

DOI: 10.5846/stxb201902050238

吴国火, 崔林, 王梦馨, 李红亮, 韩宝瑜. 茶树花香气及茶叶气味对中华蜜蜂的引诱效应. 生态学报, 2020, 40(12): 4024-4031.

Wu G H, Cui L, Wang M X, Li H L, Han B Y. Attraction of aroma from tea flowers and leaves to the Chinese honeybees (*Apis cerana cerana*). Acta Ecologica Sinica, 2020, 40(12): 4024-4031.

茶树花香气及茶叶气味对中华蜜蜂的引诱效应

吴国火, 崔林, 王梦馨, 李红亮, 韩宝瑜*

中国计量大学生命科学学院, 浙江省生物计量及检验检疫技术重点实验室, 杭州 310018

摘要:我国茶园面积约占全球的 60%, 茶树花已成为我国主要植物蜜源之一, 尤其在秋冬季。茶树花招引蜜蜂的机理尚不清晰, 遂以中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* 为试虫, 以 8 个国家级良种茶树的鲜花、茶树花主要香气组分和茶鲜叶重要挥发性组分为味源, 用 Y 形嗅觉仪进行行为测定, 结果表明: ①在 0.25—5.00 g 质量范围内, 不仅 8 个良种茶树的鲜花明显引诱该蜂, 而且每种茶树花质量为某一确定值时, 其引诱的蜂数与 CK(洁净空气)引诱的蜂数差异显著 ($P < 0.05$); ②在茶树花 27 个主要香气组分中, 发现苯乙酮 (10^{-6} g/mL)、芳樟醇 (10^{-6} 、 10^{-2} g/mL)、苧烯 (10^{-4} g/mL)、顺-3-己烯-1-醇 (10^{-10} g/mL)、 α -法尼烯 (10^{-6} 、 10^{-4} 、 10^{-2} g/mL)、癸醛 (10^{-6} g/mL)、 β -紫罗兰酮 (10^{-6} g/mL)、亚油酸 (10^{-4} 、 10^{-2} g/mL)、顺-2-戊烯-1-醇 (10^{-4} g/mL) 和苯甲醛 (10^{-2} g/mL) 显著引诱该蜂 ($P < 0.05$), 而水杨酸甲酯 (10^{-2} g/mL)、橙花醇 (10^{-2} g/mL) 和辛醛 (10^{-6} g/mL) 排斥该蜂 ($P < 0.05$); ③在茶鲜叶 24 个重要挥发性组分中, 发现十八醇 (10^{-4} g/mL)、正辛醇 (10^{-2} g/mL)、吲哚 (10^{-6} g/mL)、柠檬醛 (10^{-2} g/mL)、薄荷醇 (10^{-6} g/mL)、 β -石竹烯 (10^{-4} g/mL)、薄荷酮 (10^{-4} 、 10^{-2} g/mL) 显著引诱该蜂 ($P < 0.05$), 而邻甲苯酚 (10^{-2} g/mL)、香茅醇 (10^{-6} g/mL)、1,3-丙二醇 (10^{-2} g/mL)、 α -松油烯 (10^{-6} g/mL) 和正戊醇 (10^{-4} g/mL) 排斥该蜂 ($P < 0.05$)。认为: 茶树花气味及其主要香气组分和茶鲜叶主要挥发性组分显著引诱中华蜜蜂, 尤其是茶树花香气组分中含量分别超过 20% 的苯乙酮和芳樟醇强烈引诱该蜂, 导致花季时期广袤的茶园及其中的茶树花对该蜂具有强大的引诱效应。

关键词: 茶树花; 花香; 苯乙酮; 芳樟醇; 中华蜜蜂

Attraction of aroma from tea flowers and leaves to the Chinese honeybees (*Apis cerana cerana*)

WU Guohuo, CUI Lin, WANG Mengxin, LI Hongliang, HAN Baoyu*

Zhejiang Provincial Key Laboratory of Biometrology and Inspection & Quarantine, College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou 310018, China

Abstract: The Chinese tea plantation area accounts for around 60% of the global total area, and tea plant flowers have become one of the major nectar sources for honeybees in China, especially during autumn and winter. However, the mechanism underlying the olfactory attraction of tea flowers to the honeybees is still unclear. In a lab Y-tube olfactometer bioassay, the potential behavioral activities of odors released and major volatile compounds identified from tea flowers and leaves of eight national elite tea cultivars to Chinese honey bee workers (*Apis cerana cerana*) were tested. The results showed that: (1) at 0.25—5.00 g range, flowers of all the eight cultivars significantly attracted the honeybees i.e. the numbers of bees chosen the flowers were significantly higher the those chosen CK (fresh air) at $P < 0.05$. (2) among the 27 main aromatic components identified from the tea flowers, following compounds each dissolved in paraffin, acetophenone (10^{-6} g/mL), linalool (10^{-6} 、 10^{-2} g/mL), camphene (10^{-4} g/mL), Z-3-hexen-1-ol (10^{-10} g/mL), α -farnesene (10^{-6} 、

基金项目:国家重点研究发展计划项目(2018YFC1604402); 浙江省自然科学基金项目(LY17C140002); 浙江省基础公益研究计划项目(LGN18C160006)

