



•研究报告•

中华蜜蜂和意大利蜜蜂秋冬期传粉植物多样性比较

吴帆^{id}, 刘深云, 江虎强, 王茜, 陈开威, 李红亮*

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

摘要: 中华蜜蜂(中蜂, *Apis cerana cerana*)和意大利蜜蜂(意蜂, *Apis mellifera ligustica*)的传粉对维持植物生态系统的稳定性和提高农作物的产量和品质具有重要意义, 而两者传粉行为却有不同。本文旨在比较秋冬期低温情况下中蜂和意蜂本地传粉植物多样性。在秋冬期, 观察和统计杭州下沙高教园区内中蜂和意蜂传粉过程中采集花粉的蜜蜂数量, 收集采集蜂携粉足内的花粉团后, 分别通过光学显微镜和扫描电镜获得的花粉形态特征初步鉴定花粉种类, 然后利用核酮糖-1,5-双磷酸羧化酶(ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase, *rbcL*)基因引物扩增相应植物DNA条形码序列进一步明确花粉种类。最后综合分析秋冬期, 中蜂和意蜂采集花粉的差异。研究结果显示: 中蜂和意蜂在秋冬期低温下均可传粉, 但中蜂对低温的适应能力较强, 在上午8:30–9:30其传粉活动频率显著比意蜂高($P < 0.05$)。对于不同开花植物, 中蜂和意蜂大多都可以传粉, 但中蜂偏向于采集葎草(*Humulus scandens*)、月季(*Rosa chinensis*)、枇杷(*Eriobotrya laoshanica*)和中华常春藤(*Hedera nepalensis* var. *sinensis*)等本土低温开花植物的花粉, 而意蜂采集厚皮香(*Ternstroemia gymnanthera*)、甘菊(*Chrysanthemum boreale*)和小百日菊(*Zinnia baageana*)等花粉较多。在秋冬期低温条件下, 中蜂和意蜂都可为多种植物传粉, 但中蜂对本土开花植物的传粉植物要比意蜂更具有偏好性。中蜂和意蜂在秋冬期传粉多样性和差异调查将有利于进一步完善蜜蜂访花规律和偏好, 为该地区生态保护提供理论依据。

关键词: 中华蜜蜂; 意大利蜜蜂; 蜂花粉; 扫描电子显微镜; DNA条形码

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, 22528. doi: 10.17520/biods.2022528.

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, 22528. doi: 10.17520/biods.2022528.

Pollination difference between *Apis cerana cerana* and *Apis mellifera ligustica* during the late autumn and winter

Fan Wu^{id}, Shenyun Liu, Huqiang Jiang, Qian Wang, Kaiwei Chen, Hongliang Li*

Biometrology and Inspection & Quarantine, College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou 310018

ABSTRACT

Aims: The pollination behaviors of *Apis cerana cerana* (Acc) and *Apis mellifera ligustica* (Aml) have a significant meaning in maintaining ecosystem stability and improving crop yield and quality. However, their pollination behaviors are different. The aim of this study is to analyze the differences of pollinating habit and plant diversity between the two species under low temperature during the late autumn and winter periods.

Methods: We observed the pollination process of Acc and Aml, and collected the pollen in Xiasha Higher Education Campus of Hangzhou City during the late autumn and winter periods. The pollen morphology was analyzed by ordinary and scanning electron microscope, and further determined based on the gene ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase (*rbcL*) amplified and DNA barcode. Finally, the diversity of pollinating plants was compared according to the pollen species during the late autumn and winter.

Results: Both Acc and Aml can pollinate the local plants during the late autumn and winter periods, but Acc had better adaptability and pollination frequency in the morning from 8:30 to 9:30 ($P < 0.05$). For different plants, Acc and Aml

收稿日期: 2022-09-15; 接受日期: 2022-12-08

基金项目: 科技部基础资源调查专项(2018FY100405)、国家自然科学基金(3217030483; 332000331)和浙江省自然科学基金(LQ21C030007)

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: hlli@cjlu.edu.cn

can pollinate many kinds of plant. Acc tended to collect pollen of *Humulus scandens*, *Rosa chinensis*, *Eriobotrya laoshanica*, and *Hedera nepalensis* var. *sinensis*, while Aml was partial to collect pollen of *Ternstroemia gymnanthera*, *Chrysanthemum boreale*, and *Zinnia baageana*.

Conclusions: In general, Acc and Aml can pollinate many kinds of plant during autumn and winter, and Acc have more extensive plant source. The investigation of pollination diversity and differences between Acc and Aml during the late autumn and winter periods will be helpful to study the pollination rules and preferences of honeybees, and provide theoretical for ecological protection in Hangzhou City.

Key words: *Apis cerana cerana*; *Apis mellifera ligustica*; bee pollen; scanning electron microscope; DNA barcode

在自然界中,“植物-传粉者”的关系是陆地生态系统中最重要的交互关系,这驱动了植物和它们的传粉者进化上的多样性(Pincebourde et al, 2017)。研究发现,有80%以上的开花植物需要动物为它们传粉,这对维持生态平衡和提高农作物产量及品质具有重要意义(Klein et al, 2007)。作为重要的传粉昆虫之一,蜜蜂因其独特的形态结构和生物学特性,在传粉方面有显著优势,所以它在保护生物多样性和维持生态系统稳定性方面发挥着举足轻重的作用(Bruckman & Campbell, 2014)。意大利蜜蜂(意蜂, *Apis mellifera ligustica*)是世界范围内分布最广、人工养殖规模最大和利用最多的蜜蜂品种,具有重要的经济价值和社会效应(Liu et al, 2013; Abrol et al, 2019)。中华蜜蜂(中蜂, *Apis cerana cerana*)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,形成了对大宗蜜源采集(蜜粉)量高、蜂王浆产量性能好等优势。

由于各自的特点,中蜂和意蜂在生产实践中应用不同,授粉效果也有差异,主要有以下几点。(1)环境温度和时间影响传粉效果。在同一地理环境下,中蜂因其自身适应性强,具有较低的活动温度起点,一般在7-9℃就能出巢访花,而意蜂一般在13℃以上(敖塘堰等, 2021)。在同一天中,中蜂和意蜂在温度适宜的条件下(春季12:00-14:00时)访花积极性最高,且意蜂明显高于中蜂(敖塘堰等, 2021)。(2)传粉区域范围不同。中蜂和意蜂的采集习性存在差异,在近山区蜜源分散,昼夜温差大的条件下,中蜂活动性能强;而在平原蜜源集中区,昼夜温差小,意蜂活动频繁(曾志将, 1989; 郭媛等, 2020)。当然,这可能与不同地区地理环境也有关系。(3)蜜蜂携粉量不同。前人研究表明,昆虫携粉量与个体大小有关,意蜂比中蜂个体大,单次访花携粉量多于中蜂(罗

