

东方蜜蜂和西方蜜蜂对红阳猕猴桃雌花挥发性气味响应的差异*

张爱馨** 吴杰*** 黄家兴***

(中国农业科学院蜜蜂研究所, 农业农村部授粉昆虫生物学重点实验室, 北京 100093)

摘要 【目的】植物的挥发性气味对传粉者的选择具有重要的影响, 为探究红阳猕猴桃 *Actinidia chinensis* ‘Hongyang’雌花的挥发性气味对东方蜜蜂 *Apis cerana* 和西方蜜蜂 *Apis mellifera* 行为反应的差异。

【方法】利用顶空固相微萃取与气质联用技术 (Headspace solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry, HS-SPME-GC-MS) 鉴定红阳猕猴桃雌花挥发性物质成分及相对含量, 并通过气相色谱-触角电位联用测量系统 (GC-EAD) 和 Y 型嗅觉仪测定东方蜜蜂和西方蜜蜂对红阳猕猴桃雌花气味的气味触角电位和行为反应。**【结果】**GC-MS 结果表明, 红阳猕猴桃雌花挥发性气味含有 33 种成分, 包括醇类、酯类、酮类、醛类、烃类、萜烯类、胺类和盐类。GC-EAD 结果表明, 红阳猕猴桃雌花挥发性物质中 7 种化合物芳樟醇、壬醛、苯乙醇、2,6,6-三甲基-2-环己烯-1,4-二酮、苯甲酸乙酯、水杨酸甲酯和顺式-3-己烯醇 2-甲基丁酸酯能够引起东方蜜蜂和西方蜜蜂的触角反应, 而 3 种化合物乙酸叶醇酯、水杨酸乙酯和 β -紫罗酮只引起东方蜜蜂的触角反应。嗅觉行为反应结果表明, 红阳猕猴桃雌花的气味对东方蜜蜂具有引诱作用 ($P > 0.05$), 引诱率为 60%; 对西方蜜蜂具有驱避作用 ($P < 0.01$), 驱避率是 67.5%。**【结论】**东方蜜蜂和西方蜜蜂对红阳猕猴桃雌花挥发性气味的响应存在显著差异, 东方蜜蜂对红阳猕猴桃雌花的气味无明显趋性, 而西方蜜蜂对红阳猕猴桃雌花的气味具有明显驱避。因此, 为红阳猕猴桃授粉时, 东方蜜蜂相对于西方蜜蜂更理想。

关键词 红阳猕猴桃; 东方蜜蜂; 西方蜜蜂; 顶空固相微萃取与气质联用技术; 气相色谱-触角电位测量系统; Y 型嗅觉仪

Response of the honeybees *Apis cerana* and *Apis mellifera* to Hongyang kiwifruit female flower volatiles

ZHANG Ai-Xin** WU Jie*** HUANG Jia-Xing***

(Institute of Apicultural Research, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory for Insect-Pollinator Biology of the Ministry of Agriculture, Beijing 100093, China)

Abstract 【Objectives】To investigate whether volatiles of female *Actinidia chinensis* ‘Hongyang’ flowers affect honeybee foraging behavior. **【Methods】**Headspace solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS) was used to identify the components and relative content of volatile compounds of female Hongyang kiwifruit flowers. The responses of *Apis cerana* and *Apis mellifera* to these volatile compounds were determined using a gas chromatography- antennae potential measurement system (GC-EAD) and Y-type olfactometer. **【Results】**GC-MS identified 33 components in the volatiles of female Hongyang kiwifruit flowers, including alcohols, esters, ketones, hydrocarbons, terpenes, aldehydes, amines and salts. GC-EAD results show that linalool, nonanal, phenylethyl alcohol, 2,6,6-trimethyl-2-cyclohexene-1, 4-dione, ethyl benzoate, methyl salicylate and cis-3-hexenyl 2-methylbutanoate induced electroantennogram responses in both *A. cerana* and *A. mellifera*. However, cis-3-hexenyl acetate, ethyl salicylate and β -Ionone only induced a response in *A. cerana*. The Y-tube olfactometer tests showed that the volatiles of female Hongyang

*资助项目 Supported projects: 财政部和农业农村部国家现代农业产业技术体系 (CARS-44)

**第一作者 First author, E-mail: grace.1@foxmail.com

***共同通讯作者 Co-corresponding authors, E-mail: apis@vip.sina.com; huangjiaxing@caas.cn

收稿日期 Received: 2021-10-13; 接受日期 Accepted: 2021-12-07

kiwifruit flowers were not significantly attractive to *A. cerana* (attraction rate = 60%; $P > 0.05$) and that the same volatiles were repellent to *A. mellifera* (avoidance rate = 67.5%; $P < 0.01$). **[Conclusion]** There is a significant difference in the response of *A. cerana* and *A. mellifera* to volatiles of female Hongyang kiwifruit flowers. *A. cerana* doesn't have an obvious preference for these volatiles which are actually repellent to *Apis mellifera*. Therefore, *A. cerana* should be a superior pollinator of Hongyang kiwifruit than *Apis mellifera*.