收稿日期: 2019-02-05; 网络出版日期: 2020-04-09

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: han-insect@263.net

10^{-4} , 10^{-2} g/mL), decanal (10^{-6} g/mL), β -linalone (10^{-6} g/mL), linoleic acid (10^{-4} , 10^{-2} g/mL), Z-2-penten-1-ol (10^{-4} g/mL), and benzaldehyde (10^{-2} g/mL) significantly attracted the honeybees ($P < 0.05$) when compared to the paraffin control; whereas methyl salicylate (10^{-2} g/mL), nerol (10^{-2} g/mL), and octanal (10^{-6} g/mL) significantly repelled the honeybees ($P < 0.05$). (3) among the 24 major volatile components identified from fresh tea leaves, octadecanol (10^{-4} g/mL), octanol (10^{-2} g/mL), indol (10^{-6} g/mL), citral (10^{-2} g/mL), menthol (10^{-6} g/mL), β -caryophyllene (10^{-4} g/mL), and menthone (10^{-4} , 10^{-2} g/mL) (each dissolved in paraffin) showed significant attraction to the honeybees ($P < 0.05$), whereas o-cresol (10^{-2} g/mL), β -citronellol (10^{-6} g/mL), 1,3-propanediol (10^{-2} g/mL), α -terpinene (10^{-6} g/mL), and pentanol (10^{-4} g/mL) significantly repelled the honeybees ($P < 0.05$). In short, the odors from the tea flowers and some of their main aromatic components as well as the key tea leaf volatile components significantly attracted the honeybees, with acetophenone and linalool, each accounted for $>20\%$ of the total tea flower aroma, being the strongest. Our results clearly showed that honeybee foragers are highly attracted to the aroma of tea flowers and leaves during the blossom seasons.

Key Words: tea plant flower; bloom aroma; acetophenone; linalool; *Apis cerana cerana*

植物挥发物在植物与昆虫之间的信息交流过程中起着重要作用,对昆虫的寄主植物定向行为、昆虫产卵行为、寄生蜂的寄主寻找行为等产生影响^[1]。如番茄叶挥发物对 B 型烟粉虱 *Bemisia tabaci* (Gennadius) 具有行为导向作用^[2],茶梢挥发物可引诱假眼小绿叶蝉 *Empoasca vitis* (Göthe)^[3],蝉害诱导的茶梢挥发物可引诱天敌昆虫叶蝉三棒缨小蜂 *Stethynium empoascae* Subba Rao、微小裂骨缨小蜂 *Schizophragma parvula* Ogloblin 寄生^[4-5]。植物挥发物也密切影响着昆虫的传粉行为^[6],许多植物在开花期间,由花朵释放出多种挥发性物质,如丁香酚、苯酚等,这些挥发性化合物对传粉昆虫具有强烈的引诱作用,诱导传粉昆虫对蜜源做定向飞行^[7]。

中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* 是我国特有的资源蜂种^[8],其长期适应我国的气候条件,易于发现分散、零星开花的植物花粉,在维持生态平衡方面具有重要意义;其低温出巢的生活习性恰适宜于高寒地区以及早春和晚秋等低温条件下开花植物的传粉^[9]。目前,对中华蜜蜂化学通讯的研究主要集中在蜜蜂自身腺体分泌的信息素^[10],如工蜂那氏腺释放的气味具有引导和定向其他工蜂的作用^[11]。生活中很早就发现植物挥发物尤其是花香,对蜜蜂具有引诱作用^[12],Liu 等^[13]发现中华蜜蜂可识别植物花粉气味中的酚类物质含量,对低酚性物质含量的植物花粉具有偏好性,但总体来说有关植物挥发物引诱蜜蜂的研究较少。

我国茶园面积已达 300 万 hm^2 ,约占世界茶园面积 60%,因此茶树花资源非常丰富^[14]。茶树花香气清香略带甜味,是秋冬季理想的蜜源。10 月下旬茶树花盛开,成群的蜜蜂涌入茶园,茶树花展示了强大的引诱潜能。如果筛选出对蜜蜂有显著引诱作用的茶树花香气组分和茶叶挥发性组分,则可更好地理解茶树花引诱蜜蜂蜂群的机理,还能使用这些成分调控蜜蜂采集茶树花蜜,提高访花蜜蜂数量和访花频率,以便充分开发茶树花资源,增加单位面积茶园的经济效益。为检测中华蜜蜂对茶树花香气及茶叶气味的行为反应,本研究选用鉴定于茶树花和茶鲜叶的挥发性组分作为味源,用 Y 形嗅觉仪测定其行为反应,期望筛选出能显著调控中华蜜蜂行为的组分,以揭示茶树花引诱中华蜜蜂的机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

供试昆虫:实验用中华蜜蜂取自中国计量大学蜂场,实验前禁食 0.5 h。室内生物测定时随机选用工蜂。

供试茶树花味源:供试茶树种植于中国计量大学实验茶园(北纬 $30^{\circ}19'29.90''$,东经 $120^{\circ}21'19.16''$,海拔 11 m),树龄皆为 5 年;使用 8 个国家级茶树良种(表 1),即‘安吉白茶’、‘中茶 108’、‘茂绿’、‘龙井 43’、‘乌牛早’、‘鸠坑早’、‘铁观音’和‘金观音’,其在我国长江中下游地区皆有大面积种植。取其茶树鲜花作为味源,设 0.25 g、0.50 g、1.00 g、2.00 g、3.00 g、4.00 g 和 5.00 g 共 7 个剂量。以洁净空气为 CK。

供试化合物味源:从茶树花香气^[15-18]中选择主要的、含量较大的 27 种组分(表 2),选择茶叶挥发性化合物^[19-20]中比较重要的 24 种组分(表 3),这 51 种化合物购自 Sigma 公司,纯度 $\geq 98\%$ 。以液体石蜡为溶剂将每种化合物配成 10^{-6} g/mL、 10^{-4} g/mL 和 10^{-2} g/mL 3 个剂量,其中苯乙酮、芳樟醇、 α -法尼烯、顺-3-己烯-1-醇和吲哚配成 10^{-10} g/mL、 10^{-8} g/mL、 10^{-6} g/mL、 10^{-4} g/mL 和 10^{-2} g/mL 5 个剂量进行测定。每次行为测定时,分别吸取每个剂量的 1 mL 溶液作为味源,以 1 mL 液体石蜡作为 CK。