长维等, 2019; 敖塘堰等, 2021)。(4)中蜂和意蜂对不同植物的授粉效果存在差异。在对猕猴桃(*Actinidia chinensis*)和百香果访花行为和授粉调查中,中蜂和意蜂都可以为两者授粉,但中蜂授粉效果较意蜂好(黄仁才等, 2018)。在蜜蜂对蓝莓和西瓜授粉研究中,研究者观察到意蜂对蓝莓和西瓜授粉时长和效率高于中蜂(苏晓玲等, 2017; 赵东绪等, 2019)。因此,植物的种类、分布范围、不同的温度和气候条件等都会影响中蜂和意蜂传粉行为和授粉能力。此外,引入西方蜜蜂后对我国部分地区的中蜂生存也有一定影响,导致中蜂数量和采集区域减少(杨冠煌, 2005; 任晓晓等, 2021)。所以,深入研究二者传粉植物多样性的规律十分必要。

当前,传粉昆虫植物源鉴定的方法主要有野外观察法、蜂蜜孢粉学技术、DNA条形码及宏条形码技术等。相对于前两种方法,DNA条形码技术在传粉昆虫植物源鉴定中已有广泛应用,不仅灵敏度高,而且省时省力(黄敦元等, 2020)。但是,对昆虫授粉的研究主要在春、夏季(此为大多数开花植物的花期),而对秋冬期低温条件下的授粉研究较少,这主要是因为低温开花的植物有限,而且只有一部分昆虫在冬季传粉,大部分传粉昆虫便需要冬眠而不再活动(胡宗文等, 2016)。蜜蜂具有一定的耐低温能力,对于秋冬低温开花的植物也能够传粉,且它们的传粉生态位明显高于其他昆虫(胡宗文等, 2016; 敖塘堰等, 2021)。前期研究发现,中蜂在冬季可以为城市园林的植物授粉(陈发军等, 2016)。但是,对中蜂和意蜂在秋冬期传粉特性及季节差异性还不清楚,包括传粉植物种类、采集时间和携粉能力等。本文通过观察中蜂和意蜂传粉过程,收集花粉后通过普通光学显微镜和扫描电镜初步分析花粉形态,然后利用*rbcL*基因引物扩增相应植物DNA条形码序列来确定中蜂和意蜂传粉的植物种类和数量。中蜂和意蜂传粉多样性和差

异调查将有利于研究两者的访花规律和偏好, 为不同地区生态保护和秋冬期选择不同蜜蜂进行作物传粉提供理论依据。

1 材料与方法

蜜蜂饲养于杭州下沙高教园区的中国计量大学(30.32° N, 120.36° E)校园内, 中蜂和意蜂使用的蜂箱是标准的木制朗氏蜂箱。中蜂和意蜂各选取3群, 实验前调整蜂群结构使其群势相当, 具体为: 各群约有5脾工蜂, 2脾卵和幼虫(日龄略有差异), 2脾封盖子, 1脾蜂蜜, 1脾花粉。所有蜂群的蜂王育成不足1年且均具有较强产卵能力。实验观察和采集时间为2020年10月中旬至12月上旬的秋冬期, 然后进行样品收集和数据分析。

1.1 植物花粉样本采集

每周在学校及周边地区收集开花植物花粉, 采集一定量开花植物的花朵和花粉, 置于-20℃低温环境下保存。同时, 拍摄植物照片, 后期用于查找和比对《中国高等植物图鉴》(中国科学院植物研究所, 1972)。然后, 所有植物花粉利用尼康YS100光学显微镜(Nikon, Japan)和日立TM-1000电子显微镜(Hitachi, Japan)观察和拍照, 用于查询《中国木本植物花粉电镜扫描图志》(李天庆等, 2011)。剩下不能确定的花粉样本通过伯乐 S1000 PCR 扩增仪(Bio-Rad, USA)扩增相应基因并利用BLAST分析确定(一致性(identity) > 99%, E-value值为0时视为鉴定到物种水平)。

1.2 蜂花粉样本收集

2020年10月中旬至12月上旬每周任选1天, 上午8:30–9:30、中午11:30–12:30和下午15:30–16:30各观察1次, 观察蜜蜂出房采集情况, 同时收集蜂花粉(每次每群中蜂和意蜂各收集花粉6粒)。12月上旬(图1), 气温骤降, 观察到少量中蜂和意蜂进出, 部分蜜蜂携带少量花粉, 但没有收集到对应的蜂花粉(温度变化数据来源于<https://lishi.tianqi.com/>)。具体为: 在蜂箱门口抓取足携带花粉团的蜜蜂, 用镊子轻轻将花粉取下(操作时尽量慢, 保证花粉完整), 记录蜜蜂携带的花粉数量、花粉形态及颜色, 然后用游标卡尺测量花粉团直径大小(同一截面垂直方向测量2次取均值)。最后转移到离心管中, 置于-20℃冰箱中保存备用。

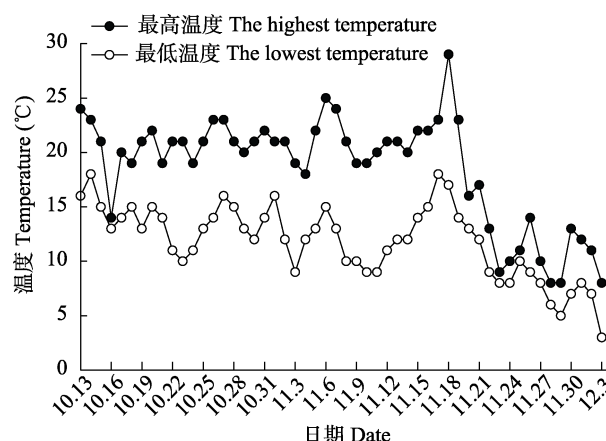


图1 秋冬观察期温度变化趋势图

Fig. 1 The trend chart of temperature change during late autumn and winter observation period

