

仿栗油脂体化学组成及其与种子传播者关系的初步研究

薛瑞娟¹, 陈 高¹, 黄圣卓², 孙卫邦^{1*}

(1 中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明 650201; 2 中国热带农业科学院生物技术研究所, 海南 海口 571101)

摘要: 采用气相色谱-质谱联用技术对仿栗油脂体的化学组成进行研究, 并用气相色谱面积归一化法对各成分进行了定量。从仿栗油脂体中得到 11 个化合物, 占成分总量的 97.6%, 其中主要成分为十六烷酸 (棕榈酸) 和十八碳烯酸 (油酸), 分别占 36.0% 和 35.0%。已有研究表明, 这两种脂肪酸为蚂蚁所喜好。通过观察及实验证明, 在昆明植物园, 获得油脂体回报的大头蚁 (*Pheidole* sp.) 是仿栗种子的潜在传播者, 而油脂体对其他取食者的趋避作用有待进一步的研究。

关键词: 仿栗; 油脂体; 气相色谱-质谱; 蚁播植物

中图分类号: Q 948.12, Q 946

文献标识码: A

文章编号: 2095-0845(2012)05-483-04

Preliminary Study of Chemical Composition of the Elaiosome of *Sloanea hemsleyana* (Ito) and Its Ecological Function to Attract Dispersal Agent

XUE Rui-Juan¹, CHEN Gao¹, HUANG Sheng-Zhuo², SUN Wei-Bang^{1*}

(1 Kunming Botanic Garden, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China; 2 Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China)

Abstract: The chemical composition of the elaiosome of *Sloanea hemsleyana* (Elaeocarpaceae) was analyzed by gas chromatography-mass spectrometry. The relative content of each compound was determined by area normalization. Eleven compounds were identified, accounting for 97.6% of the total oil composition. The major compounds were Palmitic acid (36.0%) and Oleic acid (35.0%), which were favour food for ant. And it was demonstrated that the seed of *S. hemsleyana* can be dispersed by ant *Pheidole* sp. in the habitat of Kunming Botanical Garden. As for the defensive function of elaiosome of *S. hemsleyana* need to be identified in field.

Key words: *Sloanea hemsleyana*; Elaiosome; GC-MS; Myrmecochorous plant

仿栗 (*Sloanea hemsleyana* (Ito) Rehd. et Wils.) 为杜英科 (Elaeocarpaceae), 猴欢喜属植物, 常绿乔木, 生长在海拔 1 100 ~ 1 400 m 的山谷林中。国内主要分布于湖南、湖北、四川、云南等地; 国外越南有分布。仿栗果实为蒴果, 厚革质或木质, 外部具针刺, 有红色假种皮, 因其种子含油率高而广受关注 (李昌珠等, 2008)。

许多植物和传播它们种子的蚂蚁之间存在着一种互惠现象, 这类植物通常被称为蚁播植物,

它们种子一般附着有称为油脂体的结构 (Handel 和 Beattie, 1990)。此油脂体是靠近或附着于种子的一种脂肪体。油脂体引诱蚂蚁将它和种子一起运回蚁穴, 在穴中蚁群吃掉油脂体而遗弃未受伤害的种子。这种相互作用使蚂蚁采集的种子不受伤害, 对搬运蚂蚁和产生油脂体的植物均有利, 使双方在进化过程中, 适合度都能得到提高, 形成稳定的互利共生关系 (鲁长虎, 2002; Fischer 等, 2005)。而在分类学上不同科的植物

* 通讯作者: Author for correspondence; E-mail: wbsun@mail.kib.ac.cn

收稿日期: 2012-03-22, 2012-05-08 接受发表

作者简介: 薛瑞娟 (1983-) 女, 研究实习生, 主要从事细胞遗传学和植物保育与驯化生物学研究。E-mail: xueruijuan@mail.kib.ac.cn

在其进化期间,油脂体作为蚂蚁的引诱物已反复出现,油脂体的化学组成也影响着蚂蚁的搬运(Raphael等,2006)。仿栗的红色假种皮是否具有类似的功能是我们开展该研究的原因之一。