Key words Hongyang kiwifruit; *Apis cerana*; *Apis mellifera*; HS-SPME-GC-MS; GC-EAD; Y-tube olfactometer

猕猴桃被誉为“水果之王”，因其富含大量的维生素 C，且口感美味，广受人们的喜爱。猕猴桃属于雌雄异株，雌性花属于完全花，同时具有花粉和柱头，但是其花粉败育，不能用于自花授粉 (Tacconi *et al.*, 2016; Richardson *et al.*, 2018)。Palmer-Jones 和 Clinch (1974) 首次报道了蜜蜂对猕猴桃的授粉作用，认为蜜蜂实际上提供中华猕猴桃的全部授粉，虽然有蜂授粉时座果的数量无显著差别，但果实显著重于人工授粉。此外，多项研究表明蜜蜂是猕猴桃的主要传粉媒介 (Craig, 1989; 朱友民等, 2003)，而且猕猴桃花的颜色、大小和气味已被证实对蜜蜂采集的决定起重要作用 (Tatsuka *et al.*, 1990; Matich *et al.*, 2003)。

猕猴桃的授粉高度依赖蜜蜂，而因猕猴桃不产花蜜，蜜蜂在采集猕猴桃花时获得的报酬主要来源于花粉。猕猴桃雌性花的花粉属于败育，雌性花对蜜蜂的吸引作用更多依赖于花朵的挥发性气味 (Tatsuka *et al.*, 1990; Nieuwenhuizen *et al.*, 2009)。Twidle 等 (2015) 通过气相色谱-触角电位、气相色谱-质谱联用和微量化学衍生的方法得到海沃德猕猴桃 *Actinidia deliciosa* ‘Hayward’ 雌花中的 6 种化合物，雄花中有 5 种化合物引起西方蜜蜂 *Apis mellifera* 触角反应；而且雌花和雄花中能够引起西方蜜蜂触角反应的化合物并不完全相同。Twidle 等 (2017) 采用动态顶空法收集 ‘Hayward’、‘Chieftain’、‘M56’、‘Zes007’ (Green11)、‘M36’ 和 ‘M43’ 6 个猕猴桃品种的气味，共检测到 45 种化合物，其中烃类和萜烯类占 98% 以上，表明不同品种的猕猴桃气味含有的挥发性化合物具有显著的差异。此外，Twidle 等 (2018) 在 ‘M33’ 雄花、‘M91’ 雄花和 Gold3 雌花中检测到 48 种化合物，在电生理反应中发现 Gold3 雌花有 11 种挥发性物质引起西

方蜜蜂的触角反应，但仅有 5 种挥发性物质引起地熊蜂 *Bombus terrestris* 的触角反应。因此，不同品种的蜜蜂对同一种猕猴桃花的挥发性化合物的响应有所不同。

红阳猕猴桃 *Actinidia chinensis* ‘Hongyang’ 属于中华猕猴桃，四川省是红阳猕猴桃发源地和最大的种植区 (黄星, 2020)。被誉为世界珍稀特有品种的红阳猕猴桃，其育种水平及品种价值被公认为处于世界领先水平，其离园价比海沃德等国内外栽培的猕猴桃主流品种高出 2-5 倍，居国内外猕猴桃销售价之首 (艾应伟, 2009)。杨龙龙和吴燕如 (1990) 在访猕猴桃花的 16 种昆虫中发现，东方蜜蜂 *Apis cerana* 和西方蜜蜂所占比例最大，是理想的授粉者。韩胜明等 (2020) 发现蜜蜂授粉可以提高猕猴桃的果实产量和品质，但我国红阳猕猴桃种植者对于蜜蜂授粉认可程度和使用率都处于较低水平。目前，有关蜜蜂不喜欢采集猕猴桃的原因尚不明确。

本研究采用气相色谱-触角电位联用测量系统和 Y 型嗅觉仪分析东方蜜蜂和西方蜜蜂对红阳猕猴桃雌花挥发性物质的响应，并采用顶空固相微萃取与气质联用技术对红阳猕猴桃花的挥发性物质进行鉴定。研究结果将有助于指导猕猴桃蜜蜂授粉应用，促进猕猴桃种植和蜜蜂授粉产业的发展。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试猕猴桃种植于四川省都江堰市“香韵”猕猴桃种植农民专业合作社，植株生长良好，管理水平一致，树龄为 3-5 年生，雌雄株比例为 20:1。与雄花相比，即使猕猴桃雌花中的花粉粒是空的，蜜蜂还是偏爱采集猕猴桃雌花

(Goodwin *et al.*, 2013)。因此, 实验材料选用红阳猕猴桃雌花, 于盛花期采集。

蜜蜂采集: 晴朗天气时, 在蜂巢门口使用捕虫网捕捉东方蜜蜂和西方蜜蜂的采集工蜂, 带回室内, 选取健康无病, 于自然条件下现代活框饲养。供试蜂群在试验开始前未接触试验红阳猕猴桃雌花。

