蜜蜂对梨和油菜花朵挥发性气味物质的响应研究*

张旭凤[1**] 申红英[2] 曹 嵌[2] 邓晓银[2] 王 锋[2]
郭丽娜[2] 武 敏[1] 郭 媛[1***]

(1.山西农业大学园艺学院，太原 030031；2. 山西农业大学动物科学学院，晋中 030801)

摘 要 【**目的**】 探究同花期的酥梨花和油菜花挥发性气味物质的种类和含量的差异，筛选影响蜜蜂采集偏好的挥发性气味物质，开发能刺激蜜蜂给梨树授粉的诱导剂，也为定向筛选梨树授粉蜜蜂品种提供理论依据。【**方法**】 利用顶空固相微萃取（Solid phase microextraction，SPME）和气相色谱-质谱联用技术（Gas chromatograph-mass spectrometer，GC-MS）分析砀山酥梨 *Pyrus bretschneideri* cv. Dangshansu 和甘蓝型油菜 *Brassica napus* 的花朵挥发性气味物质，然后利用触角电位技术（Electroantennography，EAG）和 Y 型嗅觉仪实验分析上述鉴定的气味物质对中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* （简称中蜂）和意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica*（简称意蜂）的影响。【**结果**】 梨花大蕾期、初绽期和盛开期鉴定出挥发性化合物均为 52 种，油菜花 3 个花期鉴定出挥发性化合物分别为 73、73 和 69 种；梨和油菜花 3 个花期中特有的挥发性气味物质分别为 40 和 61 种；它们共有挥发性气味物质为 12 种，梨花 3 个花期中乙偶姻和 1,3-二叔丁基苯相对含量均高于 9%，苯甲酸相对百分含量 3 个花期均差异显著（$P<0.05$）；油菜中乙偶姻、1-辛醇、1,3-二叔丁基苯和 2,2,4-三甲基戊二醇异丁酯相对百分含量 3 个花期均差异显著（$P<0.05$）。3 个花期中，砀山酥梨和甘蓝型油菜花共有的挥发性气味物质中乙偶姻相对含量差异均极显著（$P<0.01$）。相较于石蜡油，中蜂和意蜂触角对所测试的 71 种挥发性气味物质均产生电信号响应，其中中蜂对乙酸、丙酸、异戊醇、1-戊烯-3-醇和异己酸乙酯反应较强，意蜂对乙酸、丙酸、异丁酸、乙二醇单异丁醚和异己酸乙酯反应较强。中蜂和意蜂触角对其中 22 种挥发性气味物质的相对响应值差异显著（$P<0.05$）。EAG 实验表明，中蜂对苯甲醇、邻苯二甲酸二异丁酯、2-羟基-3-甲基戊酸甲酯、辛酸、异戊醇、2-甲基丁醇、芳樟醇、十一烷、十二烷、十五烷和十六烷的相对响应值显著高于意蜂（$P<0.05$），对苯丙酸乙酯、茴香酸乙酯和 1-戊烯-3-醇响应值极显著高于意蜂（$P<0.01$）；意蜂对 1,3-二叔丁基苯、辛酸乙酯、乙偶姻、丙酸、己酸和二甲基二硫相对响应值显著高于中蜂（$P<0.05$），对异丁酸和乙二醇单异丁醚响应值极显著高于中蜂（$P<0.01$）。在 Y 型嗅觉仪实验中，中蜂对苯乙醇、苯甲酸甲酯、长叶环烯和芳樟醇的选择率显著高于对照组（$P<0.05$）；对二甲基三硫、乙酸的选择率显著低于对照组（$P<0.05$）。意蜂对苯甲酸甲酯、甲基庚烯酮、α-法尼烯、植酮、2-甲基丁酸乙酯和异戊醇的选择率显著高于对照组（$P<0.05$）；对二甲基二硫、乙偶姻、乙酸、2-甲基丁酸、1-辛烯-3-醇和辛醇的选择率显著低于对照组（$P<0.05$）。【**结论**】 梨花中释放的乙偶姻对蜜蜂有趋避作用，油菜花中释放的苯甲酸甲酯对蜜蜂有引诱作用，这可能是影响蜜蜂在梨花和油菜同花期时偏好采集油菜花的原因之一。

关键词 中华蜜蜂；意大利蜜蜂；梨树授粉；油菜；花朵挥发性气味物质；触角电位

*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资助”（CARS-44-KXJ2）；山西省应用基础研究计划（青年）项目（202103021223142）；山西农业大学博士基金项目（2021BQ53）

**第一作者 First author，E-mail：zhangxf@sxau.edu.cn

***通讯作者 Corresponding author，E-mail：yysgy3@163.com

收稿日期 Received：2023-08-24；接受日期 Accepted：2024-01-07

Honeybee responses to volatile compounds from pear (*Pyrus bretschneideri* cv. Dangshansu) and rapeseed (*Brassica napus*) flowers

ZHANG Xu-Feng[1**] SHEN Hong-Ying[2] CAO Qian[2] DENG Xiao-Yin[2]
WANG Feng[2] GUO Li-Na[2] WU Min[1] GUO Yuan[1 ***]

(1.College of Horticulture, Shanxi Agricultural University, Taiyuan 030031, China;
2. College of Animal Science, Shanxi Agricultural University, Jinzhong 030801, China)

Abstract [Aim] To explore the differences in the types and contents of volatile compounds in pear and rapeseed flowers at the same flowering stage, and to identify the volatile compounds that influence bee host plant preference. The findings of this study will facilitate the development of inducers that can stimulate bees to pollinate pear trees, thereby providing a guide for the selective screening of bee species specialized for pear pollination. **[Methods]** Headspace solid phase microextraction (SPME) and gas chromatograph-mass spectrometer (GC-MS) were used to analyze the volatile compounds in the flowers of *Pyrus bretschneideri* cv. Dangshansu and *Brassica napus* at different flowering stages. Using electroantennography (EAG) we isolated the volatile compounds from pear and rapeseed flowers that generated significant responses from *Apis cerana* and *A. mellifera ligustica*. A Y-tube olfactometer was then used to verify the volatile compounds *A. cerana cerana* and *A. mellifera ligustica* showed significant foraging preferences towards. **[Results]** A total of 52 volatile compounds were identified in the big bud stage, initial bloom stage, and full bloom stage of pear flower. A total of 61 of volatile compounds were identified from the three flowering stages of rapeseed flower. There were 12 shared volatile compounds in the three flowering stages of pear and rapeseed. In the three flowering stages of the pear, the relative content of acetoin and 1,3-di-tert-butylbenzene exceeded 9%. Additionally, the relative content of benzoic acid was significantly different between the three flowering stages ($P<0.05$). There were significant difference in the relative contents of acetoin, 1-octanol, 1,3-di-tert-butylbenzene, and kodaflex txib between the three flowering stages of rapeseed ($P<0.05$). An analysis of the common volatile compounds found in pear and rapeseed flowers at identical flowering stages showed there was a significant difference in the relative content of acetoin between the three flowering stages ($P<0.01$). Compared to paraffin oil, the antennae of *A. cerana cerana* and *A. mellifera ligustica* produced electrical signal responses to the 71 tested volatile compounds. Of these, *A. cerana cerana* exhibited the strong responses to acetic acid, propionic acid, 3-methyl-1-butanol, 1-penten-3-ol and pentanoic acid, 4-methyl-, ethyl ester, while *A. mellifera ligustica* showed strong responses to acetic acid, propionic acid, 2-methyl- propanoic acid, 2-isobutoxyethanol and pentanoic acid, 4-methyl-, ethyl ester. There was a significant difference in the relative response values of *A. cerana cerana* and *A. mellifera ligustica* antennae to 22 volatile compounds ($P<0.05$). EAG experiments showed that bees exhibited significantly higher response values to benzyl alcohol, diisobutyl phthalate, methyl 2-hydroxy-3-methylvalerate, octanoic acid, 3-methyl-1-butanol, 2-methylbutanol, linalool, undecane, dodecane, pentadecane, and hexadecane compared to *A. mellifera ligustica*. Additionally, the response values of ethyl 3-phenylpropionateb, 4-methoxy ethylbenzoate and 1-penten-3-ol were also significantly higher than those of *A. mellifera ligustica* ($P<0.01$). The relative response values of *A. mellifera ligustica* to 1,3-di-tert-butylbenzene, octanoic acid, ethyl ester, acetoin, propionic acid, hexanoic acid, and dimethyl disulfide were significantly higher than those of *A. cerana cerana* ($P<0.05$). Furthermore, the response values of *A. mellifera ligustica* to 2-methyl-propanoic acid, 2-isobutoxyethanol were also significantly higher than those of *A. cerana cerana* ($P<0.01$). In the Y-shaped olfactometer experiment, the selection rates of phenethyl alcohol, methyl benzoate, longifolene, and linalool by *A. cerana cerana* were significantly higher compared to the control group ($P<0.05$). Additionally, the selection rate of dimethyl trisulfide and acetic acid was significantly lower than that of the control group ($P<0.05$). The selection rates of benzoic acid, methyl ester, 6-methyl-5-hepten-2-one, α-farnesene, 6,10,14-trimethyl-2- pentadecanone, ethyl-methylbutyrate, and 3-methyl-1-butanol in *A. mellifera ligustica* were significantly higher compared to the control group ($P<0.05$). Whereas, the selection rates of dimethyl disulfide, acetoin, acetic acid, 2-methyl-butanoic acid, 1-octene-3-ol, and 1-octanol were significantly lower than the control group ($P<0.05$). **[Conclusion]** The acetoin released from pear flowers has a repelling effect on honeybees. In contrast, benzoic acid and methyl ester released from rapeseed flowers have an attractive

effect on honeybees. This could be a key factor determining why bees display a preference for rapeseed flowers when pear and rapeseed flower simultaneously.

Key words　*Apis cerana cerana*; *Apis mellifera ligustica*; pear pollination; rapeseed; flower volatile compounds; EAG

梨树是我国主要栽培的果树，其果实产量位居国内第三，仅次于苹果和柑橘。梨树是自花授粉，自然情况下结实率低且品质差，无法满足生产需要，必须合理配置授粉品种并且进行辅助授粉，才能确保梨树丰产、稳产和果实的美观优质。现阶段梨树主要的辅助授粉方式有传统人工授粉和外界昆虫授粉（Lee *et al.*，2017）。人工授粉存在费时、费工、授粉不均等问题，且大幅增加农户种植成本（王宇，2014）。相对而言，昆虫授粉则具有较大优势。然而，随着农业现代化集约化模式的发展，土地过度利用、农药大量喷施和使用，自然界野生传粉昆虫的生存环境受到严重破坏，造成野生传粉昆虫种类和数量明显下降（Mashilingi *et al.*，2021）。此外，梨树种植品种单一且种植面积不断扩大，这就导致梨树花期授粉需求与授粉昆虫种类和数量明显不足的矛盾日益突出。