1.3 花粉的光学显微镜和电子显微镜观察

利用光学显微镜, 初步将中蜂和意蜂携带的蜂花粉与人工采集的植物花粉进行比对, 辨别两种蜜蜂采集的蜂花粉形态结构和种类。取蜂花粉团样本碾碎, 在光学显微镜下观察, 初步鉴定蜂花粉的颜色、形态和大小等, 并估算不同种类的花粉在蜂花粉中的占比, 做好记录。另取蜂花粉样本, 在4℃时用4%、pH值为6.8的戊二醛固定12 h, 然后用70%乙醇清洗后置于烘箱中40℃条件下烘干, 碾碎后粘于样品台, 并置于电子显微镜下观察花粉精细结构(张国云等, 2016)。最后, 将蜜蜂花粉电镜图与数据库中植物花粉电镜图进行对比分析, 确定花粉植物源种类。

1.4 DNA提取与基因扩增

每日同一时间段收集的中蜂和意蜂蜂花粉各取出一半混样(约9–12粒花粉), 用生工生物工程股份有限公司(生工)的Ezup柱式植物基因组DNA抽提试剂盒提取DNA, 即将蜂花粉在液氮中充分研磨, 加入适量预热Buffer PBC和β-巯基乙醇, 振荡混匀后65℃水浴25 min; 加入等体积氯仿混匀, 12,000 rpm离心5 min, 取上清液; 依次加入等体积Buffer BD和无水乙醇, 混匀后转移至吸附柱, 10,000 rpm离心1 min; 然后依次用LPW Solution和LWash Solution清洗吸附柱; 最后用预热去离子水洗脱。具体操作步骤见说明书。选取核酮糖-1,5-双磷酸羧化酶(ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase, *rbcl*)和叶绿体trnH-psbA特殊核酸序列的引物(Kress & Erickson, 2007; 宁淑萍等, 2008; 任保青和陈之端, 2010), 引

物序列见表1, 以上述蜂花粉DNA为模板进行PCR扩增。PCR反应采用3步法扩增程序: 变性、退火和延伸, 各自温度和时间为: 94℃预变性3 min; 94℃ 20 s, 50℃ (根据引物设定) 20 s; 72℃ 40 s, 35个循环; 最后72℃延伸10 min。将扩增后的序列进行琼脂糖凝胶电泳, 回收PCR产物送至生工进行测序。将所得序列通过NCBI网站进行Nucleotide BLAST, 一致性超过99%视为鉴定到物种水平。

表1 引物序列
Table 1 List of the primer sequence

引物 Primer	序列 Sequence (5' to 3')
TPtrnH-F	CGCGCATGGTGGATTACAAATC
TPpsbA-R	GTTATGCATGAACGTAATGCTC
rbcl-1F	ATGTCACCACAAACAGAAAC
rbcl-724R	TCGCATGTACCTGCAGTAGC

2 结果

2.1 开花植物的花粉、中蜂和意蜂蜂花粉的收集

本实验观察和收集中蜂和意蜂蜂花粉15 d。统计携带花粉团回巢蜜蜂数量如下(图2), 在8:30–9:30, 中蜂携粉蜂为 23 ± 7 只/min, 意蜂携粉蜂为 10 ± 5 只/min; 在11:30–12:30, 中蜂携粉蜂为 53 ± 11 只/min, 意蜂携粉蜂为 64 ± 16 只/min; 在15:30–16:30, 中蜂携粉蜂为 28 ± 9 只/min, 意蜂携粉蜂为 25 ± 6 只/min。此外, 早、中、晚蜜蜂携带花粉粒径有差别, 早、晚花粉团粒径均值偏小, 但是差异不显著; 中蜂和意蜂花粉团平均粒径分别为

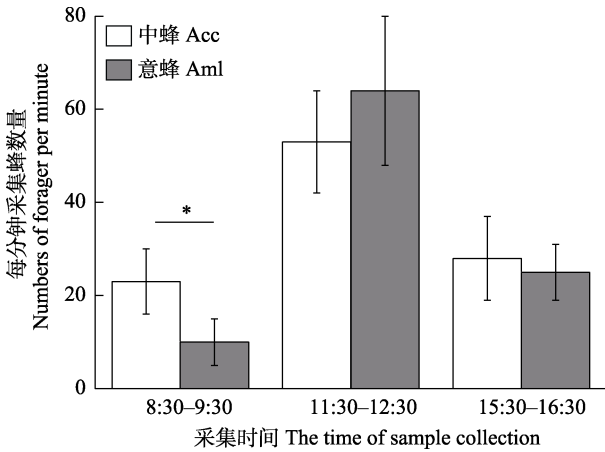


图2 秋冬期不同时间段中蜂和意蜂采集花粉蜜蜂的数量
Fig. 2 The number of *Apis cerana cerana* (Acc) and *Apis mellifera ligustica* (Aml) foragers in different time point during late autumn and winter. * $P < 0.05$.

2.12 mm和2.09 mm, 中蜂花粉团较意蜂花粉团大, 但差异不显著。

2.2 光学显微镜的观察结果

从光镜观察图像可以初步确定同一天两种蜜蜂采集的蜂花粉形状、颜色、大小等存在不同程度的差异, 且同一花粉团里有不同的花粉颗粒。但是, 通过普通光镜不能准确判别具体的植物源。部分花粉的光镜图片如图3所示(物镜为10×, 目镜为4×)。

2.3 电子显微镜的观察结果

通过电子显微镜观察所有采集的两种蜂花粉, 将拍摄的蜂花粉电镜照片与《中国木本植物花粉电镜扫描图志》及样地植物花粉电镜图进行对比(图4), 根据花粉形状、大小以及花粉壁的结构和纹饰, 可初步辨认出部分植物的花粉(标尺为10 μm), 如:

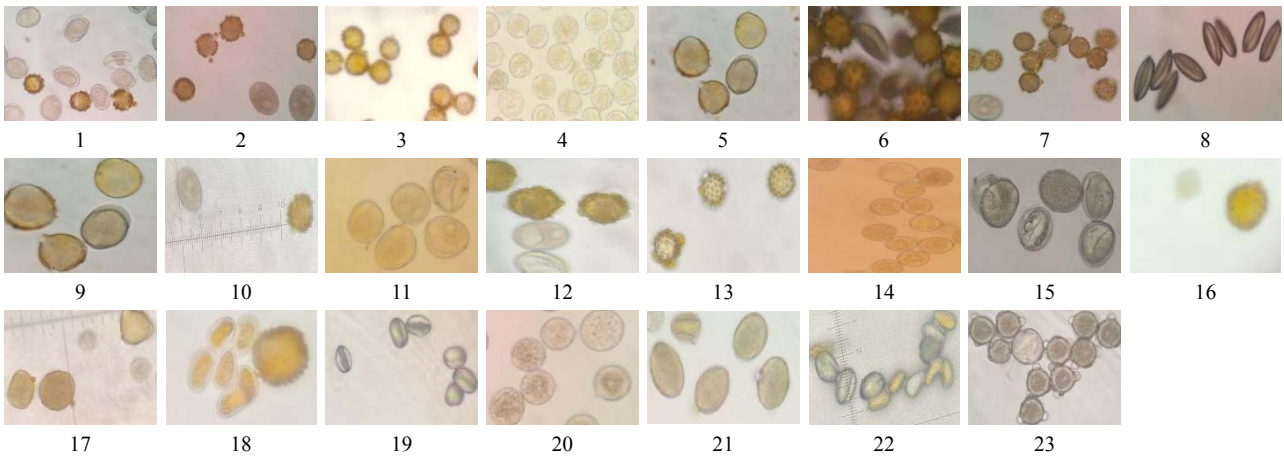


图3 部分采集花粉光镜结构图
Fig. 3 The partial pictures of bee pollens under an optical microscope

月季(*Rosa chinensis*)、大花百日菊(*Zinnia grandiflora*)、山茶花(*Camellia japonica*)、枇杷(*Eriobotrya laoshanica*)、四季海棠(*Begonia semperflorens*)和菊花(*Chrysanthemum mutellinum*)等。但是, 仍有部分中蜂和意蜂采集的花粉不能判断植物源。实验中收集的蜂花粉后续均通过DNA条形码进一步验证。

2.4 DNA条形码技术鉴定蜂花粉植物源

利用Ezup柱式植物基因组DNA抽提试剂盒提取不同蜂花粉基因组DNA, NanoDrop 2000测定浓度, 所有提取浓度均在320 ng/μL以上, A₂₆₀/A₂₈₀在1.80–1.96之间。分别用TPtrnH-F、TPpsbA-R和*rbcl*-1F、*rbcl*-724R作为正反引物进行PCR扩增预实验。结果显示, 引物*rbcl*-1F和*rbcl*-724R可以很好地扩增出目的条带, 目的片段大小在750 bp左右, 而TPtrnH-F和TPpsbA-R在不同样本中稳定性较差, 只

有少部分样品可以扩增出序列, 选用*rbcl*-1F和*rbcl*-724R进行实验。扩增片段电泳结果如图5所示, 电泳后切胶回收并送至上海生工测序。

2.5 测序结果

获得*rbcl*基因测序结果后, 通过NCBI软件进行BLAST, 根据序列一致性(> 99%)及E-value值分析确定蜂花粉对应的植物物种。结合显微观察结果, 统计结果见表2。

2.6 中蜂和意蜂采集花粉结果

根据蜂花粉电镜观察和DNA条形码测序结果, 对照收集的植物花粉, 可以发现蜜蜂采集到的花粉与记录的植物花期基本同步(表2)。对于葎草(*Humulus scandens*)、加拿大一枝黄花(*Solidago canadensis*)、银边吉祥草(*Reineckea carnea*)和茶梅(*Camellia sasanqua*)等, 中蜂和意蜂均表现出较强

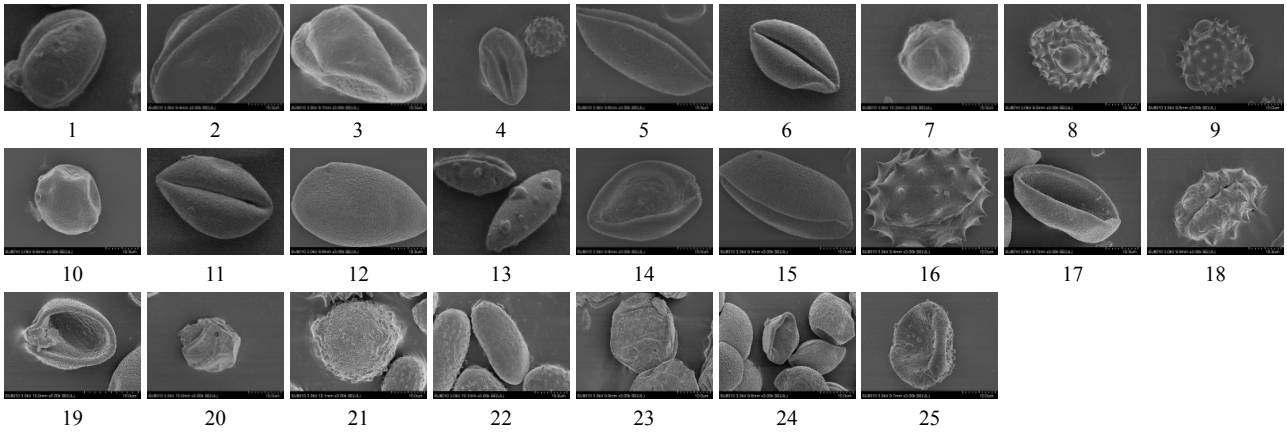


图4 部分蜂花粉样品电镜扫描结果图
Fig. 4 The partial pictures of bee pollens under an electron microscope

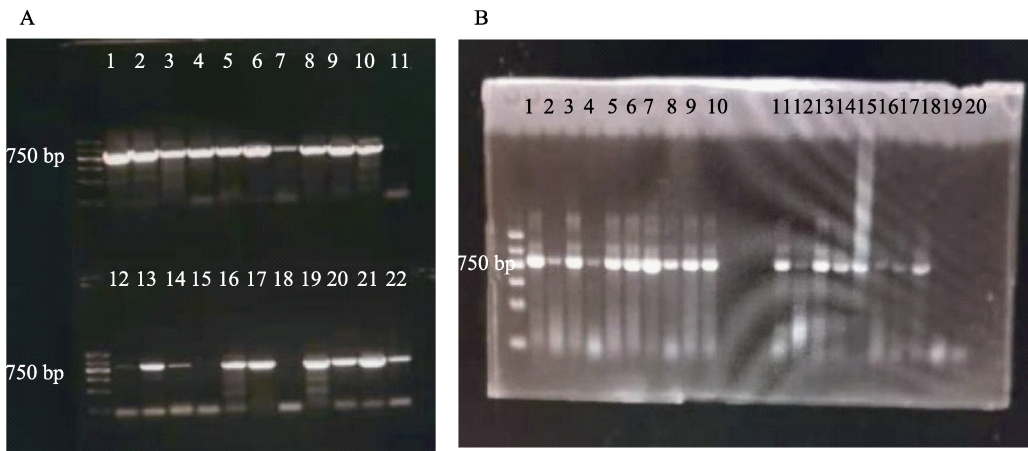


图5 中华蜜蜂(A)和意大利蜜蜂(B)蜂花粉基因扩增电泳图
Fig. 5 Gene amplification results of *Apis cerana cerana* (A) and *Apis mellifera ligustica* (B) bee pollens