1.2 猕猴桃雌花挥发物的采集、分析与鉴定

采用顶空固相微萃取法提取红阳猕猴桃雌花挥发性气味: 取 20 朵新摘的红阳猕猴桃雌花放入样品瓶中, 用 PE 材质塑料膜密封, 将老化 5 min 的萃取头 (65 μm PDMS/DVB SPME 萃取头, Supelo 西格玛奥德里奇公司) 暴露于样品瓶未接触到红阳猕猴桃雌花的顶空气体中, 萃取 1 h 后, 用手柄将纤维头推回针头内拔出, 然后插入 GC-MS 进样器中, 250 $^{\circ}\text{C}$ 解析 1.5 min, 同时启动仪器收集数据。以空的样品瓶作为对照。上述挥发物检测重复 3 次。测定方法和步骤参照施梦南等 (2013) 的方法, 略有改动。

GC 条件: 采用 Agilent 7890N-5977B 气相色谱-质谱联用 (Gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 对红阳猕猴桃雌花进行组分鉴定。HP-5MS 石英毛细管柱 (30 m $\times$ 250 μm $\times$ 0.25 μm), 柱温 60-325 $^{\circ}\text{C}$ 。进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$, 载气 He, 流速 1.0 mL/min。采用程序升温方式: 50 $^{\circ}\text{C}$ 保持 4 min, 然后以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 280 $^{\circ}\text{C}$, 在此温度下保持 20 min 不分流进样。

MS 条件: MS 离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$, 四级杆温度 150 $^{\circ}\text{C}$, 电离方式: 电子轰击源 (EI), 电子能量 70 eV, 扫描质量范围: 28.5-450 m/z。

采用 GC-MS 分析得到挥发性成分的总离子色谱图, 采用计算机检索, 参考标准谱图 (NIST 17), 并结合文献资料, 对样品挥发性成分进行定性, 并用峰面积归一化法分析红阳猕猴桃雌花气味组分相对含量。

1.3 蜜蜂对猕猴桃雌花挥发性物质的 GC-EAD 反应测定

东方蜜蜂和西方蜜蜂对红阳猕猴桃雌花气

味挥发性物质的 GC-EAD 实验的操作步骤参照 Twidle 等 (2018) 的方法。将活体的东方蜜蜂和西方蜜蜂的采集工蜂的触角自基部剪下, 再剪下 2 mm 的触角端部, 将触角的两端连接在电极上进行触角电位测定, 测试的样品为 SPME 萃取 1 h 的红阳猕猴桃雌花气味。东方蜜蜂和西方蜜蜂的触角对样品的 GC-EAD 反应测试各重复 6 根触角。气相色谱中 GC 条件和 GC-MS 相同, 升温程序: 50 $^{\circ}\text{C}$ 恒温 2 min, 然后以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度升温到 280 $^{\circ}\text{C}$ 恒温 5 min。根据 GC-EAD 色谱图上的化合物峰形和保留时间进行比对, 从而鉴定出东方蜜蜂和西方蜜蜂触角的电生理反应物质。

1.4 蜜蜂对猕猴桃雌花挥发物的嗅觉行为反应测定

Y 型嗅觉仪生物测定装置参照 Bertschy 等 (1997)。将 Y 型管置于暗室中, Y 型管的主臂到选择臂 3 cm 处罩有不透光纸盒, 选择臂处的纸盒剪有两个空洞, 使蜜蜂有两条透光的路径。红光作为光源不能排除嗅觉和视觉协同作用影响蜜蜂对猕猴桃气味的感知 (王瑞笛和王少山, 2018)。因此, 为排除周围外部环境对蜜蜂视觉的影响, 并模拟野外蜜蜂感知猕猴桃花朵时的环境, 本研究选择白炽灯作为唯一光源。用真空泵引导空气流动, 依次通过流量计、活性炭、味源瓶、Y 型管。室内温度为 (26 $\pm$ 2) $^{\circ}\text{C}$, 空气流速维持在 500 mL/min。将新采摘、去茎的红阳猕猴桃雌花放入味源瓶中, 作为气味源, 以空气作为对照。每 10 只蜜蜂为一组, 每组重复 8 次。每次只放 1 只蜜蜂, 每只蜜蜂观察 5 min, 将进入选择臂 3 cm 以上并停留超过 30 s 的记为有选择反应, 否则记为无反应。每测试一组就调换 Y 型管两侧的位置, 以消除周围环境光照、管臂位置对蜜蜂选择行为产生的影响, 每 2 h 更换一批新红阳猕猴桃雌花气味源。

1.5 数据处理与分析

试验数据采用统计软件 R (Version 3.6.3) 进行分析, 用二项分布检验比较东方蜜蜂和西

方蜜蜂对红阳猕猴桃雌花挥发性物质行为反应的差异显著性。通过以下公式来计算引诱率、驱避率(Hern and Dorn, 2004; Tooker *et al.*, 2005):