蜜蜂是自然界最主要的授粉昆虫，全球约有超过 1/3 的农作物都需要蜜蜂授粉，蜜蜂授粉在保障人类食物安全中发挥着十分重要的作用（Klein *et al.*, 2007）。中华蜜蜂 *Apis cerana cerana*（以下简称中蜂）和意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica*（以下简称意蜂）是我国主要饲养的蜜蜂，它们在促进农业生产和维护生态多样性中发挥着重要作用（Partap, 2010）。本团队经过多年研究已经成功建立起一套梨树蜜蜂授粉技术，并在晋南地区运城市、晋中地区平遥和太谷等地进行了示范推广，取得了良好效果（郭媛, 2013; 郭媛等, 2015）。但是，在授粉技术应用中发现，梨树与油菜 *Brassica napus* 存在花期重叠，且蜜蜂在为梨树授粉时，偏好采集油菜花，造成蜜蜂为梨树授粉的专一性下降，严重影响蜜蜂给梨树授粉的效果（郭媛等，2020）。这是因为不同植物的花朵挥发性气味物质会影响蜜蜂的访问频率（Wright *et al.*，2002）和采集偏好（Sharma *et al.*，2023）。比如，欧洲西洋梨 *Pyrus communis* 的花朵挥发性气味物质中相对含量最高的化合物是 2-羟基-3-甲基戊酸甲酯、芳樟醇和苯甲酸甲酯，这些物质对意大利蜜蜂触角具有电生理活性（Lucas *et al.*，2019）。同时，不同蜂种的采集行为也是影响作物授粉效率的关键因素（Gemeda，2018）。在利用中蜂和意蜂为梨树授粉时，发现中蜂与我国本土梨树品种的适应性更好，而意大利蜜蜂仅第一天采集梨花且采集频率低，随着采集时间的延长更偏好采集同花期的油菜（Gemeda *et al.*，2017）。目前，国内外对梨花和油菜花挥发性气味物质已开展了部分研究，发现我国本土梨树品种花朵挥发性气味物质中异戊醇和柠檬烯的相对含量最高，可能会影响蜜蜂的授粉行为（Ma *et al.*，2021; Su *et al.*，2022）。

基于嗅觉系统的化学感受是昆虫与环境交流的主要方式，而作为社会性昆虫的蜜蜂，其嗅觉系统更为重要（吴帆等, 2021），有研究表明嗅觉系统在调控蜜蜂的采集偏好方面发挥着重要功能（Guo *et al.*，2019）。当前，从嗅觉系统入手，针对同花期的酥梨和油菜花挥发性气味物质对蜜蜂采集行为偏好的影响研究仍然较少。本研究利用顶空固相微萃取（Solid phase microextraction，SPME）和气相色谱-质谱联用技术（Gas chromatograph-mass spectrometer，GC-MS）分析不同花期的砀山酥梨 *Pyrus bretschneideri* cv. Dangshansu 和甘蓝型油菜 *Brassica napus* 的花朵挥发性气味物质，利用触角电位技术（Electroantennography，EAG）筛选出中蜂和意蜂对两种花朵中具有显著响应的挥发性气味物质，并通过 Y 型嗅觉仪验证中蜂和意蜂对显著响应的花朵挥发性物质的趋向性。该研究结果将为研制和开发梨树蜜蜂授粉诱导剂和梨树蜜蜂授粉蜂种的定向筛选提供重要的理论依据，也为后续深入推广和应用梨树蜜蜂授粉技术提供新的研究思路。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

中蜂、意蜂均来自山西农业大学动物科学学院养蜂场（E：112.58.3°，N：37.4.2°），取巢门口携带花粉的采集蜂进行后续试验。

1.2 供试植物

2021 年 4 月中旬在山西省运城市盐湖区泓芝驿镇北古村（E：110.87.7°，N：35.18.1°），于早上 8:00，无风天气，选择表面无露水，无药物喷洒，无病虫害的砀山酥梨花和甘蓝型油菜花。根据花朵的开放程度分为大蕾期（花朵呈膨大状未张开），初绽期（花朵呈初开且雌、雄蕊未露出），盛开期（花朵呈完全开放未散粉）。将不同开放程度的花朵放置放入样品瓶中，用 PE 材质塑料膜密封，以空的样品瓶作为对照。

1.3 试验所需化合物

本试验所用的标准化合物见表 1，化合物的选取依据梨、油菜花朵挥发性气味物质的鉴定结果而定。将挥发性气味物质成分的纯品分别溶于液体石蜡中，混合配成 5、50、200、400 和 500 g/L 5 种不同浓度，以液体石蜡为对照。

1.4 梨、油菜的花朵挥发性物质测定

3 个不同花期的整朵梨花和油菜花各称取 1 g，放入 20 mL 顶空萃取瓶中加盖密封后进行萃取，萃取温度：30 ℃，平衡时间：5 min，萃取时间：30 min。放入 70 ℃水浴锅中，恒温水浴 60 min。将老化好的 SPME 萃取头部插入萃取瓶的顶空，推出纤维头吸附 30 min。吸附完成后将萃取头部取出，插入气相色谱-质谱联用仪的进样口进行解吸附 3 min。GC-MS 仪器型号：岛津 GC-MS 2010 Plus。实验使用的色谱柱是 HP-INNOWAX 气相毛细管柱（30 m×0.25 mm×0.25 μm），载气为纯氦气（99.99%），不分流进样，流速 1.0 mL/min；进样口温度 250 ℃。程序升温，起始柱温度 40 ℃保持 8 min，以 3 ℃/min 的速度升温到 160 ℃保持 1 min，最后以 10 ℃/min 的速度升温到 240 ℃保持 5 min。GC-MS 接口温度 240 ℃；离子源温度 200 ℃；四极杆温度 150 ℃；电子轰击能量源（EI）电离能量为 70 eV；全质谱扫描模式，扫描质量范围 35-550 Amu。每个样品每个时期重复 5 次。化合物鉴定根据标准样品（C_2-C_{25} 正构烷烃）的色谱保留时间、扫描图谱与 NIST20 质谱库进行对照并结合相关文献人工图谱解析，根据气相色谱峰面积，采用峰面积归一化法计算出各气味物质成分的相对含量。

1.5 EAG 的测定

取足部带花粉的采集蜂，沿触角基部切下触角，取适量的 SpectraR360 电极胶将触角和电极连接，待信号稳定后图像中出现一条相对平稳的基线方可进行测试。模拟信号采用 EAG 软件 2.6 版（Syntech，德国）进行分析，取石蜡油配制的样品 10 μL 均匀滴在滤纸（3 cm×1.5 cm）上作为刺激源。以同等剂量的石蜡油作为对照。刺激气流为 300 mL/min，连续气流为 400 mL/min，持续时间 1 s，每次样品间隔保持在 30 s 以上，确保蜜蜂触角能够恢复初始状态。每个气味样本分别用 8 个蜜蜂触角进行 EAG 测定，每根触角刺激 5 次以上。样品测试前后用参照化合物液体石蜡油各刺激一次。

1.6 Y 型嗅觉仪行为学测定

行为学的测定参考张爱馨（2022）的方法，嗅觉仪由全透明有机玻璃其内径 1.7 cm，臂长 25 cm，角度 65°的 Y 型管组成，用真空泵引导空气流动，依次通过流量计、活性炭、气味瓶、Y 型管。将含有 10 μL 挥发性溶液的滤纸条（15 mm×30 mm）放在 Y 管的一个臂上作为测试臂，另一个含有 10 μL 液体石蜡油作为对照臂。每一种样品测试 50 只蜜蜂。每只蜜蜂仅测试一次，且没有暴露在任何挥发性气味物质。每只观察 5 min。当蜜蜂进入，超过 10 cm，并在那里停留至少 2 min，视为“选择”。否则，视为“无选择”。在测定过程中，交替改变测试臂和对照臂的位置，以消除不同方位对蜜蜂的干扰。每种样品测试后，使用 75%酒精和蒸馏水清洗气味瓶和嗅觉仪，直至烘干为止，消除残留气味，以待下次使用。

表 1　用于触角电位和行为学试验的标准化合物

Table 1　Standard compounds used in EAG and Y-Tube olfactometer bioassay

化合物 Chemical compounds	CAS 登记号 CAS no.	纯度（%）Purity (%)	来源 Origin
2,6,10-三甲基十三烷 2,6,10-Trimethyltridecane	3891-99-4	95	Aladdin
十五烷 Pentadecane	629-62-9	97	Aladdin
二十一烷 Heneicosane	629-94-7	99	Macklin
十一烷 Undecane	1120-21-4	≥99.5	Macklin
十二烷 Dodecane	112-40-3	≥99.5	Macklin
十四烷 Tetradecane	629-59-4	≥99.5	Macklin
十六烷 Hexadecane	544-76-3	≥99.5	Macklin
十七烷 Heptadecane	629-78-7	≥99.5	Macklin
二十烷 Eicosane	112-95-8	≥99	Macklin
植酮 6,10,14-Trimethyl-2-pentadecanone	502-69-2	99	Aladdin
乙偶姻 Acetoin	513-86-0	97	Aladdin
乙酸乙酯 Ethyl acetate	141-78-6	≥99.5	Aladdin
2-甲基丁酸乙酯 Ethyl 2-methylbutyrate	7452-79-1	≥99.5	Aladdin
异己酸乙酯 Pentanoic acid, 4-methyl-, ethyl ester	25415-67-2	97	Aladdin
辛酸乙酯 Octanoic acid, ethyl ester	106-32-1	99	Aladdin
辛酸甲酯 Octanoic acid, methyl ester	111-11-5	99	Aladdin
癸酸甲酯 Decanoic acid, methyl ester	110-42-9	99	Aladdin
癸酸乙酯 Decanoic acid, ethyl ester	110-38-3	99	Aladdin
月桂酸乙酯 Dodecanoic acid, ethyl ester	106-33-2	99	Aladdin
月桂酸甲酯 Dodecanoic acid, methyl ester	111-82-0	≥99.5	Macklin
棕榈酸乙酯 Hexadecanoic acid, ethyl ester	628-97-7	99	Macklin
亚麻酸乙酯 Ethyl 9,12,15-octadecatrienoate	1191-41-9	98	Macklin
2,2,4-三甲基戊二醇异丁酯 Kodaflex txib	6846-50-0	98	Macklin
乙酸 Acetic acid	64-19-7	99.5	Aladdin
丙酸 Propanoic acid	79-9-4	≥99.5	Aladdin
异丁酸 2-Methyl- propanoic acid	79-31-2	≥99.5	Aladdin
丁酸 Butanoic acid	107-92-6	99	Aladdin
2-甲基丁酸 2-Methyl-butanoic acid	116-53-0	98	Aladdin
己酸 Hexanoic acid	142-62-1	≥99.5	Aladdin
辛酸 Octanoic acid	124-07-2	≥99.5	Aladdin
癸酸 Decanoic acid	334-48-5	≥99.5	Aladdin
月桂酸 Dodecanoic acid	143-07-7	98	Aladdin
芳樟醇 Linalool	78-76-6	98	Aladdin
甲硫醇 Methanethiol	74-93-1	5%丙二醇 5% in propanediol	Macklin
二甲基二硫 Disulfide, dimethyl	624-92-0	98	Macklin
二甲基三硫 Dimethyl trisulfide	3658-80-8	98	Macklin

续表 1 (Table 1 continued)

化合物 Chemical compounds	CAS 登记号 CAS no.	纯度（%）Purity (%)	来源 Origin
6-庚烯腈 6-Heptene-1-nitrile	5048-25-9	> 99.0	Aladdi
甲基庚烯酮 6-Methyl-5-hepten-2-one	110-93-0	98	Aladdin
长叶环烯 Longicyclene	1137-12-8	≥99.5	Aladdin
α-法尼烯 α-Farnesene	502-61-4	98	Aladdin
乙二醇单异丁醚 2-Isobutoxy-ethanol	4439-24-1	98	Aladdin
1-戊烯-3-醇 1-Penten-3-ol	616-25-1	98	Macklin
2-甲基丁醇 2-Methyl-1-butanol	137-32-6	98	Aladdin
4-戊烯-1-醇 4-Penten-1-ol	821-09-0	96	Aladdin
3-己烯-1-醇 3-Hexen-1-ol	928-96-1	98	Aladdin
5-己烯-1-醇 5-Hexen-1-ol	821-41-0	97	Aladdin
1-辛醇 1-Octanol	111-87-5	99	Aladdin
2,3-丁二醇 [R-（R*,R*）]-2,3-Butanediol	24347-58-5	97	Macklin
3-丁烯-2-醇 3-Buten-2-ol	598-32-3	98	Aladdin
1-辛烯-3-醇 1-Octen-3-ol	3391-84-0	98	Aladdin
异戊醇 3-Methyl-1-butanol	123-51-3	≥99.5	Aladdin
1-庚醇 1-Heptanol	111-70-6	99	Aladdin
1-壬醇 1-Nonanol	143-08-8	99	Aladdin
1-癸醇 1-Decanol	112-30-1	99	Aladdin
邻氨基苯甲酸甲酯 Methyl anthranilate	134-20-3	98	Macklin
香叶基芳樟醇 Geranyl-linalool	1113-21-9	95	Aladdin
苯并噻唑 Benzothiazole	95-16-9	99	Aladdin
苯丙酸乙酯 Ethyl 3-phenylpropionateb	2021-28-5	98	Macklin
苯乙醇 Phenylethyl alcohol	60-12-8	99	Macklin
苯甲酸 Benzoic acid	65-85-0	98	Aladdin
邻苯二甲酸二异丁酯 Diisobutyl phthalate	84-69-5	98	Aladdin
3-苯基丙腈 3-Phenylpropionitrile	645-59-0	≥98	Macklin
茴香酸乙酯 4-Methoxy ethylbenzoate	94-30-4	98	Aladdin
茴香醛 4-Methoxy-benzaldehyde	123-11-5	98	Macklin
苯甲酸甲酯 Benzoic acid, methyl ester	93-58-3	≥99.5	Aladdin
苯甲酸乙酯 Benzoic acid, ethyl ester	93-89-0	≥99.5	Aladdin
苯甲醇 Benzyl alcohol	100-51-6	99	Aladdin
1,3-二叔丁基苯 1,3-Di-tert-butylbenzene	1014-60-4	> 98	Aladdin
苯甲醛 Benzaldehyde	100-52-7	99.5	Aladdin
2-羟基-3-甲基戊酸甲酯 Methyl 2-hydroxy-3-methylpentanoate	41654-19-7	99	Macklin