表2 中蜂(Acc)和意蜂(Aml)在秋冬期采集蜂花粉种类
Table 2 The pollen species collected by *Apis cerana cerana* (Acc) and *Apis mellifera ligustica* (Aml) during late autumn and winter

序号 Code	采样日期 Collecting date	蜂种 Species	蜂花粉植物品种 Plant species of bee pollen
1	10.13	中蜂 Acc	葎草、加拿大一枝黄花 <i>Humulus scandens</i> , <i>Solidago canadensis</i>
2	10.13	意蜂 Aml	葎草、加拿大一枝黄花 <i>H. scandens</i> , <i>S. canadensis</i>
3	10.20	中蜂 Acc	葎草、加拿大一枝黄花、银边吉祥草 <i>H. scandens</i> , <i>S. canadensis</i> , <i>Reineckea carnea</i>
4	10.20	意蜂 Aml	葎草、加拿大一枝黄花、银边吉祥草 <i>H. scandens</i> , <i>S. canadensis</i> , <i>R. carnea</i>
5	10.27	中蜂 Acc	葎草、加拿大一枝黄花、银边吉祥草、菊花、月季 <i>H. scandens</i> , <i>S. canadensis</i> , <i>R. carnea</i> , <i>Chrysanthemum mutellinum</i> , <i>Rosa chinensis</i>
6	10.27	意蜂 Aml	加拿大一枝黄花、银边吉祥草 <i>S. canadensis</i> , <i>R. carnea</i>
7	11.1	中蜂 Acc	葎草、加拿大一枝黄花、银边吉祥草、菊花、月季、茶梅 <i>H. scandens</i> , <i>S. canadensis</i> , <i>Reineckea carnea</i> , <i>C. mutellinum</i> , <i>Rosa chinensis</i> , <i>Camellia sasanqua</i>
8	11.1	意蜂 Aml	葎草、银边吉祥草、甘菊 <i>H. scandens</i> , <i>R. carnea</i> , <i>Chrysanthemum boreale</i>
9	11.3	中蜂 Acc	葎草、银边吉祥草、月季、茶梅、大花百日菊 <i>H. scandens</i> , <i>Reineckea carnea</i> , <i>Rosa chinensis</i> , <i>C. sasanqua</i> , <i>Zinnia grandiflora</i>
10	11.3	意蜂 Aml	银边吉祥草、菊花、茶梅、大花百日菊、葎草、银边吉祥草 <i>R. carnea</i> , <i>C. mutellinum</i> , <i>C. sasanqua</i> , <i>Z. grandiflora</i> , <i>H. scandens</i> , <i>C. sasanqua</i>
11	11.8	中蜂 Acc	大花百日菊、菊花、四季海棠、中华常春藤 <i>Z. grandiflora</i> , <i>C. mutellinum</i> , <i>Begonia semperflorens</i> , <i>Hedera nepalensis</i> var. <i>sinensis</i>
12	11.8	意蜂 Aml	葎草、银边吉祥草、甘菊、茶梅、菊花、四季海棠 <i>H. scandens</i> , <i>R. carnea</i> , <i>C. boreale</i> , <i>C. sasanqua</i> , <i>C. mutellinum</i> , <i>B. semperflorens</i>
13	11.10	中蜂 Acc	葎草、银边吉祥草、茶梅、四季海棠、小百日菊 <i>H. scandens</i> , <i>R. carnea</i> , <i>C. sasanqua</i> , <i>B. semperflorens</i> , <i>Zinnia baageana</i>
14	11.10	意蜂 Aml	葎草、小百日菊、茶梅、四季海棠 <i>H. scandens</i> , <i>Z. baageana</i> , <i>C. sasanqua</i> , <i>B. semperflorens</i>
15	11.12	中蜂 Acc	葎草、银边吉祥草、茶梅 <i>H. scandens</i> , <i>R. carnea</i> , <i>C. sasanqua</i>
16	11.12	意蜂 Aml	银边吉祥草、厚皮香、茶梅 <i>R. carnea</i> , <i>Ternstroemia gymnanthera</i> , <i>C. sasanqua</i>
17	11.17	中蜂 Acc	葎草、银边吉祥草、小百日菊、枇杷、山茶花 <i>H. scandens</i> , <i>R. carnea</i> , <i>Z. baageana</i> , <i>Eriobotrya laoshanica</i> , <i>Camellia japonica</i>
18	11.17	意蜂 Aml	银边吉祥草、山茶花、厚皮香、小百日菊、茶梅 <i>R. carnea</i> , <i>Camellia japonica</i> , <i>T. gymnanthera</i> , <i>Z. baageana</i> , <i>C. sasanqua</i>
19	11.19	中蜂 Acc	银边吉祥草、枇杷、山茶花、八角金盘、三角梅 <i>R. carnea</i> , <i>E. laoshanica</i> , <i>Camellia japonica</i> , <i>Fatsia japonica</i> , <i>Bougainvillea spectabilis</i>
20	11.19	意蜂 Aml	银边吉祥草、枇杷、小百日菊 <i>R. carnea</i> , <i>E. laoshanica</i> , <i>Z. baageana</i>
21	11.29	中蜂 Acc	银边吉祥草、枇杷、八角金盘、三角梅、山茶花 <i>R. carnea</i> , <i>E. laoshanica</i> , <i>Fatsia japonica</i> , <i>Bougainvillea spectabilis</i> , <i>Camellia japonica</i>
22	11.29	意蜂 Aml	山茶花、八角金盘、枇杷 <i>C. japonica</i> , <i>F. japonica</i> , <i>E. laoshanica</i>
23	12.3	中蜂 Acc	枇杷、八角金盘、山茶花 <i>E. laoshanica</i> , <i>F. japonica</i> , <i>C. japonica</i>
24	12.3	意蜂 Aml	山茶花、八角金盘、三角梅 <i>C. japonica</i> , <i>F. japonica</i> , <i>B. spectabilis</i>