引诱率=选择气味臂的蜜蜂数/测试的蜜蜂总数×100%,

驱避率=选择对照臂的蜜蜂数/测试的蜜蜂总数×100%。

2 结果与分析

2.1 猕猴桃雌花挥发性物质的成分及其相对含量

红阳猕猴桃雌花的挥发性物质中主要含有 33 种化合物(表 1), 其中含有醇类 10 种

(10.59%)、酯类 6 种(36.66%)、酮类 6 种(10.91%)、烃类 3 种(29.69%)、萜烯类 3 种(2.67%)、醛类 2 种(0.86%)、胺类 2 种(8.28%)和盐类 1 种(0.33%)。红阳猕猴桃花挥发性气味的主要成分是烃类和酯类, 碳氢化合物的相对含量占 32.36%, 4-羟基丁酸内酯的相对含量最高, 占 33.79%, 癸醇含量最低, 仅占 0.02%。

2.2 蜜蜂对猕猴桃雌花挥发性物质的 GC-EAD 反应

红阳猕猴桃雌花的挥发物中有 10 种化合物引起了东方蜜蜂和西方蜜蜂的触角反应(图 1), 其中芳樟醇、壬醛、苯乙醇、2,6,6-三甲基-2-环己烯-1,4-二酮、苯甲酸乙酯、水杨酸甲酯、顺式-3-

表 1 红阳猕猴桃雌花挥发性物质的组成及相对含量

Table 1 Composition and relative contents of volatile released from female flowers of Hongyang kiwifruit

化合物 Compounds	分子式 Molecular formula	CAS 号 CAS number	相对含量 (%) Relative contents (%)
醇类 Alcohols			
苯乙醇 Phenylethyl alcohol	C ₈ H ₁₀ O	60-12-8	4.46±1.60
乙醇 Ethanol	C ₂ H ₆ O	64-17-5	2.48±0.81
3,7,11-三甲基-6,10-十二碳二烯-1-醇 6,10-Dodecadien-1-ol, 3,7,11-trimethyl-	C ₁₅ H ₂₈ O	51411-24-6	1.22±0.42
法呢醇 2,6,10-Dodecatrien-1-ol, 3,7,11-trimethyl-	C ₁₅ H ₂₆ O	4602-84-0	0.83±0.32
[2-甲基-2-(4-甲基-3-戊烯基)环丙]-甲醇 Cyclopropanemethanol, 2-methyl-2-(4-methyl-3-pentenyl)-	C ₁₁ H ₂₀ O	98678-70-7	0.53±0.61
2-己醇 2-Hexanol	C ₆ H ₁₄ O	626-93-7	0.22±0.04
(E)-3-己烯-1-醇 3-Hexen-1-ol, (E)-	C ₆ H ₁₂ O	928-97-2	0.35±0.39
3-己醇 3-Hexanol	C ₆ H ₁₄ O	623-37-0	0.24±0.02
正己醇 1-Hexanol	C ₆ H ₁₄ O	111-27-3	0.24±0.11
癸醇 1-Decanol	C ₁₀ H ₂₂ O	112-30-1	0.02±0.04
酯类 Esters			
4-羟基丁酸内酯 Butyrolactone	C ₄ H ₆ O ₂	96-48-0	33.79±17.10
苯甲酸乙酯 Ethyl benzoate	C ₉ H ₁₀ O ₂	93-89-0	0.85±0.42
水杨酸乙酯 Ethyl salicylate	C ₉ H ₁₀ O ₃	118-61-6	0.43±0.26
水杨酸甲酯 Methyl salicylate	C ₈ H ₈ O ₃	119-36-8	1.21±1.02
苯甲酸苯乙酯 Benzoic acid, 2-phenylethyl ester	C ₁₅ H ₁₄ O ₂	94-47-3	0.31±0.17
(E)-3-己烯-1-醇乙酸酯 3-Hexen-1-ol, acetate, (E)-	C ₈ H ₁₄ O ₂	3681-82-1	0.07±0.07
酮类 Ketones			
二氢-β-紫罗兰酮 2-Butanone, 4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-	C ₁₃ H ₂₂ O	17283-81-7	6.13±2.27
β-紫罗兰酮 3-Buten-2-one, 4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-	C ₁₃ H ₂₀ O	14901-07-6	0.77±1.33
3-己酮 3-Hexanone	C ₆ H ₁₂ O	589-38-8	0.36±0.33

续表 1 (Table 1 continued)