我们偶然发现,昆明植物园引种的仿栗果实散落,大部分果实的尾部一端被取食,而红色假种皮仍保留,我们推测假种皮中有某种成分对其取食者有趋避作用,从而对其种子起保护作用。但假如油脂体对啮齿类动物有趋避作用,它是否也对蚂蚁起趋避作用呢?基于此,我们对仿栗油脂体的组成开展研究,以便弄清油脂体与传播者的潜在关系。

1 材料和方法

仿栗的果实采自中国科学院昆明植物所植物园,据植物园引种名录记载为猴欢喜属仿栗。种子从树上落下后,自然干燥3 d。选取完整的种子6颗,每2颗一组(由于仿栗种子较大,2粒种子已够完成称量及含水量测试分析),剥离假种皮,分别称种子和假种皮的重量。将种子和假种皮置于103℃烘箱中烘17 h,分别称重,得到种子和假种皮的干重。种子和假种皮的含水量=(湿重-干重)/湿重 $\times$ 100%。

烘干后的假种皮放于二氯甲烷中,常温浸泡24 h,棉花过滤,滤液70℃烘干后得到假种皮中油脂类物质的质量。而过滤后留在棉花上的物质则为假种皮内所含干物质重量,如蛋白质、糖类及无机物等。假种皮的含油率为:(假种皮干重-干物质重量)/假种皮干重 $\times$ 100%。为分析油脂体的组成,取油脂类物质45 mg进行甲酯化,将甲酯化和未甲酯化的物质进行薄层层析分析,查看是否充分转化。对转化后的油脂甲酯化成分进行GC-MS分析确定化合物的组成和含量,内标为正壬烷。

气相色谱条件:仪器为美国Agilent Technologies公司HP5890,HP-5MS石英毛细管柱(30 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 0.25 μ m);柱温起始为50℃,保持5 min,程序升温5℃/min,至280℃;柱流量为1.5 mL/min;进样温度250℃;氢火焰检测温度250℃;进样量0.3 μ L;分流比50:1;载气为高纯氮气。

气相色谱-质谱条件:仪器为美国Agilent Technologies公司HP6890GC/5973MS气相色谱-质谱联用仪。GC条件:HP-5MS石英毛细管柱(30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μ m);柱温起始为50℃,保持5 min,程序升温5℃/min,至280℃;柱流量为1.0 mL/min;进样温度250℃;柱前压100 kPa;进样量1.0 μ L;分流比10:1;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℃;离子源温度230℃;四极杆温度150℃;质

量范围35~500;采用wiley7n.1谱库检索定性确认仿栗假种皮中化学成分,按照峰面积归一化法计算出各化学成分的峰面积相对百分含量。两种主要成分棕榈酸和油酸的准确性结构通过与购买的标准品甲酯化后进行对比确认。

中午气温升高,蚂蚁出来活动的频率较高,此时,用仿栗完整种子、去假种皮的种子、假种皮及假种皮油脂类提取物四种诱导物在昆明植物园中置于蚂蚁出没的附近,观察四种诱导物被蚂蚁的搬运情况,并拍照记录,检验是否仿栗假种皮提取物对蚂蚁有吸引作用。上述实验共进行5次重复,每次处理用完整种子、去除假种皮的种子、假种皮及假种皮提取物各进行6次诱导。

2 结果与分析

仿栗三组种子的湿重分别为352.4 mg、410.5 mg、397.7 mg,平均值386.9 mg;假种皮的湿重分别为105.1 mg、144.5 mg、127.9 mg,平均值125.8 mg;油脂体的比例分别为29.8%、35.2%、32.2%,平均值为32.5%。种子总湿重为1 160.6 mg,总干重1 079.6 mg,种子含水量平均为7.0%。假种皮总湿重1 533.5 mg,总干重1 442.4 mg,含水量平均为6.0%。假种皮中浸泡处理后剩余的非脂类干物质为792.2 mg。假种皮中油脂类物质为1 442.4-792.2=650.2 mg,仿栗假种皮的含油率为650.2/1 442.4=45.1%。

对仿栗油脂体的油脂的脂肪酸甲酯化后的成分进行GC-MS分析,鉴定出11个脂类化合物,成分及组成见表1,鉴定率占到总含量的97.6%。主要成分为十六烷酸和十八碳烯酸,含量分别为36.0%和35.0%。