的采集行为, 采集这些植物花粉的频率较高。对于其他一些植物, 中蜂和意蜂则出现了不同偏好。其中, 中蜂对菊花(*Chrysanthemum mutellinum*)、大花百日菊 (*Zinnia grandiflora*)、枇杷 (*Eriobotrya laoshanica*)、山茶花(*Camellia japonica*)的采集要高于意蜂, 且月季(*Rosa chinensis*)和中华常春藤 (*Hedera nepalensis* var. *sinensis*)只观察到中蜂的采集; 意蜂对甘菊(*Chrysanthemum boreale*)、厚皮香

(*Ternstroemia gymnanthera*)、小百日菊 (*Zinnia baageana*)的采集要高于中蜂, 且甘菊和厚皮香只观察到意蜂的采集。需要注意的是, 这些数据只反映观察期内中蜂和意蜂采集对应花粉天数的比例, 并未反映中蜂和意蜂对不同花粉的采集量。

3 讨论

蜜蜂是世界范围内最重要的授粉昆虫, 其传

粉在维持植物生态平衡和提高农作物产量品质方面有重要意义(Garibaldi et al, 2016)。在全球范围内, 蜜蜂饲养数量有所增加, 但对蜜蜂授粉服务的需求还是相对不足。中蜂和意蜂在我国大部分地区都有饲养和分布, 在传粉服务中二者均能表现出较大的应用空间。由于中蜂和意蜂各自独特的形态结构和生物学特性, 它们对不同植物的传粉能力和效果有一定的差异(杨甫等, 2010; 敖塘堰等, 2021)。已有调查发现, 中蜂和意蜂可以在冬季为部分植物传粉(胡宗文等, 2016)。中蜂是我国本土蜂种, 相较于意蜂, 它不仅耐低温, 而且对本土自然生境的开花植物具有更好的适应性(杨冠煌, 2005)。然而, 二者在秋冬期时低温开花植物的传粉情况是否有差异目前仍不清楚。本文比较了中蜂和意蜂在秋冬期低温下传粉行为和特点, 将有利于研究两者的传粉规律和偏好, 为不同地区生态保护和冬季选择不同蜜蜂进行作物传粉提供理论依据。

相对于意蜂, 中蜂在低温下采集花粉的频率更高。在生态系统中, 温度是重要的生态因子之一, 直接影响传粉昆虫的活动。蜜蜂的传粉效率较其他昆虫高(祁海萍等, 2018), 而其飞行活动直接受到气温影响, 一般中蜂在7℃就可以出房采集, 而意蜂临界飞行温度在13℃左右(朱建华等, 2010; 敖塘堰等, 2021)。本实验研究发现, 在同样的温度条件下, 低温时(上午8:30–9:30和下午15:30–16:30)中蜂出房蜂数量高于意蜂, 上午8:30–9:30差异达到显著水平, 较高温度时(11:30–12:30)意蜂出房蜂数量高于中蜂。前人研究发现, 蜜蜂体内可能存在“葡萄糖-甘油-多种氨基酸”的抗寒生理调控系统, 在低温环境下, 中蜂依赖葡萄糖代谢的程度高于意蜂, 这可能是两种蜜蜂对低温适应性不同的原因(徐凯等, 2018)。此外, 低温还能影响中蜂和意蜂采集花粉团的大小。一般认为蜜蜂花粉团大小与蜜蜂个体有关, 意蜂比中蜂大, 自然状态下意蜂的花粉团要比中蜂大(罗长维等, 2019; 敖塘堰等, 2021)。然而本研究却发现低温时中蜂携粉足内的蜂花粉团却略大于意蜂, 这可能是由于中蜂更适应较低的环境温度, 从而延长了其采集花粉的时间, 也有可能中蜂在秋冬期传粉效率更高, 具体机制还有待进一步研究。

中蜂和意蜂传粉都具有广谱性, 可以为多种开

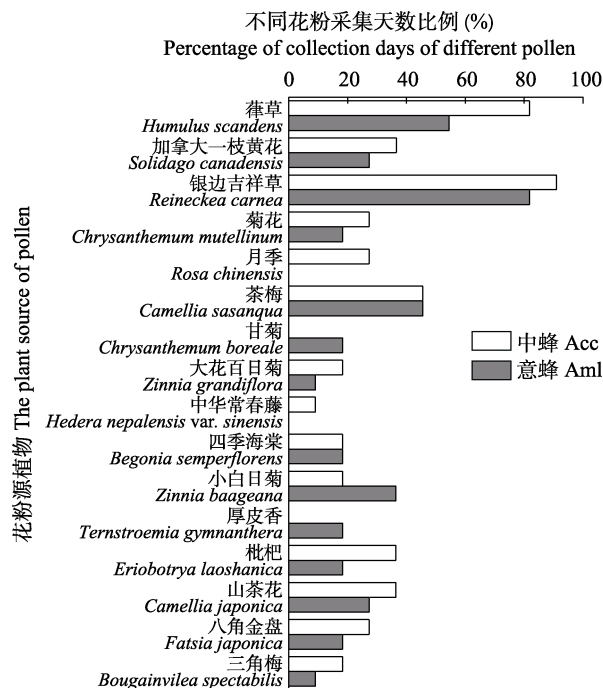


图6 秋冬期中蜂和意蜂采集花粉植物源的比例分析

Fig. 6 The proportion analysis of pollen sources collected by *Apis cerana cerana* (Acc) and *Apis mellifera ligustica* (Aml) during late autumn and winter

花植物传粉, 但对不同植物的采集能力和采集偏好性方面存在差异。研究发现, 中蜂和意蜂对不同植物花粉的采集或传粉习性具有明显差异。在夏季高温时, 意蜂对单花访问时间比中蜂长, 访花频率高于意蜂, 说明意大利蜜蜂在西瓜传粉上更具优势(苏晓玲等, 2017)。在蓝莓授粉研究中同样发现意蜂较中蜂在花朵的采集时间长, 采集间隔时间短, 而中蜂较意蜂寻找花朵的时间长(赵东绪等, 2019)。但是, 在百香果的授粉研究中发现中蜂授粉的坐果率则要优于意蜂, 特别是不良气候时差异更显著(黄仁才等, 2018)。中蜂和意蜂这种差异不仅和自身的特点有关, 与植物源也有一定关系。本文作者团队在此前研究发现, 在春季对于同花期的植物源, 中蜂对花朵形态较大且易采集的蔷薇科植物具有一定的选择性和偏好性(吴帆等, 2020)。当前, 季节变化对中蜂和意蜂传粉影响还未见报道。本次实验中, 我们观察了杭州下沙高教园区内秋冬期中蜂和意蜂传粉特点, 发现观察地点存在的花粉植物源, 中蜂和意蜂基本都有采集, 可能是由于秋冬期开花植物较少, 蜜蜂没有更多可供选择的开花植物, 这与在城市园林中观察的中蜂访花行为基本一致(陈发