化合物 Compounds	分子式 Meolecular formula	CAS 号 CAS number	相对含量 (%) Relative contents (%)
2-己酮 2-Hexanone	C ₆ H ₁₂ O	591-78-6	0.22±0.20
β-紫罗酮 β-Ionone	C ₁₃ H ₂₀ O	79-77-6	2.68±3.11
橙化基丙酮 5,9-Undecadien-2-one, 6,10-dimethyl-, (Z)-	C ₁₃ H ₂₂ O	3879-26-3	0.75±0.48
烃类 Hydrocarbons			
2-甲基-1-戊烯 1-Pentene, 2-methyl-	C ₆ H ₁₂	763-29-1	17.26±14.96
4-甲基-1-己烯 1-Hexene, 4-methyl-	C ₇ H ₁₄	3769-23-1	12.28±4.69
苯乙烯 Styrene	C ₈ H ₈	100-42-5	0.15±0.04
萜烯类 Terpenes			
α-法尼烯 α-Farnesene	C ₁₅ H ₂₄	502-61-4	2.21±0.88
(E)-β-金合欢烯 (E)-β-Farnesene	C ₁₅ H ₂₄	18794-84-8	0.33±0.16
2-(三氟甲氧基)苯硼酸 α-Cubebene	C ₁₅ H ₂₄	17699-14-8	0.13±0.06
醛类 Aldehydes			
合金欢醛 2,6,10-Dodecatrienal, 3,7,11-trimethyl-, (E,E)-	C ₁₅ H ₂₄ O	502-67-0	0.50±0.21
金合欢醛 2,6,10-Dodecatrienal, 3,7,11-trimethyl-	C ₁₅ H ₂₄ O	19317-11-4	0.36±0.18
胺类 Amines			
丙烯亚胺 Aziridine, 2-methyl-	C ₃ H ₇ N	75-55-8	7.48±9.02
N-甲基乙酰胺 Acetamide, N-methyl-	C ₃ H ₇ NO	79-16-3	0.80±0.72
盐类 Salts			
丙氨酸乙酯盐酸盐 Alanine ethyl ester	C ₅ H ₁₁ NO ₂	17344-99-9	0.33±0.31

表中数据为平均值±标准差 (n=3)。Data in the table are mean ± SD (n=3) .

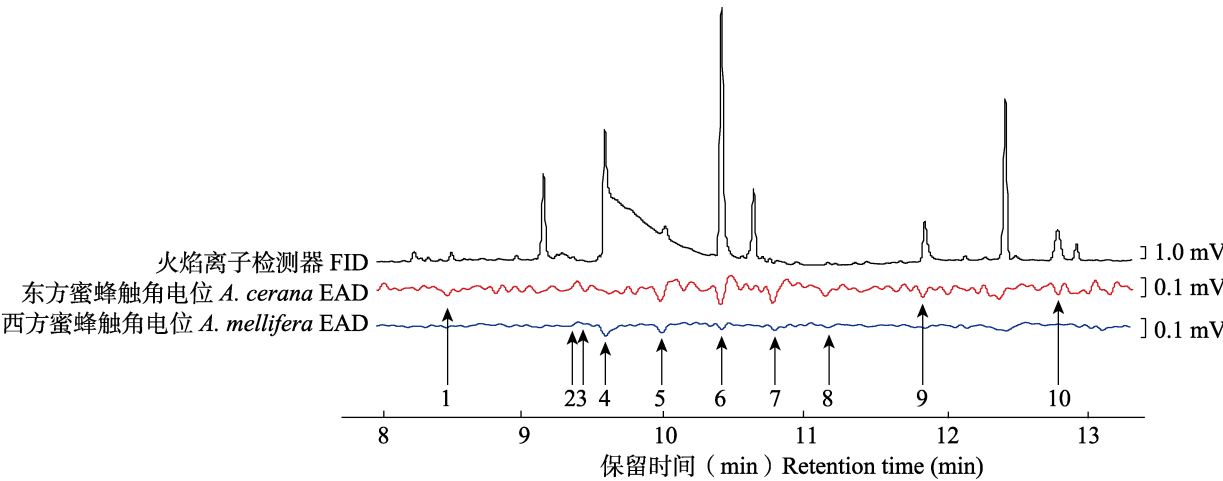


图 1 东方蜜蜂和西方蜜蜂对红阳猕猴桃雌花挥发性物质的 GC-EAD 反应图谱
Fig. 1 Responses of *Apis cerana* and *Apis mellifera* to female flowers of Hongyang kiwifruit detected by GC-EAD

- 1: 芳樟醇; 2: 壬醛; 3: 苯乙醇; 4: 2,6,6-三甲基-2-环己烯-1,4-二酮; 5: 苯甲酸乙酯; 6: 水杨酸甲酯;
7: 顺式-3-己烯醇 2-甲基丁酸酯; 8: 乙酸叶醇酯; 9: 水杨酸乙酯; 10: β-紫罗酮。
1: Linalool; 2: Nonanal; 3: Phenylethyl alcohol; 4: 2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione; 5: Ethyl benzoate;
6: Methyl salicylate; 7: cis-3-Hexenyl 2-methylbutanoate; 8: cis-3-Hexenyl acetate; 9: Ethyl salicylate; 10: β-Ionone.

