacrene、khusimene、*trans* - β - farnesene、5 - epiprezizaene 等, 这些化合物均是雌花期的主要的化合物. 而传粉后含量增加的化合物, 如 limonene、(*E*) - β - ocimene 与雌花期的化合物完全分离.

对主成分 1 和 2 进行 Krushal - Wallis 检验, 结果表明: 雌雄隐头在雌花期时挥发物没有明显的差异($\chi^2 = 2.80$, $P = 0.049$), 但传粉后两者存在着明显的不同($\chi^2 = 19.61$, $P = 0.004$). 因此, 用主成分 1 和 2 可以将传粉后隐头果挥发物区分开来, 但无法区分雌花期的化合物.

表 2 列出 4 个阶段隐头果主要挥发性化合物



A: 雄果; B: 雌果; 柱上不同小写字母示传粉前后不同类别化合物相对含量的差异显著

图 2 木瓜榕隐头果挥发性化合物的类别

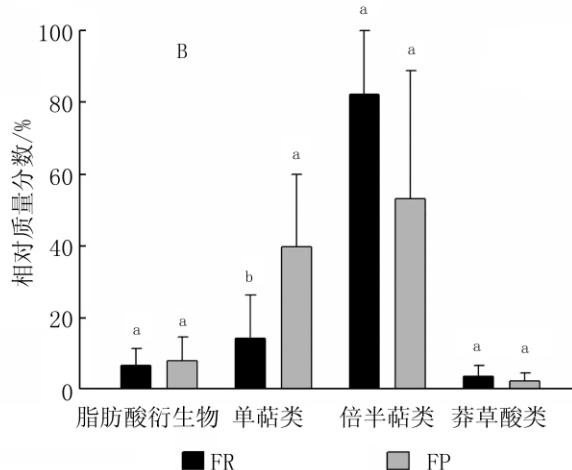
Fig. 2 Relative amounts of volatile sorts emitted from the male and female figs of *F. auriculata* at receptive and post - pollination stages (A: male fig; B: female fig; Different letters in the column show significant difference at 0.05 level among classes)

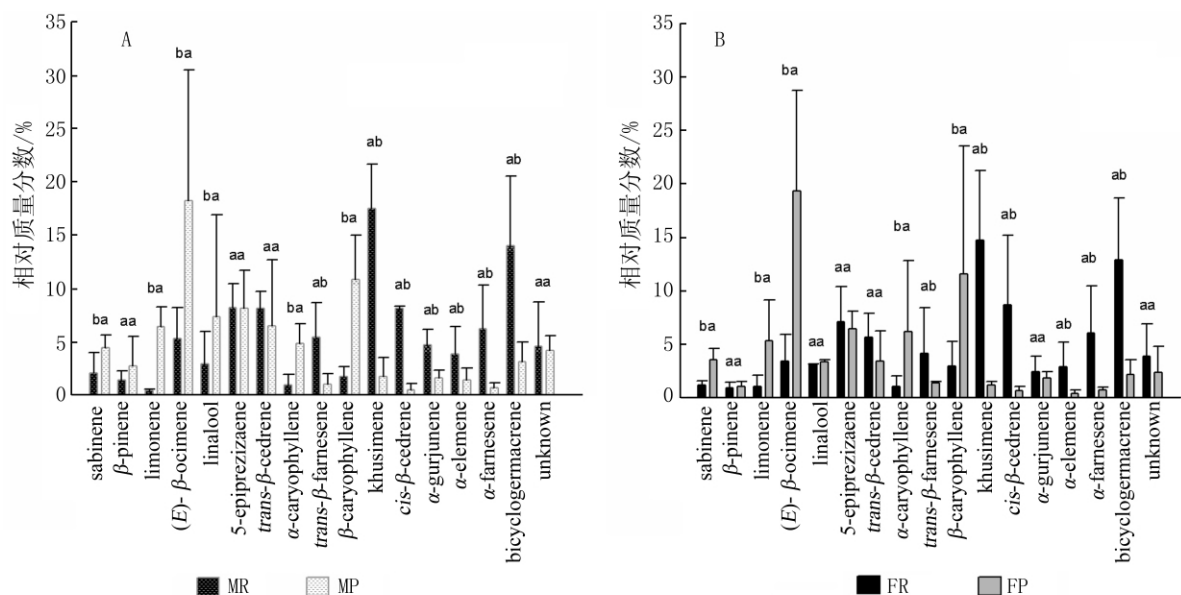
($w > 5\%$) 在主成分 1 和 2 的因子载荷, 从表中可以看出, 在主成分 1 上载荷因子的绝对值大于 0.5 的成分包括 β - pinene、limonene、 α - caryophyllene、khusimene、bicyclogermacrene 等 5 种化合物, 在主成分 2 上载荷因子的绝对值 > 0.5 仅有 *cis* - β - cedrene. 这些化合物都是传粉前后挥发物变动剧烈、含量较高的化合物(图 4), 可能暗示这些化合物具有生物活性, 对传粉榕小蜂具有引诱或驱避作用. 除了 (*E*) - β - ocimene 和 α - elemene 因子载荷较低外 (0.08 和 0.025), 其它化合物的载荷因子均在 0.1 ~ 0.3 之间, 说明挥发物中的大多数主要成分对于榕树隐头果“化学指纹图谱”的构建可能起到补充作用.