1.7 数据分析

数据采用 SPSS25.0 分析，对不同花期的梨和油菜花朵挥发性气味物质含量单因素 ANOVA 分析，然后采用 Duncan's 多重比较法检验（$P<0.05$，$P<0.01$）。采用 t 检验（$P<0.05$）比较同一浓度下中蜂、意蜂 EAG 相对响应值的差异。

$$\text{EAG相对反应值} = \frac{\text{样品反应值} - \text{对照前后2次均值}}{\text{对照前后2次均值}};$$

χ^2 检验比较中蜂、意蜂对样品选择率的差异，选择样品组，表明样品物质对蜜蜂具有引诱性，选择对照组，表明样品物质对蜜蜂具有趋避性。Origin 2021 作图。

$$\text{趋向选择率} = \frac{\text{选择某种气味的蜜蜂数}}{\text{做出选择的蜜蜂总数}} \times 100\%。$$

2　结果与分析

2.1　砀山酥梨和甘蓝型油菜花中挥发性气味物质鉴定和分析

梨花大蕾期、初绽期和盛开期鉴定出挥发性化合物均为 52 种，其中脂肪酸衍生物 40 种（烃类 24 种、醇类 8 种、酯类 6 种、酮类 1 种、酸类 1 种）、苯环类芳香型化合物 6 种，萜类化合物 6 种（图 1 和表 2）。油菜花大蕾期、初绽期和盛开期鉴定出挥发性化合物分别为 73、73 和 69 种，其中脂肪酸及其衍生物 43 种（酯类 16 种、醇类 13 种、酸类 9 种、烃类 3 种、酮类 2 种），苯环类芳香型化合物 16 种，萜类化合物 1 种，其他类氨基酸代谢衍生物（含氮或硫）13 种（图 1 和表 3）。

分析表明，梨花和油菜花 3 个花期共有挥发性气味物质有 12 种（图 2：A，B），梨花和油菜花相比，梨花中相对含量较高的有 1,3-二叔丁基苯、乙偶姻、2,2,4-三甲基二醇异丁酯、2-甲基丁酸和二十一烷，油菜中相对含量较高的有 2,6,10-三甲基十三烷和苯乙醇。在梨花中，乙偶姻相对含量分别为 9.330±0.080，9.560±0.220，9.270±0.110，1,3-二叔丁基苯 3 个花期相对含量分别为 9.280±0.310，9.370±0.340，10.610±0.210，二者在梨花 3 个花期中相对含量均高于 9%；十五烷和乙偶姻随着花期的延长，相对百分含量无显著差异（$P>0.05$）；苯甲酸相对百分含量 3 个花期差异显著（$P<0.05$），且在大蕾期含量最高。油菜 3 个花期中乙偶姻、1-辛醇、1,3-二叔丁基苯、2,6,10-三甲基十三烷和 2,2,4-三甲基戊二醇异丁酯相对含量在 3 个花期间差异显著（$P<0.05$），且 1,3-二叔丁基苯、2,2,4-三甲基戊二醇异丁酯和 2,6,10-三甲基十三烷在油菜盛开

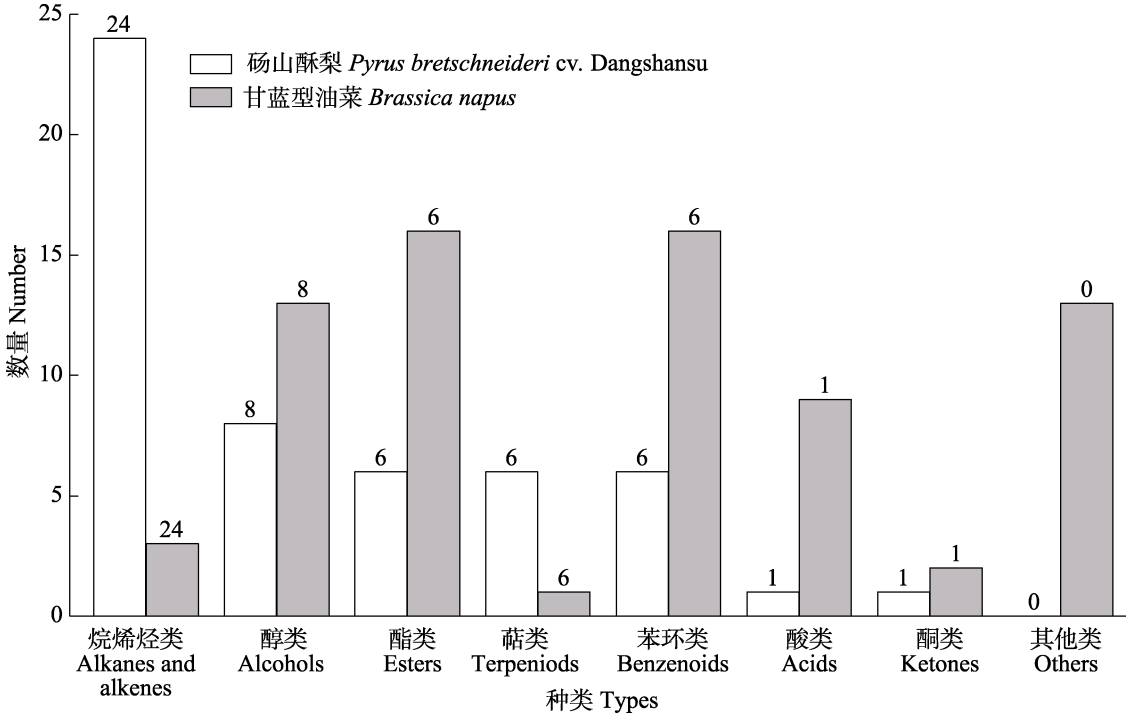

图 1　砀山酥梨和甘蓝型油菜花朵挥发性气味物质的种类

Fig. 1　Types of volatile compounds in *Pyrus bretschneideri* cv. Dangshansu and *Brassica napus*

表 2　不同花期砀山酥梨花朵挥发性气味物质的组分和含量

Table 2　The components and relative content of volatile compounds in flowers of *Pyrus bretschneider* cv. Dangshansu at different flowering stage

	化合物 Chemical compounds	CAS 登记号 CAS no.	保留时间（min） Retention time (min)	相对百分含量（%）Relative content (%) (mean±SE)		
				大蕾期 Big bud stage	初绽期 Initial bloom stage	盛开期 Full bloom stage
Ⅰ	**脂肪族化合物 Fatty acid derivative**					
	烷烯烃类 Alkanes and alkenes					
1	2,4-二甲基庚烷 2,4-Dimethyl-heptane	2213-23-2	2.471	2.830±0.060 b	3.100±0.024 b	3.450±0.070 a
2	4-甲基辛烷 4-Methyl-octane	2216-34-4	2.806	1.240±0.110 b	1.120±0.170 b	1.930±0.050 a
3	2,4,6-三甲基辛烷 2,4,6-Trimethyl-octane	62016-37-9	4.270	2.010±0.160 a	1.140±0.140 b	1.790±0.030 a
4	十一烷 Undecane	1120-21-4	5.352	1.100±0.050 b	2.050±0.140 a	1.850±0.010 a
5	4-甲基癸烷 4-Methyl-decane	2847-72-5	5.673	0.630±0.090 a	0.540±0.070 a	0.460±0.040 a
6	2-甲基-5-乙基辛烷 5-Ethyl-2-methyl-octane	62016-18-6	6.593	1.090±0.110 b	1.720±0.320 a	1.900±0.380 a
7	2,3-二甲基壬烷 2,3-Dimethyl-nonane	2284--6-2	7.287	0.280±0.030 b	0.260±0.030 b	0.370±0.010 a
8	3,7-二甲基癸烷 3,7-Dimethyl-decane	17312-54-8	8.617	1.810±0.150 a	1.390±0.070 b	1.660±0.020 a
9	十二烷 Dodecane	112-40-3	11.942	0.140±0.020 b	0.600±0.070 a	0.640±0.020 a
10	十四烷 Tetradecane	629-59-4	13.274	0.070±0.010 c	0.450±0.030 a	0.670±0.040 a
11	十五烷 Pentadecane	629-62-9	14.338	1.740±0.090 a	1.720±0.070 a	1.680±0.210 a
12	2,5-二甲基十一烷 2,5-Dimethyl-undecane	17301-22-3	14.532	0.590±0.020 b	2.570±0.280 a	3.000±0.240 a
13	十六烷 Hexadecane	544-76-3	16.110	0.480±0.060 a	0.310±0.020 b	0.360±0.050 a
14	4,6-二甲基十二烷 4,6-Dimethyl-dodecane	61141-72-8	16.506	0.590±0.060 a	0.290±0.050 b	0.300±0.050 b
15	5-甲基十四烷 5-Methyl-tetradecane	25117-32-2	17.106	1.260±0.130 a	0.900±0.090 b	1.070±0.120 a
16	2,6,11-三甲基十二烷 2,6,11-Trimethyl-dodecane	31295-56-4	17.414	2.640±0.180 a	2.640±0.170 a	2.740±0.140 a
17	5-（2-甲基丙基）壬烷 5-(2-Methylpropyl)-nonane	62185-53-9	17.820	0.370±0.060 a	0.070±0.010 b	0.070±0.010 b
18	4,8-二甲基壬-1,3,7 三烯 4,8-Dimethylnona-1,3,7-triene	19945-61-0	20.266	0.440±0.004 c	1.820±0.160 a	0.980±0.030 b
19	11-(1-乙基丙基)二十一烷 11-(1-Ethylpropyl)-Heneicosane,	55282-11-6	20.980	0.350±0.010 a	0.150±0.020 b	0.130±0.010 b

续表 2 (Table 2 continued)