己烯醇 2-甲基丁酸酯、乙酸叶醇酯、水杨酸乙酯和 β -紫罗酮 10 种化合物引起东方蜜蜂的触角反应; 芳樟醇、壬醛、苯乙醇、2,6,6-三甲基-2-环己烯-1,4-二酮、苯甲酸乙酯、水杨酸甲酯和顺式-3-己烯醇 2-甲基丁酸酯 7 种化合物引起西方蜜蜂的触角反应。红阳猕猴桃雌花挥发物中的 7 种化合物都引起了 2 种蜜蜂的触角反应, 有 3 种化合物只引起了东方蜜蜂的触角反应, 东方蜜蜂触角反应的化合物多于西方蜜蜂。其中苯乙醇、苯甲酸乙酯、水杨酸甲酯、水杨酸乙酯和 β -紫罗酮与表 1 中得到的红阳猕猴桃雌花的挥发性物质相同。芳樟醇、壬醛、2,6,6-三甲基-2-环己烯-1,4-二酮、顺式-3-己烯醇 2-甲基丁酸酯、乙酸叶醇酯不属于表 1 中得到的挥发性物质。

2.3 蜜蜂对猕猴桃雌花挥发性物质的嗅觉行为反应

与对照(空气)相比, 红阳猕猴桃雌花的挥发性气味对东方蜜蜂具有引诱作用, 引诱率为 60%, 但与对照差异不显著 ($P > 0.05$); 而对西方蜜蜂起到了显著的驱避作用, 驱避率为 67.5% ($P < 0.01$) (图 2)。东方蜜蜂选择红阳猕猴桃雌花气味的数量多于西方蜜蜂选择红阳猕猴桃雌花气味的数量。

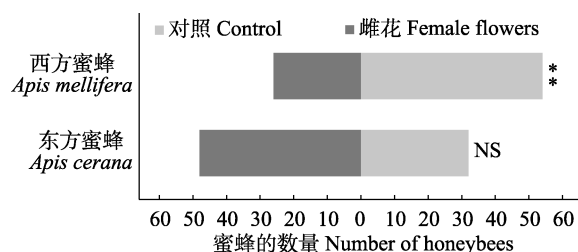


图 2 东方蜜蜂和西方蜜蜂对红阳猕猴桃雌花气味的选择趋性

Fig. 2 Selective preference of *Apis cerana* and *Apis mellifera* for the odour of female flowers of Hongyang kiwifruit

** 表示差异显著 ($P < 0.01$), NS 表示差异不显著 ($P > 0.05$)。

** indicates significant difference ($P < 0.01$), NS indicates no significant difference ($P > 0.05$).

3 讨论

本研究结果表明, 东方蜜蜂和西方蜜蜂对红

阳猕猴桃雌花气味的响应存在着显著差异。东方蜜蜂对红阳猕猴桃雌花的气味无明显趋性, 西方蜜蜂对红阳猕猴桃雌花的气味显著驱避。在生产上, 建议猕猴桃种植户选择东方蜜蜂作为红阳猕猴桃的授粉蜂种。红阳猕猴桃是从中华猕猴桃中选出的红肉优系(肖春等, 2020)。我国是中华猕猴桃原产地(蔡克强和郑鹭娜, 1981)。而东方蜜蜂原产地在中国, 又是我国特有的当家品种(蔚培龙, 2013)。西方蜜蜂是 20 世纪 20 年代新引进我国的(余林生等, 2008)。按照生物进化的特点, 东方蜜蜂与红阳猕猴桃之间应该存在着协同进化, 这可能是造成选择红阳猕猴桃雌花气味的东方蜜蜂数量多于西方蜜蜂的主要原因(杨龙龙和吴燕如, 1990)。

本研究检测到红阳猕猴桃雌花包含 33 种的挥发性物质, 而 Twidle (2018) 检测 Gold3 雌花的气味包含 37 种挥发性物质。相比较, 挥发性物质的种类也存在较大差异。GC-MS 结果显示挥发性物质中烃类和萜烯类占比约为 32%, 而 Twidle 等 (2018) 采用动态顶空收集法在原位树上收集猕猴桃花的气味方式, 检测到 Gold 3 雌花气味中的烃类和萜烯类占比约为 92%。本研究采用新鲜的红阳猕猴桃雌花, 实验过程中会使某些碳氢化合物发生氧化, 所以烃类和萜烯类化合物含量相对较低。由此可见, 不同的猕猴桃品种和不同的挥发物收集方法对挥发性物质的组分和含量的定性产生影响 (Bicchi and Maffei, 2012)。

红阳猕猴桃雌花挥发物中, 有 5 种化合物引起蜜蜂的触角反应, 而其它引起蜜蜂触角反应的芳樟醇、壬醛、2,6,6-三甲基-2-环己烯-1,4-二酮、顺式-3-己烯醇 2-甲基丁酸酯和乙酸叶醇酯并没有包含在红阳猕猴桃雌花的挥发性物质中, 是因为这些化合物的含量低于检测阈值。红阳猕猴桃雌花中有 10 种挥发性化合物引起东方蜜蜂的触角反应, 7 种化合物引起西方蜜蜂的触角反应。这表明不同蜂种对同一品种猕猴桃花的响应不同, 也表明蜜蜂只通过某些化合物来识别猕猴桃花的气味。这些引起蜜蜂触角反应的化合物很可能与嗅觉感受通道有关, 可能是蜜蜂与猕猴桃花