1.2 Y 形嗅觉仪及测定程序

Y 形管由无色透明玻璃制成,两臂与基部长度皆为 15 cm,内径为 1.5 cm,两臂夹角为 120° 。两臂分别连接味源瓶(或对照瓶)、加湿瓶、空气过滤瓶(内装满已活化的活性炭)和流量计,各部件之间以 Teflon 管连接^[21]。测定时分别吸取 1 mL 味源于开口的安瓿瓶,开口安瓿瓶置于味源瓶中;再吸取液体石蜡 1 mL 于开口安瓿瓶中,置开口安瓿瓶于对照瓶中。用气泵从 Y 形管基部管口抽气,测定时调节每臂流量为 120 mL/min。测定前先抽气 10 min,使 Y 形管味源臂中充满待测气味。测试时用试管将 1 头中华蜜蜂从 Y 形管基部管口引入。蜜蜂进入之后,则逆风行进,或直线爬行,或螺旋式行进,在 Y 形管交叉处做一个选择,进入 Y 形管的一臂,爬行 5 cm 记为选择该臂,超过 5 min 无反应则不计数。

51 种味源的每个处理剂量分别测定 20 头中华蜜蜂,每头只用 1 次;每测试 10 头,用无水乙醇擦洗 Y 形管内外壁,烘干,调换 Y 形管两臂与味源瓶和对照瓶的连接位置,用于消除 Y 形管可能的不对称而造成的影响。每个剂量的味源测定结束后,将 Y 形管、味源瓶等玻璃部件用重铬酸钾洗液清洗,于 100°C 烘箱内烘干。活性炭在 80°C 烘 4 h 以解除其吸附的异味分子。

生物测定在暗室内执行,Y 形管上方 1.5 m 处有 1 盏 15W 白炽灯提供照明。每天生物测定时间从 8:00 至 16:00,这期间该蜂比较活跃。室温 25°C ,相对湿度 $(70\pm 3)\%$ 。

1.3 数据分析方法

使用 SPSS 22.0 软件完成数据分析。对中华蜜蜂进行室内 Y 形管嗅觉行为测定时,假设供试味源对于中华蜜蜂行为没有影响,则中华蜜蜂趋向味源和 CK 的概率均为 50%,则有假设测验 $H_0 = 50:50$,对于该蜂趋向味源和 CK 的数量差异作 χ^2 测验,当 $P < 0.05$ 时,则差异达显著水平,当 $P < 0.01$ 时,则差异达极显著水平。

2 结果和分析

2.1 8 个茶树品种茶树花气味引诱中华蜜蜂的效应

以 8 个良种茶树的鲜花作为味源,洁净空气为 CK,当味源剂量从 0.25 g、0.5 g、1.0 g、2.0 g、3.0 g、4.0 g 递增至 5.0 g 时,‘安吉白茶’品种茶树花对中华蜜蜂的吸引效果逐渐增强,当味源剂量为 3.0 g 时引诱的蜜蜂数与 CK 引诱的蜜蜂数的差异达显著水平,味源剂量再增加时其吸引力逐渐下降。随着味源剂量的增加,‘中茶 108’品种茶树花的吸引效果也逐渐增强,当味源剂量达到 2.0 g 时,其引诱效果达显著水平,之后引诱力下降。‘茂绿’品种茶树花对于蜜蜂的引诱效果也随着其剂量的增加而逐渐增强,当味源剂量达到 0.5 g 时,其引诱的蜂数与 CK 之间的差异显著,其后吸引力下降。而‘龙井 43’品种茶树花供试剂量为 0.25 g 时,引诱效果与 CK 之间的差异显著,其后随着茶树花剂量的增加,吸引效果逐渐下降,当茶树花剂量为 4.0 g 或 5.0 g 时,与 CK 相比则具有显著的排斥效应。‘乌牛早’、‘鸠坑早’、‘铁观音’和‘金观音’品种的茶树花剂量为 0.25 g 时,对中华蜜蜂引诱效应与 CK 的差异显著,随着剂量的增加,吸引效果趋于下降,其中‘乌牛早’茶树花剂量为 5.0 g 时,对供试蜜蜂还有排斥效应(图 1)。

8 个品种茶树花用作味源,在低剂量时吸引供试蜜蜂,随着剂量的增加,引诱效应增强,到一定剂量时引诱效应与 CK 引诱效应之间的差异达显著水平;之后,茶树花吸引效果趋于下降。假设选择茶树花的中华蜜蜂数为 y ,供试茶树花剂量为 x ,则有选择 8 个品种茶树花的中华蜜蜂数与供试味源剂量之间的关系式(表 1)。