	化合物 Chemical compounds	CAS 登记号 CAS no.	保留时间（min） Retention time (min)	相对百分含量（%）Relative content (%) (mean±SE)		
				大蕾期 Big bud stage	初绽期 Initial bloom stage	盛开期 Full bloom stage
20	十七烷 Heptadecane	629-78-7	24.057	0.450±0.010 a	0.380±0.030 a	0.350±0.030 a
21	2,6,10-三甲基十三烷 2,6,10-Trimethyltridecane	3891-99-4	26.744	0.670±0.020 a	0.420±0.040 b	0.410±0.040 b
22	二十烷 Eicosane	112-95-8	27.159	0.530±0.040 a	0.410±0.070 ab	0.330±0.030 b
23	(3E,7E)-4,8,12-Trimethyltrideca-1,3,7,11-tetraene	66235-06-7	41.228	0.730±0.070 b	0.580±0.110 b	1.350±0.040 a
24	二十一烷 Heneicosane	629-94-7	50.434	4.990±0.130 a	4.740±0.390 a	3.800±0.230 b
	醇类 Alcohols					
1	乙醇 Ethanol	64-17-5	3.950	2.510±0.130 a	2.670±0.050 a	2.220±0.050 b
2	异戊醇 3-Methyl-1-butanol	123-51-3	15.661	4.250±0.250 a	4.640±0.370 a	4.620±0.380 a
3	2-丙基-1-庚醇 2-Propyl-1-heptanol	10042-59-8	15.765	0.490±0.030 a	0.430±0.030 b	0.570±0.020 a
4	1-辛烯-3-醇 1-Octen-3-ol	3391-84-0	27.313	1.810±0.080 b	1.830±0.320 b	2.850±0.040 a
5	1-庚醇 1-Heptanol	111-70-6	27.451	2.020±0.200 b	1.750±0.280 b	2.780±0.220 a
6	1-辛醇 1-Octanol	111-87-5	31.799	2.200±0.140 b	1.810±0.100 b	2.880±0.190 a
7	1-壬醇 1-Nonanol	143-08-8	35.843	1.900±0.010 b	1.510±0.190 b	2.380±0.120 a
8	1-癸醇 1-Decanol	112-30-1	39.696	1.470±0.160 b	1.150±0.060 c	2.050±0.050 a
	酮类 Ketones					
1	乙偶姻 Acetoin	513-86-0	19.301	9.330±0.080 a	9.560±0.220 a	9.270±0.110 a
	酯类 Esters					
1	2-羟基-3-甲基丁酸甲酯 Butyric acid, 2-hydroxy-3-methyl-methyl ester	17417-00-4	24.929	0.560±0.100 a	0.330±0.040 b	0.340±0.040 b
2	Oxalic acid, 2-ethylhexyl hexyl ester	6420725	17.943	0.600±0.080 b	1.120±0.040 a	1.010±0.010 a
3	2-羟基-3-甲基戊酸甲酯 Methyl 2-hydroxy-3-methylpentanoate	41654-19-7	28.993	5.190±0.400 b	9.760±1.320 a	10.660±0.100 a

续表 2 (Table 2 continued)

	化合物 Chemical compounds	CAS 登记号 CAS no.	保留时间（min） Retention time (min)	相对百分含量（%）Relative content (%) (mean±SE)		
				大蕾期 Big bud stage	初绽期 Initial bloom stage	盛开期 Full bloom stage
4	2-羟基-4-甲基戊酸甲酯 Methyl 2-hydroxy-4-methylpentanoate	40348-72-9	30.434	0.430±0.050 b	0.880±0.040 a	0.420±0.050 b
5	2-羟基-4-甲基戊酸乙酯 Ethyl 2-hydroxy-4-methylpentanoate	10348-47-7	30.759	0.780±0.050 b	0.350±0.030 c	1.190±0.080 a
6	2,2,4-三甲基戊二醇异丁酯 Kodaflex txib	6846-50-0	43.568	5.680±0.300 a	2.420±0.080 b	1.870±0.280 b
	酸类 Acids					
1	2-甲基丁酸 2-Methyl-butanoic acid	116-53-0	36.309	0.890±0.030 b	0.980±0.130 b	2.460±0.460 a
Ⅱ	**萜类 Terpenoids**					
1	甲基庚烯酮 6-Methyl-5-hepten-2-one	110-93-0	21.895	3.470±0.190 a	2.860±0.070 a	3.410±0.290 a
2	长叶环烯 Longicyclene	1137-12-8	28.228	0.020±0.002 b	0.140±0.010 a	0.060±0.004 b
3	α-法尼烯 α-Farnesene	502-61-4	39.060	0.850±0.170 b	1.070±0.014a	2.870±0.060 a
4	β-Springene	70901-63-2	51.573	0.030±0.001 c	0.080±0.003 b	0.130±0.010 a
5	香叶基芳樟醇 Geranyl-linalool	1113-21-9	56.096	0.830±0.070 a	0.540±0.050 a	0.380±0.010 a
6	α-Springene	77898-97-6	52.798	0.050±0.020 b	0.110±0.003 a	0.130±0.010 a
Ⅲ	**苯环类 Benzenoids**					
1	1,3-二叔丁基苯 1,3-Di-tert-butylbenzene	1014-60-4	25.909	9.280±0.310 b	9.370±0.340 b	10.610±0.210 a
2	苯乙醇 Phenylethyl alcohol	60-12-8	44.800	0.060±0.010 b	0.050±0.010 b	0.530±0.120 a
3	苯并噻唑 Benzothiazole	95-16-9	45.994	1.670±0.230 a	1.430±0.170 a	0.850±0.040 a
4	邻氨基苯甲酸甲酯 Methyl anthranilate	134-20-3	52.723	1.010±0.030 b	1.830±0.050 a	0.610±0.020 c
5	2,4-二叔丁基苯酚 2,4-Di-tert-butylphenol	96-76-4	53.732	0.820±0.268 a	0.410±0.060 b	0.180±0.094 c
6	苯甲酸 Benzoic acid	65-85-0	55.087	1.010±0.260 a	0.830±0.150 b	0.610±0.090 c

同行数据后标有不同小写字母表示差异显著（$P<0.05$，邓肯氏多重比较检验法）。下表同。

Data in the same row followed by the different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$, Duncan's multiple comparison test). The same below.

表 3　不同花期甘蓝型油菜花朵挥发性气味物质的组分和含量

Table 3　The components and relative content of volatile compounds in flowers of *Brassica napus* at different flowering stages

	化合物 Chemical compounds	CAS 号 CAS no.	保留时间（min） Retention time (min)	相对百分含量（%）Relative content (%) (mean±SE)		
				大蕾期 Big bud stage	初绽期 Initial bloom stage	盛开期 Full bloom stage
I	**脂肪酸衍生物 Fatty acids derivative**					
	烷烯烃类 Alkanes and alkenes					
1	2,6,10-三甲基十三烷 2,6,10-Trimethyltridecane	3891-98-3	26.930	1.610±0.040 a	1.890±0.040 a	2.320±0.170 a
2	十五烷 Pentadecane	629-62-9	29.385	1.780±0.030 a	1.460±0.020 a	1.680±0.050 a
3	二十一烷 Heneicosane	629-94-7	50.415	2.480±0.300 a	0.930±0.080 a	1.310±0.310 a
	醇类 Alcohols					
1	乙醇 Ethanol	64-17-5	3.935	1.910±0.080 a	1.900±0.080 a	1.930±0.450 a
2	1-戊烯-3-醇 1-Penten-3-ol	616-25-1	13.130	2.960±0.370 a	0.540±0.040 b	0.230±0.020 b
3	2-甲基丁醇 2-Methyl-1-butanol	137-32-6	15.495	2.240±0.180 b	2.990±0.060 a	3.090±0.060 a
4	4-戊烯-1-醇 4-Penten-1-ol	821-09-0	20.375	2.070±0.070 a	1.630±0.100 b	1.440±0.080 b
5	2-甲基-2-丁烯醇 2-Methyl-2-buten-1-ol	4675-87-0	21.295	2.890±0.090 c	3.760±0.120 b	4.150±0.110 a
6	3-戊烯-2-醇 3-Penten-2-ol	1569-50-2	21.300	0.020±0.010 b	0.030±0.010 b	0.060±0.003 a
7	3-己烯-1-醇 3-Hexen-1-ol	928-96-1	24.200	2.520±0.120 a	1.650±0.040 b	1.030±0.040 c
8	5-己烯-1-醇 5-Hexen-1-ol	821-41-0	25.485	0.930±0.090 b	1.530±0.070 a	0.680±0.060 c
9	乙二醇单异丁醚 2-Isobutoxyethanol	4439-24-1	25.880	0.020±0.003	0.010±0.003	-
10	5-甲基-1-庚烯-4-醇 5-Methyl-1-hepten-4-ol	99328-46-8	27.580	0.010±0.002	0.010±0.002	-
11	1-辛醇 1-Octanol	111-87-5	31.765	1.310±0.080 a	1.80±0.050 a	1.800±0.400 a
12	2, 3-丁二醇 [R-（R*, R*）]-2,3-Butanediol	24347-58-5	32.610	2.500±0.050 a	1.480±0.080 b	0.410±0.040 c
13	3-丁烯-2-醇 3-Buten-2-ol	598-32-3	48.395	1.230±0.020 a	0.340±0.040 b	0.120±0.010 c

续表 3 (Table 3 continued)

	化合物 Chemical compounds	CAS 号 CAS no.	保留时间（min） Retention time (min)	相对百分含量（%）Relative content (%) (mean±SE)		
				大蕾期 Big bud stage	初绽期 Initial bloom stage	盛开期 Full bloom stage
	酮类 Ketones					
1	乙偶姻 Acetoin	513-86-0	19.250	2.250±0.050 a	0.860±0.080 b	0.310±0.010 c
2	植酮 6,10,14-Trimethyl-2-pentadecanone	502-69-2	50.880	2.360±0.060 b	3.630±0.060 b	5.800±0.260 a
	酯类 Esters					
1	乙酸乙酯 Ethyl acetate	141-78-6	2.455	0.900±0.070 c	3.210±0.100 a	2.180±0.100 b
2	2-甲基丁酸乙酯 Ethyl 2-methylbutyrate	7452-79-1	7.285	2.600±0.080 c	5.460±0.170 b	8.000±0.040 a
3	异己酸乙酯 Pentanoic acid, 4-methyl-, ethyl ester	25415-67-2	14.320	0.090±0.010	0.150±0.010	-
4	己酸乙酯 Hexanoic acid, ethyl ester	123-66-0	16.885	1.580±0.100 a	1.250±0.060 b	0.910±0.020 c
5	惕各酸乙酯 2-Butenoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	5837-78-5	18.370	0.220±0.010	0.950±0.040	-
6	辛酸乙酯 Octanoic acid, ethyl ester	106-32-1	24.325	1.330±0.010 a	0.920±0.020 b	0.580±0.020 c
7	辛酸甲酯 Octanoic acid, methyl ester	111-11-5	24.425	1.290±0.040 a	0.670±0.030 b	0.420±0.040 c
8	Carbonic acid, octyl prop-1-en-2-yl ester	91692929	28.950	2.500±0.170 a	2.130±0.080 ab	2.020±0.020 b
9	癸酸甲酯 Decanoic acid, methyl ester	110-42-9	33.215	1.290±0.060 a	0.960±0.230 b	0.730±0.020 c
10	γ-丁内酯 Butyrolactone	96-48-0	34.255	0.010±0.001 b	0.020±0.001 b	0.170±0.010 a
11	癸酸乙酯 Decanoic acid, ethyl ester	110-38-3	34.940	1.190±0.010 a	0.910±0.050 b	0.850±0.020 b
12	月桂酸乙酯 Dodecanoic acid, ethyl ester	106-33-2	40.825	1.380±0.130 a	0.840±0.060 b	0.630±0.030 b
13	月桂酸甲酯 Dodecanoic acid, methyl ester	111-82-0	41.050	1.380±0.020 a	0.710±0.050 b	0.390±0.040 c
14	2,2,4-三甲基戊二醇异丁酯 Kodaflex txib	6846-50-0	44.450	0.160±0.020 b	0.070±0.020 b	0.070±0.020 a
15	棕榈酸乙酯 Hexadecanoic acid, ethyl ester	628-97-7	52.935	1.010±0.020 c	1.370±0.050 a	1.160±0.040 b
16	亚麻酸乙酯 Ethyl 9,12,15-octadecatrienoate	1191-41-9	54.555	0.980±0.030 a	0.950±0.020 a	0.830±0.040 b
	酸类 Acids					
1	乙酸 Acetic acid	64-19-7	27.485	0.810±0.010 b	1.000±0.070 b	5.240±0.220 a