军等, 2016)。此外, 本次观察地点的不同花粉植物源之间有一定距离, 不利于蜜蜂往返采集, 这可能是同一花粉团中花粉种类少的原因之一。不过整体上来讲, 中蜂对于某些本土低温开花的植物(如葎草、月季、枇杷和中华常春藤等)确实具有比意蜂更强的偏好性(图6), 这可能是由于中蜂长期适应本土开花植物, 从而产生协同进化的结果。

综上所述, 在秋冬期低温下中蜂对本土开花植物的传粉的植物较意蜂具有偏好性, 能为更多低温显花植物传粉。中蜂和意蜂传粉多样性和差异调查将有利于研究蜜蜂的访花规律和偏好, 为该地区生态保护和在冬季选择蜜蜂进行植物传粉提供理论依据。

ORCID

吴帆  <https://orcid.org/0000-0001-7923-3808>

参考文献

- Abrol DP, Gorka AK, Ansari MJ, Al-Ghamdi A, Al-Kahtani S (2019) Impact of insect pollinators on yield and fruit quality of strawberry. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26, 524–530.
- Ao TY, Xiong L, Ma ZG (2021) Review on the characteristics and differences of visiting behavior between honeybee *Apis cerana* and *Apis mellifera*. *Journal of Bee*, 41(3), 1–4. (in Chinese with English abstract) [敖塘堰, 熊亮, 马振刚 (2021) 中华蜜蜂与意大利蜜蜂访花行为特点与区别. 蜜蜂杂志, 41(3), 1–4.]
- Bruckman D, Campbell DR (2014) Floral neighborhood influences pollinator assemblages and effective pollination in a native plant. *Oecologia*, 176, 465–476.
- Chen FJ, Yang QQ, Long L, Hu HM, Duan B, Chen WN (2016) Activity patterns and foraging behavior of *Apis cerana cerana* in the urban gardens in winter. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 27, 275–281. (in Chinese with English abstract) [陈发军, 杨青青, 龙黎, 胡红梅, 段彬, 陈文年 (2016) 城市园林生境冬季中华蜜蜂的活动规律和采集行为. 应用生态学报, 27, 275–281.]
- Garibaldi LA, Carvalheiro LG, Vaissière BE, Gemmill-Herren B, Hipólito J, Freitas BM, Ngo HT, Azzu N, Sáez A, Åström J, An JD, Blochtein B, Buchori D, García FJC, Oliveira da Silva F, Devkota K, de Fátima Ribeiro M, Freitas L, Gaglianone MC, Goss M, Irshad M, Kasina M, Filho AJSP, Kiill LHP, Kwapong P, Parra GN, Pires C, Pires V, Rawal RS, Rizali A, Saraiva AM, Veldtman R, Viana BF, Witter S, Zhang H (2016) Mutually beneficial pollinator diversity and crop yield outcomes in small and large farms. *Science*, 351, 388–391.
- 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. (in Chinese with English abstract) [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.]
- Hu ZW, Zhang XW, Yang J, Wang YH, Huang XQ, Xun LJ, Miao CH (2016) An investigation of pollinators and niche analysis in Xiangyun Basin during winter. *Chinese Journal of Ecology*, 35, 3353–3359. (in Chinese with English abstract) [胡宗文, 张学文, 杨娟, 王艳辉, 黄新球, 荀利杰, 苗春辉 (2016) 祥云坝区冬季访花昆虫调查及生态位分析. 生态学杂志, 35, 3353–3359.]
- Huang DY, Huang SC, Li HY, Dou FY, Kou RM, Li Y, Luo AC (2020) Identification methods of nectar or pollen plants for pollinators. *Journal of Chongqing Normal University (Natural Science)*, 37(3), 1–8. (in Chinese with English abstract) [黄敦元, 黄思程, 李红英, 窦飞越, 寇若玫, 李月, 罗安才 (2020) 传粉昆虫蜜(粉)源植物的鉴定方法探讨. 重庆师范大学学报(自然科学版), 37(3), 1–8.]
- Huang RC, Gao JL, Wu CB, Han WS, Zhao DX (2018) Pollination effect of *Apis cerana cerana* and *Apis mellifera ligustica* on passion fruit. *Tropical Agricultural Engineering*, 42(3), 7–10. (in Chinese with English abstract) [黄仁才, 高景林, 吴朝波, 韩文素, 赵冬香 (2018) 中华蜜蜂和意大利蜜蜂为设施百香果授粉效果观察. 热带农业工程, 42(3), 7–10.]
- Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences (1972) *Atlas of Higher Plants in China*. Science Press, Beijing. (in Chinese) [中国科学院植物研究所 (1972) 中国高等植物图鉴. 科学出版社, 北京.]
- 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: Biological Sciences*, 274, 303–313.
- Kress WJ, Erickson DL (2007) A two-locus global DNA barcode for land plants: The coding *rbcL* gene complements the non-coding *trnH-psbA* spacer region. *PLoS ONE*, 2, e508.
- Li TQ, Cao HJ, Kang MS, Zhang ZX, Zhao N, Zhang H (2011) *Pollen Flora of China Woody Plants by SEM*. Science Press, Beijing. (in Chinese) [李天庆, 曹慧娟, 康木生, 张志翔, 赵楠, 张晖 (2011) 中国木本植物花粉电镜扫描图志. 科学出版社, 北京.]
- Liu YJ, Zhao TR, Zhang XW, Liang C, Zhao FY (2013) Melittopalynology and trophic niche analysis of *Apis cerana* and *Apis mellifera* in Yunnan Province of southwest China. *Sociobiology*, 60, 289–294.
- Luo CW, Chen Y, Zhang T (2019) Pollination efficiency of the major pollinators of *Paeonia ostia* ‘Feng Dan’. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)*, 43(4), 148–154. (in Chinese with English abstract) [罗长维, 陈友, 张涛 (2019) 油用牡丹‘凤丹’主要传粉昆虫的传粉行为比较. 南京林业大学学报(自然科学版), 43(4),