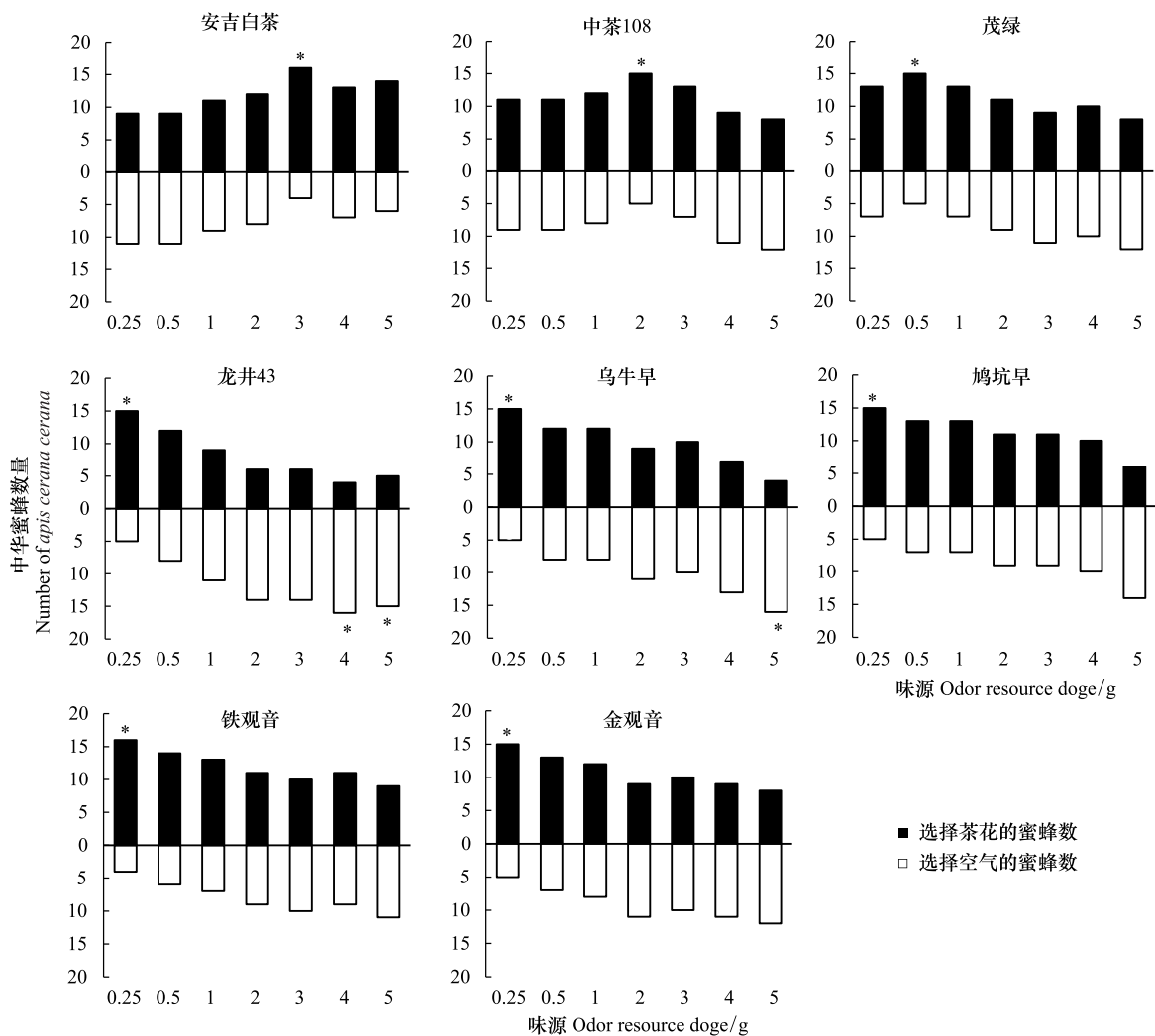


图1 Y形管嗅觉仪测定的8个品种茶树花与洁净空气引诱的蜜蜂数及其差异

Fig.1 Difference between number of bees choosing each of eight tea cultivar flowers and number of bees choosing fresh air during Y-tube olfactometer bioassay

* 茶树花与洁净空气引诱蜜蜂数量之间的差异性达显著水平

表1 选择8个品种茶树花的中华蜜蜂数与供试茶树花剂量之间的相关性

Table 1 Correlationship between number of *Apis cerana cerana* choosing each of eight tea plant cultivar flowers with dosage of test tea flowers

品种 Cultivar	回归方程 Regression equation	相关系数 R^2 Correlation coefficient R^2	显著性 Significance
安吉白茶 Anjibaicha	$y = -0.476x^2 + 3.556x + 7.7601$	0.8318	$P < 0.05$
中茶 108 Zhongcha108	$y = -0.767x^2 + 3.2569x + 10.019$	0.7968	$P < 0.05$
茂绿 Maolv	$y = 0.1558x^2 - 2.0472x + 14.661$	0.8609	$P < 0.05$
龙井 43 Longjing43	$y = 0.7702x^2 - 5.8389x + 15.195$	0.9459	$P < 0.05$
乌牛早 Wuniuzao	$y = -0.041x^2 - 1.6789x + 13.959$	0.8979	$P < 0.05$
鸠坑早 Jiukengzao	$y = -0.1443x^2 - 0.7532x + 14.121$	0.8993	$P < 0.05$
铁观音 Tieguanyin	$y = 0.3239x^2 - 2.8482x + 15.849$	0.898	$P < 0.05$
金观音 Jinguanyin	$y = 0.3458x^2 - 2.9973x + 14.868$	0.8914	$P < 0.05$

2.2 茶树花香气组分和茶叶挥发性组分引诱中华蜜蜂的作用

27 种茶树花香气组分中,苯乙酮(10^{-6} g/mL)、芳樟醇(10^{-6} 、 10^{-2} g/mL)、苧烯(10^{-4} g/mL)、顺-3-己烯-1-