续表 3 (Table 3 continued)

	化合物 Chemical compounds	CAS 号 CAS no.	保留时间（min） Retention time (min)	相对百分含量（%）Relative content (%) (mean±SE)		
				大蕾期 Big bud stage	初绽期 Initial bloom stage	盛开期 Full bloom stage
2	丙酸 Propanoic acid	79—9-4	27.790	0.040±0.003 b	0.020±0.001 b	0.380±0.040 a
3	异丁酸 2-Methyl-propanoic acid	79-31-2	27.835	0.090±0.007 a	0.050±0.007 b	0.100±0.010 a
4	丁酸 Butanoic acid	107-92-6	34.510	0.070±0.007 b	0.030±0.007 b	0.440±0.020 a
5	2-甲基丁酸 2-Methyl-butanoic acid	116-53-0	36.335	0.290±0.020 a	0.110±0.010 b	0.260±0.010 a
6	己酸 Hexanoic acid	142-62-1	42.740	1.280±0.050 a	0.830±0.040 b	0.520±0.050 c
7	辛酸 Octanoic acid	124-07-2	48.330	1.370±0.030 a	1.380±0.070 a	0.870±0.180 b
8	癸酸 Decanoic acid	334-48-5	53.210	1.240±0.030 b	2.220±0.040 a	2.360±0.100 a
9	月桂酸 Dodecanoic acid	143-07-7	55.600	1.590±0.140 b	2.240±0.110 a	1.440±0.030 b
Ⅲ	**苯环类 Benzenoids**					
1	1,3-二叔丁基苯 1,3-Di-tert-butylbenzene	1014-60-4	26.050	2.850±0.050 c	3.920±0.050 b	6.310±0.230 a
2	苯甲醛 Benzaldehyde	100-52-7	27.655	0.080±0.004 b	0.040±0.010 c	0.680±0.010 a
3	苯甲酸甲酯 Methyl benzoate	93-58-3	34.080	3.460±0.160 a	2.410±0.040 b	3.400±0.040 a
4	苯甲酸乙酯 Benzoic acid, ethyl ester	93-89-0	35.840	0.250±0.010 b	0.690±0.050 a	0.240±0.020 b
5	苯甲醇 Benzyl alcohol	100-51-6	43.665	1.550±0.050 a	0.910±0.050 a	1.320±0.030 a
6	苯丙酸乙酯 Ethyl 3-phenylpropionateb	2021-28-5	43.860	1.680±0.040 a	0.940±0.100 b	0.400±0.010 c
7	苯乙醇 Phenylethyl alcohol	60--12-8	44.805	1.860±0.080 a	1.340±0.070 b	1.530±0.040 b
8	2-苯甲基异氰化 Benzene, 1-isocyano-2-methyl-	10468-64-1	44.905	0.230±0.050 a	0.020±0.005 b	0.320±0.010 a
9	茴香醛 4-Methoxy-benzaldehyde	123-11-5	45.055	0.020±0.004 b	0.030±0.004 b	0.080±0.003 a
10	茴香酸乙酯 Benzoic acid, 4-methoxy-, ethyl ester	94-30-4	45.200	1.250±0.350 a	0.020±0.005 b	0.010±0.003 b
11	苯乙腈 Benzyl nitrile	140-29-4	45.315	1.320±0.050 c	1.590±0.040 b	2.260±0.050 a
12	苯并噻唑 Benzothiazole	95-16-9	46.005	2.180±0.070 a	2.150±0.070 a	2.180±0.070 a
13	3-苯基丙腈 3-Phenylpropionitrile	645-59-0	48.860	1.210±0.070 a	0.560±0.050 b	0.420±0.005 b

续表 3 (Table 3 continued)

	化合物 Chemical compounds	CAS 号 CAS no.	保留时间（min） Retention time (min)	相对百分含量（%）Relative content (%) (mean±SE)		
				大蕾期 Big bud stage	初绽期 Initial bloom stage	盛开期 Full bloom stage
14	2-苯乙基异硫 (2-Isothiocyanatoethyl)-benzene	2257-9-2	52.455	1.110±0.060 a	0.440±0.050 b	0.240±0.100 c
15	苯甲酸 Benzoic acid	65-85-0	55.120	1.770±0.050 a	1.600±0.070 ab	1.530±0.030 a
16	邻苯二甲酸二异丁酯 Diisobutyl phthalate	84-69-5	56.220	2.090±0.610 a	1.260±0.080 c	1.750±0.040 b
Ⅲ	**萜类 Terpenoids**					
1	芳樟醇 Linalool	78-76-6	31.460	2.760±0.060 b	8.060±0.190 a	9.450±0.180 a
Ⅳ	**其他类 Others**					
1	甲硫醇 Methanethiol	74-93-1	1.935	1.740±0.050 a	1.600±0.050 b	1.730±0.040 a
2	二甲基二硫 Disulfide, dimethyl	624-92-0	8.085	1.600±0.030 a	1.290±0.040 b	1.410±0.090 a
3	丁基异硫氰酸酯 Butane, 1-isothiocyanato-	592-82-5	18.600	1.770±0.040 a	0.670±0.050 b	0.450±0.020 c
4	3-甲基巴豆腈 3-Methyl-2-butenenitrile	4786-24-7	18.805	1.320±0.050 a	0.760±0.050 ab	0.770±0.050 b
5	5-己烯腈 5-Cyano-1-pentene	5048-19-1	22.330	1.440±0.070 a	0.980±0.050 b	0.640±0.060 b
6	二甲基三硫 Dimethyl trisulfide	3658-80-8	23.480	1.060±0.040 a	0.330±0.020 b	0.450±0.020 b
7	3-丁烯基异硫氰酸酯 4-Isothiocyanato-1-butene	3386-97-8	27.420	1.340±0.250 a	0.360±0.300 b	0.190±0.120 c
8	6-庚烯腈 6-Heptene-1-nitrile	5048-25-9	27.895	1.440±0.070 b	1.380±0.060 b	1.900±0.060 a
9	4-乙基-5-甲基噻唑 4-Ethyl-5-methylthiazole	52414-91-2	30.870	1.380±0.050 a	0.550±0.050 b	0.280±0.010 c
10	环己酮肟 Cyclohexanone, oxime	100-64-1	35.530	1.130±0.040 a	0.330±0.040 b	0.260±0.010 b
11	Cyano-3,4-epithiobutane	54096-45-6	45.665	0.800±0.030 a	0.060±0.010 b	0.020±0.004 b
12	6-(Methylthio) hexanenitrile	72931-29-4	49.340	0.770±0.020 a	0.430±0.040 a	0.260±0.020 c
13	1-Cyano-4,5-epithiopentane	58130-94-2	49.930	0.720±0.060 a	0.060±0.010 b	0.020±0.030 b

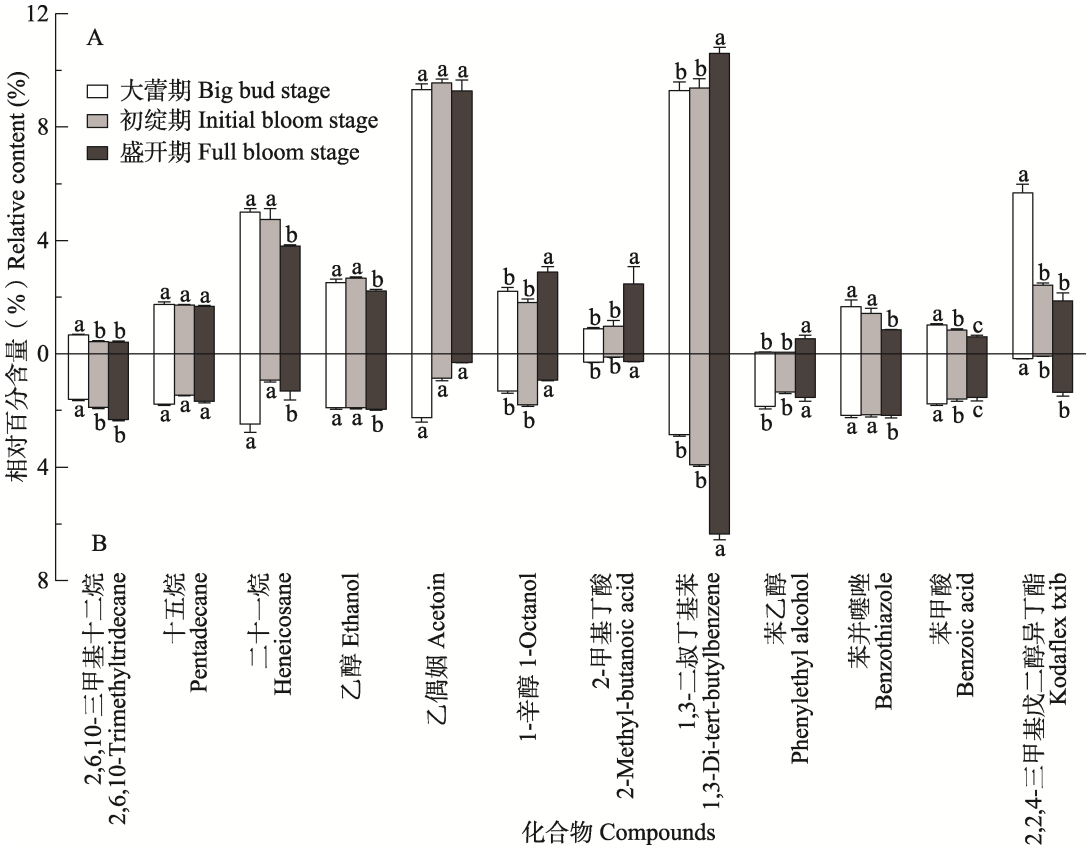

图 2　砀山酥梨和甘蓝型油菜共有挥发性气味物质不同花期的含量差异分析

Fig. 2　The differential analysis of the contents of shared volatile compounds in *Pyrus bretschneideri* cv. Dangshansu and *Brassica napus* at different flowering stages

A. 砀山酥梨 *Pyrus bretschneideri* cv. Dangshansu；B. 油菜 *Brassica napus.*

数据为均值±标准误，柱上标有不同小写字母表示差异显著（P<0.05, 邓肯多重比较检验法）。图 4 同。

These data are mean±SE. Histograms with different lowercase letters indicate significant difference in concentrations of the same chemical compound (P<0.05, Duncan's multiple comparison test). The same for Fig. 4.