交流的通信物质。Gold 3 雌花和海沃德雌花挥发性物质中的壬醛、苯乙醇、2,6,6-三甲基-2-环己烯-1,4-二酮引起了西方蜜蜂的触角反应 (Twidle *et al.*, 2015, 2018)。除了上述化合物, 本研究还发现红阳猕猴桃雌花挥发物中芳樟醇、苯甲酸乙酯、水杨酸甲酯和顺式-3-己烯醇 2-甲基丁酸酯也能引起西方蜜蜂的触角反应。乙酸叶醇酯、水杨酸乙酯和 β -紫罗酮只引起了东方蜜蜂的触角反应, 并没引起西方蜜蜂的触角反应。推测这 3 种化合物是气味接受蛋白接收信息的关键信号, 可能只打开了东方蜜蜂的气味蛋白受体通道, 而未打开或抑制了西方蜜蜂的气味蛋白受体通道。这有可能是造成红阳猕猴桃雌花气味对东方蜜蜂无明显趋性, 对西方蜜蜂趋避的主要原因。

研究猕猴桃花气味与蜜蜂之间的关系不仅可以帮助猕猴桃种植者选择合适高效的优势蜂种, 而且通过对比本土猕猴桃对本土蜜蜂和引进蜜蜂的之间的差异还能为传粉生态学和生物进化提供理论基础。本研究未对引起东方蜜蜂和西方蜜蜂触角反应的化合物再次进行嗅觉行为反应验证, 将来应进一步开展实验。引起 2 种蜜蜂触角反应的化合物是否是嗅觉感受器接收到的关键信息物质需待进一步研究测定。东方蜜蜂和西方蜜蜂对猕猴桃花的选择偏好不仅与嗅觉有关, 还与视觉、奖励物质有关 (Buchmann and Cane, 1989; Johnson *et al.*, 1995; Johnson *et al.*, 2004)。因此综合分析猕猴桃花的气味、形体特征、奖励物质等不同因素对东方蜜蜂和西方蜜蜂访花的影响程度, 也是未来研究的重点。

参考文献 (References)

- Ai YW, 2009. Kiwifruit production status and key points of winter management in Panzhou mountain area of Sichuan province. *The North Garden*, 2009(6): 238. [艾应伟, 2009. 四川盆周山区猕猴桃生产状况与冬季管理技术要点. 北方园艺, 2009(6): 238.]
- Bertschy C, Turlings TCJ, Bellotti AC, Dorn S, 1997. Chemically-mediated attraction of three parasitoid species to mealybug-infested cassava leaves. *The Florida Entomologist*, 80(3): 383–395.
- Bicchi C, Maffei M, 2012. The plant volatilome: Methods of analysis. *Methods in Molecular Biology*, 918: 289–310.
- Buchmann SL, Cane JH, 1989. Bees assess pollen returns while sonicating *Solanum* flowers. *Oecologia*, 81(3): 289–294.
- Cai KQ, Zheng LN, 1981. Effects of three hydroponic formulations on seedling growth of *Actinidia chinensis*. *Subtropical Plant Bulletin*, (2): 32–35. [蔡克强, 郑鹭娜, 1981. 三种水培配方对中华猕猴桃苗木生长的影响. 亚热带植物通讯, (2): 32–35.]
- Craig JL, 1989. Seed set in *Phormium*: Interactive effects of pollinator behaviour, pollen carryover and pollen source. *Oecologia*, 81(1): 1–5.
- Goodwin RM, McBrydie HM, Taylor MA, 2013. Wind and honey bee pollination of kiwifruit (*Actinidia chinensis* ‘Hort16A’). *New Zealand Journal of Botany*, 51(3): 229–240.
- Han SM, Lai K, Zhao YZ, Bai F, Li ZF, Peng WJ, 2020. Flower-visiting behavior and pollination by honeybees in kiwifruit orchards. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 57(5): 1131–1138. [韩胜明, 赖康, 赵亚周, 白峰, 李治菲, 彭文君, 2020. 蜜蜂在猕猴桃园的访花行为和授粉效果评估. 应用昆虫学报, 57(5): 1131–1138.]
- Hern A, Dorn S, 2004. A female-specific attractant for the codling moth, *Cydia pomonella*, from apple fruit volatiles. *Naturwissenschaften*, 91(2): 77–80.
- Huang X, 2020. Analysis of kiwi industry boosting poverty alleviation in Sichuan. *Rural Economy and Technology*, 31(9): 216–217. [黄星, 2020. 猕猴桃产业助推四川扶贫探析. 农村经济与科技, 31(9): 216–217.]
- Johnson SD, Peter CI, Agren J, 2004. The effects of nectar addition on pollen removal and geitonogamy in the non-rewarding orchid *Anacamptis morio*. *Proceedings Biological Sciences*, 271(1541): 803–809.
- Johnson SG, Delph LF, Elderkin CL, 1995. The effect of petal-size manipulation on pollen removal, seed set, and insect-visitor behavior in *Campanula americana*. *Oecologia*, 102(2): 174–179.
- Matich AJ, Young H, Allen JM, Wang MY, Fielder S, McNeilage MA, MacRae EA, 2003. *Actinidia arguta*: Volatile compounds in fruit and flowers. *Phytochemistry*, 63(3): 285–301.
- Nieuwenhuizen NJ, Wang MY, Matich AJ, Green SA, Chen X, Yar-Khing Y, Beuning LL, Nagegowda DA, Natalia D, Atkinson RG, 2009. Two terpene synthases are responsible for the major sesquiterpenes emitted from the flowers of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *Journal of Experimental Botany*, 60(11): 3203–3219.
- Palmer-Jones T, Clinch PG, 1974. Observations on the pollination of Chinese gooseberries variety ‘Hayward’. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture*, 2(4): 455–458.
- Richardson DP, Ansell J, Drummond LN, 2018. The nutritional and health attributes of kiwifruit: A review. *European Journal of*