醇 (10^{-10} g/mL)、 α -法尼烯 (10^{-2} g/mL)、癸醛 (10^{-6} g/mL)、 β -紫罗兰酮 (10^{-6} g/mL)、亚油酸 (10^{-4} g/mL)、顺-2-戊烯-1-醇 (10^{-4} g/mL) 和苯甲醛 (10^{-2} g/mL) 对中华蜜蜂引诱效应与 CK (液体石蜡) 诱效之间差异达到显著水平 ($P < 0.05$)。 α -法尼烯 (10^{-6} 、 10^{-4} g/mL) 和亚油酸 (10^{-2} g/mL) 对中华蜜蜂引诱效应则达到极显著水平 ($P < 0.01$)。随着供试剂量的增加, 水杨酸甲酯、橙花醇对中华蜜蜂引诱力下降, 在剂量为 10^{-2} g/mL 时皆显示显著排斥作用 ($P < 0.05$), 其中水杨酸甲酯达到极显著水平 ($P < 0.01$); 辛醛 (10^{-6} g/mL) 也表现出显著排斥作用 ($P < 0.05$) (表 2)。

表 2 Y 形嗅觉仪检测的茶树花 27 个主要香气组分与液体石蜡引诱中华蜜蜂数量的差异性

Table 2 Difference between number of tested honeybees choosing each of 27 major components of tea flowers and number of choosing liquid paraffin in Y-tube olfactometer bioassay

组分 Component	味源 Dosage	选择味源 的蜜蜂数 Number of bees to choose odors	选择 CK 的蜜蜂数 Number of bees to choose paraffin	显著性 Signifi- cance (*)	组分 Component	味源 Dosage	选择味源 的蜜蜂数 Number of bees to choose odors	选择 CK 的蜜蜂数 Number of bees to choose paraffin	显著性 Signifi- cance (*)
己醇	10^{-6}	10	10	n.s.	橙花醇	10^{-6}	8	12	n.s.
Hexanol	10^{-4}	11	9	n.s.	Nerol	10^{-4}	10	10	n.s.
	10^{-2}	8	12	n.s.		10^{-2}	4	16	*
芳樟醇	10^{-10}	14	6	n.s.	顺-3-己烯-1-醇	10^{-10}	15	5	*
Linalool	10^{-8}	13	7	n.s.	Z-3-Hexen-1-ol	10^{-8}	7	13	n.s.
	10^{-6}	15	5	*		10^{-6}	6	14	n.s.
	10^{-4}	12	8	n.s.		10^{-4}	10	10	n.s.
	10^{-2}	16	4	*		10^{-2}	7	13	n.s.
苯乙酮	10^{-10}	14	6	n.s.	α -法尼烯	10^{-10}	13	7	n.s.
Acetophenone	10^{-8}	13	7	n.s.	α -Farnesene	10^{-8}	14	6	n.s.
	10^{-6}	15	5	*		10^{-6}	18	2	**
	10^{-4}	14	6	n.s.		10^{-4}	17	3	**
	10^{-2}	6	14	n.s.		10^{-2}	15	5	*
β -月桂烯	10^{-6}	12	8	n.s.	癸醛	10^{-6}	15	5	*
β -Myrcene	10^{-4}	14	6	n.s.	Decanal	10^{-4}	14	6	n.s.
	10^{-2}	11	9	n.s.		10^{-2}	14	6	n.s.
苯乙醇	10^{-6}	12	8	n.s.	香叶醇	10^{-6}	10	10	n.s.
Phenylethyl	10^{-4}	7	13	n.s.	Geraniol	10^{-4}	14	6	n.s.
alcohol	10^{-2}	9	11	n.s.		10^{-2}	10	10	n.s.
1-戊烯-3-醇	10^{-6}	14	6	n.s.	β -紫罗兰酮	10^{-6}	15	5	*
1-Penten-3-ol	10^{-4}	11	9	n.s.	Lonone	10^{-4}	7	13	n.s.
	10^{-2}	6	14	n.s.		10^{-2}	10	10	n.s.
壬醛	10^{-6}	12	8	n.s.	柠檬烯	10^{-6}	7	13	n.s.
Nonanal	10^{-4}	9	11	n.s.	Limonene	10^{-4}	13	7	n.s.
	10^{-2}	6	14	n.s.		10^{-2}	13	7	n.s.
水杨酸甲酯	10^{-6}	8	12	n.s.	罗勒烯	10^{-6}	8	12	n.s.
Methyl salicylate	10^{-4}	9	11	n.s.	Ocimene	10^{-4}	9	11	n.s.
	10^{-2}	3	17	**		10^{-2}	10	10	n.s.
辛醛	10^{-6}	5	15	*	亚油酸	10^{-6}	13	7	n.s.
Octanal	10^{-4}	7	13	n.s.	Linoleic acid	10^{-4}	15	5	*
	10^{-2}	11	9	n.s.		10^{-2}	18	2	**
3-萜烯	10^{-6}	12	8	n.s.	顺-2-戊烯-1-醇	10^{-6}	14	6	n.s.
3-Carene	10^{-4}	7	13	n.s.	Z-2-penten-1-ol	10^{-4}	15	5	*