2.5 传粉前后植株间挥发物的空间分布 基于布赖柯蒂斯距离, 图 5 给出了不同植株间的空间分布特征. 多反应序列程序检验 (MRPP) 表明: 雌雄个体内, 木瓜榕隐头果传粉前后挥发物释放量上存在着明显的差异 ($A = 0.28$, $P < 0.001$), 但个体间, 挥发物的释放量没有差异 (雄果: $A = 0.08$, $P = 0.183$; 雌果: $A = 0.020$, $P = 0.471$). 传粉前后, 不同植株木瓜榕隐头果挥发物释放量上存在明显的空间差异 (雌花期: $A = 0.24$, $P < 0.001$; 传粉后 $A = 0.21$, $P < 0.001$).

3 讨论

花香化合物常作为昭示植物自身存在和吸引传粉昆虫的信息物质^[3]. 本研究以木瓜榕隐头果





A: 雄果; B: 雌果. 柱上不同字母示传粉前后主要化合物相对含量的差异显著

图 3 木瓜榕隐头果主要挥发性化学成分变化规律

Fig. 3 Relative amounts of the mainly volatiles emitted from the male and female figs of *F. auriculata* at receptive and post-pollination stage (A: male fig; B: female fig; Different letters in the column show significant difference at 0.05 level among compounds)

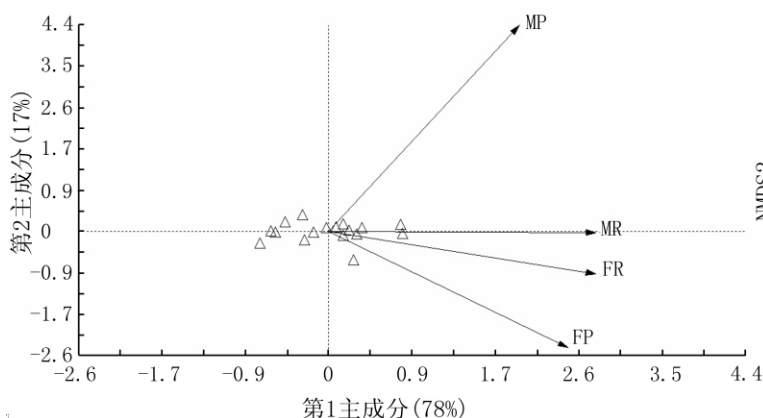


图 4 木瓜榕隐头果传粉前后挥发性化合物的主成分分析 (>5%)

Fig. 4 PCA analysis of the mainly volatiles produced by the male and female figs of *F. auriculata* at receptive and post-pollination stage

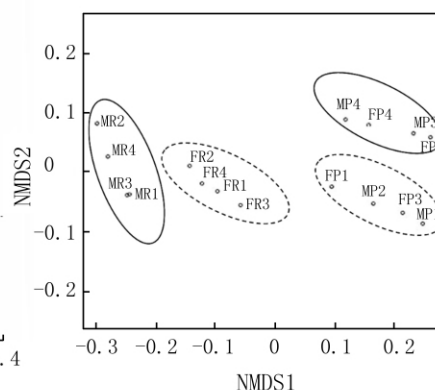


图 5 传粉前后木瓜榕隐头果挥发物的空间分布特征

Fig. 5 Non-metric multidimensional scale ordination based on the different odour sample of male and female figs of *F. auriculata* at the receptive and post-pollination stage

为材料分析其传粉前后隐头果中的花香成分,共鉴定出 53 种化合物,多数为单萜类和倍半萜类,主要成分是 (*E*)- β -ocimene、linalool、limonene、5-epiprezaene、khusimene、*cis*- β -cedrene、 α -farnesene、bicyclogermacrene,而 5-epiprezaene 和 khusimene 仅存在于木瓜榕隐头果中.依据 Grison-Pigé 等^[21]划分的榕树隐头果挥发物构成类型,

木瓜榕应归属为通用型,即依赖挥发物的配比吸引传粉榕小蜂.