- Nutrition*, 57(8): 2659–2676.
- Shi MN, Tang DS, Gong SY, Zhang YB, Gu ZL, 2013. SPME-GC-MS was used to analyze the volatile components of Jasmine tea. *Chinese Journal of Food Science*, 13(6): 234–239. [施梦南, 唐德松, 龚淑英, 张颖彬, 顾志蕾, 2013. SPME-GC-MS 联用技术分析茉莉花茶的挥发性成分. 中国食品学报, 13(6): 234–239.]
- Tacconi G, Michelotti V, Cacioppo O, Vittone G, 2016. Kiwifruit pollination: The interaction between pollen quality, pollination systems and flowering stage. *Journal of Berry Research*, 6(4): 417–426.
- Tatsuka K, Suekane S, Sakai Y, Sumitani H, 1990. Volatile constituents of kiwifruit flowers: Simultaneous distillation and extraction versus headspace sampling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(12): 2176–2180.
- Tooker JF, Crumrin AL, Hanks LM, 2005. Plant volatiles are behavioral cues for adult females of the gall wasp *Antistrophus rufus*. *Chemoecology*, 15(2): 85–88.
- Twidle AM, Mas F, Harper AR, Horner RM, Welsh TJ, Suckling DM, 2015. Kiwifruit flower odor perception and recognition by honey bees, *Apis mellifera*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(23): 5597–5602.
- Twidle AM, Suckling DM, Seal AG, Fedrizzi B, Pilkington LI, Barker D, 2017. Identification of in situ flower volatiles from kiwifruit (*Actinidia chinensis* var. *deliciosa*) cultivars and their male pollenisers in a New Zealand orchard. *Phytochemistry*, 141(11): 61–69.
- Twidle AM, Barker D, Seal AG, Fedrizzi B, Suckling DM, 2018. Identification of floral volatiles and pollinator responses in kiwifruit cultivars, *Actinidia chinensis* var. *chinensis*. *Journal of Chemical Ecology*, 44(4): 406–415.
- Wang RD, Wang SS, 2018. Olfactory behavioral responses of the adults of *Potosia brevitaris* Lewis to 10 host volatiles. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 55(9): 1656–1662. [王瑞笛, 王少山, 2018. 白星花金龟成虫对 10 种寄主挥发物的嗅觉行为反应. 新疆农业科学, 55(9): 1656–1662.]
- Xiao C, Li YQ, Geng LX, Zhang RQ, Long M, Luo HY, Zhang H, 2020. Characteristics of Hongyang kiwifruit and key points of cultivation technology. *South China Agriculture*, 14(12): 41–42. [肖春, 李玉琼, 耿礼祥, 张荣全, 龙幔, 罗惠引, 张辉, 2020. 红阳猕猴桃的特点及栽培技术要点. 南方农业, 14(12): 41–42.]
- Yang LL, Wu YR, 1990. A preliminary study on pollinating bees of *Actinidia chinensis*. *China Apiculture*, 41(1): 2–4. [杨龙龙, 吴燕如, 1990. 猕猴桃传粉蜜蜂的初步研究. 中国养蜂, 41(1): 2–4.]
- Yu LS, Zou YD, Cao YF, Bi SD, Wu HC, Ding J, Jie WF, 2008. Comparative study on the niches of *Apis mellifera ligustica* and *Apis cerana cerana*. *Acta Ecologica Sinica*, 28(9): 4575–4581. [余林生, 邹运鼎, 曹义锋, 毕守东, 巫厚长, 丁建, 解文飞, 2008. 意大利蜜蜂(*Apis mellifera ligustica*)与中华蜜蜂(*Apis cerana cerana*)的生态位比较. 生态学报, 28(9): 4575–4581.]
- Yu PL, 2013. Shennongjia, the paradise of *Apis cerana cerana*. *Nature and Technology*, 197(3): 42–45. [蔚培龙, 2013. 神农架, 中华蜜蜂的乐园. 自然与科技, 197(3): 42–45.]
- Zhu YM, Zhou ZW, Mao JP, Hu HB, Jiang AJ, Jin YH, Zhu RZ, Zhou LX, Guo RG, Zhu F, 2003. A preliminary study on bee pollination technology of kiwifruit. *South China Fruits*, 32(2): 45–46, 60. [朱友民, 周宗旺, 毛江平, 胡海波, 姜爱娟, 金云华, 朱瑞真, 周利雄, 郭任贵, 祝飞, 2003. 猕猴桃蜜蜂授粉技术研究初报. 中国南方果树, 32(2): 45–46, 60.]