续表

组分 Component	味源 Dosage	选择味源 的蜜蜂数 Number of bees to choose odors	选择 CK 的蜜蜂数 Number of bees to choose paraffin	显著性 Signifi- cance (*)	组分 Component	味源 Dosage	选择味源 的蜜蜂数 Number of bees to choose odors	选择 CK 的蜜蜂数 Number of bees to choose paraffin	显著性 Signifi- cance (*)
正庚醇 Heptanol	10^{-2}	9	11	n.s.	癸酸 Capric acid	10^{-2}	13	7	n.s.
	10^{-6}	9	11	n.s.		10^{-6}	13	7	n.s.
	10^{-4}	10	10	n.s.		10^{-4}	13	7	n.s.
苯甲醇 Benzyl alcohol	10^{-2}	9	11	n.s.		10^{-2}	11	9	n.s.
	10^{-6}	10	10	n.s.	苯甲醛 Benzaldehyde	10^{-6}	6	14	n.s.
	10^{-4}	11	9	n.s.		10^{-4}	14	6	n.s.
苧烯 Camphene	10^{-2}	13	7	n.s.		10^{-2}	16	4	*
	10^{-6}	12	8	n.s.	壬酸 Pelargonic acid	10^{-6}	9	11	n.s.
	10^{-4}	16	4	*		10^{-4}	12	8	n.s.
乙酸叶醇酯 Z-3-Hexenyl acetate	10^{-2}	11	9	n.s.		10^{-2}	10	10	n.s.
	10^{-6}	10	10	n.s.					
	10^{-4}	7	13	n.s.					
	10^{-2}	8	12	n.s.					

n.s. 不显著; * 显著; * * 极显著

24 个供试茶叶气味组分中,十八醇(10^{-4} g/mL)、正辛醇(10^{-2} g/mL)、吡啶(10^{-6} g/mL)、薄荷醇(10^{-6} g/mL)、薄荷酮(10^{-4} 、 10^{-2} g/mL)对中华蜜蜂引诱效应与 CK(液体石蜡)之间差异达显著水平($P < 0.05$),柠檬醛(10^{-2} g/mL)、 β -石竹烯(10^{-4} g/mL)则达到极显著引诱水平($P < 0.01$)。邻甲苯酚(10^{-2} g/mL)、香茅醇(10^{-6} g/mL)、1, 3-丙二醇(10^{-2} g/mL)、 α -松油烯(10^{-6} g/mL)、正戊醇(10^{-4} g/mL)则表现出显著排斥作用($P < 0.05$) (表 3)。

表 3 Y 形嗅觉仪检测的茶鲜叶 24 个重要挥发性组分与液体石蜡引诱中华蜜蜂数量的差异性

Table 3 Difference between number of tested honeybees choosing each of 24 important volatile components of tea fresh leaves and number of choosing liquid paraffin in Y-tube olfactometer bioassay

组分 Component	味源 Dosage	选择味源 的蜜蜂数 Number of bees to choose odors	选择 CK 的蜜蜂数 Number of bees to choose paraffin	显著性 Signifi- cance (*)	组分 Component	味源 Dosage	选择味源 的蜜蜂数 Number of bees to choose odors	选择 CK 的蜜蜂数 Number of bees to choose paraffin	显著性 Signifi- cance (*)
邻甲苯酚 O-cresol	10^{-6}	9	11	n.s.	α -松油醇 α -Terpineol	10^{-6}	6	14	n.s.
	10^{-4}	12	8	n.s.		10^{-4}	8	12	n.s.
	10^{-2}	5	15	*		10^{-2}	10	10	n.s.
麝香草酚 Thymol	10^{-6}	8	12	n.s.	柠檬醛 Citral	10^{-6}	6	14	n.s.
	10^{-4}	8	12	n.s.		10^{-4}	8	12	n.s.
	10^{-2}	10	10	n.s.		10^{-2}	17	3	**
茉莉酮 Z-jasmone	10^{-6}	8	12	n.s.	薄荷醇 Menthol	10^{-6}	15	5	*
	10^{-4}	7	13	n.s.		10^{-4}	12	8	n.s.
	10^{-2}	10	10	n.s.		10^{-2}	9	11	n.s.
茉莉酮酸甲酯 Methyl jasmonate	10^{-6}	9	11	n.s.	樟脑 Camphor	10^{-6}	14	6	n.s.
	10^{-4}	8	12	n.s.		10^{-4}	10	10	n.s.
	10^{-2}	11	9	n.s.		10^{-2}	9	11	n.s.
十六醇 Cetyl alcohol	10^{-6}	12	8	n.s.	正丁醇 Butyl alcohol	10^{-6}	8	12	n.s.
	10^{-4}	13	7	n.s.		10^{-4}	9	11	n.s.
	10^{-2}	13	7	n.s.		10^{-2}	10	10	n.s.
香茅醇	10^{-6}	5	15	*	β -石竹烯	10^{-6}	9	11	n.s.