雌花期时,木瓜榕隐头果释放挥发物量是所有阶段中最大的;传粉后,挥发性释放量明显减少.这有利于限制传粉榕小蜂过度利用雌性小花,也有助于减少种子取食者取食^[22].对于植物来说,传粉后挥发物总量的减少和特定化合物相对含量的变动

表 2 木瓜榕隐头果主要挥发性化合物(>5%) 主成份分析中的第 1 与第 2 主成分载荷因子

Tab. 2 Factor loading of mainly volatiles emitted from male and female fig of *F. auriculata* at the receptive and post – pollination stages based on PCA analysis

主要挥发性 化学成分($w > 5\%$)	第 1 主成分 载荷系数	第 2 主成分 载荷系数	主要挥发性 化学成分($w > 5\%$)	第 1 主成分 载荷系数	第 2 主成分 载荷系数
sabinene	-0.455	0.203	<i>trans</i> - β - farnesene	0.216	0.033
β - pinene	-0.598	0.019	β - caryophyllene	-0.248	-0.171
limonene	-0.715	-0.242	khusimene	0.771	-0.033
(<i>E</i>) - β - ocimene	0.080	0.099	<i>cis</i> - β - cedrene	0.260	-0.590
linalool	-0.271	0.351	α - gurjunene	-0.157	-0.011
5 - epiprezizaene	0.293	-0.056	α - elemene	-0.025	0.083
<i>trans</i> - β - cedrene	0.150	-0.077	α - farnesene	0.346	0.080
α - caryophyllene	-0.556	-0.012	unknown	0.156	0.171
bicyclogermacrene	0.753	0.152			

(增加或减少),都是对传粉者进行调控的直接信号.木瓜榕隐头果中的急速减少或消失的成分,如 khusimene、bicyclogermacrene、 α - farnesene、*cis* - α - bergamotene 等可能是其化学指纹图谱构成的关键.此外,木瓜榕隐头果挥发物释放量存在着明显的空间变异性,这可能与其所处的微环境,如温度、湿度、光照等有关^[23].而在另外一方面,木瓜榕雌果与雄果挥发物构成高度类似,即化合物的种类、构成、释放量间没有显著差异,通过这种方式实现自身种群的繁衍及其榕蜂共生体系的稳定共存.本研究丰富了榕树隐头果挥发性成分的报道,并为下一步开展挥发物成分的生物学及电生理测定提供基础.

参考文献:

- [1] VISSER J H. Host odor perception in phytophagous insects[J]. Annu Rev Entomol, 1986, 31(1): 121-144.
- [2] KNUDSEN J, ERIKSSON R, GERSHENZON J et al. Diversity and distribution of floral scent[J]. Bot Rev, 2006, 72(1): 1-120.
- [3] RAGUSO R A. Wake up and smell the roses: The ecology and evolution of floral scent[J]. Annu Rev Ecol Evol S, 2008, 39(1): 549-569.
- [4] HOSSAERT - MCKEY M, SOLER C, SCHATZ B et al. Floral scents: their roles in nursery pollination mutualisms[J]. Chemoecology, 2010, 20(2): 75-88.
- [5] DUFAÏ M, ANSTETT M - C. Conflicts between plants and pollinators that reproduce within inflorescences: evolutionary variations on a theme[J]. Oikos, 2003, 100(1): 3-14.
- [6] BERG C C. Classification and distribution of *Ficus* [J]. Experientia, 1989, 45(7): 605-611.
- [7] KJELLBERG F, JOUSSELIN E, HOSSAERT - MCKEY M et al. Biology, ecology and evolution of fig - pollinating wasps (Chalcidoidea, Agaonidae) [M]//RAMAN A, SCHAEFER C W, WITHERS T M. Biology, ecology and evolution of gall - inducing arthropods. Enfield: Science Publishers, Inc, 2005(1/2): 539-572.
- [8] GALIL J, EISIKOWITCH D. Studies on mutualistic symbiosis between syconia and sycophilous wasps in monoecious figs[J]. New Phytol, 1971, 70(4): 773-787.
- [9] CHEN C, SONG Q. Responses of the pollinating wasp *Ceratosolen solmsi marchali* to odor variation between two floral stages of *Ficus hispida* [J]. J Chem Ecol, 2008, 34(12): 1536-1544.
- [10] CHEN C, SONG Q, PROFFIT M, et al. Private channel: a single unusual compound assures specific pollinator attraction in *Ficus semicordata* [J]. Funct Ecol, 2009, 23(5): 941-950.
- [11] GIBERNAU M, HOSSAERT - MCKEY M, FREY J, et al. Are olfactory signals sufficient to attract fig pollinators? [J]. Ecoscience, 1998, 5(3): 306-311.
- [12] HOSSAERT - MCKEY M, GIBERNAU M, FREY J. Chemosensory attraction of fig wasps to substances produced by receptive figs[J]. Entomol Exp Appl, 1994, 70(2): 185-191.