期含量最高；乙醇和苯丙噻唑在油菜 3 个花期之间相对含量无显著差异（P>0.05）。对于梨花和油菜相同花期之间比较，在大蕾期（图 3：A），砀山酥梨和甘蓝型油菜花中 2,6,10-三甲基十三烷、二十一烷、2-甲基丁酸、1,3-二叔丁基苯、苯乙醇和 2,2,4-三甲基戊二醇异丁酯的相对含量差异显著（P<0.05），其中乙偶姻相对含量差异极显著（P<0.01）；在初绽期（图 3：B），砀山酥梨和甘蓝型油菜花中 2,6,10-三甲基十三烷、二十一烷、乙醇、2-甲基丁酸、1,3 二叔丁基苯、苯乙醇和 2,2,4-三甲基二醇异丁酯相对含量差异显著（P<0.05），二者乙偶姻相对含量差异极显著（P<0.01）；盛开期（图 3：C），2,6,10-三甲基十三烷、二十一烷、1-辛醇、2-甲基丁酸、1,3 二叔丁基苯、苯乙醇和苯丙噻唑相对含量差异显著（P<0.05），二者乙偶姻相对含量在该时期差异极显著（P<0.01）。

此外，梨花和油菜花各自含有一些特有挥发性成分。梨花大蕾期、初绽期和盛开期 3 个花期中特有挥发性气味物质有 40 种（烷烯烃类 21 种，醇类 6 种，酯类 5 种，萜类 6 种，苯环类 2 种），其中相对含量较高的物质有 2-羟基-3-甲基戊酸甲酯、异戊醇、1-辛烯-3-醇、甲基庚烯酮和 α-法尼烯等，2-羟基-3-甲基戊酸甲酯在 3 个花期相对含量分别为 5.190±0.400、9.760±1.320 和 10.660±0.100，异戊醇分别为 4.250±0.250、4.640±0.370 和 4.620±0.380，1-辛烯-3-醇分别为 1.810±0.080，1.830±0.320，2.850±0.040，α-法尼

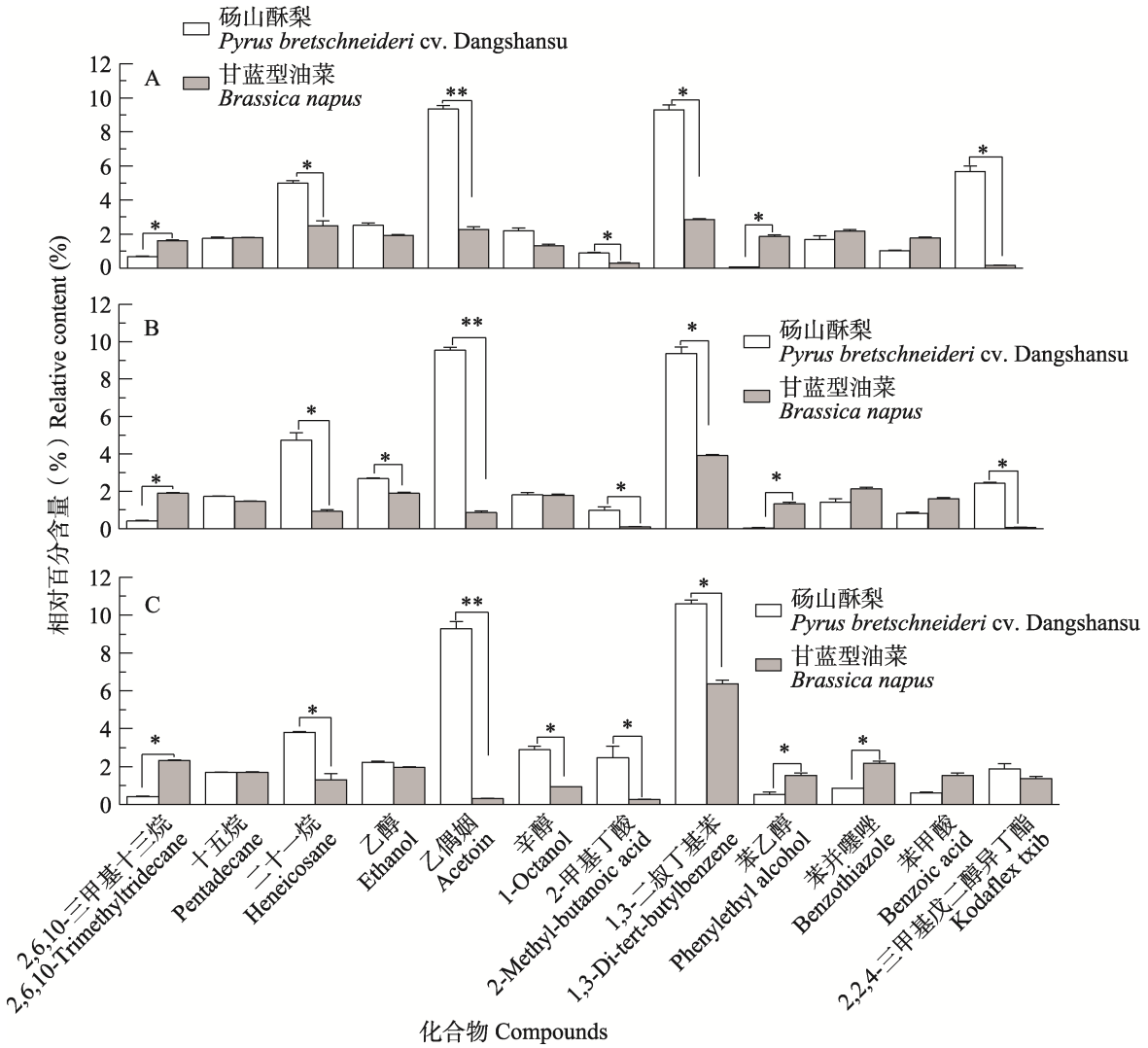

图 3 砀山酥梨和甘蓝型油菜花共有挥发性气味物质在同一花期的含量差异分析

Fig. 3 The differential analysis of the contents of shared volatile compounds released from the flowers of *Brassica napus* and *Pyrus bretschneideri* cv. Dangshansu at the same flowering stages

A. 大蕾期 Big bud stage；B. 初绽期 Initial bloom stage; C. 盛开期 Full bloom stage.

数据为均值±标准误。* 表示 $P<0.05$，差异显著，*T* 检验；** 表示 $P<0.01$，差异极显著，*T* 检验。图 5 同。
These data are mean±SE, * represents difference is significant, $P<0.05$, *T*-test. ** represents difference is extremely significant, $P<0.01$, *T*-test. The same for Fig. 5.

烯分别为 0.850±0.170、1.070±0.014 和 2.870±0.060，而且这些物质的含量随花期变化逐渐升高，盛花期时相对含量最高。长叶环烯在梨花不同花期中也含有，不过相对含量均较低（表 2）。油菜花 3 个花期中特有挥发性物质有 61 种（醇类 11 种，酮类 1 种，酯类 15 种，萜类 1 种，酸类 8 种，苯环类 12 种，其他类 13 种），其中芳樟醇、2-甲基丁酸乙酯、苯甲酸甲酯和植酮等相对含量较高，芳樟醇在 3 个花期的相对含量分别为 2.760±0.060、8.060±0.190 和 9.450±0.180，2-甲基丁酸乙酯相对含量分别为 2.600±0.080、5.460±0.170 和 8.000±0.040，苯甲酸分别为 1.770±0.050、1.600±0.070 和 1.530±0.030，植酮分别为 2.360±0.060、3.630± 0.060 和 5.800±0.260；而且芳樟醇、2-甲基丁酸乙酯和植酮相对含量随花期变化逐渐增加，盛花期相对含量最高，苯甲酸甲酯在大蕾期相对含量最高（表 3）。二甲基二硫和二甲基三硫在油菜花不同花期中也含有，两者

在油菜大蕾期含量较高。

2.2　中蜂和意蜂对 71 种挥发性化合物 EAG 反应分析

通过预试验分析，中蜂和意蜂在浓度为 200 g/L，对大部分挥发性气味物质有最高响应值（图 4）。因此，本研究选择浓度为 200 g/L 时，进行中蜂和意蜂对 71 种挥发性气味物质的 EAG 相对响应值差异分析（表 1），结果表明：相较于石蜡油，中蜂和意蜂触角对所测试的 71 种挥发性气味物质均产生电信号响应，其中中蜂对乙酸、丙酸、异戊醇、1-戊烯-3-醇和异己酸乙酯反应较强，意蜂对乙酸、丙酸、异丁酸、乙二醇单异丁醚和异己酸乙酯反应较强。进一步分析表明：中蜂和意蜂触角对其中 22 种挥发性气味物质的相对响应值差异显著（$P<0.05$）。中蜂对苯甲醇、邻苯二甲酸二异丁酯、2-羟基-3-甲基戊酸甲酯、辛酸、异戊醇、2-甲基丁醇、芳樟醇、十一烷、十二烷、十五烷和十六烷的相对响应值显著高于意蜂，对苯丙酸乙酯、茴香酸乙酯和 1-戊烯-3-醇响应值极显著高于意蜂（$P<0.01$）；意蜂对 1,3-二叔丁基苯、辛酸乙酯、乙偶姻、丙酸、己酸和二甲基二硫相对响应值显著高于中蜂，对异丁酸和乙二醇单异丁醚响应值极显著高于中蜂（$P<0.01$）（图 5）。

2.3　中蜂和意蜂对 71 种挥发性化合物行为学反应分析

中蜂和意蜂对 71 种挥发性化合物行为学反应试验，结果表明：中蜂对苯乙醇、苯甲酸甲酯、长叶环烯和芳樟醇的选择率分别为 70.27%（χ^2=6.018，P=0.014）、66.67%（χ^2 =4.667，P=0.031）、65.11%（χ^2=3.930，P=0.047）和 67.5%（χ^2=4.900，P=0.027），显著高于对照组（$P<0.05$）；对二甲基三硫、乙酸的选择率分别为 32.88%（χ^2=3.930，P=0.047）及 31.70%

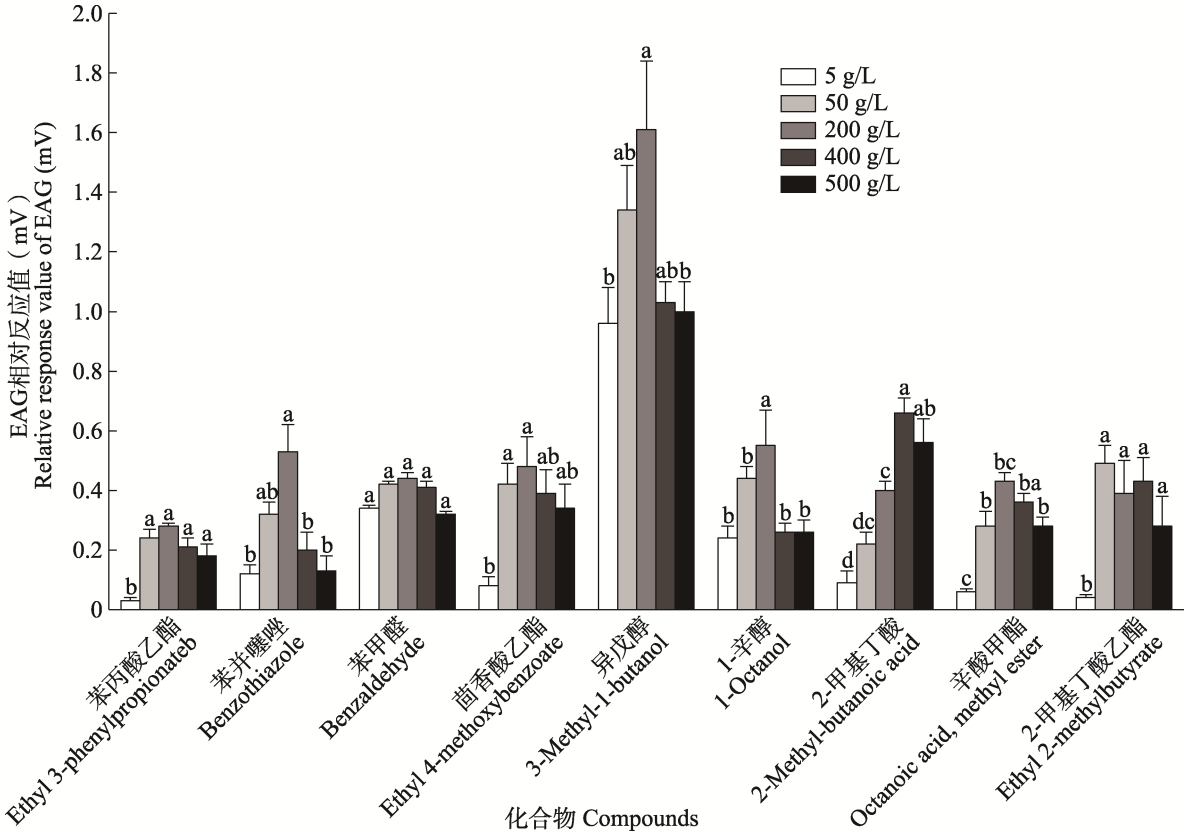

图 4　中蜂对不同浓度下 9 种化合物电生理响应值差异分析

Fig. 4　The differential analysis of electrophysiological response value of 9 compounds at different concentrations of *Apis cerana cerana*