续表

组分 Component	味源 Dosage	选择味源 的蜜蜂数 Number of bees to choose odors	选择 CK 的蜜蜂数 Number of bees to choose paraffin	显著性 Signifi- cance (*)	组分 Component	味源 Dosage	选择味源 的蜜蜂数 Number of bees to choose odors	选择 CK 的蜜蜂数 Number of bees to choose paraffin	显著性 Signifi- cance (*)
β -citronellol	10^{-4}	12	8	n.s.	β -caryophyllene	10^{-4}	17	3	**
	10^{-2}	14	6	n.s.		10^{-2}	12	8	n.s.
癸醇	10^{-6}	11	9	n.s.	薄荷酮	10^{-6}	10	10	n.s.
Decanol	10^{-4}	10	10	n.s.	Menthone	10^{-4}	15	5	*
	10^{-2}	11	9	n.s.		10^{-2}	16	4	*
正己醛	10^{-6}	11	9	n.s.	正壬醇	10^{-6}	7	13	n.s.
Caproaldehyde	10^{-4}	8	12	n.s.	Nonyl alcohol	10^{-4}	8	12	n.s.
	10^{-2}	11	9	n.s.		10^{-2}	6	14	n.s.
十八醇	10^{-6}	10	10	n.s.	1,3-丙二醇	10^{-6}	10	10	n.s.
Octadecanol	10^{-4}	16	4	*	1, 3-Propanediol	10^{-4}	8	12	n.s.
	10^{-2}	14	6	n.s.		10^{-2}	5	15	*
正辛醇	10^{-6}	7	13	n.s.	反式-2-己烯醛	10^{-6}	8	12	n.s.
Octanol	10^{-4}	14	6	n.s.	<i>E</i> -2-Hexen-1-	10^{-4}	10	10	n.s.
	10^{-2}	15	5	*	al	10^{-2}	10	10	n.s.
6-甲基-5-庚烯-2-酮	10^{-6}	9	11	n.s.	α -松油烯	10^{-6}	4	16	*
6-Methyl-5-	10^{-4}	9	11	n.s.	α -Terpinene	10^{-4}	7	13	n.s.
hepten-2-one	10^{-2}	13	7	n.s.		10^{-2}	9	11	n.s.
吡啶	10^{-10}	13	7	n.s.	正戊醇	10^{-6}	7	13	n.s.
Indol	10^{-8}	14	6	n.s.	Pentanol	10^{-4}	5	15	*
	10^{-6}	16	4	*		10^{-2}	12	8	n.s.
	10^{-4}	9	11	n.s.					
	10^{-2}	7	13	n.s.					

n.s. 不显著; * 显著; * * 极显著

3 讨论

本研究选用了 8 个大面积栽培的茶树良种,以它们的鲜花为味源,检测中发现低剂量鲜花引诱中华蜜蜂;随着剂量的加大,引诱效应增强,当剂量达到一定阈值时茶树花引诱效应与洁净空气引诱效应之间差异达显著水平;之后,茶树花剂量再增加,引诱效果则下降,个别品种茶树花甚至显现了排斥效应;味源质量与其引诱的蜜蜂数之间相关性显著。本研究也还发现茶树花香气主要组分、茶鲜叶挥发物重要组分对于中华蜜蜂的引诱效应也显示出类似的反应趋势。亦即在确定空间内,随着味源剂量的增加,供试昆虫做出有规则的趋向反应。潘铤等^[4]用 Y 形管嗅觉仪检测了叶蝉三棒缨小蜂对于健康茶梢嫩茎、叶蝉口针刺吸和产卵管刺伤茶梢嫩茎、机械刺伤茶梢嫩茎等多种味源的多个剂量的趋向反应,皆获得了与此类似的行为反应。本课题组从拥有近 3000 份茶树种质的国家茶树资源圃(杭州)挑选了在长江中下游地区和华南地区广泛种植的 23 个茶树良种,从这 23 个良种香花中鉴定了 79 个香气组分,发现在每个品种鲜花中苯乙酮和芳樟醇相对含量皆分别超过鲜花香气总含量 20%^[15]。苯乙酮和芳樟醇的含量不仅分别超过了茶树花香气总量的 20%,而且二者皆显著地吸引中华蜜蜂。成片茶园开花过程中,散发的浓烈香气和茶鲜叶气味招引着中华蜜蜂,尤其是其中的苯乙酮和芳樟醇等组分。这是茶树花引诱中华蜜蜂的主要原因之一。

本研究发现,苯乙酮和芳樟醇在 10^{-6} g/mL 的低剂量便可显著引诱中华蜜蜂。 β -紫罗兰酮、苧烯、*Z*-3-己烯-1-醇、 α -法尼烯、癸醛、亚油酸、*Z*-2-戊烯-1-醇和苯甲醛也显著地引诱中华蜜蜂。然而,水杨酸甲酯、辛醛和橙花醇 3 个组分显示了排斥效应。本研究检测的 24 个茶鲜叶挥发物中,十八醇、正辛醇、吡啶、薄荷醇、薄荷酮、柠檬醛和 β -石竹烯对中华蜜蜂有显著或极显著引诱效应;正戊醇、邻甲苯酚、香茅醇、1, 3-丙二醇、 α -松油烯 5 个组分则表现出显著排斥作用。香叶醇、橙花醇对中华蜜蜂引诱作用没有达到显著水平;柠檬醛在 10^{-2}

g/mL 剂量时对中华蜜蜂有显著吸引作用,这与已有的研究结果一致^[22]。我们课题组发现 AcerCSP3 可能作为中华蜜蜂触角化学感受系统的一部分,在搜寻某些植物花粉蜜源时其作为气味分子运载体而发挥一定的作用,其中 β -紫罗兰酮与 AcerCSP3 具有较强的竞争结合能力^[23]。 β -紫罗兰酮和中华蜜蜂普通气味结合蛋白 AcerASP2 的气味识别力和结合力远大于水杨酸甲酯、香叶醇与 AcerASP2 竞争结合力^[24]。 β -紫罗兰酮与中华蜜蜂化学感受蛋白 CSP1 也有较强结合能力,为蜜蜂偏好性气味^[25]。分析认为,本研究中茶树花和茶鲜叶挥发物中引诱中华蜜蜂的组分质和量皆显著多于排斥中华蜜蜂的组分,茶树花香气和茶鲜叶气味显著引诱中华蜜蜂。

植物挥发物是由多种低浓度的挥发性次生代谢产物组成的混合物^[26-28],昆虫行为受多种挥发物的协同影响。因此,需要将多种单一挥发性组分按其相互间自然比例配成混合物,再测其引诱效果^[29-30]。本组将选择显著引诱蜜蜂的组分,按不同比例配制多种备选引诱剂,结合色板等视觉引诱技术于茶园中进行诱效检测,期望筛选出高效的中华蜜蜂引诱剂,用于蜜蜂行为的调控。