仿栗果实和种子以及诱导蚂蚁的照片如图1。用仿栗种子、假种皮和含油量相当的棉花制作的假种子做蚂蚁诱导的30次实验表明,三种与油脂体保留相关的处理材料均被蚂蚁取食并搬回蚁巢。但去除假种皮的种子由于没有吸引蚂蚁的油脂体,不被蚂蚁搬运。如图1所示,假种皮和含油的棉花因质量较轻,首先被蚂蚁搬走,而含假种皮的种子,则被众多蚂蚁抬回蚁巢。有趣的是,在图1d中出现的蚂蚁起初是叼着一个其他植物的种皮回蚁巢,当它发现仿栗的假种皮后,由于不能同时拖着这两个食物回蚁巢,它在尝试2次后,直接将较小的种皮放到仿栗假种皮内,一起搬回蚁穴。本细节不仅说明了仿栗油脂体对蚂蚁具有强烈的吸引作用,也体现了蚂蚁的智慧。

表 1 仿栗油脂体的化学组成
Table 1 The chemical composition of the elaiosome of *S. hemsleyana*

编号 No.	保留时间 Retention time/min	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	相对含量 Relative content/%
1	8.86	壬烷 Nonane	C ₉ H ₂₀	11.86
2	30.37	壬二酸 Dimethyl azelate	C ₁₁ H ₂₀ O ₄	0.23
3	34.40	十四烷酸 Tetradecanoic acid	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	0.38
4	38.17	9-十六碳烯酸 9-Palmitoleic acid	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	2.70
5	38.79	十六烷酸 Palmitic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	35.98
6	40.53	十七烷酸 Heptadecanoic acid	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	0.14
7	41.90	十八碳二烯酸 Octadecadienoic acid	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	7.65
8	42.17	十八碳烯酸 Oleic acid	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	34.94
9	42.47	十八烷酸 Stearic acid	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	3.47
10	45.45	二十碳烯酸 Eicosenoic acid	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	0.14
11	45.88	二十烷酸 Arachidic acid	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	0.14
Total				97.63



图 1 仿栗果实和种子以及油脂体对蚂蚁的诱导
a. 去除种子后的果实; b. 带红色假种皮的种子; c, d, e, 种子、假种皮、含油脂类物质的棉花对蚂蚁的诱导
标尺: a=25 mm; b=12 mm; c, d, e=4 mm
Fig.1 Fruit and seeds of *S. hemsleyana* and the attraction effect of elaiosome to ants
a: Fruit without seeds; b: Seeds with red aril; c, d, e: attractive effect of different elaiosome parts to ants.
Scale bar: a=25 mm; b=12 mm; c, d, e=4 mm

3 讨论

仿栗假种皮中的油脂主要含十六烷酸（棕榈酸）和十八碳烯酸（油酸），分别占 36.0% 和 35.0%，此外也含有其他油脂类成分。仿栗这些

脂肪酸已被前人证明是典型的油脂体组成成分，尤其是油脂体中含有大量的油酸，且这两种脂肪酸为蚂蚁所喜好，会促进蚂蚁的搬运行为（Raphael 等，2006）。通常的蚁播类植物给蚂蚁提供类

似的回报吸引蚂蚁帮助它们传播种子,我们用仿栗种子、假种皮和含油提取物制作的假种子均能被蚂蚁搬运回巢,这说明仿栗可以通过蚂蚁有效地传播种子,是一种和蚂蚁互惠共生的蚁播植物。

仿栗果实成熟后果夹自然裂开,种子仅能落到植株的附近,成熟种子附着的油脂体能吸引蚂蚁搬运。而种子外壳光滑且较硬,蚂蚁则无法取食,从而保留了完整的种子。搬运仿栗油脂体的蚂蚁为大头蚁(*Pheidole* sp.)。该蚁体型较小,习惯于集体行动,将种子合力搬运回蚁巢中后消耗掉油脂体。这种搬运行为促进了仿栗种子的分散,降低了种子的聚集程度,使种子逃离了容易遭啮齿类动物捕食的地点(Culver 和 Beattie, 1978; Gibson, 1993; Auld 和 Denham, 1999; Christian 和 Stanton, 2004);也有报道蚂蚁将种子转移至蚁巢中,而蚁巢中营养、湿度、光照等与周围环境有显著差异,是一个更适合种子萌发、出苗和建群的环境(Culver 和 Beattie, 1983; Hanzawa 等, 1988; Passos 和 Oliveira, 2002);蚂蚁对种子散布使得同一母株产生的种子相互分开,降低了竞争,进而提高种子和幼苗的成活率(Levin 和 Kerster, 1968; Price 和 Waser, 1979)。