- [13] SONG Q S ,YANG D R ,ZHANG G M ,et al. Volatiles from *Ficus hispida* and their attractiveness to fig wasps [J]. *J Chem Ecol* 2001 27(10) : 1 929-1 942.
- [14] WARE A B ,KAYE P T ,COMPTON S G ,et al. Fig volatiles: Their role in attracting pollinators and maintaining pollinator specificity [J]. *Plant Syst Evol* ,1993 , 186(3) : 147-156.
- [15] WARE A B ,COMPTON S G. Responses of fig wasps to host plant volatile cues [J]. *J Chem Ecol* ,1994 ,20 (3) : 785-802.
- [16] KJELLBERG F ,DOUMESCHE B ,BRONSTEIN J L. Longevity of a fig wasp (*Blastophaga psenes*) [J]. *Proc K Ned Akad Wet C* ,1988 91(2) : 117 - 122.
- [17] HARRISON R D. Fig wasp dispersal and the stability of a keystone plant resource in *Borneo* [J]. *Proc R Soc London Ser B* 2003 270(S) : 76-79.
- [18] PATEL A ,ANSTETT M - C ,HOSSAERT - MCKEY M ,et al. Pollinators entering female dioecious figs: why commit suicide? [J]. *J Evolution Biol* ,1995 ,8(3) : 301-313.
- [19] 张秀实 ,吴征镒. 中国植物志(23 卷) [M]. 北京: 科学出版社 2003.
- [20] OKSANEN J. Multivariate Analysis of Ecological Communities in R: vegan tutorial [M]. University of Oulu Computer Services Centre 2008.
- [21] GRISON - PIGÉ L ,HOSSAERT - MCKEY M ,GREEFF J M ,et al. Fig volatile compounds - a first comparative study [J]. *Phytochemistry* 2002 61(1) : 61-71.
- [22] KHADARI B ,GIBERNAU M ,ANSTETT M - C ,et al. When figs wait for pollinators: The length of fig receptivity [J]. *Am J Bot* ,1995 82(8) : 992-999.
- [23] GRISON L ,EDWARDS A A ,HOSSAERT - MCKEY M. Interspecies variation in floral fragrances emitted by tropical *Ficus* species [J]. *Phytochemistry* ,1999 ,52 (7) : 1 293-1 299.

Components and spatial variations in the emission of volatiles by figs of *Ficus auriculata* before and after pollination

LI Zong-bo^{1,2} , YANG Pei² , PENG Yan-qiong² , YANG Da-rong²

(1. Yunnan Key Laboratory of Forest Disaster Warning and Control ,College of Forestry ,
Southwest Forestry University ,Kunming 650224 ,China;

2. Xishuangbanna Tropical Botanical Garden ,Chinese Academy of Sciences ,Kunming 650223 ,China)

Abstract: Fig volatiles are important medium for chemical communication between figs and fig wasps. Volatile compounds were obtained by the dynamic headspace techniques from the figs of *F. auriculata* before and after pollination. The chemical components were identified by GC - MS method and the content of each component was determined by the area normalization and internal standard method ,receptively. Fifty - three different volatile organic compounds ,predominantly monoterpenes and sesquiterpenes ,were identified in the receptivity and the postpollination. (*E*) - β - ocimene ,linalool ,limonene , δ - epiprepizaene ,khusimene ,*cis* - β - cedrene , α - farnesene and bicyclogermacrene were considered as major candidate for biological activity. The quantity was significantly higher before the pollination than after the pollination. There was obviously mimicry in the volatile quantity category and constituent for the female figs and male figs. Furthermore ,spatial variation of volatile quantity was also found in female figs and male figs. The results provided new insights to understand the stability and chemical maintenance in the obligate fig - wasp mutualism.

Key words: fig - wasp mutualism; *F. auriculata*; fig; volatile compounds; dynamic headspace techniques; mimicry; spatial variation