参考文献 (References):

- [1] 卢伟,侯茂林,文吉辉,黎家文.植物挥发性次生物质对植食性昆虫的影响.植物保护,2007,33(03):7-11.
- [2] 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,2008,51(8):830-838.
- [3] 王梦馨,李辉仙,武文竹,孙海潮,石松平,丁源,曹春晖,韩宝瑜.假眼小绿叶蝉对茶梢挥发物的行为反应.应用昆虫学报,2016,53(3):507-515.
- [4] 潘铖,林金丽,韩宝瑜.茶梢信息物引诱叶蝉三棒缨小蜂效应的检测.生态学报,2016,36(12):3785-3795.
- [5] 韩善捷,潘铖,韩宝瑜.假眼小绿叶蝉为害致茶梢挥发物变化及其引诱微小裂骨缨小蜂效应.中国生物防治学报,2016,32(2):142-148.
- [6] De Vega C, Herrera C M, Dötterl S. Floral volatiles play a key role in specialized ant pollination. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics, 2014, 16(1):32-42.
- [7] 莫圣书,赵冬香,陈青.植物挥发物与昆虫行为关系研究进展.热带农业科学,2006,26(6):84-89,93-93.
- [8] 杨冠煌.引入西方蜜蜂对中蜂的危害及生态影响.昆虫学报,2005,48(3):401-406.
- [9] 余林生,邹运鼎,曹义锋,毕守东,巫厚长,丁建,解文飞.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,2008,28(9):4575-4581.
- [10] 孟宪佐.蜜蜂化学生态学通讯与信息素研究进展.生态学报,1997,17(1):83-90.
- [11] 赵红霞,梁勤,张学锋,黄文忠,陈华生,罗岳雄.蜜蜂化学通讯的研究进展.中国农学通报,2014,30(2):1-6.
- [12] 陈璇,胡福良.蜜蜂花粉采集行为的调控机制.应用昆虫学报,2009,46(3):490-494.
- [13] Liu F L, Zhang X W, Chai J P, Yang D R. Pollen phenolics and regulation of pollen foraging in honeybee colony. Behavioral Ecology and Sociobiology, 2006, 59(4):582-588.
- [14] 王晓婧,翁蔚,杨子银,屠幼英.茶花研究利用现状及展望.中国茶业,2004,26(4):8-10.
- [15] Han B Y, Zhou P, Cui L, Fu J Y, Jain N K. Characterization of the key aromatic constituents in tea flowers of elite Chinese tea cultivars. International Journal of Tea Science, 2007, 6:31-36.
- [16] 曾亮,傅丽亚,罗理勇,马梦君,黎盛.不同品种和花期茶树花挥发性物质的主成分和聚类分析.食品科学,2015,36(16):88-93.
- [17] 甘秀海,梁志远,王道平,王瑞.3 种山茶属花香气成分的 HS-SPME/GC-MS 分析.食品科学,2013,34(6):204-207.
- [18] 顾亚萍,钱和.茶树花香气成分研究及其香精的制备.食品研究与开发,2008,29(1):187-190.
- [19] 陈宗懋.中国茶叶大辞典.北京:中国轻工业出版社,2000:323-359.
- [20] 袁海波,尹军峰,叶国注,许勇泉,汪芳.茶叶香型及特征物质研究进展(续).中国茶叶,2009,31(9):11-13.
- [21] Mu D, Cui L, Ge J, Wang M X, Liu L F, Yu X P, Zhang Q H, Han B Y. Behavioral responses for evaluating the attractiveness of specific tea shoot volatiles to the tea green leafhopper, *Empoasca vitis*. Insect Science, 2012, 19(2):229-238.
- [22] Trhlin M, Rajchard J. Chemical communication in the honeybee (*Apis mellifera* L.): a review. Veterinarni Medicina, 2011, 56(6):265-273.
- [23] 李红亮,张林雅,倪翠侠,商晗武.中华蜜蜂化学感受蛋白 AcerCSP3 的配基结合功能分析.昆虫学报,2011,54(3):259-264.
- [24] 李红亮,张林雅,庄树林,倪翠侠,韩宝瑜,商晗武.中华蜜蜂普通气味结合蛋白 ASP2 的气味结合功能模式分析.中国农业科学,2013,46(1):154-161.
- [25] 谭静,宋欣密,傅晓斌,唐明珠,吴帆,华启云,李红亮.中华蜜蜂化学感受蛋白 CSP1 的功能模式分析及亚细胞定位.中国农业科学,2017,50(15):3052-3062.
- [26] 林健,刘文波,孟昭军,严善春.缓释单萜类挥发物对落叶松毛虫行为及落叶松主要防御蛋白的影响.生态学报,2014,34(11):2978-2985.
- [27] Maffei M E, Gertsch J, Appendino G. Plant volatiles: production, function and pharmacology. Natural Product Reports, 2011, 28(8):1359-1380.
- [28] McCormick A C, Unsicker S B, Gershenzon J. The specificity of herbivore-induced plant volatiles in attracting herbivore enemies. Trends in Plant Science, 2012, 17(5):303-310.
- [29] 赵锦年,林长春,姜礼元,吴沧松,姚剑飞,俞盛明. $M_{99.1}$ 引诱剂诱捕松墨天牛等松甲虫的研究.林业科学研究,2001,14(5):523-529.
- [30] 钮羽群,王梦馨,崔林,叶火香,潘铖,韩宝瑜.迷迭香挥发物不同组合对假眼小绿叶蝉行为的调控.生态学报,2015,35(7):2380-2387.