- 148–154.]
- Ning SP, Yan HF, Hao G, Ge XJ (2008) Current advances of DNA barcoding study in plants. *Biodiversity Science*, 16, 417–425. (in Chinese with English abstract) [宁淑萍, 颜海飞, 郝刚, 葛学军 (2008) 植物DNA条形码研究进展. *生物多样性*, 16, 417–425.]
- Pincebourde S, van Baaren J, Rasmann S, Rasmont P, Rodet G, Martinet B, Calatayud PA (2017) Plant–insect interactions in a changing world. In: *Advances in Botanical Research: Insect–plant Interactions in A Crop Protection Perspective* (eds Sauvion N, Thiery D, Calatayud PA), pp. 289–332. Elsevier, Amsterdam.
- Qi HP, Guo Y, Song HL, Qi L (2018) On the importance and feasibility of bee pollination. *Shanxi Science and Technology*, 33(6), 34–36, 48. (in Chinese with English abstract) [祁海萍, 郭媛, 宋怀磊, 祁蕾 (2018) 论蜜蜂授粉在农业生产中的重要性及可行性. *山西科技*, 33(6), 34–36, 48.]
- Ren BQ, Chen ZD (2010) DNA Barcoding Plant Life. *Chinese Bulletin of Botany*, 45, 1–12. (in Chinese with English abstract) [任保青, 陈之端 (2010) 植物DNA条形码技术. *植物学报*, 45, 1–12.]
- Ren XX, Meng BD, Zhao WZ, Gong XY, Chen XL, Huang YQ, Zhou DY, Dong K (2021) Effect of the colony densities of *Apis mellifera* on the foraging behavior of *Apis cerana*. *Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science)*, 36, 82–90. (in Chinese with English abstract) [任晓晓, 孟柏达, 赵文正, 龚雪阳, 陈新兰, 黄永权, 周丹银, 董坤 (2021) 西方蜜蜂的放蜂密度对东方蜜蜂采集行为的影响. *云南农业大学学报(自然科学)*, 36, 82–90.]
- Su XL, Hua QY, Chen YF, Jiang XS, Xi WJ, Zhao DX, Bie ZL (2017) Behavior of *Apis cerana cerana* and *Apis mellifera ligustica* as pollinator for long-season cultivated watermelon in tunnel greenhouse under summer high temperature condition. *Journal of Environmental Entomology*, 39, 104–110. (in Chinese with English abstract) [苏晓玲, 华启云, 陈伊凡, 蒋侠森, 席伟军, 赵东绪, 别之龙 (2017) 中华蜜蜂和意大利蜜蜂夏季高温下为长季节栽培设施西瓜授粉行为观察. *环境昆虫学报*, 39, 104–110.]
- Wu F, Zhang L, Zhou J, Chang Y, Lang YH, Shen YP, Wang L, Li HL (2020) Study on *Apis cerana cerana* pollination diversity based on bee pollen and DNA barcode. *Journal of China University of Metrology*, 31, 507–513. (in Chinese with English abstract) [吴帆, 张莉, 周晶, 常悦, 郎一涵, 沈叶萍, 王靓, 李红亮 (2020) 基于花粉形态及DNA条形码的中华蜜蜂传粉多样性研究. *中国计量大学学报*, 31, 507–513.]
- Xu K, Niu QS, Liu YL, Chen DH, Du YL, Guo LN, Zhao HT, Jiang YS (2018) Effects of temperature on major physiological indicators of cold tolerance in *Apis cerana cerana* and *Apis mellifera ligustica*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 55, 889–895. (in Chinese with English abstract) [徐凯, 牛庆生, 刘玉玲, 陈东海, 杜亚丽, 郭丽娜, 赵慧婷, 姜玉锁 (2018) 温度对中华蜜蜂和意大利蜜蜂个体主要抗寒生理指标的影响. *应用昆虫学报*, 55, 889–895.]
- Yang F, Wang FH, Xu XL (2010) Behavior of *Bombus lucorum*, *Apis cerana cerana* and *Apis mellifera ligustica* as pollinator for strawberry grown in greenhouse. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 38, 10711–10713. (in Chinese with English abstract) [杨甫, 王凤鹤, 徐希莲 (2010) 明亮熊蜂、中华蜜蜂和意大利蜜蜂为温室草莓授粉的行为观察. *安徽农业科学*, 38, 10711–10713.]
- Yang GH (2005) Harm of introducing the western honeybee *Apis mellifera* L. to the Chinese honeybee *Apis cerana* F. and its ecological impact. *Acta Entomologica Sinica*, 48, 401–406. (in Chinese with English abstract) [杨冠煌 (2005) 引入西方蜜蜂对中蜂的危害及生态影响. *昆虫学报*, 48, 401–406.]
- Zeng ZJ (1989) Analysis on the factors affecting the distribution of honeybee species. *Apicultural Science and Technology*, (3), 27–28. (in Chinese with English abstract) [曾志将 (1989) 浅析影响蜜蜂品种分布的因素. *养蜂科技*, (3), 27–28.]
- Zhang GY, Zhang WT, Yao JN, Pei GL (2016) Characterization of several pinus species pollens via different treatments by SEM. *Journal of Chinese Electron Microscopy Society*, 35, 49–52. (in Chinese with English abstract) [张国云, 张雯婷, 姚娟妮, 裴国亮 (2016) 不同处理条件下几种松树花粉的扫描电镜观察. *电子显微学报*, 35, 49–52.]
- Zhao DX, Su XL, Hua QY, Tou LJ, Chen DX (2019) The comparative studies of pollination behaviors between *Apis cerana* and *Apis mellifera* in blueberry. *Journal of Environmental Entomology*, 41, 187–192. (in Chinese with English abstract) [赵东绪, 苏晓玲, 华启云, 刁凌娟, 陈东晓 (2019) 意大利蜜蜂和中华蜜蜂为蓝莓授粉的行为比较研究. *环境昆虫学报*, 41, 187–192.]
- Zhu JH, Xu N, Wang ZY, Li HL, Lu GF, Li DB, Li GW, Huang FZ, Peng HX (2010) Study on the species of pollination insects of longan and the relationship between their pollination activity and temperature. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 31, 646–650. (in Chinese with English abstract) [朱建华, 徐宁, 王助引, 李鸿莉, 陆贵锋, 李冬波, 黎光旺, 黄凤珠, 彭宏祥 (2010) 龙眼传粉昆虫种类及其传粉活动与温度的关系. *热带作物学报*, 31, 646–650.]

(责任编辑: 朱朝东 责任编辑: 李会丽)