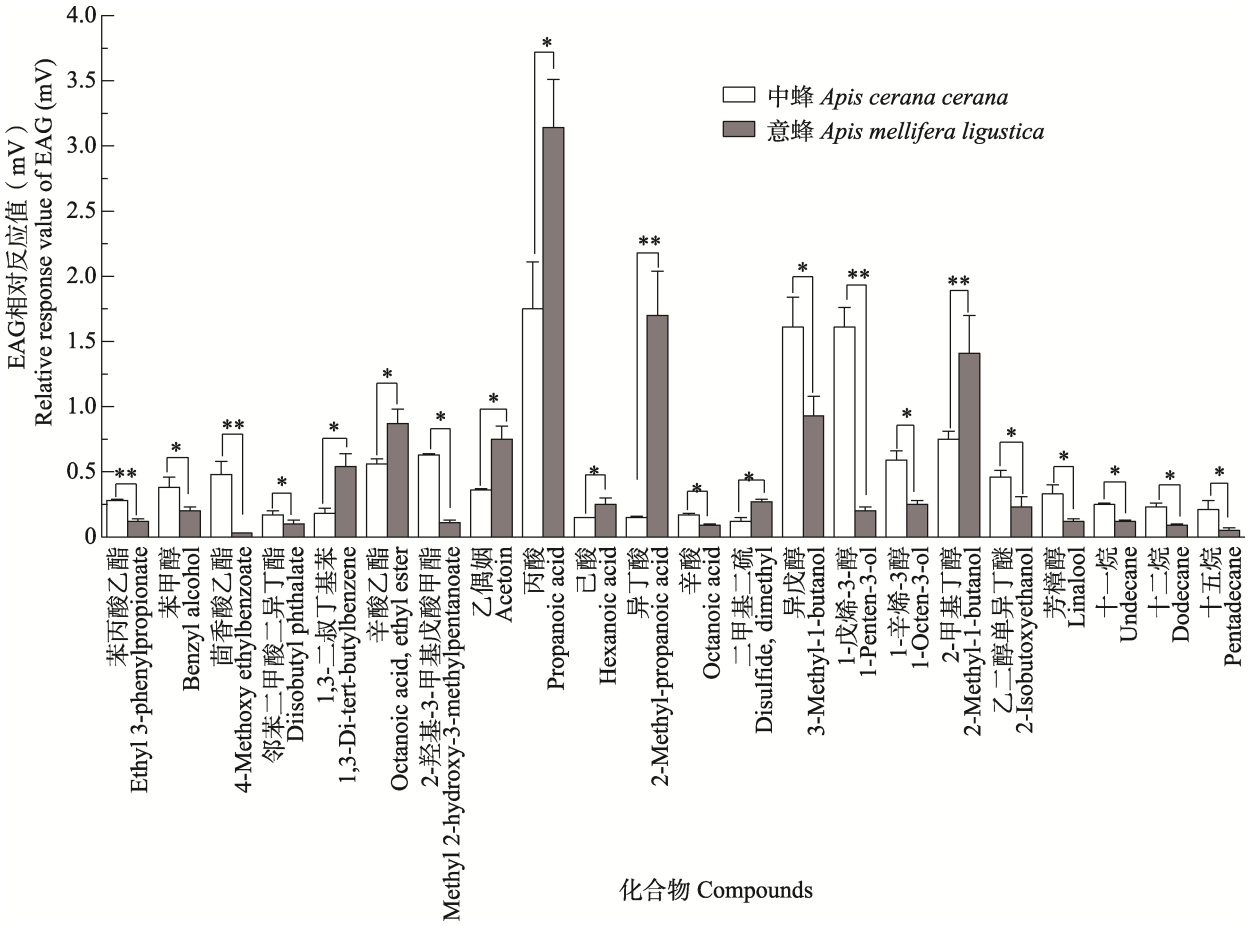

图 5 中蜂和意蜂对浓度 200 g/L 的化合物电生理响应值差异分析

Fig. 5 The differential analysis of electrophysiological response value of *Apis cerana cerana* and *Apis mellifera ligustica* to compounds

（χ^2=5.488，*P*=0.019），显著低于对照组（*P*<0.05）；对其余 65 种的选择率与对照组无显著差异（*P*>0.05）。意蜂对苯甲酸甲酯、甲基庚烯酮、α-法尼烯、植酮、2-甲基丁酸乙酯和异戊醇的选择率分别为 65.85%（χ^2=4.787，*P*=0.029）、68.29%（χ^2=4.122，*P*=0.042）、65.85%（χ^2=4.122，*P*=0.042）、70.27%（χ^2=6.081，*P*=0.014）、65.95%（χ^2=4.787，*P*=0.029）和 65.85%（χ^2=4.122，*P*=0.042），显著高于对照组（*P*<0.05）；对二甲基二硫、乙偶姻、乙酸、2-甲基丁酸、1-辛烯-3-醇和 1-辛醇的选择率为 29.73%（χ^2=6.081，*P*=0.014）、31.91%（χ^2=6.149，*P*=0.013）、32.56%（χ^2=5.233，*P*=0.022）、31.25（χ^2=6.750，*P*=0.009）、33.33%（χ^2=5.000，*P*=0.025）和 33.33%（χ^2=5.333，*P*=0.021），显著低于对照组（*P*<0.05）；对其余 59 种挥发性化合物选择率与对照组无显著差异（*P*>0.05）（图 6）。

3 讨论

在长期共同进化过程中，传粉昆虫已经成为陆地生态系统中最重要的生态因子之一，它们在生态多样性和农业生产方面贡献巨大，全球 80% 以上的农作物种类需要昆虫传粉 (Klein *et al.*, 2007)。过去 60 年中，中国的农业系统对传粉昆虫的依赖度越来越高，2010 年昆虫传粉产生的经济价值占中国农业总产值的 19.1%，约为全球平均水平的 2 倍；为满足虫媒作物授粉需求，我国正在加强传粉昆虫资源研究、保护与开发利用 (Mashilingi *et al.*, 2021)。梨树是我国主要栽培的果树，经过多年研究，本团队成功建立起一套梨树蜜蜂授粉技术，并在山西部分地区进行了示

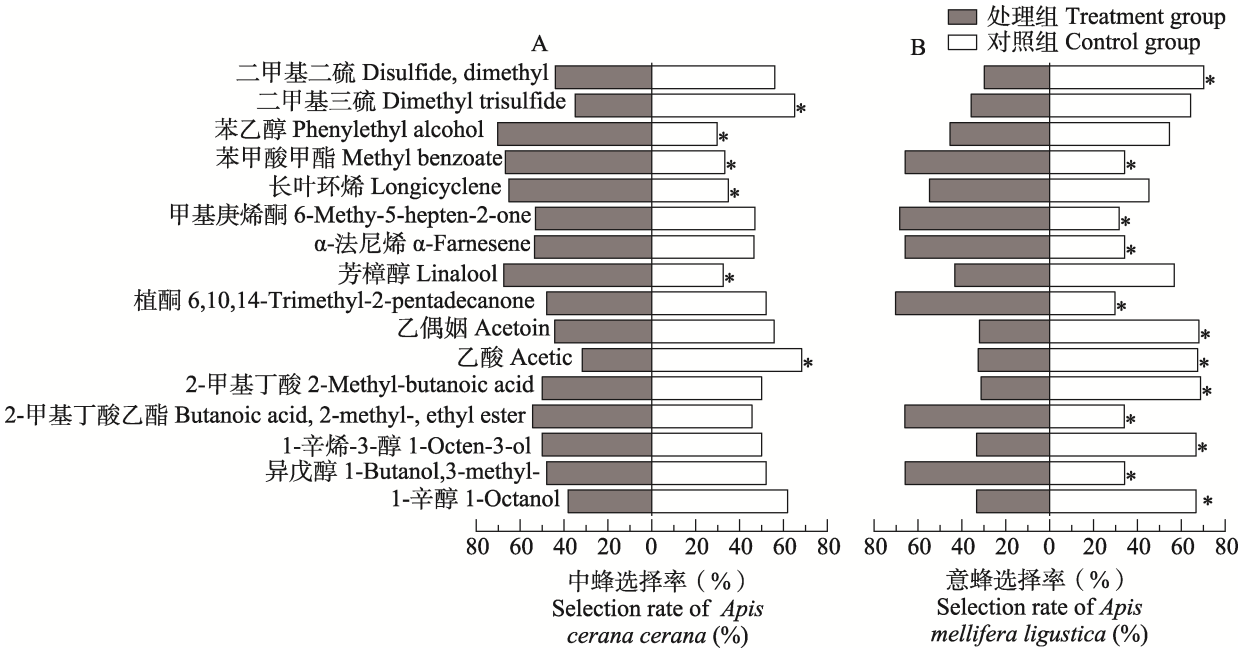

图 6　蜜蜂对花朵挥发性物质的趋向选择率

Fig. 6　The trend selectivity of honeybee to flower volatiles compounds

A. 中蜂选择率 Selection rate of *Apis cerana cerana*；B. 意蜂选择率 Selection rate of *Apis mellifera ligustica.*

* 表示经卡方检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。* represents significant difference at $P<0.05$ level by χ^2 test.

范推广，取得了一定的效果（郭媛，2013，郭媛等，2015）。但是，在自然界应用中我们发现梨树与油菜存在花期重叠，而蜜蜂偏好采集油菜花，造成蜜蜂为梨树授粉的专一性下降，严重影响蜜蜂为梨树授粉的效果（郭媛等，2020）。因此，本研究着眼于分析蜜蜂对梨花和油菜花差异性授粉的原因，为后续深入推广梨树蜜蜂授粉技术提供新的思路。

蜜蜂由于其独特的形态结构和生物学特性，在传花授粉方面有显著优势（Bruckman and Campbell, 2014）。然而，蜜蜂的采集行为会受花朵挥发性物质的影响（Cook *et al.*, 2005）。本研究在砀山酥梨花大蕾期、初绽期和盛开期的 3 个花期中鉴定出挥发性化物合 52 种，甘蓝型油菜花 3 个花期花朵中分别鉴定出 73，73，69 种挥发性化合物，梨花中相对含量较高的有 1,3-二叔丁基苯、乙偶姻、2,2,4-三甲基二醇异丁酯、2-甲基丁酸和二十一烷，油菜中相对含量较高的有 2,6,10-三甲基十三烷和苯乙醇。Li 等（2022）对 7 个梨品种的盛开期花朵共鉴定出 93 种挥发性化合物。郭媛等（2021）分别对梨、油菜花的全花、花药和花蜜鉴定挥发性气味物质，其中梨花 9 种，油菜花 23 种挥发性气味物质。Lucas 等（2019）对 9 个梨品种盛开期花朵共鉴定出 108 种挥发性化合物，而 Gemeda（2018）对 3 个梨品种的花药和花蜜中共鉴定出 116 种挥发性化合物，这说明不同品种的梨花挥发性气味物质也有差异，在梨树选育和授粉技术研究中应该作为参考指标之一。前人研究已发现吊灯花属 *Ceropegia* 植物通过释放乙偶姻引诱和捕食果蝇（Cha *et al.*, 2014; Heiduk *et al.*, 2017），天南星科（Araceae）植物通过释放乙偶姻来吸引传粉昆虫金龟子为其授粉（Schiestl and Dötterl, 2012），而藤黄科（Clusiaceae）植物能通过释放乙偶姻来吸引蟑螂（Vlasáková *et al.*, 2008）。本研究中乙偶姻在梨花的 3 个花期相对含量均大于 9%，而在油菜花中其相对含量随着花期的延长逐渐减少，在盛开期相对含量最低，蜜蜂触角电位显示它们对乙偶姻产生明显电信号，而行为学实验表明蜜蜂对乙偶姻具有趋避行为，相较于梨花，这可能是蜜蜂在盛花期偏好采集油菜花的原因之一。本研究还发现苯甲酸甲酯和植酮是