种子油脂体是植物长期适应环境的进化结果。植物在生长过程中,要耗费一定的能量和营养才能生成这些能吸引蚂蚁的物质,使其种子得以传播。本研究结果显示仿栗油脂体占种子的比例平均为 32.5%,表明油脂体所占种子总量的比例较高,因而为了种子的传播付出的代价较大。通常种子油脂体富含蚂蚁生长发育所必需的氨基酸和金属元素,由于样品有限,蚂蚁生长所需的营养成分,如蛋白质、糖类、氨基酸及其他无机元素等有待进一步研究。

我们观察到仿栗假种皮及其提取物均为橘红色,这样的颜色在自然生境下是否有提示种子传播者或警戒种子捕食者的功能还有待进一步的研究。从图 1b 可以发现我们所收集的仿栗种子红色的假种皮部分均被取食者忽视,而种子无红色假种皮的另一端被咬破取食,是否红色假种皮中含强烈的防御物质?仿栗种子如何权衡传播者的吸引和取食者的驱赶?此外,仿栗被俗称为猴欢

喜,是否它的种子容易被灵长类取食,进而造成通过猴粪便进行种子传播,这些都是下一步值得研究的科学问题。

(参 考 文 献)

- Auld TD, Denham AJ, 1999. The role of ants and mammals in dispersal and post-dispersal seed predation of the shrubs *Grevillea* (Proteaceae) [J]. *Plant Ecology*, 144 (2): 201—213
- Christian CE, Stanton ML, 2004. Cryptic consequences of a dispersal mutualism: seed burial, elaiosome removal, and seed-bank dynamics [J]. *Ecology*, 85 (4): 1101—1110
- Culver DC, Beattie AJ, 1978. Myrmecochory in *Viola*: dynamics of seed-ant interactions in some west Virginia species [J]. *Journal of Ecology*, 66 (1): 53—72
- Culver DC, Beattie AJ, 1983. Effects of ant mounds on soil chemistry and vegetation patterns in a Colorado montane meadow [J]. *Ecology*, 64 (3): 485—492
- Fischer RC, Ölzant SM, Wanek W *et al.*, 2005. The fate of *Corydalis cava* elaiosomes within an ant colony of *Myrmica rubra*: elaiosomes are preferentially fed to larvae [J]. *Insectes Sociaux*, 52 (1): 55—62
- Gibson W, 1993. Selective advantages to hemi-parasitic annuals, genus *Melampyrum* of a seed-dispersal mutualism involving ants. II. Seed-predator avoidance [J]. *Oikos*, 67 (2): 345—350
- Handel SN, Beattie AJ, 1990. Seed dispersal by ants [J]. *Scientific American*, 263 (2): 76—83A
- Hanzawa FM, Beattie AJ, Culver DC, 1988. Directed dispersal: demographic analysis of an ant-seed mutualism [J]. *The American Naturalist*, 131 (1): 1—3
- Levin DA, Kerster HW, 1968. Local gene dispersal in *Phlox* [J]. *Evolution*, 22 (1): 130—139
- Li CZ (李昌珠), Zhang LB (张良波), Xiang ZH (向祖恒) *et al.*, 2008. Biological characteristics of *Sloanea hemsleyana* and analysis on oil contents of its fruit [J]. *Hunan Forestry Science & Technology* (湖南林业科技), 35 (2): 5—7
- Lu CH (鲁长虎), 2002. Effect of ants on seed dispersal [J]. *Chinese Journal of Ecology* (生态学报), 21 (2): 64—66
- Passos L, Oliveira PS, 2002. Ants affect the distribution and performance of seedlings of *Clusia criuva*, a primarily bird-dispersed rain forest tree [J]. *Journal of Ecology*, 90 (3): 517—528
- Price MV, Waser NW, 1979. Pollen dispersal and optimal outcrossing in *Delphinium nelsoni* [J]. *Nature*, 77 (5694): 294—297
- Raphael B, Josep CT, Xim C, 2006. Geographic variations in *Helleborus foetidus* elaiosome lipid composition: implications for dispersal by ants [J]. *Chemoecology*, 16 (1): 1—7