油菜 3 个花期特有的挥发性气味物质，而梨花中不含有，且它们对蜜蜂具有引诱作用。有研究表明苯甲酸甲酯可以引诱兰花蜂（Euglossine bees）、甲虫和天蛾等（Schiestl and Roubik, 2003; Schlumpberger and Raguso, 2008; Favaris *et al*., 2023）。本实验我们发现中蜂和意蜂对苯甲酸甲酯响应显著高于对照组，这说明油菜可能通过苯甲酸甲酯吸引蜜蜂为其传粉。

中蜂和意蜂是我国饲养的主要蜂种，它们在植物授粉方面存在差异（吴帆等，2023）。中蜂是我国的本土蜜蜂，在长期进化过程中形成了适应山区环境的特性，具有利用零星蜜源、采蜜期长、抗螨抗病能力强等优点，比较适合山区的定点养殖（曾志将，1989）。意蜂由于其选育时间较长，容易饲养且形成了对大宗蜜源采集（蜜粉）量高的优势。本研究发现，整体而言，中蜂对梨花的选择高于意蜂，这种差异可能是由于中蜂和意蜂对不同物质反应不同，比如油菜中特有物质植酮，意蜂对它的响应高于中蜂。Gemeda 等（2018）在白梨 *Pyrus bretschneideri* 授粉研究中发现，中蜂和意蜂在倾向采集的花粉方面具有显著的变化，中蜂在早上出去觅食的时间更早并且收集的更多的花粉。郭媛等（2016）对 9 个蜜蜂品种（系）在砀山酥梨的传粉行为进行了比较，发现中华蜜蜂出巢温度是 8.2 ℃，显著低于西方蜜蜂的 9.2 ℃。因此，针对中国主要梨树品种之一的砀山酥梨，选择中蜂授粉要优于意蜂。

综上所述，梨花中释放的乙偶姻对蜜蜂具有趋避作用，而油菜花中释放的苯甲酸甲酯对蜜蜂具有引诱作用，这可能是影响蜜蜂在梨花和油菜同花期时偏好采集油菜花的主要原因。本研究为后续进一步开发利用蜜蜂为梨树授的粉诱导剂提供重要的理论依据。

参考文献 (References)

Bruckman D, Campbell DR, 2014. Floral neighborhood influences pollinator assemblages and effective pollination in a native plant. *Oecologia*, 176(2): 465–476.

Cha DH, Adams T, Werle CT, Sampson BJ, Adamczyk JJ Jr, Rogg H, Landolt PJ, 2014. A four-component synthetic attractant for *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) isolated from fermented bait headspace. *Pest Management Science*, 70(2): 324–331.

Cook SM, Sandoz JC, Martin AP, Murray DA, Poppy GM, Williams IH, 2005. Could learning of pollen odours by honey bees (*Apis mellifera*) play a role in their foraging behavior. *Physiological Entomology*, 30(2): 164–174.

Favaris AP, Túler AC, Silva WD, Pec M, Rodrigues SR, Maia ACD, Bento JMS, 2023. Methyl benzoate and nerolidol attract the cyclocephaline beetle *Cyclocephala paraguayensis* to trumpet flowers. *The Science of Nature*, 110(1): 3.

Gemeda TK, 2018. Pollination application of honey bees in pear orchard. Doctoral dissertation. Beijing: The Chinese Academy of Agriculture Sciences. [Gemeda Tolera Kumsa, 2018. 梨树蜜蜂授粉应用研究. 博士学位论文. 北京: 中国农业科学院.]

Gemeda TK, Shao YQ, Wu WQ, Yang HP, Huang JX, Wu J, 2017. Native honey bees outperform adventive honey bees in increasing *Pyrus bretschneideri* (Rosales: Rosaceae) pollination . *Journal of Economic Entomology*, 110(6): 2290–2294.

Guo Y, 2013. Demonstration and promotion of honeybee pollination technology for pear trees has achieved initial success in Yuncheng. *Apiculture of China*, 64(16): 47. [郭媛. 梨树蜜蜂授粉技术示范推广在运城初见成效. 中国蜂业, 64(16): 47.]

Guo Y, Ma WH, Zhang YY, Shen JS, Shao YQ, Wu WQ, Song HL, Zhang DX, Jin GF, Zhang XF, Song ZQ, 2015. Research and application of honeybee pollination supporting technology for pear trees. Scientific and technological achievements: Shanxi Province, Institute of Horticulture, Shanxi Academy of Agricultural Sciences. [郭媛, 马卫华, 张云毅, 申晋山, 邵有全, 武文卿, 宋怀磊, 张东霞, 靳高峰, 张旭凤, 宋卓琴, 2015. 梨树蜜蜂授粉配套技术研究与应用. 科技成果: 山西省, 山西省农业科学院园艺研究所.]

Guo Y, Xue YB, Niu QS, Li ZY, Song HL, Shao YQ, Li JJ, 2016. Comparison of pollination behavior of different honey bees in pear garden. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 32(14): 21–25. [郭媛, 薛运波, 牛庆生, 李志勇, 宋怀磊, 邵有全, 李建军, 2016. 梨园不同蜜蜂的传粉行为比较. 中国农学通报, 32(14): 21–25.]

Guo Y, Fu BC, Qin GJ, Song HL, Wu WQ, Shao YQ, Altaye SZ, Yu LS, 2019. Proteome analysis reveals a strong correlation between olfaction and pollen foraging preference in honeybees. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121: 1264–1275.

Guo Y, Wu WQ, Zhang XF, Zhang YY, Song HL, 2020. Investigation on pollinators and flower-visiting behavior of dominant pollinators of pear trees in different eco-regions. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 36(6): 127–131. [郭媛, 武文卿, 张旭凤, 张云毅, 宋怀磊, 2020. 不同生态区梨树传粉昆虫调查及其优势传粉昆虫访花行为研究. 中国农学通报,

36(6): 127–131.]

Guo Y, Guo BB, Zhang XF, Wang BX, Wu WQ, Song HL, Zheng YH, 2021. Identification and difference analysis of volatile odorants of pear and oilseed rape flowers. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 37(4): 71–76. [郭媛, 郭宝贝, 张旭凤, 王冰霞, 武文卿, 宋怀磊, 郑永惠, 2021. 梨花和油菜花挥发性气味物质的鉴定及差异分析. 中国农学通报, 37(34): 71–76.]

Heiduk A, Brake I, v Tschirnhaus M, Haenni JP, Miller R, Hash J, Prieto-Ben í tez S, Jürgens A, Johnson SD, Schulz S, Liede-Schumann S, Meve U, Dötterl S, 2017. Floral scent and pollinators of *Ceropegia* trap flowers. *Flora*, 232: 169–182.

Klein AM, Vaissière BE, Cane JH, Steffan-Dewenter I, Cunningham SA, Kremen C, Tscharntke T, 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B*, 274(1608): 303–313.

Kowalski R, Baj T, Kalwa K, Kowalska G, Sujka M, 2017. Essential oil composition of *Tilia cordata* flowers. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20(4): 1137–1142.

Lee KY, Yim SH, Seo HJ, Yoon HJ, 2017. Pollination efficiency of honeybees (*Apis mellifera* L.) and bumblebees (*Bombus terrestris* L.) in different cultivars of Asian pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). *Journal of Apiculture*, 32(4): 303–314.

Li XY, Wu JK, Wang HJ, Zhang K, Song FH, 2022. Evaluation and comparison of pear flower aroma characteristics of seven cultivars. *Horticulturae*, 8(5): 352.

Lukas K, Harig T, Schulz S, Hadersdorfer J, Dötterl S, 2019. Flowers of European pear release common and uncommon volatiles that can be detected by honey bee pollinators. *Chemoecology*, 29(5/6): 211–223.

Ma WH, Long DL, Wang Y, Li XY, Huang JX, Shen JS, Su WT, Jiang YS, Li J, 2021. Electrophysiological and behavioral responses of Asian and European honeybees to pear flower volatiles. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 24(1): 221–228.

Mashilingi SK, Zhang H, Chen WF, Vaissi è re BE, Garibaldi LA, An JD, 2021. Temporal trends in pollination deficits and its potential impacts on Chinese agriculture. *Journal of Economic Entomology*, 114(4): 1431–1440.

Morteza-Semnani K, Saeedi M, Akbarzadeh M, 2016. Chemical composition of the essential oil of the flowering aerial parts of *Lamium album* L. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19(3): 773–777.

Partap U, 2010. The Pollination Role of Honeybees /Honeybees of Asia. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. 227–255.

Schiestl FP, Roubik DW, 2003. Odor compound detection in male euglossine bees. *Journal of Chemical Ecology*, 29(1): 253–257.

Schiestl FP, Dötterl S, 2012. The evolution of floral scent and olfactory preferences in pollinators: Coevolution or pre-existing bias? *Evolution*, 66(7): 2042–2055.

Schlumpberger BO, Raguso RA, 2008. Geographic variation in floral scent of *Echinopsis ancistrophora* (Cactaceae); evidence for constraints on hawkmoth attraction. *Oikos*, 117(6): 801–814.

Sharma S, Kumar S, Kaur G, Banga SS, 2023. Floral volatiles may influence honey bee visitations in oilseed *Brassica* species. *Journal of Crop Improvement*, 37(1): 119–139.

Su WT, Ma WH, Zhang Q, Hu X, Ding GL, Jiang YS, Huang JX, 2022. Honey bee foraging decisions Influenced by pear volatiles. *Agriculture*, 12(8): 1074.

Vlasáková B, Kalinová B，Gustafsson MHG, Teichert H, 2008. Cockroaches as pollinators of *Clusia* aff. *sellowiana* (Clusiaceae) on inselbergs in French Guiana. *Annals of Botany*, 102(3): 295–304.

Wang Y, 2014. Different pollination technology affect pear fruit development and quality formation mechanism research. Doctor dissertation. Nanjing: Nanjing Agricultural University. Nanjing Agricultural University. [王宇, 2014. 梨树不同授粉技术影响果实发育、品质形成的机理研究. 博士学位论文. 南京: 南京农业大学.]

Wright GA, Skinner BD, Smith BH, 2002. Ability of honeybee, *Apis mellifera*, to detect and discriminate odors of varieties of canola (*Brassica rapa and Brassica napus*) and snapdragon flowers (*Antirrhinum majus*). *Journal of Chemical Ecology*, 28(4): 721–740.

Wu F, Zhang L, Qiu YL, Li HL, 2021. Research progress of olfactory binding proteins in insects. *Acta Entomologica Sinica*, 64(4): 523–535. [吴帆, 张莉, 邱一蕾, 李红亮, 2021. 昆虫嗅觉结合蛋白研究进展. 昆虫学报, 64(4): 523–535.]

Wu F, Liu SY, Jiang HQ, Wang Q, Chen KW, Li HL, 2023. Pollination difference between *Apis cerana cerana* and *Apis mellifera ligustica* during the late autumn and winter. *Biodiversity Science*, 31 (5): 60–68. [吴帆, 刘深云, 江虎强, 王茜, 陈开威, 李红亮, 2023. 中华蜜蜂和意大利蜜蜂秋冬期传粉植物多样性比较. 生物多样性, 31 (5): 60–68.]

Zhang W, Yin Z, Zhang J, Zhang Y, Kang W, 2018. Volatiles in flowers, stems, and leaves of *Calliandra haematocephala*. *Chemistry of Natural Compounds*, 54(2): 337–338.

Zhang AX, Wu J, Huang JX, 2022. Response of the honeybees *Apis cerana* and *Apis mellifera* to Hongyang kiwifruit female flower volatiles. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 59(1): 58–65. [张爱馨, 吴 杰, 黄家兴, 2022. 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. 应用昆虫学报, 59(1): 58–65.]

Zeng ZJ, 1989. Analysis of the factors affecting the distribution of bee species. *Beekeeping Technology*, 1989(3): 27–28. [曾志将, 1989. 浅析影响蜜蜂品种分布的因素. 养蜂科技, 1989(3): 27–28.]